

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Стадольниковой Полины Юрьевны  
на тему «Разработка и исследование свойств нового биокатализатора на основе альгинатных микросфер и глюкозооксидазы» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология

Ферменты широко используются для различных промышленных применений в качестве биокатализаторов. Однако их низкая стабильность сильно ограничивает их применение. Многие промышленные процессы протекают в жестких условиях, таких как повышенные температуры и экстремальные значения pH, что значительно снижает активность ферментов и их каталитическую эффективность. Разрабатываются различные стратегии улучшения стабильности ферментов. Среди этих стратегий инкапсуляция на сегодняшний день является наиболее широко используемой техникой из-за ее относительно низкой стоимости. Альгинат, природный полисахарид, часто используется в качестве инкапсулирующего материала из-за его высокой биосовместимости, биоразлагаемости и безопасности. Альгинат способен образовывать ионотропные гели в присутствии двухвалентных катионов, таких как ионы кальция, что делает его хорошим кандидатом для иммобилизации ферментов, так как он способен формировать гидрогели в мягких условиях, удерживая влагу и стабилизируя нативную структуру белковых молекул. Согласно данным академической базы научных публикаций ScienceDirect издательства Elsevier интерес к применению нано- и микрокапсул альгината для иммобилизации ферментов, в целом, и глюкозооксидазы (GOx), в частности, значительно вырос за последние десятилетия (практически в 7 раз). Основное внимание исследователи уделяют инкапсулированию GOx и применению полученных ферментов в биосенсорике и медицине. Однако фермент GOx имеет значительный потенциал применения в пищевой промышленности при разработке новых технологий получения качественных продуктов и функционального питания. Таким образом, цель диссертационного исследования – разработка нового гетерогенного биокатализатора на основе глюкозооксидазы посредством иммобилизации фермента на поверхности альгинатных микросфер, полученных методом эмульгирования/внутреннего гелеобразования, изучение его физико-химических и каталитических характеристик, а также исследование возможности применения разработанного биокатализатора в хлебопекарной промышленности. – соответствует мировым тенденциям развития и является актуальной.

В соответствии с поставленной целью автор работы определил несколько направлений исследований, которые сформулировал в виде обобщающих задач: - теоретически обосновать выбор альгинатных микросфер в качестве эффективной матрицы для иммобилизации GOx; - экспериментально определить оптимальные условия синтеза альгинатных микросфер методом эмульгирования/внутреннего гелеобразования (ЭВГ); - экспериментально определить оптимальные состав и условия синтеза гетерогенного биокатализатора на основе GOx и микросфер альгината; - провести исследования по изучению морфологии синтезированных микросфер, определению эффективности иммобилизации, физико-химических и каталитических характеристик синтезированного биокатализатора; - изучить влияние температуры, pH и количества субстрата на активность полученного биокатализатора; - исследовать влияние синтезированного биокатализатора на свойства теста из пшеничной муки на основе результатов анализа качества клейковины и пробной выпечки; - изучить устойчивость гетерогенного биокатализатора при хранении.

На основании представленной в автореферате информации можно заключить, что проделана значительная работа и получены результаты, обладающие научной новизной и практической значимостью. Среди значимых результатов, обладающих научной новизной с

позиций химических наук в биотехнологии, следует отметить разработанный теоретически и экспериментально подход получения альгинатных микросфер, направленный на повышение эффективности процесса синтеза и отделения биополимерных микрошариков. Предложенная диссертантом методология заключается в создании эмульсии вода/подсолнечное масло в определенном соотношении (для наилучшего последующего отделения микросфер из гидрофобной фазы) в присутствии сурфактантов (Span 80 на стадии гелеобразования для повышения устойчивости полимерных капель эмульсии и уменьшения их диаметра и Tween 80 на стадии пост-сшивки хлоридом кальция и последующей промывки для наиболее полного отделения микрочастиц от гидрофобной фазы). Это позволяет синтезировать микрочастицы с гомологичной структурой биополимерной матрицы в большом количестве, что важно для дальнейшего масштабирования технологии. Важным аспектом исследования с точки зрения научной новизны и практической значимости является экспериментальное подтверждение увеличения стабильности белков (на примере GOx) после их ковалентной иммобилизации на поверхности альгинатных микрочастиц, а не только инкапсулированных молекул фермента, что открывает новые возможности получения стабильных ферментных биокатализаторов с минимальными диффузионными ограничениями для многократного применения. Впервые иммобилизованный фермент GOx использован для улучшения хлебопекарных свойств теста из пшеничной муки. Проведенные исследования являются основой для разработки новой технологической добавки на основе GOx, ковалентно иммобилизованной на поверхности частиц полимерного геля.

Научная новизна и практическая значимость работы подтверждены публикациями (8 публикаций, из них 3 – в изданиях, индексируемых международными базами данных ISI Web of Science и Scopus, 5 - в изданиях, рекомендованных ВАК), и докладами на профильных конференциях.

В работе использованы современные методы исследований, которые позволяют решить поставленные задачи. Согласно информации по статистической обработке данных полученные автором результаты достоверны.

По информации, изложенной в автореферате, имеются некоторые замечания и вопросы.

- Диссертанту следовало бы объяснить механизм формирования равномерного пула микрочастиц альгинатного гидрогеля в предложенных условиях (эмульсия вода/подсолнечное масло, два разных сурфактанта на разных стадиях формирования микрочастиц).
- В автореферате не описан механизм улучшения качества хлебобулочных изделий, поэтому сложно оценить роль глюкозооксидазы, альгинатных микросфер или их сочетания в этом процессе.
- Выводы слишком длинные и снова включают информацию о проделанной работе, полученных результатах, а не только конечный анализ выполненной работы.

Отмеченные выше замечания не влияют на общее хорошее впечатление от работы.

Диссертационная работа Стадольниковой П.Ю. является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных диссертантом комплексных исследований в области химии и биотехнологии содержится решение научной задачи по разработке стабильного биосовместимого и эффективного гетерогенного биокатализатора на основе альгинатных микросфер, полученных методом эмульгирования/внутреннего гелеобразования, и ковалентно связанного фермента глюкозооксидазы (важное преимущество которых – возможность легко отделить биокатализатор от реакционной среды, чтобы использовать его повторно, и повышенная

реакции.), имеющей значение для развития современных технологий получения продуктов питания улучшенного качества с использованием методов биотехнологии.

Диссертационная работа, представленная к защите Стадольниковой Полины Юрьевны, удовлетворяет всем критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, и пункта 7 паспорта специальности 1.5.6 Биотехнология, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Доктор химических наук  
доцент,  
заведующая кафедрой,  
кафедра биотехнологии  
ФГБОУ ВО «Тульский государственный  
университет»  
300012 г.Тула, пр.Ленина, 92.  
тел. (раб) +7(4872) 25 79 29

Понаморева Ольга Николаевна

тел. (моб) +7(915) 783 80 13

E-mail: olgaponamoreva@mail.ru

*Заведующая кафедрой биотехнологии  
ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет»  
Понаморева Ольга Николаевна  
04.05.2023г.*

