

УТВЕРЖДАЮ

Директор ГНУ «Институт химии
новых материалов Национальной
академии наук Беларуси»

член-корреспондент НАН Беларуси,
доктор технических наук, профессор

Рогачев А.А.

« 23 » апреля 2025 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Шеровой Замиры Умаралиевны «Экстракция и характеристика серицина из шелковых отходов и композиционные материалы на его основе», представленной на соискание ученой степени доктора философии (PhD) – доктор по специальности 6D060600 – Химия (6D060606 – Высокомолекулярные соединения)

Актуальность темы. Диссертационная работа Шеровой Замиры Умаралиевны «Экстракция и характеристика серицина из шелковых отходов и композиционные материалы на его основе» посвящена актуальной теме глубокой переработки природного возобновляемого сырья, а именно отходов кокономотальных предприятий для получения востребованного в медицине, фармацевтике, косметической и текстильной промышленности биополимера серицина, и включает разработку инновационной технологии извлечения серицина из отходов коконов шелкопряда тутовника (*Bombyx mori*), изучение молекулярно-массового распределения и физико-химических свойств серицина, экстрагированного различными методами, а также разработку на основе комплекса серицин/пектин микрокапсул, содержащих полифенольные соединения экстракта прополиса, с сохранением их высокой антиоксидантной активности.

Актуальность темы связана не только с необходимостью снижения экологических проблем текстильной индустрии Республики Таджикистан путем уменьшения отходов, образующихся на специализированных фабриках

по производству шёлка-сырца, но и с возможностью получения нового коммерчески ценного полимерного продукта, серицина высокой чистоты, без дополнительных сырьевых затрат. Благодаря уникальному сочетанию широкого спектра собственной биологической активности, биосовместимости и биоразлагаемости полипептида, серицин и композиты на его основе являются перспективными материалами для тканевой инженерии и новых систем доставки лекарственных веществ и стабилизации биологически активных соединений (БАС).

Соответствие содержания диссертации заявленной специальности или отрасли науки. Работа выполнена в рамках Паспорта номенклатуры специальностей (химические науки) Высшей аттестационной комиссии при Президенте Республики Таджикистан по специальности 6D060600 – Химия (6D060606 – Высокомолекулярные соединения) и по содержанию соответствует его следующим пунктам:

п. 1. Молекулярная физика полимерных цепей, их конфигурации и конформации, размеры и формы макромолекул, молекулярно- массовое распределение полимеров.

п. 5. Исследование молекулярной и надмолекулярной структуры биополимеров. Выявление специфических факторов, обуславливающих их самоорганизацию.

п. 8. Усовершенствование существующих и разработка новых методов изучения физико-химических свойств и других свойств, связанных с условиями их эксплуатации.

п. 9. Целенаправленная разработка полимерных материалов с новыми функциями и интеллектуальных структур с их применением, обладающих характеристиками, определяющими области их использования в заинтересованных отраслях науки и техники.

Научный вклад соискателя в решение научной проблемы или разработку научной проблемы с оценкой её значимости. Соискателем впервые исследованы особенности изменения структуры, молекулярной массы и гидродинамических свойств серицина в разбавленном и концентрированном растворах и обоснована возможность применения серицина и композитов на его основе в пищевой и фармацевтической отраслях. Результаты исследования: совместно с соавторами опубликовано 33 печатных работы, в том числе 4

статьи в журналах международной базы «Scopus», 9 статей в журналах из Перечня ВАК при Президенте Республики Таджикистан и Российской Федерации, 1 патент Республики Таджикистан, тезисы 15 докладов на международных и тезисы 4 докладов на республиканских конференциях.

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста, включая 22 рисунка и 15 таблиц. Диссертация состоит из введения, четырёх глав, выводов и библиографического списка из 172 наименований.

Во введении обоснованы актуальность темы, сформулированы цели и задачи работы, обоснована научная новизна и практическая ценность выполненного исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В первой главе «Литературный обзор» на основе экономически обоснованных Программ развития Республики Таджикистан и современных научных публикаций проанализированы перспективы развития шелководства в целях устойчивого развития текстильной и других отраслей промышленности Республики. В главе кратко обсуждаются виды насекомых, производящие шелковые коконы, описаны структура и химический состав коконов тутового шелкопряда, аминокислотный состав двух основных белков коконов, фиброина и серицина, подробно проанализированы физико-химические свойства и молекулярно-массовое распределение шелкового серицина в зависимости от условий экстракции коконов, детально обсуждаются биомедицинские применения серицина и его композитов с другими биополимерами с учетом собственной биологической активности и биосовместимости полипептида, проанализирована применимость серицина для капсулирования БАС.

Во второй главе «Материалы и методы исследования» традиционно охарактеризованы использованные химические реактивы, методы подготовки энтомологического материала и экстрагирования целевого серицина из коконных оболочек тутового шелкопряда, а также методы его анализа: метод количественного анализа белка по Бредфорду, ИК-Фурье спектроскопии с использованием приставки нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО), оценки молекулярно-массового распределения (ММР) серицина методом турбидиметрического титрования, определения молекулярной массы и ММР серицина методом эксклюзионной хроматографии с дифференциальным вискозиметром, метод получения стабилизированных комплексом серицина и пектина эмульсионных микрокапсул, содержащих экстракт полифенольных

соединений прополиса, методы оценки распределения микрокапсул по размерам и их устойчивости при хранении, методики оценки состава экстракта прополиса методом капиллярного зонного электрофореза, общей суммы полифенольных соединений методом Фолина-Чокальтеу и антиоксидантной активности экстрактов и микрокапсул с 2,2-динитрофенил-1-пикрил-гидразилом.

В третьей главе «Выделение и характеристика серицина из шёлковых отходов» представлены количественные результаты выделения серицина из оболочек коконов в различных условиях: экстракцией 0,5% раствором Na_2CO_3 ($\text{pH} > 11,0$) и дистиллированной водой при 90°C в течение 3 ч, а также при использовании инновационных подходов: в автоклаве (120°C , 1,5 атм.) в течение 7-10 мин и с использованием обработки коконов ультразвуком с частотой 40 Гц в течение 10 мин с последующей горячей экстракцией в течение 60 мин.

Анализ зависимости вязкости экстрактов коконов от времени при традиционном методе извлечения белка позволил установить, что для получения высокомолекулярного серицина время нахождения в горячем растворе не должно превышать 60 мин, чтобы уменьшить гидролиз полипептидной цепи.

Соискателю флэш-экстракцией водой в автоклаве в течение 7 мин удалось достичь максимального выхода серицина, равного 29,42 % от веса бракованных коконов (23,20 и 6,22% для высокомолекулярной спиртоосаждаемой и спирторастворимой фракций соответственно). Показано, что обработкой ультразвуком с последующей экстракцией горячим раствором соли в течение 60 мин извлекается до 30,2 % серицина в пересчете на массу коконов, но вклад спиртоосаждаемой фракции не превышает 13,90 %. Представленные результаты доказывают высокую эффективность внедренных при непосредственном участии соискателя методов экстракции серицина, содержание которого, согласно литературным источникам, составляет 20-30% от массы коконов.

Для подтверждения структуры серицина, полученного в различных условиях, использован современный метод ИК-Фурье спектроскопии НПВО. В спектрах серицина обнаружены типичные для белков полосы поглощения амид I ($1600\text{-}1700\text{ см}^{-1}$), амид II ($1504\text{-}1582\text{ см}^{-1}$) и амид III ($1200\text{-}1300\text{ см}^{-1}$), положения максимумов которых были использованы для оценки вторичной

структуры серицина, для чего был привлечен большой объем литературных источников. Соискателем было доказано преимущественное существование структуры β -листа для серицина из водного экстракта и α -спирали и неупорядоченной структуры для полипептида из солевого экстракта. В ИК спектрах всех образцов также обнаружена типичная для серицина полоса поглощения в области $1395\text{--}1402\text{ см}^{-1}$, обусловленная колебаниями боковых групп серина, составляющего до 30% аминокислот в белке.

В разделе 3.2.3 приведены результаты определения молекулярной массы и ММР водорастворимой (не менее 60 % мас.) части серицина, полученного щелочной экстракцией с концентрированием при $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ и пониженном давлении (СНД) и ультрафильтрацией (СУФ), с использованием ВЭЭЖ хроматографии. Для серицина характерно широкое молекулярно-массовое распределение, в котором основная фракция имеет молекулярную массу около 20 кДа. **В разделе 3.2.4** турбидиметрическим титрованием растворов серицина, полученных экстракцией раствором Na_2CO_3 , подтверждено узкое распределение выделенного полимера по размерам с преобладанием фракции с небольшой молекулярной массой, то есть параметров, близких к коммерческому образцу серицина. Доказана склонность серицина к агрегированию с увеличением концентрации, особенно в случае бессолевой формы полипептида.

В четвертой главе “Применение серицина в качестве композиционного материала” предложен способ формирования микрокапсул с использованием серицина на основе эмульсии “масло в воде”. Амфифильные свойства серицина позволяют использовать его как эффективный высокомолекулярный эмульгатор масляной фазы без использования других поверхностно-активных веществ. После добавления в первичную эмульсию низкомолекулярного пектина серицин включается в оболочку микрокапсул в виде комплекса с полисахаридом. Установлено, что средневзвешенный по объему средний диаметр микрокапсул, оцененный из данных оптической микроскопии, увеличивается с 5,65 мкм до 7,14 мкм, если отношение массы серицина к массе добавленного пектина возрастает с 1 до 10. Показано, что наиболее устойчивы эмульсии, полученные при отношении серицин/пектин 3:1, при котором достигается максимальная эффективность включения полифенольных соединений прополиса в микрокапсулы (47,23%).

В разделе 4.3 обсуждается состав экстракта прополиса, использованного для включения в эмульсионные микрокапсулы, и его антиоксидантная активность (АОА), определенная с использованием свободных радикалов 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (DPPH). Установлено, что АОА микрокапсул, не содержащих экстракт прополиса, низкая. Доказано, что полифенольные соединения экстракта прополиса, инкапсулированные в микрокапсулы, сохраняют высокую антиоксидантную активность, которую проявляют после 10-100-кратного разбавления эмульсии водой. При этом АОА не зависит от соотношения полимеров, серицина и пектина, в оболочке микрокапсул. Тот факт, что обесцвечивание растворов DPPH усиливается при разбавлении эмульсии микрокапсул водой (до 92,86% при 100-кратном разбавлении), позволяет предположить, что в этих условиях происходит высвобождение ПФС из микрокапсул, с сохранением антиоксидантной активности.

В заключении сформулированы выводы и даны рекомендации по практическому использованию результатов. Серицин является перспективным для использования в системах доставки лекарственных и косметических средств биополимером. Он может быть использован как эффективный водорастворимый эмульгатор прямых эмульсий, а в сочетании с другими природными или синтетическими полимерами – для формирования микрокапсул. Микрокапсулы с белково-полисахаридной оболочкой на основе серицина и пектина перспективны для создания вододиспергируемых концентратов липофильных антиоксидантов, лекарственных соединений и БАС и будут востребованы в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности республики и стран региона.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны, научной и практической значимости), по которым соискателю можно присудить искомую учёную степень.

Соискателю Шеровой Замире Умаралиевне может быть присуждена ученая степень доктора философии (PhD)-доктор по специальности 6D060600-Химия (6D060606-Высокомолекулярные соединения) за:

- совокупность экспериментальных данных, позволивших разработать инновационный способ быстрой экстракции серицина из оболочек коконов тутового шелкопряда водой в автоклаве при повышенной температуре и

давлении, с выходом серицина более 29% от массы бракованных коконов, в котором до 80% мас. серицина имеет молекулярную массу 19,4-19,8 кДа;

- установление влияния условий экстракции, а именно температуры, времени, присутствия соли, и способа выделения из экстракта на выход фракций серицина с заданными свойствами;

- результаты, доказывающие высокую чистоту экстрагированного из отходов коконов серицина, сравнимую с коммерческим белком, мультимодальное молекулярно-массовое распределение серицина, зависящее от условий экстракции, установленное впервые наличие вторичных структур β -листа и случайных клубков для серицина, выделенного из водного и солевого экстракта соответственно, и образование надмолекулярных агрегатов белка в концентрированных растворах;

- установление оптимальных условий получения микрокапсул с оболочкой серицин/пектин на основе эмульсии "масло в воде", содержащих полифенольные соединения экстракта прополиса с сохранением их антиоксидантной активности.

Практическая значимость полученных результатов определяется:

- 1) перспективностью использования полученных Шеровой З.У. результатов при масштабировании способа получения серицина из отходов коконов кокономотальных предприятий;

- 2) возможностью обеспечить замещение биополимера зарубежного производства, пригодного для стабилизации эмульсий и получения микрокапсулированных форм лекарственных веществ и БАС, серицином, экстрагированным из отходов коконов.

Соответствие научной квалификации соискателя учёной степени.

Диссертационная работа Шеровой Замиры Умаралиевны «Экстракция и характеристика серицина из шелковых отходов и композиционные материалы на его основе» и научная квалификация соискателя соответствует ученой степени доктора философии (PhD) - доктор по специальности 6D060600 – Химия (6D060606 – Высокомолекулярные соединения).

Диссертация выполнена в лаборатории «Химия высокомолекулярных соединений» Института химии им. В.И. Никитина НАН Таджикистана в период с 2018 до 2024 года.

Несмотря на общую положительную оценку, диссертационное исследование не лишено **недостатков**, к числу замечаний и пожеланий можно отнести следующее:

1. В тексте диссертации отсутствует единая система обозначения образцов серицина и способов (вариантов методик) их получения. В каждой главе используется новая схема обозначений, что затрудняет сравнение результатов, полученных для одних и тех же образцов разными методами.
2. В диссертации никак не обсуждается содержание ионов натрия в образцах серицина, полученных экстракцией 0,5 % раствором Na_2CO_3 , и их возможное влияние на растворимость серицина в воде, вязкость растворов, конформацию макромолекул, агрегирование белка в концентрированных растворах и другие характеристики серицина, выделенного в разных условиях.
3. Подписи к рисунку 2 автореферата и рис. 3.8.-3.9 диссертации верны лишь частично, на рисунках приведены не кривые молекулярно-массового распределения, а профили элюирования серицина с наложенными кривыми молекулярной массы фракции, элюируемой при известном объеме. В связи с этим подпись “Эксклюзионные хроматограммы серицина с наложенными кривыми молекулярной массы в зависимости от объема элюирования” лучше описывает содержание рисунков, чем предложенные соискателем.
4. Использование обозначения d_{43} для интервалов экспериментальных значений диаметров микрокапсул в Таблице 2 автореферата и Таблица 4.3 основного текста ошибочно. Обозначение d_{43} ранее введено для средневзвешенного по объему среднего диаметра, рассчитанного по формуле 4.1 (с.111). Графики на рис 4.1 обычно представляются в виде гистограмм с равными интервалами, число которых можно рассчитать, исходя из числа измерений $N=249$, по формуле Стёрджеса или эмпирической формуле $(N)^{1/2}$.
5. При определении белка в образцах серицина методом Бредфорда в качестве стандарта взят бычий сывороточный альбумин, аминокислотный состав которого существенно отличается от состава серицина. Эта особенность калибровки, а не низкая растворимость высушенного белка, как предлагается

на с. 75, приводит к заниженному содержанию серицина во всех образцах. В то же время, из анализа данных, представленных в Таблице 3.5, следует, что содержание белка в серицинах, экстрагированных из отходов коконов, сравнимо с коммерческим серицином, что подтверждает высокую чистоту экстрагированного из отходов биополимера.

6. Как рассчитывалось молярное соотношение СШ/НМПЯ в Таблице 4.4. с учетом того, что оба полимера имеют сложную структуру, которая детально не исследована.
7. В тексте диссертации присутствуют технические погрешности. На рис. 3.4-3.7 отсутствуют подписи оси X, указана только размерность. На с. 59, строки 17-18 при обсуждении механизма реакций 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH), использованного для оценки антиоксидантной активности полифенольных соединений прополиса, пропущено слово “расходуется”. Соответствующее предложение должно читаться следующим образом: “В этом суть метода - чем больше в системе *расходуется* свободных радикалов, тем выше антиоксидантные свойства системы”. В Таблице 3.4 выходы серицина в % при экстракции различными способами суммированы, что не имеет физического смысла, поскольку такие способы технически невозможно выполнить последовательно.

Обобщённое заключение. Отмеченные замечания ни в коей мере не снижают научную и практическую значимость данного исследования. Автореферат диссертации соответствует её содержанию. В целом, диссертационная работа Шеровой Замиры Умаралиевны «Экстракция и характеристика серицина из шелковых отходов и композиционные материалы на его основе» является самостоятельной, законченной научной квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне, обладающей признаками актуальности, имеет элементы научной новизны, научной и практической значимости.

По содержанию и по форме изложения диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к научно-квалификационным работам на соискание учёной степени доктора философии (PhD) – доктор по специальности 6D060600 – Химия (6D060606 – Высокомолекулярные соединения) согласно пунктам 31, 33-37 Порядка присвоения учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства Республики Таджикистан от 30 июня 2021 года, №267 (В редакции постановления Правительства

Республики Таджикистан от 26 июня 2023 года, №295), а её автор Шерова Замира Умаралиевна заслуживает присуждения ей учёной степени доктора философии (PhD) - доктор по специальности 6D060600 – Химия (6D060606 – Высокомолекулярные соединения).

Отзыв обсуждён и одобрен на заседании расширенного научного онлайн семинара (протокол №.1 от 17 апреля 2025 года), на котором соискатель Шерова З.У. выступила с устным докладом. На научном семинаре присутствовало 15 человек, в том числе 1 доктор химических наук и 10 кандидатов химических наук. Результаты голосования по утверждению отзыва ведущей организации:

за - 11; против - нет; воздержавшиеся - нет.

Председатель заседания:

Зав. отраслевой лабораторией термостойких полимерных композиционных материалов, кандидат химических наук



Матвеев Ю.В.

Эксперт:

ведущий научный сотрудник, кандидат химических наук, доцент



Шутова Т. Г.

Секретарь заседания:

ученый секретарь ИХНМ НАН Беларуси, кандидат химических наук



Михайловский Ю.К.

Адрес организации: 220084, Республика Беларусь, г. Минск, ул.Скорины, 36.

Тел. : +375(17)2639299, e-mail: ichnm@ichnm.by, mixa@ichnm.by

Адрес официального сайта в сети Интернет: <https://ichnm.by>



Матвеев Ю.В.
Шутова Т.Г.
Михайловский Ю.К.

УДОСТОВЕРЯЮ
Ученый секретарь, к.х.н.
Михайловский Ю.К.