



РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на научната степен "доктор на науките" по: област на висше образование 5. Технически науки, професионално направление 5.13. Общо инженерство, научната специалност „Технология на млякото и млечни продукти“

Автор на дисертационния труд:

доц. д-р Ценд-Аюуш Чулуунбат, докторант към катедра „Животновъдни науки“ при Аграрен университет, гр. Пловдив

Тема на дисертационния труд: ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ В УСЛОВИЯХ МОНГОЛИИ

Рецензент: проф. д-р Ангел Иванов Ангелов, Университет по хранителни технологии, определен за член на научното жури със заповед № РД-16-824/13.07.2022 год. от Ректора на АУ.

1. Кратко представяне на кандидата.

Доц. д-р Ценд-Аюуш Чулуунбат е завършила магистърска програма по Технология на млечните продукти в Московския държавен университет по приложна биотехнология, Руска федерация през 1993 г. Като в това време тя е преподавател в Монголския университет по наука и технология. В периода 1994-1997 г. разработва и защитава докторска теза в областта на Технология на млякото и млечните продукти в Източносибирски технологичен университет, Улан-Уде, Руска федерация. От 2005 г. е назначена като доцент последователно във Факултет по индустриални технологии и във Факултет по хранителни технологии и биотехнологии на Монголския университет по наука и технология, където работи и в момента.

2. Актуалност на проблема.

Разработването на функционални храни и предлагането им на пазара е свързано с два основни проблема пред съвременното общество – здраве и балансирано хранене. Това доведе до предлагане на огромен брой разнообразни храни в последните двадесет години. Подобна тенденция се отчита и за пазара на здравословни продукти в Монголия. Разкриването на потенциала на изолираните млечнокисели бактерии от традиционни млечни продукти, открива възможност както за някои теоретични приноси, така и за практическото им приложение като стартерни култури в технологии за получаване на функционални млечни продукти и сирене. Дисертационния труд е посветен на актуален научно-приложен проблем- проведените научни

проучвания, получените резултати и доказателства, са от особена важност за разработване на нови детски и диетични млечни продукти и сирена от козе и овче мляко, за монголския пазар.

3. Цел, задачи, хипотези и методи на изследване.

Цел на дисертационната работа е да се проведат задълбочени научни изследвания, на чиято база да се създадат технологии за получаване на разнообразни функционални млечни продукти, с прилагане на разработени стартерни култури от млечнокисели бактерии, изолирани от традиционни монголски млечни продукти. Така формулирана целта е ясна и точна, а произтичащите от нея над десет основни задачи са добре определени, конкретни и насочени към доказване на поставената цел на изследването.

В изследванията по представения труд са приложени различни модерни методи: химични, микробиологични, молекулярно-генетични- за идентификация на млечнокисели бактерии; селекционни- за определяне на пробиотичните характеристики на идентифицираните щамове; технологични- за разработване на стартерни култури и функционални млечни продукти; биохимични- за определяне на хранителната и биологична ценност на продуктите; като разработката завършва с клинични изпитания на предложените нови продукти. От особена важност е внедряване на разработените лабораторни технологии в промишлени мащаби и получените положителни резултати. Всички изброени методи са съвременни, високо чувствителни и се отличават с висока достоверност на получения резултат. Имайки предвид сложността на разглеждания проблем, без тяхното специфично приложение, целта на дисертацията едва ли би могла да бъде изпълнена.

4. Онагледеност и представяне на получените резултати.

Дисертационният труд е разработен в авторитетни научни и образователни организации - Монголския държавен научен и технологичен университет, Московския научно-изследователски институт по генетика и селекция на промишлени микроорганизми, Московския държавен университет по приложна биотехнология, Университет Конкук, Южна Корея, Японска научно-изследователска лаборатория, Аграрен университет, Пловдив.

Представената дисертация е написана на 288 стандартни страници. Нейната структура обхваща разделите: Въведение, Аналитичен литературен обзор, Цел и задачи, Организация, обекти и методи за изследване, Резултати и обсъждане, Изводи и Приноси. Тя е илюстрирана с 25 цветни фигури и 73 таблици. Цитирани са 257 литературни източника. Повече от тях са от последните двадесет години, като над половината от тях са публикувани в периода 2010-2020 г. Представени са списък на научните публикации по труда, списък на патентите, авторските свидетелства и научните проекти, в които докторантката в участвала. Считаю, че по този критерий дисертацията покрива напълно изискванията на Правилника на Аграрния университет за приложение на ЗРАСРБ.

5. Обсъждане на резултатите и използвана литература.

В литературния обзор докторантката представя актуална информация и анализира литературните източници в няколко аспекта: медико-биологични основи за разработване на функционални хранителни продукти; съвременно състояние на отглеждането на кози и овце в Монголия; физико-химична и микробиологична характеристика на суровото мляко; научно-технологични аспекти при разработване на функционални млечни продукти; перспективи за използване на овче и козе мляко за производство на млечни продукти в промишлени мащаби; особености на традиционните млечни продукти; микрофлора на пробиотичните продукти. Разгледани са основните характеристики на млечнокиселите бактерии – таксономични, морфологични и биохимични. Представени са данни за доказан положителен ефект върху здравето на човек при приемане на пробиотични хранителни продукти. Докторантката показва висока степен на познаване на литературния материал, касаещ изследвания на химичния и микробиологичния статус на сурово овче и козе мляко, молекулярно-генетичните методи за идентификация на изолираните млечнокисели бактерии и доказване на пробиотичните им характеристики. Възможно е в края на литературния обзор да се направи обобщение на анализирания материал, което ще даде основание и насоки за коректно формулиране на целите и задачите, които докторантката си поставя в своя дисертационен труд.

Раздел "Резултати и обсъждане" е основен за дисертацията. Той е богато илюстриран с таблици и фигури. Докторантката с голяма прецизност и аналитичен подход е отразила извършения от нея експериментален труд. Резултатите от изследването са разделени в пет глави, които логично следват заложените задачи за постигане на целта на дисертационния труд.

В първа глава «Общ ресурс на млякото, определяне на физико-химичните показатели и безопасността на млякото от някои характерни за Монголия селскостопански животни», са представени статистически данни от 2020 г. за броя на отглеждани в Монголия кози и овце, и обемите на преработено овче и козе мляко. Правят впечатление количества на преработено мляко - 259,6 млн. л. козе и 165,6 млн. л. овче мляко, но се отчита, че те са значително по-ниски от кравето мляко. По отношение на съдържанието на незаменими аминокиселини не са отчетени значителни разлики при изследваните три млека, които стойности са съответно 43,64%, 45,41%, и 44,49% за козе, овче и краве. Доказано е, че овчето мляко е с най-високи концентрации на калций, натрий и магнезий. То е и с на-високо съдържание витамини В1 и В2. При определяне на безопасността на млеката са изследвани концентрациите на тежки метали, пестициди и радионуклеотиди. Получените резултати потвърждават хранителната ценност и безопасност на козето и овчето мляко, като суровини за производство на млечни продукти.

Резултатите представени във втора глава „Изолиране и идентифициране на микроорганизми от национални млечни продукти“ са свързани с изолирането на млечнокисели бактерии от 88 проби традиционни млечни продукти. Получени са

над 540 изолата, които са идентифицирани и по голяма част от тях са отнесени към видовете *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus thermophilus*. Проведена е селекция на всички щамове за наличие на пробиотични характеристики и са селектирани щамове, които са депозирани в Монголската националната колекция за микроорганизми.

В трета глава „Подбор на щамове млечнокисели бактерии и обосновка на методите за разработване на стартерни бактериални култури за получаване на функционални млечни продукти“, са изследвани 14 щам, принадлежащи към видовете: *L. paracasei subsp. paracasei*, *L. paracasei subsp. tolerans*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. lantarum*, *L. fermentum*, *Str. salivarius subsp. thermophilus*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*. След изследване на чисти култури млечнокисели бактерии, докторантката логично преминава към разработване на смесени стартерни култури и доказва, че комбинацията от щамове *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD19 и *L. paracasei subsp. tolerans* 06TSD39 има по-висока концентрация на жизнени клетки, а продуктите, на нейна основа, се характеризира с по-нежна консистенция, по-приятен вкус и аромат. При технологичните изследване е установено, че изолираният от традиционни продукти щам *L. fermentum* DTS/143, също проявява добри качествени показатели, поради което и той е селектиран за следваща изследователска работа, с цел разработване на смесени стартерни култури.

Четвърта глава „Създаване на технологии за пробиотични, синбиотични и белтъчни продукти от козе, овче и краве мляко“ има за цел да даде научно доказани данни за разработване на нови за Монголия функционални млечни продукти, които да се използват за профилактика на редица заболявания. Представени са резултати, получени при разработка на кисело млечни продукти от козе мляко и е показано, че продуктите съдържат висока концентрация от клетки и ниска киселинност, което подобрява тяхната сензорна характеристика. На база на тези резултати, може научно обосновано да се определят основните технологични параметри за производство на млечнокисели продукти от козе мляко. Резултатите от изследването, свързани с разработване на синбиотични млечни продукти доказват, че едновременното въвеждане на фруктоолигозахариди и инулин оказват положително влияние на функционалните, структурно-механичните, сензорни и микробиологични показатели на млечните продукти.

В последната глава, авторът представя резултатите от провеждане на *in vitro* и *in vivo* изследвания със селектираните щамове и получените с тях продукти. При изследване на антихеликобактериалната активност, щамовете са култивирани в продължение на 48 часа в лабораторни условия съвместно с *Helicobacter pylori* № 130. Високата концентрация на L-млечна киселина, продуцирана в началото на култивирането, редуцира значително концентрацията на клетки от *Helicobacter pylori* още в началото на процеса. Установено е, че инхибирането на растежа на *Helicobacter pylori*, при съвместно култивиране с *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD196, се

дължи не само на действието на органичните киселини, но и на други метаболити продуцирани от млечнокиселите бактерии. При *in vivo* изследвания с лабораторни мишки, в началото животните са били заразявани с *Helicobacter pylori*, които са колонизирали в храносмилателния тракт, а след това перорално са приемали клетки от селектирани млечнокисели бактерии. При тези изследвания е доказано, че клетките на *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD196 адхезират и колонизират към епителната тъкан на стомаха, като премахват клетките на *Helicobacter pylori* от организма на мишките. Чрез прилагане на метода за двойно-сляпо тестване, са проведени клинични изследвания на млечен продукт получен с използване на *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD196. Целевата група е съставена от 46 жени на възраст от 18 до 39 години, които са приемали продукта в определени дози в продължение на три седмици. При анализ на фецес, са установени повишена концентрация на L-млечна киселина и промяна в състава и структурата на микробиома при групата, която е консумирала млечния продукт. В допълнение, важен резултат е и доказването чрез RAPD анализ на наличие на живи клетки от изследвания щам, което потвърждава неговата възможност да преминава през цялата храносмилателна система и да проявява своите пробиотични свойства.

В заключение може да се твърди, че авторът е отлично запознат с разглежданата в работата материя. Резултатите са представени с компетентност и задълбоченост, характерна за учен, проучвал и изследвал разглежданите проблеми в дълъг период от време.

6. Приноси на дисертационния труд.

Въз основа на цялостното изследване, авторът е формулирал шест приноса – пет с научен характер и един с научно приложен.

Като научно значими приноси бих открил:

- Чрез молекулярно-генетични методи са идентифицирани щамове от видовете *Lactobacillus plantarum* и *L. paracasei spp. paracasei*, които са показали пробиотични характеристики.
- Доказано, е че *L. paracasei spp. paracasei* 06TSD196, изолиран от традиционни млечни продукти притежава изявени антихеликобактерни и пробиотични характеристики.
- При клинични изследвания е доказана антихеликобактерната и профилактична ефективност на функционалните млечни продукти

Научно-приложните приноси са свързани със създаване на колекция от изолираните млечнокисели бактерии от традиционните млечни продукти и разработване на стартерни култури с някой от тях.

7. Критични бележки и въпроси.

- През 2020 г. беше публикувана нова таксономия на видовете млечнокисели бактерии с промяна в наименованията на редица видове. В

дисертационната работа видовете млечнокисели бактерии са представени със старите наименования, които вероятно са били използвани в предишни публикации на докторантката.

- Считам, че в края на аналитичния литературен обзор, докторантка е могла да направи обобщение на представения материал. Това би дало възможност за коректно оценяване на актуалното състояние по изследвания проблем и да се определят целите и задачите на дисертационната работа, които да надградят съществуващото положение.
- Идентифицирани ли да изолираните дрожди от традиционните млечни продукти? (стр. 238)
- Има ли разлика между щамове *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD196 и *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD196

Публикувани статии и цитирания.

Докторантката представя 36 научни публикации по дисертационния труд, 10 от които са в реферирани научни издания. Представени са списък с осем научни проекти с национално и международно финансиране, в които докторантката участва, три монографии и седем патента и авторски свидетелства. В платформата Scopus са регистрирани 107 цитирания на публикации на автора. По този показател докторантката изпълнява изискванията на Правилника на АУ на ЗРАСРБ.

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд. В него са добре представени основните идеи, резултати и изводи от направените експерименти, като и същността на дисертационния труд като цяло.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

На базата на анализа на усвоените и приложени, от докторанта, различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, получените резултати, направените обобщения и изводи, приносите на разработката, считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Аграрния университет за неговото приложение, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на доц. д-р Ценд-Аюуш Чулуунбат научната степен "доктор на науките" по научната специалност „Технология на млякото и млечни продукти“.

Дата: 15.09.2022 г.
гр. Пловдив

РЕЦЕНЗЕНТ:

Проф. д-р Ангел Иванов Ангелов