

Министерство науки и высшего
образования РФ

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования

**«ВОРОНЕЖСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ»**

394036 г. Воронеж,
пр. Революции, 19
Тел. +7(473) 255-42-67, 255-35-21,
Факс +7(473) 255-42-67
E-mail: post@vsuet.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ВО «Воронежский
государственный университет
инженерных технологий», кандидат
физико-математических наук

Н.И. Репников

№ 0005-427/1 от « 20 » 03 2026 г.

« 20 »

03

2026 г.



**ОТЗЫВ
ведущей организации**

Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Воронежского государственного университета инженерных технологий» (ФГБОУ ВО «ВГУИТ») о диссертационной работе Кишиловой Светланы Анатольевны на тему: «Разработка методических подходов к оптимизации контроля *Pseudomonas aeruginosa* на молочных производствах», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальностям 4.3.5. – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ и 4.3.3. – Пищевые системы

Актуальность темы диссертационной работы

Актуальность темы связана с обеспечением безопасности и качества молочной продукции. Во всем мире отмечается рост устойчивости нежелательных микроорганизмов как к действию биоцидных препаратов, так и к технологическим воздействиям. Условно-патогенная психротрофная бактерия *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) является распространенным контаминантом пищевых продуктов, в частности молочных. *P. aeruginosa* способна активно образовывать биопленки на поверхности молочно-хозяйственного оборудования и обладает высокой степенью адаптации к антимикробным воздействиям.

Получены зависимости эффективности элиминации *P. aeruginosa* от температурно-временных параметров среды при исследовании технологически значимых режимов пастеризации и хранения молока, а

также научно обоснованы рекомендуемые температурно-временные параметры обработки молока для подтвержденной элиминации клеток *P. aeruginosa*. Доказана необходимость корректировки режимов пастеризации при риске контаминации *P. aeruginosa* и важность мониторинга реактивации термически поврежденных клеток бактерии при холодильном хранении молочной продукции.

Показана вариабельность штаммов *P. aeruginosa*, циркулирующих на молочных производствах, относительно чувствительности к биологическим (молочнокислым бактериям, грибковой кефирной закваске и синегнойному бактериофагу) и химическим антимикробным агентам.

Доказана необходимость подтверждения эффективности рабочих концентраций используемых дезинфицирующих средств и их ротации для недопущения формирования резистентности у бактерий.

Установлена перспективность применения грибковой кефирной закваски и молочнокислых культур, как дополнительного барьера против *P. aeruginosa*.

Таким образом, разработка методических подходов к оптимизации контроля *P. aeruginosa* на молочных производствах представляет собой важное направление, способствующее как научному прогрессу, так и обеспечению населения безопасной и качественной молочной продукцией.

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

Степень обоснованности и достоверности является высокой и подтверждается комплексом проведенных исследований. Стратегия работы основана на научно-методологическом подходе, включающем детальное описание задач, разработку структурированного и аргументированного плана эксперимента. В процессе исследования использовалась современная материально-техническая база с применением стандартизованных и общепринятых методов, обеспечивающих точность и воспроизводимость полученных данных. Достоверность результатов подтверждается многократной повторностью эксперимента и статистической обработкой массива данных. Это обеспечивает надежность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Полученные результаты доложены на различных научных площадках, включая международные и всероссийские конференции. Уровень исследований подтверждается публикацией 14 печатных работ, в том числе 6 статей, рецензируемых ВАК РФ и 4 работ в изданиях, индексируемых в международных базах научного цитирования Scopus и/или Web of Science.

Научная новизна диссертации и личный вклад соискателя в разработку научной проблемы

Научная новизна диссертационного исследования и полученных результатов заключается в следующих ключевых положениях:

- получены зависимости эффективности элиминации *P. aeruginosa* от температурно-временных параметров среды при исследовании технологически значимых режимов пастеризации и хранения молока;

- научно обоснованы рекомендуемые температурно-временные параметры обработки молока для подтвержденной элиминации клеток *P. aeruginosa*. Показана способность реактивации термически поврежденных клеток *P. aeruginosa* при хранении молока;

- показана вариабельность штаммов *P. aeruginosa*, циркулирующих на молочных производствах, относительно чувствительности к биологическим и химическим антимикробным агентам;

- установлена перспективность применения грибковой кефирной закваски и молочнокислых культур, как дополнительного барьера против *P. aeruginosa*.

Личный вклад соискателя включает проведение полного цикла экспериментальных исследований. В ходе работы соискателем лично выполнены все ключевые этапы: от постановки целей и задач до разработки нормативного документа. Автором самостоятельно осуществлен выбор и обоснование методологического подхода, проведен полный цикл экспериментальных исследований, включая проведение микробиологического мониторинга на предприятиях, выделение и идентификацию штаммов, изучение их морфологических, культуральных, биохимических свойств, эффективности действия биологических и химических антимикробных агентов на рост штаммов *P. aeruginosa*, изучение эффективности элиминации *P. aeruginosa* в зависимости от температурно-временных параметров среды при исследовании режимов пастеризации и хранения молока. Полученные данные были систематизированы и проанализированы. Это позволило разработать СТО (Методические Рекомендации) по оптимизации контроля *P. aeruginosa* при производстве молочной продукции. Апробация разработанного СТО ВНИМИ (МР) осуществлена на базе предприятий молочной отрасли. Все разделы диссертации, включая теоретическую и экспериментальную части, подготовлены автором самостоятельно на основании проведенных исследований.

Результаты диссертационной работы имеют большое значение для развития научных знаний, позволяющих совершенствовать подходы к обеспечению безопасности молочной продукции.

Учитывая практическую значимость полученных в работе результатов, рекомендуется их использовать по нескольким направлениям:

1. Теоретические и практические материалы должны явиться основанием для проведения дальнейших исследований в области безопасности молочной продукции.

2. Разработанные методические решения использовать для внедрения на предприятиях молочной промышленности.

3. Использовать результаты научных исследований в учебном процессе Вузов, реализующих основные образовательные программы подготовки по направлениям «Биотехнология», «Продукты питания растительного и животного происхождения», а также, в системе послевузовского образования.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней»

Диссертационная работа и автореферат Кишиловой Светланы Анатольевны соответствуют требованиям ВАК РФ. Работа является научно-квалификационной, обладает теоретической и практической значимостью. В диссертации содержится решение научной задачи, имеющее существенное значение для развития молочной промышленности. Диссертационное исследование содержит новые научные положения и результаты их практической реализации.

Диссертация Кишиловой С.А. соответствует п.п. 3 и 26 паспорта специальности 4.3.5. – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ и п.п. 5, 16, 17 паспорта специальности 4.3.3. – Пищевые системы.

Основные научные результаты работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях. Количество публикаций удовлетворяет требованиям к соискателям на ученую степень кандидата технических наук согласно «Положению о присуждении ученых степеней», утвержденному Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. № 842 (ред. от 25.01.2024).

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Введение диссертационной работы обосновывает ее актуальность, сформулированы цели и задачи исследования, аргументирована научная новизна, практическая значимость работы и основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен анализ научно-технической литературы, посвященной общей характеристике и особенностям *Pseudomonas aeruginosa*, ее распространению в окружающей среде, метаболическим характеристикам. Проанализированы литературные источники,

посвященные порокам молочной продукции, вызываемых *P. aeruginosa*, рискам персистенции данной бактерии на молочных производствах и комплексной оценке безопасности в пищевой отрасли; формированию устойчивости *P. aeruginosa* к антимикробным веществам и к технологическим воздействиям, а также методам контроля данного микроорганизма.

Во второй главе описаны объекты исследования, методы работы (микробиологические, биохимические и статистические) и схема проведения исследований. Описаны этапы проведения экспериментальной работы.

Третья глава диссертационной работы представляет собой детальное экспериментальное исследование, посвященное разработке методических подходов к оптимизации контроля *Pseudomonas aeruginosa* на молочных производствах. На первом этапе был проведен мониторинг санитарного состояния ряда молочных предприятий, в результате которого были выделены и идентифицированы штаммы *P. aeruginosa* дикого типа. Далее были изучены морфологические, культуральные, биохимические свойства выделенных штаммов. Определена чувствительности штаммов *P. aeruginosa* коллекционного и выделенных к антибиотикам. Выявлены отличия в ферментативной активности коллекционного и выделенных штаммов *P. aeruginosa*. Для выделенных штаммов была характерна более высокая ферментативная активность. Проявление протеолитической активности зависело как от штамма, так и от температуры культивирования. На следующем этапе проводили изучение эффективности действия биологических антимикробных агентов на рост штаммов *P. aeruginosa*, включавших изучение действия синегнойного бактериофага и определение антимикробной активности штаммов молочнокислых бактерий и грибковой кефирной закваски в отношении *P. aeruginosa*. Показано, что бактерии *P. aeruginosa*, в том числе циркулирующие на одном предприятии, обладают разным фаготипом. В результате исследований показана различная степень антагонистической активности представителей коллекционных производственно-значимых МКБ по отношению к штаммам *P. aeruginosa* коллекционного и дикого типа. Подтверждена высокая антагонистическая активность грибковой кефирной закваски, коллекционных лактобацилл *L. helveticus* Ббн4, *L. helveticus* NK1, и их метаболитов относительно условно-патогенных бактерий *P. aeruginosa*, как коллекционного типового штамма, так и выделенных штаммов. На следующем этапе изучали эффективность элиминации *P. aeruginosa* в зависимости от температурно-временных параметров среды при исследовании технологически значимых режимов пастеризации и хранения молока. В результате проведенных исследований показана способность отдельных клеток выдерживать тепловую обработку, предусмотренную некоторыми технологическими режимами и возможность

реактивации покоящихся форм *P. aeruginosa* при холодильном хранении. Установлена эффективность элиминации клеток *P. aeruginosa* при температуре $(72\pm 2)^\circ\text{C}$ и выдержке 15 мин, при температуре $(76\pm 2)^\circ\text{C}$ с выдержкой 5 минут и более при температуре $(85\pm 2)^\circ\text{C}$ и выдержке 10 мин. Исследование чувствительности штаммов *P. aeruginosa* к действию биоцидных препаратов установило различную чувствительность штаммов к средствам на основе ДХЦН и высокую выживаемость клеток *P. aeruginosa* в растворе ПАВ – аминоксида. Эффективное биоцидное действие отмечено только при повышенной концентрации ДХЦН 585 мг/дм^3 .

Экспериментальная часть работы представляет собой законченное исследование, в котором последовательно решены все поставленные задачи: от выделения штаммов *P. aeruginosa* при мониторинге санитарного состояния молочных производств до разработки СТО ВНИМИ (МР) «Оптимизация контроля *Pseudomonas aeruginosa* при производстве молочной продукции». Результаты работы имеют теоретическую и практическую ценность, подтверждены публикациями и апробацией на конференциях. Разработанные СТО (МР) готовы к внедрению на производствах.

Выводы отражают результаты поставленных в работе задач.

Вопросы, замечания и рекомендации по диссертационной работе

По результатам анализа диссертационной работы выявлены следующие вопросы:

1. На странице 45 указано, что степень протеолиза оценивали визуально, по наличию зоны просветления на молочном агаре. Было бы целесообразно использовать дополнительные методы, например, белковый электрофорез с использованием полиакриламидного геля или количественный метод с использованием 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты.

2. На страницах 65-72 описано действие синегнойного бактериофага на штаммы *P. aeruginosa*. Возник вопрос – почему сделан вывод о нецелесообразности применения бактериофага, хотя некоторые штаммы показали высокую чувствительность к его действию?

3. При изучении эффективности действия биоцидных препаратов на элиминацию штаммов *P. aeruginosa* (стр.102-103) в качестве биоцидного препарата был взят дихлоризоцианурат натрия. С чем связан выбор данного препарата?

4. При изучении эффективности элиминации *P. aeruginosa* в зависимости от температурно-временных параметров среды при исследовании режимов пастеризации и хранения молока (стр.91-97) период

холодильного хранения составил 14 суток. С чем связан выбор такого временного периода?

5. На стр. 65 диссертации указано, что все выделенные штаммы показали высокую протеолитическую активность. Оценивал ли автор остаточную протеолитическую активность в молоке непосредственно после температурной обработки? Это позволило бы разделить вклад в порчу продуктов двух факторов: реактивации живых клеток и действия термостойких ферментов, накопленных в сыром молоке до нагрева. Литературные данные указывают, что именно термостабильные ферменты, а не только рост выживших бактерий, являются основной причиной порчи молока при хранении.

6. На стр. 87 диссертации автор говорит, что у *Lactobacillus helveticus* NK1 обнаружен белок, показавший высокую степень гомологии с SLAP-домен содержащим белком (MBU5980144.1), и предполагает, что этот белок обладает лизоцимоподобным действием за счет домена пептидогликангидролазы. Было ли это предположение подтверждено экспериментально *in vitro* (например, в тесте на лизис клеточных стенок)?

Поставленные вопросы не снижают ценность выполненной работы и носят дискуссионный характер.

Заключение

Диссертация Кишиловой Светланы Анатольевны на тему: «Разработка методических подходов к оптимизации контроля *Pseudomonas aeruginosa* на молочных производствах» является научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных исследований представлен комплексный теоретический и практический подход к контролю штаммов *P. aeruginosa* при производстве молочной продукции.

Представленные данные отличаются высокой степенью достоверности и подтверждаются значительным объемом экспериментального материала, а разработанный СТО ВНИМИ (МР) обладает выраженной прикладной значимостью.

По актуальности, новизне, содержанию, оформлению и практической значимости диссертационная работа соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (в ред. от 16.10.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Кишилова Светлана Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальностям 4.3.5. – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ и 4.3.3. – Пищевые системы.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры биохимии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий».

Присутствовало на заседании кафедры биохимии и биотехнологии 16 чел. В обсуждении приняли участие 16 чел. Результаты голосования: «за» - 16 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол №9 от «18» марта 2026 г.

Отзыв подготовили:

Доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой биохимии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
университет инженерных технологий»


Корнеева Ольга Сергеевна

Кандидат биологических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник лаборатории
метагеномики и пищевых биотехнологий
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
университет инженерных технологий»


Сыромятников Михаил Юрьевич

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий (ВГУИТ).

Адрес: 394036, Россия, Воронеж, пр. Революции, д.19

Веб-сайт: <https://vsuet.ru>

e-mail: post@vsuet.ru

Телефон: +7 (473) 255-42-67

