

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

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

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета

от «30» марта 2021 года, протокол №6

О присуждении Кузнецову Александру Евгеньевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени доктора технических наук.

Диссертация «Высокоэффективные экологически чистые совмещенные системы микробиологического синтеза и очистки сточных вод с оксидативным стрессовым воздействием» в виде рукописи по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), технические науки, принята к защите «22» декабря 2020 года, протокол №19, диссертационным советом Д 999.095.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственной технической университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения науки «Институт 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 Кузнецов Александр Евгеньевич, «18» апреля 1958 года рождения, гражданин Российской Федерации, в 1981 году окончил Московский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата технических наук на тему «Регулирующее воздействие экзогенных метаболитов и ритмов естественного происхождения на рост и продуктивность промышленных микроорганизмов» защитил в 1988 году в диссертационном совете Д 098.07.01, созданном на базе Всесоюзного научно-исследовательского проектно-конструкторского института прикладной биохимии.

Работает в должности доцента кафедры биотехнологии Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

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

Научный консультант – отсутствует.

Официальные оппоненты:

Александр Иванович Петрусов, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного

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

Александр Семенович Сироткин, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой промышленной биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», Казань;

Дмитрий Станиславович Дворецкий, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой технологии и оборудования пищевых и химических производств Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тамбовский государственный технический университет», Тамбов,

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург, в своем *положительном* заключении, подписанном доктором биологических наук, доцентом, заведующим кафедрой молекулярной биотехнологии Виноходовым Дмитрием Олеговичем, указала, что диссертационная работа Кузнецова Александра Евгеньевича является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области культивирования микроорганизмов, а также изложены новые научно обоснованные, инновационные технические, технологические и экологически эффективные решения по совершенствованию методов микробиологического синтеза целевых продуктов и биологической очистки сточных вод, прикладного применения найденных решений в промышленной и экологической биотехнологии, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции от 01.10.2018), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Кузнецов Александр Евгеньевич заслуживает присуждения ученой степени доктора технических наук по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) (отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры молекулярной биотехнологии «4» марта 2021 года, протокол № 7).

Соискатель имеет 180 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 114 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 34 работы. Общий объем составляет 708 страниц. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Работы опубликованы с соавторами, личный вклад соискателя составляет 80-90% и состоит в разработке научного обоснования и концепции исследований, постановке задач, выполнении экспериментальных исследований, анализе, обобщении и интерпретации полученных результатов, кроме того соискателем опубликовано 67 работ в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов, получено 9 патентов, издано 4 учебных пособия. Депонированных рукописей не имеет.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Kalenov S.V., Baurina M.M., Skladnev D.A., **Kuznetsov A.Y.** High-effective cultivation of *Halobacterium salinarum* providing with bacteriorhodopsin production under controlled stress // J. of Biotechnology – 2016. Article online, DOI 10.1016/j.jbiotec.2016.07.014 (Web of Science, Scopus)

2. **Kuznetsov A.**, Beloded A., Derunets A., Grosheva V., Vakar L., Kozlovskiy R., Shvets V. Biosynthesis of lactic acid in a membrane bioreactor for cleaner technology of polylactide production // Clean Techn. Environ. Policy – 2017. – V. 19. – N 3. – P. 869–882, DOI 10.1007/s10098-016-1275-z (Web of Science, Scopus)

3. Kozlovskiy R., Shvets V., **Kuznetsov A.** Technological aspects of the production of biodegradable polymers and other chemicals from renewable sources using lactic acid / Journal of Cleaner Technology – 2017. – V. 155. – P. 157-153, DOI 10.1016/j.jclepro.2016.08.092 (Web of Science, Scopus)

На диссертацию и автореферат поступило 13 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.

Отзывы поступили от: **Цугкнева Бориса Георгиевича**, доктора сельскохозяйственных наук, директора Научно-исследовательского института биотехнологии, заведующего кафедрой биологической и химической технологий и **Гагиевой Ларисы Черменовны**, доктора биологических наук, доцента той же кафедры Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет»; **Храмцова Андрея Георгиевича**, академика РАН, доктора технических наук, профессора-консультанта кафедры прикладной биотехнологии и **Лодыгина Алексея Дмитриевича**, заведующего кафедрой прикладной биотехнологии, доцента Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет»; **Мезеновой Ольги Яковлевны**, доктора технических наук, профессора, заведующей кафедрой пищевой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Калининградский государственный технический университет»; **Худокормова Александра Александровича**, кандидата биологических наук, заведующего кафедрой генетики, микробиологии и биохимии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет»; **Рощиной Викторией Владимировны**, доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника Института биофизики РАН Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»; **Ларионовой Ольги Сергеевны**, доктора биологических наук, доцента кафедры микробиологии, биотехнологии и химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»; **Лазурной Людмилы Петровны**, доктора биологических наук, профессора, заведующей кафедрой биологической и химической технологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; **Рабинович Галины Юрьевны**, доктора биологических наук, профессора, директора Всероссийского научно-исследовательского института мелиорированных земель – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального исследовательского центра «Почвенный институт имени В.В. Докучаева (ВНИИМЗ)»; **Понаморевой Ольги Николаевны**,

доктора химических наук, доцента, заведующей кафедрой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет»; **Жаркова Дмитрия Олеговича**, члена-корреспондента РАН, доктора биологических наук, заведующего лабораторией геномной и белковой инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)»; **Старицына Николая Андреевича**, доктора медицинских наук, начальника лаборатории космической биотехнологии Открытого акционерного общества «Биохиммаш»; **Колодязной Веры Анатольевны**, заведующей кафедрой биотехнологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; **Корнеевой Ольги Сергеевны**, доктора биологических наук, профессора, проректора по научной и инновационной деятельности Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий».

В отзывах содержатся следующие **замечания**: в связи с большим объемом представленных данных и разнообразием представленных результатов их восприятие в автореферате было бы облегчено дополнительным структурированием его частей, соответствующих главам 5 и 6 диссертационной работы. При описании содержательной части главы 2 диссертации было бы целесообразно привести структурную схему проведения исследований. Также в свете важности упомянутой выше концепции контролируемого стресса казалось бы полезным суммировать полученные данные в отдельном разделе или таблице и кратко обсудить возможную общую модель, каким образом реакции микроорганизмов на умеренный уровень генотоксичного стресса и видимый свет могут приводить к интенсификации метаболизма. Гипотеза о фотореактивации клеток дрожжей за счет действия фотолиазы представляется не вполне обоснованной, поскольку УФА, использованный в работе, практически не вызывает образования в ДНК циклобутановых пиримидиновых димеров – основных субстратов фотолиазы. Автор при обсуждении результатов экспериментов не сравнил по продуктивности молочной кислоты штамм В-4079 с остальными штаммами и не указал их. Кроме того, непонятно, как подтверждено экспериментально у адаптированной на свету к пероксиду водорода культуры молочнокислых бактерий накопление существенно больших количеств биомассы по сравнению с контролем, количества жизнеспособных клеток, более полное потребление компонентов питания и снижение количества образовавшихся побочных продуктов жизнедеятельности, увеличение выхода молочной кислоты, и за счет каких физиологических процессов. Неясно, есть ли экспериментальное подтверждение объяснению стимулирующего действия видимого света на дыхательный процесс дрожжей в присутствии УФ-облучения действием фоторепарации с фотолиазой в качестве ключевого фермента, протекающей в дрожжевых клетках как один из механизмов противодействия стрессу и какими кривыми роста это проиллюстрировано. При оценке степени очистки сточных вод отсутствуют показатели БПК. Недостаточно учитываются все факторы ценообразования, а именно, с одной стороны затраты на технологии, и с другой – на маркетинговые условия реализации на мировом рынке биопродукции, особенно в отношении сделанного автором прогноза снижения себестоимости бактериородопсина в 1700 раз. Необходимость изложения большого объема полученных автором результатов на ограниченном пространстве автореферата, мелкий

шрифт текста, отсутствие списка сокращений привели к тому, что информацию сложно воспринимать. Автору следовало бы еще больше обобщить результаты и использовать для этого больше схем и таблиц.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что они являются признанными специалистами в данной области биотехнологии, что подтверждается наличием соответствующих публикаций в ведущих научных рецензируемых журналах и изданиях.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- показаны новые возможности совершенствования методов биосинтеза и биологической очистки с учетом современных приоритетов в развитии экологически чистого производства;
- впервые показано, что контролирование и использование факторов оксидативного стресса (сублетальные дозы H_2O_2 , мягкий ультрафиолет, продукты перекисного окисления компонентов питательных сред) и антистрессорных, протекторных факторов (видимый свет низкой интенсивности, адсорбенты, поглощающие продукты окисления – ингибиторы биосинтеза, образующиеся в ходе ферментационного процесса в результате химических и/или фотохимических реакций из компонентов питательных сред) в определенных условиях улучшает ростовые и биосинтетические характеристики микроорганизмов, снижает остаточные концентрации субстратов, а в процессах биологической переработки отходов и очистки сточных вод повышает качество очистки, физиологическую и биохимическую активность микроорганизмов в составе активных илов, биопленок и гранул, седиментационные свойства активного ила;
- показано, что комбинированное действие активных форм кислорода и видимого света может выступать в качестве инструмента для управления ростом гетеротрофных микроорганизмов, находящихся в состоянии стресса, изначально не чувствительных в обычных условиях (без воздействия АФК) к освещению;
- обоснована необходимость поддержания состояния оптимального оксидативного стресса в высокоплотных популяциях микроорганизмов, микробиологических системах культивирования, биореакторах нового поколения.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- научно обоснованы и системно рассмотрены методы управляемого культивирования микроорганизмов с совмещением микробиологических и абиотических процессов и показана их перспективность для разработки новых биотехнологий;
- научно обоснованы микробиологические системы культивирования нового поколения с подавлением неблагоприятного воздействия продуктов фотохимических и химических реакций, образующихся в ходе культивирования, на клетки микроорганизмов или, напротив, индуцированием у микроорганизмов систем ответа на оксидативный стресс;
- сформулировано положение о необходимости учета эколого-физиологической роли совместного воздействия стрессорных (в частности, H_2O_2) и антистрессорных факторов в регулировании жизнедеятельности и жизнеспособности микробных клеток в процессах микробиологического синтеза и биологической очистки.

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

- разработана экологически чистая технология биосинтеза молочной кислоты в мембранном высокопродуктивном биореакторе при отъемно-доливном режиме для получения биодegradуемого пластика – полилактида;
- разработаны новые способы совершенствования традиционных систем микробиологического синтеза, переработки отходов и очистки сточных вод на основе подхода «контролируемый оксидативный стресс» (регулируемое оксидативное воздействие, РОВ-технология) применительно к проведению процессов в периодических и непрерывных режимах, в мембранных биореакторах, при высокоплотном культивировании с подпиткой субстратом, при культивировании с подавлением абиотических реакций, сопровождающих ферментационный процесс, в частности, с использованием адсорбционной культуры.
- полученные в лабораторных исследованиях результаты, положительные эффекты с использованием регулируемого оксидативного воздействия (РОВ-технологии) и работоспособность предложенных вариантов очистки подтверждены опытно-промышленными испытаниями на поселковых и городских очистных сооружениях в Московской области.

Результаты работы могут быть рекомендованы для изучения и внедрения в научных и образовательных организациях, а также на биотехнологических предприятиях по получению кормового белка, биотоплива, органических кислот, биологически активных добавок на основе микроорганизмов, а также на сооружениях биологической очистки сточных вод различного происхождения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- достоверность полученных результатов, подтвержденная воспроизводимостью эффектов при их сравнении применительно к различным объектам исследований;
- теория построена на известных проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными, аналитическими обзорами по теме диссертации;
- обобщения и выводы диссертации обоснованы и не вызывают сомнения и соответствуют современным представлениям в области управляемого культивирования микроорганизмов, ведения ферментационных процессов, микробиологического синтеза и биологической очистки сточных вод.

Личный вклад соискателя состоит в его непосредственном участии на всех этапах разработок, поиска и анализа научной и научно-технической литературы, постановки основных задач исследования, проведении экспериментов, получении, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовки основных публикаций.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, в которой представлены новые научно обоснованные инновационные технические, технологические и экологически эффективные разработки и решения по совершенствованию методов управляемого культивирования микроорганизмов, микробиологического синтеза целевых продуктов и биологической очистки сточных вод, прикладного применения найденных решений в промышленной и экологической биотехнологии, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие страны. По своему содержанию диссертация отвечает пунктам 3 и 7 паспорта специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

По актуальности темы, новизне, полученным результатам и их 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 доктора наук.

На заседании «30» марта 2021 года, протокол № 6 (в удаленном режиме) диссертационный совет принял решение присудить Кузнецову Александру Евгеньевичу ученую степень доктора технических наук по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 20 человек (дистанционно участвовали 8 человек), из них 7 докторов наук по научной специальности и отрасли наук рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 20, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета

В.И. Панфилов

Ученый секретарь диссертационного совета

И.В. Шакир

Дан
30.03.2021

