

# РЕЦЕНЗИЯ

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

**на дисертационен труд на тема:** „Разработване и приложение на стратерни култури за  
млечни продукти със здравни ползи“

**Автор на дисертационния труд:** Елена Иванова Чорбаджийска

**Научни ръководители:** доц. д-р Светла Илиева и доц. д-р Жечко Димитров

## 1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Начинът на живот, в най-широкия смисъл, на съвременния човек се характеризира с чести стресови ситуации, неправилно хранене, употреба на лекарствени средства, в много случаи без лекарско предписание. Тези фактори оказват неблагоприятно влияние върху полезната чревна микрофлора на човека. Наред с това обаче, през последните години е налице забележимо повишаване на културата на хранене и начин на живот, в резултат на което се повишиха и изискванията към храните и храненето. Предпочитани и търсени са храни, които доставят не само необходимите за организма хранителни съставки, но и специфични вещества, които влияят благотворно върху човешкото здраве. На тези изисквания отговарят т. нар. функционални храни и отнасящите се към тях пробиотични продукти. На първо място сред тях са млечнокиселите пробиотични продукти. Ето защо разработването на такива продукти е от интерес не само от търговска гледна точка, но и с оглед на подобряване на здравния статус на човека и качеството на живот. Във връзка с това считам, че темата на дисертационния труд е актуална и значима.

## 2. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е построен по общоприетия начин за такъв род трудове, като е съставен от 8 раздела: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (65 стр.), Цел и задачи (2 стр.), Материали и методи (23 стр.), Резултати и дискусия (76 стр.), Изводи (1 стр.), Приноси (1 стр.), Списък на използваната литература с цитирани 210 заглавия. Общият обем на труда е 196 стандартни А4 формат страници.

### 2.1. Литературен обзор

Литературният обзор е фокусиран върху проблеми, свързани с темата на дисертационния труд, а именно – същността на пробиотичните функционални храни, като тук се дават дефинициите на функционални храни, пробиотици, пребиотици и синбиотици, разглежда се човешката интестинална микрофлора, критериите за подбор на пробиотични щамове и приложението им в индустрията; разгледани са основните свойства, които пробиотичните щамове трябва да притежават и ползите от тях; прави се

характеристика на млечнокиселите пробиотични щамове от родовете *Lactobacillus*, *Streptococcus* и *Bifidobacterium*; предоставена е информация за млечните пробиотични продукти. Счита се, че литературният обзор е изчерпателен, целенасочен, последователен и написан на много добър език. Той е базиран на голям брой литературни източници (210 бр.), повече от половината (приблизително 63%) от които след 2000 година. Това показва, че дисертантът е добре запознат с изследванията на други автори по разработвания проблем – както съвременни, така и по-стари. Литературният обзор разкрива много добрата теоретична подготовка на докторанта и уменията му да обобщава и анализира литературни данни. Към този раздел имам следната забележка – обемът му би могъл да бъде по-малък, което не би довело до намаляване на неговата информативност. Онагледен е много добре с подходящи схеми и снимков материал. Литературният обзор завършва с кратка аргументация на поставената цел на това изследване.

## **2.2. Цел и задачи**

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно и точно. За нейното постигане са поставени за изпълнение 7 конкретни задачи, също формулирани ясно и кратко. Четири от задачите имат по няколко подзадачи.

## **2.3. Материали и методи**

Разделът съдържа прецизно описание на използваните в работата материали, както и приложените за изпълнението на задачите методи. Подбрани са разнообразни методи, както класически така и съвременни – аналитични и молекулярно-биологични, което показва, че в хода на докторантурата авторът на този труд е придобил много добра методична подготовка. Изборът на методи осигурява изпълнението на поставените задачи и получаване на достоверни резултати.

## **2.4. Резултати и обсъждане**

В този раздел са изложени и обсъдени получените от докторанта резултати по реда на поставените задачи. Направена е характеристика на видовата принадлежност и щамовата идентичност на изолатите, предмет на дисертационния труд. Представени са резултатите от изследването на адхезията на млечнокиселите бактерии върху епителни клетки; върху природата на адхезивните фактори; направена е оценка на конкурентната адхезия. Представени и коментирани са резултатите върху протеолитичната активност, подбора на щамове, освобождаващи биоактивни пептиди с АСЕ-инхибираща активност като е определена общата протеолитична и пептидазна активност, направен е анализ на единични пептиди със значима АСЕ-инхибираща активност и са представени данните по аминокиселинния състав на пептидите. Резултатите от определяне на холестерол-намаляващата активност на млечнокиселите бактерии са подробно показани и

коментирани, както и тези за антиоксидантната активност. Най-накрая се представят резултатите със съпътстващия ги коментар по селектирането на пробиотични щамове – разработването на стартерни комбинации от щамове, продуциращи биоактивни пептиди и технология за производството им, като е представена технологична схема за получаване на концентрати от *L. helveticus* A1 и *Lc. lactis* N1, технология за получаване на лиофилизиран концентрат от *L. plantarum* P12 като добавъчна култура за меки сирена, като е определена и устойчивостта на последния в симулирани стомашно-чревни сокове. Прави много добро впечатление коментирането на резултатите от автора на дисертационния труд. Внимателният прочит на този раздел показва, че всички поставени задачи са изпълнени. Резултатите са онагледени много добре с коректно изработени таблици (29 бр.) и фигури (59 бр.). Към този раздел имам следната забележка. Резултатите от изпълнението на първата задача, свързана с характеристиката на видовата принадлежност и щамовата идентичност са представени в известна степен непоследователно и неясно. Откриват се и противоречия. Така напр. не става ясно колко щамове са идентифицирани до съответните родове, за които дисертантът разполага със съответните праймери. Не е задължително да се показва снимков материал за всички щамове, но ако анализът е правен трябва с едно изречение да се обобщи. На Фиг. 11 се вижда, че ARDRA анализът с ензима *HaeIII* не диференцира трите подвидове на вида *L. delbrueckii*, *L. helveticus* от *L. gasseri*, както и *L. casei* от *L. rhamnosus*. Как тогава е възможно със същия ензим 14 изолата да бъдат определени като *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, три като *L. gasseri*, един като *L. helveticus* и един като *L. rhamnosus*, както е показано в описанието на Фиг. 12, стр. 100. В същото време в Табл. 8, стр. 75, дисертантът посочва, че е работил само с 5 изолата на подвидове *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Не става ясно на какво се базира изводът, че RAPD-анализът е поддискриминативен за щамове на *L. bulgaricus*, отколкото за *B. longum*, при положение, че отсъства какъвто и да е коментар за първия вид. Означенията на анализирани изолати на Фиг. 12, 13, 16, 17 не съответстват на техните означения в Табл. 8, а на фиг. 18, 19 и 20 те отсъстват. Въпреки направените забележки за несъответствия в текста, считам че дисертантът е работил прецизно, което добре се вижда от доказателствения материал, извършил е голяма по обем експериментална работа, резултатите са илюстрирани коректно, и не будят съмнение в своята достоверност.

## **2.5. Изводи и приноси**

Въз основа на огромната експериментална работа дисертантът прави 8 извода, които произтичат логично от получените резултати. Считам обаче, че извод номер 1 е твърде общ.

Дисертационният труд има приноси с научно-приложен характер, които бих формулирала по следния начин:

1. Чрез разработен от дисертанта метод е доказан видът на адхезивните фактори за щамовете, показали значими адхезивни свойства и са селектирани щамове със значителна способност да понижават адхезията на патогени.

2. Чрез разработен от дисертанта подход, от ферментирали млечни продукти са открити единични пептиди със значима ACE-инхибираща сила, на които е извършен секвенционен анализ.

3. Щамът *L. plantarum*, който притежава антиоксидантни и адхезивни свойства е подбран и използван като добавъчна култура при производството на меки сирена.

4. Подбрани са щамове *L. gasseri* и *B. longum*, които притежават способност директно да елиминират холестерола, поради което те са включени в закваски за млечнокисели продукти.

5. Разработени са закваски за бяло саламурено сирене, съдържащи щамове на видовете *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *L. casei*, притежаващи способност да освобождават пептиди с ACE-инхибираща активност и антиоксидантни свойства.

### **3. Участие на докторанта в изработването на дисертацията**

Нямам лични впечатления от докторанта, но считам, че изпълнението на дисертационния труд е нейно дело, предвид нейната позиция в излезлите от печат публикации, свързани с дисертационния труд.

### **4. Препоръки, забележки и въпроси**

Като рецензент на дисертацията при предварителната защита аз имах доста забележки, повечето от които с технически характер, както и препоръки. Приятно ми беше да установя, че всички те са взети предвид, в резултат на което работата е подобрила своето качество. В коментара си по отделните глави от дисертацията аз посочих някои от моите забележки.

Към докторанта имам следните въпроси:

1. Каква е съдбата на разработените от Вас закваски?
2. Колко дълъг е пътят от изследванията на щамовете и тяхното внедряване като пробиотици?

### **5. Публикации във връзка с дисертационния труд**

Докторантът е представил списък с пет научни публикации, свързани с дисертацията, две от които са под печат в списание с импакт фактор. Дисертантът има и едно участие с постерно съобщение на международна научна конференция. На три от публикациите дисертантът е водещ автор, а на останалите е на второ място.

## **6. Придобрита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”**

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантът Елена Чорбаджийска е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат групирани по следния начин:

- разширила е теоретичната си компетентност в областта на микробиологията и по-специално по микробиологията на млечнокиселите бактерии.

- придобила е умения за работа с научна литература, анализирайки и обобщавайки научна информация.

- обогатила е методичните си умения, особено в частта на прилагането на молекулни методи за видова идентификация на бактерии, както и анализа на пептиди

- придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, както и да прави изводи на базата на тях.

Всичко това ми дава основание да смятам, че докторантът е придобил компетенциите и уменията, които се изискват за придобиване на образователната и научна степен „доктор”.

## **7. Заключение**

Извършено е мащабно изследване на съвременен ниво. Много добрата теоретична подготовка е дала възможност на докторанта да подбере и съчетае набор от класически и съвременни микробиологични, молекулярно-биологични и аналитични методи, които осигуряват изпълнение на поставените задачи и постигането на целта. Смятам, че обемът на този труд е внушителен, направени са много анализи, получени са ценни резултати, направени са важни изводи, а изследването има научно-приложни приноси.

Авторефератът е направен по изискванията и отразява вярно основните резултати и изводи на дисертационния труд.

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 настоящият труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на Научното жури, сформирано със заповед на Ректора на СУ No РД38-560/30.10.2014 г да присъди на г-ца Елена Чорбаджийска образователната и научна степен „доктор” по професионално направление 5.11. Биотехнология (Технология на биологично-активните вещества).

27.11.2014 г.

София

Подпис:

(проф. д-р П. Мончева)