

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Чесноковой Натальи Юрьевны на тему «Обоснование и разработка биотехнологии натуральных красителей и упаковочных материалов из антоциансодержащего сырья для пищевой промышленности», представленной на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности: 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ

Актуальность темы диссертационной работы

Цвет является одной из основополагающих характеристик широкого перечня продуктов питания, позволяющих потребителям косвенно судить о качестве продукта и определяющих его выбор. В России уверенно набирает популярность и значимость тренд «Чистая упаковка», что стимулирует спрос на продукты, в составе которых натуральные сырье и ингредиенты, в том числе красители. Натуральные красители, в частности антоцианы, обладают доказанной *in vitro* и *in vivo* терапевтической активностью: противовоспалительной, антиканцерогенной, antimикробной, способствуют облегчению окислительного стресса, профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения, снижению зрения, снижению сахара в крови и др. при доказанном отсутствии токсичности (ВОЗ 1982 г). Что обусловило в настоящее время увеличение спроса на них, с лидирующим положением красных красителей. Однако мировой рынок натуральных пищевых красителей ограничен в масштабах и ассортименте, что обусловлено, в том числе, сложностью технологии их получения и высокой стоимостью плодово-ягодного сырья, ресурсы которого из-за низкой глубины переработки и отсутствия инновационных технологических решений биоконверсии ягодных жомов используются далеко не в полной мере – 26–45 % потерь.

Используемые в пищевой промышленности красители должны отвечать ряду требований, основное из которых – абсолютная безопасность, которому не всегда соответствуют синтетические красители; имеются сведения о том, что потребление их содержащих продукты питания влечет возникновение аллергических реакций и нарушение обменных процессов. Важнейшее технологическое требование – высокая красящая способность и стабильность окраски на протяжении жизненного цикла продукта. Известно, что пигменты растительного происхождения являются весьма лабильными соединениями, деградация которых возможна как при производстве продуктов питания, так и при их хранении.

В связи с этим, совершенствование технологий выделения антоцианов из растительного сырья, их стабилизация и возможность их использования для создания экологически безопасной функциональной пищевой продукции, а также включение их в состав биоразлагаемой упаковки остается актуальным и позволяет внести значительный вклад в развитие здорового питания населения Российской Федерации и обеспечить безопасность продуктов для потребителя

Стоит отметить, что в сложившихся экономической, экологической и политической ситуации необходимо решать вопрос по поиску новых видов местного сырья для получения антоциановых красителей и глубокой переработки вторичных сырьевых ресурсов плодово-ягодного сырья.

Поэтому тема диссертационного исследования является несомненно *актуальной*, поскольку направлена на решение комплекса задач, сконцентрированных в цели – разработка теоретических и практических основ биотехнологии получения из культивированного и дикорастущего ягодного сырья Дальневосточного региона натуральных антоциановых красителей и создание на их основе функциональных и безопасных продуктов питания и упаковочных материалов.

Научная новизна диссертационной работы

Научная новизна результатов диссертационного исследования, выводов и рекомендаций не вызывает сомнения и в целом заключается в разработке принципов, подходов и механизмов создания устойчиво стабильных биологически активных комплексов антоцианов и биополимеров, предназначенных для использования их в качестве натуральных красителей в производстве функциональных продуктов питания, а также создание на их основе биосенсорных упаковочных материалов, позволяющих визуализировать контроль качества пищевых продуктов. Научная новизна диссертации Чесноковой Н.Ю. соответствует паспорту специальности ВАК РФ 05.18.07 пунктам 1, 3, 5, 10 и заключается в следующих положениях:

- научно обоснованы методологические подходы биотехнологии антоциановых красителей из ягод Дальневосточного региона и продуктов их переработки с максимальным извлечением антоцианов и сохранением ими биологической активности. Показана целесообразность и оптимизированы условия использования ультразвука, позволяющие сокращать время и увеличивать полноту экстрагирования антоцианов;
- впервые разработаны методологические подходы получения биологически активных комплексов, содержащих антоцианы и биополимеры – полисахариды и белки. Экспериментально обоснована и подтверждена гипотеза создания биологически активных комплексов антоцианов и анионных полисахаридов. Установлен механизм комплексообразования. Показано, что факторами, определяющими образование комплексов, содержащих антоцианы и полисахариды, являются заряд и природа функциональных групп полисахаридов, а также их содержание в растворе;
- впервые обосновано комплексообразование антоцианов и белков, выявлена зависимость комплексообразования от значений pH системы;
- определено, что комплексы, содержащие антоцианы и биополимеры – полисахариды и белки, обладают высоким биотехнологическим потенциалом;
- научно обоснованы рациональные параметры технологий кондитерских изделий с использованием антоциановых красителей, содержащих комплексы биологически активных веществ;

– впервые показано преимущество использования комплексов антоцианов и анионных полисахаридов для создания смарт упаковки.

Новизна предлагаемых технических решений подтверждена тремя патентами РФ: «Способ получения антоцианового красителя из ягодного сырья» (Патент № 2702598), «Состав для приготовления крема» (Патент № 2703153), «Способ приготовления крема» (Патент № 2702769).

Практическая значимость диссертационной работы

Практическая значимость представленной диссертационной работы очевидна и заключается в том, что ее основные методические положения и выводы сформулированы в виде конкретных рекомендаций и могут быть использованы на кондитерских предприятиях.

Экспериментально подтверждены новые технологические решения создания антоциановых красителей на основе комплексов антоцианов и биополимеров, а также обоснована целесообразность их использования для определенных групп кондитерских изделий.

На основе комплексов антоцианов и полисахаридов предложена технология получения антоцианового красителя для применения его в производстве сахаристых кондитерских изделий (Мармелад с добавлением антоцианового пигмента, выделенного из лимонника китайского СТО 02067942-02-2020).

На основе комплексов антоцианов и белков разработан натуральный безопасный антоциановый краситель для производства пастильных изделий (Зефир на основе яичного альбумина с добавлением антоцианового пигмента черной смородины СТО 02067942-032-2019).

С целью расширения сферы применения гидрофильных красителей, разработаны технологии окрашенного антоциансодержащего структурообразователя и натурального концентрированного красителя, содержащих комплекс биологически активных веществ, для производства масложировых композиций отделочных полуфабрикатов (Крем сливочный основной с добавлением окрашенного структурообразователя СТО 02067942-03-2020).

Разработана технология бисквита круглого («Буше») с использованием выжимок ягод, как источника антоцианов (Бисквит круглый («Буше») с добавлением выжимок из ягод черной смородины СТО 02067948-01-2020). 7

Научно обоснована и экспериментально подтверждена возможность использования комплексов, содержащих антоцианы и полисахариды, в качестве интеллектуальной упаковки, позволяющей контролировать свежесть рыбного сырья и активной упаковки для пролонгирования сроков хранения мучных кондитерских изделий (СТО 02067942-01-21 Пищевая съедобная пленка на основе агар-агара, содержащая антоцианы черной смородины).

Разработанные функциональные кондитерские изделия прошли производственную апробацию на базе ООО «Восточные сладости» (г. Владивосток).

Степень обоснованности основных научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации, а также их достоверность подтверждается глубоким анализом отечественной и зарубежной научно-технической литературы и патентных источников, применением методологии исследования, заключающейся в реализации теоретического понимания проблемы совершенствования технологий выделения антоциановых пигментов с образованием комплекса биополимеров, а также большим объемом экспериментального материала, применением инструментальных высокоинформационных методов анализа (ИК-спектроскопия, УФ-спектроскопия ВЭЖХ в MS/MS режиме) и современного оборудования, методов математического моделирования, статистической обработкой экспериментальных данных (MS Excel 2011, Statistica 10 Enterprise, 2011 («StatSoft, Inc. США»), согласованностью полученных результатов с представленными в работах ведущих исследователей в данной области теоретическими и экспериментальными данными, актами промышленной апробации и внедрения.

Полнота опубликованных результатов диссертационной работы

По теме диссертации опубликовано 32 научные работы, из них: 10 статей в журналах, рекомендуемых ВАК, 5 статей в международных изданиях, входящих в научометрические базы данных Scopus, 1 монография, 3 учебных пособия. Получено 3 патента Российской Федерации на изобретение.

Результаты и основные положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных, всероссийских и межрегиональных научно-практических конференциях, семинарах и форумах в период с 2015-2021 годы. Поэтому научные положения, выводы и рекомендации следует считать **обоснованными**.

Соответствие автореферата содержанию диссертации. Содержание автореферата и публикаций достаточно полно отражает содержание диссертационной работы.

Личный вклад соискателя в разработку исследуемой проблемы состоит в постановке и обосновании проблемы, разработке структуры и дизайна исследований, проведении теоретических и экспериментальных исследований, обработке и анализе полученных результатов, обобщении имеющихся материалов и подготовке их к публикации, организации внедрения результатов.

Анализ содержания диссертационной работы

Структура и объем диссертационной работы

Материал диссертации Чесноковой Н.Ю. изложен на 326 страницах, включает 67 таблиц, 94 рисунка и 410 литературных источника, в том числе 313 иностранных.

Диссертационная работа имеют традиционную структуру: введение, обзор литературы, экспериментальная часть (6 глав), заключение, список литературы и приложения.

Во **введении** изложена актуальность проблемы, освещена степень разработанности темы исследования, поставлена цель и раскрыта сущность решаемых задач, сформулированы научная концепция, научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, методология исследований, научные положения, выносимые на защиту; аргументирована степень достоверности результатов исследований и представлен информационный материал по их апробации; отражен личный вклад автора в разработку исследуемой проблемы; приведена информация о структуре и объеме диссертационной работы и количестве опубликованных работ по теме диссертации.

Глава 1 посвящена аналитическому обзору литературных данных в области исследования о строении, свойствах, способах выделения антоцианов и их использования в различных отраслях пищевой промышленности.

Автором глубоко проанализированы методы и биотехнологии выделения антоцианов из пищевого сырья, опубликованные сведения об их строении, свойствах и биологической активности.

Детально рассмотрены пищевые антоциановые пищевые красители из различных растительных источников и глубоко изучено состояние и вопроса по практическому применению в пищевой промышленности и существующим ограничениям, в том числе в технологии нетоксичной и биоразлагаемой упаковки.

Проведя анализ приведенных в литературе сведений, автор приходит к выводу, что существующие способы выделения позволяют эффективно проводить экстрагирование антоцианов из растительного сырья, получая при этом экстракты с довольно высоким их содержанием и обладающих выраженной биологической активностью; однако, большинство используемых экстрагентов для извлечения антоцианов токсичны, что ограничивает использование экстрактов на их основе для применения в качестве красителей в пищевой продукции; также, отмечает автор, исследований, посвященных использованию натуральных биополимеров в качестве экстрагентов для выделения антоцианов из растительного сырья, крайне мало. Природные биополимеры как правило нетоксичны и обладают способностью к электростатическим взаимодействиям и образованию стойких комплексов между антоцианами и биополимерами за счет присутствия в данных соединениях заряженных групп. Поэтому, как считает автор, использования данных комплексов в производстве пищевых продуктов позволило бы регулировать их цвет, консистенцию и технологические свойства. С этих позиций диссидентом обоснована целесообразность комплексного исследования по созданию устойчиво стабильных биологически активных комплексов антоцианов и биополимеров, предназначенных для использования их в качестве натуральных красителей в

производстве функциональных продуктов питания, а также создание на их основе биосенсорных упаковочных материалов, позволяющих визуализировать контроль качества пищевых продуктов.

Обзор научно-технической литературы и патентных источников позволил диссертанту аргументировано поставить цель и определить задачи и направления исследований.

Экспериментальная часть состоит из 6 глав.

Вторая глава посвящена организации экспериментальной части работы. Автором приведена наглядная схема проведения эксперимента, которая свидетельствует о умении соискателя организовать научное исследование. Подробно описаны объекты и методы их получения (экстрактов антоцианов, их концентрирования, выделения пектиновых веществ и др.), а также органолептические, физико-химические и микробиологические методы исследования объектов.

В главах 3-7 представлены результаты экспериментальных исследований и их обсуждение.

В **третьей главе** определен биотехнологический потенциал культивированного и дикорастущего ягодного сырья Дальневосточного региона как источника антоцианов, подобраны оптимальные условия извлечения антоцианов с помощью современных технологий и биобезопасных экстрагентов, а также идентифицирован состав антоцианидинов в зависимости от метода выделения. Показано, что ультразвуковая экстракция является эффективным способом выделения антоцианов из ягодного сырья и его выжимок. Определены органолептические, физико-химические показатели и показатели безопасности экстрактов, выделенных из ягод черной смородины. Определено, что антоцианы, выделенные из ягодного сырья Дальневосточного региона, обладают антирадикальной активностью.

В **главе 4 «Обоснование получения биологически активных комплексов антоцианов и биополимеров»** изучена возможность использования биополимеров – полисахаридов и белков в качестве эффективных безопасных экстрагентов для выделения антоцианов из ягодного сырья, предложен механизм получения биологически активных комплексов, содержащих антоцианы и биополимеры, на основе комплексов антоцианов и биополимеров разработано два антоциановых красителя. Автором практически обоснован механизм образования комплексов между антоцианами и биополимерами – полисахаридами и белками. Показано, что образование данных комплексов способствует более полному извлечению антоцианов из ягодного сырья природными биобезопасными экстрагентами, а наибольшей экстракционной способностью обладают анионные полисахариды, в частности, каппа-каррагинан, агар-агар, альгинат натрия, КМЦ и пектин. Установлено, что все вводимые в систему анионные полисахариды повышают степень извлечения антоцианов из ягодного сырья.

В **главе 5 «Разработка технологии получения натурального концентрированного красителя, содержащего комплекс биологически**

активных соединений» приведены экспериментальные данные, доказывающие, что степень извлечения антоцианов и пектиновых веществ зависит от способа и условий их экстрагирования, что позволило обосновать и разработать технологию концентрированного антоцианового красителя, содержащего комплекс биологически активных соединений. Автором дана детальная характеристика полученного концентрированного антоцианового красителя из черной смородины по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям, а также сравнительная характеристика с коммерческими аналогами краситель пищевой «Розовый Кармуазин» Е122 (Индия) и комплексная пищевая добавка «Краситель «Luxomix» «Антоцианин» 0050» (ООО «БАРГУС продакшн»), убедительно демонстрирующая преимущества экспериментального образца «Концентрированный антоциановый краситель из черной смородины» по органолептическим и технологическим свойствам: концентрированный антоциановый краситель при добавлении в изделие способен не только окрашивать продукт в ярко красный цвет, но и придавать изделию насыщенный запах и вкус ягодного сырья. Кроме того, данный краситель в отличие от синтетических полезен для потребителя, поскольку обладает антирадикальной активностью.

В шестой главе «**Обоснование биотехнологий кондитерских изделий**» приведены результаты, убедительно доказывающие возможность использования антоцианового красителя в производстве сахаристых, пастильных кондитерских изделий и масложировых композиций отделочных полуфабрикатов. Так, приведены не только рецептуры мармелада, зефира, сливочного крема и технологии их получения, но и расчет проектной себестоимости разработанных изделий. Автором приведены экспериментальные данные, доказывающие преимущества разработанной продукции в части органолептических и технологических свойств, а также безопасности и пищевой ценности. Особое внимание в данной главе уделено возможности использования отходов сокового производства – выжимок, как источника антоцианов и пищевых волокон в производстве мучных кондитерских изделий. Практическая значимость проведенных исследований подтверждена актами практической апробации на предприятии ООО «Восточные сладости» (г. Владивосток) и разработанными СТО на кондитерские изделия.

В главе семь «**Использование комплексов, содержащих антоцианы и биополимеры, для создания смарт упаковки**» показано преимущество использования комплексов антоцианов и анионных полисахаридов для создания интеллектуальной упаковки для контроля качества изделий и активной упаковки для пролонгирования сроков годности продуктов. Подобран полисахарид-основа, разработана принципиальная схема получения активной упаковки и определены механические свойства активных пленок. Показано, что использование содержащей антоцианы пленки в качестве активной упаковки позволяет контролировать свежесть и

микробиологическую стабильность рыбных полуфабрикатов (по изменению окраски пленки в зависимости от рН упакованного продукта и защищать поверхность бисквита от воздействия вредных факторов, продлевая его сроки годности на 24 ч.

В заключении диссертантом сформулированы основные выводы по выполненной работе, которые базируются на результатах экспериментальных исследований и соответствуют поставленным задачам. Выводы диссертации обоснованы, логически вытекают из существа материалов диссертации, соответствуют представленным данным.

В приложении представлены 2 акта о выработке пробных партий кондитерских изделий (мармелада с добавлением антоцианового пигмента, зефира на основе яичного альбумина с добавлением антоцианового пигмента, крема сливочного основного с добавлением окрашенного структурообразователя, бисквита круглого «Буше» с добавлением выжимок из ягод черной смородины), разработанные диссертантом, 5 комплектов ТД (СТО, ТИ) на новый ассортимент кондитерских изделий, 1 акт внедрения результатов диссертационной работы соискателя в учебный процесс, 3 патента на изобретение, в совокупности подтверждающие научную и практическую значимости работы.

Ознакомление с диссертацией позволяет заключить, что представленный в ней материал является результатом большой экспериментальной и аналитической работы, грамотно спланированной, выполненной на высоком техническом и методическом уровне и, несомненно, имеющей научное значение и реальное практическое воплощение.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

В целом положительно оценивая диссертационную работу Чесноковой Натальи Юрьевны, имеются следующие **замечания**:

1. В главе 1, на мой взгляд, констатация общеизвестных сведений в части строения и свойств биофлавоноидов вообще и антоцианов в частности (разделы 1.1 и 1.2) является излишней. Следовало расширить существующие практические ограничения для применения антоцианов как красителей в пищевой промышленности, не ограничиваясь их нестабильностью при воздействии различных технологических факторов и компонентов, входящих в состав продуктов: например, стабильность антоциановых красителей в процессе хранения изделий, удобство дозирования в сравнении с синтетическими и т.д., т.е. более детально рассмотреть объективные недостатки антоциановых красителей, что усилило бы практическую значимость работы.

2. Характеризуя возобновляемое дикорастущее ягодное сырье Дальневосточного региона, следовало указать район и год сбора калины обыкновенной, брусники обыкновенной, лимонника китайского и вакциниума превосходного, так как место произрастания и климатические условия влияют на химический состав исследуемого сырья. Не совсем понятна ссылка на

работы Нечаева А.А. Каковы параметры высушивания и замораживания ягодного сырья, которые безусловно влияют на сохранность нативных БАВ? Далее по тексту экспериментальных глав не понятно какое сырье (свежее, высушенное или замороженное) используется для получения экстрактов, концентрированных красителей и активных пленок.

3. В главе 2 нет достаточной характеристики таких объектов исследования как полисахариды, в частности пектин, и белки, в частности желатин, используемые как экстрагенты и при разработке состава и технологии активной пленки: во-первых, вид сырья, во-вторых, специфические характеристики указанных объектов, дающих более полное представление и понимание процессов, механизмов и результатов, описанных в главе 4 и последующих.

4. В табл. 3.9 (с. 107) и далее по тексту (с. 108) следовало привести обозначения номеров образцов.

5. Рис. 3.2 (с. 82) и рис. 1–4 Приложения О: не ясно, что демонстрируют приведенные на указанных рисунках ИК-спектры суммы экстрактов антоцианов? Так как, идентифицированные полосы поглощения являются специфичными не только для антоцианов, но и для других классов природных соединений, например, флавоноидов.

6. На с. 143 сказано: «Из рис. 5.1 видно, что наиболее полно экстрагирование антоцианов происходит при температуре 65 °С в течение 30 мин..... Поэтому, в дальнейших исследованиях в качестве контрольного образца использовали раствор антоцианов, выделенный при температуре 65 °С в течение 30 мин». Поясните, как указанные параметры экстрагирования согласуются с параметрами, приведенными в главе 3?

7. В табл. 5.3 (с. 153) приведена сравнительная оценка качества красных пищевых красителей, которую следовало дополнить результатами исследования световой и температурной стабильности характеризуемых антоциановых пигментов, что в большей мере позволило бы показать их технологическую адекватность.

8. В главе 6 не приведены данные по хранению разработанных кондитерских изделий. Как повлияло применение антоцианового красителя на органолептические показатели, в частности на цвет, в течение срока хранения экспериментальных образцов?

9. Глава 7: не совсем понятны способы помещения бисквита в пленки. Какие перспективы промышленного использования разработанных пленок, содержащих антоцианы?

Высказанные замечания не носят принципиального характера и не снижают ценности оппонируемой диссертационной работы.

Заключение о соответствии диссертации требованиям Положения ВАК о порядке присуждения ученых степеней

Полученные диссидентом результаты имеют выраженные признаки научной и практической значимости, поскольку формируют новый

методологический подход к формированию качества пищевых продуктов с высокой антиоксидантной активностью, базирующийся на принципах, алгоритме и механизме разработки пищевых продуктов с высоким содержанием катехинов и результатах его практического применения.

Все вышесказанное дает основание считать, что диссертационная работа «Обоснование и разработка биотехнологии натуральных красителей и упаковочных материалов из антоцианодержащего сырья для пищевой промышленности» является значимой завершенной научно-квалификационной работой, выполнена на актуальную тему и посвящена решению важной социально-экономической задачи в сфере производства функциональных продуктов питания и инновационных упаковочных материалов с использованием устойчиво стабильных биологически активных комплексов антоцианов и биополимеров; соответствует требованиям, изложенным в п.п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым ВАК РФ к докторским диссертациям, а ее автор **Чеснокова Наталья Юрьевна** заслуживает присуждения искомой степени доктора технических наук по специальности 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ.

Официальный оппонент:

Доктор технических наук (научная спец. 05.18.15), доцент,
профессор кафедры «Технология питания»
Федерального государственного бюджетного
образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный экономический университет»

16.05.2022 г

 М.Н. Школьникова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный экономический университет».

Адрес: 620411, г. Екатеринбург, улица 8 марта / Народной воли, 62/45. Тел.: +7 (343) 283-12-72, e-mail: shkolnikova.m.n@mail.ru.


