

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д002.247.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по диссертации Никитиной Анны Александровны на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Решение диссертационного совета от 06 февраля 2019 г. №1 о присуждении **Никитиной Анне Александровне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация **Никитиной Анны Александровны «Биотехнологические и микробиологические аспекты термофильной анаэробной переработки коммунальных органических отходов при высокой нагрузке по субстрату»** по специальности – 03.02.03 – Микробиология и 03.01.06. Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 07 ноября 2018 г. протокол № 14 диссертационным советом Д002.247.02 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр.2. Совет утвержден Министерством образования и науки Российской Федерации (Минобрнауки России) приказом № 205/нк от 16.03.2017 г.

Соискатель **Никитина Анна Александровна**, 1989 года рождения, гражданка РФ, в июне 2012 г. окончила ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет» по специальности микробиолог. С 2012 по 2016 гг. проходила обучение в очной аспирантуре Института микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН. Диссертационную работу соискатель Никитина А.А. выполняла в лаборатории микробиологии антропогенных мест обитания Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения "Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук" (ФИЦ Биотехнологии РАН). С августа 2018 г. по настоящее время работает в старшим специалистом отдела исследований ООО «МК Девелопмент».

Научный руководитель – Литти Юрий Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии антропогенных мест обитания, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения "Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук". Научный консультант – Ножевникова Алла Николаевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией микробиологии антропогенных мест обитания Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального

государственного учреждения "Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук".

Официальные оппоненты:

Архипченко Ирина Александровна, доктор биологических наук, специальность 03.01.06 – биотехнология, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологического мониторинга и биоремедиации почв ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии;

Щербакова Виктория Артуровна, кандидат биологических наук, специальность 03.02.03 – микробиология, заведующая лабораторией анаэробных микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук», дали положительные отзывы.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет – в своем положительном заключении указала, что диссертационная работа представляет собой завершённое научно-квалификационное исследование, соответствует п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а сама автор, Никитина А.А., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 «Микробиология» и 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются признанными специалистами в области микробиологии и биотехнологии. Так, доктор биологических наук Архипченко Ирина Александровна известна своими исследованиями в области биотехнологии переработки и рекультивации бытовых и промышленных отходов. Интересы другого оппонента, кандидата биологических наук Щербаковой Виктории Артуровны, лежат в области исследований выделения и характеристики новых микроорганизмов из экстремальных местообитаний, в том числе из арктических почв. Квалификация оппонентов подтверждается наличием большого числа публикаций в цитируемых российских и зарубежных журналах. Выбор ведущей организации связан с тем, что в учреждении проводятся исследования в области микробных биотехнологий, что также подтверждается наличием соответствующих публикаций. Высокая квалификация оппонентов и ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность диссертационной работы.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 3 статьях в рецензируемых научных изданиях и патенте, которые удовлетворяют требованиям п.11 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842:

1) Никитина А.А., Кевбрина М.В., Каллистова А.Ю., Некрасова В.К., Литти Ю.В., Ножевникова А.Н. Интенсификация микробного разложения органической фракции

бытовых отходов: лабораторные и полевые эксперименты // Прикладная биохимия и микробиология. – 2015. – Т. 51. – № 4. – с. 377 – 386.

2) Litti Y., Nikitina A., Kovalev D., Ermoshin A., Mahajan R., Goel G., Nozhevnikova A. Influence of cationic polyacrylamide flocculant on high–solids anaerobic digestion of sewage sludge under thermophilic conditions // Environ Technol. – 2017. – doi: 10.1080/09593330.2017.1417492.

3) Ковалев Д.А., Ковалев А.А., Никитина А.А., Литти Ю.В., Ножевникова А.Н., Караева Ю.В. Применение повышенного давления в реакторном пространстве и кондуктивных материалов для интенсификации анаэробного сбраживания // Журнал «Труды Академэнерго». – 2018. – № 3. – с. 72–80.

4) Н.И. Куликов, Ю.В. Литти, А.А. Никитина, А.Н. Ножевникова. Анаэробный кислотогенный биореактор для подготовки органической фракции ТБО совместно с активным илом аэротенков канализационной очистной станции к сбраживанию для получения биогаза. Патент РФ №172189 от 30.06.2017.

Результаты работы также были представлены на 13 международных и российских конференциях: IX, X, XI, XII Молодежная школа – конференция с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, 2013, 2015, 2016, 2017); VII, VIII Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2014, 2015); 10th International Congress on Extremophiles (St–Petersburg, 2014); Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2015, 2018); Международная конференция по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии, посвященная 55–летию ИБХ им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, и 80–летию со дня рождения академика Ю.А. Овчинникова (Москва, 2014); 19 Международная Пушкинская школа – конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2015); Международная конференция Waste Tech–2015 (Москва, 2015); XII Latin American Symposium and Workshop on anaerobic digestion (Cusco, Peru, 2016).

В публикациях отражены результаты экспериментальной части в рамках диссертационной работы.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Архипченко Ирины Александровны (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

1. При изучении влияния концентрации флокулянта на размер и морфологию флоккул желательно было бы провести гранулометрический анализ образующихся флоккул;
2. Для подтверждения выводов о смене основного пути метаногенеза при разложении бутирата в высоких концентрациях желательно было бы провести исследование с использованием изотопного метода;
3. Представляло бы интерес включение в диссертационную работу экономической значимости разработанных новых приемов интенсификации и оптимизации термофильной анаэробной переработки коммунальных органических отходов;
4. На некоторых графиках (16, 17, 21, 26) в работе отсутствуют погрешности, в оглавлении диссертации и в тексте наименование «Глава» главах 5 и 6.

Отзыв официального оппонента кандидата биологических наук Щербаковой Виктории Артуровны (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

- по тексту диссертации выход метана обозначается как мл/г ОВ и мл/г ОВ исх. Что нужно считать верным?

- из данных рисунка 9 можно предположить, что использование концентрации флокулянта выше 40 мг/г СВ позволит еще эффективнее стимулировать метаногенез. Так ли это?

- В подписях к фотографиям не следует указывать величину масштабной линейки, если ее значение уже дано на фотографии.

- какова длина полученных клонированных последовательностей генов 16S рРНК? Сколько клонов было получено и при каком сходстве клонированных последовательностей их объединяли в ОТЕ?

- в методах подробно описаны методы выделения в чистую культуру метаногенов, но в результатах описание метаногенных архей отсутствует

- в подписях к филогенетическим деревьям не указан метод, которым они построены

- так как новая бактерия представляет собой новый род, то таблица 34 должна содержать сравнительные характеристики близкородственных родов, а не видов. К сожалению, к описанию новой бактерии не привлечены полученные автором геномные данные.

Отзыв ведущей организации МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет – положительный. Содержит следующие замечания:

«В качестве мелких замечаний следует отметить незначительное количество встречающихся в тексте диссертации и автореферата опечаток, а также отсутствие наименования «Глава» в главах 5 и 6. Несколько избыточен материал, представленный в главе 1 обзора литературы. Также желательно привести данные, если таковые имеются, о продуктах разложения полиакриламидного флокулянта Праестол (глава 4.2) в процессе сбраживания, что позволит более глубоко проанализировать влияние флокулянта на микроорганизмы, участвующие в процессе термофильного метаногенного разложения отходов. Во избежание разночтений в тексте работы желательно было бы во всех случаях указывать, что под понятием «общий аммонийный азот» понимается «растворенный аммонийный азот». Для выделенной в чистую культуру бактерии нового рода и нового вида *Thermosaenobacter saccharolyticus* желательно привести кривую роста».

На автореферат поступили положительные отзывы. Отзывы прислали:

1. Н.с., к.б.н. лаборатории анаэробных микроорганизмов Пушинского научного центра биологических исследований РАН Захарюк А.Г.
2. Зав. лабораторией Инженерные проблемы биотехнологии, кафедры Химической кибернетики Казанского национального исследовательского технологического университета к.т.н. Мухачев С.Г.
3. К.т.н., ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией биоэнергетических и сверхкритических технологий Федерального научного агроинженерного центра ВИМ Ковалев Д.А.
4. Ст.н.сотрудник Института экологии и генетики микроорганизмов Уро РАН, к.б.н. Егорова Д.О.
5. Д.б.н., зав. кафедрой биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова Степанов А.Л.
6. Инженер-исследователь научного центра по направлению «нанотехнологии» Вятского государственного университета, к.б.н. Коньшев И.В. и директор института биологии и биотехнологии, зав. кафедрой биотехнологии Вятского государственного университета, к.т.н., доцент Мартинсон Е.А.

7. Гл.н.сотрудник института водных проблем РАН, д.ф.-м.н. Вавилин В.А.
8. Доцент кафедры водоснабжения, водоотведения, инженерной экологии и химии Нижегородского государственного архитектурно-строительного университета, к.т.н. Катраева И.В.
9. К.т.н., доцент кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева Кузнецов А.Е – есть замечания

Вопросы задавали: д.б.н. Ивановский Р.Н., д.б.н. Равин Н.В., д.б.н. Пименов Н.В., д.б.н. Варламов В.П., д.б.н. Бонч-Осмоловская Е.А., д.б.н. Горленко В.М.

В дискуссии приняли участие: д.б.н. Ивановский Р.Н., д.б.н. дедыш С.Н., д.б.н. Пименов Н.В.

Диссертационный совет отмечает, что диссертация Никитиной А.А., посвященная изучению биотехнологических и микробиологических аспектов термофильной анаэробной метаногенной переработки коммунальных органических отходов в условиях высокой нагрузки по субстрату и сниженной влажности, является завершенным научно-квалификационным исследованием. Полученные результаты улучшают понимание микробных взаимодействий в анаэробных реакторах, факторов, приводящих к нестабильности процессов при высоких нагрузках, и способов преодоления нестабильности, что вносит ценный вклад в развитие биотехнологий анаэробной переработки отходов.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что проведено комплексное исследование термофильной анаэробной ко-ферментации осадков сточных вод и органической фракции твердых бытовых отходов (ТБО) с выявлением оптимального соотношения субстратов в смеси и нагрузки по органическому веществу.

В работе Никитиной А.А. впервые было исследовано влияние катионного полиакриламидного флокулянта на процесс термофильного анаэробного сбразивания органических отходов при сниженной влажности. Впервые показана возможность использования флокулянта для восстановления метаногенеза в анаэробных биореакторах, в которых процесс разложения отходов дестабилизирован вследствие избыточного накопления ЛЖК.

Особый интерес представляют результаты изучения состава микробного сообщества при повышении концентрации летучих жирных кислот, в особенности ацетата. Показаны существенные изменения в соотношении доминирующих видов, приводящие к смене основного пути образования метана: с ацетокластического на гидрогенотрофный, сопряженный с синтрофным окислением ацетата. Расширены представления о роли синтрофных ацетат-окисляющих бактерий в процессе анаэробного разложения органического вещества в условиях высокой концентрации ЛЖК.

Выделена и частично охарактеризована термофильная бактерия, предварительно отнесенная к новому роду и виду '*Thermocaeonobacter saccharolyticus*'. Выделенная

бактерия способна к синтрофному росту на среде с глицерином и лактатом в присутствии гидрогенотрофного метаногена.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что в ходе работы отработана стратегия запуска биореактора с высокой нагрузкой по субстрату, позволяющая избежать дестабилизации процесса. Определены оптимальные соотношения инокулята к субстрату и соотношение осадков сточных вод и органической фракции ТБО (пищевых отходов) в субстратной смеси для инициации стабильного процесса сбраживания в условиях высокой нагрузки и сниженной влажности. Впервые показано, что полиакриламидный флокулянт может быть использован для восстановления метаногенеза в биореакторах, дестабилизированных вследствие избыточного накопления ЛЖК. Получены метаногенные консорциумы, устойчивые к высоким концентрациям ЛЖК, позволяющие значительно повысить эффективность и стабильность анаэробного сбраживания.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов. Диссертационная работа Никитиной А.А. выполнена с применением комплекса современных биотехнологических, микробиологических, молекулярно-биологических и химических методов исследования. Автореферат полностью отражает основные научные результаты диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном и активном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы: в планировании и проведении экспериментов; в обработке, анализе и интерпретации полученных экспериментальных данных; в написании статей и участии в научных конференциях.

Диссертация **Никитиной Анны Александровны «Биотехнологические и микробиологические аспекты термофильной анаэробной переработки коммунальных органических отходов при высокой нагрузке по субстрату»** представляет собой законченную научно квалификационную работу, внесшую большой вклад в изучение биотехнологических и микробиологических аспектов термофильной анаэробной метаногенной переработки коммунальных органических отходов. Работа соответствует профилю Диссовета Д002.247.02 и требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в соответствии с «Положением о порядке присуждения ученых степеней».

На заседании 06 февраля 2019 г. Диссертационный совет принял решение присудить Никитиной Анне Александровне ученую степень кандидата биологических

наук по специальностям 03.02.03 – Микробиология и 03.01.06. Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 чел., из них 10 докторов наук по специальности 03.02.03 Микробиология и 6 докторов наук по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали «за» присуждение ученой степени - 16, «против» - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета Д002.247.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
Доктор биологических наук



Н.В. Пименов

Ученый секретарь
диссертационного совета Д002.247.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
Доктор биологических наук

Т.В. Хижняк

06 февраля 2019 г.