

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 13.12.2018 № 13

О присуждении Пилигаеву Александру Васильевичу, гражданину Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Выделение и изучение свойств штаммов микроводорослей, продуцирующих липиды, и их биокаталитическая переработка в биодизельное топливо» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), принята к защите 09.10.2018 (протокол заседания № 9) 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 Пилигаев Александр Васильевич 1989 года рождения. В 2011 году соискатель окончил специалитет Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Новосибирский государственный университет» (НГУ), г. Новосибирск, Минобрнауки, по специальности «Химия», присуждена квалификация

«Химик», в 2014 году окончил очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского Отделения Российской Академии Наук, г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Работает младшим научным сотрудником Лаборатории каталитических методов преобразования солнечной энергии Отдела нетрадиционных каталитических процессов в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте катализа им. Г.К. Борескова Сибирского Отделения Российской Академии Наук (ИК СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Диссертация выполнена в Лаборатории каталитических методов преобразования солнечной энергии Отдела нетрадиционных каталитических процессов в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте катализа им. Г.К. Борескова Сибирского Отделения Российской Академии Наук (ИК СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Сорокина Ксения Николаевна, Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского Отделения Российской Академии Наук (ИК СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ, Лаборатория каталитических методов преобразования солнечной энергии Отдела нетрадиционных каталитических процессов, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Ефременко Елена Николаевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ), г. Москва, лаборатория экобиокатализа кафедры химической энзимологии Химического факультета, заведующая лабораторией;

Гайсина Лира Альбертовна, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» (БГПУ им. М. Акмуллы), г. Уфа, кафедра биоэкологии и биологического образования, заведующая кафедрой дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН), г. Владивосток, в своем положительном отзыве, подписанном Имбсом Андреем Борисовичем, доктором биологических наук, главным научным сотрудником Лаборатории сравнительной биохимии, указала, что диссертация является полноценным, значимым и логически выстроенным исследованием, содержащим новые знания и имеющим практическую ценность. Отмечено, что представленная к защите диссертация соответствует всем требованиям ВАК РФ (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года).

Соискатель имеет 37 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликована 21 работа, из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, входящих в базу цитирования Scopus/Web of Science, опубликовано 4 работы, а также 15 публикаций в сборниках докладов научных конференций, 1 монография и 1 патент РФ. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, объем научных изданий (статей) составляет 34 стр., авторский вклад – 75%.

Наиболее значимые публикации:

1. Сорокина К.Н., Яковлев В.А., Пилигаев А.В., Кукушкин Р.Г., Пельтек С.Е., Колчанов Н.А., Пармон В.Н.. Потенциал применения микроводорослей в

качестве сырья для биоэнергетики // Катализ в промышленности. – 2012. - №2. – С. 63-72.

2. Piligaev A.V., Sorokina K.N., Bryanskaya A.V., Peltek S.E., Kolchanov N.A., Parmon V.N.. Isolation of prospective microalgae strains with high saturated fatty acid content for biofuel production // Algal research. – 2015. – V12. – P. 368-376.

3. Piligaev A.V., Sorokina K.N., Shashkov M.V., Parmon V.N. Screening and comparative metabolic profiling of high lipid content microalgae strains for application in wastewater treatment // Bioresource Technology. – 2018. – V. 250C. – P. 538-547.

4. Piligaev A.V., Sorokina K.N., Samoylova Y.V., Parmon V.N. Lipid production by microalga *Micractinium* sp. IC-76 in a flat panel photobioreactor and its transesterification with cross-linked enzyme aggregates of *Burkholderia cepacia* lipase // Energy Conversion and Management. – 2018. – V. 156. – P. 1–9.

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов. Все отзывы положительные. Отзывы: доктора биологических наук Чекуновой Е.М., старшего научного сотрудника кафедры генетики и биотехнологии Биологического факультета ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ); кандидата биологических наук Ярушкина А.А., старшего научного сотрудника, и.о. руководителя лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики – структурного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (НИИМББ ФИЦ ФТМ); кандидата биологических наук Базарсадуевой С.В., научного сотрудника лаборатории химии природных систем ФГБУН Байкальского института природопользования СО РАН (БИП СО РАН) замечаний не содержат. В отзыве доктора химических наук, профессора РАН Адонина Н.Ю., главного научного сотрудника лаборатории каталитических процессов синтеза элементоорганических соединений ФГБУН Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН (ИК СО РАН) имеются следующие замечания: чем

обусловлен выбор липазы *V. cerasia* в качестве основы для биокатализатора; желательно привести более полное объяснение в сравнении с другими ферментами; поскольку сточные воды имеют сложный состав, почему в работе проводили анализ сточных вод именно по следующим ионам: NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , Cl^- , SO_4^{2-} . В отзыве доктора химических наук, профессора Сидельникова В.Н., главного научного сотрудника Аналитической лаборатории ФГБУН Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН имеются следующие замечания: в чем сущность уточнения видовых названий некоторых штаммов микроводорослей (стр. 6), если штаммы считаются уже описанными и изученными при депонировании в коллекцию; были ли отличия в процедуре анализа методом ГХ/МС с тем, что было опубликовано ранее в литературе на пример штамма микроводорослей рода *Chlamydomonas*; на рис. 8 видно, что при культивировании микроводоросли *Micractinium* sp. IC-76 в сточных водах количество жирной кислоты C18:0 в стационарной фазе возрастает, а ранее (на стр. 12) указано, что в стационарной фазе эта кислота снижает содержание.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью и высокой квалификацией специалистов в области биотехнологии микроводорослей и биокаталитических систем, а также соответствием основных направлений исследований задачам диссертационной работы Пилигаева А.В. Исследовательский коллектив Лаборатории сравнительной биохимии ФГБУН «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН) занимается изучением роли различных классов липидов в жизнедеятельности как отдельных организмов (микро- и макроводорослей, морских бактерий), так и на уровне экосистем, и имеет высокую квалификацию по теме диссертации, что подтверждается публикациями и выполняемыми проектами. Гайсина Л.А. (г. Уфа) является специалистом в области альгологии и биотехнологии микроводорослей; хорошо знакома со спецификой диссертационной работы

соискателя ученой степени, поскольку изучает свойства новых штаммов микроводорослей и их биоразнообразие на территории Южно-Уральского региона РФ. Ефременко Е.Н. (г. Москва) является специалистом в разработке биокаталитических систем и процессов на их основе для решения различных биотехнологических задач экологической направленности; занимается исследованием разрабатываемых биокатализаторов на основе клеток микроорганизмов и ферментов. Характерная особенность всех разработок - иммобилизация элементов, составляющих биокаталитические системы, что существенно перекликается с седьмой главой диссертации Пилигаева А.В.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

выделены новые природные штаммы микроводорослей, перспективные для применения в процессах получения биодизельного топлива, обладающие высокой продуктивностью по биомассе и синтезирующие липиды с высокой насыщенностью;

выявлены штаммы микроводорослей, потенциально применимые для очистки муниципальных сточных вод по показателям аммонийного азота и ортофосфатов из среды;

выявлены закономерности в изменении метаболизма микроводорослей в процессе накопления липидов при миксотрофном культивировании: снижение концентрации продуктов метаболизма глутамата, значительное увеличение концентрации продуктов метаболизма углеводов, в частности, существенное повышение концентрации сахарозы при исчерпании азотистых компонентов среды. Исследование метаболизма липидпродуцирующих штаммов в миксотрофных условиях на стерилизованных сточных водах проведено впервые и позволило определить ключевые метаболические циклы, обеспечивающие накопление липидов, что перспективно для увеличения их продукции микроводорослями;

предложен подход к биокаталитической переэтерификации липидной фракции микроводорослей с использованием биокатализатора на основе

агрегатов поперечно сшитых молекул липазы для получения метиловых эфиров жирных кислот как основы биодизельного топлива. Данный подход позволяет проводить реакцию переэтерификации липидов микроводорослей с высоким выходом метиловых эфиров жирных кислот при более низкой температуре, в сравнении с химической переэтерификацией;

разработана математическая модель, описывающая процесс биокаталитической переэтерификации липидной фракции микроводорослей с использованием биокатализатора на основе агрегатов поперечно сшитых молекул липазы. Разработанная модель коррелирует с экспериментальными данными и позволяет достаточно точно описать реакцию биокаталитической переэтерификации липидов микроводоросли *Micractinium* sp. IC-76.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что исследованы свойства новых штаммов микроводорослей, перспективных для применения в процессах получения биодизельного топлива;

исследованы метаболические характеристики новых липидпродуцирующих штаммов, что позволило выявить ряд особенностей процессов накопления липидов в клетках микроводорослей. Полученные данные носят фундаментальный характер и являются основой для дальнейшего увеличения продукции липидов штаммами микроводорослей с помощью методов генетической инженерии;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы метод проточной цитофлуориметрии для выделения чистых культур микроводорослей, метод газовой хроматомасс-спектрометрии для оценки метаболизма микроводорослей в миксотрофных условиях культивирования, методы мультивариантной статистики (метод главных компонент и метод частичных наименьших квадратов) для обработки данных метаболического профилирования, метод поверхности отклика для оптимизации реакции биокаталитической переэтерификации липидов микроводорослей в метиловые эфиры жирных кислот.

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

определены перспективы применения выделенных новых штаммов микроводорослей с высоким содержанием насыщенных липидов и накоплением биомассы для создания технологий получения компонентов альтернативных моторных топлив, в том числе в процессах, совмещенных с водоочисткой муниципальных сточных вод;

установлено, что накопление липидов при миксотрофном культивировании на стерилизованных муниципальных сточных водах у штаммов микроводорослей рода *Micractinium* и *Chlorella* накопление липидов сопряжено с увеличением концентрации метаболитов углеводного обмена, в частности, сахарозы;

установлено, что использование агрегатов поперечно сшитых молекул липазы *Burkholderia cepacia* перспективно для применения в процессах получения биодизельного топлива из липидов микроводорослей за счет высокого выхода метиловых эфиров жирных кислот при относительно низкой температуре и концентрации биокатализатора.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ использованы современные микробиологические, молекулярно-биологические, аналитические, статистические методы исследования, которые являются достоверными и воспроизводимыми;

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

использованы современные способы обработки данных: метод главных компонент и метод частичных наименьших квадратов для анализа метаболических профилей, а также оптимизация реакции переэтерификации с помощью метода поверхности отклика, включая регрессионный и дисперсионный анализ.

Личный вклад соискателя состоит в: обсуждении цели и постановке задач исследования, планировании и проведении экспериментов, выделении чистых культур микроводорослей и изучении их свойств в фотоавтотрофных и миксотрофных условиях культивирования, исследовании метаболических особенностей штаммов в миксотрофных условиях культивирования, разработке модели реакции биокаталитической переэтерификации, обработке и интерпретации полученных данных, апробации результатов исследования на научных конференциях и подготовке публикаций.

На заседании **13 декабря 2018 года** диссертационный совет принял решение присудить **Пилигаеву А.В.** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 4 доктора наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – **19**, против – **0**, недействительных бюллетеней – **1**.

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



Н.С. Печуркин

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



Е.Н. Есимбекова

13.12.2018 г.