

Отзыв

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Хайровой Адели Шамилевны «Получение и исследование биологических и физико-химических свойств хитина, хитозана и их меланиновых комплексов из муhi *Hermetia illucens* на разных стадиях онтогенеза насекомого» по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы. Природный биополимер хитин и его деацетилированное производное хитозан широко используются во многих областях, начиная от биомедицины, фармацевтики, продуктов питания, сельского хозяйства и средств личной гигиены и заканчивая экологическим мониторингом и защитой окружающей среды. Основным источником для получения хитина и хитозана являются ракообразные. Несмотря на то что в последние годы запасы ракообразных увеличиваются за счёт их искусственного разведения, процесс возобновления израсходованных ресурсов происходит медленно. Кроме того, необходимость жестких условий на стадиях подготовки сырья осложняет технологию выделения хитина из экзоскелета ракообразных. Все это привело к расширению интереса к биотехнологическим исследованиям получения хитина и хитозана из альтернативных источников. На разных стадиях развития насекомого продукты его переработки могут содержать практически чистый хитин или хитин-меланиновые комплексы разного состава и служить источниками целого ряда ценных продуктов, поэтому **актуальность** диссертационной работы Хайровой Адели Шамилевны на тему: «Получение и исследование биологических и физико-химических свойств хитина, хитозана и их меланиновых комплексов из муhi *Hermetia illucens* на разных стадиях онтогенеза насекомого» не вызывает сомнений.

Научная новизна и теоретическая значимость работы. Разработаны методы выделения хитина и хитозана из черной львинки как нового уникального сырья: аморфного хитина - экстракцией фосфорной кислотой непосредственно из личинок и низкомолекулярного хитозана - посредством контролируемого ферментативного или кислотного гидролиза. Выявлены особенности биологической активности (субстратной, антибактериальной и противогрибной)

хитина и хитозана из *H. illucens* по сравнению активностью биополимеров из других источников. Впервые хитозан-меланиновые комплексы были охарактеризованы в виде ковалентных соединений, а не механической смеси этих биополимеров. Чистота полученных соединений убедительно подтверждена с помощью физико-химических методов и контроля содержания примесей. Установлены состав и высокий уровень сорбционных свойств хитин-меланиновых соединений, а также антиоксидантные и фотопротекторные свойства хитозан-меланиновых комплексов.

Практическая значимость работы заключается в обосновании перспектив нового источника хитина и его меланиновых комплексов и получении на их основе новых соединений. В результате выполнения работы разработана технология получения хитина, хитозана разной ММ из личинок, а хитин- и хитозан-меланиновых комплексов из кутикул куколок и подмора *H. illucens*. Разработаны рецептуры и исследованы солнцезащитные и антивозрастные крема с водорастворимым хитозан-меланиновым комплексом, выделенным из подмора насекомых. В целом, полученные в диссертации результаты являются предпосылкой комплексной переработки черной львинки в промышленном масштабе с получением ценных биологически активных веществ для практического применения в косметической, фармацевтической и других областях промышленности.

Рецензируемая диссертация построена по классической схеме: содержит введение, литературный обзор, экспериментальную часть с описанием материалов и методов, раздел результаты и обсуждение из 3-х глав, основные выводы по работе, заключение и список литературы из 153 наименований, причем, большая часть из них – из зарубежных источников. Работа изложена на 113 стр., включает 28 рисунков и 15 таблиц.

Рассмотрим основные научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в работе Хайровой А. Ш., степень их обоснованности и достоверности.

На основании глубокого анализа особенностей хитинсодержащего сырья из из мухи *Hermetia illucens* на разных стадиях онтогенеза насекомого выработаны

научно-обоснованные рекомендации при разработке технологической схемы получения хитина, хитозана и их меланиновых комплексов. Предложен способ выделения хитина из продуктов переработки черной львинки с помощью фосфорной кислоты, не требующий стадии обезжиривания, что значительно упрощает технологический процесс.

Установлено, что характеристики хитина и хитозана как субстратов различных хитинолитических ферментов существенно различаются. Путем ферментативного и кислотного гидролиза был получен изкомолекулярный хитозан с заданными молекулярными массами и исследована его биологическая активность.

Антибактериальное действие образцов хитозана из разных источников было изучено на двух культурах бактерий – *E. coli* и *S. epidermidis*, а противогрибковое - на двух основных фитопатогенах *B. cinerea* и *F. oxysporum*. Установлено, что хитозаны, полученные из личинок черной львинки, подавляют метаболическую активность *F. oxysporum* <50% при меньшей концентрации, чем хитозан из панцирей краба. Показана слабая зависимость биологической активности от ММ низкомолекулярного хитозана.

Разработаны технологии получения хитозан-меланинового и хитин-меланинового комплексов из подмора *H. illucens*, причем впервые меланиновый комплекс получен в виде ковалентно-связанного с хитозаном продукта.

Таким образом, в ходе диссертационного исследования получен ряд ценных биополимеров - хитин, хитозан, а также их меланиновых комплексов из мухи черная львинка на разных стадиях развития насекомого, изучены их физико-химические свойства и биологическая активность. Охарактеризован состав и молекулярные характеристики полученных биополимеров и их комплексов

Показана совместимость хитозан-меланинового комплекса с рецептурами солнцезащитных и антивозрастных кремов, обеспечивающая стабильность эмульсионных композиций. Комплекс проведенных исследований позволил автору разработать рецептуры кремов, обладающих солнцезащитными и антивозрастными свойствами. Убедительно показано, что применение разработанного крема с

хитозан-меланиновым комплексом антиоксидантного действия оказывает длительное увлажняющее и смягчающее действие.

Достоверность результатов подтверждается воспроизводимостью и взаимной дополняемостью экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов исследования: кондуктометрии, вискозиметрии, ВЭЖХ, ДСК, ЭПР, динамического светорассеяния, ИК- и ЯМР спектроскопии, методов определения ферментативной активности, радиометрических исследований.

Значимость результатов для науки и производства. Проведенные исследования позволили Хайровой А.Ш. разработать технологию выделения ряда значимых биополимерных продуктов из хитинсодержащего сырья из отходов переработки насекомого черная львинка на кормовые продукты. Появление нового способа утилизации отходов позволит повысить эффективность всей технологии выращивания *H. illucens*. Полученные материалы показывают потенциал для их применения в качестве сорбентов для очистки природных вод от радионуклидов, а также для создания косметических средств. Предложенные подходы могут быть использованы для разработки новых источников полисахаридов хитина и хитозана и создания продуктов на их основе, что открывает большие перспективы для продолжения исследований в данном направлении.

Автореферат диссертации полностью отражает основное содержание работы. Содержание исследований в диссертации и автореферате изложено кратко и лаконично, что облегчает прочтение диссертации, однако некоторые обнаруженные закономерности просто констатируются без интерпретации полученных результатов, поэтому в ряде случаев требуются пояснения:

1. В чем заключается преимущество хитинсодержащего сырья из *H. illucens* по сравнению с традиционными источниками получения биополимера?
2. Чем обусловлена значительно большая активность хитинолитических ферментов по отношению к хитину и хитозану чёрной львинки по сравнению с аналогичными азотсодержащими полисахаридами краба? Молекулярными характеристиками, структурными особенностями, размером частиц хитозана?

3. Обнаружена экстремальная зависимость кинетики сорбции уранил-ионов хитин-меланиновым комплексом. Обычно кинетические закономерности сорбции описываются кривыми с насыщением, а экстремальные зависимости имеют место в случае влияния на процесс разнонаправленных факторов. Каких в данном случае?
4. Среди исследованных природных полимерных комплексов хитина и меланина выделенный из *N. illucens*, обладает наивысшими сорбционными характеристиками. С чем это связано? Обсуждение процесса сорбции ионов радиоактивного стронция и соединений урана в диссертации происходит в отсутствии кинетических кривых и изотерм сорбции, обычно сопровождающих эксперименты по изучению сорбционных свойств.

В работе имеются неудачные, по моему мнению, выражения: «менее стерически затрудненные» ацетильные группы, «дезацетилирование» (такое обозначение процесса давно не используется), материя – для обозначения продукта не полного деацетилирования хитина (более удачно-материал, субстанция, продукт, полукартион, фракция и др.)

Сделанные замечания и вопросы не сказываются на общей оценке диссертации Хайровой А. и не умаляют достоинств работы как планомерного детального исследования, которое производит большое впечатление высоким уровнем проведенных исследований и значимыми научными результатами.

Выводы полностью отражают основные результаты диссертационной работы, ее научную и практическую значимость. По теме диссертации опубликована 21 научная работа, в числе которых 5 статей в журналах, индексируемых в базах данных WoS, SCOPUS и RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова, 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК. Получено 3 патента РФ.

Заключение

Диссертационная работа Хайровой А. Ш., представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной квалификационной научно-исследовательской работой, в которой решена актуальная для биотехнологии задача утилизации хитинсодержащего сырья из насекомых и одновременного создания научных основ эффективной технологии получения природных полимеров.

Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по биологическим наукам, а также критериям, определенным пп.2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно приложениям 5,6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Считаю, что автор работы Хайрова Аделя Шамилевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор химических наук
(05.17.06–Технология и переработка полимеров и композитов), профессор, заведующая кафедрой химии и технологии полимерных материалов и нанокомпозитов ФГБОУ ВО «РГУ им.

А.Н. Косыгина»

Кильдеева Наталия Рустемовна

2022г.

Место работы: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)»

Адрес организации: 115035 Москва, ул. Садовническая, д. 33, стр.1