

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен "доктор" по: област на висше образование 5. "Технически науки", професионално направление 5.12. „Хранителни технологии“, научната специалност „Технология на биологично активните вещества(вкл. ензими, хормони и белтъчини) ”

Автор на дисертационния труд: Ели Стоянова Костадинова, докторант задочна форма на обучение при Институт по криобиология и хранителни технологии, гр. София.

Тема на дисертационния труд: : „НОВИ МЛЕЧНИ ПРОДУКТИ НА БАЗАТА НА БИВОЛСКО МЛЯКО С ПОВИШЕНО СЪДЪРЖАНИЕ НА БИОАКТИВНИ МАСТНИ КИСЕЛИНИ “

Рецензент: Доц. д-р инж. Илиана Венева Лазова-Борисова, Институт по криобиология и хранителни технологии, гр.София. Област на висше образование:5. Технически науки, професионално направление 5.12. Хранителни технологии, научната специалност „Технология на преработката и съхранението на зърното, зърнените продукти и смесите“

Рецензията е изготвена съгласно Заповед № РД 05-184/05.08.2025 г. на Председателя на Селскостопанска Академия, гр.София.

I. Кратко представяне на кандидата:

Ели Стоянова Костадинова е родена на 01.10.1975 г в гр.София. Висшето си образование завършва в Софийски университет „Св. Климент Охридски“ през 1999г. - степен ОКС магистър, специалност „Химия“. През 2015 г. в Университет по хранителни технологии, гр.Пловдив придобива квалификационна степен „Магистър“ по специалността „Технология на млякото и млечните продукти“.

През периода 01.08.1999-30.12.1999 г е работила като лаборант химик в Централна Контролна Лаборатория към Комбинат за цветни метали КЦМ АД. От 01.11.2002 до 31.12.2010 г. е радиохимик в Контролна лаборатория по радиационна защита. В периода от 01.01.2011-16.11.2019г. работи като специалист химик в Акредитирана лаборатория за изпитване на храни към „Ел Би Булгарикум“, ЕАД. Понастоящем работи в Института по криобиология и хранителни технологии, гр.София като асистент в отдел „Хранителни технологии“.

Владее на добро ниво писмено и говоримо английски и руски език. Притежава много добри компютърни умения в ползването на Microsoft Office, Word, Excel, PowerPoint.

В периода 03.12.2006г.- 11.12.2006г. асистент Ели Стоянова Костадинова е участвала в краткосрочна специализация в рамките на сътрудничество по ЕБР с Института по ядрена физика на Чешката Академия на науките в гр. Прага на тема: “Дълго и кратковременни вариации на естествения радиационен фон и тяхното влияние върху околната среда и мерките за радиационна защита“.

Асистент Ели Стоянова Костадинова е участвала в национални научноизследователски проекти. В периода 2003-2010г. участва в програма за радиационен мониторинг в ИЯИЯЕ към Българската Академия на Науките. В периода от 2019-2021 г. участва в проект на тема: “Технологични решения за повишаване съдържанието на биологично активни мастни киселини в биволско мляко и производни продукти “с ръководител доц.д-р Силвия Иванова .

Асистент Ели Стоянова Костадинова е участвала в международни научноизследователски проекти. В периода 2005-2006г. участва по ЕБР с Института по ядрена физика на Чешката Академия на науките в гр. Прага на тема: "Дълго и кратковременни вариации на естествения радиационен фон и тяхното влияние върху околната среда и мерките за радиационна защита". През 2005-2006г. участва в двустранно международно сътрудничество между Institute of Nuclear Science Ege University Izmir, Turkey and IYIYE, Sofia, Bulgaria. През периода 2007-2008 г. осъществява международно сътрудничество със Словакия на тема: "Изучаване на радиация и определени характеристики на околната среда на две високопланински станции-Мусала и Ломнишки щит."

Зачислена е в докторантура - задочна форма на обучение със срок на обучение 01.03.2021 г. до 01.03.2025 г. със заповед № РД-05-15/04.03.2021 г. на Председателя на ССА. Отчислен е с право на защита от 06.01.2025 г. със заповед № РД 05-6/08.01.2025 г.

II. Актуалност на проблема:

Млечната промишленост в страната е известна с уникалното качество на киселото мляко и българските сирена. Техните специфични качествени характеристики се определят от вида на преживното животно, диетата и климатичните условия. Кравето и овчето мляко са основна суровина за получаване на сирене от столетия. Значително по-късно козето и биволското мляко предизвикват интерес за промишлено получаване на сирене, предшествано от дългогодишната им употреба за домашни производства или смесени (прибавени) към основните видове мляко краве или овче. През последното десетилетие козето и биволското мляко се въвеждат в промишлената млекопреработвателна дейност самостоятелно за производство на кисело мляко и традиционни видове сирене. Съставът и свойствата на биволското мляко са подходящи за получаване на бяло саламурено сирене, което все по-масово се внедрява в производствената дейност. При производството на този продукт все още емпирично се прилага технологията на прототипа бяло саламурено сирене от краве мляко. Това налага провеждането на задълбочени изследвания върху основните процеси свързани с технологията на този вид сирене. Изварата като млечен продукт получена на биволско мляко не е добре изследвана и прилагането на добавки изисква детайлно проучване. Неконвенционалните маслодайни култури са от голямо значение, тъй като имат специфични химични свойства и могат да се използват като хранителни добавки. Интересът на потребителите от здравословни хранителни добавки богати на омега-3 мастни киселини е довело до изследване на традиционните хранителни продукти и обогатяването им по естествен път или чрез използването на добавки. Обогатяването на млечни продукти (извара и сирене) с биологично активни компоненти – омега-3, олеинова киселина от растителен произход, витамини, минерали и влакнини, представлява интерес за науката в България и създаването на продукти с висок здравословен и превантивен ефект би допринесло за здравословното хранене на българина. Научните изследвания върху състава на изварата са оскъдни на национално и световно ниво, в това число и от биволско мляко, което е предпоставка за детайлно проучване върху качествените и количествени ѝ характеристики. Използването на семена и ядки, като добавка към млечни продукти, не е добре проучено и прилагано, което налага разработването и изследването им в детайли. Обогатяването на млечните продукти като извара и бяло саламурено сирене с растителни източници, съдържащи биологично активни компоненти като незаменими мастни киселини - омега-3 и омега-6, и влакнини ги определя като функционални храни с благоприятен ефект върху човешкото здраве.

III. Цел, задачи, хипотези и методи на изследване:.

Основната цел: Разработване на технологии за производство на извара и българско саламурено сирене от биволско мляко с добавка от семена (тютюнево, ленено, конопено) и орехови ядки с оглед получаване на функционални млечни продукти с повишено съдържание на биологично активни мастни киселини е формулирана правилно, конкретно и точно.

От поставената основна цел произтичат следните задачи:

1. Изследвания върху изходните суровини – сурово биволско мляко и растителни добавки – семена (тютюнево, ленено, конопено) и орехови ядки

1.1 Физикохимичен състав на биволското мляко и добавките

1.2 Мастнокиселинен и минерален състав на изходните суровини

1.3 Микробиологични показатели на биволското мляко.

2. Разработване на технологии за получаване на извара и бяло саламурено сирене с повишено съдържание на биологично активни мастни киселини на базата на биволско мляко и растителни добавки

2.1 Органолептична оценка на произведените извара и бяло саламурено сирене

2.2 Установяване на физикохимичния състав на получените продукти

2.3 Определяне на мастнокиселинния състав, съдържание на макро- и микроелементи в изварата и бяло саламурено сирене.

2.3 Микробиологична характеристика на получените млечни продукти.

3. Биологична оценка на биволското мляко и новите млечните продукти с повишено съдържание на биоактивни мастни киселини въз основа на показателите липиден превантивен скор, атерогенен и тромбогенен индекс и съотношение между хипер- и хипохолестеролемични мастни киселини (h/H).

4. Проследяване на срока на съхранение чрез изменения в органолептичните, физикохимичните и биохимичните показатели на млечните продукти с повишено съдържание на биоактивни мастни киселини.

Използвани са следните материали и методи:

Материали:

Изследванията са извършени през периода 2021-2022 г. в ИКХТ - София.

Изходни суровини:

Проведено е изследване със сборно биволско мляко, взето от фермата на Църногорския манастир „Св. св. безсребърници и чудотворци Козма и Дамян“, село Гигинци, община Брезник.

За целите на изследването са използвани добавки - тютюнево, ленено и конопено семе, и орехови ядки, които са закупени от търговската мрежа.

Използвана е лимонена киселина (Thymos, spol. s co., Словакия произведено за Кауфланд) за хранителни цели в концентрация 1,0 % спрямо изходната суровина за получаване на извара

За получаване на бяло саламурено сирене са използвани стартерна култура *Lactobacillus delbrueckii* : *Streptococcus thermophiles*, 1:1, сирищен ензим 1:10 000 (вносител ЕТ “Рами 90м“, Стара Загора) и калциев дихлорид.

Подготовка на млякото и добавките :

Растителните добавки предварително са приготвени като са смлени във вид на брашно.

Проведена е технологична обработка на млякото до млечни продукти - извара и бяло саламурено сирене без нормализация на млякото.

Методи за анализ на мляко и млечни продукти :

Физикохимични методи

- Водното съдържание - БДС 1109:1989, ISO 9622
- Сухо вещество - БДС 1109:1989, ISO 9622
- Общ белтък, разтворим белтък - ISO 9622, БДС EN ISO 8968-1:2002

- Степен на зрялост (съотношение разтворим към общ белтък) съгласно БДС EN ISO 8968-1:2002
- Мазнини - БДС EN ISO 1211:2002, ISO 9622
- Сух безмаслен остатък - БДС 15308-81
- Лактоза - ISO 9622
- Пепелно съдържание - БДС 6154:1974
- Плътност - БДС 1110-73
- Титруема киселинност - БДС 1111- 80.
- Активна киселинност - потенциометрично с рН- метър модел MW102-FOOD
- Съдържание на сол (натриев хлорид) - БДС 8274:1982
- Определяне на съдържание на фибри /влакнини/ - с автоматична екстракционна система Dosi-Fiber- Selecta, Испания
- Енергийна стойност на 100 g/продукт - kcal - на базата на химическия състав на биволското мляко и млечните продукти

Микробиологични изследвания:

- Общ брой микроорганизми - IDF 161-2009 и БДС EN ISO 4833
- Соматични клетки - БДС EN ISO 13366-1,2:2008
- Coliforms - БДС EN ISO 4831, 4832
- Esherihia coli - ISO 16649-1,2,3
- Staphylococcus - БДС EN ISO 6888-1, 2, 3
- Listeria monocytogenes - БДС EN ISO 11290-1,2
- Salmonella - БДС EN ISO 6579
- Fungy - БДС EN ISO 6611

Органолептични методи – извършена е органолептична оценка на изварата и бялото саламурено сирене без и с добавка в различна концентрация, за определяне на най-подходящата концентрация въз основа на сензорните възприятия на потребителите (10 бр.) и е проведена, съгласно насоките за изследване на етиката и храните, определени от Европейския съюз. Анализирани са показателите мирис, вкус, аромат, консистенция и цвят.

Биохимични изследвания:

- Маслни киселини - екстракцията на млечната мазнина е проведена по метода на Розе-Готлиб
- Мастонокиселинният състав на мазнините в млечните продукти с добавка е извършен чрез екстракция на общи липиди по метода на Bligh and Dyer (AOAC, 1959) с хлороформ и метанол в съотношение 1:2. Метиловите естери на масните киселини /FAME/ бяха анализирани с помощта на газов хроматограф Shimadzu-2010 с пламъчно-йонизационен детектор. Анализът е осъществен с капилярна колона CP7420 (100 m x 0.25 mm i.d., 0.2 m, Varian Inc., Palo Alto, CA), при носещ газ водород и make-up газ - азот. Използвана е петстъпална програма за програмирането на пещта на газовия хроматограф.
- Биологична оценка на масната фракция на сборното биволско мляко и новите млечните продукти
- AI (Chilliard et al., 2003):
- $AI = 12:0 + 4 \times 14:0 + 16:0 / [\Sigma MUFA s + PUFA n6 + PUFA n3]$
- TI (Ulbricht and Southgate 1991):
- Опитните партии млечни продукти са приготвени трикратно при лабораторни условия.

Получената извара е съхранявана в продължение на 7 дни. Проби за анализ са вземани на 24-я час, на 3-я и 7-я ден.

За целите на експерименталната работа са произведени 4 партии бяло саламурено сирене от биволско мляко, съответно една контрола и 3 опитни с растителни добавки семена (тютюнево, лелено, конопено) и орехови ядки в следните концентрации – 1,0 %, 2,5 % и 5,0 % за всяка

добавка спрямо изходната суровина. Растителната добавка е прибавена в млякото преди калциевия дихлорид, закваската и сирищния ензим.

Полученото бяло саламурено сирене е съхранявано в продължение на 3 месеца. Проби за анализ са вземани на 24-я час, на 60-я ден и на 3-я месец.

$$TI = (14:0 + 16:0 + 18:0) / [0.5 \times \Sigma MUFA_s + 0.5 \times PUFA\ n6 + 3 \times PUFA\ n-3 + PUFA\ n3 / PUFA\ n6]$$

$$LPS = OL + 2 \times HMK - MHMK - 0,5 \times PHMK$$

$$h/H = (C18:1n-9 + C18:1n-7 + C18:2n-6 + C18:3n-3 + C18:3n-6 + C20:3n-6 + C20:4n-6 + C20:5n-3 + C22:4n-6 + C22:5n-3 + C22:6n-3) / (C14:0 + C16:0)$$

Минерален състав на млечните проби - Анализът на микро- и макроеlementи е определен с атомно-емисионен фотометър- AES-ICP "Varian- Liberty II"

Методи за анализ на семена и ядки:

Физикохимични методи:

- Сухо вещество - БДС 1109:1989, ISO 9622
- Общ белтък - ISO 9622, БДС EN ISO 8968-1:2002
- Определяне на съдържание на фибри /влакнини/ - с автоматична екстракционна система Dosi-Fiber- Selecta, Испания

Биохимични изследвания:

- Минерален състав - Анализът на микро- и макроеlementи е определен с атомно-емисионен фотометър - AES-ICP "Varian- Liberty II"
- Масни киселини - екстракцията на мазнина е проведена по метода на Bligh & Dyer (1959).
- Мастонокиселинният състав на мазнините е извършен чрез екстракция на общи липиди по метода на Bligh and Dyer (AOAC, 1959) с хлороформ и метанол в съотношение 1:2. Метиловите естери на масните киселини /FAME/ бяха анализирани с помощта на газов хроматограф Shimadzu-2010 с пламъчно-йонизационен детектор. Анализът е осъществен с капиллярна колона CP7420 (100 m x 0.25 mm i.d., 0.2 m, Varian Inc., Palo Alto, CA), при носещ газ водород и make-up газ- азот. Използвана е петстъпална програма за програмирането на пещта на газовия хроматограф.

Добив, %

Добивът е определен тегловно чрез измерване на масата на готов продукт получен от 1 L мляко (не е нормализирано млякото).

IV. Онагледеност и представяне на получените резултати:

Представеният за рецензиране дисертационен труд е с обем 209 страници в т. ч. 23 таблици, 387 литературни източника - 18 на кирилица и 369 на латиница. Той е добре балансиран и оформен, като обхваща всички раздели.

Литературният обзор е изчерпателен. Написан на 25 страници, като са разгледани характеристиката на биволското мляко (органолептични свойства, физикохимичен състав, биологично активни масни киселини, индекси и липиден превантивен скор, микробиологичен състав), технология за получаване на извара, технология за получаване на бяло саламурено сирене, естествени източници на биологично активни масни киселини на растителна основа и функционални храни.

Данните са обработени по методите на вариационната статистика посредством статистическия пакет на компютърната програма EXCEL 2016 на базата на три повторения. Достоверността на разликите между изследваните млека е установена чрез t-теста на Стюdent.

V. Обсъждане и оценка на резултати:

Подбраните добавки са с различна концентрация на мазнини, като най-високо съдържание е установено при ореховите ядки - 62,73%, докато тютюневото семе е с най-ниска

концентрация. Конопеното семе е с най-високо съдържание на белтък - 23,42% и минерални вещества - 3,82%. Лененото семе е с най-високо съдържание на влакнини - 27%. Енергийната стойност на изследваните добавки е най- висока при ореховите ядки - 634 kcal. Биволското мляко е с високо съдържание на наситени мастни киселини и ниско съдържание на моно- и полиненаситени мастни киселини. Всички добавки предвидени за технологична обработка са с високо съдържание на полиненаситени мастни киселини, като конопеното семе е с най-висока концентрация. Лененото семе е с най-високо съдържание на омега-3 мастни киселини - 52,56 g/100 g мазнини, следвано от конопеното семе, ореховите ядки и тютюневото семе, които са с високо съдържание на омега-6 мастни киселини. Съдържанието на цис- изомерите е най-високо при лененото семе, следвано от ореховите ядки, тютюневото и конопено семе. Семената и ядките на растенията акумулират значителни количества микроелементи в сравнение с млякото на преживните животни, за сметка на макроелементите. Влагането на различна концентрация от тютюнево семе в извара от биволско мляко променя характерните за изварата органолептични показатели. Използването на 1,0% от добавката запазва характерния вкус и цвят за изварата от биволско мляко, еднородната и нежна консистенция и добавката е равномерно разпределена с лека промяна в цвета на 24 h. След съхранение от 3 и 7 дни, изварата променя незначително органолептичните показатели с тенденция към понижаване на оценката и последващото им влошаване при използване на по-дълъг срок на съхранение. Прилагането на по-високите концентрации от добавката на тютюнево семе - 2,5; 5 и 7,5 % променя органолептичните й свойства. Вкусът и цветът на изследваните варианти се променя, като с нарастване на концентрацията става все по типичен и песъчлив за тютюневото семе и консистенцията става по-сбита. След съхранение от 3 и 7 дни не се установяват съществени изменения в органолептичните свойства на изварата, но започва понижаването им при оценката на потребителите и съхранението за по-дълъг период влошава свойствата й.

Влагането на различна концентрация от ленено семе в извара от биволско мляко променя характерните за изварата органолептични показатели. Използването на 1 и 2,5% от добавката запазва характерния вкус и цвят за изварата от биволско мляко и са добре балансирани, еднородна и нежна консистенция и добавката е равномерно разпределена с лека промяна в цвета на 24 h.

След съхранение от 3 и 7 дни, изварата променя незначително органолептичните показатели с тенденция към понижаване на оценката и последващото им влошаване при използване на по-дълъг срок на съхранение. Прилагането на по-високите концентрации от добавката на ленено семе – 5,0 % и 7,5 %, променя органолептичните й свойства. Вкусът и цветът на изследваните варианти се променя, като с нарастване на концентрацията става все по типичен наситен и песъчлив за ленено семе и консистенцията става по-сбита. След съхранение от 3 и 7 дни не се установяват съществени изменения в органолептичните свойства на изварата, но започва понижаването им при оценката на потребителите и съхранението за по-дълъг период влошава свойствата й.

Влагането на различна концентрация от конопено семе в извара от биволско мляко променя характерните за изварата органолептични показатели и са идентични с тези получени при лененото семе. Използването на 1,0% и 2,5% от добавката запазва характерния вкус и цвят за изварата от биволско мляко и са добре балансирани, еднородна и нежна консистенция и добавката е равномерно разпределена с лека промяна в цвета на 24 h. След съхранение от 3 и 7 дни, изварата променя незначително органолептичните показатели с тенденция към понижаване на оценката и последващото им влошаване при използване на по-дълъг срок на съхранение. Прилагането на по-високите концентрации от добавката на конопено семе – 5,0% и 7,5 % променя органолептичните й свойства. Вкусът и цветът на изследваните варианти се променя, като с нарастване на концентрацията става все по типичен наситен и песъчлив и консистенцията става по-сбита. След съхранение от 3 и 7 дни не се установяват съществени изменения в органолептичните свойства на изварата, но започва понижаването им при оценката на потребителите и съхранението за по-дълъг период влошава свойствата й. Влагането на различна концентрация от орехови ядки в извара от биволско мляко променя характерните за изварата органолептични показатели и са приемливи във всичките варианти. Използването на 1,0% и 2,5% от добавката запазва

характерния вкус и цвят за изварата от биволско мляко и са добре балансирани, еднородна и нежна консистенция и добавката е равномерно разпределена с лека промяна в цвета на 24 h. След съхранение от 3 и 7 дни, изварата променя незначително органолептичните към понижаване на оценката и последващото им влошаване показатели с тенденция при използване на по-дълъг срок на съхранение. Прилагането на по-високите концентрации от добавката на орехови ядки – 5,0% и 7,5 %, променя органолептичните ѝ свойства. Вкусът и цветът на изследваните варианти се променя, като с нарастване на концентрацията става все по типичен наситен и песъчлив за орехови ядки и консистенцията става по-сбита. След съхранение от 3 и 7 дни не се установяват съществени изменения в органолептичните свойства на изварата, но започва понижаването им при оценката на потребителите и съхранението за по-дълъг период влошава свойствата ѝ. Използването на орехови ядки като добавка в извара е най-добре оценено от потребителите в различните концентрации, докато влагането на семена в по-високите концентрации предизвиква по-лоша оценка поради наличието на влакнини, които определят и песъчливия вкус.

Резултатите от проведените научни изследвания и експерименти дават основание за следните обобщени изводи:

1. Проведената технологична обработка на биволското мляко до извара с добавки от семена на тютюн, лен и коноп и орехови ядки в различна концентрация води до обогатяване на новополучените продукти на мазнини (до 9% при тютюневото семе, до два пъти при ленено семе, до 6,0 % при конопено семе и до 2,5 пъти при орехови ядки) на минерални вещества (от 1,4% до 4% при тютюнево семе, до 2,5% при ленено семе, до 4% при конопено семе и до 2,57% при орехови ядки) и влакнини (от 0,4 до 4% при тютюнево семе, от 0,42 до 4,2%, при ленено семе от 0,52% до 5,2% при конопено семе и от 0,6 до 6% при орехови ядки), което от своя страна повишава хранителната и енергийна стойност спрямо контролните извари.

2. Получените извари с добавки допринасят за повишаване на биологично активните мастни киселини - предимно есенциалните омега-3 и омега-6 мастни киселини и повишаване на съдържанието на минерални вещества.

- Постигнато е понижаване на наситените мастни киселини при извара с добавка на семе от тютюн до 20%, на MUFA до 10% и нарастване на PUFA до 3 пъти в сравнение с контролната извара. Използването на 7,5% тютюнево семе увеличава количеството на линоловата киселина със 7 пъти на 24 ч., с 6,83 пъти на трети ден и с 8,34 пъти след 7 дни съхранение спрямо контролната група, в резултат на което нарастват омега-6 мастните киселини.
- Постигнато е понижаване на SFA при влагане на ленено семе в изварата до 43,88 g/100 g мазнина. Полиненаситените мастни киселини нарастват многократно в резултат на прилагането на ленено семе като добавка в различна концентрация. Постигнато е обогатяване на изварата с линолова киселина от 5,10 до 8,69 пъти и на α -линоленова киселина до 2 пъти при влагане на ленено семе в извара спрямо контролната.
- Използването на 7,5% конопено семе дава най-ниски стойности за SFA, съответно до 40,98 g/100 g мазнина и MUFA до 39,75 g/100 g мазнина, и нараствана на PUFA до 22,49 g/100 g мазнина. Конопеното семе обогатява изварата с линолова киселина от 6,71 до 9,48 пъти, g-линоленовата киселина - от 1,26 до 4 пъти и α -линоленова киселина - два пъти (1% добавка).
- Влагането на 7,5 % орехови ядки понижава съдържанието на наситени мастни киселини до 53,61 g/100 g мазнина, нарастване на MUFA до 30,46; и PUFA до 15,23 g/100 g мазнина. Изварата с добавка на орехови ядки е обогатена на линолова киселина, съответно 12,77 g/100 g мазнини и съдържанието на α -линоленовата киселина до 1,33 g/100 g мазнини в сравнение с контролната извара.

3. Оценката на мастната фракция на изварата показва добри стойности за липиден превантивен скор, атерогенен и тромбогенен индекс, които имат важно отношение в диететиката на човека и здравословния начин на живот:

- Постигнати е понижаване на LPS при влагане на 5% тютюнево семе на 24 ч. - 34,80. Установено е подобряване на AI и TI при влагането на 5 и 7,5% тютюнево семе, съответно AI до 1,72 и 1,57 и на TI до 1,70 и 1,40. Постигнато е нарастване на h/H при влагане на 7,5% тютюнево семе в извара при съхранение от 3 и 7 дни, както следва: 0,88 и 0,95.
 - Постигнати са най-ниски стойности за LPS при влагане на 2,5% ленено семе - 28,72. Постигнато е подобряване на AI и TI при влагането на 5 и 7,5%: AI - до 1,11 и 0,98 и TI - 1,14 и 0,96, и увеличаване на хиперхолестеримичния индекс до 1,19 при влагане на 7,5% ленено семе в извара спрямо контролата
 - Постигнати са най-ниски стойности за LPS при влагане на 1% конопено семе до 28,89. Постигнато е подобряване на AI и TI при влагането на 5 и 7,5% конопено семе, AI е 1,24 и 0,67, TI е 1,09 и 0,66, Постигнат е хипо-хиперхолестеримичният индекс от 1,36 при влагане на 7,5% ленено семе спрямо контролата.
 - Постигнати са най-ниски стойности за LPS при влагане на 1% добавка на орехови ядки - 23,07. Постигнато е подобряване на AI и TI при влагането на 5 и 7,5% орехови ядки, съответно на AI - 1,36 и 1,36($P \leq 0,001$), TI - 1,51 и 1,34 и нарастване хипо-хиперхолестеримичният индекс до 1,07 при влагане на 7,5% добавка спрямо контролата.
4. Микробиологичните изследвания показват отсъствие на патогенна микрофлора в новополучените извари от което следва, че цялостният технологичен процес е осъществен в съответствие със санитарните норми и изисквания.
5. Определен е оптималният срок на съхранение на новосъздадените извари въз основа на органолептични, физикохимични, биохимични и микробиологични показатели - до 7-ми ден, след което се установява видимо влошаване на консистенцията, структурата и аромата на хранителния продукт и развиване на плесени.
6. Проведената технологична обработка на биволското мляко до бяло саламурено сирене с добавки от семена на тютюн, лен и коноп и орехови ядки в различна концентрация води до технологични загуби на мазнини и белтък, но обогатяват новополучените продукти на минерални вещества (до 2,22% при тютюневото семе, до 2,39 - орехови ядки, до 2,85% при ленено семе и до 2,34% - конопено семе) и влакнини (от 0,54 до 1,93% при ленено семе, от 0,38 до 1,80% - тютюнево семе, от 0,29 до 1,42% при конопено семе и от 0,19 до 0,79% - орехови ядки), което от своя страна понижава хранителната и енергийна стойност.
7. Новосъздадените саламурени сирена са добре узрели след 60 дни, което е определено чрез показателя степен на зрялост, който при влагането на тютюнево семе е от 21,84% до 26,75 %, при добавяне на ленено семе варира от 20,10% до 26,71%, при конопеното - от 23,85 до 28,54% и при ореховите ядки - от 21,76 до 28,57% в сравнение с контролното бяло саламурено сирене - 15,29% (съгласно БДС не трябва да е под 14%).
8. Получените саламурени сирена с добавки допринасят за повишаване на биологичноактивните мастни киселини - предимно есенциалните омега-3 и омега-6 мастни киселини и съдържанието на минерални вещества:
- Саламуреното сирене с добавка на тютюнево семе е с намалено съдържание на наситени мастни киселини до 57,34 g/100 g мазнини и MUFA - 30,45 g/100 g мазнини и повишено съдържание на MUFA - 11,91 g/100 g мазнини. Обогатоено е с линолова киселина и алфа-линоленова киселина, чиито концентрации при 5,0 % са 5,75 пъти и 6,95 пъти по-високи в сравнение с контролното след зреене.
 - Установено е понижаване на SFA до 62,54 g/100 g мазнини и MUFA до 29,63 g/100 g мазнини и нарастване на PUFA до 3,75 g/100 g мазнини при влагане на конопено семе. Добавката увеличава с 1,13 линоловата киселина и с 2,35 пъти съдържанието на алфа-линоленова киселина в сравнение с контролното сирене след зреене.
 - Саламурено сирене с добавка на орехови ядки е с намалено съдържание на SFA - 53,77 g/100 g мазнини и MUFA - 29,45 g/100 g мазнини и повишено съдържание на PUFA - 14,89 g/100 g мазнини. Сиренето с добавка на орехови ядки е обогатено на линолова киселина със 7,07 пъти и с 10,25 пъти на алфа-линоленова в сравнение с контролното сирене след зреене.

9. Оценката на мастната фракция на бяло саламурено сирене показва добри стойности за липиден превантивен скор, атерогенен и тромбогенен индекс, които имат важно отношение в диететиката на човека и здравословния начин на живот:

- Постигнато е понижаване с 1,44 пъти на LPS, с 1,38 пъти на AI и с 1,31 пъти на TI и увеличаване на h/H 0,88 при саламуреното сирене с тютюнево семе в сравнение с контролното.
- Постигнато е понижаване с 1,54 пъти на LPS, с 1,41 пъти AI и 1,53 пъти на TI и увеличаване на h/H с 1,11 пъти при салауреното сирене с ленено семе спрямо контролата.
- Установено е понижаване с 1,24 пъти на LPS, и 1,11 пъти на TI и увеличаване с 2% AI на h/H с 1,46 пъти при саламуреното сирене с конопено семе спрямо контролата.
- Установено е понижаване с 1,44 пъти на LPS, с 1,46 пъти AI и 1,48 пъти на TI и увеличаване на h/H с 1,35 пъти при салауреното сирене с орехови ядки спрямо контролата.

10. Микробиологичните изследвания показват отсъствие на патогенна микрофлора в новополучените сирена, от което следва, че технологичен процес е осъществен в съответствие със санитарните норми и изисквания.

11. Определен е оптималният срок на съхранение на новосъздадените бели саламурени сирена с добавки въз основа на физикохимични, органолептични, биохимични и микробиологични показатели – до 3-ти месец, след което се установява видимо влошаване на консистенцията, структурата и аромата на хранителния продукт и развиване на плесени.

VI. Приноси на дисертационния труд:

Формулираните от докторанта приноси кореспондират напълно с получените от експерименталната дейности и резултати. Дефинирани са общо 6 научни и 3 научно приложни приноси и 3 приложни приноси:

Научни приноси:

1. За пръв път е разработена извара и бяло саламурено сирене на основа биволско мляко с добавка в различни концентрации на семена от тютюн, лен и коноп и орехови ядки.
2. Установени са органолептичните, физикохимичните, биохимичните и микробиологичните показатели на новополучените продукти.
3. Получени са млечни продукти обогатени на мазнини, влакнини, биологичноактивни мастни киселини и минерални вещества.
4. Научно доказан е срокът им на съхранение за изварите до 7 дни и на бялото саламурено сирене до 3 месеца.
5. Направена е оценка на мастната фракция, която ги определя като здравословен източник на мазнини.
6. Проведените технологични и аналитични изследвания позволява да се класифицират като функционални храни.

Научно-приложни приноси:

1. Получените резултати от проведените изследвания обогатяват науката с нови познания за качествения състав на изварата от биволско сборно мляко и вложените добавки след технологична обработка и проследяване на срока на съхранение с високо съдържание на мазнини, биологично активни мастни киселини, влакнини и минерални вещества.
2. Получените резултати от проведените изследвания обогатяват науката с нови познания за качествения състав на бяло саламурено сирене от биволско сборно мляко и вложените добавки след технологична обработка и проследяване на срока на съхранение с високо съдържание на биологично активни мастни киселини, влакнини и минерални вещества.
3. Направената качествена оценка на мастната фракция на новосъздадените млечни продукти с добавки - извара и бяло саламурено сирене, потвърждава функционалните им свойства.

Приложни приноси:

1. Обогатена е производствената листа на ИКХТ с нови млечни продукти от биволско мляко - извара и бяло саламурено сирене с добавки на семена от тютюн, лен и коноп и орехови ядки.
2. Определен е технологичният режим за получаването им с добавка при лабораторни условия.

3. Новосъздадените млечни продукти от една страна могат да намерят приложение в ежедневно хранене, а от друга биха намерили приложение в диетичното и профилактично-лечебното хранене.

VII. Критични бележки и въпроси:

Нямам критични бележки, освен пожеланието ми докладваните резултати в бъдещата дейност в по-голяма степен да се насочат за публикуване в реферирани и индексирани издания и да се търсят възможности за участие в повече национални и международни научноизследователски проекти.

Въпрос: Възможно ли е да се вложат използваните в дисертационния труд семена от тютюн, лен и коноп и орехови ядки в тестени изделия, в какви количества и защо?

Публикувани статии и цитирания.

Основните резултати от дисертационния труд са публикувани в три научни труда - два в списание *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans* и една в *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. Във две статии докторантът е водещ автор, като едната е самостоятелна. По този начин личният му принос е ясно определен. Публикациите са добре оформени и имат необходимата научна стойност.

Оценка на автореферата

Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд. Написан е на 49 страници. Съдържа 13 таблици, 61 фигури на български и английски език.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Въз основа на научените, научно-приложните и приложените приноси, от докторанта, различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото прилагане в Селскостопанска академия, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Предлагам на уважаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Ели Стоянова Костадинова образователната и научна степен "Доктор" по научната специалност „Технология на биологично активните вещества (вкл. ензими, хормони и белтъчини) ” 5.12.Хранителни технологии.

06.10.2025 г.
гр. София

РЕЦЕНЗЕНТ:

(доц. д-р инж. Илиана Лазова-Борисова)

REVIEW

on the dissertation work for obtaining the educational and scientific degree "Doctor" in: field of higher education 5. "Technical Sciences", professional direction 5.12. "Food Technologies", scientific specialty "Technology of biologically active substances (including enzymes, hormones and proteins)"

Author of the dissertation: Eli Stoyanova Kostadinova, doctoral student in part-time studies at the Institute of Cryobiology and Food Technologies, Sofia.

Topic of the dissertation: "NEW DAIRY PRODUCTS BASED ON BUFFALO MILK WITH AN INCREASED CONTENT OF BIOACTIVE FATTY ACIDS"

Reviewer: Assoc. Prof. PhD. Iliana Veneva Lazova-Borisova, Institute of Cryobiology and Food Technologies, Sofia. Field of higher education: 5. Technical Sciences, professional field 5.12. Food Technologies, scientific specialty "Technology of processing and storage of grain, grain products and mixtures"

The review was prepared in accordance with Order No. RD 05-184/05.08.2025 of the Chairman of the Agriculture Academy.

I. Brief presentation of the candidate:

Eli Stoyanova Kostadinova was born on 01.10.1975 in Sofia. She completed her higher education at Sofia University "St. Kliment Ohridski" in 1999 - Master's degree, majoring in Chemistry. In 2015, she obtained a qualification degree at the University of Food Technology, Plovdiv.

Master's degree, specialty "Chemistry". In 2015, at the University of Food Technologies, Plovdiv, he acquired a Master's degree in the specialty "Technology of Milk and Dairy Products".

During the period 01.08.1999-30.12.1999 she worked as a laboratory chemist in the Central Control Laboratory at the KCM Non-Ferrous Metals Plant AD. From 01.11.2002 to 31.12.2010 she was a radiochemist in the Radiation Protection Control Laboratory. In the period from 01.01.2011-16.11.2019 she worked as a specialist chemist in the Accredited Food Testing Laboratory at "LB Bulgaricum" EAD

Currently working at the Institute of Cryobiology and Food Technology, Sofia as an assistant in the Food Technology Department.

Fluent in written and spoken English and Russian. Possesses very good computer skills in using Microsoft Office, Word, Excel, PowerPoint.

In the period 03.12.2006 - 11.12.2006 Assistant Professor Eli Stoyanova Kostadinova participated in a short-term specialization within the framework of cooperation on EBR with the Institute of Nuclear Physics of the Czech Academy of Sciences in Prague on the topic: "Long and short-term variations of the natural radiation background and their impact on the environment and radiation protection measures".

Assistant Eli Stoyanova Kostadinova has participated in national research projects. In the period 2003-2010. participated in a radiation monitoring program at the Institute of Nuclear Research and Energy of the Bulgarian Academy of Sciences. In the period 2019-2021 she participated in a project on the topic: "Technological solutions for increasing the content of biologically active fatty acids in buffalo milk and derived products "

with the head Assoc. Prof. PhD. Silvia Ivanova .

Assistant Eli Stoyanova Kostadinova has participated in international research projects. In the period 2005-2006. participated in the EBR with the Institute of Nuclear Physics of the Czech Academy of Sciences in Prague on the topic: "Long and short-term variations of the natural radiation background and their impact on the environment and radiation protection measures". In 2005-2006. participated in bilateral international cooperation between the Institute of Nuclear Science Ege University Izmir ,Turkey and IYIYE, Sofia, Bulgaria. In the period 2007-2008, carried out international cooperation with Slovakia on the topic: "Study of radiation and certain environmental characteristics of two high-altitude stations - Musala and Lomnik Shield."

She was enrolled in doctoral studies - part-time form of study with a study period 01.03.2021, until 01.03.2025 by order No. RD-05-15/04.03.2021 of the Chairman of the Agricultural Academy. She was enrolled with the right to defend from 06.01.2025 by order No. RD 05-6/08.01.2025.

II. Relevance of the problem:

The dairy industry in the country is known for the unique quality of yogurt and Bulgarian cheeses. Their specific quality characteristics are determined by the type of ruminant, the diet and climatic conditions. Cow and sheep milk have been the main raw material for cheese production for centuries. Much later, goat and buffalo milk aroused interest for industrial cheese production, preceded by their long-standing use for home production or mixed (added) to the main types of cow or sheep milk. In the last decade, goat and buffalo milk have been introduced into the industrial dairy processing activity independently for the production of yogurt and traditional types of cheese. The composition and properties of buffalo milk are suitable for the production of white brine cheese, which is increasingly being introduced into the production activity.

The technology of the prototype white brine cheese from cow's milk is empirically applied. This requires conducting in-depth research on the basic processes related to the technology of this type of cheese. Curd as a dairy product obtained from buffalo milk is not well studied and the application of additives requires detailed study. Unconventional oilseeds are of great importance because they have specific chemical properties and can be used as food supplements. Consumer interest in healthy food supplements rich in omega-3 fatty acids has led to the study of traditional food products and their enrichment naturally or through the use of additives.

The enrichment of dairy products (cottage cheese and cheese) with biologically active components - omega-3, oleic acid of plant origin, vitamins, minerals and fiber, is of interest to science in Bulgaria and the creation of products with high health and preventive effect would contribute to the healthy diet of Bulgarians.

Scientific research on the composition of cottage cheese is scarce at the national and global level, including that of buffalo milk, which is a prerequisite for a detailed study of its qualitative and quantitative characteristics.

The use of seeds and nuts as an additive to dairy products, is not well studied and applied, which necessitates their development and research in detail.

The enrichment of dairy products such as cottage cheese and white brine cheese with plant sources containing biologically active components such as essential fatty acids - omega-3 and omega-6, and fiber defines them as functional foods with a beneficial effect on human health.

III. Purpose, tasks, hypotheses and research methods:

The main goal: Development of technologies for the production of cottage cheese and Bulgarian brine cheese from buffalo milk with the addition of seeds (tobacco, flax, hemp) and walnuts in order to obtain functional dairy products with an increased content of biologically active fatty acids

- 1.2 Fatty acid and mineral composition of the starting raw materials
1.3 Microbiological indicators of buffalo milk.
2. Development of technologies for the production of cottage cheese and white brine cheese with an increased content of biologically active fatty acids based on buffalo milk and plant additives
- 2.1 Organoleptic evaluation of the produced cottage cheese and white brine cheese
- 2.2 Determination of the physicochemical composition of the obtained products
- 2.2 Determination of the fatty acid composition, content of macro- and microelements in the curd and white brine cheese.
- 2.3 Microbiological characterization of the obtained dairy products.
3. Biological evaluation of buffalo milk and new dairy products with an increased content of bioactive fatty acids based on the indicators lipid preventive score, atherogenic and thrombogenic index and ratio between hyper- and hypocholesterolemic fatty acids (h/H).
4. Monitoring the shelf life through changes in the organoleptic, physicochemical and biochemical indicators of dairy products with an increased content of bioactive fatty acids. The following materials and methods were used:

Materials

The research was carried out during the period 2021-2022 at the Institute of Cryobiology and Food Technologies - Sofia.

Raw materials

A study was conducted with pooled buffalo milk taken from the farm of the Tsarnogorski Monastery "St. St. Silverless and Miracle Workers Cosmas and Damian", Gigintsi village, Breznik municipality.

For the purposes of the study, additives were used - tobacco, flax and hemp seeds, and walnut kernels, which were purchased from the commercial network.

Citric acid (Thymos, spol. s co., Slovakia produced for Kaufland) for food purposes was used in a concentration of 1.0% relative to the starting material for obtaining cottage cheese

To obtain white brine cheese, starter culture was used

Lactobacillus delbrueckii : *Streptococcus thermophiles*, 1:1, rennet enzyme 1:10,000 (importer ET "Rami 90m", Stara Zagora) and calcium dichloride.

Preparation of milk and additives

The vegetable additives were prepared in advance by grinding them into flour.

Technological processing of the milk was carried out to produce dairy products - cottage cheese and white brine cheese without normalization of the milk.

Methods for analysis of milk and dairy products

Physicochemical methods

- Water content - BDS 1109:1989, ISO 9622
- Dry matter - BDS 1109:1989, ISO 9622
- Total protein, soluble protein - ISO 9622, BDS EN ISO 8968-1:2002
- Maturity level (ratio of soluble to total protein) according to BDS EN ISO 8968-1:2002
- Fat - BDS EN ISO 1211:2002, ISO 9622
- Dry non-fat residue - BDS15308-81
- Lactose - ISO 9622
- Ash content - BDS 6154:1974
- Density - BDS 1110-73
- Titratable acidity - BDS 1111- 80.
- Active acidity - potentiometric with pH meter model MW102-FOOD
- Salt content (sodium chloride) - BDS 8274:1982
- Determination of fiber content - with automatic extraction system Dosi-Fiber- Selecta, Spain
- Energy value per 100 g/product - kcal - based on the chemical composition of buffalo milk and dairy products

- Active acidity - potentiometric with pH meter model MW102-FOOD
- Salt content (sodium chloride) - BDS 8274:1982
- Determination of fiber content - with automatic extraction system Dosi-Fiber- Selecta, Spain
- Energy value per 100 g/product - kcal - based on the chemical composition of buffalo milk and dairy products

Microbiological tests:

- Total number of microorganisms - IDF 161-2009 and BDS EN ISO 4833
- Somatic cells - BDS EN ISO 13366-1,2:2008
- Coliforms - BDS EN ISO 4831, 4832
 - Esherihia coli - ISO 16649-1,2,3
 - Staphylococcus - БДC EN ISO 6888-1, 2, 3
 - Listeria monocytogenes - БДC EN ISO 11290-1,2
 - Salmonella - БДC EN ISO 6579
 - Fungy - БДC EN ISO 6611

Organoleptic methods:— an organoleptic evaluation of the curd and white brine cheese without and with an additive in different concentrations was performed to determine the most appropriate concentration based on the sensory perceptions of consumers (10 pcs.) and was conducted according to the guidelines for ethics and food research set by the European Union. The parameters of smell, taste, aroma, consistency and color were analyzed.

Biochemical studies:

- Fatty acids - extraction of milk fat was carried out by the Rose-Gottlieb method
- The fatty acid composition of the fat in the dairy products with the additive was carried out by extraction of total lipids by the Bligh and Dyer method (AOAC, 1959) with chloroform and methanol in a ratio of 1:2.

Fatty acid methyl esters (FAME) were analyzed using a Shimadzu-2010 gas chromatograph with flame ionization detector. The analysis was performed with a CP7420 capillary column (100 m x 0.25 mm i.d., 0.2 m, Varian Inc., Palo Alto, CA), with hydrogen as the carrier gas and nitrogen as the make-up gas. A five-step program was used to program the gas chromatograph oven.

Biological evaluation of the fat fraction of pooled buffalo milk and new dairy products

- AI (Chilliard et al., 2003):
- $AI = 12:0 + 4 \times 14:0 + 16:0 / [\Sigma MUFA s + PUFA n6 + PUFA n3]$
- TI (Ulbricht and Southgate 1991):
- The experimental batches of dairy products were prepared in triplicate under laboratory conditions. The resulting curd was stored for 7 days. Samples for analysis were taken at 24 hours, on the 3rd and 7th days.

For the purposes of the experimental work, 4 batches of white brined cheese from buffalo milk were produced, respectively one control and 3 experimental with plant additives (tobacco, linseed, hemp) and walnut kernels in the following concentrations - 1.0%, 2.5% and 5.0% for each additive relative to the starting raw material. The vegetable supplement was added to the milk before the calcium dichloride, the starter and the rennet enzyme.

The resulting white brine cheese was stored for 3 months. Samples for analysis were taken at 24 hours, 60 days and 3 months.

$TI = (14:0 + 16:0 + 18:0) / [0.5 \times \Sigma MUFA s + 0.5 \times PUFA n6 + 3 \times PUFA n-3 + PUFA n3]$ ichard

$LPS = OL + 2 \times NMK - MNMK - 0.5 PNMK$ and Charbonnier (1994)

$h/H = (C18:1n-9 + C18:1n-7 + C18:2n-6 + C18:3n-3 + C18:3n-6 + C20:3n-6 + C20:4n-6 + C20:5n-3 + C22:4n-6 + C22:5n-3 + C22:6n-3) / (C14:0 + C16:0)$

Mineral composition of milk samples - Analysis of micro- and macroelements was determined with an atomic emission photometer - AES-ICP "Varian- Liberty II"

Methods for analysis of seeds and nuts

Physicochemical methods:

- Dry matter - BDS 1109:1989, ISO 9622
- Total protein - ISO 9622, BDS EN ISO 8968-1:2002
- Determination of fiber content - with automatic extraction system Dosi-Fiber- Selecta, Spain

Biochemical studies:

- Mineral composition - The analysis of micro- and macroelements was determined with an atomic emission photometer - AES-ICP "Varian- Liberty II"
- Fatty acids - fat extraction was carried out according to the method of Bligh & Dyer (1959).
- The fatty acid composition of the fats was determined by extraction of total lipids according to the method of Bligh and Dyer (AOAC, 1959) with chloroform and methanol in a ratio of 1:2. Fatty acid methyl esters /FAME/ were analyzed using a Shimadzu-2010 gas chromatograph with a flame ionization detector. The analysis was performed with a CP7420 capillary column (100 m x 0.25 mm i.d., 0.2 m, Varian Inc., Palo Alto, CA), with hydrogen as the carrier gas and nitrogen as the make-up gas. A five-step program was used to program the gas chromatograph oven.

Yield, %

The yield was determined by weight by measuring the mass of the finished product obtained from 1 L of milk (the milk was not normalized).

IV. Visualization and presentation of the obtained results:

The dissertation submitted for review is 209 pages long, including 23 tables, 387 references - 18 in Cyrillic and 369 in Latin. It is well balanced and structured, covering all sections. The literature review is comprehensive. Written on 25 pages, the characteristics of buffalo milk (organoleptic properties, physicochemical composition, biologically active fatty acids, indices and lipid preventive score, microbiological composition), technology for producing cottage cheese, technology for producing white brine cheese, natural sources of biologically active fatty acids on a plant basis and functional foods. The data were processed using the methods of variational statistics using the statistical package of the computer program EXCEL 2016 based on three repetitions. The reliability of the differences between the studied milks was established using the Student's t-test.

V. Discussion and evaluation of results:

The selected supplements have different concentrations of fat, with the highest content found in walnuts - 62.73%, while tobacco seeds have the lowest concentration. Hemp seeds have the highest protein content - 23.42% and minerals - 3.82%. Flax seeds have the highest fiber content - 27%. The energy value of the studied supplements is the highest in walnuts - 634 kcal. Buffalo milk is high in saturated fatty acids and low in mono- and polyunsaturated fatty acids. All additives intended for technological processing are high in polyunsaturated fatty acids, with hemp seed having the highest concentration. Flaxseed has the highest content of omega-3 fatty acids - 52.56 g/100 g fat, followed by hempseed, walnuts and tobacco seeds, which are high in omega-6 fatty acids. The content of cis-isomers is highest in flaxseed, followed by walnuts, tobacco and hempseed.

The seeds and nuts of plants accumulate significant amounts of microelements compared to the milk of ruminants, at the expense of macro elements. The addition of different

concentrations of tobacco seeds to buffalo milk curd changes the organoleptic characteristics of the curd. The use of 1.0% of the additive preserves the characteristic taste and color of buffalo milk curd, the uniform and tender consistency and the additive is evenly distributed with a slight change in color at 24 h. After storage for 3 and 7 days, the curd slightly changes the organoleptic indicators with a tendency to decrease the score and their subsequent deterioration when using a longer storage period. The application of higher concentrations of the tobacco seed additive - 2.5; 5 and 7.5% changes its organoleptic properties. The taste and color of the studied variants changes, as with increasing concentration it becomes more typical and gritty for tobacco seed and the consistency becomes more compact.

After storage for 3 and 7 days, no significant changes were found in the organoleptic properties of the cottage cheese, but their decline in consumer evaluation began, and storage for a longer period worsened its properties.

The addition of different concentrations of hemp seeds to buffalo milk curd changes the organoleptic characteristics of the curd and is identical to those obtained with flaxseed. The use of 1.0% and 2.5% of the additive preserves the characteristic taste and color of buffalo milk curd and is well balanced, uniform and tender in consistency and the additive is

with a slight change in color at 24 h. After storage for 3 and 7 days, the curd slightly changes the organoleptic indicators with a tendency to lower the score and their subsequent deterioration when using a longer storage period.

After storage for 3 and 7 days, no significant changes were found in the organoleptic properties of the cottage cheese, but their decline in consumer evaluation began, and storage for a longer period worsened its properties.

The addition of different concentrations of walnuts to buffalo milk curd changes the organoleptic characteristics of the curd and is acceptable in all variants. The use of 1.0% and 2.5% of the additive preserves the characteristic taste and color of buffalo milk curd and is well balanced, uniform and tender in consistency.

and the additive is evenly distributed with a slight change in color at 24 h. After storage for 3 and 7 days, the curd slightly changes the organoleptic indicators towards a decrease in the assessment and their subsequent deterioration with a tendency for a longer storage period. The application of higher concentrations of the walnut additive – 5.0% and 7.5%,

The application of higher concentrations of the walnut kernel additive – 5.0% and 7.5%, changes its organoleptic properties. The taste and color of the studied variants changes, as with increasing concentration it becomes more typical of walnut kernels, saturated and gritty, and the consistency becomes more compact.

After storage for 3 and 7 days, no significant changes were found in the organoleptic properties of the curd, but their decline in consumer evaluation began.

in the different concentrations, while the addition of seeds in higher concentrations causes a worse assessment due to the presence of fibers, which also determine the gritty taste.

The results of the conducted scientific research and experiments provide grounds for the following summarized conclusions:

1. The technological processing of buffalo milk into curd with additives of tobacco, flax and hemp seeds and walnut kernels in different concentrations leads to enrichment of the newly obtained products in fats (up to 9% for tobacco seeds, up to twice for flax seeds, up to 6.0% for hemp seeds and up to 2.5 times in walnuts) of mineral substances (from 1.4% to 4% in tobacco seeds, up to 2.5% in flax seeds, up to 4% in hemp seeds and up to 2.57% in walnuts) and fiber (from 0.4 to 4% in tobacco seeds, from 0.42 to 4.2% in flax seeds, from 0.52% to 5.2% in hemp seeds and from 0.6 to 6% in walnuts), which in turn increases the nutritional and energy value compared to the control curds.

2. The resulting curds with additives contribute to an increase in biologically active fatty acids - mainly essential omega-3 and omega-6 fatty acids and an increase in the content of mineral substances.

→ A decrease in saturated fatty acids was achieved in curds with the addition of chia seeds.

tobacco up to 20%, MUFA up to 10% and PUFA up to 3 times higher than the control curd. The use of 7.5% tobacco seed increased the amount of linoleic acid by 7 times in 24 hours, by 6.83 times on the third day and by 8.34 times after 7 days of storage compared to the control group, resulting in an increase in omega-6 fatty acids.

A decrease in SFA was achieved when adding flaxseed to the cottage cheese to 43.88 g/100 g fat. Polyunsaturated fatty acids increased many times as a result of the application of flaxseed as an additive in different concentrations. An enrichment of the cottage cheese with linoleic acid from 5.10 to 8.69 times and α -linolenic acid up to 2 was achieved. times when adding flaxseed to cottage cheese compared to the control.

→ The use of 7.5% hempseed gives the lowest values for SFA, respectively up to 40.98 g/100 g fat and MUFA up to 39.75 g/100 g fat, and an increase in PUFA up to 22.49 g/100 g fat. Hempseed enriches cottage cheese with linoleic acid from 6.71 to 9.48 times, g-linolenic acid - from 1.26 to 4times and α -linolenic acid - twice (1% addition).

→ The use of 7.5% walnut kernels reduces the content of saturated fatty acids to 53.61 g/100 g fat, an increase in MUFA to 30.46; and PUFA to 15.23 g/100 g fat. Cottage cheese with walnut kernels is enriched in linoleic acid, respectively 12.77 g/100 g fat and the content of α -linolenic acid up to 1.33 g/100 g fat compared to the control cottage cheese.

3. The assessment of the fat fraction of the cottage cheese shows good values for lipid preventive score, atherogenic and thrombogenic index, which have an important bearing on human dietetics and a healthy lifestyle:

A decrease in LPS was achieved when adding 5% tobacco seeds at 24 hours - 34.80. An improvement in AI and TI was found when adding 5 and 7.5% tobacco seeds, respectively AI to 1.72 and 1.57 and TI to 1.70 and 1.40. An increase in h/H was achieved when adding 7.5% tobacco seeds to curd during storage of 3 and 7 days, as follows: 0.88 and 0.95.

The lowest values for LPS were achieved when adding 2.5% flaxseed - 28.72. Improvement of AI and TI was achieved when adding 5 and 7.5%: AI - up to 1.11 and 0.98 and TI - 1.14 and 0.96, and an increase in the hypercholesterolemic index to 1.19 when adding 7.5% flaxseed to the cottage cheese compared to the control.

→ The lowest values for LPS were achieved with the addition of 1% hemp seed up to 28.89. Improvement of AI and TI was achieved with the addition of 5 and 7.5% hemp seed, AI was 1.24 and 0.67, TI was 1.09 and 0.66, The hypo-hypercholesterolemic index of 1.36 was achieved with the addition of 7.5% flaxseed compared to the control.

The lowest values for LPS were achieved when adding 1% walnut kernels - 23.07. Improvement of AI and TI was achieved when adding 5 and 7.5% walnut kernels, respectively AI - 1.36 and 1.36 ($P \leq 0.001$), TI - 1.51 and 1.34 and an increase in the hypo-hypercholesterolemic index to 1.07 when adding 7.5% of the supplement compared to the control.

4. Microbiological tests show the absence of pathogenic micro flora in the newly obtained curds, which indicates that the entire technological process was carried out in accordance with sanitary norms and requirements.

5. The optimal storage period of the newly created curds has been determined based on organoleptic, physicochemical, biochemical and microbiological indicators - up to the 7th day, after which a

visible deterioration of the consistency, structure and aroma of the food product and the development of molds are detected.

6. The technological processing of buffalo milk into white brine cheese with additives of tobacco, flax and hemp seeds and walnut kernels in different concentrations leads to technological losses of fat and protein, but enriches the newly obtained products with mineral substances (up to 2.22% for tobacco seeds, up to 2.39 - walnut kernels, up to 2.85% for flax seeds and up to 2.34% - hemp seeds) and fiber.(from 0.54 to 1.93% for flaxseed, from 0.38 to 1.80% for tobacco seed, from 0.29 to 1.42% for hemp seed and from 0.19 to 0.79% for walnut kernels), which in turn reduces the nutritional and energy value.

7. The newly created brine cheeses are well ripened after 60 days, which is determined by the degree of maturity indicator, which when adding tobacco seed is 21.84% to 26.75 %, when adding flaxseed it varies from 20.10% to 26.71%, with hemp - from 23.85 to 28.54% and with walnuts - from 21.76 to 28.57% compared to the control white brine cheese - 15.29% (according to the BDS it should not be below 14%).

8. The resulting brine cheeses with additives contribute to increasing the biologically active fatty acids - mainly the essential omega-3 and omega-6 fatty acids and the content of minerals:

→ Brine cheese with the addition of tobacco seed has a reduced content of saturated fatty acids up to 57.34 g/100 g fat and MUFA - 30.45 g/100 g fat and increased content of MUFA - 11.91 g/100 g fat. It is enriched with linoleic acid and alpha-linolenic acid, the concentrations of which at 5.0% are 5.75 times and 6.95 times higher compared to the control after ripening.

A decrease in SFA to 62.54 g/100 g fat and MUFA to 29.63 g/100 g fat and an increase in PUFA to 3.75 g/100 g fat was found when hemp seeds were added. The supplement increased the linoleic acid content by 1.13 and the alpha-linolenic acid content by 2.35 times compared to the control cheese after ripening.

→ Brine cheese with walnuts added has a reduced content of SFA - 53.77 g/100 g fat and MUFA - 29.45 g/100 g fat and an increased content of PUFA - 14.89 g/100 g fat. Cheese with walnuts added is enriched in linoleic acid by 7.07 times and in alpha-linolenic acid by 10.25 times compared to the control cheese after ripening.

9. The assessment of the fat fraction of white brine cheese shows good values for lipid preventive score, atherogenic and thrombogenic index, which have an important bearing on human dietetics and a healthy lifestyle:

→ A 1.44-fold decrease in LPS, 1.38-fold in AI and 1.31-fold in TI and an increase in h/H of 0.88 was achieved in the brined cheese with tobacco seed compared to the control.

→ A 1.54-fold decrease in LPS, a 1.41-fold AI and a 1.53-fold TI decrease and a 1.11-fold increase in h/H were achieved in the cheese cured with flaxseed compared to the control.

→ A 1.24-fold decrease in LPS, and a 1.11-fold TI decrease and a 2% AI increase in h/H by 1.46-fold were found in the cheese cured with hempseed compared to the control.

→ A decrease of 1.44 times in LPS, 1.46 times in AI and 1.48 times in TI and an increase of h/H by 1.35 times in salinated cheese with walnuts compared to the control were found.

10. Microbiological studies show the absence of pathogenic micro flora in the newly obtained cheeses, which indicates that the technological process was carried out in accordance with sanitary standards and requirements.

11. The optimal storage period of the newly created white brine cheeses with additives was determined based on physicochemical, organoleptic, biochemical and microbiological indicators – up to 3 months, after which a visible deterioration of the consistency, structure and aroma of the food product and the development of molds were detected.

VI. Contributions of the dissertation work:

The contributions formulated by the doctoral student fully correspond to the experimental activities and results obtained. A total of 6 scientific and 3 scientifically applied contributions and 3 applied contributions have been defined:

Scientific contributions:

1. For the first time, cottage cheese and white brined curd based on buffalo milk with the addition of tobacco, flax and hemp seeds and walnut kernels in different concentrations were developed.
2. The organoleptic, physicochemical, biochemical and microbiological indicators of the newly obtained products were established.
3. Dairy products enriched with fats, fibers, biologically active fatty acids and minerals.
4. Their shelf life for curds is scientifically proven to be up to 7 days and for white brine cheese to 3 months.
5. An assessment of the fat fraction has been made, which defines them as a healthy source of fat.
6. The technological and analytical studies conducted allow them to be classified as functional foods.

Scientific and applied contributions:

1. The results obtained from the conducted research enrich science with new knowledge about the qualitative composition of the curd from buffalo milk and the additives used after technological processing and monitoring of the storage period with a high content of fat, biologically active fatty acids, fiber and minerals.
2. The results obtained from the conducted research enrich science with new knowledge about the qualitative composition of white brined cheese from buffalo whole milk and the additives used after technological processing and monitoring of the storage period with a high content of biologically active fatty acids, fiber and mineral substances.
3. The qualitative assessment of the fat fraction of the newly created dairy products with additives - cottage cheese and white brine cheese, confirms their functional properties.

Applied contributions:

1. The production list of IKHT has been enriched with new dairy products from buffalo milk - cottage cheese and white brine cheese with additives of tobacco, flax and hemp seeds and walnuts.
2. The technological regime for their production with an additive under laboratory conditions has been determined.
3. The newly created dairy products, on the one hand, can be used in daily nutrition, and on the other hand, they would be used in dietary and prophylactic and therapeutic nutrition.

VII. Critical notes and questions:

I have no critical remarks, except for my wish that the reported results in future activities be directed to a greater extent towards publication in refereed and indexed publications and that opportunities for participation in more national and international research projects be sought.

Question:

Is it possible to use the tobacco, flax and hemp seeds and walnut kernels used in the dissertation in pasta, in what quantities and why?

Published articles and citations.

The main results of the dissertation have been published in three scientific papers - two in the Journal of Mountain Agriculture on the Balkans and one in the Bulgarian Journal of Agricultural Science.

In two articles the doctoral student is the lead author, one of which is independent. In this way his personal contribution is clearly defined. The publications are well-structured and have the necessary scientific value.

Evaluation of the abstract

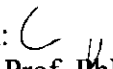
The presented abstract objectively reflects the structure and content of the dissertation work. It is written on 49 pages. It contains 13 tables, 61 figures in Bulgarian and English.

CONCLUSION:

Based on the learned, scientific-applied and applied contributions, by the doctoral student, various research methods, the correctly conducted experiments, the generalizations and conclusions made, I believe that the presented dissertation meets the requirements of the Law on Agricultural Research and Development and the Regulations for its implementation at the Agricultural Academy, which gives me reason to evaluate it **POSITIVELY**.

I propose to the esteemed Scientific Jury to also vote positively and award Eli Stoyanova Kostadinova the educational and scientific degree "Doctor" in the scientific specialty "Technology of biologically active substances (incl. enzymes, hormones and proteins)" 5.12. Food technologies.

06.10.2025
city of Sofia

REVIEWER: 
(Assoc.Prof. PhD. Iliana Lazova-Borisova)