

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Волокитиной Марии Владимировны «**Хроматографические биокаталитические реакторы нового поколения на основе макропористых сорбентов монолитного типа**», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения.

Ферменты в течение многих лет применяются в различных областях практической деятельности человека: в кожевенной, пищевой, текстильной, фармацевтической и других отраслях промышленности, а также в медицине, сельском хозяйстве, химическом синтезе. Эффективность действия ферментов многократно выше по сравнению с химическими катализаторами, однако их промышленное применение затруднено из-за неустойчивости при хранении и температурных воздействиях. Кроме того, многократное применение ферментов практически невозможно в связи с технологическими трудностями их отделения от продуктов реакции.

Новые возможности открылись перед прикладной энзимологией в связи с созданием иммобилизованных ферментов, имеющих ряд преимуществ, при использовании их в практических целях.

**Актуальность работы.** Уникальные свойства ферментов, способных катализировать химические превращения в мягких условиях с высокой субстратной специфичностью, определили их применение во многих технологических и аналитических процессах, например, в пищевой промышленности, фармацевтике, медицине, при создании биосенсоров, в процессах тонкого органического синтеза. Более экономичным и технологичным способом проведения биокатализа является применение гетерогенных биокатализаторов, то есть ферментов, иммобилизованных на поверхности твердой фазы. Преимущества использования гетерогенных биокатализаторов очевидны: локализация белка на поверхности носителя способствует стабилизации его конформации, препятствуя, таким образом, денатурации и снижению каталитической активности, облегчает процесс отделения продуктов реакции, позволяет многократно использовать биокатализатор, а также автоматизировать биотехнологический процесс. При выборе материала для иммобилизации ферментов использование гидрофильных полимерных матриц является преимущественным. Гидрофилизация поверхности способствует закреплению белка на поверхности в его активной конформации.

Известно, что успешная реализация преимуществ иммобилизованных ферментов существенно зависит не только от природы и свойств твердой матрицы, но также от способа иммобилизации. Ковалентное связывание считается наиболее предпочтительным с точки зрения обеспечения стабильности гетерогенного биокатализатора.

**Цель данной работы** состояла в разработке хроматографических реакторов, состоящих из биокаталитической и аналитической колонок на основе макропористых монолитных носителей.

В связи с этим были поставлены и решены конкретные задачи, хорошо сформулированные в диссертации автором, а именно:

- Получение новых макропористых полиметакрилатных материалов в форме монолитных колонок с контролируемой поровой структурой;
- Разработка метода иммобилизации ферментов на поверхности макропористых полимерных монолитных носителей;
- Изучение влияния условий проведения гетерогенного биокатализа;
- Разработка методов ВЭЖХ-мониторинга продуктов ферментативного гидролиза высокомолекулярных субстратов с использованием в качестве стационарных фаз макропористых монолитных сорбентов;
- Оценка перспективности использования полученных гетерогенных биокатализаторов в реакциях деградации природных и синтетических полимеров; создание хроматографических реакторов на основе макропористых монолитных носителей и апробация их в биотехнологических процессах, – **все это оставляет весьма положительное впечатление о работе автора.**

В соответствии с выше представленным, поиск новых и эффективных материалов-носителей для иммобилизации ферментов, разработка оптимальных методов иммобилизации, изучение свойств полученных гетерогенных биокатализаторов и оптимизация условий их использования, а также создание высокоэффективных хроматографических реакторов для одновременной реализации процессов биоконверсии и анализа получаемых продуктов, является, несомненно, **актуальной и перспективной задачей.**

**Во введении** обосновывается выбор направления исследований, актуальность и новизна представленной к защите работы.

Диссертации свойственен высокий методический уровень, обеспечивший получение однозначных, убедительных результатов.

Характеризуя этот раздел работы в целом, следует подчеркнуть, что методы избранные и использованные диссертантом вполне адекватны поставленным целям и

задачам исследования, а их высокая специфичность и разрешающая способность обеспечивает получение однозначных, убедительных результатов.

В следующих главах представлены экспериментальные данные, совокупность которых дала автору возможность решить поставленные перед ним задачи, а также сделать соответствующие заключения и выводы.

Конкретизируя изложенное, можно отметить **принципиально новые данные**, полученные в диссертации. К ним относятся:

- разработка методов синтеза новых макропористых гидрофильных полимерных материалов на основе сополимеров глицидилметакрилата (ГМА), 2-гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА) с этиленгликольдиметакрилатом (ЭДМА), а также глицидилметакрилата (ГМА) с глицериндиметакрилатом (ГДМА) в форме монолитных колонок с контролируемой поровой структурой;
- разработка метода иммобилизации ферментов с использованием окисленного полимера 2-деокси-N-метакрилоиламидо-D-глюкозы (ок. пМАГ) в качестве макромолекулярного спейсера;
- исследование возможности применения гетерогенных биокатализаторов на основе макропористых монолитных матриц для процессов деградации природных и синтетических полимеров;
- исследование влияния различных факторов на эффективность проточного биокатализа с использованием разработанных систем;
- разработка и оптимизация конкретных хроматографических схем для анализа различных природных и синтетических полимеров (рибонуклеиновая кислота (РНК), поли(цитидиловая кислота) (поли(С)), поли(молочная кислота) (ПМК), ксилан) и продуктов их деградации при использовании в качестве стационарных фаз макропористых монолитных сорбентов с необходимыми функциональными группами;
- разработка хроматографических биокаталитических реакторов на основе макропористых монолитов и показана возможность их применения для решения некоторых биотехнологических задач.

### **Практическая значимость работы.**

- На основе данных по составам полимеризационных смесей и поровых характеристик полученных макропористых полимерных монолитных материалов, предложены рекомендации, позволяющие направленно контролировать характеристики получаемых матриц, необходимые для решения конкретных задач;

- Разработанные хроматографические методы могут быть использованы для высокоскоростного анализа и сепарации различных природных и синтетических полимеров (РНК, поли(С), ксилан, ПМК) и продуктов их деградации;
- При исследовании влияния различных факторов на эффективность гетерогенного биокатализа выявлены наиболее перспективные методы создания и условия применения получаемых гетерогенных биокатализаторов;
- Показана возможность эффективного использования разработанных хроматографических биокаталитических реакторов на основе макропористых монолитов в процессах биотехнологии.

### Заключение

Анализ диссертационной работы М.В. Волокитиной дает основание утверждать, что по своему уровню она вполне соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013г, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.06 – «биотехнология» (в том числе «нанобиотехнология»), 02.00.06 – «высокомолекулярные соединения». Рецензируемая диссертация является законченной научной работой, в которой сформировано новое направление исследований, связанных с анализом и созданием на основе макропористых носителей, хроматографических реакторов, состоящих из биокаталитических и аналитических колонок. Это имеет существенное значение для прикладной биотехнологии и энзимологии. По материалам диссертации опубликовано 4 работы в российских и зарубежных изданиях. Автореферат адекватно отражает основное содержание диссертации.

komov.vadim@yandex.ru

Доктор биологических наук,

Профессор кафедры биохимии СПбХФА

Адрес: 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14



В.П. Комов

