

ОТЗЫВ

официального оппонента к.т.н., доцента, доцента кафедры «Пищевая биотехнология» Канарской Зоси Альбертовны на диссертационную работу Фоменко Ивана Андреевича на тему «Комплексная биоконверсия подсолнечной лузги в препараты кормового и пищевого назначения», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ

Актуальность темы диссертационной работы

Одной из проблем по производству растительного масла является необходимость утилизации лузги семян подсолнечника. В зависимости от сорта масличной культуры содержание лузги может достигать 23% от массы неочищенного семени. В России ежегодно образуется около 3 млн. т подсолнечной лузги, 60 % которой используется в качестве источника тепловой энергии, просто сжигается.

Перспективным методом утилизации подсолнечной лузги может быть ее биоконверсия в белковые вещества кормового назначения. Биоконверсия лузги может реализоваться с использованием микроорганизмов. Мицелиальные грибы способны утилизировать целлюлозу, гемицеллюлозу и лигнин в твердой фазе, содержащиеся в лузге. Однако, биоконверсия лузги мицелиальными грибами имеет существенные технологические недостатки: медленное накопление белка и низкая скорость удвоения биомассы. Эти недостатки нивелируются при биоконверсии сахаров дрожжами, которые могут использоваться в качестве источника полноценного белка в кормопроизводстве и в пищевой промышленности.

Однако, дрожжи не способны эффективно утилизировать компоненты лузги в твердой фазе. Питательные среды для дрожжей должны содержать простые сахара, получение которых из лигноцеллюлозного сырья достаточно сложное и дорогостоящее. Решению этой проблемы и посвящена представленная к защите диссертация.

Исходя из этого актуальность и своевременность диссертационного исследования, в которой рассмотрена технология комплексной биоконверсии подсолнечной лузги в препараты кормового и пищевого назначения не вызывает сомнения.

Степень научной новизны положений, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа, несомненно, обладает научной новизной. К наиболее значимым научным положениям относятся следующие.

Подтверждены параметры щелочной делигнификации и ферментативного гидролиза полисахаридов подсолнечной лузги, заключающиеся в последовательном измельчении, обработке 4 %-ным раствором гидроксида натрия и коммерческим ФП «ЦеллоЛюкс-Р».

С применением методов математического моделирования выявлены рациональные условия биокаталитической деструкции полимеров подсолнечной лузги. Показано, что использование биокаталитического метода обработки делигнифицированной подсолнечной лузги позволяет получить ферментолитат, содержащий 3,4 % РВ, из которых глюкоза – 73,65 %; целлобиоза – 12,49 %; олигосахариды – 13,86 %.

Выявлено, что последовательное обезжиривание и денуклеинизация дрожжевой биомассы *Kluyveromyces marxianus* Y-4557 позволяет получить белковый ингредиент для пищевой промышленности (концентрат), сбалансированный по незаменимым аминокислотам и отвечающий требованиям, предъявляемым к белковым концентратам (не менее 60 % белка, не более 2 % липидов и нуклеиновых кислот).

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность и достоверность полученных результатов основываются на применении научно-обоснованных методик проведения экспериментальных исследований и теории обработки информационных данных. Результаты испытаний гарантируют достоверность большим объемом экспериментальных данных, полученных на современных и поверенных установках, имеющих сертификат качества. Научные положения, результаты и выводы логично изложены, обоснованы и согласуются с известными опубликованными данными.

Проведена достаточная апробация материалов диссертации на конференциях различного уровня. Результаты в полном объеме опубликованы в открытой печати (22 работы), в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Результаты выполненных Фоменко И.А. исследований имеют существенное практическое значение.

По результатам работы предложены рациональные параметры механической, химической и биокаталитической предобработки подсолнечной лузги, позволяющие получить основу питательной среды (ферментолитат) для дрожжевых культур.

Основываясь на результатах исследований, разработаны и научно-обоснованы технологии получения кормовых дрожжей на основе штаммов *Kluyveromyces marxianus* Y-4557 и *Candida parapsilosis* D-18 с содержанием

сырого протеина не менее 55 %, перевариваемостью в условиях *invitro* более 95 % за 3 ч. Разработан комплект технической документации (ТУ и ТИ) на получение сухих кормовых дрожжей «КД-Км-60»

Разработаны технологические решения по получению белковых концентратов на основе микробной биомассы *Kluyveromyces marxianus* Y-4557 с содержанием истинного белка 65 %, липидов и нуклеиновых кислот менее 2 %.

Отдельные положения работы использованы при издании 2-х учебных пособий (лабораторный практикум по дисциплине «Биотехнология ферментных препаратов» (2020 г.) и учебное пособие «Микробиологическая оценка качества сырья и биотехнологической продукции молекулярно-генетическими и протеомными методами» (2020 г.)), рекомендованных для студентов, обучающихся по направлениям 19.03.01 Биотехнология (бакалавриат) и 19.04.01 Биотехнология (магистратура).

Анализ содержания и оформления работы

Диссертационная работа построена по традиционному принципу и включает введение, 6 глав, общие выводы и 5 приложений. Объем диссертации – 158 страниц машинописного текста, содержит 28 рисунков, 32 таблицы. Список использованной литературы включает 188 источников (из них 75 – иностранных).

Диссертация выполнена на достаточно высоком научно-техническом уровне, изложена доступным профессиональным языком и оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ.

Последовательность глав диссертации логично расположены и их содержание достаточно полно подтверждают достижение цели и задач, поставленных автором, направленных на создание ресурсосберегающей технологии биоконверсии подсолнечной лузги в белковые препараты для сельского хозяйства и пищевой промышленности.

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, методология и методы их решения, основные научные положения, выносимые на защиту.

В первой главе дан анализ потребления кормового и пищевого белка. Рассмотрены перспективы применения в питании человека белка растительного и микробиологического происхождения. Рассмотрен подсолнечник как пищевое сырье, питательная ценность этой культуры, воспроизводство масличных культур в России и мире. Освещены вопросы переработки лузги подсолнечника химическими и ферментативными методами. Показаны преимущества применения микробного синтеза белка при конверсии целлюлозы лузги. Уделено внимание лигнину и меланинам присутствующим в лузге как вторичным ресурсам получения простых сахаров, используемых для синтеза кормового белка.

Во второй главе представлены методология и современные методы исследования, использованные при выполнении диссертационной работы.

В третьей главе на основе проведенных исследований изложены основные результаты, полученные при разработке технологии гидролиза подсолнечной лузги. Показан определенный автором химический состав подсолнечной лузги. Установлено влияние механической и химической обработки на выход редуцирующих веществ при ферментативной обработке. Рекомендуется механическую предобработку проводить на роторной ударной мельнице марки RetchSR 200. Показано, что лигнин достаточно эффективно растворяется при обработке лузги гидроокисью натрия после чего происходит эффективное растворение клетчатки ферментами. Показано, что обработка лузги серной кислотой приводит к нежелательному образованию фурфурола и оксиметилфурфурола.

Обосновано применение целлюлолитических и ксилотазных ферментов для обработки клетчатки лузги с получением простых сахаров. Проведена оптимизация биокаталитической обработки лузги с получением простых сахаров.

Представлена технологическая схема получения ферментолизата подсолнечной лузги, включающая механическую, химическую и ферментативную обработку лузги с получением редуцирующих веществ 3,4 %, достаточную для культивирования дрожжей.

В четвертой главе представлены результаты исследований по разработке технологии промышленного получения дрожжевой биомассы на основе ферментолизата подсолнечной лузги. Проведен скрининг дрожжевых культур, который показал целесообразность применения в промышленности дрожжей *Kluyveromyces marxianus* y-4557 и *Candida parapsilosis* d-18. Эти штаммы термофильны и способны накапливать большое количество биомассы с высоким содержанием «сырого» протеина. Определены оптимальные условия культивирования предложенных штаммов и представлены органолептические и физико-химические показатели получаемой биомассы дрожжей. Подтверждается высокая перевариваемость дрожжей.

В пятой главе автор уделит внимание получению белковых ингредиентов для пищевой промышленности на основе дрожжевой биомассы.

Представлен биохимический состав биомассы дрожжей *Kluyveromyces marxianus* Y-4557 и сделан вывод о необходимости удаления липидов этанолом и нуклеиновых кислот собственными ферментами дрожжей при получении пищевого белка. Представлена технологическая схема производства белкового концентрата из биомассы *Kluyveromyces marxianus* Y-4557. Аминокислотный состав приближается к составу идеального белка по аминокислотному составу ФАО/ВОЗ.

В шестой главе представлены разработанные автором технологии продуктов из вторичных ресурсов переработки лузги подсолнечника.

Разработана технология получения субстанции фитомеланинов из подсолнечной лузги. По предложенной технологии можно получить субстанцию с высоким содержанием фитомеланинов, обладающую высокой сорбционной антиоксидантной активностью.

Получен сухой неочищенный ферментный препарат на субстратах из непрогидролизованной клетчатки лузги, который можно использовать в качестве кормовой добавки для сельскохозяйственных животных. Представлена схема комплексной биоконверсии подсолнечной лузги.

В заключение приведены основные результаты диссертационного исследования и рекомендации по их использованию.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, заключений и выводов, сформулированных в диссертации.

Достоверность научных разработок, выводов и рекомендаций подтверждена экспериментами с применением современных инструментальных методов исследований, с использованием современных приборов и оборудования. Результаты проведенных исследований статистически обработаны с применением методов математической статистики и ПО «Statistica» (версия 12.6).

Обоснованность результатов исследования подтверждена 18 публикациями по теме диссертации – из них 5 в изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов ВАК РФ и 2 публикации в изданиях индексируемых Scopus и WoS. По материалам исследования получен патент РФ на изобретение (№ 2762425 от 21.12.2021 г.). Основные результаты исследований представлены и обсуждены на международных и национальных научно-практических конференциях разного уровня в период с 2019 по 2021 гг.

Несомненным достоинством работы является то, что была проведена промышленная апробация разработанных технологий в условиях опытно-промышленного цеха ООО «ПромБит» (г. Ефремов) и отдела технологий препаратов на основе бактериальных и грибных культур ОАО «Биохиммаш» (г. Москва), что подтверждается актами апробации.

Заключение о соответствии диссертации критериям, замечания и пожелания по диссертации.

Оценивая диссертационную работу Фоменко И.А. положительно, считаю нужным указать на некоторые моменты, не нашедшие отражения в работе или представленные не совсем удачно, а также высказать пожелания:

1, На стр.18 автор справедливо отмечает, что «дрожжи способны синтезировать не менее 60 % сырого протеина в пересчете на сухие вещества». Является ли этот показатель критерием объективной оценки качества дрожжей? По сути потребителей интересует прежде всего истинный белок в белковых продуктах. Так какое количество истинного белка в дрожжах?

2. На стр.24 автор указывает, что «На брикетирование идет 40 % образующейся лузги, оставшиеся 60 % закапываются в землю либо утилизируются путем сжигания». Возникают вопросы. С какой целью брикетируют лузгу? Что означает «...60 % закапываются в землю»? Это в виде органического удобрения? Если да, тогда не так уж и плохо – способствует восстановлению гумуса и микробиоты в почве.

3. На стр. 64 автор указывает, что для переработки лузги в сырьё, пригодное для выращивания кормовых дрожжей и получения других целевых продуктов, необходима предобработка лузги механическим, химическим и ферментативным способами. Это требуется, в первую очередь, для удаления из лузги ингибирующих рост дрожжей компонентов, таких как лигнин, фитомеланы и другие ароматические соединения...»

Замечание.

Едва ли существуют штаммы дрожжей способные ассимилировать указанные вещества в клетках тканей в нативной форме. Скорее всего, предобработка предназначена для разделения клетчатки в твердом виде и лигнина, фитомеланов и других ароматических соединения. И далее клетчатка эффективно гидролизуется до доступных и легко усваиваемых дрожжами сахаров.

4. На стр. 68 автор подчеркивает, что по «результатам исследования ферментативного гидролиза наиболее эффективным стал образец измельченной лузги, полученный на роторной ударной мельнице RetschSR 200. Несмотря на значительно больший размер частиц, ферментативный гидролиз проходит с большим выходом редуцирующих веществ в аналогичных условиях. Более мелкие частицы «слипаются», образуя достаточно плотный материал, тем самым уменьшается доступная для фермента площадь поверхности частицы».

Вопрос. О какой площади поверхности частиц субстрата автор пишет: общей, внешней или внутренней? Агломерация частиц субстрата может вызвать снижение внешней удельной поверхности, которая в данном случае, видимо, не существенна. Скорее всего обработка субстрата (лузги) на роторной ударной мельнице RetschSR 200 приводит к увеличению внутренней поверхности субстрата, доступной для ферментов. Отсюда, соответственно, и больший выход сахаров.

5. На стр. 90 автор приводит результаты ВЭЖХ по содержанию в ферментализате глюкозы, целлобиозы и высших (3 и более глюкозных

остатков) сахаров. Глюкоза – 73,65 %; целлобиоза – 12,49 %; олигосахариды – 13,86 %.

Возникает вопрос. Возможно ли по разработанной автором технологии ферментативного гидролиза изолированной из лузги клетчатки исключить содержание олигосахаридов в ферментализате? Это существенно повысило бы эффективность производства.

6. Судя по представленным результатам продолжительность ферментативного гидролиза изолированной из лузги клетчатки доходит до 24 часов.

За этот период ферментативной обработки в ферментализате поселится множество диких микроорганизмов, которые будут ассимилировать сахара.

Возникает вопрос.

Каким технологическим способом автор предлагает сохранять в ферментализате редуцирующие вещества, образующиеся при конверсии клетчатки ферментами?

7. На стр. 102 автор рекомендует штаммы дрожжей *Kluyveromyces marxianus* Y-4557 и *Candida parapsilosis* D-18 для промышленного использования.

Вопрос. Эти штаммы дрожжей разрешены для применения в промышленности санитарно-эпидемиологическими органами?

8. На стр. 100 автор рассматривает вопросы ценообразования на кормовые дрожжи и связывает механизм ценообразования с содержанием в дрожжах сырого протеина.

Известно, что сырой протеин – это истинный белок и небелковые органические и минеральные вещества, содержащие азот.

При кормлении животных необходимо прежде всего истинный белок, который влияет на жизнедеятельность животных, увеличивая привесы и здоровье животных.

Возможно, автор уточнит роль и значимость в кормлении животных небелковых веществ, содержащих азот, в дрожжах?

9. Вопрос к автору работы. Насколько безопасно для окружающей среды производство пищевого белка из дрожжей по сравнению с производством белка животного происхождения? И какой белок ценнее и безопаснее для человека?

Указанные замечания не носят принципиального характера и не снижают ценность рассматриваемой диссертационной работы.

Достоверность представленных автором данных, степень обоснованности научных положений не вызывают сомнений, выводы и рекомендации диссертации адекватны полученным результатам и логично обоснованы.

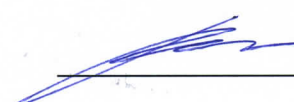
Автореферат диссертации полностью отражает содержание диссертации.

Диссертация соответствует пунктам 2,4,6 паспорта специальности 05.18.07- Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ.

Вышеизложенное позволяет заключить, что диссертационная работа «Комплексная биоконверсия подсолнечной лузги в препараты кормового и пищевого назначения», представленная на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07– «Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ», является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение технических и технологических задач, имеющих важное значение для пищевой промышленности и сельского хозяйства.

Диссертация соответствует критериям п. 9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842), а ее автор, Фоменко Иван Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук.

Доцент кафедры
«Пищевая биотехнология»
ФГБОУ ВО «Казанский национальный
исследовательский технологический университет»,
к.т.н., доцент
шифр специальности: 03.01.06 – Биотехнология
(в т.ч. бионано-технологии)

 З.А. Канарская

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», 420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68, +7 (843) 231–89–13

Подпись Канарской З.А. удостоверяю



Подпись Канарской З.А.

удостоверяю.
Начальник отдела по работе с
сотрудниками ФГБОУ ВО «КНИТУ»
А.Р. Урени

21» 05 2022

Я, Канарская Зоя Альбертовна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Фоменко Ивана Андреевича, и их дальнейшую обработку.