

В диссертационный совет
Д 24.2.315.05 при ФГБОУ ВО
«Кемеровский государственный
университет»

ОТЗЫВ

Официального оппонента

доктора технических наук, профессора, академика РАН

Лисицына Андрея Борисовича на диссертационную работу

Ворошилина Романа Алексеевича на тему «Биотехнологии, состав и свойства гидролизатов коллагена», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ»

Актуальность темы исследований

Современное развитие биотехнологий открывает широкие перспективы эффективного использования природных ресурсов, в том числе побочных продуктов животного происхождения, как сырья в получении высокоценных биологически активных веществ. В этом контексте гидролизаты коллагена представляют собой ценный источник пептидов и аминокислот, обладающих физиологической активностью, обуславливающей широкий потенциал применения в пищевой промышленности, косметологии и медицине. Исследования в данной области способствуют не только созданию новых продуктов с высокой добавленной стоимостью, но и решают задачи устойчивого природопользования и снижения нагрузки на экологию.

Особую актуальность приобретают изучение технологии гидролиза, исследование источников сырья, условий экстракции и процесса очистки конечного продукта, как определяющих факторов, состава, свойств, биологической активности и функциональных характеристик гидролизатов коллагена. В условиях стремительного роста интереса к натуральным и функциональным ингредиентам, а также нарастающего тренда здорового образа жизни и активного долголетия, становится необходимым глубоко

изучать аминокислотный состав, молекулярно-массовое распределение и биоактивные свойства получаемых гидролизатов коллагена.

Проведение исследований в данной области важно для разработки научно обоснованных технологических процессов, обеспечивающих высокую эффективность извлечения коллагена, стабильность качества продукции и безопасность конечных продуктов, что, в свою очередь, повышает конкурентоспособность отечественных биотехнологических разработок, стимулирует интеграцию науки и производства.

Несмотря на растущий объем исследований в данной области, механизмы образования биоактивных пептидов при ферментации, а также влияние различных технологических факторов на их накопление требуют дальнейшего изучения. Разработка научно обоснованных подходов к получению гидролизатов коллагена, обладающих биоактивными свойствами, является актуальной задачей, решение которой позволит расширить ассортимент функциональных продуктов для профилактики и комплексного лечения различных заболеваний.

Таким образом, актуальность диссертационной работы Ворошилина Р.А., направленная на разработку и исследование биотехнологий, изучению состава и свойства гидролизатов коллагена, не вызывает сомнений.

Научная новизна исследований

- предложена научная концепция ресурсосберегающих биотехнологических подходов в производстве гидролизатов коллагена биокаталитическим и баромембранными методами;
- показана возможность использования полученных образцов гидролизатов коллагена в пищевой и биомедицинской промышленности;
- подтверждена эффективность разработанных схем ферментативного обезжиривания с использованием ферментов липазы;
- доказан эффект разработанных схем гидролиза коллагенсодержащего сырья с использованием ферментов микробного происхождения пепсин (*Rhizomucor miehei*), пепсин (*Bacillus subtilis*) и

ферментом протеазой поларзим (*Acremonium chrysogenum*). Результаты подтверждены исследованиями физико-химических показателей и функциональных свойств полученных образцов;

- подтверждена эффективность использования баромембранных технологий для концентрирования коллагеновых бульонов;

- установлено, что основная часть исследуемых пептидных последовательностей обладает свойствами ингибиторов АПФ и ингибиторов ДПП-IV;

- доказана значимость влияния выработанных образцов гидролизатов коллагена на восстановление структуры кожи и формирование плотного рубца на модели *in vivo* (масса груза для разрыва рубца увеличивалась на 89,0 %).

- определено, что потребление экспериментального образца гидролизатов коллагена, полученного из свиной шкурки, стимулировало иммунную систему подопытных мышей;

- доказано выраженное положительное влияние гидролизатов коллагена на степень ранозаживления;

- доказано выраженное положительное влияние гидролизатов коллагена на восстановление структуры кожи, образование волосяных фолликулов и сальных желез, формирование плотного рубца (до 90 мкм).

Практическая значимость

На основании полученных результатов исследований автором разработаны новые подходы в производстве образцов пищевого гидролизата коллагена. Выявленное наличие биоактивных свойств в полученных образцах гидролизатов коллагена позволяет рекомендовать его использование при производстве функциональных продуктов и в таргетном направлении биомедицинской промышленности.

Обобщения и выводы, сделанные в ходе исследования, не противоречат основам пищевых технологий. Результаты исследований используются в

учебном процессе ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» в рамках образовательных программ по направлениям бакалавриата 19.03.03 «Продукты питания животного происхождения», 19.03.01 «Биотехнология и магистратуры укрупненных групп направлений подготовки», 19.00.00 «Промышленная экология и биотехнологии», а также при организации научно-исследовательской и практической работы аспирантов, что подтверждено соответствующими актами.

Техническая значимость разработанных решений подтверждена четырьмя патентами Российской Федерации: № 2783233 «Способ биокаталитической обработки костного сырья», № 2800526 «Способ получения сухого быстрорастворимого желатина», № 2816712 «Способ производства желатина», № 2823831 «Вакуумная сушилка для сухих и жидких продуктов».

На основе результатов экспериментальных исследований разработана и утверждена техническая документация: ТИ № 10.13.15-284-02068309-2022 «Гидролизаты коллагена из костного сырья крупного рогатого скота», ТИ № 10.13.15-288-02068309-2023 «Гидролизаты коллагена из субпродуктов переработки сельскохозяйственной птицы», ТИ № 10.13.15-292-02068309-2023 «Гидролизаты коллагена из свиной шкуры».

Автором проведена промышленная апробация полученных результатов и внедрение в производство образцов гидролизатов коллагена в соответствии с разработанной технической документацией, производственными базами исследований и внедрения служили: ООО НПО «Здоровое питание» (г. Кемерово), ООО «Биолит» (г. Томск) и ООО «Да» (г. Владикавказ).

Достоверность результатов и основных выводов диссертации

Достоверность результатов экспериментальной части исследования подтверждается задействованными современными техническими средствами и стандартными методологическими подходами, признанными в научной среде. Результаты исследований подтверждаются промышленной апробацией, публикациями в рецензируемых научных журналах и

представлением на региональных, российских и международных научно-практических профильных конференциях, что свидетельствует о достоверности и широком представлении полученных результатов.

Оценка содержания работы, её завершенность

Во введении автором обоснована актуальность проведения научно-исследовательских работ, сформулированы научная новизна, практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

В первой главе осуществлен всесторонний анализ отечественной и зарубежной научной литературы по исследуемой проблематике, определены цели и задачи диссертационного исследования. Проведен детальный анализ научно-технической базы, касающейся общих понятий, связанных с гидролизатами коллагена и белковыми ингредиентами, получаемыми из вторичных сырьевых ресурсов животного происхождения. Осуществлен обзор существующих технологий и технических возможностей производства гидролизатов коллагена. Рассмотрены современные методы получения белковых ингредиентов на основе сырья животного происхождения, включая технологии выделения биоактивных пептидов. Также представлены научные данные о биологическом воздействии белковых ингредиентов на организм. На основе проведенного анализа сформулированы цель и задачи диссертационного исследования, направленные на разработку эффективных методов производства и применения гидролизатов коллагена в различных отраслях.

В третьей главе автором сформулирована общая научная концепция исследования. Проведен анализ потенциала сырьевой базы Сибирского Федерального округа в контексте производства гидролизатов коллагена. Представлены результаты научного обоснования выбора сырья для данного процесса. Осуществлена оптимизация технологических этапов подготовки коллагенсодержащего сырья к последующему производству гидролизатов коллагена. Также выполнен подбор и обоснование выбора ферментов для эффективного проведения ферментативного обезжиривания исходного сырья.

Предложены схемы по оптимизации процесса обезжиривания сырья с использованием ферментов.

В четвертой главе представлены результаты по подбору ферментов для проведения исследований на стадии гидролиза коллагенсодержащего сырья. Представлены результаты исследований влияния предложенных параметров разработанных схем гидролиза на эффективность данного процесса. Научно и практически обосновано применение баромембранных технологий на этапах фильтрации и концентрирования коллагеновых бульонов. Также автором осуществлен подбор параметров распылительной сушки для полученных гидролизатов коллагена. Определено влияние разработанных технологий на основные физико-химические показатели гидролизатов, включая молекулярно-массовое распределение и аминокислотный состав.

В пятой главе представлены результаты молекулярного моделирования структуры и качественных характеристик полученных образцов гидролизатов коллагена. Автором была разработана топологическая модель, отражающая распределение гидрофобных и гидрофильных свойств аминокислот в составе гидролизатов коллагена, а также их трансмембранный потенциал. Проведена оценка потенциальных биоактивных свойств данных соединений с использованием модели *in silico*.

В шестой главе представлены результаты биологического эксперимента, направленного на изучение эффективности и характеристик полученных образцов гидролизатов с применением *in vivo* методов. Оценено влияние разработанных образцов гидролизатов коллагена на динамику изменения массы тела, а также на биохимические и морфологические показатели сыворотки крови экспериментальных животных. Кроме того, представлены результаты некроскопических и гистологических исследований подопытных животных. На основании проведенных исследований, с использованием тензиометрического тестирования раневой поверхности, автором проведена оценка влияния гидролизатов коллагена на степень заживления ран после моделирования плоскостных ран оперативным путем.

В седьмой представлена практическая реализация комплексной

технологии производства гидролизатов коллагена с использованием ферментов в кислотной и щелочной среде с применением ферментных и баромембранных технологий. Автором осуществлен всесторонний анализ потенциальных рисков, связанных с производством гидролизатов, а также проведен детальный расчет экономической эффективности разработанной технологии.

В заключении представлены выводы, которые соотносятся с поставленными задачами, отражают основные результаты работы.

В приложениях представлены: Разработанная нормативная документация; Копии отчетов о научно-исследовательской работе по хоздоговорной тематике; Патенты РФ; Акты промышленной апробации и внедрения; Акт внедрения результатов исследований в учебный процесс; Графики расчёта концентрации азота в образцах гидролизатов коллагена; Результаты анализа аминокислотной последовательности; Протокол Комиссии по биоэтике на проведение исследований и др.

Автореферат отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

В целом, содержание диссертационной работы соответствует пунктам 5, 6, 8, 15, 16, 25, 26, 29 паспорта специальности ВАК 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Публикация результатов исследований

Результаты исследований, выполненные Ворошилиным Р.А., обсуждались на профильных научно-практических конференциях всероссийского и международного уровня.

Содержание диссертационной работы опубликовано в более 80 научных работах, в том числе в 8 статьях, индексируемых в международных базах цитирования Scopus и/или Web of Science, 18 статьях в журналах, рекомендованных ВАК, 17 из которых входят в категории K1-K2, в одной монографии, в 50 материалах конференций, четырех патентах на изобретение, трех отчетах НИОКР, двух учебных пособиях.

Анализ основных результатов и выводов

Отмечая актуальность, научную обоснованность и практическую значимость диссертационной работы, необходимо обратить внимание автора на следующие замечания и рекомендации:

1. Следует пояснить, почему на этапе обезжиривания для двух видов сырья (костное сырье и ноги цыплят-бройлеров) применяется один препарат, а для мягкого коллагенсодержащего сырья другой?

2. Традиционно процесс получения гидролизатов основывается на биотехнологических методах с использованием мягкого коллагенсодержащего сырья. В связи с этим возникает вопрос о целесообразности применения костного сырья, так как его обработка для выделения коллагена представляет собой более сложную задачу.

3. Целесообразно было оценить различные степени измельчения сырья на процесс его обезжиривания. В проведенном эксперименте данный параметр принят постоянным.

4. В работе не указано, в каком виде (сухом, суспензия, раствор) используется фермент на этапах обезжиривания и гидролиза исследуемого коллагенсодержащего сырья.

5. Почему на этапе гидролиза для разных типов сырья использовались различные ферменты, и какие научные и технические критерии служили основанием для выбора конкретных ферментов?

6. В тексте диссертации отсутствует информация о направлении использования пермеата (фильтрата), который образуется в процессе фильтрации гидролизатов коллагена с применением полимерных УФ-мембран. Необходимы пояснения относительно направления применения пермеата (фильтрата).

7. В связи с чем в Главе 6 «Проведение экспериментов по изучению биологической эффективности и свойств полученных образцов гидролизатов методом *in vivo*», автором было выбрано изучение влияния выработанных гидролизатов на процесс ранозаживления после операционного моделирования плоских ран у исследуемых лабораторных животных?

Высказанные замечания носят дискуссионный характер и не снижают положительной оценки диссертационного исследования.

Заключение

В диссертационном исследовании, выполненном Ворошилиным Романом Алексеевичем, разработаны и научно обоснованы биотехнологические способы получения и оценки биологического потенциала гидролизатов коллагена, получаемых из коллагенсодержащего сырья. Экспериментальное подтверждение предложенных методологических подходов свидетельствует об их высокой эффективности и потенциале в сфере биотехнологических исследований и разработок.

Диссертационная работа Ворошилина Романа Алексеевича на тему «Биотехнологии, состав и свойства гидролизатов коллагена» представляет собой актуальное, завершенное научно-квалификационное исследование, полностью соответствующее требованиям, установленным в п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ (постановление №842 от 24.09.2013 г.), а её автор Ворошилин Роман Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Официальный оппонент:

доктор технических наук, профессор, академик РАН,
лауреат Государственной премии РФ,
ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН, научный руководитель



Лисицын А.Б.

19.06.2025

109316, Москва, ул. Талалихина, 26
ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН
e-mail: info@fncps.ru
Тел. +7-495-676-95-11