

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Ефременко Елены Николаевны на диссертационную работу Богатыревой Алены Олеговны «Оптимизация условий биосинтеза бактериальной целлюлозы и получение на ее основе биокompозитных материалов с антибактериальными свойствами», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Диссертационная работа Богатыревой Алены Олеговны направлена на увеличение синтеза и масштабирование получения бактериальной целлюлозы (БЦ) с использованием клеток бактерий *Komagataeibacter sucrofermentans* В-11267 и таких отходов биотехнологических производств, как меласса и спиртовая барда, в качестве субстратов, с целью получения биополимера с определенными характеристиками и формирования на его основе биокompозиционных материалов, обладающих в том числе и антибактериальными свойствами.

Актуальность выбранной автором темы и самих исследований, выполненных в рамках этой диссертационной работы, не вызывают сомнений поскольку производство и использование бактериальных экзополисахаридов является одной из перспективных областей развития биотехнологии, а области их применения расширяются с каждым годом благодаря их разнообразным физико-химическим свойствам. Особый интерес представляет бактериальная целлюлоза (БЦ), которая находит все большее применение в медицине, так как БЦ обладает уникальными характеристиками: высокой водосвязывающей и влагоудерживающей способностью, высокой эластичностью и механической прочностью. Широкий диапазон утилизируемых источников углерода для синтеза БЦ клетками бактерий позволяет использовать в качестве сырья разнообразные углеводсодержащие субстраты, такие как отходы различных производств, что представляет собой определенный экологический и экономический интерес. Структура и свойства полимера во многом зависят от вида микроорганизма-продуцента и условий его культивирования и могут быть изменены с помощью различных методов, что позволяет использовать БЦ для создания разнообразных современных композиционных материалов различного назначения, в частности, для лечения ожогов и ран. Поскольку информация по аналогичным исследованиям БЦ в области медицины только начала накапливаться в течение последних нескольких лет, то, очевидно, разработка инновационных композиционных материалов с использованием БЦ является одной из интересных задач, решаемых в области композитной инженерии, биотехнологии и медицины.

Анализ структуры диссертационной работы Богатыревой А. О. свидетельствует о том, что она написана в соответствии с традиционным планом и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результаты исследований и их обсуждения, а также обобщающие заключение, выводы и список цитируемой литературы, включающий 204 литературных источников, из которых 61 – опубликованы за последние 5 лет (30% от общего числа ссылок). Материалы диссертации изложены на 221 странице и содержат 100 рисунков и 30 таблиц.

Сведения, представленные в обзоре литературы (стр. 15-82) подробно представляют и обобщают известные на сегодняшний день сведения, опубликованные разными исследователями по синтезу БЦ, её характеристикам и использованию в медицине. В целом весь текст литературного обзора убеждает в правильности выбранной автором темы исследования и возможных путях решения основной задачи работы – увеличение синтеза БЦ, продуцируемой клетками бактерий *K. sucrofermentans*, с целью получения полимера с заданными характеристиками, и получения на его основе биокompозиционных материалов с антибактериальными свойствами.

В главе «Материалы и методы» описаны разнообразные примененные автором методы исследований, обеспечивающие возможность их применения для воспроизведения

результатов, полученных и описанных в данной диссертации. Очевидно, что для достижения основной цели автором диссертационной работы были сформулированы адекватные задачи, которые удалось решить с использованием широкого набора классических и современных методов исследования. Результаты диссертации получены неоднократно, хорошо воспроизводятся и представлены со статистической обработкой, поэтому их **достоверность** не вызывает сомнения.

В главе 3 («Результаты и обсуждение») (стр. 91-194) автор подробно и убедительно раскрывает в диссертационной работе содержание полученных результатов, наиболее значимыми из которых, с моей точки зрения, являются следующие:

- впервые изучено влияние условий культивирования *K. sacrofermentans* В-11267 на выход и структуру целлюлозы в процессе масштабирования;
- впервые получены биокомпозиционные материалы в гидрогелевой форме на основе бактериальной целлюлозы, хитозана и фузидовой кислоты, обладающие антибактериальными свойствами.

Все результаты, полученные и представленные автором в диссертации, являются оригинальными. **Научная новизна и оригинальность** полученных автором результатов подтверждается 3 статьями, опубликованных в журналах, и полученным Патентом РФ на изобретение. Результаты диссертации автором были представлены научной общественности на многочисленных международных и российских конференциях, форумах и конгрессах.

Основные положения диссертационной работы полноценно отражены суммарно в 14 публикациях, в том числе в 2 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, 1-ой статьи в иностранном научном журнале, входящем в реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science, Scopus, а также в 1-ом патенте РФ на изобретение.

Научно-практическая значимость работы не вызывает сомнений, поскольку представленные в диссертации данные важны для дальнейшего развития биотехнологического производства БЦ с использованием природного штамма бактерий, для получения полимера с необходимыми свойствами. Разработан способ получения гидрогелей на основе БЦ, хитозана и фузидовой кислоты, проявляющих антибактериальные свойства, что позволяет говорить о перспективных материалах для регенеративной медицины.

Кроме того, работа, с фундаментальной научной точки зрения, значительно расширяет знания о природном потенциале уксусно-кислых бактерий в синтезе внеклеточных полисахаридов, формирует понимание возможных путей метаболизма и спектре используемых субстратов, расширяет информацию о влиянии условий культивирования продуцентов на физико-химические свойства получаемого полимера и возможности его дальнейшего практического применения.

Анализируя работу в целом, необходимо отметить, что она является завершенным исследованием по специальности «биотехнология», которая при этом содержит разностороннюю информацию об объекте исследования, способах его получения с определенными свойствами, которые позволяют найти ему дальнейшее применение. Автор демонстрирует высокую квалификацию в изложении результатов, в демонстрации своих успехов в микробиологических исследованиях, в изучении биохимических характеристик клеток, в организации биотехнологических процессов с их участием на лабораторном уровне, проводит сложный анализ характеристик полученного полисахарида и новых композитных материалов, умело интерпретирует полученные результаты.

Работа написана четко, ясно, а представленные результаты, иллюстрирующие достижения автора, получены с использованием множества разнообразных современных методов анализа. Представленный в работе иллюстративный материал в виде многочисленных таблиц и рисунков наглядно отражает полученные автором результаты. Выводы автора обоснованы, так как полностью базируются на собственных полученных теоретических и экспериментальных результатах.

Автореферат диссертации полностью соответствует содержанию текста диссертационной работы и включает все основные положения диссертации.

Наряду с позитивным впечатлением, сформировавшимся у меня после ознакомления с представленной на оппонирование объемной и многогранной диссертационной работой, и высокой положительной оценкой, которую я даю этому многоплановому исследованию, я должна отметить следующее:

- по литературному обзору:

информация, представленная в разделе 1.4. «Процессы, происходящие при заживлении ран» кажется излишней для этой работы, а пункт 1.5.1 «Гидрогели – перспективные материалы для биомедицины» логичнее было бы расположить перед пунктом 1.5 «Применение бактериальной целлюлозы в медицине». Раздел 1.5.2.2 «Характеристика хитозана» лучше было бы перенести в состав раздела 1.5.3 Композиты бактериальная целлюлоза – хитозан, который составил менее 1,5 страниц. По литературному обзору лучше было бы сделать обобщающее заключение, воедино связывающее весь представленный обширный материал;

- по материалам и методам:

в разделе 2.2.1 в качестве основы для экспериментальных сред выступали отходы биотехнологических производств - меласса и спиртовая барда с различными добавками. Не указана информация по источникам получения субстратов, что за добавки вносились (далее из текста ясно, что это были дрожжевой экстракт, желатин, крахмал, ксантан и т.д), их характеристики отсутствуют, источники получения не указаны.

- по результатам и их обсуждению:

- в результате оптимизации и масштабирования условий получения БЦ были существенно снижена степень кристалличности конечного продукта (с 83% до 54,6%), и это, согласно выводам автора, было получение БЦ с «заданными» свойствами. Из текста не ясно, зачем были заданы именно такие свойства, если автор много раз в тексте работы подчеркивает важность получения БЦ именно с высокой степенью кристалличности;

- для ключевых данных, представленных в Табл.30 диссертации (табл.13 в автореферате), не указана применяемая концентрация фузидината натрия;

- в задачах исследования и выводе №2 написано про снижение себестоимости готового продукта, но прямых экономических оценок в работе нет;

Автореферат:

часто текст просто дублирует цифровые данные, представленные в таблицах и на рисунках.

Указанные недочеты ни в коей мере не умаляют самих достоинств многогранной работы в целом, тем более что они имеют реальную большую научно-практическую значимость.

Вместе с этим, я отдельно хочу отметить как позитивную сторону этой работы то, что данная диссертация позволяет сформулировать целый ряд новых научно-практических вопросов, решение которых может позволить автору или ее последователям продолжить изучение процесса синтеза БЦ и получения на её основе новых композитных материалов, расширив варианты варьирования получаемых свойств. Таким образом, я высоко оцениваю не только значимость полученных результатов, но и большую научно-практическую перспективу у этой работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя изложенное, следует заключить, что диссертационная работа Богатыревой А.О., несомненно, является оригинальным экспериментальным исследованием, представляет собой научно-квалификационную работу, выполненную на высоком методическом уровне, и представляет собой цельный законченный научный труд, который вносит существенный вклад в решение научной задачи по масштабированию и

увеличению синтеза БЦ при использовании в качестве субстратов отходов биотехнологических производств, которая может быть эффективно использована для получения на её основе биокомпозиционных материалов с антибактериальными свойствами.

Считаю, что диссертационная работа Богатыревой А.О. по актуальности темы, объему выполненной работы, новизне полученных данных, важности разработанных теоретических положений, надежности полученных результатов и обоснованности сделанных выводов и публикаций по полученным результатам полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г., № 842. Автор диссертации Богатырева А.О. заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Заведующая лабораторией экобиокатализа кафедры химической энзимологии Химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор биологических наук, профессор
e-mail: elena_efremenko@list.ru
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3,
тел. +7-495-939-31-70
г. Москва, «04» июня 2021 г.

 Ефременко
Елена Николаевна

Декан Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова,
член-корреспондент РАН, профессор


 Калмыков
Степан Николаевич