

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Богатыревой Алены Олеговны «Оптимизация условий биосинтеза бактериальной целлюлозы и получение на ее основе биокомпозиционных материалов с антибактериальными свойствами», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы

Рассматриваемая диссертационная работа посвящена актуальной теме – оптимизации условий биосинтеза бактериальной целлюлозы продуцентом *Komagataeibacter sucrofermentans* В-11267 на питательных средах с низкой себестоимостью и получению на ее основе биокомпозиционных материалов с антибактериальными свойствами.

Бактериальная целлюлоза биополимер, синтезируемый грамотрицательными бактериями, по сравнению с растительной целлюлозой характеризуется более высокой степенью чистоты, улучшенными механическими, влагоудерживающими свойствами и высокой степенью кристалличности. Кроме того, бактериальная целлюлоза является биоразлагаемым, биосовместимым, нетоксичным и неаллергенным полимером.

Вследствие высокой востребованности в использовании бактериальной целлюлозы в различных отраслях промышленности, большой интерес представляет ее производство в промышленном масштабе. Однако низкая производительность существующих штаммов бактерий ограничивает получение бактериальной целлюлозы. По этой причине получаемый биополимер обладает высокой себестоимостью. Кроме того, выход, структура и свойства целлюлозы существенно зависят от условий культивирования продуцента. Поэтому, помимо увеличения количества синтезируемого полимера, важное значение имеют свойства получаемого полисахарида. Таким образом, проблема высокоэффективного производства бактериальной целлюлозы с заданными свойствами является весьма актуальной и не решена до настоящего времени.

Научная новизна и значимость работы заключается в расширении представлений о биосинтезе бактериальной целлюлозы на средах различного состава, оптимизации условий образования полисахарида на стандартной среде HS с различными источниками углерода, исследовании процесса биосинтеза бактериальной целлюлозы на средах, содержащих отходы биотехнологических производств, в повышении продуктивности штамма К.

sucrofermentans В-11267 на средах с мелассой и послеспиртовой бардой за счет использования различных эффекторов: сахаров, глицерина, органических кислот и т.д.

Впервые изучено влияние условий культивирования *K. sucrofermentans* В-11267 на выход и структуру целлюлозы в процессе масштабирования. Определены параметры культивирования, обеспечивающие максимальное накопление полисахарида.

Исследованы структура и физико-химические свойства полученного полимера. Показана возможность получения бактериальной целлюлозы с заданными свойствами (степень кристалличности) путем изменения условий культивирования продуцента. Впервые получены биокомпозиционные материалы в гидрогелевой форме на основе бактериальной целлюлозы, хитозана и фузидовой кислоты, обладающие антибактериальными свойствами.

Практическая значимость состоит в разработке технологических основ получения бактериальной целлюлозы на средах с отходами биотехнологических производств – послеспиртовой барды и мелассы. Предложенная технология позволит осуществлять переработку отходов спиртовой и сахарной промышленности, которые часто не находят рационального применения, а их утилизация является серьезной проблемой для предприятий.

Предложенные варианты питательных сред и условий культивирования позволят получить бактериальную целлюлозу с заданными свойствами.

Разработан способ, позволяющий получить гидрогели на основе бактериальной целлюлозы, хитозана и фузидовой кислоты, обладающие антибактериальными свойствами, а также облегчающие заживление. Результаты экспериментальных исследований позволяют рекомендовать разработанные гидрогели с антибактериальной активностью для лечения ран.

Полученные в работе результаты могут быть использованы для чтения курсов лекций по микробной биотехнологии в высших учебных заведениях.

Диссертация написана четким, понятным языком, аккуратно оформлена ее структура логична и подчинена выбранному автором направлению исследований.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы. Работа изложена на 221 страницах, включает 31 таблицу, 100 рисунков, список литературы из 204 наименований, из них 15 на русском и 199 на английском языке.

Соискателем выполнен глубокий и всесторонний анализ данных научной и технической литературы отечественных и зарубежных авторов, патентной документации по теме исследований. Цели и задачи работы сформулированы методически грамотно. На основе задач исследования предложены пути их реализации.

К основным достигнутым результатам в ходе выполнения диссертационной работе следует отнести следующее:

- разработаны технологические основы получения бактериальной целлюлозы с помощью штамма *K. sucrofermentans* В-11267 на средах с отходами биотехнологических производств: мелассой и бардой, позволяющие снизить себестоимость готового продукта и увеличить выход полисахарида по сравнению со стандартной средой NS в 3,5 и 2,5 раза, соответственно.

- доказано, что использование мелассы и послеспиртовой барды позволяет получить бактериальную целлюлозу с улучшенными характеристиками по сравнению с полимером, полученным на стандартной среде NS.

- впервые изучено влияние условий культивирования *K. sucrofermentans* В-11267 на выход и структуру целлюлозы в процессе масштабирования в биореакторах объемом 1, 6 и 30 л. Определены параметры культивирования, обеспечивающие максимальное накопление полисахарида.

- научно обоснована возможность получения бактериальной целлюлозы с заданными свойствами путем изменения условий культивирования продуцента.

- впервые получены гидрогелевые композиты на основе бактериальной целлюлозы, хитозана и фузидовой кислоты, обладающие высокой антибактериальной активностью.

- в результате оптимизации условий культивирования повышена продуктивность штамма *K. sucrofermentans* В-11267 и продемонстрирован его высокий потенциал для промышленного получения бактериальной целлюлозы и биокомпозиционных материалов на ее основе, в частности гидрогелевых композитов с антибактериальными свойствами для медицины.

Достоверность полученных результатов подтверждается значительным объемом экспериментальных данных, полученных с использованием современных физико-химических, микробиологических, аналитических и клинических методов исследования, а также статистической обработкой результатов. Достоверность и новизна полученных автором данных не вызывает сомнений.

Выводы полностью отражают основные результаты диссертационной работы, ее научную, теоретическую и практическую значимость. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, в числе которых 2 статьи в российских научных журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в иностранном научном журнале, входящем в реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science, Scopus, а также 1 патент. Публикации достаточно полно отражают основные результаты, полученные в работе.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации. Результаты научных исследований соответствуют паспорту специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), а именно: п.2 в части «оптимизации процессов биосинтеза»; п.3. в части «изучения и разработки технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, продуктов метаболизма создания эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения»; п.7 в части «разработки новых технологических процессов на основе микробиологического синтеза».

К недостаткам диссертационной работы следует отнести следующие.

1. Объектом исследования данной диссертационной работы является продуцент бактериальной целлюлозы – штамм *Komagataeibacter sucrofermentans* Н – 110 (ВКПМ В-11267), выделенный из чайного гриба. Однако в разделе 2.1 Объекты исследования отсутствует информация об его идентификации. В разделе 2.2.1 Условия культивирования продуцента бактериальной целлюлозы написано, что «...Полученным инокулятом, в количестве 10 % от объема среды, засеивали опытные колбы, содержащие 100 мл среды...». Какое количество клеток уксуснокислых бактерий содержалось в данном объеме инокулята?

2. Отходами каких производств являлись послеспиртовая барда и меласса? И подвергались ли данные питательные среды предварительной обработке до внесения продуцента? В главе 2 объекты и методы исследования информация об этом отсутствует.

3. С. 106. «Из полученных данных видно, что при добавлении в среду органических кислот наблюдается заметное увеличение рН культуральной жидкости после культивирования, что может свидетельствовать о том, что при потреблении кислот из питательной среды микроорганизмы в меньшей степени образуют побочные продукты, в виде органических кислот». Описание не соответствует экспериментальным данным, представленным в таблице. Увеличение рН происходит только в нескольких случаях.

5. При изучении образования бактериальной целлюлозы на барде с мелассой автор делает вывод, что уменьшение выхода целлюлозы при увеличении концентрации мелассы связано с образованием глюконовой кислоты. Однако в работе отсутствуют количественные данные об изменении концентрации глюконовой кислоты в процессе культивирования *Komagataeibacter sucrofermentans* Н – 110, поэтому данный вывод не является правомерным.

4. Пункт 3.2.2.5 Изучение влияния полисахаридов на синтез бактериальной целлюлозы. Проводились ли исследования влияния полисахаридов на физико-химические свойства БЦ?

5. Сильной стороной работы является анализ рентгеноструктурных характеристик образцов БЦ, полученных на разных питательных средах. Степень кристалличности и индекс кристалличности не коррелируют между собой. Чем отличаются данные показатели и как можно объяснить расхождения?

6. Отсутствует сравнение полученных в работе данных РСА с данными, представленными в литературе. Также отсутствует сравнение с мировым уровнем данных о количестве бактериальной целлюлозы, получаемой на средах из отходов биотехнологических производств.

7. Непонятно словосочетание «меласная среда, содержащая 50 г/л мелассы» (с. 148). Следовало указать концентрацию сахаров или сахарозы в разбавленной стандартизованной среде, так как состав мелассы непостоянен. Проводилась ли очистка мелассы от летучих кислот и красящих веществ, и если нет, то каково было их содержание в культуральной среде? Известно, что эти примеси могут оказывать существенное влияние на рост микроорганизмов и микробиологический синтез их метаболитов. Какие еще компоненты содержит «меласная среда», кроме мелассы?

Указанные недостатки не имеют принципиального характера и не снижают высокого уровня научной новизны, теоретической и практической значимости выполненной работы.

Таким образом, диссертация Богатыревой Алены Олеговны «Оптимизация условий биосинтеза бактериальной целлюлозы и получение на ее основе биокомпозиционных материалов с антибактериальными свойствами», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии), является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по оптимизации условий биосинтеза ценного продукта – бактериальной целлюлозы на питательных средах из отходов биотехнологических производств и получения на основе

бактериальной целлюлозы биокomпозиционных материалов с антибактериальными свойствами.

Все вышеуказанное соответствует критериям, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени кандидата наук, изложенным в п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24.09.13 № 842, а автор – Богатырева Алена Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

2 июня 2021

Официальный оппонент:

научный сотрудник лаборатории

биоконверсии ИПХЭТ СО РАН,

канд. тех. наук  Гладышева Евгения Константиновна

Гладышева Евгения Константиновна кандидат технических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии), 2018.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук

Адрес организации: 659322, Россия, Алтайский край, г.Бийск, ул. Социалистическая, 1.

Телефон: +7 961 997-53-97; e-mail: evg-gladysheva@yandex.ru

Ученый секретарь ИПХЭТ СО РАН,

канд. хим. наук



Малыхин В.В.

печать

