

АВТОРСКА СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ И НАУЧНО-ПРИЛОЖНИТЕ ПРИНОСИ

НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ НА ДОЦ. Д-Р ИЛИАНА НАЧЕВА

представени за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „професор” по ш. 5. Технически науки, професионално направление 5.12. Хранителни технологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества (вкл. ензими, хормони, белтъчини)“ обявен от Институт по криобиология и хранителни технологии–София и обнародван в ДВ бр. 36 /27.04.2018 г.

В представените за конкурса научни трудове е отразена цялостната научноизследователска и научно-приложна дейност, свързана с: фундаментални и приложни изследвания в областта на криобиологията, лиофилизацията, гама облъчването в хранителната промишленост, използване на биологично активни вещества за получаване на здравословни продукти, създаване на биотехнологии за производство на нови функционални храни, разработени на млечна, месна и зърнена основа с висок здравословен потенциал.

Приносите на представените научни трудове могат да бъдат систематизирани в следните основни научни направления:

I. Криогенни биотехнологии – проучване механизма на криоувреждане и криозащита при нискотемпературно третиране на различни биологични обекти (микроорганизми и ензими) и разработване на технология за тяхната лиофилизация.

НАУЧНИ ПРИНОСИ:

1. Проведени са теоретични проучвания и анализи върху криозащитата на биологични обекти - различни щамове млечнокисели бактерии, бифидобактерии, дрожди и ензими. Посочени са основните фактори и механизми, влияещи върху криорезистентността на изследваните биологични обекти. Обобщени са досегашните знания за криопротекторите и механизма на тяхното действие в биологичните системи при замразяване и сублимационно сушене. (*публикации: B22, B39, B56, B58, монография Г2*)
2. Установено е наличието на криозащитни свойства на широк спектър различни по строеж и структурни особености природни и синтетични хидроколоиди – захароза, лактулоза, гума гуар, пектини, карбоксиметилцелулоза, хитозан, к-карагенан, инулин и желатин при замразяване и сублимационно сушене на отделни щамове млечнокисели бактерии (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus щам 1381, Lactobacillus casei ssp. casei щам 1014 и Streptococcus thermophilus щам 1374*) и на смесени бактериални култури. Доказано е, че биополимерите действат върху микробните клетки като криопротектори от екзоцелуларен тип и повишават значително преживяемостта им при криогенно третиране и при продължително съхранение – над 5 г. (*публикации: B22, B39, B46, B56, монография Г2*)

3. Установено е, че приложението на хидроколоидите гума гуар и натриева карбоксиметилцелулоза в качеството им на матрици за имобилизация и протектиращи среди за криоконсервиране на протеазни и амилазни ензимни субстанции, допринася за запазване на тяхната биологична структура и каталитична активност. **(публикация В9, монография Г2)**
4. Експериментално е доказано, че замразяване на клетъчни суспензии от щамове млечнокисели бактерии (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* щам 1381 и *Streptococcus thermophilus* щам 1374 и *Bifidobacterium bifidum* щам 1370) с високи скорости на охлаждане $-400^{\circ}\text{C}/\text{min}$, при потапяне в течен азот, осигурява най-висока жизнеспособност на бактериите при постигната преживяемост от 72 до 80%. **(публикации: В56, В58, монография Г2)**
5. Потвърдена е приложимостта на криоконсервирането като оригинален биотехнологичен подход при разработване на нова генерация функционални продукти на млечнокисела основа и стабилни ензимни препарати, който има потенциала да отговори на съвременните предизвикателства на пазара на биопродукти. **(публикации: В9, В46, монография Г2)**
6. Проведени са експерименти за криоконсервиране на първична биволска коластра с високо съдържание на трипсининхибитор, който предотвратява или силно ограничава протеолитичното разцепване на антителата и осигурява жизнено важния пасивен имунитет на новородените и криоконсервиране на хиперимунни млечни серуми и жълтъчни антитела срещу ентерохеморагичните *E. coli* бактерии. Получените резултати имат важно значение за имунологията и приложение в хуманната и ветеринарната медицина. **(публикация В49)**

НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

1. Разработена е нова технология, включваща имобилизация на селектирани щамове *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* 1381, *Lactobacillus casei ssp. casei* 1014 и *Bifidobacterium bifidum* 1370 в хидроколоидна матрица, замразяване и последващо сублимационно сушене. Чрез диференциален термичен анализ са определени фазовите преходи при леодообразуване и са обосновавани температурните режими на процеса лиофилизация, гарантиращи високи нива на преживяемост на микроорганизмите. Този подход е приложен при създаване на рецептурни формули и производство на нови функционални храни. **(публикации: В22, В46, В56, монография Г2)**
2. Установен е ефекта от 5-степенно замразяване, със скорости на охлаждане - 0.3, 1.5, 15.0, 30.0 и $400^{\circ}\text{C}/\text{min}$ върху оцеляването на клетъчни култури от *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* щам 1381 и *Streptococcus thermophilus* щам 1374. Получените данни дават ценна практическа насока при криоконсервирането на бактериите, с оглед постигане на висока степен на преживяемост и запазване на пробиотичната им активност. **(публикация В58, монография Г2)**

3. Създаден е нов лиофилизиран полиензимен продукт, съдържащ основните групи храносмилателни ензими (химозин, α -амилаза, бромелаин, липаза), имобилизирани в хидроколоидна матрица и комбинация от растителни биологично активни компоненти. Продуктът е подходящ за приложение при нарушено храносмилане и недостатъчен синтез на храносмилателни ензими в организма. (*публикация В9*)

II. Използване на съвременни технологични решения - радиационни технологии (гама облъчване) и сублимационно сушене за повишаване качеството, безопасността и удължаване срока на съхранение на храни от растителен и животински произход.

НАУЧНИ ПРИНОСИ

1. Установено е действието на комбинирана технологична обработка, включваща лиофилизация и гама облъчване с различни дози на интензитет (1, 2 и 4 kGy) върху физикохимичните показатели, мастнокиселинния профил и микробиологичната стабилност на **млечни продукти** – кисело мляко, бяло саламурено сирене и кашкавал, получени от биволско мляко. Експерименталните резултати доказват, че след третиране с гама лъчи при дози от 2 kGy и 4 kGy не се наблюдават неблагоприятни промени във физикохимичните показатели, включително и в органолептичната оценка. Установени са промени в мастнокиселинния състав на млечната мазнина при изследваните продукти, която се изразява в слабо понижаване на съдържанието на наситените мастни киселини и повишаване на моно- и полиненаситените мастни киселини, включително олеиновите и ваксеновите киселини. Установено е, че получените лиофилизати се характеризират с много добра корелация между незаменимите мастни киселини: ω -6 / ω -3, което определя положителния им ефект върху човешкото здраве. Получените експериментални данни за показателите атерогенен индекс и превантивен липиден скор доказват, че приложеното сублимационно сушене и гама облъчване с щадящи дози – 2 и 4 kGy не предизвикват неблагоприятни промени в хранителните качества и биологичната стойност на изследваните млечни продукти от биволско мляко. Доказана е микробиологичната им чистота и стабилност, изразяваща се в запазване на жизнеспособността на млечнокиселите бактерии, както и липса на патогени, плесени и дрожди. (*публикации: В1, В2, В3, В16, В17, В18, В36, В52, В53*)
2. Доказан е потенциала на гама облъчването като метод за технологична обработка на **месо, месни продукти и риба**, който гарантира тяхната безопасност и удължава срока им на годност.
 - Проведените експерименти с *биволско месо*, облъчено с дози от 4 и 8 kGy и съхранявано при хладилни условия за период от 9 месеца доказват, че гама стерилизацията с доза до 8 kGy редуцира наличната микрофлора, като същевременно не се наблюдава загуба на незаменими мастни киселини и не се намалява хранителната стойност на продукта. Подобна

зависимост е установена и при експерименти с *месни продукти* (малотрайни, сурово-пушени и варено-пушени), облъчени с доза 5 kGy. **(публикации: B23, B44).**

- Проведен е биологичен експеримент с опитни животни, хранени по схема с гама облъчен сурово-сушен колбас с доза 4 kGy, който доказва възможността за повишаване качеството на месните продукти чрез тази технологична обработка. **(публикация B15).**
- Проучено е въздействието на комбинирана технологична обработка - лиофилизация и гама стерилизация върху качествени, микробиологични и биохимични показатели на *агнешко месо* с цел удължаване на съхранение. Резултатите доказват, че при облъчване с две дози гама лъчи 4 kGy и 8 kGy не се наблюдават съществени промени в сензорната характеристика на агнешкото месо и се увеличава микробиологичната му безопасност. Констатирани са промени в съдържанието на наситените и ненаситените мастни киселини, инициирани от наличието на свободни радикали, ускоряващи протичането на липолитични процеси, без увеличение количеството на транс-мастните киселини. **(публикации: B54, B55)**
- Установено е влиянието на три дози гама лъчи (2,3 и 4 kGy) върху микробиологичния статус на *филе от риба (Scomber scombrus)*, съхранявана при ниска температура (-20°C) за период от 6 месеца. Получените резултати доказват положителен ефект от обработката с гама лъчи, като доказват, че доза от 3-4 kGy е достатъчна за редукция на аеробни мезофилни и психрофилни микроорганизми до липса на растеж и липса на патогени при съхранение. **(публикация B27)**

3. Експериментално е потвърдено, че ниските дози гама облъчване са подходящи за обработка на продукти от **растителен произход** с цел намаляване на риска от разваляне и удължаване срока им на съхранение. Установен е положителен ефект от облъчването с (2,5÷3,5 kGy) върху химичните и микробиологичните характеристики на *пресни плодове* - ягоди и малини и удължаване срока на хладилното им съхранение с 12÷13 дни. Доза на облъчване от 2 kGy е достатъчна да осигури микробиологична стабилност на лиофилизирани *горски плодове* (къпина, боровинка, арония, ягода и черен бъз) в процеса на съхранение. Постигнато е удължаване на срока на съхранение с 30 дни на полуфабрикати от картофи, облъчени еднократно с дози 100, 150 и 200 Gy и съхранявани при температура 0-4° C в продължение на три месеца. При облъчени с 2 kGy лиофилизирани зеленчуци е постигната висока микробна чистота и гаранции за дългосрочното им съхранение (до 5 години) в полимерни опаковки при стайни условия. **(публикации: B4, B7, B10, B19)**

НАУЧНО ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

1. Разработени са **оригинални комбинирани технологии на основата на сублимационно сушене и радиационно облъчване (гама стерилизация)**, експериментирани и приложени за дългосрочно, качествено и безопасно консервиране и съхранение. Представени са конкретни данни за параметрите на двата технологични процеса, като са изтъкнати предимствата на новата комбинирана технология. *(публикации: B1, B2, B3, B16, B17, B18, B36, B52, B53)*
2. Разработени са два математически модела за определяне оптималните параметри на облъчване на:
 - биволско месо, с цел запазване на физико-химичните, технологичните, микробиологичните и органолептичните му характеристики по време на неговото съхранение. Резултатите показват, че моделът на облъчване с доза от 4 kGy при съхранение в хладилник при (-4°C) е най-благоприятен за запазване на качеството на изследваните характеристики. *(публикация: B23)*
 - семена от зимна пшеница, с цел повишаване на сухоустойчивостта и увеличаване на продуктивността на растенията. Получените данни установяват положителното влияние на прединдустриалното облъчване на семената и определят като оптимални дозите от 10 и 15 kGy за отделните сортове пшеница. *(публикация: B21)*
3. Доказана е радиационна обработка на изсушени по различен технологичен път (в естествени условия и по метода сублимационно сушене) плодове, чрез електронен парамагнитен резонанс (EPR). Установено е, че при изсушените в естествени условия плодове (смокини, фурми и сини сливи), облъчването се доказва чрез регистриране на ЕПР сигнал в различна част от плода. При лиофилизираните горски плодове (боровинки, къпини, арония, ягода и черен бъз) интензитетът на естествения сигнал след облъчване се увеличава, и така нареченият "целулозоподобен" EPR спектър е регистриран само при арония. *(публикации: B5, B12)*

III. Хранителни криобиотехнологии – разработване на технологии за получаване на лиофилизирани функционални храни за специализирано лечебно и профилактично хранене с висок здравословен потенциал, чрез включване в състава им на биологично активни компоненти.

НАУЧНИ ПРИНОСИ

1. Доказани са възможностите на изкуствения интелект в решаване на научни и приложни проблеми в хранителната промишленост. Чрез използването на иновативни компютърни методи, базирани на изкуствени невронни мрежи е възможно предварително програмиране на продуктовия състав на разработваните продукти, както и постигане на икономически ефект от намаляване на производствените разходи. *(публикации: B6, B8)*

2. Доказан е радиопротективния ефект на два вида нови функционални храни на основата на пуешко и биволско месо с добавени олиго-и полизахариди, натурални антиоксиданти, лецитини и др. растителни компоненти чрез провеждане на биологичен експеримент с опитни животни (бели мишки). Анализирани са радиопротективното действие на разработените храни върху показателите тегло и левкоцити в кръвта на облъчени с ниски дози - 2,25Gy гама лъчи опитни животни при два режима на хранене – лечебно и профилактично. Прогнозиран е положителният ефект от храненето със специализираните храни върху общия жизнен статус на подложените на радиационен стрес опитни животни, което определя целесъобразността от включването им в диетата на пациенти в период на възстановяване след лъчетерапия. **(публикации: B30, B48, монография Г3).**
3. Експериментално са установени основните технологични параметри на процеса на получаване на кефир от козе мляко – начална концентрация на стартерната култура, титруема, активна киселинност и продължителност на ферментацията. Изследвана е динамиката на развитие, преживяемостта и съотношението на отделните микробни групи във ферментирания продукт в процеса на съхранение. Направен е електрофоретичен анализ на казеиновите и суроватъчни фракции на кефира по време на съхранение. Установен е мастнокиселинния профил на ферментирания продукт, който формира нисък атерогенен индекс и определя кефира като здравословен по отношение съдържанието на липиди. **(публикации B26, B29, B35)**
4. Потвърдена е приложимостта на процеса сублимационно сушене (лиофилизация) като основен технологичен метод за производство на функционални храни. Доказани са предимствата на метода за запазване жизнеспособността на полезната микрофлора в лиофилизираните концентрати, както в процеса на технологична обработка, така и при продължително съхранение. **(публикации: B25, B42, B46, монографии Г1, Г3)**

НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

1. За първи път е приложен модел тип изкуствена невронна мрежа (ANN) и адаптивна невронно-размита интерфейсна система (ANFIS) за програмиране продуктовия състав на нова серия функционални пробиотични продукти. На базата на проведено анкетно проучване са формулирани компонентните състави на серия функционални храни на млечнокисела основа, които освен здравословни качества притежават и предпочетени от потребителите сензорни характеристики. **(публикации: B41, B45)**
2. Разработена е технология за гранулиране на функционални продукти на млечнокисела основа за получаване на еднородни по големина частици, което подобрява тяхната разтворимост. Проведено е изследване за разпределението на частиците по размери и идентифициране влиянието на гранулиращите разтвори върху свойствата на крайния продукт. По технологията са изготвени гранули от лиофилизиран синбиотичен продукт. **(публикация: B37)**

3. Разработена е технология за окрехкотяване на пуешко, биволско и заешко месо с използване на растителни протеолитични ензими за подобряване хранителните им качества и получаване на нова гама месни храни за специализирано хранене (*публикации: B11, B14, B31, монография Г3*)
- За първи път в България е проучено въздействието на растителните протеази бромелаин и папаин върху крехкостта на пуешко, биволско и заешко месо. Проучено е действието и два растителни източника на естествени протеази (екстракти от плодове киви и корен на джинджифил). Установени са оптималните условия за протичане на процеса на хидролиза, при които се отчитат минимална загуба на белтък и запазване на органолептичните качества на месните проби.
 - Адаптиран е методът на SDS–полиакриламидна гел електрофореза (SDS-PAGE) за оценка ефекта от прилагане на растителните протеази върху електрофоретичния профил на пуешко, биволско и заешко месо.
4. Разработени са технологии за получаване на лиофилизирани хранителни концентрати на месна основа за специализирано хранене :
- Лиофилизирани функционални храни от ензимно окрехкотено пуешко и биволско месо с добавка на зърнени, плодови и зеленчукови компоненти, предназначени за *възстановително хранене* на пациенти в състояние на малнутриция по здравословни, физически или психически причини. Най-подходящите рецептурни формули са подбрани чрез биологичен експеримент с опитни животни. Установени са оптимални параметри на процеса сублимационно сушене за получаване на продукти с ниско остатъчно влагосъдържание. (*публикация: B28, монография Г3*)
 - Иновативни лиофилизирани храни на основата на пуешко и биволско и заешко месо с *повишено съдържание на полиненаситени мастни киселини (линолова и линоленова) и омега 6 и омега 3 мастни киселини*. В рецептурния им състав са включени растителни масла, физиологично активни екстракти от спинулина (*Thymus serpyllum*) и мащерка (*Arthrospira platensis*) с доказан антиоксидантен ефект, които ще повишат качеството и пълноценността на получените концентрати. Предназначени са специализирано хранене - възстановително и лечебно, както и за ежедневна консумация. (*публикации: 33, 59, 62, монография Г3*)
5. Разработени са рецептури и многостадийни биотехнологии, за получаване на нови лиофилизирани *про- и синбиотични храни* на основата на ферментационни процеси, включване на стартерни култури и на ензимни комплекси в хидроколоидни матрици с последващо замразяване и сублимационно сушене. Те са предназначени за профилактика на някои социално значими съвременни заболявания, а именно:
- **дисбактериози** от различен характер - Лиофилизирани синбиотични храни на основата на ферментирало краве и овче мляко от породата Родопски цигай, включващи пробиотичен комплекс от подбрани щамове млечнокисели

бактерии - *Lactobacillus bulgaricus* 1381, *Lactobacillus acidophilus* 1379, *Bifidobacterium bifidum* 1370, *Lactobacillus casei* 1014, *Streptococcus thermophilus* 1374 с доказани антагонистични свойства по отношение на патогенната и патогенно-чревна микрофлора, както и ензимни комплекси от протеолитични и липолитични ензими, включени в хидроколоидна матрица (пектин, натриев алгинат, хитозан, ксантан), натурални източници на биоактивни вещества от растителен произход, растителни масла, пчелни съставки, антоциани, изолирани от диворастящи плодове – арония и боровинка, и др. Биопродуктите са с обогатен микро-и макроелементен състав, висока биологична стойност и благоприятен физиологичен ефект при дисбиотични състояния и др. Проучени са възможностите за получаване и на ферментирани зърнени продукти с потенциален пробиотичен ефект. (публикации: 20, 25; 34, 38, 50, 57, 61, ТС № 00110/2004, ТС № 00118/2005, монография Г1)

- **остеопороза** – Разработени са 5 вида нови функционални високоусвоими храни – серия „Остеопротект” на млечна, млечно-плодова, рибна, микроорганизмова и растителна основа, предназначени за хранителна профилактика на остеопорозата. Новите функционални лиофилизирани храни са формулирани на базата на биологични състави с благоприятно въздействие върху костния метаболизъм и с остеоиндуктивен ефект. (публикация: B51, монография Г1)
 - **снижаване на имунната компетентност** на организма, вследствие нездравословния начин на живот и произтичащите нездравословни хранителни навици, **алергия към краве мляко, лактозна непоносимост** - На основата на кефир от козе мляко са разработени функционални продукти с включена лактулоза и биологично активни компоненти. Леофилизираните концентрати са със запазени качествени характеристики, балансиран състав, висока биологична и енергийна стойност, подходящи за профилактични и лечебни цели. (публикации: B40, B47, ТС № 001/2017, ТС № 002/2017)
 - **Реконвалесцентно хранене** - Разработени са рецептурни формули и технологии за получаване на функционални многокомпонентни храни, чиито състав и структура ги правят подходящи за възстановително, сондово хранене за подпомагане на репаративните процеси в организма и ускоряване на оздравителния процес при тежки травми, следоперативни и други клинични състояния. (монография Г1)
6. Разработена е технология за производство на обогатени биопродукти на базата на пчелен мед, плодове и млечнокисела закваска. Биопродуктите са високостойностна в биологично отношение и по енергийно съдържание храна. (ТС № 00126/2006; ТС № 00127/2006; ТС № 00128/2006)
 7. Разработени са рецептурните формули и технологични способности за получаване на лиофилизирани храни на соево - зеленчукова основа- *супа и гювеч* и на соево-млечна основа – *напитки, кремове, пастети*, които се отличават с висока

хранителна и биологична стойност, предназначен за здравословно и профилактично хранене. (ТС № 00111/ 2004; ТС № 00112/ 2004)

8. Адаптирани са биотехнологични методи за включване на бактериални култури и на ензимни комплекси в матрици на биополимерни гелове:
 - Потвърден е стабилизиращия ефект на ксантановия биополимер върху преживяемостта на щамове *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus 1381* и *Lactobacillus casei ssp. casei 1014* в моделни условия на гастроентерален тракт. (публикация В24)
 - Установено е, че добавяне на отделни бактериални култури от щамове *Lactobacillus acidophilus 1379*, *Bifidobacterium bifidum 1370* и *Lactobacillus casei ssp. casei 1014* към класическата стартерна култура за българско кисело мляко, включени в хитозанов гел стабилизира тяхната устойчивост в моделни условия на гастроентерален тракт и осигурява висока концентрация на жизнеспособни клетки. (публикация В60)
 - Установено, че имобилизацията на млечнокисели бактерии *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus 1381* и *Streptococcus thermophilus 1374* и на ензимите химозин и алфа амилаза в хидроколоиден гел на натриев алгинат и гел на гума гуар увеличава тяхната стабилност и разширява възможностите за използването им за получаване на нови функционални продукти. (публикация В43)
 - Потвърден е положителния ефект от включване на лактулоза, пектин и карбоксиметилцелулоза за размножаване и стабилизиране на микрофлората на кефир от козе мляко по време на ферментация и лиофилизация. (публикации: В13, В39)
9. Установена е корелационна зависимост между технологичните фактори време и температурата на съхранение и основни качествени параметри на краве, козе и овче кисело мляко (органолептична оценка, активна и титруема киселинност, протеин и синерезис при съхранение). Определени са оптималните условия за получаване на пробиотични продукти с добра вкусова възприемчивост и запазени качествени показатели. (публикация В32)
10. Изследвана е ролята и мястото на съвременните криобиотехнологии в създаването на хранителни модули със специално предназначение. Доказано е, че разработените лиофилизираните концентрати осигуряват по алиментарен път ефективната биозащита на организма, поставен в екстремални условия и допринасят за поддържане висока ниво на жизненост, работоспособност и адаптивност на хора, работещи в екстремни ситуации – космически и наземни екипажи, експедиции, войскови контингенти, природни бедствия, аварии и др. (публикация В42)

София,
25.06.2018 г.

Изготвил:
/доц. д-р ИлIANA Начева/