

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки

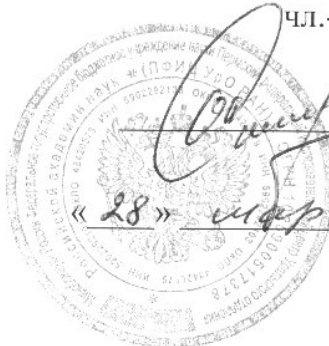
**Пермский федеральный
исследовательский центр
Уральского отделения
Российской академии наук
(ПФИЦ УрО РАН)**

ул. Ленина, 13а, г. Пермь, 614990
тел. (342) 212-60-08, факс (342) 212-93-77
E-mail: psc@permisc.ru, http:
//www.permisc.ru
ОКПО 48420579, ОГРН 1025900517378
ИНН 5902292103, КПП 590201001

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Пермского
федерального исследовательского
центра Уральского отделения
Российской академии наук,
чл.-корр. РАН, д.ф.-м.н.

Олег Анатольевич
Плехов



« 28 » марта 2024 г

от 28.03.2024 № 337/2171-185

на № _____ от _____

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения
Российской академии наук

на диссертационную работу **Кобелева Алексея Витальевича**
*«Агрегация микроорганизмов активного ила под влиянием лектинсодержащих
сред в технологиях биологической очистки
сточных вод»,*

представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук
по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертационного исследования.

Эффективность биологической очистки сточных вод зависит от физиологического состояния активного ила и технологической составляющей этого процесса, направленной на интенсификацию процессов окисления органических веществ, удаления избыточного азота и фосфора до сброса очищенных вод в естественные водоемы. Осуществление биологической очистки в аэротенках связано со способностью активного ила к агрегации: при недостаточном флокулообразовании происходит вынос микроорганизмов из аэротенка, загрязнение вод на выходе из очистных сооружений, увеличивается время, необходимое для пребывания ила в отстойниках. В связи с этим необходимо разрабатывать подходы, направленные на улучшение флокулообразования активного ила. Известно, что экзополимерные вещества способствуют агрегации микроорганизмов, в частности, природным коагулянтom являются лектины - углеводсвязывающие белки. Разработка технологических предложений,

направленных на улучшение агрегирующей способности активного ила, представляется очень актуальной, в связи с чем актуальна цель диссертационной работы - исследование влияния лектинсодержащих биологических сред на процесс образования микробных агрегатов активного ила очистных сооружений и обоснование технологических подходов, позволяющих улучшить флокулообразование активного ила.

Новизна исследования, полученных результатов, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Изучение бактериальных лектинов и их свойств в основном имеет медицинскую направленность и связано с исследованиями молекулярной составляющей инфекционного процесса, вызываемого условно-патогенными микроорганизмами. Бактериальные адгезины являются ключевыми факторами вирулентности, которые необходимы для взаимодействия патоген-хозяин и образования биопленок, вызывающих большинство инфекций, при этом многие межклеточные взаимодействия опосредуются лектинами. Также известны работы по изучению роли лектинов в адгезии азотфиксирующих микроорганизмов. Лектины растений участвуют в межклеточных взаимодействиях, регулируют взаимоотношения с бактериями-симбионтами, защищают растения от патогенных бактерий и грибов и от растительноядных животных, участвуют в транспорте гормонов, белков и РНК, а также влияют на деление, рост и дифференцировку клеток. Лектины сапрофитных микроорганизмов активно изучают в институте микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного (г. Киев, Украина). Однако исследования влияния лектинов бактериального происхождения на флокуляцию микроорганизмов активного ила фрагментарны и недостаточны: так, не было обнаружено описания комплексных подходов к изучению воздействия лектинов на агрегацию микроорганизмов активного ила как в отечественной, так и в зарубежной научной литературе. Роль лектинсодержащих сред в этом процессе ранее не была раскрыта. Результаты выявления влияния лектинов на флокулообразование микроорганизмов активного ила, полученные в процессе выполнения диссертации, обладают несомненной новизной. Управление флокулообразованием микроорганизмов с помощью лектинсодержащих сред не было ранее предложено и представляет значительный научный и технологический интерес.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость работы заключается в экспериментально установленном влиянии лектинсодержащих сред на агрегацию микроорганизмов, биопленкообразование и скорость осаждения активного ила.

Показано, что внесение биологически очищенной сточной воды влияет на седиментацию активного ила. Предложено техническое решение, которое позволит уменьшить риски значительного снижения возраста активного ила и увеличит

эффективность его отделения от очищенной воды. Разработаны технологические рекомендации по повышению эффективности процесса биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод г. Зеленодольск от взвешенных веществ и улучшению седиментации активного ила. Внедрение технологии позволит снизить затраты на 1,181 млн. рублей в год при очистке сточных вод объемом 1300 м³ /ч за счет снижения затрат на потребление электроэнергии насосами, снижения НДС и предотвращения экологического ущерба окружающей среде.

Результаты целесообразно внедрять на станциях очистки коммунально-бытовых сточных вод, а также использовать в учебном процессе в высших учебных заведениях при преподавании дисциплин биотехнологической направленности.

Результаты диссертации широко обсуждены на конференциях и форумах разного уровня, а также опубликованы в виде 20-ти научных работ, в т.ч. 3-х статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России, в том числе 1 в журнале, включенном в базу данных Web of Science (RSCI), 2 в журналах, входящих в базу данных РИНЦ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты экспериментальных исследований, полученных в диссертации А.В. Кобелева, и технологических предложений могут быть эффективно использованы на предприятиях водоотведения, профильных проектных и научных организациях, в учебном процессе технических вузов по направлению подготовки «Биотехнология» и смежным направлениям.

Общая оценка работы

Диссертация А.В. Кобелева "Агрегация микроорганизмов активного ила под влиянием лектинсодержащих сред в технологиях биологической очистки сточных вод" построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов исследования, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Работа включает 102 стр. основного текста и 5 стр. приложений, содержит 25 рисунков и 17 таблиц, библиография включает 149 наименований.

Тема диссертационной работы «Агрегация микроорганизмов активного ила под влиянием лектинсодержащих сред в технологиях биологической очистки сточных вод» полностью отражает суть диссертационной работы. В диссертации четко сформулированы и определены цель и задачи исследования. В разделе *Введение* автор обосновывает актуальность исследуемой проблемы, определяет цель и задачи работы, характеризует научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, формулирует научные положения, выносимые на защиту, приводит сведения об апробации результатов.

В *Обзоре литературы* содержатся данные научной литературы, касающиеся свойств лектинов, агрегации и биопленкообразования микроорганизмов, перспектив использования лектинов в очистке сточных вод. Автор достаточно

полно и подробно раскрывает тему, использует ссылки как на отечественную, так и на зарубежную литературу. В *Экспериментальной части* описываются объекты исследования и постановка экспериментов. В разделе *Результаты исследования* приведена оценка лектиновой активности бактериальных культур, влияния лектинсодержащей жидкости на формирование биопленок, агрегацию микроорганизмов, седиментацию и дегидрогеназную активность ила. Сформулировано техническое предложение в процесс биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод с изменением объема возвратного активного ила и приведены экономические расчеты, которые обосновывают выгоду внедрения предложенной технологии. Выводы, приведенные в *Заключении* диссертационной работы, обоснованы и соответствуют поставленным задачам. *Приложения* содержат Акт о намерении внедрения результатов диссертационной работы, утвержденный генеральным директором АО "ЗВКС" (г. Зеленодольск), что подтверждает практическую важность полученных результатов.

При обсуждении диссертации возникли следующие вопросы и замечания:

1. Фенилаланин агар предназначен для родовой идентификации энтеробактерий по тесту дезаминирования фенилаланина. Однако при этом средой выделения бактерий является макроорганизм, который населяет ограниченное количество филогенетических групп микроорганизмов, а не природная среда (в том числе активный ил), микробное разнообразие которой несоизмеримо выше. Какова была Ваша цель использования питательной среды фенилаланин агара в качестве селективной, выделение изолятов с какими свойствами в этом случае возможно?

2. Как полученные данные (табл. 3.1., стр. 51) согласуются с данными литературы по лектиновой активности? Как условно ее можно оценить (низкая, средняя, значительная)?

3. Автор диссертации установлен интересный факт, касающийся того, что чрезмерное внесение внеклеточных бактериальных лектинов негативно влияет на скорость осаждения ила. Какую гипотезу можно выдвинуть, с чем предположительно это может быть связано?

4. Значения оптической плотности экстрагированного красителя при определении биомассы биопленок относительно низкие (рис. 4.1., стр. 56), эти штаммы достаточно слабо образуют биопленки, в связи с чем есть сложности в оценке влияния изучаемых факторов на биопленкообразование. В качестве дальнейшей разработки темы можно предложить проводить эксперименты на штаммах, образующих более мощные биопленки (более 0,2 усл. ед. оптической плотности экстрагированного красителя).

5. Каков диапазон молекулярных масс известных бактериальных лектинов? Как отмечено в Материалах и методах, автор использовал однократное 80%-ное насыщение сульфатом аммония, при котором высаливаются практически все белки, тогда как при последовательном дробном высаливании (например, 20, 35,

60%) можно добиться лучшей очистки, отбросив балластные белки.

6. Автор исследует влияние культуральной жидкости на биопленкообразование, агрегацию, осаждение ила, однако, в культуральной жидкости кроме лектинов могут содержаться и другие вещества, в том числе, сигнальные молекулы системы кворум-сенсинга. С какой долей вероятности можно говорить о влиянии именно лектинов на эти процессы?

7. Имеются замечания по использованию ряда терминов. "...в генах изолятов ... содержится 1256 и 1214 пар нуклеотидов". 16S рРНК содержит 1540 пар нуклеотидов, в данном случае идет речь либо о количестве прочтенных нуклеотидов, либо о длине ампликона. "Культура изолята" - не совсем корректный термин, лучше использовать термины "Бактериальная культура", "изолят".

8. Замечание по структуре диссертации: результаты лучше объединять в более крупные главы, к тому же название главы 3 "Оценка лектиновой активности бактериальных культур и ее влияние на формирование биопленок" не вполне соответствует ее содержанию, т.к. формирование биопленок обсуждается в главе 4, а в главе 3 - только агглютинация.

Заданные вопросы являются уточняющими, а замечания не умаляют достоинств диссертационной работы, которая представляет собой законченное, логично выстроенное исследование, полностью соответствующее требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Заключение

Работа заслуживает безусловной положительной оценки, несомненна новизна полученных результатов и технических предложений. Научные положения диссертационного исследования имеют существенное значение для биотехнологии и прикладной микробиологии.

Автореферат и опубликованные автором научные статьи полностью отражают содержание диссертационной работы.

Таким образом, диссертационная работа Кобелева Алексея Витальевича «Агрегация микроорганизмов активного ила под влиянием лектинсодержащих сред в технологиях биологической очистки сточных вод» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной прикладной задачи повышения эффективности осаждения активного ила в процессе аэробной очистки сточных вод путем изменения объема возвратного активного ила, поступающего в аэротенк, имеющей значение для развития методов экологической биотехнологии, и полностью соответствующей специальности 1.5.6. Биотехнология.

На основании вышеизложенного считаем, что диссертационная работа Кобелева А.В., представленная на соискание ученой степени кандидата технических наук, полностью удовлетворяет требованиям ВАК Минобрнауки

России в соответствии с п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в действующей редакции), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании проблемной комиссии по микробиологии "ИЭГМ УрО РАН" – филиала ПФИЦ УрО РАН (протокол № 2 от 27 марта 2024 года)

Отзыв составили:

Старший научный сотрудник
лаборатории молекулярной биотехнологии
«Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского
отделения Российской академии наук» - филиала
ФГБУН Пермского федерального
исследовательского центра Уральского отделения
Российской академии наук,
кандидат биологических наук (03.00.07 – Микробиология),
доцент

Максимов Александр Юрьевич

Заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии
«Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского
отделения Российской академии наук» - филиала
ФГБУН Пермского федерального
исследовательского центра Уральского отделения
Российской академии наук,
доктор биологических наук (03.02.03 – Микробиология),
доцент (03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии))

Максимова Юлия Геннадьевна

28.03.2024

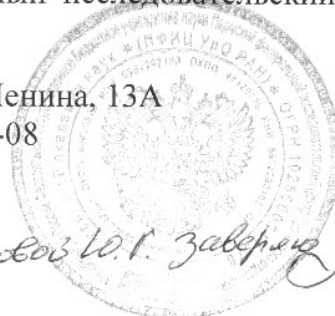
Вход. № 05-7950
« 03 » 04 2024 г.
подпись

Полное название организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук

Почтовый адрес: 614990, г. Пермь, ул. Ленина, 13А

Контактные телефоны: +7 (342) 212-60-08

E-mail: psc@permisc.ru



Подписи Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г. Заверено