

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора химических наук, заведующего лабораторией молекулярной биоинженерии
Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Мирошникова Константина Анатольевича

на диссертацию **Зулькарнеева Эльдара Ринатовича**

**«Разработка средства деконтаминации и продления срока годности
охлажденной рыбы на основе бактериофагов»,**

представленную к защите в диссертационный совет Д 208.046.01 при ФБУН
«Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им.
Г.Н. Габричевского» на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальностям 03.02.03 – микробиология,
03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Диссертационная работа Э.Р. Зулькарнеева, представленная на защиту, посвящена созданию и тестированию биологического средства защиты пищевых продуктов от патогенных бактерий на основе бактериофагов. Биологические противомикробные средства – перспективное направление научного и технологического поиска в фармакологии, ветеринарии и пищевой промышленности. Проведенное комплексное исследование имеет очевидную актуальность, научную новизну и практическую значимость.

Обращает на себя внимание идеологическая целостность работы. Для достижения конечного результата, создания фагового препарата, активного против основных бактериальных патогенов, вызывающих порчу рыбных пищевых продуктов, был скомпонован обоснованный план исследований, разделенный на логичные экспериментальные этапы. Были выделены в чистую культуру и исследованы виды бактерий, ассоциированных с микробиологической порчей охлажденной рыбы, выделены вирулентные бактериофаги, получены их фенотипические и генетические характеристики, разработан состав на основе 6 бактериофагов, отлажена технология их культивирования. Далее была проведена оценка биобезопасности, стабильности, эффективности применения. В заключение был предложен метод обработки пищевых продуктов препаратом в промышленных условиях на базе ферелеводческого хозяйства. Используемые

Э.Р. Зулькарнеевым методы исследования обеспечили выполнение поставленных задач и научное обоснование выводов. Совокупность полученных экспериментальных результатов позволяет оценить работу Э.Р. Зулькарнеева как законченный научный труд с обоснованными выводами и научно-практическими рекомендациями.

Материал диссертации Э.Р. Зулькарнеева изложен на 157 листах текста и включает введение, обзор литературы, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы, список использованных литературных источников (188 источников), и справочное приложение. Работа иллюстрирована 35 таблицами и 26 рисунками.

Во введении автором обоснована цель исследований и определены задачи, сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту. Некоторое удивление вызывают приведенные в части «Введение» экспериментальные протоколы. Хотя это не противоречит требованиям, предъявляемым к структуре диссертационного манускрипта, более привычным и логичным было бы выделение отдельной части «Материалы и методы».

Обзор литературы представляет собой детальное изложение современных данных о патогенезе микробиологической порче рыбы, описание наиболее распространенных бактериальных патогенов, различных физических, химических и биологических методов деконтаминации пищевых продуктов, в том числе и концепцию обработки бактериофагами и опубликованные прецеденты ее использования. Обзор литературы характеризуется широтой рассмотренного материала и хорошей структурированностью.

Собственные исследования выполнены с использованием классических и современных методов микробиологии, молекулярной биологии и биоинформатики. Использован значительный объем обработанного биологического материала. Выполнены исследования наиболее распространенных патогенных бактерий, вызывающих микробиологическую порчу гидробионтов,

путем индукции митомицином отобраны штаммы, подходящие для размножения бактериофагов, проведена селекция, биохимическая и генетическая характеристика кандидатных бактериофагов, создана готовая форма препарата бактериофагов и оценена его биобезопасность. В заключительной части приведены данные о применении разработанного коктейля бактериофагов в условиях промышленно-конвейерной переработки форели. Резюмирование и обсуждение результатов исследований представлено в разделе «Заключение».

Пять выводов работы полностью соответствуют поставленным в начале работы задачам, точно отражают содержание работы, и позволяют считать основную цель работы вполне достигнутой. Научные положения, выносимые на защиту, в полной степени отражены в результатах работы и соответствуют паспортам заявленных специальностей 03.02.03 – микробиология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии). Приоритет научных исследований Э.Р. Зулькарнеева и их новизна закреплены заявкой на патент на состав, способ получения и метод применения технологического вспомогательного средства.

По теме диссертации автором опубликованы 4 статьи в изданиях перечня ВАК Минобрнауки РФ. Апробация работы проведена в виде представления на 3 международных и 5 российских научных конференциях. Опубликованные материалы и автореферат диссертационной работы Э.Р. Зулькарнеева «Разработка средства деконтаминации и продления срока годности охлажденной рыбы на основе бактериофагов» полностью отражают содержание диссертации.

В целом, диссертационная работа Э.Р. Зулькарнеева отличается научной новизной, логичной схемой проведенных исследований, качественными иллюстрациями, поясняющими результаты экспериментов. Не вызывает сомнений практическая значимость проведенной работы. Пилотные эксперименты по применению разработанного препарата бактериофагов, проведенные в условиях промышленного производства, показали эффективность метода биопроцессинга,

продлевая на 5 дней срок хранения охлажденной рыбы. По материалам исследований разработан проект научно-технической документации на технологическое вспомогательное средство для деконтаминации охлажденной рыбы. На этом основании можно далее совершенствовать разработку методов фагоконтроля сельскохозяйственного назначения с последующей их регистрацией.

При изучении текста диссертации возникает ряд вопросов и замечаний:

1. Насколько выделенные из проб рыбы изоляты бактерий каждого вида отражают штаммовое разнообразие? При использовании в составе фагового препарата всего по одному бактериофагу, специфическому для каждого из 6 видов целевых микроорганизмов, в течение очень короткого времени может возникнуть необходимость адаптации состава препарата к постоянно меняющемуся штаммовому составу патогена.
2. Насколько оправдана тщательная проверка биобезопасности фагового препарата на лабораторных животных с гистологическим контролем? Препарат предназначен для поверхностной обработки продуктов, которые в дальнейшем подвергаются термической обработке.
3. Разработанный метод культивирования бактериофагов на полутвердых средах позволяет достичь тактического выигрыша за счет повышенного титра фага. Однако по сравнению с традиционным методом жидкостной ферментации этот метод более трудоемок, плохо масштабируем и автоматизируем. Каким образом эту биотехнологическую проблему предполагается решать в перспективе промышленного внедрения?
4. На ряде графиков не отмеченные статистические интервалы полученных экспериментальных значений, поэтому сами графики имеют причудливую форму и менее убедительны.

Высказанные замечания, однако, не носят принципиального характера и не умаляют достоинств работы.

Заключение

Диссертационное исследование **Зулькарнеева Эльдара Ринатовича** «Разработка средства деконтаминации и продления срока годности охлажденной рыбы на основе бактериофагов», выполненное под руководством д.м.н., профессора Рубальского Олега Васильевича и д.б.н. Алешкина Андрея Владимировича, является научно-квалификационной работой, содержит новое решение актуальной научной задачи – увеличение срока годности охлажденной рыбы с помощью коктейля на основе бактериофагов.

По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований, настоящая работа полностью соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года №335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Зулькарнеев Эльдар Ринатович, достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 03.01.06 – биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии)

Официальный оппонент,
Заведующий лабораторией молекулярной биоинженерии
Федерального государственного бюджетного учреждения
науки «Институт биоорганической химии им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН» (ИБХ РАН),
117991, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10,
тел. 8(495)335-55-88, e-mail: kmi@ibch.ru
доктор химических наук,
Константин Анатольевич Мирошников

20.09.2017 г.

Подпись К.А. Мирошникова заверяю:

Ученый секретарь ИБХ РАН,
д.ф-м.н.
Владимир Александрович Олейников

