

“УТВЕРЖДАЮ”

Директор ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН»,
чл-корр. РАН



А.М. Боронин

«11» октября 2016 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Волчок Анастасии Александровны «Новые мультиферментные комплексы для деструкции полисахаридов плодового сырья в условиях винодельческого производства», представляемую на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Диссертационная работа Волчок А.А. посвящена получению и применению в пищевой промышленности ферментных препаратов нового поколения на основе рекомбинантных штаммов *Penicillium verruculosum* - продуцентов ферментов целлюлолитического действия совместно с гетерологичными ферментами – пектинлиазой и β -глюкозидазой для эффективного гидролиза полисахаридов клеточной стенки плодового сырья и винограда.

Одним из признанных и широко используемых в настоящее время методов облегчения процессов извлечения сока или сусла из трудно перерабатываемого сырья (сливы, смородины, клубники и т.д.) является ферментативная предобработка растительных субстратов, оказывающая также положительное влияние на качество конечных продуктов. Таким образом, получение новых отечественных ферментных комплексов и разработка методов их применения в пищевой промышленности, в частности, в виноделии может способствовать решению технологических задач, стоящих перед специалистами соковой и винодельческой промышленности (интенсификация извлечения сусла, увеличение объемов получаемого сусла, снижение содержания взвесей в сусле и т.д.), а также обеспечить импортозамещение существующих зарубежных коммерческих ферментных препаратов, разработанных для схожих целей. В лаборатории биотехнологии ферментов ФИЦ Биотехнологии РАН были получены эффективные продуценты ферментов для осахаривания растительного сырья – рекомбинантные штаммы *P. verruculosum* PB4 и PB7, секретирующие уникальный комплекс целлюлаз, гемицеллюлаз и пектиназ. На основе этих штаммов в рамках исследований были получены сухие формы ферментных препаратов: В1 7.4 и В1 7.7. На дальнейших этапах

работы с помощью полученных мультиферментных были изготовлены фруктовые и виноградные виноматериалы, а также экстракты сброженных виноградных выжимок. Кроме того, в ходе работы была проведена оценка токсикологических и аллергизирующих свойств нового ферментного препарата, показавшего высокий уровень эффективности обработки наиболее широкого спектра сырья.

Актуальность исследований Волчок А.А. не вызывает сомнений, так как представляемая диссертационная работа посвящена решению ряда технологических проблем, связанных с переработкой фруктов и ягод, путем ферментативного гидролиза плодовой мезги новыми мультиферментными комплексами с сокращением стадии мацерации измельченного сырья. Результаты исследований, полученные автором, и основные научные положения – **значимы для науки и производства**.

Научная новизна диссертационной работы состоит в проведении оптимизации состава сред культивирования используемых в работе рекомбинантных штаммов *P. verruculosum* PB4 и PB7 с целью сокращения сырьевых затрат с сохранением уровня удельных ферментативных активностей в составе получаемых новых ферментных препаратов. Были показаны оптимальные параметры ферментативной обработки каждого из видов используемых плодовых субстратов (рябины, сливы, черной смородины, технических сортов винограда). Кроме того, были выявлены возможности переработки отходов винодельческого производства (сброженных виноградных выжимок) с помощью новых ферментных препаратов.

Суммируя вышесказанное, стоит заключить, что **научная новизна диссертационной работы А.А. Волчок не вызывает сомнений**.

Практическая значимость представляемой работы состоит в разработке технологических схем изготовления вин, позволяющих ускорить определенные технологические стадии производства путем ферментативной предобработки сырья и получить большие объемы суслу с измененными реологическими и физическими свойствами. В ходе работы были также выявлены токсикологические и аллергизирующие свойства наиболее универсального с точки зрения эффективности по отношению к широкому спектру сырья ферментного препарата ВІ 7.7. Полученные данные характеризуют уровень безопасности использования данного мультиферментного комплекса в пищевой промышленности.

Результаты проведенных лабораторных исследований позволяют сделать вывод о существенной теоретической и практической значимости результатов диссертационной работы Волчок А.А., подтверждаемых выявленными свойствами полученных ферментных препаратов, а также разработанными биотехнологиями производства фруктовых и виноградных вин, включающими стадию ферментативной обработки плодовой или виноградной мезги.

Степень обоснованности работы следует из анализа литературных и экспериментальных данных, полученных в ходе исследований. **Достоверность**

результатов и выводов исследований подтверждается большим массивом экспериментальных данных и использованием соискателем современных высокоэффективных методов и приборов при проведении исследований.

Структура диссертации позволяет всесторонне раскрыть актуальность и новизну научного исследования Волчок А.А. Разделы, представленные в работе, включают: введение, обзор литературных источников, описание материалов и методов исследования, обсуждение полученных результатов, выводы, перечень ссылок на используемую литературу и приложение. Библиографический указатель насчитывает более 150 литературных источников и содержит современные публикации отечественных и зарубежных авторов. Каждый раздел рукописи соответствует смысловой нагрузке и содержит подробную информацию по своему направлению.

В разделе «Введение» сформулированы цель и задачи работы, положения, выносимые на защиту, обоснована актуальность выбранной темы исследования. Сведения, изложенные в разделе «Обзор литературных источников», соответствуют современному состоянию вопросов технологии получения вин, которых касается автор. В полной мере и на высоком научном уровне проведен анализ работ, посвященных технологии производства вин различного типа и механизмам действия различных ферментов, обеспечивающих биоконверсию полимеров растительной клеточной стенки.

В разделе «Обзор литературы» автором построена убедительная линия изложения, материал представлен в строгой логической последовательности, иллюстрирован таблицами и рисунками.

В разделе «Методы исследования» диссертант детально излагает методические приемы, использованные в ходе работы, что соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Набор использованных методов соответствует современной методической базе и свидетельствует о высокой экспериментальной квалификации автора. Используемая научно-методическая база позволяет считать, что полученные в процессе выполнения работы результаты и выводы являются объективными, достоверными и не вызывающими сомнений.

В экспериментальной части диссертационной работы Волчок А.А. представлены также оригинальные результаты исследований и их обсуждение. Следует отметить большой объем проведенных экспериментов. Все этапы работы четко спланированы, автор последовательно решает поставленные задачи: на основе выбранных рекомбинантных штаммов-продуцентов *P. verruculosum* PB4 и PB7, секретирующих комплекс целлюлаз, гемицеллюлаз и пектинлиазы, получены и охарактеризованы сухие формы новых ферментных препаратов; определены оптимальные условия ферментативной обработки различного плодового сырья; изготовлен ряд фруктовых и виноградных виноматериалов, описаны их характеристики; получены обогащенные веществами фенольной природы гидролизаты сброженных виноградных выжимок;

установлен уровень вредности и исследованы аллергизирующие свойства наиболее универсального ферментного препарата. Было показано значительное увеличение выхода сока из плодовой мякоти (на 20-50 % в зависимости от типа используемых плодов) и увеличение вклада ценных, самотечных фракций в общий объем сусла в результате обработки измельченного сырья полученными мультиферментными комплексами. Также были выявлены и другие положительные эффекты ферментативной обработки плодов и ягод: увеличение содержания в сусле восстанавливающих сахаров и глюкозы (на 10-20 %), снижение содержания взвесей сусла, снижение его вязкости. Не было выявлено негативного влияния ферментных препаратов на физико-химические и органолептические параметры изготавливаемых вин. Подтверждена высокая мацерирующая способность исследуемых ферментных препаратов, обеспечивающая раскрытие ароматического и вкусового потенциала плодового сырья и винограда и превосходящая мацерирующий эффект используемых в работе коммерческих аналогов. Проводимая оценка токсикологических и аллергизирующих свойств ферментного препарата VI 7.7 не выявила наличия рисков его использования в пищевой промышленности.

Результаты исследований полностью отражены в научных публикациях (9 печатных работ, из которых 5 статей в рецензируемых научных журналах) и апробированы на международных конференциях и конгрессах. С использованием результатов проведенных исследований получен патент «Новый рекомбинантный штамм (варианты) мицелиального гриба *Penicillium verruculosum* и ферментный препарат (варианты), предназначенный для гидролиза плодово-ягодного сырья, и способ его получения» № 2574206 от 10.02.2016. Автореферат полностью соответствует основным результатам исследований, заключениям и выводам, содержащимся в диссертационной работе.

Рекомендации. Представленные результаты экспериментальных исследований указывают на целесообразность рекомендовать разработанные технологии получения фруктовых и виноградных вин к широкому внедрению в будущем на предприятиях винодельческих производств.

Вместе с тем диссертационная работа Волчок А.А. не лишена недостатков:

1. В представленном аналитическом литературном обзоре недостаточно широко раскрыт раздел, посвященный преимуществам и недостаткам методов получения и использования существующих видов мультиферментных комплексов, применяемых в различных областях промышленности.
2. Работа содержит ряд опечаток. Приведение в качестве рисунков хроматограмм разделения фенольных веществ гидролизатов отходов винодельческого производства, возможно, излишне.

Перечисленные недостатки не снижают научной и практической ценности диссертационной работы, достоверность и новизну полученных автором результатов, так как не носят принципиального характера.

Диссертационная работа Волчок А.А. представлена обширным экспериментальным материалом и является завершенным научным исследованием. Исследования выполнены на высоком научно-методическом уровне с использованием современных методов. Сделанные выводы обоснованы и подтверждены экспериментальными данными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа **Волчок Анастасии Александровны** является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны научно обоснованные технические решения по биотехнологии ферментных препаратов и их применения в винодельческом производстве. Полученные результаты являются вкладом в развитие отечественной промышленности и дают существенный экономический эффект.

Работа была заслушана и обсуждена, отзыв на диссертацию также обсужден и одобрен на семинаре лаборатории микробной энзимологии ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН» (протокол № 3/16 от «10» октября 2016 года).

Таким образом, по объему выполненных исследований и значимости решаемых вопросов представленная диссертация является завершенной научной работой, выполненной на современном методическом уровне. Представленная диссертация полностью соответствует требованиям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней (утверждено постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842), а ее автор, **Волчок Анастасия Александровна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Зам. директора ФГБУН «Институт биохимии
и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрыбина РАН»,
д.б.н., с.н.с



А.А. Леонтьевский

142290, Московская обл., г. Пущино, проспект Науки, д. 5
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН)
Тел./факс: +7 (495) 956-33-70; 8 (4967) 73-39-62
Электронная почта: rta@ibpm.pushchino.ru, сайт: www.ibpm.ru

