

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора технических наук, профессора Панфилова Виктора Ивановича на диссертационную работу Китаевской Светланы Владимировны «Биотехнология криореزистентных молочнокислых бактерий и их применение в хлебопекарной промышленности», представленную на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность диссертационной работы.

Современная биотехнология предлагает новые подходы к переработке различных видов сельскохозяйственного сырья, разработке малоотходных и усовершенствованию классических технологий получения широкого спектра полноценных высококачественных продуктов питания.

В последнее время заметно возросло использование в пищевой, особенно в хлебопекарной промышленности, применение криогенных технологий, обеспечивающих достаточно длинные сроки сохранения качества готовых изделий. В состав большинства заквасок входят молочнокислые бактерии, криореzистентность которых зачастую определяет возможность применения данной технологии при производстве замороженных хлебобулочных изделий и полуфабрикатов, а также их срок годности.

Кроме того, функционально-технологические и пробиотические свойства молочнокислых бактерий, механизмы уникальных биологических эффектов на организм человека и животных, биотехнологии функциональных пищевых продуктов, фармакологических и ветеринарных препаратов на сегодняшний день, являются предметом пристального внимания со стороны научного сообщества.

Поэтому диссертационная работа Китаевской С.В., посвященная решению комплекса научно-практических задач по поиску криореzистентных культур молочнокислых бактерий, повышению их устойчивости к низкотемпературной обработке, а также разработке на их основе новых технологий и рецептур хлебопекарной продукции с высокими показателями качества и биологической ценности при обеспечении длительных сроков хранения, безусловно является своевременной и актуальной.

Свидетельством актуальности и востребованности диссертационной работы также является поддержка исследований грантом РФФИ 20-016-00025 «Новые штаммы *Lactobacillus* с пробиотическим, антиоксидантным и генопротекторным действием для биотехнологических производств, основанных на молочнокислом брожении».

Научная новизна результатов исследований связана с:

- проведением отбора перспективных для пищевой промышленности штаммов молочнокислых бактерий с криореzистентными свойствами и оценки комплекса их функционально-технологических свойств;

- разработкой способов повышения криорезистентных свойств молочнокислых бактерий;
- разработкой способов стабилизации биотехнологических свойств тестовых полуфабрикатов после низкотемпературной обработки;
- поиском эффективных пищевых криопротекторов в отношении молочнокислых бактерий и хлебопекарных дрожжей;
- обоснованием принципов разработки новых технологий и рецептур ржано-пшеничного и зернового хлеба из пшеницы на основе замороженных полуфабрикатов с высокими показателями качества и биологической ценности.

Практическая значимость работы состоит в комплексном подходе к применению биотехнологии для получения востребованных заквасочных культур молочнокислых бактерий для пищевых промышленности и разработки способов повышения качества ржано-пшеничного и зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов за счет применения криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий и пищевых добавок и ингредиентов.

Показано, что непосредственный практический интерес могут представлять результаты, связанные с разработкой с нового бакпрепарата, представляющего собой жизнеспособные клетки *Lactobacillus casei* 32 и *Lactobacillus plantarum* 24, предназначенного для производства пищевых продуктов, вырабатываемых с применением криогенных технологий.

Доказана возможность увеличения сроков хранения замороженных полуфабрикатов с 3 до 5 месяцев.

Автором разработаны и проведены промышленные апробации 5-ти новых рецептур ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с использованием криорезистентных бактерий и 3-х новых видов зернового хлеба на основе замороженной ферментированной зерновой массы.

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.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе, достаточно высокая, что подтверждается глубоким анализом отечественных и зарубежных литературных источников по тематике диссертации, сходимостью результатов теоретических и экспериментальных исследований, а также показателями экономической эффективности разработанных технологий.

Достоверность результатов исследования и выводов диссертационной работы подтверждена корректным использованием методологии научного исследования, выполнением анализов на современной аппаратуре, их математической обработке и многостороннем анализе полученных экспериментальных данных, а также согласованностью теоретических результатов и экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов измерения и сертифицированных приборов, с известными литературными данными.

Общая характеристика диссертации.

Диссертационная работа Китаевской С.В. представляет собой многоплановое исследование, структура которого отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям. Работа изложена на 419 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка использованных источников и приложений. Список литературы включает 387 наименований, из них 233 иностранных.

Сформулированные **во введении** цель и задачи исследования соответствуют содержанию диссертации. Достаточно полно раскрыта актуальность темы исследований, практическая и теоретическая значимость диссертации. В разделе четко сформулированы научная концепция исследования, положения, выносимые на защиту, представлены сведения о публикациях и личном вкладе автора в работу.

Аналитический обзор обосновывает постановку задач исследования, и в целом соответствует теме диссертации, достаточно полно отражает существующие результаты значимых исследований по затрагиваемым в диссертации вопросам. Основное внимание уделено характеристике молочнокислых бактерий, особенностям их метаболизма и способности синтезировать биологически активные вещества, влиянию различных факторов на выживаемость микроорганизмов при реализации криогенных технологий, роли молочнокислых бактерий в формировании качества пищевых продуктов, в том числе хлебобулочных изделий.

Текст главы хорошо структурирован, содержит обзор как отечественных, так и иностранных литературных источников по теме исследования. Таким образом, сформулированное соискателем обоснование выбора направления и методологии исследований диссертационной работы базируется на глубоком анализе мировых достижений с учетом необходимости восполнения имеющихся пробелов в области фундаментальных исследований и достигнутом уровне техники.

Глава 2 содержит сведения об используемых в работе штаммах микроорганизмов, описание питательных сред для их культивирования. Подробно описан широкий спектр применяемых автором общепринятых и специальных современных методов исследования (микробиологических, физических, химических, биохимических, органолептических и математических методов анализа), текст дает исчерпывающее представление о сути проведенных исследований. Применяемые в работе разнообразные методы свидетельствуют о высоком экспериментальном уровне исследований.

В **главах 3-6** приведены результаты экспериментальных исследований и их обсуждение. Результаты представлены в виде наглядных таблиц и графиков с приведением погрешности измерения, которые соответствуют и дополняют изложенный в тексте материал. В конце каждой главы приведено заключение, отражающее основные выводы по результатам проведенных исследований и рекомендации по их практической реализации.

В главе 3 диссертационной работы приведены результаты направленного отбора и оценки биотехнологического потенциала молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами. В ходе масштабных и детальных исследований проанализировано 15 перспективных штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*, обладающих высокой устойчивостью к низкотемпературному воздействию. Скрининг функционально-технологических свойств молочнокислых бактерий включал в себя оценку кислотообразующей способности, антагонистической активности, устойчивости к широкому спектру антибиотиков и неблагоприятных факторов окружающей среды, изучение ферментативной активности, исследование генопротекторных, антимутагенных и антиоксидантных свойств молочнокислых бактерий. Проведены исследования по генотипированию перспективных штаммов лактобактерий.

Результаты имеют потенциальное прикладное значение. Новые штаммы с расширенным спектром функциональных свойств рекомендованы для дальнейшего применения в пищевой промышленности, а также могут быть использованы для разработки биологически активных добавок для пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и ветеринарии.

В главе 4 подробно описаны исследования по разработке состава питательной среды с этапом ее оптимизации для повышения криорезистентности молочнокислых бактерий. Впервые показана возможность применения янтарной кислоты и ее солей (сукцинатов калия и аммония) в качестве криопротекторов в отношении хлебопекарных дрожжей и молочнокислых бактерий. Применение янтарной кислоты в среде культивирования позволяет увеличить количество жизнеспособных клеток лактобактерий и дрожжей после замораживания в среднем на 15-30 %. Включение янтарной кислоты и сукцинатов в питательную среду позволяет повысить активность амилолитических ферментов молочнокислых бактерий на 30-45 % и 15-20 % соответственно, интенсифицировать процесс кислотообразования на 10-20 %.

Разработан состав оптимизированной питательной среды для лактобактерий, позволяющий увеличить их выживаемость после низкотемпературной обработки в 2,5 раза по сравнению с контрольными значениями, повысить удельную скорость роста клеток на 16,3 %.

Китаевской С.В. разработана криорезистентная закваска молочнокислых бактерий, которая предназначена для производства пищевых продуктов, вырабатываемых с применением криогенных технологий.

Приведённый в работе анализ рынка заквасок и бактериальных препаратов молочнокислых бактерий отечественных производителей свидетельствует об экономической эффективности и целесообразности разработанной криорезистентной закваски.

В главе 5 представлены результаты исследований по реализации биотехнологического потенциала криорезистентных лактобактерий в производстве ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов.

Показано, что в результате длительной низкотемпературной обработки в ржано-пшеничных полуфабрикатах происходит существенное изменение соотношения клеток дрожжей и молочнокислых бактерий: гибель клеток молочнокислых бактерий р. *Lactobacillus* составляет 53 %, дрожжей р. *Saccharomyces* – 41 %. 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 %.

Экспериментально обоснована целесообразность и эффективность использования криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий в криотехнологии хлебобулочных изделий в целях интенсификации процессов брожения, улучшения органолептических, физико-химических и структурно-механических характеристик хлебопекарной продукции.

Выявлены корреляционные зависимости выживаемости молочнокислых бактерий и дрожжей, биотехнологических свойств полуфабрикатов и показателей качества хлебобулочных изделий от концентраций ингредиентов и биологически активных добавок: молока сухого обезжиренного, сыворотки молочной сухой, янтарной кислоты, сукцинатов калия и аммония, пшеничного солода, модифицированных кукурузных крахмалов и ферментной композиции (содержащей Пентопан 500 BG, Новамил 1500 MG и Нейтраза 1,5 MG в соотношении 6:2,5:1) Приведены результаты исследований по моделированию и оптимизации рецептур ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с применением криорезистентных заквасок.

Глава 6 посвящена разработке научно-практических основ биотехнологии цельнозернового хлеба. В главе представлены результаты по изучению процесса биомодификации зерновой диспергированной массы путем экзогенной молочнокислой ферментации с точки зрения изменений комплекса свойств полуфабрикатов и качественных характеристик зернового хлеба

Экспериментально обосновано применение янтарной кислоты и ее солей – сукцинатов калия и аммония в качестве добавок, позволяющих интенсифицировать процесс брожения дефростированных полуфабрикатов, увеличить количество жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий и дрожжей, что приводит к стабилизации биотехнологических свойств полуфабрикатов зернового хлеба, подвергающихся низкотемпературной обработке, и обеспечению высоких потребительских характеристик готовой продукции.

Приведены результаты исследований по моделированию и оптимизации рецептур зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с ферментированной зерновой массы. Разработана криотехнология зернового хлеба на основе ферментированной молочнокислыми бактериями зерновой массы, позволяющая увеличить сроки хранения тестовых полуфабрикатов в замороженном виде с 3 до 5 месяцев, улучшить качественные характеристики и антиоксидантную емкость зернового хлеба на 24,5 %.

На основе проведенных исследований разработана нормативно-техническая документация на производство новых видов ржано-пшеничного хлеба и зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов (технические условия, технологические инструкции, рецептуры). Приведены результаты расчётов экономического эффекта и конкурентоспособности нового ассортимента хлебобулочных изделий. Проведена промышленная апробация разработанных рецептур и технологий на хлебопекарных предприятиях Республики Татарстан. Разработанные новые научно обоснованные технологические решения позволяют получить хлебопекарную продукцию с высокими потребительскими характеристиками, увеличить конкурентоспособность продукции.

В **Заключении** отражены итоги проведенной научно-исследовательской работы, обобщены полученные данные, приведены перспективы дальнейшей разработки темы. Выводы, представленные в диссертационной работе, адекватны полученным результатам.

В **приложениях** к диссертации приведены материалы, подтверждающие технологическую новизну и практическую значимость полученных результатов выполненных исследований. Содержание диссертационной работы изложено логично, последовательно и убедительно.

Автореферат диссертации полностью соответствует представленной диссертационной работе, а выводы, сделанные в работе, соответствуют поставленным целям и задачам, и их обоснованность подтверждена совокупностью полученных результатов.

Результаты диссертации представлены в 74 научных работах, в т.ч. 17 статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований; 5 статьях в журналах, индексируемых в международных базах цитирования Scopus/WoS; 3 статьях в российских журналах (РИНЦ/RSCI); монографии и 48 публикациях по материалам докладов на всероссийских и международных конференциях. **Публикации** по теме работы адекватно отражают содержание диссертационной работы.

В качестве **вопросов и замечаний** к содержанию диссертации можно отметить следующее:

1. В диссертации отсутствует обоснование выбора диапазона отрицательных температур при которых замораживались и выдерживались микроорганизмы, тогда как в автореферате указано от -20 до -196⁰C, особенно необходимость использования столь низких температур, которые в дальнейшей работе не использовались. Так, на стр. 161 взят диапазон исследуемых температур от -10 до -30⁰C.

2. В главе 2 при описании организации экспериментов, объектов и методов исследований часть значимой информации не представлена полно, и это вызывает вопросы, так нет описания условий проведения процесса культивирования и используемой аппаратуры.

3. При оценке резистентности выделенных штаммов непонятен выбор автором концентрации соли NaCl 6,5% (стр.85) и желчи 40% (стр.87).

4. Нет объяснения с какой целью в работе применялись различные методы определения одного и того же параметра – антиоксидантной активности хлебобулочных изделий.

5. При выборе криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий нет оценки их непатогенности (стр.126).

6. При рассмотрении вопроса оптимизации питательной среды использовалась среда MRS (стр. 147), которая предназначена для выделения и культивирования молочнокислых бактерий. Данная среда является многокомпонентной и достаточно дорогой. Возможно, следовало бы при решении задачи оптимизации также ввести ограничения по стоимости дорогостоящих компонентов среды или оценить возможность замены наиболее дорогостоящих компонентов.

7. Непонятно, почему автор только в 6 главе счел возможным указать температуры замораживания и дефростации используемых штаммов, не уточнив скорости проведения процессов замораживания и размораживания, которые тоже имеют немаловажное значение.

8. В приложении к диссертации желательно приложить фотографии штаммов молочнокислых бактерий и других микроорганизмов, используемых в исследованиях.

9. Кроме того, в автореферате не указано при каком увеличении были получены фотографии микроструктуры полуфабрикатов и мякиша хлебобулочных изделий (рис. 12, 13, 15), а также было бы полезно привести разработанную автором аппаратно-технологическую схему производства зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с применением криорезистентной закваски.

Однако эти вопросы и замечания носят рекомендательный и дискуссионный характер, не являются принципиальными и не умаляют ценности представленной к защите диссертационной работы.

Заключение.

Диссертационная работа Китаевской С.В. «Биотехнология криорезистентных молочнокислых бактерий и их применение в хлебопекарной промышленности» является масштабным междисциплинарным экспериментальным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне. На основании выполненных автором экспериментальных исследований разработаны практические положения по совершенствованию криотехнологий хлебопекарного производства и получению продуктов питания с высокими потребительскими характеристиками и биологической ценностью путем применения криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий, что можно квалифицировать как научное достижение в области биотехнологии.

По объему выполненных исследований, методическому уровню их проведения, по научной новизне и значимости полученных результатов исследования для науки и практики диссертационная работа «Биотехнология криорезистентных молочнокислых бактерий и их применение в хлебопекарной промышленности», представленная на официальное оппонирование, является завершенной научно-

квалификационной работой, полностью соответствует всем требованиям п.9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым ВАК Министерства науки и высшего образования РФ к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Китаевская Светлана Владимировна заслуживает присуждения ученой степени доктора технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент: доктор технических наук по специальности 03.00.23 – Биотехнология, профессор, заведующий кафедрой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

 Панфилов Виктор Иванович

21 11 2023 г.

Подпись Панфилова В.И. заверяю:



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»;

Почтовый адрес: 125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9

Тел.: +7 (495) 495-23-79,

E-mail: panfilov.v.i@muctr.ru

Я, Панфилов Виктор Иванович, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Китаевской Светланы Владимировны, и их дальнейшую обработку.