

"УТВЕРЖДАЮ"

Ректор ФГБОУ ВО "ИГХТУ",  
д.ф.-м.н., профессор



М.Ф. Бутман

\_\_\_\_\_ 2021 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования

"Ивановский государственный химико-технологический университет"

на диссертацию Сульман Александрины Михайловны

"ГЕТЕРОГЕННЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ ГЛЮКОЗООКСИДАЗЫ,  
ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА МАГНИТООТДЕЛЯЕМЫЕ МЕЗОПОРИСТЫЕ ОКСИДЫ",

представленную на соискание ученой степени

кандидата химических наук по специальности

03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Известно, что ферменты, обладающие высокой каталитической активностью и специфичностью, в том числе стереоспецифичностью, используются во многих современных химико-технологических процессах. Одним из самых важных промышленных иммобилизованных ферментов является глюкозооксидаза. Свойства иммобилизованных ферментов, включая глюкозооксидазу, в значительной степени определяются физико-химическими свойствами носителей, используемых для иммобилизации ферментов. В связи с этим диссертация А.М. Сульман, в которой выполнено теоретическое обоснование и проведен синтез магнитоотделяемых мезопористых оксидов для иммобилизации глюкозооксидазы с последующей экспериментальной оценкой влияния природы носителя на активность фермента, является актуальной. В работе подробно изучены методы иммобилизации глюкозооксидазы на неорганические носители; подобраны условия синтеза мезопористого оксида циркония и условия in-situ кристаллизации наночастиц  $Fe_3O_4$  в мезопорах оксидов кремния, алюминия и циркония; выбраны оптимальные условия введения модифицирующих и сшивающих агентов для иммобилизации глюкозооксидазы; синтезированы биокатализаторы путем иммобилизации глюкозооксидазы на исходные и магнитоотделяемые оксиды; определены физико-химические характеристики

синтезированных носителей и биокатализаторов; изучены зависимости активности полученных биокатализаторов от температуры, pH и количества субстрата; проведен экспериментальный скрининг активности и стабильности синтезированных биокатализаторов в окислении D-глюкозы до D-глюконовой кислоты; рассчитаны кинетические параметры процесса ферментативного окисления D-глюкозы; выявлено влияние структуры синтезированных биокатализаторов на их активность в реакции окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты.

Практическая ценность работы не вызывает сомнений. Биокатализаторы на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной на неорганические (в том числе, магнитоотделяемые) носители, проявляют высокую активность и стабильность в процессе окисления D-глюкозы до D-глюконовой кислоты. Сформулированные в работе общие подходы к синтезу высокоактивных биокатализаторов могут быть использованы при создании других промышленных биокатализаторов, а также биосенсоров глюкозы на основе глюкозооксидазы с улучшенной прочностью, чувствительностью, расширенными диапазонами и пределами обнаружения.

Личный вклад автора подробно описан в автореферате и введении.

Диссертационная работа Сульман А.М. логично построена, четко изложена, основные научные положения и выводы хорошо аргументированы.

Первая глава является обзором литературы, в котором описывается использование ферментов в различных процессах, обсуждаются методы иммобилизации ферментов методом многоточечного ковалентного связывания, рассматриваются свойства различных носителей и вспомогательных материалов для иммобилизации ферментов, приводятся имеющиеся данные о магнитоотделяемых биокатализаторах, методах синтеза магнитоотделяемых оксидов кремния, алюминия и циркония. В заключительных разделах этой главы содержится информация о строении, механизме действия и применении глюкозооксидазы, а также о процессе окисления глюкозы.

Во второй главе описаны современные экспериментальные методы, использованные в диссертации (измерение магнитных характеристик с помощью вибрационного магнитометра, инфракрасная спектроскопия, низкотемпературная адсорбция азота, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, просвечивающая электронная микроскопия, рентгеновская дифракция, сканирующая энергодисперсионная спектроскопия).

Третья глава работы является основной, в ней описаны и проанализированы результаты проведенных экспериментов. В этой главе обсуждаются результаты физико-химического исследования магнитоотделяемых мезопористых оксидов кремния, алюминия, циркония и биокатализаторов на их основе. Подробно изложены все результаты



исследования биокатализаторов, носителей и субстратов различными методами. В разделах 3.1.5 и 3.2.5 приведены данные по исследованию каталитических свойств магнитоотделяемых биокатализаторов на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной на оксидах кремния, алюминия и циркония в окислении D-глюкозы. Очень важными с теоретической точки зрения являются данные, приведенные на стр. 78-80 и 99-101, в которых содержится информация о кинетических параметрах и корреляции каталитической активности и физико-химических характеристик синтезированных биокатализаторов.

По диссертационной работе А.М. Сульман имеются следующие вопросы и замечания:

- 1) На стр. 38 в пункте «1.7 Глюкозооксидаза: строение, механизм действия и применение» хотелось бы видеть более детальное обсуждение строения глюкооксидазы с позиции теоретического обоснования количества поверхностно активных групп в зависимости от количества и структуры аминокислот, участвующих в структуре глюкооксидазы, и возможных значений дзета потенциала. Это позволило бы более четко провести теоретическое обоснование разрабатываемого метода иммобилизации.
- 2) В литературном обзоре не рассмотрены вопросы иммобилизации ферментов на полимерные мембраны. Возможность иммобилизации ферментов в полимерные мембраны и их использование в биомембранных реакторах может иметь некоторые преимущества, в том числе перед магнитоотделяемыми ферментными катализаторами, так как стадия отделения катализатора в этом случае полностью отсутствует.
- 3) На стр. 51 приведена методика модификации носителя линкером - 3-аминопропилтриэтоксисиланом, который содержит только три углеродных атома и является достаточно коротким. Возникает вопрос - чем обусловлен выбор линкера, возможно, применение более длинных линкеров могло бы способствовать лучшей стабилизации фермента?
- 4) На стр. 54, рисунок 2.6 приведена схема окисления D-глюкозы, учитывающая образование D-глюконолактона, определение которого в работе не производилось, в связи с чем встает вопрос о необходимости его включения в схему.
- 5) На рисунке 3.5 стр. 70 представлен РФЭ спектр с неразмеченными значениями вершин пиков.
- 6) На стр. 100, табл. 3.13 приводятся расчётные данные по константе Михаэлиса-Ментен и максимальной скорости, которые необходимо сравнить с литературными данными для этого процесса.
- 7) В работе имеются неудачные выражения и опечатки – во введении “для получения глюконовой кислоты, которая сама и ее соли...”, с. 54 “реакцию проводили при варьировании температуры”, с.56 “влияние рН на активность свободного GO<sub>x</sub> и

биокатализаторов оценивали в двух буферах”, с. 62 “по данному методу измеряется кинетическая энергия электронов”, на с. 79 фамилии Лайнуивер и Берк написаны почему-то по-английски, на с. 51 в слове 3-аминопропилтриэтоксисилан пропущена буква э, на сс. 75 и 77 должно быть “изучение влияния”, а не влияние, на с. 73 в слове “введения” отсутствует буква я. Неудачно написано первое предложение в разделе “Научная новизна”.

Следует отметить, однако, что сделанные замечания касаются в основном 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 Сульман А.М. является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей результаты, полученные на основании исследований, проведенных на высоком научном 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 рекомендованы к использованию в ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Химическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова, ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ФИЦ «Институт катализа СО РАН», ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», ФГБОУ ВО «Ивановский химико-технологический университет» и других исследовательских и образовательных организациях.

По тематике, предмету и методам исследования диссертационная работа А.М. Сульман 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 А.М. Сульман 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” “12” февраля 2021 г., протокол № 9.

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](mailto:makarov@isuct.ru)

Тел. +74932327415