

ОТЗЫВ

доктора технических наук, доцента Ульрих Елены Викторовны
на автореферат диссертации Ворошилина Романа Алексеевича
«БИОТЕХНОЛОГИИ, СОСТАВ И СВОЙСТВА
ГИДРОЛИЗАТОВ КОЛЛАГЕНА»,

представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности
4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

Перед пищевой, биотехнологической и химической промышленностью стоит важная задача – создание новых высококачественных продуктов, соответствующих требованиям международных стандартов. Одним из перспективных направлений в этих отраслях является производство пищевых и медицинских гидроколлоидов, включая гидролизаты коллагена, которые пользуются спросом, как на внутреннем, так и на международном рынке. В России актуальной проблемой является производство отечественных стерильных пищевых и медицинских гидролизатов коллагена. Потребность в этом сырье растёт с каждым годом и в среднем составляет более 15 тысяч тонн в год.

Необходимо отметить, что технология производства гидролизатов коллагена включает в себя большое количество технологических операций и процессов, как на стадии подготовки сырья, так и на стадии основного процесса. Из-за большого объема технологических операций производство энергозатратно и занимает достаточно продолжительное время. В условиях современного производства следует уделить внимание эффективному комплексному подходу в создании пищевых и биомедицинских гидролизатов на основе животного сырья, направленному на сокращение энергозатрат и значительно уменьшить продолжительность процесса производства. В связи с чем необходимо разрабатывать биотехнологические подходы в производстве, которые смогут позволить получать продукт с заданными биоактивными свойствами. При должной поддержке и развитии, производство гидролизатов коллагена в России может стать более эффективным и востребованным направлением, способствуя импортозамещению и укреплению отечественного производства.

Методология исследований логична и последовательна. Цель данной работы – разработка биотехнологии производства гидролизатов коллагена, обладающих биоактивными свойствами.

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством экспериментов, применением современного лабораторного оборудования, стандартных и инновационных методов исследования и статистической обработкой полученных данных.

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.

Научная новизна данного диссертационного исследования согласуется с пп. 5, 6, 8, 15, 16, 25, 26, 29 паспорта специальности ВАК 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ». Научная новизна работы заключается в следующем:

В диссертационном исследовании Ворошилина Р.А. предложена научная концепция ресурсосберегающих биотехнологических подходов в производстве гидролизатов коллагена биокаталитическим и баромембранными методами. На основании молекулярного докинга показана возможность использования полученных образцов гидролизатов коллагена в пищевой и биомедицинской промышленности.

Ворошилиным Р.А. подтверждена эффективность разработанных схем ферментативного обезжиривания с использованием ферментов липазы при обезжиривании образцов исследуемого коллагенсодержащего сырья (выход жира в опытных образцах составляет от 10 до 18 %).

Автором доказано, что фермент микробиального происхождения пепсин (*Rhizomucor miehei*) с ферментной активностью $5 \cdot 10^{-3}$ кат, концентрацией фермента $0,15 \pm 0,01$ % от массы костного сырья крупного рогатого скота (КРС) в соотношении сырья и растворителя 1М HCl масса/объем 1:3 и продолжительностью обработки 480 мин при pH 1,5, температуре $50 \pm 0,5$ °C способствует выходу коллагена в количестве от 15,8 % по отношению к массе исходного сырья. В ходе гидролиза ног цыплят-бройлеров доказано, что обработка ферментом микробиального происхождения пепсин (*Bacillus subtilis*) с активностью $2 \cdot 10^{-3}$ кат, концентрацией фермента $0,2 \pm 0,01$ % от массы сырья в соотношении сырья и растворителя 1М HCl масса/объем 1:2 и продолжительностью обработки 120 мин при pH 1,5, температуре $55 \pm 0,5$ °C способствует выходу коллагена в количестве от 16,4 % по отношению к массе исходного сырья. В процессе исследования разработанных схем гидролиза свиной шкурки доказано, что обработка ферментом протеазой поларзим (*Acremonium chrysogenum*) с ферментной активностью $6 \cdot 10^{-4}$ кат, концентрацией фермента $0,3 \pm 0,01$ % от массы сырья в соотношении сырья и растворителя масса/объем 1:4 и продолжительностью обработки 120 мин при pH 10,5, температуре $60 \pm 0,5$ °C способствует выходу коллагена в количестве от 17,3 % по отношению к массе исходного сырья.

Автором исследования подтверждена эффективность использования баромембранных технологий (ультрафильтрация полимерными мембранами при давлении в пределах 0,30 мПа) для концентрирования коллагеновых бульонов: концентрация раствора по отношению к белкам исходного коллагенового бульона увеличилась на 62 %, по отношению к сухим веществам – на 63 %.

В модели *in silico* автором исследованы структура и свойства полученных образцов гидролизатов коллагена, определены потенциальные биоактивные свойства выработанных гидролизатов по аминокислотной последовательности. Установлено, что основная часть исследуемых пептидных последовательностей должна обладать свойствами ингибиторов АПФ и ингибиторов ДПП-IV. При исследовании биологического эффекта и безопасности полученных продуктов на модели *in vivo* установлено, что употребление подопытными животными гидролизатов коллагена из ног цыплят-бройлеров, в количестве 3 % от суточного калоража способствовало образованию более прочного рубца и эффективному протеканию процесса ранозаживления.

Доказана значимость влияния выработанных образцов гидролизатов коллагена на восстановление структуры кожи и формирование плотного рубца (до 90 мкм). Определено, что потребление экспериментального образца гидролизатов коллагена, полученного из свиной шкурки, стимулировало иммунную систему подопытных мышей (выявлено повышение концентрации лейкоцитов до 24,4 %, моноцитов – в 1,75 раза). Доказано выраженное положительное влияние на степень ранозаживления – масса груза для разрыва рубца увеличивалась на 89,0 %.

Теоретическая и практическая значимость состоит в том, что на основании полученных результатов исследований разработаны новые подходы в производстве образцов пищевого гидролизата коллагена. Наличие биоактивных свойств полученных образцов гидролизатов коллагена позволяет рекомендовать его использование при производстве функциональных продуктов и в биомедицинской промышленности для производства продукции таргетной направленности.

Обобщения и выводы, сделанные в ходе исследования, используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» в рамках образовательных программ по направлениям бакалавриата, а также при организации научноисследовательской и практической работы аспирантов.

Техническая значимость разработанных решений подтверждена четырьмя патентами РФ.

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». Проведена промышленная апробация и внедрение в производство образцов гидролизатов коллагена в соответствии с разработанной технической документацией в ООО НПО «Здоровое питание» (г. Кемерово), ООО «Биолит» (г. Томск), ООО «Да» (г. Владикавказ).

Вопросы и замечания к работе:

1. В диссертационном исследовании на стр. 10 указано: «Деактивацию фермента проводили после удаления жировой фазы с помощью нагрева свежего костного сырья КРС до температуры 80 °С», в то время, как на стр. 16 сказано, что «В проводимых исследованиях температурные режимы устанавливали в пределах 40 °С, так как, повышение температуры выше указанного значения приведет к изменению нативной конформации белка».

Просьба пояснить такое расхождение в температурах обработки, тем более, что анализ литературы показывает факт превращения коллагена в желатин уже при 50°С. Желатин, безусловно, ценен, но работа посвящена коллагену.

2. На стр. 16 (последний абзац) присутствует фраза «...во-вторых, избирательно удалять низкомолекулярные соединения». Каким образом подтверждается факт наличия именно низкомолекулярных соединений?

3. Распылительная сушка является разрушительным методом высокотемпературной обработки коллагенсодержащего сырья. Почему автор не использовал для этих целей, например, сублимационную сушку?

Однако, указанные замечания имеют уточняющий характер, не снижают научной и практической ценности диссертационного исследования.

В целом, работа Ворошилина Р.А. выполнена на высоком научном уровне и удовлетворяет требованиям, предъявляемым ВАК РФ к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Доктор технических наук, доцент,
директор Химико-аналитического ресурсного центра,
профессор кафедры производства и экспертизы качества
сельскохозяйственной продукции,
профессор кафедры инжиниринга технологического оборудования
ФГБОУ ВО «Калининградский государственный
технический университет»

05.18.04 – Технология мясных, молочных и
рыбных продуктов и холодильных производств
236022, Северо-Западный федеральный округ,
Калининградская обл., г. Калининград,
Советский проспект, д. 1
e-mail: elen.ulrich@mail.ru
тел: +7-904-960-94-96



Ульрих Е.В.

Я, Ульрих Елена Викторовна, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета и их дальнейшую обработку.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Калининградский государственный Технический университет»

Адрес: 236022, Северо-Западный федеральный округ, Калининградская обл., г. Калининград, Советский проспект, д. 1

e-mail: rector@klgtu.ru

тел: +7 (4012) 99-59-01