

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ВО
«Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный университет»
(ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»)
д-р физ.-мат. наук, профессор
Олег Леонидович Щелканов
« 27 » _____ 2024



ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный университет» на диссертационную работу
Баженова Елисея Александровича
на тему: «РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗ ВТОРИЧНОГО РЫБНОГО СЫРЬЯ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по
специальности 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных
веществ»

Актуальность темы диссертации

Ферменты в качестве натуральных биорегуляторов и модификаторов широко применяются во многих пищевых процессах при формировании заданного уровня качества продуктов. Они интенсифицируют ключевые химические реакции в органических системах, обеспечивают созревание продукции, что особенно важно при обработке белкового сырья, в том числе животного происхождения. Традиционно ферменты получают из биологических систем – растительных и животных тканей, микроорганизмов. Однако растительные и животные источники ферментов имеют видовые ограничения, не всегда доступны, способы их изготовления экономически затратны, что ограничивает их применение при возрастающей потребности в пищевой промышленности. В настоящее время наращиваются объемы производств ферментных препаратов микробного синтеза. Однако такие ферменты не всегда обладают тканевой специфичностью, необходимой для формирования заданных показателей качества в конкретных продуктах, что особенно важно в технологиях рыбных и мясных продуктов, в том числе в производстве соленой рыбы, пресервов, колбасных изделий, гидролизатов.

Важным источником протеолитических ферментов являются пищеварительные органы рыб, отличающиеся высокой активностью и специфичностью. В разное время учеными изучались ферменты морских и океанических объектов лова (сельдевые, скумбрия, тресковые, лососевые, крабы, криль), рыб Юга и Волго – Каспийского бассейна (сазан, щука, сом, карась). На основе полученных результатов сформировались теоретические основы получения ферментных препаратов из пищеварительных органов рыб. Однако остается не исследованным ферментный потенциал рыб Северо – Западного региона России. Уникальные ферменты данного сырья не используются по назначению, а образующееся при разделке рыб вторичное сырье, как правило, утилизируется. В данном регионе перспективными промысловыми объектами являются салака или балтийская сельдь (*Clupea harengus membras*), судак (*Sander lucioperca*), лещ (*Abramis brama*), форель ручьевая (*Salmo trutta var. Fario*), пищеварительные органы которых отличаются широким набором активных ферментов различной направленности. Эти особенности сырья требуют специального изучения с последующим обоснованием получения и применения ферментных препаратов.

Переработка на рыбообрабатывающих предприятиях Северо – Западного региона России пищеварительных органов рыб прибрежного рыболовства, пресноводных водоемов и аквакультуры позволит повысить рентабельность данных производств, получать натуральные биологические катализаторы протеолитической направленности, востребованные в различных отраслях пищевой промышленности, в том числе мясной и рыбной.

В настоящей работе предлагается получать из рыб Северо – Западного региона России комплекс пищеварительных ферментов способом экстрагирования с применением ультразвуковой обработки. Физическое воздействие ультразвуком разрушает оболочки клеток, не повреждая ферменты, что ускоряет их выделение, не влияя на их свойства. В работе научно обоснована интенсификация диффузионно-осмотических процессов и массопереноса в системе, повышение активности ферментов в получаемых экстрактах. Исследование молекулярных масс образующихся продуктов гидролиза показывает возможность и актуальность обработки различного белкового сырья с получением продуктов с заданными свойствами.

Таким образом, исследования по разработке технологии ферментных препаратов протеолитического действия из пищеварительных органов рыб Северо – Западного региона России являются востребованными и актуальными.

Научная новизна и практическая значимость диссертационного исследования заключаются в изучении химического состава пищеварительных органов промысловых рыб Северо – Западного региона, обосновании технического решения при производстве протеолитических ферментов из пищеварительных органов судака, леща, сельди балтийской (салаки). Обоснованы технологические режимы на операциях экстрагирования ферментов, ультразвуковой обработки гомогената, обезжиривания ферментного раствора сепарированием. Изучено формирование потребительских свойств ферментных препаратов в процессе применения новой технологии. Методом математического моделирования установлены оптимальные значения ключевых факторов процесса экстрагирования ферментативно активных белков из сырья.

Проанализированы потребительские свойства, в том числе физико-химические показатели качества полученных ферментных препаратов, сроки их годности при обоснованных режимах хранения.

Изучены биотехнологические характеристики ферментных препаратов, оптимальные уровни pH и температуры гидролитического действия, термостабильность ферментов, эффективность гидролиза ими белковых субстратов с получением фрагментов различного молекулярно - массового состава. Определены молекулярные массы ферментов в комплексных системах, оценена возможность получения высокоочищенных препаратов ионообменной хроматографией. Новизна выполненного исследования подтверждена патентом RU № 2777067 «Способ получения ферментного препарата протеолитического действия» (Баженов Е.А., Байдалинова Л.С., 2022).

Значимость полученных автором диссертации результатов для развития технической отрасли науки заключается в научном обосновании технологии и аппаратного оформления производства биологических катализаторов - ферментных препаратов протеолитических из промысловых рыб Северо – Запада России, основанного на интенсификации процесса экстрагирования ферментов (Патент РФ № 2777067). Проанализированы теххимические характеристики пищеварительных органов основных промысловых видов рыб Северо – Запада

России (судак, лещ, сельдь балтийская, объект аквакультуры форель речная ручьевая) с установлением их потенциала для производства препаратов протеолитических ферментов. Показано, что разработанная технология позволяет регулировать основные свойства ферментных препаратов. Установленные математические модели позволяют прогнозировать количество, качество и свойства ферментных препаратов при обработке рыб с аналогичными технoхимическими свойствами. Применение гель – проникающей хроматографии, позволившей расшифровать массово – молекулярный состав ферментных комплексов и получаемых с их использованием гидролизатов, убедительно показало возможность получения белковых и коллагеновых ферментативных гидролизатов заданного молекулярного состава. Полученные данные расширяют теоретические знания основ производства ферментных препаратов, позволяют совершенствовать их в практическом применении с учетом выявленных зависимостей и установленных закономерностей.

Результаты исследований достаточно широко апробированы на различных конференциях, опубликованы в 12 статьях и докладах, в том числе в 2-х статьях в журналах из перечня ВАК и патенте РФ. Это также свидетельствует о вкладе данных автора в развитие технической отрасли науки.

Рекомендации по использованию результатов и выводов, приведенных в диссертации.

Для практического внедрения результатов научного исследования разработаны технические условия ТУ 10.89.19.290-020-3904014891-2023 «Пищеварительные органы рыб замороженные» и Технологическая инструкция; ТУ 10.89.19-290-021-3904014891-2023 «Препараты ферментные протеолитические «Балтийский регион» из пищеварительных органов рыб» и Технологическая инструкция по их изготовлению. Проведена промышленная апробация разработанной технологии в производственных условиях ООО «Апрельское » (пос. Суворово Калининградской области) и ООО «Биотех» (г. Калининград), свидетельствующая о практической воспроизводимости полученных экспериментальных данных. Аналитически оценена экономическая эффективность разработанной технологии. Экономические расчеты показали, что производство протеолитических ферментных препаратов из пищеварительных органов рыб Северо – Западного региона является целесообразным и экономически рентабельным.

Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс подготовки студентов бакалавриата и магистратуры по направлениям 19.03.01 и 19.04.01 «Биотехнология» (профиль – «Пищевая биотехнология») в ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет». Уточненные технoхимические характеристики исследованных рыб Северо – Западного региона России могут быть полезными при обосновании новых технологий производства биологически активных веществ, ферментов, что позволит расширить ассортимент социально значимой продукции на основе вторичного рыбного сырья. Научно обоснованные данные диссертации, безусловно, могут быть использованы при совершенствовании теории и практики производства и использования ферментных препаратов из сырья водного происхождения.

По работе имеются следующие замечания:

1. Замечания по методическому разделу, в частности, по методам определения активности. Автор предлагает два метода – классический с использованием белковых субстратов метод Ансона и формольного титрования для определения высвобождающихся при гидролизе белка аминокрупп. Однако последний метод не является методом определения активности, его используют для определения степени гидролиза. Например, рис.3.1.1.-3.1.2 по методу Ансона, затем с таблицы 3.2.1 – по ФТА (формольное титрование), затем с табл. 3.3.1 вновь методу Ансона. Несомненно, эти активность и степень гидролиза коррелируют между собой, но не заменяют друг друга. Тем более, что ряд анализов приведен с использованием одной методики, а другой ряд – со второй. Это не дает возможности корректного сравнения активности протеолитических ферментов в исходном сырье и в получаемых препаратах. И поэтому отсутствует возможность оценки количественного выхода ферментов (выхода по активности), который является одним из основных показателей при их очистке. Активность ферментов в обоих случаях выражена в ед/г. Для метода Ансона формула приведена. А как эта активность была рассчитана для метода ФТА - не показано.

2. В методическом разделе приведен метод определения активности липазы, а в результатах соответствующих данных нет

3. Идентификацию индивидуальных ферментов в препаратах из пищеварительных органов форели, судака и леща проводили путем определения молекулярных масс фрагментов методом гель – проникающей хроматографии. Но этот метод не может

быть использован для идентификации ферментов. Для этого служат другие методы, самый простой из которых использование специфичных для той или иной протеазы пептидных субстратов и их производных. Известно, что пищеварительные протеазы рыб отличаются большим разнообразием по структуре, включая молекулярную массу. У одного и того же вида рыб могут присутствовать от 2 до 5 и более изоферментов. Поэтому утверждать, что, например фракция с молекулярной массой соответствует эластазе совершенно не корректно.

4. Ферментный препарат, приготовленный по разработанной технологии, испытывали в качестве созревающей добавки при производстве пресервов из несозревающих видов рыб. В качестве такового было взято филе салаки или балтийской сельди. А сельдевые рыбы, как известно, хорошо созревают благодаря высокой активности мышечных и пищеварительных ферментов.

5. Во многих подразделах раздела «Результаты и обсуждение» наблюдаются многочисленные повторы, относящиеся, например, к методикам (например, изложение метода определения активности) или литературному обзору. Приводятся общеизвестные сведения из учебников биохимии, занимающие значительный объем. Так в разделе «Обоснование технологических режимов процесса производства ферментных препаратов из пищеварительных органов рыб» описываются общие свойства белков и аминокислот, такие как амфотерность, растворимость и др. Только последний абзац содержит собственные исследования.

6. При описании технологии не указано, какие аппараты использовали для УЗ обработки и сепарирования. В одних случаях указывается сепаратор, в других декантер. Это не одно и то же. Кроме того, известно, что обработка ультразвуком вызывает значительный локальный нагрев даже в течение короткого периода времени. Для таких лабильных соединений как ферменты это может привести к денатурации и потере активности. Также в технологической схеме не указаны условия экстракции для форели.

В разработанной технической документации указано, что препараты должны обладать активностью не ниже 1,5 ед./г для судака и салаки и не ниже 2,5 ед./г для леща. Чем это обосновано?

7. В качестве примера широко используемого препарата приводится коммерческий продукт – фермент Алкалаза, сравниваются физико-химические свойства этого

фермента и вновь разработанных, однако нет сравнения по активности – основному показателю.

8. При проведении экспериментальных работ по очистке ферментосодержащих экстрактов автору необходимо было представить данные по степени очистки, что достигается определениями активности, содержания белка и массы до и после процесса.

9. Необходимо было предоставить и обосновать четкое направление использования полученных ферментосодержащих растворов при производстве тех или иных групп пищевых продуктов. В данной работе хотелось бы увидеть новые оригинальные результаты.

10. Утверждение о том, что в мышечной ткани говядины нет коллагеновой ткани - неверно. Кроме того, автором неясно изложена цель получения ферментолизата из говядины и не предложены пути и целесообразность его дальнейшего использования.

11. Если говорить о ферментах из рыбного сырья, желательно было бы привести более универсальный технологический процесс, который позволил бы не дифференцировать внутренности рыб по видам и создавать специальные условия.

Заключение

Выявленные замечания не носят принципиального характера и не отражаются на основных положениях, предложенных автором к защите. Анализ материалов исследований, выводов и рекомендаций по выполненной работе дает основание полагать, что представленная диссертация является самостоятельно выполненным, завершённым исследованием, содержащим научно обоснованное технологическое решение по производству ферментных препаратов протеолитических из пищеварительных органов добываемых в Северо – Западном регионе России видов рыб, внедрение которой внесет вклад в развитие теории и практики биотехнологической переработки водного биологического сырья. Это позволяет сделать заключение о законченности и высоком уровне выполненной работы.

Диссертация соответствует требованиям п.п. 9-14 действующего «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор, Баженов Елисей Александрович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

