

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора технических наук Волковой Г.С.
на диссертационную работу Китаевской Светланы Владимировны по теме
«Биотехнология криорезистентных молочнокислых бактерий и их применение в хлебопекарной промышленности», представленную на соискание ученой степени
доктора технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы диссертации

Существенная роль в обеспечении населения качественными, полноценными и безопасными продуктами питания отводится хлебопекарной продукции, которая является продуктом массового потребления, снабжает организм человека основными пищевыми веществами, а качество хлебобулочных изделий способствуют поддержанию здоровья и напрямую связано с вопросами оптимизации питания.

Важное место в производстве молочнокислых заквасок отводится контролю биологической активности бактерий на различных этапах процесса приготовления пищевого продукта. При этом остаются актуальными вопросы селекции криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий и создания новых заквасок для хлебобулочных изделий, которые могут быть решены биотехнологическими методами. Клетки селекционированных штаммов меньше повреждаются под воздействием замораживания, имеют высокие показатели жизнеспособности, к тому же при замораживании довольно редки генетические изменения. Преимуществами применения криотехнологий при производстве различных видов хлеба являются их простота и удобство, минимум подготовительной работы, быстрое восстановление после замораживания.

Среди перспективных направлений научных исследований в настоящее время находятся вопросы обеспечения отечественной пищевой промышленности отечественными заквасками высокого качества, имеющими конкурентные преимущества – высокое количество жизнеспособных клеток, использование российских стартовых культур и их комбинации, а также ориентирование на особенности отечественного сырья.

Таким образом, дальнейшее совершенствование технологии хлебобулочных изделий с применением криотехнологий является актуальным и имеет важное народнохозяйственное значение.

Научная новизна полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений. Диссертационная работа Китаевской Светланы Владимировны направлена на решение научной и практической задачи разработки научно-практических основ биотехнологии криорезистентных молочнокислых бактерий, разработку на их основе новых технологий и рецептур хлебопекарной продукции с высокими показателями качества и биологической ценности.

Автором сформулирована научная концепция стабилизации биотехнологических свойств тестовых полуфабрикатов после низкотемпературной обработки за счет применения криорезистентных молочнокислых бактерий, пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами, обоснованы принципы разработки новых

технологий и рецептур ржано-пшеничного и зернового хлеба из пшеницы на основе замороженных полуфабрикатов.

Отобраны перспективные для пищевой промышленности штаммы *L. casei* 32 и *L. plantarum* 24 с криорезистентными свойствами в результате оценки комплекса функционально-технологических свойств, геномные последовательности данных штаммов зарегистрированы в базе данных Genbank с присвоением учетных номеров.

Впервые разработан состав питательной среды для молочнокислых бактерий, что позволяет увеличить выживаемость бактерий после низкотемпературной обработки в 2,5 раза, повысить удельную скорость роста клеток на 16,3 %.

Автором получены новые экспериментальные данные о том, что в результате длительной низкотемпературной обработки в ржано-пшеничных полуфабрикатах происходит существенное изменение соотношения клеток дрожжей и молочнокислых бактерий: гибель клеток бактерий *p. Lactobacillus* составляет 53 %, дрожжей *p. Saccharomyces* – 41 %. Выявлено, что из молочнокислых бактерий ржано-пшеничного теста наиболее устойчивыми к низкотемпературному воздействию являются клетки *L. plantarum* и *L. fermentum*.

Впервые показано, что при применении криогенных технологий снижается активность собственных ферментов ржаной и пшеничной муки: активность протеаз в среднем уменьшается на 75 %, амилаз на 41 %.

Установлено, что применение криорезистентных молочнокислых бактерий *L. casei* TMB-D и *L. casei* 32 в криотехнологии ржано-пшеничного хлеба позволяет интенсифицировать процесс брожения полуфабрикатов, а также улучшить органолептические, физико-химические и структурно-механические характеристики хлебопекарной продукции.

Автором установлены корреляционные зависимости выживаемости молочнокислых бактерий и дрожжей, биотехнологических свойств полуфабрикатов и показателей качества хлебобулочных изделий от концентраций ингредиентов и биологически активных добавок в разработанных рецептурах ржано-пшеничного хлеба, расширены представления о технологических функциях рецептурных ингредиентов для производства хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта

Представленные в диссертационной работе результаты исследований имеют значимость для науки и производства, заключающуюся в создании научных основ биотехнологий в производстве новых видов хлебобулочных изделий с применением криотехнологии, а именно, в разработке новых технологий и рецептур хлебобулочных изделий высокого качества и биологической ценности с использованием криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий, пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами.

Селекционированы криорезистентные штаммы молочнокислых бактерий *L. casei* 32 и *L. plantarum* 24, обладающие широким спектром функционально-технологических свойств для пищевой промышленности, в том числе хлебопекарной отрасли. Данные штаммы могут быть использованы при разработке пищевых продуктов с применением

криогенных технологий, а также биологически активных добавок для пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и ветеринарии.

Разработана нормативно-техническая документация на криорезистентную закваску лактобактерий для пищевой промышленности (ТУ 10.89.19.300–007–02069639–2023).

Разработан состав оптимизированной питательной среды для лактобактерий, позволяющий увеличить их выживаемость после низкотемпературной обработки.

Разработаны режимы тестоприготовления, замораживания, хранения и дефростации полуфабрикатов хлебопекарного производства, позволяющие сохранить высокую бродильную активность микроорганизмов и улучшить качественные характеристики хлебобулочных изделий.

Усовершенствована технология ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов за счет использования криорезистентной закваски молочнокислых бактерий и пищевых ингредиентов и добавок с криопротекторным действием, позволяющая интенсифицировать процесс брожения теста, увеличить продолжительность хранения полуфабрикатов в замороженном виде до 5 мес., получить хлебопекарную продукцию с высокими потребительскими характеристиками, а также расширить ассортимент хлебобулочных изделий, увеличить конкурентоспособность продукции.

Разработана технология производства зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов, что позволит улучшить качественные характеристики готовой продукции, увеличить антиоксидантную емкость зернового хлеба на 24,5 %.

Разработаны технологические схемы производства, рецептуры и нормативно-техническая документация на полуфабрикаты и новый ассортимент ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с применением криорезистентных лактобактерий: хлеб «Морозко» с сухими молочными продуктами (ТУ 001–13981212–2004), «Морозко новый» с набухающим кукурузным крахмалом (ТУ 10.72.19–011–2003968806–2022), «Элита» с ферментной композицией (ТУ 10.72.19–016–2003968806–2022), «Злата» с солодовыми препаратами (ТУ 10.72.19–017–2003968806–2022), «Янтарный» с янтарной кислотой или ее солями (ТУ 10.72.19–014–2003968806–2022), а также на новые виды зернового хлеба на основе ферментированной зерновой массы: хлеб «Биозлак» (ТУ 10.71.11–009–2005989134–2021), «Биозлаковый» (ТУ 10.71.11–002–2005989134–2022) и «Янтарь» (ТУ 10.72.19–004–2005989134–2022).

Проведена промышленная апробация разработанных технологий на хлебопекарных предприятиях АО «Татхлеб» (г. Казань) и предприятиях малой мощности (ИП «Саляхетдинова Э.Ф.» (г. Казань), ИП «Рамеев Р.Р.» (г. Набережные Челны), обеспечивающих выпуск готовой продукции с высокими технологическими и потребительскими свойствами.

Установлено, что экономический эффект от реализации разработанных видов замороженных полуфабрикатов ржано-пшеничного и зернового хлеба составит 5,4 тыс. руб./т и 6,06 тыс. руб./т соответственно.

Основные результаты исследований используются в учебном процессе в ФГБОУ ВО «КНИТУ» при реализации основных образовательных программ подготовки бакалавров и магистров по направлениям 19.03.02, 19.04.02 – «Продукты питания из растительного

сырья» и 19.03.04, 19.04.04 – «Технология и организация продукции общественного питания».

Предлагаемые технологии позволят рационально использовать сырьевую базу агропромышленного комплекса, повысить эффективность технологического процесса, увеличить срок хранения полуфабрикатов в замороженном виде и продлить сроки свежести хлебобулочных изделий.

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.

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

Диссертационная работа Китаевской С.В. по содержанию и результатам выполненных исследований соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.6 Биотехнология.

Публикации результатов исследований

Основные положения диссертационной работы опубликованы в 74 научных работах, в том числе 17 в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Министерства образования и науки России для публикации результатов диссертационных исследований, 5 статей в журналах, индексируемых в международных базах цитирования Scopus/WoS; 3 статьи в российских журналах (РИНЦ/RSCI); 48 публикаций по материалам докладов на всероссийских и международных конференциях; монография.

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 419 страницах и состоит из введения, аналитического обзора (глава 1), организации эксперимента, объектов и методов исследований (глава 2), результатов собственных исследований и их обсуждения (главы 3-6), заключения, списка использованных источников, 6-ти приложений. Работа содержит 89 таблиц, 169 рисунков. Список литературы включает 387 источников, в том числе 233 на иностранных языках. В приложениях представлены наиболее крупные таблицы экспериментальных данных, а

также нормативно-техническая документация, акты производственных испытаний, подтверждающие практическую значимость работы.

Во введении обоснована актуальность темы и определены основные направления исследования.

В первой главе (обзоре литературы) изложены современные представления о характеристиках молочнокислых бактерий и особенностях их метаболизма, биологическом потенциале молочнокислых бактерий как биологически активных компонентов пищи. Сделан обзор роли молочнокислых бактерий в формировании качества тестовых полуфабрикатов и хлебобулочных изделий, перспектив развития криотехнологий в хлебопечении. Рассмотрены теоретические и практические основы выживаемости микроорганизмов при реализации криогенных технологий.

В конце главы приводится заключение.

Вторая глава посвящена описанию объектов и методов исследований. Приводятся методы выделения культур молочнокислых бактерий, их идентификации и определения биохимических свойств. Также имеется перечень методов исследования сырья, полуфабрикатов и хлебобулочных изделий на их основе, определения необходимых органолептических, физико-химических, микробиологических показателей, есть ссылки на ГОСТы и методические указания. В главе содержатся описания способов приготовления замороженных полуфабрикатов и хлебобулочных изделий на их основе, а также математические методы планирования эксперимента, обработки результатов исследований и оптимизации.

В третьей главе приведены экспериментальные данные по селекции криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий и оценка их биотехнологического потенциала. Отдельные этапы работы посвящены отбору изолятов молочнокислых бактерий, устойчивых к низкотемпературному воздействию, оценке большого спектра свойств новых штаммов и результатам генотипирования.

В четвертой главе приводятся результаты разработки способов повышения криозащитных свойств молочнокислых бактерий и дрожжей при добавлении янтарной кислоты и сукцинатов. Рассмотрены вопросы оптимизации питательной среды для повышения криорезистентности молочнокислых бактерий. Приводятся экспериментальные данные по разработке криорезистентной закваски лактобактерий для пищевой промышленности.

В пятой главе приведены результаты реализации биотехнологического потенциала криорезистентных лактобактерий в производстве ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. Здесь же описаны исследования влияния низкотемпературной обработки на биотехнологические процессы в тестовых полуфабрикатах. Изложены данные по выживаемости дрожжей и молочнокислых бактерий, по разработке технологических параметров процесса приготовления хлеба на основе замороженных полуфабрикатов, по составлению рецептов и подбору эффективных заквасок. Главу завершает разработка технологии новых видов хлеба с применением криотехнологии и расчет экономического эффекта производства.

Шестая глава содержит структурированное изложение научно-практических основ биотехнологии цельнозернового хлеба по стадиям производства. Представлены результаты изучения роста молочнокислых бактерий на диспергированной зерновой массе, изучения влияния молочнокислых заквасок на качество хлеба, определения качества получаемого зернового хлеба. Подробно изложены технологические решения криотехнологии хлеба на основе ферментированной молочнокислыми бактериями зерновой массы.

В заключении размещены общие выводы по работе и полученные результаты.

В приложении А приводится таблица с данными об устойчивости к низкотемпературной обработке изолятов молочнокислых бактерий, в приложении Б – последовательности 16S рРНК, в приложении В – матрицы планирования эксперимента, в приложении Г – разработанная техническая документация, в приложении Д – акты производственных испытаний, в приложении Е – справка о внедрении результатов диссертационной работы в учебный процесс ФГБОУ ВО «КНИТУ».

Вопросы и замечания по диссертации:

1. Проводилось ли депонирование в какой-либо коллекции микроорганизмов выделенных и охарактеризованных автором культур молочнокислых бактерий *Lactobacillus casei* 32 и *Lactobacillus plantarum* 24, есть ли паспорта на данные штаммы?
2. Считаю целесообразным учесть влияние скорости замораживания и размораживания на выживаемость клеток молочнокислых бактерий изучаемых штаммов при внедрении в производство разработанной технологии замороженных полуфабрикатов.
3. При установлении рекомендуемых сроков хранения сухой и замороженной закваски молочнокислых бактерий (таблицы 4.5 и 4.6) продолжительность хранения в эксперименте ограничивается рекомендуемым сроком (12 и 4 месяца соответственно), что вызывает вопрос об оптимальности данного показателя.
4. Каковы преимущества янтарной кислоты и ее солей (стр. 127) перед другими широко распространенными криопротекторами? Возможно, здесь было бы уместно сравнение с другими веществами, используемыми в качестве защитного компонента.
5. Прошу автора пояснить, почему в результате подбора эффективных заквасок молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами (п. 5.4) лучшие результаты по криорезистентности показала закваска на основе *L. casei* ТМБ-Д (МГУПП), стр.209, а не у штаммов, отобранных и описанных автором (*L. casei* 32 и *L. plantarum* 24)?
6. Как влияет внесение 3 или 6% сухого молока (п. 5.5.1) на вкус ржанопшеничного хлеба? Увеличение пищевой и биологической ценности хлеба за счет сухого молока, которое утверждается на стр. 216, не подтверждено расчетами.
7. Какие отечественные ферментные препараты могут заменить использованные в работе импортные при использовании в качестве стабилизатора характеристик дефростированных полуфабрикатов хлеба, выработанного на основе криотехнологии?
8. Рекомендации по включению разработанных сортов хлеба в рацион питания людей с целью профилактики сахарного диабета (стр.283) может дать только результат оценки эффективности диетического рациона, проводимого в клинических условиях.

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

Заключение по диссертации

Диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом и научном уровне с использованием современных средств и методов измерений, что обеспечивает достоверность и объективность сделанных выводов. Данные, представленные в настоящей диссертации, представляют несомненный интерес для совершенствования промышленных биотехнологических процессов на действующих и проектируемых производствах хлебопекарной отрасли.

Диссертация Китаевской Светланы Владимировны является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований фундаментального и прикладного характера изложены новые научно обоснованные технические и технологические решения в области биотехнологии криорезистентных молочнокислых бактерий, которые имеют важное народнохозяйственное значение для развития новых технологий и рецептур хлебопекарной продукции с высокими показателями качества и биологической ценности, а также для производства пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами.

Таким образом, диссертационная работа, представленная к защите Китаевской Светланой Владимировной, удовлетворяет всем критериям, предъявляемым к докторским диссертациям в соответствии с п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (ред. 26.10.2023 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

28 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>

Подпись Волковой Г.С. удостоверяю
Начальник отдела кадров ВНИИПБТ



Г.С. Волкова

Л.М. Уварова

Вход. № 65-7488
« 04 » 12 2023 г.
подпись [подпись]