

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Демиденко Алексея Владимировича на тему: «Технология биосинтеза полигидроксиалканоатов на глицерине и реализация опытного производства» по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Актуальность избранной темы

Одними из основных экологических проблем, с которыми столкнулось человечество на пути технического прогресса, является проблема отходов и необходимость получения все большего количества энергии. Наряду с разработкой и внедрением технологий очистки окружающей среды необходимо переходить на биоразлагаемые материалы, чтобы снизить объемы твердых бытовых отходов. Синтетические пластики, главным образом, упаковка, накоплены в огромном количестве и продолжают производиться во всем мире, при этом источником для их получения является невозобновляемое сырье (нефть и нефтепродукты). Альтернативой таким пластикам являются материалы природного происхождения, в том числе запасные органические вещества микроорганизмов - полигидроксиалканоаты (ПГА). В связи с этим, диссертационная работа А.В. Демиденко, посвященная разработке технологии биосинтеза ПГА при культивировании продуцента на ранее не использовавшемся для этой цели субстрате - глицерине, представляется актуальной. Эта диссертационная работа является логичным продолжением масштабной научно-исследовательской работы по получению ПГА, выполняемой на протяжении длительного времени под руководством д.б.н., профессора Т.Г. Воловой в Институте биофизики СО РАН (Красноярск).

Новизна исследования и полученных результатов

Новизна исследования заключается в разработке условий культивирования продуцентов ПГА на глицерине как субстрате роста. Подобранный среда культивирования позволила достичь продуктивности процесса, сопоставимой и даже превышающей зарубежные аналоги. Разработан проект опытного производства. Реализованное опытное производство является базой для его последующего развития до

крупномасштабного производства, а также для разработки и реализации новых технологий.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений, сформулированных в диссертации

Выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы и соответствуют поставленным задачам. Заключение подтверждено фактическим материалом, полученным с использованием современных методов исследования. Достоверность результатов определяется достаточным объемом выполненных исследований и использованием статистических методов для их обработки.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта

Выводы и рекомендации, изложенные в диссертации, обладают большой практической значимостью. Автором получены результаты, которые используются в опытно-промышленном производстве с объемом выпуска продукта до 500 кг в год. Автором приведена технологическая схема разработанного процесса.

В диссертационной работе приведены экономические расчеты, подтверждающие эффективность предложенного процесса. Теоретическая значимость работы заключается в получении новых знаний, касающихся синтеза ПГА водородокисляющими бактериями при культивировании на глицерине, особенностей накопления полимера в зависимости от уровня очистки глицерина, расчета кинетических и продукционных показателей процесса.

Важность диссертационной работы заключается во внедрении результатов в опытное производство, что дает предпосылки для развития этого производства до промышленного уровня.

Соответствие автореферата диссертации

Автореферат полностью соответствует диссертации. Структура автореферата отражает структуру диссертационной работы, изложены основные моменты, описаны наиболее значимые результаты.

**Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом,
подтверждение публикаций результатов диссертации в научной
печати**

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК Министерства образования и науки РФ, изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, аналитического обзора литературы, описания объекта и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературных источников. Текст работы иллюстрирован 19 таблицами и 35 рисунками, которые дают полную информацию о проведенном исследовании и анализируемом материале.

Во *Введении* обоснована актуальность исследования, обозначена новизна и практическая значимость. В *Аналитическом обзоре литературы* обобщены сведения о продуцентах ПГА, механизмах их синтеза и биотехнологических производствах ПГА. В главе *Объекты и методы исследования* описаны технологии культивирования продуцентов и методы исследования химического состава и свойств ПГА. *Глава 3* собственных исследований посвящена синтезу ПГА водородокисляющими бактериями на глицерине, *Глава 4* - структуре и свойствам синтезированных ПГА, *Глава 5* - масштабированию производства ПГА. В *Заключении* обобщены проведенные исследования, приведено 8 выводов, выводы обоснованы и соответствуют поставленным задачам. Список использованных источников из 165 наименований представлен в алфавитном порядке.

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из которых 4 в изданиях, входящих в перечень, рекомендованный ВАК РФ. Результаты диссертации полностью отражены в опубликованных работах.

Среди недостатков следует отметить ряд опечаток (стр. 4, 16, 21, 25, 27, 110, 117), употребление устаревшего термина "архебактерии" вместо "археи", ряд стилистических неточностей и использование лабораторного жаргона ("колбочная культура"). В "Материалах и методах" при описании состава среды для культивирования продуцента указан хлорид аммония (1 г/л), а затем следует уточнение, что в качестве источника азота использована мочеви́на. Возможно, это опечатка, тем более что концентрация источника азота важна для процесса синтеза ПГА. В

"Материалах и методах" хотелось бы видеть более подробное описание определения количества ПГА в образцах, получение метиловых эфиров жирных кислот. Некоторые моменты не очень ясны читающему диссертационную работу, например, фраза "Шероховатость поверхности на уровне нанометров может определять адгезию, распластывание и двигательную активность клеток, а также синтез специфических белков" (стр. 80-81) без пояснений непонятна: о каких клетках идет речь, что за процесс подразумевается, тем более что ни до, ни после об этом речи больше не ведется.

По мере прочтения диссертации возник ряд вопросов:

1. На стр. 97 автор утверждает, что высокое содержание полимера отрицательно влияет на физиологическое состояние культуры (дыхательную активность и удельную скорость роста) и вычисляет константу ингибирования удельной скорости роста. Следует ли из этого, что рост бактерий и дыхание ингибирует именно накопленный полимер, или накопление полимера, снижение удельной скорости роста и дыхательной активности являются следствием других биохимических процессов, протекающих в клетке?

2. Возможна ли разработка непрерывного процесса синтеза полигидроксиалканоатов данными бактериями при росте на глицерине как субстрате и есть ли смысл в такой модификации этой технологии? Возможна ли разработка гетерогенного процесса синтеза полигидроксиалканоатов, например, биопленками бактерий на нерастворимом субстрате, или такой способ не может дать преимуществ?

Необходимо подчеркнуть, что заданные вопросы носят уточняющий характер, а сделанные замечания не умаляют значение полученных автором результатов. В целом, диссертация А.В. Демиденко является целостным и законченным научным трудом, обладающим новизной и большой практической значимостью.

Заключение

Таким образом, диссертация Демиденко Алексея Владимировича на тему: «Технология биосинтеза полигидроксиалканоатов на глицерине и реализация опытного производства», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи

исследования процесса синтеза полигидроксиалканоатов на глицерине водородокисляющими бактериями, что имеет существенное значение для биотехнологии, а также предложены научно обоснованные технологические решения этого процесса и произведен запуск опытного производства, что имеет существенное значение для развития страны. Диссертационная работа соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. 01.10.2018), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент,
ведущий научный сотрудник
лаборатории молекулярной микробиологии
и биотехнологии "Института экологии
и генетики микроорганизмов УрО РАН" - филиала
Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН,

д.б.н. по специальности
03.02.03 - микробиология
11.03.2019



Максимова Юлия Геннадьевна

Контактные данные официального оппонента:

Почтовый адрес: 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, "Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук" - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук ("ИЭГМ УрО РАН")

Контактный телефон: [redacted] 76

Адрес электронной почты: maks@iegm.ru

Подпись Максимовой Ю.Г. удостоверяю:

Директор ИЭГМ УрО РАН, чл.-корр. РАН



В.А. Демаков

