

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 99.0.027.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ РОССИЙСКОГО ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ТВЕРСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО ТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА МИНИСТЕРСТВА
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ,
ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ
ИМЕНИ Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело

№ _____

решение диссертационного
совета

от «24» декабря 2024 года № 18

О присуждении Базулевой Виктории Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Свойства и практическое применение белково-фосфатного комплекса, полученного из *Phaseolus vulgaris* (Kidney bean)» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите «22» октября 2024 года (протокол заседания № 15) диссертационным советом 99.0.027.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук (125047, Москва, Миусская площадь, 9, приказ о создании диссертационного совета от «28» сентября 2016 года №1172/нк).

Соискатель Базулева Виктория Александровна, «28» января 1993 года рождения, в 2015 году окончила Тверской государственный технический университет. В 2019 году освоила программу подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре Тверского государственного технического университета.

Работает преподавателем кафедры биотехнологии, химии и стандартизации Тверского государственного технического университета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре биотехнологии, химии и стандартизации Тверского государственного технического университета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Прутенская Екатерина Анатольевна, заведующий кафедрой биохимии и биотехнологии Тверского государственного университета, доцент кафедры биотехнологии, химии и стандартизации Тверского государственного технического университета (по совместительству).

Официальные оппоненты:

Серегина Инга Ивановна, доктор биологических наук, профессор кафедры агрономической, биологической химии и радиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»;

Фоменко Иван Андреевич, кандидат технических наук, доцент кафедры биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий» (Воронеж) в своем *положительном* отзыве, подписанном Корнеевой Ольгой Сергеевной, доктором биологических наук, профессором, и.о. проректора по научной и инновационной деятельности, указала, что диссертация является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития промышленной биотехнологии. Диссертация полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 в действующей редакции), а ее автор, Базулева Виктория Александровна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры биохимии и биотехнологии «13» ноября 2024 года, протокол № 5).

Соискатель имеет 33 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации опубликовано 29 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 работы. Общий объем публикаций составляет 118 страниц. *В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах.* Все работы опубликованы с соавторами. Личный вклад в работы, опубликованные в соавторстве, составляет не менее 80 % и состоит в разработке концепции исследования, постановке задач, выполнении исследований и полученных результатов. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 18 международных и всероссийских научных конференциях и форумах; монографий и депонированных рукописей соискатель не имеет.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Базулева В.А.** Анализ размеров белковых молекул, полученных из бобового растительного материала / В.А. Базулева, Е.А. Прутенская, О.В. Манаенков // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022. Т. 25. № 1. С. 34-38. (CAS)

2. **Базулева В.А.** Характеристика свойств белково-фосфатного комплекса, выделенного из *Phaseolus vulgaris* в ультразвуковом поле / В.А. Базулева, Е.А. Прутенская., М.Е. Григорьев // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2023. № 4. С. 49-56. (CAS)

3. **Silchenko (Bazuleva) V.** Development of technology for the processing of beans in protein products and biofuel / V. Silchenko (Bazuleva), E. Prutenskaya, E. Sulman, A. Stepacheva, M. Sulman // 20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2020. 2020. Vol. 6.1. P. 231-236. (Scopus)

4. **Silchenko (Bazuleva), V.A.** A method of producing vegetable inhibitors isolated from the seed of bean. Application in pharmaceuticals / V.A. Silchenko (Bazuleva), E.A. Prutenskaya, E.M. Sulman, E.A.Savchenko // 23rd International Congress of Chemical and Process Engineering, CHISA 2018 and 21st Conference on Process Integration, Modelling and Optimisation for Energy Saving and Pollution Reduction, PRES 2018. 2018. Vol. 23. P. 402. (Scopus)

На диссертацию и автореферат поступило 10 отзывов, *все положительные*. В отзывах указывается, что представленная к защите диссертационная работа характеризуется высокой актуальностью, научной ценностью и имеет большое значение для теории и практики биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации. Отзывы направили:

1. Бабенко Александра Николаевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». Замечаний нет.

2. Титова Вера Ивановна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий кафедрой «Агрохимия и агроэкология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородский государственный агротехнологический университет имени Л.Я. Флорентьева». В отзыве приводятся следующие замечания и вопросы: (1) в автореферате не указаны окончательные условия получения белково-фосфатного комплекса, и не отмечено, какие же условия процесса сушки полученного препарата являются оптимальными? (2) почему при ультразвуковой обработке первоначально увеличивается выход белка, а затем на 15^{ой} минуте снижается, и его количество становится даже меньше, чем при 5-минутной обработке? С чем это связано?

3. Дворецкий Дмитрий Станиславович, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Технологии и оборудование пищевых и химических производств» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тамбовский государственный технический университет», и Устинская Яна Витальевна, кандидат технических наук, доцент той же кафедры. В отзыве имеется вопрос: исследовалось ли влияние режимов ультразвуковой обработки на ингибирующую активность белково-фосфатного комплекса в отношении *Aspergillus oryzae*?

4. Стадольникова Полина Юрьевна, кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории разработки и исследования полифункциональных

катализаторов №14 Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук. В отзыве имеются замечания и вопросы: (1) почему оптимальное время выдерживания семян в растворе ингибиторов – 15 минут? (2) в автореферате не приведена степень сбраживания крахмалсодержащего жмыха (не даны значения, отражающие содержание спирта в отогнанном растворе); (3) как повлияет ингибирование амилазной активности на переваривание крахмала при дальнейшем использовании зерна, обработанного белково-фосфатным комплексом, при кормлении сельскохозяйственных животных?

5. Фомичева Наталья Викторовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией микробиологии и экологической биотехнологии отдела биотехнологий Всероссийского научно-исследовательского института мелиорированных земель – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального исследовательского центра «Почвенный институт им. В.В. Докучаева». В отзыве приведены следующие замечания и вопросы: (1) из рисунка 3 автореферата видно, что наибольшее понижение активности грибной амилазы наблюдается при концентрациях ингибитора $(0,1-0,4) \cdot 10^{-4} \%$, однако в тексте указан диапазон концентраций от $0,01 \cdot 10^{-4} \%$ до $0,1 \cdot 10^{-4} \%$? С чем связано увеличение активности рассматриваемого фермента при использовании ингибитора в концентрациях более $0,4 \cdot 10^{-4} \%$? (2) из текста автореферата непонятно из красной или белой фасоли рекомендуется выделять белково-фосфатный комплекс, обладающий наибольшей ингибиторной активностью по отношению к α -амилазам? (3) для подтверждения ингибиторной функции белково-фосфатного комплекса рекомендуется проверить его эффективность на семенах других сельскохозяйственных культур; (4) рекомендуется проверить качество семян во времени после применения белково-фосфатного комплекса; (5) в тексте автореферата встречаются опечатки. На некоторых рисунках отсутствует статистическая обработка экспериментальных данных.

6. Скиба Екатерина Анатольевна, доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биоконверсии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук. Вопрос: является ли целесообразным применение ультразвука для извлечения белково-фосфатного комплекса из семян фасоли?

7. Витол Ирина Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории «Биохимия и микробиология зерна и зернопродуктов» Всероссийского научно-исследовательского института зерна и продуктов его переработки – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» Российской академии наук. В отзыве имеются следующие вопросы: (1) почему в работе игнорируется известный факт – наличие в семенах бобовых мощных белковых ингибиторов протеолитических ферментов как эндогенных (собственных), так и экзогенных (пищеварительных, микробных, протеиназ насекомых, протеиназ злаковых – пшеницы, ржи, тритикале, ячменя), которые при таком способе выделения с высокой долей вероятности будут

содержаться в получаемом белково-фосфатном комплексе? (2) почему выбор способа осаждения белка был ограничен только изучением органических растворителей (этанол, толуол, ацетон)? (3) из автореферата не ясно, являются ли температура 30 °С и рН 8 оптимальными для действия α -амилазы *Aspergillus oryzae* и температура 30 °С и рН 7,13 для панкреатической амилазы, а время – 20 минут соответствует ли начальным скоростям ферментативных реакций?

8. Пролетова Наталья Викторовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории селекционных технологий, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур». В отзыве представлены замечания: (1) с какой целью автор для осаждения белковых веществ использовал разбавление спирта до 50 и 10%? (2) на стр. 7 автор, ссылаясь на данные таблицы 1, в качестве экстрагента выбирает фосфатный буфер с рН 8 и наибольшим содержанием белка 263 мг/г. (3) полагаю, что в выводе 4 говорить об ингибиторной активности белково-фосфатного комплекса, полученного из семян *Phaseolus vulgaris* (*Kidney bean*) к L-амилазе зерновых культур не совсем корректно, т.к. автор исследования проводил лишь на зерне ржи сорта Дымка, а «зерновые культуры» подразумевают проведение исследований хотя бы на нескольких культурах.

9. Хозиев Алан Макарович, кандидат сельскохозяйственных наук, декан факультета «Биотехнология», доцент кафедры «Биотехнология и стандартизация», Хамицаева Алла Смалиевна, доктор технических наук, доцент, профессор кафедры «Технология продукции и организации общественного питания» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет». Авторы отзыва указали на отсутствие структурной схемы исследований в автореферате, что затруднило восприятие материала.

10. Тактаров Эдуард Александрович, кандидат технических наук, директор по продажам общества с ограниченной ответственностью «Авиаген». В отзыве приведены следующие замечания и вопросы: (1) на рисунке 3 отсутствуют статистические отметки о погрешностях; (2) не обозначен выбор сорта фасоли; (3) обладают ли ингибирующим действием фосфаты, составляющие значительную часть белково-фосфатного комплекса?

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются специалистами в данной области биотехнологии, что подтверждается наличием публикаций по проблематике защищаемой диссертации в ведущих научных рецензируемых изданиях, а также спецификой и профилем диссертационной работы, и выполнен в соответствии с пп. 22 и 24 «Положения о присуждении научных степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 действующей редакции).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработан способ получения белково-фосфатного комплекса из семян фасоли *Phaseolus vulgaris* (*Kidney bean*); выявлена ингибиторная активность белково-фосфатного комплекса в отношении α -амилазы *Aspergillus oryzae*, панкреатической амилазы и амилаз семян ржи; доказано влияние ультразвукового воздействия при экстракции белка на химический состав

и биологическую активность полученного белково-фосфатного комплекса; предложено использование белково-фосфатного комплекса в качестве консерванта фуражного зерна при хранении.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что: изучено влияние белково-фосфатного комплекса на амилазы различного происхождения, определены характеристики воздействия ультразвука на физико-химические и биологические свойства белково-фосфатного комплекса, выявлены закономерности влияния ультразвука на белково-фосфатный комплекс, которые обеспечивают получение целевого продукта с высокой ингибиторной активностью.

Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждается тем, что: разработан способ получения белково-фосфатного комплекса из семян фасоли *Phaseolus vulgaris* (*Kidney bean*); предложены возможности использования белково-фосфатного комплекса в сельскохозяйственной отрасли и биотехнологии; установлены ингибиторные свойства белково-фосфатного комплекса по отношению к α -амилазам *Aspergillus oryzae*, панкреатической амилазе и амилазам семян ржи; представлены данные по подавлению белково-фосфатным комплексом прорастания зерна и фитопатогенных грибов зерна.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- теория построена на фундаментальных законах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- результаты получены на сертифицированном оборудовании, и их достоверность обеспечена использованием современных методов эксперимента, соответствующих современному научному уровню;
- показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;
- выводы диссертации обоснованы, не вызывают сомнения и согласуются с современными подходами к выбору объектов и методов.

Личный вклад соискателя состоит во включенном участии на всех этапах процесса: постановке цели и соответствующих задач исследования, поиске и анализе научной литературы по тематике исследования, проведения экспериментов и получении исходных данных, обработке и анализе экспериментальных данных, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были заданы следующие вопросы:

1. Сколько сырого протеина извлекается из фасолевой муки? Извлекается ли весь белок?
2. Смотрели ли молекулярные массы в распределении? Белково-фосфатный комплекс – это белок или пептидные составляющие?
3. Каково ингибирующее влияние комплексов из различных сортов фасоли? Различаются ли они по активности?
4. Если вы ингибируете фермент амилазу белково-фосфатным комплексом, а затем даете корм с этим белковым комплексом животным, то не будет ли тут отрицательного эффекта, то есть животные будут не набирать вес, а терять его?
5. Каков механизм действия белково-фосфатного комплекса?

6. Чем обусловлен выбор исследования белково-фосфатного комплекса на амилазах?
7. Растворим ли белково-фосфатный комплекс в воде?

Соискатель В.А. Базулева ответила на заданные ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На первый вопрос автор пояснила, что содержание протеина составило 39,2%. Извлекается весь белок, в конечном продукте крахмала и сопутствующих веществ не было обнаружено.

На второй вопрос автор ответила, что на анализаторе частиц смотрели эффективный диаметр. Белково-фосфатный комплекс – это белковые структуры.

На третий вопрос автор уточнила, что сравнивали белую и красную фасоль по содержанию белка. В белой фасоли оказалось белка ниже, и ингибиторная активность была немного ниже, поэтому красную фасоль выбрали для дальнейших исследований.

На четвертый вопрос автор объяснила, что фуражное зерно подвергается при скармливании экструзии, либо термической обработке. Обычно в сухом виде его не используют, либо добавляют в комбикорма, то есть он будет подвергаться термической обработке, при этом белково-фосфатный комплекс будет терять свою активность, поскольку имеет белковую структуру.

На пятый вопрос автор указала, что имеет место конкурентное ингибирование, и белково-фосфатный комплекс подавляет действие амилаз благодаря своей структуре.

На шестой вопрос автор ответила, что было рассмотрено влияние белково-фосфатного комплекса на грибную амилазу *Aspergillus oryzae* и панкреатическую α -амилазу. Грибную амилазу использовали, потому что эту амилазу содержат микроорганизмы, присутствующие на зерне. Что касается панкреатической α -амилазы, многие насекомые, вредители, которые живут на зерне, также имеют у себя ферменты амилазы, для их подавления и нужен белково-фосфатный комплекс.

На седьмой вопрос автор ответила, что белково-фосфатный комплекс хорошо растворяется в воде при небольшом нагревании.

На заседании «24» декабря 2024 года диссертационный совет за решение научной задачи по изучению физико-химических и биологических свойств белково-фосфатного комплекса из *Phaseolus vulgaris* (Kidney bean) как перспективного ингибитора амилаз, имеющей значение для развития биотехнологии и сельского хозяйства, принял решение присудить Базулевой Виктории Александровне ученую степень кандидата биологических наук.

Диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в действующей редакции). По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) по направлениям исследования 7. «Прикладная энзимология, включая ферментные системы, технологии очистки белков, прикладные аспекты белковой инженерии» и 22. «Технологии биологически-активных соединений и биопрепаратов». Результаты работы могут быть рекомендованы для изучения и внедрения в научных и образовательных

организациях, где ведутся исследования и разработки по созданию новых энзимных биопрепаратов в интересах промышленной биотехнологии и сельскохозяйственной отрасли.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 18 докторов наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18 (восемнадцать), против – нет, недействительных бюллетеней – 1 (один).

Председатель диссертационного совета  Виктор Иванович Панфилов

Ученый секретарь диссертационного совета Ирина Васильевна Шакир



24.12.2024



