

ОТЗЫВ

официального оппонента,

заведующего лабораторией микробиологии антропогенных мест обитания
Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального
государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»,
кандидата биологических наук

Литти Юрия Владимировича

на диссертационную работу Протасовой Елены Михайловны

**«ВЛИЯНИЕ АКРИЛАМИДА НА АМИДАЗОСОДЕРЖАЩИЕ БАКТЕРИИ
РОДОВ *ALCALIGENES* И *RHODOCOCCLUS* И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ
БИОДЕТЕКЦИИ ЭТОГО ТОКСИКАНТА»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.11. Микробиология

Актуальность темы диссертационного исследования. Акриламид (АА) является высокотоксичным соединением, широко используемым в промышленности и образующимся в пищевых продуктах при термической обработке. Его нейротоксичность, генотоксичность и потенциальная канцерогенность обуславливают необходимость контроля его содержания в окружающей среде и продуктах питания. Существующие методы детекции АА, такие как хроматографические, требуют дорогостоящего оборудования и сложной подготовки проб, что ограничивает их применение для оперативного мониторинга. В связи с этим разработка биосенсоров на основе микроорганизмов, обладающих амидазной активностью, представляет собой перспективное направление.

Кроме того, широкое использование полиакриламидов (ПАА) в различных отраслях промышленности требует решения проблемы их утилизации. Биodeградация с использованием микроорганизмов является экологически безопасным и экономически эффективным методом. Изучение физиологических и биохимических особенностей амидазосодержащих бактерий в контексте их устойчивости к АА и способности к деградации полимеров имеет важное теоретическое и практическое значение.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Протасовой Е.М. изложена на 116 страницах машинописного текста, содержит 22 рисунка и 7 таблиц. Список литературы включает 136 источников, из них 43 отечественных и 93 зарубежных. Структура работы традиционна: введение, обзор литературы, описание объектов и методов, результаты собственных исследований, заключение, выводы и список литературы.

Во введении четко сформулированы актуальность, цель и задачи работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту.

В первой главе «Обзор литературы» автором приведен глубокий анализ литературы, посвященной распространению АА в окружающей среде, его

токсичности, методам определения, а также современным подходам к созданию биосенсоров и иммобилизации микроорганизмов.

Во второй главе «Объекты и методы исследования» подробно описаны объекты и методы исследования, включая бактериальные штаммы, условия культивирования, методы оценки физиологической активности, иммобилизации клеток и определения операционной стабильности биокатализаторов.

В третьей главе «Результаты и обсуждение» диссертантом представлены результаты исследований, которые включают изучение влияния АА на энергетический статус, дыхательную активность, выживаемость и амидазную активность бактерий, а также разработку и испытание прототипа биосенсора.

В заключении автор представляет выводы по диссертации, которые отражают результаты исследований и отвечают поставленным задачам. Заключение сформировано логично на основании ранее представленных и обсужденных результатов исследований.

Список сокращений и условных обозначений состоит из 19 наименований.

Основные этапы работы, выводы и результаты представлены в автореферате. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации. Работа носит законченный характер, написана логично, стиль изложения отличается ясностью и доказательностью.

Степень обоснованности научных положений и выводов сформулированных в диссертации

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, хорошо обоснованы и подтверждены экспериментальными данными. Автором использован комплекс современных микробиологических, биохимических и биофизических методов. Результаты обработаны статистически, что повышает достоверность выводов.

Экспериментальные исследования проведены на достаточно высоком методическом уровне с использованием современных методов исследований, принятых в науке и в отрасли. В диссертации проведено обобщение и математическая обработка экспериментальных данных.

Использованные в диссертации методы исследований и постановки экспериментов, теоретические и практические разработки соответствуют цели и задачам работы. Представленные в работе научные положения и выводы обоснованы и подтверждены значительным объемом полученного экспериментального материала и проведенных испытаний.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Протасовой Е.М. является самостоятельной, выполненной соискателем, и направленной на решение актуальной научной проблемы, связанной с получением новых фундаментальных знаний о механизмах устойчивости и физиологического ответа амидазосодержащих бактерий на воздействие акриламида, а также с разработкой на этой основе

высокоэффективного и стабильного биотехнологического продукта – иммобилизованного биокатализатора для биодетекции данного токсиканта.

Работа обладает высокой научной новизной. Впервые всесторонне изучено влияние АА на физиологию бактерий родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus*. Показано, что АА не обладает мутагенной активностью в отношении прокариот. Разработаны стабильные биокатализаторы на основе иммобилизованных клеток, пригодные для длительного хранения и многократного использования. Впервые предложен прототип кондуктометрического биосенсора на АА с использованием иммобилизованных клеток *A. faecalis* 2.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты работы имеют важное теоретическое значение для понимания механизмов устойчивости бактерий к ксенобиотикам и могут быть использованы в разработке биотехнологий, связанных с биодетекцией и биodeградацией токсичных соединений. Практическая значимость подтверждена патентом РФ на изобретение и возможностью внедрения разработанного биосенсора для мониторинга АА в воде и пищевых продуктах.

Результаты диссертации докладывались и обсуждались на международных научных, научно-практических мероприятиях разного уровня, что подтверждает апробацию основных положений и результатов диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в т.ч. 2 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований; 2 статьи в российских журналах (Scopus, WoS); 1 патент РФ; 11 публикаций по материалам докладов на всероссийских и международных конференциях.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные в диссертации Протасовой Е.М. результаты открывают перспективы для практического применения в двух основных направлениях: создание портативных средств экспресс-детекции акриламида (биосенсоров) и разработка биологических методов очистки от этого токсиканта и его полимеров с использованием иммобилизованных амидазосодержащих бактерий.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации и автореферата:

Комментарии к автореферату:

1. На стр. 3 отмечается, что согласно US EPA, максимальная концентрация АА в окружающей среде не должна превышать 0,05%, а по требованиям РФ эта концентрация в тысячи и миллионы раз ниже. Интересно, почему такая разница?

2. В автореферате несколько раз используется слово «прокариотов». Правильно – «прокариот».

3. В автореферате на стр. 16 делается вывод: «Установлено, что использование агарозы в качестве матрицы для иммобилизации биокатализаторов является предпочтительным по сравнению с альгинатом бария». Это странно, с учетом более высокой активности в альгинате бария (сравнение табл. 4 и 5). Предпочтительнее по какому критерию?

4. В заключении несколько раз повторяется то, что «использование *E. coli* K12 TG1 (pXen7) в качестве тест-системы для мониторинга АА является нецелесообразным из-за отсутствия специфичности к этому соединению».

Комментарии к диссертации:

5. В разделе 1.2 перечислены методы определения АА. Было бы неплохо дать сравнительную таблицу, где можно было бы показать, насколько эффективны эти методы, указать пределы обнаружения АА, перечислить основные достоинства и недостатки классических методов и биосенсоров.

6. Выдвинуто предположение (раздел 3.1 (стр. 55-58), выводы по разделу (стр. 58), раздел 3.5 (стр. 65-66), Заключение (стр. 92)), что высокая устойчивость штамма *R. ruber* gt 1 связана с его высокой нитрилгидратазной активностью и селекцией в условиях действия акриламида. Однако прямое экспериментальное подтверждение этого механизма (например, сравнение с мутантным штаммом, лишенным нитрилгидратазной активности) в работе отсутствует. Следовало бы отметить это как предмет для будущих исследований.

7. В разделе 3.7 (стр. 68-75), посвященном деградации ПАА, констатируется изменение вязкости и рост бактерий. Однако прямых доказательств именно биodeградации полимерной цепи (например, хроматографического определения продуктов деструкции) не представлено. Снижение вязкости может быть связано и с другими факторами (например, выделение внеклеточных полимерных веществ, действующих как коагулянты и флокулянты). Автору следовало быть более осторожным в формулировках, используя "возможная деградация" или "свидетельствующее о потенциальной деградации".

8. В разделе 3.8 (стр. 75-82), посвященном иммобилизации, целесообразно было бы более подробно описать механизмы стабилизации клеток в различных матрицах (сейчас описание механизмов, объясняющих, почему одни носители работают лучше других, дано довольно сжато и фрагментарно).

9. Хотя преимущества разработанного биосенсора перед существующими аналогами указаны (использование непатогенных штаммов, простота конструкции), количественное сравнение его основных аналитических характеристик (чувствительность, предел обнаружения, время анализа) в сводной таблице с другими известными биосенсорами усилило бы работу. Желательно было бы провести сравнительный анализ эффективности предложенного биосенсора с существующими аналогами в условиях реальных проб.

10. В выводах можно было бы четче обозначить перспективы применения штаммов для деградации ПАА в промышленных условиях.

Хочу отметить, что приведенные замечания не снижают актуальности, научной новизны и практической значимости работы.

Общее заключение

Диссертация Протасовой Е.М. «Влияние акриламида на амидазосодержащие бактерии родов *Alcaligenes* и *Rhodococcus* и их применение для биодетекции этого токсиканта» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной для прикладной микробиологии и экологической биотехнологии задачи, касающейся создания научных основ для разработки новых, эффективных и экологически безопасных методов контроля и обезвреживания токсичного ксенобиотика, акриламида, с использованием специализированных

штаммов микроорганизмов.

Диссертация соответствует п. 5 «Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов» Паспорта научной специальности 1.5.11. Микробиология. Актуальность рассматриваемых вопросов, новизна, научно-практическая значимость полученных результатов, достоверность и обоснованность научных положений свидетельствуют о том, что диссертационная работа соответствует требованиям пп. 9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Протасова Е.М. заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

28.10.2025

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук (специальность 03.02.03 – Микробиология, 03.01.06 – Биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии)), заведующий лабораторией микробиологии антропогенных мест обитания Института микробиологии им. С.Н. Виноградского федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»

Литти
Юрий Владимирович



Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского
117312, г. Москва, пр-т 60-летия Октября, д. 7, корп. 2
Тел.: +7(499)135-12-29 доб.714, 89263699243
E-mail: litty-yuriy@mail.ru



Я, Литти Юрий Владимирович, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Протасовой Елены Михайловны, и их дальнейшую обработку.