

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

**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 связи с перспективами интенсивного освоения природных ресурсов Сибири Дальнего Востока России, наиболее актуальными становятся вопросы, связанные с экологической безопасностью, которые включаются в разнообразные Государственные программы. Негативный опыт антропогенной трансформации компонентов природной среды в целом ряде регионов служит базовой предпосылкой для разработки современных подходов к минимизации последствий взаимодействия в системе Человек-Природа. Важное место среди негативных факторов, влияющих на экологическое состояние природной среды, занимают сточные воды, технологические растворы и твердые отходы переработки минерального сырья.

Диссертационная работа **Белых Марины Петровны** посвящена решению **фундаментальных и прикладных** задач, связанных с **актуальным** направлением экологических исследований по предотвращению экологических рисков путем обезвреживания потенциально опасных цианидсодержащих отходов кучного выщелачивания золотосодержащих руд. Модельным полигоном для апробации оптимальных решений в организации технологического процесса и сохранения стабильности природных экосистем в результате освоения рудного сырья послужили четыре месторождения золота на территории Красноярского края, Республик Хакасия и Саха (Якутия).

Диссертационная работа представлена на 167 страницах, включая введение, 3 главы, заключение, выводы и 5 приложений. Список литературы состоит из 166 источников, в том числе 118 на иностранном языке. В работе содержится 29 таблиц и 27 рисунков.

**Глава 1** традиционно представляет обзор литературных источников по защищаемой теме: проведен анализ экологических последствий поступления токсичных компонентов в окружающую среду после использования традиционной технологии кучного выщелачивания золота; рассмотрен перечень современных проблем, вызванных воздействием горнорудных предприятий на окружающую среду. Дан анализ химических и физических методов обезвреживания отходов золоторудных предприятий; представлен сравнительный анализ пассивных методов детоксикации отходов; обоснованы предпосылки использования методов микробиологической биоремедиации.

Проведенный **Белых М.П.** анализ отечественных и иностранных публикаций, свидетельствует о глубине проработки темы исследования и поиска современных подходов для обоснования перспективных и безопасных методов обезвреживания цианидсодержащих отходов. Диссертант приходит к выводу, что поиск активных бактерий-деструкторов цианидсодержащих соединений открывает широкие возможности для развития новых экологически и экономически эффективных технологий по детоксикации отходов кучного выщелачивания при золотодобыче.

В этой главе не совсем корректно используются некоторые словосочетания: с.12 «цианистый процесс», вернее это технологический процесс с использованием раствора цианистого натрия; с. 17 «озонирование в присутствии ультрафиолета», с. 20 «они (микроскопические грибы и водоросли) сложны в использовании»,

**Глава 2** посвящена объектам и методам исследования. В ней подробно описаны геолого-географическая характеристика объектов исследования, схемы отбора проб в технологической цепи, основные методические приемы, использованные для решения поставленных задач.

Для обоснования защищаемых положений была использована представительная подборка проб технологического раствора и отходов из рудного штабеля с четырех месторождений на территории Красноярского края, Республик Хакасия и Саха (Якутия), на которых проводится кучное выщелачивание золота. Эти месторождения расположены в регионах с резко континентальным климатом, отличающихся низкими среднегодовыми температурами и различным химическим составом руд.

Разработанная диссертантом схема исследований включала: анализ химического состава жидкой и твердой фазы руд кучного выщелачивания золота; экспериментальное моделирование по детоксикации отходов в результате бактериального воздействия; идентификацию представителей автохтонного бактериального сообщества; поиск активных деструкторов цианидов из низкотемпературных местообитаний; использование молекулярно-генетических методов для выявления функциональных групп бактерий, способных развиваться в природно-техногенных условиях; биоинформационную обработку молекулярных исследований с использованием международных баз данных.

Для оценки разнообразия бактериальных сообществ проведен метагеномный анализ, рассчитаны индексы разнообразия, построены диаграммы Венна. Для определения влияния экологических факторов (температура, аэрация) и степени деградации токсикантов был использован непараметрический многомерный статистический анализ дисперсии (PERMANOVA) с использованием индексов Брэя-Кертиса.

Логически продуманное поэтапное выполнение цикла работ по разработанной схеме позволило диссертанту выйти на разработку эффективной технологии биодетоксикации цианидсодержащих отходов кучного выщелачивания золота.

**Глава 3** посвящена результатам исследования и их обсуждению. Она разбита на разделы и подразделы, хотя было бы целесообразнее представить результаты в виде самостоятельных глав с соответствующими выводами. **Раздел 3.1** согласно названию, включает исследования роли автохтонных бактериальных сообществ в пассивной детоксикации отходов кучного выщелачивания золота представлен на 40 с.

Для доказательства возможности детоксикации образующихся отходов проведен предварительный анализ минералогического и химического состава различных субстратов, технологических растворов и порообразующих минералов четырех природно-техногенных комплексов. В них было установлено повышенное содержание целого ряда нормируемых токсичных элементов (медь, цинк, никель, кобальт, мышьяк и др.).

Полученные сведения позволили диссертанту спланировать длительный эксперимент по оценке биотехнологического потенциала автохтонных бактерий с учетом температурного и кислородного режимов, складывающихся в отдельных слоях рудного штабеля одного из месторождений. Концепция исследований базируется на предположении, что бактерии устойчивые к циансодержащим соединениям и тяжелым металлам, способны их использовать в метаболических реакциях.

Полученные данные **представляют довольно полную картину экологических факторов**, способных оказывать влияние на динамику детоксикации цианидсодержащих отходов и соответственно на состояние окружающей среды. В результате послойного исследования рудного штабеля месторождения «Подгольчатое» были выявлены приоритетные токсиканты - цианиды, тиоцианаты, медь и никель.

Представлены трудоемкие результаты пятикратного послойного исследования динамики разнообразия бактериальных сообществ в течение 593 суток в экспериментальных условиях и исходной массе складированной руды на основании

определения количества нуклеотидных последовательностей, операционных таксономических единиц (ОТЕ) и использования классических индексов разнообразия (Chao1 и Шеннона). Такой длительный многовариантный эксперимент позволил сделать важное заключение о том, что первые этапы деструкции цианидов связаны с функционированием органогетеротрофных микроорганизмов, использующих эти токсиканты в качестве источников углерода и азота.

С использованием кластеризации на основании метода PERMANOVA были выявлены ведущие экологические факторы, определяющие структуру бактериальных сообществ. Экстремальные условия (отрицательная температура, анаэробные условия) приводили к формированию специфического сообщества в виде визуально самостоятельного кластера. Установлено, что в естественных условиях и *in vitro* активными деструкторами цианидов в условиях резко-континентального климата выступают представители филы *Proteobacteria*. Они выступают доминантами в автохтонном бактериальном сообществе и модельном эксперименте. Диссертант считает, что именно среди этой филы можно проводить скрининг потенциальных деструкторов цианидов и их комплексов с медью и никелем.

Обобщая большой объем разнообразных данных полученных с использованием молекулярно-генетических методов, Марина Петровна пришла к важному выводу о том, что детоксикация отходов при выщелачивании золота может происходить последовательно при участии специализированных групп бактерий. Маркерами первого этапа процессов деструкции цианидов выступают адаптированные к широкому диапазону температур представители родов *Achromobacter* и *Serratia*, а бактерии рода *Hydrogenophaga* могут выполнять завершающую роль, используя продукты метаболизма деструкторов цианидов.

**Раздел 3.2** представлен на 10 с. и предназначен для обоснования использования предлагаемой разработки для месторождений золота в разных регионах России. Представлены данные по выявлению общих и уникальных филоципов, участников процессов деструкции цианидов на разных месторождениях, отличающихся химическим и минералогическим составом руды. Однако, в этом разделе встречается много нюансов, которые представлены фактически в виде конспекта, хотя можно было часть конкретных материалов включить в раздел и не выносить в Приложение. В разделе перечисляются ряд экологических факторов, влияющих на развитие функциональных групп бактерий-деструкторов, среди них «разнофазность природно-техногенных комплексов», что имеется в виду? Вероятнее всего диссертант подразумевает «разнофазность отходов» этих комплексов, о чем он говорит ниже. Но это тогда разные понятия.

На с. 103 несколько раз повторяются взаимоисключающие положения о взаимосвязи структуры сообщества деструкторов от минерального и химического состава руды. Возникают вопросы: а что вкладывается в понятия «преобладающие филоципы» и «уникальные ОТЕ»? Почему «экологическая обособленность» бактериальных сообществ рудного штабеля и технологического раствора выражаются в генетическом сходстве (с. 108)?

**Раздел 3.3** отражает большой объем разноплановой и трудоемкой работы в направлении разработки технологии биодетоксикации отходов золотодобычи на одном из полигонов месторождения «Подголецкое», с ней диссертантка уверенно справилась.

В разделе подробно описаны способы оптимизации водного баланса на примере отработанных технологических растворов с предотвращением риска их сброса в природную среду. Предложены подходы для интенсификации процесса детоксикации с применением орошения рудной массы технологическими растворами с применением современных оросительных систем. Разработанная аппаратная схема учитывает комплекс мероприятий, направленных на эффективную и безопасную технологию обезвреживания рудной массы. Для полного соблюдения принципов экологической безопасности, рекомендован вывоз снега за пределы промышленной площадки.

**Среди замечаний** по диссертационной работе можно отметить следующие:

1. Не совсем понятно, почему среди защищаемых положений отсутствует сама технология детоксикации. Ведь среди главных задач стоит разработка технологии биодетоксикации отходов кучного выщелачивания золота с акцентом на ее экономическую эффективность, которая согласно подсчетам самой Марины Петровны, составляет более 150 млн. рублей. Защищаемые положения 1 и 3 совсем небольшие и посвящены роли автохтонных бактериальных консорциумов, поэтому целесообразнее было их объединить, тем самым повысить весомость, предмета защиты.

2. Можно не согласиться с диссертантом при использовании такого понятия как «самопроизвольное разложение цианидов», особенно в контексте поставленных задач. Понятен отказ от химических реагентов. Но ведь сама же диссертантка, проделав внушительный объем работы доказала, что именно микробные консорциумы принимают активное участие в поэтапном разложении цианидсодержащих отходов. Тем более не корректно, когда в одном предложении сказано, что это «самопроизвольное разложение цианидов», но процесс происходит под действием природных факторов с участием автохтонного бактериального сообщества.

3. В разделе 3.1 содержится дискуссионный вопрос, связанный с таким понятием как «деструкция соединений меди» и что «медь преимущественно находится в виде цианидных комплексов» - с.71. Эта же мысль излагается по отношению к «соединениям никеля» - с.73. Скорее всего, бактериальные комплексы могут изменять окислительно-восстановительные условия, продуцируя полимерный матрикс, и обуславливая вовлечение токсичных элементов в геохимический круговорот за счет изменения их подвижности и растворимости. Интересно узнать мнение диссертанта по этому поводу. В этой же связи напрашивается вопрос по таблице 3.7 (с.75): почему для меди и никеля при условии низкой температуры - 18° С, в присутствии кислорода приведено «нет стабильной деструкции токсичного соединения» (какого?), если в выше расположенных строках для цианида и тиоцианата приведены конкретные данные?

4. В тексте диссертации на с. 99 и автореферате на с. 15 сказано, что потенциальными деструкторами (маркерами процессов деструкции) цианидов, в том числе цианидных комплексов меди и никеля могут выступать *Serratia*, *Achromobacter* и *Bordetella*. Однако в автореферате в выводах 4-6 говорится только о первых двух представителях, по какой причине отсутствует *Bordetella*? Кроме того, выводы 4 и 5 вполне можно объединить в один, усилив акцент на экологической роли главных участников детоксикации цианидсодержащих отходов. Хотелось бы понять, что имеется в виду под «излишками вод» в технологических растворах и «сбором дренажей»?

5. Крайне редко, но встречаются орфографические ошибки или пропущены слова. Чаще всего в тексте используется аббревиатура КВ (кучное выщелачивание) без слова золото, может тогда, надо было использовать КВЗ; на с. 74 - пропущено слово температура. Орфографические ошибки: с. 16 (объемом, эквивалентным), с. 73 (тиоцианаты), с. 97 - об использовании.

В тексте диссертации и автореферата соблюдены структурированность и последовательность, они написаны грамотным русским языком. Хотя, как было уже сказано выше, целесообразнее было бы разместить результаты исследований в виде самостоятельных глав с конкретными разделами. Сам автор иногда называет некоторые разделы главами (с.99).

Не смотря на высказанные замечания, **достоверность** полученных данных не вызывает сомнения, т.к. были использованы современные физико-химические и молекулярно-генетические методы, аттестованные методики и сертифицированное оборудование, использованы международные базы данных; при обработке результатов диссертант применял метод главных компонент и непараметрический многомерный статистический анализ дисперсии (PERMANOVA) с использованием индексов Брэй-Кертиса и различные пакеты программ.

**Достоинством** диссертационной работы Белых М.П. является использование **междисциплинарного подхода** для оценки изменения количественных и качественных характеристик выбранных компонентов отходов кучного выщелачивания золота, подверженных биологической трансформации. Для доказательства основных положений диссертации были привлечены разнообразные химические и микробиологические методы. Для успешного решения поставленных экологических задач с акцентом на биотехнологическое приложение диссертантом использованы современные молекулярно-генетические методы, экспериментальные и полупромышленные испытания, а также приемы математического моделирования.

Результаты комплексных исследований и оригинальные подходы к научному обоснованию технологии доочистки промышленных стоков позволили Белых М.П. выявить **новые закономерности взаимодействия** горнорудных предприятий с экосферой. При выполнении работы получены **убедительные ответы** на поставленные задачи, связанные с анализом особенностей функционирования автохтонных бактериальных сообществ в модельных системах и обоснованы биотехнологические перспективы их использования при обезвреживании опасных цианидсодержащих отходов.

**Диссертантом получены важные для науки результаты**, углубляющие наши представления об экологических последствиях для окружающей среды создаваемыми полигонами хранения отходов горнорудных предприятий и роли микробных сообществ. Показана скорость деструкции цианидов при имитации летне-осеннего и зимнего периодов при участии бактериального сообщества и при стерилизации рудной массы. Экспериментально доказаны различия в скорости деструкции цианидов и тиоцианатов при отрицательных температурах. Впервые *in vitro* показано доминирование биохимических процессов при деструкции цианидов и отсутствие влияния бактерий на трансформацию тиоцианата в анаэробных условиях.

**Практическая значимость** полученных результатов не вызывает сомнения, она подтверждена предлагаемой технологией детоксикации отходов кучного выщелачивания золота с привлечением микробных консорциумов. Диссертантом выделены специализированные штаммы для решения экологических задач по переработке отходов золотодобывающей промышленности в условиях резко-континентального климата. Этот способ биологического обеззараживания промышленных отходов предотвращает потенциальные экологические риски загрязнения окружающей среды, является **научным достижением** при разработке безопасных технологий и **имеет важное социально-экономическое значение**. Предлагаемый метод очистки отходов горнорудного предприятия направлен на предотвращение миграции токсичных элементов, оказывающих негативное влияние биоту из различных местообитаний.

На собственном экспериментальном материале обоснованы целевые условия очистки цианидсодержащих отходов горнорудного предприятия до нормативных показателей. Предложенные технологические схемы стали весомой составляющей научно-исследовательской работы по разработке технологического регламента по извлечению золота из руды месторождения «Подгольское». Полученные наработки для конкретного предприятия при учете климатических условий и факторов окружающей среды вполне могут быть использованы в других регионах РФ.

Материалы исследований были использованы в отчетах НИР АО «Иргиредмет» за 2012-2016 гг. по теме «Исследование биохимической деструкции токсичных соединений в цианидсодержащих отходах кучного выщелачивания золота».

Результаты научных исследований Белых М.П. способствуют **развитию различных направлений естественных наук**: химической экологии, биотехнологии, экотоксикологии, биомониторинга и биоремедиации. **Эти результаты могут быть использованы** другими горнорудными предприятиями, имеющими твердые отходы, содержащие токсичные тяжелые металлы, способные к миграции по компонентам окружающей среды, включая почвы, поверхностные и подземные воды.

**В диссертации предложено новое научно-обоснованное технологическое решение** по обезвреживанию цианидсодержащих отходов горнорудного предприятия с использованием активных бактериальных деструкторов, внедрение которого будет способствовать предотвращению окружающей среды токсичными элементами и вносит значительный вклад в развитие отечественных экологически безопасных технологий для сохранения здоровья населения.

В целом следует отметить высокий **профессионализм** диссертанта, который нашел свое отражение в представленных результатах исследования с использованием междисциплинарного подхода, современных методов и способности их адекватно интерпретировать, анализировать и выявлять научно-практическую новизну.

Содержание диссертации в кратком изложении полностью отражено в автореферате, который иллюстрирует самое главное и перспективное в проведенных исследованиях, их конкретику, актуальность и практическую значимость. Представленные в автореферате краткая информация, схемы, рисунки, таблицы и выводы полностью отражают весь объем проведенных исследований и дают ответ на поставленные задачи. Автореферат иллюстрирован 9 рисунками и 2 таблицами.

Полученные результаты исследований были **апробированы** на различных Всероссийских и Международных научных конференциях, конгрессах по проблемам экологической безопасности, биотехнологии и ресурсосбережения (Иркутск, Екатеринбург, Улан-Удэ, Москва, Санкт-Петербург) и за рубежом (Индонезия, Германия).

Материалы исследований опубликованы в открытой печати в 15 статьях, в том числе 5 в рецензируемых журналах, включая журнал «Прикладной биохимии и микробиологии» и «Сибирский экологический журнал».

Диссертационная работа соответствует портету специальности 03.02.08 - экология (биология) (биологические науки) и требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013, № 842, так как в ней представлены материалы, отражающие влияние экологических факторов на активизацию биохимических процессов деструкции цианидсодержащих отходов горнорудных предприятий, показана роль бактериальных консорциумов; работа связана с изучением механизмов детоксикации опасных промышленных отходов, влияющих на компоненты окружающей среды, разработкой методов оптимизации переработки отходов производства, путем создания новых безопасных биотехнологий.

Принимая во внимание актуальность, научную новизну, практическую значимость полученных результатов, высокий профессионализм при выполнении работы с привлечением современных методов исследования, соответствие представленных материалов требованиям ВАК Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям, можно признать, что **Белых Марина Петровна заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биологические науки).**

Кондратьева Любовь Михайловна,  
доктор биологических наук (специальность 03.02.08 – экология),  
профессор, главный научный сотрудник  
лаборатории гидрологии и гидрогеологии,  
Институт водных и экологических проблем ДВО РАН,  
Адрес: 680000 г. Хабаровск, ул. Дикопольцева, 56  
E-mail: [kondratevalm@gmail.com](mailto:kondratevalm@gmail.com)  
4 марта 2018 г.

Подпись сотрудника ИВЭП ДВО РАН  
ЗАВЕРЯЮ  
Ученый секретарь ИВЭП ДВО РАН, к.б.н.



Е.С. Кошкин