

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 кандидата наук.

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета
от «19» июня 2019 года, протокол № 21

О присуждении Голиковой Екатерине Павловне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Синтез стабильных биокатализаторов на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной на неорганические носители» в виде рукописи по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), химические науки, принята к защите «17» апреля 2019 года, протокол № 15, 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 государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного 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 Голикова Екатерина Павловна, «19» июня 1987 года рождения, гражданка Российской Федерации, в 2009 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тверской государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре Тверского государственного технического университета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в 2019 году.

Работает в должности старшего преподавателя кафедры безопасности жизнедеятельности Тверского государственного университета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре биотехнологии и химии в Тверском государственном техническом университете Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель: Матвеева Валентина Геннадьевна, гражданка Российской Федерации, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры биотехнологии и химии Тверского государственного технического университета.

Официальные оппоненты:

Понаморева Ольга Николаевна, гражданка Российской Федерации, доктор химических наук, доцент, заведующая кафедрой биотехнологии Федерального

государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет», Тула;

Гамаюрова Валентина Семеновна, гражданка Российской Федерации, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры пищевой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», Казань; дали **положительные** отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет», Иваново, в своем **положительном** заключении, подписанном доктором химических наук, профессором, заведующим кафедрой технологии пищевых продуктов и биотехнологии Макаровым Сергеем Васильевичем, указал, что диссертационная работа Голиковой Екатерины Павловны является завершенной научно-квалификационной работой, и по актуальности вопроса, новизне полученных данных, высокой практической значимости, объему исследований и современному методическому уровню полностью соответствует пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (в редакции 01.10.2018), а соискатель Голикова Екатерина Павловна достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06. – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) (отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры технологии пищевых продуктов и биотехнологии «15» мая 2019 года, протокол № 10).

Соискатель имеет 17 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 17 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 6 работ.

Общий объем составляет 87 страниц. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Scopus, Web of Science). Работы опубликованы с соавторами. Личный вклад соискателя составляет 83% и состоит в разработке концепции исследования, постановке задач, выполнении экспериментальных исследований и интерпретации полученных результатов. Соискателем опубликовано 11 работ в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов; патентов, монографий и депонированных рукописей не имеет.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Golikova E.P.**, Lakina N.V., Grebennikova O.V., Matveeva V.G., Sulman E.M. A study of biocatalysts based on Glucose Oxidase // Faraday Discussions (2017). Vol. 202, pp. 303-314(WoS).
2. Jaquish R., Reilly A.K., Lawson B.P., **Golikova E.P.**, Sulman A.M., Stein B.D., Lakina N.V., Tkachenko O.P., Sulman E.M., Matveeva V.G., Bronstein L.M. Immobilized glucose oxidase on magnetic silica and alumina: Beyond magnetic separation // International Journal of Biological Macromolecules (2018). Vol. 120, pp. 896-905(WoS).
3. Lawson B.P., **Golikova E.P.**, Sulman A.M., Stein B.D., Morgan D.G., Lakina N.V., Karpenkov A.Yu., Sulman E.M., Matveeva V.G., Bronstein L.M. Insights into Sustainable Glucose Oxidation Using Magnetically Recoverable Biocatalysts // ACS Sustainable Chem. Eng. (2018). Vol. 6, pp. 9845-9853(WoS).

На диссертацию и автореферат поступило 8 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 прислали:

1. **Кадималиев Давуд Али-оглы**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биотехнологии, биоинженерии и биохимии Федерального государственного

бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва»; **Борисенко Евгений Георгиевич**, доктор технических наук, профессор, профессор кафедры биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет пищевых производств»; **Лыков Игорь Николаевич**, кандидат медицинских наук, доктор биологических наук, профессор, научный руководитель института естествознания Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Калужский государственный университет имени К.Э. Циолковского»; **Шифрина Зинаида Борисовна** доктор химических наук, доцент, заведующая лабораторией макромолекулярной химии, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений имени А. Н. Несмеянова Российской академии наук; **Ущатовский Игорь Валентинович** кандидат биологических наук, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур» и **Миневич Ирина Эдуардовна** кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории переработки лубяных культур того же учреждения; **Цугкиев Борис Георгиевич** доктор сельскохозяйственных наук, профессор, директор научно-исследовательского института биотехнологии, заведующий кафедрой биологической и химической технологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет» и **Кабисов Руслан Гельбертович** доктор биологических наук, доцент кафедры биотехнологии того же института; **Ткаченко Ольга Петровна** кандидат химических наук, старший научный сотрудник из Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии имени Н.Д. Зелинского Российской академии наук; **Корнеева Ольга Сергеевна** доктор биологических наук, профессор, проректор по научной и инновационной деятельности, заведующая кафедрой биохимии и биотехнологии, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий».

В качестве замечаний в отзыве указано, что, к сожалению, в автореферате не отражено, почему автором для моделирования реакции окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты выбрано именно уравнение Михаэлиса-Ментен. Кроме того, не очень понятно каким образом были определены параметры указанного уравнения (в частности максимальная скорость реакции), поскольку из данных представленных на рисунке 6 можно сделать вывод, что предел повышения конверсии для иммобилизованных ферментов наступает только при концентрации субстрата в районе 0,5 моль/л, в то время как для оценки кинетических параметров использовалась концентрация не выше 0,38 моль/л.

В отзывах содержатся следующие замечания: большое внимание в автореферате уделено результатам электронной микроскопии, форме и размерам наночастиц. Но было бы логичнее показать, как форма и размер наночастиц влияют на процессы иммобилизации фермента и его активность. Хотя в выводах (п.6 и п.11) некоторые объяснения присутствуют. В автореферате нет сведений о механизме повышения эффективности иммобилизованных ферментов на различных носителях; в автореферате проводятся данные подтверждающие резкое повышение температурной стабильности (вплоть до 60°C для Fe₃O₄(4)/GOx). Возможно ли использовать обнаруженное свойство для повышения эффективности исследуемой реакции окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты и ожидать повышение скорости исследуемого процесса? Имеются ли сведения о результатах исследования процесса при температуре выше 40°C; автором декларируется

возможность синтезированных биокатализаторов на магнитных носителях легко отделяться от реакционной среды в магнитном поле без применения сложной системы фильтров. Проводились ли автором экспериментальные исследования в подтверждение данного тезиса; обладают ли частицы магнетита собственным каталитическим действием в окислении D-глюкозы наряду с глюкозооксидазой? Имеет ли место вымывание модифицирующих/сшивающих агентов при многократном использовании катализатора? Какова устойчивость полученных биокатализаторов к агрегации при длительном хранении/использовании?; суперпарамагнитные свойства наночастиц магнетита следовало подтвердить более основательно. В частности, определить значение температуры блокировки магнетитов, полученных различными способами. Учитывая достаточно большой размер (100 и более нанометров) частиц и их агрегатов можно сказать, что они сохраняют одномерный характер, присущий суперпарамагнетикам? Разную активность биокатализаторов на основе магнитных наночастиц магнетита, полученных различными методами, автор очевидным образом связывает с размером Fe_3O_4 . Чем обусловлен тот факт, что при уменьшении или увеличении размера частиц относительно значения 285 ± 71 нм активность катализатора снижается? В тексте автореферата имеется некоторое количество опечаток и не вполне понятных формулировок.

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:

- подобраны условия синтеза магнитоотделяемых носителей и осуществлен синтез иммобилизованных биокатализаторов;
- проведен выбор модифицирующих и сшивающих агентов для синтеза биокатализаторов как на основе магнитных наночастицах, так и на частицах Al_2O_3 , SiO_2 ;
- ;
- определены структурные, поверхностные, магнитные и другие физико-химические характеристики синтезированных биокатализаторов;
- проведен экспериментальный скрининг активности и стабильности полученных биокатализаторов в окислении D-глюкозы;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- предложены теоретически обоснованные методы синтеза биокатализаторов на основе иммобилизованной глюкозооксидазы;
- научно обоснованы корреляции структуры синтезированных биокатализаторов в реакции окисления D-глюкозы;
- рассчитаны кинетические параметры процесса окисления D-глюкозы в присутствии биокатализаторов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что биокатализаторы на основе глюкозооксидазы, иммобилизованные на неорганические (в том числе магнитоотделяемые) носители, показали высокую активность и стабильность в процессе окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты, которая зарегистрирована в качестве пищевой добавки E574 как разрыхлитель и регулятор кислотности пищевых продуктов. Сформулированные в работе подходы к синтезу магнитоотделяемых биокатализаторов (важное преимущество которых – магнитное осаждение из реакционного раствора, что позволяет исключить стадии очистки продукта

от катализатора в производственных процессах) могут быть использованы при создании других промышленно значимых биокатализаторов.

Результаты работы могут быть использованы в организациях, работающих в области биотехнологии, например, таких как Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Институт катализа имени Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук», Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный технический университет» и других научных и образовательных организациях.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;
- теория построена на известных проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- достоверность полученных результатов обеспечена использованием методик эксперимента, соответствующих современному научному уровню, и подтверждена их согласованностью;
- выводы диссертации обоснованы и не вызывают сомнения и согласуются с современными представлениями о проведении синтеза стабильных гетерогенных биокатализаторов (в том числе магнитоотделяемых) на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной на неорганические носители.

Личный вклад соискателя состоит во включенном участии на всех этапах процесса: поиске и анализе научной и научно-технической литературы, постановке основных задач исследования, проведении всех экспериментов и получении исходных данных, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что диссертация представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, в которой представлены новые научно-обоснованные технологические разработки синтеза стабильных гетерогенных биокатализаторов (в том числе магнитоотделяемых) на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной на неорганические носителях, имеющие важное биотехнологическое значение в пищевой и фармацевтической промышленности. По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в части п. 4 (Изучение и разработка процессов и аппаратов микробиологического синтеза, включая физико-химическую кинетику, гидродинамику, массо- и теплообмены в аппаратах для ферментации, сгущение биомассы, разделения клеточных суспензий, сушки, грануляции, экстракции, выделения, фракционирования, очистки, контроля и хранения конечных целевых продуктов. Разработка теории моделирования, оптимизации и масштабирования процессов и аппаратов микробиологического синтеза).

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 «19» июня 2019 года, протокол № 21, диссертационный совет принял решение присудить Голиковой Екатерине Павловне ученую степень кандидата химических наук по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 5 докторов наук по научной специальности и отрасли наук рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – 17, против присуждения учёной степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель заседания диссертационного совета

В.И. Панфилов

Ученый секретарь диссертационного совета

И. В. Шакир

