

Отзыв

официального оппонента Мамцева Александра Николаевича на диссертацию и автореферат Подольниковой Юлии Александровны по теме «Особенности свободнорадикального статуса молока коров урбанизированной территории (на примере Омской области)», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.08 – «Экология»

Актуальность темы исследования. Реализация государственной политики в области здорового питания предусматривает разработку и производство полноценных, безопасных продуктов, обогащенных физиологически активными компонентами с направленным изменением химического состава. Термин «здоровое питание» предполагает использование экологически чистого сырья при создании продуктов нового поколения, которые гарантируют полноценное обеспечение пищевыми и биологически активными веществами всех жизненно важных систем организма. При воздействии различных технологических приёмов приготовления молочносодержащих продуктов нарушаются нативные свойства сырья, что вызывает необходимость поиска новых средств, сохраняющих питательные свойства и повышающих биологическую ценность продуктов. В последние годы особый интерес представляет содержание антиоксидантов в пищевых продуктах, так как воздействие стрессогенных факторов приводит к развитию разнообразных заболеваний.

Среди многих факторов, определяющих способность компонентов молока подвергаться свободнорадикальному окислению, известное место занимают экологические условия. Ухудшение состояния окружающей среды, особенно урбанизированных территорий, является актуальной проблемой современности.

При решении этой проблемы возникает целый комплекс вопросов.

Первый – выявление факта негативного воздействия определённых, конкретных урбанизированных территорий.

Второй – выбор наиболее чувствительных маркёров этих воздействий.

Третий – пути сохранения и повышения биологической ценности пищевых продуктов.

Отсутствие решений данных вопросов свидетельствует об актуальности выбранной темы исследования, тем более что ряд работ содержат данные, указывающие на воздействие факторов урбанизированных территорий на антиокислительный статус жителей городов, а также флоры и фауны их пригородов.

Эти воздействия на организм животных отражаются на снижении антиокислительной защиты организма, в развитии окислительного стресса, что может сказаться и на составных частях молока. Следовательно, исследование интенсивности свободнорадикального повреждения компонентов молока, полученного в районах с разной степенью воздействия факторов

урбанизации, является важным, прежде всего для оценки экологического состояния региона, а также для характеристики молочных продуктов с точки зрения их биологической ценности.

Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации. Научные положения, выводы и рекомендации диссертационной работы основываются на материале лабораторных, биохимических исследований и хемилюминесцентного анализа сырого натурального молока, нормализованного по массовой доле жира до 2,5%.

Первое положение, выносимое на защиту, основано на данных о том, что молоко из хозяйств пригородной зоны обладает сниженной антиокислительной активностью и повышенной интенсивностью процессов липопероксидации в сравнении с молоком более отдаленных от промышленного центра районов области. Об этом свидетельствуют результаты изменения светосуммы хемилюминесценции модельной системы, полученной из липопротеинов куриного желтка, при добавлении к ней проб молока от коров из пригородной зоны (10-20 километров от города Омска) и на удалении на 100-150 километров к северу и югу от промышленного центра. Антиокислительная активность молока коров, полученного из хозяйств, расположенных в пригородной зоне области ниже на 12% ($P=0,04$) и 9% ($P=0,02$), чем из отдалённых хозяйств южных и северных районов области соответственно. Данные изучения антиокислительной активности хемилюминесцентным методом подтверждаются результатами определения продуктов липидпероксидации с помощью экстракционно-спектрометрического метода с отдельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта молока. Содержание конечных продуктов пероксидации липидов - оснований Шиффа - в изопропанольной фазе липидного экстракта молока из хозяйств пригорода Омска в зимний период года значительно выше по сравнению с южными (в 3,6 раза) и северными (в 3,1 раза) районами области. В меньшей степени этот показатель повышен в гептановой фазе. В летний период уровень конечных продуктов пероксидации липидов молока из различных районов существенно не отличался, хотя молоко пригорода характеризуется некоторыми различиями диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряжённых триенов. Следует отметить, что, несмотря на существенные отличия климатических условий, растительности северных и южных районов области, не выявлено существенных изменений продуктов ПОЛ молока между северными и южными районами как в зимний, так и летний период года. Именно этот факт позволил автору обратить внимание на близость хозяйств к промышленному центру.

Так как свободнорадикальному окислению подвергаются не только липиды, но и белки, то в следующей серии исследований автором определена интенсивность окислительной модификации белков (ОМБ) молока крупного рогатого скота. Прежде всего, необходимо отметить, что подобно отсутствию различий между показателями пероксидации липидов молока из хозяйств северных и южных районов, интенсивность всех 5 изученных показателей спонтанной

окислительной модификации белков молока из хозяйств этих районов практически одинакова. В то же время установлены существенные различия показателей ОМБ молока северных и южных районов с данными молока из хозяйств пригорода Омска индуцированной ОМБ в различные периоды года. Эти результаты подтверждают второе положение, выносимое на защиту. Данное положение обосновано материалами автора о снижении в зимний период уровня сульфгидрильных групп цельного молока и, особенно, белков молока из пригорода, а в летний период в этом молоке снижено содержание сульфгидрильных групп сыворотки и безбелкового надосадка. Понижение уровня сульфгидрильных групп сопровождалось снижением активности глутатионпероксидазы в зимний период и изменением активности супероксиддисмутазы.

Третье положение, выносимое Ю.А. Подольниковой на защиту, обосновано данными хемилюминесцентного анализа об отсутствии различий антиоксидантной активности козьего молока зааненской и швейцарской пород, но более низкой антиокислительной активности молока коз в сравнении с показателем коровьего молока черно-пестрой породы. Однако показатели липопероксидации и окислительной модификации белков свидетельствуют об определённых различиях этих данных молока коз зааненской и швейцарской пород.

Таким образом, положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации диссертации достаточно обоснованы, поскольку они следуют из результатов проведенных автором исследований.

Достоверность полученных результатов и новизна результатов исследования. Достоверность полученных результатов определяется достаточным объемом исследований, использованием современных биохимических методов и хемилюминесцентного анализа. Для оценки скорости свободнорадикальных процессов в работе использована железоиндуцированная люминолзависимая хемилюминесценция. Антиокислительную активность молока определяли хемилюминесцентным методом в модельной системе с желточными липопротеинами.

Интенсивность процессов липопероксидации определяли экстракционно-спектрофотометрическим методом с отдельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта молока при трех длинах волн – 220, 232 и 278 нм, что позволяло определять содержание первичных, вторичных и конечных продуктов окисления липидов (6 показателей). Для характеристики окислительной модификации белков определено содержание их карбонильных производных при 5 длинах волн без индукции (спонтанная) и металлокатализируемая модификация (10 показателей). Для подтверждения другого варианта модификации белков в работе определено содержание доступных сульфгидрильных групп в различных компонентах молока (4 показателя). Кроме того, в молоке определена активность ферментов антиокислительной защиты – супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы.

Для выяснения воздействия различных факторов молоко исследовано в различные сезоны года (зимой и летом) из хозяйств, расположенных на различном расстоянии от промышленного

центра, а также козьего молока швейцарской породы и натурального козьего молока зааненской породы.

Проведена корректная статистическая обработка полученных результатов, определена нормальность распределения исследуемых величин. При ассиметричном распределении данных использован непараметрический критерий Манна-Уитни.

Все это позволяет заключить, что полученные Ю.А. Подольниковой научные результаты являются вполне достоверными.

Научная новизна работы заключается в том, что автором получен уникальный материал, основанный на исследовании в молоке показателей свободнорадикальных процессов. Использование комплекса чувствительных маркёров окислительного стресса позволило автору выявить воздействие факторов урбанизированной территории, развитие дисбаланса окислительного статуса. Автору удалось продемонстрировать, что молоко, полученное из хозяйств пригородной зоны, обладает меньшей антиокислительной активностью и в большей степени подвержено свободнорадикальным повреждениям как липидов, так и белков. Установлено, что молоко коров из хозяйств пригородной зоны содержит больше продуктов перекисидации липидов, карбонильных производных белков, меньше белковых и небелковых тиолсодержащих соединений, отличается снижением активности антиоксидантных ферментов. Обнаружено, что окислительной деструкции в меньшей степени подвергаются нейтральные липиды молока коз зааненской породы и фосфолипиды молока коз швейцарской породы. Козье молоко зааненской породы отличается меньшим содержанием карбонильных производных белков в зимний период.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов. В диссертации Ю.А. Подольниковой содержатся новые знания о воздействии факторов урбанизированной территории на характер свободнорадикальных процессов, которые расширяют представления о механизмах воздействия на животный организм антропогенных факторов. Уточнены механизмы и особенности различной степени интенсивности свободнорадикального окисления основных компонентов молока, полученного в разноудаленных от промышленного центра хозяйствах. Результаты исследования могут служить основой для разработки критериев оценки влияния антропогенных факторов на свободнорадикальные процессы. Полученные данные могут быть использованы для оценки показателей качества, биологической ценности молока и молочных продуктов.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Результаты диссертации Ю.А. Подольниковой могут быть использованы при проведении дальнейших научных исследований в направлении изучения воздействия антропогенных факторов на организм животных и человека, при разработке маркёров биологической ценности молока и молочных продуктов и для оценки воздействия экологических факторов на организм.

Представленные в диссертации сведения, научные положения и выводы могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах: экологии, биологии и биохимии на уровне вузовской и последипломной подготовки.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности.

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ-2011, изложена на 142 страницах текста, содержит 29 таблиц и 9 рисунков. Библиографический указатель включает 251 источников, в том числе 102 – на русском языке.

В разделе введение диссертант обосновывает актуальность исследования, указывает степень разработанности темы исследования, определяет цель и задачи работы, научную новизну и практическую значимость, приводит основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы автором представлено рассмотрение сведений о влиянии антропогенных факторов на свободнорадикальные процессы, механизмах воздействия активных форм кислорода на белки и отдельные аминокислоты, влиянии окислительной деструкции на свойства ферментов, биологической роли окислительной деструкции белков.

Обзор литературы завершается обоснованием цели и задач исследования. Анализ сведений литературы свидетельствует о хорошей теоретической и методической подготовленности диссертанта.

В главе «Методы исследования» дана подробная характеристика объекта, материала и методов исследования.

Результаты собственных исследований представлены в трех разделах третьей главы. Все разделы результатов исследований и их обсуждения заканчиваются кратким обобщением.

Диссертация завершается 4 выводами, вполне определенно сформулированными, которые согласованы с целью и задачами исследования.

Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертационного исследования.

Материалы диссертации доложены на Международных, Всероссийских и региональных конференциях.

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, из них - 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации материалов диссертационных исследований.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом.

К достоинствам диссертации следует отнести использование широкого спектра лабораторных, биохимических, биофизических показателей, характеризующих различные проявления окислительного стресса, а именно нарушения липопероксидации, окислительной модификации белков, активности ферментов, что позволило автору выявить нарушения

окислительного статуса молока. В целом, работа Ю.А. Подольниковой представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, выполненную на современном методическом уровне и не вызывает принципиальных возражений. Встречаются отдельные опечатки, неудачно сформулированные фразы, технические погрешности.

В ходе ознакомления с диссертацией возник ряд вопросов:

1. Каков принцип выбора хозяйств, из которых Вы получали молоко?
2. Почему Вы исследовали молоко крупного рогатого скота только чёрно-пёстрой породы?
3. Вы исследовали процессы свободнорадикального повреждения липидов и белков. При определении окислительной модификации белков можно ли ограничиться исследованием карбонильных производных белков при одной или двух длинах волн?
4. Каков спектр ксенобиотических субстратов антропогенного генеза, на Ваш взгляд, способствует снижению антиокислительной активности молока из хозяйств пригородной зоны?

Данные вопросы носят уточняющий характер и не затрагивают существа работы, не оказывают влияния на общее положительное впечатление об исследовании.


Заключение

Диссертация Подольниковой Юлии Александровны «Особенности свободнорадикального статуса молока коров урбанизированной территории (на примере Омской области)» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – выяснения воздействия факторов урбанизированной территории на биологические свойства молока.

Таким образом, по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости результатов диссертация Подольниковой Ю.А., полностью соответствует критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

Зав. кафедрой «Технологии пищевых производств» филиала ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского (ПКУ)» в г. Мелеузе,
доктор биологических наук, профессор



 А.Н. Мамцев

(Россия, Республика Башкортостан, 453850 г. Мелеуз, ул. Смоленская, д. 34,
e-mail: mamtsev@mail.ru)

