

В диссертационный совет по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук 99.0.092.02 при ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»

## ОТЗЫВ

Официального оппонента

доктора технических наук Свириденко Галины Михайловны на диссертационную работу Леоновой Виктории Александровны на тему «Разработка биотехнологии кисломолочного продукта с метаболитным комплексом *L. helveticus*», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальностям 4.3.3. Пищевые системы и 4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

### Актуальность темы исследований

В настоящее время задача обеспечения населения полноценными и качественными продуктами питания отечественного производства выходит на государственный уровень. Диссертационная работа Леоновой Виктории Александровны отвечает положениям Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года (Распоряжение Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 г № 1364-р).

Необходимым элементом производства ферментируемых молочных продуктов являются бактериальные закваски. С биохимическими и биотехнологическими свойствами, метаболической активностью молочнокислых бактерий, входящих в состав заквасочной микрофлоры, связаны большинство полезных изменений, в том числе образование в среде биологически активных веществ. В процессе развития молочнокислых бактерий, благодаря экзоферментам, выделяемых для осуществления процессов метаболизма, осуществляется преобразование основных компонентов сред культивирования.

Основной целью производства бактериальных заквасок является максимально возможное получение биомассы, т.е. количества жизнеспособных клеток, которые концентрируются путем отделения от среды культивирования. При этом супернатант, содержащий продукты метаболизма, в том числе разнообразные органические кислоты, пептиды, аминокислоты и биологически активные вещества, является отходом производства, оказывающим негативное влияние на экологию. Поэтому работы, направленные на поиск путей



использования супернатантов, как источника метаболитов заквасочных культур для повышения биологической ценности тех или иных продуктов питания, можно считать инновационными, обеспечивающими повышение эффективности процессов или улучшение качества продукции.

С этой целью автором в качестве основных объектов исследования закономерно выбраны штаммы термофильных палочек вида *Lactobacillus helveticus*, обладающих сильными ферментативными системами и разнообразным метаболизмом. Так штаммы *Lb. helveticus* являются активными кислотообразователями. Они способны сбраживать как лактозу, так и галактозу с образованием D(–)- и L(+)-молочной кислоты, что в значительной степени уменьшает риск развития посторонней микрофлоры. Мощные протеолитические системы данных микроорганизмов, включающие аминопептидазы, дипептидазы и протеиназы, способны продуцировать пептиды и аминокислоты из казеинового матрикса. *Lb. helveticus*, благодаря своей способности продуцировать биоактивные вещества, является многофункциональным видом. Этот микроорганизм приобретает все большее значение для производства пищевых продуктов с пробиотическими свойствами.

Учитывая выше сказанное, диссертационная работа Леоновой В.А. по исследованию свойств метаболитов, продуцируемых штаммами *Lb. helveticus*, созданию на базе супернатанта метаболитного комплекса и дальнейшая разработка биотехнологии кисломолочного продукта с повышенными пробиотическими свойствами, является, безусловно, актуальной.

### **Научная новизна исследований**

Научная новизна работы заключается в сравнительной оценке продуктов метаболизма исследуемых штаммов *Lb. helveticus* и их функциональных свойств. Диссертантом установлены зависимости состава и количества метаболитов от состава питательных сред и условий культивирования.

Теоретически и экспериментально обоснована возможность получения из супернатанта метаболитного комплекса, обладающего значительными пробиотическими свойствами.

Убедительно доказана возможность увеличения антимикробных, бифидогенных и антиоксидантных свойств кисломолочного продукта, за счет его обогащения разработанным метаболитным комплексом.

### **Практическая значимость**

Практическая значимость работы заключается в разработке комплекта технической документации, включающего СТО 00419785-081.1-2024 «Метаболитный комплекс *L. helveticus*» и СТО 00419785-081.1/1-2024 «Продукт кисломолочный с метаболитным комплексом».

Возможность практической реализации результатов исследований подтверждена проведением опытно-промышленной выработки метаболитного комплекса на базе экспериментального цеха ФГАНУ «ВНИМИ», а так же проведением опытно-промышленных выработок кисломолочного продукта с



метаболитным комплексом на ряде молочных предприятий, таких как ООО «Итальянские традиции», ООО «НОВАЯ ИЗИДА» и ООО «Южский молочный завод» и с подтверждением его соответствия требованиям, заложенным в СТО 00419785-081.1/1-2024.

### **Обоснованность и достоверность основных научных положений и выводов, сформулированных в диссертации**

Обоснованность и достоверность полученных результатов подтверждается использованием современных стандартных и специальных физико-химических, биохимических, микробиологических и органолептических методов исследований, применением статистических расчетов и повторностью проводимых экспериментов.

Научные положения и выводы подтверждены фактическими данными, представленными табличными и графическими материалами, проведением опытно-промышленной апробации разработанных технологий, обсуждением результатов исследований на научных конференциях.

### **Публикации результатов исследований**

По материалам диссертационной работы опубликовано 8 статей, из них 5 статей – в журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ К1.

### **Анализ содержания диссертационной работы**

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, объектов и методов исследований, экспериментальной части, выводов, перечня использованных литературных источников и приложений. Работа изложена на 114 страницах машинописного текста, содержит 22 таблицы и 23 рисунка. Список литературы включает 148 источников, из них 112 зарубежных авторов.

**Во введении** обоснована актуальность работы, поставлены цели и задачи исследования, аргументирована научная новизна, практическая значимость работы и основные положения, выносимые на защиту.

**В первой главе** представлен анализ научно-технической литературы, касающийся тенденций производства специализированных продуктов питания, описания биологически активных метаболитов молочнокислых микроорганизмов и их свойств.

На основании анализа литературных источников обоснована целесообразность использования метаболитного комплекса *Lb. helveticus* для обогащения и повышения функциональных свойств кисломолочного продукта.

**Во второй главе «Объекты и методы исследований»** описан порядок организации работы, объекты, методы и схема проведения исследований.

На различных этапах работы объектами исследований являлись штаммы *Lactobacillus helveticus* из коллекции молочнокислых и пробиотических микро-



организмов ФГАНУ «ВНИМИ»; метаболитный комплекс *Lb. helveticus* и кисломолочный продукт, содержащий метаболитный комплекс *Lb. helveticus*.

При выполнении экспериментальной части работы применялись стандартные методы исследований физико-химических, микробиологических и органолептических показателей, а также ряд специальных методов.

Обработка данных проводилась стандартными методами математической статистики.

**В третьей главе «Экспериментальная часть»** диссертантом изложены результаты экспериментальных исследований.

**На первом этапе** исследований проводилась сравнительная оценка свойств (биохимические профили, ферментативная активность, способность синтезировать ЭПС, антимикробная активность) штаммов *Lb. helveticus* из коллекции ВНИМИ с целью выбора штамма для получения метаболитного комплекса.

Согласно полученным данным, штаммы *Lb. helveticus* Н9, *Lb. helveticus* АВ и *Lb. helveticus* 20Т проявляли схожую биохимическую и ферментативную активность, все три штамма продемонстрировали высокую активность β-галактозидазы и способность к синтезу экзополисахаридов (ЭПС). При исследовании устойчивости штаммов к антибиотикам не выявлено резистентности к клинически значимым препаратам. Однако, для исследуемых штаммов наблюдались различия в антимикробной активности по отношению к патогенным микроорганизмам. Наибольшую антимикробную активность проявлял штамм *Lb. helveticus* 20Т, исходя из этого, данный штамм был выбран для получения метаболитного комплекса (МК).

**На втором этапе** исследований проводилась оценка влияния параметров культивирования (питательной среды, доза инокулята и продолжительность культивирования) на рост выбранного штамма *Lb. helveticus* 20 Т и его кислотообразующую активность

**На третьем этапе** исследований проводилась оценка содержания органических кислот в МК, полученных при культивировании данного штамма на разных питательных средах. По результатам исследований подтверждено, что молочная кислота является основным метаболитом *Lb. helveticus* 20Т, синтезируемым при сбраживании углеводов. В МК также содержится уксусная кислота. В результате исследований антимикробной и бифидогенной активности МК, полученных при культивировании на разных питательных средах установлено, что МК на обезжиренном молоке, проявлял большую активность по отношению к исследуемым тест-культурам.

**На четвёртом этапе** проводили исследования влияния способа и режимов сушки МК на его состав и свойства. Установлено, что состав органических кислот и продуктов протеолиза, количество витаминов группы В, а также антимикробная активность практически не зависят от способа сушки. Для получения МК выбран способ распылительной сушки, обеспечивающий более низкое содержание влаги в сравнении с сублимированным МК.



**На пятом этапе** разработана и представлена принципиальная технологическая схема производства МК. На основе проведенных исследований разработана технология производства МК *Lb. helveticus* 20Т и СТО 00419785-081/1-2024 «Метаболитный комплекс *Lb. helveticus*».

**На шестом этапе** полученный МК применяли для обогащения кисломолочного продукта. Для этого в пастеризованное молоко МК вносили в количестве 1% от объема смеси одновременно с закваской.

Полученные образцы кисломолочного продукта исследовали по физико-химическим, микробиологическим и органолептическим показателям. Дегустаторы отметили в опытных образцах продукта приятную вкусоароматическую гамму и отсутствие посторонних привкусов. Установлено, что в опытных образцах усиливается антимикробная, бифидогенная и антиоксидантная активность.

**Практический этап исследований** связан с разработкой технической документации (СТО 00419785-081/1.1-2024 «Продукт кисломолочный с метаболитным комплексом»); принципиальной технологической схемы производства кисломолочного продукта; установления сроков годности; проведения опытно-промышленной проверки.

**В заключении** по результатам работы автор обобщает полученные результаты.

**В приложениях** представлены: Титулы разработанных документаций; Акты проведения опытно-промышленной выработки МК *Lb. helveticus* 20Т на базе экспериментального цеха ФГАНУ «ВНИМИ» и акты опытно-промышленных выработок кисломолочного продукта с МК *Lb. helveticus* 20Т на трех молочных предприятиях.

### **Анализ основных результатов и выводов**

Общее оформление работы соответствует нормам, принятым при написании диссертационных работ. Содержание публикаций и автореферат отражают основные положения диссертационной работы. Диссертационная работа и автореферат Леоновой В.А. оформлены в соответствии с требованиями, предъявляемыми ВАК к кандидатским диссертациям. Выводы соответствуют целям и задачам исследования, отражают результаты выполненной работы и основные положения, выносимые на защиту.

В целом, положительно оценивая представленную работу, считаю необходимым высказать следующие замечания и пожелания:

1. В литературном обзоре значительное внимание уделяется специализированным продуктам. Поэтому в диссертации, следовало указать, для какой группы специализированных продуктов рекомендуется использовать разработанный метаболитный комплекс.

2. Согласно данным, приведенным в обзоре литературы, МКБ способны синтезировать различные витамины, в том числе витамины группы В. Однако отсутствуют материалы о такой способности микроорганизмов вида



*Lb. helveticus*. В результате проведенных исследований установлено, что метаболитный комплекс *Lb. helveticus* содержит значительное количество витамина В<sub>6</sub>, содержание которого затем нормируется и в МК и в молочнокислом продукте. Хотелось бы уточнить, по мнению автора, содержание витаминов группы В зависит лишь от их наличия в среде культивирования, либо это результат метаболизма бактерий *Lb. helveticus*.

3. По результатам исследований разработанный метаболитный комплекс обладает значительной антимикробной и бифидогенной активностью, но в работе нет заключения, какие продукты метаболизма оказывают влияние на усиление данных функциональных и пробиотических свойств.

4. При разработке технической документации требования к продуктам определены в соответствующих СТО, представлены принципиальные схемы производства, но отсутствуют ссылки на ТИ на их производство, на основании которых должны были проводить опытно-промышленные выработки МК и молочнокислого продукта.

5. В процессе хранения кисломолочного продукта при 4 °С и неуклонном снижении количества МКБ происходит значительный рост титруемой кислотности. В чем причина? По какому критерию ограничен рекомендуемый срок годности молочнокислого продукта 26 сутками, если по представленным результатам нет значимого изменения ни одного из нормируемых показателей.

6. В качестве технического замечания следует отметить, что в соответствии с Приложением А ГОСТ 34372-2017 «Закваски бактериальные для производства молочной продукции» для сокращенного обозначения лактобацилл используется *Lb.*, а не *L*.

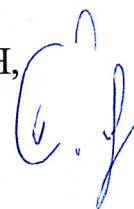
Анализ материалов исследований и выводов по диссертационной работе дает основание полагать, что она является законченным научным исследованием, в котором решены важные технические и технологические задачи, направленные на обеспечение населения качественными продуктами питания с повышенными функциональными и пробиотическими свойствами.

Материалы выполненных исследований нашли отражение в научных публикациях. Диссертационная работа выполнена на достаточно высоком теоретическом и научном уровнях с использованием современных средств и методов измерений, что обеспечивает достоверность и объективность сделанных выводов.



По совокупности сформулированных и научно обоснованных положений, актуальности, новизне и практической значимости диссертация на тему: «Разработка биотехнологии кисломолочного продукта с метаболитным комплексом *L. helveticus*», соответствует пунктам 5 и 13 паспорта специальности 4.3.3 «Пищевые системы» и пунктам 3 и 13 паспорта специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ», соответствует п. 9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842), а ее автор – Леоновой Виктория Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальностям 4.3.3. Пищевые системы и 4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Официальный оппонент,  
доктор технических наук, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН,  
ведущий аналитик



Свириденко Г.М.

152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский б-р, д. 19

Телефон: 8(903) 823-56-88

E-mail: [g.sviridenko@fncps.ru](mailto:g.sviridenko@fncps.ru)

Подпись Свириденко Г.М. подтверждаю:

Начальник отдела кадров ВНИИМС – филиал  
ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН



Аристова О.А.

» сентября 2025 г