



УТВЕРЖДАЮ:

Директор НИГТЦ ДВО РАН,  
доктор технических наук

Р.И. Пашкевич

2018 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Научно-исследовательского геотехнологического центра Дальневосточного  
отделения Российской академии наук  
на диссертацию Белых Марины Петровны «Исследование роли бактериальных  
сообществ в детоксикации цианидсодержащих отходов кучного выщелачивания  
золотосодержащих руд», представленной на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биологические науки)**

Для решения экологических проблем по обезвреживанию отходов золотодобывающей промышленности, в частности отходов кучного выщелачивания (КВ) золота, большой интерес представляют технологии, основанные на использовании микроорганизмов. При их применении исключается повторное загрязнение окружающей среды. Они являются экономически выгодными по сравнению с классическими реагентными процессами. На сегодняшний день применяемые в промышленности биотехнологии направлены на обезвреживание высоких концентраций тиоцианатов и имеют ограничения по деструкции цианидов, в то время как отходы КВ золота характеризуются преимущественно высоким содержанием цианидов (от 20 до 1000 мг/л).

Диссертационная работа Белых Марины Петровны посвящена изучению разнообразия, состава, структуры и функциональной роли автохтонных бактериальных сообществ в детоксикации цианидсодержащих отходов КВ золота. Поставленная цель направлена на решение **задач**, связанных с исследованием основных закономерностей пассивной детоксикации отходов КВ, определением роли биотического фактора в данном процессе; изучением структуры, разнообразия бактериальных сообществ отходов КВ; выявлением основных функциональных групп бактерий, осуществляющих деструкцию цианидсодержащих соединений и определением влияния на их развитие различных экологических факторов. Анализ выявленных закономерностей позволил разработать эффективную, малозатратную технологию биодетоксикации отходов КВ, отвечающую высоким экологическим стандартам, что подтверждает **актуальность работы как в практическом, так и теоретическом аспектах.**

Основной текст диссертации изложен на 149 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов. Список литературы включает 166 работ, из которых 118 – на английском языке. Работа иллюстрирована 27 рисунками, 29 таблицами и 5 приложениями.

**Во введении** охарактеризована тема исследования, кратко проанализирована степень ее разработанности, сформированы цели и задачи, представлены научная новизна работы, практическая значимость, реализация результатов исследования. Даны основные положения, выносимые на защиту, кратко описаны объекты и методы исследования, а также сведения о достоверности и апробации результатов.

**Глава 1** содержит обзор мирового опыта по теме исследования. Рассмотрены экологические аспекты метода кучного выщелачивания золотосодержащих руд, включая

характеристику образующихся токсичных отходов КВ. Подробно описаны основные применяемые методы обезвреживания цианидсодержащих отходов с оценкой их положительных и отрицательных сторон. В работе рассмотрены преимущества использования биологических и пассивных (passive treatment) методов обезвреживания отходов КВ перед классическими химическими методами детоксикации, которые наиболее часто применяются на территории РФ. Четко обоснован выбор наиболее перспективного для РФ подхода биообезвреживания отходов КВ, основанного на использовании не отдельных штаммов-деструкторов, а автохтонного микробного сообщества.

**Глава 2** посвящена объектам и методам исследования. В ней представлена геолого-географическая характеристика четырех месторождений: «Бабушкина Гора» (Красноярский край), «Чазы Гол» (Республика Хакасия), «Самолазовское» и «Подголецное» (Республика Саха (Якутия)), на которых применяется метод КВ золота, и на которых проводился отбор проб технологических растворов и рудных масс штабеля КВ. В данной главе представлены основные методические приемы, используемые для пробоподготовки и проведения модельного эксперимента на реальных отходах КВ; идентификации бактериальных сообществ и выявления групп бактерий, осуществляющих деструкцию цианидсодержащих соединений; определения влияния экологических факторов на состав и структуру бактериальных сообществ. Были использованы химико-аналитические исследования, культивирование на питательных средах, молекулярно-генетические (выделение тотальной ДНК, полимеразная цепная реакция (ПЦР), молекулярное клонирование, секвенирование по Сэнгеру и метагеномное секвенирование ампликонов) и статистические (PCA и PERMANOVA, Bray-Curtis) методы анализа.

**Глава 3** посвящена результатам и их обсуждению. Данная глава разделена на три подглавы. В **подглаве 3.1** приведены данные по химическому и минеральному составу технологических проб исследуемых месторождений, на основании сравнительного анализа которых был выбран оптимальный объект для моделирования условий складирования рудного штабеля КВ. Представлены результаты длительного (около 1,5 лет) модельного эксперимента по биодетоксикации основных токсичных соединений в стерильных и нестерильных условиях рудной массы штабеля КВ. Полученные результаты позволили доказать преимущественную роль биотического фактора в процессе пассивной детоксикации отходов КВ по сравнению с химическим окислением и выявить оптимальные условия протекания этого процесса (рассчитаны аппроксимирующие уравнения и константы скорости биодegradации основных токсичных соединений). Оптимизированы молекулярно-генетические методы исследований и представлены уникальные данные по изменению разнообразия, состава и структуры бактериальных сообществ при детоксикации отходов КВ, показано влияние экологических факторов на эти изменения. Достоверность полученных результатов подтверждена современным статистическим анализом и согласуется с выводами других исследований.

Важно подчеркнуть, что Белых М.П. определено, что доминирующие представители автохтонного бактериального сообщества (рода *Achromobacter* и рода *Serratia*) адаптированы к широким диапазонам температур и способны проявлять свою активность в условиях резко-континентального климата. Путем обобщения большого объема данных по динамике токсичных соединений и изменению разнообразия сообществ выявлено, что представители родов *Achromobacter*, *Serratia* и *Bordetella* выступают маркерами процессов деструкции цианидов, в том числе цианидных комплексов меди и никеля, а бактерии рода *Hydrogenophaga* потенциально способны к деструкции метаболитов, образующихся при деградации цианидов.

В **подглаве 3.2** проведено сравнение разнообразия доминирующих представителей автохтонных бактериальных сообществ отходов КВ четырех различных месторождений. Автохтонные бактериальные сообщества имеют большое сходство с преобладанием представителей родов *Achromobacter* и *Serratia*. Литературные данные и полученные

результаты позволили сделать вывод, что минеральный и химический состав руд не оказывает влияние на состав основных функциональных групп бактерий, участвующих в деструкции цианидов. Дополнительно представлен сравнительный анализ доминирующих представителей сообществ технологического раствора и рудной массы штабеля КВ. Определено, что разнофазность природно-техногенных комплексов КВ влияет на структуру бактериальных сообществ. При этом бактерии родов *Serratia* и *Achromobacter* преимущественно развиваются в рудном штабеле КВ. Филогенетическим анализом показано, что независимо от различия в структуре сообществ природно-техногенных комплексов КВ для их представителей прослеживалась экологическая обособленность, заключающаяся в их резистентности к определенному фактору среды и в генетическом сходстве.

В подглаве 3.3 разработана и предложена технология биодетоксикации отходов КВ золота с учетом региональных экологических условий. На примере промышленной площадки КВ месторождения «Подголецное» автором определены основные положения, аппаратные и технологические параметры технологии (плотность орошения поверхности штабеля, периодичность и режим орошения, продолжительность биообезвреживания, водный баланс, способ ликвидации отработанных технологических растворов и излишков дренажных вод и т.д.). Выполнена оценка эксплуатационных и капитальных затрат предлагаемой технологии и показана ее экономическая эффективность по сравнению с классической технологией обезвреживания (щелочное хлорирование с последующей обработкой сульфатом двухвалентного железа). Ожидаемый экономический эффект составил 151429,7 тыс. руб.

В заключении и выводах представлены общие результаты, полученные в диссертационной работе.

**Научная новизна представленной работы не вызывает сомнения.** Автором установлены основные закономерности протекания биодетоксикации токсичных соединений в рудном штабеле КВ при сезонных вариациях температур, в аэробных и анаэробных условиях. Подтверждено преимущественное влияние биотического фактора на интенсивность деструкции цианидов и тиоцианатов в штабеле КВ по сравнению с химическим окислением. Получены наиболее полные данные о структуре и разнообразии бактериальных сообществ, развивающихся *in situ* в естественных и модельных условиях штабеля КВ. Показано влияние экологических факторов (температуры и аэрации), а также степени утилизации токсичных соединений на изменение разнообразия, состава и структуры бактериальных консорциумов. Дополнены и расширены сведения об основных участниках деструкции цианидсодержащих соединений в отходах золотодобывающей промышленности, в том числе расположенных на территории РФ. Впервые проведено комплексное изучение доминирующих представителей автохтонных бактериальных сообществ различных месторождений, направленное на выявление особенностей развития основных функциональных групп бактерий, выступающих маркерами процессов деструкции цианидсодержащих соединений в отходах КВ.

**Практическая значимость результатов очевидна.** По результатам исследований для промышленного комплекса КВ разработана эффективная безреагентная технология биодетоксикации отходов КВ золота, которая позволяет существенно снизить экологическую нагрузку на район размещения предприятия, а также уменьшить эксплуатационные и капитальные затраты на проведение природоохранных мероприятий. Аппаратурная и технологическая схемы разработанной технологии рекомендованы в дополнение к технологическому регламенту о НИР «Разработка технологического регламента по извлечению золота из руд месторождения «Подголецное» методом КВ» (Договор № 380/7-11). Полученные результаты могут быть использованы в курсах лекций по геоэкологии, биотехнологии и молекулярной экологии, а также для инженерных расчетов технологии обезвреживания отходов КВ.

**Работа выполнена на высоком методическом уровне** с использованием физико-химических, микробиологических, молекулярно-генетических и статистических методов анализа. **Достоверность полученных результатов обоснована** большим объемом обработанных проб отходов КВ золота, достаточной сходимостью данных теоретических и экспериментальных исследований, а также применением комплекса современных методов, онлайн сервисов (FASTA, BLAST), пакетов программ (Mothur 1.31.1, Megav. 6.06, BioEdit, Pyrosequencing pipeline), аттестованных методик и сертифицированного оборудования. Полученные нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК депонированы в международных базах данных. Объем проанализированных последовательностей превышал 150 тыс.

Автореферат соответствует содержанию самой диссертации, наглядно демонстрирует основные итоги выполненной работы.

Вместе с тем, имеются следующие замечания:

1. В подглаве 3.1 в реакции 3.6 (стр. 71) неверно указана валентность в цианидном комплексе меди – вместо  $\text{Cu}_2\text{CN}$ , должно быть  $\text{CuCN}$ . Следует пояснить, почему концентрация тиоцианатов не снижалась при положительных температурах, тогда как обычно тиоцианаты разрушаются микроорганизмами.

2. Следует отметить опечатку в таблице 3.16 (стр. 115), где автор в аппроксимирующих реакциях перепутал показания  $C_0$  (исходная концентрация цианидов или тиоцианатов) и  $C$  (концентрация цианидов или тиоцианатов в заданной точке). Однако расширенная таблица 3.7 с аналогичными результатами приведена ранее (стр. 75), поэтому данные показания легко проверить. Следовательно, данная опечатка не является значимой для представленных результатов.

3. Какие предложения (режимы) разработаны для интенсификации природного процесса биообезвреживания цианидсодержащих соединений?

4. Чем обоснован различный выбор молекулярно-биологических анализов (секвенирование) при идентификации автохтонных сообществ руд исследуемых месторождений? Из табл. 2.1 видно, что метагеномный анализ был использован только для месторождения «Подголецное». Было бы уместно его использовать в оценке биоразнообразия микроорганизмов всех месторождений.

5. В диссертации указано, что информация о минеральном составе руд всех месторождений была взята из техрегламентов. Положительным моментом, в том числе и для оценки зависимости микробного биоразнообразия от минералогических особенностей, было бы представление минерального состава образцов руд, взятых непосредственно для исследования.

6. Требуется объяснение возрастания концентрации цианидов в слое 2 ( $-18\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $+\text{O}_2$ ) после 430 суток (рис. 3.3 Б)?

7. В тексте отсутствует объяснение резкого роста концентрации цианидов примерно со 130-х по 420-е сутки в контрольном (абиотическом) слое 3 ( $+4\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $+\text{O}_2$ ) и следующего за ним такого же резкого снижения концентрации (рис. 3.3 В)?

Несмотря на перечисленные замечания, следует отметить высокий **профессионализм** Белых Марины Петровны, который нашел свое отражение в уровне проведенных исследований и полученных выводах, имеющих научную новизну и несомненную практическую значимость. **Достоинство диссертационной работы** заключается в том, что она вносит существенный вклад в решение экологических проблем ликвидации отходов золотодобывающей промышленности РФ.

Материалы диссертации были **апробированы** на 10 международных и всероссийских конференциях в различных городах и странах. Результаты исследований

опубликованы в 15 работах, из них 5 статей в рецензируемых российских изданиях, входящих в список ВАК.

Представленная к защите диссертация «Исследование роли бактериальных сообществ в детоксикации цианидсодержащих отходов кучного выщелачивания золотосодержащих руд» является законченной научно-квалификационной работой, соответствует требованиям, установленным для кандидатских диссертаций п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. и принятых к нему дополнений № 335 от 21.04.2016 г., а ее автор **Белых Марина Петровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биологические науки).**

Отзыв ведущей организации обсужден и одобрен на заседании научно-исследовательского отдела НИГТЦ ДВО РАН, протокол №3 от 5 марта 2018 г.

Ведущий научный сотрудник ФГБУН  
Научно-исследовательский геотехнологический  
центр ДВО РАН,  
кандидат технических наук, доцент

683002, г. Петропавловск-Камчатский,  
Северо-Восточное шоссе, 30, а/я 56  
Тел.: 8(4152)495435  
E-mail: tpbel@yandex.ru



Белова  
Татьяна Павловна

Подпись удостоверяю  
Ученый секретарь  
НИГТЦ ДВО РАН  
к.т.н. Иодис В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-исследовательский геотехнологический центр Дальневосточного отделения Российской академии наук

683002, г. Петропавловск-Камчатский, Северо-Восточное шоссе, 30, а/я 56  
Тел.: 8(4152)495435  
E-mail: nigtc@nigtct.ru