

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
биохимической физики им. Н. М. Эмануэля
Российской академии наук
д.х.н., профессор Курочкин И. Н.

«03» июня 2019 г.



ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА

заседания расширенного семинара по физической химии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской
академии наук

Председатель семинара: д.б.н., проф. Пальмина Н. П., главный научный сотрудник лаборатории физико-химических основ регуляции биологических систем отдела кинетики химических и биологических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН).

Секретарь семинара: к.х.н., с.н.с. ИБХФ РАН Антипова А.С.

Присутствовали: д.х.н, зам. директора Трофимов А.В.; д.х.н., проф., зам. директора Попов А.А.; д.х.н., гл.н.с. Михеев Ю.А., д.х.н., проф., в.н.с. Шибряева Л.С.; д.х.н., проф., зав. лаб. Шишкина; д.б.н., проф., гл.н.с. Пальмина Н.П.; д.х.н., зав. лаб. Семёнова М.Г., д.х.н., гл.н.с. (ФИЦ ХФ РАН) Касаикина О.Т.; д.х.н, гл.н.с. Некипелова Т.Д.; к.х.н., с.н.с. Мазалецкая Л.И.; к.б.н., в.н.с. Молочкина Е.М.; к.х.н., с.н.с. Антипова А.С.; к.х.н., с.н.с. Мартиросова Е.И.; н.с. Крикунова Н.И.; к.х.н., с.н.с. Анохина М. С.; к.х.н., зав. лаб. Плащина И.Г.; к.ф.-м.н., с.н.с. Эйдельман Ю.А.; н.с. Шелудченко Н.И.

Всего: 18 человек.

Повестка дня: обсуждение диссертационной работы Зеликиной Дарьи Викторовны «Физико-химический анализ роли структуры биологически активных липидов и биополимеров в формировании и функциональности их комплексов» на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Слушали: доклад Зеликиной Д.В. «Физико-химический анализ роли структуры биологически активных липидов и биополимеров в формировании и функциональности их комплексов».

Постановили: рекомендовать диссертацию Зеликиной Д.В. к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской
академии наук

Диссертационная работа «Физико-химический анализ роли структуры биологически активных липидов и биополимеров в формировании и функциональности их комплексов» выполнена Зеликиной Дарьей Викторовной в лаборатории функциональных свойств биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН).

В 2010 году Зеликина Дарья Викторовна окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российскую экономическую академию им. Г.В. Плеханова по специальности «Технология продуктов общественного питания». С 30 октября 2010 г. по 07 октября 2017 г. обучалась в заочной аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Российского экономического университета имени Г.В. Плеханова по специальности 05.18.15 – технология и товароведение пищевых продуктов функционального и специализированного назначения и общественного питания (по этой специальности сданы кандидатские экзамены).

В период подготовки диссертации с 2012 г. по настоящее время работает в лаборатории функциональных свойств биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов по специальности 02.00.04 – физическая химия выдано Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук в 2019 г.

Научный руководитель: д.х.н. Семёнова Мария Германовна, заведующая лабораторией функциональных свойств биополимеров Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук. Утверждение темы и назначение руководителя диссертационной работы на основании заседания Ученого совета ИБХФ РАН от 19 октября 2017 г., Протокол № 24.

Рецензент: к.х.н. Плащина И.Г., руководитель отдела химии пищевых веществ и биотехнологии, заведующая лабораторией физико-химической модификации биополимеров Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

В обсуждении участвовали:

к.х.н. Плащина И.Г.
д.б.н. Пальмина Н.П.
к.х.н. Антипова А.С.
д.х.н. Касаикина О.Т.
к.х.н. Анохина М.С.

В ходе обсуждения были заданы следующие **вопросы:**

1. к.х.н. Плащина И.Г.: «Какова роль мальтодекстринов в доставке биологически активных веществ?»; «Оказывал ли декстрозный эквивалент мальтодекстринов влияние на величину второго вириального коэффициента, вклад исключённого объема и электростатических сил во взаимодействиях конъюгатов и комплексов?»; «Оказывал ли декстрозный эквивалент мальтодекстринов влияние на заряд частиц и вклад электростатического отталкивания?»; «Влиял ли мальтодекстрин на атакуемость ферментами? Какие реперные системы можно использовать в качестве сравнения?»
2. д.б.н. Пальмина Н.П.: «Каким образом фосфолипиды могут оказать влияние на переваривание инкапсулированных липидов?»; «Можно ли сказать, в каком случае оно будет более успешным – в случае с ФХ или ЛФХ?»
3. к.х.н. Антипова А.С. «Какие связи могли участвовать в комплексообразовании выбранных липидов и биополимеров?»; «Была ли установлена какая-либо взаимосвязь между защитой от окисления и предполагаемой реорганизацией мицелл ЛФХ внутри биополимерной частицы?»
4. д.х.н. Касаикина О.Т. «Сформулируйте физико-химическую сущность такого термодинамического параметра, как второй вириальный коэффициент. Объясните различие между весовым и молярным вторыми вириальными коэффициентами.»
5. к.х.н. Анохина М.С. «Каковы научная новизна проведённого исследования и его практическая значимость?»

Актуальность работы. Огромный интерес к разработке коллоидных систем доставки биологически активных веществ для пищевых систем, наблюдаемый в последние годы, связан, прежде всего, с доказанной возможностью снижения риска развития алиментарно-зависимых неинфекционных заболеваний за счёт восполнения в рационе питания дефицита незаменимых биологически активных веществ. В частности, согласно данным доказательной медицины и нутрициологии, желательным для большинства населения индустриальных стран является увеличение потребления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), и особенно омега - 3, дефицит питания по которым наблюдается у 40-80 % населения. Эссенциальные ПНЖК не синтезируются в организме человека, однако

участвуют в множестве физиологических процессов, важны для поддержания здоровья сердечно-сосудистой системы, головного мозга, зрительных функций, печени, почек, участвуют в регуляции обмена липидов, снижении воспалительных процессов. Установлено, что ПНЖК оказывают позитивное влияние на организм только в случае их употребления в достаточном количестве и оптимальном соотношении омега-3 к омега-6 ПНЖК, в диапазоне от 1 : 1 до 1 : 4. При этом в большинстве индустриальных стран это соотношение критически превышено и достигает 1:25. Однако серьёзным сдерживающим фактором в разработке и производстве продуктов питания и напитков, обогащённых омега-3 ПНЖК, является их высокая склонность к окислению и деградации, а также низкая растворимость в воде, не позволяющая их прямое введение в пищевые продукты и напитки с низким содержанием жира. Перспективным решением этих проблем может стать разработка физиологически функциональных пищевых ингредиентов, которые, с одной стороны, должны обеспечить сохранность физиологических функций этих биологически активных веществ, а с другой стороны, придать им водорастворимую форму и обеспечить их регулируемое высвобождение. В этой связи актуальным является изучение совместного действия пищевых биополимеров и фосфолипидов в обеспечении доставки биологически активных веществ, в частности, омега-3 ПНЖК, что требует понимания физико-химических основ их взаимовлияния и взаимодействий в водных растворах и в условиях переваривания в желудочно-кишечном тракте.

Цель и основные задачи исследования.

Цель исследования состояла в изучении влияния структуры биологически активных липидов (липосом фосфатидилхолина, мицелл лизофосфатидилхолина и их комбинаций с альфа-линоленовой ПНЖК или триглицеридами льняного масла) и биополимеров (мальтодекстринов и их ковалентных конъюгатов с казеинатом натрия) на общую и локальную структуру, а также термодинамические параметры и функциональность их супрамолекулярных комплексов в водных растворах.

Для достижения этой цели необходимо было решить следующие основные задачи:

1. Получить наноразмерные липосомы фосфатидилхолина (ФХ) и мицеллы лизофосфатидилхолина (ЛФХ) (исходные и обогащённые омега-3 ПНЖК) в водной среде. Охарактеризовать их структурное состояние.

При этом:

а) при обогащении липосом ФХ и мицелл ЛФХ в качестве источников омега-3 ПНЖК использовать индивидуальную альфа-линоленовую ПНЖК (АЛК) или триглицериды льняного масла (ЛМ);

б) при обогащении липосом ФХ и мицелл ЛФХ учитывать весовое соотношение омега-3 : омега-6 ПНЖК = 1 : 1;

в) в качестве растительного антиоксиданта использовать эфирное масло гвоздики (ЭМГ) (в случае липосом ФХ).

2. Получить водорастворимые супрамолекулярные комплексы, объединяющие ковалентные конъюгаты (казеината натрия с мальтодекстринами) и липосомы ФХ или мицеллы ЛФХ. Охарактеризовать их структуру (молярную массу, размеры, плотность, архитектуру, заряд, а также структурно-динамическое и фазовое состояние липидных слоёв инкапсулированных липосом ФХ/ мицелл ЛФХ); термодинамические параметры в водной среде; функциональные свойства (инкапсулирующие свойства по отношению к липидам, растворимость в водной среде; защитные способности по отношению к окислению и деградации инкапсулированных липидов).

3. Установить влияние структуры липидов, биополимеров и эфирного масла гвоздики на структурные параметры и функциональные свойства супрамолекулярных комплексов.

4. Охарактеризовать биодоступность липидов из комплексных частиц в условиях переваривания в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) *in vitro* (на этапах «ротовая полость», «желудок», «тонкий кишечник»). Установить взаимосвязь между структурными и термодинамическими параметрами частиц и способностью инкапсулированных липидов к высвобождению в условиях *in vitro*.

Научная новизна результатов исследования.

1. Изучено изменение общей и локальной структуры липосом ФХ и мицелл ЛФХ в водной среде при добавлении индивидуальной АЛК или триглицеридов льняного масла в отсутствие и в присутствии эфирного масла гвоздики. Показано влияние конъюгатов (казеинат натрия + мальтодекстрин) на структуру липидных слоёв таких липосом ФХ и мицелл ЛФХ в результате их инкапсулирования.

2. Показано влияние структуры липосом ФХ и мицелл ЛФХ (исходных и обогащённых АЛК или триглицеридами льняного масла) на структурные и термодинамические параметры их супрамолекулярных комплексов с ковалентными конъюгатами (казеинат натрия + мальтодекстрин). Установлена роль степени полимеризации мальтодекстринов (декстрозного эквивалента) в структуре и свойствах их супрамолекулярных комплексов с липосомами ФХ/ мицеллами ЛФХ.

3. Выявлены основные взаимосвязи в следующем ряду: структура молекул биологически активных липидов и биополимеров – структурная организация биологически активных липидов и белок-полисахаридных конъюгатов в водной среде – структура и термодинамические параметры супрамолекулярных комплексов (липид + белок-полисахаридный конъюгат) в водной среде – функциональные свойства супрамолекулярных комплексов (липид + белок-полисахаридный конъюгат) в водной среде.

4. Показана роль эфирного масла гвоздики в формировании структуры и свойств липосом ФХ, а также их супрамолекулярных комплексов с ковалентными конъюгатами.

5. Охарактеризовано изменение структурных и термодинамических параметров супрамолекулярных комплексов, сформированных между конъюгатами (казеинат натрия + мальтодекстрин) и липосомами ФХ (исходными/обогащёнными) в условиях переваривания в ЖКТ *in vitro* с помощью комбинации методов лазерного светорассеяния (статического, динамического и электрофоретического).

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в работе сведения о структурных и термодинамических параметрах, а также функциональных свойствах супрамолекулярных комплексных частиц, объединяющих ковалентные конъюгаты (казеинат натрия + мальтодекстрины) и биологически активные липиды (исходные/обогащённые липосомы ФХ и мицеллы ЛФХ), являются фундаментальной основой для развития направления по созданию биополимерных систем контролируемой/адресной доставки биологически активных веществ различной природы. Так, показана возможность использования ковалентных конъюгатов и соевых фосфолипидов для инкапсулирования омега-3 ПНЖК с целью повышения растворимости в водной среде и обеспечения устойчивости к перекисному окислению последних. Впервые выявленная в работе структурообразующая роль эфирного масла гвоздики позволяет, наряду с антиоксидантными свойствами, использовать его для изменения размеров липосом фосфатидилхолина, а также молярной массы, размеров и плотности их комплексных частиц с биополимерами. Впервые использованная в работе комбинация методов лазерного светорассеяния (статического, динамического, электрофоретического) в исследованиях биодоступности позволила получить данные о структурных изменениях супрамолекулярных частиц в условиях, моделирующих переваривание в желудочно-кишечном тракте *in vitro*. Актуальным практическим применением таких комплексных частиц может являться их использование в качестве основы многофункциональных пищевых ингредиентов, предназначенных для обогащения эссенциальными (незаменимыми) омега-3 ПНЖК и фосфолипидами функциональных и специализированных продуктов питания и напитков при низком общем содержании жира или в его отсутствие.

Личный вклад автора заключался в проведении физико-химических исследований, обработке и анализе полученных данных, формулировании положений и выводов, а также в подготовке статей к опубликованию и представлении полученных данных в виде устных и стендовых докладов на научных конференциях. Все изложенные данные получены автором лично

или при непосредственном его участии в подготовке и проведении экспериментов.

Степень достоверности результатов проведённых исследований.

Достоверность и обоснованность полученных результатов подтверждалась и обеспечивалась следующим:

- использованием современных и общепринятых физико-химических методов исследования;
- теоретическими расчетами и экспериментальными данными, которые находятся в соответствии с общеизвестными положениями физической химии;
- удовлетворительной статистической оценкой погрешности измерений;
- согласованием полученных результатов как между различными физико-химическими методами исследования, так и с литературными данными.

Научные положения и выводы диссертации Зеликиной Д.В. полностью обоснованы, достоверны, хорошо аргументированы и логически вытекают из большого экспериментального материала. Они также получили признание в научной литературе и на различных российских и международных конференциях.

Основные положения и результаты работы опубликованы в профильных рецензируемых международных журналах и книгах, индексируемых в базах данных Scopus и WoS, а также в сборниках научных конференций, индексируемых в РИНЦ. Они многократно докладывались и обсуждались на российских и международных конференциях.

Ценность научных работ соискателя подтверждается многократным участием автора во всероссийских и международных конференциях: XI Всероссийской научно-практической конференции «Производство и потребление пищевых лецитинов: ожидания следующего десятилетия» (Санкт-Петербург, 2010 г.); Международной конференции «3th ILPS Lecithin Short Course» (Гент (Бельгия), 2010 г.); Международной конференции «BerlinFOOD 2010 PhD Conference» (Берлин (Германия), 2010 г.); VIII Международной конференции «Биоантиоксидант» (Москва, 2010 г.); Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2011, 2013-2019 гг.); IV Международной конференции «Delivery of Functionality in Complex Food Systems Physically-Inspired Approaches from the Nanoscale to the Microscale» (Гуэлф (Канада), 2011 г.); Международной конференции «Phospholipids in Pharmaceutical Research» (Гейдельберг (Германия), 2011 г.); Международной конференции «10th ILPS Phospholipid Congress» (г. Роттердам (Нидерланды), 2011 г.), Первом международном конгрессе «Экологическая, продовольственная и медицинская безопасность человечества» (г. Москва, 2011 г.); Ежегодной Международной молодёжной конференции ИБХФ РАН-ВУЗы (Москва, 2011, 2012, 2017 гг.); XIV Всероссийском конгрессе диетологов и нутрициологов с международным участием

«Питание и Здоровье» (г. Москва, 2011, 2013 гг.); Международной конференции «Food structure, digestion & health», Палмерстон Норт (Новая Зеландия), 2012 г.); Международной конференции «Food Colloids 2012: Creation and Breakdown of Structure», (г. Копенгаген (Дания), 2012 г.); Международной конференции «XIX International starch convention Moscow-Cracow», (г. Москва, 2012 г.); XII Научно-практической конференции с международным участием «Современные тенденции в науке, производстве и использовании фосфолипидов» (г. Санкт-Петербург, 2012 г.); Международной конференции «2nd International Conference on Food Digestion» (г. Мадрид (Испания) 2013 г.); Международной конференции «Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference. The changing face of food manufacture; the role of hydrocolloids». (г. Рексхем (Великобритания) 2013, 2015 гг., г. Берлин (Германия), 2017 г.); Международной конференции «Food Structure and Functionality Conference – 15 years later» (г. Старе-Яблонки (Польша), 2013 г.); Международной конференции «IV International Conference on colloid chemistry and physicochemical mechanics» (г. Москва, 2013 г.); Международной конференции «1st UK Hydrocolloids Symposium» (г. Хаддерсфилд (Великобритания), 2013 г.); Международной конференции «International Symposium on Delivery of Functionality in Complex Food Systems «Physically-Inspired Approaches from the Nanoscale to the Microscale» (г. Хайфа (Израиль), 2013 г.); г. Париж (Франция), 2015 г.); Международной конференции «15th Food Colloids Conference», (г. Карлсруэ (Германия), 2014 г.); Международной конференции «28th EFFoST International Conference: Innovations in attractive and sustainable food for health» (г. Уппсала, Швеция, 2014 г.).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ номер 14-16-00102 и гранта РФФИ по конкурсу «мол_а» номер 18-316-00111.

Содержание диссертации соответствует специальности 02.00.04 – физическая химия, является законченной научно-квалификационной работой и содержит результаты, представляющие научную и практическую ценность для развития направления коллоидных систем доставки биологически активных веществ. По теме диссертации опубликовано 62 печатные работы, из них – 6 статей (3 публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК и 3 публикации в книгах, индексируемых в базах Scopus и WoS); 56 тезисов в сборниках трудов научных конференций.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

1. Semenova, M. G. Impact of the structure of polyunsaturated soy phospholipids on the structural parameters and functionality of their complexes with covalent conjugates combining sodium caseinate with maltodextrins / M.G. Semenova, **D.V. Zelikina**, A.S. Antipova, E.I. Martirosova, N.V. Grigorovich, R.A. Obushaeva, E.A. Shumilina, N.S. Ozerova, N.P. Palmina, E.L. Maltseva, V.V. Kasparov, N.G. Bogdanova, A.V. Krivandin // Food Hydrocolloids. – 2016. – 52. – P.144-162.

2. Antipova, A.S. Sequential transformation of the structural and thermodynamic parameters of the complex particles, combining covalent conjugates (sodium caseinate + maltodextrin) with polyunsaturated lipids stabilized by a plant antioxidant, in the simulated gastrointestinal conditions in vitro / A.S. Antipova, **D.V. Zelikina**, E.A. Shumilina, K.A. Baeva, M.G. Semenova // *Food Res Int.* – 2016. –88. – P.173–178.

3. Semenova, M.G. Biopolymer nanovehicles for essential polyunsaturated fatty acids: Structure–functionality relationships / M.G. Semenova, A.S. Antipova, **D.V. Zelikina**, E.I. Martirosova, I.G. Plashchina, N.P. Palma, V.I. Binyukov, N.G. Bogdanova, V.V. Kasparov, E.A. Shumilina, N.S. Ozerova // *Food Res Int.* – 2016. –88. – P. 70–78.

4. Semenova, M.G. Role of the covalent conjugate (sodium caseinate + maltodextrin) and a plant antioxidant in the protection against oxidation of the composite food ingredients, containing the equimass amount of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids / M.G. Semenova, A.S. Antipova, T.A. Misharina, E.S. Alinkina, **D.V. Zelikina**, E.I. Martirosova, N.P. Palma, V.I. Binyukov, E.L. Maltseva, V.V. Kasparov, N.S. Ozerova, E.A. Shumilina, K.A. Baeva, N.G. Bogdanova // *Gums and Stabilisers for the Food Industry 18* / Ed. P.A. Williams, G.O. Phillips. –Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2016. –P. 182-189. –ISBN: 978-1-78262-327-4.

5. Semenova, M.G. Structural and thermodynamic insight into the potentiality of food biopolymers to behave as smart nanovehicles for essential polyunsaturated lipids / M.G. Semenova, A.S. Antipova, M.S. Anokhina, L.E. Belyakova, Yu.N. Polikarpov, **D.V. Zelikina**, E.I. Martirosova, N.P. Palma, V.I. Binyukov, V.V. Kasparov, N.G. Bogdanova // *Encapsulations Nanotechnology in the agri-food industry, Vol. 2* / Ed. A.M. Crumezescu. – Cambridge: Elsevier. –2016. – P. 193-228. –ISBN: 978-0-12804-307-3.

6. Semenova, M.G. Protein-polysaccharide interactions and digestion of the complex particle / M.G. Semenova, **D.V. Moiseenko**, N.V. Grigorovich, M.S. Anokhina, A.S. Antipova, L.E. Belyakova, Yu.N. Polikarpov, E.N. Tsapkina // *Food structure, digestion and health (1st Ed)* / Ed. M. Boland, M. Golding, H. Singh. – London, Waltham (USA), San Diego (USA): Elsevier Academic Press, 2014. – P. 169-192. –ISBN: 978-0-12404-610-8.

Диссертационная работа Зеликиной Дарьи Викторовны на тему «Физико-химический анализ роли структуры биологически активных липидов и биополимеров в формировании и функциональности их комплексов» соответствует требованиям п. 9 - 14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 23 сентября 2013 года, с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 года № 335 в редакции Постановления Правительства РФ 2 августа 2016 года № 748, и рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Заключение принято 03 июня 2019 года на заседании расширенного семинара по физической химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук. На заседании присутствовали 18 человек, из них 8 человек имеют степень доктора химических наук, 1 человек – степень доктора биологических наук.

Результаты голосования:

«за» - 18 человек,

«против» - 0,

«воздержались» - 0.

Председатель семинара:
д.б.н., проф.

Пальмина Надежда Павловна

Секретарь семинара:
к.х.н.

Антипова Анна Сержановна

«03» июня 2019 года.

Собственноручную подпись

сотрудника *Пальмина Н.П., Антипова А.С.*

удостоверяю *Зас. Антипова А.С.*

