

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора біологічних наук, професора, декана факультету біомедичної
інженерії Національного технічного університету України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

ГАЛКІНА ОЛЕКСАНДРА ЮРІЙОВИЧА

на дисертаційну роботу аспіранта кафедри технології біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології
Національного університету «Львівська політехніка»

ЯНВАРЬОВА ЄГОРА БОРИСОВИЧА

на тему: *«Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання
мікробних полімерів та сурфактантів»*

подану на здобуття ступеня доктора філософії
за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія
у галузі знань 16 Хімічна та біоінженерія

Актуальність обраної теми дисертації

У сучасній біотехнології та економіці спостерігається зростаючий інтерес до біологічно активних сполук мікробного походження, зокрема біосурфактантів і біополімерів, які вирізняються функціональною активністю, екологічною безпечністю та розглядаються як перспективна альтернатива синтетичним аналогам. Біосурфактанти і біополімери перспективні для фармації, харчової промисловості, сільського господарства, вирішення екологічних проблем та інших технологій нового покоління. Попри високий потенціал, практична реалізація технологій мікробного синтезу таких продуктів лімітується численними труднощами: нестабільністю виходу, вартістю сировини, багатофакторністю процесів ферментації, залежністю результатів від особливостей кожного штаму-продуценту.

Ці виклики обумовлюють потребу у нових шляхах проектування біопроцесів, які спрямовані на зменшення залежності від трудомістких лабораторних експериментів та керованість біотехнологічними параметрами. У цьому контексті особливого значення набуває розробка біоінженерних підходів, що поєднують математичне моделювання, статистичний аналіз та алгоритми оптимізації. Такі інструменти дозволяють проводити системну оцінку впливу факторів середовища на біосинтез, прогнозувати результативність під різні сценарії умов та мінімізувати витрати за рахунок економічних обмежень.

Тематика дисертаційної роботи Январьова Є. Б. спрямована на вирішення таких задач, отже, є актуальною. Вона спрямована на вирішення однієї з центральних проблем прикладної біотехнології – оптимізації виробництва практично цінних мікробних метаболітів з урахуванням як технологічних, так і економічних чинників. З огляду на актуальні запити індустрії щодо масштабованості та ресурсоефективності, дисертаційне дослідження має незаперечне наукове та прикладне значення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами та грантами

Дисертаційне дослідження Январьова Є.Б. виконане у межах планових науково-дослідних робіт кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка». Зокрема, робота безпосередньо пов'язана з тематикою НДР «Створення нових лікарських засобів фіто- та біопрепаратів» (держреєстраційний № 0119U101957), що засвідчує її інтегрованість у цільові напрями наукової діяльності закладу.

Тема дисертаційного дослідження відповідає пріоритетним напрямкам розвитку науки і техніки, визначеним у статті 3 Закону України «Про пріоритетні напрями розвитку науки і техніки», та Переліку пріоритетних тематичних напрямів наукових досліджень і науково-технічних розробок на період до 31 грудня року, наступного після припинення або скасування воєнного стану в Україні, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 30 квітня 2024 р. № 476.

Наукова новизна отриманих результатів

Дисертаційна робота містить результати, що мають ознаки наукової новизни як у виборі моделей, так і в способах їх застосування до різних сценаріїв мікробного синтезу. Уперше обґрунтовано і реалізовано диференційоване використання трьох типів математичних моделей залежно від структури експериментальних даних: методології поверхні відгуку для планованих експериментів, регуляризованої поліноміальної регресії другого порядку для даних з можливою кореляцією між компонентами середовища та регресії на основі гаусових процесів для випадків із обмеженим числом спостережень і відсутністю повноцінного дизайну експерименту.

Вперше для задач оптимізації біосинтезу полігідроксиалканоатів застосовано моделі на основі гаусових процесів з оцінкою стандартної похибки прогнозу та побудовою карт очікуваного покращення, що дозволяє оцінювати не лише значення цільових параметрів, але й рівень довіри до

моделі у кожній точці факторного простору. Це створює підґрунтя для застосування адаптивного підходу оптимізації експериментів на основі прогнозів моделі.

Запропоновано нові підходи до багатокритеріальної оптимізації процесу культивування, що дозволяє одночасно враховувати кілька цільових показників шляхом застосування обчислювальних алгоритмів пошуку компромісних рішень. Один із підходів полягає у включенні економічної складової у структуру функції бажаності, що дозволило враховувати витрати на компоненти поживного середовища під час пошуку оптимальних умов. У другому підході, побудовані функції бажаності були агреговані для декількох вихідних метаболітів, що дало змогу проводити оптимізацію у системах із конкуруючими критеріями.

Обґрунтовано використання регуляризованої поліноміальної регресії другого порядку для моделювання взаємозв'язків між факторами за умов наявності мультиколінеарності між компонентами середовища. Такий підхід забезпечив стабільність оцінок параметрів і збереження інтерпретованості моделі без зниження точності.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі

Висновки дисертаційної роботи спираються на експериментальні дані, отримані як у лабораторних, так і у виробничих умовах із залученням трьох різних штамів-продуцентів. Це дозволило охопити різні типи процесів біосинтезу за різних сценаріїв культивування. Застосовані підходи охоплюють як класичні методи експериментального дизайну, так і опрацювання нерівномірних масивів даних без чіткої структури, що демонструє гнучкість обраної дослідницької стратегії.

Оцінювання математичних моделей здійснювалося з використанням відповідних метрик точності, а аналіз значущості впливових факторів проведено на основі дисперсійного аналізу (ANOVA), що підтвердило статистичну обґрунтованість отриманих результатів.

Сформульовані у роботі рекомендації базуються на результатах моделювання, підтверджених експериментальними даними, і є достатньо обґрунтованими для практичного застосування в дослідницькій та прикладній біотехнології.

Під час написання дисертації автор дотримувався принципів наукової доброчесності. Поставлені в роботі завдання були успішно і повною мірою виконані.

Теоретичне і практичне значення отриманих результатів

Результати дисертаційної роботи мають цінність як для теоретичного обґрунтування процесів мікробного біосинтезу, так і для їх інженерного впровадження в умовах виробництва. Побудовані математичні моделі дозволяють формалізувати залежності між умовами культивування і виходом цільових метаболітів, включаючи ті випадки, коли експериментальні дані є обмеженими або неструктурованими. Це створює підґрунтя для застосування сучасного інструментарію моделювання у біотехнології без необхідності застосування класичного повного дизайну експерименту.

Запропоновані підходи можуть бути використані для прогнозування продуктивності штамів-продуцентів, аналізу чутливості до змін складу середовища, планування експериментів та оптимізації параметрів процесу. Реалізація багатокритеріальної оптимізації з урахуванням економічних чинників надає практичному користувачеві засоби для обґрунтованого вибору технологічних рішень з позицій як продуктивності, так і вартості.

Створені програмні модулі, реалізовані засобами мови Python, є відкритими та адаптивними до нових задач. Вони можуть бути повторно використані для моделювання інших біопроцесів при наявності відповідних вхідних даних. Практичне застосування результатів підтверджене використанням розроблених моделей у виробничому процесі (ТОВ «КАРПАТОЛ»), в дослідженнях Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л. М. Литвиненка НАН України, в освітньому процесі фахових кафедр університетів.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах

Результати дисертації викладено у 7 наукових працях, що відповідають темі роботи серед них 3 статті у фахових наукових виданнях України, що відповідають профілю спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Матеріали дисертації представлені на вітчизняних та міжнародних науково-практичних конференціях, за якими опубліковано 4 тези доповідей. Матеріал, наведений у публікаціях відображає зміст дисертації та узгоджується з результатами.

Структура та зміст дисертаційної роботи

Дисертаційна робота викладена на 200 сторінках, включає вступ, шість розділів основної частини, загальні висновки, список використаних джерел (178 найменувань) і додатки. Робота містить 11 таблиць і 31 рисунок.

Структура роботи є логічною та відповідає вимогам до кваліфікаційних наукових праць.

У вступі чітко сформульовано мету та завдання дослідження, обґрунтовано актуальність теми, наведено наукову новизну та практичне значення результатів. Огляд літератури систематизує сучасний стан знань щодо мікробного синтезу полімерів і біосурфактантів, включаючи методи їх моделювання та оптимізації.

У першому розділі проведено ґрунтовний огляд літератури, присвячений біотехнологічним аспектам синтезу мікробних полімерів і сурфактантів. Розглянуто основні класи сполук, умови їх одержання, чинники, що впливають на продуктивність мікроорганізмів, а також наведено огляд біоінженерних підходів до оптимізації процесів біосинтезу. Окрема увага приділена сучасним методам машинного навчання та обґрунтуванню їх застосування.

У другому розділі представлено характеристики об'єктів дослідження, умови культивування, методи кількісного визначення цільових метаболітів, а також опис аналітичних та інструментальних процедур, що використовувались у роботі. Детально викладено інструменти обробки даних, побудови моделей, оцінки їх точності, а також реалізації оптимізаційних алгоритмів. Наведено технічні аспекти реалізації розрахунків у Python, включно зі структурою побудови моделей.

У третьому розділі розглянуто ринкові передумови до оптимізації процесів мікробного синтезу. Наведено результати маркетингового аналізу ринку біосурфактантів, проведено SWOT-аналіз та обґрунтовано потребу у зниженні собівартості продуктів біотехнології шляхом застосування біоінженерних підходів для оптимізації біопроцесів.

Четвертий розділ присвячено багатофакторному моделюванню біосинтезу біосурфактантів штамом *Bacillus subtilis* GSP16 на основі даних, отриманих у виробничих умовах. Реалізовано моделі другого порядку за методологією поверхні відгуку, побудовано графіки впливу ключових факторів, виконано однокритеріальну, а також багатокритеріальну оптимізацію із врахуванням вартості середовища.

У п'ятому розділі подано альтернативні математичні підходи до моделювання синтезу біопродуктів у випадках, коли класичне планування експерименту відсутнє. Описано застосування регуляризованої поліноміальної регресії для моделювання синтезу метаболітів *Pseudomonas* sp. PS-17, а також регресії на основі гаусових процесів для опису залежностей у системі з участю *Rhodococcus ruber* UCM Ac-288. Наведено візуалізацію прогнозів, карт невизначеності, функцій бажаності та очікуваного покращення, що дозволяє оптимізувати проведення подальших експериментів.

У шостому розділі сформовано концептуальні засади побудови технологічного процесу синтезу продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17. Наведено принципову технологічну схему, описано послідовність основних операцій, а також окреслено можливості масштабування. Цей розділ є прикладним підсумком попередніх результатів і демонструє практичну реалізованість підходів, викладених у дисертації.

Робота побудована логічно, виклад є послідовним, а наукові положення є взаємопов'язаними між собою та повністю відповідають поставленим завданням.

Загальні висновки чітко сформульовані, базуються на експериментальних даних та результатах моделювання, а їхня інтерпретація узгоджується з сучасними підходами до раціонального проєктування біотехнологічних процесів з урахуванням як технологічних, так і економічних критеріїв.

Попри загалом високу якість виконаної роботи, слід звернути увагу на окремі недоліки, які носять уточнювальний і рекомендаційний характер:

1. У тексті наведено опис програмної реалізації моделей, однак не вказано, чи передбачено візуалізацію результатів у графічному інтерфейсі користувача. Для практичного впровадження моделей у виробничих умовах та на освітньому рівні варто розглянути створення базового інтерфейсу або документації до програмного модуля.
2. У вступі роботи описано сучасні проблеми біосинтезу, однак не згадано про глобальний тренд на використання відходів або побічних продуктів як субстратів. Оскільки частина даних стосується промислових виробництв, варто висвітлити це питання.
3. Технологічна схема одержання поверхнево-активних продуктів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (рис. 6.2) є недосконалою, оскільки не містить підготовчих стадій технологічного процесу. Ми розуміємо, що дані стадії не розглядалися дисертантом з позицій оптимізації, проте вилучення їх із схеми не є коректним.
4. Опис технологічного процесу одержання продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17 (підрозділ 6.2) містить посилання на низку літературних джерел, що не є типовим. Розділ 6 дисертаційного дослідження виглядав би кращим, аби дисертант передбачив окремий підрозділ, присвячений обґрунтуванню технологічних параметрів процесу – тоді посилання на відповідні літературні джерела виглядали би логічними.

Під час ознайомлення з дисертаційною роботою виникли також запитання, які можуть бути предметом уточнення:

1. В рамках підрозділу 4.7 (Кінетичне моделювання росту культури) дисертантом була проведена оцінка впливу концентрації гліцеролу на специфічну швидкість росту за допомогою моделей Моно та Халдейна. Чому саме ці моделі було обрано для порівняльного аналізу?
2. Чи вивчалась можливість застосування отриманих моделей у задачах зворотного проектування — тобто підбору умов середовища для заданого цільового значення виходу метаболіту?
3. У процесі побудови моделей Ви працювали з різними штамми-продуцентами. Чи розглядали Ви можливість створення уніфікованої математичної моделі, яка б охоплювала декілька штамів одночасно, із включенням біологічної варіативності як додаткового фактору?

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Отримані результати можуть бути використані для прогнозування й оптимізації біотехнологічних процесів у дослідних і виробничих умовах. Побудовані моделі дозволяють зменшити кількість експериментів, враховувати економічні обмеження та адаптувати параметри під потреби конкретного виробництва.

Розроблені інструменти вже впроваджені у діяльність ТОВ «КАРПАТОЛ», а також використовуються в академічних установах і навчальному процесі. Створені підходи мають потенціал для застосування в інших біотехнологічних системах із подібними задачами оптимізації.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Январьова Єгора Борисовича «Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання мікробних полімерів та сурфактантів» є завершеним науковим дослідженням, що поєднує експериментальні й аналітичні методи у вирішенні актуального прикладного завдання.

Робота характеризується науковою новизною, належним рівнем теоретичного обґрунтування, достовірністю результатів, практичною цінністю і повнотою викладення. Основні положення та висновки обґрунтовані, підтверджені експериментами та опубліковані у відповідних наукових виданнях. Зауваження, висловлені у відгуку, мають уточнювальний характер і не знижують загальної позитивної оцінки дослідження.

Дисертація Январьова Єгора Борисовича «Біоінженерні підходи до оптимізації процесів отримання мікробних полімерів та сурфактантів» відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44, із змінами і доповненнями № 341 від 21.03.2022 р., № 502 від 19.05.2023 р., а її автор Январьов Єгор Борисович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії у галузі знань 16 «Хімічна та біоінженерія» за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія».

Офіційний опонент:

Декан факультету біомедичної інженерії
Національного технічного університету України
«Київський політехнічний інститут
імені Ігоря Сікорського»,
д.б.н., проф.

Олександр ГАЛКІН

Підпис д.б.н., проф. Галкіна О.Ю. засвідчую:

Учений секретар
Національного технічного університету України
«Київський політехнічний інститут
імені Ігоря Сікорського»



Валерія ХОЛЯВКО