

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

на диссертационную работу Шаламитского Максима Юрьевича «Совершенствование технологии производства виноматериалов из винограда сорта Цитронный Магарача на основе свойств селекционных штаммов дрожжей», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.01 – Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства.

### **Актуальность темы диссертационной работы**

Современные тенденции развития виноделия базируются на обеспечении высокого качества винодельческой продукции, обладающей уникальными характеристиками, прежде всего обусловленными ее сортовыми особенностями и определяющими ее конкурентоспособность на рынке. В последние годы значительно расширились знания о генетическом разнообразии микроорганизмов и их ферментных системах, что открывает новые возможности их использования для управления качеством вин и получения продукции с заданными свойствами за счет внедрения новых биотехнологий.

Сорт винограда Цитронный Магарача относится к группе мускатных сортов винограда, органолептические характеристики которых всегда высоко ценились потребителями. Однако, данный сорт обладает рядом особенностей таких, как высокое накопление пектиновых веществ, окисляемость виноградного сусла с частичной потерей цитронно-медовых оттенков в аромате и вкусе, что требует применения специальных технологических приемов, направленных на сохранение сортовых особенностей.

В связи с этим исследования Шаламитского М.Ю., посвященные разработке элементов технологии производства виноматериалов из винограда сорта Цитронный Магарача на основе изученных свойств селекционных штаммов дрожжей, имеют научный интерес и являются актуальными.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» по теме «Исследование, научное формирование и поддержание генофонда штаммов микроорганизмов виноделия» (ГЗ №№ 0833-2019-0008, 0833-2015-0005).

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе**

Автором проведен большой по объему, грамотно, логично спланированный и тщательно выполненный эксперимент. При выполнении эксперимента использовался комплексный подход к изучению генетических характеристик штаммов дрожжей, включающий пульс-электрофорез, Саузерн-гибридизацию, мультиплексную ПЦР-детекцию, применялись

методы математический обработки экспериментальных данных. Объем проведенных теоретических и экспериментальных исследований в полной мере позволил соискателю обосновать выносимые на защиту положения. Использованное научное оборудование, реактивы и методы исследований, в целом, адекватны намеченной цели и задачам.

Положения, выносимые на защиту, отвечают цели и задачам работы, имеют научную новизну, теоретически обоснованы и экспериментально доказаны. Выводы по работе следуют из представленных экспериментальных результатов, обоснованы, логичны и представляются достоверными. Показатели качества объектов исследований подтверждены апробацией технологии в опытно-промышленных условиях. Работа Шаламитского М.Ю. имеет завершенный характер.

### **Объем и структура диссертационной работы**

Диссертационная работа состоит из введения, трех разделов, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка использованных источников и 17 приложений. Основной текст диссертации изложен на 178 страницах компьютерного текста, содержит 13 таблиц, 23 рисунка. Список использованных источников включает 277 источников, в т.ч. 167 иностранных авторов.

Во *введении* приведены обоснование актуальности выбранной тематики исследования, изложены положения, выносимые на защиту и составляющие научную новизну, теоретическую и практическую значимость. Кратко охарактеризована методология проведенного исследования, структура диссертации, апробация полученных результатов.

*Первый раздел* содержит аналитический обзор отечественной и зарубежной научно-технической литературы по исследуемой тематике. Представленный в диссертационной работе литературный обзор позволил соискателю обосновать актуальность, определить цель и задачи исследования, выделить новизну полученных результатов в разрабатываемом им направлении по созданию новых элементов технологии сортового виноматериала.

Во *втором разделе* представлены данные об объектах исследования, использованных методах, описаны условия проведения эксперимента. Совокупность использованных методов адекватна задачам исследования. Достоверность результатов исследования подтверждается комплексом стандартных и современных методов, в том числе методов математический обработки экспериментальных данных. Последовательное проведение всех этапов исследования приведено на структурной схеме рисунка 1 в автореферате. В диссертации приведена подробная схема скрининга штамма по способности синтезировать внеклеточную эндополигалактуроназу (рис. 4).

*Третий раздел* посвящен собственным исследованиям соискателя и их обсуждению.

*Раздел 3, подраздел 1* посвящен теоретическому обоснованию и экспериментальному подтверждению целесообразности использования исследованных штаммов дрожжей рода *Kluveromyces* в качестве продуцентов эндополигалактуроназы и перспективности использования определенных штаммов дрожжей рода *Saccharomyces* в качестве стартовых культур, способствующих снижению содержания пектиновых веществ виноградного сусла на стадии брожения.

Результаты проведенного соискателем скрининга штаммов дрожжей родов *Kluveromyces* и *Saccharomyces* по способности к синтезу эндополигалактуроназы позволили выбрать штамм дрожжей *Kluveromyces marxianus* № III-358-60, отличающийся высокой активностью фермента, наименее зависящей от снижения величины pH, и депонировать его в коллекцию микроорганизмов виноделия «Магарач» под номером III-407.

*Раздел 3, подраздел 2* посвящен исследованиям, направленным на оптимизацию режимов синтеза внеклеточного фермента эндополигалактуроназы штаммом дрожжей *Kluveromyces marxianus* № III-407. На основе проведенных исследований, направленных на установление влияния массовой концентрации сахаров, pH виноградного сусла и температуры культивирования на количество синтезируемой эндополигалактуроназы, соискателем выведено уравнение регрессии, описывающее зависимость накопления эндополигалактуроназы от условий культивирования, и предложены оптимальные условия.

*Раздел 3, подраздел 3* посвящен изучению влияния ферментного препарата эндополигалактуроназы на осветление свежего виноградного сусла. Показано, что при обработке виноградного сусла в течение двух часов в количестве 4 мл/л и температуре не менее 20 °C достигается достаточное снижение вязкости и взвесей виноградного сусла, полученного из винограда сорта Цитронный Магарача.

*Раздел 3, подраздел 4* посвящен исследованиям молекулярного и фенотипического отбора штаммов продуцентов эпидополигалактуроназы для виноделия, выбору штамма дрожжей рода *Saccharomyces* для сбраживания виноградного сусла, изучению влияния штаммов дрожжей на ароматобразующий комплекс виноматериалов из винограда сорта Цитронный Магарача. Предложен подход к выбору штамма дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* для ферментации виноградного сусла. Установлена перспективность применения селекционного штамма № I-76 для производства виноматериалов с выраженным сортовым ароматом.

В *разделе 3, подразделе 5* с учетом результатов, изложенных в предыдущих разделах, подразделах и анализа литературных данных, приводится обоснование и разработка усовершенствованной технологии производства виноматериалов из винограда сорта Цитронный Магарача.

В результате проведенных исследований соискателем разработан научно обоснованные способ получения ферментного препарата дрожжевой эндополигалактуроназы при культивировании штамма *Kluveromyces marxianus* III 407 и усовершенствована технология по приготовлению

виноматериалов из винограда сорта Цитронный Магарача с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (№ I-76) и *Kluyveromyces marxianus* (№ III-407).

Совокупность экспериментальных данных положена в основу разработанной автором технической документации, внедрение которой в промышленном масштабе обеспечит не только производство сортовых вин высокого качества, но и получение экономического эффекта.

Информация, изложенная в разделе «Заключение», в полном объеме отражает основные результаты представленных исследований.

Приложения содержат информацию о штаммах дрожжей, отобранных для исследования, результаты математической обработки экспериментальных данных, протокол дегустации, техническую документацию и сведения по апробации практических результатов работы.

### **Научная новизна результатов исследований**

Основные результаты, полученные автором и имеющие принципиальную научную новизну, заключаются в том, что теоретически обоснована и экспериментально подтверждена возможность применения на стадии осветления свежего виноградного сусла фермента эндополигалактуроназы, полученного с использованием штамма *Kluyveromyces marxianus* № III-407 и штамма *Saccharomyces cerevisiae* № I-76 на стадии алкогольного брожения для производства виноматериалов высокого качества из винограда сорта Цитронный Магарача.

Представляют несомненный теоретический и практический интерес полученные данные об эпидополигалактуроназной активности штаммов дрожжей родов *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*.

Впервые проведен филогенетический анализ генов PGU, отвечающих за синтез фермента эндополигалактуроназы, у дрожжей рода *Saccharomyces*. Установлены видовые особенности и подтверждено наличие нескольких генов PGU у дрожжей вида *Saccharomyces bayanus var. uvarum*, что указывает на перспективность применения штаммов данного вида для снижения пектиновых веществ при ферментации виноградного сусла.

Проведен скрининг дрожжей вида *Kluyveromyces marxianus* по способности к гидролизу пектина в виноградном сусле. Селекционирован штамм *Kluyveromyces marxianus* № III-407, обеспечивающий выход фермента эндополигалактуроназы не менее 1500 ед. Обоснованы и установлены закономерности изменения активности фермента эндополигалактуроназы, и его влияния на осветление свежего виноградного сусла в зависимости от технологических режимов. Научно обоснован способ получения ферментного препарата дрожжевой эндополигалактуроназы, и его применение на стадии осветления свежего виноградного сусла.

## **Практическая значимость результатов работы**

Практическая значимость диссертационного исследования не вызывает сомнений. Несомненную ценность представляет предложенная в работе усовершенствованная технология производства виноматериалов из сорта винограда Цитронный Магарача на основе применения селекционных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* № I-76 и *Kluyveromyces marxianus* № III-407. Важным является то, что селекционный штамм *Kluyveromyces marxianus* № III-407 депонирован в коллекцию микроорганизмов виноделия «Магарач».

Соискателем разработан и внедрен в качестве стандарта организации эффективный метод получения ферментного препарата дрожжевой эндополигалактуроназы (СТО 01586301.041-2022 «Метод получения ферментного препарата дрожжевой эндополигалактуроназы (ФПДЭ) при культивировании штамма *Kluyveromyces marxianus* № III-407»); разработана технологическая инструкция по приготовлению виноматериалов из винограда сорта Цитронный Магарача с использованием селекционных штаммов дрожжей (ТИ 9103063859.002:2016).

Разработанная технология прошла производственные испытания на винодельческом предприятии Республики Крым филиал «Ливадия» ФГУП «ПАО Массандра» (2016 г.) и нашла экономическое обоснование. В 2019-2021 гг. технология внедрена на базе ООО «АПК Мильстрим-Черноморские вина» в объеме 23 820 дал виноматериалов с экономическим эффектом 158,5 тыс. руб.

## **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы и результаты исследований доложены, обсуждены и одобрены на профильных конференциях всероссийского и международного уровня, на заседаниях секций Ученого совета ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» по виноделию (2012-2022 гг.), изложены в 13 публикациях, в том числе в 7 статьях – в рецензируемых журналах из Перечня ВАК Минобрнауки РФ, 3 статьях в журналах базы данных Scopus.

## **Соответствие диссертационной работы заявленной научной специальности**

Диссертационная работа Шаламитского М.Ю. по научной концепции, содержанию и результатам реализованных исследований соответствует паспорту специальности 05.18.01 – Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодовоощной продукции и виноградарства.

## **Значение результатов диссертационной работы для науки и производства**

Полученный в диссертационной работе Шаламитского М.Ю. аналитический и экспериментальный материал представляет значительный интерес для исследователей, выполняющих научные исследования в области виноделия при разработке биотехнологий управления качеством и компонентным составом винодельческой продукции.

Научные и прикладные результаты диссертации могут быть рекомендованы для использования в винодельческих хозяйствах, учебных ВУЗах, занимающихся биохимией, биотехнологией и технологией вина. Результаты исследований представляют несомненный интерес для специалистов научно-исследовательских организаций и высших учебных заведений и найдут отражение в теоретических курсах и лабораторных практикумах при обучении бакалавров и магистрантов, а также специалистов, повышающих квалификацию в области виноделия.

## **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертационной работы**

Содержание автореферата в полной мере отражает основные разделы и выводы диссертационной работы.

## **Замечания по диссертационной работе**

Характеризуя диссертацию Шаламитского М. Ю. необходимо отметить, что она представляет собой законченную квалификационную научную работу. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Вместе с тем, к работе имеются замечания, требующие пояснений, но принципиально не влияющие на общую положительную оценку.

1) По тексту диссертации встречается термин ранее применявшейся в РФ классификации винодельческой продукции «столовые виноматериалы». Автору следовало бы привести терминологию в соответствии с действующей в РФ классификацией винодельческой продукции и внести соответствующее изменение в разработанную Технологическую инструкцию ТИ 9103063859.002:2016.

2) В диссертации (стр. 8) приведена неудачная трудночитаемая формулировка: «объекты исследования – оптимизация приемов и режимов осветления и ферментации виноградного сусла, усовершенствование технологии производства виноматериалов с использованием селекционных штаммов дрожжей».

3) В диссертации (стр. 46) затруднено понимание процесса определения ароматобразующих компонентов методом газожидкостной хроматографии, кроме того, в данном тексте содержатся некорректные выражения (формулировки): «качественный анализ терпеновых и высших

спиртов осуществляли методом прямого укола», «создавали концентрацию внутреннего стандарта», «шар хлороформа».

4) В диссертации приведены неудачные формулировки:

– стр. 58. «виноградное сусло является высококислотной средой, значения pH которой, как правило, находятся в диапазоне 3,0-3,5». Правильнее писать, что среда средне(высоко)кислая;

– стр. 75. «В результате анализа базы данных КМВ "Магарач"». Правильнее писать: ... коллекции КМВ "Магарач", т.к. база данных – это документ, а не микроорганизмы.

5) В диссертации, пункты 3.4.2 и 3.4.3 встречается разнотечение «ароматический профиль», «ароматический комплекс», «ароматобразующий комплекс». Правильнее было бы унифицировать и писать одно выражение «ароматобразующий комплекс» или «ароматобразующий профиль».

6) В диссертации (стр. 21) для расчета скорости процесса осаждения частиц мути приведена формула:  $v = D^2 d\rho / 18\eta$ , (1). Это формула Стокса для скорости седиментации, в которой пропущено ускорение свободного падения,

где  $v$  – скорость седиментации частицы, м/с;

$D$  – диаметр частицы, принимая ее за сферическую, м;

$d\rho$  – разность плотности массы частицы и жидкости, кг/м<sup>3</sup>;

$\eta$  – коэффициент динамической вязкости, кг/(с·м<sup>2</sup>).

$m^2 \cdot kg \cdot s \cdot m^2 / (kg \cdot m^3) = s \cdot m \neq v$ , м/с;

правильно  $\eta$  – коэффициент динамической вязкости, кг/(с·м), тогда

$m^2 \cdot kg \cdot s \cdot m / (kg \cdot m^3) = s \neq v$ , м/с;

правильное написание формулы Стокса для скорости седиментации:

$v = D^2 d\rho g / 18\eta$ ,

где  $g$  – ускорение свободного падения 9,81 м/с<sup>2</sup>;

$m^2 \cdot kg \cdot s \cdot m / (s^2 \cdot kg \cdot m^3) = m/s = v$ .

7) На рисунке 19 (в подписи к рисунку) указано «ПЦР-продукты, полученные в результате использования 4 видоспецифичных праймеров».

Может быть правильнее было бы указать «двух видоспецифичных праймерных пар»?

## Заключение

Анализ диссертации и автореферата показал, что соискатель имеет достаточно высокую квалификацию, научно информирован, способен самостоятельно ставить и решать задачи в области технологии винодельческой продукции. Сделанные замечания носят частный характер и не отражаются на общей положительной оценке исследования. Диссертационная работа Шаламитского Максима Юрьевича на тему «Совершенствование технологии производства виноматериалов из винограда сорта Цитронный Магарача на основе свойств селекционных штаммов дрожжей» выполнена на высоком профессиональном уровне, является завершенным научным исследованием, в котором содержится решение актуальной научной задачи – разработки технологии производства сортовых

виноматериалов на основе свойств селекционных штаммов дрожжей, соответствует требованиям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки, утвержденного постановлением Правительства РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Автор диссертационной работы **Шаламитский Максим Юрьевич** достоин присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.01 – Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодовоовощной продукции и виноградарства.

Официальный оппонент:

Заведующая Научным центром «Виноделие», ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»,  
доктор технических наук по специальности  
05.18.01 – Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодовоовощной продукции и виноградарства, доцент

*Шелудько*

Шелудько Ольга Николаевна

« 1 » августа 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»,  
Почтовый адрес: 350901, Россия, Краснодарский край, г. Краснодар,  
ул. им. 40-летия Победы, 39,  
тел.: (861)25252877 E-mail: [kubansad@kubannet.ru](mailto:kubansad@kubannet.ru)

Личную подпись Шелудько О.Н. заверяю:  
Ученый секретарь, к.с.-х.н.

*Н.М. Запорожец* Н.М. Запорожец

