

Відгук

офіційного опонента, професора кафедри харчової хімії, експертизи та біотехнологій Одеського національного технологічного університету,
доктора технічних наук, **Капрельянца Леоніда Вікторовича**
на дисертаційну роботу Іванова Євгена Геннадійовича «Розроблення способів одержання різних субстанцій із молозива та дослідження їхньої біологічної активності», представлену на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук
за спеціальністю 03.00.20 – «Біотехнологія».

Актуальність теми дисертації.

Молозиво ссавців, відоме як «рідке золото», вважається цінним джерелом необхідних поживних речовин, факторів росту, пробіотиків, пребіотиків, антитіл та інших біологічно активних речовин. Молозиво є комерційно цінною матрицею біологічно цінних субстанцій. Саме з цієї причини коров'яче молозиво (КМ) є новим фізіологічно функціональним інгредієнтом для харчової, фармацевтичної та кормової промисловостей. Треба підкреслити, що в наш час КМ комерційно доступно в різних формах на ринках деяких країн. Більше того, досить велика кількість функціональних продуктів харчування і дієтичних добавок для дітей і спортсменів, лікарських засобів для людей, годівлі тварин, містять КМ чи їх компоненти. Завдяки своїм живильним властивостям і низькій доступності КМ характеризується великою ринковою вартістю та зростаючим попитом порівняно з іншими вторинними продуктами молочного виробництва.

Здорова корова виробляє приблизно від 5 до 10 л молозива за дойку, що звичайно перевищує потреби новонародженого теля. Тому його залишки можна використовувати для виробництва продуктів харчування, дієтичних добавок чи ліків. Однак особисту увагу слід приділяти його зберіганню і переробці, щоб не порушити біологічну активність його компонентів та, отже, його терапевтично-фізіологічний ефект

Сьогодні все більше уваги приділяють способам, якими людина може оптимізувати свою імунну функцію за допомогою дієти. Ця підвищена інформованість є колосальною можливістю для виробників продуктів харчування, напоїв і дієтичних добавок створювати комбіновані продукти, до складу яких входять компоненти КМ. Сьогодні на світовому

ринку представлено біля 400 продуктів з КМ, і лише невелика частина з них — комбіновані функціональні продукти.

Треба відзначити, що тонка переробка КМ, а саме, фракціонування фізіологічно активних інгредієнтів, в Україні не налагоджена. Для розвитку сучасних технологій виділення біокомпонентів з КМ вкрай необхідні фундаментальні дослідження в цій біологічній галузі знань. Розробка не стандартних методів безпечного (зі збереженням біологічної дії інгредієнтів, що вилучаються) фракціонування складових КМ.

Хімічні компоненти КМ можна розділити на три основні категорії: живильні компоненти, імунні фактори і фактори росту. Харчові компоненти включають відомі макро - і мікроелементи, що присутні в КМ (білки, ліпіди, цукри, вітаміни і мінерали). Імуноглобуліни (IgA, IgG і IgM), лактоферин, лізоцим і лактопероксидаза є імунними факторами. Серед факторів росту є епідермальний фактор росту (EGF), фактори росту фібробластів (FGF1 і FGF2), інсуліно-подібні фактори росту (IGF-I і IGF-II), трансформуючі фактори росту бета (TGF-b1 і TGF-b2), тромбоцитарний фактор росту (PDGF) і бетацелюлін (BTC).

З цієї точки зору, доречними є вибрані автором напрямки досліджень, що базуються на біотехнологічних підходах фракціонування компонентів КМ, дозволяють використовувати м'які умови обробки багато компонентної і лабільної сировини, комбінуючи їх з іншими методами, що не руйнують фізіологічно-терапевтичні властивості певних субстанцій вихідної сировини при обробці.

Необхідно зазначити, що першим продуктом, який може бути віднесений до продуктів спеціального харчування, був лактовмісний кисломолочний олігосахарид, який було отримано шляхом біотехнологічної обробки молока бета-глюкозидазою, яка була отримана з гриба роду *Aspergillus* в Японії. Концепцію функціональних продуктів харчування вперше розробили в 1991 р. в Японії. До функціональних продуктів харчування було віднесено сухе молоко для вагітних і жінок-годувальниць, а також продукти для осіб похилого віку та хворих на діабет.

Таким чином, КМ має унікальне поєднання живильних речовин і біоактивних сполук, що робить його натуральною добавкою чи джерелом молекул для нутрицевтичних продуктів та продуктів з високою доданою вартістю. Більш того, розробка та моніторинг методів фракціонування (обробки) має важливе значення для збереження цілісності біологічно активних молекул у продуктах КМ.

Значний внесок у розвиток концепції функціональних продуктів харчування в нашій країні зробив проф. Ю.Г. Григоров зі співробітниками (Інститут геронтології АМН України), які наголошували на тому, що нагальним завданням є розробка наукових підходів до створення нових функціональних продуктів харчування, які за типом замісної терапії чинили б виражений біологічний ефект на організм людини, що старіє.

Немає сумнівів, розробка фізіологічно - функціональних харчових інгредієнтів які можуть виконувати профілактичні функції є актуальним і своєчасним завданням. І як було підкреслено попереду, особливий інтерес у цьому відношенні представляє такий природний і багато в чому унікальний продукт як КМ.

У зв'язку з цим, дисертаційна робота Є.Г. Іванова, що присвячена отриманню функціональних харчових і терапевтичних інгредієнтів і продуктів з КМ та дослідженню їхньої біологічної активності на тваринних моделях, є актуальним і перспективним напрямом сучасної біотехнології і вносить вклад у розвиток цього важливого напрямку досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано на базі Науково-дослідного інституту біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна згідно плану науково-дослідної роботи інституту за темами: «Виділення, характеристика та оцінка фізико-біохімічної активності низькомолекулярних компонентів молозива» за договором № 26-15; «Дослідження механізмів дії низькомолекулярних компонентів молозива на гемопоез і функцію інтоксикації печінки на моделі фіброзу печінки» за договором № 44-16; «Дослідження дозової залежності дії компонентів молозива на тест-об'єкти та характеристика редокс-системи організму» за договором № 05-18; «Визначення активності антиоксидантних ферментів: глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази на моделі фіброзу печінки» за договором № 26-19 «Розробка системи контролю на різних етапах отримання біологічно активних компонентів з молозива» за договором № 02-21; «Дослідження впливу компонентів молозива на прояв постковідних ускладнень» за договором № 02-22; Дослідження впливу компонентів молозива на регуляцію термогенезу у старих тварин і написання монографії» за договором № 08-22; «Дослідження здатності ліпідних компонентів молозива до утворення гелевих структур і оформлення до

друку монографії «Молозиво. Еволюційні, фізіологічні та біотехнологічні аспекти» за договором № 06-23.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків рекомендацій сформульованих у дисертації та їх достовірність

Докторська дисертація Іванова Євгена Геннадійовича є вагомим науковим внеском у сферу біотехнології, та біомедицини. Отримані результати розширюють наші знання про механізми дії багатокомпонентних субстанцій на біологічні системи в які знаходяться у різних функціональних станах, таких як вікові зміни, токсикози, фібрози. Особливо слід відзначити поліфункціональність дії низькомолекулярних компонентів молозива, що пояснюється їх неспецифічною гормезисною дією, яку автор пояснює різноманітним станом компонентів молозива. Запропонована технологія отримання різноманітних біологічно активних субстанцій з молозива яка дозволяє зменшити природню варіабельності складу молозива і може бути використана в біофармацевтичній промисловості.

Наукові положення роботи базуються на експериментальних даних, отриманих з використанням різних репрезентативних методів і на аналізі даних наукової літератури та статистичних методів їх обробки.

Основні положення дисертаційної роботи були представлені на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях The development of nature sciences: problems and solutions: The international research and practical conference, 12 –18 sept. 2018. abstr. Brno, 2018; Youth and Progress of Biology. Program and Abstracts : XIV International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 185th anniversary from the birthday of B.Dybowski, 10 –12 apr. 2018. abstr. Lviv, 2018; Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ», (August 18, 2023; Cambridge, UK); I International Scientific and Practical Conference «OPEN SCIENCE NOWADAYS: MAIN MISSION, TRENDS AND INSTRUMENTS, PATH AND ITS DEVELOPMENT» (15 sept. 2023 Vinnytsia, UKR - Vienna, AUT (Online)), XI INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND PRACTICAL CONFERENCE «Innovative Solutions to Modern Scientific Challenges» (February 21-23, 2024 Zagreb, Croatia), та пройшли рецензування у міжнародних наукових виданнях. Наукові положення добре обґрунтовані і достовірні.

Структура та зміст дисертації

Дисертація містить такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень та їх обговорення висновки та список використаних джерел (436 найменувань). Дисертація викладена

на 325 сторінці і проілюстрована 63 рисунками та 14 таблицями. Зміст та структура роботи у повній мірі відповідають завданням, а викладення основних результатів в процесі вирішення поставленої наукової проблеми – сформульованим окремим задачам дослідження, які відповідають паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія. Текст дисертації викладений в логічній послідовності, чітко, грамотно, усі структурні частини роботи є пов'язаними між собою. Рівень наукового дослідження є високим. Всі розділи містять логічні, обґрунтовані та аргументовані висновки.

Оцінка обґрунтованості наукових результатів дисертації, їх достовірності та новизни.

Наукова новизна результатів дисертаційного дослідження полягає в наступному:

- Розроблено "селективно-інтегративна" технологія отримання базових речовин із молозива (ліпідна фракція, казеїн, низькомолекулярні компоненти та ультрафільтрат), який дозволяє не лише збільшити вихід цільових продуктів, а й забезпечити їхню часткову стандартизацію.
- Виявлено багатofункціональність впливу "НКМ" (антиоксидантна, антифібротична, прооксидантна, антиоксидантна тощо), що залежить як від дозування, так і від метаболічного стану організму під час впливу низькомолекулярних компонентів молозива.
- Доведено, що багатofункціональність зумовлена як не специфічною горметичною дією "НКМ" (подібно до інших біоактивних речовин, таких як "Мікс-фактор"), так і системним коригувальним впливом на елементи біологічної системи, які виходять за межі гомеостатичних норм.
- Підтверджено відсутність токсичного впливу "НКМ" у широкому діапазоні доз (від 0,01 до 0,5 г на 100 г маси). Лише при надмірних дозах (1–5 г на 100 г маси), еквівалентних для людини до 3,5 кг на добу, може спостерігатися індивідуальна непереносимість.
- Встановлено, що "НКМ" може бути використаний як функціональний харчовий продукт із антиоксидантною дією, який покращує працездатність експериментальних тварин і підвищує "якість життя".
- Уперше на моделі експериментального фіброзу печінки доведено гепатопротекторну дію "НКМ" і розкрито деякі механізми його впливу на організм.

- Запропоновано застосовувати метод визначення електропровідності компонентів молозива для стандартизації рідких полікомпонентних біологічних продуктів.

- Уперше продемонстровано, що низькомолекулярні речовини молозива мають подібну біологічну дію до компонентів із інших біологічних джерел, що дозволяє класифікувати їх як герметини — речовини, які індукують герметичний ефект, пояснюючи їх багатофункціональність і неспецифічність.

- Уперше встановлено можливість інтеграції поліфенольних сполук до структури казеїнових міцел, що змінює білкову частину таких міцел. Пропонується використовувати казеїн молозива, як носій для доставки та стабілізації поліфенолів в організмі.

Наукові дослідження були виконані Івановим Є.Г. на базі НДІ біології, та кафедрі молекулярної біології та біотехнології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна за консультуванням директора НДІ, в.о. завідуючого кафедрою молекулярної біології та біотехнології, д.б.н, професора, Божкова Анатолія Івановича.

Практичне значення отриманих результатів.

Запропоновано метод фракціонування молозива на чотири основні субстанції: ліпіди, казеїн, низькомолекулярні компоненти молозива, та ультрафільтрат. Ці субстанції можуть використовуватись як цільові продукти, або стати базою для подальшого очищення до рівня окремих сполук, які мають перспективи застосування у сучасних біотехнологіях і фармацевтиці.

Розроблена "селективно-інтегративна" технологія розділення компонентів молозива, дозволяє зменшити варіативність складу компонентів і підвищити ефективність їхнього виділення, що важливо для впровадження у практичне використання молозива.

Створено метод включення поліфенольних сполук, насичених хлорогеновою кислотою, до міцел казеїну молозива, що відкриває нові можливості для розробки продуктів функціональних продуктів харчування. Не менш перспективними в цій сфері є й низькомолекулярні компоненти молозива. Їхня нетоксичність та здатність відновлювати функції печінки при фіброзі дають підстави розглядати цю субстанцію як можливий фармакологічний препарат із гепатопротекторними властивостями, та як функціональну субстанцію, яка може використовуватися у профілактичних цілях.

Розроблена технологія отримання біологічно активних речовин із молозива застосовується в НДІ біології університету імені В.Н. Каразіна і отримані субстанції проходять додаткові дослідження їх біологічної дії. Ця технологія використовується на кафедрі молекулярної біології і біотехнології біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Селективно-інтегральна технологія фракціонування компонентів молозива використовують під час проведення практичних занять, виконання магістерських та дисертаційних робіт.

Отримані результати впроваджуються у навчальний процес під час викладання курсу "Фармацевтична біотехнологія", а також спецкурсів "Об'єкти біотехнології" та "Імунобіотехнології" на кафедрі молекулярної біології та біотехнології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

Повнота викладу основних результатів дисертації в опублікованих працях

За матеріалами дисертації опубліковано 30 наукових робіт, у тому числі 21 стаття в зарубіжних наукових журналах, з яких 10 наукових робіт проіндексовано в міжнародних наукометричних базах даних Scopus і Web of Science з різними квантилями, а саме: одна у журналі, який належить до Q1, одна стаття у журналі, який належить до Q2, дві у журналах, що належать до Q3 та Q4. Підготовлено розділ монографії (у закордонному виданні) та 8 тез доповідей на закордонних та вітчизняних наукових конференціях.

Мова та стиль дисертації

Дисертаційна робота написана державною мовою, поділ на розділи логічний і обґрунтований. Застосована в роботі наукова термінологія є загальноновизнаною, стиль викладення результатів теоретичних і практичних досліджень, нових наукових положень, висновків і рекомендацій забезпечує доступність їх сприйняття. Результати проілюстровані достатньою кількістю рисунків, фотоматеріалів та графіків.

Відповідність автореферату змісту дисертаційної роботи

Автореферат за структурою та технічним оформленням відповідає встановленим чиним вимогам. В ньому відображені головні результати дисертаційної роботи та наукові здобутки автора. За змістом автореферат ідентичний до тексту дисертаційної роботи.

Дискусійні положення та зауваження щодо дисертаційної роботи:

Серйозних недоліків стосовно змісту дисертаційної роботи не виявлено. Зауваження, які виникли при аналізі дисертації не торкаються суті роботи і мають переважно рекомендаційний характер.

Зауваження до викладеного в дисертації.

1. У ході обговорення теоретичних засад на основі узагальнення існуючих наукових розробок (розділ 1) наведені основні складові молозива, як об'єкта досліджень. Було б доцільним, окрім подання переліку складових молозива і опису їх властивостей, надати ще й узагальнену класифікаційну схему - опис показників, яка би характеризувала кожен із цих складових і її кількісну частину та варіабельність, що надало б запропонованому огляду більш довершений і логічний характер.

2. В огляді літератури дисертації автор наголошує на відсутності як у вітчизняних, так і зарубіжних науковців єдиного методичного підходу до методів, технологічних підходів, комбінування різних способів в отриманні біоактивних компонентів молозива, але не надає переліку зарубіжних авторів, що вивчали поставлену проблему і не розкриває сутності методичних підходів, які ними застосовувались. Відсутність в роботі інших методик не дозволяє визначитись, наскільки перспективною є методика (підходи), запропоновані автором. Було б доцільним дослідити наявність методик з фракціонування біоактивних і нутритивних складових молозива, визначення рівня економічної захищеності промислових методів в зарубіжній практиці, де певні технології вже впроваджені у виробництво.

3. В огляді літератури приділяється досить велика увага ролі ліпідів молозива у формуванні термогенезу новонароджених. Однак у роботі не використовуються далі ліпіди молозива. Поясніть особливість дизайну свого експерименту.

4. Результати антифібротичної дії компонентів молозива показані на моделі Су-індукованого фіброзу. Як Ви вважаєте, чи будуть чинити подібну дію компоненти молозива на фіброзах печінки іншої етіології?

5. Експериментально доведено в роботі, що низькомолекулярні компоненти з різних біологічних джерел виявляють подібні ефекти на фізіологічному рівні. Які механізми такої подібної дії цих різних компонентів?

6. Недостатньо обґрунтованими виглядають у роботі пропозиції, щодо подальшого розвитку досліджуваних методів і підходів на основі запропонованих у роботі імперативів, оскільки пропозиція з їх отримання і

тим більше використання носить схематично-прогностичний характер. На наш погляд, бажаним було б доповнити пропозиції автора кількісною оцінкою отримання біоактивних препаратів та можливими напрямками їх використання саме у функціональних продуктах харчування, на що наголошує автор у меті досліджень.

7. Велике значення в роботі приділено різним аспектам фізіологічної дії отриманих препаратів (як автор називає субстанцій, з чим важко погодитись, бо субстанція (діюча речовина) це фармакологічно активна речовина, яка разом з допоміжними речовинами (формоутворювачі, барвники, смакові домішки та ін.) може використовуватися для виробництва готового лікарського засобу). Однак, ніякої кількісної оцінки цих препаратів і строків зберігання не проведено.

8. В дисертації автор користується двома термінами «функціональна їжа» і функціональний харчовий продукт». Перший не є коректним, бо вся їжа яку споживає людина у своєму харчуванні є фізіологічно функціональною.

9. В дисертації немає узагальнюючої схеми чи таблиці, яка б допомогла синтезовано і узагальнено сприймати результативний матеріал, щодо біоактивних отриманих автором продуктів з молозива.

11. В табличних матеріалах (табл.3.1 - 3.13) не наведені дані статистичної обробки (значення $n=?$ $P>?$).

12. У дисертації зустрічаються синтактичні та стилістичні помилки. В деяких розділах дисертації автор занадто детально описує деякі аспекти механізмів дії досліджуваних субстанцій, що дещо ускладнює читання тексту дисертаційної роботи.

Відмічені недоліки не применшують високої теоретичної та науково-практичної цінності дисертаційної роботи, але знижують загальне позитивне враження від роботи.

Загальні висновки щодо дисертаційної роботи

Дисертаційна робота Іванова Євгена Геннадійовича «Розроблення способів одержання різних субстанцій із молозива та дослідження їхньої біологічної активності» є актуальним завершеним науковим дослідженням, має наукову новизну і практичну значущість. Тема і зміст дисертації відповідають спеціальності 03.00.20 – «Біотехнологія», та відповідають вимогам пп. 7, 8, 9 "Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук" затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. N 1197. Враховуючи актуальність, обґрунтованість наукових положень і висновків, наукову новизну та практичну значущість дисертаційної роботи, а також дотримання

академічної доброчесності, що підтверджено відповідними документами, вважаю, що Іванов Євген Геннадійович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент,
доктор технічних наук,
професор кафедри харчової хімії,
експертизи та біотехнологій
Одеського національного
технологічного університету



Леонід КАПРЕЛЬЯНЦ

