


## УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке  
федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Казанский национальный  
исследовательский  
технологический университет»  
д.т.н., профессор Сабирзянов А.Н.



  
14.05.2019 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Хромовой Натальи Юрьевны на тему «Биотехнологическая конверсия зернового сырья для получения пробиотических продуктов и кормовых белковых добавок», представленную в диссертационный совет Д 999.095.03 при РХТУ им. Д.И.Менделеева на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнология).

### **Актуальность темы диссертации**

Создание технологий глубокой переработки зерна, биотехнологической конверсии образующихся отходов в ценный микробный продукт входит в число приоритетных проектов текущего развития биотехнологического кластера Российской Федерации (Программа БИО – 2020). Создание и реализация таких технологий актуальны не только с точки зрения более полного и эффективного использования возобновляемых растительных ресурсов, но и с точки зрения создания малоотходных технологий.

Работа Хромовой Н.Ю. посвящена разработке технологии получения функциональных продуктов питания, содержащих бифидо- и лактобактерии,

кормовых добавок с использованием крахмалосодержащего растительного сырья. Автором осуществлен выбор ферментного препарата для гидролиза не только крахмалистых, но и белковых веществ зерна пшеницы, изучена возможность наращивания биомассы пробиотических штаммов бактерий на этих гидролизатах, определены оптимальные условия ведения этих процессов. Несомненно, актуальной составляющей работы является оценка биологического потенциала пентозановой фракции (одного из побочных продуктов переработки зерна) для культивирования дрожжей как основы получения кормового белка.

### **Новизна исследований и полученных результатов, выводов и рекомендаций**

Показана возможность использования растительного сырья в качестве единственного источника питательных веществ для выращивания требовательных к составу среды культивирования молочнокислых бактерий и азотного питания для бифидобактерий при использовании на этапе предварительной обработки сырья протеолитических ферментов. Определены оптимальные условия обработки муки пшеницы для получения максимальной численности указанных микроорганизмов. Автором показана хорошая криопротекторная способность получаемых гидролизатов пшеничной муки в отношении бифидобактерий.

Автором исследована также возможность биоконверсии пентозановой фракции дрожжами – побочного продукта переработки зерна пшеницы. Из 17 использованных в работе штаммов дрожжей для получения белковой кормовой добавки автором предложено использовать смешанную культуру - *Candida utilis* и *Leucosporodium scottii*.

### **Практическая ценность работы.**

На основании проведенных исследований автором – Хромовой Н.Ю., - предложена технология переработки зерна пшеницы, позволяющая получить пробиотические напитки, функциональные ингредиенты, белковые кормовые добавки. Предложен алгоритм обработки суспензий пшеничной муки

ферментными препаратами (с амилалитической и протеолитической активностями) с целью получения питательной среды для молочнокислых бактерий, не требующей дополнительного внесения рост стимулирующих компонентов.

Условия обработки, предложенные автором, для получения суспензий лакто- и бифидобактерий позволяют получать суспензии с содержанием пробиотических культур не менее  $10^8$  КОЕ/мл. Несомненным достоинством гидролизатов пшеничной муки по предложенному автором алгоритму является их хорошая криопротекторная способность по отношению к бифидобактериям – при показателе выживаемости 90% содержание бактерий не менее  $10^{10}$  КОЕ/г.

На основании проведенных исследований автором предложена технология конверсии пентозан содержащей фракции смешанной культурой дрожжей с получением белковой кормовой добавки, содержащей не менее 54% сырого протеина.

Автором представлена технико-экономическая оценка предлагаемых технологий. Разработан лабораторный регламент (№ ЛР 02066492-68/2-15) на производство кормовой добавки (Приложение 4). Технология получения белковой кормовой добавки была апробирована на предприятии ЗАО «Завод Премиксов №1», о чем свидетельствует Акт (Приложение 5).

**Результаты исследований** являются новыми, полностью соответствуют выводам и рекомендациям, сделанным на их основе.

**Личный вклад автора** заключается в постановке цели и задач исследований, в проведении экспериментов, в интерпретации полученных результатов и формулировании научных положений и выводов.

**Оценка содержания диссертации** Диссертация состоит из трёх глав, изложена на 167 страницах, содержит 32 рисунков, 38 таблиц, Приложения. Список использованных источников включает 163 наименований.

*В первой главе* (Обзор литературы) достаточно подробно рассмотрены концепция функционального питания, роль пробиотиков и использование

растительного сырья для производства пробиотических культур, особенности химического состава зернового сырья, технологии его переработки, в том числе использование отходов переработки - отрубей и пентозанов.

*Во второй главе* (Материалы и методы исследования) приведены характеристики объектов и материалов, биохимические и физико-химические методы анализа, методы математической обработки результатов. Используемые в работе методы полностью отвечают решению поставленных задач.

*В третьей главе* (Результаты и обсуждение) обоснован выбор зернового сырья, ферментных препаратов для подготовки сред культивирования лактобактерий и бифидобактерий. Методами математического планирования эксперимента (ПФЭ 24 и РЦКП) установлены оптимальные показатели условий предварительной обработки суспензий пшеничной муки панкреатином для получения максимальной концентрации жизнеспособных клеток бифидо- и молочнокислых бактерий: гидромодуль – 5, концентрация ФП – 2% от содержания белка в муке и гидромодуль 5,43, дозировка панкреатина 2% от содержания белка в муке, соответственно.

Достоверно показано, что использование питательных сред на основе получаемых по разработанной схеме гидролизатов не менее эффективно, чем стандартных питательных сред. Причем в случае с лактобактериями изучаемые гидролизаты могут служить не только источником углерода, но и азота, а в случае с бифидобактериями – источником азота. Таким образом, автор предложил способ заменить компоненты питательных сред животного происхождения на растительные, что позволит использовать последнее более эффективно.

Важным с практической точки зрения фактом является выявленный автором криопротекторный потенциал гидролизатов муки, полученных с использованием протеолитических ферментов. Автором убедительно показано сохранение 90% клеток при использовании этих гидролизатов при

лиофильной сушке бактериальных препаратов бифидобактерий. Это позволит заменить молоко, обычно используемое для этих целей.

Отдельный интерес представляют исследования автора по возможности использования пентозановой фракции отходов переработки зерна для получения кормового белка с использованием дрожжевых культур. Для решения поставленной задачи автором был проведен скрининг более полутора десятка штаммов дрожжей различной родовой принадлежности на способность метаболизировать пентозы. Из пяти наиболее активных по совокупности свойств штаммов дрожжей автор предложил использовать смешанную культуру из штаммов *Candida utilis* и *Leucosporidium scottii*.

Сопоставительное изучение кислотного гидролиза и усвояемости углеводов показало, что в данном случае для эффективного наращивания биомассы дрожжей предпочтительна обработка амилолитическими ферментами с добавлением сернокислого аммония. Как способ культивирования продуцентов белка на пентозановой фракции автор обоснованно предлагает использование объемно-доливного метода культивирования продуцентов при скорости потока  $0,22 \text{ ч}^{-1}$ . Разработанная автором технология получения белковой кормовой добавки позволяет получить продукт с содержанием не менее 54 % сырого протеина. Исследования показателей качества и безопасности полученной белковой кормовой добавки по предлагаемой автором технологии позволили отнести ее к малоопасным соединениям в условиях перорального введения.

Выводы, сформулированные диссертантом, базируются на большом объеме экспериментального материала и являются обоснованными.

### **Замечания и вопросы по работе**

1. Представлен достаточно полный обзор литературы по рассматриваемой проблеме. Однако обзор литературы перегружен таблицей 1.6.1., в которой представлена информация о ферментированных продуктах из зерновых культур на трех страницах без анализа их качества, при этом нет ссылки на первичный источник.

2. На рисунках 2, 3, 4 приводятся известные технологические схемы переработки зерновых культур и пшеничной муки. Достаточно было бы критического описания с указанием ссылок на первичный источник.

3. Отсутствует заключение по обзору литературы

4. На стр. 70 указано, что дрожжи культивировали в аэробных условиях в лабораторном ферментере при температуре 30 С. . При этом на стр. 125 представлен перечень штаммов дрожжей, многие из которых рекомендуется культивировать при температуре 36 °С. Необходимо пояснить выбор температуры культивирования дрожжей.

5. Родовые названия микроорганизмов хотя бы при первом появлении в изложении результатов необходимо дать полностью (с.53, 55).

6. По таблицам 3.1.1.1, 3.1.1.2, 3.1.2.1, 3.1.2.2., 3.1.2.3 и других сложно сопоставить эффективность роста, изменения рН и других факторов, т.к. отсутствуют либо начальные показатели (например, КОЕ), либо конечные (например, концентрация белка).

7. Чем Вы можете объяснить дисбаланс процесса при культивировании лактобактерий на гидролизатах? Судя по таблице 3.1.3.1 из 57 г/л углеводов, помимо биомассы, было получено 64 г/л молочной кислоты.

8. Необходимо пояснить каким методом определялся белок, концентрация которого представлена в таблицах 3.1.3.1 и других

9. Отмечены неточности в использовании терминов: масса, в т.ч. биомасса измеряется в весовых единицах (мг, г, кг), тогда как КОЕ – это показатель численности клеток в среде (табл. 3.3.3.1, 3.3.2.2, 3.32.3...), в таблице 3.1.6.1., рис.25 представлены результаты ферментации гидролизатов пшеничной муки различными штаммами бактерий, а не ферментация бактерий.

10. Отсутствует список сокращений, принятый автором при написании текста диссертации.

**Соответствие паспорту специальности** Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнология):

П.2 – Исследование и разработка требований к сырью (включая вопросы его предварительной обработки), биостимуляторам и другим элементам. Оптимизация процессов биосинтеза,

П.3 – Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения;

**Апробация полученных результатов** Материалы диссертационной работы Хромовой Н.Ю. доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях. Основные результаты работы изложены в статьях, опубликованных в журнале из списка ВАК (Бутлеровские сообщения) и в издании, индексируемом Международной системой Скопус (International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM, 2017, 2018). Подана заявка на патент (рег. № 2018143793).

**Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации** Автореферат достаточно полно и правильно отражает содержание диссертационной работы. Достоверность выводов подтверждена достаточным объемом представленного материала и анализом полученных результатов.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации** обеспечена применением современных стандартных методов исследования, в т.ч. высокоэффективной жидкостной хроматографией, статистической

обработкой полученных данных. Полученные результаты не противоречат литературным данным.

**Рекомендации по использованию результатов работы** Результаты, полученные в диссертационной работе, могут быть использованы в технологиях, применяемых при производстве кормовых белковых добавок. Материалы диссертации могут быть использованы научными организациями, занимающимися вопросами создания новых технологий в производстве пробиотических культур и продуктов функционального назначения на их основе, а также в учебных заведениях для подготовки бакалавров и магистрантов по направлению 19.00.00.

**Связь работы с научными проектами** Диссертационная работа выполнена в рамках реализации проекта, поддержанного РФФИ (грант № 16-19-10469) и министерства образования и науки РФ (соглашение № 14.626.21.0003 от 17.11.2014, идентификатор RFMEFI626.21.0003.).

### **Заключение**

Диссертационная работа Хромова Н.Ю. выполнена на современном теоретическом и экспериментальном уровне. Учитывая актуальность, практическую значимость представленной работы, достоверность полученных результатов и обоснованность сделанных на их основе выводов, можно считать, что диссертационная работа Хромовой Н.Ю. представляет собой законченное в рамках поставленной задачи исследование и соответствует требованиям ВАК РФ (п. 9 «Положение о порядке присуждения ученой степени»), предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата технических наук, **содержит решение задачи, имеющей существенное значение для биотехнологии** по ферментативной предобработке растительного сырья для разработки биотехнологий получения пробиотических продуктов и кормового белка. Считаем, что Хромова Наталья Юрьевна достойна присуждения искомой степени кандидата технических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в т.ч. бионанотехнология).



Диссертационная работа обсуждена на заседании кафедры пищевой биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань, протокол № 9 от 08 мая 2019 г..

Секретарь заседания кафедры, кандидат биологических наук,  
доцент кафедры пищевой биотехнологии  
федерального государственного бюджетного  
учреждения высшего образования  
Казанского национального исследовательского  
технологического университета

С.К. Зарипова

Доктор технических наук, профессор кафедры пищевой биотехнологии  
федерального государственного бюджетного  
учреждения высшего образования  
Казанского национального исследовательского  
технологического университета

А.В. Канарский

Доктор химических наук, доцент  
заведующая кафедрой пищевой биотехнологии  
федерального государственного бюджетного  
учреждения высшего образования  
Казанского национального исследовательского  
технологического университета

М. А. Сысоева

Почтовый адрес: 420015, г.Казань, ул. К. Маркса д. 68,  
телефон: 8(834) 231-89-12  
Адрес электронной почты: oхugen1130@mail.ru

14 мая 2019 г.

Подписи Зариповой Е.К.,  
Канарского А.В. и Сысоевой М.А.  
удостоверяется.  
Начальник ОКИД ФГБОУ ВО «КНИТУ»  
  
"14" 05