

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Пенка Ангелова Мончева - Софийски университет „Св. Кл. Охридски“, Биологически факултет

на дисертационен труд, представен за защита за получаване на образователната и научна степен „доктор“ по Научна специалност 5.11 Биотехнологии (Технология на биологичноактивните вещества)

Автор на дисертационния труд: Росица Стефанова Денкова

Тема на дисертационния труд: „Получаване на закваски от лактобацили и възможности за тяхното приложение в производството на храни“

1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Ролята на млечнокиселите бактерии за човешкото здраве не подлежи на съмнение. Тяхното използване като закваски за производство на различни храни е от важно значение не само за обезпечаване на надежден и целенасочен ферментационен процес, но и за микробиологичната безопасност при удължен срок на съхранение, без добавка на консерванти. Това води до намаляване на употребата на консерванти, към което са насочени и очакванията и изискванията на потребителите. В този смисъл разработването и приложението на закваски, в чиито състав са включени лактобацили за кисело тесто за производство на хляб и тестени изделия без консерванти с удължен срок на съхранение, каквато е целта на дисертационния труд, е актуално.

2. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е построен по общоприетия модел за научни трудове от такъв тип и е структуриран в 8 раздела: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (52 стр.), Цел и задачи (3 стр.), Материали и методи (18 стр.), Резултати и обсъждане (105 стр.), Изводи (2 стр.), Справка за приносите (1 стр.), Списък на използваната литература (15 стр., съдържащи 337 източника). Към дисертацията е приложен списък на научните публикации, свързани с дисертационния труд (2 стр.) и Приложение (24 стр.). Общият обем на труда, без приложенията е 197 стандартни А4 формат страници.

2.1. Литературен обзор

Обемът на литературния обзор е приблизително 1/3 от общия обем на дисертацията. Информацията, която се поднася в него е фокусирана върху 3 основни проблема: ролята на лактобацилите за здравето на човека; лактобацилите в производството на пробиотици и пробиотични храни; Идентификацията на бактериите от род *Lactobacillus*. При обсъждането на приложението на лактобацилите в производството на пробиотици и пробиотични храни дисертантът е поставил ударението върху ролята на млечнокиселите бактерии в производството на хляб и хлебни изделия. Разгледани са основни моменти в производството на хляб – ролята на млечнокиселите бактерии, използването на консерванти, киселото тесто, използването на стартерни култури, както и въпроси, свързани с източниците на ензими, органични киселини, екзополисахариди, антимикробни вещества, видовете кисели теста и др. Въпросите за хляба и хлебопроизводството са поставени като подточки на по-общия въпрос за лактобацилите в производството на пробиотици. Все пак хлябът не би могъл да се разглежда нито като пробиотик, нито като функционална храна, доколкото в него няма живи микроорганизми. Т.е. считам, че такава структура на тази част от обзора не е съвсем точна. Литературният обзор е написан на много добър език, цитирана е голяма по обем литература, като 60% от литературните източници са след 2000 г. което показва, че докторантът е запознат отлично с проблематиката.

2.2. Цел и задачи

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно, макар да надхвърля очакванията, които се формират от заглавието на дисертационния труд. За постигането на целта са дефинирани 4 основни задачи, всяка от които съдържа по няколко подзадачи. Макар и коректно поставени, разширеното дефиниране на всяка подзадача дезориентира в известна степен читателя, т.е. струва ми се, че е могло да се следва по-кратък стил при тяхното формулиране.

2.3. Материали и методи

Разделът съдържа подробно и прецизно описание на всички използвани материали и методи от докторанта. Хубаво впечатление прави разнообразният набор от методи, използвани при решаване на поставените задачи – физикохимични, микробиологични, биохимични, генетични, технологични и статистически. Убедено бих могла да кажа, че в хода на докторантурата докторантката е обогатила своите методични знания и умения, прилагайки толкова разнообразни методи – класически и съвременни. Методите са избрани подходящо, за да може чрез тях да бъдат изпълнени поставените задачи и целта на дисертацията да бъде постигната. Бих искала да отбележа някои неточности, допуснати в този раздел: на стр. 65 при описанието на определянето на амилалитичната активност е посочено, че тя се измерва чрез диаметъра на „стерилните зони“. В случая не става дума за потискане на растеж, а за разграждане на скорбяла, което се отчита по размера на зоната на хидролиза, оформила се вследствие на разграждането на скорбялата. Бих си позволила да отбележа, че по-точни резултати биха се получили, ако не беше използван методът на янките, а посяване на щамовете под формата на щрих в среда, съдържаща скорбяла. В този раздел прецизно са описани всички използвани в работата материали, както и подбраните методи за изпълнението на задачите. Избраните методи съответстват на поставената цел с формулираните за нейното реализиране задачи. Те са класически и съвременни и дават възможност за получаване на достоверни и възпроизводими резултати.

2.4. Резултати и обсъждане

В този раздел са представени получените от докторанта резултати, както и тяхното обсъждане. Предвид големият брой подзадачи добре би било резултатите да се разглеждат по реда на тяхното поставяне и подзаглавията в този раздел да съответстват на задачите и подзадачите, чрез което читателят бързо и лесно се ориентира за тяхното изпълнение. Независимо от това докторантът представя резултати по всяка задача и подзадача в отлично оформени 38 таблици и 43 фигури. Извършена е огромна експериментална работа с голям брой щамове. Хубаво

впечатление прави многостранното характеризирание на щамовете, с което се създава възможност за разширяване на сферата на тяхното приложение, съобразно поставената цел. Резултатите са представени коректно като повечето от тях са дискутирани. На места обаче дискусиата отсъства или е много оскъдна. Така напр. резултатите от изследването на щамовете с APIZYM са представени без никакъв коментар за значението на една или друга активност, което оставя чувство в читателя за ненужен анализ. На места са допуснати неточности, както и ясна аргументация на каква основа се избират щамовете за един или друг анализ. Ще си позволя да цитирам някои неправилни изрази и неточности: На стр. 90 се казва, че за „пълната видова идентификация“ се предприема секвениране. Няма непълна видова идентификация. В последната колона на табл 5 е посочено „% на съвпадаемост“ вместо „% на подобие“. Тези примери, както и някои други, разбира се не развалят много хубавото ми впечатление от работата, тъй като това са неточности с технически характер, които съм сигурна докторантът ще преодолее в бъдещите си научни трудове. Този дисертационен труд прави впечатление със своята завършеност, тъй като след всестранно изучаване на много и разнообразни свойства и технологични характеристики на щамовете завършва с получаването на краен продукт.

2.5. Изводи и приноси

Въз основа на огромната експериментална работа и резултатите, получени от нея докторантът формулира 9 извода. Изводите произтичат от получените резултати. Бих си позволила да отбележа, че част от тях биха могли да са по-кратки и да се редактират, за да не звучат като резултат (напр. изводи 1, 5, 8).

Работата има несъмнени научно-приложни приноси. Струва ми се излишно деленето на приносите на научни и научно-приложни. Най-важните според мен са следните:

- Създадена е колекция от лактобацили, достатъчно добре характеризирани по много признаци и депозирани в НБПМКК;

- Разработена е биотехнологична схема за получаване на сухи „ЛБ-подкислители“ за производство на ръжен и пшеничен хляб с удължен срок на съхранение, без консерванти;
- Създадени са подходящи закваски от млечнокисели и пропионовокисели бактерии за ферментация на кисело тесто при производство на хляб и тестени изделия;
- Чрез сублимационно сушене с подходящи криопротектори са получени препарати с високо микробно съдържание, което се запазва при съхранението им при стайна температура над 1 година;
- Определени са подходящи количества за влагането на кисело тесто, които обезпечават получаването на хляб с подобрени органолептични показатели;
- Разкрити са възможности за приложение на киселото тесто под формата на замразено кисело тесто и лифилизирани концентрати, без да е налице промяна на активността на приготвените кисели теста.

Считам, че формулирането на някои от приносите (напр. 3 и 4 от научните приноси според докторанта и 3, 4, 5 и 7 от научно-приложните) от научно-приложните) би могло да претърпи промяна, така, че те да не звучат като изводи или резултати.

3. Участие на докторанта в изработването на дисертацията

Нямам преки впечатления от докторанта Росица Денкова, но начинът на оформянето на труда, нейната позиция в авторовия колектив на публикуваните статии, представени от нея недвусмислено показват, че дисертационният труд е нейно лично дело, за което заслуги имат и членовете на колективите, с които тя е работила, което е абсолютно нормално и разбираемо. Отново искам да подчертая нейното трудолюбие, което проличава от наистина огромната експериментална работа и нейното оформяне в труд

4. Препоръки, забележки и въпроси

В хода на изложението на моята рецензия, аз направих някои забележки, но бих посочила още и следното:

- На стр. 80, в Табл 2а не е посочено какво представляват процентите, поставени в скоби.
- При представянето на резултатите за чувствителността на щамовете към антибиотици се посочват интервали на размерите на зоните на инхибиране, според които щамовете са диференцирани на резистентни, интермедиерни и чувствителни. Хубаво би било да се посочи според какви критерии са определени точно такива интервали (тъй като във вашия случай те са еднакви за всички антибиотици).
- Не би било излишно разделът Резултати и обсъждане да започва с изолирането на щамовете и да се представи таблица, отразяваща произхода на всеки от щамовете. Не става ясно какъв е произходът на *L. sanfranciscensis* R.

Имам следните въпроси към докторанта:

1. Каква е причината да смятате, че видовата идентификация на щамовете е „непълна“ и пристъпвате към секвениране при положение, че доказвате преди това видовата принадлежност с един фенотипен и един генетичен метод? На какъв принцип избрахте щамовете за секвениране?
2. На базата на какво сте избрали щамове за скрининга за амилалитична активност, при положение че на API тестовете те са показали отрицателна реакция по отношение на усвояването скорбяла (с изключение на един щам X2) и на какво се дължи това противоречие след скрининга.
3. На базата на какво се прави заключението, че потискането на растежа на патогените се дължи освен на образуването на млечна киселина и на антимикробни вещества? (стр. 106, втори абзац)
4. Каква трябва да бъде чувствителността на пробиотичните щамове към антибиотиците?

5. На базата на какво се прави заключение, че *L. plantarum* синтезира бактериоцини? (стр. 147)

5. Публикации във връзка с дисертационния труд

Докторантът е представил списък на 6 научни статии, публикувани в български и чуждестранни журналы, на които тя е водещ автор; 4 доклада, представени на национални научни форуми, на 3 от които тя е първи автор. Един от нейните научни трудове е цитиран до момента един път от чуждестранни автори

6. Автореферат

Авторефератът е изготвен по изискванията и отразява вярно написаното в дисертацията.

7. Придобрита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор“

При изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторант Росица Денкова е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат обобщени по следния начин:

- разширила е теоретичната си компетентност в областта на микробиологията, молекулярната биология, биотехнологията, както и в конкретната област, свързана с темата на дисертацията

- доразвила е уменията си да работи с научна литература, да анализира и обобщава данни, както и да ги използва при коментара на получените от нея резултати.

- разширила е методичните си умения, придобити в предходните степени на обучение чрез избора и прилагането в изпълнението на задачите на разнообразни класически и съвременни методи.

- придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите от своя труд, да прави обобщения и изводи на базата на тях.

Всичко това ми дава основание да смятам, че тя е придобила компетенции и умения, които напълно съответстват на образователната и научна степен „доктор“.

8. Заключение

Изработването и оформянето на дисертационния труд, включващо получените резултати, тяхното представяне и дискутиране ми дават основание да смятам, че в процеса на докторантурата Росица Денкова е придобила теоретични знания и методични умения напълно съответстващи на третата степен на обучение в Софийски университет „Св. Кл. Охридски“. Извършено е обемно изследване на съвременно ниво, съчетаващо класически методи със съвременни такива от различни сфери на науката (микробиология, биохимия, биотехнологии, молекулярна генетика и др.). Много добрата теоретична подготовка е дала възможност на докторанта да направи избора на методи, които са осигурили изпълнението на всички поставени задачи, с което е постигната целта. Дисертационният труд има научно-приложни приноси, които са основа за изследвания, свързани с практическото приложение на изолираните от нея щамове. Направените от мен забележки имат технически характер в по-голямата си цел и могат да бъдат взети предвид в по-нататъшната работа на докторанта. Те в никакъв случай не омаловажават достойнствата на труда.

Въз основа на гореизложеното, както и предвид Правилника за приложение на закона за развитие на академичния състав в Република България и този на СУ „Св. Кл. Охридски“ считам, че представеният труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и убедено препоръчвам на почитаемото научно жури, сформирано със Заповед на Ректора на СУ РД 38-105/06.03.2014 г да присъди на г-ца Росица Денкова научната и образователна степен „доктор“ по Научна специалност 5.11. Биотехнологии (Технология на биологичноактивни вещества).

27.04.2014 г.

София

Подпис:

(проф. д-р П. Мончева)