

## **РЕЦЕНЗИЯ**

От: **проф. Светла Т. Данова, дбн,**

Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ (ИМикБ), БАН

на дисертационен труд на тема:

„Функционални и технологични характеристики на новоизолирани щамове млечнокисели бактерии от традиционни храни“, за придобиване на образователна и научна степен “Доктор” в област на висше образование 4. *Природни науки, математика и информатика, професионално направление, 5.11. Биотехнологии,* докторантска програма Технология на биологично активните вещества

Представен от редовен докторант **Рамизе Ходжа**

Научен ръководител: **доц. д-р Диляна Николова**

### **ОТНОСНО ПРОЦЕДУРАТА:**

Настоящата процедура по придобиване на ОНС „Доктор“ се провежда на основание чл. 4 от ЗРАСРБ, във връзка с §7 от Преходните и заключителни разпоредби на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Кл. Охридски“, Решение на Факултетния съвет на Биологически факултет (*Протокол № 6*) от 26.03.2024 г. Съгласно Заповед (*№ РД-38-163* от дата 01.04.2024 г.) на Ректора на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“ съм избрана за член на Научно жури по горепосочения конкурс и съм определена за рецензент на първото му заседание. В качеството ми на такава, декларирам, че не съществува конфликт на интереси по смисъла на § 1, т. 2а от допълнителните разпоредби на ЗРАСРБ между мен и кандидата по процедурата за ОНС „Доктор“ и за мен не са налице ограниченията по чл. 33 от ЗРАСРБ.

Доказано е по законоустановения ред отсъствие на плагиатство в научните трудове на кандидатката.

### **АКТУАЛНОСТ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТВАНИЯ ПРОБЛЕМ**

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е посветен на един актуален научен проблем в областта на модерните биотехнологии – търсенето на нови щамове с потенциал за разработване на функционални храни и пробиотици. Днес потребителите са добре информирани и съзнават значението на храната, на безопасността в хранителната

верига и връзката със здравето Това води до по-високи изисквания към хранителните добавки, към тяхната полезност и безопасност. В тази връзка расте интересът към млечнокиселите бактерии (МКБ) и се търсят нови възможности за включването им в състава на функционалните храни и диетата. Доказано те са фактор за безопасността на храната и са свързани със здравето на стомашно -чревния тракт на човека, с предотвратяването на дисбиозата и свързаните с това болестотворни и физиологични аномалии. Докторантката и нейният ръководител се насочват именно към това научно предизвикателство – охарактеризирането на различни аспекти от биологичната активност при оригинални новоизолирани щамове млечно кисели бактерии с различен произход от непроучени хабитати, оценявайки тяхната приложимост в състава на нови функционални продукти. Всичко това ми дава основание да подчертая иновативността и актуалността на разработения дисертационен труд.

## **ОБЕМ И СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИЯТА**

Дисертационният труд е конструиран в общоприетата форма, съгласно Правилника за приложение на ЗРАСРБ при БФ - СУ „Климент Охридски“. Написан е на 143 стандартни компютърни страници (на 1 pt), които включват 116 стр. текст и 27 стр. използвана литература и приложение. Спазени са изискванията за форма, съдържание и съотношение на отделните раздели както следва: *Увод* - 2 стр., *Литературен обзор* - 51 стр.; *Цел и задачи* - 2 стр.; *Материли и методи* - 12 стр., *Резултати и обсъждане* - 45 стр., *Изводи* - 2 стр., *Приноси* - 1 стр. *Използвана литература* - 22 стр.; *Приложения* - 2 стр. Надлежно са посочени използваните съкращенията.

Уводът е фокусиран и в концентриран вид представя както нерешените проблеми, така и необходимостта от разработката. Отлично впечатление правят точният научен стил и правилният граматически издържан български език, които също са от значение за представяне на работата. Материалът е богато илюстриран с 27 фигури и 21 таблици. Те са номерирани с отделна номерация във всеки отдел на дисертационния труд. Бих препоръчала на докторантката да номерира фигурите и таблиците с последователна номерация или да бъде изготвен списък със страниците на които са представени с тяхното обозначение.

## **ЛИТЕРАТУРНА ОСВЕДОМЕНОСТ И ПОСТАНОВКА НА ЦЕЛТА И ЗАДАЧИТЕ**

Литературният обзор е в тясна логическа обвързаност с последващите раздели и работата. Той е изготвен целенасочено и конкретно и включва всички аспекти на

изследването. Ясно се откроява аргументираната и подкрепена с литературни данни обосновка относно необходимостта от разработката, в отговор на нуждите на модерния консуматор. В логическа последователност са разгледани функционални храни и млечнокисели бактерии, заедно с тяхната приложимост и ролята на пробиотичните млечно кисели бактерии (МКБ). В него ясно е демонстрирано разбирането на докторантката за ролята на полифазно-таксономичния подход и молекулярно-генетичните методи в съвременната таксономия и в изследванията на МКБ. Тя познава и много добре е обобщила промените в таксономията на един от най-значимите представители на МКБ - род *Lactobacillus* представяйки последните данни за новоформираните 23 нови рода. Рамизе прави оригинален преход от представянето на интересни изследвания върху МКБ за последните 10 години до традиционните храни като източник на нови щамове МКБ с функционални и пробиотични свойства. Отлично впечатление прави детайлният преглед на българския опит в този аспект коректно отразявайки постиженията до този момент. Това дава възможност на читателя да прецени новите насоки в разработката, комплексността на научното предизвикателство което докторант и научен ръководител трябва да решат. Въз основа на анализа в литературния обзор е изведена целта на настоящата дисертация:

*„Изолиране на нови щамове млечнокисели бактерии от микробиотата на традиционно подготвени млечни, месни и спонтанно ферментирани продукти и проучването на техните функционални и технологични свойства за приложение в нови хранителни продукти с подобрени функционални характеристики и здравословни ефекти“.*

Формулирани са 4 конкретни, взаимно обвързани и логически следващи задачи, поставени с 15 детайлно разписани подзадачи. Искам да подчертая амбициозността (в добрия смисъл) на разработката съотнесена към времевата рамка на редовния срок на докторантурата и целта. Рамизе Ходжа умело съчетава класически и модерни микробиологични, биохимични и молекулярно-генетични методи, експериментални моделни системи в решаването не само на научното предизвикателство, но и получаването на приложен резултат с прототип на функционален млечен продукт.

В работата са цитирани 321 публикации, от които 4 на кирилица и 317 на латиница, отговарящи на всяка от поставените задачи. Рецензията представя състоянието на проблема в исторически план и в момента, цитирани са статии от последните 5-10 години.

## ОЦЕНКА НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Разделът "Материали и методи" демонстрира широк набор от рутинни и съвременни молекулярни методи, съобразени с конкретните изисквания на поставените задачи. Те са умело подбрани и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и за получаване на достоверни резултати. Представени са в същия точен и стегнат формат на писане. Докторантката подбира за целите на дисертацията традиционни ферментирани храни от регион Гора, Албания. Това е слабо проуен планински район, с екстензивно земеделие и отлично запазени традиции за приготвяне на разнообразни ферментирани храни. Заедно с нейния ръководител умело съчетават най-новите експериментални протоколи, публикувани в изследванията на водещи международни колективи, с оригинални решения в охарактеризиране функционалните и технологичните характеристики на новоизолирани МКБ от избраните 7 традиционни ферментационни продукти, от които един на растителна основа – ферментирани плодове по стара рецепта; един на месна основа- Шищечки суджук и 5 млечни продукта (кисело мляко, кашкавал, сирене, от козе или краве прясно мляко по автентични рецепти). Основополагащи са микробиологични и физиолого-биохимични и е създадена контролна група от 12 щама – обект на комплексна оценка съгласно критериите на ЕФСА за *in vitro* подбор на кандидат-пробиотици. Правилно са подбрани тестовете с таксономично значение- каталазен, оксидазен, пероксидазен и оцветяване по Грам и биохимичен профил на базата на 49 въглеродни източници, както и ензимните активности - протетазна, пептидазна, коагулираща способност, API ZYM -19 ензимен профил и др. Широк набор молекулярно-генетични PCR и секвенционни анализи са в подкрепа на идентификацията на новоизолираните МКБ и в оценката на тяхната функционалност като микроорганизми с пробиотичен потенциал и технологична релевантност. Отлично впечатление прави включването на тези различни надграждащи микробиологичните и физиологични тестове, молекулярни методи и разнообразието от тестове за функционалност и антимикробна активност (анти-вирусна, антибактериална и анти-гъбна), както и молекулярно -биологични техники за доказване генетичните основи на тази биологична активност.

Личи отличната теоретична подготвеност в избора на методични подходи. Рамизе Ходжа е избрала алгоритми, които да водят до еднозначни и точни резултати. Умело използва програми за статистическа обработка на резултатите (t-test, ANOVA ).

## ОЦЕНКА НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Научният труд на Рамизе Ходжа, като цяло и по същество, е едно мащабно изследване, с научно фундаментален характер, в което получените нови данни са използвани и иновативно доразвити до прототипи на нови пробиотични продукти. Разработката е основана на стремежа да се постави научна основа за определяне на пробиотичен потенциал и подбора на ефективни научно-доказани щамове -пробиотици, със значение за приложение в хранителните технологии за здраве. Научно -приложният характер на разработката по *професионално направление, 5.11. Биотехнологии*, ми дава основание за висока оценка и атестат за успешна подготовка на изграден биотехнолог. Доказателства откривам както в подбора на методи, в получените резултати и в, така и в техническото оформянето на дисертационния труд, в задълбочената теоретична осведоменост демонстрирана в литературния обзор и в научната дискусията.

Според мен, достойнствата на дисертацията се заключават в няколко аспекта:

- Докторантката разработва детайлно, с научни методи един проблем, възникнал от нуждите на практиката (грижата за здравето, за храната и търсенето на полезни добавки) и го предлага като научен продукт с ясно изразена приложност, видно от поставената цел.
- Решението му е постигнато посредством разнообразен панел от коректно подбрани научни методи, получените резултати са обективно интерпретирани и използвани за поетапно и надграждащо изследване до достигане прототип на продукт.
- Заслужава внимание логическата последователност на разработката. Всеки етап включва убедително доказан материал, който е отправна точка за следваща насоченост на научното изследване. Това придава на дисертацията характеристика за цялостност. Подборът на методичните подходи и включването на най – модерни генетични и молекулярни методи (MALDI -TOF, Ядрено – магнитен резонанс и др.) допълвайки утвърдени и класически такива доказват, че докторантката е един изграден млад специалист с богата теоретична и практическа готовност и знания. Тя успешно решава конкретни експериментални задачи, избирайки най-точния и дискриминативен подход.
- Към достойнствата на дисертационния труд се прибавят както големия обем и достоверността на получените научни данни, така и предпоставките, на които се градят приносите. Тук искам да отбележа богатия експериментален материал, оформен в 4 подраздела, съответстващи на 4<sup>те</sup> експериментални задачи, с които е постигната поставената цел. Те са анализирани обективно и са систематизирани в 18 таблици и 22

фигури. Фигурите са цветни и много добре са оформени. Статистическата обработка на данните доказва тяхната достоверност и дава възможност за коректен подбор на перспективните за практиката новоизолирани 12 щамове МКБ.

Докторантката познава последните изменения в таксономията и систематиката на МКБ и умело подбира протоколите за видова идентификация. Високо оценявам полифазно-таксономичния подход и включването на MALDI –TOF като надграждащ на класическите биохимични и секвенционни анализи.

Рамизе Ходжа не само констатира полезните функционални характеристики на тези оригинални щамове МКБ, новоизолирани от традиционни и непроучвани ферментационни млечни продукти от Албания, но и търси генетичните основи за техния пробиотичен и технологичен потенциал. Правилно са подбрани праймери за охарактеризиране на протеолитичните ензими, които са в основата и на тяхната приложимост за пробиотични йогурти.

Оценен е риска за трансфер на гени за антибиотична резистентност в изпълнение на задължително контролираните показатели за безопасност, съгласно Квалифицираната презумпция за безопасност (QPS) на EFSA. Освен определен коректен спектър на антибиотична резистентност докторантката търси и прилага алгоритъм за тяхната оценка чрез MAP индекс – мулти антибиотична резистентност.

Оригинален елемент е обобщаващият протокол за количествена оценка и сравнение на пробиотичния потенциал на отделните щамове. Макар, че едно обобщаващо заключение ще даде по-голяма яснота за значимостта на получените резултати. Тази бележка не намалява стойността на работата само би улеснила прочита и обективната оценка на получения обем от нови данни. Убедително доказателство за тяхната стойност намирам в 4те публикувани статии , от които 3в научни списания с ИФ и импакт ранг. Две от тях дори вече са цитирани Следователно, резултатите от разработката са получили и международно признание. Във всяка едана от 4<sup>те</sup>, докторантката е на първо място, което ми дава основание да считам, че тя има решаващо участие в проведените експерименти.

Изводите са логично следствие от експерименталните данни. Те подробно представят изпълнението на поставените задачи. Някои от тях може да имат по-кратък изказ, но е видно че докторантката се е стремил да обобщи всички получени резултати. Затова техният брой съответства на броя на формулираните подзадачи. От тях ясно личи, че целта е постигната.

Приемам и формулираните приноси, които имат оригинален и потвърдителен характер. В тази връзка и поради факта, че Рамизе Ходжа скромно е отбелязала значението на охарактеризираните нови щамове бих искала да я попитам :

Кой от щамовете и под каква форма би избрала и внедрила в практиката?

В заключение искам да подчертая, че материалът е дисертабилен, темата е актуална, докторантката е усвоила широк набор от 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 и като имам предвид актуалността и нивото на работата, **убедено предлагам на уважаемите членове на Научното жури, да присъдят на Рамизе Ходжа образователната и научна степен Доктор**” в област на висше образование 4. *Природни науки, математика и информатика, професионално направление, 5.11. Биотехнологии, докторантска програма.*

София, 17.05.2024 г.

Рецензент:.....

(проф. С. Данова, дн)