

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Молчанова Владимира Петровича «Прикладные аспекты процессов биоконверсии возобновляемого растительного сырья и органических отходов», представленную на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы диссертации является очевидной и определяется недостаточным использованием методов глубокой целенаправленной переработки природного органического сырья в промышленности и сельском хозяйстве. В связи с этим чрезвычайно важными являются комплексные фундаментальные и прикладные исследования в этой области знаний. Значительный интерес с фундаментальной точки зрения, а также перспективы практического использования представляют биотехнологические процессы, связанные с целенаправленным получением биологически активных компонентов в результате биоконверсии органических сырья и отходов. Методы биоконверсии могут успешно применяться для получения удобрений и других ценных продуктов при одновременном получении локального источника энергии. В таких процессах природные органические материалы играют роль субстрата для получения биологически активных веществ, а также являются сырьем для получения кормовых добавок и премиксов. С учетом разнообразия органических сырья и отходов отдельный исследовательский интерес имеют результаты кинетических исследований указанных процессов для конкретных субстратов с целью дальнейшей реализации в промышленном масштабе. Указанные аспекты характеризуют актуальность темы и содержания диссертационной работы В.П. Молчанова.

Цель работы состоит в формировании научно-технических основ для реализации процессов биоконверсии торфонавозных смесей с их обогащением биологически активными компонентами - аминокислотами, сахарами и другими для получения высококачественной продукции сельскохозяйственного назначения (удобрений и кормовых добавок). Для достижения этой цели в диссертационном исследовании были сформулированы задачи (стр. 8-9).

Характеристика содержания диссертации

Диссертация изложена в классическом стиле, занимает 316 страниц, содержит 55 рисунков, 63 таблицы, и включает введение, девять глав, выводы и список литературы, насчитывающий 305 наименований.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи работы, изложены научная новизна и практическая значимость результатов диссертационного исследования.

В первой главе описаны процессы биоконверсии как основного направления переработки торфа как сложного растительного сырья и отходов животноводства. Рассмотрены возможности использования торфа в качестве субстрата в биотехнологических процессах и микробиологические аспекты процесса его биоконверсии; проанализированы особенности современных технологий биотехнологической переработки возобновляемых сырьевых ресурсов. Показано, что для повышения экологической безопасности и экономической эффективности процессов утилизации отходов производства пищевых и кормовых продуктов необходима разработка процессов биоконверсии с использованием эффективных микроорганизмов, стимуляторов процессов, а также оптимизации технологических режимов процесса. Отмечено, что практическое использование таких процессов позволит обеспечить утилизацию и переработку отходов с получением ценных кормовых добавок, обогащенных биологически активными веществами.

Во второй главе обоснованы перспективы использования торфа в промышленности и сельском хозяйстве. Показано, что торфяные удобрения обладают эффектом пролонгированного действия. Проанализировано, что основные приемы эффективного использования торфа в качестве удобрения основаны на активизации превращения органического вещества. При этом активаторами процессов могут быть навоз, птичий помет, фекалии, минеральные компоненты, например, аммиачная вода.

Третья глава посвящена моделированию кинетики процессов микробной конверсии органического субстрата. Автор подчеркивает сложность корректного математического описания биотехнологических процессов и обосновывает рациональность применения для моделирования таких процессов формально простых реакций, то есть реакций, состоящих из нескольких последовательных элементарных стадий с участием интермедиатов биоконверсии; такую последовательность элементарных стадий можно формально рассматривать как одну стадию. В этой же главе уделяется достаточное внимание микробиологическим особенностям процесса биоконверсии органического сырья, синтезу аминокислот в процессе биоконверсии и способам интенсификации процессов биоконверсии. Показано, что интенсификация достигается за счет стимулирующего влияния на жизнедеятельность микроорганизмов различного рода биологически активных веществ: микроэлементов, витаминов, аминокислот, антибиотиков, ферментов и других биополимеров, органических и неорганических веществ. Необходимо отметить, что в данной работе в качестве стимулирующего фактора процесса биоконверсии смеси органических отходов животноводства и

трудногидролизуемого сырья растительного происхождения было использовано внесение в исходную смесь аскорбинатов различных металлов.

В четвертой главе описаны методики проведения экспериментальных исследований и методы их аналитического контроля. Так, приведены описание экспериментальной установки для исследования процессов биоконверсии; методики ультразвуковой обработки продуктов биоконверсии; качественного и количественного определения содержания аминокислот в средах; определения ферментативной активности уреазы, каталаз, дегидрогеназ; микробиологического анализа исследуемых сред.

Пятая глава "Исследование влияния химических стимуляторов на процесс биоконверсии органического сырья" содержит большой объем экспериментальных данных. В ней приведены результаты исследования процесса биоконверсии компонентов торфонавозной смеси в различных соотношениях торфа и навоза. По результатам проведенных модельных исследований сделан вывод, что внесение солей аскорбиновой кислоты существенно интенсифицирует процесс образования свободных аминокислот в ходе микробной конверсии субстрата, а также принципиальным образом способствует развитию популяции микроорганизмов этом процессе. Определены оптимальные условия процесса биоконверсии, определяющие наилучшие ростовые характеристики аминокислотсинтезирующих микроорганизмов, максимальное накопление свободных аминокислот в процессе, что обуславливает образование ценного продукта ферментации, приближенного по своим свойствам к высокоэффективным кормовым добавкам.

В шестой главе рассмотрены перспективы получения указанных выше продуктов путем реализации процессов комплексной биоконверсии торфонавозных смесей, поддержанной использованием отходов пищевой промышленности, в частности, отходов хлебопекарной промышленности. Кроме того, сделан анализ содержания биологически активных веществ в полученных продуктах, на основании которого можно утверждать, что в результате процесса происходит обогащение количественного и качественного состава фонда аминокислот.

Седьмая глава "Кинетическое моделирование и обсуждение механизмов образования аминокислот в процессе биоконверсии" посвящена разработке математического описания накопления свободных аминокислот в среде с использованием аппарата формальной кинетики. Проанализировано, как изменяются кинетические параметры процесса биоконверсии (константа скорости, энергия активации, порядок реакции) при варьировании температуры процесса для исследованных рецептур среды. Предложено и обсуждено использование модели Моно для описания роста аминокислотсинтезирующих микроорганизмов в

зависимости от концентрации биостимуляторов процесса (аскорбинатов металлов) в диапазоне их исследованных концентраций (до 0,045 %).

Восьмая и девятая главы имеют очевидную прикладную направленность. Так, в восьмой главе даются рекомендации по использованию продукта биоконверсии в качестве кормовой добавки. В девятой главе приводится описание технологии биоконверсии торфоновозной смеси, обогащенной хлебопекарными отходами для получения кормовой добавки. Проведена предварительная технико-экономическая оценка предлагаемой технологии с оценкой рентабельности производства и продукции и формулировкой рекомендаций по его внедрению в условиях России.

Достоверность результатов, приведенных в работе, не вызывает сомнений и подтверждается их согласованием с подтвержденными теоретическими положениями, комплексным использованием современных методов физико-химического и микробиологического анализа объектов исследования, а также воспроизводимостью экспериментальных данных.

Новизна проведенных исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется тем, что получены оригинальные результаты комплексного экспериментального исследования и математического описания процесса микробной конверсии торфоновозных смесей с использованием стимуляторов биологических/биохимических процессов. Изучена кинетика накопления аминокислот в составе продуктов биоконверсии, а также исследован их качественный и количественный состав по содержанию важнейших компонентов – аминокислот и низкомолекулярных сахаров.

Значимость для науки и производства полученных автором диссертации результатов состоит в их обоснованности и применимости для создания новой ресурсосберегающей, экологически обеспеченной технологии утилизации торфоновозных смесей с целью получения ценных продуктов (кормовых добавок, удобрительных смесей, структурных удобрений) для сельскохозяйственного производства.

Использование результатов исследования биоконверсии промышленных и сельскохозяйственных вторичного сырья и отходов в промышленном масштабе позволит получать высокоэффективную продукцию сельскохозяйственного назначения при одновременном сокращении себестоимости производства.

Данные диссертационной работы Молчанова В.П. могут быть включены в программы дисциплин ВУЗов по общей и прикладной биотехнологии, методам переработки растительного сырья.

Как следует из диссертационных материалов, представленные экспериментальные данные и сделанные выводы получены при выполнении таких научно-технических проектов как "Разработка технологии получения витаминизированных кормовых добавок методом биоконверсии сельскохозяйственных и пищевых отходов с добавлением биологически активных соединений" (программа "Научные исследования высшей школы по приоритетным направлениям науки и техники" Минобрнауки России), проект "Разработка биокаталитической технологии утилизации органомных отходов с получением кормовых добавок" (программа "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы" Министерства образования и науки России), проект "Создание и внедрение в производство технологического процесса получения биологически активных кормовых добавок методом биоконверсии целлюлозолигниновых субстратов с добавлением коммунальных отходов" (программа "Старт" Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере), "Разработка ресурсосберегающих способов биоконверсии торфонавозных смесей и отходов пищевой промышленности для получения эффективных органических удобрений" (программа инициативных проектов Российского фонда фундаментальных исследований).

Автореферат отражает основные положения диссертационной работы. Материалы диссертации достаточно полно освещены в публикациях автора: основные положения диссертационной работы были апробированы в выступлениях на научных симпозиумах и конференциях различного уровня. Основное содержание работы изложено в виде не менее 8 статей в научных журналах, входящих в перечень ВАК и WoS/Scopus, а также в не менее чем 3 патентах и свидетельствах на полезную модель.

По диссертационной работе имеется ряд замечаний и вопросов, а именно:

1. Исходя из содержания диссертационного исследования, название работы представляется неудачным. В диссертации как в экспериментальной работе речь идет о биоконверсии не возобновляемого растительного сырья и органических отходах в целом, а о торфонавозных смесях, в частности.

2. Излишнее количество задач исследования и выводов. Так, 1-3 выводы носят декларативный характер и не являются обязательными для характеристики

результатов диссертационного исследования. Выводы 11 и 12 также декларируют сведения, отчасти не подтвержденные полученным экспериментальным материалом.

3. При полноте общих представлений об исследованных субстратах – торфе и навозе, даже с повтором (разделы 1.1.1 и 2.2), отсутствует характеристика образцов торфа и навоза как объектов исследований (происхождение, микробный состав и т.п.). Очевидно, что характеристики реальных образцов могут меняться, что неизбежно отразится на результатах биоконверсии их компонентов, накоплении кислот, росту микроорганизмов и т.п.

4. Чем обоснован выбор солей аскорбиновой кислоты, а не водорастворимых солей каких-либо других кислот в качестве стимулятора микробной активности и процесса биосинтеза аминокислот? В работе отсутствует подобный анализ.

5. Для некоторых важнейших результатов, обсуждаемых в диссертации, недостаточно подробно описаны или вообще не описаны методики их получения и проведения экспериментальных этапов. В частности, это относится к описанию методики и отдельных параметров культивирования микроорганизмов в процессах биоконверсии (в частности, нет сведений о значениях pO_2 , pH в среде, отличающейся накоплением продуктов кислотного характера, с. 161), к представлению микробиологических исследований (с. 165-166), отсутствию обсуждения результатов испытаний процесса биоконверсии исследованных образцов на базе ВНИИ мелиорированных земель (с. 181) и другим.

6. Для описания кинетики микроорганизмов в условиях исследованных *смешанных* популяций микроорганизмов, участвующих в биоконверсии, следовало бы использовать соответствующие модели (системы дифференциальных уравнений), а не только классическое уравнение Моно (раздел 3.5, с. 101-105).

7. Насколько правомерным является представление о биостимуляторе (аскорбинате металла) как об основном углеродном субстрате для описания роста микроорганизмов на такой богатой органической среде как торфонавозная среда с использованием модели Моно (раздел 7.2, с. 208-212)? Являлся ли он единственным субстратом в модельных экспериментах для получения данных для построения зависимостей Моно?

8. Декларативным является заключение автора об использовании низкочастотной ультразвуковой обработки (УЗО) для пастеризации (обеззараживания) продукта биоконверсии (раздел 4.3, с. 115), являющимся многофазной системой, для которой эффективность УЗО в предлагаемом приборном оснащении (УЗДН) представляется малоэффективной. Результаты обеззараживания продукта под действием УЗО в работе не приведены, и остается

непонятным, являются ли эти результаты неудовлетворительными или они не получены в полной объеме для формулирования каких-либо выводов.

9. В работе показано, что УЗО субстрата приводит к повышению концентрации низкомолекулярных сахаров (с. 181). Однако заявленное автором значительное повышение их *биодоступности* экспериментально не подтверждено на каких-либо биообъектах.

10. При обсуждении влияния биостимуляторов на процесс биоконверсии автором сделан вывод о негативном воздействии концентраций аскорбинатов металлов выше 0,045 % (масс.) на образование и накопление аминокислот (с. 159-160), а также об ингибировании роста микроорганизмов (с. 161). Это не соответствует действительности, поскольку *во всем* диапазоне исследованных концентраций аскорбинатов металлов отмечен эффект стимулирования биологических процессов *по сравнению с контролем*. Здесь только следует отметить, что концентрация стимулятора 0,045 % (масс.) является оптимальной.

11. Также нет оснований говорить о том, что температура 37 °С является оптимальной для развития микроорганизмов, продуцирующих свободные аминокислоты (с. 152). По данным таблицы 5.1 с учетом погрешности метода 5% измеренные значения концентрации аминокислот в диапазоне температур 35-40°С отличаются незначимо – находятся в пределах погрешности); т.о., оптимальным может быть признан диапазон температур от 35 до 40 °С для культивирования *смешанного* микробного сообщества.

12. Непонятно, что представляет собой полученный продукт(ы) биоконверсии: в работе не приведены данные об их составе и свойствах. Кроме того, неясно назначение продукта биоконверсии: в тексте он чаще всего квалифицируется как кормовая добавка, однако, в отдельных случаях автор относит его к удобрениям. Так, 12-й вывод по диссертации автор предлагает расценивать продукт биоконверсии в качестве удобрения и премикса без обсуждения требований к нему в том и другом случае.

13. С какой целью глава 8 наполнена не результатами собственных рекомендаций по использованию продукта биоконверсии в сельском хозяйстве, а дополнительным локальным обзором литературы?

14. В тексте диссертации отсутствуют убедительные результаты апробации и внедрения полученного продукта.

15. При общей структурированности работы следует отметить неудачные связки между разделами или отсутствие таковых и повторы (как в главах 1 и 2), методические неточности (раздел 4.6.2, с. 140, определение активности

дегидрогеназы, хотя речь здесь идет о суммарной активности группы ферментов - дегидрогеназ) и т.п.

Считаю, что указанные замечания чрезвычайно важны для ясного понимания работы и дополнительного пояснения ее фундаментальных основ и прикладных аспектов.

В целом, диссертация Молчанова В.П. соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации 24 сентября 2013 года, № 842 и является научно-квалификационной работой, в которой изложены новые научно обоснованные технические и технологические решения, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие методов и технологий биоконверсии возобновляемого растительного сырья и органических отходов.

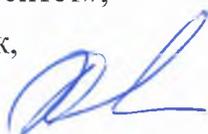
Таким образом, диссертационная работа, представленная к защите В.П. Молчановым, отличается актуальностью темы, достаточным набором экспериментальных данных и математического описания полученных зависимостей, имеет новизну и практическую значимость в части отдельных результатов исследования, а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора технических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент:

декан факультета пищевых технологий,
заведующий кафедрой промышленной биотехнологии
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования

«Казанский национальный исследовательский
технологический университет»,

доктор технических наук,
профессор



Сироткин Александр Семенович

420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68

тел/факс: (843) 2318919

e-mail: asirotkin66@gmail.com



Подпись Сироткина АС

удостоверяется.

Начальник ОКИД ФГБОУ ВО «КНИТУ»

О.А. Перельгина

03

20 18 г.