

УТВЕРЖДАЮ:

Директор, ФНУ «Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа»

к.с.-х.н. _____ Белоусов Н.М.

» _____ 2014 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Дедкова Виталия Николаевича по теме: «Разработка биотехнологии кормового белка из растительного сырья», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.01.06 – «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)»

Одной из основных задач отечественного животноводства на современном этапе является ликвидация дефицита кормов с высоким содержанием переваримого протеина. Основным источником протеина в традиционных рецептах комбикормов в РФ являются продукты переработки зерновых культур, доля которых в среднем варьирует от 60 до 80%. При этом мировые запасы зерна сокращаются, а продолжающееся увеличение производства зерновых культур отстает от роста потребления, связанного с интенсивным увеличением спроса. Дополнительной проблемой является несбалансированность белков в кормах растительного происхождения по аминокислотному составу. Увеличение доли растительного белка в рационе животных не способствует повышению усвояемости корма и его питательности, тогда как себестоимость продукции при этом возрастает.

Одним из путей улучшения кормовой базы может стать повышение питательности целлюлозосодержащих отходов сельскохозяйственных производств, исходно обладающих низкой кормовой ценностью, но являющихся источником углеводов. При этом к числу наиболее перспективных продуктов относится солома злаков, ежегодно в значительных объемах образующаяся после уборки урожая. Солома, содержащая большое количество углеводов, представляет собой прекрасный субстрат для культивирования разнообразных целлюлозо- и лигнолитических микроорганизмов, в частности высших и низших грибов – ценных продуцентов белка, способных помимо соломы использовать в качестве субстрата широкий спектр отходов сельского хозяйства, пищевой и

деревообрабатывающей промышленности: мелассу, молочную сыворотку, сок растений, пивную дробину, опилку, лигнин, клетчатку и т.п.

Белки грибного мицелия по содержанию незаменимых аминокислот близки к белкам сои. Они богаты лизином, имеют высокую биологическую ценность и усвояемость. Для целей промышленного культивирования в настоящее время широко используют быстрорастущие штаммы грибов из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* и *Trichoderma*. В биомассе этих грибов синтезируется 20 – 60 % белков от сухой массы.

Учитывая вышеперечисленные аргументы, актуальность проблемы, поставленной в диссертации Виталия Николаевича Дедкова, является несомненной.

Диссертация состоит из введения, обзора научной литературы по рассматриваемой проблеме, описания объектов и методов исследования, главы, посвященной результатам экспериментов и их обсуждению, выводов и библиографического списка, содержащего 187 источников.

Во введении диссертантом дана общая характеристика работы, обоснована актуальность выбранного научного направления, отмечены практическая значимость и новизна исследований, представлены цель и задачи исследований, а также основные положения, выносимые на защиту. В обзоре литературы обобщены литературные данные о способах переработки и утилизации малоценных растительных отходов сельскохозяйственного производства, в частности, соломы зерновых культур. Рассмотрена проблема кормового белка в мире и России, приведена характеристика химического состава соломы злаков и обоснована перспективность ее использования в качестве сырья для биотехнологической переработки.

Во второй главе «Материал и методы исследования» приводятся основные объекты исследования и описание использованных методик биохимического анализа используемого сырья, условия выращивания посевного материала для последующей биоконверсии соломы. Описаны условия ферментативного гидролиза соломы зерновых глубинным и твердофазным способами.

Результаты экспериментальных исследований Дедкова В.Н. в целом отвечают критериям научной новизны, имеют теоретическое и практическое значение.

К основным результатам диссертационного исследования относятся:

- разработанные автором режимы поэтапной предобработки соломы яровой пшеницы и гречихи для биоконверсии;
- технологические схемы комплексной переработки соломы зерновых в кормовой белок;
- установленные оптимальные режимы ферментации соломы яровой пшеницы и гречихи посевной;

- обоснование биологической безопасности полученных кормовых продуктов на основе серии биотестов с *Tetrahymena pyriformis* и лабораторных испытаний с белыми мышами;
- предварительная экономическая эффективность предложенной технологии переработки соломы в полезные кормовые продукты.

В диссертации В.Н. Дедкова научно обоснованы и экспериментально подтверждены параметры предобработки измельченной соломы яровой пшеницы и гречихи, обеспечивающие частичное разрушение лигноцеллюлозного комплекса, что создает более благоприятные условия для последующей биоконверсии исследуемого сырья с использованием микроорганизмов. Подобраны оптимальные режимы глубинной гетерофазной и твердофазной биоферментации исследуемого целлюлозосодержащего сырья. Выявлена возможность применения грибов *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma harzianum* и микробиологического препарата Байкал ЭМ-1 в биоконверсии соломы зерновых с целью получения белкового кормового продукта и установлена эффективность его использования для животноводства и птицеводства.

Теоретической основой исследования послужили труды отечественных и зарубежных ученых в области биотехнологии, фундаментальные и прикладные научные достижения, сопряженные с предметом исследования. Решение поставленных задач осуществлялось с применением сравнительного, системного и статистического анализов.

Диссертационная работа В.Н. Дедкова характеризуется высокой практической значимостью, которая подтверждается приводимым в приложении «Актом о внедрении завершенной научной разработки в производство», составленным ЗАО «Березки» Орловской области. Кроме того приводимые в приложениях документы свидетельствуют об использовании материалов диссертации в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных занятий для бакалавров направления подготовки 240700 «Биотехнология» в ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет».

В целом диссертация заслуживает высокой степени оценки. Вместе с тем, имеются следующие **замечания**:

1. По формулировкам:

- Формулировка первого защищаемого положения представляется неудачной, так как не раскрывает, какие именно «результаты исследований автора по переработке сырья в кормовые продукты ...» выносятся им на защиту. Защищаемые положения – это изложение в максимально лаконичной форме установленных автором **конкретных** закономерностей, взаимосвязей,

параметров процессов и т.д., а не обтекаемое упоминание о том, что и для чего автор исследовал.

– Совершенно невнятна формулировка относительно критериев достоверности полученных результатов исследований: *«Достоверность результатов работы подтверждается корректным использованием теоретических и экспериментальных методов обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций»*. Для обоснования достоверности результатов, как правило, демонстрируют репрезентативность отобранного для исследований материала и достаточный объем выборок, указывают использованные статистические методы с обоснованием применения параметрических или непараметрических критериев и выбранного уровня достоверности, приводится степень воспроизводимости установленных закономерностей и/или технологических параметров и т.п.

Из формулировки, приведенной в диссертации, совершенно непонятно, какие именно *«теоретические методы обоснования полученных результатов»* автор использовал в работе.

2. По методикам:

– В разделе «Материал и методы исследований» автор на 36-ти страницах текста приводит подробное описание стандартных методик определения азота по Кьельдалю, белка по Лоури, содержания сырой клетчатки, чашечный метод Коха и т.п., что совершенно неуместно в работах, соответствующих уровню кандидатских диссертаций. Нет нужды в простом переписывании стандартных методик из литературного источника или ГОСТа, достаточно сослаться на нее с указанием самого источника. Подробно описываются только модификации стандартных методик с обоснованием их использования вместо общепринятых. В рассматриваемой работе модификации явно не просматриваются. И уж тем более нет необходимости описывать алгоритм приготовления стандартного раствора глюкозы и серии разведений.

– Из текста диссертации создается впечатление, что автор сам не проводил микробиологические анализы, поскольку он плохо ориентируется в методических тонкостях. Так, например, со слов автора *«накопление микробной биомассы в культуральной жидкости»* определяли методом посева на плотные питательные среды при помощи чашечного метода Коха. Однако этот метод абсолютно не пригоден для определения биомассы гриба в реакторе. Далее он указывает, что *«анализ микробиологической чистоты культур определяли с помощью светового микроскопа»*. Путем микроскопирования весьма сложно определить загрязнение накопительной культуры гриба ни бактериальными, ни тем более грибными контаминантами. А вот метод Коха для данной цели как раз более пригоден.

– Далее рисунки 9 и 10 иллюстрируют данные по накоплению биомассы гриба, однако на оси «у» указывается «количество клеток». Учитывая мицелиальное строение грибов, о каких клетках идет речь? Как с помощью камеры Горяева или метода прямого посева (т.е. метода Коха) в принципе можно подсчитать «количество клеток гриба»? О чем идет речь – о фрагментах мицелия или о конидиях? И почему в принципе биомасса измеряется в клетках?

– Есть вопросы и к самим методикам. Так, например, для подсушивания поверхности агаризованных сред и удаления конденсата автор рекомендует открыть чашки Петри и поместить их застывшей средой вниз на 20–30 мин в термостат. Даже начинающий микробиолог не позволит себе открыть чашки с разлитой питательной средой во избежание неминуемой контаминации поверхности среды. К сожалению, диссертант не приводит ссылки на источник данной весьма своеобразной модификации стандартной методики.

– Автор использует недопустимый алгоритм расчета некоторых показателей, в частности, когда на основании данных таблицы 8 говорит о более чем 40%-й прибавке в содержании редуцирующих веществ в варианте с внесением 0,5% раствора лактозы по сравнению с вариантом без внесения этого компонента. Диссертант высчитывает процент от показателей, исходно приведенных также в процентах. Корректнее было бы сказать, что содержание РВ увеличилось с 10% до 14%, а не на 40,88%. Тоже касается и других показателей, исследованных в работе.

3. По обоснованию объекта исследования:

В диссертационной работе отсутствует убедительное обоснование выбора в качестве одного из основных объектов исследования штамма фитопатогенного вида *Fusarium oxysporum*. Со слов автора «*выбор продуцента белка Fusarium oxysporum f. sp. pisi для биоконверсии исследуемого целлюлозосодержащего отхода ... обусловлен подбором нового доступного эффективного штамма для получения кормового белка*». Однако помимо *Fusarium oxysporum* существуют масса другие представители целлюлозолитических грибов, при этом не являющихся источниками токсичных метаболитов.

4. По оценке личного участия автора в исследованиях:

В ряде мест работы не вполне ясна роль автора в выполнении тех или иных анализов. Так, например, в таблице 1 в разделе 3.1 диссертант не указывает источник приводимых им данных по химическому составу сырья: это результаты собственных исследований автора или литературные данные. Ссылки на источники, к сожалению, также не приводятся.

5. По терминологии:

В работе имеют место досадные нарушения и ошибки в употреблении и написании латинских названий микроорганизмов и определении их систематической принадлежности. Так, например, на страницах 5 и 27 с ошибками приводится родовое название бактерий «*Corinectериu*» и «*Pseudomonads*» (вероятно речь идет о родах *Corynebacterium* и *Pseudomonas*?). Видовое название *F. Oxysporum* в нескольких местах почему то пишется с большой буквы. Цианобактерии рода *Spirulina* поставлены в один ряд с *Chlorella* и *Scenedesmus* и тем самым причислены к числу одноклеточных водорослей, коими они не являются. *Trichoderma reesei* является не штаммом, а видом. На стр. 34 употребляется странный термин «микрогрибы», а на стр. 45 – словосочетание «микробиологическая чистота культур». Кроме того, следует также заметить, что при упоминании биологических тест-объектов, таких как инфузории *Tetrahymena pyriformis*, корректнее все же использовать латинское название, а не его прямую транслацию на русский язык. Латинские названия видов и родов микроорганизмов следует писать курсивом.

6. По стилистике:

– В работе присутствуют проблемные места, трудные как в смысловом, так и в стилистическом отношении. В разделе 1.4 автор, говоря о многообразии сырья для биотехнологической переработки и перечисляя источники данного сырья, приводит сначала «продукты растительного» и «продукты животного происхождения», а затем, совершенно неожиданно указывает в качестве подобного источника ... «биосферу».

– К сожалению, местами текст диссертации не «вычитан» автором и по этой причине в ней присутствуют бессмысленные фразы, наподобие «... в условиях нашей страны, которая сбалансирована по количеству белка и аминокислот на кормовую единицу»; «анализ микробиологической чистоты культур определяли с помощью светового микроскопа».

7. По оформлению:

В работе используются сразу две системы цитирования, что является нарушением правил оформления диссертационных работ. В основном автор использует сноски внизу страницы, вместо ссылок на источники в квадратных или круглых скобках непосредственно после цитирования источника. Подобная система цитирования, как правило, допускается только в случае оформления диссертации в виде монографии. Помимо подстраничных сносок автор в нескольких случаях прибегает к общепринятой системе ссылок в круглых скобках, как, например, на стр. 15-

16 («В работах В.А. Быкова (1985), М.Н. Манакова и Победимского Д.Г. (1990)).

Однако высказанные замечания не умаляют достоинств рассматриваемой диссертации, являющейся законченным научным трудом, вносящим несомненный вклад в изучение способов биоконверсии малоиспользуемых целлюлозосодержащих отходов сельскохозяйственного производства с целью получения ценных кормовых продуктов.

Результаты научных исследований можно рекомендовать к применению в практике перерабатывающих предприятий региона, а продолжение научных исследований данного направления позволит расширить изучение свойств полученных кормовых продуктов.

Представленная диссертационная работа соответствует требованиям ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации. Автореферат диссертации достаточно полно отражает основное содержание диссертации.

Диссертационная работа Дедкова Виталия Николаевича «Разработка биотехнологии кормового белка из растительного сырья», является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора биологических наук, профессора Павловской Н.Е., содержащей новое решение актуальной научной задачи – разработка биотехнологии переработки соломы зерновых культур с использованием микроорганизмов, имеющей существенное значение для развития технологии переработки малоценных целлюлозосодержащих отходов сельскохозяйственного производства в ценные кормовые продукты, что соответствует специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Диссертация и отзыв рассмотрены, а отзыв утверждён на заседании лаборатории биотехнологии ГНУ «Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа Россельхозакадемии» от 26.09 2014 г. протокол заседания № 4.

Зав. лабораторией биотехнологии
ГНУ СибНИИСХиТ

Россельхозакадемии, д.б.н.
634050, г. Томск, ул. Гагарина, 3
E-mail: sibniit@mail.tomsknet.ru

Терещенко Терещенко Наталья Николаевна



Список подтверждено
О.Ю. Кошкина

01.10.2014