

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических
наук Журавлевой Елены Александровны на тему «Исследование
прямого межвидового переноса электронов между синтрофными
бактериями и метаногенными археями»
по специальностям 1.5.11 «Микробиология» и
1.5.6. «Биотехнология»**

В настоящее время чрезвычайно острой является проблема переработки и утилизации отходов. Поиск оптимального решения для эффективного управления отходами, в том числе и органическими, актуален для всего мирового сообщества, включая Россию. Биотехнологические способы переработки органической части отходов имеют ряд преимуществ, в частности экологическая безопасность, получение различных полезных продуктов, возможность контролируемого снижения эмиссии CO₂ и выбросов парниковых газов, включая CH₄.

Одним из перспективных и эффективных биотехнологических способов переработки широкого спектра органических отходов является анаэробное сбраживание (АС). В ходе АС происходит постепенное разложение органического вещества с образованием метана и сброженного эффлюэнта, который допустимо применять в качестве удобрения. Процесс АС классифицируется в зависимости от нагрузки по органическому веществу, соотношения азота и углерода, влажности субстрата. В зависимости от типа АС существенно могут отличаться характеристики процесса. Основные стадии процесса включают гидролиз, ацидогенез, ацетогенез и метаногенез. Для эффективного протекания ацетогенеза (синтрофной стадии) – разложения летучих жирных кислот (ЛЖК), необходима передача электронов между синтрофной бактерией и метаногенным партнером. Передача электронов может осуществляться опосредованно с помощью водорода, формиата или гуминовых соединений. В 2010 году лаборатория Дерекы Лавли в Массачусетском университете сообщила о новом способе переноса электронов, названного прямым межвидовым переносом электронов (DIET).

При DIET перенос электронов между электронодонорными и электроноакцепторными микроорганизмами осуществляется через проводящие материалы, электропроводящие пилы или с помощью цитохромов *c*-типа, что ускоряет и стабилизирует процесс АС.

Представленная Журавлевой Е.А. работа существенно расширяет имеющиеся на данный момент сведения о возможности стимуляции DIET в различных типах АС с учетом изменения состава микробного сообщества. В Диссертационном исследовании показана роль комбинации разных типов DIET, возможность активизации процесса непроводящими материалами и выявлены новые электроактивные группы микроорганизмов. Диссертационная работа имеет явно выраженную прикладную направленность для решения таких биотехнологических задач, как оптимизация процесса АС в полномасштабном лабораторном реакторе и возможность осуществления твердофазного АС в термофильном режиме.

Целью работы было изучение влияния электропроводящих и инертных материалов на стимуляцию прямого межвидового переноса электронов и определение доминирующих микробных групп при анаэробном сбразивании органических отходов в термофильных условиях.

В задачи входило изучение влияния различных электропроводящих материалов (карбоновый войлок, нержавеющая сталь) и неэлектропроводящих материалов (полиэфирный войлок, стекловолокно) на АС низкоконцентрированного стока и смеси ЛЖК в высокой концентрации с использованием разных метаногенных инокулятов. Автором было изучено влияние карбоновой ткани и стеклоткани на процесс совместного АС при высокой нагрузке по органическому веществу. Также было изучено влияние разных количеств гранулированного активированного угля (ГАУ) и магнетита на скорость метанообразования и разложение ЛЖК при твердофазном АС. Для каждого эксперимента было определено изменение состава микробного сообщества при АС в термофильных условиях.

Диссертация построена традиционно и включает 156 страниц и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка используемой литературы. Список литературы включает 277 источников, из них 2 на русском и 275 на иностранных языках. Работа содержит 18 таблиц и проиллюстрирована 29 рисунками.

Во введении обосновывается актуальность изучаемой темы, ставятся цель и задачи исследования, представлены положения, выносимые на защиту, отражается научная новизна полученных результатов и их теоретическое и практическое значение.

Литературный обзор представлен на 24 страницах, он разделен на две главы. В главе 1 приводится описание АС, подробно описаны основные стадии и механизмы процесса. Особое внимание уделено переносу электронов, как прямому, так и опосредованному. В главе 2 описаны виды АС органического вещества и способы оптимизации процесса, в том числе подробное описание применения различных добавок, предварительной обработки субстрата, совместного сбраживания и оптимизации параметров процесса.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно описаны методики и протоколы, использованные в работе. Эксперименты выполнены на кафедре микробиологии биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова», а также в лаборатории микробиологии антропогенных мест обитания Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФГУ "Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук" с использованием современных методов классической микробиологии и биотехнологии, комплекса химико-аналитических, статистических и биоинформатических методов анализа.

Раздел «Результаты и обсуждение» разделен диссертантом на главы, согласно поставленным ранее задачам, после каждой главы есть небольшой раздел с выводами и обсуждениями конкретного эксперимента. Автором в Главе 4 изучено влияние карбонового войлока и сетки из нержавеющей стали

(в сравнении с неэлектропроводящими аналогами) и метаногенного инокулята на характеристики анаэробного сбраживания низкоконтрированного стока свинофермы и смеси летучих жирных кислот в высокой концентрации. Установлено, что любой носитель с большой площадью и удобной для биообрастания поверхностью улучшает параметры анаэробного сбраживания. По комплексу параметров показано протекание DIET для комбинации инокулят/материал – осадок сточных вод/полиэфирный войлок и навоз крупного рогатого скота/нержавеющая сталь на втором этапе эксперимента; а на третьем осадок сточных вод/ карбоновый войлок и навоз крупного рогатого скота/полиэфирный войлок. Показана вовлеченность в процесс DIET предположительно синтрофных и/или электроактивных групп *MBA03* класса *Limnochordia*, *Clostridium sensu stricto 1* и родов *Ureibacillus*, *Coprothermobacter*, *Candidatus Caldatribacterium* и класса *Limnochordia*. В рамках эксперимента впервые показана стимуляция DIET в низкоконтрированной системе АС. Глава 5 посвящена изучению влияния электропроводящей карбоновой ткани и инертной ткани из стекловолокна на характеристики АС при высокой нагрузке по органическому веществу. Автором показано, что добавление карбоновой ткани статистически достоверно положительно сказывалось на процессе АС, что особенно заметно при нагрузке по органическому веществу равной (12,12 кг ОВ/(м³ сутки)). В ходе эксперимента была выявлена корреляция между основными биотехнологическими параметрами процесса и планктонной биомассой. В биопленках на карбоновой ткани показано доминирование рода *Defluviitoga* и предположено его участие в DIET. В Главе 6 изучалось влияние разных количеств электропроводящего материала - гранулированного активированного угля (ГАУ) и магнетита на скорость разложения ЛЖК и метанообразования при твердофазном анаэробном сбраживании. В ходе эксперимента впервые изучен термофильный режим твердофазного анаэробного сбраживания со стимуляцией DIET. Было показано, что внесение любого электропроводящего материала улучшало термофильное

твердофазное АС, несмотря на высокое накопление ЛЖК. Наилучшие результаты были показаны для флаконов с максимальной концентрацией проводящих материалов (33,3 или 66,6 г/кг), самый высокий выход метана наблюдался во флаконах с магнетитом, а более высокие максимальные скорости производства CH_4 и короткая лаг-фаза – с ГАУ. Представленное «Заключение» содержит хорошо систематизированные результаты диссертационной работы. Выводы сформулированы обосновано и соответствуют поставленной цели и задачам. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. По материалам диссертационной работы опубликовано 4 статьи в журналах, индексируемых в базах данных WoS, Scopus и RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова.

Принципиальных замечаний к диссертации не имеется, однако необходимо отметить ряд вопросов, возникших по ходу прочтения текста диссертации:

1. Можно ли предсказать тип оптимального материала носителя (электропроводящий/инертный) в зависимости от характеристик АС?
2. На рисунке 5, стр. 50, буквы б и г нужно поменять местами;
3. Есть ли другие методы для подтверждения ДИЕТ? Помимо подтверждения по изменению биотехнологических параметров и наличию пилеподобных структур?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальностям 1.5.11 – Микробиология; 1.5.6 – Биотехнология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно

требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Журавлева Елена Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11 – Микробиология; 1.5.6 – Биотехнология (по биологическим наукам).

Официальный оппонент:

Кандидат технических наук,
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», химический факультет, кафедра химической энзимологии, старший научный сотрудник

Гладченко Марина Анатольевна

12.04.2024 г.

Контактные данные:

тел.: 8-495-939-50-83, e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.00.23 «Биотехнология»; 05.18.07 «Биотехнология пищевых продуктов (по отраслям)».

Адрес места работы:

119234, Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр.3.

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», химический факультет

Тел.: 8-495-939-50-83; e-mail: