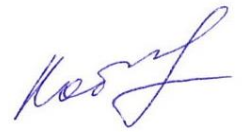


На правах рукописи



**КОБЕЛЕВ АЛЕКСЕЙ ВИТАЛЬЕВИЧ**

**АГРЕГАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ АКТИВНОГО ИЛА  
ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛЕКТИНСОДЕРЖАЩИХ СРЕД  
В ТЕХНОЛОГИЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД**

1.5.6. Биотехнология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Казань – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

**Научный руководитель:** доктор технических наук, профессор,  
**Сироткин Александр Семенович**

**Официальные оппоненты:** **Залётова Нина Анатольевна**, доктор технических наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Московский государственный строительный университет», профессор кафедры водоснабжения и водоотведения;

**Николаев Юрий Александрович**, доктор биологических наук, федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», заведующий лабораторией выживаемости микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь

Защита диссертации состоится 24 апреля 2024 г. в 14.00 на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.028.02, созданного на базе ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследований технологический университет», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68, зал заседаний Ученого Совета (А-330)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследований технологический университет» и на сайте [https://www.kstu.ru/event.jsp?id=152273&id\\_cat=141](https://www.kstu.ru/event.jsp?id=152273&id_cat=141)

Автореферат разослан «\_\_» марта 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
99.2.028.02



Хабибрахманова  
Венера Равилевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** В процессах очистки сточных вод ключевым является метод биологической очистки. В основе данного способа лежат процессы жизнедеятельности микроорганизмов в составе микробных агрегатов в виде взвеси – активный ил, и в виде прикрепленной биомассы – биопленки, использующих загрязняющие компоненты в качестве питательных веществ. Состав активного ила и биопленки напрямую зависит от концентрации и качества стоков, поступаемых в аэротенк или биофильтр.

Первым шагом к образованию микробных агрегатов, в частности, биопленок, является связывание микробных клеток с поверхностью субстрата (подложкой) и/или с поверхностью других клеток в популяции посредством адгезинов. К последним также относятся лектины, представляющие собой особую группу белков или гликопротеинов, которые способны высокоспецифично распознавать и обратимо связывать определенные углеводные структуры, не вызывая у них химических модификаций. Такое свойство лектинов отличает их от ферментов и других белков и делает их уникальными инструментами в решении различных медико-биологических и биотехнологических задач.

Агрегирование микроорганизмов и формирование устойчивых микробных сообществ в структуре агрегатов являются важнейшими феноменами, определяющими эффективность технологического процесса очистки воды. В связи с этим исследование факторов агрегирования микроорганизмов остается чрезвычайно актуальным и перспективным для управления и развития технологий биологической очистки сточных вод.

**Степень разработанности темы.** В настоящий момент значительный интерес представляют исследования, направленные на использование различного биологического сырья в качестве природных коагулянтов. Cheah Y. T., Fakhira Y. S. B. H., Derek C.J.C показали применение порошка из семян *Moringa oleifera* для улучшения качества сточных вод рыболовных хозяйств. В этом процессе важную роль играли лектины, содержащиеся в семенах и выступающие в качестве природных био-флокулянтов. Подобные работы также проводятся в Индии, где в качестве лектинсодержащего сырья используют семена клещевины *Ricinus communis*.

В литературе имеются отдельные сведения по выявлению роли и использованию лектинов бактериального происхождения и лектинсодержащих сред в технологиях биологической очистки для повышения эффективности процесса очистки. В частности, Chul Park и John T. Novak провели анализ экзополимеров, выделенных из активного ила, с оценкой их лектиновой активности и выявлением роли лектинов в составе экзополимеров в процессах агрегации и биофлокуляции активного ила.

Тем не менее, результаты анализа литературы показали, что роль бактериальных лектинов в составе внеклеточных полимеров в процессах биологической очистки сточных вод недостаточно изучена и, в силу большого прикладного значения данной тематики, необходимыми являются целенаправленные исследования, в том числе с формулировкой технических предложений по модернизации систем биологической очистки сточных вод с учетом роли лектинов как природных флокулянтов в составе биологических сред.

**Цель работы** состоит в исследовании процесса формирования микробных агрегатов – флокул активного ила и/или биопленки под влиянием лектинсодержащих биологических

сред (ЛСБС) для разработки технологических предложений по повышению эффективности процесса биологической очистки сточных вод.

#### **Задачи, решаемые в работе:**

1. Определить лектиновую активность культуральной жидкости (КЖ) модельных штаммов культур, являющихся представителями сообщества активного ила, на способность к агглютинации клеток различной природы.

2. Проанализировать накопление внеклеточных лектинов в КЖ на различных этапах периодического культивирования культуры *Bacillus subtilis* 534.

3. Оценить влияние лектиновой активности КЖ отдельных бактериальных культур (*Bacillus subtilis* 534, *Escherichia coli* М-17) на формирование микробных биопленок с использованием специфических красителей.

4. Получить изоляты активного ила очистных сооружений, исследовать их культурально-морфологические свойства и провести молекулярно-генетическую идентификацию перспективных изолятов.

5. Экспериментально оценить лектиновую активность КЖ выделенных культур, и накопление внеклеточных лектинов в составе КЖ в процессе периодического культивирования выделенных изолятов.

6. Оценить эффективность использования ЛСБС (КЖ изолята BS1, биологически очищенной сточной воды (БОСВ)) в качестве природных флокулянтов и сформулировать технические предложения по реализации процесса биологической очистки сточных вод в аэротенках, связанные с определением рециркулирующего расхода БОСВ для эффективного осаждения активного ила.

#### **Научная новизна работы**

Определены закономерности накопления внеклеточных лектинов в КЖ бактерий *Bacillus* sp. (изолят BS1) в процессе культивирования с получением образцов биопленки. Максимальная лектиновая активность (титр гемагглютинации (НА) = 8 ед.) отмечена во второй половине экспоненциальной – начале стационарной фазы микробного роста.

Получен ряд новых научных результатов по влиянию КЖ изолята BS1 и БОСВ на агрегацию хлопьев активного ила. Показана прямо пропорциональная зависимость между лектиновой активностью вносимых ЛСБС и условным диаметром хлопья активного ила (увеличение до 280 %), а также скоростью седиментации хлопьев активного ила (увеличение до 118 %).

Определены количества ЛСБС – КЖ изолята BS1 (0,25 % от объема активного ила) и БОСВ (5-10 % от объема активного ила) для повышения скорости седиментации активного ила на 118 % и 20 %, соответственно, при культивировании микробных агрегатов (биопленки и хлопьев активного ила) в процессах биологической очистки сточных вод.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы** состоит в следующем:

Разработаны научно-практические основы использования ЛСБС в качестве природных флокулянтов для интенсификации процесса осаждения активного ила в технологиях биологической очистки сточных вод.

Разработаны технологические рекомендации по повышению эффективности процесса биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод г. Зеленодольск от взвешенных веществ, улучшению седиментации активного ила с определением дозировки

(570 м<sup>3</sup>/ч) БОСВ (возвратного ила). Суммарная величина снижения затрат на очистку сточных вод объемом 1300 м<sup>3</sup>/ч, в среднем, может достигать около 1,181 млн. рублей в год за счет снижения затрат на потребления электроэнергии насосами, а также за счет снижения НДС и предотвращенного экологического ущерба окружающей среде.

Получен акт о намерении внедрения результатов диссертационной работы от АО «Зеленодольск-Водоканалсервис» (г. Зеленодольск) по изменению объема возвратного активного ила, обеспечивающего повышение скорости седиментации во вторичном отстойнике до 20 %.

**Методология и методы исследования.** В работе использованы классические методы, применяемые в микробиологии (выделение, культивирование и анализ свойств полученных изолятов и бактериальных агрегатов), биохимии (оценка лектиновой и дегидрогеназной активности; выделение и определение концентрации белка), генетике (молекулярно-генетическая идентификация гена 16S рНК микроорганизмов) а также технические методы для оценки характеристик активного ила (анализ процесса седиментации активного ила; расчет значения илового индекса).

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. КЖ всех исследуемых бактериальных культур проявляет лектиновую активность. Для культур *Bacillus* sp. (*Bacillus subtilis* 534, изолят BS1) максимальная лектиновая активность (титр НА = 4 и 8 ед., соответственно) отмечена во второй половине экспоненциальной – начале стационарной фазы роста культуры.

2. Внесение КЖ *B. subtilis* 534 и *E. coli* M-17 в качестве источника внеклеточных лектинов в среду культивирования изолята фосфатаккумулялирующих микроорганизмов (ФАО) увеличивает способность клеток к образованию биопленок на 15 % и 10 %, соответственно.

3. Внесение ЛСБС (КЖ изолята BS1, БОСВ) в суспензию активного ила обеспечивает увеличение условного диаметра хлопьев (УДХ) активного ила до 280 % и, как следствие, повышение эффективности его седиментации до 118 % по сравнению с контролем.

4. Внесение КЖ изолята BS1 (0,25 % от объема активного ила) повышает, в среднем, значение дегидрогеназной активности микроорганизмов активного ила на 7 %.

5. Уменьшение количества возвратного активного ила в аэротенке с 750 м<sup>3</sup>/ч до 570 м<sup>3</sup>/ч (или на 24 %), что соответствует среднечасовому расходу возвратного активного ила, равному 5 % от объема аэротенка, при прочих неизменных условиях процесса очистки, может обеспечить повышение эффективности осаждения активного ила до 20 %, снижение илового индекса на 10 %, увеличение времени пребывания сточной воды в аэротенке на 10 %, а также снижение затрат электроэнергии на перекачку возвратного ила.

**Степень достоверности и апробации результатов.** Достоверность результатов обеспечивается воспроизводимостью экспериментальных результатов, использованием комплекса стандартизированных методик их аналитического контроля и анализа, а также современных методов и оборудования для проведения экспериментальных работ.

Результаты работы были доложены на конкурсе научных работ «Жить в XXI веке - 2019», посвященному Международному году Периодической таблицы химических элементов (Казань, 2019 г.), на XVI Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии», посвященной 150-летию Периодической таблицы химических элементов

(Казань, 2019 г.), на XIII Всероссийской научной интернет-конференции (Уфа, 2019 г.), на конкурсе научных работ «Жить в XXI веке - 2020» (Казань, 2020 г.), на VII международной конференции молодых ученых OpenBio (Новосибирск, 2020 г.), на XXXIII зимней международной молодёжной научной школе (Москва, 2021 г.), на XV международной конференции «Кирпичниковские чтения» (Казань, 2021 г.), на XVI Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии» (Казань, 2022 г.), на VII Пушкинской конференции «Биохимия, физиология, и биосферная роль микроорганизмов», на конкурсе научных работ «Жить в XXI веке - 2022» (Казань, 2022 г.), на XVIII Международном форуме - конкурсе студентов и молодых ученых (Санкт-Петербург, 2022 г.), на XVIII Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии» (Казань, 2023 г.).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России для размещения материалов диссертаций, в том числе 1 из них – в журнале, включенном в международную базу данных Web of Science, 2 статьи в российских журналах (РИНЦ), 15 публикаций по материалам докладов на всероссийских и международных конференциях.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, списка литературы. Работа изложена на 107 страницах машинописного текста, содержит 25 рисунков, 17 таблиц и 149 наименований литературных источника, в т.ч. 40 зарубежных авторов, 2 приложения.

**Личный вклад автора** заключается в обсуждении целей и задач диссертации, постановки проблемы, выдвижением научных идей, разработкой стратегии исследования, организацией экспериментальной работы и непосредственным участием в ней, анализом и обсуждением полученных результатов, формулировании выводов, написании научных статей и представлении результатов и положений диссертации на конференциях.

Автор выражает благодарность профессору Сироткину Александру Семеновичу за научное руководство, аспиранту Клементьеву Святославу Владимировичу за помощь и сотрудничество в ходе проведения исследовательской работы, главному технологу биологических очистных сооружений г. Зеленодольск Сибиевой Линизе Марсовне за помощь в предоставлении необходимых данных и содействие в проведении экспериментальных исследований по изменению объема возвратного активного ила, за создание комфортных условий работы в процессе проведения опытно-промышленных испытаний, главному научному сотруднику института экологии и природопользования Казанского федерального университета Галицкой Полине Юрьевне за помощь в проведении процедуры идентификации бактериальных изолятов на основе анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК, а также коллективу кафедры промышленной биотехнологии Казанского национального исследовательского технологического университета за участие и оказание помощи на всех этапах выполнения диссертационной работы.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**В первой главе** проведено обобщение литературных данных по определению термина «лектин», классификации лектинов, их свойств и областей применения. Показана роль

лектинов в структуре и формировании биопленок, а также их перспективы применения в биотехнологии очистки сточных вод.

**Во второй главе** описаны объекты и методы исследования. Охарактеризован метод определения лектиновой активности КЖ исследуемых бактериальных культур (*E. coli* М-17, *B. subtilis* 534, *P. fluorescens* АР-33, изолята ФАО, нитрификаторов I и II фазы роста) с использованием клеток микроорганизмов (бактериальных, дрожжевых и клеток водорослей) в качестве объектов агглютинации, а также эритроцитов человека в качестве объектов гемагглютинации, и приведены результаты оценки лектиновой активности образцов КЖ. Представлены результаты периодического культивирования *B. subtilis* 534 с определением фазы роста, на которой проявляется максимальная лектиновая активность. Оценено развитие биопленок изолята ФАО под влиянием внесения КЖ бактериальных культур *E. coli* М-17 и *B. subtilis* 534 с использованием красителя генцианвиолета.

Описан метод выделения культур из активного ила биологических очистных сооружений АО «Зеленодольск-Водоканалсервис» (ЗВКС), г. Зеленодольск, Республика Татарстан. Получение накопительных культур изолятов, относящихся к бактериям *Acinetobacter* sp. и *Escherichia* sp., осуществляли высевом по методу Дригальского, разведенной БОСВ на селективные плотные питательные среды следующего состава (на 1 л): L-фенилаланин – 2,0-3,0 г, NaCl – 5,0 г, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 2,0 г, KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0 г, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 2,5 г, MgSO<sub>4</sub> – 0,1 г, агар микробиологический – 15 г.

Для получения накопительных культур изолятов, относящихся к бактериям *Bacillus* sp., БОСВ предварительно прогревали при T = 70 °C в течение 45 минут для обеспечения лизиса вегетативных клеток, а затем высевали на плотные питательные среды следующего состава (на 1 л): панкреатический гидролизат рыбной муки – 8 г, пептон сухой ферментативный – 8 г, NaCl – 4 г. Инкубация культур осуществлялась в термостате при 37±1 °C в течение 24-72 ч.

Изоляты, проявляющие высокое лектин-углеводное взаимодействие, были идентифицированы методом анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Оценка влияния ЛСБС (КЖ полученных изолятов, БОСВ) на характеристики активного ила (иловый индекс, доза ила, дегидрогеназная активность, скорость седиментации) проводилась по стандартным методикам. Описан метод выделения белков из БОСВ с помощью высаливания сульфатом аммония (80 % насыщение), с оценкой полученного белкового диализата на лектиновую активность и его влияния на скорость седиментации активного ила.

**В третьей главе** оценена лектиновая активность бактериальных культур и её влияние на формирование биопленок. Был проведен поиск наиболее активных бактериальных продуцентов внеклеточных лектинов. В ходе экспериментальных работ было выявлено проявление лектиновой активности внеклеточных лектинов в КЖ всех исследуемых изолятов при использовании различных объектов агглютинации (таблица 1).

Полученные результаты показали, что самым высоким титром активности лектинов обладала КЖ *B. subtilis* 534 (титр RA от 2 до 4 ед.). Внеклеточные лектины этих бактерий обуславливали бактериальную агглютинацию клеток практически всех исследуемых культур микроорганизмов (за исключением дрожжей *S. cerevisiae*). Следует отметить, что клетки изолята ФАО проявили способность к агглютинации под влиянием КЖ всем исследуемых

культур. Полученные результаты свидетельствуют о том, что поверхности клеток изолята ФАО присутствуют специфичные углеводные детерминанты для взаимодействия с внеклеточными лектинами в составе КЖ.

Таблица 1 – Лектиновая активность КЖ бактерий по отношению к клеткам микроорганизмов

Клетки КЖ	<i>E. coli</i> М-17	<i>B. subtilis</i> 534	<i>P. fluorescens</i> АР-33	Изолят ФАО	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Chlorella</i> sp.
<i>E. coli</i> М-17	РА 0 ед.*	РА 0 ед.	РА 2 ед.	РА 2 ед.	РА 0 ед.	РА 0 ед.
<i>B. subtilis</i> 534	РА 4 ед.	РА 0 ед.	РА 2 ед.	РА 4 ед.	РА 0 ед.	РА 2 ед.
<i>P. fluorescens</i> АР-33	РА 0 ед.	РА 0 ед.	РА 0 ед.	РА 4 ед.	РА 0 ед.	РА 0 ед.
Изолят ФАО	РА 0 ед.	РА 0 ед.	РА 2 ед.	РА 0 ед.	РА 0 ед.	РА 4 ед.
Нитрификаторы I фазы роста	—*	—	РА 0 ед.	РА 4 ед.	—	—
Нитрификаторы II фазы роста	—	—	РА 0 ед.	РА 2 ед.	—	—

РА – активность внеклеточных лектинов, ед. (титр) агглютинации (РА 0 ед.\* – реакция агглютинации не наблюдается; «←»\* – реакция агглютинации не проводилась.).

Также было оценено проявление лектиновой активности КЖ бактерий по отношению к эритроцитам крови человека в процессе реакции гемагглютинации (таблица 2). Полученные результаты показали, что практически все КЖ исследуемых микроорганизмов (за исключением культуры ФАО) проявляли способность к гемагглютинации эритроцитов.

Таблица 2 – Лектиновая активность КЖ бактерий по отношению к эритроцитам крови человека

КЖ	Эритроциты крови человека
<i>E. coli</i> М-17	НА 4 ед.
<i>B. subtilis</i> 534	НА 4 ед.
<i>P. fluorescens</i> АР-33	НА 4 ед.
Изолят ФАО	НА 0 ед.*

НА – активность внеклеточных лектинов, ед. (титр) гемагглютинации (НА 0 ед.\* – реакция гемагглютинации не наблюдается.).

На основании полученных результатов для дальнейших экспериментальных исследований в качестве источника внеклеточных лектинов была выбрана КЖ *B. subtilis* 534, в качестве объекта для агглютинации – клетки изолята ФАО.

Далее в работе изучалось накопление внеклеточных лектинов в процессе периодического культивирования *B. subtilis* 534. Изучение динамики накопления внеклеточных лектинов культурой *B. subtilis* 534 проводили на среде МПБ при температуре 37 °С.

Результаты исследования показали, что наиболее интенсивное образование внеклеточных лектинов наблюдается на 18-й час культивирования, соответствующий окончанию экспоненциальной - началу стационарной фазы роста. На протяжении всей стационарной фазы и последующей фазы отмирания наблюдалось снижение лектиновой активности (титр

РА = 2 ед.) в период с 22 по 28-й час культивирования, и она не была отмечена на 36-й ч культивирования (рисунок 1). Следует отметить, что выявленная зависимость изменения



лектиновой активности на различных этапах роста культуры коррелирует с литературными данными.

В четвертой главе было оценено формирование и развитие микробных биопленок в среде культивирования изолята ФАО, куда вносились КЖ и суспензии бактериальных культур *B. subtilis* 534 и *E. coli* М-17 (последняя – в качестве дополнительного контроля).

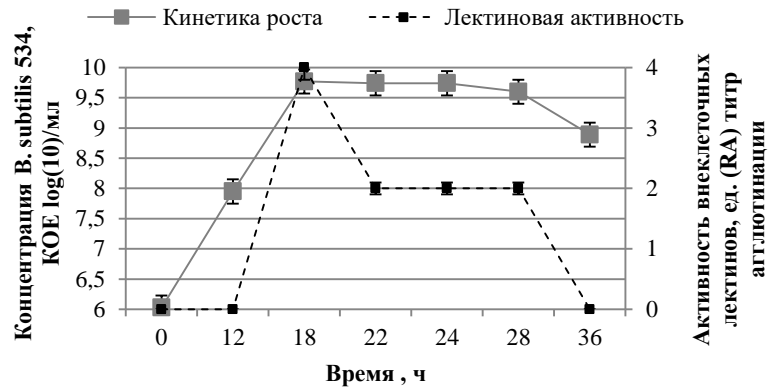


Рисунок 1 – Изменение активности внеклеточных лектинов в процессе периодического культивирования *B. subtilis* 534

Полученные результаты показали, что добавление к клеткам изолята ФАО КЖ *B. subtilis* 534 или *E. coli* М-17 обусловило увеличение способности к образованию биопленки, в среднем, на 15 % и 10%, соответственно, по сравнению с контролем. Таким образом, можно предположить, что внеклеточные лектины в составе КЖ влияют на образование биопленки. При этом наибольшая выраженная способность к образованию биопленок по сравнению с контролем отмечена при внесении суспензионных культур *B. subtilis* 534 или *E. coli* М-17, нежели при внесении КЖ указанных культур (рисунок 2,3) – образование биопленки увеличилось на 66 % и 22%, соответственно, по сравнению с контролем.

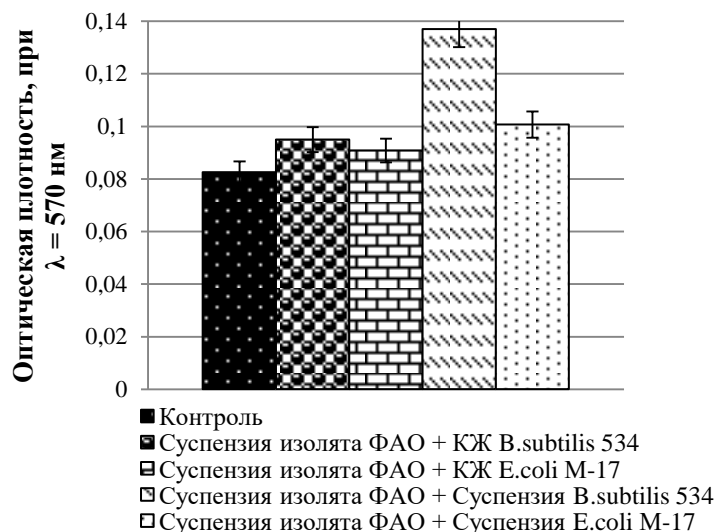


Рисунок 2– Изменение оптической плотности красителя генцианвиолета, отражающее интенсивность формирования биопленок изолятом ФАО, под действием КЖ и суспензий культур *B. subtilis* 534 и *E. coli* М-17

По-видимому, более сильное формирование биопленок между изолятом ФАО и культурами *B. subtilis* 534 и *E. coli* M-17 обусловлено наличием большего количества углеводных детерминант, имеющих высокое сродство для взаимодействия с лектинами, находящихся на поверхности клеток.

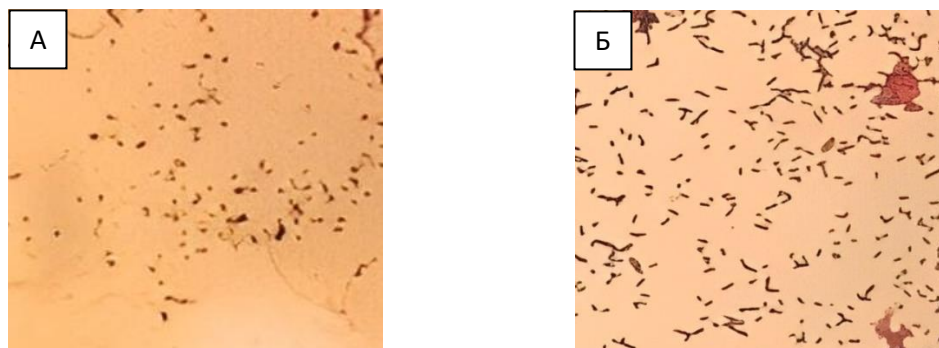


Рисунок 3 – Реакции агглютинации клеток изолята ФАО, под влиянием КЖ *B. subtilis* 534. Микрофотографии клеток изолята ФАО при увеличении  $\times 400$ :  
А – клетки в собственной КЖ; Б – клетки в КЖ *B. subtilis* 534

Исходя из полученных экспериментальных данных с использованием вышеуказанных бактериальных культур, для дальнейших экспериментальных исследований были выделены изоляты из микробного сообщества активного ила очистных сооружений г. Зеленодольск и оценена их способность к синтезу внеклеточных лектинов и агрегации микробных клеток.

**В пятой главе** оценивались культурально-морфологические свойства изолятов, выделенных из активного ила биологических очистных сооружений г. Зеленодольск, а также их лектин-углеводное взаимодействие и способность к агрегации. Из активного ила биологических очистных сооружений (БОС) г. Зеленодольск было выделено 5 изолятов: 4 из них (A1, A2, A3, A4) по культурально-морфологическим свойствам могут быть отнесены к бактериям родов *Acinetobacter* либо *Escherichia*, а изолят BS1 – к роду *Bacillus* (таблица 3).

Таблица 3 – Лектин-углеводное взаимодействие КЖ изолята BS1 с клетками исследуемых изолятов

КЖ \ Клетки	BS1
A1	RA 1 ед.
A2	RA 2 ед.
A3	RA 0 ед.*
A4	RA 1 ед.
RA – активность внеклеточных лектинов, ед. (титр) агглютинации (RA 0 ед.* – реакция агглютинации не наблюдается.).	

Результаты исследования показали, что КЖ изолята BS1 (источник внеклеточных лектинов) проявляла высокую специфичность к клеточным поверхностям изолята A2 (титр RA = 2 ед.).

Отмечена низкая активность лектинов к клеткам изолята A1 и A4 и отсутствие связывания с клетками изолята A3. Отсутствие активности к клеткам изолята A3 можно объяснить отсутствием углеводных детерминантов, специфичных для внеклеточных лектинов BS1.

Таким образом, для дальнейшей работы были выбраны изоляты BS1 и A2, полученные из активного ила: изолят BS1 выбран в качестве продуцента внеклеточных лектинов, клетки изолята A2 – в качестве объекта агглютинации.

Далее была проведена оценка основных физиолого-биохимических свойств культур A2 и BS1 (таблица 4) и их молекулярно-генетическая идентификация путем секвенирования гена 16S рРНК. Показано, что на основании совокупности культурально-морфологических признаков и физиолого-биохимических свойств изолятов, проявляющих высокое лектин-углеводное взаимодействие, культура A2 может быть отнесена к родам *Acinetobacter* либо *Escherichia*, а культура BS1 – к роду *Bacillus*.

Результаты секвенирования гена 16S рРНК исследуемых образцов показали, что в генах изолятов BS1 и A2 содержатся 1256 и 1214 пар нуклеотидов, соответственно. Согласно полученной нуклеотидной последовательности, установлено 96,27 % соответствие полученного изолята BS1 с бактериями рода *Bacillus*.

При анализе нуклеотидной последовательности изолята A2 в программе BLAST недостаточно высокая степень идентичности (93,95 %) не позволяет достоверно отнести изолят A2 к роду *Escherichia* (минимальный порог степени идентичности 95 %).

По вышеуказанной причине для дальнейших исследований лектиновой активности КЖ изолята BS1 в качестве объектов агглютинации использовались эритроциты человека, которые, как было показано ранее, агглютинируют под влиянием КЖ *B. subtilis* 534 (таблица 2).

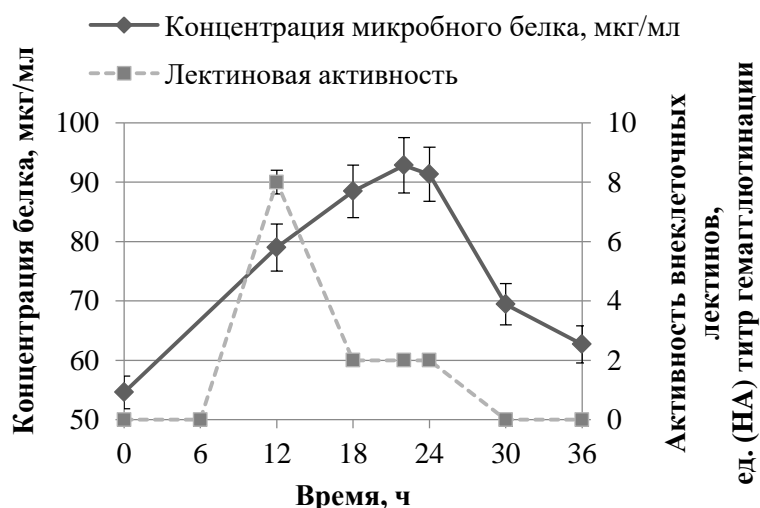


Рисунок 4 – Изменение активности внеклеточных лектинов в процессе периодического культивирования изолята BS1

Таблица 4 – Физиолого-биохимические свойства изолятов A2 и BS1

Физиолого-биохимические свойства	A2	BS1
Наличие фермента каталазы	+	+
Гидролиз желатина	–	+
Гидролиз крахмала	–	+
Наличие фермента уреазы	+	+
Рост при 3 % NaCl	+	+
Рост при 7 % NaCl	–	+
Тест Фогеса-Проскауэра	–	+
Выделение NH <sub>3</sub> при гидролизе белков	+	+
Выделение H <sub>2</sub> S при гидролизе белков	–	+
«+» – Реакция положительная; «–» – Реакция отрицательная		

В работе также был исследован процесс биосинтеза внеклеточных лектинов в процессе периодического культивирования изолята BS1 (рисунок 4).

Изучение динамики накопления внеклеточных лектинов изолятом BS1 проводили на среде МПБ при температуре 37 °С.

Результаты исследования показали, что наиболее интенсивное образование внеклеточных лектинов наблюдается на 12-й час культивирования (в середине экспоненциальной фазы роста). На протяжении всей стационарной фазы и последующей фазы

отмирания лектиновая активность снижалась (титр НА= 2 ед.) в период с 15 по 20-й час и не была отмечена на 30-й час культивирования.

**В шестой главе** обсуждается влияние КЖ изолята BS1 на характеристики активного ила: скорость седиментации, иловый индекс, дегидрогеназная активность. Постановка эксперимента на данном этапе состояла в следующем: суспензию активного ила смешивали с модельным раствором сточной воды (1:1), затем вносили КЖ культуры BS1 в объеме 0,25 %, 0,5 %, 1 %, 2 % и 5 % от объема активного ила; аэрировали 4,5 часа и анализировали. Лабораторная установка представляла собой 5 колб (№ 1-5) с внесенной КЖ в различных объемах, соответственно. Контролем служили колбы с дистиллированной водой в идентичных количествах (объемах).

Наибольшая скорость седиментации активного ила наблюдалась в колбе № 1, куда вносилась КЖ в объеме 0,25 % от объема суспензии активного ила скорость седиментации повышалась от 50 % до 118 % в период с 1 по 10 мин осаждения, по сравнению с контрольной пробой. При этом не было отмечено значительного повышения эффективности в процессе дальнейшей седиментации (с 10 по 30 мин). В колбе № 2, куда вносилась КЖ в объеме 0,5 % от объема активного ила, не было отмечено существенного изменения скорости седиментации активного ила по сравнению с контролем.

В случае добавления в активный ил КЖ изолята BS1 в объеме 1 %, 2 %, 5 % (колбы № 3-5) от объема активного ила было отмечено снижение скорости седиментации (до 60 %) в период с 1 по 10 мин, по сравнению с контрольным образцом.

Внесению КЖ в суспензию активного ила также оказывало влияние на иловый индекс образцов активного ила – так в колбах № 4 и № 5 наблюдалось увеличение значения илового индекса на 13 % и 53 %, в среднем, по сравнению с контролем, соответственно. В колбах № 1 и № 2 было показано некоторое снижение илового индекса, а в колбе № 3 не было отмечено значительного увеличения илового индекса (рисунок 5).

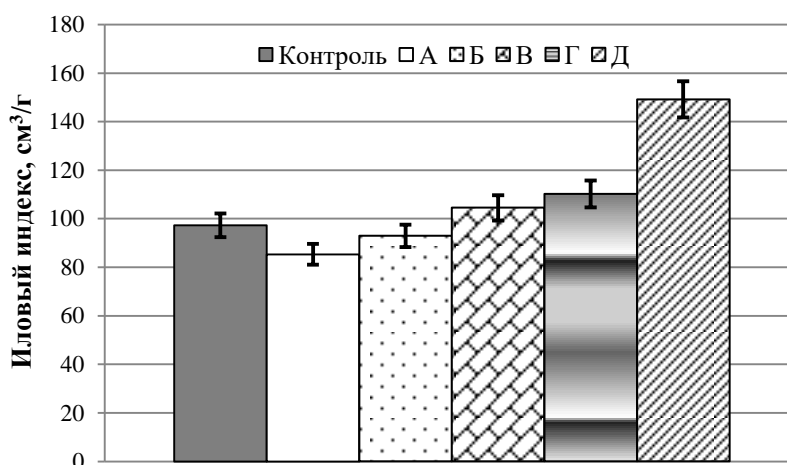


Рисунок 5 – Значение илового индекса исследуемых образцов при внесении КЖ, %  
КЖ от объема активного ила:  
Контроль – без внесения КЖ; А – 0,25; Б – 0,5; В – 1; Г – 2; Д – 5

Таким образом, следует отметить, что чрезмерное внесение внеклеточных бактериальных лектинов негативно влияет на скорость осаждения активного ила, а также приводит к увеличению илового индекса.

В ходе дальнейших экспериментальных исследований в случаях высоких концентраций лектинов в среде наблюдалось «вспухание» ила после его осаждения (рисунок 6).

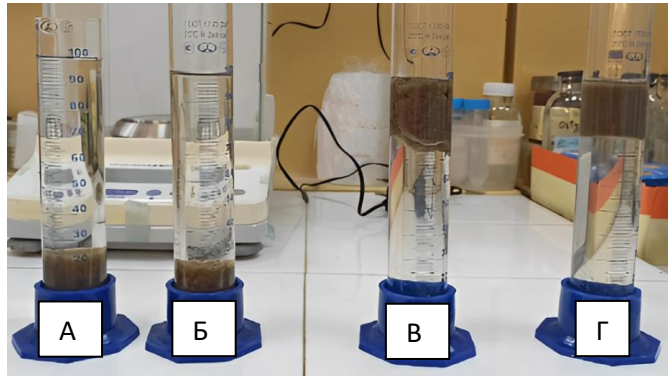


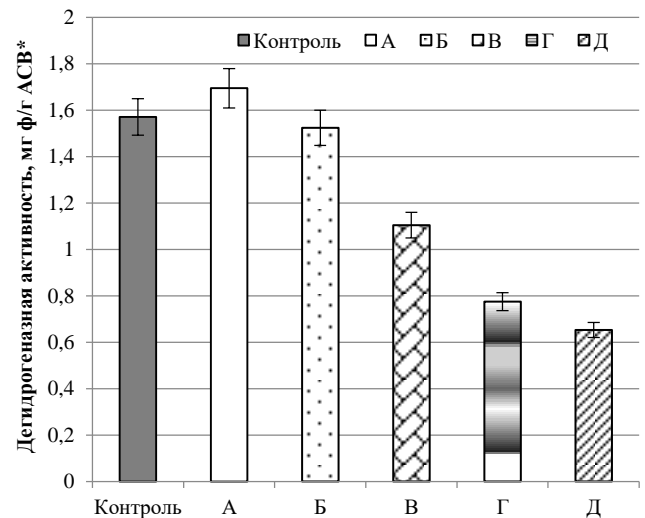
Рисунок 6 – «Вспухание» активного ила в стандартном цилиндре после отстаивания в течение 30 мин с различными концентрациями внеклеточных лектинов, % КЖ от объема активного ила: А – 0,25; Б – 0,5; В – 1; Г – 2

В таблице 5 представлены результаты оценки времени «вспухания» активного ила, содержащего различные дозировки внеклеточных бактериальных лектинов изолята BS1, после 30-ти минутного отстаивания в цилиндре.

Таблица 5 – Результаты регистрации «вспухания» активного ила в зависимости от концентрации внеклеточных лектинов в КЖ

Объем вносимой КЖ, % от объема активного ила	Время «вспухания» активного ила после осаждения, мин
Контроль	—*
0,25	—
0,5	—
1	91
2	63
5	49
«←» – «Вспухание» не наблюдалось	

На следующем этапе работы была проведена оценка влияния КЖ изолята BS1 (источник внеклеточных лектинов) на микроорганизмы активного ила путем измерения их дегидрогеназной активности по истечении 4,5 часов культивирования без учета возможности адаптации микроорганизмов к КЖ.



\* миллиграмм восстановленного формазана (ф) на 1 г абсолютно сухого вещества (АСВ)

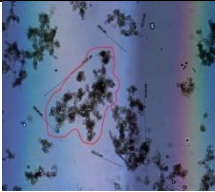

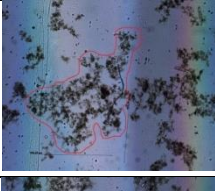
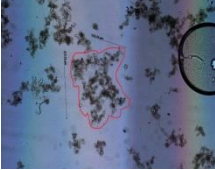
Рисунок 7 – Дегидрогеназная активность микроорганизмов активного ила в присутствии различных концентраций КЖ, % КЖ от объема активного ила: Контроль – без внесения КЖ; А – 0;25; Б – 0,5; В – 1; Г – 2; Д – 5

Результаты измерения дегидрогеназной активности ила с различными концентрациями КЖ представлены на рисунке 7.

Также в работе было исследовано изменение размеров хлопьев активного ила при внесении КЖ. Результаты показали, что внесение КЖ изолята BS1 или фитогемагглютинина (ФГА-П), взятого в качестве дополнительного контроля, к суспензии активного ила приводило к изменению размеров хлопьев после 30 минут седиментации (таблица 6).

В колбе, куда вносилась КЖ изолята BS1 в объеме 0,25 % от объема активного ила, помимо изменения скорости седиментации активного ила (до 118 %) в начальный период времени (до 10 минуты), наблюдалось также и увеличение условного диаметра хлопка (УДХ) – в среднем, до 2,8 раза, по сравнению с контролем (таблица 6).

Таблица 6 – Изменение условного диаметра хлопка суспензии активного ила после 30 минут седиментации при внесении КЖ изолята BS1 и ФГА-П

ЛСБС	УДХ, мкм	Вид хлопков, микрофотография ×100
Контроль (100 мл суспензии активного ила) титр НА = 1 ед.	325,2±0,16	
КЖ изолята BS1 (99,75 мл суспензии активного ила + 0,25 мл КЖ) титр НА = 8 ед.	937,2±0,46	
ФГА-П (1:12) (97,4 мл активного ила + 2,6 мл ФГА-П (1:12)) титр НА = 2 ед.	356,4±0,17	
ФГА-П (1:13) (97,4 мл активного ила + 2,6 мл ФГА-П (1:13)) титр НА = 1 ед.	334,3±0,16	

Полученные результаты показывают, прямую зависимость между скоростью седиментации и условным диаметром хлопка активного ила: чем выше условный диаметр хлопка активного ила, тем выше скорость седиментации. Это также подтверждает внесение ФГА-П (таблица 6) в суспензию активного ила: при внесении ФГА-П в разведении 1:13 (титр НА = 1 ед.) значение УДХ, в среднем, составляет 334,3±0,16 мкм. В то же время при внесении ФГА-П в разведении 1:12 (титр НА = 2 ед.) значение УДХ увеличивается в среднем, до 356,4±0,17 мкм, т.е., на 6 %.

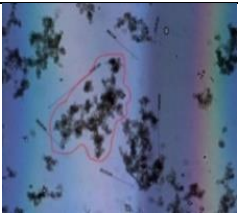
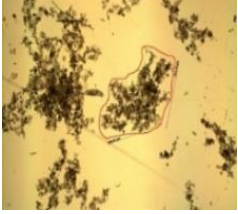

Полученные результаты показали, что внеклеточные бактериальные лектины в составе ЛСБС (КЖ) обладают свойствами природных флокулянтов и требуют определенной дозировки для использования, так как могут оказывать как положительное, так и

отрицательное влияние на характеристики активного ила в зависимости от объема, вносимого в суспензию активного ила.

Далее в работе оценивалось влияние БОСВ и выделенных из нее белков на скорость седиментации активного ила. В связи с тем, что КЖ изолята BS1 оказывает значительное влияние на характеристики активного ила, была высказана гипотеза о проявлении агглютинирующих свойств у БОСВ как аналогии КЖ микробного сообщества активного ила.

Для оценки влияния БОСВ (титр НА = 1 ед.) на скорость седиментации активного ила были выбраны следующие объёмы БОСВ (1 %, 2 %, 5 %, 10 % от объема активного ила). Также было исследовано влияние внесения БОСВ (в объемах 5 % и 10 % от объема активного ила) на изменение УДХ активного ила. Эксперимент проводился без адаптации активного ила к БОСВ. Контролем служила дистиллированная вода в заданных % от объема активного ила. Оценку седиментационных свойств исследовали при дозе ила 2,7 г/л.

Таблица 7 – Изменение условного диаметра хлопка суспензии активного ила после 30 минут седиментации, при внесении БОСВ

ЛСБС	УДХ, мкм	Скорость осаждения, мм/мин	Вид хлопков, микрофотография ×100
Контроль (100 мл суспензия активного ила) титр НА = 1 ед.	325,2±0,16	с 1-5 минутой – 7,3 с 5-10 минутой – 2,52	
БОСВ (95 мл суспензии активного ила + 5 мл БОСВ) титр НА = 1 ед.	336,1±0,16	с 1-5 минутой – 8,28 с 5-10 минутой – 2,92	
БОСВ (90 мл суспензии активного ила + 10 мл БОСВ) титр НА = 1 ед.	374,8±0,18	с 1-5 минутой – 7,99 с 5-10 минутой – 2,98	

Максимальная скорость седиментации была отмечена при добавлении БОСВ в объеме 5-10 % от объема активного ила к суспензии активного ила. Эффективность осаждения в этом случае составляла от 10 до 20 % в интервале времени с 1 по 10 минут, а также приводило к увеличению УДХ активного ила – от 3 % до 15 %, соответственно (таблица 6). По истечении 10 минут не было зарегистрировано значительного увеличения скорости осаждения ила. Добавление БОСВ в объеме 1 % и 2 % не показало значительного улучшения скорости седиментации ила.

Результаты, полученные по влиянию БОСВ на изменение УДХ активного ила (таблица 7), коррелируют с ранее полученными данными (таблица 6) по влиянию



лектиновой активности (НА) в ЛСБС, вносимых в суспензию активного ила, на изменение скорости седиментации и УДХ активного ила.

Для подтверждения наличия внеклеточных лектинов в БОСВ, было проведено выделение белков из БОСВ, состоящее из следующих этапов:

- 1) Насыщение 10 мл БОСВ сульфатом аммония до 80 %;
- 2) Центрифугирование полученного раствора при 8000 об/мин в течение 10 минут;
- 3) Растворение выпавшего белкового осадка в 1 мл физиологического раствора;
- 4) Диализ белкового раствора и супернатанта против дистиллированной воды в течение 24 часов при температуре 4°C.

Полученные результаты показали (рисунок 8), что внесение белкового диализата (титр НА = 2 ед.) способствовало повышению скорости седиментации активного ила до 66 % в начальный период времени (10 мин), что также свидетельствует о роли внеклеточных лектинов, содержащихся в БОСВ, в процессе осаждения активного ила.

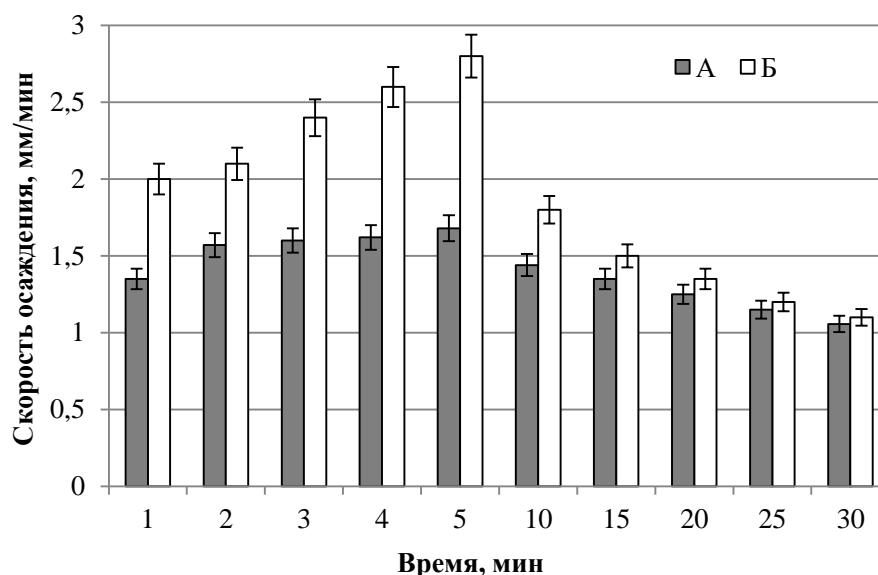


Рисунок 8 – Седиментация активного ила под влиянием белкового диализата, % от объема активного ила:

А – 0,1 (контроль – дистиллированная вода); Б – 0,1 (белковый диализат)

На основании результатов проведенных лабораторных исследований по оценке эффективности седиментации активного ила под влиянием ЛСБС (КЖ, БОСВ) разработано техническое предложение в процесс биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод БОС г. Зеленодольск с изменением объема возвратного активного ила поступающего в аэротенк, где процесс очистки осуществляется по технологической схеме, представленной на рисунке 9.

Общий объем жидкости, находящейся в аэротенке, равен  $11400 \text{ м}^3$  ( $V_A$ ) – 2 секции (по  $5700 \text{ м}^3$ ) ( $V_C$ ), каждая имеет по 3 коридора ( $1900 \text{ м}^3$ ) ( $V_K$ ). В аэротенк поступает сточная вода с расходом  $1300 \text{ м}^3/\text{ч}$  ( $Q_{CB}$ ) и возвратный активный ил –  $570 \text{ м}^3/\text{ч}$  ( $Q_2$ ), в среднем; их смешение происходит во втором коридоре каждой секции. После вторичного отстойника основной объем активного ила направляется насосом в регенератор (1 коридор аэротенка), а некоторая часть в качестве избыточного активного ила ( $Q_3$ ) объемом  $25 \text{ м}^3/\text{ч}$  отводится для обезвоживания на центрифуги, время работы которых составляет  $12,4 \text{ ч/сутки}$  ( $t_2$ ).



Иловой индекс образцов ила имел значения 150 мл/г, в среднем, что является неудовлетворительным показателем седиментационных свойств активного ила (в норме 80-120 мл/г), поэтому необходимо обеспечить уменьшение илового индекса до удовлетворительного показателя, что приведет также и к увеличению скорости седиментации активного ила во вторичном отстойнике.

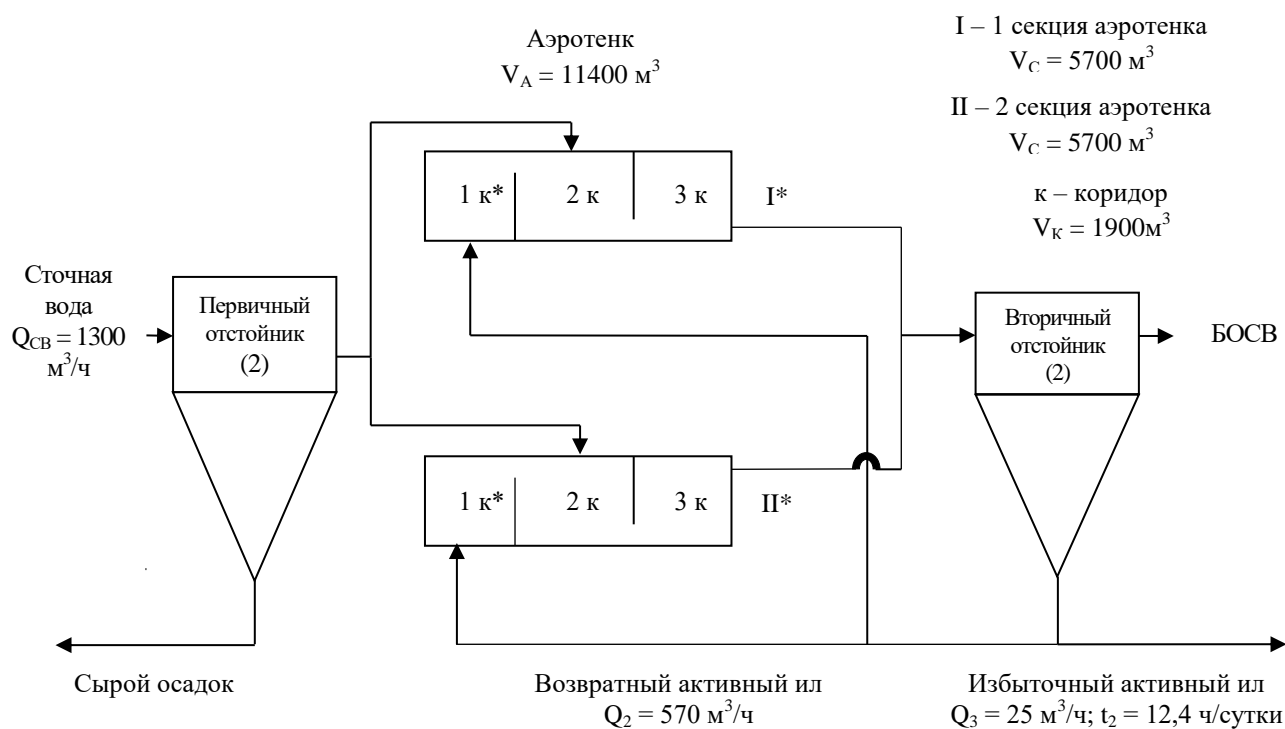


Рисунок 9 – Принципиальная схема биологической очистки сточных вод с изменением объема возвратного активного ила БОСВ г. Зеленодольск

Для реализации технического предложения на основании проведённых лабораторных исследований по внесению БОСВ в активный ил в объеме 5-10 % от его объема осуществляется внесение возвратного активного ила в аэротенк в объеме 5 % от объема аэротенка ( $V_A = 11400 \text{ м}^3$ ), что составит  $570 \text{ м}^3/\text{ч}$  ( $Q_2$ ). Внесение 5 % объема возвратного активного ила от объема аэротенка предлагается как аналог внесения БОСВ в активный ил в объеме 5 % от его объема. При этом нормативный объем возвратного активного ила, поступающего в аэротенк, составляет  $750 \text{ м}^3/\text{ч}$ , что соответствует внесению возвратного активного ила в аэротенк в объеме 6,5 % от его объема.

Подобные изменения (рисунок 9) приведут к следующим положительным результатам: ускорение осаждения активного ила до 20 % во вторичном отстойнике и снижение илового индекса на 10 % (на основании проведенных лабораторных исследований по внесению БОСВ в активный ил в объеме 5-10 % от его объема). Также будет увеличиваться время пребывания сточной воды в аэротенке на 10 % и снизятся затраты электроэнергии на перекачку возвратного ила.

При этом важно учесть вероятное снижение возраста активного ила и, соответственно, повышение его активности (не «вспухает», устойчив к колебаниям температуры и pH,

формирует более мелкие хлопья, которые легче оседают), а также необходимость некоторого увеличения количества избыточного активного ила, выводимого из технологического цикла. Ввиду этого повышается время работы центрифуг ( $t_2$ ) до 12,4 ч/сутки на обезвоживание избыточного активного ила (нормативное время работы центрифуг составляет 10 ч/сутки).

Изменение объема возвратного ила ( $570 \text{ м}^3/\text{ч}$ ) осуществляется на полгода, однако, в случае снижения рабочей концентрации активного ила в аэротенке ниже  $1,8 \text{ г/л}$  количество возвратного ила восстанавливается до  $750 \text{ м}^3/\text{ч}$  (независимо от цикличности изменения объема возвратного ила раз в полгода) с целью достижения нормативной рабочей концентрации активного ила в аэротенке ( $2-2,5 \text{ г/л}$ ). Далее представляется возможным вновь уменьшить объем возвратного ила до  $570 \text{ м}^3/\text{ч}$  на полгода (при сохранении нормативной рабочей концентрации активного ила в аэротенке) для обеспечения удовлетворительной седиментации и улучшения других указанных показателей процесса очистки.

Описанное техническое предложение позволит уменьшить риски значительного снижения возраста активного ила и эффективности его отделения от очищенной воды.

Таким образом, на основании проведенных лабораторных исследований по определению активности биофлокулянтов в лектинсодержащих средах бактерий – изолятов активного ила данное техническое предложение рекомендуется в качестве мероприятия по необходимому временному изменению технологического регламента процесса очистки, направленного на улучшение осаждения активного ила и на увеличение времени нахождения сточной воды в аэротенке.

В работе был приведен расчет экономических показателей процесса изменения объема возвратного активного ила в технологиях очистки сточных вод (таблица 8.).

Таблица 8 – Суммарный годовой экономический эффект от внедрения технического предложения

Показатели	Единица изм.	Проект (экономия «+» / повышение затрат «-»)
1. Затраты на работу центробежных насосов (перекачка возвратного активного ила)	руб.	+ 722 700
2. Затраты на работу центрифуг (обезвоживание избыточного активного ила)	руб.	- 144 540
3. Затраты на уплату НДС (взвешенные вещества в БОСВ)	руб.	+ 596 503,5
4. Затраты на размещение обезвоженного активного ила	руб.	+ 6707,4
Итого	руб.	+ 1 181 370,9

Согласно проведенным расчетам при изменении объема возвратного активного ила была показана экономическая выгода за счет снижения затрат электроэнергии на перекачку возвратного активного ила в аэротенк, снижения затрат на уплату НДС и предотвращенного экологического ущерба окружающей среде.

Таким образом, суммарный экономический эффект от внедрения проектного предложения для БОС г. Зеленодольск составит не менее 1 миллиона 181 тысяч рублей в год.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Оценена активность внеклеточных лектинов бактерий накопительных культур. Было отмечено, что КЖ *B. subtilis* 534 способна вызывать агглютинацию клеток всех исследуемых культур микроорганизмов.

2. Проведена оценка биосинтеза внеклеточных лектинов от фазы роста культуры *B. subtilis* 534 в процессе периодического культивирования. Максимальная активность внеклеточных лектинов (титр RA = 4 ед.) наблюдалась в конце экспоненциальной – начале стационарной фазы роста культуры. На протяжении всей стационарной фазы и последующей фазы отмирания лектиновая активность снижалась (титр RA = 2 ед.) в период с 22 по 28-й час культивирования. При этом в лаг-фазе и фазе отмирания клеток лектиновая активность не была отмечена.

3. Экспериментально подтверждено, что добавление КЖ *B. subtilis* 534 и *E. coli* M-17 (как источника внеклеточных лектинов) к суспензии клеток изолята ФАО увеличивает способность клеток к образованию биопленок на 15 % и 10 %, соответственно, по сравнению с контролем. Добавление к клеткам ФАО суспензии *B. subtilis* 534 и *E. coli* M-17 обуславливает увеличение образования биопленки на 66 % и 22 %, соответственно, в сравнении с контролем.

4. Получены изоляты (A1, A2, A3, A4, BS1) из микробного сообщества активного ила очистных сооружений г. Зеленодольск, Республика Татарстан. По фенотипическим и физиолого-биохимическим признакам изоляты A1-A4 описаны как бактериальные культуры, относимые к *Acinetobacter* sp. и *Escherichia* sp. По совокупности физиолого-биохимических признаков, а также по результатам секвенирования гена 16S рРНК изолят BS1 отнесен к бактериям рода *Bacillus*.

5. Оценена активность внеклеточных лектинов изолята BS1 к клеткам изолятов A1, A2, A3, A4. Наибольшую активность изолят BS1 проявлял к углеводным детерминантам изолята A2 (титр RA = 2 ед.); наименьшую активность – изолятов A1 и A4 (титр RA = 1 ед.); не проявлял активности к A3 (титр RA = 0 ед.). Зависимость лектиновой активности изолята BS1 от фазы ее роста в процессе периодического культивирования показала, что пик активности наблюдался во время экспоненциальной фазы (титр HA = 8 ед.). На протяжении всей стационарной фазы и последующей фазы отмирания лектиновая активность снижалась (титр HA = 2 ед.) в период с 15 по 20-й час. При этом в лаг-фазе и фазе отмирания клеток лектиновая активность не наблюдалась.

6. Показано, что ЛСБС (КЖ, БОСВ) обладают свойствами природных флокулянтов при их внесении в активный ил. При внесении КЖ изолята BS1 объемом 0,25 % от объема активного ила отмечено как увеличение скорости осаждения ила от 50 % до 118 % в начальный период времени, так и изменение условного диаметра хлопка активного ила (в 2,8 раз), по сравнению с контрольным образцом. Также отмечено, что данный объем, вносимый в активный ил, приводил к незначительному увеличению активности дегидрогеназ ила, в среднем, на 7 %. Влияние БОСВ на седиментацию активного ила показало, что при дозе ила 2,7 г/л внесение от 5 % до 10 % БОСВ от объема активного ила как ускоряло осаждение иловых хлопьев в среднем на 10-20 % в начальный период времени, так и увеличивало УДХ ила от 3 % до 15 %, соответственно, по сравнению с контролем. Таким образом, полученные результаты продемонстрировали очевидную зависимость

между лектиновой активностью (НА) в ЛСБС, скоростью седиментации и процессом агрегации хлопьев активного ила.

7. Расчеты экономических показателей процесса изменения объема возвратного активного ила для БОС г. Зеленодольск показали экономию денежных средств в размере не менее 1,18 млн. руб./год. Изменение количества возвратного активного ила в аэротенке с 750 м<sup>3</sup>/ч до 570 м<sup>3</sup>/ч, при прочих неизменных условиях процесса очистки, может приводить к повышению эффективности осаждения активного ила до 20 %, снижению илового индекса на 10 %, увеличению времени пребывания сточной воды в аэротенке на 10 %, а также к снижению затрат электроэнергии на перекачку возвратного ила.

Перспективы дальнейших исследований связаны с использованием ЛСБС (КЖ и БОСВ) в качестве природных флокулянтов для улучшения седиментационных свойств активного ила в системах биологической очистки сточных вод.

#### **По материалам диссертации опубликованы следующие работы:**

##### **Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертации:**

1. **Кобелев А.В.** Лектины: обзор свойств и перспектив использования в биотехнологии / **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2018. – Т. 14, №. 2. – С. 60-67.

2. **Кобелев А.В.** Оценка активности внеклеточных лектинов бактерий в формировании агрегированных микробных форм / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Бултеровские сообщения. – 2021. – Т. 65, №. 1. – С. 105-113.

3. **Кобелев А.В.** Процессы агглютинации культур активного ила под действием внеклеточных лектинов / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, А.С. Сироткин // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2021. – Т. 11, №. 4. – С. 617-626.

##### **Статьи в других рецензируемых научных изданиях:**

4. **Кобелев А.В.** Определение активности внеклеточных лектинов бактерий / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // Актуальная биотехнология. – 2020. – № 3 (34). – С. 434.

5. Клементьев С.В. Агглютинирующая способность культур активного ила / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // Актуальная биотехнология. – 2021. – № 1 (35). – С. 212.

##### **Статьи в сборниках трудов и тезисах конференций:**

6. **Кобелев А.В.** Оценка активности внеклеточных лектинов фосфатаккумулялирующих бактерий активного ила / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина // Конкурс научных работы «Жить в XXI веке». Казань, – 2019. – С. 543-545.

7. **Кобелев А.В.** Оценка активности внеклеточных лектинов бактерий активного ила / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина, А.Р. Хабибуллина, А.С. Сироткин // XVI Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии». Казань, – 2019. – С. 102-105.

8. **Кобелев А.В.** Метод визуализации агглютинации клеток бактерий р. *Acinetobacter* под действием лектинов / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин // XIII Всероссийская научная интернет-конференция «Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии». Уфа, – 2019. – С. 156-157.

9. **Кобелев А.В.** Оценка влияния внеклеточных лектинов на образование микробных биопленок / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина // Всероссийская научная конференция (с международным участием) преподавателей и студентов вузов «Актуальные проблемы науки о полимерах». Казань, – 2020. – С. 74.

10. **Кобелев А.В.** Методическое обеспечение исследования активности внеклеточных лектинов бактерий / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина // Конкурс научной работы «Жить в XXI веке». Казань, – 2020. – С. 433-435.

11. Клементьев С.В. Оценка биосинтеза внеклеточных лектинов в процессе периодического культивирования *Bacillus subtilis* / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, Т.В. Вдовина // Конкурс научных работ «Жить в XXI веке». Казань, – 2020. – С. 396-399.

12. **Кобелев А.В.** Оценка способности внеклеточных лектинов бактерий на формирование биопленок в процессах очистки сточных вод / **А.В. Кобелев**, С.В. Клементьев, А.С. Сироткин // VII Международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. Новосибирск, – 2020. – С. 76-77.

13. Клементьев С.В. Роль внеклеточных бактериальных лектинов в образовании биопленок / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // XXXIII Зимняя международная молодёжная научная школа. Москва, – 2021. – С.142.

14. Клементьев С.В. О роли внеклеточных лектинов в образовании микробных биопленок / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // XV Международная конференция «Кирпичниковские чтения». Казань, – 2021. – Т. 2. – С. 240-242.

15. Клементьев С.В. О формировании клеточных агрегатов под действием бактериальных лектинов / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // XVII Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии». Казань, – 2021. – С. 453-458.

16. Клементьев С.В. Влияние внеклеточных лектинов на седиментационные свойства активного ила / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // VII Пушинская конференция «Биохимия, физиология, и биосферная роль микроорганизмов». Москва, – 2021. – С. 244-245.

17. Клементьев С.В. Влияние внеклеточных лектинов на *Bacillus* на характеристики микробиоценоза активного ила / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // Конкурс научных работ «Жить в XXI веке». Казань, – 2022. – С. 223-227.

18. Клементьев С.В. Экспериментальная оценка влияния внеклеточных бактериальных лектинов на характеристики активного ила в технологиях очистки сточных вод / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // XVIII Международный форум-конкурс студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы недропользования». Санкт-Петербург, – 2022. – С.258-260.

19. Клементьев С.В. Образование микробных биопленок под действием внеклеточных лектинов бактерий / С.В. Клементьев, **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых ОГУ имени И.С. Тургенева «Горизонты биотехнологии». Орел, – 2022. – С.121-123.

20. **Кобелев А.В.** Культивирование микроорганизмов активного ила и биопленки под влиянием лектинсодержащих биологических сред/ **А.В. Кобелев**, А.С. Сироткин // XVIII Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии». Казань, – 2023. – С. 406-409.