

### ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Жарко Марии Юрьевны на тему:

«Разработка замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.3. Пищевые системы

#### Актуальность темы

Молокоперерабатывающая отрасль – одна из наиболее динамично развивающихся и экспортно ориентированных в Российской Федерации. Необходимым компонентом для получения всех ферментированных молочных продуктов (сыров, сметаны, творога, кисломолочных напитков и т.д.), определяющим их органолептические свойства, пищевую и биологическую ценность, безопасность для потребителя, являются бактериальные закваски, представляющие собой монокультуры или специальным образом подготовленные комбинации бактерий.

Рынок бактериальных молочных заквасок чрезвычайно зависим от импорта, который с 2015 года вырос более чем на 45%. Наблюдающееся в последние годы снижение импорта свидетельствует о начавшейся на рынке тенденции импортозамещения, которая уже коснулась молочной отрасли, но еще не отмечалась на рынке заквасок. В связи с введением санкций, нарушением логистических цепочек и нестабильной ситуацией на рынке бактериальных заквасок остро встал вопрос о расширении отечественного производства молочных заквасок.

В настоящее время количество производителей бактериальных заквасок для молочной промышленности в России невелико – всего семь компаний, при этом российские производители выпускают преимущественно сухие (лиофилизированные) бактериальные закваски. Такая форма хранения является наиболее распространенной, так как не требует специального оборудования и дополнительных затрат от потребителя. Однако наибольшую сохранность полезных бактерий на протяжении длительного времени обеспечивает замораживание заквасок. Однако такие закваски пока производятся только за рубежом.

Следовательно, актуальность диссертационной работы Жарко М.Ю. посвященной разработке технологии замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов для производства кисломолочных продуктов, не вызывает сомнений.

Эффективность разработанной закваски доказана и не уступает импортным аналогам, таким как CHR. Hansen (Дания); DSM (Нидерланды), доминирующим на российском рынке. На основании проведенных исследований разработан СТО 00419785-057-2021 «Закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Streptococcus thermophilus* прямого внесения для творога».

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

При определении цели и задач исследований Жарко М.Ю. был принят во внимание обширный научный опыт таких известных ученых, как А.М. Белоус, И.В. Рожковой, Н.П. Сорокиной, Г.М. Свириденко, А.А. Цуцовой, Д.В. Харитоновой и др. Анализ большого количества зарубежных литературных источников свидетельствует о всесторонней проработке вопроса в области создания технологии замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов в жидком азоте.

В работе последовательно изучены стадии технологического процесса. От выделения мезофильных штаммов молочнокислых микроорганизмов до получения замороженных криогранул, глубоко изучены вопросы, связанные с влиянием отрицательных температур на лактококки и лактобациллы, исследовано влияние вязкости суспензии молочнокислых микроорганизмов на выживаемость клеток при замораживании, даны рекомендации по размеру гранул, позволяющие получить коммерческую закваску для производства кисломолочных продуктов.

При установлении рекомендуемых сроков годности автор руководствовался микробиологическими исследованиями и методическими указаниями по проведению микробиологического контроля.

Разработанная закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Streptococcus thermophilus* отвечает требованиям ТР ТС 033/2013 и ГОСТ 34372.

Структурированный подход и грамотная методическая база в итоге позволили диссертанту разработать технологии замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов для производства кисломолочных продуктов и произвести творог в условиях производственной площадки компании ООО «Итальянские традиции».

Автореферат и печатные работы Жарко М.Ю. полностью отражают основные положения и содержание диссертационной работы. По теме диссертационной работы опубликовано 5 печатных работ, из которых 4 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Научные положения, представленные в диссертации, обоснованы и подтверждены экспериментальными данными, выводы отражают поставленные задачи и реализованную цель исследований.

#### **Достоверность и новизна исследований, полученных результатов и выводов диссертации**

Достоверность результатов, полученных при проведении исследований, определена количеством поставленных опытов, в которых использовались не только общепринятые стандартные методы и методики исследований, но и адаптированные Жарко М.Ю. для индивидуальной характеристики разработанного продукта. Научные исследования проведены на сертифицированном оборудовании, полученные экспериментальные данные обработаны с использованием методов математической статистики с использованием современных компьютерных программ не менее чем с трех-пятикратной повторностью проведения опытов; корреспондируется с данными, полученными экспериментальным путем автором и другими исследователями.

В диссертационной работе Жарко М.Ю. получен ряд новых важных результатов, которые можно рассматривать как научную новизну. Так, установлены: зависимость выживаемости молочнокислых микроорганизмов от их фазы роста, температуры замораживания, режима замораживания/дефростации отдельных криогранул; связь качества получаемых криогранул лактобактерий от концентрации микроорганизмов и вязкости бактериальной суспензии. Разработаны технологические режимы, позволяющие обеспечить в замороженной концентрированной закваске количество молочнокислых бактерий не менее  $10^{10}$  КОЕ/г на конец срока годности. Качество полученной закваски подтверждено данными органолептической и микробиологической оценок.

В целом, представленные в работе научные положения обоснованы и подтверждены результатами экспериментальных исследований и производственных испытаний. Экспериментальные данные с достаточной степенью точности согласуются с общетеоретическими концепциями, принятыми в данной области исследований.

#### **Анализ содержания работы**

Диссертационная работа Жарко М.Ю. построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, включающей описание

организации работы, объектов и методов исследований, изложения результатов и их обсуждения, а также выводов и списка цитируемой литературы. Работа состоит из 6 разделов. Основные положения диссертационной работы изложены на 118 страницах, включают 12 таблиц, 37 рисунков и 4 приложения. Список литературы содержит 128 источников, из них 38 отечественных и 90 зарубежных. Диссертационная работа Жарко М.Ю. выполнена в соответствии с требованиями ВАК РФ.

Введение содержит обоснование актуальности темы, сформулированную цель и девять задач, необходимых для реализации поставленной цели, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, общие сведения о диссертационной работе, сведения об апробации.

В первой главе проанализирован мировой, отечественный и зарубежный опыт в области объекта разработки.

Автором дана оценка перспективности производства замороженных заквасок на основе молочнокислых микроорганизмов. Проведен подробный анализ технологии получения замороженных гранул, доказавший применимость в качестве заквасок прямого внесения в молочной промышленности.

Для подтверждения актуальности разрабатываемой технологии проведен обзор уже существующих разработок в данной области, и отмечено отсутствие однозначных данных о комплексном влиянии факторов на получение качественных продуктов. Представлена классификация заквасок молочнокислых микроорганизмов и классическая технология творага.

На основании критического анализа литературных данных автором корректно сформулированы цели и задачи диссертационной работы, а именно научно обосновать получение замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов для производства кисломолочных продуктов, для чего необходимо изучить влияние таких факторов, как таксономическая принадлежность микроорганизмов; состав сред, условия культивирования и параметры клеточной суспензии; режимы замораживания на выживаемость клеток лактобактерий и качество замороженной бактериальной закваски.

Во второй главе приведено описание организации работы, объектов и методов исследования, приведена схема исследований. Данный раздел написан очень подробно и подтверждает разнообразие использованных диссертантом методов и хорошее владение современным арсеналом приборов, в том числе лиофилизации и криогранулирования.

В третьей главе, разбитой на 10 подразделов, представлены результаты исследований и их обсуждение.

В первом разделе представлены результаты по выделению и идентификации штаммов культур в состав консорциума, проведена оценка способности к сбраживанию молока и изучены морфологические, культуральные и физиолого-биохимические показатели микроорганизмов.

Во втором разделе третьей главы непосредственно изложены данные экспериментов по изучению влияния условий культивирования на жизнеспособность клеток молочнокислых микроорганизмов. В результате подобран и оптимизирован состав питательной среды, позволяющей получить наибольшее количество жизнеспособных клеток.

В третьем и четвертом разделах третьей главы представлены результаты изучения динамики развития жизнеспособных клеток молочнокислых микроорганизмов в культуральной жидкости. Проведено исследование влияния фазы роста культур на выживаемость бактериальных клеток в процессе замораживания при температурах минус 20°C, минус 30°C, минус 40°C, минус 50°C и минус 195,8°C.

В пятой главе изложены аппроксимированные результаты влияния вязкости суспензии микроорганизмов на выживаемость клеток при замораживании. Получены результаты выживаемости микроорганизмов при замораживании суспензии для получения гранул сферической формы. Изучены физические характеристики суспензий, влияющие

на скорость её подачи в жидкий азот через диспергирующее устройство, на интенсивность замораживания, на качество конечного продукта, на выживаемость микроорганизмов в процессе замораживания–размораживания и хранения, на внешний вид полученных гранул при криогранулировании и на дальнейшее их использование в промышленности, в том числе на последующих стадиях переработки, – например, лиофилизацию.

В шестом разделе изложен процесс замораживания молочнокислых микроорганизмов методом криогранулирования, описаны основные этапы: диспергирование, замораживание в парах жидкого азота, замораживание в жидком азоте. Проведена серия испытаний по исследованию влияния диаметра гранул на продолжительность замораживания.

В седьмом разделе изучено два способа замораживания заквасок молочнокислых микроорганизмов: в виде отдельных гранул и «монолитом», и два способа размораживания – с постоянной скоростью и ступенчатое. В результате обработки данных подтвержден выбор замораживания суспензии в виде криогранул, позволяющий получить более однородную структуру биопродукта по сравнению с процессом замораживания «монолитом».

В восьмом разделе проведён ряд исследований с целью определения наиболее эффективной суспензионной среды для увеличения выживаемости молочнокислых микроорганизмов.

В девятом разделе представлены результаты, доказывающие, что после замораживания активность молочнокислых микроорганизмов значимо не меняется, интенсивность кислотообразования достоверно не отличается, морфологические характеристики клеток молочнокислых микроорганизмов после замораживания остались без изменения.

В десятом разделе третьей главы представлены результаты изучения влияния параметров криогранулирования на процесс лиофилизации замороженных гранул и выживаемость бактериальных клеток.

Представлены выводы к третьей главе.

В четвёртой главе представлена технология производства концентрированной замороженной закваски молочнокислых микроорганизмов, установлен рекомендуемый срок годности закваски и режим сквашивания. На основании проведенных исследований разработан СТО 00419785-057-2021 «Закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Streptococcus thermophilus* прямого внесения для творага».

В пятой и шестой главах представлена апробация разработанной концентрированной замороженной закваски в технологии производства творага и проведена сравнительная оценка эффективности полученной закваски в сравнении с импортными аналогами. Показано, что применение разработанной концентрированной закваски обеспечивает нормальное протекание технологического процесса производства творага и сметаны, и позволяет получить продукты с органолептическими, физико-химическими и морфологическими характеристиками, соответствующими нормативным требованиям для данных видов кисломолочной продукции.

Таким образом, основные положения диссертации подтверждены результатами проведенных экспериментов и получили обоснование в тексте работы.

### **Практическая значимость диссертационной работы**

Диссертация Жарко М.Ю. имеет несомненную практическую значимость. Разработана технология производства замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов, обеспечивающая содержание жизнеспособных клеток не менее  $10^{10}$  КОЕ/г на конец срока годности, утверждён в установленном порядке СТО 00419785-057-2021 «Закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Streptococcus thermophilus* прямого внесения для

творога» и осуществлена опытно-промышленная апробация разработанной технологии. Разработан технологический регламент применения разработанной замороженной концентрированной закваски в производстве творога и сметаны. Доказано, что по основным показателям разработанная замороженная концентрированная закваска молочнокислых микроорганизмов не уступает импортным аналогам, доминирующим на российском рынке.

### **Апробация работы**

Основные положения и результаты работы представлены и доложены на 4-х международных научно-практических конференциях.

По результатам работы опубликовано 5 работ, в том числе 4 из списка ВАК.

Диссертация и автореферат соответствуют требованиям положения «О порядке присуждения ученых степеней».

### **Вопросы и замечания при анализе диссертации**

В целом, впечатление от диссертационной работы Жарко М.Ю. положительное, в то же время к рассматриваемой диссертационной работе можно высказать несколько незначительных замечаний и пожеланий.

1. В разделе «Оглавление» отсутствует пункт «Глава 1. Обзор литературы».

2. В разделе «Методы исследований» отсутствует указание марки и производителя использованных в работе реактивов.

3. В подразделе 3.1. «Выделение штаммов культур молочнокислых микроорганизмов, определение морфологических и биохимических свойств штаммов» раздела «Результаты собственных исследований» представленные на рисунках 3.1 и 3.2 фото результатов идентификации полученных изолятов микроорганизмов с использованием тест-системы API 50 CHL было бы логичнее представить в Приложении, или же представить рисунки на отдельных страницах без нарушения их целостности.

4. В подписях ко многим рисункам отсутствует расшифровка используемых сокращений, например, рис. 3.20, 3.22, 3.25.

5. Рисунок 3.17 не понятен, при этом в тексте отсутствует описание того, что на нём диссертант хотел отобразить. Фраза «Поведение гранул различного диаметра при гранулировании в жидком азоте представлено на рисунке 3.17» не сопровождается далее подробным описанием того, что мы видим на этом рисунке.

6. Раздел 3 «Результаты собственных исследований» содержит 10 подразделов было бы логичнее представить выводы по каждому подразделу.

7. В подписи к рисунку 4.3 «Изменение активной кислотности при ферментации молока при температуре  $30\pm 1$ ,  $32\pm 1$ ,  $38\pm 1^\circ\text{C}$ » указаны только 3 температуры, в то время как на самом рисунке представлено 9 кривых, при этом качество рисунка не позволяет понять какая кривая какой температуре в подписи соответствует.

8. В работе при описании наблюдаемых отличий не указывается уровень статистической значимости (P-value).

Однако отмеченные недостатки носят частный характер или являются пожеланиями и ни в коей мере не снижают общей положительной оценки диссертации

Использованные в работе Жарко М.Ю. современные методы исследований подтверждают высокий научно-методический уровень рассматриваемой диссертации. Результаты, полученные диссертантом, достоверны, сформулированные положения и выводы обоснованы. Данные, представленные в диссертации, неоднократно докладывались на представительных научных конференциях. Опубликованные печатные работы и автореферат правильно отражают содержание рассматриваемой диссертации.

### **Заключение**

Таким образом, можно сделать заключение, что диссертация Жарко Марии Юрьевны «Разработка замороженной концентрированной закваски молочнокислых

микроорганизмов», представленная на соискание ученой степени кандидата технических наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для области пищевых производств, касающейся получения замороженных концентрированных заквасок для изготовления ферментированных молочных продуктов.

По актуальности, объёму проведенных исследований, научно-методическому уровню, новизне и практической значимости полученных результатов настоящая работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальностям 4.3.3. Пищевые системы.

Официальный оппонент  
Федорова Татьяна Васильевна

Адрес: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.

Раб. тел.: +7 (495) 952-87-99; моб. 8(905)506-99-77;

факс 8(495)954-27-32; эл. почта: fedorova\_tv@mail.ru

Федеральное государственное учреждение

«Федеральный исследовательский центр

«Фундаментальные основы биотехнологии»

Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН),

Заведующий лабораторией молекулярных основ биотрансформаций,

Кандидат технических наук по специальности 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ (сейчас 2.7.1.).

Подпись Федоровой Т.В. заверяю

Ученый секретарь ФИЦ Биотехнологии РАН

К.б.н. Орловский Александр Федорович.

Тел.: 8(495)954-40-07; эл. почта: orlovsky@inbi.ras.ru

«14» августа 2023 г.

