

"УТВЕРЖДАЮ"

Ректор ФГБОУ ВО "ИГХТУ",

д.ф.м.н., профессор



М.Ф. Бутман

16" 05 2019 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Ивановский государственный химико-технологический университет»
на диссертацию Голиковой Екатерины Павловны
"Синтез стабильных биокатализаторов на основе глюкозооксидазы,
иммобилизованной на неорганические носители",
представленную на соискание ученой степени
кандидата химических наук по специальности
03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы диссертационной работы Голиковой Е.П. обусловлена тем, что высокая каталитическая активность в «мягких» условиях, уникальная специфичность и стереоспецифичность ферментов позволяют создавать на их основе эффективные и перспективные технологические процессы. Это касается и иммобилизованных ферментов, которые в настоящее время широко используются в синтезе различных лекарственных препаратов без образования токсичных побочных продуктов. Иммобилизация ферментов с использованием различных модифицирующих и сшивающих агентов на различных неорганических носителях, в том числе магнитных наночастицах, позволяет синтезировать активные и стабильные катализаторы, которые с успехом могут использоваться в целом ряде процессов тонкого органического синтеза.

В рамках диссертационного исследования Голиковой Е.П. выполнено теоретическое обоснование и проведен синтез стабильных гетерогенных биокатализаторов (в том числе магнитоотделяемых) на основе

глюкозооксидазы, иммобилизованной на неорганические носители, а также осуществлена экспериментальная оценка их структурной и каталитической активности. В работе была подробно изучена иммобилизация глюкозооксидазы за счет ковалентного связывания на модифицированной поверхности наночастиц магнетита, полученных полиольным методом и методом соосаждения, подобраны оптимальные условия для иммобилизации глюкозооксидазы на магнитоотделяемые носители, проведено сравнение структуры биокатализаторов, синтезированных путем иммобилизации глюкозооксидазы на неорганические носители разной природы, изучены физико-химические характеристики синтезированных биокатализаторов и проведено тестирование их свойств в процессе окисления D-глюкозы, выявлены корреляции структуры синтезированных биокатализаторов и их эффективности в реакции окисления D-глюкозы, а также подобраны оптимальные условия для проведения процесса окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты в присутствии синтезированных биокатализаторов.

Практическая ценность работы не вызывает сомнений. Биокатализаторы на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной на неорганические, в том числе магнитоотделяемые, носители проявили высокую активность и стабильность в процессе окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты, являющейся пищевой добавкой E574. Сформулированные в работе общие подходы к синтезу магнитоотделяемых биокатализаторов могут быть использованы при создании других промышленных биокатализаторов.

Первая глава диссертации представляет собой обзор литературы, в котором описываются способы окисления D-глюкозы, дана характеристика глюкозооксидазы, анализируются методы иммобилизации глюкозооксидазы, обсуждаются методы синтеза магнитных наночастиц, а также применение глюконовой кислоты.

Вторая глава посвящена описанию методов проведения экспериментов и анализов. Важно отметить, что в работе были использованы современные физико-химические методы анализа биокатализаторов (измерение магнитных

характеристик с помощью вибрационного магнитометра, инфракрасная спектроскопия, низкотемпературная адсорбция азота, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, просвечивающая электронная микроскопия, сканирующая электронная микроскопия).

В третьей главе описаны и проанализированы результаты проведенных экспериментов. Обсуждаются данные физико-химического исследования носителей и биокатализаторов на основе Fe_3O_4 , проведен анализ кривых намагничивания этих систем. Подробно изложены результаты исследования биокатализаторов, носителей и субстратов с использованием различных методов. Выявлены оптимальные условия для проведения процесса окисления D-глюкозы. Важными являются данные о корреляции каталитической активности и физико-химических характеристик синтезированных биокатализаторов.

Замечания по работе Голиковой Е.П. касаются прежде всего изложения материала, особенно кинетической части:

- 1) Данные таблицы 3.17 не соответствуют тексту на с. 138: в таблице скорость дана в $\mu\text{M}/\text{мин}$, а в тексте – в $\text{mM}/\text{мин}$ (и в автореферате так же). То же касается отношения V_{max}/K_m .
- 2) Как автор объясняет сравнительно большую величину константы Михаэлиса для глюкозооксидазы? Так, в кандидатской диссертации Ю.Н. Фирсовой, М., 1999 указано, что по глюкозе для нативной глюкозооксидазы константа Михаэлиса равна приблизительно 20 mM , а в настоящей работе – около 95 mM .
- 3) В таблице 3.17 не приведены ошибки в определении кинетических параметров. Насколько правомерно указывать величины K_m с точностью до сотых? В методической части не указано, как определяли ошибки при анализе кинетических данных.
- 4) Излишне подробно изложен материал, связанный с уравнением Михаэлиса-Ментен (с. 60-61), вместо этого надо было подробно привести анализ кинетических кривых.

- 5) Непонятна подпись к схеме на с. 15, очевидно, пропущено слово. Явно недостаточна подпись к рис. 3.46, надо было привести условия.
- 6) В работе поставлено слишком много задач и, соответственно, слишком велико число выводов. В частности, это касается вывода 2 – не надо подробно описывать условия, все это приведено в тексте.
- 7) В работе встречаются опечатки и стилевые неточности (с. 27 – фланин, с. 27 гидрооксид и др.). Неудачно изложен материал на с. 86 – группа СО названа карбоксильной, непонятно предложение: “валентные колебания карбоксильной группы...наблюдаются в области...уменьшаются”. Явно ошибочным является и последнее предложение на этой странице.

Следует отметить, однако, что сделанные замечания касаются формы изложения материала и не влияют на общую высокую оценку работы.

Автореферат и публикации в полном объеме отражают основное содержание диссертации. Материал диссертации прошел широкую апробацию на ряде представительных научных конференций.

Диссертация Голиковой Е.П. является завершённой научно-квалификационной работой, содержащей результаты, полученные на основании исследований, проведенных на высоком научном и техническом уровне с применением современных методов исследования. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные автором, теоретически обоснованы и не вызывают сомнений.

Полученные в диссертации данные могут быть использованы в организациях, работающих в области биотехнологии: ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Химическом факультете МГУ, Институте биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Институте катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Самарском государственном техническом университете, Новосибирском государственном университете, Российском химико-технологическом университете им. Д.И. Менделеева и других научных и образовательных организациях.

По тематике, предмету и методам исследования диссертационная работа Голиковой Е.П. соответствует паспорту специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) по области исследования п. 7 “Разработка новых технологических процессов на основе ... биокатализа...”.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. «О порядке присуждения ученых степеней», а Голикова Е.П. заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук.

Отзыв подготовил д.х.н., проф.

С. В. Макаров

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры технологии пищевых продуктов и биотехнологии ФГБОУ ВО “Ивановский государственный химико-технологический университет” “15” мая 2019 г., протокол № 10.

Зав. кафедрой технологии пищевых продуктов и биотехнологии ФГБОУ ВО “Ивановский государственный химико-технологический университет”

д.х.н., профессор

Сергей Васильевич Макаров

153000 Иваново, ИГХТУ, Шереметевский проспект, 7

E-mail: makarov@isuct.ru

Тел. +74932327357

Подпись С.В. Макарова удостоверяю

Ученый секретарь ИГХТУ



А.А. Хомякова