

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора технических наук Абрамовой Ирины Михайловны
на диссертационную работу Скибы Екатерины Анатольевны
«Биотехнологическая трансформация легковозобновляемого
целлюлозосодержащего сырья в ценные продукты», представленную
на соискание ученой степени доктора технических наук
по специальности 1.5.6. – Биотехнология.

Загрязнение воды и воздуха, истощение невозобновляемых природных ресурсов, перенаселение в ряде стран являются глобальными вызовами человечества. Биотехнология – наука, способная решить глобальные вызовы. В настоящее время недостаточно простого пути переработки сырья в продукт, обязательно должны решаться проблемы рециркуляции и регенерации ресурсов, то есть новые разрабатываемые технологии должны отвечать концепции устойчивого развития или экономике замкнутого цикла. Российская Федерация продолжает интеграцию в мировую экономику и согласно Энергетической стратегии РФ на период до 2035 года предусмотрен переход к экологически чистой и ресурсосберегающей энергетике, рациональному природопользованию и энергетической эффективности (Распоряжение Правительства РФ от 9 июня 2020 г. № 1523-р), а 02.07.2021 В.В. Путиным подписан закон «Об ограничении выбросов парниковых газов». В связи с этим, диссертационная работа Скибы Е.А., посвященная разработке фундаментальных основ трансформации дешевого возобновляемого травянистого целлюлозосодержащего сырья в биопродукты с высокой добавленной стоимостью, является **чрезвычайно актуальной**.

Цель работы заключалась в разработке фундаментальных технологических основ комплексной переработки легковозобновляемого целлюлозосодержащего сырья в ценные продукты микробиологического синтеза. **Актуальными являются** выбор сырья, а именно, дешевых целлюлозосодержащих источников – массового отхода сельского хозяйства (шелухи овса) и биомассы быстрорастущей технической злаковой культуры (мискантуса), актуальной является задача разработки фундаментальных основ технологии биоконверсии целлюлозосодержащего сырья в питательные сахарные среды, наконец, актуальным является выбор биопродуктов: классического для биотехнологии биоэтанола и новейшей и чрезвычайно перспективной бактериальной целлюлозы.

Диссертация является глубоким теоретическим и экспериментальным исследованием. Она занимает 492 страницы, из которых 94 страницы занимает список литературы, включающий 1118 наименований, из которых 882 – источники зарубежной литературы. Структурно в диссертации представлены: глава аналитического обзора; глава, характеризующая объекты исследования, а также условия проведения экспериментов, материалы, методы анализа, общую схему проведения исследований; три главы экспериментальных исследований. Работа содержит 71 рисунок, 57 таблиц, 9 приложений.

Во введении обоснована актуальность темы, кратко проанализирована степень разработанности, сформулированы цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, приведены основные положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, связь работы с научными программами и апробация результатов, здесь же имеется список работ автора.

Аналитический обзор логически выстроен и хорошо структурирован. Задача по выделению из нативного целлюлозосодержащего сырья элементарных сахаров очень сложна, поэтому, до сих пор в мировой практике нет общепризнанного лидера этого процесса. В обзоре приведен подробный анализ перспектив использования целлюлозосодержащего сырья для выделения сахаров и получения продуктов микробиологического синтеза. Отмечается, что ключевой стадией, лимитирующей технологический процесс и определяющей его экономическую целесообразность, является предварительная обработка целлюлозосодержащего сырья. Флагманом биоконверсии целлюлозосодержащего сырья в биопродукты с высокой добавленной стоимостью является биоэтанол. В работе представлен анализ мирового уровня развития данной отрасли. Вторым продуктом, рассмотренным в работе, является бактериальная наноцеллюлоза. Приводится технология получения и сферы применения этого полимера, упор делается на одно из новых направлений: получению высокоценной бактериальной наноцеллюлозы из малоценной растительной, что обусловлено стремлением к снижению себестоимости этого востребованного продукта. Обзор заканчивается обоснованием выбора направления исследований на основании анализа мировых достижений, разработана стратегия восполнения имеющихся пробелов в науке и технике.

Во второй главе приводятся условия и оборудование для проведения экспериментов, описание использованных в работе методов предварительной

обработки целлюлозосодержащего сырья, ферментативного гидролиза, режимов микробиологического синтеза биоэтанола, бактериальной целлюлозы, кормового белка. Приведенные в описании и использованные в исследованиях физико-химические, химические, биохимические и микробиологические методы аналитического контроля вполне достаточны для обоснованного анализа результатов экспериментов, объективных и достоверных выводов. Обращает на себя внимание стремление автора к арбитражному контролю и испытаниям готовых продуктов в независимых лабораториях. Эксперименты выполнены в многократных повторностях и статистически обработаны общепринятыми методами. **Достоверность результатов, представленных в работе не вызывает сомнений.**

Третья глава включает результаты экспериментальных исследований по предварительной химической обработке сырья авторскими методами и ферментативному гидролизу полученных субстратов. Новизна представленных решений заключается в том, что впервые в мировой практике для получения биопродуктов используется предобработка с помощью разбавленного раствора азотной кислоты, а затем стадия ферментативного гидролиза. Большое внимание уделено объективному анализу преимуществ и недостатков азотнокислой предобработки, процесс апробирован в условиях опытно-промышленного производства. С учётом того, что отработанный раствор может быть рециклизован десятикратно, а затем использован в качестве комбинированного лигногуминового удобрения, азотнокислый способ предобработки действительно заслуживает внимания для промышленного внедрения.

Четвертая глава посвящена разработке технологии получения биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья. Производство биоэтанола второго поколения из сельскохозяйственных отходов является приоритетной конвергентной технологией умной биоэнергетики, что прописано в Прогнозе научно-технологического развития агропромышленного комплекса Российской Федерации на период до 2030 года, утвержденном приказом № 3 Минсельхоза России от 12 января 2017 г. В работе не отрицается успешный опыт работы гидролизной промышленности в СССР и в тоже время, предложен новый технологический подход, безусловно, заслуживающий внимания.

Принципиальным отличием от классической технологии гидролизного спирта является реализация процесса не через кислотный, а через ферментативный гидролиз. Проведение гидролиза в мягких условиях

позволило получить биоэтанол-сырец с сверхнизкими концентрациями метанола – не более 0,008 об.% из непищевого сырья, что является ключевой особенностью разработанной технологии. Кроме того, в отличие от технологии гидролизного спирта, в которой концентрация спирта в бражке составляет всего 1,0-1,5 об. %, в представленной диссертационной работе концентрация биоэтанола в бражке повышена до 5,1-5,4 %. Повышение концентрации биоэтанола стало возможно благодаря применению фермент-субстратной подпитки и повышению концентрации субстрата, что принципиально недостижимо при использовании перколяции. В технологии зернового, картофельного, меласного спирта в последние годы успешно внедрено использование высококонцентрированных субстратов, но для целлюлозного биоэтанола низкие концентрации субстрата обусловлены объективными физико-механическими факторами.

При использовании ряда математических методов планирования и обработки данных, автором проведена оптимизация мультиэнзимного комплекса и состава гидролизной среды, совмещения стадий ферментативного гидролиза и спиртового брожения. Именно такой подход позволил дополнительно повысить выход биоэтанола и произвести конкурентоспособный продукт в условиях мирового рынка.

В пятой главе представлены материалы по разработке фундаментальных основ технологии получения бактериальной наноцеллюлозы из легковозобновляемого целлюлозосодержащего сырья. При этом, параметры стадии предобработки отличаются от технологии биоэтанола, что связано с высокими требованиями продуцента бактериальной наноцеллюлозы к доброкачественности питательной среды. В небольшом скрининг продуцентов на средах ферментативных гидролизатов показаны преимущества использования достаточно сложного микробиологического сообщества – симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* Sa-12. Вопросу качественных характеристик бактериальной наноцеллюлозы, получаемой с помощью *Medusomyces gisevii* Sa-12 уделено пристальное внимание, для исследования использованы современные методы анализа, принятые в мировой практике.

В заключение сформулированы выводы, полностью отвечающие поставленным задачам.

Научная новизна работы несомненна и заключается в том, что разработаны фундаментальные основы трансформации легковозобновляемого целлюлозосодержащего сырья в востребованные

мировой экономикой продукты: биоэтанол и бактериальную наноцеллюлозу. Базисной основой технологий является соблюдение принципов зелёной химии, а центральной концепцией – трансформация дешевого сырья в продукты с высокой добавленной стоимостью методами биотехнологии. Впервые для предобработки легковозобновляемого целлюлозосодержащего сырья с целью дальнейшей биотехнологической трансформации предложено использовать разбавленный раствор азотной кислоты, при этом убедительно продемонстрированы такие преимущества перед мировыми аналогами, как безотходность, экологичность, экономичность, технологичность, унифицированность воздействия.

Научной новизной обладают разработанные авторские технологии от сырья до готового продукта с получением биоэтанола с сверхнизкими концентрациями метанола и бактериальной наноцеллюлозы, обладающей высочайшими структурно-размерными характеристиками по степени кристалличности и содержанию альфа I-алломорфа. Работа обладает научной новизной не только на уровне Российской Федерации, но и на мировом уровне.

Разработанные теоретические основы технологий получения из легковозобновляемого целлюлозосодержащего сырья биоэтанола и бактериальной наноцеллюлозы **реализованы на практике**: для обеих технологий разработаны аппаратно-технологические схемы и обе технологии масштабированы в условиях опытно-промышленного производства, при этом выход продукта либо сохранен (в случае бактериальной наноцеллюлозы), либо превышает лабораторный (в случае биоэтанола). Технические решения защищены 7 патентами РФ. Проведена технико-экономическая оценка технологий, согласно которым достигается рентабельность производства. Несомненно, это обусловлено комплексным подходом и безотходностью разработанных технологий. Выработанные в условиях опытно-промышленного производства образцы биоэтанола и бактериальной наноцеллюлозы испытаны и внедрены в сторонних организациях, о чём имеются акты. Таким образом, представлены готовые технологические решения, что демонстрирует **несомненную практическую значимость** данной диссертационной работы.

Работа имеет **высокую значимость для науки и производства**. **Практическое использование научных результатов** разработанных фундаментальных основ трансформации легковозобновляемого

целлюлозосодержащего сырья в ценные продукты биотехнологического синтеза имеет как минимум три значимых приложения:

во-первых, показывают возможность замены ценных (и значительно поврежденных в последние годы в России) лесных ресурсов бросовым целлюлозосодержащим сырьём, биосинтезируемым в течение одного вегетативного периода;

во-вторых, технология биоэтанола с сверхнизкими концентрациями метанола реанимирует находящуюся в упадке гидролизную промышленность;

в-третьих, технология бактериальной наноцеллюлозы вносит огромный вклад в формирование новой для РФ отрасли. Производство бактериальной наноцеллюлозы абсолютно необходимо для базового развития экономики и социальной сферы РФ.

Анализируя работу в целом, можно отметить строгую логичность построения диссертации, работа достойно оформлена и иллюстрирована, представленные в ней материалы исследований изложены профессиональным и технически грамотным языком.

Особенностью представленной диссертационной работы является её полное изложение в публикациях: работа представлена в 156 публикациях, результаты работы широко обсуждались на всероссийских и международных конференциях, форумах и конгрессах. Получено 7 патентов РФ, опубликовано 72 статьи в журналах списка ВАК, из которых 48 из них – в журналах, индексируемых международными базами Web of Science и Scopus, из которых 19 – Q1 и Q2, что подтверждает мировой приоритет работы.

Автореферат диссертации полностью соответствует представленной диссертационной работе. Выводы, сделанные в работе, соответствуют поставленным целям и задачам, а их обоснованность подтверждена совокупностью полученных результатов.

В процессе оппонирования возникли следующие вопросы и рекомендации:

1. В случае использования в качестве сырья биомассы мискантуса к химической обработке было бы уместно добавить механическую обработку, например, экструзию.

2. Критической точкой азотнокислой обработки выявлена необходимость тщательной промывки субстрата от ингибитора. Таким образом, потребуются значительные количества воды. Как будет решён вопрос её очистки?

3. Для полного понимания качества ферментативных гидролизатов и для сравнения их состава с кислотными гидролизатами было бы уместно привести не только состав сахаров, но и содержание фурфурола, оксиметилфурфурола, органических кислот.

4. Следовало добавить в диссертацию методику определения биологической доброкачественности ферментативных гидролизатов, эта работа приводится в списке публикаций автора, позиция 41, стр. 21.

5. Работа претендует на комплексность подхода. Поскольку приоритетной является азотнокислая предобработка, то доля пентозанов в получаемых гидролизатах крайне мала, соответственно мало их и в барде. Следовательно, азотнокислая барда не может быть использована для получения биомассы дрожжей. Какое она может найти применение?

6. Уровень исследований бактериальной наноцеллюлозы стремительно растёт. Какие свойства бактериальной наноцеллюлозы Вы считаете ключевыми, чтобы отличить не бактериальную целлюлозу от растительной, а один вид бактериальной наноцеллюлозы от другого её вида?

7. В диссертации имеются ошибки в оформлении ссылок на патенты, неточности в использовании терминов, неудачные формулировки и выражения.

Сделанные замечания не снижают высокой научной и практической значимости работы и носят рекомендательный характер.

Подводя итог вышеизложенному, следует заключить, что диссертационная работа Скибы Екатерины Анатольевны является оригинальным исследованием, выполнена на высоком методологическом уровне, представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, в ней изложены новые научно обоснованные технические и технологические решения, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие биотехнологической отрасли РФ, работа полностью соответствует Стратегии социально-экономического развития Российской Федерации с низким уровнем выбросов парниковых газов до 2050 года (Распоряжение Правительства РФ от 29 октября 2021 г. № 3052-р).

По объёму выполненных исследований, научному и методическому уровню их проведения, по актуальности, новизне, значимости для науки и производства полученных результатов диссертационная работа «Биотехнологическая трансформация легковозобновляемого целлюлозосодержащего сырья в ценные продукты», представленная на официальном оппонирование, полностью удовлетворяет требованиям пп. 9-14

«Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в редакции от 26.09.2022), предъявляемым ВАК Министерства науки и высшего образования РФ к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а ее автор – Скиба Екатерина Анатольевна – заслуживает присуждения учёной степени доктора технических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология.

Официальный оппонент: директор Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи (ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»), доктор технических наук по специальности 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ.



Абрамова Ирина Михайловна

25.01.2023



111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4Б,
+7 (495) 362-44-95, 4953624495@mail.ru