

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора технических наук Волковой Г.С.
на диссертационную работу Куликова Дениса Сергеевича по теме «**Комплексная биотехнологическая переработка гороховой муки с получением белковых концентратов**», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

Актуальность темы диссертации

В настоящее время задача обеспечения населения полноценными пищевыми веществами сохраняет свою актуальность. Определенный вклад в решение этой задачи вносят научные исследования, направленные на повышение эффективности современных пищевых производств, в основе которых лежит рациональное использование сырья и принципы ресурсосбережения.

Большой интерес для пищевой и кормовой промышленности представляет культура гороха, широко распространенная в нашей стране. Следует отметить, что традиционная технология переработки гороховой муки, включающая получение компонентов белковой природы, имеет ряд недостатков, связанных с использованием высоких температур, органических растворителей и других химических веществ, что негативно отражается на качестве конечных продуктов. Учитывая это, особую актуальность приобретает совершенствование существующих технологий за счет использования в качестве гидролизующих агентов микробных ферментных препаратов, которые, благодаря своей специфичности и эффективности действия позволяют проводить направленную модификацию сырья, повысить выход целевого продукта и улучшить экологическое состояние производства. Также, исследования в области биотехнологической переработки бобовых культур позволяют рекомендовать промышленности наиболее эффективные ферментные препараты и режимы их использования в производствах с высокой рентабельностью при получении ценных компонентов пищи и кормов.

Актуальность диссертационной работы обусловлена растущей необходимостью создания новых производств белковых концентратов для обогащения пищевых продуктов, а также вовлечения вторичных сырьевых ресурсов в технологический процесс с получением кормовых добавок, обогащенных белком.

Научная новизна полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений. Диссертационная работа

Куликова Дениса Сергеевича направлена на решение научной и практической задачи, позволяющей создать новое комплексное биотехнологическое производство биологически полноценных пищевых и кормовых белковых концентратов из гороховой муки на основе разработанного современного высокотехнологичного процесса.

Автором впервые установлены закономерности растворимости белков гороховой муки под влиянием ферментных препаратов различного действия в зависимости от гидромодуля, продолжительности реакции, концентрации; а также разработана математическая модель зависимости растворимости от факторов с выявлением их оптимальных параметров.

Определено большее сродство к гороховым белкам у ферментного препарата Alcalase 2,4, чем Distizym Protacid.

Автором впервые установлено положительное влияние лактата кальция с микробной трансглутаминазой на стадии осаждения белка в изоэлектрической точке на его выход.

Впервые показана корреляционная взаимосвязь между цветом муки и белковых препаратов с количеством фенолокарбоновых кислот и их производных (ФККиП) в сырье, а также между пенообразующей способностью белковых концентратов и количеством ФККиП и элементами вторичной структуры белков.

Впервые разработана математическая модель для регулирования оптимальных параметров биоконверсии сыворотки и целесообразность трансформации вторичных продуктов переработки гороховой муки (сыворотка, нерастворимый остаток) с симбиозом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 121 и микромицета *Geotrichum candidum* 977 в биологически полноценные кормовые дрожжи.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта

Представленные в диссертационной работе результаты исследований имеют значимость для науки и производства, заключающуюся в теоретическом обосновании и разработке биотехнологии пищевых белковых концентратов из гороховой муки с ферментными препаратами без использования щелочи и биоконверсии вторичных продуктов переработки гороховой муки в кормовые дрожжи.

Для технологических процессов определены оптимальные параметры растворимости белков: температура, концентрация ферментных препаратов, гидромодуль, мощность ультразвукового воздействия, амплитуда волны, продолжительность; дозировка лактата кальция и микробной трансглутаминазы с выходом до 74,79 % от содержания в сырье и массовой доли белка в препарате – 74,40–83,22 %.

Определены параметры выхода дрожжей *S. cerevisiae* 121 и гриба *G. candidum* 977: температура, рН, количество посевного материала с массовой долей белка в биомассе из сыворотки $61,68 \pm 0,47$ %, из сыворотки с нерастворимым остатком – $51,43 \pm 3,76$ %.

Использование кормовых дрожжей в новой рецептуре для кормления цыплят-бройлеров кросса «Росс 308» апробировано в НВЦ «Новые биотехнологии», г. Волгоград; осуществлена проверка их безопасности на крысах линии «Wistar» – в виварии «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН. Технологические процессы получения белкового концентрата апробированы в ООО «Биопрогресс» – ВНИТИ биологической промышленности», пос. Биокомбината, Московская обл., а культивирование штаммов дрожжей родов *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977 на ВПП – в ЦКП «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН.

Разработана нормативная документация (ТИ и ТУ на пищевой белковый концентрат, ТУ на кормовые дрожжи), рецептура нового кисломолочного продукта с гороховым белковым концентратом и рецепт комбикорма для кур-бройлеров с кормовыми дрожжами.

Получен патент «Способ получения кормового концентрата» RU № 2791226 от 06.03.2023 г. Проведены совместные испытания с ООО «Уралхим Инновация» для отработки технологии получения белкового концентрата.

Степень обоснованности и достоверности результатов исследований

Достоверность полученных в диссертации результатов подтверждается использованием современных инструментальных методов изучения объектов исследования, воспроизводимостью результатов экспериментальных работ. Экспериментальные данные, полученные автором, подтверждены теоретическими положениями и с достаточной степенью точности согласуются с известными концепциями, апробированы и частично внедрены в промышленных условиях.

Внедрение технологии подтверждается актом получения горохового белка в ООО «Биопрогресс» – ФГБНУ «ВНИТИ биологической промышленности», актом по совместному культивированию *S. cerevisiae* 121 и *G. candidum* 977 ВПП гороховой муки в ЦКП «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН и актом кормления цыплят-бройлеров в виварии НВЦ «Новые биотехнологии».

Выводы, сделанные автором, логически следуют из экспериментально полученных данных и отражают основное содержание диссертационной работы.

Исходя из вышесказанного, научные положения, выводы и рекомендации диссертационной работы следует считать обоснованными и достоверными.

Апробация работы

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на многочисленных научных конференциях, в том числе международных.

Соответствие диссертации специальности

Диссертация соответствует пунктам 1, 5, 6, 8, 10, 15, 16, 21, 25, 26, 29, 30 Паспорта специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Публикации результатов исследований

Основные положения диссертационной работы опубликованы в 31 печатной работе, в том числе 9 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки России для размещения материалов диссертаций, 11 – в журналах и сборниках международных баз WoS и Scopus, 11 – в сборниках научных трудов, материалов конференций.

Соответствие автореферата основным положениям

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК при Минобрнауки России и полностью отражает содержание диссертации.

Анализ содержания диссертационной работы

Диссертация изложена на 136 страницах и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания объектов и методов исследования (глава 2), результатов собственных исследований и их обсуждения (глава 3), заключения, списка использованной литературы, 8-ми приложений. Содержит 40 таблиц, 31 рисунок. Список литературы включает 253 источника, из них 147 – иностранных. В приложениях представлена нормативно-производственная документация ТУ на концентрат белковый гороховый пищевой, ТУ на дрожжи кормовые из зернобобового сырья, ТИ по производству концентрата белкового горохового пищевого и дрожжей кормовых, акты производственных испытаний и протоколы исследований, а также расчет экономической эффективности, копии патента, дипломов и сертификатов, подтверждающие практическую значимость работы.

Во введении обоснована актуальность темы и определены основные направления исследования.

В первой главе (обзоре литературы) изложены современные представления о переработке зернобобовых культур с получением различных видов белковых продуктов, приведена пищевая ценность и медико-биологические аспекты использования зернобобовых культур и продуктов их переработки, биотехнологические способы производства, функциональные свойства белковых продуктов, сделан обзор методов

биотрансформации вторичного сырья в белковые препараты, описаны проблемы применения белковых продуктов в продуктах питания и кормах.

В конце главы приводится заключение по обзору литературы.

Вторая глава посвящена описанию объектов и методов исследований. Приводится перечень методов определения необходимых органолептических, физико-химических, микробиологических показателей, есть ссылки на ГОСТы и методические указания. В главе содержатся описания методик определения перевариваемости белков *in vitro*, определения функциональных свойств белковых концентратов, проведения гидролиза белковых концентратов, описан процесс выращивания биомассы на вторичных продуктах переработки гороховой муки. Указаны методы математического планирования и статистической обработки экспериментальных данных.

В третьей главе приведены экспериментальные данные по отдельным этапам работы, а именно: разработка биокаталитического способа получения пищевых белковых концентратов (перевод белков гороховой муки в экстракт, выбор протеазы, разработка способа осаждения гороховых белков, химический состав белкового концентрата), перевариваемость белковых концентратов *in vitro*, биоконверсия вторичных продуктов переработки гороховой муки консорциумом микроорганизмов. В разделе 3.4 дается схема комплексной переработки гороховой муки и материальный баланс процесса биотехнологической переработки гороховой муки на белковые концентраты. Изложен способ получения и рецептура кисломолочного продукта с гороховым концентратом. Приведены результаты оценки безопасности кормовых дрожжей в составе комбикорма для крыс линии «Wistar» и в составе комбикормов для цыплят-бройлеров кросса «Росс 308».

В заключении по результатам работы автор обобщает полученные результаты.

В приложениях №1 и 2 автор приводит акты испытаний по кормлению цыплят-бройлеров и акт проведения технологического процесса получения концентрата белкового из гороховой муки. В приложениях №3 приведен протокол исследований по совместному культивированию штаммов дрожжей. В Приложениях 4-6 приводится нормативно-техническая документация на пищевые и кормовые белковые концентраты. В Приложении 7 содержатся расчеты экономической эффективности комплексной переработки гороховой муки на белковый концентрат и кормовые дрожжи. В Приложении 8 автор приводит копии патента, дипломов автора и сертификатов.

Вопросы и замечания при анализе диссертации:

1. Чем обоснован выбор штамма дрожжей *S. cerevisiae* 121 и штамма микромицета *G. candidum* 977 из широкого перечня рассматриваемых автором штаммов для

биоконверсии вторичных продуктов переработки гороховой муки? Как подобрали соотношение штаммов в консорциуме?

2. Какие отечественные ферменты взамен ферментов импортного производства можно использовать в разработанной технологии и как это повлияет на себестоимость пищевого белкового концентрата?

3. При разработке рецептуры кисломолочного продукта с гороховым белковым концентратом автор в качестве контроля сравнивает его с продуктом по ГОСТ 32981 (стр. 97), который не относится к пищевой продукции. Таблицы 35 и 36 по составу разработанного кисломолочного продукта содержат сведения о содержании меди в количестве 42 мг/100 г продукта, что в значительно превышает норму физиологической потребности в меди по МР 2.3.1.0253-21 (1 мг/сутки). Также при анализе состава горохового белкового пищевого концентрата (таблица 13, стр.77) автор указывает на снижение содержания меди в белковом концентрате по отношению к гороховой муке, в то же время в кисломолочном продукте содержание меди увеличилось в 4 раза (стр. 97). Прошу автора пояснить данные расхождения и устранить ошибку в расчетах.

4. Требуется серьезного обоснования выбора автором фермента трансглутаминазы в качестве технологического вспомогательного средства для использования при производстве пищевого белкового концентрата из гороховой муки. Считаю необходимым проведение дополнительной процедуры оценки безопасности данной пищевой продукции.

5. К сожалению, в диссертационной работе не приведена аппаратурно-технологическая схема производства пищевых и кормовых белковых концентратов.

6. В диссертации желательно указать перспективы использования кормовых дрожжей КД-1, полученных на основе лиофильно высушенной биомассы.

7. Считаю излишним дублирование раздела 3.7 по исследованию кормовых дрожжей в комбикормах для цыплят-бройлеров с приведенным в Приложении 1 актом проведения испытаний в условиях вивария Поволжского НИИ производства и переработки мясомолочной продукции (г. Волгоград).

Приведенные в отзыве замечания не носят принципиального характера, не снижают значение полученных результатов и могут быть учтены автором при дальнейших исследованиях.

Заключение по диссертации

Анализ материалов исследований и выводов по диссертационной работе дает основание полагать, что она является законченным научным исследованием, в котором решены важные технические и технологические задачи, направленные на решение важной

задачи – обеспечение населения качественными продуктами питания и расширения ассортимента кормовых добавок для животноводства и птицеводства.

Материалы выполненных исследований нашли отражение в научных публикациях. Диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом и научном уровнях с использованием современных средств и методов измерений, что обеспечивает достоверность и объективность сделанных выводов.

По совокупности сформулированных и научно обоснованных положений, актуальности, новизне и практической значимости диссертация «Комплексная биотехнологическая переработка гороховой муки с получением белковых концентратов» соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.) в действующей редакции, а ее автор – Куликов Денис Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.


3 ноября 2023 года.

Волкова Галина Сергеевна – доктор технических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), заведующая лабораторией биотехнологии органических кислот, пищевых и кормовых добавок.

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

Адрес организации: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д.46

Тел. 8-495-362-44-95, e-mail: 4953624495@mail.ru, <https://www.vniipbt.info>

 Г.С. Волкова

Подпись Волковой Г.С. подтверждает

Начальник отдела кадров ВНИИПБТ



Л.М. Уварова

11.2023