

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Зориной Анастасии Сергеевны
«Биопленки нитрилгидролизующих бактерий *Alcaligenes faecalis* 2 и
Rhodococcus ruber gt 1 в процессах трансформации нитрилов и амидов
карбоновых кислот», представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Актуальность темы диссертации

В последние годы одним из актуальных направлений в современном биокатализе и биологической очистке является биологический гидролиз нитрилов карбоновых кислот. Биокаталитические технологии характеризуются рядом значительных преимуществ перед химическими технологиями. Среди таких преимуществ можно выделить экономический аспект, более «мягкие» условия протекания процесса (температура, pH, давление, неагрессивные среды), отсутствие побочных продуктов, селективность биокатализаторов и экологическая безопасность процесса.

Нитрилы являются широко используемыми продуктами органического синтеза. Применяются в промышленности в качестве растворителей, экстрагентов, сырья для получения лекарственных средств и др. Кроме техногенного происхождения, в окружающую среду поступают также биогенные нитрилы. Многие нитрильные соединения образуются в метаболических путях растений и могут в существенных количествах выделяться в почву и водную среду. Некоторые из нитрилов карбоновых кислот являются высокотоксичными соединениями (в частности, ацето- и акрилонитрил). Утилизация этих веществ осуществляется нитрилгидролизующими микроорганизмами, к которым относятся представители различных родов грибов и бактерий.

Актуальность изучения физиологических особенностей клеток нитрилгидролизующих бактерий в составе моно- и двувидовых биопленок определяется перспективой их использования в биотехнологических

процессах. Нитрилгидролизующие микроорганизмы давно применяются в биокатализе и биологической очистке. Однако, растущие требования к производственным процессам, ставят перед научным сообществом задачи более интенсивного развития технологий и методов, основанных на использовании в качестве катализаторов клеток микроорганизмов. Исследования в данной области ограничиваются применением иммобилизованных ферментов и клеток, в то время как биопленкам нитрилгидролизующих микроорганизмов уделяется мало внимания. Таким образом, вышесказанное позволяет заключить, что работа Зориной Анастасии Сергеевны является весьма актуальной.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы и логически вытекают из анализа результатов выполненных исследований.

Достоверность и новизна исследований и полученных результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом исследований, а также использованием современных методик, адекватных поставленным задачам, и не вызывает сомнения.

Впервые всесторонне охарактеризованы физиологические и ростовые параметры моно- и двувидовых биопленок нитрилгидролизующих бактерий: динамика роста, жизнеспособность, энергетический статус клеток, массивность полисахаридного каркаса матрикса, дисперсия клеток в оптимальных и неблагоприятных условиях. Показано взаимное влияние штаммов *Rhodococcus ruber* gt 1 и *Alcaligenes faecalis* 2 на биопленкообразование и устойчивость к разрушению.

Проведена трансформация ацето- и акрилонитрила в системе реактора погружного типа на основе двувидовых биопленок нитрилгидролизующих бактерий, выращенных на базальтовом волокне, активированных углеродных волокнах и смешанном носителе из чередующихся слоев базальтового и

углеродного волокна. Показана эффективность очистки воды от нитрилов в сконструированном реакторе на протяжении 3000 часов непрерывной работы.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций

На основании проведенных исследований Зориной А.С. получены экспериментальные данные, которые расширяют представление о физиологических особенностях клеток нитрилгидролизующих бактерий, растущих в прикрепленном состоянии. На примере двух высокопродуктивных штаммов нитрилгидролизующих бактерий показаны закономерности развития двувидовой биопленки, более выраженная жизнеспособность клеток, входящих в состав двувидовой биопленки, а также стабильность самой биопленки в условиях, отличных от оптимальных. Полученные данные могут служить теоретической основой для разработки биокатализаторов – смешанных биопленок как для получения органических веществ путем биохимической трансформации, так и для очистки сточных вод, содержащих повышенные концентрации токсичных веществ. Разработанный способ очистки воды от нитрилов карбоновых кислот в сконструированном реакторе погружного типа может иметь важное практическое значение для биологической очистки сточных вод. Предложенный биореактор может быть использован, например, в системе очистки стоков специализированных предприятий.

Содержание диссертации, ее завершенность, публикации автора в научной печати

Задачи диссертационной работы четко сформулированы и соответствуют поставленной цели. На защиту выносятся 3 положения, последовательно раскрывающие содержание работы, основанной на большом объеме данных, полученных в ходе собственных исследований диссертанта. Диссертационная работа логично структурирована, изложена понятно и четко. Последовательность представленного материала создает целостное представление о содержании диссертации. По отдельным главам и по работе

в целом приведены соответствующие выводы, отражающие полученные научные и практические результаты. К достоинствам диссертационной работы следует отнести корректно обоснованную теоретическую и практическую оценку полученных результатов, глубину проработки рассматриваемой предметной области. Текст диссертации изложен на 153 страницах машинописного текста, иллюстрирован 53 рисунками и 2 таблицами. Диссертация построена по традиционному типу и состоит из «Введения», «Обзора литературы», «Объектов и методов исследования», «Результатов», «Обсуждения» и «Заключения». «Выводы» кратко суммируют выполненные задачи и основные положения диссертации, выдвинутые на защиту, и отражают полученные автором результаты.

Анализ доступной литературы позволил диссертанту представить достаточно полные, объективные и современные научные сведения о состоянии изучаемой темы. Успешное применение современных микробиологических, биохимических и аналитических подходов и методов позволило выполнить диссертационную работу на достаточно высоком научном уровне. Несомненным практическим достоинством работы является экспериментальное подтверждение эффективности деградации акрило- и ацетонитрила в системе реактора погружного типа на основе биопленок нитрилгидролизующих бактерий, что открывает перспективы применения представленных биокатализаторов в промышленной очистке сточных вод от нитрильных и амидных соединений.

Список литературы включает 212 источников, из них 174 иностранных. Краткое содержание глав диссертационной работы, основные выводы и результаты представлены в автореферате диссертации, содержание которого адекватно отражает содержание диссертации.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, в достаточной мере опубликованы в научной печати и доложены на научных конференциях различного уровня. Список публикаций содержит 17 работ, в

том числе 5 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из них 3 публикации в журналах, входящих в базу Scopus и Web of Sciences.

Замечания и вопросы

1. В разделе 3.1 динамика роста биопленок была охарактеризована по трём параметрам: общему биопленкообразованию и массивности матрикса, оцененными при помощи окрашивания различными красителями, а также общему содержанию АТФ в клетках. Почему не использовали метод высева КОЕ, который является более универсальным и легким в использовании?
2. В работе достаточно большой раздел посвящён динамике трансформации акрило- и ацетонитрила двувидами биопленками, выращенными на базальтовых и углеродных волокнах, которые могут иметь разную форму от отдельных непрерывных волокон до спрессованных матов. В связи с чем возникает вопрос: какой именно формы использовалось волокно в данной работе? И в каком виде предполагается использование рекомендуемого биокатализатора на основе биопленок в промышленности; можно ли использовать другие носители для биопленок?
3. В таблице 2 посчитана эффективность деградации субстрата, выраженная в г/ч. Было бы также информативно и полезно привести количество оставшегося субстрата в % к общему объёму трансформированного субстрата.
4. В промышленности наиболее распространённым видом биологических очистных сооружений является аэротенк, который имеет большую окислительную способность, по сравнению с биофильтрами. В таком случае целесообразно использование вашего биофильтра в промышленности?

Заключение

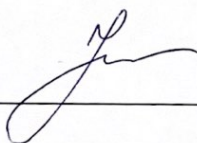
Диссертационная работа Зориной Анастасии Сергеевны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержатся сведения о физиологических особенностях клеток нитрилгидролизующих бактерий *Alcaligenes faecalis* 2 и *Rhodococcus ruber* gt 1 в составе моно- и двувидовых

биопленок, а также о перспективе использования данных биопленок в промышленности для получения коммерчески значимых соединений или очистки сточных вод от токсичных веществ, что имеет важное значение для развития микробиологической отрасли науки и полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842. Автор диссертационной работы заслуживает присуждения искомой степени кандидата наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

5.11.2020

Официальный оппонент,

доктор медицинских наук по специальности 03.00.07 – Микробиология
начальник отделения препаратов бактериотерапии АО «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» филиал в г. Пермь «Пермское научно-производственное объединение «Биомед»

 / Несчисляев Валерий Александрович/

Адрес: 614089, г. Пермь, ул. Братская, д. 17;
тел. +7(342)2628285; E.mail: neschislavew@gmail.com

Горюхов Н. В.
Начальник отдела

Несчислева В. А.
Удостоверено

Макушкин А. В.

