

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Николаева Юрия Александровича
на диссертационную работу Кобелева Алексея Витальевича, выполненную
по теме

«Агрегация микроорганизмов активного ила под влиянием
лектинсодержащих сред в технологиях биологической очистки сточных вод»
на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности
1.5.6. Биотехнология.

1. Актуальность темы исследования

Одна из глобальных проблем, стоящих перед человечеством – ухудшение окружающей среды, прежде всего – запасов чистой воды. В поддержании чистоты природных водоёмов важнейшая роль принадлежит предприятиям очистки коммунальных и промышленных сточных вод. Самым распространённым и экологичным способом очистки сточных вод является биологическая очистка с участием сообщества микроорганизмов активного ила, для которого одним из важнейших свойств является агрегирование (коагрегирование) его составных компонентов. Соответственно, исследование факторов агрегирования микроорганизмов является чрезвычайно актуальным и перспективным для совершенствования технологий биологической очистки сточных вод, чему и посвящена рассматриваемая диссертационная работа.

Проблематика работы соответствует Стратегии научно-технологического развития РФ (приоритетные направления д, ж, з).

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основные положения, выводы и рекомендации, сформулированные диссертантом, научно обоснованы и аргументированы.

Выводы сделаны автором на основе многочисленных хорошо продуманных и добротнo выполненных экспериментов, с использованием традиционных (в микробиологии, биохимии, технологии), современных (молекулярная биология) и специальных (для изучения биоплёнок, свойств флоков активного ила) методов исследования. Результаты представлены и

обсуждены на научных мероприятиях, что дополнительно свидетельствует об их обоснованности.

Обоснованность выводов, сделанных в работе, также подтверждается публикациями в периодической печати.

3. Достоверность и новизна исследования и полученных результатов

Достоверность проведённого исследования и научных результатов не вызывает сомнения и определяется значительным объемом проведенных экспериментов, а также использованием адекватных задачам инструментальных методов исследования в областях микробиологии, таксономии микроорганизмов, биохимии и биотехнологии. Результаты экспериментов обработаны с привлечением адекватных методов статистического анализа.

Полученные диссертантом результаты характеризуются определённой новизной. В ходе работы сделаны два фундаментальных и один практически-ориентированный вывод:

1) Показано, что в процессе культивирования бактерии *Bacillus sp.* (изолят BS1) максимальное накопление лектинов наблюдается во второй половине фазы роста – начале стационарной фазы роста.

2) Показано влияние лектин-содержащей культуральной жидкости изолята BS1 или биологически очищенной сточной воды на усиление агрегации микроорганизмов активного ила, что приводило к возрастанию условного диаметра хлопка активного ила до 2,8 раза и скорости седиментации хлопьев активного ила до 1,2 раза.

3) Продемонстрировано, что добавление культуральной жидкости изолята BS1 (0,25 %) или биологически очищенной сточной воды (5-10 %) повышает скорость седиментации активного ила на 118% и 20%, соответственно.

Также можно отметить как важное открытие, сделанное автором, но не выделенное им в самостоятельный вывод – дозозависимость эффекта агрегации и всех связанных с этим свойств активного ила от концентрации.

4. Теоретическая и практическая значимость работы

Значимость выводов и рекомендаций диссертационного исследования определяется полученными данными о закономерностях синтеза лектинов исследованными бактериями, и состоит в разработке научно-практических

основ использования лектинсодержащих биологических сред (сред после культивирования бактерий и биологически очищенных вод), в качестве биофлокулянтов для интенсификации процесса осаждения активного ила в технологиях биологической очистки сточных вод.

Результаты и выводы диссертации могут быть также использованы в учебных курсах по дисциплинам технологического профиля (водоочистки).

5. Структура и содержание диссертации, ее завершенность, качество оформления

Диссертация Кобелева А.В. изложена на 107 страницах машинописного текста, включает 25 рисунков и 17 таблиц, а также список литературных источников из 149 наименований отечественных и зарубежных публикаций. Содержание диссертации состоит из введения, обзора предметной литературы, шести экспериментальных глав, заключения, списка литературы и 2 приложений.

Во введении представлены актуальность диссертационного исследования, цель, задачи, научная новизна, теоретическая ценность и практическая значимость диссертационной работы, её научные положения, обоснована достоверность полученных экспериментальных данных, представлены результаты апробации полученных результатов.

Обзор литературы по теме диссертационного исследования посвящен анализу литературных данных по лектинам, их свойствам и направлениям использования. Представлены данные о функциях лектинов в процессе формирования биопленок, обсуждены аспекты их применения в биотехнологиях очистки сточных вод. К обзору имеются вопросы, перечисленные ниже.

В разделе *объекты и методы исследования* традиционно описаны объекты исследований, этапы проведения экспериментов, методы исследования лектиновой активности культуральной жидкости (КЖ) бактериальных культур и оценки ее влияния на формирование микробных агрегатов, а также методики исследования характеристик активного ила под влиянием лектинсодержащих биологических сред: КЖ и биологически очищенной сточной воды. Замечания к этому разделу перечислены ниже.

В экспериментальных главах описано и проанализировано влияние культуральных жидкостей культур *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* на агрегирование (агглютинацию) бактериальных клеток с образованием биопленок, оценено влияние культуральных жидкостей бактерий, выделенных из

активного ила, и биологически очищенной сточной воды на скорость седиментации агрегатов активного ила, иловый индекс, дозу ила, а также дегидрогеназную активность образцов активного ила.

По результатам проведенных лабораторных исследований сформулировано и обосновано технологическое предложение по интенсификации процесса биологической очистки коммунально-бытовых сточных вод г. Зеленодольск путём снижения количества возвратного активного (с 6.5% до 5%) ила для обеспечения эффективного агрегирования хлопьев активного ила, что следствием должно иметь повышение скорости осаждения ила, понижение илового индекса, снижение возраста ила, повышение времени пребывания жидкости в аэротенке. Ожидаемый экономический эффект этого предложения составит 1,181 млн. рублей в год.

К сожалению, само технологическое предложение сформулировано крайне неудачно и труднопонимаемо (с. 77 диссертации и с. 15 автореферата). Так из текста «Внесение 5% объёма возвратного активного ила от объёма аэротенка предлагается как аналог внесения БОСВ в активный ил в объёме 5% от его объёма» можно понять, что *вносится дополнительно* 5% ила, тогда как на самом деле автор предлагает *снизить* его количество с 6.5% до 5%, т.е. на 1.5%! Очень полезным было бы увидеть в диссертации и логику замены очищенной воды на иловую смесь, всегда вносимую в аэротенк согласно технологии и содержащую в своём составе воду с адгезинами -лектинами.

В *заключении* по диссертации на основании полученных результатов представлены выводы по разделам работы согласно её цели и задачам. Заключение отражает все этапы выполнения исследования и включает основные выводы.

В диссертации отсутствует *раздел обсуждение полученных результатов*, в том числе – в сравнении с литературными данными, практикой работы очистных сооружений в России и в мире, наличие которого существенно бы улучшило диссертационную работу. В этом разделе можно было бы детально и с привлечением данных литературы обсудить причины ожидаемого улучшения работы очистных сооружений г. Зеленодольска, дополнительно к наличию лектинов в биологически очищенной сточной воде (повышение времени пребывания жидкости в аэротенке, снижение возраста активного ила).

Приложения к диссертации содержат необходимые дополнительные сведения и документы.

На основании вышеизложенного следует отметить, что представленная диссертация является завершённым трудом, в котором поставлена и достигнута важная научно-прикладная задача.

6. Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

Результаты диссертации Кобелева А.В., представлены и обсуждены на конференциях Всероссийского и международного уровня и опубликованы в виде 20 работ, из которых 3 статьи в журналах, входящих в Перечень ВАК Минобрнауки России, рекомендованных для опубликования результатов по специальности диссертации.

7. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Оформление автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ, а его содержание в полной мере отражает содержание и основные положения диссертации.

8. Соответствие специальности

Рассматриваемая диссертационная работа Кобелева А.В. соответствует паспорту научной специальности 1.5.6. Биотехнология (п. 7).

9. Достоинства и недостатки диссертационной работы, оценка научной работы соискателя в целом, замечания по работе, вопросы

В целом, представленная работа свидетельствует о высокой квалификации диссертанта как научного работника в области природоохранных технологий (очистки сточных вод, микробиологии). Работа хорошо оформлена, в полной мере снабжена графическим материалом, изложена по существу, логически последовательно, грамотно. Хорошо обоснована актуальность темы диссертационного исследования, представлен анализ мировой научной литературы по данной проблеме. Из актуальности логически вытекает цель исследования, грамотно поставлены задачи для ее достижения.

Прикладное значение работы очевидно и описано выше.

Однако, наряду с изложенными достоинствами рассматриваемой диссертации, имеют место недостатки и упущения:

1. В обзоре литературы автор не рассмотрел основной функциональный класс веществ-адгезинов, хотя про них и упомянул в автореферате (с .1), а сразу перешёл к лектинам.

2. В обзоре литературы представлена устаревшая схема жизненного цикла биоплёнок (прикреплённых только к твёрдым поверхностям), тогда как автор в реальности использует и современное представление о биоплёнках-агрегатах (модель по К. Sauer et all., 2022).

3. На мой взгляд, обзор перегружен данными по ауторегуляции в биоплёнках, т.к. это не относится напрямую к основной проблеме диссертации. Некоторые моменты отражены крайне путанно. Например, на с. 39 в п. 4 перепутаны и смешаны «свойство бездействия», неподвижность и покой клеток. При этом в обзоре литературы нет ни слова о фосфат-аккумулирующих организмах, которые многократно (43 раза) встречаются в тексте в виде сокращения ФАО.

4. Несколько недочётов в диссертации связаны с некорректным использованием микробиологических терминов и понятий: вместо «культур *Bacillus sp.*» (с. 8, внизу и др.) надо писать «культур рода *Bacillus*»; не везде видовые и родовые названия бактерий даны шрифтом с наклоном; многократно используемый термин «изоляты активного ила» правильнее было бы писать как «изоляты микроорганизмов активного ила»; утверждение о логарифмическом (экспоненциальном) характере роста культуры и о лаг-фазе требуют подтверждения. Описывая микробные обрастания поверхностей, автор иногда забывает называть их биоплёнками, а называет просто «плёнками», что некорректно (гл. 4, с. 56).

5. Автор совершенно опустил описание ФАО (фосфат-аккумулирующих организмов) – что это такое, зачем они использованы в работе, как доказано, что это именно ФАО? На мой взгляд, это серьёзный методический недочёт работы.

6. На с. 21 диссертации упомянуты «твёрдые летучие вещества». Что это такое?

К методической части выполнения экспериментальных исследований имеются следующие замечания:

1. Не указаны фирмы-производители использованных реактивов, а также названия и производители использованных методик.

2. При описании одной из ключевых методик выращивания и оценки количества бактериальных биоплёнок отсутствует ссылка на первоисточник.

3. В работе не указано число повторностей опытов (биологических и технических), была ли их проверка на соответствие нормальному распределению?

У оппонента возникло несколько вопросов:

1) на каком основании все адгезионно-агрегационные эффекты культуральных жидкостей объясняли наличием именно лектинов (имеющих помимо функционального описания, также и чёткую химическую характеристику), а не адгезинов (класс веществ на основе их функции и с более широким химическим составом)?

2) почему взаимодействие культуральной жидкости с клетками (с. 62, табл. 5.1 названо «лектин-углеводным»)?

3) чем можно объяснить снижение скорости седиментации активного ила и увеличение его илового индекса при повышенных концентрациях культуральной жидкости (рис. 6.1)?

4) на каком основании и для чего в работе использован дегидрогеназный тест?

Несмотря на выявленные недочёты и высказанные замечания существенных недостатков у оппонируемой работы не выявлено, а указанные замечания никак не умаляют значимость проделанной работы и не изменяют ее общую положительную оценку.

Заключение

Диссертационная работа Кобелева Алексея Витальевича представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований фундаментального и прикладного характера изложены новые научно обоснованные технологические решения в области культивирования микробных сообществ в технологиях очистки сточных вод, имеющие существенное значение для развития методов экологической биотехнологии с целью эффективного обезвреживания крупнотоннажных отходов промышленного и хозяйственно-бытового характера.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Кобелева Алексея Витальевича, 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 Кобелев Алексей Витальевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент,
Доктор биологических наук
по специальности 03.02.03 Микробиология,
Заведующий лабораторией выживаемости микроорганизмов
Института микробиологии им. С.Н. Виноградского
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской Академии наук»,
119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, строение 2,
тел: +7 (499) 135-12-29; e-mail: NikolaevYA@mail.ru



Николаев Юрий Александрович
22.03.2024 г.

Подпись Ю.А. Николаева заверяю

Учёный секретарь
ФИЦ Биотехнологии РАН





Орловский А.Ф.
25.03.2024 г.

Вход. № 05-7951
«04» 04 2024 г.
подпись 