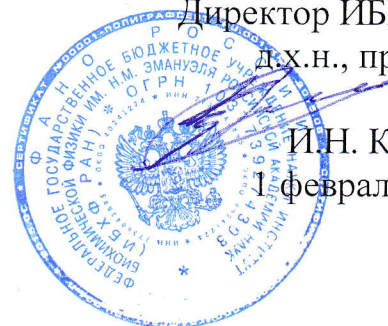


УТВЕРЖДАЮ

Директор ИБХФ РАН
д.х.н., профессор

И.Н. Курочкин
1 февраля 2018 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу ТХАН ТАЙКА
«Физико-химические свойства и антиокислительная активность каротиноидов и хлорофиллов из морских водорослей», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия

В настоящее время все более широкое использование находят фармпрепараты, полученные из различных морских обитателей растительного и животного происхождения, поскольку полученные на основе природных компонентов клеток биологически активные вещества (БАВ) являются менее токсичными для организма по сравнению с синтетическими препаратами. При этом вопросы более полного извлечения БАВ и условий их стабильности при хранении с использованием для этих целей различных физико-химических методов становятся одними из наиболее востребованных. Среди активно изучаемых объектов для получения новых препаратов с полезными фармакологическими свойствами находятся и морские водоросли, повсеместно распространенные в любых широтах. Однако общеизвестна и высокая вариабельность растительного сырья в зависимости от климата и условий выращивания, что требует специального изучения водорослей, обитающих в конкретных регионах мира. В связи с изложенным **актуальность** диссертационной работы Тхан Тайка, посвященной сравнительному анализу разных способов извлечения БАВ, сохранения их в зависимости от условий хранения и возможности использования радиационно-химических методов для стабилизации содержания каротиноидов и хлорофиллов в сухих водорослях или приготовленных из них экстрактах не вызывает сомнения.

Работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, двух глав, в которых представлены экспериментальные результаты и их обсуждение, выводов, списка литературы и трех приложений с самостоятельным списком литературы. Она изложена на 151 стр. машинописного текста и включает 28 таблиц, 51 рисунок и 150 источников литературы.

Во введении кратко обосновывается необходимость постановки работы, ее актуальность, приведены основные положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость исследования, изложены цель и задачи работы.

Литературный обзор состоит из пяти разделов, посвященных химическому составу бурых водорослей, физико-химическим свойствам БАВ, выделяемых из данных типов водорослей (каротиноиды, хлорофиллы, полисахариды, манит), физико-химическим подходам к разработке методов культивирования морских водорослей и проблемам их стерилизации, а также физико-химическим методам для анализа механизма окислительно-восстановительных реакций различных соединений при воздействии ионизирующего излучения. Обзор литературы, безусловно, соответствует теме диссертации, в нем даны современные представления как о природе бурых водорослей, так и о механизмах радиационно-химических процессов в изучаемых автором биохимических объектах. Однако, на наш взгляд, обзор стоило бы изложить более кратко, но при этом часть сведений, приведенных в Приложениях, привести в самом литературном обзоре, убрав Приложения, а список литературы сделать общим для всей работы. Необходимо отметить также, что в подписи под рис. 1.2 и 1.3 по оси абсцисс ошибочно указано «длина волны» (см^{-1}), хотя это размерность частоты (волнового числа). Было бы уместно подытожить литературный обзор формулированием необходимости проведения данного исследования.

В разделе «Экспериментальная часть» дано описание объектов исследования и использованных в работе методах анализа. Безусловным

достоинством работы является сравнительное изучение водорослей как разных типов, так и выращиваемых в разных климатических условиях. Это бурые макроводоросли *Laminaria japonica Jenit* (M) и *Jemo* (D) (Государство Мьянма) и диатомовые водоросли *Cylindrotheca Closterium* из коллекции Института морских и биологических исследований (г. Севастополь). Необходимо обратить внимание однако на отсутствие указаний о повторности измерений, что не всегда позволяет оценить различия между некоторыми экспериментальными результатами.

В главе III представлен обширный экспериментальный материал о влиянии условий экстракции (природа растворителя, соотношение органической и водной среды) на эффективность извлечения каротиноидов и хлорофиллов из разных типов водорослей, а также роль газовой среды (кислород, аргон или закиси азота), условий экстракции и дозы облучения на процесс экстракции БАВ из сухих облученных водорослей или устойчивости БАВ при облучении экстрактов водорослей разных типов в зависимости от природы органической фазы и ее концентрации в экстракте. В ходе выполнения этой части работы автором были получены следующие, важные и для практического использования результаты. Так, выявлены существенные различия влияния этанола и ацетона и их соотношения с водной фазой на экстракцию каротиноидов и хлорофиллов в зависимости от вида и природы водорослей и концентрации их сухой биомассы. Однако заключение автора об отсутствии прямой зависимости между оптической плотностью полос поглощения каротиноидов и хлорофиллов от коэффициента разбавления (табл. 3.1 и 3.2) нуждается в уточнении. В зависимости от срока хранения сухой биомассы водорослей хлорофилл лучше сохраняется в диатомовой водоросли *C. Closterium*, чем в бурых водорослях *L. japonica Jenit* (M) и *Jemo* (D).

Важные результаты получены автором при изучении радиационного воздействия на экстракты морских водорослей в зависимости от дозы излучения, природы растворителя и облучения в аэробных (в присутствии кислорода) или анаэробных (насыщение аргоном) условиях, а также при

насыщении N_2O . При облучении сухой биомассы водорослей и последующей регистрацией УФ-спектров этанольных и водно-этанольных экстрактов была выявлена высокая резистентность БАВ морских водорослей всех изученных видов к радиационному воздействию в дозах до 20 кГр. Хотя, возможно, что более высокая оптическая плотность экстрактов в области полос поглощения каротиноидов и хлорофиллов обусловлена нарушением целостности клеточных мембран водорослей в процессе облучения.

Достоинством работы является и сравнительный анализ результатов экспериментов по облучению сухой биомассы водорослей и последующей экстракцией из нее БАВ и результатов опытов по облучению экстрактов водорослей в зависимости от дозы и условий облучения. С нашей точки зрения, одним из наиболее интересных полученных автором результатов является отсутствие в ряде случаев линейной зависимости оптического поглощения полос БАВ от дозы облучения, а также существенное изменение эффективности радиационного воздействия при насыщении экстрактов закисью азота (параграф 3.4). Интересно отметить, что отсутствие линейной дозовой зависимости выявлено как при облучении и водно-этанольных, и водно-ацетоновых экстрактов всех видов исследованных водорослей, так и спустя 5 суток после хранения облученных экстрактов в темноте.

Глава IV диссертационной работы посвящена детальному изучению физико-химических свойств компонентов водорослей, выделенных методом ТСХ. Сочетание тонкослойной хроматографии с комплексом различных оптических физико-химических методов позволило автору идентифицировать выделенный из водорослей *L. japonica Jenit* (M) и *Jemo* (D) каротиноидов как фукоксантин, который был выделен и из диатомовой водоросли *C. Closterium*. Детальное изучение оптических свойств и радиационной стабильности фукоксантина из *C. Closterium* показало, что он разрушается со скоростью 0,05 мг/сут при хранении сухой биомассы водорослей в воздушно-сухой атмосфере в темноте при температуре 20-23° С. Эти результаты обусловили необходимость более детального анализа радиационного воздействия на

различные экстракты водорослей *C. Closterium* в зависимости от условий облучения. Был выявлен сложный характер радиационно-индуцированных эффектов в зависимости от дозы и условий облучения, наиболее выраженный при насыщении экстрактов N_2O . Существенное снижение содержания каротиноидов и хлорофиллов при хранении сухой биомассы обоих видов водорослей *L. japonica* в течение 3-х лет автором подтверждено экспериментально.

Таким образом, диссертационная работа представляет собой большое по объему и интересное экспериментальное исследование, выполненное с использованием комплекса различных физико-химических методов (УФ-спектрометрия, ТСХ, люминесценция и др.). Однако, наряду с отмеченными выше недочетами, необходимо указать и следующие. Во-первых, не очень удачно название диссертации, так как она посвящена физико-химическим свойствам и радиационной стабильности каротиноидов и хлорофиллов из морских водорослей, что справедливо указано и в цели работы, а не их антиоксидантной активности, которая в работе не изучалась. Во-вторых, предположение автора о том, что радиационная стерилизация более приемлема по сравнению с воздействием УФ-светом (стр. 33-34) представляется достаточно дискуссионным. В-третьих, в последнем столбце табл. 3.7 результат эксперимента представлен с ошибкой (знак должен быть противоположным), а в табл. 3.11 при анализе результатов радиационного воздействия в присутствии аргона и закиси азота, очевидно, следует учитывать отсутствие линейной зависимости радиационно-индуцированных эффектов от дозы облучения. Кроме того, величину дозы 0,3 кГр обычно не рассматривают в качестве малой дозы. Несмотря на то, что работа хорошо оформлена, кое-где встречаются грамматические ошибки и опечатки, однако в целом, сделанные замечания не затрагивают существа работы и не снижают благоприятного впечатления от знакомства с ее результатами.

Полученные автором данные представляют интерес как для фундаментальных исследований в области физико-химических свойств и

радиационной стабильности каротиноидов и хлорофиллов, так и для более эффективного практического использования впервые исследованных бурых водорослей *Laminaria japonica* Jenit (M) и *Jemo* (D) (Государство Мьянма).

Основные результаты исследований по теме диссертационной работы Тхан Тайка опубликованы в статьях, две из которых опубликованы в Перечне рекомендованных ВАК российских научных изданиях, и неоднократно представлялись на научных форумах.

Общие выводы диссертации (стр. 110-111) идентичны представленным в автореферате, который полностью соответствует материалу диссертационной работы и достаточно полно и четко отражает ее содержание.

Диссертация соответствует паспорту специальности 02.00.04 – физическая химия, оформлена согласно требованиями ВАК Министерства образования и науки РФ.

Таким образом, по объему проведенных экспериментальных исследований, достоверность которых обуславливает совокупность использованных в работе физико-химические методов анализа, актуальности и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Тхан Тайка «Физико-химические свойства и антиокислительная активность каротиноидов и хлорофиллов из морских водорослей» соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Тхан Тайк заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Отзыв на диссертационную работу Тхан Тайка подготовлен заведующей лабораторией физико-химических проблем радиобиологии и экологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института

биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, доктором химических наук, профессором Шишкиной Людмилой Николаевной, обсужден и одобрен на научном семинаре по физической химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН. Протокол № 2 от 24 января 2018 г.

Зав. лабораторией физико-химических проблем радиобиологии и экологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
д.х.н., профессор



Шишкина
Людмила Николаевна

Почтовый адрес: 119334, г. Москва,
ул. Косыгина, д.4, ИБХФ РАН
Тел. 8(495) 939-7186
Адрес электронной почты: shishkina@sky.chph.ras.ru