

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.075.04,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КРАСНОЯРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ФИЦ
КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 09.04.2019 № 5

О присуждении Демиденко Алексею Владимировичу, гражданину Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Технология биосинтеза полигидроксиалканоатов на глицерине и реализация опытного производства» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), принята к защите 29.01.2019 (протокол заседания № 3) диссертационным советом Д 003.075.04, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), Министерство науки и высшего образования РФ, 660036, г. Красноярск, Академгородок д. 50, создан приказом Минобрнауки № 21/нк от 24.01.2017.

Соискатель Демиденко Алексей Владимирович 1979 года рождения. В 2001 году соискатель окончил Сибирский Государственный Технологический Университет, г. Красноярск, Министерство образования Российской Федерации, присуждена квалификация инженер по специальности «Технология химической переработки древесины».

Работает младшим научным сотрудником в лаборатории биотехнологии новых биоматериалов в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ), г. Красноярск, Министерство науки и высшего образования РФ, и ведущим инженером в лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИБФ СО РАН) – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), г. Красноярск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Диссертация выполнена в лаборатории биотехнологии новых биоматериалов в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ), г. Красноярск, Министерство науки и высшего образования РФ и в лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИБФ СО РАН) – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), г. Красноярск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор, Волова Татьяна Григорьевна, Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук (ИБФ СО РАН) – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), г. Красноярск, Министерство науки и высшего образования РФ, лаборатория хемоавтотрофного биосинтеза, заведующая лабораторией.

Официальные оппоненты:

Градова Нина Борисовна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (РХТУ им. Менделеева), г. Москва, кафедра биотехнологии факультета биотехнологии и промышленной экологии, главный специалист;

Максимова Юлия Геннадьевна, доктор биологических наук, «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, г. Пермь, лаборатория молекулярной микробиологии и биотехнологии, ведущий научный сотрудник дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет» (ЮФУ), г. Ростов-на-Дону, в своем положительном отзыве, подготовленном Чистяковым Владимиром Анатольевичем, доктором биологических наук, старшим научным сотрудником, директором Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского «Южного федерального университета», и подписанном Вечкановым Евгением Михайловичем, кандидатом биологических наук, доцентом, и.о. заведующего кафедрой биохимии и микробиологии Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского «Южного федерального университета», указала, что диссертация по актуальности, новизне, методическому уровню и значимости полученных результатов представляет собой законченное научно-практическое исследование, которое соответствует требованиям ВАК РФ (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года), а её автор, Демиденко Алексей Владимирович заслуживает присуждения степени кандидата

биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 13 работ, из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, опубликовано 4 работы, одна из которых входит в базы цитирования Scopus и Web of Science, а также 9 публикаций в сборниках докладов научных конференций. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, объем научных изданий (статей) составляет 46 стр., авторский вклад – 75%.

Наиболее значимые публикации:

1. Volova ,T.G., Demidenko A.V., Kiselev E.G., Baranovskiy S.V., Shishatskaya E.V., Zhila N.O. Polyhydroxyalkanoate synthesis based on glycerol and implementation of the process under conditions of pilot production // Applied Microbiology and Biotechnology – 2019. – V. 103, N 1. – P. 225-237.
2. Киселев, Е.Г., Демиденко А.В., Барановский С.В., Волова Т.Г. Масштабирование технологии синтеза биodeградируемых полигидроксиалканоатов в условиях опытного производства // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2014. – Т. 7, №2. – С. 134-147.
3. Киселев, Е.Г., Демиденко А.В. Сравнительное исследование методов экстракции полигидроксиалканоатов из биомассы бактерий // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2014. – Т. 7, №2. – С. 148-160.
4. Демиденко, А.В., Виноградова, О.Н., Киселев, Е.Г. Влияние режима высушивания бактериальной биомассы на полноту экстракции и физико-химические свойства продукта (полимера) // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2016. – Т. 9, №2. – С. 180-189.

На диссертацию и автореферат поступило 6 отзывов. Все отзывы положительные. Отзывы: доктора биологических наук, профессора Троценко

Ю.А., заведующего лабораторией радиоактивных изотопов, и доктора биологических наук Дорониной Н.В., ведущего научного сотрудника лаборатории радиоактивных изотопов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук (ИБФМ РАН) – обособленного подразделения ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН); Пантелеева Д.Н., генерального директора общества с ограниченной ответственностью «Кировской биохимический завод», и доктора медицинских наук, члена-корреспондента РАН Пименова Е.В., советника генерального директора по стратегическому планированию общества с ограниченной ответственностью «Кировской биохимический завод»; доктора биологических наук Колотиловой Н.Н., доцента кафедры микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ); доктора биологических наук, профессора Багаевой Т.В., профессора кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; доктора технических наук Рязановой Т.В., профессора кафедры химической технологии древесины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет науки и технологий им. академика М.Ф. Решетнева» (СибГУ им. М.Ф. Решетнева); доктора технических наук, профессора Величко Н.А., заведующей кафедры технологии консервирования и пищевой биотехнологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» (Красноярский ГАУ) замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью и высокой квалификацией специалистов в области биотехнологии, а также соответствием основных направлений исследований задачам диссертационной работы Демиденко А.В. Исследовательский коллектив Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Федерального государственного автономного образовательного

учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» (г. Ростов-на-Дону) занимается изучением процессов глубинного культивирования микроорганизмов при использовании различных субстратов, в том числе отходов растительного происхождения, а также защитных свойств ферментов бактерий при воздействии ингибиторов, и имеет высокую квалификацию по теме диссертации, что подтверждается публикациями и выполняемыми проектами. Оппонент Градова Н.Б. (г. Москва) хорошо знакома со спецификой диссертационной работы соискателя ученой степени, поскольку является специалистом в области селекции микроорганизмов, промышленных процессов культивирования микроорганизмов на различных субстратах (углеводороды, органические кислоты, углеводы, отходы сельского хозяйства и промышленности), микробиологического контроля биотехнологических производств. Оппонент Максимова Ю.Г. (г. Пермь) является специалистом в области микробиологии, каталитической активности ферментов; занимается исследованием накопления полигидроксиалканоатов в клетках различных таксонов на различных субстратах, что существенно перекликается с работой Демиденко А.В.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

адаптированы к глицерину как единственному С-субстрату штаммы водородокисляющих бактерий и отобран наиболее продуктивный штамм; **определено**, что штамм *Cupriavidus eutrophus* В-10646 обладает способностью синтезировать на глицерине полимеры различного химического состава, включая особо ценные сополимеры 3-гидроксибутирата с 4-гидроксибутиратом, а так же с 3-гидроксивалератом;

доказано отсутствие ингибирования роста бактерий *Cupriavidus eutrophus* В-10646, примесями (до 18 %), содержащимися в глицерине различной степени чистоты, что позволяет использовать «сырой» глицерин с высоким содержанием примесей;

определено влияние концентрации глицерина на рост бактерий исследуемого штамма и показана возможность культивирования бактерий при изменении концентрации глицерина от 1,0 до 60,0 г/л. На основе анализа зон лимитирования и ингибирования роста бактерий **определены** субстратные константы для культуры бактерий по глицерину;

доказано, что глицерин влияет на соотношение упорядоченной и неупорядоченной зон в полимере, то есть способствует аморфизации полигидроксиалканоатов (ПГА), сопровождающейся снижением степени кристалличности до 50 – 55 % у поли-3-гидроксибутирата и до 41 – 46 % у сополимеров, что делает ПГА более технологичными;

на основе анализа массива результатов лабораторных исследований **определены** исходные данные для масштабирования технологии биосинтеза ПГА и проектирования опытного производства; **спроектировано, укомплектовано и введено** в эксплуатацию опытное биотехнологическое производство;

разработана и реализована технология биосинтеза ПГА на глицерине в условиях опытного производства, которая обеспечила получение высоких показателей по урожаю биомассы и концентрации полимера при высоких значениях продуктивности, существенно превосходящие ранее полученные результаты на глюкозе.

Теоретическая значимость исследования заключается в серии полученных фундаментальных результатов о кинетике и закономерностях синтеза ПГА на глицерине различной степени чистоты, которые составили научную основу и обоснование, необходимые для разработки эффективной биотехнологии;

установлено, что при культивировании на глицерине изменяются молекулярно-массовые характеристики полимеров и повышается полидисперсность, то есть полимер по набору фрагментов С-цепи становится более неоднородным. Методом ЯМР спектроскопии **доказано** участие

глицерина в качестве агента переноса полимеризации С-цепи, связывание его с терминальными группами мономеров 3-гидроксипропиридата;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы: газовая хроматография, совмещенная с масс-спектрометрией для определения состава ПГА; высокоэффективная жидкостная хроматография, рентгеноструктурный анализ и дифференциально сканирующая калориметрия для определения физико-химических свойств полимеров; гель-проникающая хроматография для определения молекулярной массы ПГА; рентгеноструктурный анализ для определения степени кристалличности образцов ПГА; растровая и атомно силовая электронные микроскопии, оценка краевых углов смачивания для определения свойств поверхности полимерных пленок; разрывная машина для определения физико-механических свойств полимерных пленок.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработанная и реализованная в условиях опытного производства технология биосинтеза ПГА на глицерине обеспечивает эффективный процесс получения полимеров при значительном снижении затрат на производство. Опытное производство является методической и научно-образовательной базой для: последующего масштабирования технологии, наработки партий полимеров, подготовки специалистов биотехнологов;

определены перспективы реализованной в условиях опытного производства технологии для её масштабирования до уровня опытно-промышленного производства биоразрушаемых пластиков.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ достоверность определяется: использованием современных микробиологических и аналитических методов исследования, воспроизводимостью получаемых результатов и их статистической обработкой;

теория построена на известных, проверяемых данных и согласуется с опубликованными данными других авторов по теме диссертации и в смежных областях;



использованы современные методы обработки данных с применением программ Microsoft.

Личный вклад соискателя заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования: от постановки цели и задач, выбора и постановки методов исследований для проведения экспериментов с последующей интерпретацией и обобщением результатов, а также в подготовке докладов и публикаций.

На заседании **9 апреля 2019** года диссертационный совет принял решение присудить **Демиденко А.В.** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – **18**, против – **0**, недействительных бюллетеней – **0**.

Заместитель председателя
диссертационного совета,
д.б.н., профессор



Н.С. Печуркин

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н., доцент



Е.Н. Есимбекова

9.04.2019 г.