

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Серегиной Инги Ивановны на диссертационную работу

Базулевой Виктории Александровны

«Свойства и практическое применение белково-фосфатного комплекса, полученного из *Phaseolus vulgaris* (*Kidney bean*)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертации.

Одним из современных направлений биотехнологии является получение биологически активных веществ белковой природы. При этом в качестве источника белка используют различные организмы. Растительное сырье для производства белков значительно дешевле, чем сырье животного происхождения, более доступно и требует меньших затрат для хранения и транспортировки. Это очень важно для получения препаратов сельскохозяйственного назначения.

Существует достаточно большое количество способов выделения и получения белковых веществ из растительного сырья, но не все технологические решения позволяют сохранить биологическую активность получаемых веществ.

В связи со всем вышеуказанным, можно сказать, что работа является актуальной и имеет практическое применение.

Научная новизна исследования.

Диссертация обладает несомненной научной новизной, так как полученный белково-фосфатный комплекс впервые в России и за рубежом был предложен в качестве консерванта фуражного зерна. Действие препарата основано на подавлении амилолитической активности зерна и микрофлоры зерна. Выявлена ингибиторная активность белково-фосфатного комплекса в отношении α -амилазы *Aspergillus oryzae*, панкреатической амилазы и амилаз семян ржи. Определено влияние белково-фосфатного комплекса на всхожесть зерна ржи сорта «Дымка». Автором диссертационной работы экспериментально подтверждено, что происходит подавление прорастания семян при обработке фуражного зерна.

Теоретическая и научно-практическая ценность полученных результатов.

Теоретическая ценность работы заключается в расширение представлений о влиянии белково-фосфатного комплекса на жизнеспособность зерна. Представлены сведения о выявленных закономерностях влияния ультразвука на белково-фосфатный комплекс, которые позволяют получить целевой продукт с более высокой ингибиторной активностью.

На основании экспериментальных данных был разработан способ получения белково-фосфатного комплекса из фасоли, обладающего ингибиторной активностью по отношению к α -амилазам, на который была подана заявка на патент. Установлено, что при обработке семян ржи белково-фосфатным комплексом происходит падение всхожести семян в результате торможения ростовых процессов за счет ингибирования амилаз зерна. Определены параметры ингибирования α -амилазы *Aspergillus oryzae* и панкреатической амилазы белково-фосфатным комплексом, что может быть использовано для создания фунгицидных композиций. Определены способы обработки зерна и концентрации белково-фосфатного комплекса, приводящие к ингибированию амилаз зерна, что является необходимым для разработки консерванта фуражного зерна.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов исследования.

Полученные результаты представлены большим количеством экспериментальных данных, которые обработаны методами математической статистики, на основании чего можно делать выводы о достаточно высокой степени аргументированности и достоверности.

Публикация и апробация результатов исследования.

По материалам диссертации опубликовано 29 печатных работ, в том числе 2 работы в изданиях из рекомендованного перечня ВАК Минобрнауки РФ, 2 работы, входящие в международную реферативную базу данных Scopus, 1 заявка на патент. Полученные результаты доложены в разные годы на более чем десяти Международных и Всероссийских конференциях.

Структура и содержание диссертационной работы.

Диссертация построена по классической схеме и состоит из введения, трех глав: обзор литературы, объекты и методы исследований, результаты и обсуждение, выводов и списка используемой литературы. Материалы

диссертации изложены на 142 страницах машинописного текста. Работа содержит 47 рисунков, 8 таблиц. В списке используемой литературы представлено 192 источниками.

В введении представлены актуальность, цель и задачи исследования, описаны научная новизна и практическая значимость работы, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов. Отражены личный вклад автора в выполнении работы, публикации по материалам диссертации.

В первой главе «Обзор литературы» Базулева В.А. рассматривает состояние и перспективы развития белкового производства в Российской Федерации, вопросы, связанные с выбором сырья для исследования. Представлен сравнительный анализ химического состава растительного сырья белковых веществ. Описаны способы переработки бобовых культур с целью получения белковых веществ. Представлены химические методы защиты фуражного сырья. Выявлены достоинства и недостатки современных консервантов зерна.

В конце первой главы представлен вывод, в котором автор обосновывает выбор фасоли в качестве сырья для получения белковых веществ, используемых в качестве консерванта фуражного зерна.

Во второй главе «Объекты и методы исследования» представлена характеристика объекта исследования - фасоли, амилолитических ферментов, описаны использованные методы исследования, в том числе разработанные автором.

Совокупность разнообразных современных физико-химических методов исследования и классических биохимических (определение амилолитической активности), микробиологических методов свидетельствуют о высокой подготовке специалиста.

В третьей главе представлены исследования по получению белково-фосфатного комплекса, обладающего ингибиторной активностью по отношению к амилазам. Первым этапом исследований являлось определение оптимальных условий получения белково-фосфатного комплекса, обладающего наибольшей ингибиторной активностью по отношению к амилазам. Показано влияние ультразвука на физико-химические свойства полученного препарата и крахмала, который в дальнейшем рекомендует

автор использовать в качестве источника углерода на биотехнологических производствах.

Следующим этапом работы стало изучение влияния белково-фосфатного комплекса на активность α -амилаз *Aspergillus oryzae*, панкреатическую амилазу. Были так же проведены опыты по выявлению существования сортовых особенностей исследуемой культуры на величину ингибирующей способности белково-фосфатного комплекса.

Далее изучался состав фасолевой муки, полученного белково-фосфатного комплекса и крахмального жмыха. Было доказано, что в состав полученного комплекса не входят липиды и фенолы. Однако в составе комплекса были обнаружены гликопротеиды, которые согласно литературным данным, обладают высокой ингибиторной активностью по отношению к амилазам. С помощью современных физико-химических методов анализа была показана разница между препаратами, полученными без ультразвукового воздействия и с ним.

Затем автор изучала эффективность использования получаемых белковых препаратов из семян красной фасоли сорта Кидни для пропаривания семян озимой ржи Дымка с целью ингибирования процессов прорастания. Была определена грибная сапрофитная микрофлора, развивающаяся при прорастании семян и обнаруженные при хранении. Изучено влияние различных способов обработки семян ржи белково-фосфатным комплексом на их прорастание. Для получения устойчивого эффекта Викторией Александровной были проведены исследования обработанных семян ржи через 8 месяцев после консервирования. Для этих целей семена, обработанные белково-фосфатным комплексом, проращивали и определяли энергию прорастания, жизнеспособность семян и активность амилолитических ферментов. Было отмечено, что жизнеспособность семян после отлежки увеличивается по сравнению со значениями после обработки зерна спустя неделю примерно в 4 раза (с 10,7 % до 47 %). Однако наиболее ярко-выраженное ингибирование прорастания зерна остается при концентрациях препарата 10 и 13 %.

Выводы, сделанные автором, логически следуют из анализа экспериментальных данных, имеют научную новизну.

В качестве вопросов и замечаний по диссертации можно отметить следующее:

1. Обзор литературы выполнен без выделенного финального заключения.
2. Стр.58. Не очень информативно описано, с какой целью осуществляли применение микрофильтрации, представленного в п.2.2.11.

3. Каким методом проводили статистический анализ полученных результатов. Все ли проведенные исследования имеют достоверные результаты.
4. Необходимо уточнить, с какой целью использовался диализ в проводимых исследованиях.
5. Объясните выбор сорта фасоли, используемого в исследованиях.
6. С учетом большого количества объема и инвариантности проведенных исследований по выделению белково-фосфатного комплекса следовало привести схематическую структуру проведения экспериментов.
7. Сами по себе фосфаты обладают ингибирующим эффектом на патогенную микрофлору. Какова вероятность, что эффективность комплекса обусловлена совместным влиянием белкового компонента и фосфатного, а не только фосфатным компонентом.

Соответствие диссертации критериям положения о присуждении ученых степеней.

Диссертационная работа Базулевой Виктории Александровны на тему: «Свойства и практическое применение белково-фосфатного комплекса, полученного из *Phaseolus vulgaris* (*Kidney bean*)» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований предложены новые научно обоснованные решения по получению белково-фосфатного комплекса из бобового сырья, а также изучено его влияние на амилолитические ферменты эукариотических организмов. Полученные результаты имеют важное значение для развития методов прикладной биотехнологии и для предприятий агропромышленного комплекса. Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а также паспорту научной специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) по направлениям исследований в 7 (в части технологии очистки белков, прикладные аспекты белковой инженерии), 25 (технологии биологически активных соединений и биопрепаратов).

Автореферат и публикации соответствуют содержанию диссертационной работы.

Диссертация Базулевой Виктории Александровны на тему: «Свойства и практическое применение белково-фосфатного комплекса, полученного из *Phaseolus vulgaris* (*Kidney bean*)» по своей актуальности, научной новизне, а также по научной и теоретической значимости соответствует требованиям пп. 9-11, 13, 14 Постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №

842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук (06.01.04 – агрохимия), профессор кафедры агрономической, биологической химии и радиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева».

Серегина Инга Ивановна

И. Серегина

Тел. +7(499) 976-16-60

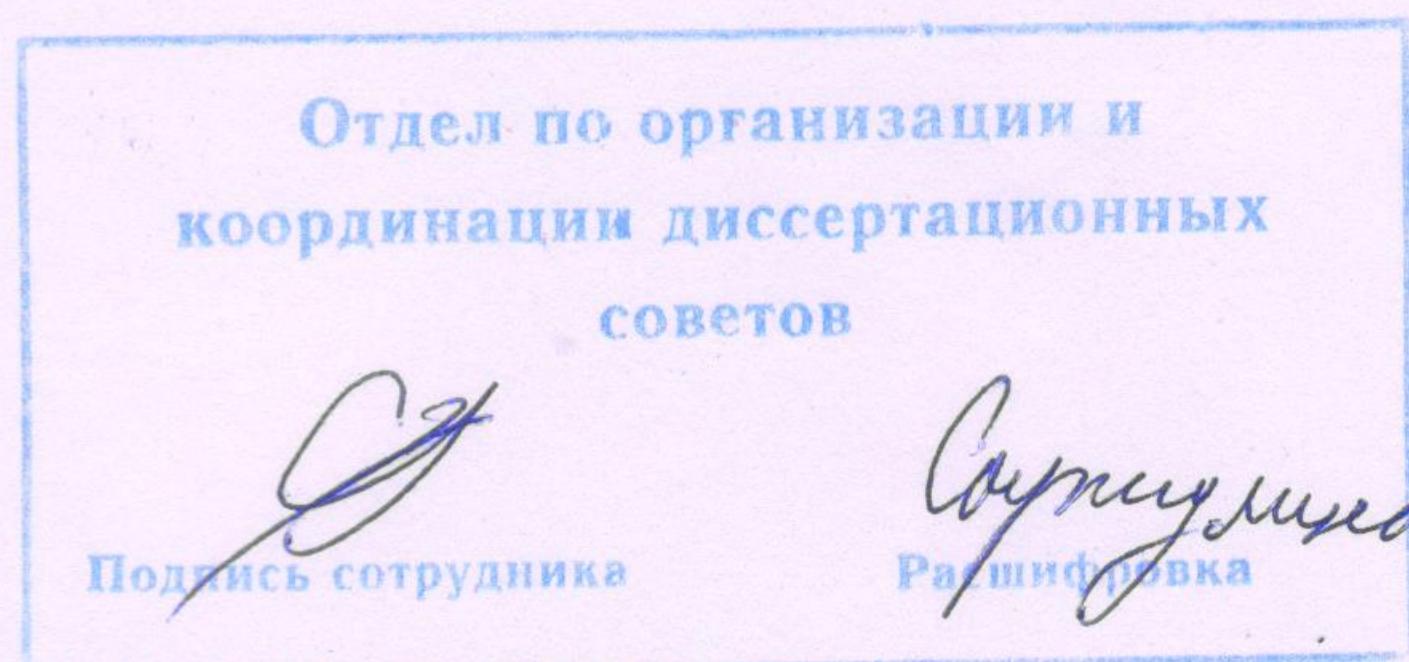
E-mail: iseregina@rgau-msha.ru

03.12.2024

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева».

127434, г. Москва, Тимирязевская ул., 49. Тел. (499) 976-0480; (499) 976-2050, e-mail: info@rgau-msha.ru, web-site: <https://www.timacad.ru/>

Подпись Серегиной Инги Ивановны заверяю:



№ 765-12/24 от 07.12.24