

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Чхан Кристины Викторовны на тему:  
«Улучшение характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*) методом ферментативной биотрансформации», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности: 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ

Получение и использование в пищевой индустрии натуральных низкокалорийных и безопасных заменителей сахара представляет собой интересную и востребованную в пищевой индустрии задачу, решение которой представляет научный и практический интерес.

Для решения этой задачи автором были выбраны сладкие гликозиды стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*), которые в среднем от 30 до 450 раз слаще обычного сахара, но обладают остаточным горьким вкусом и послевкусием, что не лучшим образом сказывается на вкусовых качествах конечных продуктов. **Актуальным** направлением получения сахарозаменителей с улучшенными вкусовыми показателями является целенаправленная биотрансформация гликозидов стевии.

Автор в своей работе представил экспериментальное обоснование использования стевии как сахарозаменителя в пищевой промышленности и поставил цель получить гликозиды стевии улучшенного вкуса путём ферментативного трансгликозилирования и определить влияние модификации структуры гликозидов стевии на их вкусовые характеристики, а также провести идентификацию, очистку, ферментативную модификацию новых гликозидов стевии, присутствующих в следовых количествах, но обладающих более приемлемыми вкусовыми качествами для использования в различных напитках, а также других пищевых продуктах в качестве заменителей сахара.

С использованием современных методов энзимологии и биотехнологии впервые проведены исследования по трансгликозилированию гликозидов стевии РебА, РебD и РебМ с помощью ферментов цикломальтодекстрин глюканотрансферазы (ЦГТаза) и  $\beta$ -фруктофуранозидазы (ФФазы); выявлены оптимальные условия трансгликозилирования; разработаны методы выделения, очистки моно-, ди- и три-гликозилированных производных РебА, РебD и РебМ, а также дана характеристика полученного фруктозил-РебА и минорных гликозидов стевии РебD и РебМ, выявлены особенности их очистки и сенсорных характеристик. Все это представляется весьма интересным с научной точки зрения и определяет **научную новизну** работы.

**Практическая значимость** работы не вызывает сомнения. Автором усовершенствована схема выделения и очистки сладких минорных гликозидов стевии РебD и РебМ, для использования их в различных сферах пищевой промышленности в качестве заменителей сахара. Разработаны методы трансгликозилирования сладких гликозидов стевии РебА, РебD и РебМ различными трансферазами. Показаны технологические особенности получения моно-, ди- и тригликозилированных производных, обладающих лучшими вкусовыми качествами, которые можно использовать как самостоятельный сахарозаменитель. Усовершенствована схема выделения и очистки сладких



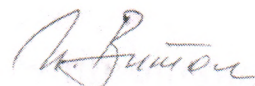
минорных гликозидов стевии РебД и РебМ, для использования их в различных сферах пищевой промышленности в качестве сахарозаменителя. Разработаны рекомендации по получению оптимизированных смесей, содержащих наиболее перспективные гликозиды и их производные.

Научно-практическая новизна технических решений подтверждена 4 патентами.

Оценивая работу в целом, считаю необходимым подчеркнуть четкую логику представленной диссертационной работы, как в проведении экспериментов, так и в изложении и анализе полученных результатов. Автореферат написан информативно, достаточно ясно и доказательно. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению автореферата нет.

Отмечая несомненную актуальность, научную новизну диссертационного исследования, обращая внимание на теоретическую и практическую значимость, считаю, что диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о присуждении ученой степени», п. п. 4,5,7,11,12 Паспорта специальностей ВАК РФ (технические науки) по специальности 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ, а ее автор Чхан К.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ.

Кандидат биологических наук, доцент,  
(специальность: 03.01.04 – Биохимия)  
с.н.с. лаборатории «Биохимия и микробиология  
зерна и зернопродуктов»,  
Всероссийский научно-исследовательский институт зерна  
и продуктов его переработки – филиал ФГБНУ  
«Федеральный научный центр пищевых систем  
им. В.М. Горбатова» РАН



Витол И.С.

127434, г. Москва, Дмитровское шоссе, д. 11  
тел.: +7(499) 976-09-40, vniizdocum@rambler.ru

Подпись



и.с. заверю

Е.Ф. Зобова

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Чхан Кристины Викторовны на тему «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*) методом ферментативной биотрансформации»

по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ», представленной на соискание учёной степени кандидата технических наук.

На сегодняшний день наблюдается растущий интерес потребителей как к продуктам со сниженным содержанием добавленного сахара, так и без него. Также существует большое количество исследований, демонстрирующих негативные последствия избыточного потребления сахара и доказывающие непосредственное влияние сахара на возникновение таких заболеваний как ожирение, диабет второго типа и различные сердечно-сосудистые расстройства. В настоящее время производители пищевых продуктов действительно заинтересованы поиском альтернатив - соединений, обладающих высокой степенью сладости, природных интенсивных подсластителей и модуляторов флейвора. Однако, большинство из них изменяют динамику сладости готового продукта или приносят посторонние привкусы, что негативно сказывается на восприятии таких продуктов потребителем. В связи с этим диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны в области биотехнологии пищевых продуктов, несомненно, является актуальной.

Автором проведены исследования по модификации исходных соединений с помощью реакции межмолекулярного трансгликозилирования под действием различных ферментов, а также изучены органолептические характеристики высокоинтенсивных природных сахарозаменителей путем составления статического, динамического и адаптивного сенсорного профиля и подтверждены их улучшенные вкусовые характеристики.

Новизна работы, определена выявленными оптимальными условиями трансгликозилирования путем проведения целенаправленных и



сравнительных исследований по трансгликозилированию гликозидов стевии РебА, РебD и РебМ с помощью ферментов цикломальтодекстрин глюканорансферазы (ЦГТаза) и  $\beta$ -фруктофуранозидазы (ФФазы), а также установлением связи между структурными особенностями молекул гликозидов и улучшенными вкусовыми характеристиками.

Автореферат диссертации логично изложен, структурирован, итоговые выводы и заключения аргументированы и обоснованы.

Рекомендуется уделить внимание экономической стороне вопроса, касающейся изменения себестоимости продуктов и напитков при замене добавленных сахаров на подсластитель из стевии, а также проведению их потребительской оценки в дополнение к экспертной дегустации.

Стоит отметить использование современных методов проведения исследования и разнообразию примененных сенсорных методов анализа, способствовавших достижению поставленных целей и задач в полной мере.

На основании анализа автореферата считаю, что диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

Менеджер по сенсорным методам анализа  
АО «Данон Россия»,  
к.т.н.

  
К.Ф.Жидков Е.Н.  




## Отзыв

### на автореферат диссертационной работы

**Чхан Кристины Викторовны на тему «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) методом ферментативной биотрансформации», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ»**

Выносимая на защиту работа Чхан Кристины Викторовны на тему «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) методом ферментативной биотрансформации» посвящена проблеме, имеющей значительное народно-хозяйственное значение: расширение спектра натуральных подсластителей, применимых в пищевой промышленности.

Мотивация человека к потреблению продуктов питания основана на гедоническом механизме и предполагает формирование психоэмоциональных стимулов во время потребления или ожиданий таких стимулов в период между потреблением пищи. Из дифференцируемых в настоящее время четырех основных вкусов сладость является наиболее стимулирующим вкусом, делающим продукт питания сенсорно желательным и психологически качественным. В целом формирование сенсорного профиля продукта питания всегда является креативной задачей, которая зависит от индивидуальных особенностей сенсорного аппарата потребителя, его физиологического состояния и, возможно, надсознательной потребности организма в восстановлении баланса тех или иных нутриентов для поддержания гомеостаза.

Таким образом, объективная необходимость перехода к принципам проектирования продуктов питания с персонализированным сенсорным профилем переходит в перечень актуальных задач товароведения, пищевых технологий и, в том числе, биотехнологии. Для проектирования сенсорного портрета продукта питания всегда следует учитывать как внутривидовой, так и межвидовой синергизм стимуляторов не только различных вкусов, но, в перспективе, и различных сенсорных ощущений.



С учетом указанных задач разработка инструментов, позволяющих изменять в широких пределах вкусовой профиль композиционных продуктов питания, является задачей, безусловно, актуальной.

Научная новизна работы заключается в том, что автор применил ферментативную биотрансформацию для моделирования сенсорных характеристик продуктов питания. Нарботанный диссертантом опыт может послужить основой для разработки нового направления сенсорного моделирования не только гликозидов стевии, но и нутриентов, формирующих другие вкусовые стимулы: горького, соленого, кислого вкусов.

Практическая значимость работы заключается в доведении исследований до практического результата, позволившего получить подслащивающие вещества для конкретных продуктов питания – йогуртов и горячих напитков (чая и кофе).

Поскольку работа, по сути, является пионерской в части нового направления моделирования сенсорных характеристик продуктов питания на основе биотрансформации вкусовых органических соединений, она вызывает глубокий интерес и пожелания к дальнейшим направлениям исследований. В качестве пожеланий следует отметить, что предложенная автором система сравнения сладости с сахарозой была бы более практически значимой, если учесть взаимный синергизм гликозидов стевии и сахарозы, а также, возможно, иных подсластителей. В частности, известен положительный синергизм сахарозы и фруктозы.

Заслуживает внимания также вопрос метаболизма гликозидов стевии и их производных, а также оценка ПДК для их массового использования. В части методической оценки сладости производных гликозидов по отношению к сахарозе представляется целесообразным изучить концентрации растворов таких гликозидов. Известно, что фактическая сладость насыщенного раствора сахарозы не адекватна ее расчетной сладости по отношению к 10 % раствору, что связано с механизмом гидратации сахарозы в насыщенных растворах и сенсорной активностью рецепторов сладости в ротовой полости.

Высказанные соображения носят характер дискуссии, связаны со значительным научным интересом к оцениваемой работе и не являются фактором, снижающим научную и практическую ценность выполненного исследования.



В целом, работа представляет собой законченное научное исследование, посвященное разработке важной народно хозяйственной проблемы – новых природных пищевых подсластителей.

Работа представляет собой научно-квалификационный труд, характеризующийся актуальностью, обладающий научной новизной и практической значимостью. Диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) методом ферментативной биотрансформации», соответствует требованиям пп. 9, 11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

Генеральный директор

АО «Торговый дом «Биоснабсбыт»,

д.т.н., проф.

142279, Московская обл., Серпуховский городской округ,  
шоссе, ст. 1.

Тел.: 985 776 36 68

E-mail: [sidorenkomgupp@yandex.ru](mailto:sidorenkomgupp@yandex.ru)



Юрий Ильич Сидоренко

пос. Оболенск, Оболенское



## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации **Чхан Кристины Викторовны** на тему «**Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) методом ферментативной биотрансформации**», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук, по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ»

Работа Кристины Викторовны посвящена улучшению вкусовых характеристик стевии методом биотрансформации с помощью ферментов цикломальтодекстрин глюкоанрансферазы (ЦГТаза) и  $\beta$ -фруктофуранозидазы ( $\beta$ -ФФазы), а также выделению и изучению сладких гликозидов стевии, обладающих лучшими сенсорными характеристиками.

Сегодня на современном этапе развития биотехнологии пищевых продуктов проблема ограниченности применения искусственных подсластителей вследствие их воздействия на здоровье человека при чрезмерном потреблении остается нерешенной.

В связи с этим возрастает значение природных низкокалорийных сахарозаменителей, обладающих рядом вкусовых и качественных характеристик. Актуальность исследований в области биотрансформации гликозидов стевии как одного из наиболее эффективных источников получения натуральных высокоинтенсивных подсластителей, не вызывает сомнений.

Налицо научная новизна работы, впервые проведены целенаправленные и сравнительные исследования по трансгликозилированию гликозидов стевии РеБА, РеБД и РеБМ с помощью ферментов ЦГТаза и  $\beta$ -ФФазы. Получен и очищен фруктозил-РеБА и охарактеризованы их вкусовые качества.

Выявлены особенности очистки минорных гликозидов стевии РеБД и РеБМ, а также изучены их сенсорные характеристики.

Достоинством диссертационной работы является ее обширная и глубокая экспериментальная база, а также эффективные методы проведения исследования, способствовавшие достижению поставленных целей и задач в полной мере.

Диссертантом проведены имеющие высокую практическую значимость исследования, разработаны методы трансгликозилирования сладких гликозидов стевии РебА, РебД и РебМ различными трансферазами. Показана взаимосвязь между содержанием типа и количества углеводов и положением их связи с основной молекулой, а также со вкусовыми характеристиками соединений.

Автореферат дает представление о целостной и завершенной научно-исследовательской работе, выводы и рекомендации которой обоснованы, и существенных замечаний не имеет.

Работа Чхан Кристины Викторовны в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

Старший научный сотрудник лаборатории  
«Метаболизма активного кислорода»  
кандидат биологических наук,  
специальность: 03.00.04 – «биохимия»

**Бабаян  
Мадлена Алексеевна**

04 сентября 2019г.

Адрес: Институт биохимии им. Г.Х.Буниятына  
Национальной академии Наук Республики Армения  
0014, Ереван, ул. Севака 5/1

Подпись М.А.Бабаян заверяю:  
Ученый секретарь Института биохимии  
к.б.н., доцент



  
Р.Л. Айрапетян



## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Чхан Кристины Викторовны  
на тему «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии  
(*Steviarebaudiana Bertoni*) методом ферментативной  
биотрансформации»

по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологическиактивных веществ», представленной на соискание учёной степени кандидата технических наук.

В связи с высоким потреблением населением добавленных сахаров, как в чистом виде, так и в готовой продукции, явно видна необходимость в снижении калорийности продуктов путем замены на некалорийные природные сахарозаменители. В настоящее время известно большое количество соединений, обладающих высокой степенью сладости, искусственные и природные интенсивные подсластители, и сейчас набирает популярность *Steviarebaudiana Bertoni*. В связи с этим диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны несомненно является **актуальной работой в области биотехнологии пищевых продуктов.**

Автором проведены исследования по модификации исходных соединений с помощью реакции межмолекулярного трансгликозилирования под действием различных ферментов, что привело к значительному улучшению вкуса конечного продукта – высокоинтенсивного природного сахарозаменителя.

Новизна работы, определена выявленными оптимальными условиями трансгликозилирования путем проведения целенаправленных и сравнительных исследований по трансгликозилированию гликозидов стевии РебА, РебD и РебМ с помощью ферментов цикломальтодекстринглюканорансферазы (ЦГТаза) и б-фруктофуранозидазы (ФФазы).

Автореферат диссертации хорошо структурирован, итоговые выводы и заключения вполне аргументированы и обоснованы.

Рекомендуется сделать акцент на экономической стороне вопроса по изменению себестоимости продуктов и напитков при замене добавленных сахаров на подсластитель из стевии.

Достоинством диссертационной работы является хорошо оснащенная аппаратная база, а также использование современных методов проведения исследования, способствовавшие достижению поставленных целей и задач в полной мере. Соответствующая лаборатория отвечает лучшим мировым стандартам (ISO9001:2015 и ISO22000:2018).

На основании анализа автореферата считаю, что диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

Доцент Базовой кафедры химии  
инвестиционных материалов и технологий  
РЭУ имени Г.В. Плеханова,  
к.т.н., специальность: 03.00.23-«Биотехнология»,  
т. 8-905-550-69-71, [mas.olga2012@yandex.ru](mailto:mas.olga2012@yandex.ru)  
Адрес РЭУ имени Г.В. Плеханова: 117997, РФ,  
г. Москва, Стремянный пер., 36

*Мас* - Маслова Ольга  
Вениаминовна





## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации **Чхан Кристины Викторовны** на тему «**Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) методом ферментативной биотрансформации**», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук, по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ»

В настоящее время чрезмерное потребление сахара стало актуальной проблемой, так как оказывает негативное воздействие на организм вследствие его высокой калорийности и легкой усвояемости и может привести к развитию ряда заболеваний как сахарный диабет, ожирение и другие.

В связи с этим биотрансформация гликозидов стевии для получения натуральных сахарозаменителей с улучшенными вкусовыми показателями является актуальным направлением.

Диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны, несомненно, является своевременной, т.к. посвящена разработке технологии и получения природных высокоинтенсивных подсластителей, которыми являются сладкие гликозиды стевии.

Научная новизна работы определена проведением целенаправленных и сравнительных исследований по трансгликозилированию гликозидов стевии РебА, РебД и РебМ с помощью ферментов цикломальтодекстрин глюканорансферазы (ЦГТаза) и  $\beta$ -фруктофуранозидазы (ФФаза).

Выявлены особенности очистки минорных гликозидов стевии РебД и РебМ, изучены их сенсорные характеристики. Установлена взаимосвязь между структурными особенностями молекул гликозидов и качеством вкуса. Практическая значимость работы не вызывает сомнения, так как природный низкокалорийный сахарозаменитель является необходимостью для использования в пищевой промышленности: возможности его применения в напитках, различных пищевых продуктах, кондитерских изделиях.

Литературный обзор полностью освещает проблематику диссертационной работы и охватывает результаты научных статей за последние годы.

Обширная и глубокая экспериментальная база проделанной работы Чхан Кристины Викторовны, эффективные методы проведения исследования являются несомненным преимуществом и подтверждают результаты диссертационной работы, способствовавшие достижению поставленных целей и задач в полной мере. Исследования были проведены в соответствующих лабораториях, которые отвечают лучшим мировым стандартам (ISO9001:2015 и ISO22000:2018).

Представленный в автореферате материал хорошо структурирован, выстроен логично, приведенные выводы и заключения достаточно аргументированы и обоснованы. Принципиальные замечания отсутствуют.

Исследование является законченным научным трудом.

Работа Чхан Кристины Викторовны в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

Кандидат биологических наук  
специальность: 03.00.07 – «Микробиология»  
Зав. лабораторией биологической  
безопасности пищевых продуктов  
Научно-производственный центр «Армбиотехнология»  
Национальной Академии Наук Республики Армения

**Читчян Карине Вирабовна**

28 августа 2019 г.

0056, Ереван, ул. Гюргжяна 14  
+37494306088, k.chitchyan@mail.ru



Подпись к.б.н. Читчян К.В. заверяю  
Ученый секретарь НПЦ «Армбиотехнология»

Варданян Н.С.



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Чхан Кристины Викторовны на тему: «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) методом ферментативной биотрансформации», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ»

Диссертационная работа Чхан Кристины Викторовны выполнена на актуальную тему, связанную с чрезмерным потреблением сахара современными потребителями в сочетании с их низкой физической активностью, что негативно отражается на их состоянии здоровья и может приводить к развитию заболеваний. Одним из способов решения указанной проблемы является использование сахарозаменителей, однако, их вкусовые качества не всегда соответствуют ожиданиям населения и находят ограниченное использование. В этой связи, изменение органолептического профиля гликозидов стевии биотехнологическими методами представляется актуальной задачей.

В ходе выполнения диссертационного исследования автором была разработана схема выделения и очистки минорных гликозидов стевии РебD и РебM на базе коммерческого экстракта стевии и концентрата гликозидов. Показано, что выделение РебD может быть осуществлено кристаллизацией из водно-метанольного раствора, РебM – из фильтрата с помощью очистки и перекристаллизации в водно-этанольной среде.

На базе проведенных исследований подобраны оптимальные параметры трансгликозилирования сладких гликозидов стевии микробными ЦГТазами с использованием крахмала и гамма-циклодекстрина в качестве доноров глюкозы. Изучены температурная и pH-зависимость активности фермента и показано, что наилучшими условиями трансгликозилирования является нейтральная область pH и температура 65-75°C. Подобраны также весовые соотношения гликозидов стевии и донора глюкозы. Разработана схема получения и очистки производных гликозидов, включающая в себя стадии подготовки крахмала и  $\gamma$ -циклодекстрина, ферментативную обработку ЦГТазой, очистку производных на активированном угле и крупнопористых смолах, гидролиз высокомолекулярных производных до моно-, ди- и три-гликозилированных производных, их повторную очистку, выпаривание и концентрирование. Приведенные автором данные по обработке амилазой свидетельствуют об отсутствии длинноцепочечных производных.

При использовании  $\beta$ -фруктофуранозидазы, как показано автором, возможно получение фруктозилированного производного РебA с высоким выходом (до 70%), причем проведение модификации улучшает вкусовой профиль и восприятие вкуса по сравнению с исходным РебA.

Диссертантом проведено имеющее высокую практическую значимость исследование по оценке органолептических характеристик стевииозидов и их



гликозилированных и фруктозилированных производных, включающее оценку максимальной сладости и концентрационной зависимости, вкусового профиля (горечь, сладость, сладкое послевкусие, горькое послевкусие). Установлено, что проведение модификации улучшает вкусовое восприятие полученных продуктов, причем подслащивающий профиль РебМ оказался очень похожим на аспартам – широко используемый в пищевой промышленности подсластитель. Также показано, что ферментативное трансгликозилирование приводит к улучшению эффекта десенсибилизации.

Диссертантом разработаны рекомендации по включению РебА, смеси РебА-Gly, РебD в рецептуры йогурта и чайного напитка. Дегустационный анализ показал перспективность использования полученных продуктов вместо сахара, что приведет к существенному снижению калорийности продуктов.

Тем не менее, к проведенному автором диссертационному исследованию имеются некоторые замечания:

- 1) Не полностью описаны аналитические процедуры выделения и идентификации индивидуальных гликозидов и их производных. Так, в пункте 3.1. описано использование «высокочистого РебА» без указания способа его выделения и очистки. При оценке содержания продуктов трансгликозилирования методом ВЭЖХ не обозначены используемые для идентификации пиков стандартные растворы, их происхождение, нет информации о методике количественной оценки (проводили ли калибровку по известным веществам в известной концентрации, либо соотношение производных оценивали исключительно по соотношению площадей пиков?). На странице 16 указано, что для точной идентификации продуктов использовали МС-анализ, в то время как это не отражено в главе «Материалы и методы исследования», и неясно, относится ли масс-детектирование только к продуктам трансформации  $\beta$ -фруктофуранозидазой.
- 2) В структурной схеме исследований в качестве последнего этапа указан расчет экономического эффекта (стоимости) полученных модифицированных производных, однако далее в тексте автореферата эти цифры не приводятся. В этой связи, сложно оценить экономическую целесообразность разработанного подхода.
- 3) В пункте 5.5, возможно, следовало бы выбрать табличную или другую наглядную форму представления результатов, так как в текстовом варианте они представляются сложными для восприятия, а также обосновать выбор именно РебА и смеси РебА-Gly для тестирования в рецептуре йогурта и РебА и РебD – для чайного напитка.
- 4) Ряд зарубежных производителей вкусоароматических композиций (например, BioSpringer) предлагают т.н. маскираторы, призванные улучшать органолептические свойства продуктов и отдельных ингредиентов за счет маскирования неприятных привкусов и послевкусия, включая уменьшение горечи и металлического привкуса



некоторых сахарозаменителей и подсластителей. Интересным представляется сравнение использования маскираторов и подхода, выбранного автором диссертационного исследования.

Изложенные замечания не снижают общего благоприятного впечатления от представленной работы, и носит рекомендательный характер.

Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор, Чхан Кристина Викторовна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

Ведущий инженер кафедры биотехнологии  
ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический  
университет имени Д.И. Менделеева»,  
кандидат технических наук  
специальность 03.01.06 – Биотехнология  
(в том числе бионанотехнологии)

Хабибулина  
Наталья Викторовна

«03» сентября 2019 года  
Адрес: 125047, г. Москва, Миусская площадь, д.9  
Телефон: +7-926-117-14-63  
e-mail: ernestine2007@ya.ru

*Подпись Хабибулиной Н.В.*  
*Мая 2019*  
*Д.И. Менделеева*  
*А.В.И.*

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Чхан Кристины Викторовны

на тему:

***«Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*) методом ферментативной биотрансформации»***

по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук.

---

Известно, что чрезмерное потребление сахара при низкой физической активности оказывает негативное воздействие на организм благодаря его высокой калорийности и легкой усвояемости.

Перспективным направлением для решения этой проблемы является снижение быстрых углеводов в пищевых продуктах за счет применения природных сахарозаменителей.

В связи с этим получение натуральных низкокалорийных и безопасных заменителей сахара является насущной актуальной задачей.

Наиболее популярным источником среди природных высокоинтенсивных подсластителей являются сладкие гликозиды стевии.

Автором выполнен комплекс исследований, последовательно решающий ряд задач для достижения поставленной цели.

В своей работе автор сумела выявить и получить гликозиды стевии улучшенного вкуса путём ферментативного трансгликозилирования и определить влияние модификации структуры гликозидов стевии на их вкусовые характеристики

Практическая значимость работы, заключается в получении природных высокоинтенсивных сахарозаменителей стевии с улучшенными вкусовыми характеристиками, которые могут быть использованы как самостоятельный сахарозаменитель, так и в составе



различных пищевых продуктов, напитках, кондитерских изделий, пастах, соусах и т.д.

В ходе выполнения работы Чхан Кристиной Викторовной проведены целенаправленные и сравнительные исследования по трансгликозилированию гликозидов стевии РебА, РебD и РебМ с помощью ферментов цикломальтодекстрин глюканорансферазы (ЦГТаза) и  $\beta$ -фруктофуранозидазы (ФФазы), выявлены особенности очистки минорных гликозидов стевии РебD и РебМ и изучены их сенсорные характеристики.

Преимуществом диссертационной работы является ее обширная и глубокая экспериментальная база, а также эффективные методы проведения исследования, способствовавшие максимальному достижению поставленных целей и задач.

Автореферат диссертации логично выстроен, итоговые выводы и заключения вполне аргументированы и обоснованы. К автореферату имеются следующие замечания:

В разделе 5.2 Вкусовой профиль полученных гликозидов Рисунки 11 и 12 нужно было сделать крупнее, т.к. трудно читаемые, имеются неточности в написании слов.

На стр. 23 автореферата, выводы «5» орфографическая ошибка, «вместо буквы «и» необходимо написать букву «в».

При изучении влияния гликозидов стевии как сахарозаменителя был выбран классический йогурт. Представляло бы интерес исследовать и на других продуктах питания.

Однако отмеченные замечания не носят принципиального характера и не снижают высокую научную и практическую значимость рассматриваемой диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук, а автор данной работы Чхан Кристина Викторовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по

специальности 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ»

Работа в полной мере отвечает требованиям, которые предъявляются к кандидатским диссертациям в соответствии с пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.).

Ведущий научный сотрудник лаборатории

«Шоколадных и сахарных кондитерских изделий»

Кандидат биологических наук, доцент

специальность: 03.00.04-«биохимия»

09 сентября 2019 г.

Баулина

Тамара

Васильевна

Всероссийский научно- исследовательский институт кондитерской промышленности – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем имени В.М. Горбатова» РАН

107023, г. Москва, ул. Электровзаводская, 20, стр.3.

Веб-сайт: <http://wniikp.ru>, тел. +7(495) 962-17-48,

E-mail: [conditerprom@mail.ru](mailto:conditerprom@mail.ru)

Подпись Т.В. Баулиной заверяю:

Инспектор по документам



О.А. Керби



## ОТЗЫВ

### На автореферат диссертации Чхан Кристины Викторовны «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana* *Bertoni*) методом ферментативной биотрансформации»

Актуальность работы. Актуальность работы является несомненной, так как в настоящее время разработка функциональных продуктов питания, в том числе с низким содержанием сахара, имеет большое народнохозяйственное значение. Снижение содержания глюкозы, фруктозы и сахарозы в продуктах питания за счет использования различных сахарозаменителей является перспективным для решения проблемы снижения калорийности пищевых продуктов, в том числе и функционального назначения.

В настоящее время большое внимание уделяется поиску природных источников – подсластителей и наиболее популярным из них является стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*), однако многие уже существующие препараты на ее основе обладают рядом недостатков, главным образом из-за присутствия «горечи», которые ухудшают вкусовые качества продуктов.

Работа выполнена на высоком методическом уровне. Использование метода ферментативной биотрансформации гликозидов стевии позволило значительно улучшить их вкусовые характеристики. Разработанные методы очистки гликозидов имеют большое научное и практическое значение. Изучение возможности использования полученных стевиигликозидов в рецептуре пищевых продуктов на примере йогурта имеют большое практическое значение, так как расширяют возможность применения разработанных препаратов в пищевой промышленности для моделирования вкусовых характеристик продукта.

Особых замечаний по тексту автореферата не имеется, однако следовало бы провести экономическую оценку применения полученных гликозидов в пищевой промышленности (на примере йогурта), по сравнению с уже существующими. Таким образом, диссертационная работа К.В. Чхан «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*) методом ферментативной биотрансформации» полностью соответствует п.9 Положения о присуждении ученых степеней, предъявляемых ВАК РФ, а ее автор, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ»

Заведующий кафедрой Технологии хранения

и переработки плодовоовощной и растениеводческой продукции

Доктор биологических наук, доцент

Л.Э. Гунар

Гунар Людмила Эдуардовна

Доктор биологических наук

Доцент

Заведующий кафедрой Технологии хранения

и переработки плодовоовощной и растениеводческой продукции

ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева,

127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д.49.

Тел. 8-916-920-81-05

E-mail: lgunar@mail.ru

ПОДПИСЬ  
ЗАВЕРЯЮ

ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА  
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ И  
ДОКУМЕНТАЦИОННОГО  
ОБЕСПЕЧЕНИЯ



ЭН Ш ТАУНДА



## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Чхан Кристины Викторовны

на тему:

**«Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*) методом ферментативной биотрансформации»**

по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ», представленной на соискание учёной степени кандидата технических наук.

Работа Чхан Кристины Викторовны, посвященная использованию метода биотрансформации с помощью ферментов ЦГТаза и б-ФФазы для улучшения вкусовых характеристик стевии, выделению и изучению сладких гликозидов стевии, аккумулирующихся в следовых количествах, обладающих улучшенными сенсорными свойствами, несомненно представляет большой научный и практический интерес.

Научная новизна и актуальность представленной диссертационной работы подтверждена результатами исследований и их обоснованием, представленных в диссертации. В условиях существующей проблемы ограниченности применения искусственных подсластителей, возрастает значение изучения и получения природных низкокалорийных сахарозаменителей. Эти сахарозаменители должны иметь соответствующие вкусовые и качественные характеристики, позволяющие заменить или сократить количество добавленных углеводов в продуктах питания. На этом фоне все более популярными, в т.ч. с коммерческой точки зрения, становятся исследования в области биотрансформации гликозидов стевии как одного из наиболее эффективных источников получения натуральных высокоинтенсивных подсластителей.

Большим преимуществом диссертационной работы является ее обширная экспериментальная база, использование современных методов проведения исследования, обеспечивающих максимальную достоверность полученных результатов. Тем более, что автор проводила исследования и в Центральной научно-исследовательской лаборатории Малазии, отвечающей лучшим мировым стандартам (ISO9001:2015 и ISO22000:2018).



Автор в процессе исследования выявила оптимальные условия трансгликозилирования путем проведения целенаправленных и сравнительных исследований по трансгликозилированию гликозидов стевии РебА, РебD и РебМ с помощью ферментов цикломальтодекстрин глюкоанрансферазы (ЦГТаза) и b-фруктофуранозидазы (ФФазы). Новизна исследования подтверждена четырьмя американскими патентами.

Автореферат диссертации хорошо структурирован, логично изложен, выводы и заключения вполне аргументированы и обоснованы.

Однако хотелось бы выразить сомнение в том, что гликозиды РебD и РебМ подходят для промышленного производства, т.к содержатся в стевии в очень малом количестве.

Работа является законченным научным трудом и в полной мере отвечает требованиям, которые предъявляются к кандидатским диссертациям в соответствии с пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.). Автор данной работы заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

Профессор кафедры стандартизации,  
метрологии и управление качеством в  
технологических комплексах Кубанского  
государственного технологического  
университета, доктор технических наук,  
специальность 05.18.05

Решетова  
Раиса Степановна



Подпись  
Заверю:  
административного управления и контроля

Решетовой Р.С.

Начальник центра  
Е.И. Каширина

09 09 2019

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации

**Чхан Кристины Викторовны**

на тему «Улучшение вкусовых характеристик гликозидов стевии

*(Stevia rebaudiana Bertoni)* методом

**ферментативной биотрансформации»**

по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук.

---

На современном этапе развития биотехнологии пищевых продуктов проблема ограниченности применения искусственных подсластителей вследствие их негативного воздействия на здоровье человека при чрезмерном потреблении остается нерешенной. На этом фоне возрастает значение природных низкокалорийных сахарозаменителей, обладающих рядом вкусовых и качественных характеристик, позволяющих существенно сократить количество быстрых углеводов в продуктах питания. В связи с этим не вызывает сомнений актуальность исследований в области биотрансформации гликозидов стевии как одного из наиболее эффективных источников получения натуральных высокоинтенсивных подсластителей, в т.ч. с коммерческой точки зрения.

Налицо научная новизна работы, которая определена выявлением оптимальных условий трансгликозилирования путем проведения целенаправленных и сравнительных исследований по трансгликозилированию гликозидов стевии РебА, РебD и РебМ с помощью ферментов цикломальтодекстрин глюканорансферазы (ЦГТаза) и b-фруктофуранозидазы (ФФазы). О научной новизне исследования свидетельствуют 4 опубликованных в США патента.

Достоинством диссертационной работы является ее обширная и глубокая экспериментальная база, а также эффективные методы



проведения исследования, способствовавшие достижению поставленных целей и задач в полной мере. Соответствующая лаборатория отвечает лучшим мировым стандартам (ISO9001:2015 и ISO22000:2018).

Представленный в автореферате материал хорошо структурирован, выстроен логично, приведенные выводы и заключения достаточно аргументированы и обоснованы. Принципиальные замечания отсутствуют.

С учетом изложенного, исследование является законченным научным трудом, имеющим широкий потенциал практического применения его результатов. Работа в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 - «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ».

МГУ имени М.В. Ломоносова,  
Химический факультет,  
Кафедра химии природных соединений  
Ведущий научный сотрудник,  
доктор химических наук,  
профессор по специальности  
№ 020010 биоорганическая химия

  
Руденская  
Галина Николаевна

Адрес: 119991, г. Москва, Ленинские Горы дом 1, строение 3,  
Химический факультет

