

ОТЗЫВ
официального оппонента,
профессора кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и
зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «Воронежский
государственный университет инженерных технологий», доктора технических
наук, профессора Пономаревой Елены Ивановны
на диссертационную работу Китаевской Светланы Владимировны на тему
«Биотехнология криорезистентных молочнокислых бактерий и их применение
в хлебопекарной промышленности»,
представленную на соискание ученой степени доктора технических наук по
специальности 1.5.6. Биотехнология

Стратегия повышения качества пищевой продукции в РФ до 2030 года является основой для формирования национальной системы управления качества пищевой продукции и ориентирована на обеспечение полноценного питания, профилактику заболеваний, увеличение продолжительности и повышение качества жизни населения, обращение на рынке пищевой продукции надлежащего качества. Выполнение целей и задач Стратегии обусловлено созданием механизмов стимулирования производителей к выпуску продуктов питания, отвечающих критериям качества, обеспечением условий для производства пищевой продукции нового поколения с заданными характеристиками качества.

С этих позиций разработка и совершенствование производства хлеба с применением криотехнологии является актуальной задачей для хлебопекарной отрасли промышленности, решение которой позволит не только расширить ассортимент хлебобулочных изделий для здорового питания, но и повысить их пищевую ценность. На данный момент объём рынка замороженной хлебопекарной продукции в Российской Федерации составляет всего 10-15 % от общего объёма рынка хлебобулочных изделий, однако интенсивное развитие холодильной техники, снижение её стоимости и разработка современных криотехнологий позволят в ближайшем будущем увеличить долю замороженной продукции. Одним из перспективных направлений решения данной проблемы является селекция криорезистентных молочнокислых бактерий, сохраняющих свою биологическую активность на различных этапах процесса приготовления хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов.

В контексте вышеизложенного, диссертационное исследование Китаевской Светланы Владимировны, направленное на разработку научно-практических основ биотехнологии криорезистентных молочнокислых бактерий, разработку на их основе новых технологий и рецептур хлебобулочных изделий с высокими показателями качества и биологической ценности является актуальным, своевременным и имеет важное научно-производственное значение.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Китаевской С.В. изложена на 419 страницах машинописного текста, содержит 169 рисунков и 89 таблиц. Список литературы

включает 387 наименований, в том числе 233 на иностранных языках. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, списка использованных источников и 6 приложений.

Во *введении* представлена актуальность темы исследований, степень разработанности темы, определены цель и задачи, приведена научная концепция и новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследований, научные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора, публикации, структура и объем работы.

В *первой главе «Аналитический обзор»* автором проведен анализ литературных источников, в котором отражена характеристика молочнокислых бактерий и особенности их метаболизма, представлен биотехнологический потенциал молочнокислых бактерий как биологически активных компонентов пищи. Охарактеризована роль молочнокислых бактерий в формировании качества тестовых полуфабрикатов и хлебобулочных изделий. Представлены перспективы развития криотехнологий в хлебопечении, приведены теоретические и практические основы выживаемости микроорганизмов при реализации криогенных технологий.

В *второй главе «Организация эксперимента, объекты и методы исследований»* представлены организация и схема проведения эксперимента, объекты и методы исследований: методы выделения молочнокислых бактерий и исследование их биотехнологического потенциала; методы исследования сырья, полуфабрикатов и хлебобулочных изделий. Приведены способы приготовления замороженных полуфабрикатов и хлебобулочных изделий на их основе. Представлены математические методы планирования эксперимента, обработки результатов исследований и оптимизации.

В *третьей главе «Селекция криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий и оценка их биотехнологического потенциала»* соискателем представлен направленный отбор изолятов молочнокислых бактерий, устойчивых к низкотемпературному воздействию. Даны оценка функционально-технологических свойств новых штаммов молочнокислых бактерий. Изучена кислотообразующая активность молочнокислых бактерий и степень их устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды. Определена антагонистическая активность молочнокислых бактерий. Изучена чувствительность штаммов молочнокислых бактерий к антибиотикам, ферментативная активность новых штаммов молочнокислых бактерий. Исследована способность штаммов молочнокислых бактерий синтезировать протеолитические ферменты. Изучена амилолитическая активность штаммов молочнокислых бактерий и их способность синтезировать липолитические ферменты. Исследованы генопротекторные и антимутагенные свойства молочнокислых бактерий, генопротекторная активность метаболитов криорезистентных лактобактерий в ДНК - повреждающем teste. Изучена антимутагенная активность продуктов жизнедеятельности молочнокислых бактерий. Даны оценка антиоксидантной активности криорезистентных штаммов

молочнокислых бактерий, изучена их антиоксидантная активность *in vitro*. Определена антиоксидантная активность штамма *L. casei* 32 *in vivo*. Проведено генотипирование перспективных штаммов лактобактерий. Сделано заключение по третьей главе.

В четвертой главе «Разработка способов повышения криозащитных свойств молочнокислых бактерий и дрожжей» представлена разработка способа повышения криорезистентности лактобактерий. Проведено исследование влияния янтарной кислоты и ее солей на криорезистентность молочнокислых бактерий. Изучено влияние янтарной кислоты и сукцинатов на биотехнологические свойства лактобактерий, на выживаемость и биотехнологические свойства клеток дрожжей при криообработке. Проведена оптимизация питательной среды для повышения криорезистентности лактобактерий с использованием полного факторного эксперимента. Разработана криорезистентная закваска лактобактерий для пищевой промышленности, доказана ее экономическая эффективность. Сделано заключение по четвертой главе.

В пятой главе «Реализация биотехнологического потенциала криорезистентных лактобактерий в производстве ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов» изучено влияние низкотемпературной обработки на биотехнологические процессы в тестовых полуфабрикатах. Определена выживаемость дрожжей и молочнокислых бактерий. Исследовано влияние криообработки на активность ферментов в тесте, влияние низкотемпературной обработки на процессы созревания тестовых полуфабрикатов и качество готовых изделий. Разработаны технологические параметры процесса приготовления ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. Выполнен подбор эффективных заквасок молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами. Проведен поиск эффективных пищевых криопротекторов и моделирование рецептур ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. Разработана рецептура ржано-пшеничного хлеба с сухими молочными продуктами на основе замороженных полуфабрикатов. Изложены биотехнологические основы применения модифицированных крахмалов в криотехнологии хлебобулочных изделий. Разработаны технологические решения применения янтарной кислоты и ее солей в криотехнологии ржано-пшеничного хлеба. Изучено влияние ферментных препаратов на качество ржано-пшеничного хлеба, вырабатываемого по криотехнологии. Разработана технология и рецептуры ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с применением солодовых препаратов. Рассчитан экономический эффект производства новых видов ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. Представлено заключение к пятой главе.

В шестой главе «Научно-практические основы биотехнологии цельнозернового хлеба» разработана технология зернового хлеба на ферментированной молочнокислыми бактериями диспергированной массе. Изучен рост молочнокислых бактерий на диспергированной зерновой массе. Исследовано

влияние молочнокислых заквасок на качество зернового хлеба. Определена антиоксидантная активность, перевариваемость белков и гликемического индекса зернового хлеба. Исследованы сроки и условия хранения ферментированной зерновой массы. Разработана криотехнология хлеба на основе ферментированной молочнокислыми бактериями зерновой массы. Исследовано влияние продолжительности низкотемпературной обработки на процессы созревания полуфабрикатов из ферментированной зерновой массы и качественные характеристики зернового хлеба. Разработаны технологические решения применения янтарной кислоты и ее солей в криотехнологии зернового хлеба. Определена антиоксидантная активность, перевариваемость белков и гликемический индекс зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. Проведен расчет экономического эффекта производства новых видов зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. Сделано заключение по шестой главе.

В заключении автор представляет выводы по диссертации, которые вытекают из данных собственных исследований и являются логичными ответами на поставленные для решения задачи. Заключение сформировано четко и убедительно.

Список сокращений и условных обозначений состоит из 50 наименований.

Приложение к диссертационной работе включает 9 наименований.

Полученные результаты исследований подтверждены документами, приведенными в приложениях. Основные этапы работы, выводы и результаты представлены в автореферате. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации. Работа носит законченный характер, написана логично, стиль изложения вполне доказательный.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и рекомендации, приведенные в диссертации, теоретически обоснованы и экспериментально подтверждены. Они отражают и расширяют современные представления о развитии пищевой промышленности в аспекте разработок научно-практических основ биотехнологии криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий, разработок на их основе новых технологий и рецептур хлебобулочных изделий с высокими показателями качества и биологической ценности.

Экспериментальные исследования проведены на высоком методическом уровне с использованием принятых в отрасли современных методов исследований. В диссертации проведено обобщение и математическая обработка экспериментальных данных.

Использованные в диссертации методы исследований и постановки экспериментов, теоретические и практические разработки соответствуют цели и задачам работы. Представленные в работе научные положения и выводы обоснованы и подтверждены значительным объемом полученного экспериментального материала и проведенных испытаний.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Рецензируемая диссертационная работа является полностью самостоятельной, выполненной соискателем, и направлена на решение актуальной научной проблемы, имеющей важное значение при выборе криорезистентных культур молочнокислых бактерий, повышению их устойчивости к низкотемпературной обработке, а также по совершенствованию технологий хлебобулочных изделий путем применения криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий и использования пищевых добавок с криопротекторными свойствами.

Степень достоверности результатов исследований диссертационной работы подтверждается проведением достаточного количества экспериментов с использованием общепринятых и специальных методов исследования, статистической обработкой данных с применением пакетов прикладных программ.

В диссертационной работе Китаевской С.В. установлено, что в результате длительной низкотемпературной обработки в ржано-пшеничных полуфабрикатах происходит существенное изменение соотношения клеток дрожжей и молочнокислых бактерий: гибель клеток молочнокислых 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 %.

В результате направленного скрининга криорезистентных функционально-активных штаммов молочнокислых бактерий из различных пищевых источников отобрано 15 перспективных штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*, обладающих высокой устойчивостью к низкотемпературному воздействию. В результате оценки биотехнологического потенциала отобраны штаммы *L. casei* 32 6 и *L. plantarum* 24 с криорезистентными свойствами, перспективные для производства пищевых продуктов, вырабатываемых с применением криогенных технологий.

Выявлена высокая антиоксидантная активность клеток, внутриклеточного экстракта и метаболитов криорезистентного штамма *L. casei* 32 в условиях *in vitro* и *in vivo*. Обоснована целесообразность использования криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий *L. casei* TMB-D и *L. casei* 32 в криотехнологии ржано-пшеничного хлеба для интенсификации процессов брожения полуфабрикатов и улучшения качества готовых изделий.

Впервые показано, что внедрение стадии ферментации молочнокислыми заквасками диспергированной зерновой массы при производстве хлеба из целого зерна пшеницы позволяет повысить качественные характеристики и биологическую ценность продукции, вырабатываемой с применением криогенных технологий.

Выявлена корреляционная зависимость 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); расширены представления о технологических функциях данных компонентов для хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов.

Результаты диссертации докладывались и обсуждались на международных научных, научно-практических, научно-технических мероприятиях разного уровня, что подтверждает широкую апробацию основных положений и результатов диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 74 научные работы, в т.ч. 17 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований; 5 статей в журналах, индексированных в международных базах цитирования Scopus/WoS; 3 статьи в российских журналах (РИНЦ/RSCI); 48 публикаций по материалам докладов на всероссийских и международных конференциях; монография.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Комплексные научные исследования Китаевской С.В. имеют несомненную ценность для науки, теоретическое и практическое значение. Прикладной характер новых знаний о стабилизации биотехнологических свойств тестовых полуфабрикатов после низкотемпературной обработки за счет применения криорезистентных лактобактерий, пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами позволит расширить ассортимент ржано-пшеничного и зернового хлеба из пшеницы на основе замороженных полуфабрикатов.

Теоретическая значимость заключается в научном обосновании целесообразности применения криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий, пищевых добавок и ингредиентов в производстве и повышении качества ржано-пшеничного и зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов.

Практическая значимость работы Китаевской С.В. обусловлена тем, что 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. Разработана нормативно-техническая документация на криорезистентную закваску лактобактерий для пищевой промышленности (ГУ 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 (ржано-пшеничного

теста и полуфабрикатов из ферментированной зерновой массы), 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, предусматривающая внедрение стадии молочнокислой ферментации диспергированной зерновой массы и применение янтарной кислоты и ее солей, 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. Проведена промышленная апробация предлагаемых 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 ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов и новых видов зернового хлеба составит 10,8 тыс. руб./т и 6,5 тыс. руб./т соответственно.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Совокупность разработанных, теоретически и экспериментально обоснованных Китаевской С.В. технологических решений позволит рационально использовать сырьевую базу агропромышленного комплекса, повысить эффективность технологического процесса, увеличить срок хранения полуфабрикатов в замороженном виде и продлить сроки свежести хлебобулочных изделий. Результаты исследований могут быть внедрены на предприятиях всей территории нашей страны.

Использование полученных результатов и выводов диссертационной работы в учебном процессе целесообразно для обучающихся по направлению подготовки 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья» и 19.04.04 «Технология и организация продукции общественного питания для более расширенного понимания теоретических основ производства хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации и автореферата:

1. В диссертации и автореферате в главе «Организация эксперимента, объекты и методы исследований» не указано какие современные методы и приборы были применены в ходе работы. Не представлены сведения о соответствие пунктам

паспорта научной специальности 1.5.6. Неясно как подтверждается новизна технических решений - результаты исследований не отражены в заявках на патенты.

2. В цели и задачах указано «...разработка технологий и рецептур хлебопекарной продукции с высокими показателями качества и биологической ценности», однако в выводах не представлены данные по биологической ценности в предлагаемых видах хлеба. Следует отметить, что автором поставлено 8 задач, а выводов сделано 10.

3. В работе использован термин «дефростация», который не соответствует ГОСТ 32677-2014 «Изделия хлебобулочные. Термины и определения»; применяется название сырья, не соответствующее действующему стандарту – соль поваренная пищевая (соль пищевая, ГОСТ Р 51574-2018); указан устаревший ГОСТ 171-81 на дрожжи хлебопекарные прессованные (действующий ГОСТ Р 54731-2011); непонятно по какой рецептуре готовился контрольный образец хлеба; автор по-разному называет объект исследования – «цельнозерновой хлеб», «зерновой хлеб».

4. В главе 2 пункте 2.2 при описании объектов исследования отсутствуют данные по муке пшеничной высшего сорта, обойной и цельнозерновой, также по муке ржаной обойной и цельнозерновой, которые далее в главе 4 представлены в табл. 5.7 (с. 175) и в автореферате (табл. 9). Неясно, сколько проб муки пшеничной хлебопекарной первого сорта, ржаной хлебопекарной обдирной, пшеницы 3-го класса применялось в исследовании. Необходимо было привести показатели качества муки, как основного сырья для производства хлебобулочных изделий.

5. Не совсем понятно, почему автором для производства хлеба из смеси ржаной и пшеничной муки, а также цельнозернового хлеба выбраны штаммы молочнокислых бактерий *L. casei* 32, *L. fermentum* 10, обладающие наибольшей амилолитической активностью по сравнению с другими МКБ, представленными в работе. Известно, что амилолитические ферменты катализируют гидролиз крахмала, разжижают тесто и ухудшают его реологические характеристики. Однако автор утверждает, что «... амилолитическая активность зерновой массы, ферментированной МКБ *L. casei* 32, снизилась в среднем на 25 %...».

6. Не изучено – как отразится внесение предлагаемых обогатителей и замораживание полуфабрикатов на реологические свойства теста. Целесообразно было бы определить методом дифференциально-термического и термогравиметрического анализов влияние обогатителей и применение криотехнологии на сохранение свежести хлеба в процессе его хранения. Не указано, при каком увеличении были получены фотографии микроструктуры ржано-пшеничного теста и хлебного мякиша. На с. 29 автореферата при описании главы 5 перечислена техническая документация на разработанные виды хлеба из смеси ржаной и пшеничной муки, а также на новые виды зернового хлеба на основе ферментированной зерновой массы, хотя эти изделия разрабатываются в 6 главе и там же указаны вновь.

7. Автору следовало провести доклинические испытания разработанных видов продукции, подтверждающие эффективность сухих молочных продуктов, модифицированных крахмалов, янтарной кислоты и ее солей, ферментных препаратов, солодовых препаратов в производстве хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов и возможность создавать новые продукты с применением криотехнологии. В работе не рассчитана пищевая ценность предлагаемых видов хлеба и покрытие суточной потребности в нутриентах за счет

их употребления. Не указано, как отразится использование криотехнологии на выход хлебобулочных изделий. В диссертации в главе 5 на с. 257, на рисунке 5.78, а также в автореферате на с. 28 приведена стандартная «...аппаратурно-технологическая схема производства ржано-пшеничных сортов хлеба на основе замороженных полуфабрикатов...», не имеющая научного значения.

Приведенные замечания не снижают актуальности, научной новизны и практической значимости работы.

Общее заключение

Диссертационная работа Китаевской Светланы Владимировны представляет собой завершенную научно-квалификационную работу на актуальную тему, в которой на основании выполненных автором исследований фундаментального и прикладного характера, разработаны научные основы биотехнологий с целью повышения качества ржано-пшеничного и зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов за счет применения криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий, пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами. Представленные в работе результаты исследований свидетельствуют о решении важной научной и производственной проблемы в пищевой промышленности.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Китаевской С.В., представленная на соискание ученой степени доктора технических наук, полностью удовлетворяет требованиям ВАК Минобрнауки России в соответствии с п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в действующей редакции), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

Доктор технических наук (специальность 05.18.01 – Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодовоощной продукции и виноградарства), профессор, профессор кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «ВГУИТ»,

08.11.2023

Пономарева

Елена Ивановна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий» 394036, Россия, г. Воронеж, проспект Революции, д. 19

Тел.: +7(473)255-38-51, 89616131706

E-mail: elenas6815@yandex.ru

Я, Пономарева Елена Ивановна, даю согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Китаевской Светланы Владимировны, и их дальнейшую обработку.

Подпись т. Пономаревой Е.И.
08.11.2023 ЗАВЕРЯЮ
Начальник управления кадров А.Ф. Гусева Олеана
Маревна



Вход. № 05-4761⁹
«23» 11 2023 г.
подпись Гусева Олеана Маревна