

УТВЕРЖДАЮ:

Руководитель УФИЦ РАН

д.б.н.  В.Б. Мартыненко

 10 ноября 2023 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук на диссертационную работу Щемелининой Татьяны Николаевны «Биотехнологии ремедиации и конверсии углеводов», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертации. В настоящее время, несмотря на предпринимаемые человечеством усилия, очистка окружающей среды от нефтесодержащих поллютантов по-прежнему остается глобальной проблемой. Разведка и эксплуатация месторождений, добыча и переработка углеводородного сырья, использование нефтепродуктов приводят к нарушению естественных экосистем и отрицательно сказываются на здоровье населения. Свой вклад в эти негативные процессы вносят нефтеотходы, которые потенциально могли бы выступать в качестве дополнительного источника вторичных продуктов и энергии.

Российская Федерация обладает развитым нефтегазодобывающим комплексом, значительная часть предприятий которого расположена в северных регионах. Природно-климатические особенности этих территорий (длительный период низких температур, безлесие, высокая обводненность, маломощность почв и их низкая микробиологическая активность) могут обеспечить очень невысокую скорость процессов самоочищения. Поэтому в

условиях Крайнего Севера для ускорения ликвидации последствий углеводородного загрязнения наиболее приемлемым с экологической и экономической точки зрения решением является использование психротолерантных микроорганизмов-нефтедеструкторов в свободной и иммобилизованной форме, которые способны вырабатывать ферменты, катализирующие специфические реакции биodeградации различных поллютантов. При этом, ферментативная активность является объективным показателем экологического состояния почвы, отражающим интенсивность и направленность протекающих в ней биохимических процессов.

В связи с вышеизложенным, диссертационное исследование Щемелининой Т.Н., посвященное изучению ферментативной активности криогенных нефтезагрязненных почв и выявлению автохтонных микроорганизмов в качестве основы биопрепаратов полифункционального действия, способных к трансформации и биоконверсии углеводов в целевые продукты, является актуальным, а цель и задачи, поставленные в нем, соответствуют тенденциям развития современной экологической и энергетической биотехнологии.

Научная новизна диссертационной работы Щемелининой Т.Н. заключается в том, что впервые выявлена динамика ферментативной активности нефтезагрязненных криогенных почв и доказана возможность ее использования в качестве индикатора направленности процессов восстановления в условиях Крайнего Севера. Создана локальная модель, характеризующая связь ферментативной активности криогенных почв с содержанием в них нефтепродуктов. Разработан алгоритм моделирования биопрепаратов, основанный на взаимосвязи между ферментами (каталазой, дегидрогеназой, уреазой), содержанием нефтепродуктов и метаболическим потенциалом микроорганизмов нефтезагрязненных почв.

Сконструирован новый нефтеокисляющий консорциум, состоящий из штамма микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024, а также выделенных из нефтезагрязненных почв и идентифицированных в ходе настоящего исследования штаммов бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ

В-3033D и дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D. Доказана эффективность его использования в свободной и иммобилизованной форме для очистки почв, грунтов, щебеночного балласта, водной поверхности и производственных сточных вод от нефтяного загрязнения и обезвреживания нефтеотходов. Впервые показано, что консорциум микроорганизмов способен к биоконверсии нефтесодержащих отходов во вторичный продукт – биодизель.

Новизна исследований подтверждена 9 патентами РФ на изобретение.

Теоретическая значимость работы. Результаты, полученные в процессе идентификации бактерий и дрожжей, способствуют установлению видовой принадлежности других микроорганизмов за счет расширения баз данных по нуклеотидным последовательностям гена, кодирующего 16S рРНК.

Данные исследования биохимических процессов в почве и биогеосорбентах расширяют познания в области почвенной энзимологии.

В целом, результаты работы вносят вклад в создание теоретической и практической базы для конструирования биокаталитических систем переработки промышленных отходов и получения продуктов с высокой добавленной стоимостью.

Материалы диссертации используются при чтении лекций по дисциплине «Основы биотехнологии» в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова» (филиал Сыктывкарский лесной институт) по направлению «Химическая технология».

Практическая значимость. Разработанные в процессе исследований биопродукты, технологии их получения и применения имеют важное значение для решения экологических и энергетических задач. Консорциум микроорганизмов-нефтедеструкторов в свободной (биопрепарат «БИОТРИН») и иммобилизованной (биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®») форме предназначен для очистки нефтезагрязненных объектов окружающей среды, обезвреживания нефтесодержащих отходов. Разработана и внедрена

технология их производства, которое осуществляет ООО «БИОЭКОБАЛАНС» (г. Сыктывкар). Технология применения биогеосорбента успешно апробирована в тестовом и промышленном масштабе для ликвидации последствий нефтяных разливов в Ханты-Мансийском автономном округе, Ямало-Ненецком автономном округе и Республике Коми.

Штаммы *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, *Rhodotorula glutinis* ВКМ У-2998D депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов, штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS С-2024 помещен на хранение в коллекцию культур микроводорослей Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, а их нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК депонированы в международную базу данных GenBank. Это делает штаммы и последовательности их генов доступными для широкого круга исследователей из разных стран мира.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов обусловлена применением адекватных методов исследования, значительным объемом проведенных экспериментов и статистическим анализом данных. Материалы диссертационной работы докладывались и обсуждались на различных научных и научно-практических конференциях. Они представлены в 44 публикациях, из которых 15 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК РФ и реферативные базы РИНЦ, WoS и Scopus. Автором получено 9 патентов РФ на изобретение.

Диссертация Щемелининой Т.Н. построена по общепринятому плану и содержит следующие части: введение; обзор литературы; описание объектов и методов исследования; экспериментальные главы согласно основным задачам исследования; раздел, посвященный описанию технологии производства биопрепарата БИОТРИН и биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»; заключение по полученным результатам; выводы диссертационного исследования; рекомендации по применению результатов работы; перечень использованной литературы; приложения. Работа изложена на 437 страницах, содержит 99 таблиц и 17 рисунков. Список литературы включает 826

наименований, из них 422 на английском языке.

В главе **«Введение»** обоснована актуальность выбранной темы, представлены цель, задачи, обозначены научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, приведено обоснование достоверности полученных результатов и то, каким образом они были апробированы, указан личный вклад автора и связь исследования с научными программами, а также объем и структура диссертации и количество печатных материалов, опубликованных по теме работы.

В **литературном обзоре** (глава 1) достаточно подробно представлено современное состояние проблемы, которой посвящено исследование. Описывается влияние нефти и нефтепродуктов на гидросферу и почву, а также методы очистки окружающей среды от этих поллютантов. Приводится характеристика нефтесодержащих отходов, способы их переработки и биоконверсии. Отдельный раздел посвящен роли микроорганизмов в ликвидации последствий нефтяного загрязнения.

Сведения, описанные в главе 2 **«Материалы и методы исследований»**, позволяют получить информацию том, как проводился мониторинг ферментативной активности почв; о выделенных микроорганизмах, методах их изучения и идентификации; о биотехнологических свойствах отдельных штаммов и альго-бактериально-дрожжевого консорциума. Приводится методика лабораторных и полевых экспериментов по проверке эффективности использования биогеосорбента для очистки от загрязнения нефтью и нефтепродуктами и биоконверсии нефтесодержащих отходов.

Результаты собственных исследований автора и их обсуждение изложены в главах 3-8, которые посвящены: изучению ферментативной активности почв в качестве индикатора процессов восстановления и потенциального источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов; выделению и идентификации микроорганизмов-нефтедеструкторов и исследованию их биохимических и

биотехнологических свойств; разработке альго-бактериально-дрожжевого консорциума в свободной и иммобилизованной форме; полевыми экспериментами по оценке результативности применения консорциума и биогеосорбента для трансформации и биоконверсии углеводов; характеристикам биопрепарата БИОТРИН и биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» и технологии их производства.

В **заключении** автор обобщает полученные результаты и обсуждает их наиболее значимые моменты. Диссертация завершается **выводами**, соответствующими поставленной цели и задачам.

В работе даны **рекомендации по использованию результатов исследования**. Созданную локальную прогностическую модель зависимости ферментативной активности торфяных почв от содержания в них нефтепродуктов рекомендуется применять в процессе мониторинга их состояния, а разработанные биопрепарат «БИОТРИН» и биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®» могут быть использованы для очистки почв, грунтов, водных поверхностей, щебеночного балласта от нефти и нефтепродуктов, а также биоконверсии нефтесодержащих отходов в биотопливо.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.6 Биотехнология.

Содержание автореферата в достаточной степени отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

Принципиальных замечаний к работе нет. Оценивая, в целом, диссертацию Щемелининой Т.Н. положительно, как целостное научное исследование, которое содержит результаты, имеющие большую теоретическую и практическую значимость, хотелось бы сделать несколько замечаний и задать следующие вопросы:

1. В п. 2.11. написано: «Количественный химический анализ почвенных образцов был выполнен ...» и далее сплошным текстом перечисляются показатели и то, каким образом они были измерены. При этом методы определения некоторых параметров (рН, концентрация сульфат-иона,

концентрация нефтепродуктов и пр.) указываются несколько раз. Также, среди прочего, были изучены цветность и содержание взвешенных веществ, которые вообще не относятся к характеристикам почвы. Вероятно, речь идет об анализе не только почвенных, но и водных образцов.

2. Хотелось бы получить более подробные комментарии автора о том, как проводили эксперимент, методика которого описана в п. 2.23.6 «Опытно-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории Республики Коми, п. Ярега в районе демонтированного резервуарного парка с применением биогеосорбента (ОПИ-4)». В частности, последовательно или одновременно были внесены в почву кородревесная смесь, удобрения, биогеосорбент? Был ли осуществлен дополнительный полив территории? Когда производили посев трав и проводилась ли оценка площади проективного покрытия?

3. Каким образом было определено содержание нефтепродуктов в почве экспериментальных площадок участка № 20 Пермокарбонского месторождения (таблица 3.1)? Было ли оно получено флуориметрическим методом или рассчитано с помощью локальной прогностической модели (формулы, учитывающей показатели ферментативной активности)? Если оно было определено флуориметрически, то проводилось ли сравнение этих результатов с данными, полученными расчетным методом, исходя из локальной прогностической модели?

4. На стр. 173 написано «...при этом концентрация фенантрена в системе повышается с 3 до 21 %». Это противоречит данным таблицы 4.7, согласно которой концентрация вышеназванного соединения не увеличивается, а снижается до 2,1%. Также на стр. 173 есть фраза о том, что в процессе окисления ПАУ доля низкомолекулярных соединений в составе ПАУ повысилась с 8 до 27%, а в таблице 4.7 указана доля «легких» ПАУ после биоокисления как 7,8%.

5. Стр. 183. «Эффективность очистки от НП составила 37-69 % за 7-30 суток», однако в таблице 4.11 время обработки не превышает 14 суток.

6. Почему вывод о нетоксичности консорциума делается только на

основании токсикологических оценок штаммов *P. yamanorum* VKM В-3033D и *R. glutinis* VKM Y-2998? Почему отсутствует токсикологическая оценка штамма водорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS С-2024, который тоже входит в состав консорциума?

7. Каков титр культуральной жидкости штаммов бактерий, дрожжей и водорослей, которую применяли для оценки их фитотоксичности? Как известно, фитотоксичность зависит от концентрации микроорганизмов. Пробовал ли автор использовать разные концентрации для подбора наименее фитотоксичных?

8. Перед началом опытно-промышленных испытаний технологии очистки с применением биогеосорбента на территории Ханты-Мансийского автономного округа в районе трассы Лангепас-Покачи (ОПИ-2) (п. 7.4) были отобраны пробы фоновой почвы и произведен их химический анализ, в т.ч. на содержание нефтепродуктов. Было бы интересно сравнить эти данные с результатами, полученными автором после проведения биорекультивационных работ. Были ли достигнуты в ходе очистки фоновые значения в каком-либо варианте обработки?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней. Диссертационная работа Щемелининой Татьяны Николаевны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения и представлено решение важной научно-практической проблемы очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения биотехнологическим методом с помощью консорциума микроорганизмов и биогеосорбента на его основе.

Актуальность рассматриваемых вопросов, новизна, достоверность, обоснованность научных положений, теоретическая и научно-практическая значимость полученных результатов свидетельствуют о том, что диссертационная работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., в редакции постановлений

Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор, Щемелинина Татьяна Николаевна, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв на диссертационную работу Щемелининой Т.Н. был обсужден и одобрен на заседании Ученого совета Уфимского Института биологии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (УИБ УФИЦ РАН) (протокол № 7 от 8 ноября 2023 г.).

Ведущий научный
сотрудник лаборатории биотехнологий
Уфимского Института биологии –
обособленного структурного подразделения
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра
Российской академии наук,
д.б.н.

Коршунова Татьяна Юрьевна

8 ноября 2023 г.

Подпись Коршуновой Т.Ю. заверяю
Главный ученый секретарь УФИЦ РАН, к.э.н.



Фаттахова Р.Х.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук (УФИЦ РАН)
Адрес: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71
Телефон/факс: (347) 235-60-22
E-mail: presid@anrb.ru, presid@ufaras.ru