

**ОТЗЫВ**  
**официального оппонента на диссертационную работу**  
**Зеликиной Дарьи Викторовны**  
**«Физико-химический анализ роли структуры биологически активных липидов и**  
**биополимеров в формировании и функциональности их комплексов»,**  
**представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по**  
**специальности 02.00.04 – физическая химия**

Диссертация Зеликиной Д.В. посвящена установлению влияния структуры биологически активных липидов и биополимеров на структуру и функциональные свойства их супрамолекулярных комплексов в водных растворах.

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) относятся к незаменимым физиологически значимым питательным веществам, поскольку они не синтезируются в организме человека, но выполняют важные физиолого-биохимические функции. Перспективным направлением в решении проблемы несбалансированного употребления ПНЖК является разработка пищевых продуктов функционального назначения. Такие функциональные продукты питания (нутрицевтики), обогащенные в процессе производства активными веществами растительного или биологического происхождения, могут быть использованы для повседневного питания. Однако низкая растворимость ПНЖК в водных средах и высокая склонность к окислению создают определенные трудности в обогащении ими продуктов питания и напитков. Для решения данной проблемы в настоящее время используются различные системы доставки биологически активных веществ через пищевые системы. Комплекс уникальных свойств, включающий собственную биологическую активность, обуславливает расширяющееся применение в качестве компонентов для создания таких систем доставки биополимеров (белков, полисахаридов) и фосфолипидов. Вместе с тем, при разработке наноконтейнеров на основе различных веществ требуется строгий учет механизмов их межмолекулярного взаимодействия в процессе комплексообразования как в водных средах, так и в условиях переваривания в желудочно-кишечном тракте. В связи с этим выявление взаимосвязи структуры биологически активных липидов и биополимеров с термодинамическими характеристиками, функциональными свойствами их комплексов, формирующихся в водных растворах, представляется актуальной и перспективной задачей.

Диссертация Зеликиной Д.В. имеет традиционную структуру: состоит из введения, 4 глав (литературный обзор, экспериментальная часть, 2 главы, включающие результаты экспериментов и их обсуждение), заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы (321 ссылка) и приложений. Диссертационная работа изложена на 156 страницах печатного текста, включает 39 рисунков, 23 таблицы и 4 приложения.

Рассмотрим основные разделы диссертации.

**Во введении** Зеликина Д.В. обосновывает актуальность темы исследования, формулирует цель и задачи работы, отмечает положения, выносимые на защиту, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, описывает личный вклад автора, достоверность полученных результатов, апробацию результатов исследования, приводит количество публикаций, структуру и объем работы, а также основные сокращения, принятые в работе.

**Глава 1 (литературный обзор)** посвящена рассмотрению современных представлений о способах устранения дефицита эссенциальных биологически активных липидов в структуре питания человека. В обзоре цитируется 265 библиографических ссылок на зарубежные и отечественные источники, охватывающие, в основном, работы последних 10 лет. Обзор хорошо структурирован. В первой части описываются исторически сложившиеся причины возникновения дефицита биологически активных липидов, физиологические функции ПНЖК в организме человека. Обсуждается необходимость включения дополнительного количества омега-3 ПНЖК в повседневный рацион питания современного человека с целью устранения дефицита и усиления их терапевтического и профилактического действия. Однако низкая растворимость в воде и высокая чувствительность к окислению препятствуют их введению в необходимом количестве в состав продуктов и напитков с низким содержанием жира. Перспективным направлением в данной области является разработка различных носителей, которые способствовали бы повышению усвоения и биодоступности ПНЖК и в то же время устраняли вышеназванные недостатки. Поэтому во второй части литературного обзора автор рассматривает принципы и подходы к созданию систем доставки нутрицевтиков через пищевые системы. Особое внимание уделено природным фосфолипидам и пищевым биополимерам как компонентам систем доставки биологически активных веществ, а также природе межмолекулярных взаимодействий и функциональным свойствам таких систем. В завершении автор подводит итог анализа работ по теме диссертации и обосновывает выбор объектов исследования.

Литературный обзор имеет хороший стиль изложения и легко читается. Однако следует отметить, что он носит описательный характер с констатацией имеющихся исследований по теме диссертации. Ему в какой-то степени не хватает критического анализа, который позволил бы более четко сформулировать нерешенные задачи в области диссертационного исследования.

**В главе 2 (материалы и методы исследования)** описаны объекты, применяемые в исследовании (биологически активные липиды, модельный фосфолипид, биополимеры, растительный антиоксидант, пищеварительные ферменты и их ингибиторы), методики приготовления исследуемых образцов. Охарактеризованы использованные физико-химические

методы исследования (статического и динамического лазерного светорассеяния, метод определения  $\zeta$ -потенциала, капиллярная вискозиметрия, дифференциальная сканирующая калориметрия, метод электронно-парамагнитного резонанса, атомно-силовая микроскопия, спектрофотометрия). При выполнении диссертационной работы применялось современное оборудование, проведена статистическая обработка результатов эксперимента.

**Главы 3, 4** являются обсуждением собственных результатов исследований соискателя.

**Третья глава** посвящена изучению бинарных систем, состоящих из фосфолипидов (липосом фосфатидилхолина (ФХ), мицелл лизофосфатидилхолина (ЛФХ)) и биополимеров (ковалентных конъюгатов казеината натрия и мальтодекстринов). В первой части третьей главы исследованы структурные и термодинамические параметры ковалентных конъюгатов в водных средах. Оценена способность полученных белок-полисахаридных конъюгатов инкапсулировать липосомы ФХ и мицеллы ЛФХ. Выявлены сходства и различия в физико-химических характеристиках комплексов, образованных ковалентными конъюгатами с липосомами ФХ или мицеллами ЛФХ. Определены микровязкость липидных слоев и степень перекисного окисления фосфолипидов. Изучено фазовое состояние бислоев модельного фосфолипида (дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ)) в комплексах с конъюгатами. Во второй части главы проведено исследование структурных превращений комплексных частиц с ФХ под действием ферментов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в условиях *in vitro*.

Проведенное исследование бинарных систем: фосфолипид-биополимер позволили автору установить, что наноразмерные белок-полисахаридные комплексные частицы с липидами обладают растворимостью в водной среде вследствие высокой степени (> 95 %) инкапсулирования липосом ФХ и мицелл ЛФХ и демонстрируют хорошую защитную способность по отношению к окислению фосфолипидов.

**В четвертой главе** приведены результаты исследования тройных систем: биополимер-бинарные смеси биологически активных липидов. Содержание главы построено по схожей с третьей главой схеме и состоит из двух частей. В первой части обсуждаются структура и функциональные свойства комплексных частиц ковалентных конъюгатов с бинарными смесями липидов, в качестве которых были выбраны пять различных комбинаций биологически активных липидов на основе липосом соевого ФХ, мицелл ЛФХ и индивидуальных жирных кислот ( $\alpha$ -линоленовой (АЛК), линолевой (ЛК)). Во второй части рассматриваются изменения структурных и термодинамических параметров комплексных частиц, сформированных бинарными смесями липидов и ковалентным конъюгатом, на различных стадиях модельного переваривания в ЖКТ.

Показано, что обогащение липосом ФХ, мицелл ЛФХ триглицеридами льняного масла (ЛМ) и индивидуальной АЛК приводит к разупорядочиванию липидных слоев ФХ, ДПФХ и мицелл ЛФХ. Установлено, что эфирное масло гвоздики (ЭМГ) в составе липосом ФХ играет роль структурообразующего агента в комплексных частицах. Выявлено, что высвобождение всех исследованных липидов из ковалентных конъюгатов *in vitro* наблюдается на стадиях «желудок» и «тонкий кишечник». Определяющую роль в процессе высвобождения липидов играют плотность комплексных частиц и степень их ассоциации.

**В заключении** приведены основные результаты и выводы.

Полученные Зеликиной Д.В. результаты обладают **научной новизной**, имеют **высокую теоретическую и практическую значимость**.

**Научная новизна** работы заключается в установлении взаимного влияния структуры биологически активных липидов и биополимеров со структурой, термодинамическими характеристиками супрамолекулярных комплексов и их функциональными свойствами в водных средах.

Впервые комплексом методов описаны изменения структурных и термодинамических параметров комплексных частиц липидов с ковалентными конъюгатами биополимеров в условиях последовательного переваривания в ЖКТ *in vitro*.

Впервые установлено влияние АЛК или триглицеридов льняного масла, а также эфирного масла гвоздики на общую и локальную структуру и свойства липосом ФХ, мицелл ЛФХ в водных растворах.

Выявлен характер влияния структуры липосом ФХ и мицелл ЛФХ (исходных и обогащенных АЛК или триглицеридами льняного масла) на структуру и функциональные свойства их комплексов с ковалентными конъюгатами биополимеров.

Впервые доказана возможность использования эфирного масла гвоздики в составе липосом ФХ в качестве структурообразующего агента в комплексных частицах.

**Практическая значимость полученных результатов** отражается в возможности их дальнейшего использования для разработки систем доставки биологически активных веществ (пищевое и биомедицинского назначения) в виде наноконтейнеров, полученных на основе различных биополимеров и биологически активных липидов.

Учитывая высокий уровень обсуждения результатов, их строгую последовательность и логичность, детальное рассмотрение собственных и литературных данных, следует признать, что нет сомнений в **достоверности полученных результатов и обоснованности сделанных на их основе выводов**.

Диссертационная работа Зеликиной Д.В. имеет логичную структуру, написана грамотным научным языком, содержит хороший иллюстративный материал и очень аккуратно оформлена. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

**Диссертация хорошо апробирована**, материалы работы докладывались в виде устных и стендовых докладов на всероссийских и международных конференциях различного уровня. Об актуальности, научной и практической значимости исследований свидетельствует также и то, что они выполнены при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-16-00102) и РНФ (конкурс «мол\_а», № 18-316-00111).

**Опубликованные в научной печати работы** (3 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, 3 публикации в книгах, индексируемых в базе данных Scopus и WoS, 15 тезисов в сборниках трудов конференций) **хорошо отражают основные научные результаты и выводы**, приведенные в диссертации.

**К работе есть ряд замечаний и вопросов:**

1. В работе имеются некоторые стилистические ошибки (стр. 87, 94), повтор абзаца (стр. 44, 45), неточности (перепутаны обозначения степени ассоциации частиц конъюгата в комплексную частицу с липидами  $k_{Mw}$  и степени увеличения размера комплексных частиц по сравнению с размером конъюгата  $k_R$  в расшифровке формулы (14) на стр. 108).
2. Автором установлено значительное усиление ассоциации частиц ковалентного конъюгата в процессе формирования комплексов с бинарными смесями липидов, что сопровождалось значительным ростом молекулярной массы комплексов. Производился ли расчет степени ассоциации  $k_{Mw}$  конъюгатов? В чем причины столь высоких значений молекулярных масс для комплексов именно с мицеллами ЛФХ, обогащенными триглицеридами ЛМ, а также смесями АЛК и ЛК?
3. Жидкокристаллическое состояние бислоев липосом ДПФХ в комплексах с ковалентными конъюгатами, а также исходных и обогащенных (АЛК или триглицеридами ЛМ) липосом ДПФХ подтверждалось методом дифференциальной сканирующей калориметрии. Не определялся ли тип формирующейся мезофазы?
4. Заключение к главе 4.1 на стр. 119-121 слишком длинное и во многом повторяет обсуждение результатов в тексте главы.
5. В заключении диссертации и автореферата излагаются итоги выполненного исследования в виде основных результатов и выводов, но отсутствуют рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Отмеченные замечания не носят принципиальный характер и не влияют на общую положительную оценку работы.

### Заключение

Диссертационная работа Зеликиной Дарьи Викторовны представляет собой самостоятельную, завершённую научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, заключающейся в установлении влияния структуры биополимеров и биологически активных липидов на структуру и функциональные свойства их супрамолекулярных комплексов в водных средах, которая имеет существенное значение для физической химии. Полученные в диссертации выводы обладают научной новизной и практической ценностью.

Диссертационная работа соответствует требованиям, установленным п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к работам, представленным на соискание ученой степени кандидата химических наук, а ее автор Зеликина Дарья Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

**Официальный оппонент**



Шилова Светлана Владимировна

Доктор химических наук (02.00.04 - физическая химия), доцент  
профессор кафедры физической и коллоидной химии  
ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский  
технологический университет»

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»,

Почтовый адрес: 420015, Российская Федерация,  
Республика Татарстан, г. Казань, К. Маркса, 68  
Телефон: +7(843)231-89-27  
E-mail: s\_shilova74@mail.ru

Подпись

*Шиловой С.В.*

удостоверяется

Начальник ОКИД ФГБОУ

«09»

01



09.01.2020 г.