

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора технических наук, доцента, профессора кафедры биотехнологии
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Российский химико-технологический университет имени
Д.И. Менделеева» Калёнова Сергея Владимировича
на диссертационную работу Хасановой Айгуль Айратовны на тему:
«Процессы очистки сточных вод в условиях развития фосфатаккумулирующих
микроорганизмов в сообществах активного ила и биопленки»,
представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук
по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертационного исследования

Одной из актуальных задач биотехнологии является культивирование микробных сообществ в процессах эффективной очистки сточных вод от соединений фосфора и азота. Особое значение приобретает разработка биологических способов и приемов, обеспечивающих глубокое удаление биогенных элементов – азота и фосфора с одновременным снижением реагентной нагрузки и количеством осадков сточных вод. Эффективность таких технологий во многом определяется составом и функциональной активностью микробных сообществ на очистных сооружениях.

Перспективным направлением в процессах экологической биотехнологии является применение агрегированных и иммобилизованных форм микроорганизмов. Сформированная бактериальная биопленка снижает вероятность вымывания функционально значимых микроорганизмов, обеспечивает их длительное удержание в технологической схеме и повышает устойчивость микробного сообщества к изменению состава сточных вод и воздействию неблагоприятных факторов. Эти преимущества имеют особое значение для очистки сточных вод, содержащих переменные концентрации биогенных соединений и потенциально ингибирующих компонентов. В представленной диссертации именно иммобилизованная биомасса рассматривается как решающий инструмент интенсификации процесса дефосфатации сточных вод.

Диссертационная работа Хасановой Айгуль Айратовны, направлена на создание условий для развития фосфатаккумулирующих микроорганизмов в процессе культивирования микробного сообщества активного ила и биопленки, а также разработку на этой основе биофльтрационной технологии очистки сточных вод, является актуальной и имеет научное и практическое значение.

Таким образом, **целью работы** являлось интенсификация процессов очистки сточных вод путем создания условий для развития фосфатаккумулирующих микроорганизмов в составе микробных сообществ активного ила и биопленки. Представленные в диссертации задачи направлены на достижение поставленной цели.

Диссертационная работа Хасановой А.А. изложена на 186 страницах, включает введение, шесть глав, заключение, список литературы и два приложения. Текст диссертации иллюстрирован 37 рисунками и 21 таблицей. Библиографический список включает 269 наименований отечественных и зарубежных источников.

Во введении обоснована актуальность выбранного направления, охарактеризована степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, приведены сведения о достоверности, апробации и публикациях по теме диссертации.

Обзор литературы (первая глава) включает рассмотрение форм фосфора в средах и сточных водах, химических, физико-химических и биологических способов его удаления, современные представления о фосфатаккумулирующих микроорганизмах и механизмах биологической дефосфатации. Существенное внимание уделено агрегированным формам микробных сообществ и современным биопленочным реакторам. С инженерной точки зрения положительным является рассмотрение эксплуатационных параметров биопленочных систем: гидравлического времени удерживания, содержания растворенного кислорода, степени заполнения реактора носителем, температуры и гидродинамических условий.

Во второй главе представлены объекты, методы исследований и постановки экспериментов. Для исследования объектов диссертации в работе использован комплекс микробиологических, физико-химических, молекулярно-биологических и инструментальных методов. Наряду со стандартными аналитическими методиками определения фосфат-, аммоний-, нитрит- и нитрат-ионов и ХПК применены электронная микроскопия, рентгеноспектральный микроанализ и идентификация микроорганизмов по последовательности гена 16S рПНК. Такой комплексный методический подход является обоснованным и позволяет оценивать технологические показатели процесса одновременно с изменениями состава и состояния микробного сообщества.

В третьей главе приведены результаты культивирования микробного сообщества активного ила в биореакторе последовательно-периодического

действия. Экспериментально исследовано изменение состава микробного сообщества в процессе глубокого удаления фосфора. В составе сообщества идентифицирован представитель рода *Azonexus*, доля которого достигала 24 %, а содержание внутриклеточного фосфора – до 12. % от сухой массы клеток. Эффективность дефосфатации среды при сформированном составе сообщества достигала 51 %. Представленные данные представляют интерес с позиции управления составом функциональных микробных групп в биотехнологических системах очистки сточных вод.

В четвертой главе изучена способность ряда бактериальных культур активного ила к формированию биопленок и проведена оценка влияния физико-химических факторов среды на устойчивость моно- и бинарных культур. Данный раздел представляет особый интерес с точки зрения эксплуатации биологических очистных сооружений, поскольку устойчивость микробного сообщества к изменению pH, температуры и присутствию поверхностно-активных веществ непосредственно определяет стабильность технологического процесса.

Установлено, что бинарные культуры в ряде случаев характеризуются более выраженным биопленкообразованием по сравнению с монокультурами. В частности, массивность биопленки культуры *Bacillus subtilis* и *Achromobacter pulmonis* ПНОС при pH 5,0 и 10,0 возрастала в среднем на 46 и 45 % соответственно, а биопленки *Alcaligenes faecalis* 2 и *Bacillus subtilis* при содержании додецилсульфата натрия 5-10 мг/дм³ – в среднем на 22 %, чем у соответствующих монокультур. Полученные результаты подтверждают перспективность использования смешанных культур для иммобилизации и формирования устойчивой биопленки.

В пятой главе проведен сравнительный анализ процессов очистки сточных вод с использованием суспендированной и иммобилизованной биомассы. Показано, что при эксплуатации биофильтра эффективность удаления фосфат-ионов составила в среднем 95 %, тогда как для суспендированного активного ила данный показатель составлял около 78 %. Установлено также сокращение пускового периода биофильтра в два раза и повышение эффективности удаления фосфатов и аммонийного азота по сравнению с системой активного ила.

Отдельного внимания заслуживает исследование биоаугментации микробного сообщества путем интродукции *Alcaligenes faecalis* 2. Показано, что в начальный период эксплуатации интродуцированного биофильтра концентрация фосфатов снижалась в среднем на 95 %, а после стабилизации процесса наблюдалось устойчивое снижение их содержания в среде. В заключении автор указывает, что эффективность удаления фосфат-ионов и ионов аммония при

использовании интродуцированной биопленки составила в среднем 91-93 % и до 99 %, соответственно.

Практически значимой частью главы является технологический расчет биофильтра и разработка принципиальной технологической схемы очистки сточных вод. Для сооружений производительностью 400 м³/сут рассчитаны параметры двухсекционной биофильтрационной системы.

В шестой главе рассмотрены затраты на создание и эксплуатацию двухсекционной биофильтрационной системы и рассчитан предотвращенный экологический ущерб.

В заключении обобщены основные результаты проведенных исследований и сформулированы выводы, последовательно соответствующих поставленным задачам. Отдельно обозначены перспективы дальнейшего развития исследований в направлении создания новых биотехнологий глубокой очистки сточных вод от комплекса биогенных элементов.

В приложениях представлены документы, подтверждающие научно-практическую направленность исследования, а именно договор о предоставлении гранта Фонда содействия инновациям на выполнение научно-исследовательских работ по разработке методики диагностики фосфатаккумулирующей способности активного ила, а также акт МУП «Водоканал» г. Казани о рассмотрении результатов диссертационного исследования и практическом использовании полученных результатов.

Структура диссертационной работы Хасановой А.А. отличается логической завершенностью, а материал изложен последовательно – от исследования свойств отдельных микробных культур и сообществ до формирования иммобилизованной биомассы и разработки итогового технологического решения.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений. Достоверность результатов обеспечивается использованием комплекса стандартных и современных методов исследования, применением физико-химических, микробиологических и молекулярно-биологических методов и статистической обработкой полученных результатов.

Следует отметить обоснованную методологию проведения исследований с последовательным увеличением масштаба исследования от планшетного культивирования отдельных культур и бинарных ассоциаций до экспериментов с активным илом, лабораторными биореакторами и последующего технологического

расчета сооружения. Такой подход позволяет связать свойства отдельных микроорганизмов и их ассоциаций с технологическими характеристиками процесса очистки.

Апробация результатов является достаточной. Материалы диссертации представлены на Международных и Всероссийских конференциях. По результатам исследования опубликовано 14 работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 статья в журнале, индексируемом в базе данных Scopus, и 11 материалов Международных и Всероссийских конференций.

Новизна исследования, результатов и выводов, сформулированных в диссертации, состоит в следующем:

Установлена сукцессия микробного сообщества активного ила при циклическом культивировании с последовательным чередованием анаэробных и аэробных условий. Идентифицирован представитель рода *Azonexus*, доля которого в сообществе достигала 24 %, а содержание внутриклеточного фосфора – до 12 % от сухой массы клеток.

Получены новые экспериментальные данные о поведении моно- и бинарных бактериальных биопленок в условиях изменения pH, температуры и воздействия синтетического поверхностно-активного вещества. Показано, что для ряда бинарных культур стрессовое воздействие сопровождается усилением биопленкообразования, что представляет интерес для разработки устойчивых биотехнологических систем очистки сточных вод.

Экспериментально установлено преимущество иммобилизованной биомассы перед суспендированным активным илом при очистке модельных сточных вод: пусковой период системы сокращается в два раза, а эффективность удаления фосфатов и аммонийного азота повышается соответственно на 20-25 и 30-35 %.

Научно-практический интерес представляет также разработанный подход к биоаугментации сформированной биопленки культурой *Alcaligenes faecalis* 2, направленный на повышение функционального потенциала иммобилизованного микробного сообщества.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты исследования моно- и бинарных биопленок под воздействием физико-химических факторов среды имеют значение для разработки устойчивых биотехнологических систем, функционирующих при изменении состава сточных вод и воздействии негативных факторов среды. Особенно важными представляются данные о сохранении структурной устойчивости и метаболической

активности микробных ассоциаций при воздействии pH, температуры и поверхностно-активных веществ.

Практическая значимость работы заключается в разработке методики диагностики фосфатаккумулирующей способности активного ила, экспериментальном обосновании эффективности применения биопленки и биоаугментации, а также в создании технологической схемы очистки коммунально-бытовых сточных вод производительностью 400 м³/сут.

Предложенное техническое решение имеет практическую направленность и подтверждено документами МУП «Водоканал» г. Казани. Его экономическая целесообразность обоснована расчетным снижением выплат за сверхнормативный сброс соединений азота и фосфора более чем на 1,75 млн руб. в год и сроком окупаемости около 5 лет.

Результаты работы также рекомендуются к использованию проектным организациям при проектировании малых очистных сооружений для коттеджных поселков, удаленных производственных площадок. Изученные высокоэффективные штаммы (*Alcaligenes faecalis* 2 и *Bacillus subtilis*) могут быть использованы для создания коммерческих консорциумов, ускоряющих запуск биофильтров с повышенной устойчивостью к ПАВ. Материалы диссертации целесообразно использовать в учебном процессе при подготовке бакалавров и магистров по направлениям «Биотехнология», «Промышленная экология», «Защита окружающей среды».

Замечания и вопросы по диссертационной работе

1. В задачах работы для изучения биопленкообразования заявлены монокультуры *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus odorifer* и др. Данные микроорганизмы не относятся к классическим фосфатаккумулирующим. В тексте отсутствует четкое обоснование выбора данных бактерий для систем дефосфатации.

2. Автор использует штамм *Alcaligenes faecalis* 2 для биоаугментации биопленки и заявляет о стабилизации дефосфатации. В литературе род *Alcaligenes* чаще описывается как нитрификатор-денитрификатор. Физиолого-биохимический механизм накопления фосфора *Alcaligenes faecalis* 2 раскрыт не полностью.

3. Эксперименты с биопленкой и введением *Alcaligenes faecalis* 2 ограничены периодом в 22 суток. Для промышленной эксплуатации биотехнологических систем этого периода недостаточно, чтобы оценить долговременную стабильность введенной культуры и риски его вымывания из биопленки под действием гидродинамических нагрузок.

4. В главах 2 и 3 при приготовлении модельного раствора сточных вод и описании режимов SBR-реактора автор указывает исходную концентрацию

фосфора (25 мг P-PO₄/л). Однако, в работе отсутствует четкое обоснование соответствия этого раствора классическому стехиометрическому соотношению (C:N:P = 100:5:1), необходимому для EBPR-процесса. Мог ли избыток фосфора на фоне потенциального дефицита углерода искусственно ограничить эффективность дефосфатации барьером в 51 %.

5. В главе 3 представлены результаты картирования химических элементов. Автор указывает на возрастание содержания внутриклеточного фосфора в 14 раз к 25-м суткам. Однако из текста неясно, проводилась ли предварительная отмычка клеток от поверхностно сорбированных фосфатов, что могло привести к завышению показателей истинного внутриклеточного накопления фосфора.

6. В главе 4 показано, что экстремальные значения pH (5,0 и 10,0) стимулируют биопленкообразование у бинарных культур. Рассматриваете ли Вы регулирование pH как контролирующий технологический стресс-фактор для ускорения запуска биофильтров на практике?

7. В пункте 5.2 диссертации описано введение фосфатаккумулирующей культуры *Alcaligenes faecalis* 2 в систему биофильтра. При доказанной стабилизации очистки на 22-е сутки в работе отсутствуют данные ПЦР в реальном времени или FISH-анализа, доказывающие устойчивое закрепление именно этого штамма в составе консорциума биопленки.

8. В технологической схеме обогащенный фосфором избыточный ил направляется на механическое обезвоживание. Рассматривали ли Вы возможность контролируемого извлечения фосфора из этого осадка, например, кристаллического струвита, как упоминалось в Вашем литературном обзоре?

Высказанные замечания и вопросы имеют в основном рекомендательный и уточняющий характер, они не снижают общую высокую научную и практическую ценность выполненного исследования.

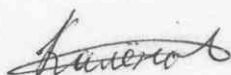
Заключение о соответствии диссертации требованиям “Положения о присуждении ученых степеней”

На основании вышеизложенного следует отметить, что диссертационная работа Хасановой Айгуль Айратовны «Процессы очистки сточных вод в условиях развития фосфатаккумулирующих микроорганизмов в сообществах активного ила и биопленки» является законченной научно-квалификационной работой, в которой изложены новые научно обоснованные технические и технологические решения и разработки по реализации процесса культивирования фосфатаккумулирующих микроорганизмов в составе агрегированных микробных сообществ, имеющие существенное значение для развития методов экологической биотехнологии, и

соответствует п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в действующей редакции), а автор диссертации – Хасанова Айгуль Айратовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор технических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), доцент по специальности Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), профессор кафедры биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»



Калёнов Сергей Владимирович

«2» сентября 2026 г.

Адрес места работы: 125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9.

Контактные данные: тел.: +7 (926) 539-52-31, +7 (495) 495-23-79

e-mail: kalenov.s.v@muctr.ru

Подпись Калёнова С.В. заверяю

Ученый секретарь РХТУ

им. Д.И. Менделеева,

д.т.н., профессор



Макаров Николай Александрович

Вход. № 05-9114
«04» 09 2026 г.
подпись 