ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Белых Марины Петровны «Исследование роли бактериальных сообществ в детоксикации цианидсодержащих отходов кучного выщелачивания золотосодержащих руд», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биологические науки)

В настоящее время одной из важнейших проблем для предприятий горно-металлургического комплекса России, включая золотодобывающие, является высокая нагрузка на окружающую среду, что обусловлено образованием и накоплением большого количества отходов добычи руд, обогащения и металлургических переделов. Данная проблема характерна для горно-металлургических предприятий всего мира, но особенно актуальна для России, на территории находится большое количество хранилищ отходов горной добычи, обогащения и металлургии (отвалы пустой породы, забалансовых и бедных руд, хвостов обогащения, шлаков). Длительное хранение этих отходов приводит к образованию загрязненных вод, содержащих высокие концентрации различных токсичных ионов. Ряд работ российских исследователей показывает, что масштабы загрязнения водоемов и почв, расположенных в районах хранилищ отходов могут быть весьма значительными.

Одним из источников образования потенциально опасных отходов является технология кучного выщелачивания (КВ) золота цианистыми растворами, широкому применению которой способствуют небольшие капиталовложения, относительно низкая себестоимость извлечения золота, возможность отработки малых рудных месторождений и руд с низким содержанием золота. КВ с использованием цианида в настоящее время обеспечивает около 15-17% от общемировой добычи золота, в мире действует большое количество установок кучного выщелачивания золота (только в США более 100). Несмотря на то, что во всем мире проводятся исследования, направленные на изучение возможности замены цианидов другими растворителями (тиокарбамид, тиосульфат, галоиды (хлор, бром, йод), гуматы и аминокислоты)), цианидный процесс продолжает играть доминирующую роль в добыче золота благодаря своим технологическими и экономическими преимуществам перед альтернативными реагентами. Так

как цианид относится к сильнодействующим ядовитым веществам, то отходы, образующиеся в процессе КВ, отработанный рудный штабель и технологический раствор, должны подвергаться обезвреживанию. Для обезвреживания отходов КВ (которые, помимо свободных цианидов, содержат комплексы цианида с различными металлами, а также продукты его взаимодействия с другими соединениями – цианаты, тиоцианаты) используются различные подходы, ключевой стадией которых является собственно деструкция цианидов химическими, физическими и биологическими методами. Химические и физические методы предполагают деструкцию цианидов с помощью различных реагентов (гипохлорит, кислород, озон, SO_2, пероксид водорода) или с помощью электрохимического окисления. Несмотря на широкое использование данных методов, они имеют ряд недостатков (большой расход реагентов, загрязнение стоков продуктами деструкции и интремедиатами, сложные аппаратурные схемы). Альтернативой им являются биологические методы, которые основаны, прежде всего, на активности различных групп микроорганизмов. Несмотря на перспективность использования биологической деструкции цианидов, закономерности протекания данных процессов в различных системах, различающихся климатическими условиями и минеральным составом руд, требуют дальнейшего изучения для более широкого внедрения технологий биодетоксикации цианидсодержащих отходов.

Таким образом, тема представленной диссертационной работы М.П. Белых является **актуальной**.

Научная новизна полученных результатов. В ходе выполнения работы были установлены основные закономерности протекания биологической деструкции токсичных соединений (цианида, тиоцианата и цианидных комплексов меди и никеля) в условиях сезонных вариаций температур (+20°С, +4°С и –18°С), в аэробных и анаэробных условиях, которые соответствуют различным слоям рудного штабеля КВ. Были проведены сравнительные исследования скорости биологической и химической деструкции цианидов, включая цианидные комплексы меди и никеля, и тиоцианатов и показано преимущественное влияние биотического фактора. С использованием молекулярно-генетических методов были получены данные о структуре и разнообразии микробных сообществ, развивающихся в естественных и модельных условиях штабеля КВ и дополнены и расширены сведения об основных участниках деструкции

цианидсодержащих соединений в отходах золотодобывающей промышленности, расположенных на территории РФ. Было проведено исследование автохтонных микробных сообществ различных месторождений, направленное на выявление основных групп бактерий, выступающих маркерами процессов деструкции цианидсодержащих соединений в отходах КВ и определено влияние различных экологических факторов (территориальное расположение месторождения, минерального и химического состава его руд) на состав и структуру микробиомов.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации М.П. Белых стандартна для диссертационных работ. Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав, заключения и выводов. Список литературы включает 166 работ, из которых 118 – на английском языке. Работа иллюстрирована 27 рисунками, 29 таблицами и 5 приложениями. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Во **Введении** (с. 5-11) приведены обоснование актуальности работы, цели и задачи, показаны новизна и практическая значимость, сведения о реализации и внедрении результатов исследования, а также степени обоснованности и достоверности результатов исследования, представлены основные положения, выносимые на защиту, сведения об апробации работы, публикациях по материалам работы, личном вкладе автора и структуре диссертации.

Глава 1 «Обзор литературы» состоит из двух разделов. В разделе 1.1 **«Экологические аспекты кучного выщелачивания золота»** приводятся данные о современном состоянии развития технологии кучного выщелачивания золота в мире и в России, охарактеризованы основные токсиканты, которые содержатся в отходах КВ, представлены данные о экологических нормативах предельно допустимых концентраций (ПДК) на присутствие цианидов и тиоцианатов в природных средах, установленных в России. В разделе 1.2 «**Основные методы обезвреживания цианидсодержащих отходов КВ»** подробно рассмотрены химические, физические и биологические методы обезвреживания цианидсодержащих отходов КВ. Приведены данные о разнообразии микроорганизмов, участвующих в деструкции цианидов и о метаболических путях их деструкции.

Глава 2 «Объекты и методы исследования» (с. 39-53) содержит описание мест отбора проб технологического раствора и руды рудных

штабелей КВ – месторождений «Бабушкина Гора», «Чазы Гол», «Самолазовское» и «Подголечное». В данной главе также приведена общая схема исследований, использованных для разработки технологии биодетоксикации отходов КВ золота, подробно описана методика экспериментов.

Полученные результаты работы изложены в **3 главе «Результаты и обсуждение»** (с. 54-125)**.** Глава включает 3 раздела **3.1 «Исследование роли автохтонных бактериальных сообществ в пассивной детоксикации отходов КВ золота», 3.2 «Влияние экологических факторов на разнообразие автохтонных бактериальных сообществ природно-техногенных комплексов КВ золота»** и **3.3 Разработка технологии биодетоксикации отходов КВ золота на примере месторождения «Подголечное»**. В разделе **3.1** приведены данные о химическом составе технологических растворов и твердой фазы рудного штабеля КВ исследуемых месторождений, минеральном составе руд исследуемых месторождений. В этом же разделе приведены результаты модельного эксперимента по детоксикация отходов КВ золота на примере месторождения «Подголечное» и данные об изменении разнообразия бактериального сообщества в процессе детоксикации отходов КВ, полученные с помощью метагеномного секвенирования. Результаты данного раздела убедительно показывают, что скорость деструкции цианида микроорганизмами значительно (в несколько раз) превышает скорость деструкции химическими процессами. Было определено, что основными участниками деструкции цианидов, являются бактерии родов *Serratia, Achromobacter* и *Bordetella.* Кроме того, было показано, что в микробных популяциях значительна была доля бактерий рода *Hydrogenophaga*, которые могут способствовать деструкции цианида, потребляя метаболиты бактерий, деструктирующих цианид. В разделе **3.2** представлены результаты сравнительного анализа разнообразия автохтонных бактериальных сообществ в технологических растворах и рудном штабеле КВ, отобранных на месторождениях «Бабушкина гора» (Красноярский край), «Чазы Гол» (Республика Хакасия) и «Самолазовское» (Республика Саха (Якутия)) с помощью молекулярного клонирования генов 16S рРНК. Среди доминирующих представителей бактериальных сообществ всех четырех месторождений были выявлены преобладающие филотипы *Achromobacter* и *Serratia,* которые в разделе 3.1 были определены как маркеры процесса

деструкции цианидов. Кроме того, был проведен сравнительный анализ микробных популяций рудного штабеля и технологического раствора. Было показано, что разнофазность природно-техногенных комплексов КВ влияет на структуру бактериальных сообществ. В разделе **3.3** на основе полученных экспериментальных результатов предложена технология биодетоксикации отходов КВ золота и проведена оценка экономической эффективности разработанной технологии биодетоксикации отходов КВ. Сравнение предлагаемой биотехнологии с технологией щелочного хлорирования с последующей купоросной обработкой позволило определить ожидаемый экономический эффект применения технологии биодетоксикации площадки КВ золота месторождения «Подголечное» (151429.7 тыс. руб.).

Разделы **«Заключение»** и **«Выводы»** соответствуют полученным в работе результатам.

В целом, научная значимость, достоверность и обоснованность результатов, представленных в диссертационной работе, не вызывает сомнения.

По материалам диссертации опубликовано 15 работ, из них 5 статей в рецензируемых российских изданиях, входящих в список ВАК. Результаты исследования были представлены на российских и международных научных мероприятиях.

Знакомство с работой позволяет сформулировать следующие вопросы и замечания:

1. Глава 1, стр. 26. Стоит отметить, что нитрификация осуществляется далеко не только бактериями рр. *Nitrosomonas* и *Nitrobacter.*

2. Глава 1, стр. 26. «…Процесс осуществляется факультативными бактериями родов *Pseudomonas, Micrococcus, Achromobacter, Bacillus* и др. без использования кислорода…». Очевидно, имеются ввиду факультативно анаэробные бактерии?

3. Глава 1. Раздел 1.2.3 «Пассивные методы обезвреживания цианидсодержащих отходов». Необходимо более подробно описать различия между пассивными, полу-пассивными и активными методами. И существуют ли примеры биологических методов детоксикации цианид-содержащих отходов, которые можно отнести к «активным»?

4. Глава 1, стр. 36, уравнение 1.20. Необходимо уточнить, откуда в цитируемом источнике было взято данное уравнение реакции? Является ли

данная реакция ферментативной, и если да то какой группой организмов она осуществляется?

5. Глава 2, раздел 2.2 «Модельный эксперимент по детоксикации отходов КВ золота». Можно ли уточнить, какова может быть примерная мощность слоев рудного штабеля, о которых идет речь в разделе?

6. Глава 2, разделы 2.3.2 «Полимеразная цепная реакция» и 2.3.5 «Метагеномное секвенирование ампликонов». Использовали ли в работе праймеры, которые обеспечивали детекцию архей? И если нет, то почему?

7. Глава 3, таблица 3.4 «Сравнительный анализ основных компонентов технологического раствора и рудной массы изучаемых месторождений». Данные в таблице соответствуют технологическому раствору или рудной массе, или же каким-то усредненным значениям? И в каких единицах измеряются данные?

8. Глава 3, раздел 3.1.2 «Детоксикация отходов КВ золота на примере месторождения «Подголечное». Необходимо подробнее раскрыть методику эксперимента и привести некоторые уточнения касательно результатов. Каким образом при -18°С могла происходить микробная деструкция цианида? Сохранялась ли при такой температуре жидкая вода? Известны ли примеры микробной деструкции при таких условиях? Рисунки 3.3 В и 3.4 В. Как можно объяснить резкие колебания концентраций цианидов и тиоцианатов в предварительно простерилизованной рудной массе?

9. Глава 3, раздел 3.2.1 «Разнообразие доминирующих представителей автохтонных бактериальных сообществ в природно-техногенных комплексах КВ». В данном разделе приведены результаты оценки разнообразия микробных сообществ с помощью анализа библиотек клонов генов 16S рРНК. Стоит отметить, что данный метод хорошо позволяет выявить доминирующие группы микроорганизмов, но по его результатам трудно оценить долю и представленность минорных групп, зачастую представленных 1 последовательностью, так как их обнаружение/необнаружение при анализе нескольких десятков последовательностей является случайным.

Представленные в отзыве вопросы и замечания не влияют на общую оценку работы, так как не ставят под сомнение достоверность полученных результатов и сделанных выводов.

Заключение. На основании изложенного можно заключить, что рассматриваемая работа по актуальности, научной новизне, достоверности и

практической значимости результатов соответствует квалификационным требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и критериями установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (в редакции постановления правительства РФ № 842 от 24.09.2013), а ее автор, Марина Петровна Белых, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биологические науки).

И.О. заведующего лабораторией
хемолитотрофных микроорганизмов
ФИЦ Биотехнологии РАН
кандидат биологических наук Булаев
Александр Генрихович

12.03.2018

Федеральное государственное учреждение Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (ФИЦ Биотехнологии РАН).
Адрес: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2
Телефон/факс +7 (495) 954-52-83/ +7 (495) 954-27-32
E-mail: bulaev.inmi@yandex.ru