



СИБИРСКИЙ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

SIBERIAN
FEDERAL
UNIVERSITY

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе

ФБА ОУ ВО «Сибирский

Федеральный университет»

Денис Сергеевич Гуц

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Сибирский федеральный университет»

660041, Красноярский край,
г. Красноярск, проспект Свободный, д. 79
телефон: (391) 244-82-13, тел./факс: (391) 244-80-
http://www.sfu-kras.ru, e-mail: office@sfu-kras.ru

ОКПО 02067876; ОГРН 1022402137460;
ИНН/КПП 2463011853/246301001



«18» мая 2026 г.

№ _____
на № _____ от _____

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Сачавского Александра Александровича
«Управляемое культивирование сообществ метанооксиляющих микроорганизмов»,
представленную на соискание учёной степени кандидата технических наук по
специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы выполненной работы

Метан, благодаря своей доступности и низкой стоимости, рассматривается как перспективное сырьё для микробиологической конверсии в продукты с добавленной стоимостью – кормовой белок, биоразлагаемые полимеры и другие ценные соединения. Основными биологическими агентами в таких процессах выступают метанотрофные бактерии. Метанотрофы ввиду особенностей своего метаболизма способны функционировать в тесной связи с гетеротрофными микроорганизмами, образуя при этом устойчивые синтрофные композиции. Данные взаимодействия позволяют метанооксиляющим бактериями преодолевать ряд естественных метаболических ограничений и повышать эффективность утилизации метана. Однако при переходе к промышленным масштабам данная особенность метанооксиляющих бактерий используется недостаточно. Традиционные подходы опираются либо на чистые культуры, либо на накопительные сообщества со случайным составом, что не может в достаточной степени обеспечивать высокую продуктивность и стабильность

процесса культивирования.

На сегодняшний день методы целенаправленного конструирования синтетических метанотрофных ассоциаций с прогнозируемыми свойствами разработаны недостаточно. Слабо проработаны способы отбора эффективных спутников, закономерности формирования устойчивых многокомпонентных систем, а также технологические режимы, обеспечивающие стабильность таких сообществ при переработке доступного сырья. Решение этих вопросов необходимо для создания эффективных процессов биоконверсии метана. Диссертационная работа Сачавского А.А. направлена на решение этой задачи, что и определяет её актуальность.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна диссертационной работы проявляется на нескольких уровнях.

В области микробиологии: пополнение коллекции культивируемых метанотрофов новым штаммом (*Methylococcus capsulatus* KS-24), характеризующимся перспективными ростовыми показателями.

В области конструирования метанотрофных сообществ: предложен подход, основанный на количественной оценке парных взаимодействий между метанотрофами и их гетеротрофными спутниками, позволяющий оценивать влияние их совместного культивирования на продуктивность ассоциации.

В области оптимизации культивирования: установлены ключевые факторы среды, вариация которых позволяет направленно регулировать продуктивность сообщества и накопление в биомассе целевых соединений.

В области промышленной биотехнологии: продемонстрирована возможность длительного непрерывного культивирования синтетических сообществ в нестерильных условиях на техническом метане с сохранением продуктивности на уровне стерильных процессов.

В области нанобиотехнологии: выявлена способность ряда метанотрофных культур и созданных на их основе сообществ к внеклеточному фотоиндуцированному синтезу наночастиц серебра с антимикробной

активностью и установленной связью данной способности с физиологическим состоянием метанотрофа.

Значимость полученных автором диссертации результатов для развития соответствующей отрасли науки

Теоретическая значимость работы заключается в расширении фундаментальных представлений о синтрофных взаимодействиях метанотрофов с гетеротрофными бактериями. Выявленные закономерности влияния состава питательной среды и газовой фазы на продуктивность синтетических сообществ вносят вклад в понимание метаболической гибкости метаноксиляющих микроорганизмов и их ассоциаций. Предложенный подход к конструированию сообществ, основанный на количественной оценке парных взаимодействий, развивает методологию направленного формирования метанотрофных композиций с прогнозируемыми свойствами.

Практическая значимость работы определяется следующим. Разработаны технологические схемы получения биомассы на основе синтетических метанотрофных сообществ, ориентированные на производство высокобелкового кормового продукта и сырья для выделения биоразлагаемого полимера (полигидроксибутирата). Экспериментально обоснована возможность длительного непрерывного культивирования таких сообществ в нестерильных условиях с использованием технического метана, что создаёт предпосылки для снижения капитальных и эксплуатационных затрат при масштабировании. Результаты предварительного технико-экономического анализа подтверждают конкурентоспособность предложенных решений.

Кроме того, выявленная способность метанотрофов к фотоиндуцированному биосинтезу наночастиц серебра может быть использована в качестве экспресс-индикатора физиологического состояния культур в процессе их выращивания, а также для «зелёного» синтеза наноматериалов с антимикробными свойствами.

Результаты диссертационной работы внедрены в лабораторную практику, что подтверждено соответствующими документами, а разработанный алгоритм создания синтетических метанотрофных сообществ защищён в качестве ноу-хау.

Оценка структуры и содержания работы

Диссертация Сачавского А.А. имеет классическую структуру и состоит из введения, четырёх глав, заключения, выводов, списка литературы, 43 таблиц, 23 рисунков и 4 приложений. Материал изложен последовательно.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология исследования, а также положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором рассмотрены распространение и роль метанооксиляющих бактерий в природе, особенности их метаболизма, классификация и современные направления биотехнологического применения. Отдельное внимание уделено анализу влияния состава питательных сред и газовой фазы на рост метанотрофов, а также роли неметанотрофных микроорганизмов в природных и синтетических сообществах. Обзор написан хорошим научным стилем, что свидетельствует о глубокой проработке темы.

Во второй главе описаны объекты, материалы и методы исследования. Подробно изложены процедуры отбора природных образцов, получения накопительных культур, выделения и идентификации чистых культур, определения ростовых характеристик, конструирования бинарных и тройных синтетических сообществ, оптимизации составов сред (с применением однофакторных экспериментов и центрального композиционного плана), а также условия периодического и непрерывного культивирования в стерильных и нестерильных режимах. Приведены аналитические методы исследования состава биомассы, а также определения характеристик наночастиц серебра. Выбор методов адекватен поставленным задачам.

Третья глава содержит основные экспериментальные результаты. Автор получил пять стабильных накопительных культур из разных природных источников (прикорневая зона сосны, грот, заболоченная почва) при варьировании температурных режимов и составов сред. Из этих культур выделены и идентифицированы метанотрофы, относящиеся к родам *Methylomonas*, *Methylosinus*, *Methylocystis* и *Methylococcus*, причём один из

штаммов (*Methylococcus capsulatus* KS-24) депонирован в коллекции UNIQEM как перспективный продуцент высокобелковой биомассы. Для каждого изолята и коллекционных штаммов определены оптимальные температура, pH и предпочтительный источник азота. На следующем этапе проведён количественный скрининг парных ассоциаций метанотрофов с выделенными гетеротрофными спутниками, позволивший отобрать бактерии родов *Brevibacillus*, *Ralstonia* и *Cupriavidus*, устойчиво стимулирующих накопление биомассы метанотрофными культурами. На этой основе сконструированы трёхкомпонентные синтетические сообщества, одно из которых (на базе *Methylococcus capsulatus* KS-24) ориентировано на получение высокобелковой биомассы, другое (на базе *Methylosinus trichosporium*) – на накопление полигидроксипутирата. С использованием однофакторных экспериментов и центрального композиционного плана оптимизированы составы питательных сред и параметры газовой фазы (концентрации меди, железа, магния, кальция, соотношение нитрата и аммония, величина C/N, доля метана в газовой смеси). В результате для каждого из двух сообществ разработаны индивидуальные среды, позволяющие либо максимально наращивать биомассу, либо целенаправленно повышать содержание целевого продукта: сырого протеина до 76,5% от сухой массы или полигидроксипутирата до 39,7%. Далее в работе описано проведение длительных экспериментов по культивированию синтетических сообществ в непрерывном режиме. Для сообщества на основе *Methylococcus capsulatus* KS-24 показано, что замена стерильных условий на нестерильные со снижением чистоты метана не приводит к значимому снижению продуктивности (до 2,61 кг/(м³·ч) при содержании сырого протеина около 72% от сухого веса биомассы). Для сообщества на основе *Methylosinus trichosporium* на основании экспериментальных данных приведена аргументация необходимости применения двухстадийная схема получения биомассы с высоким содержанием полигидроксипутирата, что позволяет достигать его значительного накопления в клетках. Продемонстрировано, что при применении нестерильных условий культивирования разработанные сообщества сохраняют свою структуру и стабильны в течение длительного времени. Завершает главу раздел о биосинтезе наночастиц серебра, где впервые

показана способность метанотрофов к внеклеточному фотоиндуцированному восстановлению ионов серебра с образованием наночастиц размером 5–20 нм, обладающих антимикробной активностью в отношении грамотрицательных патогенов. Автором выдвинуто предположение, что данная способность может быть использована в качестве метода оценки активности метанотрофных культур и сообществ на их основе.

В заключении подведены итоги работы, сформулированы выводы, соответствующие поставленным задачам.

Приложения содержат документы, подтверждающие депонирование штамма, внедрение результатов и правовую охрану РИД.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Степень обоснованности и достоверности основных научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов обеспечивается комплексом методических приёмов, заложенных в основу экспериментальной работы.

Все культивирование выполнено с соблюдением стандартных требований к воспроизводимости микробиологических данных. Ключевые эксперименты проведены с биологической и аналитической повторностью, достаточной для применения параметрических критериев оценки статистической значимости различий.

В работе использован набор взаимодополняющих методов: от классических (определение ростовых характеристик, состава биомассы) до современных молекулярно-биологических (секвенирование 16S рРНК, высокопроизводительный анализ состава сообществ). Полученные разными способами результаты хорошо согласуются между собой, что повышает надёжность выводов.

Важным подтверждением обоснованности служит то, что выявленные в работе закономерности воспроизводятся при варьировании условий (разные источники сырья, стерильные и нестерильные режимы, периодический и непрерывный способы культивирования). Длительность экспериментов в непрерывном режиме позволила оценить стабильность синтетических

сообществ во времени, что особенно значимо для прогнозирования их поведения при масштабировании.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты диссертационной работы Сачавского А.А. имеют практическую ценность и могут быть рекомендованы к использованию в следующих направлениях.

Разработанный метод конструирования синтетических метанотрофных сообществ на основе количественной оценки парных взаимодействий может применяться при создании новых продуктивных ассоциаций микроорганизмов для переработки метаносодержащего сырья.

Предложенные технологические схемы получения высокобелковой биомассы и биомассы, обогащённой полигидроксibuтиратом, могут быть использованы при проектировании биотехнологических производств, ориентированных на выпуск кормовых добавок и биоразлагаемых полимеров. Техничко-экономические расчёты, приведённые в работе, служат основой для оценки капитальных затрат и себестоимости продукции при масштабировании.

Полученные в работе данные о влиянии состава питательной среды и параметров культивирования на продуктивность метанотрофных сообществ могут быть учтены при оптимизации существующих и разработке новых биотехнологических процессов.

Выявленная способность метанотрофов к фотоиндуцированному биосинтезу наночастиц серебра может найти применение в лабораторной практике в качестве экспресс-метода оценки физиологического состояния культур, а также в «зелёных» технологиях получения наноматериалов с антимикробными свойствами.

Результаты диссертации также рекомендуются для использования в учебном процессе при подготовке студентов по направлениям «Биотехнология» и «Микробиология» для иллюстрации современных подходов к конструированию микробных сообществ и управляемому культивированию метанотрофов.

Замечания и рекомендации по диссертационной работе

1. Полученное в работе содержание полигидроксibuтирата (39,7 % от АСВ) соответствует макровключениям, в связи с чем использование характеристики «высокое» представляется недостаточно обоснованным.
2. В научной практике более корректным является понятие «незащищённое (неасептическое) культивирование», а не «нестерильное культивирование» что точнее отражает отсутствие мер по стерилизации без отрицания контроля контаминации.
3. Описанная в работе способность метанотрофов к внеклеточному синтезу наночастиц серебра вызывает сомнение, поскольку возможно опосредованное восстановление ионов Ag^+ за счёт внеклеточных продуктов, а не прямого метаболического процесса. Требуется представить доказательную базу, подтверждающую именно биогенный синтез.
4. Метод конструирования предусматривает объединение метанотрофа с двумя наиболее эффективными гетеротрофными спутниками в трёхкомпонентную систему. Однако не ясно, почему выбрано именно два спутника, а не три. Возможно, добавление третьего спутника могло бы ещё больше повысить продуктивность или, напротив, дестабилизировать систему. Требуется обоснование выбора числа компонентов.
5. Положительное влияние гетеротрофных спутников на рост метанотрофов объясняется в работе в том числе потреблением токсичных интермедиатов (метанол, формальдегид) и снижением их ингибирующего эффекта. Однако прямых доказательств этого не представлено.

Заключение по работе

Диссертация Сачавского Александра Александровича на тему «Управляемое культивирование сообществ метанооксиляющих микроорганизмов» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой представлено научно обоснованное технологическое решение по внедрению на стадии подготовки посевного материала метода конструирования синтетических метанотрофных сообществ и оптимизации режимов их управляемого культивирования, имеющее важное значение для эффективной

биооконверсии метана в бактериальную биомассу с высоким содержанием белка и полигидроксibuтирата. Материалы, представленные в работе, по своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, объёму выполненных исследований соответствуют требованиям паспорта специальности 1.5.6. Биотехнология. Диссертация отвечает критериям, установленным в пунктах 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата технических наук, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на заседании базовой кафедры биотехнологии «28» мая 2026 г., протокол № 12.

Отзыв составили:

Заведующий базовой кафедрой биотехнологии
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»
доктор биологических наук
(03.00.07. Микробиология),
профессор

 Волова Татьяна Григорьевна

Профессор базовой кафедры биотехнологии
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»
доктор биологических наук
(03.01.06. Биотехнология (в том числе
бионанотехнологии)),
доцент

 Прудникова Светлана Владиславна

Вход. № 05-9020
« 09 » 06 2026 г.
подпись 