

ОТЗЫВ
официального оппонента -
доктора технических наук Залётовой Нины Анатольевны

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

Представленная диссертационная работа направлена на исследование лектиновой активности биологических сред, образующихся при периодическом культивировании микроорганизмов изолятов биопленки и активного ила, а также самих микробных консорциумов с целью разработки технологических предложений по повышению эффективности процесса биологической очистки сточных вод.

Актуальность избранной темы

Большинство действующих канализационных очистных сооружений в Российской Федерации представляет собой комплекс сооружений, в которых сточная вода очищается от коллоидных и растворенных загрязняющих веществ биологическими методами. Биологическая очистка сточных вод заключается в биодеградации и биотрансформации загрязняющих органических веществ сточных вод микроорганизмами активного ила, либо биопленки. Указанные процессы позволяют удалять биологически окисляемые органические вещества из сточных вод. Состав активного ила и биопленки в большой степени зависит от концентрации и состава сточных вод, поступающих в аэротенк, либо биофильтр. В формировании хлопьев и активного ила, и биопленки важную роль играют **внеклеточные полимерные вещества, в том числе лектины** - сложные белки, играющие важную роль в обеспечении целостности и плотности микробных агрегатов активного ила и биопленок.

Диссертационная работа Кобелева Алексея Витальевича, посвященная вопросам глубокого изучения процессов агрегирования микроорганизмов в технологиях биологической очистки сточных вод, что позволяет повысить эффективность процессов очистки сточных вод и одновременно улучшить характеристики осадка для его дальнейшего использования, безусловно является **актуальной**.

Цель работы состоит в исследовании процесса формирования микробных агрегатов – флоккул активного ила и/или биопленки под влиянием лектинсодержащих биологических сред (ЛСБС) для разработки технологических предложений по повышению эффективности процесса биологической очистки сточных вод.

Новизна исследования и полученных результатов

Определены закономерности накопления внеклеточных лектинов в культуральной жидкости 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 культуральной жидкости (КЖ) изолята BS1 и биологически очищенной сточной воды (БОСВ) на агрегацию хлопьев активного ила. Показана прямо пропорциональная зависимость между лектиновой активностью вносимых лектинсодержащих биологических сред (ЛСБС) и условным диаметром хлопка (УДХ) активного ила (увеличение до 280 %), а также скоростью седиментации хлопьев активного ила (увеличение до 118 %).

Определены количества лектинов содержащих биологических сред – 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.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа Кобелева А.В. изложена на 109 страницах машинописного текста, содержит 25 рисунков и 17 таблиц. Список литературы содержит 149 источников, включающих отечественные и зарубежные публикации. Диссертация структурно изложена в классическом стиле и состоит из введения, 6-ти глав, включая обзор литературы, а также заключения, списка литературы и 2-х приложений.

Во введении обозначены актуальность диссертационного исследования, сформулированы его цель и задачи, научная новизна, теоретическая ценность и практическая значимость работы, определены научные положения, выносимые

на защиту, представлены результаты достоверности полученных данных, их апробации и опубликования, определен личный вклад автора.

В обзоре литературы автором проведено обобщение литературных данных по определению термина «лектины», их классификации, свойств и областей применения. Показана роль лектинов в структуре и формировании биопленок, а также перспективы их применения в биотехнологиях очистки сточных вод.

В последующей главе работы описаны методика проведения работ, объекты исследований, этапы проведения экспериментов и методы исследований, в частности, методы определения лектиновой активности культуральной жидкости (КЖ) бактериальных культур и оценки ее влияния на формирование микробных биопленок, методы выделения бактериальных культур из сообщества активного ила и идентификация культур в составе изолятов, а также методы исследования лектин-углеводного взаимодействия выделенных изолятов и оценки характеристик активного ила под влиянием ЛСБС (КЖ, биологически очищенной сточной воды (БОСВ)).

В экспериментальных главах диссертации автором представлены результаты изучения КЖ бактериальных культур на способность проявлять лектиновую активность. Далее проведена оценка влияния КЖ *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* на формирование микробных биопленок. Проведен анализ лектин-углеводного взаимодействия изолятов, выделенных из активного ила, осуществлена молекулярно-генетическая идентификация перспективных изолятов методом анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Оценено влияние ЛСБС (КЖ изолята BS1, БОСВ) на такие характеристики активного ила, как скорость седиментации, иловый индекс, доза ила и дегидрогеназная активность микроорганизмов в его составе. Сформулировано и описано технологическое предложение по изменению объема возвратного активного ила, поступающего в аэротенк, направленное на интенсификацию процесса биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод г. Зеленодольск от взвешенных веществ вследствие ускорения седиментации во вторичном отстойнике до 20 %. Приведен расчет технико-экономической эффективности от реализации процесса изменения объема возвратного активного ила в технологиях очистки сточных вод, который показал выгоду для биологических очистных сооружений г. Зеленодольск в размере 1,181 млн. руб. в год.

В *заключении* представлены обобщение основных результатов исследований и выводы по диссертационной работе согласно цели и задачам работы. Представлен список принятых сокращений и условных обозначений из 39 наименований.

В *приложении* к диссертации представлены нуклеотидные последовательности, полученные при молекулярно-генетической идентификации гена 16S рРНК, для изолятов, выделенных из активного ила, а также акт о намерении внедрения результатов диссертационной работы, представленный для биологических очистных сооружений г. Зеленодольск.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений.

Научные положения и выводы, приведенные в диссертации, теоретически обоснованы, что отражено в обзоре литературы и обсуждении полученных результатов, и экспериментально подтверждены.

Достоверность результатов диссертации определяется значительным объемом экспериментальных данных, полученных с использованием комплекса стандартных методов аналитических исследований. Набор методик получения экспериментальных данных разнообразен и включает как физико-химические, так и микробиологические и молекулярно-биологические методы.

Материалы диссертации, представлены на конференциях различного уровня. По основным результатам диссертационного исследования опубликовано 20 работ, из них 3 статьи в профильных журналах, входящих в Перечень рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций. Апробация результатов выглядит убедительно.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта

Значимость диссертационного исследования Кобелева А.В. состоит в разработке научно-практических основ использования ЛСБС в качестве источника природных флокулянтов для интенсификации процесса осаждения активного ила в технологиях биологической очистки сточных вод, разработке

технологических рекомендаций по повышению эффективности процесса биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод г. Зеленодольск от взвешенных веществ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Положения диссертации, её основные результаты и выводы могут быть эффективно использованы для совершенствования технологии очистки хозяйствственно-бытовых сточных вод, а также в учебном процессе вузов технической и биологической направленности по исследованию микробных сообществ активного ила и биопленок.

В качестве недостатков и замечаний по содержанию и оформлению диссертации и автореферата следует привести следующие.

1. В работе доказана и продемонстрирована многочисленными экспериментами связь изменения **структуры** биопленки и хлопков активного ила с составом очищенной сточной воды. Можно предположить, что имеются дополнительные, не указанные в тексте, преимущества применения предложенной технологии очистки, представление которых в работе повысили бы значимость выполненных работ.

2. Очистные сооружения водоотведения работают с дозами ила в достаточно широком диапазоне доз активного ила - от 1,5 до 6 г/л. Относится ли установленное в ходе выполненных экспериментов значение 5-10% лектиносодержащих сред универсальным для внесения в иловую суспензию различной дозой ила?

3. В работе отсутствуют рекомендации по области применения разработанной автором технологической схемы биологической очистки с применением в реальных условиях лектиносодержащих сред.

4. На стр. 55 имеются некоторые неточности в описании процессов очистки сточных вод. Так, например:

I) на с. 35 указано, что сточная вода дважды перекачивается насосами перед поступлением в первичные отстойники. В то время (традиционно) если она подается от объекта насосами в приемную камеру, то далее она проходит самотеком решетки, песколовки, первичные отстойники, аэротенки, вторичные отстойники, контактные резервуары и сбрасывается в водоприемник (возможны редкие исключительные решения, связанные с конкретными условиями рельефа, но не указанные в настоящей работе);

II) на с. 34 (рис. 1.4) неудачно показаны уровни воды в сооружениях биологической очистки. Уровень воды в аэротенке не может быть ниже уровня воды во вторичном отстойнике, иначе невозможно организовать самотечную подачу иловой смеси во вторичный отстойник;

III) после метантенков технологическим процессом является кондиционирование сброшенного осадка - промывка ила с образованием внутриплощадочного загрязненного потока.

5. Представляет интерес проведение обследования реальных очистных сооружений водоотведения для оценки уровня лектиновой активности биологических сред во всех потоках сточных вод на сооружениях, включая внутриплощадочные для возможного совершенствования технологических схем биологической очистки сточных вод.

6. Пожелание при продолжении тематики применить разработанный процесс агломерации специфических видов микроорганизмов не только для изменения плотности хлопка и биопленки, но и для поддержания качественного состава сообществ в таких биотехнологических процессах, как нитрификация-денитрификация, ацидофикация и др.

7. В тексте работы рассмотрен вариант применения технического предложения в контактных условиях процесса очистки. Возможность применения полученных результатов внесения лектиносодержащих сред в количестве 5-10% необходимо дополнительно проверить и подтвердить в проточных условиях культивирования активного ила.

8. При разработке технологических схем очистки требуется составление баланса по воде. В приведенном примере на рис. 6.7 и рис. 6.8 баланс по воде не сходится, в связи с чем затруднительным представляется определить затраты на эксплуатацию сооружений.

Приведенные замечания не снижают актуальности, научной новизны и практической значимости работы.

Таким образом, работа носит законченный характер. Диссертация изложена логично, достаточно ясным стилем, принятым для технических и естественно-научных квалификационных работ.

Общее заключение

Диссертационная работа Кобелева Алексея Витальевича представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований фундаментального и прикладного характера

изложены новые научно обоснованные технологические решения и разработки по интенсификации процесса биологической очистки сточных вод, имеющие существенное значение для развития биотехнологий обезвреживания отходов промышленных предприятий и коммунально-бытовых объектов.

На основании вышеизложенного считаю, 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.

Официальный оппонент:

Доктор технических наук
по специальности 2.1.4 – Водоснабжение,
канализация, строительные системы охраны
водных ресурсов,
профессор кафедры водоснабжения
и водоотведения федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Национальный
исследовательский Московский
государственный строительный университет»

Залётова
Нина Анатольевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский Московский
государственный строительный университет»,
129337, г. Москва, Ярославское шоссе, д. 26
Тел: +7 (916) 624-83-21
E-mail: ZaletovaNA@mgsu.ru

Подпись Залётовой Н.А. заверена

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА
КАДРОВОГО ДЕЛОПРОИЗ-
ВОДСТВА УРП
А. В. ПИНЕГИН



Я, Залётова Нина Анатольевна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Кобелева Алексея Витальевича, и их дальнейшую обработку.

Вход. № 15-7959
«18» 04 2014 г.
подпись