

## РЕЦЕНЗИЯ

Върху дисертационен труд на тема „Получаване на закваски от лактобацили и възможности за тяхното приложение в производството на храни“ с автор Росица Стефанова Денкова, редовен докторант към кат. „Биотехнология“ на БФ на СУ „Св. Климент Охридски“ за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

Рецензент: проф. дбн Иван Мургов

Уважаеми членове на Научното жури,

Представената за обсъждане на днешното заседание дисертация на редовния докторант Росица Стефанова Денкова е посветена върху актуален проблем, свързан с качеството и трайността на хляба. Между множеството хранителни продукти, които съставят менюто на нашия народ хлябът заема първостепенно място. И не са необходими особени доказателства за ролята му при изхранване на населението. В съзнанието на българина това е един свят продукт от древни времена до наши дни. Ето защо всеки научен и практически принос за подобряване на качествените показатели и трайността му имат актуално звучене. Независимо от значимия напредък на съвременните технологии, базирани на производството и преработката на хлебното зърно, на хранителната микробиология и биотехнологиите, погрешно е да се мисли, че няма проблеми и какво да се прибави за производството и потреблението на по-качествен хляб, както и на тестени изделия и продукти използващи този клас суровини. Всички ние, потребителите на хляб, обаче, знаем че не консумираме хляб, такъв какъвто ни се иска и какъвто се произвежда в много страни. В този смисъл изследванията върху ферментацията на тестото и свързаните с нея микроорганизми и предизвикваните от тях биотехнологични процеси са с определящо значение в търсенето на ключа за решаване на проблема. Основателно Денкова се обръща към онова, което е извършено в теоретичен и практически план от материалите, публикувани в научната периодика.

В обширен литературен преглед тя разглежда научните и практически страни на производството на хляб и факторите, които влияят върху протичащите процеси в изготвянето му - от качеството на суровините и материалите, преминавайки през микробиологичните процеси, предизвиквани от различни видове микроби /като естествена микрофлора или като добавъчна/ при ферментация на тестото, изяснява детайлно различни страни от биохимията на втасването му, за да се формира онзи чуден букет на вкус и аромати на току що изпечен топъл хляб. Но както всички

продукти, хлябът е подложен на стареене и развала. В разгледаната литература авторката се е постарала да потърси и оцени през своята призма какво се прави в света за решаване на проблемите на получаването на качествен хляб с висока хранителна стойност, подходяща трайност и безопасност.

Като преглежда повече от триста литературни източника, преобладаващата част от които публикувани през последните 10-15 години, докторантката разкрива особената роля на три групи микроорганизми: лактобацили, хлебни дрожди, участващи в производствения технологичен процес, и неспецифична банална флора, причиняваща развалата на готовия хляб и скъсяваща сроковете на неговото съхранение.

Намира множество изследвания, които изясняват ролята на млечнокиселите бактерии от хомо- и хетероферментативен тип за направляване на процесите на ферментация и чрез продуцираните метаболити да формират вкусовоароматния комплекс на хляба, интензивността на зреенето, регулирането на баланса между полезната и нежелана микрофлора и в съчетание с други технологични подходи, как да се оптимизира и управлява самия технологичен процес.

Като подлага на критичен анализ проучваните материали, Денкова правилно разкрива необходимите микробиологични и биотехнологични подходи, чрез които може да се повлияе положително при решаване на задачите, а те са: отбор на подходящи щамове, които наред с ферментационните свойства притежават и пробиотичен потенциал, наличие на симбиотичност между щамовете бактерии и дрожди, потискане на баналната и нежелана микрофлора в междинните стадии на технологията и създаване на предпоставки за получаване на хляб с повишена трайност, почиваща на натрупваните микробни метаболити в тестото от специфично подбрани микробни щамове. Това пък позволява да се намали или напълно елиминира употребата в хлебопроизводството на химични консерванти.

Тук се открива необходимост от допълнителни изследвания, свързани с идентификацията на новоизолираните и селектирани щамове лактобацили, както и изследване на редица особености на култивирането, за създаване на биотехнология за получаване на течни и лиофилизирани закваски, които стават първоизточник на влагането им при получаването на кисело тесто. Докторантката се е запознала с огромен набор от съвременни микробиологични, генетични, таксономични, биотехнологични, технологични, санитарнохигиенни методи, с които надгражда своите университетски знания и умения. Използваните методи позволяват успешно да се реши значимия набор от задачи, които на свой ред водят и до постигане на целта на дисертацията.

Към варианта на литературния обзор, който беше представен на обсъждането пред разширения катедрен съвет, имах редица критични бележки. Подобни бележки бяха направени и от други членове на съвета при обсъждането. Докторантката е представила обзора в по стегнат и нагледен вид. Дадени са заглавия и подзаглавия на редица теми, което улеснява читателя във възприемане на материала. Отстранени са и неточности и правописни и технически пропуски, което говори за критично

отношение на авторката при представянето на труда. Направено е и заключение на обзора, от което естествено произтича целта и задачите за нейното постигане.

При обсъждането в катедрата бяха направени редица целесъобразни препоръки, които докторантката е взела предвид при крайното оформяне на текста. Целта на дисертационната работа, задачите за решаване и методите за изследване са правилно формулирани. Те са добра основа за постигане на целта. Дисертационният труд е правилно структуриран със следните основни раздели: Литературен обзор, Материали и методи, Резултати и обсъждане, Изводи, Литература и Приноси. Изводите и заключенията в работата се базират върху експериментални данни, отразени в 43 фигури и 38 таблици, които са много добре оформени и достатъчни за постигане на поставената цел.

Изследванията са добре планирани и проведени и са с широк обхват. Те са в синхрон с обзора на литературата и избраните и описани методи. Авторката изолира природни щамове лактобацили от различни източници, изследва техните морфологични, културални, физиологични и биохимични свойства, въз основа на които ги определя видово и ги отнася към 8 различни вида на род *Lactobacillus*. Приложеният подход за идентификация се базира на интеграция между класическите принципи за видово определяне и съвременните бързи и модерни биохимични тестове, които както е известно в някои варианти се използват и за машинно определяне на видове от някои групи бактерии. Прави добро впечатление, че Денкова не се задоволява с получените резултати от този подход и се захваща с по-прецизна характеристика на щамовете, като се базира на методите на молекулярно-генетичната таксономия. Чрез рестрикционен анализ на гена, кодиращ 16S рРНК чрез използване на праймери, които са комплементарни на консервативните области на двата края на гена и последваща рестрикция със съответните ендонуклеази. Така потвърждава принадлежността на основната част от изследваните щамове към съответните видове, определена чрез методите на конвенционалната таксономия, а за други три щамове прави доуточняваща корекция.

Прави приятно впечатление, че докторантката е овладяла много добре тези съвременни методи за генетичен анализ и с достатъчна вещина тълкува получените резултати. Това е предпоставка за бъдеща успешна работа в направлението за приложение на генни манипулации в селекцията на лактобацили. Подобен факт е достижение, свързано с получаването на значими приложни резултати за една важна група промишлени микроорганизми.

Авторката отделя специално внимание в изследванията на пробиотичните и антимикробни свойства на изолираните от нея лактобацили. Основателно във фокуса работата са поставени представителите на *Lactobacillus plantarum*, като вид, който неотменно съпътства растителните суровини и взема активно участие в тяхната биотрансформация. Щамове от този вид участват в стартерните култури за производство на хлебни изделия, в спонтанна ферментация на плодове, зеленчуци, тесто, както и на някои животински продукти. Много автори отдават значение на щамове от този вид и при получаването на пробиотици. Получените резултати

оправдават усилията на Денкова. Селекционираниите щамове проявяват подчертана антимикробна активност спрямо причинители на токсикоинфекции и токсикози, спрямо бацили, причиняващи гнилостни процеси в тестото и развала на хляба, както и към някои причинители на плесени развали на хляба. Освен това е направен широк пробиотичен профил на тези култури, включващ резистентност към антибиотици, устойчивост към жлъчни соли и ниски стойности на рН, преживяемост в моделни условия на храносмилателния тракт, адхезия и колонизация върху клетъчни линии, инхибиране на растежа на патогенни и токсигенни микроби, продукция на метаболити с антимикробно действие. Установяването на подобни свойства при представители на съставната млечнокисела микрофлора на тестото е новост и разкрива възможности за биотехнологично приложение на посочените култури и в други направления на хранителната индустрия.

Авторката основателно сменя характеристиките на култивиране на трите щама на *Lactobacillus plantarum* в лабораторен биореактор при непрекъснато разбъркване и при статични условия, като от тези експерименти извлича ценна информация за клетъчния растеж и получаване на биомаса, промените на титруемата киселинност и окислително-редукционния потенциал, показатели с особена важност за производството на закваски не само за хлебопроизводството, но и за други цели. Така естествено се стига до разработването на производствени закваски за получаване на кисело тесто, което да се влага в главното тесто.

След този етап се налага да се решават нови задачи, а именно, съставяне на симбиотични закваски, включващи както изследваните дотук щамове *Lactobacillus plantarum*, така и други видове, типични за хлебопроизводството, каквито са *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum*. Постигнато е хармонизиране и съвместимост на растежа на четирите култури, като се достига висока концентрация на жизнеспособни клетки, които успешно се развиват при етапите на замесване и презамесване на тестото. Установена е висока антимикробна активност на щамовете от закваската към сапрофитни бацили и плесенни гъби, без това да влияе на хлебните дрожди. Закваските са апробирани и с тяхно участие е произведен хляб, който е окачествен по структурномеханични, физикохимични, микробиологични и вкусовоароматни свойства. От показаните опитни данни в дисертацията е видно, че задачата по приложение на закваската от лактобацили за ферментация на тестото при производството на хляб е успешно решена.

Денкова продължава изследванията си върху лиофилизацията на закваските с оглед на осигуряване на продължителното им съхранение, стандартизация на активността, улесняване на транспорта и др. Получени са лиофилни концентрати, в които се запазва жизнеността на клетките при стайна температура повече от 1 година. Това решение има особено важна практическа стойност.

В дисертацията са представени интересни резултати за получаване на хляб с много добри вкусови качества, при който е преодоляна проявата на картофена болест, причинявана от гнилостни микроорганизми, и е забавена проявата на

плесени повече от 5 дни, което означава успешно удължаване на срока на съхранение.

Работата завършва с обширни изводи, които отразяват подробно постигнатите резултати, плод на проведените изследвания. Изводите са дадени стегнато, направени са определени обобщения и са избегнати излишни подробности. Приемам дадената от докторантката справка за приносите като основателна и отразяваща изследванията ѝ с научна и практическа стойност.

Докторантката до определена степен е направила обсъждане на резултатите в светлината на изследванията и на други автори, цитирани в обзора. Работата завършва със заключение, което проследява успешно решените задачи от изолирането на природни щамове, тяхната конвенционална и модерна идентификация, микробиологичната, биохимичната, биотехнологичната и производствената им характеристика до достигане на крайни резултати, даващи на производителите надеждни производствени микроорганизми, методи и решения за организиране на производство и в нашата страна на по-качествен и с по-висока трайност хляб.

Във връзка с дисертацията са публикувани 6 статии, които отразяват основната ѝ част. Авторефератът отразява точно описаните в дисертационния труд резултати, изводи и заключения.

**Заключение:** Росица Стефанова Денкова е завършила бакалавърския и магистърски курс по специалност „Биотехнологии“ на БФ на СУ с отличен успех. Отзивите за нейната работа като студент, докторант и преподавател от катедрата са много добри. Тя е разработила и представя за защита една мащабна разработка, включваща решаване на разностранни задачи, които чрез интеграция на знания и изследвания от няколко научни области, изискващи владеене и приложение на разнообразни методи и научни подходи, да се постигне решаването на достатъчно сложна и комплексна цел – получаване на качествен, траен и безвреден хляб, от какъвто всички ние се нуждаем. Чрез работата си се представя като целенасочен, трудолюбив и продуктивен изследовател, който въз основа на мащабни научни експерименти от различни области получава резултати, които ѝ позволяват да реши и конкретни практически задачи. Постигнатите резултати, отразени в дисертацията и личните качества на докторанта ми дават основание да препоръчам с пълна убеденост на уважаемите членове на научното жури да гласуват положително и да присъдят на Росица Стефанова Денкова образователната и научна степен „доктор“.

24.04.2014 г.

Рецензент:.....  
проф.дбн И.Мургов