

В диссертационный совет по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Д 24.2.425.03, созданного на базе
ФГБОУ ВО «Уральский
государственный экономический
университет»

ОТЗЫВ
ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
доктора технических наук, профессора
Курбановой Марины Геннадьевны

на диссертационную работу Мерзляковой Наталии Вадимовны «Выделение нативного биологически активного пептида с синтезом аналога и практическое использование для обогащения мороженого», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Актуальность темы диссертационного исследования

Актуальность исследования обусловлена необходимостью реализации стратегических задач в области повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации, обозначенных в распоряжении Правительства РФ № 1364-р от 29 июня 2016г. В рамках данной стратегии особое внимание уделяется разработке, медико-биологическому обоснованию и внедрению в массовое производство пищевых продуктов новых биологически активных веществ (БАВ), обладающих доказанной эффективностью. Одним из наиболее перспективных направлений в этой области является изучение и применение биологически активных пептидов (БАП), которые демонстрируют широкий спектр функциональных свойств, включая антимикробную активность.

Следует отметить, что некоторые антимикробные пептиды (АМП) обладают дополнительными биологическими эффектами, такими как противовирусное и противоопухолевое действие, что расширяет область их потенциального применения. Однако, несмотря на значительный научный интерес к БАП, их использование в пищевой промышленности остается ограниченным. Одной из ключевых проблем является снижение биологической активности пептидов в процессе термической обработки сырья и готовой продукции. Исключения составляют термостабильные

пептиды, такие как низин, который активно применяется в производстве молочных и мясных продуктов.

Мороженое, как один из популярных молочных продуктов массового потребления, представляет собой перспективную матрицу для обогащения биологически активными пептидами. В связи с этим актуальной задачей является разработка и внедрение в состав мороженого новых термостабильных антимикробных пептидов с выраженными противовоспалительными свойствами.

Проведение исследований, направленных на выделение нативных биологически активных пептидов, синтез их аналогов и разработку технологий их использования для обогащения мороженого, представляется важным научным направлением в области пищевой биотехнологии. Подобные разработки способствуют не только повышению питательной ценности продукта, но и профилактике ряда заболеваний, связанных с его употреблением, что соответствует современным тенденциям функционального питания.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертационной работе, обоснованы результатами многолетних экспериментальных исследований, проведенных с использованием современного оборудования и методов анализа. Антимикробные, противовирусные и противоопухолевые свойства пептида были установлены в ходе серии экспериментов *in vitro* и *in vivo*, включая тесты на чувствительность к различным штаммам микроорганизмов, исследования на клеточных культурах и моделях животных. Полученные данные были статистически обработаны и подтверждены воспроизводимостью результатов в независимых исследованиях.

Технологические разработки по внедрению пептида в состав мороженого основывались на результатах промышленных испытаний, проведенных на производственных мощностях. Оценка качества обогащенного продукта осуществлялась с использованием стандартизированных методов, включая органолептический анализ, микробиологические тесты и определение пищевой ценности.

Результаты работы также подтверждены публикациями в рецензируемых научных изданиях, патентами и апробацией на международных конференциях. Это свидетельствует о высокой степени достоверности и научной обоснованности представленных выводов.

Таким образом, научные положения, выводы и рекомендации диссертации базируются на надежной экспериментальной базе и подтверждены практическими результатами, что позволяет рекомендовать их для использования в научной и производственной деятельности в области пищевой биотехнологии.

Достоверность и научная новизна исследований, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Научная новизна и достоверность результатов исследования подтверждаются использованием современных подходов и методов, обеспечивших высокую точность и воспроизводимость данных. В рамках работы был предложен инновационный подход к выделению нативного биологически активного пептида из молозива коров, а также разработана методика синтеза его аналога. Для подтверждения структуры и свойств пептида применялись методы спектроскопии и хроматографии, что позволило обеспечить точность и надежность полученных результатов.

Научная новизна работы заключается в следующих аспектах:

- Впервые обоснована возможность использования термостабильного антимикробного пептида из молозива коров в качестве функционального ингредиента для пищевой промышленности.
- Разработана технология синтеза аналога пептида, сохраняющего биологическую активность и устойчивость к термическому воздействию.
- Предложена инновационная технология обогащения мороженого выделенным пептидом, что позволило повысить его функциональные свойства без изменения органолептических характеристик.
- Проведены комплексные исследования биологической активности пептида на уровне *in vitro* и *in vivo*, включая оценку его влияния на иммунный статус и подавление патогенных микроорганизмов.

Достоверность результатов подтверждена их статистической обработкой, воспроизводимостью в независимых экспериментах, а также апробацией в реальных производственных условиях.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в установлении механизмов биологической активности выделенного нативного пептида LREGIKNK, включая его антимикробное, противовирусное и противоопухолевое действие, а также подтверждение его высокой термостабильности (до 95 °C) и отсутствия токсичности в *in vitro* и *in vivo* экспериментах. Разработаны научно обоснованные параметры экстракции и синтеза пептида, включая оптимальные условия гидролиза молозива коров (длительность 4–5 часов, степень гидролиза 60%, pH 7.8, температура 39 °C) и применение твердофазного Fmoc-метода для получения синтетического аналога с чистотой >90%, соответствующего по молекулярной массе нативному пептиду.

Работа вносит значительный вклад в фундаментальные исследования биологически активных пептидов, расширяя понимание их свойств, механизмов действия и применения в функциональных продуктах питания. На практике разработана технология производства мороженого «Пломбир

ванильный 15%», обогащенного пептидом LREGIKNK, которое соответствует техническим регламентам (ТР ТС) и ГОСТ, сохраняя органолептические, физико-химические и микробиологические показатели и снижая микробную нагрузку. Экономический анализ показал, что обогащение мороженого пептидом увеличивает себестоимость всего на 0,2%, принося дополнительную прибыль (10 700 рублей на тонну), что подтверждает коммерческую жизнеспособность продукта и его конкурентоспособность на рынке.

Результаты работы способствуют развитию функциональных продуктов питания с антимикробным и противоопухолевым потенциалом, соответствуя национальным стратегиям в области здоровья и безопасности пищевых продуктов.

Результаты проведенных исследований внедрены в образовательный процесс кафедры химической технологии древесины, биотехнологии и наноматериалов Уральского государственного лесотехнического университета. Материалы используются при обучении студентов по программам бакалавриата (19.03.01 «Биотехнология») и магистратуры (19.04.01 «Биотехнология») в рамках учебных курсов «Производство биотехнологической продукции для пищевой промышленности» и «Пищевая биотехнология».

Таким образом, работа имеет высокую научную и практическую значимость, объединяя фундаментальные исследования и промышленные приложения, и может служить основой для дальнейших разработок в области биотехнологии и пищевой промышленности.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования, включая разработку методологии, проведение экспериментов, анализ данных и интерпретацию результатов.

Соискателем предложен и реализован комплексный подход к выделению, характеристике и синтезу нативного пептида LREGIKNK из молозива коров, включая оптимизацию параметров гидролиза и применение твердофазного Fmoc-метода для получения синтетического аналога с чистотой более 90%.

Соискатель лично провел эксперименты по оценке биологической активности пептида, включая антимикробные, противовирусные и противоопухолевые тесты, а также координацию исследований его термостабильности и токсичности. Кроме того, соискатель разработал технологию производства функционального мороженого «Пломбир ванильный 15%», обогащенного пептидом LREGIKNK, обеспечив его соответствие техническим регламентам и стандартам качества. Важным этапом работы стало проведение экономического анализа, который подтвердил рентабельность производства обогащенного продукта.

Результаты исследования были систематизированы, проанализированы и легли в основу научных публикаций и диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, включая 8 статей в изданиях из перечня ВАК РФ, среди которых 2 статьи опубликованы в журналах категории К1, 3 статьи – в категории К2, и одна статья проиндексирована в базе Scopus (Q3). Соискатель активно участвовал в международных и всероссийских конференциях, где представил результаты своих исследований на ведущих научных форумах. Это способствовало широкому обсуждению и признанию его работы в научном сообществе. Личный вклад автора охватывает все этапы исследования: от теоретической разработки и экспериментальной работы до внедрения результатов в производственную практику и образовательные программы, что подчеркивает его ключевую роль в решении поставленной научной проблемы.

Таким образом, личный вклад соискателя охватывает как фундаментальные аспекты исследования, так и их практическую реализацию, что подчеркивает его ключевую роль в решении научной проблемы.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям Положения «О порядке присуждения ученых степеней»

Представленная на оппонирование диссертация выполнена в соответствии с классической структурой и занимает 148 страниц машинописного текста. Работа отличается четкой логической организацией, включающей введение, аналитический обзор современного состояния проблемы, методологическую главу, раздел с результатами исследования, выводы, список сокращений и условных обозначений, библиографический указатель, а также приложения, подтверждающие практическую реализацию научных результатов. Экспериментальные данные систематизированы на высоком уровне и представлены в 23 таблицах и 28 рисунках, что обеспечивает наглядность и достоверность изложенной информации.

Библиографический аппарат исследования отличается полнотой и репрезентативностью, включая 282 литературных источников, из которых 242 – зарубежные публикации. Это свидетельствует о глубоком анализе международного опыта по рассматриваемой теме.

Автореферат диссертации полностью соответствует содержанию работы и отвечает всем требованиям к структуре, объему, оформлению и стилю изложения. Как диссертация, так и автореферат в полной мере соответствуют нормативным требованиям ВАК при Минобрнауки России, изложенным в Положении «О порядке присуждения ученых степеней», включая критерии для работ, представляемых на соискание ученой степени кандидата наук.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Во введении диссертационной работы Мерзляковой Наталии Вадимовны представлено обоснование актуальности исследования, сформулированы стратегическая цель и конкретные задачи научного поиска, четко обозначены элементы научной новизны, а также детально раскрыты теоретическая и практическая значимость проводимого исследования. Особое внимание уделено формулировке ключевых положений, выносимых на защиту, что подчеркивает научную состоятельность работы.

Первая глава содержит систематизированный аналитический обзор современных достижений в области выделения, синтеза и изучения биологически активных пептидов из молочных продуктов. В ней дана исчерпывающая характеристика биологических свойств пептидов, рассмотрены механизмы их антимикробного, противовирусного и противоопухолевого действия. Особую ценность представляет анализ современных подходов к производству функциональных продуктов питания, обогащенных биологически активными пептидами, что послужило теоретической основой для формулировки цели и задач исследования.

Вторая глава посвящена методологическому обоснованию исследования. В ней представлена детальная характеристика объектов исследования, разработана логически выверенная схема экспериментальной работы, описаны современные методики проведения исследований и статистической обработки данных. Это обеспечивает достоверность и воспроизводимость полученных научных результатов.

Третья глава содержит результаты оригинальных исследований по выделению, синтезу и оценке биологической активности нативного пептида LREGIKNK. Особого внимания заслуживают данные по его термостабильности, отсутствию токсичности и эффективности в снижении микробной нагрузки в продуктах питания. Значимым достижением является разработка технологии производства мороженого «Пломбир ванильный 15%», обогащенного пептидом LREGIKNK, что подтверждено соответствующими техническими регламентами и ГОСТ. Экономический анализ показал рентабельность производства данного продукта, что подчеркивает его коммерческую перспективу.

Заключительная часть работы содержит научно обоснованные выводы, которые полностью коррелируют с поставленными задачами и объективно отражают основные достижения проведенного исследования.

Проведенный анализ позволяет констатировать, что диссертационная работа Мерзляковой Наталии Вадимовны является завершенным научным исследованием, направленным на решение актуальных задач в области биотехнологии и пищевой промышленности. Методология работы построена грамотно и логично, материал представлен в доступной, статистически обработанной форме, что облегчает его восприятие. Язык повествования соответствует научным стандартам и терминологическому аппарату по защищаемой специальности.

Вопросы, замечания и рекомендации по диссертационной работе

1. В разделе 3.1 диссертационной работы (на рис. 10, с. 59) представлены оптимальные параметры ферментного расщепления молозива коров для получения гидролизата с антиоксидантными и противомикробными свойствами. Однако отсутствует сравнительный анализ данных, иллюстрирующих зависимость выхода пептида и его биологической активности от варьирования таких ключевых параметров, как концентрация фермента, температура и pH. Уточните, как изменение этих параметров (например, отклонение от оптимальных значений) влияет на эффективность гидролиза и биологическую активность полученного пептида

2. В разделе 3.2.2 «Оценка субхронической токсичности пептида *in vivo*» в таблице 9 приведены результаты биохимических показателей крови мышей (АСТ, АЛТ, креатинин, мочевины). Однако отсутствует информация о возможном влиянии пептида на другие параметры крови, такие как уровень глюкозы, холестерина или гемоглобина. Какие дополнительные показатели крови были исследованы, и как они изменялись под воздействием пептида?

3. В разделе 3.2.4 в таблице 11 и на рис. 15 указано, что максимальная ингибирующая концентрация (IC_{50}) пептида LREGIKNK составляет ≥ 150 мкг/мкл. Однако, отсутствует обсуждение возможных причин высокой концентрации, необходимой для достижения эффекта. Какие факторы могут обуславливать высокую дозу, и как можно оптимизировать эффективность пептида?

4. В разделе 3.3, таблица 13 (с. 88) почему в эксперименте выбраны только временные точки 15 и 30 минут, и какие условия реакции (температура, pH, перемешивание) использовались для достижения 100% выхода за 30 минут? Были ли проведены дополнительные эксперименты для изучения кинетики реакции и подтверждения воспроизводимости результатов?

5. Выводы 5 и 6, представленные в работе описывают разработку рецептуры и технологии, а также констатируют соответствие качества нормативной документации, однако упускают ключевой практический результат – количественную оценку сохранения функциональной эффективности пептида после всего технологического процесса производства мороженого. В работе показано, что пептид термостабилен (при 95°C), однако производство мороженого включает пастеризацию при $(88 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, гомогенизацию, закаливание и хранение. В выводе не отражено, сохранил ли пептид, внесенный в реальный продукт, свою заявленную антимикробную (или иную) активность после всех этих этапов и в течение срока хранения. Указывается лишь на снижение КМАФАнМ на 96%, но не проводится прямая корреляция этого показателя с конкретной дозировкой пептида и его исходной активностью.

Вместе с тем, данные вопросы и замечания носят скорее дискуссионный характер и, безусловно, не снижают высокой научной ценности и практической значимости результатов исследования.

Заключение по диссертационной работе

На основании проведенного анализа диссертационного исследования, автореферата и научных публикаций автора считаю, что диссертационная работа Мерзляковой Н.В. представляет собой завершённое научное исследование, выполненное на высоком профессиональном уровне и органично сочетающее фундаментальные и прикладные аспекты.

Диссертационная работа Мерзляковой Н.В. в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно положениям пп. 9-14 Постановления Правительства РФ № 842 от 24.09.2013.

На основании вышеизложенного, учитывая соответствие работы всем критериям, установленным Министерством науки и высшего образования РФ, диссертационное исследование Мерзляковой Наталии Вадимовны заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Доктор технических наук, профессор,
заведующая кафедрой технологии
продуктов питания животного
происхождения ФГБОУ ВО
«Кемеровский государственный
университет»



Курбанова М.Г.

«28» 10 2025 г

Я, Курбанова Марина Геннадьевна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Мерзляковой Наталии Вадимовны и их дальнейшую обработку.

Контактные данные

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», Технологический институт пищевой промышленности.
Адрес: 650000, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, ул. Красная, д. 6.
Веб-сайт: <https://kemsu.ru>
Email: tppgs@kemsu.ru
Телефон: +7(3842)39-68-58



ФГБОУ ВО «КемГУ» Отдел кадров УРП	
ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ <i>Курбановой М.Г.</i>	
специально от УРП;	
ДОЛЖНОСТЬ <i>Тамановская</i>	ПОДПИСЬ <i>Тамановская</i>
« 28 »	10 2025 г.