

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

Д 999.095.03, созданного на базе Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева Министерства образования и науки Российской Федерации, Тверского государственного технического университета Министерства образования и науки Российской Федерации, Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук, по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета

от «31» января 2018 года, протокол № 1

О присуждении Приворотской Елизавете Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Получение стабилизированных форм гидролитических ферментов технического и фармацевтического назначения» в виде рукописи по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), химические науки, принята к защите «15» ноября 2017 года, протокол № 9, диссертационным советом Д 999.095.03 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный технический университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук (125047, Москва, Миусская площадь, 9, приказ о создании диссертационного совета от «28» сентября 2016 года № 1172/нк).

Соискатель Приворотская Елизавета Александровна, «15» июня 1990 года рождения, в 2012 году окончила Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева Министерства образования и науки Российской Федерации.

Освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева Министерства образования и науки Российской Федерации. Временно не работает.

Диссертация выполнена на кафедре биотехнологии Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева Министерства образования и науки Российской Федерации.

**Научный руководитель** доктор химических наук, доцент Красноштанова Алла Альбертовна, гражданка Российской Федерации, профессор кафедры биотехнологии Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева.

**Официальные оппоненты:** доктор химических наук, доцент Понаморева Ольга Николаевна, гражданка Российской Федерации, заведующая кафедрой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет», Тула;

кандидат химических наук Балабушевич Надежда Георгиевна, гражданка Российской Федерации, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного обра-

зовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж, в своем положительном заключении, подписанном доктором биологических наук, профессором, заведующей кафедрой биохимии и биотехнологии Корнеевой Ольгой Сергеевной, указала, что по объему, научной новизне, практической значимости, достоверности полученных результатов работа соответствует требованиям пп. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Приворотская Елизавета Александровна – заслуживает искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06- Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), (отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры биохимии и биотехнологии, 10 января 2018 года, протокол № 5).

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 13 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 5 работ. Все научные работы касаются теоретических и прикладных аспектов получения препаратов иммобилизованных гидролаз, изучения их стабильности, оценки и анализу термодинамических и кинетических параметров нативных и иммобилизованных гидролаз, а также практическому применению полученных биокатализаторов. Одна работа опубликована без соавторов, остальные – в соавторстве, личный вклад соискателя составляет 70-80% и состоит в разработке концепции исследования, постановке задач, выполнении экспериментальных исследований и интерпретации полученных результатов. Монографий, патентов, депонированных рукописей не имеет.

Соискателем опубликовано 8 работ в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов.

#### **Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Belov A.A., Korotaeva A.I., **Raspopova E.A.** (Приворотская Е.А.) Influence solutions of glycerol on the enzymatic activity of proteolytic complex of hepatopancreas crab stabilized polysaccharide compounds // Chemical Technology. Key Developments in Applied Chemistry and Materials Science. Apple Academic Press. 2014. pp. 73-89.
2. **Распопова Е.А.** (Приворотская Е.А.), Красноштанова А.А. Характеристика свойств и оценка эффективности биокатализатора на основе иммобилизованной грибной амилазы // Катализ в промышленности. 2015. Т. 15, № 5. С. 54-60.
3. Манукян Г.А., **Приворотская Е.А.**, Красноштанова А.А. Исследование влияния иммобилизации на стабильность панкреатической липазы // Бутлеровские сообщения. 2016. Т. 47. Вып. 7. С. 74 – 81.

На диссертацию и автореферат поступило 6 отзывов, **все положительные**. В отзывах указывается, что представляемая работа характеризуется высоким теоретическим и экспериментальным уровнем, имеет большое научное и практическое значение и по своей новизне и актуальности соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии. В отзыве кан-

дидата химических наук, доцента кафедры «Химия» Мытищинского филиала Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана» Веревкина А.Н. в качестве замечания отмечено, что было бы интересным провести иммобилизацию не только на тех полисахаридах, которые представлены в диссертационной работе, но и на каррагинане, который также является важным и распространенным полисахаридом. В отзыве заведующего кафедрой промышленной биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», доктора технических наук, профессора Сироткина А.С. в качестве замечаний отмечено, что недостаточно обоснованы выводы по иммобилизации липаз и протеолитического комплекса ферментов на поверхности природных полисахаридов, отсутствие в таблицах и графиках данных по статистической обработке данных, неясно, как методически определялось содержание белка, иммобилизованного на поверхности текстильного носителя и количество иммобилизованного фермента в микрокапсулах. В отзыве заведующего кафедрой прикладной биотехнологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет», доктора технических наук, доцента Лодыгина А.Д. и заведующего базовой кафедрой технологии молока и молочных продуктов того же университета, доктора технических наук, профессора Евдокимова И.А. в качестве замечания отмечено, что при описании динамики гидролиза субстратов препаратами иммобилизованных гидролаз в сравнении с нативными следовало бы привести уравнения регрессии, описывающие полученные линии тренда. В отзыве заведующей лабораторией биоконверсии Федерального государственного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, кандидата химических наук, доцента Будаевой В.В. и старшего научного сотрудника той же лаборатории, кандидата технических наук Скиба Е.А. в качестве замечания требуется пояснить, почему при анализе функциональной стабильности гидролаз термоинактивация осуществлялась при оптимальном значении рН для каждого фермента, а не в соответствующих изоэлектрических точках.

Отзывы заведующего кафедрой биологической и химической технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет», доктора сельскохозяйственных наук, профессора Цугкиева Б.Г. и заведующего базовой кафедрой биохимии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Удмуртский государственный университет», кандидата биологических наук Барсукова А.К. замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что в ведущей организации проводятся исследования по смежным тематикам, а официальные оппоненты являются признанными экспертами активно работающими в областях биохимии и биотехнологии близких к тематике диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработаны методы иммобилизации гидролитических ферментов на текстильных носителях и в хитозан-альгинатные микрокапсулы;
- предложены оптимальные условия иммобилизации гидролаз на текстильных материалах с добавлением глицерина и витаминов, а также эффективные условия гидролиза промышленных субстратов иммобилизованными препаратами амилазы и липазы;
- доказана высокая стабильность разработанных иммобилизованных препаратов гидролитических ферментов по сравнению с нативными формами, а также перспективность использования полученных ферментных препаратов в медицине и промышленности.

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что:

- на примере трипсина, ПК, амилазы и липазы научно обоснован выбор наиболее эффективных метода, носителя, условий иммобилизации гидролитических ферментов;
- получены кинетические и термодинамические параметры иммобилизованных форм гидролаз, проведено их сравнение с соответствующими параметрами нативных гидролаз;
- показано, что применение иммобилизованных ферментных препаратов позволяет повысить выход продуктов гидролиза в 1,3 – 1,5 раз по сравнению с нативными формами;
- доказано преимущество полисахаридных носителей для иммобилизации в сравнении с синтетическими на основе анализа полученных экспериментальных и расчётных данных.

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

- разработаны режимы получения иммобилизованных препаратов гидролаз путём микрокапсулирования или иммобилизации на текстильный носитель, позволяющие сохранить стабильность препаратов и увеличить выход продуктов реакции;
- подобраны условия получения атравматичного раневого покрытия пролонгированного действия, содержащего протеолитические ферменты (трипсин или протеолитический комплекс гепатопанкреаса краба), глицерин в качестве смягчающего компонента и витамины;
- даны рекомендации по условиям гидролиза субстратов, используемых в промышленности (ячменного солода и жиросодержащих отходов) наиболее эффективными препаратами, соответственно, грибной амилазы, иммобилизованной на хитозансодержащей целлюлозе, и панкреатической липазы, иммобилизованной в хитозан-альгинатные микрочастицы.

Результаты работы могут быть рекомендованы для изучения и внедрения в научных и образовательных организациях, специализирующихся в области биотехнологии, биохимии и фармацевтики, а также на предприятиях, специализирующихся на выпуске ферментных препаратов и использующих в технологическом процессе ферментные препараты, в частности, в Научно-техническом центре Российской инженерной академии «Полиферм», обществах с ограниченной ответственностью «Бонокса», «Агрофермент», Федеральном государственном унитарном предприятии «Научно-производственное объединение «Микроген», Агропромышленном холдинге «Белогорье», Открытом акционерном обществе «Группа Черкизово».

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- достоверность полученных экспериментальных результатов обеспечена применением современных, преимущественно стандартизованных, методов эксперимента, соответствующих современному научному уровню, и подтверждена их согласованностью;

- обоснованность основных выводов базируется на анализе и обобщении экспериментальных и теоретических данных в области получения иммобилизованных ферментных препаратов и их применения в медицине, биомедицине и биотехнологии; анализе разработанных ранее и применяемых в настоящее время методологий получения ферментных препаратов такого типа;
- результаты получены на сертифицированном оборудовании, обоснованы калибровки, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;
- идея базируется на обобщении и анализе передового опыта в области создания ферментных препаратов, предназначенных для применения в медицине и промышленности;
- качественное и количественное совпадение авторских результатов с данными, представленными в независимых источниках по данной тематике – в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным;
- выводы диссертации обоснованы и согласуются с современными представлениями о закономерностях ферментативного катализа.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственной постановке целей и задач исследований, планировании, подготовке и проведении всех экспериментов; обработке, анализе, интерпретации и обобщении полученных результатов; формулировании научных положений и выводов; личном участии в апробации результатов исследования на международных симпозиумах и конгрессах; оформлении публикаций.

Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что диссертация представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, в которой изложены новые научно обоснованные технологические разработки, направленные на создания иммобилизованных ферментных препаратов технического и фармацевтического назначения, обладающих высокой стабильностью. По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в части п.3 «...создания эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения».

По актуальности, новизне, практической значимости диссертация соответствует требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

На заседании «31» января 2018 года, протокол № 1, диссертационный совет принял решение присудить Приворотской Елизавете Александровне ученую степень кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 6 докторов наук по специальности и отрасли наук рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – 14, против присуждения учёной степени – 2, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета

В.И. Панфилов

Ученый секретарь диссертационного совета

И.В. Шакир

