

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора технічних наук, професора

**Зав'ялова Володимира Леонідовича**

на дисертаційну роботу Крвавич Анни Сергіївни на тему: «Екстрагування біологічно активних речовин з біомаси *Gladiolus imbricatus*, культивованої в умовах *in vitro*», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.17.08 - процеси та обладнання хімічної технології

### 1. Актуальність теми дисертації

Однією з головних задач економічного розвитку України в сучасних умовах є подальше зростання промислового виробництва з покращеними якість продукції. Розв'язання цієї задачі можливо як за рахунок удосконалення та оптимізації існуючих технологічних процесів, так і за допомогою розробок нових високопродуктивних способів вилучення цільових компонентів із рослинної сировини з різною морфологічною структурою в тому числі з рідкісних і зникаючих видів рослин, таких як косарика черепитчасті (*Gladiolus imbricatus*).

Сучасний промисловий спектр матеріалу рослинного походження, що підлягає екстрагуванню, має широкі межі. Так, на сьогодні використовується близько 100 видів рослинної сировини різної анатомічної структури, геометрії, зі своїми фізичними та фізико-хімічними властивостями, що вміщують ефірну олію, барвники, гіркі, дубильні та інші речовини. Це призводить до певних труднощів під час їх цільової технологічної реалізації та індивідуального апаратурного оформлення процесу. Тобто, розрахунки та проектування екстракційної апаратури напряму пов'язані з видом сировини, з її екстрактивними характеристиками, що визначають кінетику процесу на всіх можливих його стадіях та під час варіювання основних конструктивних і технологічних параметрів. На сьогодні теорія процесу екстрагування із рослинної сировини трав'яного, кореневого, листового та плодово-ягідного походження не забезпечує розв'язання багатьох важливих практичних задач. Крім того, використання клітинних технологій є альтернативним способом отримання сировини для медицини, фітохімії, косметичної та інших галузей. Однак цей процес стримується складністю та недостатньою вивченістю біотехнологічних методів розмноження та одержання БАР *G.imbricatus*.

Тому необхідність проведення теоретичних та експериментальних досліджень процесів екстрагування БАР з калусної біомаси *G.imbricatus* з метою визначення фізико-хімічних та кінетичних констант та підвищення ступеня вилучення БАР, оптимізації та апаратурного оформлення процесу, комплексної переробки сировини, та ін. є актуальною задачею сьогодення.

**Актуальність роботи підтверджується також** тим, що вона виконувалась в рамках плану науково-дослідних робіт кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська

політехніка», а також державної науково-технічної програми 03.06. «Нові екологічно безпечні лікувальні засоби».

## **2. Мета і завдання дослідження**

В дисертаційній роботі автором сформульована мета та завдання досліджень, які спрямовані на дослідження процесу екстрагування БАР з калусної біомаси *G.imbricatus*, розробку технології культивування біомаси в умовах *in vitro* рідкісної лікарської рослини *G. imbricatus*.

Разом з тим, у самому формулюванні мети слід було б вказати, що робота має за мету і наукове обґрунтування кінетики та механізму процесу, як це зроблено в дисертації.

## **3. Методи дослідження**

Дисертантом використані аналітичні та математико-статистичні методи досліджень. Наукові положення дисертації ґрунтуються на класичній теорії масопередачі при твердофазовому екстрагуванні. В експериментальних дослідженнях використовувалась сучасна контрольна-вимірювальна апаратура, прилади, а також методи аналізу гравіметрії, спектроскопії, рідинної хроматографії, хромато-мас-спектроскопії. Для обробки експериментальних даних та розрахунків застосовували прикладні математико-статистичні методи оброблення експериментальних даних та пакети інтегрованих систем автоматизації інженерних розрахунків MathCAD, Excel.

## **4. Наукове значення роботи**

В роботі науково обґрунтовано процес культивування *Gladiolus imbricatus* в умовах *in vitro*, а також механізм та кінетику процесу екстрагування БАР з дикорослої сировини та з культивованої калусної біомаси.

Встановлено залежність процесу екстрагування цільових компонентів від режимних та технологічних параметрів процесу та оптимальні умови його проведення.

На основі розв'язання математичної моделі та експериментальних даних з дослідження кінетики екстрагування БАР з дикорослого виду та культивованого *Gladiolus imbricatus* в умовах *in vitro* отримано значення коефіцієнту дифузії  $D_m$ .

Результати роботи можуть бути використані для оцінювання масообмінних характеристик екстракторів та оптимізації їх роботи. Зазначене є певним доповненням теорії процесу екстрагування БАР з калусної біомаси.

## **5. Наукова новизна отриманих результатів**

На основі обґрунтування та вибору умов стерилізації культивування та оптимізації складу ЖСМС автором введено в культуру *in vitro* рослинну субстанцію *G. imbricatus*.

Важливим з наукової точки зору слід вважати визначення модифікованого агаризованого живильного середовища Мурасиге-Скуга з фітогормонами та встановлення залежності індукції калусогенезу від кількості фітогормонів та типу

експланту, а також компонентного складу дикоростучого виду *G. imbricatus* та його культивованої калусної біомаси. В одержаних екстрактах ідентифіковані БАР: жирні кислоти, вуглеводні, спирти, терпени, флаваноїди, полісахариди, дубильні речовини, вітамін С та фенольні сполуки.

Автором обґрунтовано оптимальні умови проведення процесу екстрагування біологічно активних речовин. Визначено залежність процесу екстрагування цільових компонентів від режимних та технологічних параметрів процесу.

Отримані наукові результати є новими і можуть мати певне наукове та практичне значення при проектуванні і оптимізації роботи екстракційної апаратури в умовах вилучення біологічно активних речовин з біомаси *Gladiolus imbricatus*, культивованої в *in vitro*.

## **6. Обґрунтованість і достовірність отриманих наукових положень, висновків і рекомендацій**

Наукові положення, теоретичні висновки та практичні рекомендації в дисертаційній роботі є достатніми і належним чином обґрунтованими. Для їх отримання автором проведено необхідні теоретичні та експериментальні дослідження процесу екстрагування біологічно активних речовин з біомаси *Gladiolus imbricatus*, культивованої в умовах *in vitro*. Достовірність результатів досліджень та адекватність підібраних математичних моделей підтверджена результатами лабораторних випробувань.

Для аналітичної роботи дисертантом використовувались сучасні інтегровані системи автоматизації інженерних розрахунків, MathCAD, Excel, Visio з використанням сучасної контрольовано-вимірювальної апаратури, приладів, а також методів аналізу гравіметрії, спектроскопії, рідинної хроматографії, хромато-мас-спектроскопії.

Робота базується на аналізі сучасного стану методів інтенсифікації процесу екстрагування, а також розвитку його теорії. Методи досліджень достовірні і ретельно описані в роботі.

Наведені в роботі наукові результати, висновки та рекомендації обґрунтовані результатами розрахунків та експериментів, отриманих з використанням стандартного комп'ютерного програмного забезпечення та сучасної контрольовано-вимірювальної апаратури.

## **7. Практичне значення отриманих результатів роботи**

Дисертантом запропоновано важливі з точки зору практичного використання клітинної біомаси *G. imbricatus* в якості джерела БАР, а також умови її одержання. Також запропоновано методики та лабораторні стенди для вивчення кінетики процесу, екстрагування біологічно активних речовин з біомаси *Gladiolus imbricatus*, культивованої в умовах *in vitro*, визначення коефіцієнта дифузії, встановлення його залежності від температури, ступеня подрібнення сировини, гідромодуля, а також типу розчинника.

Важливим доробком дисертаційної роботи слід вважати також розроблену

для практичного використання технологію одержання БАР з біомаси *G.imbricatus*.

З одержаної запропонованої автором таким способом калусної маси *G.imbricatus*, яка містить ряд цінних БАР, можна виробляти продукти для харчової, фармацевтичної, косметичної, хімічної та інших галузей промисловості.

Результати роботи впроваджено у навчальний процес Національного університету «Львівська політехніка», Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького, Інституту органічної хімії НАН України, Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України та ТЗОВ «Технолаб». Результати впровадження підтверджено відповідними актами.

## **8. Особистий внесок здобувача**

Вивчення дисертаційної роботи та автореферату показало, що аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, оброблення та аналіз отриманих результатів, формування висновків та пропозицій, підготовка матеріалів досліджень до опублікування та виступи з доповідями на конференціях виконано автором самостійно. У співавторстві здобувачем опубліковано статті за темою дисертації, розроблено технологію одержання БАР з біомаси *G.imbricatus*, з відповідними нормативними документаціями. Отже, особистий внесок здобувача, що заявлений у вступі дисертації не викликає сумніву.

## **9. Апробація результатів роботи**

Основні положення і результати дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на 7 вітчизняних та міжнародних науково-технічних конференціях а також під час проведення навчального процесу у Національному університеті «Львівська політехніка», Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького,

## **10. Мова і стиль роботи**

Дисертаційна робота написана сучасною науково-технічною мовою, послідовно та логічно. В основному, оформлення дисертації відповідає вимогам, що ставляться до робіт такого рівня. Автореферат достатньо повно та ідентично розкриває зміст дисертації, адекватно висвітлює зміст роботи.

Тематика дисертації та представлені в ній дослідження відповідають спеціальності 05.17.08 - процеси та обладнання хімічної технології.

## **11. Публікації та автореферат**

Ознайомлення з публікаціями показує, що вони містять основні положення дисертації, мають цінну наукову інформацію. Наукові положення дисертації викладено у 17 друкованих працях, серед них: 7 статей, 5 з них – у фахових виданнях, 2 статті у виданнях іноземних держав, 10 публікацій – у матеріалах і тезах українських та міжнародних конференцій.

Наведений у публікаціях матеріал повністю відображає результати дисертаційної роботи. Зміст автореферату стисло відображає зміст і основні положення дисертаційної роботи.

## 12. Структура дисертації

Структура дисертаційної роботи відповідає загальноприйнятій: вступ, аналіз літературних джерел, опис експериментального оснащення, методів досліджень та оброблення експериментальних даних, експериментальні дослідження, список використаної літератури, який включає 137 джерел та додатків. Загальний обсяг роботи становить 120 сторінок. Робота ілюстрована 27 таблицями і 30 рисунками.

## 13. Аналіз змісту дисертаційної роботи

У першому розділі "Огляд літератури" проаналізовано сучасний стан, основні проблеми одержання БАР з природної сировини, зменшення сировинної бази лікарських рослин та перспективні методи одержання вторинних метаболітів в культурі *in vitro*. Описано специфіку одержання біомаси з рослин в біореакторах з подальшою перспективою промислового використання її екстракту. На основі аналізу літературних джерел, що відповідають тематиці дисертації, наведені та проаналізовані основні технологічні аспекти, що пов'язані з процесом екстрагування біологічно активних речовин з біомаси *Gladiolus imbricatus*, культивованої в умовах *in vitro*. В літературному огляді присутній цікавий авторський аналіз механізму внутрішньої молекулярної дифузії.

Разом з тим вважаю зайвою наведену інформацію про загальновідомі аспекти твердофазового екстрагування, які містяться в навчальній літературі (с. 12), а також ретельне наведення виводу математичних моделей, запропонованих іншими авторами. Достатньо було б представлення їх остаточного вигляду з відповідним аналізом. Також висновок до розділу переобтяжений проблемою з виробництвом фітопрепаратів та інформацією про рослинну базу України, але нічого не сказано про стан математичного моделювання процесу, якому присвячена дисертація.

У другому розділі «Об'єкти та методи досліджень» достатньо повно описано методики експериментального оформлення досліджень: методики культивування, досліджень кінетики екстрагування та визначення основних груп БАР, які присутні в одержаних екстрактах. Чітко і зрозуміло описано автором підготовка об'єктів досліджень, ідентифікація флавоноїдів, визначення суми фенольних сполук та компонентного складу БАР.

Разом з тим є і зайва, на погляд опонента, інформація про те коли цвіте косарик, яка його висота стебла, які краї має листя іт.д. (с.38). Це ж не ботаніка, а процеси і апарати. У підпункті 2.5.2 відсутнє посилання на рисунок.

У третьому розділі «Культивування *Gladiolus imbricatus* в умовах *in vitro*» досліджено та виявлено ефективність проростання насіння за умови його попередньої холодової стратифікації та обробки гібереловою кислотою, підібрано

стерилізуючи агенти для експлантів, а також умови калусогінезу. Частина розділу, що присвячена культивуванню є важливою і виконана на високому науковому рівні.

Разом з тим частина наведеної інформації могла б бути перенесена у літогляд, а частина у методи досліджень(с.49,50). Висновкам до розділу слід було б приділити більше уваги, а не констатувати що зроблено.

**У четвертому розділі** «Теоретичні основи дослідження процесу екстрагування цільових компонентів з рослинної сировини *G. imbricatus*» основним було вивчення факторів, що впливають на інтенсифікацію процесу. Досліджувалась кінетика впливу властивостей екстрагентів, ступеня подрібнення частинок сировини, вплив температур, а також гідромодуля на процес. Автором показано, що процес екстрагування в умовах перемішування протікає інтенсивніше, порівняно з настоюванням, що пов'язано з оновленням поверхні контакту фаз. Представлено цікавий і переконливий аналіз кінетики процесу, а також математичний опис представлений на с.64-67.

Підтверджено, що використана методика щодо встановлення механізму екстрагування задовільно узгоджується з експериментальними даними. Розрахунки та результати дослідів, узагальнені графічними залежностями зрозумілі і не викликають сумніву.

Разом з тим, не зрозуміло чому автор пише, що в табл. 4.6 представлені кінетичні залежності? Доцільно було б в розділі запропонувати щось для масштабування процесу, для цього є достатньо експериментального матеріалу.

**У п'ятому розділі** «Механізм та кінетика вилучення цільових компонентів з калусної біомаси *G. imbricatus*, вирощеної в умовах *in vitro*» наведено процес одержання біомаси для екстрагування та фотохімічного аналізу.

Досліджувався вихід екстрактивних речовин та суми флавоноїдів в залежності від виду екстрагенту. В якості оптимального реагенту, що вилучає максимальну кількість БАР був обрано спирт етиловий.

За результатами дослідів було встановлено, що лімітуючою стадією процесу є внутрішнє масоперенесення. Для опису кінетики та для розрахунку кінетичних констант вибрано теорію Г.А. Аксельруда, що й було перевірено на адекватність.

Встановлено якісний та кількісний склад екстрактів з дикорослої рослини та сної маси *G. Imbricatus*. Результаті проведених досліджень свідчать, що *G. icatus* є перспективною лікарською сировиною.

У розділі також представлено результати хромато-мас-спектрометричного аналізу визначення компонентний складу екстрактів дикорослого виду *G. imbricatus* та екстрактів з культивованого в умовах *in vitro*. Слід зазначити важливу обставину доведену дисертантом, що за компонентним складом біомаса не відрізняється від *G. imbricatus* зібраного з природнього джерела.

Зайвим у розділі є його початок, де йдеться знову про актуальність загальної тематики дисертації. Також у розділі представлена методика проведення дослідів,

яку слід перенести у розділ 2. Не зовсім згоден з твердженням автора про застосування процесу надкритичної флюїдної екстракції (с.95) біомаси *G. imbricatus*. Мабуть це інший процес.

У шостому розділі «Технологія одержання біомаси *G. imbricatus*» розглянуто питання пов'язані з розробкою складного технологічного процесу одержання БАР з культивованої біомаси *G. imbricatus*. Розраховано інтегральне стехіометричне рівняння процесу культивування, проведений розрахунок матеріального балансу, розрахунку критеріїв масштабування процесу вирощування *Gladiolus imbricatus* та потужності виробництва.

Для практичного використання важливим є те, що запропонований автором спосіб аерації шляхом дифузії кисню повітря з газової фази в рідину дозволяє зменшити механічне пошкодження біомаси.

Також важливо, що за результатами розрахунків та базуючись на даних, отриманих в лабораторних умовах розроблено технологію промислового одержання БАР з біомаси *Gladiolus imbricatus*. Така технологічна схема виробництва - контрольована і автоматизована, що забезпечує вихід якісного продукту. Отриманий екстракт може служити цінною сировиною для виготовлення препаратів косметичної та фармацевтичної промисловості. В розділі якісно зроблено розрахунок процесу культивування. Разом з тим слід було б апаратурно-технологічну схему запатентувати і навести її з описом у цьому розділі.

#### 14. Загальні зауваження по дисертації

1. У другому розділі, наведений ботанічний опис об'єкту дослідження слід було б скоротити і детальніше описати фізико-хімічні характеристики цільових компонентів.

2. Схематичне зображення апарата Сокслета доцільно представити в 2 розділі, а не у четвертому.

3. У висновках та розділах дисертації автор констатує про встановлення під час екстрагування саме лімітування процесу внутрішнього молекулярного масоперенесення. Для конкретних даних лабораторних умов екстрагування це дійсно так. Разом з тим лімітуюча стадія залежить від умов процесу в конкретній екстракційній апаратурі, від гідродинамічних та технологічних умов її роботи. І для оцінення процесу слід враховувати (згадувати) всі стадії масоперенесення – молекулярну, турбулентну та конвективну дифузії.

4. На с.68 (останній абзац) не слід робити загальновідоме твердження, що процес перемішування інтенсифікує процес екстрагування.

5. Графіки 4.2, 4.3, 4.4 доречно узагальнювати плавною кривою, а не ламаною, тим більше, що автор називає їх кривими. В іншому випадку слід давати аналіз явища, що відповідає кожній ділянці.

6. У деяких розділах (наприклад 5.2 та ін.) є інформація, що стосується методик проведення досліджень, яка за структурою дисертації повинна бути у другому розділі.

7. Важко погодитись з автором, що при виконанні дисертації використовувався процес надкритичної флюїдної екстракції. Опонент не впевнений, що відповідне обладнання є в установі, де виконувалася дисертація.

8. На с.51 табличні дані слід було б представити у вигляді діаграми.

9. У підрозділі 2.5.2 не вказано посилання на відповідний за текстом рисунок.

10. В тексті роботи наявні деякі граматичні помилки (технічний, більш складні, сировинув, ведення в культуру та ін.)

11. Після багатьох формул не проставлено «;», або після формули перед «де» «,».

12. На с. 49 аптечні препарати мають назву «чужоземні»?

13. Якщо в роботі переважна більшість екстракційних кривих, то для узагальнення експериментальних даних бажано їх будувати і для твердої фази.

14. Також необхідно дотримуватись сталої термінології по всьому тексту дисертаційної роботи.

15. Формулювання загальних висновків потребують деякого узагальнення.

16. У авторефераті не вказано параметри перемішування робочих систем, також багато місця відведено хроматографам та пасалям калусу, які не зовсім відносяться до процесного напрямку досліджень; рис. 17 підписано «рисунок» і на ньому відсутні позиції 27-35.

### **15. Висновок про відповідність вимогам щодо кандидатських дисертацій**

Більшість наведених зауважень у певній мірі є дискусійними і не торкаються принципових положень і висновків, сформульованих у дисертаційній роботі та не знижують її загальної позитивної оцінки.

Дисертація є завершеною науково-дослідною роботою, містить нові науково-обґрунтовані результати щодо теорії і практики екстрагування біологічно активних речовин з біомаси *Gladiolus imbricatus*, культивованої в умовах *in vitro*. Отримані в роботі наукові результати є суттєвими і спрямовані на вирішення конкретної науково-технічної проблеми, пов'язаної з розвитком в Україні клітинних технологій, як в розмноженні цінних генотипів, такі в одержанні БАР. Практична цінність результатів роботи підтверджена позитивними результатами апробації у навчальному та науковому процесах Національного університету «Львівська політехніка», Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького, Інституту органічної хімії НАН України, Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної вуглекімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України та ТзОВ «Технолаб».

Вважаю, що дисертаційна робота Крвавич Анни Сергіївни «Екстрагування біологічно активних речовин з біомаси *Gladiolus imbricatus* культивованої в умовах *in vitro*» є цілісним та завершеним науковим дослідженням і за своєю актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, новизною



69-72-61/1  
21.04.16

одержаних результатів, повнотою викладу в опублікованих працях, теоретичним і практичним значенням повністю відповідає діючим вимогам щодо кандидатських дисертацій, визначених «Порядком присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» (пп. 9, 10, 11 ) затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року, а її автор, Крвавич Анна Сергіївна, заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата наук за спеціальністю 05.17.08 – процеси та обладнання хімічної технології.

**Офіційний опонент**

доктор технічних наук,  
професор, завідувач кафедри процесів  
і апаратів харчових виробництв  
Національного університету харчових  
технологій

В.Л. Зав'ялов

**Підпис В.Л. Зав'ялова засвідчую:**

Учений секретар Національного  
університету харчових технологій



Н. М. Волощенко