

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд, представен за защита пред научно жури, сформирано със заповед № РД-419/04.07.2011 на Ректора на Софийски университет „Св. Климент Охридски“ за получаване на образователната и научна степен “доктор”

Автор на дисертационния труд: Сашо Спасе Стояновски

Тема на дисертационния труд: “Изследване върху млечнокиселата микрофлора на сурово-сушени традиционни български колбаси – тип Луканка”

Рецензент: проф. Мария Ангелова дбн

„Производството на ферментирани колбаси е комбинация от изкуството на майстора и невидимата магия на бактериите” – тази фраза от книгата на двама полски автори много точно определя сложния процес на правенето на този тип традиционни храни и важната роля на полезните микроорганизми в него. Индустриално използваните стартерни култури гарантират поддържане на определени параметри в качеството, но естествените закваски от различни райони на страната са способни да придадат по-богат вкус и аромат. Това е причината за нарастващия интерес към разработването на нови закваски с включването на естествена микрофлора от неиндустриални производства. За да се гарантира качеството на продукта е необходимо стандартизиране на микробното съобщество и детайлното познаване на неговия състав. Тук е мястото на научните изследвания да създадат най-благоприятното съчетание от микроорганизми, които да придадат на ферментиралите колбаси необходимите органолипидни качества. Иновативен момент в тези разработки е съчетаването на традицията с полезните свойства на функционалните храни. Съвременните подходи в биотехнологията позволяват охарактеризиране на стартерните култури на молекулярно ниво, включването на пробиотични щамове и гарантирано поддържане на техния състав. Към този важен за теорията и особено за практиката проблем насочват вниманието си докторантът Сашо Стояновски и неговите научни ръководители проф. Искра Иванова и доц. Стефка Антонова.

Всичко казано по-горе обуславя актуалността и перспективността на представената разработка. Това става ясно и от основната насоченост на изследването, която е свързана с получаване на нови знания относно млечнокиселата микрофлора на

традиционни сурово-сушени колбаси и създаване на предпоставки за включване на пробиотични щамове в български закваски.

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели и е написан е на 108 стандартни компютърни страници. Литературният обзор е изготвен целенасочено и конкретно, с използване на литературни данни от 208 публикации (6 на кирилица и 202 на латиница), кореспондиращи с поставените задачи. Обзорът представлява анализ на историческото развитие на проучванията по проблема, както и на съвременното състояние в световен мащаб. Включени са и постиженията на български автори в този аспект. Той е указание и за това, че докторантът познава проблемът много добре.

Въз основа на направения задълбочен анализ на публикуваното до сега е изведена целта на настоящата дисертация. Тя е ясна, добре формулирана и обединява всички направления на експерименталната работа. За реализиране на тази цел са формулирани 5 конкретни, взаимно обвързани и логически следващи задачи, които включват всички задължителни етапи на подобно проучване.

Разделът "Материали и методи" демонстрира внушителен набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експеримента. Те са както рутинни, така и съвременни, микробиологични, биохимични, молекулярно-биологични и др. Освен това са разбираеми и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и получаване на достоверни резултати. Много силно впечатление прави включването на PCR, RAPD-PCR и гер-PCR дактилоскопията, електрофоретични и ензимни анализи. Това очертава съвременното ниво на разработката.

Като цяло, разработката на Стояновски може да се характеризира като сериозно изследване на важен за теорията и практиката въпрос с ясно изразена насоченост към приложение. Той е част от националните и европейските приоритети в областта на здравето и храните. Искам да отбележа богатия експериментален материал, онагледен с 34 фигури, 14 таблици и още 12 таблици в отделно приложение, повечето от които комплексни (4 таблици и 8 фигури са включени в раздели „Литературен обзор” и „Материали и методи”).

В раздел „Резултати и дискусия” са отразени данните за 7 различни проби от производството на луканка. От тях са получени 39 изолата, които са охарактеризирани чрез техните морфологични и физиолого-биохимични свойства. За идентификацията на тези щамове е използвана съвкупност от методи. Чрез PCR амплификация е доказана принадлежността на 38 от тях към род *Lactobacillus*, а 16S рРНК секвенционният

анализ успешно идентифицира щамовете до вид. Направена е много подробна физиолого-биохимична характеристика на избрани щамове от идентифицираните три вида. В нея са включени всички важни изследвания, задължителни за микроорганизми от състава на закваски за сурово-сушени колбаси: коагулация на млякото, киселинообразуваща способност и растеж при различни стойности на рН, температура и концентрация на NaCl. Проведени са задълбочени проучвания относно антимикробната активност на нативни супернатанти и такива с коригирано рН от изолираните щамове спрямо 4 тест-микроорганизма. Допълнителното изследване на активните супернатанти дават указание за синтезата на белтъчни вещества с бактериоцин-подобна природа.

На базата 19 различни качествени теста е определен ензимният профил на проучваните щамове по отношение обмяната захари, белтъци и липиди. Това е една изключително трудоемка дейност, която предоставя информация от особено значение за качествата на ферментирания продукт. Данните очертават по-голяма част от изолираните млечнокисели бактерии като подходящи за формиране на характерен вкус и за неговото разнообразие.

Като логическо следствие от постигнатото до тук, докторантът проучва междувидовото и вътревидовото разнообразие на изолираните млечно кисели бактерии. UPGMA анализът на дендрограмата на общите клетъчни белтъци след SDS-PAGE разделя щамовете на няколко групи и очертава различия както между видовете, така и в рамките на всеки вид поотделно. Приложените най-съвременни техники RAPD, Per-PCR и ERIC-PCR и UPGMA анализите на дендрограмите от тях доказват генетичното вътревидово разнообразие, което е най-ясно изразено при *L. plantarum*, а така също и генетичното сходство между представителите на *L. plantarum* и *L. brevis*.

Дисертационният труд завършва с раздел „Обобщение”, където авторът аналитично и много ясно резюмира получените резултати. Този раздел дава възможност на читателя да открие най-важните постижения в разработката на Стояновски. Изводите са логично следствие от експерименталните данни и дават необходимата информация за стойността на проведените изследвания.

Искам със задоволство да подчертая много доброто оформление на дисертацията, стегнатия научен стил на който е написана, като и професионалното оформяне на резултатите в таблици и графики. Освен това, авторът е успял много

ефективно да използва литературните данни за дискутиране и интерпретиране на собствените резултати.

Наред с изтъкнатите положителни страни в дисертационния труд на Сашо Стояновски, могат да бъдат направени някои забележки и препоръки, а именно:

1. Някои от подразделите в раздел „Материали и методи” са описани с излишни подробности.
2. При фигури 12-21 и 24-27 липсват обозначения на координатите.
3. Не е ясно кои точно са щамове и по какъв критерий са избрани за изследванията в подраздел 4. Физиолого-биохимична характеристика...
4. Наблюдава се повторение на едни и същи резултати в таблици и фигури.
5. Много полезна би била една таблица, която да онагледява кои щамове и с кои от своите свойства могат да бъдат полезни при създаване на стартерни култури. В този смисъл и извод № 8 би могъл по-конкретно да представи перспективните за стартерни култури щамове.
6. В литературната справка липсват публикации от последните 1-2 години.

Към докторантът имам и следните въпроси:

1. Тъй като проучените щамове са изолирани от производството, може ли да кажете въз основа на Вашите изследвания кои от тях не са подходящи и трябва да се изключат от състава на стартерните култури и кои са най-подходящи за използване.

2. Като се има пред вид постигнатото в настоящата разработка и нерешените въпроси по проблема, в каква насока трябва да бъдат бъдещите изследвания.

Посочените забележки не намаляват стойността на дисертацията. Отбелязвам ги с презумпцията да бъдат полезни за бъдещата работа на Сашо Стояновски. Още повече, че извършените изследвания дават възможност да се открият сериозни теоретични и приложни приноси, както оригинални, така и потвърдителни. По същество, те се отнасят до следното:

1. Получени са нови знания за млечнокисели бактерии, изолирани от непроучена досега в България ниша.

2. Направена е морфологична, физиолого-биохимична и генетична характеристика на щамове, изолирани от традиционни сурово-сушени български колбаси.

3. Установено е синтезата на бактериоцин-подобни вещества от проучваните щамове, което е указание за подобрени свойства на готовия продукт.

4. Установено е фенотипно и генетично вътревидово разнообразие при изследваните представители на род *Lactobacillus*.

5. Доказано е наличието на щамове с подходяща характеристика за включване в стартерни култури, които могат да обогатят вкуса на български сурово-сушени колбаси.

Данните, представени в дисертацията са включени в 3 журнални научни статии, отпечатани в списание с IF - *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Общият IF е 1.290. В 2 от тях докторантът е първи автор. Освен това, резултати от разработката са представени на 2 национални и 5 международни научни форума.

В заключение искам да подчертая, че материалът е дисертабилен, темата е актуална, докторантът е усвоил съвременни методи, експериментите са поставени методично правилно, получените резултати са достоверни и са солидна база за следващи научни и приложни разработки, открояват се оригинални научни и приложни приноси.

Въз основа на направения разбор, при който са изтъкнати както положителните страни, а така също и някои пропуски в представянето на материала, предлагам на уважаемите членове на Научното жури, сформирано със заповед № РД-419/04.07.2011 на Ректора на Софийски университет „Св. Климент Охридски” да присъдят на Сашо Спасе Стояновски образователната и научна степен “доктор”.

21. 08. 2011 г

София

Рецензент:.....

/проф. М. Ангелова д.б.н./