

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу **Хасановой Айгуль Айратовны**

по теме **«Процессы очистки сточных вод в условиях развития фосфатаккумулялирующих микроорганизмов в сообществах активного ила и биопленки»**, представленной на соискание ученой степени

кандидата технических наук по специальности 1.5.6. «Биотехнология»

Актуальность работы

Современные технологии, применяемые в легкой и пищевой промышленности, а также в области бытовой жизни людей приводят к значительному увеличению использования минеральных фосфорных соединений в самых разнообразных процессах. Согласно оценке, проведенной некоторыми зарубежными авторами (Bird and Eskin The emerging role of phosphorus in human health. Adv. Food. Nutr. Res., 96, 27–88 (2021). doi: 10.1016/bs.afnr.2021.02.001) потребление фосфора с пищевыми продуктами в последние годы превышает научно обоснованные нормы вдвое. При этом избыток фосфата в пище способен оказывать отрицательное воздействие на организм человека, начиная от нарушений в микробиоме кишечника и до усиления таких патологий, как некоторые виды мочекаменной болезни, избыточное образование тромбов и нарушения гомеостаза костной ткани. Избыток фосфатов в бытовых и промышленных стоках обусловлен как тем, что неорганические полифосфаты являются пищевой добавкой, широко применяемой в пищевой промышленности, в частности при обработке мясных и рыбных продуктов и полуфабрикатов, так и применением их в качестве умягчителей воды в составе моющих средств и для борьбы с накипью как в промышленности, так и в быту. От опасности эвтрофикации вод нашу страну в какой-то мере предохраняет относительно холодный климат, что не исключает опасности таких процессов в летний период. Все это делает необходимым и актуальным разработку процессов микробного удаления фосфатов из стоков. Отметим, что именно микробиологические процессы являются в данном случае базовыми, поскольку стоки так или иначе проходят стадию нахождения в отстойниках, где развиваются комплексные микробные сообщества. Количество работ по так называемому EBPR, микробному процессу усиленной аккумуляции фосфатов из стоков в активированных илах, осуществляемому микроорганизмами, в мире исчисляется более, чем в сотню за год. Данная проблема

освещается в ряде специализированных научных журналов, посвященных проблемам водных ресурсов. Таким образом, актуальность данной работы не вызывает сомнений. Отметим также, что в Российской Федерации исследования по этой тематике не являются широко распространенными, в частности они проводятся в ФИЦ «Биотехнология», с сотрудниками которого автор диссертации, судя по имеющейся совместной публикации, проводит эффективное сотрудничество.

Научная новизна

Микробное удаление фосфора из водной среды характеризуется высоким уровнем биологического разнообразия, сложным составом образующихся в разных видах очистных сооружений микробных сообществ, включающих в некоторых случаях и некультивируемые в чистой культуре виды. Каждое крупное очистное сооружение отличается от других по составу микробных сообществ, и это связано с тем, что условия их формирования, а именно состав стоков, температура окружающей среды и другие факторы неодинаковы. Именно сложность данной техногенной экологической ниши не позволила до сих пор создать универсальные микробные препараты для заселения очистных сооружений, которые были бы пригодны для любого из условий. Кроме того, относительно мало внимания уделяется роли биопленок в процессах удаления фосфата.

Новизна работы заключается в первую очередь в том, что основное внимание здесь уделено роли биопленок, образуемых как монокультурами бактерий, входящих в сообщество, так и бинарными культурами. Показано, что сформированные биопленки при циклическом процессе биофильтрации стоков позволяют улучшить процесс удаления фосфора примерно на 30 %. Интерес представляет также участие в процессе формирования активных биопленок такой широко распространенной бактерии как *B. subtilis*, а также полученные данные о влиянии на формировании биопленок щелочной среды и широко используемого детергента – додецилсульфата натрия. Важным результатом является детальный анализ таксономического состава микробного сообщества в ходе длительного культивирования в модельном биореакторе.

Практическая значимость

Работа несомненно имеет практическое значение, как благодаря разработке подходов к диагностике способности илов к удалению фосфата, так и благодаря разработке технологии очистки бытовых стоков от фосфата для очистных сооружений малой производительности.

Такие технологии несомненно необходимы в связи с современными идеями разукрупнения технологических установок обеспечения гомеостаза городской среды. Наличие акта о практическом использовании результатов диссертационной работы от МУП «Водоканал» г. Казани по интенсификации биофильтрационной очистки с глубоким удалением фосфатов из сточных вод жилого массива свидетельствует о том, что автором проделана значительная работа с попыткой использования результатов, полученных при проведении исследования, в практической области очистки стоков

Степень достоверности, обоснованности научных результатов положений и выводов

Основные выводы диссертации основаны на результатах работы. Результаты получены современными методами и их достоверность не вызывает сомнений.

Публикации по материалам диссертации

Результаты опубликованы в двух статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России и одной статье в научном журнале, индексируемом в международной базе Scopus, в этих статьях соискатель является первым автором, а также представлены на многих научных конференциях.

Структура и объем диссертации

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 184 стр, содержит 21 таблиц и 37 рисунков, список литературы из 269 источников, а также приложения, свидетельствующие о проведении работ по внедрению результатов. К сожалению, в приложении нет самого текста акта о внедрении, было бы интересно ознакомиться с данным документом.

В обзоре литературы проведен анализ современных данных по вопросу о фосфоре в стоках и методах его удаления, по микробиологическим процессам очистки сточных вод от фосфатов, включая разные формы микробных сообществ. То, что автор уделит важное внимание микробиологическим аспектам, является оправданным, поскольку понимание роли микробных сообществ в очистке стоков от фосфатов, знания о формах накопления фосфатов в илах важны как для разработки технологических установок по очистке вод с возможным включением интродукции микробных препаратов, так и для возможных подходов по утилизации образующихся илов.

Глава объекты и методы исследования демонстрирует, что автор применил современные методы идентификации бактерий с помощью 16S РНК. Применение для аналитических целей

стандартных методов ПНД важно с точки зрения биотехнологии и возможности использовать подходы диссертационной работы при практической оценке эффективности удаления фосфатов из реальных стоков.

Главы 3-4 содержат микробиологические результаты работы, раскрывающие такие важные для очистки стоков процессы, как динамику поглощения фосфата из жидкости при длительном культивировании в модельном биореакторе, локализацию фосфорных накоплений в клетках бактерий, изменение таксономического состава микробных ассоциатов на различных стадиях развития микробных сообществ в модельных стоках, а также образование в этих условиях биопленок и их роль в поглощении фосфата.

Эта часть представляет несомненный интерес, в особенности в связи с полученными данными об изменениях таксономического состава микробного сообщества в процессе адаптации к процессам, протекающим в биореакторе в течение длительного времени исследования. Также важным являются данные электронно-микроскопического элементного анализа бактерий. Представляет интерес, что фосфор в клетках бактерий распределен классическим образом, в виде гранул, независимо от того, какая форма бактерий, палочковидная или кокковая, подвергалась элементному анализу, а также совместная локализация фосфора и магния. Эти данные представляют практический интерес, так как одна из важнейших транспортных систем бактериальной мембраны, Pit , переносит фосфат вместе с катионами двухвалентных металлов, и полученные данные свидетельствуют о том, что концентрация магния в стоках может существенно влиять на способность бактериальных консорциумов к поглощению фосфата.

Особое значение имеют данные по образованию биопленок и их роли в поглощении фосфата. Биопленки позволяют бактериям сохранять жизнеспособность в разных неблагоприятных условиях и могут служить основой для препаратов, пригодных для инокуляции в биофильтры или очистные сооружения на практике.

Глава 5 показывает результаты интродукции, а также технологический расчет и схемы биофильтра для очистки стоков.

В данном отзыве не проводится анализ главы 6, содержащей эколого-экономическую оценку применения биофильтров в связи с тем, что автор отзыва не обладает компетенцией по данной проблеме. Однако сам факт наличия такого анализа а также наличие акта о практическом использовании результатов диссертационной работы от МУП «Водоканал» г. Казани по интенсификации биофильтрационной очистки с глубоким удалением фосфатов из

сточных вод жилого массива свидетельствует о том, что автором проделана значительная работа с попыткой использования результатов, полученных при проведении исследования, в практической области очистки стоков

Раздел «Заключение» содержит выводы из проделанной работы.

Вопросы и замечания

Хотелось бы знать мнение автора по следующим вопросам:

1. Является ли необходимым для контроля качества очистки от фосфата с помощью биофильтров периодический мониторинг фосфатов в исходящей жидкости?
2. От чего может зависеть частота замены носителя для биопленок и дополнительной интродукции микробных препаратов в биофильтрах?
3. Какие известны пути утилизации использованных носителей для биофильтров?

Основные замечания касаются оформления работы и имеющихся неточностей в формулировках.

В обзоре литературы имеются подзаголовки, например «Фосфор в сточных водах» (стр. 13 и далее), однако такие подзаголовки никак не выделены, что затрудняет чтение.

Рис. 1.5. – 1.6. Не указано, каким красителем окрашен препарат для флуоресцентной микроскопии и из какого источника взяты иллюстрации.

Фраза «Бактерии... используют аминокислоты как основной углеродный субстрат, поэтому наличие определенных легкоусвояемых органических соединений в среде является ключевым фактором для их использования в очистке сточных вод с высоким содержанием белков» требует ссылки на источник и в целом не верна, не понятно, какие именно легкоусвояемые органические соединения имеются в виду, и как это связано с высоким содержанием белка. Скорее, следовало бы ожидать, что для стоков с высоким содержанием белка важную роль могли бы сыграть бактерии, секретирующие протеолитические ферменты.

Краткие сведения о бактериях, накапливающие полифосфатов на стр 25 выглядят лишними, поскольку эти виды не встречаются в системах EBPR, а способность к накоплению полифосфатов свойственна гораздо более широкому кругу бактерий, относящихся к разным таксонам, нежели указано в этом фрагменте обзора. Данные по содержанию фосфатов в клетках бактерий приведены в неверной форме - 600 мМ единиц фосфора – такое обозначение

не используется, нужно просто 600 мМ, 3% фосфора – от чего? От веса биомассы или другого параметра?

Рис. 1.12. – Не указан источник иллюстрации

«Гены фермента полифосфаткиназа» (стр 30) – правильная формулировка следующая: гены, кодирующие полифосфаткиназы. Надо отметить, что в настоящее время установлено, что это весьма консервативные гены, которых может быть от 1 до 6 и более имеются у гораздо более широкого спектра таксонов, чем указано в данной работе.

Не ясно, что означает ТМ7 в таблице 1.2.

Встречаются неточности при цитировании, так, на странице 50 упоминается работа Лю с соавт (172) а на самом деле это цитата работы Wang et al.

Стр. 61 - Какой смысл несет нестандартное обозначение $P-PO_4$ для фосфата, проще было бы применить просто PO_4 или P_i . Может быть, такое сокращение принято в технологических документах?

Стр. 69 - Количество биомассы указано в г/дм³. Следовало бы уточнить, весовое количество указано для сырого или сухого веса.

Рис.3.1 - В подписи имело бы смысл уточнить, что речь идет о содержании веществ в водной фазе. Неясно, для чего в подписи говорится о соединениях фосфора, когда данные представлены по неорганическому фосфату, никаких других соединений фосфора на рисунке нет.

Рис.3.3. - В подписи не указано, что это был за образец (например, в сравнении с рис. 3.2.) и не указано, от какой базовой величины вычислены %. Даже если эти расчеты есть в разделе методов, подпись к рисунку должна давать полную информацию.

Указанные замечания не снижают положительной оценки диссертационной работы Хасановой А.А. В работе применены современные методы и подходы, положения, выносимые на защиту, успешно обоснованы полученными данными. К числу достоинств работы относится гармоничное сочетание микробиологических данных и биотехнологических разработок и рекомендаций.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Хасановой Айгуль Айдаровны «Процессы очистки сточных вод в условиях развития фосфатаккумулялирующих микроорганизмов в сообществах активного

ила и биопленки» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи оптимизации очистки сточных вод от избыточного фосфата с помощью применения биофильтров, содержащих бактериальные сообщества и биопленки, в ней содержатся решения и разработки, имеющие существенное значение для развития экологически чистых технологий очистки бытовых и промышленных стоков. Результаты, представленные в диссертации, представляют несомненный интерес для совершенствования технологических процессов в очистных сооружениях.

Диссертация обладает достойной научной новизной, существенной теоретической и практической значимостью, достоверностью результатов, обоснованностью положений и выводов, направлена на решение актуальных проблем в исследуемой области, и является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствующей требованиям п.9. Постановления правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции) «О порядке присуждения ученых степеней» и специальности 1.5.6. «Биотехнология», а ее автор, **Хасанова Айгуль Айратовна** заслуживает присуждения искомой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. «Биотехнология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук по специальности 03.00.04 – Биохимия,
ведущий научный сотрудник Института биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрябина Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального
государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр
«Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
Кулаковская Татьяна Валентиновна

Кулаковская

Адрес места работы: 142290 Московская область, Серпухов, г.-о Пущино, ул. Проспект
Науки, 5
+7(4967)73-39-62,
alla@ibpm.ru

25.08.2026г

Подпись *Кулаковская Т.В.*
УДОСТОВЕРЯЮ *Васильев*
Начальник отдела кадров ИБФМ РАН



Вход. № 05-9113
« 04 » 08 2026 г.
подпись *Крас*