

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени доктора
физико-математических наук Близнюк Ульяны Александровны
«Новые подходы к развитию методов радиационной обработки
биологических объектов» по специальности 1.5.1. Радиобиология**

В диссертации У.А. Близнюк на основе комплекса исследований микробиологических, биофизических и химических показателей биологических объектов после воздействия ионизирующего излучения предложены новые подходы к выбору критериев оптимальных параметров излучения для радиационной обработки объектов. Выявлены два типа зависимостей «дозы-эффект» для показателей облученных биологических объектов животного и растительного происхождения, для которых найдена функциональная зависимость, позволяющая определить диапазон доз обработки, максимально подавляющий патогены при минимальном повреждении окружающих молекул. Анализ экспериментальных зависимостей изменения показателей биологических объектов выявил физические параметры излучения и свойства биологических объектов, влияющие на степень повреждения целевых и нецелевых биологических мишеней в результате воздействия ионизирующим излучением. Экспериментально показано влияние однородности распределения поглощенной дозы, распределения линейных потерь энергии, дозы облучения, типов биологических мишеней, а также физических, биофизических характеристик самого биологического объекта на результирующую эффективность его радиационной обработки. Предложен алгоритм планирования радиационной обработки биологических объектов, заключающийся в экспериментальном определении оптимального диапазона доз и в подборе параметров излучения, позволяющих для биологического объекта в заданными физическими характеристиками определить схему облучения, обеспечивающую обработку биологического объекта в требуемом диапазоне доз.

Для биологических объектов животного происхождения предложен подход к выбору оптимального диапазона доз, основанный на результатах мониторинга концентраций летучих органических соединений. На основании экспериментальные дозовых и временных зависимостей концентраций этанола и альдегидов,

образующихся при окислении липидов, и обнаруженных в биологических объектах после облучения и при дальнейшем хранении, установлен диапазон доз, в котором воздействие подавляет микроорганизмы и не приводит к интенсивному перекисному окислению липидов в объекте. Диапазоны доз, полученные, с одной стороны, на основе прямых измерений микробиологических показателей биообъекта, а также структурных и функциональных изменений белковых молекул, и, с другой стороны, путем измерений концентраций летучих соединений как показателей бактериальной активности и окисления липидов, хорошо согласуются между собой.

Разработанные математические модели, основанные на механизмах прямого и косвенного воздействия ионизирующего излучения на биологические объекты, учитывающие пострadiaционное развитие окислительных процессов и микробиологическую активность в объектах в течение длительного хранения после обработки, могут быть использованы при выборе критериев оптимальных параметров радиационной обработки биообъектов. Найденные летучие органические соединения, метмиоглобин, а также отдельные пептиды из аминокислотной последовательности бычьего сывороточного альбумина могут быть использованы в качестве потенциальных маркеров радиационного воздействия во избежание переоблучения биологических объектов при проведении промышленной радиационной обработки. Результаты апробации метода «отпечатков пальцев» для распознавания облученных и необлученных биологических объектов показали, что методика может быть использована для установления факта радиационной обработки биотканей растительного и животного происхождения. Показана перспективность использования низкоэнергетических электронов и рентгеновского излучения для поверхностной обработки биологических объектов.

Все вышеизложенные аргументы позволяют утверждать, что новизна, актуальность, научная и практическая значимость диссертации не вызывают сомнений.

Диссертационная работа изложена на 284 страницах печатного текста и включает 130 рисунков и 28 таблиц. Работа состоит из введения, 6 глав, заключения и приложения. Список литературы включает 464 наименования. По результатам

исследований опубликовано 27 работ, рекомендованных для защиты в Диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.1. – Радиобиология, при этом 10 из них опубликованы в рецензируемых научных изданиях первого и второго квартиля.

Во введении представлены объекты и методология проведенных исследований, приведены положения, выносимые на защиту, обоснована их актуальность, новизна, научная и практическая значимость, раскрыта степень достоверности полученных результатов. Показаны апробация полученных результатов и личный вклад автора диссертации.

В главе 1 представлены различные направления применения радиационных технологий в области промышленности. Приведены дозы, рекомендованные международными и российскими стандартами к применению для радиационной обработки различных типов пищевой и сельскохозяйственной продукции, материалов, полимеров, медицинских изделий. Даны характеристики источников ионизирующего излучения, разрешенных при радиационной обработке. Приведен обзор дозиметрических систем, применяемых для контроля интегральной дозы и распределения дозы, поглощенной биологическими объектами при облучении. Даны сводные таблицы характерных доз, необходимых для инактивации микроорганизмов, населяющих пищевую продукцию, объекты трансплантологии, приведены методы определения микробиологических показателей биологических объектов, обсуждаются физико-химические изменения в биологических объектах, инициируемые излучением. Представлен обзор и приведено сравнение методик выявления физико-химических изменений в биообъектах после воздействия излучения. Отдельно подчеркнута перспективность применения радиационных технологий в области сельского хозяйства. Приведены дозы и характеристики источников излучения, используемые в современных исследованиях российских и зарубежных авторов при обработке семенного материала сельскохозяйственных культур.

В главе 2 указаны объекты исследования, приведены схемы и параметры пучков электронов и рентгеновского излучения для облучения различных

биообъектов, применяемых в исследовании. Представлен алгоритм расчета дозы и характеристик излучения с использованием компьютерного моделирования, используемый в диссертации для дозиметрического контроля облучения исследуемых образцов биологических объектов. Приведена методика определения микробиологических показателей биообъектов, а также методика исследования профиля летучих органических соединений с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии, используемая в диссертации для химического анализа биотканей. Раскрыта методика спектрофотометрического анализа производных миоглобина в биотканях, а также приведена методология определения количества потенциальных повреждений нативной структуры белка бычьего сывороточного альбумина с использованием высокочувствительной жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией. Приведена методика кинетического флуориметрического метода «отпечатков пальцев» для различения облученных и необлученных биологических объектов. Приведена методология исследования биометрических, фенологических показателей, а также характеристик продуктивности сельскохозяйственных культур после обработки ионизирующим излучением.

В главе 3 диссертации представлены результаты оценки эффективности радиационной обработки биообъектов, сформулированы основные факторы, влияющие на результирующую эффективность обработки биологических объектов. Предложена концепция представления биологического объекта как совокупности целевых и нецелевых биомишеней. Представлены два типа зависимостей «доза-эффект», наблюдаемых при радиационной обработке биологических объектов. Показано влияние степени однородности облучения биообъектов на эффективность повреждения биомишеней. Рассчитаны аналитические зависимости, позволяющие рассчитать энергию излучения для обеспечения требуемой однородности облучения биообъекта с заданными физическими характеристиками.

В главе 4 рассмотрено влияние физических характеристик излучения, таких, как доза, мощность дозы, тип излучения и его энергетический спектр, на эффективность повреждения целевых биомишеней, а именно, микроорганизмов. рассмотрена оптимизация параметров радиационной обработки для инактивации

микроорганизмов. Получено, что выбор оптимальных параметров излучения для наиболее эффективного подавления микроорганизмов в биообъекте зависит от однородности облучения и распределения характеристик излучения (флюенс, линейные потери энергии) в биообъекте, от начальной обсемененности биообъекта, концентрацией влаги, температуры хранения биообъекта после обработки. Разработанная модель, рассчитывающая временную зависимость численности популяций микроорганизмов в биообъекте после радиационной обработки, позволяет определить дозы, при воздействии в которых суммарная численность популяций микроорганизмов за время хранения достигает заданного предельно допустимого уровня.

В главе 5 рассмотрено влияние физических параметров излучения на радиационно-химические превращения летучих органических соединений и структурные и функциональные повреждения белковых молекул в биообъектах. На основе механизмов радиационно-химических превращений летучих соединений в модельных суспензиях разработана модель, позволяющая описывать зависимости концентраций летучих органических соединений в биообъектах после воздействия излучения. Экспериментально обнаруженные дозовые и временные зависимости концентрации ряда альдегидов и спирта этанола, а также разработанная модель изменения концентрации альдегидов, являющихся продуктами окисления липидов, позволили определить диапазон доз, при воздействии в котором в биообъекте инактивируются микроорганизмы и при этом не инициируются цепные реакции перекисного окисления липидов. В качестве маркера окисления белковых молекул в биообъекте после воздействия ионизирующего излучения в работе был предложен метмиоглобин. Также с помощью ферментативного гидролиза трипсином были определены пептиды из аминокислотной последовательности бычьего альбумина, концентрация которых зависит от физических параметров излучения (доза, мощность дозы, тип излучения). В диссертации с помощью разработанного подхода к расчету функции оптимизации радиационной обработки были определены оптимальные диапазоны доз для заданных биообъектов. Установлено, что диапазоны, рассчитанные на основе концентраций летучих органических соединений, а также на

основе прямых измерений микробиологических показателей биообъекта и изменений белковых молекул, хорошо согласуются между собой. Также в диссертации в качестве маркера радиационного воздействия рассматривается скорость протекания индикаторных реакций с добавлением флуорофоров и окислителей, исследуемых в экстрактах необлученных и облученных биообъектов.

В главе 6 рассмотрено влияние обработки низкоэнергетическими ускоренными электронами и рентгеновским излучением семенного материала сельскохозяйственных культур на их прорастание, продуктивность и фитосанитарное состояние. Разработанный подход к определению оптимальных параметров радиационной обработки сельскохозяйственных культур позволил определить диапазон доз, улучшающий фитосанитарное состояние культур и не приводящий к значительному снижению их продуктивности. Для семян масличных культур были получены диапазоны доз обработки рентгеновским излучением и ускоренными электронами, увеличивающие скорость прорастания культур и одновременно подавляющие активность фитопатогенов.

В заключении кратко изложены основные результаты, полученные в диссертации.

В качестве замечаний хотелось бы отметить следующие моменты:

1. Встречаются опечатки и некоторые несогласования, например, стр.13 «Co⁶⁰ и Cs¹³⁷», стр. 18 «1895 — Открытие рентгеновских лучей Анри Беккерелем.» и т.п.

2. В Главе 2 описана методология исследования и после ее прочтения ожидался раздел с результатами, однако глава 3. «Физические основы методов повышения однородности радиационной обработки биологических объектов» включает подробное описание теоретического аппарата, который использовался при моделировании. На мой взгляд, этот раздел мог бы быть перенесен в анализ литературы.

3. Стр. 143. После анализа влияния дозы облучения ускоренными электронами на плесневые грибы, находящихся на разных питательных средах и зависимости концентрации *Aspergillus fumigatus* от дозы облучения D для различных

питательных сред, появляется фраза «В работах [387-391] по облучению гамма-излучением, генерируемым радиоизотопами ^{137}Cs и ^{60}Co , и ускоренными электронами свинины, курицы, куриного и говяжьего фарша с содержанием бактерий *E.coli* в концентрациях от 10^5 КОЕ/г до 10^9 КОЕ/г значения D_{10} увеличивались от 220 Гр до 630 Гр в зависимости от типа продукта, его температуры хранения и начальной концентрации бактерий. В нашем исследовании доза D_{10} увеличивалась от 200 Гр до 560 Гр при увеличении начальной концентрации бактерий от 10^3 КОЕ/г до 10^5 КОЕ/г, что хорошо согласуется с данными других авторов.». Расположение этого абзаца в тексте не очень понятно, так как обсуждение влияния дозы облучения быстрыми электронами на бактерии *Escherichia coli* было страницей выше.

4. Рис.4.11. Зависимость общей концентрации жизнеспособных клеток в облученных и контрольных образцах форели от времени после воздействия ускоренными электронами в различных дозах. С чем связан экстремальный характер зависимости при дозах 480 – 5600 Гр? С чем связано наличие самого высокого максимума при 480 Гр по сравнению с большими значениями доз? Почему на 15 суток происходило полное исчезновение жизнеспособных клеток во всех облученных образцах?

5. Существует ли связь между выживаемостью микроорганизмов и образованием летучих органических соединений в облученных продуктах?

6. В Главе 6 недостаточно приведено обсуждение результатов, а больше идет констатация фактов. Например, рис. 6.8. показывает зависимость концентрации восстанавливающих сахаров и кинетика прорастания необлученных клубней в зависимости от времени хранения. С чем связан экстремальный характер зависимости концентрации восстанавливающих сахаров от времени года: рост с 2,5 до 15 г/л в январе и спад с 15 до 5 г/л в феврале?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Можно утверждать, что данная междисциплинарная работа обладает как научной, так и практической ценностью.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.1 Радиобиология (по физико-математическим наукам), а также критериям п. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертация оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Близнюк Ульяна Александровна заслуживает присуждения ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.5.1 Радиобиология.

Официальный оппонент:
доктор химических наук,
доцент кафедры радиохимии химического факультета
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

ЧЕРНЫШЕВА Мария Григорьевна

Дата:


10.06.2024

Контактные данные: