

## ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертацию

Бегуновой Анны Васильевны

На тему: «Разработка технологии пробиотического кисломолочного продукта с *Lactobacillus reuteri* LR1» на соискание учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.04 – Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств

Представленная на рецензирование диссертационная работа Бегуновой А.В. состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы; изложена на 121 странице основного текста, содержит 20 таблиц, 32 рисунка. Список использованной литературы включает 204 наименования, в том числе 153 зарубежных источника.

Результаты исследований достаточно полно отражены в более, чем 20 публикациях, в том числе в журналах WoS, Scopus, включая издания, входящие в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ.

Оформление диссертации соответствует общепринятым требованиям.

Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Производство функциональных продуктов является насущной потребностью современности, что нашло отражение в Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года.

В последние годы активно изучаются вопросы участия микрофлоры человека в поддержании здоровья и развития многих заболеваний. Сформировалось мнение, что симбиотическая микрофлора является интегральной частью тела человека, его экстракорпоральным органом, состоящим из огромного количества микроорганизмов и выполняющим разнообразные функции и биохимические реакции. Дисбаланс симбиотических взаимоотношений внутри микробиоценозов, а также между

хозяином и его микрофлорой приводит к возникновению разнообразных патологических синдромов, спектр которых широк и имеет тенденцию к увеличению.

Пробиотические микроорганизмы способны продуцировать множество различных биологически активных веществ, участвующих в поддержании и восстановлении здоровья человека, а также снижающих риск возникновения заболеваний. Использование пробиотиков позволяет повышать колонизационную резистентность, нормализовать количественный и качественный состав микробиоценозов человека, уровень сывороточного холестерина и других липидов, пул гистамина и глюкозы, физиологические и биохимические функции печени в модельных экспериментах *in vitro*, в организме экспериментальных животных и человека.

Следовательно разработка пробиотического кисломолочного продукта на основе отобранного штамма живых микроорганизмов с доказанной специфической активностью вида *Lactobacillus reuteri*, которые пока ещё недостаточно широко используются в составе бактериальных заквасок для молочной промышленности, является перспективным направлением современной медицинской и пищевой биотехнологии.

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

Анализ литературных данных позволил автору теоретически обосновать и определить цели и задачи исследований по созданию закваски прямого внесения и технологии пробиотического кисломолочного продукта на основе культуры *L. reuteri* LR1.

Представленный объём экспериментальных данных по изучению пробиотических свойств изученного штамма свидетельствует о наличии выраженной антагонистической активности к условно-патогенным и патогенным бактериям и определённой антибиотикорезистентности в отношении современных применяемых в медицине антибиотиков.

Установлена способность культуры *L. reuteri* LR1 повышать антиоксидантную и АПФ-активность при культивировании в молоке. Определён профиль пептидов, присутствующих в сквашенном данным штаммом молоке и подтверждено их совпадение с биопептидами, ранее описанными в литературе и представленными в базе данных Milk Bioactive Peptide Database, что подтверждает его функциональный потенциал.

Проведение исследований влияния компонентов питательной среды по разработанному композиционному плану и регрессионный анализ полученных экспериментальных данных выявили характер и степень зависимости накопления клеток *L. reuteri* LR1 от используемых веществ и позволили получить уравнение регрессии, описывающее эту зависимость. Разработанная программа для моделирования и расчёта состава питательной среды предоставила возможность к совершенствованию питательной среды для получения высокой концентрации бактериальных клеток.

Установлены технологические параметры культивирования лактобациллы *L. reuteri* LR1, которые обеспечивают накопление необходимого количества клеток в биомассе. Не смотря на то, что исследование криопротекторных веществ изучалось только при одной температуре замораживания, работа по определению оптимального состава защитной среды, обеспечивающей высокую выживаемость бактериальных клеток при замораживании и сушке, а также в процессе хранения бактериальной закваски, проведена досконально. Установлен срок годности закваски и разработан стандарт организации СТО 00419785-045-2019 «Закваска прямого внесения *L. reuteri* LR1».

В результате исследований влияния факторов роста на развитие монокультуры *L. reuteri* LR1 в молоке и параметров его культивирования в консорциуме с молочнокислыми бактериями *L. helveticus* и *S. thermophilus* разработана технология получения кисломолочного продукта с пробиотическими свойствами, функциональные свойства которого

подтверждены в ходе медико-биологической оценки на лабораторных животных.

### **Достоверность и новизна проведенного исследования и практических рекомендаций**

Достоверность результатов проведённых экспериментальных исследований, полученных научных положений и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе, обеспечиваются комплексным анализом полученных данных и подтверждаются применением как стандартных, так и современных методов исследований с многократной повторностью. Полученные данные обработаны методами регрессионного и дисперсионного анализа с использованием компьютерного пакета «Statistica 10,0».

Исследования проведены на базе Центральной лаборатории микробиологии Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ»), часть из них – на базе ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН». Медико-биологическая оценка осуществлена *in vivo* в ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН.

Научная новизна работы заключается, в первую очередь, в получении новых данных и подтверждении *in vitro* пробиотических свойств штамма *L. reuteri* LR1, а также в выявлении закономерностей развития данной культуры на различных питательных средах и в молоке, которые послужили основой для разработки технологии получения закваски прямого внесения и пробиотического кисломолочного продукта. Функциональные свойства кисломолочного продукта доказаны *in vivo*.

### **Практическая значимость работы**

Рецензируемая диссертация имеет не только фундаментальную значимость, но и прикладную ценность. Автором разработаны и испытаны в промышленных условиях технологии получения закваски прямого внесения

*Lactobacillus reuteri* LR1 и пробиотического кисломолочного продукта с этой культурой. Работа вносит существенный вклад в расширение ассортимента кисломолочных продуктов с доказанными функциональными свойствами.

### **Апробация работы**

Основные положения и результаты исследований докторской диссертационной работы являлись предметом докладов и выступлений на научных конференциях, семинарах и форумах: Международная научно-практическая конференция, посвящённая памяти Василия Матвеевича Горбатова (Москва, 2017 г.); VII Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2015 г.); Международная научно-практическая конференция «Безопасность и качество товаров» (Москва, 2018 г.) и др.

### **Вопросы и замечания, возникшие при анализе диссертации:**

1. Анализируя график изменения активной кислотности *L. reuteri* LR1 (рис. 22) автор необоснованно делает выводы о влиянии факторов роста на продолжительность лаг-фазы, а также продолжительности лаг-фазы в молоке до 24 ч. Продолжительность фазы развития культуры определяют на графиках изменения количества клеток, при этом во время лаг-фазы размножения культур не происходит. Однако на рис. 22 показано снижение уровня активной кислотности в молоке за 24 ч на 1 ед. pH, что свидетельствует о размножении клеток.
2. Не ясно, чем обусловлен выбор консорциума конкретных штаммов *L. helveticus* и *S. thermophilus* для совместного культивирования при изготовлении кисломолочного продукта.
3. В таблице 12 для характеристики цвета выработанной закваски следовало указать её цвет, а не цветовую гамму, нормируемую стандартом.

4. Предложенное автором использование дистиллированной воды в составе питательной среды для накопления клеток в промышленных технологиях не рационально.
5. В выводе 2 автор изложил результаты научных исследований различных свойств изучаемой культуры: антагонистической активности, устойчивости к антибиотикам, антиоксидантной и других активностей, а также профиль белково-пептидной фракции молока. Представляется целесообразным более чёткое изложение результатов этих исследований в нескольких отдельных выводах.
6. В тексте диссертационной работы имеются отдельные фрагменты, требующие редакционных корректировок.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют научной ценности и практической значимости диссертационной работы и могут быть учтены автором при проведении будущих исследований. В целом диссертация выполнена с применением современных методов микробиологических и биохимических исследований, математической обработки и анализа полученных данных.

### **Заключение**

Диссертация Бегуновой А.В. является научно-квалификационной работой, которая содержит решение задач по изучению пробиотических свойств *L. reuteri* LR1, разработке состава питательной и защитной сред и режимов культивирования для накопления биомассы, сохранения клеток в процессе замораживания, сушки и хранения закваски прямого внесения. В работе изложены новые научно обоснованные технологические решения одного из приоритетных направлений Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года, имеющих важное значение для создания и развития технологий пробиотических кисломолочных продуктов, что соответствует требованиям п. 9 «положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением

Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук по специальности 05.18.04 – Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств, а её автор, Бегунова Анна Васильевна, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата технических наук.

Официальный оппонент:

кандидат технических наук, врио директора  
ФГБНУ «Экспериментальная биофабрика»

Н.П. Сорокина

152613, Ярославская обл., г. Углич,  
ул. Старостина, 18  
Тел.: 8 (48532) 533-30  
E-mail: [biofab@list.ru](mailto:biofab@list.ru)

Подпись Сорокиной Н.П. заверяю

Начальник организационно-  
правового отдела



О.М. Лобанова