

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Волчок Анастасии Александровны «Новые мультиферментные комплексы для деструкции полисахаридов плодового сырья в условиях винодельческого производства», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Актуальность проблемы. В настоящее время одним из приоритетных направлений науки и технологии винодельческой индустрии является разработка отечественных инновационных технологий производства высококачественных алкогольных напитков из плодового сырья. Эффективные способы переработки достаточно больших объемов отечественного плодового и ягодного сырья помогут решить чрезвычайно актуальную проблему импортозамещения и выпуска конкурентоспособной продукции.

Выбранное автором направление диссертационных исследований по изучению влияния новых мультиферментных комплексов грибного происхождения на процесс деструкции полисахаридов плодового сырья несомненно актуально, т.к. применение полученных ферментных препаратов способствует повышению эффективности процессов биоконверсии полимеров растительного сырья, используемого в соковой и винодельческой отраслях промышленности.

Не менее актуальной является задача, связанная с определением показателей токсичности и аллергизирующих свойств новых ферментных препаратов, что способствует решению важной проблемы – производства высококачественных алкогольных напитков из плодового сырья, отвечающих требованиям мирового уровня к их качеству и безопасности.

Автором научно обоснованы направления исследований, сформулированы цель и задачи диссертационной работы и определена методология их реализации.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций и достоверность. Степень обоснованности определенных этапов диссертационной работы следует из результатов анализа литературы, научного обоснования постановки экспериментов и анализа результатов, полученных в ходе исследований.

Достоверность представленных в диссертации результатов подтверждается большим объемом экспериментальных исследований, выполненных с использованием современных физико-химических методов

анализа, а их воспроизводимость подтверждена статистической и математической обработкой. Экспериментальные данные диссертанта с достаточной степенью точности согласуются с общетеоретическими концепциями, принятыми в данной области исследований, выводы и рекомендации основаны на общепринятых теоретических закономерностях, одобрены при выступлениях соискателя на научно-технических конференциях.

Научная новизна исследований и полученных автором результатов очевидна и заключается в теоретическом обосновании и экспериментальном подтверждении направленной биоконверсии полимеров плодового сырья при применении сухих форм новых ферментных препаратов, способствующих более полному извлечению соковой фракции, интенсификации процессов осветления и фильтрации сусла, а также получению виноматериалов, обогащенных красящими веществами.

С помощью генетически модифицированных штаммов *Penicillium verruculosum* РВ4 и РВ7 впервые получены и охарактеризованы новые ферментные препараты, содержащие комплекс пектолитических и целлюлолитических ферментов, позволяющих обеспечить эффективность процесса биоконверсии полисахаридов плодового сырья.

Автором доказано влияние созданных мультиферментных комплексов карбогидраз при обработке виноградных выжимок на получение более полных экстрактов, обогащенных сахарами, ванилиновой и 2-гидроксифенилуксусной кислотами, а также галловой кислотой, являющейся антиоксидантом.

Научный интерес представляют полученные автором данные по получению виноматериалов при использовании новых ферментных препаратов с меньшим содержанием летучих микропримесей, отвечающих за ноты окисленности в аромате готовых вин и влияющих на органолептические показатели готового продукта.

Научно-практическая значимость.

Существенную научно-практическую значимость диссертационной работе придает комплексный подход к решению поставленных задач: теоретическое обоснование направления исследований, экспериментальное подтверждение и реализация результатов на примере изготовления опытных образцов вин, в технологию которых включена стадия обработки сырья новыми мультиферментными комплексами карбогидраз.

Результаты проведенных автором исследований позволили разработать научные и практические основы интенсивной ресурсосберегающей биотехнологии переработки плодового сырья. Предложенные подходы к процессу получения плодового сусла из мезги с использованием новых ферментных препаратов способствуют наиболее полному извлечению в соковую фракцию ценных природных компонентов плодов и ягод, улучшению осветления виноматериалов и обеспечению их стабильности, а

также увеличению скорости их фильтрации, снижению расходов оклеивающих и фильтрующих материалов.

С практической стороны проведенная диссертантом работа представляет несомненный интерес в связи с обоснованностью рекомендаций по выпуску вина с заданными органолептическими и физико-химическими показателями за счет направленного регулирования процессов деструкции полисахаридов плодового сырья при его переработке.

Полученные автором знания, касающиеся токсикологических и аллергизирующих свойств нового ферментного препарата и подтверждающие безопасность его использования для обработки мезги различного растительного сырья, дают основания для создания нового ассортимента конкурентоспособных, безопасных алкогольных напитков.

Новизна разработанных технических решений подтверждена патентом РФ № 2574206 «Новый рекомбинантный штамм (варианты) мицелиального гриба *Penicillium verruculosum* и ферментный препарат (варианты), предназначенный для гидролиза плодово-ягодного сырья, и способ его получения».

Общая оценка содержания и оформления диссертации.

Структура диссертационной работы Волчок Анастасии Александровны традиционна и логически обоснована, состоит из введения, обзора литературных источников, экспериментальной части, выводов, списка использованной литературы, приложения.

Список цитируемой литературы содержит 169 наименований. Работа изложена на 138 страницах, включает 43 рисунка и 25 таблиц. В приложении представлены результаты органолептической оценки опытных образцов вина.

Необходимо отметить строгую логичность построения диссертационной работы, её сопровождение обобщающими схемами, иллюстрирующими разработанные автором концепции подхода к решению поставленной цели, сводными таблицами, а также полученными автором экспериментальными данными.

В обзоре литературных источников освещены технологические аспекты производства фруктовых и виноградных вин, а также технологические проблемы, связанные с переработкой плодово-ягодного сырья и методы их решения. В обзоре литературы рассмотрен вопрос использования ферментных препаратов при первичной переработке плодов и ягод. Подробно рассмотрены основы ферментативного гидролиза компонентов растительного сырья, преимущества применения ферментативной обработки плодового сырья различного состава. Проанализированы возможности применения ферментов при переработке отходов плодового сырья и винограда. На основании аналитического обзора патентной и специальной литературы было сформулировано актуальное направление исследований, заключающееся в создании технологии получения сусла повышенного качества и интенсификации его выделения из

плодовой мякоти с помощью полученных впервые новых ферментных препаратов грибного происхождения.

В разделе «**Материалы и методы**» дано описание материалов, методов исследований и техники проведения эксперимента.

Для получения новых ферментных препаратов использовали рекомбинантные штаммы *Penicillium verruculosum* РВ4 и РВ7. При обработке виноградной мякоти применяли ферментные препараты серии «Тренолин ДФ» (Германия).

Фруктовое сырье было предоставлено РГАУ МСХА им. Тимирязева, виноград технологических сортов и сброженные выжимки красных сортов винограда – ОАО «Цимлянские вина».

Половозрелые самцы крыс линий Wistar и Norway Brown, используемые в экспериментах, были представлены виварием ФИЦ Биотехнологии РАН.

Результаты экспериментов оценивали с помощью общепринятых методов исследования согласно существующим ГОСТам и методикам.

Раздел «**Результаты и обсуждение**» представлен в 4-8 главах диссертационной работы.

4 глава посвящена изучению состава и свойств исследуемых лабораторных ферментных препаратов и используемых в работе коммерческих ферментных препаратов. Диссертантом было установлено, что лабораторные ферментные препараты за счет своего сбалансированного состава способны с большей эффективностью использоваться для обработки растительного сырья разного состава, в сравнении с коммерческими препаратами.

В **5 главе** приведены результаты экспериментов по ферментативному гидролизу различных видов растительного сырья. Автором проведена сравнительная оценка гидролитической способности лабораторных ферментных препаратов с коммерческими аналогами, применяемыми в традиционной виноделии. Экспериментально доказано, что с учетом выхода сока и содержания в нем сахаров оптимальным для обработки рябины является ферментный препарат (ФП) В1 7.7, для обработки сливы и черной смородины – ФП В1 7.4, для виноградного сырья – ФП В1 7.7.

6 глава посвящена серии экспериментов по изготовлению фруктовых и виноградных вин с использованием ферментных препаратов. При приготовлении вин изучалось влияние ферментных препаратов на выход самотечных и прессовых фракций сусла, физические показатели самотечных и прессовых фракций сусла и давалась органолептическая оценка полученных фруктовых и виноградных вин.

Результаты экспериментов убедительно доказывают целесообразность применения новых ферментных препаратов, способствующих увеличению выхода сусла из плодового и виноградного сырья, улучшению процессов

осветления и фильтрации и получению фруктовых вин с отличными органолептическими показателями.

7 глава посвящена определению возможности проведения ферментативного гидролиза виноградных выжимок с использованием новых ферментных препаратов. Проведенные автором исследования представляют определенный научный и практический интерес, т.к. в ходе эксперимента определялись потенциальные возможности использования новых ФП при получении функциональных продуктов из отходов винодельческого производства. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования разработанных ферментных комплексов по сравнению с коммерческими препаратами серии «Тренолин». Обработка выжимок новыми ФП дала возможность получить экстракты, обогащенные сахарами и фенольными соединениями.

В 8 главе представлены исследования токсичности и аллергизирующих свойств ферментного препарата В1 7.7. Полученные данные несомненно заслуживают внимания, поскольку именно ФП В1 7.7 в ходе исследований проявил высокую эффективность для наиболее широкого спектра растительного сырья. Приведенные экспериментальные данные убедительно доказывают безопасность использования данного ферментного препарата в пищевом производстве, в частности, при получении различных виноматериалов.

Все сформулированные в диссертационной работе научные положения, выводы и рекомендации вытекают из полученных результатов и не вызывают сомнений в научно-практической значимости. Основные материалы диссертации изложены в 9 публикациях, из них 4 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, получен 1 Патент РФ.

Оценивая работу в целом, необходимо отметить, что диссертационная работа Волчок Анастасии Александровны является законченным научным исследованием, выполненным на актуальную тему, несомненно, имеющим научную новизну и практическую значимость. Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями.

Наряду с общей высокой положительной оценкой исследования, к работе имеется несколько замечаний и пожеланий:

1. В аналитическом обзоре литературы, в ряде случаев дана излишняя детализация теоретических основ ферментативного гидролиза компонентов растительного сырья (2.1.1, 2.1.2). В тоже время, раздел 2.2., в части использования ферментных препаратов (как пектолитических, так и комплексных ферментных препаратов) в виноделии, в частности Российском, представлен достаточно фрагментарно.
2. В работе используется не совсем корректная терминология по отношению к классификации вин. Термин «натуральные» вина в

характеристике вин отсутствует, поскольку вся винодельческая продукция является натуральной.

3. При изготовлении опытных образцов вина использовали дрожжи рода *Saccharomyces cerevisiae* расы XII. Данная раса главным образом применяется в спиртовой отрасли промышленности, в винодельческом производстве используются специально-подбираемые расы дрожжей с направленными функциональными свойствами для определенного вида сырья.
4. Исследования диссертанта относятся к трем видам сырья, используемого в фруктовой виноделии (рябина, смородина и слива). В этой связи было бы целесообразно представить рекомендации, в какой мере разработанный метод биоконверсии полисахаридов плодового сырья является универсальным и изменится ли подход к применению новых комплексных ферментных препаратов при переработке такого часто применяемого сырья, как вишня или клюква.
5. В диссертационной работе токсичность ферментного препарата определяли по аналогии с алкогольной токсичностью, используя биологические модели. В настоящее время разработаны альтернативные методы исследования токсичности на культуре клеток, которые являются менее трудоемкими. В дальнейшей работе по этому направлению, считаю целесообразным использовать именно эти методики.

Заключение о диссертации.

Приведенные в отзыве замечания не носят принципиальный характер, не снижают значимости проведенных диссертантом исследований и могут быть использованы в дальнейшей работе по данной тематике. Выводы диссертации обоснованы, логически вытекают из существа материалов диссертации, подтверждены экспериментальными данными и не вызывают сомнений в научно-практической ценности.

Опубликованные по материалам исследований работы отражают содержание диссертации. Автореферат полностью соответствует основным результатам исследований, заключениям и выводам, содержащимся в диссертационной работе.

Представленная к рассмотрению диссертационная работа Волчок Анастасии Александровны «Новые мультиферментные комплексы для деструкции полисахаридов плодового сырья в условиях винодельческого производства» по качеству выполнения, объему исследований, теоретической и практической значимости, которую она представляет, соответствует заявленной научной специальности, является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, решающей важную научно-техническую задачу в области пищевой биотехнологии. Работа содержит новые сведения, представляющие практический интерес для специалистов винодельческой

промышленности и вносит существенный вклад в научное направление биоконверсии плодового сырья, имеющее важное народно-хозяйственное значение.

Представленная диссертационная работа в полной мере соответствует требованиям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней (утверждено постановлением Правительства РФ от 24.09.13 № 842), а её автор, Волчок Анастасия Александровна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент,
доктор технических наук,
врио заместителя директора по научной работе,
заведующая отделом технологии и
контроля производства
спиртных напитков
ВНИИПБТ — филиал ФГБУН
«ФИЦ питания и биотехнологии»

И.М. Абрамова

Подпись И.М. Абрамовой подтверждаю
Начальник отдела кадров



В.Н. Добровский

ноябрь 2016г.

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии
– филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и
безопасности пищи

111033, г. Москва, Самокатная ул., д. 4-Б. Тел.: +7 (495) 362-44-95
e-mail: i-abramova@mail.ru