

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе и
международной деятельности
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Иркутский государственный
университет»

Др. социол. наук, доцент

К.В. Григоричев

«22» мая 2024 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Иркутский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ИГУ») на диссертационную работу **Дмитриевой Марии Валерьевны** на тему **«Электрокаталитические свойства белковых экстрактов, полученных из культуры *E. coli* ВВ»**, представленную на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 1.4.6. Электрохимия (химические науки)

Актуальность темы. Биотопливные элементы (БТЭ) – альтернативный источник электроэнергии, в котором химическая энергия непосредственно преобразуется в электрическую за счёт явления биоэлектрокатализа. Традиционно в качестве биоэлектрокатализаторов используют чистые ферментные препараты, живые микроорганизмы и биомиметики. Все известные биоэлектрокатализаторы имеют как свои достоинства, так и недостатки. Одной из ключевых задач при изучении функционирования БТЭ является описание закономерностей сопряжения электродной и биокаталитической реакций для различных типов биоэлектрокатализаторов и поиск оптимальных режимов функционирования биоэлектродов.

В работе Дмитриевой М.В. рассматривается новый тип биоэлектрокатализаторов, так называемый грубый белковый экстракт, используемый в реакциях окисления органических субстратов на биоаноде. Предложенный тип биоэлектрокатализатора представляет собой дезинтегрированную биомассу клеток микроорганизмов (на примере *E. coli* и *S. cerevisiae*), в состав которой входит естественный набор ферментных систем, формирующихся в клетке. Исключительной особенностью такой системы является то, что она моделирует работу части «природного» топливного элемента живой клетки в искусственной среде, что важно для понимания явления биоэлектрокатализа и создания эффективных биоэлектрокатализаторов. В связи с этим цель, поставленная в работе

Дмитриевой М.В., – определить закономерности биоэлектrokаталитического окисления субстратов (глюкоза, цитрат) белковыми экстрактами из *E. coli.*, - представляется обоснованной и актуальной.

В рамках поставленной цели в работе Дмитриевой М.В. получен ряд **новых научных результатов**, имеющих практическую ценность:

1. Предложен новый тип биоэлектrokатализаторов (грубые белковые экстракты), содержащий в своем составе набор различных ферментов, что перспективно для осуществления более полного окисления топлив или окисления топлив сложного состава, и предложена довольно простая процедура его получения.
2. Установлены некоторые закономерности кинетики медиаторного биоэлектrokаталитического процесса окисления глюкозы получаемыми экстрактами и основные факторы, влияющие на биоэлектrokаталитическую активность таких катализаторов, что играет особую роль для достижения высоких электрохимических характеристик при работе БТЭ.
3. Разработана новая конструкция асимметричного БТЭ с биоанодом и разделенными пространствами, позволяющая произвольно и независимо изменять состав биоанода, что важно с практической точки зрения для испытаний различных по составу биоанодов в одинаковых условиях.

Достоверность полученных в работе результатов и сделанных заключений обеспечивается применением комплекса современных биохимических, физических и электрохимических методов анализа, согласованностью полученных результатов с известными из литературы. Работа прошла неоднократную апробацию в виде докладов на научных конференциях разного уровня, довольно полно опубликована в реферируемых журналах соответствующего профиля.

По материалам работы опубликовано 7 статей в рецензируемых журналах, входящих в системы цитирования Scopus, RSCI, PubMed, ESCI, относящихся к категориям К1 и К2 на основании рекомендации ВАК от 21.12.2023 № 3-пл/1, 1 патент РФ.

Общая характеристика работы. Работа изложена на 189 страницах машинописного текста, содержит 57 рисунков и 32 таблицы, список цитируемой литературы насчитывает 251 библиографическое наименование и отражает современное состояние исследований в анализируемой в работе области. Работы автора, выполненные в соавторстве, процитированы в тексте диссертации. Работа носит плановый характер и была дважды поддержана стипендией Президента РФ. Автореферат в достаточной степени отражает основное содержание работы.

Структура работы является общепринятой, включает обзор современного состояния исследований (Глава 1), в котором особое внимание автор уделяет известным устройствам БТЭ, их составу, теориям биоэлектrokатализа, механизмам сопряжения биохимической и электродной реакций; методическую часть (Глава 2), в которой приводится

описание экспериментальных установок, методических подходов, использованных и предлагаемых в работе; экспериментальную часть, состоящую из двух глав, в которой подробно рассматриваются результаты работы и проводится их обсуждение. Актуальность, цель и задачи работы, ее практическая и теоретическая значимость, положения, выносимые на защиту, обосновываются во введении. Каждая глава содержит краткое введение с обоснованием рассматриваемых в ней вопросов и заключение, суммирующее основные результаты и выводы. Экспериментальные главы (глава 3 и 4) имеют несколько искусственное разделение. С одной стороны, в третьей главе приводятся результаты по аттестации дегидрогеназной активности экстрактов в зависимости от условий их получения, но, в то же время, они сопоставляются с результатами электрохимической активности этих же экстрактов с редокс-медиаторной системой, выбор которой обосновывается уже в четвертой главе. Четвертая глава содержит основную часть результатов работы по выбору состава биоанода и условий проявления им максимальной биоэлектрокаталитической активности, изучению кинетики процесса на биоаноде и результаты испытаний разработанного прототипа БТЭ с экстрактами из разных культур. Заключение к работе включает основные полученные результаты и выводы и перспективы дальнейшего развития работы.

Полученные в работе Дмитриевой М.В. результаты развивают **теоретические** представления о закономерностях медиаторных биоэлектрокаталитических процессов, протекающих в биоэлектрохимических устройствах. Так, в работе решена задача по определению закономерностей кинетики медиаторного биоэлектрокаталитического окисления глюкозы грубыми белковыми экстрактами из *E. coli* и ключевых параметров, влияющих на скорость процесса на биоаноде, что важно для развития электрохимии биосистем. Основная **практическая ценность** результатов работы заключается в установлении влияния ряда факторов (например, влияние состава рабочего раствора биоанода, т.е. буферной системы, ее концентрации и pH, природы медиатора, токоотвода) на получаемые токовые отклики, что важно для подбора оптимальных условий функционирования биоанода с целью получения максимальной выходной мощности БТЭ.

Результаты работы Дмитриевой М.В. могут быть рекомендованы к использованию в научных учреждениях и коммерческих компаниях, занимающихся разработкой биосенсоров и биотопливных элементов: ИФХЭ РАН, КубГУ, ИБХ РАН, Тульский государственный университет, ООО «Компания «ЭЛТА», ООО «Медтехсервис», МГУ им. М.В. Ломоносова, РХТУ им. Д.И. Менделеева и др.

В целом работа Дмитриевой М.В. обладает внутренним единством, логикой, выдвинутые положения и сделанные заключения вполне

обоснованы. Тем не менее, при прочтении работы возникает ряд замечаний:

1. На стр. 87 диссертации при описании конструкции анодной полужайки автором не указано, есть ли в рабочем растворе биоанода топливо (субстрат), или же его подают извне.

2. При изучении влияния ионной силы буферного раствора, применяемого на стадии ресуспендирования, в диапазоне 25-100 мМ (рис. 28а) указано, что наилучший результат получен с 100 мМ буферным раствором. Однако исследования с более высокой концентрацией не представлено, поэтому нельзя сделать однозначный вывод об оптимальности этой концентрации.

3. Автор показывает, что при использовании в качестве медиатора бензохинона протекают 2 параллельных процесса – прямое окисление глюкозы бензохиноном и окисление глюкозы белковым экстрактом. Не ясно, почему авторы не рассматривают далее бензохинон в качестве медиаторной системы, ведь с практической точки зрения ее использование более выгодно.

4. В работе не обосновывается выбор диапазона потенциалов, используемого при анализе белковых экстрактов без медиатора. Кроме того, автор не использовал модификацию электрода белковым экстрактом, например, методом адсорбции на пористом электроде. Тем не менее, заключение об отсутствии прямого электронного переноса сделано. Возникает вопрос об обоснованности такого заключения.

5. Использование вертикально ориентированной ионообменной мембраны, соединяющей воздушный катод и полужайку биоанода, являющееся оригинальным решением в данной работе, тем не менее, недостаточно обосновано в работе. В частности, возникает вопрос о влиянии сопротивления мембраны на измеряемые вольтамперные характеристики, ее возможного пересыхания в части, не касающейся раствора, перехода в смешанную ионную форму в ходе функционирования биотопливного элемента. Все эти факторы могут приводить к изменению омической составляющей и искажению получаемых ВАХ.

6. Автор допускает ряд небрежностей в описании деталей электрохимических экспериментов, тем не менее, делая по результатам этих экспериментов важные заключения. Так, в работе приводятся результаты циклической вольтамперометрии, полученные на биоаноде в трехэлектродной ячейке, однако автор не уделяет описанию этих экспериментов большого внимания, сосредотачиваясь на трудно интерпретируемых данных хроноамперометрии. В то же время, не ясно, как меняется от цикла к циклу ток пиков (растет/снижается), а эта информация могла бы прояснить процессы, происходящие в ячейке. В описании к рисунку 53 проводится сравнение с результатами "аналогичных работ". Тем не менее, сравнение ватт- и вольтамперных характеристик, полученных в данной работе и работах других авторов, кажется бессмысленным без сравнения условий, в которых они получены.

7. Работа содержит ряд опечаток, неточностей и неудачных выражений.

Несмотря на высказанные замечания, стоит признать, что они не снижают общую положительную оценку данной работы и носят в основном дискуссионный или рекомендательный характер.

Заключение. Диссертация Дмитриевой Марии Валерьевны на тему «Электрокаталитические свойства белковых экстрактов, полученных из культуры *E. coli* ВВ» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области биоэлектрохимии. Полученные автором результаты, выводы и рекомендации вполне обоснованы. Работа полностью соответствует критериям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации N 842 от 24 сентября 2013 г. со всеми последующими изменениями, и пп. 4, 10 и 11 паспорта специальности 1.4.6. Электрохимия, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.6. Электрохимия.

Отзыв составлен зав. кафедрой общей и неорганической химии ФГБОУ ВО «ИГУ» доктором химических наук, профессором Сафроновым Александром Юрьевичем и профессором кафедры зоологии позвоночных и экологии ФГБОУ ВО «ИГУ» доктором биологических наук Стомом Дэвардом Иосифовичем, обсужден и принят на заседании кафедры общей и неорганической химии ФГБОУ ВО «ИГУ» (протокол № 5 от 24 апреля 2024 г.).

Доктор биологических наук (03.00.18 – Гидробиология), профессор
Профессор кафедры зоологии позвоночных и экологии
ФГБОУ ВО «ИГУ»

Стом Дэвард Иосифович

Доктор химических наук (02.00.04 – Физическая химия), профессор
Заведующий кафедрой общей и неорганической химии
ФГБОУ ВО «ИГУ»

Сафронов Александр Юрьевич

Данные организации:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Иркутский государственный университет»
Адрес: 664003, г. Иркутск, улица Карла Маркса, 1
web-сайт: <https://isu.ru>
тел. +7(3952) 521-900
e-mail: rector@isu.ru

