

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА .**

доктора химических наук, доцента Раджабова Умарали, заведующего кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибни Сино, на диссертационную работу Усмановой Сураё Рахматжановны на тему: «Комплексообразование пектиновых веществ с лактоглобулинами молочной сыворотки», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 - физическая химия

Представленная диссертационная работа посвящена изучению физико-химических особенностей формирования комплексов белков молочной сыворотки с пектинами разного происхождения в водном растворе, которые могут найти широкое применение в медицине, а также в пищевой и фармацевтической промышленности.

Уникальные физико-химические свойства биополимерных гидрогелей вызвали бурный интерес среди научных исследований в области создания функциональной пищи, носителей ЛВ, пищевых ингредиентов (ПИ), так как являются основой многих биологических систем. Перспективными исходными реагентами для получения таких гидрогелей являются полисахариды и белки, полученные из растительных источников. Следовательно, разработка физико-химических основ получения функциональных материалов на основе биodeградируемых полимеров для безопасной доставки лекарственных веществ (ЛВ) в нужный участок организма, представляет чрезвычайно актуальную научно-техническую задачу современной науки.

### **Структура, содержание и объём работы**

Диссертационная работа Усмановой Сураё Рахматжановны на тему: «Комплексообразование пектиновых веществ с лактоглобулинами молочной сыворотки» состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной

части, изложения результатов и их обсуждения, выводов, и списка цитируемой отечественной и зарубежной литературы, включающего 170 источников. Работа изложена на 100 страницах компьютерного текста, содержит 20 рисунков, 1 схему и 11 таблиц.

Во введении достаточно корректно и четко обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, изложена научная новизна, практическая значимость работы. Также представлены сведения об апробации работы, публикациях, структуре и объеме диссертации.

В первой главе диссертации представлены результаты исследований по изучению пектиновых полисахаридов и их комплексов с белками, Полиэлектrolитические свойства пектиновых полисахаридов, лактоглобулинов из молочной сыворотки, получение и свойства макромолекулярных комплексов, взаимодействие протеин-полисахарид в водном растворе, комплексы протеин – полисахарид в гелях и на поверхности раздела фаз – эмульсии, взаимодействия белков с пектиновыми полисахаридами. При этом на основании анализа литературных данных диссертантом даны сведения о взаимодействии между полимерами (белок-белковые, белково-полисахаридные, или полисахарид-полисахаридные) в растворе и с растворителем, регулировании растворимостью и коагустивностью биополимеров, вязкоупругих свойствах конечной смеси и даже их поведение на поверхности фаз (твёрдое тело- жидкость или жидкость-жидкость). Характер взаимодействия биополимеров в растворах, в основном, вызван электростатическими силами и в меньшей степени водородными связями.

Во второй главе диссертации представлены полученные экспериментальные результаты по приготовлению, очистке и количественному анализу пектиновых полисахаридов, выделение лактоглобулинов из молочной сыворотки различными физико-химическими методами, в том числе титриметрическим, фотометрическим, методом Седмака, капиллярным и гель-электрофорезом, потенциометрическим и

турбидиметрическим титрованием.

Третья глава диссертации посвящена обсуждению полученных результатов. В данной части работы представлены результаты потенциометрического титрования пектинов, полученных из растительных источников и лактоглобулинов молочной сыворотки в растворе. При этом изучены кривые титрования для различных пектинов: яблочного, подсолнечного, апельсинового, а также кривые потенциометрического титрования карбоксильных и имидазольных групп стандартного, очищенного и изолированного  $\beta$ -лактоглобулина и белков молочной сыворотки. Во всех исследованных объектах в точке перехода потенциометрического титрования происходит излом кривой зависимости рН от величины объема добавленной щелочи. Исходя из кривых исследованных объектов были вычислены кажущиеся константы диссоциации ( $pK_a$ ) как функции степени диссоциации ( $\alpha$ ). Показано, что кривые титрования карбоксильных групп образцов  $\beta$ -лактоглобулина стандартного и концентрата различаются между собой, из-за небольшого содержания других белков во втором образце. В то же время кривые титрования имидазольной группы у них одинаковы для обоих образцов. Во втором и третьем параграфе этой главы представлены результаты по изучению образования нерастворимых комплексов пектинов, выделенных из разного растительного сырья (яблочные выжимки, корзинки подсолнечника, кожура и мякоть цитрусовых) с белками молочной сыворотки при рН ниже изоэлектрической точки (рН 3,5), методом турбидиметрии, потенциометрии и кондуктометрии. Сравнивая кривые зависимости мутности комплексов на основе исследованных пектинов и белков молочной сыворотки, диссертант обосновывает, что наибольшая мутность и, соответственно, выход наблюдается у комплекса на основе яблочного пектина. Вторым по величине мутности является комплекс на основе подсолнечного пектина. Наименьшим значением мутности (выхода) обладает комплекс на основе цитрусового пектина. Указанные выше различия, утверждает диссертант, в структуре подсолнечного, яблочного и цитрусового пектинов оказывают влияние на

особенности их взаимодействия с белком молочной сыворотки при образовании нерастворимых комплексов. В дальнейшем автором проведены потенциметрическое и кондуктометрическое титрование растворимой фракции, используя раствор NaOH для кислотных, и HCl для основных групп титрования.

В четвертом параграфе этой главы представлено количественное изучение комплекса различных пектинов с изолированными сывороточными белками молока. В этой части работы, с целью количественного изучения взаимодействия концентрата белков молочной сыворотки с пектинами, диссертантом использован метод капиллярного электрофореза. При этом установлено, что с увеличением фракции концентрата белков молочной сыворотки происходит одновременное взаимодействие протеинов на поверхности комплекса друг с другом, что указывает на кооперативное взаимодействие протеинов на поверхности сформировавшегося комплекса.

#### **Научная и практическая значимость работы**

В результате проведенных целенаправленных исследований Усманова С.Р. получила важные результаты, которые имеют не только теоретическое, но и большое научно - практическое значение. Диссертанту удалось методом потенциметрического, кондуктометрического и турбидиметрического титрования в широкой области pH, ионной силы и концентрации в растворах исходных биополимеров (пектиновые вещества и концентрат белков молочной сыворотки) и их комплексов, определить характеристические константы диссоциации карбоксильных, amino- и имидазольных групп ( $pK_0$ ) и изменения электростатической составляющей  $\Delta pK_0$  и дать оценку механизму комплексообразования. Автором продемонстрирована качественная картина образования комплекса между концентратом белков молочной сыворотки и низкометилованного пектина. Впервые методом капиллярного электрофореза изучен состав комплексов и установлено, что в комплексе с яблочным пектином участвуют 64,41 %  $\beta$ -LgA, 33,52 % LgB, 1,57 %  $\alpha$ -

лактоглобулина. С увеличением фракции концентрата белков молочной сыворотки происходит одновременное взаимодействие протеинов на поверхности сформировавшегося комплекса. Получены нерастворимые комплексы низкометилированного пектина с концентратом белков молочной сыворотки и изучен механизм образования комплексов с использованием метода турбидиметрии. Показано, что на выход комплексов влияют степень этерификации пектина и его молекулярная масса.

Разработанные методики анализа и полученные физико-химические константы могут быть использованы в справочниках по природным полимерам и в материалах на их основе, а также могут использоваться в учебниках для ВУЗов и в промышленных лабораториях. Знание по ионизации пектиновых веществ и  $\beta$  – лактоглобулина в зависимости от концентрации раствора и рН среды, могут являться основой для использования пектиновых веществ и  $\beta$ -лактоглобулина в качестве природного полианиона при формировании новых композиционных материалов. Низкометилированные пектины с белками образуют нерастворимые комплексы, являются уникальной природной полимерной системой для капсулирования лекарственных средств в дисперсной среде. Эти системы могут быть широко использованы при получении полимерных носителей лекарственных средств и терапевтических систем с адресной доставкой в определяемые участки пищеварительного тракта.

**Достоверность результатов работы** обеспечена применением совокупности современных физико-химических методов исследования: потенциометрии, спектрофотометрии, турбидиметрии, капиллярного электрофореза. Выводы базируются на полученных диссертантом экспериментальных данных и аргументировано обоснованы.

**Личное участие автора** состояло в сборе литературных данных, постановке задач исследования, методов их решения, подготовке и проведении экспериментов, анализе и обобщении полученных результатов эксперимента.

**Полученные диссертантом** результаты прошли достаточно хорошую апробацию в ряде международных и республиканских\* симпозиумов и конференциях. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 2 тезиса докладов.

Таким образом, представленная Усмановой Сураё Рахматжановной диссертационная работа является законченным научным исследованием, которое вносит определенный вклад в физическую химию.

**Общая оценка работы.** Диссертационная работа Усмановой Сураё Рахматжановны представляет собой законченное научное исследование, выполненное на высоком экспериментальном уровне. Полученные данные обобщены на высоком теоретическом уровне. В работе решена важная задача в области физической химии. Полученные диссертантом экспериментальные и теоретические результаты представляют собой решение важной научно-практической проблемы, вносящей существенный вклад в развитие представлений о процессах комплексообразования полимеров.

Следует отметить, что такая большая по объему и интересная по содержанию работа не может быть лишена и некоторых недостатков, к которым относятся;

1. В практической значимости работы (стр.4 автореферата и стр.6 диссертации) приводится следующее: «Низкометилованные пектины (НМ) с белками образуют нерастворимые комплексы, являются уникальной природной полимерной системой для капсулирования лекарственных средств (ЛС) в дисперсной среде. Эти системы могут быть широко использованы при получении полимерных носителей лекарственных средств и терапевтических систем с адресной доставкой в определяемые участки пищеварительного тракта». Если образующие комплексы нерастворимые, могут ли быть носителями лекарственных средств в определяемые участки пищеварительного тракта?

2. На стр.32 диссертации при количественном анализе пектиновых полисахаридов в разделе 2.4.1. -«Модифицированный титриметрический

метод» при определении свободных карбоксильных групп в качестве титранта диссертантом использован 0,01н раствор гидроксида натрия, однако титр гидроксида натрия по определяемому веществу дан для 0,1н раствора гидроксида натрия (1мл 0,1н раствора гидроксида натрия соответствует 0,0045 г карбоксильных групп).

3. На стр.68 диссертации рис. 3.3.2. построены V от рН при рН 6,28 и ионной силе 0,01М. Какой фоновый электролит взят при построении данной зависимости?

4. На стр.73 диссертации: изолят сывороточного белка и пектины при рН 5,5 растворяли в 5mM буферном растворе. Какой буферный раствор неизвестно, а на стр. 74 диссертации говорится - растворы белков готовили в 5mM фосфатном буферном растворе при рН = 2,9 с добавлением 1М мочевины, однако рабочий предел рН в фосфатном буфере лежит в пределах 5,9-7,8.

5. В работе диссертантом продемонстрирована качественная картина образования комплекса между концентратом белков молочной сыворотки и низкометилованного пектина, а также впервые методами капиллярного электрофореза, турбидиметрии и потенциометрии изучен состав комплексов и одновременное взаимодействие протеинов на поверхности сформированного комплекса. Поскольку речь идёт о комплексообразовании неясно, почему авторами не изучались термодинамические характеристики процесса комплексообразования и их стабильность?

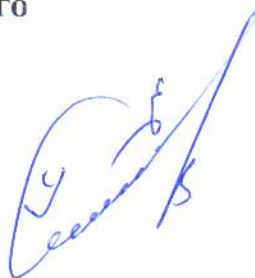
6. Хотя, в целом, автореферат и диссертация написаны грамотно и квалифицировано, все же имеют место некоторые неудачные стилистические обороты и грамматические ошибки, которые влияют на качество изложения.

Отмеченные недостатки не умаляют научной и практической ценности диссертационного исследования, не снижают его актуальность и грамотно аргументированы. Результаты исследования нашли свое отражение в авторских научных публикациях, автореферат полностью соответствует идеям и выводам, содержащимся в диссертационной работе.

Представленный в работе обширный, экспериментальный и теоретический материал дают основание утверждать, что диссертационная работа Усмановой Сураё Рахматжановны на тему «Комплексообразование пектиновых веществ с лактоглобулинами молочной сыворотки» отвечает критериям п.п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. N 842 к кандидатским диссертациям, а её автор, Усманова Сураё Рахматжановна вполне достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04-физическая химия.

**Официальный оппонент:**

**Зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибни Сино, доктор химических наук, доцент**



**Раджабов У.**



Подлинность подписи У. Раджабова подтверждаю

Нач. Отдела кадров Таджикского государственного  
Медицинского университета им. Абуали ибни Сино

«09» 02 2015 г.

