

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Слободовой Дары Александровны «Физико-химические свойства функциональных пектиновых полисахаридов и продуктов на их основе», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия

Актуальность темы исследования

Пектиновые полисахариды являются уникальными по своим потребительским свойствам растительными биополимерами. Они имеют официальную регистрацию в качестве пищевой добавки E440, которой в настоящее время невозможно подобрать какую-либо альтернативу. Это связано, с одной стороны, с доступностью растительных источников, из которых выделяют пектины, а с другой стороны с их высокой ценностью как компонента, используемого в производстве большого ассортимента продуктов питания, в том числе лечебно-профилактического направления. Хорошо известны многочисленные полезные свойства пектинов, такие как детоксикация отравлений тяжелыми металлами и нормализация процессов обмена в организме человека и животных, они являются основой для создания различных лекарственных форм, особенно для детей. Кроме того, пектины представляют собой абсолютно безопасные и эффективные желирующие средства, находящие применение практически во всех отраслях пищевой и медицинской промышленности. В настоящее время в РФ нет производства пектинов, которые страна импортирует в большом количестве из-за рубежа. Причины этого различны. Они связаны не только с тем, что основным промышленно значимым традиционным источником пектинов являются цитрусовые и яблоки, но и с несовершенством технологии пектинов. Она зачастую очень энергоемка и трудоемка, предполагает использование непищевых кислот, требует особых условий сушки готового продукта и т. д. Кроме того, структура пектина при базовой составляющей в виде полигалактуроновой кислоты, очень широко варьируется благодаря нейтральным сахарам самой различной природы, сильно зависит от вида сырья и способа получения пектина. Сами пектиновые полисахариды, являясь биополимерами кислой природы, имеют уникальные физико-химические свойства и представляют огромный фундаментальный интерес для физической и коллоидной химии в плане изучения их строения, самоорганизации в растворе, зависимости свойств от состава и молекулярной массы.

Важное и актуальное значение имеет исследование кинетических особенностей реакций гидролиза, с помощью которых извлекают пектиновые полисахариды при одновременной экстракции, что позволяет существенно оптимизировать и упростить процессы их получения и стандартизации. Поэтому представленное к защите исследование является актуальным и целью работы, которую автор сформулировал как «изучение процесса распада протопектина различного сырья в потоке реакционного раствора под воздействием атмосферного и высокого давления и температуры с формированием однородных химически чистых изолированных фракций пектина с высокими сорбционными свойствами», представляется обоснованной и значимой. Среди круга задач, которые автор рассмотрел для достижения этой цели, наиболее важными являются изучение влияния параметров совмещенных процессов гидролиза–экстракции как в статическом, так и динамическом режиме, на выход и физико-химические свойства пектиновых биополимеров, выявление кинетических и термодинамических закономерностей сорбции некоторых тяжелых металлов различных

видов пектинов, а также выявление взаимосвязи между строением, молекулярной массой пектинов и сорбционной способностью по отношению к ионам тяжёлых металлов, белкам и токсинам.

Научная новизна работы

В целом работа носит комплексный, междисциплинарный характер, связанный с химией и технологией пектиновых биополимеров, а также установлением кинетических и термодинамических характеристик как самих процессов гидролиза–экстракции, так и закономерностей сорбции некоторых тяжелых металлов. Нужно отметить определенную смелость автора исследовать эти сложные по природе процессы, протекающие с участием не индивидуальных химических соединений, а их смесей с различным молекулярно-массовым распределением. Это потребовало от автора использования методов физической химии сложных неоднородных полимерных систем для изучения строения, физико-химических, кинетических и термодинамических аспектов процессов гидролиза–экстракции и сорбции.

Среди новых результатов, полученных в этой работе, необходимо отметить следующие. Автором показано, что как в динамических, так и статических условиях гидролиза-экстракции раствором соляной кислоты происходит распад протопектина с образованием фракции, названной микрогелем, который, по мнению автора работы, является кальциевыми солями сильно деэтерифицированного пектина, где ионы кальция координированы карбоксильными группами нескольких полимерных цепей (рис. 4 стр. 64). Проведение процесса гидролиза-экстракции в динамическом режиме проточного реактора позволяет использовать само предварительно набухшее растительное сырье в качестве неподвижной фазы для частичного фракционирования экстрагируемых пектиновых полисахаридов по принципу гель-фильтрации. Полученные таким образом образцы пектиновых полисахаридов отличаются по своему составу, физико-химическим свойствам и сорбционной емкости по отношению к ионам тяжелых металлов. Установлено, что повышение давления и температуры приводит к увеличению доли водорастворимых полисахаридов для всех использованных видов сырья – корзинок подсолнечника, кожуре и мякоти помело, кожуре апельсинов, лимонов, бананов, жома яблок и тыквы, а также свекловичного жома. Полученные экспериментальные данные были обработаны с использованием уравнений гидродинамики, позволивших оценить основные кинетические параметры и рассчитать кажущиеся константы скорости общей реакции распада протопектина в потоке реакционного раствора, а также рассчитать кажущиеся константы скорости для процессов гидролиза-экстракции, приводящих к образованию изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ. Для полученных фракций пектиновых полисахаридов были определены молекулярно-массовое распределение, степень полимеризации полигалактуроновой кислоты, степень этерификации, уронидная составляющая, моносахаридный состав нейтральных полисахаридных составляющих, характеристическая вязкость, реологические характеристики, сорбционная емкость по отношению к таким токсичным металлам, как кадмий и свинец. При этом автором были получены изотермы сорбции, рассчитаны термодинамические параметры комплексообразования, показано влияние содержания полигалактуроновой кислоты, температуры и pH на сорбцию.

На примере белка лактоглобулина кинетическими и термодинамическими методами изучено комплексообразование с различными фракциями пектинов, определены изотермы сорбции и константы связывания.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическое значение проведенного исследования заключается, прежде всего, в оценке термодинамических и кинетических характеристик как процессов гидролиза-экстракции различных видов растительного сырья в проточном реакторе, частично совмещенном с процессами гель-фильтрации, получении термодинамических и кинетических параметров сорбции выделенными пектиновыми полисахаридами тяжелых металлов, а также констант связывания с белком лактоглобулином. Оптимизированные при этом для использования на пектиновых полисахаридах методики могут быть в дальнейшем использованы для поиска закономерностей в ряду других биополимеров природного происхождения.

Практическое значение полученных результатов состоит в разработке различных способов получения пектиновых полисахаридов путем совмещенных процессов гидролиза-экстракции различных видов растительного сырья в проточном реакторе, создании научных основ применения полученных пектиновых полисахаридов для детоксификации тяжелых металлов. На основании проведенного исследования были предложены для внедрения различные практически значимые продукты, такие как пектиновый концентрат, порошкообразный пектин. Показано, что изолированные пектиновые фракции хорошо совместимы с декстраном, являющимся основой для крове- и плазмозамещающих препаратов, а также обладают криопротекторными свойствами. На основе пектиновых фракций были получены эффективные изотонические и гипертонические инфузионные растворы, изученные *in vivo* на модели тяжелого геморрагического шока. Показано, что при введении разработанного гипертонического инфузионного раствора наблюдается быстрая стабилизация гемодинамических показателей и благоприятное течение метаболических процессов в органах и тканях, свидетельствующее о восстановлении микроциркуляции и эффективности противошоковых мероприятий.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием современных методов спектрофотометрического, кондуктометрического, титриметрического, вискозиметрического, комплексометрического анализа, газожидкостной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, а также современных аналитических методов анализа строения и физико-химических свойств пектиновых полисахаридов. Сопоставление полученных данных с имеющимися в литературе, подробная интерпретация экспериментальных наблюдений с использованием различных кинетических и термодинамических методов физической химии определяют достоверность полученных результатов и обоснованность сделанных выводов.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом

Диссертационная работа изложена на 202 стр., включает введение, три главы, выводы, список цитируемой литературы (299 ссылок) и приложение, в котором представлены дополнительные экспериментальные данные, сведения о внедрении результатов работы в производство, отчет по эффективности и безопасности применения концентрата протопектина. В работе приведено 44 рисунка и 43 таблицы.

Во введении к диссертационной работе дано обоснование актуальности, приведены цели и задачи исследования, охарактеризованы научная новизна и практическая значимость, представлены основные положения, выносимые на защиту, личный вклад автора и перечислены конференции, где работа была апробирована. В первой главе представлен литературный обзор, посвященный современному состоянию исследований структуры пектиновых полисахаридов, способам выделения из различных источников растительного сырья, физико-химическим характеристикам (растворимости, вязкости, желирующей способности, сорбционным свойствам). Подробно рассмотрены процессы гидролиза–экстракции пектинов, и сделан вывод о перспективности дальнейшей работы по выделению пектинов в условиях проточного реактора под давлением с одновременным частичным разделением на фракции. Обзор написан в целом подробно, достаточно логично и цитирует данные 201 литературного источника. К недостаткам обзора следует отнести отсутствие его названия, а также неравномерность в характере цитирования. Так, например, на стр. 17 ссылки [5, 18-22] приведены в начале, и последующее цитирование охватывает страницы 17-19, причем непонятно, какие конкретно работы были процитированы, то же относится к цитированию на стр. 39-41.

Вторая глава включает описание методов выделения и различных способов оценки физико-химических свойств пектиновых полисахаридов, в том числе описание методик определения моносахаридного состава, степени этерификации, молекулярно-массового распределения, реологических свойств. В третьей главе приведен подробный анализ полученных экспериментальных результатов по процессам распада протопектина и различным физико-химическим свойствам образующихся пектиновых полисахаридов из различных источников растительного сырья в зависимости от условий проведения гидролиза–экстракции.

В третьей главе приведено подробное обсуждение полученных экспериментальных данных: проанализированы различные аспекты гидролиза–экстракции пектинов в проточном реакторе при обычном и повышенном давлении, представлены результаты многочисленных кинетических и термодинамических экспериментов, результаты изучения физико-химических характеристик пектиновых полисахаридов, результаты изучения сорбции тяжелых металлов и белков, обсуждены различные корреляции типа структура – свойство.

Представленные выводы являются обоснованными и базируются на большом авторском экспериментальном материале.

Подтверждение соответствия публикаций и автореферата основным положениям диссертации

Основные результаты диссертационной работы отражены в 19 публикациях, из которых 8 работ относятся к журналам Перечня ВАК и приравненных к ним, а также материалах 45 тезисов конференций, симпозиумов, семинаров и 1 патенте РФ. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают содержание диссертации.

Вопросы и замечания по диссертационной работе

Диссертационная работа Слободовой Д.А. изложена очень подробно, логично построена, необходимость и последовательность всех этапов выполнения исследований четко аргументированы. Тем не менее, при прочтении текста работы возникли некоторые вопросы и замечания, которые в основном носят терминологический характер и характер неудачных выражений.

1) Говоря о совмещении процессов гидролиза-экстракции и фракционирования по типу гель-фильтрации с использованием в качестве неподвижной фазы набухшего растительного сырья, следует заметить, что все же гель-фильтрация – это частный случай хроматографии, т.е. равновесное распределение полимеров в массе сорбента от более мелких молекул, которые лучше сорбируются, – к более крупным, которые сорбируются хуже. Т.е., как правило, первоначально из колонки выходят высокомолекулярные вещества. Конечно, это зависит от размера пор в сорбенте, от стандартизации неподвижной фазы. В работе не представлены характеристики размерности исходной растительной массы, что важно для этого процесса. Кроме того, гидролиз-экстракция происходит во всем слое растительного сырья, и как в таком случае осуществляется разделение, – непонятно.

2) Разрушение протопектина приводит к выходу в гидролизующий раствор белков, а также самого пектина, который содержит ионы кальция и магния, а также некоторые количества связанного бора и кремния. Каким образом очищали пектин от этих веществ? Каким образом проведена очистка от других балластных веществ в растительном сырье?

2) автор пишет, что «максимальная сорбционная емкость напрямую зависит от концентрации свободной галактуронової кислоты» (стр. 9, стр. 11). На самом деле, здесь речь должна идти о полигалактуронової кислоте (то же стр. 71, 72), свободная галактуронової кислота не является сорбентом. Неудачное выражение: «содержание звеньев галактуронової кислоты в микрогеле» (стр. 72, стр. 75, то же стр. 82, 83, 84, 88), здесь и далее речь идет о степени полимеризации. Неудачное выражение: «пектиновые вещества и микрогель, обогащенные звеньями галактуронової кислоты и нейтральных сахаров» (стр. 73). Пектиновые вещества обогащены не звеньями галактуронової кислоты, а состоят в основном из полигалактуронової кислоты.

3) «сорбционный процесс... с диффузией в качестве скорость-определяющей стадии и химической реакцией...». В последнем случае правильнее бы написать вместо «химической реакции» «комплексообразование» (стр. 9).

4) Неудачное выражение: «Механизм распада протопектина ... представляет собой двухступенчатый процесс экстрагирования набухшего микрогеля из растительной клеточной стенки и последующее его фракционирование». Механизм распада протопектина – это гидролиз, декомплексообразование, разрушение трехмерной структуры с помощью этих реакций и другие процессы; фракционирование же, т.е. разделение, не имеет отношения к механизму (стр. 10).

5) «Выход пектиновых веществ и олигосахаридов увеличивается с последующей стабилизацией...». Стабилизацией чего? Не понятно.

6) Отсутствует название литературного обзора (стр. 14).

7) «Сами по себе пектиновые полисахариды достаточно хорошо растворяются в дистиллированной воде» (стр. 17). Откуда это взято? Пектиновые полисахариды не растворяются в воде. Они могут набухать или желировать в зависимости от дополнительных веществ.

8) «Каждая пектиновая цепь гидратирована, вытянута и независима...» (стр. 18). Откуда это взято? Гидратация не обеспечивает образование линейных форм.

9) Неудачные выражения: «Увеличение кислотности среды приводит к подавлению карбоксильных групп» (стр. 18). Что такое «подавление карбоксильных групп»?

– «суммарный распад протопектина, принятый как сумма содержания микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов» (стр. 79);

– «количество отрицательно заряженных свободных карбоксильных групп», речь идет, по-видимому, просто об ионизированных карбоксильных группах, число которых и увеличивается с ростом рН (стр. 20);

– «воздействие гидроксильных ионов на атом углерода в карбоксильной группе приводит к распределению свободных и этерифицированных групп остатков звеньев галактуроной кислоты в области гомогалактуронана». О чем идет речь, непонятно (стр. 21);

– «радиус внешней орбитали свинца» (стр. 27), «ухудшение координации» (стр. 28), «...данная концепция требует повышения температуры...» (стр. 32);

– «...в настоящее время не существует метода, позволяющего детально изучить, как процесс гидролиз-экстракции компонентов распада протопектина из растительной клеточной стенки, формирования экстрагируемых веществ, так и физико-химические параметры, структуру и свойства полученных продуктов реакции, а также выявить взаимосвязь «структура-свойство». Очевидно, что такого метода быть не может, поскольку перечисленные задачи очень разные по смыслу (стр. 54).

– «Присутствие рамнозы указывает на ее локализацию в боковых цепях». Просто присутствие рамнозы не может указывать на ее какую-либо локализацию (стр. 84);

– «Выявленная зависимость содержания остатков звеньев галактуроной кислоты от суммарного выхода пектиновых полисахаридов» (стр. 89). Более точно: содержание полигалактуроновой кислоты определяется значением рН гидролиза и временем экстракции (стр. 89).

– «выбранный подход не обозначает распад протопектина» (стр. 89);

– «жидкий протопектин» (стр. 140), пектин и протопектин не могут быть жидкими. Это концентраты или относительно концентрированные растворы (зачастую напоминающие гель).

– «суммарный выход остатков звеньев галактуроновой кислоты является её общим содержанием в фитомассе» (стр. 96).

10) Необходимо пояснить, что такое «полисахариды вторичной фитомассы» и «полисахариды первичной фитомассы» (стр. 19). 10) Что такое «более упорядоченный механизм» (стр. 21)?

11) Единицы характеристической вязкости обратны единицам измерения концентрации, т.е. не «мг/л», а «см³/грамм» (стр. 22).

12) Говоря о процессах получения пектиновых полисахаридов на стр. 29 раздела 1.7, автор почему-то ничего не говорит об ультрафильтрации и диализе, без которых невозможно получить стандартизованный пектин. Кроме того, следует отметить, что не приведены какие-либо данные по переосаждению пектина, которые также необходимы для его стандартизации в медицинских целях.

13) Структура протопектина на стр. 64 (рис. 3) изображена не совсем корректно: отсутствуют нейтральные сахара как в основной цепи, так и в виде боковых заместителей к основной полигалактуроновой цепи.

14) Непонятно, как можно пересчитать «динамику выхода пектиновых полисахаридов по фракциям ... на содержание остатков галактуроновой кислоты» (стр. 90-91).

15) Что такое «омыление карбоксильных групп»? (стр. 115). Далее: связь характеризуется прочностью, а не «крепостью» (стр. 136).

Заключение

Приведенные замечания не снижают научной значимости выполненного диссертационного исследования и относятся к огрехам оформления. В целом диссертация Слободовой Дары Александровны представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой предложены новые варианты способов извлечения пектинов из растительного сырья в проточном реакторе при обычном и повышенном давлении, совмещенные с частичными процессами гель-фильтрации, получены термодинамические и кинетические характеристики процессов гидролиза-экстракции, процессов сорбции пектиновыми полисахаридами тяжелых металлов, а также константы связывания с белком лактоглобулином. По своему содержанию, основным положениям, выносимым на защиту, и полученным научным результатам диссертация отвечает паспорту специальности 1.4.4. Физическая химия по направлениям исследований: п. 12 – физико-химические основы процессов химической технологии и синтеза новых материалов; п. 3 – определение термодинамических характеристик процессов на поверхности, установление закономерностей адсорбции на границе раздела фаз и формирования активных центров на таких поверхностях; п. 7 – макрокинетика, механизмы сложных химических процессов, физико-химическая гидродинамика, растворение и кристаллизация.

Таким образом, диссертационная работа Слободовой Дары Александровны «Физико-химические свойства функциональных пектиновых полисахаридов и продуктов на их основе» по актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности результатов соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (ред. от 26.09.2022), а ее автор – Слободова Дара Александровна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Официальный оппонент, зав. лабораторией
фосфорсодержащих аналогов природных соединений
Института органической и физической химии им.
А.Е.Арбузова – структурного подразделения ФГБУН
«Федеральный исследовательский центр «Казанский
научный центр Российской академии наук»»
Член-корреспондент РАН (специальность 02.00.03
– Органическая химия), доктор химических наук,
профессор, Миронов Владимир Федорович
18 марта 2024 г.

Почтовый адрес: 420088, Казань, ул. Арбузова,
д. 8, ИОФХ ФИЦ КазНЦ РАН
Телефон: 8-843-2727384
Адрес электронной почты: mironov@iopc.ru

