

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

**Державний обліковий номер:** 0823U101836

**Особливі позначки:** відкрита

**Дата реєстрації:** 15-12-2023

**Статус:** Наказ про видачу диплома

**Реквізити наказу МОН / наказу закладу:** Наказ про видачу диплома №17



## II. Відомості про здобувача

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Вороненко Андрій Анатолійович

2. Andrii Voronenko

**Кваліфікація:**

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Вид дисертації:** доктор філософії

**Аспірантура/Докторантура:** так

**Шифр наукової спеціальності:** 162

**Назва наукової спеціальності:** Біотехнології та біоінженерія

**Галузь / галузі знань:**

**Освітньо-наукова програма зі спеціальності:** Біотехнологія

**Дата захисту:** 02-02-2023

**Спеціальність за освітою:** Біотехнології та біоінженерія

**Місце роботи здобувача:** Акціонерне товариство "Київмедпрепарат"

**Код за ЄДРПОУ:** 00480862

**Місцезнаходження:** вул. Саксаганського, буд. 139, Київ, 01032, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** 670

**Повне найменування юридичної особи:** Національний університет харчових технологій

**Код за ЄДРПОУ:** 02070938

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 68, Київ, 01601, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:**

### **IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію**

**Повне найменування юридичної особи:** Національний університет харчових технологій

**Код за ЄДРПОУ:** 02070938

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 68, Київ, 01601, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:**

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:** Українська

**Коди тематичних рубрик:** 62.13.57, 62.09.39

**Тема дисертації:**

1. Біоконверсія суміші відпрацьованої олії та C2–C6–субстратів у мікробний екзополісахарид етаполан
2. Bioconversion of waste oil and C2–C6–substrates mixture into microbial exopolysaccharide ethapolan

**Реферат:**

1. Мікробні екзополісахариди (ЕПС) завдяки своїм фізико-хімічним властивостям та функціональним характеристикам впродовж десятиліть успішно використовуються в різноманітних галузях промисловості. При цьому справжнього комерційного успіху досягнули лише деякі з них (ксантан, декстран, пулулан та інші), а переважна більшість даних біополімерів продовжують перебувати на початкових стадіях фундаментальних досліджень та становлять виключно науковий інтерес. Головним чином це пов'язано з їхньою високою собівартістю та низькою концентрацією цільового продукту. Очевидно, що для вирішення даних проблем необхідно проводити пошук дешевої сировини для отримання полісахаридів та загалом здійснювати комплексну оптимізацію умов культивування. З літератури відомо, що одним з перспективних способів підвищення показників синтезу мікробних метаболітів являється використання суміші ростових субстратів. Дисертаційна робота присвячена встановленню особливостей інтенсифікації синтезу полісахариду етаполану при рості штаму *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 на суміші рафінованої соняшникової олії та C2–C6–субстратів (ацетат, етанол, меляса), а також дослідженню можливості заміни рафінованої олії у

змішаному субстраті на відпрацьовану. У дисертаційній роботі вперше продемонстровано можливість підвищення показників синтезу етаполану на суміші енергетично надлишкових субстратів. За молярного співвідношення концентрацій етанолу та рафінованої олії у суміші 1:0,056, максимально наближеного до теоретично розрахованого (1:0,076), концентрація полісахариду була у 2,6-2,8 разів вищою порівняно з такою на відповідних моносубстратах. У той же час на основі теоретичних розрахунків енергетичних потреб синтезу ЕПС і біомаси *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 на енергетично дефіцитному субстраті (ацетат) визначено, що молярне співвідношення концентрацій ацетату натрію та олії у суміші, за якого досягається максимальний синтез ЕПС, становить 1:0,13. Встановлено, що незалежно від типу С2-субстрату у суміші з олією під час культивування продуцента спостерігалось відхилення рН культуральної рідини від оптимального для синтезу етаполану рівня (7,0-8,0). Для стабілізації рН проведено заміну у середовищі амонійного джерела азоту, транспорт якого у клітини бактерій відбувається антипортом з протоном і супроводжується підкисленням культуральної рідини, на нітратне, що транспортується симпортом з протоном. Додаткове зниження початкової концентрації олії та С2-субстратів у середовищі культивування з наступним дробним внесенням у процесі вирощування продуцента на їх суміші супроводжувалося підвищенням синтезу полісахариду у 1,5-6 разів. Завдяки нейтралізації попередньо гідролізованої меляси у суміші з олією досягнуто додаткового підвищення показників синтезу етаполану на 20-25 %. Встановлено можливість заміни рафінованої соняшникової олії у суміші з ацетатом, етанолом або мелясою на різні типи відпрацьованої (після смаження картоплі, м'яса, овочів та змішаної після смаження різних продуктів). При цьому продемонстровано, що підвищення з 1,6 до 5,0 мМ вмісту катіонів магнію, які є активатором ацетил-КоА-синтетази – ключового ферменту С2-метаболізму у *Acinetobacter* sp. IMV B-7005, у середовищі з відпрацьованою олією та С2-субстратами супроводжувалося підвищенням синтезу етаполану на 11-58 %. Розроблено технології одержання етаполану на суміші відпрацьованої соняшникової олії та С2-С6-субстратів (ацетат, етанол, меляса), що включають: 1) вирощування інокуляту на моносубстраті відпрацьованій олії; 2) використання як джерела азоту нітрату калію; 3) підвищення у середовищі культивування вмісту  $Mg^{2+}$  до 5 мМ; 4) дробне внесення субстратів. Реалізація таких підходів дала змогу підвищити синтез етаполану до 16-18 г/л, що вище за показники, отримані на відповідних олієвмісних моносубстратах (12-14 г/л), або суміші глюкози (меляси) та С2-С4-субстратів (ацетат, етанол, фумарат) (10-14 г/л). Одержані результати засвідчують можливість розробки універсальної технології одержання етаполану на суміші відпрацьованої олії та С2-С6-субстратів, незалежної від типу та постачальника пересмаженої олії.

2. Due to its physicochemical properties and functional characteristics, microbial exopolysaccharides (EPS) have been successfully used in various industries for decades. At the same time, only some of them (xanthan, dextran, pullulan, etc.) have achieved a real commercial success, while the vast majority of these biopolymers are still in the initial stages of fundamental research and are of exclusively scientific interest. This is mainly due to their high cost and low concentration of the target product. Obviously, to solve these problems, it is necessary to search for cheap raw materials for the polysaccharides production and, in general, to carry out complex optimization of cultivation conditions. It is known from the literature that one of the promising methods for increasing the indicators of microbial metabolites synthesis is the use of a mixture of growth substrates. The dissertation is devoted to the establishment of the peculiarities of intensification of polysaccharide ethapolan synthesis during growth of the strain *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 on the mixture of refined sunflower oil and C2-C6-substrates (acetate, ethanol, molasses), as well as the investigation of the possibility of replacing refined oil in the mixed substrate with a waste one. In the dissertation, for the first time, the possibility of increasing the synthesis rates of ethapolan on the mixture of energy-excessive substrates was demonstrated. At the molar ratio of concentrations of ethanol and refined oil in the mixture of 1:0.056, as close as possible to the theoretically calculated (1:0.076), the concentration of polysaccharide was 2.6-2.8 times higher compared to that on the corresponding monosubstrates. At the same time, based on theoretical calculations of the energy requirements of EPS and biomass of *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 synthesis on the energy-deficient substrate (acetate) it was determined that the molar ratio of concentrations of sodium acetate and oil in the mixture, at which the maximum EPS synthesis was achieved, should be 1:0.13. It was established that regardless of the type of C2-substrate in the mixture with oil

during the cultivation of the producer, a deviation of the pH of the culture liquid from the optimal level for the ethapolan synthesis (7.0–8.0) was observed. In order to stabilize pH, an ammonium source of nitrogen, which transport into bacterial cells takes place by antiport with proton and is accompanied by acidification of the culture liquid, was replaced with a nitrate source, transported by symport with proton. An additional decrease in the initial concentration of oil and C2-substrates in the culture medium followed by fractional application during producer growth on their mixture was accompanied by an increase in polysaccharide synthesis by 1.5–6 times. Due to neutralization of the pre-hydrolyzed molasses in the mixture with oil, an additional increase in the parameters of the ethapolan synthesis by 20–25% was achieved. The possibility of replacing refined sunflower oil mixed with acetate, ethanol, or molasses with different types of waste oil (after frying potatoes, meat, vegetables, and mixed after frying various products) has been established. At the same time, it was demonstrated that an increase in the content of magnesium cations from 1.6 to 5.0 mM, which are an activator of acetyl-CoA synthetase – the key enzyme of C2-metabolism in *Acinetobacter* sp. IMV B-7005, in the medium with waste oil and C2-substrates, was accompanied by an increase in the ethapolan synthesis by 11–58%. Technologies for the ethapolan production on the mixture of waste sunflower oil and C2–C6–substrates (acetate, ethanol, molasses) have been developed, which include: 1) growing the inoculum on a waste oil monosubstrate; 2) using potassium nitrate as a nitrogen source; 3) increasing the content of Mg<sup>2+</sup> in the culture medium to 5 mM; 4) fractional application of substrates. The implementation of such approaches made it possible to increase the ethapolan synthesis to 16–18 g/l, which is higher than the indicators obtained on the corresponding oil-containing monosubstrates (12–14 g/l), or the mixture of glucose (molasses) and C2–C4–substrates (acetate, ethanol, fumarate) (10–14 g/l). The obtained results testify to the possibility of developing a universal technology for ethapolan production on the mixture of waste oil and C2–C6–substrates, independent of the type and supplier of refried oil.

**Державний реєстраційний номер ДіР:**

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:** Раціональне природокористування

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:** Широке застосування технологій більш чистого виробництва та охорони навколишнього природного середовища

**Підсумки дослідження:** Нове вирішення актуального наукового завдання

**Публікації:**

- Voronenko, A.; Ivakhniuk, M.; Pirog, T. Production of exopolysaccharide ethapolan by *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 on fried oil and oil-containing mixed substrates. *Banat's Journal of Biotechnology*. 2020, 11(22), pp 66–75. doi: 10.7904/2068-4738-XI(22)-66.
- Voronenko, A.; Pirog, T. Ethapolan synthesis by *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 on the mixture of C2–C6–substrates and waste sunflower oil. *Ukrainian Journal of Food Science*. 2021, 9(2), pp 259–268. doi: 10.24263/2310-1008-2021-9-2-12.
- Voronenko, A.; Pirog, T. Intensification of microbial exopolysaccharide ethapolan synthesis on the mixture of energy-excessive substrates. *Ukrainian Food Journal*. 2021, 10(3), pp 632–645. doi: 10.24263/2304-974X-2021-10-3-15.
- Пирог, Т.П.; Ярош, М.Б.; Вороненко, А.А. Синтез мікробних екзополісахаридів на нетрадиційних субстратах. *Наукові праці Національного університету харчових технологій*. 2021, 27(1), с 42–52. doi: 10.24263/2225-2924-2021-27-1-6.
- Вороненко, А.А.; Ярош, М.Б.; Пирог, Т.П. Біоконверсія відпрацьованої олії в мікробний екзополісахарид етаполан для природоохоронних технологій. *Наукові праці Національного університету харчових технологій*. 2020, 26(4), с 37–46. doi: 10.24263/2225-2924-2020-26-4-6.
- Pirog, T.P.; Voronenko, A.A.; Yarosh, M.B. Production of exopolysaccharide ethapolan under *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 cultivation on the mixture of acetate and sunflower oil. *Biotechnologia acta*. 2020, 13(4), pp 71–81. doi: 10.15407/biotech13.04.071.

- Вороненко, А.А.; Ярош, М.Б.; Пирог, Т.П. Особливості синтезу етаполану на суміші ацетату натрію та рафінованої соняшникової олії. Харчова промисловість. 2019, 25, с 14-21. doi: 10.24263/2225-2916-2019-25-4.
- Вороненко, А.А.; Івахнюк, М.О.; Пирог, Т.П. Синтез екзополісахариду етаполану на суміші меляси та соняшникової олії залежно від способу підготовки меляси. Наукові праці Національного університету харчових технологій. 2019, 25(3), с 42-48. doi: 10.24263/2225-2916-2019-25-4.

**Наукова (науково-технічна) продукція:** технології; методи, теорії, гіпотези

**Соціально-економічна спрямованість:** збільшення обсягів виробництва; поліпшення стану навколишнього середовища; економія матеріалів

**Охоронні документи на ОПВ:**

Винаходи, корисні моделі, промислові зразки

Пирог, Т.П.; Вороненко, А.А.; Ярош, М.Б. Спосіб одержання екзополісахариду. Патент України на винахід 120560, Груд 26, 2019.

**Впровадження результатів дисертації:** Впроваджено

**Зв'язок з науковими темами:** 0114U003437, 0119U001485

## **VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Пирог Тетяна Павлівна
2. Tetyana Pirog

**Кваліфікація:** д.б.н., професор, 03.00.20

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-3873-2253

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Національний університет харчових технологій

**Код за ЄДРПОУ:** 02070938

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 68, Київ, 01601, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:**

## **VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів**

**Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Тодосійчук Тетяна Сергіївна
2. Tetiana S. Todosiichuk

**Кваліфікація:** д. т. н., професор, 03.00.20

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-2274-599X

**Додаткова інформація:** 56159561800; <https://scholar.google.com.ua/citations?hl=uk&user=8u77AE0AAAAJ>

**Повне найменування юридичної особи:** Національний технічний університет України "Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського"

**Код за ЄДРПОУ:** 02070921

**Місцезнаходження:** проспект Берестейський, буд. 37, Київ, 03056, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Андріяш Ганна Сергіївна

2. Ganna Andriiash

**Кваліфікація:** к. б. н., 03.00.20

**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0001-7647-4091

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Київський національний університет імені Тараса Шевченка

**Код за ЄДРПОУ:** 02070944

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 60, Київ, 01033, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:**

**Рецензенти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Грегірчак Наталія Миколаївна

2. Nataliya Gregirchak

**Кваліфікація:** к.т.н., доц., 03.00.20

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Національний університет харчових технологій

**Код за ЄДРПОУ:** 02070938

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 68, Київ, 01601, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Красінько Вікторія Олегівна
2. Viktoriia Krasinko

**Кваліфікація:** к. т. н., доцент, 03.00.20

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:** Національний університет харчових технологій

**Код за ЄДРПОУ:** 02070938

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, буд. 68, Київ, 01601, Україна

**Форма власності:** Державна

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:**

## VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
голови ради**

Стабніков Віктор Петрович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
головуючого на засіданні**

Стабніков Віктор Петрович

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

Мельник Наталія

**Реєстратор**

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є  
відповідальним за реєстрацію наукової  
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна