

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Устинской Яны Витальевны «Разработка технологических основ синтеза биологически активных метаболитов фототрофными микроорганизмами», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. «Биотехнология»

Актуальность работы. Диссертационная работа Устинской Я.В. посвящена исследованию биологической активности метаболитов микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и цианобактерий *Anabaena sphaerica* IPPAS В-404. Тема является актуальной в связи с перспективностью биотехнологических процессов получения продуктов промышленного, сельскохозяйственного и медицинского назначения из микроорганизмов с биологически значимыми свойствами. При этом источниками биологически активных соединений могут выступать фототрофные микроорганизмы (микроводоросли и цианобактерии), клетки которых способны накапливать различные ценные компоненты, в том числе вещества, обладающие выраженной антибактериальной активностью и стимулирующие клеточный метаболизм. В связи с этим микроводоросли и цианобактерии являются важными объектами промышленной биотехнологии, которые могут использоваться в качестве источника биологически активных соединений.

Промышленное производство таких соединений из клеток фототрофных микроорганизмов ограничено недостаточной изученностью влияния условий культивирования данных объектов на биологическую активность целевых веществ, а также различных методов и режимов дезинтеграции клеток микроводорослей на выход внутриклеточных метаболитов из-за наличия прочной клеточной стенки. В связи с этим, в ходе выполнения работы Устинской Я.В. поставлена и успешно реализована цель разработки технологических основ синтеза биологически активных

метаболитов микроводорослями *Chlorella sorokiniana* и цианобактериями *Anabaena sphaerica* IPPAS B-404.

Актуальность темы диссертационной работы Устинской Я.В. также подтверждается тем, что она выполнялась при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-4348.2022.4), гранта в области науки из федерального бюджета для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-2235.2020.8).

Цель работы заключалась в разработке технологических основ синтеза биологически активных метаболитов микроводорослями *Chlorella sorokiniana* и цианобактериями *Anabaena sphaerica* IPPAS B-404.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, выводов, списка использованной литературы, включающего 219 источников. Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста, иллюстрирована 35 рисунками, 52 таблицами.

В первой главе подробно изложены морфологические особенности микроводорослей и цианобактерий и основные биохимические процессы, протекающие в клетках данных агентов. Проведен анализ биологически активных метаболитов микроводорослей и цианобактерий, обладающих антибактериальным действием. Рассмотрены метаболиты микроводорослей стимулирующего действия. Содержится описание влияния условий культивирования на рост и продуцирование метаболитов фототрофных микроорганизмов, а так же способов культивирования и дезинтеграции микроводорослей.

Во второй главе описаны объекты исследования, а также методики, используемые в диссертационной работе.

В третьей главе представлены экспериментальные данные, полученные в ходе выполнения работы по исследованию различных режимов культивирования и дезинтеграции фототрофных агентов на выход

неполярных липидов и водорастворимых белков. При исследовании процесса дезинтеграции биомассы клеток микроводорослей *Chlorella sorokiniana*, автором был проведен подсчет энергетических затрат на дезинтеграцию клеток в 25 мл суспензии при обработке их ферментом, СВЧ-излучением и ультразвуком. Также было проведено исследование антибактериальных и стимулирующих свойств биологически активных метаболитов фототрофных микроорганизмов. На основании анализа антибактериальной активности автором были рассчитаны минимальные ингибирующие концентрации тестируемых веществ. При исследовании стимулирующих свойств водного экстракта микроводорослей, были рассчитаны основные количественные характеристики процесса культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

В четвертой главе представлен расчет материального баланса производства антибактериальных пептидов из микроводорослей *Chlorella sorokiniana*, расчет технологического оборудования и принципиальная технологическая схема производства биологически активных соединений из микроводорослей *Chlorella sorokiniana*.

Выводы отражают основные результаты представленной диссертационной работы.

Автореферат корректно отражает содержание диссертации. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 1 работа в изданиях из рекомендованного перечня ВАК Минобрнауки РФ, 7 печатных работ, входящих в международную реферативную базу данных Scopus и международную реферативную базу WoS, 2 свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Новизна проведенных исследований. Новизна диссертационной работы Устинской Я.в. заключается в идентификации механизма комплексного действия различных методов дезинтеграции (ферментом лизоцимом, ультразвуком и сверхвысокочастотным излучением (СВЧ-излучением)) клеток микроводорослей *Chlorella sorokiniana* на выход внутриклеточных водорастворимых белков;

определении закономерности влияния белого света на антибактериальное действие неполярных веществ липидной природы и водорастворимых пептидных фракций из штаммов *Chlorella sorokiniana* и *Anabaena sphaerica* IPPAS В-404; получении и анализе экспериментальных данных о значениях минимальных ингибирующих концентраций неполярных веществ липидной природы и водорастворимых пептидных фракций на грамположительные бактерии; подтверждении гипотезы о том, что водорастворимая белковая фракция микроводорослей *Chlorella sorokiniana* может быть использована в качестве компонента питательной среды для культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Практическая значимость. Работа Устинской Я.В. имеет ярко выраженную практическую направленность, на основе комплекса проведенных экспериментальных исследований автором определены технологические режимы культивирования микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и цианобактерий *Anabaena sphaerica* IPPAS В-404, позволяющие накопить биомассу клеток с повышенным содержанием неполярных веществ липидной природы и водорастворимых белков. Установлено, что метод комплексного последовательного использования ультразвука и фермента для дезинтеграции биомассы микроводорослей *Chlorella sorokiniana* позволяет увеличить выход внутриклеточных водорастворимых белков в 14,7 раз по сравнению с контролем. Предложенная принципиальная технологическая схема может быть использована для организации производства веществ антибактериального (в качестве антибактериальных агентов против грамположительных бактерий) и стимулирующего действия (в качестве фактора роста при культивировании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*) на основе микроводорослей *Chlorella sorokiniana*.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Соискатель Устинская Я.В. достаточно корректно использует известные научные методы анализа и обработки информации для обоснования полученных

результатов, выводов и рекомендаций. Автором изучены и критически анализируются известные достижения и теоретические положения других авторов по вопросам исследования антибактериальных свойств метаболитов фототрофных микроорганизмов.

Обоснованность полученных результатов Устинской Я.В. базируется на удовлетворительной согласованности данных экспериментальных исследований и научных выводов и подтверждается:

- 1) корректным использованием методологии научного исследования;
- 2) согласованностью теоретических результатов и экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов измерения и сертифицированных приборов, с известными литературными данными.

В работе использованы современные методы физико-химического анализа: спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, газовая хроматография. Обработку экспериментальных данных проводили с использованием пакетов прикладных программ Matlab и Microsoft Excel. Статистический анализ проводился с использованием SPSS (статистический пакет для социальных наук) версии 20.0.

По работе имеются следующие замечания и вопросы:

1. С чем связан выбор штаммов микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и цианобактерий *Anabaena sphaerica* IPPAS B-404?
2. Как объяснить наличие антибактериальных свойств неполярных экстрактов цианобактерий *Anabaena sphaerica* при отсутствии светового излучения?
3. Из каких соображений проводилась оценка антибактериальной активности пептидных и липидных экстрактов микроводорослей и цианобактерий при световом излучении?
4. Можно ли спрогнозировать какие пептиды образуются при воздействии на белки фермента пепсина?
5. Почему в качестве тест-культуры для исследования стимулирующего действия белкового экстракта *Chlorella* были выбраны дрожжи?

Общая характеристика диссертационной работы

Указанные замечания не имеют принципиального характера. Диссертация является законченной научно-квалификационной работой, имеющей существенную научную новизну и практическую ценность в области биотехнологии фототрофных микроорганизмов. Работа содержит новые научные результаты для разработки технологии производства антибактериальных и стимулирующих веществ из фототрофных микроорганизмов.

На основе проведенных теоретических и экспериментальных исследований соискателем Устинской Я.В. на защиту вынесены следующие научные положения:

- подходы к культивированию микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и цианобактерий *Anabaena sphaerica* IPPAS В-404, позволяющие накопить биомассу клеток с повышенным содержанием неполярных веществ липидной природы и водорастворимых белков;

- подходы к организации эффективных режимов дезинтеграции клеток микроводорослей *Chlorella sorokiniana*, с точки зрения максимального выхода внутриклеточных водорастворимых белков;

- результаты теоретических и экспериментальных исследований антибактериальных свойств неполярных веществ липидной природы и водорастворимых пептидных фракций штаммов *Chlorella sorokiniana* и *Anabaena sphaerica* IPPAS В-404, а также стимулирующих свойств водорастворимой белковой фракции микроводорослей *Chlorella sorokiniana* на рост эукариотических клеток *Saccharomyces cerevisiae*.

Заключение

Диссертационная работа «Разработка технологических основ синтеза биологически активных метаболитов фототрофными микроорганизмами» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013

года № 842 (в редакции постановления от 25.01.2024), а автор работы Устинская Яна Витальевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор технических наук (03.02.08-экология (в химии и нефтехимии),
профессор, Профессор Высшей школы
гидротехнического и энергетического строительства,
старший научный сотрудник Лаборатории "Междисциплинарные
исследования и образование по технологическим и экономическим
проблемам энергетического перехода (CIRETEC-GT)"
ФГАОУ ВО Санкт-Петербургского политехнического
университета Петра Великого



Политаева Наталья Анатольевна

Тел. +7 (965) 778-20-18

e-mail: politaeva_na@spbstu.ru

дата «18» марта 2024 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет
Петра Великого» (ФГАОУ ВО «СПбПУ»)

195251, Россия, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29.

+7 (812) 775-05-30

8 (800) 707-18-99

office@spbstu.ru

