

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд
за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”
на Гергана Стоянова Добрева-Йосифова
на тема **„Проучвания върху млечно киселата ферментация
на български ръжени кисели теста”**

Рецензент: доцент д-р Радка Василева – ИКХТ, ССА, пенсионер

Структура и обем на дисертационния труд

Дисертацията е написана на 175 машинописни страници в т. ч. увод - 1 стр., литературен обзор - 3 стр., цел и задачи - 2 стр., материали и методи - 17 стр., резултати и обсъждане - 79 стр., изводи - 2 стр., приноси - 1 стр., литература - 30 стр.

Дисертационният труд е структуриран правилно и е написан с прецизен научен стил. Представени са 37 фигури и 25 таблици, които дават ясна и достатъчна информация и илюстрират същността на изследванията и резултатите от тях.

Актуалност на разработваната тема

Хлябът е основна храна за човека, тъй като задоволява в голяма степен потребностите на организма от хранителни и биологично активни вещества (БАВ). Той е първият готов хранителен продукт за човечеството - незаменима храна и универсален културен символ.

Хилядолетия наред човек е консумирал каши от цели или раздробени зърна, грубо замесени пресни питки от натрошени зърна или други подобни продукти. Едва около 3 хилядолетия пр.н.е. в Египет и Вавилон започва приготвянето на бухнал хляб от съзряло (кисело) тесто. С развитието на цивилизацията, от 18 век, започва мащабно развитие на мелничарската технология, което довежда до максимално рафиниране на млевните продукти. От зърното се извлича предимно централната му част, а най-богатите на растителни влакнини и биологично активни вещества части се отстраняват с триците и зародиша. Тази технология обаче човечеството заплаща със своето здраве.

През последните години публикуваните многобройни епидемиологични, експериментални и клинични изследвания препоръчват отново консумацията на пълнозърнени видове хляб. Установено е, че те оказват благотворно влияние върху здравето на човека – намаляват риска от затлъстяване и рак, както и от коронарна болест на сърцето и диабет тип 2. Здравословният ефект се свързва с комплекса от хранителните растителни влакнини и БАВ като витамини, минерални соли, антиоксиданти и фитохормони.

Зърнените храни са най-богатият източник на неразтворими растителни влакнини в храната. Ръженото зърно има много повече, както разтворими, така и неразтворими компоненти спрямо пшеничното зърно. То съдържа по-малко скорбяла, повече минерални соли, микроелементи и свободни захари, притежаващи пребиотични свойства.

В повечето икономически развити страни на света се препоръчва прием на растителни влакнини от 25-35 г/ден. В действителност консумацията там е не повече от 70% от препоръчаната норма, а в България е много по-малка. Затова призивът е консумация на повече ръжен хляб и обозначаване на съдържанието на растителните влакнини на опаковката на хляба.

Ръжените видове хляб са традиционни за страни като Финландия, Швеция, Дания, Германия, Полша, Русия и др. Приготвят се с кисело тесто, което има голямо значение за структурата, трайността, вкуса и аромата на хляба. За ферментацията му се използват стартерни култури, съобразени с технологичните особености на производството и с вкуса на потребителите.

В България традиционно се използват пшенични брашна, а ръжените брашна във всички случаи (фракционирани и нефракционирани) са със значително по-добър здравословен ефект от пшеничните брашна. За подобряване на храненето на българския народ и за задоволяване на потребителския интерес на все повече нарастващия поток от туристи е необходимо да се произвеждат и предлагат повече ръжени и ръжено-пшенични видове хляб. Имайки предвид, че киселото тесто е неизменна фаза от тяхното приготвяне, то разработваната тема има актуален характер, особено като се има предвид, че млечно киселата микрофлора е ендемично специфична за географския район

Състояние на проблема и оценка на литературния обзор

В литературния обзор докторантът е използвал 293 литературни източника в областта на изследванията, от които 11 на кирилица и 282 на латиница. Почти половината са публикувани след 2000 г. (47%) като 30% от тях са от последните 5 години. Останалите 40% от общия брой са публикувани след 1990 г. и само около 10% преди това.

Състоянието на проблема е представено задълбочено и всеобхватно. Представеният литературен обзор показва много добрата осведоменост на докторанта по изследваната тема, компетентност и творчество да анализира и обобщава съществуващите литературни данни. Цитираната литература е представена в добра последователност избирателно и прецизно с цел поставените в дисертацията задачи.

Обект на дисертацията е киселото тесто, като основна фаза за приготвяне на ръжения и ръжено-пшеничните видове хляб. В тази връзка са разгледани характерните особености на ръженото брашно, видовете закваски за приготвяне на киселото тесто, както и ферментационната микрофлора за тяхното получаване. Изтъкнато е, че разнообразието и количеството на микроорганизмите в закваската са ендемично специфични и зависят от географския произход на зърното, от технологичните условия за

смилане на брашното и за приготвяне на киселата закваска. По-голямо внимание е обърнато на млечно-киселите бактерии (МКБ) като основен компонент на микрофлората на киселите закваски. Направен е общ преглед на млечно-киселите бактерии, изолирани от киселите закваски на 16 страни, между които Германия, Белгия, Дания, Франция, Русия, Италия, Испания, САЩ, Финландия и др. Представена е подробна информация за характеристиката, таксономията и съвременните методи за идентификация на МКБ в кисели закваски.

Литературният обзор завършва с значението на МКБ в производството на ръжения хляб. Подробно са разгледани технологично значимите свойства, които обуславят вкуса и аромата, структурата, свежестта и трайността на хляба. Киселинообразуването, в резултат на млечно киселата ферментация, е от първостепенно значение за получаването на ръжения хляб, тъй като оказва влияние не само върху вкуса и аромата, но и върху поведението на скорбялата и белтъчните вещества, като субстрат за действие на амилολитичните и протеолитични ензими. Цитирани са най-новите изследвания, които доказват, че в протеолизата участват не само ендогенните ензими на брашното, но и тези на лактобактериите на киселите закваски. Много добро впечатление прави фиг. 8 илюстрираща протеолитичните процеси при ферментацията на киселите закваски. Разгледана е също и антимикробната активност на МКБ като резултат на продуцираните органични киселини, въглероден диоксид, етанол, H_2O_2 и диацетил, както и на бактериоцин и бактериоцин-подобни инхибиторни субстанции в киселите теста. Подчертава се, че антимикробният спектър на МКБ от киселите закваски се различава от този на млечните, месните и други източници и включва също и микроорганизми, присъщи на зърнените храни.

Литературният обзор завършва с изискванията, на които трябва да отговарят стартерните култури, използвани за приготвяне на кисели закваски. Едно от тях е да бъдат изолирани от екологична ниша предполагаща добра адаптация към технологичните условия и хранителните източници в зърнената ферментация

Цел, материали и методи на изследване

Направените изводи и обобщения от литературния обзор са дали възможност на докторанта да формулира ясно общата цел и отделните задачи за реализирането и. Те са решени чрез използване на многобройни съвременни методи и апарати, добре описани в дисертацията и даващи възможност за получаване на достоверни и възпроизводими експериментални данни.

Избраният системен ход и последователност на работата е методически правилен и дава възможност да се изпълнят формулираните задачи и поставената обща цел. Докторантът е провел широко мащабна експериментална работа с последователно уточняване на всеки изследван показател, съгласно използваните методи.

В обобщение на казаното давам висока оценка на тази част от дисертацията. Ясно личи добрата методическа подготвеност на докторанта и творческото умение в подбора на необходимите методи за изследването.

Оценка на резултатите от изследването

Дисертационният труд на Гургана Йосифова представлява задълбочено изследване и целенасочено изучаване на млечно киселата микрофлора на българските кисели закваски и подбор на щамове с биологично и технологично значими свойства. Проведените изследвания и получените резултати напълно отговарят на темата на дисертацията. Експерименталните данни са представени по много удачен начин в таблици и фигури с добро графично оформление. Резултатите се дискутират сполучливо с литературните данни.

Обект на изследване в началото на дисертацията са отделните етапи от спонтанната ферментация на ръжени брашна от различни географски райони на страната до стадий „кисело тесто”. Резултатите показват, че тя се причинява от смесена микробна популация, съставена от дрожди и МКБ. Изолирани са МКБ от трите вида български ръжени кисели закваски, които са предмет на настоящата дисертация.

Важно място в дисертационния труд заемат изследванията, свързани с полифазната таксонометрична характеристика на МКБ включваща идентификация с класически подходи и използване на молекулярно-таксономични изследвания. Резултатите доказват присъствие в изследваните български кисели закваски на *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus brevis* и *Pediococcus pentosaceus*. Тук трябва да се отбележи, че дисертантът е усвоил и коректно приложил съвременните молекулярни методи за идентификация, без която не би било възможно практическото приложение на тези МКБ.

Интерес представляват и данните получени от *in vitro* характеризиране на някои пробиотични свойства на изследваните МКБ. Установена е добра преживяемост в моделната система на гастроинтестиналния тракт на два щамове от изследваната колекция МКБ. Същите притежават устойчивост към най-често използваните в практиката антибиотици, както и към патогенни микроорганизми, което ги определя като потенциални пробиотични щамове.

С цел използване на изолираните МКБ за получаване на стартерни култури за ръжени закваски е проведен съответен подбор по технологично значимите свойства. Имайки предвид особеностите на ръженото брашно, докторантът правилно поставя на първо място способността на МКБ да подкиселяват средата. Киселинността е необходима за нормалното протичане на амилолитичните и протеолитичните процеси при ферментация на тестото, за да се получи хляб с добра, сравнително суха на пипане средина, с приятен вкус и аромат. Киселинността е необходима и за удължаване на преснотата и трайността на хляба. Резултатите показват, че 3 от изследваните щамове

МКБ проявяват активно подкиселяване на средата (*Lactobacillus plantarum* b1, *Lactobacillus brevis* b47 и *Lactobacillus brevis* b70) и добра устойчивост към количества на NaCl близки до тези използвани в хлебопроизводството. Активната продукция на млечна киселина от МКБ води до създаване на неблагоприятни условия за развитие на нежеланите спорообразуващи бацилни видове в киселото тесто и закваската. В българските кисели закваски е установено присъствието също и на щамове с увеличена амилολитична и протеолитична активност, които могат да се използват успешно при формиране на стартерни култури. Изследваните МКБ в повечето случаи имат добра преживяемост при лиофилизиране, което дава възможност за успешното им съхраняване и използване в хлебопроизводството.

Експерименталната работа завършва с оценка на приложимостта на избрани щамове МКБ като стартерни култури за производство на хляб. Това са хомоферментативният щам *Pediococcus pentosaceus* b23, *Lactobacillus brevis* b47 и *Lactobacillus brevis* c16a, съчетани в 7 комбинации. Проведени са използваните за целта пробни лабораторни изпитания (ПЛИ). Проследени са показателите: активна и титруема киселинност, подемна сила по 2 методики и органолептична оценка на изпечените хлебчета. Най-добри резултати са отчетени в комбинацията от съвместното присъствие на 3-те щама.

Изводи

Голямата по обем работа и получените резултати са представени в синтезиран вид в 10 извода, които са правилно формулирани. Считаю, че изводите 3 и 4 може да се обединят.

Обобщените 6 приноса в края на дисертацията отразяват коректно резултатите от изследванията и ги приемам безрезервно.

Във връзка с дисертацията са публикувани 4 научни работи, а 1 е под печат. В 4 от тях докторантът е на първо място. Това определя неговият съществен принос в разработването на дисертационния труд. Материали от дисертацията са докладвани на 4 научни форума.

Към докторанта имам следните въпроси, бележки и препоръки;

1. Някои цитирани литературни източници не са отбелязани в списъка на използваната литература (Попова и др., 1980), (Стоева и др., 1992), Amorozo et al., 2004) ;
2. Наличие на някои некоректни изрази като ферментация на хляба, разработка на микрофлората, равномерно разпределение на белтъчините в зърното;
3. Би било добре в технологичната схема за приготвяне на главното тесто чрез спонтанна ферментация да се посочи, че заедно с киселото тесто при замесване на главното тесто се поставят и останалите суровини и материали като готварска сол, хлебна мая, вода, семена и др. (стр. 37 фиг. 7, стр.64 абз. 3);

4. Как се обяснява ниската титруема киселинност 2,40°Н на вариант 4 при актуална киселинност рН 4,35 (стр. 137);

5. Защо при замесване на тестото за пробно лабораторно изпичане (ПЛИ) се използва дестилирана вода;

6. Каква е ролята, която МКБ играят за определяне аромата на ръжения хляб?

7. Кои са причинителите на картофената болест по хляба и как може да се възпрепятства развитието и ?

8. Докторантът е провел коректно ПЛИ. Без да подценявам получените резултати бих препоръчала, с оглед на индустриалното приложение на стартерните култури, да се направи ПЛИ и в специализирана лаборатория с полупроизводствено обзавеждане, тъй като е специфична е не само технологията на приготвяне на тестото, но и режима на изпичането. При оценка на хляба трябва да се имат в предвид допълнително и показателите лепливост на средината, повърхност на среза, наличие на пукнатини и др.

Независимо от отбелязаните бележки, считам че резултатите от проведените изследвания са обосновани и значими от гледна точка на тяхната научна стойност и практическо приложение.

Заключение

Представените в дисертационния труд на Гергана Стоянова Добрева-Йосифова резултати са безспорен принос в хранителната микробиология и хвърлят светлина върху микрофлората на българските ръжени кисели теста. Те са плод на едно завършено научно изследване с потенциално практическо приложение. Това ми дава основание да считам, че изискванията за присъждане на образователната и научна степен „доктор” са изпълнени. Затова убедено препоръчвам на членовете на Почитаемото Научно Жури да гласува за присъждането на образователната и научна степен „доктор” на Гергана Стоянова Добрева-Йосифова.

15. 06. 2011 г.
София

Рецензент:
(доц. д-р Р. Василева)