

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФИЦ КНЦ СО РАН

А. А. Шпедт

«27» октября 2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского
отделения Российской академии наук»

Диссертация «Микробиологический синтез полигидроксикарбоновых кислот на жирокислотных субстратах» выполнена в лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза Института биофизики СО РАН – обособленного подразделения ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ИБФ СО РАН).

В период подготовки диссертации соискатель Сапожникова Кристина Юрьевна обучалась в аспирантуре ФИЦ КНЦ СО РАН и работала в должности инженера, а с 2024 г в должности младшего научного сотрудника лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза ИБФ СО РАН.

В 2024 году Сапожникова К.Ю. окончила аспирантуру в ФИЦ КНЦ СО РАН по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки. Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана ФИЦ КНЦ СО РАН в 2025 году.

Научный руководитель – Жила Наталья Олеговна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза ИБФ СО РАН, доцент Базовой кафедры биотехнологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ).

На заседании присутствовали: Гладышев М. И., доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН; Бондарь В. С., доктор биологических наук; Волова Т. Г., доктор биологических наук, профессор; Шишацкая Е. И., доктор биологических наук, профессор; Прудникова С. В., доктор биологических наук; Франк Л. А., доктор биологических наук; Муруева А. В., кандидат биологических наук; Жила Н. О., кандидат биологических наук, доцент; Демиденко А. В., кандидат биологических наук; Буракова Л. П., кандидат биологических наук; Суковатый А. Г., кандидат физико-математических наук; Киселев Е. Г., кандидат технических наук; Наташин П. В., кандидат биологических наук; Есимбекова Е. Н., кандидат биологических наук; Кудрявцев А. Н., Дорохин А. С., Кононова Н. А., Калябина В. С., Березовская А. В., Ипатова Н. Д., Панамарев Н. С.

Были заданы следующие вопросы:

1. Транспорт свободных жирных кислот в клетку. Каким образом жирные кислоты из субстрата попадают в клетки бактерий? Как связана длина жирных кислот с транспортом? Защищается ли соответствующая гипотеза в рамках работы?
2. Переформулировать выводы, убрав фразы по типу «Исследовано...», «Показана возможность...», конкретизировать и представить в виде четких утверждений.
3. Жиры в воде не растворяются, как выглядит культивационная смесь с жирами?

4. При описании данных, представленных в таблицах, целесообразно дополнительно выделить описываемые результаты в презентации, для более четкого понимания материала.

5. В работе исследованы пальмовое, рыжиковое и подсолнечное масло, которые значимы для пищевых целей человека. Целесообразно ли их рассматривать как субстрат для синтеза ПГА?

6. Уточнить значимость полученных показателей продуктивности – это высокие или низкие показатели?

7. Рекомендовано скорректировать название работы с «Микробиологический синтез резервных полигидроксиалканоатов (ПГА) при росте на жиросодержащих субстратах» «Микробиологический синтез полигидроксиалканоатов на жиросодержащих субстратах».

8. Как влияет метод извлечения жира из жировых источников на жирные кислоты?

9. Как объяснить разницу в потреблении жирных кислот: в одном масле преимущество отдается олеиновой кислоте, в другом масле – пальмитиновой?

10. Рассчитывали ли экономическую составляющую процессов на различных субстратах? О чем говорит такой показатель как экономический коэффициент?

11. Какая обработка применялась для извлечения жира из рыбных отходов? Отслеживались ли изменения, которые могли произойти с жирными кислотами в ходе обработки?

12. Что можно сказать именно про жир, полученный из копченной кильки? Есть ли ограничения по его применению?

13. Первое защищаемое положение (Жиросодержащие углеродные субстраты, включая отходы, – эффективная группа источников углерода для синтеза разрушаемых полигидроксиалканоатов, обеспечивающая высокие производственные показатели) выглядит слишком общим и не впервые доказанным в этой работе. В литературном обзоре автор приводит примеры исследований по использованию подобных субстратов. Целесообразно конкретизировать это положение, исходя из собственных оригинальных результатов.

14. Во введении автор говорит о поиске более дешевых субстратов для биотехнологического синтеза ПГА для снижения затрат на синтез и повышение их коммерциализации. Хотелось бы понимать в итоге насколько предложенные автором субстраты решают эту проблему с экономической точки зрения, хотя бы в общем приближении.

15. В объектах исследования было бы полезно указать источник происхождения штамма. (текст: *Cupriavidus necator* B-10646 из коллекции бактерий лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза ИБФ СО РАН, зарегистрированный во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ)).

16. Упоминания о показателях липазной активности и ее динамике – только в тексте. Было бы удобнее проанализировать полученные результаты, имея перед глазами табличный или графический материал.

На все вопросы соискатель дал исчерпывающие ответы.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность исследования.

Биотехнологические процессы позволяют получать огромный спектр продуктов для жизнедеятельности человека. Разнообразие микроорганизмов, используемых в этих процессах, а также их широкий органотрофный потенциал, позволяют использовать большой спектр соединений в качестве источника углерода для роста продуцентов, включая отходы различного происхождения. Это значимо с экологической точки зрения, поскольку

соответствует современным тенденциям перехода от линейной экономики к экономике замкнутого цикла. Одними из актуальных и социально значимых продуктов биотехнологии являются полигидроксиалканоаты (ПГА). ПГА – это семейство биосовместимых и биоразлагаемых полимеров различного состава, которые могут быть получены из возобновляемых ресурсов. ПГА, благодаря их физико-химическим свойствам, рассматриваются в качестве альтернативы синтетическим пластикам и вносят вклад в поэтапную замену традиционных пластиков биополимерами, и поэтому находят применение в различных отраслях – от расходных материалов до медицинской сферы (Behera et al., 2022).

Ключевая проблема биотехнологии ПГА – высокая стоимость производства этих полимеров. Синтез ПГА – это дорогостоящий процесс, где большая часть затрат (до 45-50%) приходится на источник углеродного питания для продуцентов. Это делает поиск более дешевых субстратов актуальным направлением исследований. С недавних пор в качестве углеродного субстрата для синтеза ПГА стали рассматриваться жиросодержащие источники углерода. Известно, что ежегодно генерируется порядка 29 млн тонн низкосортного жиросодержащего сырья (непосредственно жиры различного происхождения, отработанные кулинарные жиры, жиросодержащие отходы и пр.) (Anitha et al., 2021; Gutschmann et al., 2023; Khatami et al., 2021; Loan et al., 2022; Sangkharak et al., 2021; Thuoc et al., 2019). Особенностью использования такого типа субстрата является нерастворимость в питательных средах, что снижает его доступность для продуцентов. Это требует использования микроорганизмов, обладающих высокой липолитической активностью, а также специализированных условий их культивирования. К настоящему времени информация об использовании жиросодержащих субстратов для синтеза ПГА крайне ограничена, что и определило цель настоящего исследования.

Цель работы – исследование потенциальной возможности и специфики биотехнологического синтеза полигидроксиалканоатов, их состава и физико-химических свойств при использовании жиросодержащих углеродных субстратов различного происхождения, включая отходы.

Научная новизна.

Впервые показана способность природного штамма *C. necator* B-10646 к росту на жиросодержащих углеродных субстратах различного происхождения и состава, в том числе на жировых отходах рыбопереработки. Впервые продемонстрирована пригодность использования этих источников углерода для биосинтеза ПГА исследованным штаммом, что сопоставимо с аналогичным процессом при использовании сахаров. Установлено, что жиросодержащие углеродные субстраты, включая отходы рыбопереработки, позволяют получать сополимерные ПГА с макровключениями 3-гидроксивалерата и 4-гидроксипутирата, характеризующихся пониженной степенью кристалличности, что облегчает переработку этих полимеров в изделия и улучшает потребительские свойства полученных из них продуктов.

Практическая значимость.

Практическая значимость работы связана с разработкой и реализацией биотехнологии производства востребованных целевых продуктов – разрушаемых биопластиков. Микробиологический синтез ПГА обеспечивается при использовании в качестве углеродного субстрата жиросодержащего сырья, в частности, отходов рыбопереработки. Это позволяет снизить экономические затраты на синтез ПГА разного мономерного состава и свойств. Показано, что жиросодержащие углеродные субстраты (в том числе, жировые отходы рыбоперерабатывающей промышленности) обеспечивают выходы биомассы и ПГА, сопоставимые с аналогичными показателями при использовании сахаров.

Положения, выносимые на защиту:

1. Жиросодержащие субстраты растительного и животного происхождения, включая отходы, – новый источник углерода для синтеза полигидроксиалканоатов с эффективным усвоением субстрата.
2. Выявленные условия и реализованные процессы синтеза сополимерных полигидроксиалканоатов на жиросодержащих субстратах с макровключениями мономеров 3-гидроксивалерата и 4-гидроксипутирата.
3. Тип жиросодержащих углеродных субстратов влияет на состав мономеров и физико-химические свойства полигидроксиалканоатов.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы: формулирование цели и задач исследования, выбор методов исследования, проведение экспериментов с последующим обобщением и анализом полученных результатов, подготовка публикаций и презентаций докладов.

Достоверность результатов подтверждается: большим массивом экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов исследования, их повторяемостью и воспроизводимостью в независимых экспериментах.

Основные положения и научные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на VI Всероссийском молодежном научном форуме «Наука будущего-наука молодых» (Москва, 17-20 ноября 2021); International Online Conference on Macromolecules: Synthesis, Morphology, Processing, Structure, Properties and Applications (Kottayam, India, 10-12 September 2021); Молодежной международной научной конференции «Современные тенденции развития функциональных материалов», (Сириус, 16-18 ноября 2022); International Hybrid Conference on Nano Structured Materials and Polymers (Kottayam, 10-12 May 2023); XIV International Conference biomaterials and nanobiomaterials «BIONANOTOX 2023», (Greece, Crete, 11 September 2023); IV Международной научно-практической конференции «Экосистемы без границ 2023», (Калининград, 27-28 сентября 2023); XV International Conference biomaterials and nanobiomaterials «BIONANOTOX 2024», (Greece, Crete, 7 May 2024); IV Международном биотехнологическом форуме «BIO Asia Altai 2024», (Барнаул, 23-28 сентября 2024); Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии», (Казань, 21-25 апреля 2025). Исследования автора работы и доклады на научно-практических конференциях и конкурсах неоднократно были отмечены дипломами I, II и III степени.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Результаты исследований Сапожниковой Кристины Юрьевны опубликованы в **25 работах** (среди которых **10** – индексируемые в международных базах, а также **14 тезисов**).

Публикации в международных базах данных и системы цитирования Web of Science и Scopus:

1. **Сапожникова К. Ю.** Оценка низкосортных животных жиров в качестве нового субстрата для биосинтеза разрушаемых биопластиков / **К. Ю. Сапожникова** // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2025. – Т. 18. – №. 4. – С. 424-432. (Scopus, Уровень белого списка 1, BAK, IF 0,5. Q4).
2. Volova T. G. Synthesis and Properties of Degradable Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) [P(3HB-co-3HV)] Derived from Waste Fish Oil / T. G. Volova, E. G. Kiselev, A. G. Sukovaty, N. O. Zhila, **K. Yu. Sapozhnikova**, N. D. Ipatova, P. O. Shishatskii // Polymers. – 2025. – Vol. 17. – №. 16. – P. 2171. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 1, IF 4,9. Q1).

3. Volova T. From Waste to Biopolymer: Synthesis of P(3HB-*co*-4HB) from Renewable Fish Oil / T. Volova, N. Zhila, **K. Sapozhnikova**, O. Menshikova, E. Kiselev, A. Sukovaty, V. Volkov, I. Peterson, N. Ipatova, E. Shishatskaya // Journal of Renewable Materials. – 2025. – Vol. 13. – №. 3. – P. 413. (Scopus, IF 2.1. Q3).
4. Zhila N. O. Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoates in *Cupriavidus necator* B-10646 on Saturated Fatty Acids / N. O. Zhila, **K. Yu. Sapozhnikova**, E. G. Kiselev, E. I. Shishatskaya, T. G. Volova // Polymers. – 2024. – Vol. 16. – №. 9. – P. 1294. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 1, IF 4,9. Q1).
5. Zhila N. O. Synthesis and properties of polyhydroxyalkanoates on waste fish oil from the production of canned sprats / N. Zhila, **K. Yu. Sapozhnikova**, E. G. Kiselev, E. I. Shishatskaya, T. G. Volova // Processes. – 2023. – Vol. 11. – №. 7. – P. 2113. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 2, IF 2.8. Q2).
6. Zhila N. O. Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-*co*-4-hydroxybutyrate) from different 4-hydroxybutyrate precursors by new wild-type strain *Cupriavidus necator* IBP/SFU-1 / N. O. Zhila, **K. Yu. Sapozhnikova**, E. G. Kiselev, E. I. Shishatskaya, T. G. Volova // Processes. – 2023. – Vol. 11. – №. 5. – P. 1423. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 2, IF 2.8. Q2).
7. Zhila N. O. Properties of Degradable Polyhydroxyalkanoates Synthesized from New Waste Fish Oils (WFOs) / N. O. Zhila, E. G. Kiselev, V. V. Volkov, O. Y. Mezenova, **K. Y. Sapozhnikova**, E. I. Shishatskaya, T. G. Volova, T. G. // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – №. 19. – P. 14919. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 1, IF 4.9. Q1).
8. Zhila N. O. Biosynthesis and Properties of Sulfur-Containing Polyhydroxyalkanoates (PHAs) Produced by Wild-Type Strain *Cupriavidus necator* B-10646 / N. O. Zhila, **K. Yu. Sapozhnikova**, A. V. Berezovskaya, E. G. Kiselev, E. I. Shishatskaya, A. D. Vasiliev, S. Thomas, T. G. Volova // Polymers. – 2023. – Vol. 15. – №. 4. – P. 1005. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 1, IF 4,9. Q1).
9. Zhila N. O. Biosynthesis and Properties of a P(3HB-*co*-3HV-*co*-4HV) Produced by *Cupriavidus necator* B-10646 / N. O. Zhila, **K. Yu. Sapozhnikova**, E. G. Kiselev, I. V. Nemtsev, A. V. Lukyanenko, E. I. Shishatskaya, T. G. Volova // Polymers. – 2022. – Vol. 14. – №. 19. – P. 4226. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 1, IF 4,9. Q1).
10. Volova T. *Cupriavidus necator* B-10646 growth and polyhydroxyalkanoates production on different plant oils / T. Volova, **K. Sapozhnikova**, N. Zhila // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 164. – P. 121-130. (Scopus, WoS, Уровень белого списка 1, IF 8.5. Q1).

Прочие публикации:

1. Волова Т. Г., Жила Н. О., Киселев Е. Г., **Сапожникова К. Ю.**, Демиденко А. В., Волков В. В. Штамм *Cupriavidus necator* - продуцент разрушаемых полигидроксиалканоев на жировых отходах рыбопереработки: пат. на изобр. 2845693 Российская Федерация. СПК С12N 1/20 (2025.05); патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; № 2025101954; заявл. 30.01.2025; опубл. 25.08.2025, Бюл. №24.
2. Жила Н. О. Микробиологический синтез целевых продуктов: белка одноклеточных и биоразрушаемых полимеров (полигидроксиалканоев) / Н. О. Жила, **К. Ю. Сапожникова**, Е. Г. Киселев, Т. Г. Волова // 5-й Российский микробиологический конгресс : сборник тезисов докладов ; Волгоград, 29 сентября – 3 октября 2025 г. / под ред. Д. А. Бабкова. – Волгоград : Библиотечно-издательский центр ВолГМУ, 2025. – С. 147-148.

3. **Сапожникова К. Ю.** Микробиологический синтез поли(3-гидроксибутирата-*co*-4-гидроксибутирата) на отходах рыбопереработки // **К. Ю. Сапожникова** // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2025» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. – М.: МАКС Пресс, 2025.
4. **Сапожникова К. Ю.** Биотехнологический синтез разрушаемых полигидроксиалканоатов П(3ГБ-*co*-4ГБ) при использовании жировых отходов рыбопереработки // **К. Ю. Сапожникова**, Н. О. Жила, Е. Г. Киселев, Т. Г. Волова // Пищевые технологии и биотехнологии. XIX Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием (21–25 апреля 2025 г., г. Казань): материалы конференции / под ред. А. С. Сироткина; Минобрнауки России, Казан. нац. исслед. технол. ун-т. — Казань : Изд-во КНИТУ, 2025.
5. **Сапожникова К. Ю.** Отходы рыбопереработки как субстрат для микробиологического синтеза полигидроксиалканоатов // **К. Ю. Сапожникова** // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2024» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МОО СИПНН Н.Д. Кондратьева, 2024.
6. **Sapozhnikova K. Yu.** Waste fish oils (WFOs) as a substrate for the synthesis of ‘green’ bioplastics / Sapozhnikova K. Yu., Zhila, N. O., Volova, T. G // Public Health Toxicology, 4 (Supplement 2), 2024.
7. **Сапожникова К. Ю.** Потенциал жиросодержащих углеродных субстратов животного происхождения для биосинтеза «зеленых» пластиков / **К. Ю. Сапожникова**, Н.О. Жила, Т.Г. Волова // Материалы IV Международного биотехнологического форума «BIOAsia Altai 2024» (23-28 сентября 2024 г., г. Барнаул). – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2024. – 588 с.
8. **Сапожникова К. Ю.** Биосинтез трехкомпонентных сополимерных полигидроксиалканоатов П(3ГБ-*co*-3ГВ-*co*-4ГВ) в культуре бактерий *Cupriavidus necator* B-10646 / **К. Ю. Сапожникова** // Материалы XIX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «ПРОСПЕКТ СВОБОДНЫЙ – 2023» (24–29 апреля 2023 г., г. Красноярск). – Красноярск: Сиб. федер. ун-т, 2023. – 3618 с.
9. **Сапожникова К. Ю.** Биосинтез и свойства трехкомпонентных полигидроксиалканоатов, полученных в культуре бактерий *Cupriavidus necator* B-10646 / **К. Ю. Сапожникова** // Междисциплинарная конференция молодых учёных ФИЦ КНЦ СО РАН (КМУ-XXVI): тезисы докладов (16 мая 2023 г., г. Красноярск). – Красноярск: ИФ СО РАН, 2023. – 135 с.
10. **Сапожникова К. Ю.** Биосинтез и свойства трехкомпонентных сополимеров ПГА, содержащих мономеры гидроксивалерата, в культуре бактерий *Cupriavidus necator* B-10646 / **К. Ю. Сапожникова** // Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2023» (10–21 апреля 2023 г., г. Москва). – Москва: МАКС Пресс, 2023.
11. **Сапожникова К. Ю.** Углеродный субстрат как фактор, определяющий состав и свойства микробных полигидроксиалканоатов / **К. Ю. Сапожникова** // Современные тенденции развития функциональных материалов: Материалы докладов Международной молодежной научной конференции (16–18 ноября 2022 г., Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия). – Сочи: Научно-технологический университет «Сириус», 2022. – с. 56.
12. **Сапожникова К. Ю.** Микробиологический синтез биоразлагаемых полимеров с использованием перспективных, экономически рентабельных источников углерода / **К. Ю. Сапожникова** // Сборник тезисов докладов участников четвертой Международной научной

конференции «Наука будущего» и шестого Всероссийского молодежного научного форума «Наука будущего-наука молодых» — Москва, 2021. — с. 54-55.

13. **Сапожникова К. Ю.** *Cupriavidus necator* B-10646 growth and polyhydroxyalkanoates production on different plant oils / **К. Ю. Сапожникова**, Н. О. Жила // Биотехнология новых материалов – окружающая среда – качество жизни : материалы IV Междунар. науч. конф., г. Красноярск, 10–13 октября 2021 г. – Красноярск : Сиб. федер. ун-т, 2021. – с. 33-36.

14. **Сапожникова К. Ю.** Особенности синтеза полигидроксиалканоатов бактериями *Cupriavidus necator* B-10646 на различных растительных маслах / **К. Ю. Сапожникова** // Проспект Свободный – 2021 : материалы XVII Междунар. конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Красноярск, 19–24 апреля 2021 г. – Красноярск : Сиб. федер. ун-т, 2021. – с. 1486-1488.

15. **Сапожникова К. Ю.** Рост бактерий *Cupriavidus necator* B-10646 и синтез полигидроксиалканоатов на различных растительных маслах / **К. Ю. Сапожникова** // Междисциплинарная конференция молодых учёных ФИЦ КНЦ СО РАН (КМУ-XXIV): тезисы докладов (Красноярск, 29 апреля 2021 г.) – Красноярск: ИФ СО РАН, 2021. – с. 60.

Соответствие диссертации паспорту специальности 1.5.6 Биотехнология: Диссертационная работа Сапожниковой Кристины Юрьевны соответствует паспорту специальности 1.5.6 Биотехнология по п. 2 – Генетические, селекционные и иммунологические исследования в прикладной микробиологии, вирусологии и цитологии. Технологии культивирования микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных; 3 – Микробная и клеточная биотехнология; 26 – Технологии биополимеров и биокompозитных материалов.

Заключение: Диссертация Сапожниковой Кристины Юрьевны «Микробиологический синтез резервных полигидроксиалканоатов (ПГА) при росте на жиросодержащих субстратах» рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Заключение принято 23.09.2025 г. на заседании биотехнологического семинара лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза ИБФ СО РАН.

Присутствовало на заседании 21 чел., из них с правом решающего голоса – 14 чел. Результаты голосования: «за» – 21 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел.



Председатель биотехнологического семинара
Волова Татьяна Григорьевна,
доктор биологических наук, профессор,
г.н.с. лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза ИБФ СО РАН



Секретарь биотехнологического семинара
Муруева Анастасия Владимировна,
кандидат биологических наук,
н.с. лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза ИБФ СО РАН