

## ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию Щемелининой Татьяны Николаевны на тему «**Биотехнологии ремедиации и конверсии углеводов**», представленную к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология.

### **Актуальность.**

В настоящее время вопросы загрязнения северных территорий РФ приобретают все большую актуальность, в связи с хрупкостью и легкой разрушаемости таких экосистем. В связи с этим, крайне актуальным является разработка методов рекультивации водных объектов, почв, грунтов с использованием психрофильных микроорганизмов для их реализации в условиях Крайнего Севера.

Актуальным является и подход, при котором автор комбинирует две технологии – природоохранные технологии рекультивации нефтесодержащих отходов и технологию получения биотоплива путем биоконверсии отходов рекультивации.

Научная новизна и практическая значимость.

Результаты диссертационной работы Т.Н. Щемелининой создают теоретическую и практическую базу для создания биологических препаратов для глубокой переработки промышленных отходов, содержащих нефтепродукты и получения продуктов с высокой добавленной стоимостью.

На основе данных 20-летних исследований динамики ферментативной активности нефтезагрязненных криогенных почв Крайнего Севера, доказана возможность ее использования в качестве индикатора эффективности процессов восстановления объектов.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации Т.Н. Щемелининой не вызывает сомнений.** Положения, выносимые на защиту, выводы, рекомендации базируются на результатах, полученных современными методами с использованием соответствующего оборудования. Автор приводит обоснованные аргументы, позволяющие сделать соответствующие выводы.

**Достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, подтверждается** значительным количеством лабораторных экспериментов, опытно-промышленных испытаний, использования современных методов исследований. Статистическая обработка данных в программе Statistica 10.0. создание моделей позволяют считать результаты достоверными.

### **Научная новизна и практическая значимость.**

Впервые для условий Крайнего Севера создан консорциум, состоящий из штамма микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024, штаммов бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D и дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, выделенных из криогенных загрязненных почв, и доказана эффективность его использования как в свободной, так и в иммобилизованной форме для очистки почв, грунтов, нефтяных отходов щебеночного балласта, водных объектов (природных вод и производственных сточных вод) от нефтяного загрязнения.

К результатам, полученным впервые, можно отнести и разработку технологии биоконверсии нефтесодержащих отходов с помощью микроорганизмов консорциума во вторичный продукт – биодизель.

Новизна исследований подтверждена 9 патентами РФ на изобретение.

### **Общая характеристика и оценка содержания работы.**

Диссертация Щемелининой Т.Н. объемом 437 страниц, состоит из введения, восьми глав, заключения, выводов, списка литературы (826 наименований), списка сокращений и 26 приложений.

**Во введении** автором раскрыта актуальность выбранной темы, представлена цель и задачи исследования, указана научная и практическая значимость работы.

**В первой главе** автор описывает результаты исследований российских и зарубежных авторов посвященные проблеме загрязнения окружающей среды углеводородами, их влиянию на биологическое разнообразие, ферментативную активность природных и антропогенных объектов. Представлены экологические особенности почв Крайнего Севера. Рассмотрены технологии ремедиации почв, очистки воды, щебеночного балласта, биоконверсии нефтеотходов. Автор подробно рассматривает мезофильные и психротолерантные микроорганизмы-деструкторы углеродов, возможность объединения их в консорциумы их способность синтезировать поверхностно-активные вещества. Представлен анализ различных сорбентов и механизмы иммобилизации микроорганизмов на различные носители.

**Во второй главе** автор представляет структуру лабораторных и опытно-промышленных экспериментов, материалы и методы, примененные в работе.

**Третья глава** посвящена оценке ферментативной активности почв. На основе массива данных о каталазной, дегидрогеназной, уреазной, фосфатазной, протеазной, липазной, инвертазной сульфит- и сульфатредуктазной, нитратредуктазной активности почв на примере Усинского района Республики Коми с использованием метода множественного регрессионного анализа выявлен комплекс зависимых показателей и предложена локальная прогностическая модель для оценки состояния нефтезагрязненных почв. Долгосрочный мониторинг нефтезагрязненных криогенных почв, как самовосстанавливающихся, так и в останавливающихся с помощью проведенной биоремедиации доказал возможность использования показателей трех ферментативных активностей (каталазной, дегидрогеназной и уреазной) в качестве индикатора процессов восстановления загрязненных нефтью почв Крайнего Севера. Кроме того, автором показано, что ферментативная активность нефтезагрязненных почв выступает индикатором потенциального источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов.

**Глава 4** посвящена выделению и идентификации микроорганизмов-нефтедеструкторов, их биохимическим и биотехнологическим свойствам. Автор описывает культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства, состав жирных кислот клеток штамма бактерий *Pseudomonas yamanorum* VKM В-3033D, дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, штамма микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS С-2024, дает генотипическую характеристику штаммам бактерий и дрожжей. Приводятся результаты оценки эффективности очистки водных объектов от нефтепродуктов штаммами микроорганизмов *P. yamanorum* и *R. glutinis* в условиях лабораторных экспериментов.

**В главе 5** автор оценивает биотехнологические свойства альго-бактериально-дрожжевого консорциума, созданного на основе изученных монокультур, способность к деструкции нефтепродуктов консорциума с разным соотношением микроорганизмов и доказывает, что консорциум проявляет синергетический эффект, разлагает до 96 % углеводов, до 80 % низкомолекулярных полиаренов (от флуорена до пирена) за 14 суток.

В результате лабораторных экспериментов (глава 6), включающих анализ различных носителей альго-бактериально-дрожжевого консорциума выявлен оптимальный носитель пролонгированного действия – глауконитовый минерал с высокой стрессоустойчивостью и степенью биодеструкции нефти и нефтепродуктов (65–99 %).

Глава 7 включает результаты опытно-промышленных испытаний консорциума и биогеосорбента. Автором проведены исследования в загрязненных нефтью и нефтепродуктами водных, почвенных объектах и щебеночном балласте. Установлено, что выделенные и изученные микроорганизмы-нефтедеструкторы (*Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, *Rhodotorula glutinis* ВКМ Y-2998D, *Chlorella vulgaris* IPPAS С-2024) в свободной и иммобилизованной форме могут быть использованы для очистки от нефти и нефтепродуктов в указанных объектах, а также для получения вторичного сырья – липидных метаболитов – источников биодизеля. Эффективность очистки объектов от нефтепродуктов составила от 89 % до 98 %. Выход биодизеля составил 58 %.

В Главе 8 описываются технологии производства и применения биопрепарата «БИОТРИН» и биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®», основой которых является исследованный альго-бактериально-дрожжевой консорциум в свободной и иммобилизованной на глауконитовом минерале. Представлены разработанные и утвержденные технические условия, технологические карты, паспорт безопасности, техническая инструкция на производство альго-бактериально-дрожжевого консорциума (биопрепарат «БИОТРИН», биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®»). Разработки защищены патентами, а также товарным знаком на биогеосорбент.

В **Заключении** автором диссертационного исследования подведен итог выполненной работы, логично обсуждены основные фундаментальные результаты работ, а также их прикладное значение.

**Выводы** обоснованы и достоверны, соответствуют цели и задачам работы. Положения, выносимые на защиту, подтверждены результатами диссертационного исследования.

В то же время к работе есть вопросы и замечания, которые следует обсудить.

В разделах, посвященных иммобилизации микроорганизмов на носителях (и в Материалах и методах и в Результатах) полностью отсутствует описание как это делалось. Остановитесь на этом подробнее.

с. 139 раздел 2.22.2.1. Оценка использования биогеосорбента в качестве биоремедианта для очистки мелкодисперсного грунта. Вопрос: Указано, что используется 10 % биогеосорбента от объема грунта. Прокомментируйте, пожалуйста, почему такое большое количество (нигде не приводятся данные об экспериментах по анализу варьирования количества биогеосорбента). Второй вопрос – как вы отделяли биогеосорбент от почвы для оценки его сорбционной активности.

с. 147 При статистической обработке данных использовали t-критерий Стьюдента. Для этого надо было доказывать предварительно, что распределение данных нормально. Делали ли это? И действительно ли все данные имеют нормальное распределение?

В разделе об анализе ферментативной активности почв в течение 20 лет нигде не указано (ни в разделе «Материалы и методы», ни в разделе «Результаты») в какие периоды в каждом году и с какой частотой отбирали пробы и определяли ферментативную активность. Известно, что ферментативная активность существенно зависит от факторов среды, не только от уровня загрязнения. Уточните сезоны и периодичность анализов.

Таблица 5.2 – Свойства альго-бактериально-дрожжевого консорциума в зависимости от соотношения микроорганизмов. Вопрос: Прошу пояснить. Этот материал должен быть представлен в виде графиков, либо в виде таблиц с цифрами, а не текстом. Представлено разное время анализа, не указаны субстраты, ни в тесте, ни в таблице. В результате не понятно, какой же консорциум лучше. И в следующей таблице не указано какой консорциум используется далее. И даже в заключении к этой главе не указано соотношение штаммов в консорциуме.

Таблица 6.12 – Изменение концентрации нефтепродуктов в воде в присутствии исходных минеральных носителей и биосорбентов. Вопрос: Судя по данным, представленным в этой таблице, иммобилизация микроорганизмов мешает сорбции нефтепродуктов. Тогда зачем эта дорогостоящая операция?

Раздел 7.1. Опытно-промышленные испытания технологии очистки нефтесодержащих сточных вод на очистных сооружениях АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкара с применением альго-бактериально-дрожжевого консорциума. Вопрос: Поясните, в какой отсек добавляли консорциум, в какой концентрации. Через какое время отбирали пробы. Не представлено результатов, позволяющих утверждать, что сначала перемешивание влияло, а потом бактерии. Поясните.

Разделы 7.1-7.6 В начале исследований автор определил, что состояние объекта и эффективность очистки характеризуется активностью трех ферментов. Однако в промышленных испытаниях автор использует только активность одного фермента – дегидрогеназы. Почему? Тем более, что выбору этих ферментов посвящен целый первый вывод.

7.7.2. Биоконверсия отработанной суспензии в биодизель. Вопросы: Эффективен ли такой расход на 1 часть щепени 1 часть микроорганизмов. Поясните как после очистки получали суспензию микроорганизмов.

При создании консорциума традиционно проверяют антагонистические отношения между членами консорциума, как минимум для того, чтобы понимать наращивать их отдельно и можно вместе. И не будут ли они подавлять друг друга.

Автор систематически в одном и том же разделе или в тексте и в таблице одного и того же раздела использует разную размерность концентраций (содержания): то в %, то г /дм. Зачем это сделано? Неудобно читать

В работе огромное количество опечаток, орфографических и стилистических ошибок.

Диссертация очень объемна. Ее можно было существенно сократить, если бы в каждой части не повторяли прописи сред, и очевидные вещи про автоклавирование, разливание по колбам и т.д.

С. 149 раздел 3.1.2. «Локальная модель зависимости ферментативной активности криоморфных почв Усинского района Республики Коми различной степени загрязнения НП». Замечание: Представлена модель, но не представлены исходные данные ни в самой работе, ни в Приложениях. Судить о правильности модели без исходных данных невозможно. Хотя выбор трех ферментов не противоречит известным данным о том, что они наиболее часто используются как индикаторы состояния нефтезагрязненных почв.

Высказанные замечания и вопросы не носят принципиального характера и не снижают значимость диссертационной работы Т.Н. Щемелининой.

**Заключение.**



Диссертационная работа Щемелининой Татьяны Николаевны на тему «Биотехнологии ремедиации и конверсии углеводов» является научно-квалификационной работой в области прикладной биотехнологии, в которой представлено решение важной проблемы, посвященной созданию на основе комплексного подхода технологий очистки окружающей среды и биоконверсии нефтеотходов в биотопливо в природно-климатических условиях Крайнего Севера.

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.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук, профессор  
профессор кафедры прикладной экологии,  
директор Института экологии и  
природопользования  
Казанского (Приволжского) федерального университета

Селивановская Светлана Юрьевна

17 ноября 2023г.

Казанский федеральный университет

Адрес: 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.

Адрес электронной почты: [svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru](mailto:svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru)

Телефон: +7 (917) 277-12-07



Заведующий

Документовед

Горюхино И.И.