



УТВЕРЖДАЮ

И.о. Ректора

ФГБОУ ВО «ВГУИТ»,

Репников Н.И.

«27» марта 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО "Воронежский государственный университет инженерных технологий" на диссертационную работу Устинской Яны Витальевны «Разработка технологических основ синтеза биологически активных метаболитов фототрофными микроорганизмами», на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология

Актуальность темы исследований

В настоящее время актуальными являются исследования, направленные на поиск источников новых продуцентов биологически активных веществ, обладающих потенциально полезными свойствами, в частности антимикробных соединений и веществ, стимулирующих рост клеток микроорганизмов – основных объектов промышленной биотехнологии. В качестве продуцентов данных соединений могут выступать фототрофные микроорганизмы, которые в последние десятилетия стали одними из важнейших объектов биотехнологии. Различные антибактериальные механизмы действия метаболитов микроводорослей и цианобактерий позволяют рассматривать их в ближайшем будущем как реальную альтернативу традиционным антибактериальным агентам. Фототрофные микроорганизмы являются привлекательным возобновляемым биотехнологическим ресурсом, как антибактериальных соединений, так и водных экстрактов, в частности, микроводоросль *Chlorella* содержит

различные высокомолекулярные и низкомолекулярные соединения (белки, витамины, нуклеиновые кислоты и т. д.), стимулирующие клеточный метаболизм, тем самым положительно влияя на процесс культивирования различных микроорганизмов.

Научная новизна исследований

На примере штамма *Chlorella sorokiniana*, описан механизм комплексного действия дезинтеграции клеток микроводорослей *Chlorella sorokiniana* путем последовательного использования фермента лизоцима и ультразвука на выход внутриклеточных водорастворимых белков. Выявлена закономерность влияния белого света на интенсивность антибактериального действия неполярных веществ липидной природы и водорастворимых пептидных фракций из штаммов *Chlorella sorokiniana* и *Anabaena sphaerica* IPPAS В-404. Получены экспериментальные данные о значениях минимальных ингибирующих концентраций неполярных веществ липидной природы и водорастворимых пептидных фракций, полученных из штаммов *Chlorella sorokiniana* и *Anabaena sphaerica* IPPAS В-404, на грамположительные бактерии. Определено, что водорастворимая белковая фракция микроводорослей *Chlorella sorokiniana* может быть использована в качестве компонента питательной среды для культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Практическая значимость работы

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 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 действия в качестве антибактериальных агентов против грамположительных бактерий и стимулирующего действия в качестве добавления к питательной среде в процессе культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на основе микроводорослей *Chlorella sorokiniana*.

Характеристика содержания диссертационной работы

Диссертационная работа, представленная к рассмотрению, включает введение, литературный обзор, экспериментальную часть, выводы, список использованной литературы (219 наименований) и приложение. Работа изложена на 163 страницах, включает 35 рисунков и 52 таблицы.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, приведены цель и задачи, отражена научная новизна и практическая значимость работы, описан личный вклад автора.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором приведены морфологические особенности и основные биохимические процессы в клетках микроводорослей и цианобактерий. Рассмотрены антибактериальные пептиды и вещества липидной природы антибактериального действия микроводорослей и цианобактерий, а так же биологически активные метаболиты микроводорослей стимулирующего действия. Отдельно представлен раздел по влиянию условий культивирования фототрофных микроорганизмов на синтез биологически активных соединений. Рассмотрены перспективные методы культивирования и дезинтеграции биомассы фототрофных агентов.

Во второй главе описаны изучаемые объекты исследования (штаммы микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и цианобактерий *Anabaena sphaerica* IPPAS B-404, а так же грамположительная бактериальная тест-культура), методы физико-химического анализа (спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, газовая хроматография), полученных на их основе, а так же методы определения антибактериальной активности этих экстрактов.

В третьей главе описаны теоретические и экспериментальные исследования антибактериальных свойств полученных экстрактов микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и антибактериальных свойств полученных экстрактов цианобактерий *Anabaena sphaerica* IPPAS B-404. Приведены исследования влияния технологических параметров культивирования на количество водорастворимых белков и неполярных веществ липидной природы микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и цианобактерий *Anabaena sphaerica* IPPAS B-404, а также влияние различных методов дезинтеграции клеток микроводорослей *Chlorella sorokiniana* на выход водорастворимых белков. Представлены результаты исследования антибактериального действия выделенных метаболитов используемых в работе штаммов микроводорослей и цианобактерий на грамположительную бактериальную культуру. Отдельно приведено экспериментальное исследование культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на питательной среде с добавлением белкового экстракта микроводорослей *Chlorella sorokiniana*.

В четвертой главе представлено аппаратно-технологическое оформление производства антибактериальных пептидов из биомассы микроводорослей *Chlorella sorokiniana*. Предложена принципиальная технологическая схема получения биологически активных соединений (веществ антибактериального и стимулирующего действия) на основе микроводорослей *Chlorella sorokiniana*.

Вопросы и замечания

1. Какие потенциальные области применения могут быть у изучаемых антибактериальных экстрактов?
 2. Почему в качестве источника светового излучения при культивировании микроорганизмов и при проверке антибактериальных свойств экстрактов был выбран белый свет?
 3. В диссертационной работе проводились исследования антибактериального действия пептидных фракций микроводорослей и
-

цианобактерий, в то время как не проводился анализ их аминокислотного состава. Выполнение таких исследований было бы целесообразным.

4. Исследовалось ли влияние условий культивирования на эффективность стимулирующих свойств водного экстракта *Chlorella*?

5. Почему для исследования антибактериальных свойств экстрактов и определения минимальной ингибирующей концентрации были выбраны методы лунок и дисков?

Общая характеристика диссертационной работы

Сделанные замечания не снижают научную и практическую значимость проделанной диссертантом работы. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.6 Биотехнология.


Автореферат полностью соответствует содержанию 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.

Заключение

Диссертационная работа Устинской Яны Витальевны на тему: «Разработка технологических основ синтеза биологически активных метаболитов фототрофными микроорганизмами», представленная на соискание ученой степени кандидата технических наук, является законченной научно-квалификационной работой, имеющей научную новизну и практическое значение в области промышленной биотехнологии. В полной мере удовлетворяет всем 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 ее

автор – Устинская Яна Витальевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Диссертационная работа Устинской Я.В. обсуждена и одобрена на заседании кафедры биохимии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий» «28» февраля 2024г, протокол №7. Присутствовало на заседании 17 человек, в обсуждении приняло участие 5 человек. Результаты голосования: «за» – 17 человек, «против» – нет, «воздержались» – нет.

Доктор биологических наук, профессор, и.о. проректора по научной и инновационной деятельности ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», заведующий кафедрой биохимии и биотехнологии ВГУИТ  Корнеева Ольга Сергеевна

394036, Россия, г. Воронеж, проспект Революции, д. 19,
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
университет инженерных технологий».
Тел.: 8-910-343-6201
E-mail: korneeva-olgas@yandex.ru

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ»
Подпись: *Корнеевой О.С.*
27.03.2024 ЗАВЕРЯЮ
Начальник управления кадров *Журичева Ольга*

