

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.108.04, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА ПРОБЛЕМ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «24» июня 2024 г. № 3

О присуждении Дмитриевой Марии Валерьевне, гражданство РФ, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Электрокаталитические свойства белковых экстрактов, полученных из культуры *E. coli* ВВ» по специальности 1.4.6. Электрохимия принята к защите 16 апреля 2024 года (протокол № 5) диссертационным советом 24.1.108.04, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН), подведомственного Министерству науки и высшего образования РФ: 142432, Московская область, г. Черноголовка, пр. Академика Семенова, д. 1 (адрес сайта: <http://www.icp.ac.ru>), диссертационный совет утвержден приказом Минобрнауки РФ о создании от 22.06.2023 г. № 1321/нк.

Соискатель Дмитриева Мария Валерьевна, 1990 года рождения, в 2013 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный технический университет» (подведомственное Федеральному агентству по рыболовству), получив степень магистра по направлению подготовки 240700.68 – Биотехнология. В 2013–2017 гг. обучалась в очной аспирантуре ФИЦ ПХФ и МХ РАН по направлению подготовки 04.06.01 Химические науки, специальность 02.00.04 – Физическая химия. Соискатель работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории электродных процессов в жидкостных системах отдела функциональных материалов для химических источников энергии (ОФМХИЭ) в ФИЦ ПХФ и МХ РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории электродных процессов в

жидкостных системах ОФМХИЭ ФИЦ ПХФ и МХ РАН.

Научный руководитель – доктор химических наук Золотухина Екатерина Викторовна, ФИЦ ПХФ и МХ РАН, отдел функциональных материалов для химических источников энергии, лаборатория электродных процессов в жидкостных системах, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

1. Казаринов Иван Алексеевич, доктор химических наук (02.00.05 – Электрохимия), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», кафедра физической химии, заведующий кафедрой;

2. Решетиллов Анатолий Николаевич, доктор химических наук (03.00.23 – Биотехнология), профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушчинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», обособленное структурное подразделение Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, лаборатория биосенсоров, заведующий лабораторией,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет» (ИГУ), г. Иркутск, в своем положительном отзыве, подписанном заведующим кафедрой общей и неорганической химии доктором химических наук, профессором Сафроновым Александром Юрьевичем и профессором кафедры зоологии позвоночных и экологии доктором биологических наук Стомом Дэвардом Иосифовичем, и утвержденном проректором по научной работе и международной деятельности доктором социологических наук Григоричевым Константином Вадимовичем указала, что «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.

<...> Диссертация Дмитриевой М.В. 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».

Соискатель имеет 29 опубликованных работ по теме диссертации (общий объем 106 стр.), в том числе 7 статей в рецензируемых научных изданиях, входящих в системы цитирования Scopus, RSCI, PubMed, ESCI, относящихся к категориям K1 и K2 на основании рекомендации ВАК от 21.12.2023 № 3-пл/1. Все научные работы опубликованы в соавторстве и процитированы в тексте диссертации, недостоверные сведения об опубликованных работах отсутствуют. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Dmitrieva, M.V.** Electrochemical Peculiarities of Mediator-Assisted Bioelectrocatalytic Oxidation of Glucose by a New Type of Bioelectrocatalyst / M. V. Dmitrieva, E. V. Gerasimova, A. A. Terent'ev, Yu. A. Dobrovolskii, E. V. Zolotukhina. – DOI 10.1134/S1023193519090064 // Russian Journal of Electrochemistry. - 2019. V. 55, № 9. – 1111-1123.
2. **Dmitrieva, M.V.** Kinetics of Mediated Bioelectrocatalytic Oxidation of Glucose by Protein Extracts of *Escherichia coli* / M.V. Dmitrieva, I. N. Shishov, S. V. Shmalii, V. D. Myazin, A. Yu. Bazhenov, E. V. Gerasimova, E. V. Zolotukhina. – DOI

10.1134/S1023193520110038 // Russian Journal of Electrochemistry. 2020. - V. 56, № 11. – 1034-1041.

3. **Dmitrieva, M. V.** Peculiarities of Using Potassium Ferricyanide as the Mediator for Bioanodes Based on *Escherichia coli* / M.V. Dmitrieva, A. S. Freiman, V. V. Sorokin, A. A. Terent'ev, E. V. Zolotukhina. DOI 10.1134/S1023193522100044 // Russian Journal of Electrochemistry. 2022. - V. 58, № 10. - 885–890.

В вышеперечисленных работах представлены экспериментальные результаты исследования биоэлектродокаталитических свойств нового типа биоэлектродокатализаторов – грубых экстрактов *E. coli* ВВ в процессах окисления различных субстратов. В частности, описаны результаты, показывающие медиаторный характер сопряжения биохимической и электрохимической реакций в исследуемой системе и значение выбора редокс-медиаторной системы, а также представлены данные о влиянии типа буферного раствора, его концентрации и рН на каталитическую активность исследуемого биоэлектродокатализатора, описаны особенности кинетики медиаторного биоэлектродокаталитического окисления глюкозы исследуемыми экстрактами и приведено описание конструкции разработанного модельного ассиметричного биотопливного элемента.

На диссертацию и автореферат поступило 9 отзывов, все положительные. Отзывы профессора ФГБОУ ВО «Южно-Российского государственного политехнического университета (НПИ) имени М.И. Платова» д.х.н., доцента Смирновой Н.В., ведущего научного сотрудника ФГБУН Института химии и химической технологии Сибирского отделения Российской академии наук д.х.н., профессора Корниенко В.Л. и ведущего инженера биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова к.б.н. Мироновой О.Ю. без замечаний. В отзывах доцента ФГБОУ ВО «Тверской государственной технической университет» к.х.н. Манаенкова О.В. и директора научно-исследовательского центра «БиоХимТех» ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет» д.т.н., доцента Арляпова В.А. приведены замечания технического характера. В 4 отзывах содержатся критические замечания. В отзыве ведущего научного сотрудника Научно-исследовательского

центра «БиоХимТех» ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет» к.х.н., доцента Каманиной О.А. содержатся 2 замечания: «1) В автореферате представлены кинетические кривые восстановления ТГХ экстрактами в присутствии субстратов цитрата калия, малата калия, глюкозы, лактата калия и этилового спирта. Однако, не обоснован выбор именно этих веществ; 2) В работе получены наибольшие токовые отклики при использовании медиаторов бензохинона, метиленового синего и гексацианоферрата (III) калия. Однако особенности кинетики медиаторного биоэлектродокаталитического окисления глюкозы исследуемыми экстрактами изучены лишь при использовании феррицианида калия». В отзыве профессора ФГБОУ ВО «НИУ «Московский энергетический институт» д.х.н., доцента Щербакова А. В. приведено 1 замечание: «Известно, что интенсивный ультразвук повреждает макромолекулы ферментов за счёт разворачивания и агрегации нативных белков и повышает эндогенную протеолитическую модификацию. Автор не обсуждает, насколько воспроизводимы свойства грубого экстракта с учётом этого наблюдения. Ведь активность будет зависеть от структуры белков». В отзыве заведующего лабораторией ФГБОУ ВО Тульский государственный университет к.х.н., доцента Алферова С. В. содержатся 3 замечания: «1) Автор работы отмечает, что в диссертационном исследовании «рассматривается особый тип биокатализаторов, до сих пор не описанный в литературе <...>». Данное утверждение весьма спорно, т.к. подобные структуры ранее исследованы как биоэлектродокаталитизаторы, а результаты описаны в работах как иностранных, так и российских авторов; 2) <...> Почему в диссертации использовали редокс-краситель 2,3,5 – трифенилтетразолий хлорид, который обычно используют для качественного определения редокс-активности живых клеток? Кроме того, в таблице 3 приведены значения дегидрогеназной активности в разных единицах размерности, но нигде не указано, что принято за единицу активности в каждом случае; 3) При исследовании влияния рН буферного раствора <...> автором обнаружены два экстремума при рН 7,2 и 7,6, что является

неожиданным. Как автор может объяснить полученный результат?». В отзыве заведующего кафедрой аналитической химии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» д.х.н., профессора Евтюгина Г.А. приведены 3 замечания, одно носит технический характер и 2 критических: «1) Следовало более подробно выделить элементы новизны в получении грубых белковых экстрактов, поскольку метод ультразвуковой обработки суспензий микроорганизмов давно и успешно применяется для их лизиса и выделения белковых фракций; 2) <...> было бы полезно сопоставить характеристики биоэлектрокаталитического определения хотя бы нескольких субстратов с моноферментными системами в аналогичных условиях их окисления».

Диссертационный совет решил, что на все поступившие замечания соискатель Дмитриева М.В. дала полные и исчерпывающие ответы.

Выбор официальных оппонентов обосновывается на их общепризнанном авторитете в соответствующих областях химических источников тока и биоэлектрокатализа: д.х.н. Казаринов Иван Алексеевич является автором более 300 научных работ в области электрохимии химических источников энергии и, в том числе, биотопливных элементов; д.х.н. Решетилов Анатолий Николаевич является специалистом в области биоэлектрокаталитических систем, и автором более 400 научных работ по данной тематике. Выбор ИГУ в качестве ведущей организации обусловлен тем, что основное внимание в диссертации Дмитриевой М.В. уделено исследованию закономерностей медиаторного биоэлектрокаталитического окисления субстратов новым типом биоэлектрокатализатора для применения в биоанодах биотопливных элементов, что является одним из центральных направлений научной деятельности ИГУ, осуществляющего разработки в области биотопливных элементов, определению закономерностей их функционирования, влияния электродных материалов, мембран, типов биокатализаторов и различных добавок на их электрохимические характеристики.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных

соискателем исследований:

– предложен новый тип биоэлектродокатализатора – белковые экстракты, полученные ультразвуковым дезинтегрированием клеток *E. coli* и *S. cerevisiae*, которые могут быть использованы в качестве эффективных биоэлектродокатализаторов для окисления органических субстратов, а также установлены факторы, влияющие на их биоэлектродокаталитическую активность;

– доказано, что выбор редокс-медиатора оказывает существенное влияние на биоэлектродокаталитическую активность получаемых белковых экстрактов;

– изучена кинетика медиаторного биоэлектродокаталитического окисления глюкозы грубыми экстрактами и установлена лимитирующая стадия процесса – взаимодействие ферментов экстракта с медиатором, феррицианидом калия, а также установлены основные кинетические параметры процесса.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

– установлены закономерности медиаторного биоэлектродокаталитического окисления глюкозы и цитрата белковыми экстрактами, полученными из культуры *E. coli* на различных стадиях роста;

– определены оптимальные параметры осуществления медиаторного биоэлектродокаталитического окисления глюкозы белковыми экстрактами с максимальной скоростью;

– показана принципиальная возможность использования белковых экстрактов в качестве альтернативы чистым ферментам или живым микроорганизмам для проведения биоэлектродокатализа.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

– установлены основные факторы, определяющие эффективность электродокатализа с участием таких экстрактов: помимо природы медиаторной системы и субстрата, оптимальных температуры и pH среды, в качестве таких факторов также нужно учитывать концентрацию и тип буферной системы, инертность редокс-медиатора к компонентам раствора;

– предложена и апробирована новая конструкция двухэлектродного

биотопливного элемента с разделенными пространствами, позволяющая произвольно и независимо изменять состав биоанода.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что все экспериментальные результаты получены на современном сертифицированном оборудовании, воспроизводимы, согласуются с данными научной литературы. В работе использованы известные теоретические и методические подходы. Результаты работы прошли независимую экспертизу и опубликованы в рецензируемых журналах электрохимической направленности.

Личный вклад соискателя состоит в предложении идеи получения и применения нового типа биоэлектрокатализаторов в виде грубых белковых экстрактов, поиске и анализе научно-технической литературы, выполнении основных экспериментальных работ, обработке полученных данных и формулировке выводов. Постановка задач и выбор методов исследования, а также интерпретация результатов и их опубликование в научных журналах выполнены автором совместно с научным руководителем. В опубликованных в соавторстве патенте и статьях по результатам работы соискателем выполнены биохимические и электрохимические измерения, обработка результатов, написание первичных версий, редактирование переработанных версий.

В ходе защиты диссертации было высказано следующее критическое замечание: в работе отсутствует сравнение исследуемых грубых экстрактов *E. coli* ВВ с чистыми ферментными системами.

Соискатель Дмитриева М.В. согласилась с замечанием и привела собственную аргументацию: такое сопоставление действительно полезно и планируется его осуществить в дальнейшем, однако полный состав ферментов экстракта расшифровать пока не удалось, что затруднило проведение такого сравнения.

На заседании 24 июня 2024 года диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи по установлению закономерностей биоэлектрокаталитического окисления глюкозы неочищенными белковыми экстрактами *E. coli* и факторов, обуславливающих их эффективную работу в

составе биоанодов биотопливных элементов, имеющей значение для развития электрохимии биосистем,

присудить Дмитриевой Марии Валерьевне ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, из них 11 докторов наук по специальности 1.4.6. Электрохимия, участвовавших в заседании, из 13 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 12, против присуждения ученой степени – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета
д.ф.-м.н.



Кривенко Александр Георгиевич

Ученый секретарь диссертационного совета
к.х.н.

Шмыглева Любовь Вячеславовна

24.06.2024 г.