

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Муратовой Анны Юрьевны
на диссертационную работу Гогонина Александра Владимировича
«Консорциум микроводорослей для очистки сточных вод лесопромышленного
комплекса», представленную к публичной защите в диссертационный совет 64.1.002.01
Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертационной работы

Одним из приоритетов современного развития цивилизации является сохранение природных земельных и водных ресурсов и предотвращение накопления загрязнителей в окружающей среде. Это достигается совершенствованием систем переработки отходов и очистки производственных выбросов и сточных вод. К сожалению, несмотря на прилагаемые усилия, используемые технологии не всегда позволяют достичь требуемых показателей по содержанию вредных веществ в стоках промышленных производств. Лесная промышленность, включающая деревообрабатывающие и целлюлозно-бумажные комбинаты, является одной из ведущих отраслей в Российской Федерации. Сточные воды предприятий лесопромышленного комплекса отличаются значительными объемами и широким спектром опасных поллютантов, как органической, так и неорганической природы, содержание которых не всегда удается снизить до предельно-допустимых значений. В этой связи, разработка и внедрение новых подходов к решению проблемы очистки и доочистки промышленных стоков является актуальной задачей современной науки.

Использование биотехнологии давно зарекомендовало себя как наиболее эффективный, экологичный и экономически целесообразный подход к решению проблемы очистки сточных вод. При этом, по мере изучения взаимодействия живых организмов различных групп с загрязнителями и между собой, совершенствуются и способы их применения. В частности, одним из перспективных современных направлений в очистке сточных вод является использование микроводорослей – одноклеточных фотосинтезирующих организмов, активно выделяющих кислород, что в сочетании с гетеротрофными бактериями, может обеспечивать эффективную глубокую очистку воды. В этой связи, конструирование и изучение консорциумов микроводорослей для очистки сточных являются актуальными научно-исследовательскими задачами, которые успешно решаются в представленной диссертационной работе Александра Владимировича Гогонина.

Научная новизна и значимость исследования

Научная новизна результатов диссертационного исследования заключается, в частности, в характеристике влияния микроводорослей *Eustigmatos magnus*, *Coelastrum proboscideum*, *Acutodesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* и их консорциумов на очистку сточных вод предприятия лесопромышленного комплекса от приоритетных загрязнителей.

Автором впервые показана эффективность очистки таких сточных вод с помощью указанных микроводорослей и их консорциумов от Al (на 11-41%), Fe (на 14-39,3%), P_{общ.} (на 19-78 %), S_{общ.} (на 16 %), N_{общ.} (на 15-64 %), NO₃⁻ (на 10-53%), NH₄⁺ (на 87-90%) и фенолов (на 30-83%). Новизна диссертационных исследований подтверждена патентом РФ на изобретение № 2703499 («Штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* для очистки природных водоемов и сточных вод промышленных предприятий»), представленном в Приложении 1.

Новизной представленного исследования является также экспериментальное обоснование использования сточной воды вторичных отстойников лесопромышленного комплекса в качестве питательной среды для наработки биомассы в процессе культивирования микроводорослей с одновременной очисткой воды от загрязняющих веществ. Представлены новые данные, подтверждающие эффективность использования для очистки воды микроводорослей в иммобилизованном виде по сравнению со свободными клетками.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов.

Теоретическая значимость представленной работы заключается в получении экспериментально обоснованных научных данных, подтверждающих возможность и эффективность использования для очистки сточных вод предприятий лесопромышленного комплекса консорциумов микроводорослей.

Практическое значение диссертации заключается в разработке технологии доочистки сточной воды лесопромышленного комплекса с помощью монокультур микроводорослей и их консорциумов, технологии культивирования микроводорослей на сточной воде с целью ее доочистки и накопления биомассы, пригодной к использованию в сельском хозяйстве. Разработанные технологии могут применяться в цехе биологической очистки сточной воды профильных промышленных предприятий, что подтверждается документом о внедрении, представленном в Приложении 2. Полученные в ходе выполнения диссертационного исследования результаты используются также в Рабочей программе обучения школьников, что подтверждено документально в Приложении 3.

Исследованные в представленной диссертационной работе штаммы микроводорослей являются перспективными объектами для использования в экологической биотехнологии.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается применением современных актуальных методов исследования, соответствующих цели и задачам работы, достаточным количеством экспериментов и значительным объемом полученных данных. Анализы проводились в аккредитованной экоаналитической лаборатории на сертифицированном и прошедшем поверку оборудовании. Воспроизводимость результатов подтверждалась проведением серии независимых экспериментов. Обработка и интерпретация полученных результатов проведены адекватно с использованием современных методов статистической

обработки. Таким образом научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, убедительно подкреплены корректно полученными данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и рисунках.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом

Диссертационная работа Гогонина А.В. представляет собой завершенное фундаментальное научное исследование, которое соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук.

Работа построена по традиционному плану и состоит из Введения, Аналитического обзора литературы, экспериментальной части, включающей описание материалов и объектов исследования, пяти глав, в которых приводятся результаты собственных исследований, а также Заключение и Выводы. Материал диссертации изложен на 152 страницах текста. Полученные результаты иллюстрируются 23 рисунками и 28 таблицами. Библиографический указатель включает 266 источников, в том числе 141 зарубежных авторов. К диссертации прилагаются копии полученных автором патента РФ на изобретение (штамм микроводорослей) и справок о внедрении результатов исследования.

Во введении указана актуальность, представлены цель и задачи исследования, охарактеризована новизна и практическая значимость работы, сформулированы научные положения.

В обзоре литературы подробно обосновывается значение качества водных ресурсов для жизни и здоровья живых организмов; дается подробная характеристика сточных вод промышленных предприятий, и, в частности, различных участков целлюлозно-бумажной промышленности; подробно описываются принципы и методы современной очистки промышленных стоков. Особое внимание уделяется достижениям в области биологической очистки и современным разработкам, касающимся использованию микроводорослей для очистки воды. В заключении по анализу научной информации подчеркивается необходимость поиска новых эффективных штаммов микроводорослей и оптимизации технологии их применения, например, путем подбора условий для накопления их биомассы при культивировании в сточной воде и использования носителей.

В главе 2 «Методы и объекты» описаны объекты исследования, используемые штаммы микроводорослей, условия их культивирования, приведены методики анализа исследуемых сточных вод, а также использованные биохимические методы и методы характеристики использованных для иммобилизации микроводорослей минеральных носителей. К сожалению, крайне скупо описаны использованные в работе методы статистической обработки.

Третья глава посвящена подбору среди коллекционных культур микроводорослей штаммов эффективных в отношении снижения концентрации основных загрязнителей сточных вод целлюлозно-бумажного производства. При культивировании штаммов по отдельности и в консорциумах в сточной воде регистрировались изменения таких показателей, как рН, содержание ионов алюминия и железа, общего азота, общего фосфора и фенолов. Однако из текста диссертации не ясно, почему качество очистки сточной воды

не оценивали с использованием микроводорослей по таким арбитражным параметрам, как ХПК и БПК. Кроме того, автор отмечает, что «при внесении в сточные воды водорослей...» наблюдался «синтез соединений азота для всех исследованных монокультур (рисунок 3.1)», но не дает каких-либо объяснений этому факту. По результатам описанных в этой главе экспериментов Александр Владимирович характеризует микроводоросли *Eustigmatos magnus* и *Coelastrum proboscideum* как наиболее эффективные для очистки исследуемых стоков, способные как к биотрансформации, так и к биодеструкции неорганических и органических загрязнителей.

Логичным продолжением изложенных в главе 3 скрининговых исследований является описанный в главе 4 сравнительный анализ эффективности очистки сточных вод в зависимости от состава среды предкультивирования, от вносимой концентрации клеток микроводорослей, а также от состава вносимого инокулянта – монокультур или их консорциумов. Результаты этих исследований подтвердили эффективность ранее выбранных *E. magnus* и *C. proboscideum* и позволили уточнить параметры культивирования, дозы внесения и сочетания этих организмов при использовании их для очистки сточных вод. Основным критерием успешных вариантов опыта также служило снижение содержания основных загрязнителей – органического (фенола) и неорганических (минеральных форм азота, фосфора, а также алюминия и железа). К сожалению, автор не приводит в этой главе базовые характеристики роста исследуемых культур микроводорослей (скорость роста, количество образуемой биомассы и проч.), а также какие-либо экологические параметры, характеризующие взаимодействия культур микроводорослей между собой при формировании консорциумов.

Известно, что биомассы микроводорослей, сама по себе, может представлять полезный продукт и, после обеззараживания может быть использована в качестве биотоплива, исходного сырья или сельскохозяйственного удобрения. Отработка биотехнологии наращивания биомассы водорослей на сточной воде позволяет решать одновременно две важные задачи – очистки стоков и производство полезной биомассы. В этой связи интересными и важными являлись исследования А.В. Гогонина, посвященные использованию сточной воды в качестве питательной среды для наращивания биомассы микроводорослей, изложенные в 5 главе диссертации. Автор показал, что использование биомассы микроводорослей, полученной предкультивированием на сточной воде, приводило к более выраженному снижению содержания в стоках ионов алюминия и железа, а также общего азота по сравнению с предкультивированием на лабораторных средах. Однако автор не дает какого-либо объяснения этому феномену. В разделе 5.2. «Получение биомассы в процессе культивирования микроводорослей на сточной воде» автор вновь показывает эффективность очистки воды, тогда как собственно количественные и динамические характеристики «накопление» биомассы микроводорослей на сточной воде остаются не ясны.

От лабораторных исследований отобранных эффективных для очистки стоков культур микроводорослей автор переходит к опытно-промышленным их испытаниям,

изложенным в главе 6. Испытания проводили с использованием штаммов *Acutodesmus obliquus*, *Coelastrum proboscideum* и *Chlorella vulgaris*. Основной задачей ставилось снижение в сточной воде фенолов. Внесение биомассы микроводорослей в систему биологической очистки АО «Монди СЛПК» позволило исследователям успешно повысить эффективность очистки стоков, на основании чего были сделаны рекомендации к периодическому введению микроводорослей в качестве дополнительного ремедиационного агента в систему очистки стоков предприятия.

Исследование возможности повышения эффективности очистки сточных вод с использованием микроводорослей путем их иммобилизации на сорбенте Александр Владимирович описывает в главе 7. Сравнивая качество очистки воды от фенолов с использованием *Chlorella vulgaris*, минерального сорбента (анальцимсодержащей породы) и иммобилизованных на сорбенте микроводорослей, автор приходит к выводу, что все протестированные агенты эффективно снижали концентрацию фенолов в модельных стоках, при этом существенно сокращая период очистки. В это главе, на основании данных литературы, автор впервые упоминает некоторые механизмы биодegradации фенолов микроводорослями. К сожалению, проведение собственных экспериментов в этом направлении, очевидно, не входило в задачи диссертационного исследования, в связи с чем, на мой взгляд, не корректно было утверждать об «отсутствии вторичных отходов за счет биодеструкции», да и, собственно, о биодеструкции фенолов исследуемыми агентами – сорбентом и микроводорослями.

Диссертационная работа заканчивается Заключением и Выводами, где соискатель перечисляет и обобщает основные результаты исследования.

Материалы диссертационной работы отражены в 12 печатных работах, включая 1 патент на изобретение РФ и 3 публикации в изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В качестве замечаний следует отметить:

– Недостаточно информации о биологических особенностях (таких как, ростовые параметры, экологические отношения в формируемых консорциумах и с бактериальной флорой, физиолого-биохимические взаимодействия с поллютантами) исследуемых видов (штаммов) микроводорослей как основного компонента предлагаемой биотехнологии;

– Недостаточно пояснений на приведенных иллюстрациях (например, на рисунках 3.1-3.5, 4.1-4.7 следовало бы отметить достоверно различающиеся варианты, а на СЭМ фото указать, возможно стрелкой, биомассу микроводорослей)

– Присутствуют неудачные выражения и опечатки. Например, стр. 69, заключение по главе 3. Последний абзац не согласуется с данными, приведенными в этой главе, но соответствует результатам, описываемым в следующей главе 4.

Высказанные замечания не носят принципиального характера и не снижают научно-практической ценности работы.

При положительной оценке диссертационной работы в целом, при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Исследуя возможность культивирования микроводорослей в сточной воде с целью ее очистки, автор не приводит никаких ростовых параметров исследуемых организмов. В связи с этим, хотелось бы уточнить, каковы были параметры роста (скорость роста, количество образуемой биомассы) исследуемых организмов при культивировании их на лабораторных средах и в сточной воде?

2. В тексте диссертации неоднократно говорится о биодеструкции микроводорослями загрязняющих веществ сточной воды (например, стр. 65; 106). Однако в работе не приводятся каких-либо сведений о деструктивной активности исследуемых видов микроводорослей в отношении органических поллютантов, в том числе исследуемых в работе фенолов или фенольных соединений. Что можно сказать о биологических (ферментативных или не ферментативных) механизмах взаимодействия микроводорослей с органическими (например, фенолами, нефтепродуктами) и неорганическими (тяжелыми металлами) загрязнителями исследуемых сточных вод?

3. Почему не оценивали качество очистки сточной воды с использованием микроводорослей по таким арбитражным параметрам, как ХПК и БПК?

4. При исследовании изменений в содержании загрязняющих веществ в сточной воде в присутствии микроводорослей автор отмечает «синтез соединений азота для всех исследованных монокультур», но не предлагает какого-либо объяснения этого феномена. С чем может быть связано увеличение содержания азота в вариантах с микроводорослями и без них, представленных на рис.3.1, по сравнению с данными таблицы 3.1.?

Следует подчеркнуть, что высказанные замечания и вопросы не имеют принципиального характера и не умаляют высокой научно-практической значимости полученных результатов и правомерности основных защищаемых положений и выводов настоящей диссертационной работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным положением о порядке присуждения ученых степеней

Диссертационная работа Гогонина Александра Владимировича на тему: «Консорциум микроводорослей для очистки сточных вод лесопромышленного комплекса» является законченным научно-квалификационным самостоятельным исследованием, соответствующим паспорту специальности 1.5.6. «Биотехнология». По актуальности, новизне, обоснованности научных положений, выводов и практической значимости полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям п. 9. Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 30 июля 2014 г. № 723, 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 01 октября 2018 г. № 1168, 20 марта 2021 г. № 426, 11 сентября 2021 г.

№ 1539, 26 сентября 2022 г. № 1690, 26 января 2023 г. № 101, 18 марта 2023 г. № 415),
предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических
наук, а ее автор Гогонин Александр Владимирович заслуживает присуждения ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. «Биотехнология».

Официальный оппонент

Заведующая лабораторией экологической биотехнологии

Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов –

обособленного структурного подразделения

ФГБУН ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»

Доктор биологических наук, доцент

Муратова Анна Юрьевна



«01» сентября 2023 г.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное
структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской
академии наук»

Адрес: 410049 г. Саратов, просп. Энтузиастов, д. 13

E-mail: mail@ibppm.ru

Веб-сайт: <https://ibppm.ru>

Телефон: +7 (8452) 97-04-44

Отзыв А.Ю. Муратовой заверяю

Ученый секретарь Института биохимии и физиологии

растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения

ФГБУН ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»

Кандидат биологических наук

Селиванова Ольга Геннадьевна

