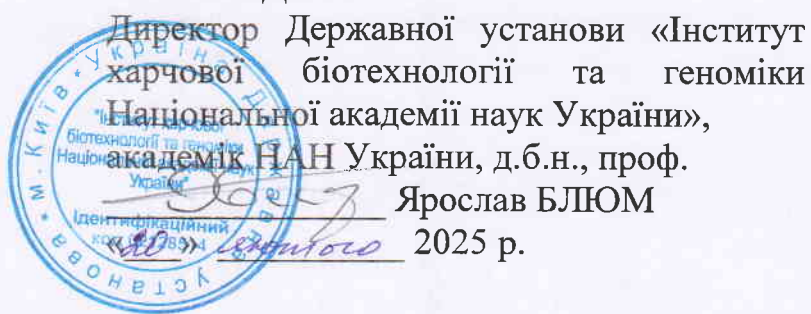


«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Директор Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України»,
академік НАН України, д.б.н., проф.

Ярослав БЛЮМ

2025 р.

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника лабораторії промислової та харчової біотехнології відділу геноміки та молекулярної біотехнології Державної установи «Інститут харчової біотехнології і геноміки Національної академії наук України» **Тігунової Олени Олександрівни** на тему **«Характеристика нових штамів *Clostridium* sp. – продуцентів біобутанолу та їх використання для АБЕ ферментації лігноцелюлозних субстратів»**, що подається на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Призначені рішенням вченої ради Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (протокол № 01 від 03 січня 2025 року) рецензенти, а саме:

Циганков Сергій Петрович – заступник директора з наукової роботи, доктор технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, професор за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія;

Чугункова Тетяна Володимирівна – головний науковий співробітник лабораторії проблем біобезпеки, доктор біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика, професор за спеціальністю 03.00.15 – генетика;

Пірко Ярослав Васильович – завідувач відділу популяційної генетики, доктор біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика, старший науковий співробітник за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика,

розглянувши докторську дисертацію **Тігунової Олени Олександрівни**

«Характеристика нових штамів *Clostridium* sp. – продуцентів біобутанолу та їх використання для АБЕ ферментації лігноцелюлозних субстратів» (тема дисертації затверджена вченою радою ДУ «ІХБГ НАН України», протокол № 10 від 14.07.2022 р., в остаточному вигляді протокол № 10 від 22.08.2024 р.), наукові публікації, в яких висвітлені основні наукові результати, а також результати розширеного фахового семінару відділу геноміки та молекулярної біотехнології ДУ «ІХБГ НАН України» (протокол № 2 від 12.02.2025 р.) **ухвалили:**

1. Дисертаційна робота Тігунової Олени Олександрівни «Характеристика нових штамів *Clostridium* sp. – продуцентів біобутанолу та їх використання для АБЕ ферментації лігноцелюлозних субстратів», представлена на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, є кваліфікаційною науковою працею на правах рукопису, яка за обсягом, актуальністю, рівнем наукової новизни та практичної цінності **відповідає** вимогам пунктів 7–9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 року.

2. Дисертація виконана на актуальну тему.

Сучасні біотехнології для отримання біопалива, в даному випадку бутанолу, сприяють використанню різноманітних джерел рослинної сировини, їх комплексній переробці для одержання економічного ефекту від виробництва біотехнологічних продуктів. Застосування продуктивних штамів мікроорганізмів, зокрема *Clostridium* sp., їх характеристика та визначення оптимальних умов їх культивування, використання дешевих поновлювальних субстратів – це важливі напрямки, які дозволяють створити біологічні технології отримання біопалива з урахуванням особливостей сировини, сприяють удосконаленню технологічних процесів та зниженню навантаження на довкілля. Доцільність використання незернової рослинної лігноцелюлозної біомаси як сировинного ресурсу пов'язана з її розповсюдженістю, високою відтворюваністю і практичною необмеженістю.

Пошуки нових мікробних продуцентів біобутанолу та дослідження, які присвячені використанню лігноцелюлозних субстратів для одержання біопалива, відповідають Закону України «Про альтернативні види палива», що і визначає актуальність дисертаційної роботи О.О. Тігунової. В цілому, актуальність досліджень О.О. Тігунової, які мають значення в галузі біоенергетики, підтверджується також фінансуванням за рахунок зовнішнього інструменту допомоги Європейського Союзу для виконання зобов'язань України у Рамковій програмі Європейського Союзу з наукових досліджень та інновацій «Горизонт 2020».

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» у рамках взаємопов'язаних цільової комплексної науково-технічної програми наукових досліджень НАН України «Біологічні ресурси і новітні технології біоенергоконверсії» (2013-2017 рр.) і цільової програми наукових досліджень НАН України «Біопаливні ресурси і біоенергетика» (2018-2022 рр.) та відомчих тематик лабораторії промислової та харчової біотехнології «Удосконалення технології біобутанолу з використанням альтернативних субстратів та вітчизняних штамів-продуцентів» (2013-2017 рр., № державної реєстрації 0113U005527); «Удосконалення технології отримання бутанолу на основі біомаси ріпаку з використанням вітчизняних штамів-продуцентів бактерій» (2018-2019 рр., № державної реєстрації 0118U005353), «Оцінка продуктивного потенціалу та біохімічного складу рослин і відбір цінних генотипів як вихідних форм для подальших селекційних робіт. Кількісна оцінка виходу компонентів рідких палив при переробленні соку та лігноцелюлозної частини зразків рослин. Удосконалення відібраних штамів-продуцентів біобутанолу з подальшим підвищенням біоконверсії субстрату» (2018-2022 рр., № державної реєстрації 0220U000419), «Створення штамів надпродуцентів вторинних метаболітів (амінокислот, спиртів, вітамінів)» (2019-2023 рр., № державної реєстрації 0119U101489), «Інтенсифікація накопичення бутанолу з

використанням різного виду рослинної сировини як субстрату та вітчизняних штамів-продуцентів» (2020-2022 рр., № державної реєстрації 0120U101706), «Розроблення технології ультразвукової дезінтеграції рослинної біомаси незернової частини врожаю сільськогосподарських культур» (2020-2022 рр., № державної реєстрації 0223U002212), «Кавітаційне обробляння лігноцелюлозної біосировини в отриманні біопалив другого покоління», яка виконувалась на замовлення Міністерства освіти і науки України (2023-2024 рр., № державної реєстрації 0123U102837) та фінансувалася за рахунок зовнішнього інструменту допомоги Європейського Союзу для виконання зобов'язань України у Рамковій програмі Європейського Союзу з наукових досліджень та інновацій «Горизонт 2020».

Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, які сформульовані в дисертації. Наукові положення і висновки, які сформульовані в дисертації, є достатньо обґрунтованими, що підтверджується їх відповідністю з аналізом отриманих даних та використанням у роботі різноманітних сучасних методів і підходів, які базуються на дослідженні літературних джерел.

У дисертаційній роботі використані сучасні методи дослідження: мікробіологічні (культивування мікроорганізмів, вивчення їх морфології методами світлової мікроскопії, виділення та визначення морфологічних особливостей колоній), хроматографічні (визначення концентрації розчинників за допомогою газової хроматографії), спектрофотометричні (визначення концентрації біомаси бактерій, визначення концентрації масляної кислоти), молекулярно-генетичні (виділення ДНК, горизонтальний гель-електрофорез ДНК, полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР), секвенування ДНК, конструювання рекомбінантного штаму), фізичні (іммобілізація), фізико-хімічні (кислотний, лужний, ензиматичний, ультразвуковий, термобаричний гідролізи), біоінформатичні (аналіз нуклеотидних та амінокислотних послідовностей, анотація генів, моделювання біосинтетичних шляхів *in silico*, філогенетичний аналіз амінокислотних та нуклеотидних послідовностей).

3. Результати дослідження дисертанта мають наукову новизну.

Вперше схарактеризовано штам-продуцент бутанолу *Clostridium* sp. UCM B-7570, секвеновано його геном та проведено філогенетичний аналіз. Інформацію про геном штаму передано до Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI, США) BioProject ID: PRJNA844305, BioSample accession: SAMN28812949. У базі даних GenBank зазначеному геному присвоєно реєстраційний номер CP112872.

Вперше виділено з природних джерел новий лігнолітичний штам *Streptomyces graminifolii*, визначено нуклеотидну послідовність гену 16S рРНК та проведено філогенетичний аналіз штаму. Послідовність гена 16S рРНК зареєстрована в базі даних GenBank за номером PQ283992.

Вперше проведено іммобілізацію штаму *Clostridium acetobutylicum* UCM B-7407 на різних носіях та визначено оптимальний носій іммобілізації для підвищення накопичення бутанолу у процесі культивування. Визначено оптимальні способи попередньої підготовки сировини для підвищення накопичення бутанолу.

Розроблено дизайн конструкції нового рекомбінантного штам-продуцента бутанолу. Проведено метаболомний аналіз конструкції штаму *Clostridium* sp. UCM B-7570 та показано, що видалення великої субодиниці гліцеролдегідратази (*dhaB*) за допомогою адаптованої ніказної системи *S. pyogenes* типу II CRISPR/Cas9 формує мутант, що виробляє бутанол як основний продукт.

Визначено нову схему бродіння у *Clostridium pasteurianum*, де, порівняно з вихідним штамом, відбулось збільшення біфуркації електронів у мутанта *dhaB* з 8 до 46 % в загальному потоці від кротоніл-KoA до бутирил-KoA та бутанолу.

4. Розробки дисертанта мають практичну цінність. У ході виконання

роботи автором схарактеризовано штам-продуцент бутанолу *Clostridium* sp. UCM B-7570 та отримано лігнолітичний штам *Streptomyces graminifolii*. Штами поповнили «Колекцію штамів мікроорганізмів та ліній рослин для

сільськогосподарської та промислової біотехнології Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України». Штам *Clostridium* sp. UCM B-7570 депоновано в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Секвеновано геном *Clostridium* sp. UCM B-7570. Показано, що в геномі містяться всі кластери генів, які відповідають за накопичення бутанолу, ацетону, етанолу і пропандіолу-1,3. Розроблено модель-конструкцію рекомбінантного штаму-продуцента бутанолу, яка може бути більш ефективною у виробництві.

Розроблено та протестовано різні способи попередньої підготовки лігноцелюлозної сировини та визначено оптимальний спосіб для кожного виду біомаси. Отримано два патенти на винахід: на пристрій для ультразвукового оброблення та на спосіб ультразвукової дезінтеграції незернової біомаси сільськогосподарських культур.

Результати дисертаційної роботи можуть знайти практичне впровадження в галузі комплексного та раціонального використання біологічних ресурсів, бути використані під час розробки технологій біопалива та експериментального обґрунтування можливості використання штамів *Clostridium* sp. та мікробних консорціумів для одержання біобутанолу. Крім того, результати дослідження макрокомпонентного складу сировини потенційно можуть становити інтерес для державних та комерційних установ, діяльність яких пов'язана з створенням інноваційних джерел енергії. Розробки в галузі технології отримання бутанолу за використання лігноцелюлозної сировини можуть бути запропоновані як базові при виробництві біопалив.

Матеріали дослідження можуть використовуватись широким колом наукової спільноти, науково-педагогічними працівниками, студентами, аспірантами, фахівцями-біотехнологами у навчальному процесі підготовки бакалаврів, магістрів, докторів філософії.

Відомості про проведення біоетичної експертизи дисертаційного дослідження. Біоетична експертиза матеріалів дисертаційної роботи Тігунової Олени Олександрівни «Характеристика нових штамів *Clostridium* sp. – продуцентів біобутанолу та їх використання для АБЕ ферментації лігноцелюлозних субстратів» проведена комісією з питань біоетики Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (протокол № 3 від 19 лютого 2025 року). Зазначена дисертаційна робота виконана без порушень міжнародних норм біоетики.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням. Автором самостійно сформульовано концепцію роботи, розроблено структуру, обґрунтовано мету та задачі роботи, розроблено дизайн дослідження, проведено пошук і аналіз літературних джерел, сформульовано основні положення та висновки. Експериментальна частина була виконана автором особисто або за безпосередньої участі.

Обговорення особливостей проведення досліджень, отриманих результатів та матеріалів до публікації проводилось з науковим консультантом доктором біологічних наук, професором С.М. Шульгою.

Наукові роботи опубліковано у співавторстві з д.б.н., проф., академіком НАН України Я.Б. Блюмом, д.с.-г.н., проф., членом-кореспондентом НАН України Рахметовим Д.Б., д.б.н., проф. С.М. Шульгою, д. т. н., проф. Братішко В.В., д.б.н., с.н.с. Прийомовим С.Г., к.б.н. Л.Б. Зеленою, к.б.н. Г.С. Андріяш та н.с. Н.Є. Бейко. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

5. Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи було апробовано на фахових конференціях: 7-th Congress of the all-Ukrainian public organization «Ukrainian society of cell biology» with international representation (Україна, Львів, 2024), International Scientific Conference Engineering for Rural Development (Jelgava, Latvia, 2024, 2023, 2022, 2021), XXIV міжнародна науково-практична конференція «Відновлювальна енергетика та

енергоефективність у XXI столітті» (Україна, Київ, 2023); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Біотехнологія XXI століття» (Україна, Київ, 2022); XVI International Summer School Conference Biology, Biotechnology, Biomedicine (Україна, Одеса, 2021); Всеукраїнській науково-практичній конференції пам'яті академіка Академії наук вищої освіти, професора Анатолія Володимировича Касперського «Актуальні проблеми та перспективи розвитку фундаментальних, прикладних, загально технічних та безпекових наук» (Україна, Київ, 2021); XV з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Україна, Одеса, 2017).

Дисертаційна робота Тігунової О.О. містить особисто отримані здобувачем науково обґрунтовані результати, а кількість та якість наукових праць опублікованих за її матеріалами відповідають вимогам наказу МОН України № 1220 від 23 вересня 2019 року «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук».

За матеріалами дослідження опубліковано 9 статей у наукових фахових виданнях, включених на дату опублікування до переліку наукових фахових видань України, 5 статей у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus (три – у виданнях **Q2-Q3**, дві статті – у виданнях **Q4**), розділи в двох монографіях, два патенти на винахід, 32 тез доповідей на наукових конференціях.

Повнота висвітлення матеріалів дисертації в публікаціях. Опубліковані роботи адекватно відображають основний зміст дисертації. Наукові праці, що розкривають основні наукові результати дисертації:

1. **Tigunova, O.O., Rakhmetov, D.B., Blume, Ya.B., & Shulga, S.M.** (2024). Biobutanol production using non-grain biomass *Sorgum saccharatum* as substrate. *Open Agriculture Journal*, 18, e18743315284161. doi: [10.2174/0118743315284161231228065512](https://doi.org/10.2174/0118743315284161231228065512) **Q3** (55 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті)
2. **Tigunova, O.O., Samborsky, M., Bratishko, V.V., Balabak, O.A., Zelena, L.B., & Shulga, S.M.** (2023). Main genome characteristics of butanol-producing

- Clostridium* sp. UCM B-7570 strain. *Journal of Applied Genetics*, 64 (3), 559-567. doi: [10.1007/s13353-023-00766-8](https://doi.org/10.1007/s13353-023-00766-8) Q3 (45 % авторства: ідея статті, узагальнення отриманих даних, участь у формулюванні висновків, написання статті)
3. **Tigunova, O.O.**, Bratishko, V.V., & Shulga, S.M. (2023). An increase in the production of butanol by *Clostridium* sp. cells under the influence of stress factors. *Cytology and Genetics*, 57 (3), 239-245. doi: [10.3103/S009545272303009X](https://doi.org/10.3103/S009545272303009X) Q4 (60 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті)
 4. **Tigunova, O.O.**, Bratishko, V.V., & Shulga, S.M. (2023). Apple pomace as an alternative substrate for butanol production. *AMB Express*, 13, 138. doi: [10.1186/s13568-023-01649-1](https://doi.org/10.1186/s13568-023-01649-1) Q2 (55 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті)
 5. **Tigunova, O.O.**, Kamenskyh, D.S., Tkachenko, T.V., Yevdokymenko, V.A., Kashkovskiy, V.I., Rakhmetov, D.B., Blume, Ya.B., & Shulga, S.M. (2020). Biobutanol production from plant biomass. *Open Agriculture Journal*, 14, 187-197. doi: [10.2174/1874331502014010187](https://doi.org/10.2174/1874331502014010187) Q4 (45 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті)

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **Tigunova, O.** (2024). Suitability of crude glycerol as a substrate for biobutanol production. *Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*, 20(6), 91-104. doi: [10.31548/dopovidi/6.2024.91](https://doi.org/10.31548/dopovidi/6.2024.91).
2. **Tigunova, O.O.**, Bratishko, V.V., Balabak, A.V., Pryomov, S.G., & Shulga, S.M. (2022). Acetone-butyl fermentation peculiarities of the butanol strain-producer. *Biotechnology Acta*, 15(1), 5-22. doi: [10.15407/biotech15.01.005](https://doi.org/10.15407/biotech15.01.005) (45 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті)
3. **Tigunova, O.O.**, Umanskiy, M.O., Bratishko, V.V., Balabak, A.V., & Shulga, S.M. (2021). Ultrasonic disintegration of lignocellulose raw materials as a pre-treatment of a substrate for cultivation. *Biotechnology Acta*, 24(5), 49-56. doi: [10.15407/biotech14.05.049](https://doi.org/10.15407/biotech14.05.049) (45 % авторства: ідея статті, узагальнення отриманих даних, участь у формулюванні висновків, написання статті).
4. **Tigunova, O.O.**, Andriash, H.S., Beiko, N. E., Zaharova, O.G., Pryiomov, S.H., & Shulga, S.M. (2019). Rape biomass (*Brassica napus*) as raw materials for biobutanol production. *Biotechnology Acta*, 12(1), 75-80. doi: [10.15407/biotech12.01.075](https://doi.org/10.15407/biotech12.01.075) (55 % авторства: ідея дослідження, проведення

дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).

5. **Tigunova, O.O.,** Andriash, H.S., Beiko, N. E., Melnik, I. V., & Shulga, S.M. (2017). Biobutanol accumulation using alternative substrates by cultivation of *Clostridium acetobutylicum* strains. *Biotechnology Acta*, 10(5), 48-56. doi: 10.15407/biotech10.05.036 (60 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).
6. **Tigunova, O.O.,** Beiko, N. E., Andriash, H.S., Priyomov, S.H., & Shulga S.M. (2017). Domestic butanol-producing strains of the *Clostridium* genus. *Biotechnology Acta*. 10(1), 34-42. doi: 10.15407/biotech10.01.034 (50 % авторства: ідея статті, узагальнення отриманих даних, участь у формулюванні висновків, написання статті).
7. **Тігунова, О.О.,** Андріяш, Г.С., Бейко, Н. Є., та Шульга, С.М. (2017). Філогенетичний аналіз штамів-продуцентів лізину, треоніну та бутанолу. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 21, 288-292. (30 % авторства: ідея статті, узагальнення отриманих даних, участь у формулюванні висновків, написання статті).
8. **Tigunova, O.O.,** Beiko, N.E., Kamenskyh, D.S., Tkachenko, T.V., Yevdokymenko, V.A., Kashkovskiy, V.I., & Shulga S.M. (2016). Lignocellulosic biomass after explosive autohydrolysis as substrate to butanol obtaining. *Biotechnology Acta*, 9(4), 28-34. doi: 10.15407/biotech9.04.028 (60 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті)
9. **Tigunova, O.O.,** Beiko, N.E., Andriash, A.S., Priyomov, S.G., & Shulga, S.M. (2016). Lyophilization effect on productivity of butanol-producing strain. *Biotechnology Acta*, 9(5), 24-29. doi: [10.15407/biotech9.05.024](https://doi.org/10.15407/biotech9.05.024) (45 % авторства: ідея дослідження, проведення дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті)

Патенти

1. Братішко, В.В., Шульга, С.М., **Тігунова, О.О.,** Уманський, М.О., Хмельовський, В.С., Михайлович, Я.М., Сівак, І.М., та Потапова, С.Є. (2023). Патент України 127729. Київ: Державне патентне відомство України. (10 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу)
2. Братішко, В.В., Шульга, С.М., Михайлович, Я.М., **Тігунова, О.О.,** Ребенко, В.І., Хмельовський, В.С., Потапова, С.Є., та Сівак, І.М. (2022). Патент України 125779. Київ: Державне патентне відомство України. (10 % авторства: аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу)

Розділи монографій

1. **Тігунова, О.О.,** та Шульга, С.М. (2024). Розділ 4. Удосконалення технології отримання біобутанолу на основі дослідження фізіологічних та біохімічних властивостей вітчизняних штамів-продуцентів. Розділ 5. Дослідження продуктивності штамів-продуцентів бутанолу у процесі зберігання. *Сорго цукрове (Sorgum saccharatum (L.) Moench) в Україні: біологія, продуктивність та використання на біопаливо* (59-71; 82-88). Ліра-К. (60 % авторства: ідея досліджень, проведення досліджень, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання розділів)
2. Шульга, С.М., **Тігунова, О.О.,** Братішко, В.В., та Блюм, Я.Б. (2024). *Біобутанол. Продуценти, субстрати, культивування та відновлення* (7-93; 127-222). Наукова думка. doi: [10.15407/978-966-00-1918-8](https://doi.org/10.15407/978-966-00-1918-8). (45 % авторства: ідея досліджень, проведення досліджень, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання розділів)

Публікації, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Tigunova, O.,** Bratishko, V., & Shulga, S.M. (2024). *Metabolomic analysis of the Clostridium sp. UCM B-7570 deletion mutant model*. Abstract of the 7th Congress of the all-Ukrainian public organization 'Ukrainian society of cell biology' with international representation, Lviv. 96. doi: [10.30970/uscb.2024](https://doi.org/10.30970/uscb.2024)
2. Bratishko, V., Tkachenko, T., Shulga, S., & **Tigunova, O.** (2024). *Chemical studies of parameters and composition of lignocellulose raw material samples of municipal origin*. Engineering for Rural Development. 23, 1008-1015. doi: [10.22616/ERDev.2024.23.TF205](https://doi.org/10.22616/ERDev.2024.23.TF205)
3. Bratishko, V. V., Shulga, S.M., & **Tigunova, O.O.** (2023). *Cavitation treatment of lignocellulosic biomass in the production of second generation biofuels*. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції A production of agriculture products based on smart technologies. Глеваха 2023. 162-165.
4. Bratishko, V., Shulga, S., **Tigunova, O.,** & Achkevych, O. (2023). *Ultrasonic cavitation of lignocellulosic raw materials as an effective method of preparation for butanol production*. Engineering for Rural Development. 23, 264-268. doi: [10.22616/ERDev.2023.22.TF053](https://doi.org/10.22616/ERDev.2023.22.TF053)
5. **Тігунова, О.О.,** Братішко, В.В., та Шульга, С.М. (2023). *Вплив попередньої підготовки незернової частини ріпаку на накопичення бутанолу штамом Clostridium sp.* Матеріали XXIV міжнародної науково-практичної конференції «Відновлювальна енергетика та енергоефективність у XXI столітті», Київ. 392-394.
6. **Тігунова, О.О.,** Братішко, В.В., та Шульга, С.М. (2023). *Біобутанол другого покоління – альтернативний вид біопалива*. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Продовольча та екологічна безпека в умовах війни та повоєнної відбудови: виклики для України та світу», присвячена 125 річчю

- НУБіП України, секція 5: інженерія, енергетика та інформаційні технології в умовах війни та післявоєнній відбудові країни, Київ. 259-261.
7. **Тігунова, О.О.,** Братішко, В.В., Прийомов, С.Г., та Шульга, С.М. (2022). *Ультразвукова дезінтеграція лігноцелюлозної сировини як попередня підготовка субстрату для культивування*. Матеріали XXIII міжнародної науково-практичної конференції «Відновлювальна енергетика та енергоефективність у XXI столітті», Київ. 268-269.
 8. **Тігунова, О.О.,** Братішко, В.В., Прийомов, С.Г., та Шульга, С.М. (2022). *Моделювання плазмиди для штаму-продуцента Clostridium sp. IMB B-7570 з надекспресією гену bdhA*. Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Біотехнологія XXI століття», Київ. 168-169.
 9. Bratishko, V., Shulga, S., **Tigunova, O.,** & Khmelovskyi, V. (2022). *Effective suspension layer in ultrasonic treatment of plant bioresources*. Engineering for Rural Development. 20, 166-171. doi: [10.22616/ERDev.2022.21.TF050](https://doi.org/10.22616/ERDev.2022.21.TF050)
 10. Bratishko, V.V., Tkachenko, T.V., Shulga, S.M., & **Tigunova, O.O.** (2021). *Results of composition analysis of non-grain part of major field crops in Ukraine*. Engineering for Rural Development. 20, 584-588. Doi: [10.22616/ERDev.2021.20.TF125](https://doi.org/10.22616/ERDev.2021.20.TF125)
 11. **Tigunova, O.O.,** & Shulga, S.M. (2021). *Butanol accumulation by butanol strains producers using apple pomace*. Proceedings XVI International Summer School Conference Biology, Biotechnology, Biomedicine, Odessa. 63-67.
 12. **Тігунова, О.О.,** Братішко, В.В., Андріяш, Г.С., та Шульга, С.М. (2021). *Накопичення бутанолу штамами-продуцентами на відходах лігноцелюлозної сировини*. Матеріали XXII міжнародної науково-практичної конференції «Відновлювальна енергетика та енергоефективність у XXI столітті». Київ. 910-912.
 13. **Тігунова, О.О.,** Андріяш, Г.С., та Шульга, С.М. (2021). *Накопичення бутанолу штамами-продуцентами при використанні яблучних вичавок*. Матеріали XXII міжнародної науково-практичної конференції «Відновлювальна енергетика та енергоефективність у XXI столітті». Київ. 916-918.
 14. **Тігунова, О.О.,** Братішко, В.В., Прийомов, С.Г., та Шульга, С.М. (2021). *Біобутанол – перспектива альтернативної енергетики*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції пам'яті академіка Академії наук вищої освіти, професора Анатолія Володимировича Касперського «Актуальні проблеми та перспективи розвитку фундаментальних, прикладних, загальнотехнічних та безпекових наук». Київ. 97-99.
 15. **Тігунова, О.О.,** Рахметов, Д.Б., Андріяш, Г.С., та Шульга, С.М. (2021). *Вплив температури зберігання на накопичення бутанолу ліофілізованим*

- штамом-продуцентом*. Матеріали XXII міжнародної науково-практичної конференції «Відновлювальна енергетика та енергоефективність у XXI столітті». Київ. 913-915.
16. Захарова, О.Г., Андріяш, Г.С., та **Тігунова, О.О.** (2020). *Виділення стрептоміцетів з ґрунтів різних регіонів України*. Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» присвяченої 135-річчю від дня народження Олександра Володимировича Палладіна. Київ. 147.
 17. **Тігунова, О.О.**, Андріяш, Г. С., та Рахметов, Д. Б. (2020). *Накопичення біобутанолу за використання сорго цукрового як субстрату*. Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» присвяченої 135-річчю від дня народження Олександра Володимировича Палладіна. Київ. 161.
 18. Братишко, В.В., Ребенко, В.И., Софієнко, В.С., Шульга, С.М., и **Тігунова, Е.А.** (2020). *Пути повышения кормовой и энергетической ценности незерновой части урожая сельскохозяйственных культур*. Сборник научных статей по материалам ххiii международной научно-практической конференции «Современные технологии сельскохозяйственного производства», Гродно, Беларусь. 223-225.
 19. Bratishko, V.V., Rebenko, V.I., **Tigunova, O.O.**, & Shulga, S.M. (2020). *Perspective ways to increase the feed and energy value of plant raw materials*. IV International Scientific and Practical Conference, Zhytomyr, Ukraine. 33-36.
 20. Захарова, О. Г., **Тігунова, О.О.**, Рахметов, Д. Б., та Рахметова, С. О. (2019). *Визначення складу сорго цукрового та його використання як сировини для культивування бутанолу*. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів і молодих вчених «Біотехнологія XXI століття» присвячена 185-річчю від дня народження Дмитра Івановича Менделєєва. Київ. 34.
 21. Ядрихінський, В.С., **Тігунова, О.О.**, та Литвинов, Г.С. (2018). *Оптимізація середовища для накопичення біомаси Clostridium acetobutylicum IMB B-7407*. Актуальні питання сучасної науки (частина III): матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції. Київ. 5.
 22. Zaharova, O. G., **Tigunova, O.O.**, Rahmetov, J., & Shulga, S. M. (2018). *Butanol accumulation by Clostridium sp. Using lignocellulose substrates*. III International scientific conference Microbiology and immunology – the development outlook in the 21st century. Kyiv. 112-113.
 23. Захарова, О., **Тігунова, О.**, Андріяш, Г., Рахметов, Д., та Рахметова, С. (2018). *Скринінг штамів-продуцентів бутанолу за використання сорго цукрового як субстрату*. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція. «Біотехнологія: досвід, традиції та інновації». Київ: НУХТ. 78.

24. Захарова, О.Г., **Тігунова, О.О.**, Андріяш, Г.С., Рахметов, Д.Б., та Рахметова, С.О. (2018). *Використання сорго цукрового як субстрату для біобутанолу*. VII Міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії». Київ. 42-43.
25. Захарова, О., **Тігунова, О.**, Андріяш, Г., та Бейко, Н. (2018). *Накопичення бутанолу штамом Clostridium sp. за використання біомаси ріпаку як субстрату*. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція. «Біотехнологія: досвід, традиції та інновації». Київ: НУХТ. 77.
26. Ядрихінський, В.С., **Тігунова, О.О.**, та Литвинов, Г.С. (2018). *Виділення гену бутанол-дегідрогенази Clostridium acetobutylicum IMB B-7407*. Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Біотехнологія XXI століття». Київ. 103.
27. **Тігунова, О.О.**, Андріяш, Г.С., Бейко, Н.Є., та Шульга, С.М. (2017). *Пошук нетрадиційних субстратів для отримання біопалива*. Тези доповідей XV з'їзду товариства мікробіологів України ім С. М. Виноградського. Одеса. 288.
28. **Тігунова, О.О.**, Андріяш, Г.С., Бейко, Н.Є., та Шульга, С.М. (2017). *Відходи виробництва біодизелю як сировина для біобутанолу*. Збірка тез третьої конференції молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія». Київ. 58.
29. Мельник, І.В., **Тігунова, О.О.**, та Красінько, В.О. (2017). *Отримання біобутанолу на альтернативних субстратах*. Тези VI Міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія: звершення та надії». Київ. 220.
30. **Тігунова, О.О.**, Андріяш, Г.С., Забейда, О.Ф., та Круподьорова, Т.А. (2017). *Біоконверсія вищими грибами лігноцелюлозної сировини для отримання біобутанолу*. Матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Біотехнологія XXI століття». Київ. 133.
31. **Тігунова, О.О.**, Андріяш, Г.С., Круподьорова, Т.А., Забейда, О.Ф., та Рахметов, Д.Б. (2016). *Біоконверсія дрітovidного проса вищими грибами*. Матеріали XIII конференції молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів». Київ. 108-110.
32. **Тігунова, О.О.**, Андріяш, Г.С., та Прийомов, С.І. (2016). *Гліцерин як сировина для отримання біобутанолу*. Матеріали XIII конференції молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів». Київ. 110-112.

Отже, вимоги пунктів 8 та 9 «Порядку присудження та позбавлення

наукового ступеня доктора наук», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 року, виконані.

6. Оформлення дисертації відповідає діючим вимогам. Дисертація написана із коректним та адекватним використанням наукової термінології. Логічний та послідовний стиль викладення забезпечує доступність сприйняття матеріалу, узагальнюючих положень та висновків. Оформлення дисертації відповідає вимогам, що пред'являються до подібних робіт. Дисертація не містить секретних відомостей.

Дисертація Тігунової О.О. відповідає принципам академічної доброчесності, містить обґрунтовані висновки на основі одержаних особисто здобувачем достовірних результатів, характеризується єдністю змісту.

Дисертаційна робота Тігунової Олени Олександрівни «Характеристика нових штамів *Clostridium* sp. – продуцентів біобутанолу та їх використання для АБЕ ферментації лігноцелюлозних субстратів», відповідає паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія за такими напрямками досліджень:

- Розроблення наукових основ створення нових біотехнологій за допомогою методів молекулярної біології, генетичної і клітинної інженерії.
- Одержання й використання біомаси мікроорганізмів і продуктів мікробіологічного синтезу.
- Вивчення фізико-хімічних та біохімічних основ біотехнологічних процесів.

7. Загальний висновок. Дисертаційна робота Тігунової Олени Олександрівни «Характеристика нових штамів *Clostridium* sp. – продуцентів біобутанолу та їх використання для АБЕ ферментації лігноцелюлозних субстратів» відповідає паспорту спеціальності 03.00.20 – біотехнологія, є завершеною науковою працею, яка має теоретичне та практичне значення. Результати досліджень в повній мірі висвітлені в публікаціях автора.

Дисертаційна робота відповідає вимогам пунктів 7–9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого

постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 року та МОН України щодо докторських дисертацій.

Представлені у дисертаційній роботі результати мають практичне та теоретичне значення, направлені на вирішення цілей сталого розвитку в галузі відновлюваної енергетики, зокрема, запровадження екологічно чистих джерел енергії, сприяють збереженню навколишнього середовища.

Рекомендувати дисертаційну роботу кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника лабораторії промислової та харчової біотехнології Державної установи «Інститут харчової біотехнології і геноміки Національної академії наук України» Тігунової Олени Олександрівни на тему «Характеристика нових штамів *Clostridium* sp. – продуцентів біобутанолу та їх використання для АБЕ ферментації лігноцелюлозних субстратів» до захисту у спеціалізованій вченій раді з присудження наукового ступеня доктора наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

19.02.2025.

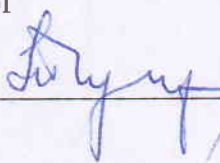
Рецензенти:

Заступник директора
ДУ «Інститут харчової
біотехнології та геноміки НАН України»,
доктор технічних наук, професор



Сергій ЦИГАНКОВ

Головний науковий співробітник лабораторії
проблем біобезпеки ДУ «Інститут харчової
біотехнології та геноміки НАН України»,
доктор біологічних наук, професор



Тетяна ЧУГУНКОВА

Завідувач відділу популяційної генетики
ДУ «Інститут харчової
біотехнології та геноміки НАН України»,
доктор біологічних наук



Ярослав ПІРКО

Власноручні підписи Сергія Циганкова, Тетяни Чугункової та Ярослава Пірка підтверджую.

Вчений секретар
ДУ «Інститут харчової
біотехнології та геноміки НАН України»,
доктор біологічних наук



Ярослав ПІРКО