

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Никитиной Анны Александровны «Биотехнологические и микробиологические аспекты термофильной анаэробной переработки коммунальных органических отходов при высокой нагрузке по субстрату», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.02.03 - Микробиология и 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

1. Актуальность темы диссертации.

Развитие современной цивилизации в значительной степени зависит от состояния окружающей среды. Но, несмотря на очевидность этого положения, технократические преобразования в обществе всегда существенно опережают природоохранные меры.

Природные богатства России выдвигают её на особое, ведущее место в мировом сообществе. Уникальные запасы ископаемых, водные и почвенные ресурсы позволяют при разумной их эксплуатации обеспечить высокий уровень жизни не только современному населению, но и его потомкам. Тем не менее, до настоящего времени мы этого не наблюдаем. Основная причина кроется в недостаточной научной проработке эксплуатации природных ресурсов, отстраненности научных специалистов от управления природными богатствами.

Во многом это обусловлено слабым пониманием биологических и микробиологических закономерностей, которые определяют возможность рационального управления процессом переработки органических отходов с получением продуктов, способных найти применение в народном хозяйстве.

В работе А.А.Никитиной исследовали синтрафные микробные ассоциации, участвующие в процессе анаэробного разложения отходов, и выявлены основные приемы, позволяющие регулировать работу анаэробных ферментационных систем с высокой нагрузкой по органическому веществу.

Такое направление, представленное в диссертационной работе А.А. Никитиной, является чрезвычайно актуальным, так как позволяет разработать новые методы оптимизации анаэробной переработки органических отходов в биореакторах, что в перспективе позволит существенно улучшить состояние окружающей среды.

2. Общая методология и методика исследований.

Несмотря на сложность и достаточную широту поставленных задач, которые связаны с анализом и трансформацией поликомпонентных органических отходов, исследованием метаногенных консорциумов, устойчивых к высоким концентрациям летучих жирных кислот, автору удалось создать четкую систему организации исследований и научных испытаний на лабораторном биогазовом реакторе.

Исследование состава микробного сообщества, выделение и описания новой термофильной бактерии выполнялось современными микробиологическими и молекулярно-биологическими методами.

Основные химические параметры определялись классическими методами. Планируемое количество измерений и анализов обеспечивало достоверность полученных данных не менее, чем на 5%-ном уровне значимости.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого из полученных научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Автором проведен серьезный анализ, научной литературы (215 источников), а также исследован целый спектр биотехнологических режимов процесса анаэробного образования органических отходов (ОФ-ТБО) и осадков сточных вод.

Особое внимание в обзоре удалено факторам оказывающим ингибиторющее действие на метаногенное сообщество, а также значению температурного режима для стабильности термофильного сбраживания.

Обзор микробиологических аспектов процесса анаэробного сбраживания органических отходов позволил дать детальную схему разложения органического вещества анаэробным метаногенным сообществом и выявить факторы, лимитирующие скорость и эффективность анаэробных микробиологических процессов.

На основании глубокого изучения существующих научных исследований А.А Никитина выделила новые перспективные направления для обоснования цели и задач диссертационной работы.

Основное внимание А.А.Никитина уделила оптимизации процесса термофильтрального сбраживания коммунальных отходов со сниженной влажностью и повышенной нагрузкой как в периодическом, так и в непрерывном режимах ферментации.

Для достижения этой цели была использована стратегия постепенной адаптации к увеличению нагрузки по субстрату, с использованием которой удалось добиться стабильной работы биоферментера при влажности сбраживаемой смеси 91%.

Особый интерес в работе представляет поиск и выявление наиболее эффективного инокулята для инициации процесса анаэробного сбраживания органических отходов. Автором исследовано 5 возможных видов инокулятов, полученных на основе сброшенных осадков сточных вод, в том числе и с включением грунта полигона ТБО. Показано, что максимальные скорости образования метана происходят при использовании в качестве инокулятов смеси прессованного сброшенного ОСВ с активированной суспензией грунта полигона ТБО и смеси уплотненного сброшенного ОСВ и активированной суспензии грунта полигона ТБО. Также относительно высокая скорость метаногенеза выявлена и для смеси, инокулированной суспензией грунта полигона ТБО. Это представляет значительный практический интерес и может быть реализовано в производственных условиях.

На основании большой серии экспериментов диссертантом установлено, что для запуска процесса анаэробного сбраживания ОСВ со сниженной

влажностью (92-93%) необходимо, чтобы содержание инокулята в смеси составило не менее 55% в расчете на суммарное органическое вещество смеси.

Детальные исследования были проведены А.А.Никитиной в отношении влияния поликарбамидных флокулянтов на процесс термофильного анаэробного сбраживания ОСВ при сниженной влажности и высокой нагрузке. Несмотря на то, что флокулянты используются в процессе очистки сточных вод достаточно давно, при таких технологических режимах их роль и влияние на динамику метаногенеза изучена не была. Поэтому автором был исследован ряд биотехнологических режимов при различных соотношениях инокулята к субстрату и установлено, что концентрация флокулянта, необходимая для восстановления метаногенеза составляет от 20 до 40 мг/г сухого вещества. При этом необходимо прекратить или снизить до минимума перемешивание сбраживаемой смеси, чтобы увеличить продолжительность существования флоккул и избежать их преждевременной дезинтеграции. Это обеспечивает формирование крупных флоккул, внутри которых сохраняются условия более благоприятные для жизнедеятельности синтрофных бактерий и метаногенных архей.

Большим достоинством работы является детальный анализ механизма сбраживания отходов и выявление факторов, лимитирующих и ингибирующих биохимические процессы. Это позволило создать термофильные синтрофные метаногенные консорциумы, устойчивые к высоким концентрациям летучих жирных кислот, и обосновать необходимость присутствия в популяции активных ацетат-использующих микроорганизмов. Автором разработан прием интенсификации процесса сбраживания за счет добавления консорциума к основному инокуляту, что способствовало стабильному развитию анаэробного процесса. Эффективность разложения органических веществ в смесях без добавления консорциумов была в 7,3 раза ниже, чем в смесях с консорциумом.

Таким образом, адаптированные консорциумы при использовании в качестве дополнительного инокулята для интенсификации и повышения ста-

бильности процесса сбраживания обеспечивали более глубокое разложение субстрата.

В процессе эксперимента был проведен молекулярно-биологический анализ (клонирование гена 16S рРНК) бактериальных групп и наиболее представленных архей консорциума, устойчивого к высокой концентрации субстрата. На основании анализа данных секвенирования последовательностей 16S рРНК гена построены филогенетические группы в начале (20 суток) и в конце (120 суток) эксперимента. К концу эксперимента произошла смена состава сообщества, что позволило автору сделать вывод о смене основного пути образования метана с ацетокластического на гидрогенотрофный при накоплении высоких концентраций ацетата в среде.

При выделении чистых культур метаногенных архей и синтрофных бактерий из консорциума, адаптированного к высокой концентрации субстрата была выделена в чистую культуру и описана новая термофильная бактерия, штамм SP2. Изучена ее морфология, физиология, определены оптимальные условия роста.

На основании результатов филогенетического анализа и дифференцирующих признаков установлено, что выделенная бактерия является представителем нового вида, нового рода для которого предложено название '*Thermocaenobacter saccharolyticus*'.

Таким образом, представленное исследование позволило выделить в чистую культуру и описать новую термофильную бактерию '*Thermocaenobacter saccharolyticus*', выявить приемы регуляции активности термофильного микробного сообщества при анаэробной переработке коммунальных органических отходов с высокой нагрузкой по субстрату с целью интенсификации и оптимизации ферментационных процессов.

4. Новизна и практическая значимость.

Работа характеризуется **существенной новизной**, поскольку автору удалось выявить механизмы обеспечивающие стабильность термофильной анаэробной переработки отходов при высокой нагрузке по субстрату.

Определен ряд биотехнологических параметров, обеспечивающих запуск процесса анаэробного сбраживания осадков сточных вод со сниженной влажностью, подобран эффективный флокулянт для восстановления метаногенеза в биореакторах в случае избыточного накопления ЛЖК.

Особый интерес представляет исследование состава микробного сообщества и использование высокоактивных метаногенных консорциумов для повышения стабильности процесса и выхода метана.

Автором выделена и описана новая термофильная бактерия, на основании анализа генома и физиологии выделенного штамма. Выделенная бактерия отнесена к новому виду нового рода, для которого предложено название '*Thermocaenobacter saccharolyticus*'. Новизну работы подтверждает получение патента РФ №172189 от 30.06.2017.

Проведенные диссертантом исследования закладывают **практическую основу** для рационального и эффективного планирования, проектирования и оптимизации сооружений, перерабатывающих коммунальные органические отходы в термофильно-анаэробных режимах.

Полученные метаногенные консорциумы, устойчивые к высоким концентрациям ЛЖК, позволяют значительно повысить эффективность работы анаэробных систем.

Результаты исследования будут полезны при чтении курсов лекций по специальностям «экология», «рациональное природопользование», «водоснабжение и канализация», «биотехнология», «микробиология».

5. Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Полный объем диссертации составляет 165 страниц, включая 34 таблицы и 30 рисунков, списка литературы из 215 наименований, из них 206 иностранные.

По теме диссертации опубликована 21 работа, из них 3 экспериментальные статьи в журналах рекомендованных ВАК, в 2017 получен патент.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, содержание диссертации отражено в опубликованных работах.

Следует подчеркнуть грамотное и интересное изложение материала, безупречное владение научной информацией по проблеме.

6. Замечания и пожелания по содержанию и оформлению работы.

При высокой положительной оценке диссертационной работы имеется ряд вопросов и замечаний.

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 бутиратов 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 термофильтной 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» в главах 5 и 6.

Сделанные замечания, однако, не имеют принципиального характера и не снижают в целом положительной оценки рассматриваемой диссертационной работы. Работа хорошо оформлена, снабжена четкими, понятными таблицами, графиками и рисунками.

Полученные автором научные результаты имеют не только большое теоретическое значение, но и позволяют обоснованно, экологически грамотно подходить к проблеме анаэробной ферментации органических отходов. На наш взгляд, исследования должны быть продолжены.

7. Выводы и заключение.

Большой объем экспериментального материала, полученного автором, позволил сформировать конкретные выводы, которые вытекают из многолетних исследований, аргументированно обосновать выявленные закономерности и дать конкретные рекомендации по управлению микробным сообществом в анаэробных термофильных системах для переработки органических отходов.

8. Соответствие работы требованиям предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Никитиной Анны Александровны «**Биотехнологические и микробиологические аспекты термофильной анаэробной переработки коммунальных органических отходов при высокой нагрузке по субстрату**» является законченной научно-исследовательской работой, в которой теоретически обоснованы основные закономерности анаэробной ферментации органических отходов при повышенной нагрузке по органическому веществу и сниженной влажности. Полученные автором данные достоверны, основные положения выносимые на защиту и выводы обоснованы.

Таким образом, работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, как научно квалификационная работа, а сам автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальностям:

03.02.03 – Микробиология и 03.01.06 – Биотехнология
(в том числе бионанотехнологии)

Доктор биологических наук,

Лауреат Премии Правительства России,

Ведущий научный сотрудник ФГБНУ ВНИИСХМ, лаборатория

микробиологического мониторинга и биоремедиации почв

Архипченко Ирина Александровна

15 января 2019

Почтовый адрес: 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3

Телефон: +79219952385; сл. (812) 4763017

Электронный адрес: arkhipchenkoirina@mail.ru

Наименование организации полное\краткое: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»\ФГБНУ ВНИИСХМ

Я, Архипченко Ирина Александровна, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета и их дальнейшую обработку.

Подпись И.А. Архипченко заверяю,

Ученый секретарь, к.б.н.

С.М. Алисова

