

В совет по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.515.01 на базе федерального государственного автономного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора технических наук, доцента Белявской Ирины Георгиевны на диссертационную работу Локачук Марины Николаевны на тему: «Исследования микробиома заквасок и разработка микробного консорциума для совершенствования технологии хлебобулочных изделий», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по научным специальностям 4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ (технические науки), 4.3.3. Пищевые системы (технические науки).

Актуальность темы диссертационного исследования

Хлебобулочные изделия являются важным продуктом питания населения страны, присутствующим в ежедневном рационе человека и занимающим существенную долю потребительской корзины. В соответствии со Стратегией повышения качества продуктов питания в РФ до 2030 года и Указом Президента Российской Федерации от 18 июня 2024 г. № 529 «Об утверждении приоритетных направлений научно-технологического развития и перечня важнейших наукоемких технологий», где в перечне важнейших наукоемких технологий значатся технологии персонализированного, лечебного и функционального питания для здоровьесбережения, повышение качества и безопасности хлебобулочных является приоритетным направлением пищевой промышленности. Развитие ассортимента и технологий хлебобулочных изделий для здорового питания сопряжено с решением ряда задач, возникающих на этапах индустриального производства - от выбора сырьевых компонентов, обладающих различными хлебопекарными свойствами, формирования микробиологического состава хлебопекарных полуфабрикатов до сохранения качественных безопасных показателей готовой продукции при её потреблении.

Одним из способов совершенствования показателей качества, в том числе безопасности хлебобулочных изделий является применение заквасок, приготовленных с использованием стартовых микробных консорциумов, содержащих бактерии и дрожжи. В настоящее время отмечается ренессанс технологий хлебобулочных изделий на заквасках, что обусловлено осознанным выбором потребителей пищевой продукции здорового питания. Применение заквасочных полуфабрикатов в промышленном производстве позволяет сформировать высокие органолептические и физико-химические показатели

продукции, улучшить вкус, аромат, снизить крошковатость мякиша изделий, замедлить микробную порчу при их хранении. Исследование микробиома заквасочных полуфабрикатов, селекция новых высокоактивных штаммов бактерий и хлебопекарных дрожжей, разработка отечественных микробных консорциумов формируют направления развития технологии хлебобулочных изделий с высокими стабильными показателями качества и безопасности продукции здорового питания.

С учетом вышеизложенного, диссертационная работа Локачук Марины Николаевны, направленная на разработку микробного консорциума для совершенствования технологии хлебобулочных изделий с использованием ржаной муки, является своевременной и актуальной.

Оценка объема, структуры и содержания диссертационной работы.

Структура диссертации включает введение, обзор литературы по теме исследований, описание организации работы, характеристику материалов и методов исследования, экспериментальную часть с результатами исследований и их обсуждением, список литературы, приложения. Текст диссертации изложен на 156 страницах, содержит 32 рисунка, 31 таблицу. Список литературы включает 143 наименований, в том числе 114 иностранных источников.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы, анализирует степень ее разработанности, формулирует цель и задачи исследования; представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы; методология и методы исследования; перечислены положения, выносимые на защиту, а также результаты апробации.

В первой главе представлен анализ отечественных и зарубежных литературных источников, содержащих информацию о таксономическом составе микробиома заквасок, преимуществах применения заквасок в технологии хлебобулочных изделий, особенностях приготовления теста из ржаной муки, микробных консорциумах, применяемым в настоящее время для приготовления ржанных заквасок на хлебопекарных предприятиях.

Во второй главе представлена структурная схема исследований, приведены материалы и методы исследований. В работе использовались общепринятые и специальные методы исследований для оценки физико-химических, органолептических, микробиологических показателей сырья, полуфабрикатов (закваска, тесто) и готовых хлебобулочных изделий, в том числе генетический анализ микробных сообществ заквасок с направленным культивированием микроорганизмов и спонтанного брожения проведен с использованием метода высокопроизводительного секвенирования фрагментов гена 16S рПНК на платформе MiSeq (Illumina). Для определения влияния заквасок на устойчивость хлеба к плесневению и меловой болезни проводили модельные опыты с заражением его стерильных ломтиков тест - штаммами *Penicillium chrysogenum* F601, *Cyberlindnera fabianii* Y527, *Pichia kudriavzevii* Y502, *Wickerhamomyces anomalus* Y506.

Третья глава представляет результаты исследований и их обсуждение. В разделе 3.1 представлены результаты исследования микробиологических показателей проб муки ржаной хлебопекарной обдирной и обойной, применяемых в работе для приготовления заквасок. Автором установлено, что образцы муки,

выработанные разными изготовителями, различаются по микробной обсемененности и составу микробиома.

В разделе 3.2 представлены исследования по влиянию изменения состава бактериального микробиома ржаных заквасок с направленным культивированием микроорганизмов в процессе их ведения на биотехнологические свойства полуфабрикатов и показатели качества хлеба ржаного формового из обдирной муки. Показано, что в процессе ведения ржаных заквасок происходит вытеснение стартовых культур молочнокислых бактерий, вносимых в I фазу разводочного цикла, с заменой на другие виды лактобацилл. Установлено, что доминирование гетероферментативного вида *F. sanfranciscensis* в густой ржаной закваске длительного ведения приводит к увеличению кислотности и содержания летучих кислот в ржаном хлебе, снижению количества спирта, что положительно влияет на органолептические показатели и повышение устойчивости к плесневению.

В разделе 3.3 приведены результаты исследования влияния изменения микробиома заквасок спонтанного брожения на их биотехнологические свойства и показатели качества ржаного хлеба. Установлен состав микробиоты молодых ржаных заквасок спонтанной ферментации, подтверждено его изменение в результате последовательных освежений водно-мучной питательной смесью, установлены технологические режимы приготовления густых ржаных и жидких ржаных заквасок спонтанного брожения для выработки хлеба ржаного из обдирной муки формового и хлеба ржаного «Простого» с соответствием по физико-химическим и органолептическим показателям требованиям ГОСТ 2077-2023.

В разделе 3.4 представлены результаты разработки микробного консорциума для густых ржаных заквасок на основе штамма молочнокислых бактерий с высокими биотехнологическими свойствами. Выделенные из зрелых густых ржаных заквасок активные штаммы молочнокислых бактерий исследованы с определением морфологических, культуральных и биотехнологических свойств. В результате отобран штамм *F. sanfranciscensis* B131, на основе которого создан новый микробный консорциум, обеспечивающий высокие биотехнологические свойства закваски в разводочном и производственном циклах.

В разделе 3.5 представлены результаты исследования влияния на показатели качества и сроки годности хлебобулочных изделий густой ржаной закваски на основе разработанного микробного консорциума. Установлено, что хлебобулочные изделия с использованием ржаной муки, приготовленные на густой ржаной закваске, имеют повышенное содержание уксусной кислоты, что приводит к улучшению их вкуса и запаха. Продемонстрировано, что применение густой ржаной закваски позволяет увеличить сроки годности хлеба ржаного из обдирной муки формового за счет замедления черствения и повышения устойчивости к микробной порче, заварных хлебобулочных изделий - за счет повышения устойчивости к микробной порче.

В разделе 3.6 разработаны технологическая схема приготовления и ведения ржаной закваски «Деревенская» на созданном микробном консорциуме, а также технологическая схема производства хлеба из ржаной обдирной муки на густой ржаной закваске «Деревенская». Показано, что применение нового микробного консорциума позволяет сократить разводочный цикл приготовления закваски, за счет исключения II и III фазы, что сокращает продолжительность технологического

процесса, обеспечивая при этом высокое качество и безопасность хлебобулочных изделий. Представлен расчет экономической эффективности внедрения разработанного отечественного микробного консорциума.

В выводах представлены основные результаты проделанной работы, соответствующие поставленным задачам, определенным соискателем.

В приложениях к диссертации приведены материалы, подтверждающие апробацию и практическую значимость полученных результатов выполненных работ.

Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации, содержит основные этапы исследования, полученные результаты и сформулированные выводы. Работа представляет собой законченное научное исследование, изложенное последовательно и логично, стиль написания является аргументированным и обоснованным.

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

Обоснованность научных положений и разработок, выполненных в Санкт-Петербургском филиале ФГАНУ НИИХП, выводов и рекомендаций, представленных в диссертационной работе, подтверждается значительным объемом выполненных теоретических и экспериментальных исследований с использованием поверенных аттестованных приборов, современных физико-химических методов анализа, статистической математической обработкой результатов эксперимента, совпадением результатов опытно-промышленной апробации с результатами лабораторных исследований.

Обоснованность полученных результатов подтверждена 13 публикациями, из которых 8 опубликованы в журналах рекомендованных ВАК РФ, подана заявка № 2025135487 от 12.12.2025 г. «Новые стартеры для ржанных заквасок и способ их применения». Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на многочисленных научных конференциях, в том числе международных с 2021 г. по 2025 г.

Достоинством диссертационной работы является проведение совместных исследований на базе ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации не противоречат классической теории формирования качества и потребительских свойств хлебобулочных изделий, подтверждены экспериментальными исследованиями, логичны и последовательны.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Использованные в диссертации методы исследований, постановка экспериментов, теоретические и практические результаты полностью соответствуют цели и задачам работы. Достоверность и новизна научных положений диссертационной работы подтверждается значительным объемом полученных с использованием стандартных и специальных методов исследования экспериментальных данных, их статистической обработкой.

Диссертационное исследование отвечает критерию научной новизны, которая заключается комплексном теоретическом и экспериментальном обосновании формирования таксономического состава микробиома ржаных заквасок, оказывающее положительное влияние биотехнологические свойства полуфабрикатов и качество хлебобулочных изделий с применением ржаной хлебопекарной муки.

К наиболее значимым составляющим элементам научной новизны следует отнести следующее:

Установлено изменение таксономического состава микробиома на уровне семейства *Lactobacillaceae* отечественных хлебопекарных ржаных заквасок с направленным культивированием в процессе их ведения, обусловленное доминированием лактобацилл видов *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, *Limosilactobacillus pontis* и *Lactobacillus helveticus*, оказывающее положительное влияние на биотехнологические свойства полуфабрикатов и качество хлебобулочных изделий.

Применением метода высокопроизводительного секвенирования впервые установлен состав микробиома отечественных ржаных заквасок спонтанного брожения и показано, что в начальный период ведения преобладают нехарактерные представители филумов *Proteobacteria* и *Firmicutes*, которые при дальнейшем ведении закваски вытесняются лактобациллами видов *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, *Limosilactobacillus pontis*, *Companilactobacillus paralimentarius*, способствующих стабилизации микробиома и улучшению биотехнологических свойств закваски.

Установлено, что исходная микрофлора ржаной муки не определяет состав микробиома спонтанных заквасок, поскольку его формирование главным образом зависит от технологических параметров их ведения.

Продукты метаболизма нового штамма *Fructilactobacillus sanfranciscensis* в составе микробного консорциума для закваски обеспечивают улучшение вкусо-ароматического профиля хлебобулочных изделий, повышают их микробиологическую стойкость и замедляют процесс черствения мякиша при хранении.

Полученные научные результаты практически закреплены разработкой, утверждением и внедрением технологических инструкции: по производству микробного консорциума и приготовлению ржаной закваски «Деревенская» на его основе.

Разработаны технологические решения по улучшению органолептических и физико-химических показателей качества хлебобулочных изделий и повышению их устойчивости к микробной порче.

Результаты исследований использованы при формировании основополагающих терминов при создании отраслевого документа ГОСТ 32677-2025 «Хлебопекарное производство. Термины и определения».

Результаты исследований, научные рекомендации и выводы применяются при реализации курсов повышения квалификации для научных сотрудников и специалистов хлебопекарной отрасли. Практическая часть работы подтверждена результатами промышленной апробации в условиях предприятий ООО «Опытный хлебозавод» (г. Москва), ООО «Здоровый хлеб» (г. Санкт-Петербург).

В диссертации представлены результаты научных исследований, имеющих существенное практическое значение, заключающееся в разработке стартового микробного консорциума на основе штамма *Fructilactobacillus sanfranciscensis* B131, обеспечивающего стабильное качество и безопасность хлебобулочных изделий, выработанных на густой ржаной закваске. Разработанный отечественный микробный консорциум обладает потенциалом для импортозамещения в хлебопекарной отрасли.

При положительной оценке диссертации в целом следует отметить некоторые вопросы, замечания и пожелания:

1. В главе 2.3.6 диссертации подробно излагается методика определения степени черствости мякиша хлебобулочных изделий, которую оценивали в соответствии с ГОСТ Р 70085-2022. Полагаю, что в таком случае подробное в описание методики определения необходимо в случае её корректировки или усовершенствования.

2. Глава 3.1. посвящена исследованию микробной обсемененности ржаной муки как фактора, влияющего на микробиом заквасок, соискателем изучено 7 проб муки различных производителей. Было ли отмечено влияние технологии производства ржаной муки на микробиологические показатели исследуемых проб?

3. Параметры созревания заквасок являются одним из определяющих факторов их микробиологического состава. В связи с этим, недостаточно обоснованными являются параметры созревания как густых, так и жидких ржаных заквасок спонтанного брожения, изучение микрофлоры которых (глава 2.3.7) проводили при температуре их созревания 17-18°C. После контроля качества закваски помещали в холодильник (температура 4-6 С) на 3 суток для консервации при перерывах в работе с целью замедления процесса кислотонакопления и сохранения заквасочной микробиоты в активном состоянии. Применение консервации при приготовлении заквасок могли повлиять как на состав микрофлоры, так и на ее активность.

4. Изучение показателей качества заквасок проводили по показателю подъемной силы, основанному на определении плотности полуфабрикатов. Целесообразно было изучить динамику их газообразования с применением специализированных приборов и установить корреляционные зависимости между этими показателями.

5. При изучении влияния применения заквасок на качество готовых изделий продолжительность брожения теста составляла 90 мин, целесообразно было установить оптимальную продолжительность брожения теста по снижению скорости газообразования полуфабрикатов.

6. Необходимо подтвердить стабильность параметров разработанной закваски при использовании муки ржаной муки хлебопекарной с пониженной автолитической активностью (показатель числа падения более 300 с).

7. Об активности молочнокислых бактерий в заквасках и изменении состава микробиома на уровне семейства *Lactobacillaceae* судили по содержанию летучих кислот, результат выражали в градусах и в процентах к титруемой кислотности. Для оценки активности дрожжевой микробиоты определяли

подъемную силу заквасок методом всплывающего шарика, выражая результат в минутах, и содержание спирта методом Мартена в его йодометрической модификации, выражая результат в процентах на сухое вещество. При этом, для установления интенсивности и направленности протекающих при созревании заквасок и теста целесообразно было определять динамику изменения показателей активной и титруемой кислотности, а также применить «безразмерный критерий Черныха», что позволило бы подтвердить оптимальные технологические параметры производства.

8. При исследовании биотехнологических свойств заквасок в производственном цикле, в также качественных характеристик ржаного хлеба некорректным является их сравнение при различных количественных режимах освежения закваски 40 и 44 (таблица 3 автореферата и 14 и 19 (таблица 5 автореферата) соответственно.

Указанные замечания не носят принципиальный характер и не снижают научной, практической и социальной значимости полученных результатов исследований, представляющих направление совершенствования технологии высококачественной и безопасной хлебопекарной продукции, отвечающей современным требованиям. Сделанные замечания носят частный характер, являются дискуссионными и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям Положения о присуждении ученых степеней

Оценивая диссертационную работу Локачук Марины Николаевны положительно, следует отметить, что проделана значительная аналитическая и экспериментальная работа.

Основные результаты работы и выводы соответствуют поставленной цели и задачам исследований.

Автореферат достоверно отражает основное содержание диссертационной работы, в нем приведен список публикаций по теме диссертации, в том числе в рецензируемых изданиях Белого списка, включенных в перечень ВАК при Минобрнауки России.

Диссертационная работа Локачук Марины Николаевны по содержанию, результатам экспериментальных исследований и практическому применению подтверждает соответствие пунктам 3, 28 паспорта научной специальности 4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ (технические науки) и пункту 4 паспорта специальности 4.3.3. Пищевые системы (технические науки).

Диссертационная работа соответствует критериям, изложенным в пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в актуальной редакции с изменениями и дополнениями от 18.07.2026 г.), предъявляемым к диссертационным работам, представленным на соискание учёной степени кандидата наук, является самостоятельно выполненной, завершённой научно-квалификационной работой, в которой изложены научно-обоснованные решения, имеющие существенное значение для пищевой и перерабатывающей

