

## РЕЗЮМЕТА НА РЕЦЕНЗИРАНИТЕ НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ на гл. ас. д-р Любомира Димитрова Йочева

представени за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „доцент”  
по професионално направление 4.3.Биологически науки (Микробиология),  
обявен в ДВ брой 56 от 30.06.2023 г.

### I. ПУБЛИКАЦИИ В РЕФЕРИРАНИ СПИСАНИЯ И ИНДЕКСИРАНИ В СВЕТОВНОИЗВЕСТНИ БАЗИ ДАННИ С НАУЧНА ИНФОРМАЦИЯ (WEB OF SCIENCE И SCOPUS)

(публикации **извън** дисертационен труд за придобиване на ОНС “доктор”)

1. Ivanova, I., Toshkovska, R., **Yocheva, L.**, Benkova, D., Yordanova, V., Nesheva, A., Hazarosova, R., Staneva, G., Kostadinova A. (2023). Stress Response of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria Induced by Metal and Non-metal Nanoparticles. In Search of Smart Antimicrobial Agents. In: Sotirov, S., Pencheva, T., Kacprzyk, J., Atanassov, K.T., Sotirova, E., Ribagin, S. (eds) Recent Contributions to Bioinformatics and Biomedical Sciences and Engineering. BioInfoMed 2022. *Lecture Notes in Networks and Systems*, vol 658. Springer, Cham. Print ISBN: 978-3-031-31068-3; Online ISBN: 978-3-031-31069-0. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-31069-0\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-031-31069-0_15)

#### Резюме

Нарастващата резистентност на патогените към редица антибиотици е била обект на много изследователски доклади от Европейската мрежа за наблюдение на антибиотичната резистентност (Ears-Net) и Световната здравна организация (СЗО). Целта на тази работа е да се изследват ефектите на дисперсии на наноматериали като селен (Se), злато (Au), железен оксид ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), силициев диоксид ( $\text{SiO}_2$ ) и графенов оксид (GO) върху бактерии като *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* и два щама на *Escherichia coli*. Използвани са два класически дифузионни тестове в агарова среда за изследване на антибактериалния ефект на наночастиците (NPs): spot тест и ямково-дифузионен. Тестваните наночастици показват активност срещу Грам-положителни бактерии в концентрации между 3,0 и 1,5 mg/mL, но не са активни срещу Грам-отрицателни бактерии като *E. coli*. Сред тестваните наноматериали SeNPs проявяват най-силен антимикробен ефект. Златните наночастици с поливинилпиролон (Au-PVP NP) се оказват по-активни спрямо тестваните бактерии, отколкото чистите AuNP. По-ниски концентрации (1,0 mg/mL и 0,5 mg/mL) на Se, GO и двата типа златни наночастици не показват активност срещу всички тествани микроорганизми.  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  NPs, както и  $\text{SiO}_2$  NPs нямат ефект върху нито една тест бактерия в споменатите концентрации.

В заключение, най-активни спрямо тестваните бактерии се оказват SeNPs, следвани от Au-PVP и AuNPs. GONP също проявяват известен антимикробен ефект, особено върху *B. cereus* 1095.

#### Abstract

The increasing resistance of pathogens to a number of antibiotics has been the subject of many research reports from the European Antibiotic Resistance Surveillance Network (Ears-Net) and TheWorld Health Organization (TheWHO). The aim of this work was to study the effects of nanomaterial dispersions as Selenium (Se), Gold (Au), Iron oxide ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), Silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and Graphene oxide (GO) on bacteria like *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* and two strains of *Escherichia coli*. Two classical methods were used to investigate the antibacterial effect of the nanoparticles (NPs): Spot and Well diffusion tests in agar medium. The tested nanoparticles were active against Gram-positive bacteria in concentrations between 3.0 and 1.5mg/mL but they were not active against Gram-negative bacteria such as *E. coli*. Among tested nanomaterials, SeNPs express the strongest

antimicrobial effect. Gold nanoparticles with Polyvinylpyrrolidone (Au-PVP NPs) were more active against bacteria than pure AuNPs. Lower concentrations (1.0 mg/mL and 0.5 mg/mL) of Se, GO and the two types of Gold nanoparticles did not show activity against all test microorganisms. Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPs as well as SiO<sub>2</sub> NPs had no effect on any test bacteria in the mentioned concentrations.

In conclusion, the most cytotoxic for tested bacteria were SeNPs, followed by Au-PVP and AuNPs. GONPs also showed a certain cytotoxic effect, especially on *B. cereus* 1095.

2. Martinov, B., Pavlova, E., Ivanova, I. A, **Yocheva, L.**, Kostadinova, A., Staneva, A. D, (2023). Biological Activity and Biochemical Properties of Graphene Nanocomposites with Zinc Oxide, Cu and Ag Nanoparticles. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 58(2), 327-339. Print ISSN: 1314-7471, Online ISSN: 1314-7978. [https://journal.uctm.edu/node/j2023-2/JCTM\\_2023\\_58\\_10\\_22-173\\_pp327-339.pdf](https://journal.uctm.edu/node/j2023-2/JCTM_2023_58_10_22-173_pp327-339.pdf)

## Резюме

Целта на това изследване е да се получат колагенови нанокompозити на базата на графен, графенов оксид, GO, цинков оксид и метални наночастици и да се оцени тяхната про-, антиоксидантна и биологична активност чрез луминесцентни и стандартни микробиологични анализи. Антимикробната активност на графеновите композити с добавен наноразмерен цинков оксид, сребърни и медни наночастици е тествана върху Firmicutes бактерии *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 1228) и Gracillicutes *Escherichia coli* (ATCC 25922). Използван е методът на дифузия в агар в три варианта – точков (spot тест), ямков и дисково-дифузионен. Spot-тестът и дисково-дифузионният метод се оказват по-подходящи от ямковия за тестване ефекта на графеновите композити върху бактериите. Композитите с високо съдържание на ZnO имат най-добри антимикробни свойства срещу тестваните бактерии. Цитотоксичността на нанокompозитите върху нормални клетки от клетъчна линия MDCK и A549 епителни саркомни клетки, са тествани в продължение на 24 часа при концентрация от 100 mg mL<sup>-1</sup>. Установено е, че раковите клетки са по-чувствителни от нормалните към графеновите композити, което доказва тяхната антитуморна активност. Про- и антиоксидантните ефекти на тестваните наноматериали зависят от pH. При физиологични условия, в системата на Fenton, всички освен RGO+Cu не се оказват подходящи като наноматериал за имплантиране. В системата за окисляване на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> всички материали имат стабилен антиоксидантен ефект; само ZnO+RGO+Cu е близо до контролните нива на прооксидант. Когато наноматериалите се тестват за окисление от O<sub>2</sub>- радикали, ZnO+RGO и Zn+RGO+Cu показват прооксидантни ефекти, тъй като прооксидантната активност се запазва за ZnO+RGO дори при физиологична киселинност pH 7,4.

## Abstract

The aim of this research is to obtain collagene nanocomposites based on graphene, graphene oxide, GO, zinc oxide and metal nanoparticles and to evaluate their pro-, antioxidant and biological activities by luminescent and standard microbiological assays. The antimicrobial activity of graphene composites with added nanosized zinc oxide, silver and copper nanoparticles was tested on Firmicutes bacteria *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 1228) and Gracillicutes *Escherichia coli* (ATCC 25922). The method of diffusion in agar was used in three variants – spot diffusion, well and paper-disc diffusion. The spot and disc diffusion approaches of the method have shown better effect than the well diffusion for testing the effect of graphene composites on bacteria. The composites with high ZnO content had the best antimicrobial properties against the tested bacteria. The cytotoxicity of the nanocomposites using normal MDCK and A549 epithelial sarcoma cells were tested for 24 h at a concentration of 100 mg mL<sup>-1</sup>. Cancer cells were found to be more sensitive than normal to the graphene composites, proving antitumor activity. The pro- and antioxidant effects of the tested nanomaterials depend on the pH level. At physiological conditions, in the Fenton's system, all but RGO+Cu do not appear to be suitable as an implant nanomaterial. In the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation system all materials present stable antioxidant effects; only ZnO+RGO+Cu is close to control prooxidant levels. When the nanomaterials are tested for oxidation by O<sub>2</sub>- radicals, ZnO+RGO and Zn+RGO+Cu show prooxidant effects, as the prooxidant activity is kept for ZnO+RGO even at physiological acidity pH 7.4.

3. Ilieva, Y., Marinov, T., Trayanov, I., Kaleva, M., Zaharieva, M., **Yocheva, L.**, Kokanova-Nedialkova, Z., Nedialkov, P., Najdenski, H. (2023). Outstanding Antibacterial Activity of *Hypericum rochelii* - Comparison of the Antimicrobial Effects of Extracts and Fractions from Four *Hypericum* Species Growing in Bulgaria with a Focus on Prenylated Phloroglucinols. *Life*, 13(2), 274. Online ISSN: 2075-1729. <https://doi.org/10.3390/life13020274>.

### Резюме

Микробните инфекции в никакъв случай не са здравен проблем от минала епоха поради нарастващата антимикробна резистентност на инфекциозните щамове. Медицината има постоянна нужда от нови лекарства и напоследък растителните продукти претърпяха заслужен ренесанс и получиха научно признание. Целта на тази работа е да се оцени антимикробната активност на десет активни съставки от четири вида жълт кантарион от род *Hypericum*, растящи в България, както и да се получат предварителни данни за фитохимичния състав на най-обещаващите проби. Екстракти и фракции от *H. rochelii* Griseb ex Schenk, *H. hirsutum* L., *H. barbatum* Jacq. и *H. rumeliacum* Boiss. получени с конвенционална или суперкритична CO<sub>2</sub> екстракция бяха тествани върху панел от патогенни микроорганизми, като бяха използвани следните методи: микроразреждане в бульон, дифузия в агар, дехидрогеназна активност и анализи на биофилм. Панелът от проби показва от слаби до изключително силни антибактериални ефекти. Три от тях (от *H. rochelii* и *H. hirsutum*) имат минимални инхибиторни концентрации от 0,625–78 mg/L и минимални бактерицидни концентрации от 19,5–625 mg/L срещу *Staphylococcus aureus* и други Грам-положителни бактерии. Тези стойности поставят съответните проби сред най-добрите антибактериални екстракти от рода *Hypericum*. Някои от агентите също демонстрират много висока антибиофилм активност срещу метицилин-резистентен *S. aureus*. Свърхвисоко ефективна течна хроматография – маспектрометрия с висока разделителна способност разкрива трите най-мощни проби като богати източници на биологично активни флороглуциноли. Доказано е, че те са добри кандидати за лекарства или хранителни добавки, вероятно без някои от страничните ефекти на конвенционалните антибиотици.

### Abstract

Microbial infections are by no means a health problem from a past era due to the increasing antimicrobial resistance of infectious strains. Medicine is in constant need of new drugs and, recently, plant products have had a deserved renaissance and garnered scientific recognition. The aim of this work was to assess the antimicrobial activity of ten active ingredients from four *Hypericum* species growing in Bulgaria, as well as to obtain preliminary data on the phytochemical composition of the most promising samples. Extracts and fractions from *H. rochelii* Griseb. ex Schenk, *H. hirsutum* L., *H. barbatum* Jacq. and *H. rumeliacum* Boiss. obtained with conventional or supercritical CO<sub>2</sub> extraction were tested on a panel of pathogenic microorganisms using broth microdilution, agar plates, dehydrogenase activity and biofilm assays. The panel of samples showed from weak to extraordinary antibacterial effects. Three of them (from *H. rochelii* and *H. hirsutum*) had minimum inhibitory concentrations as low as 0.625–78 mg/L and minimum bactericidal concentrations of 19.5–625 mg/L against *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. These values placed these samples among the best antibacterial extracts from the *Hypericum* genus. Some of the agents also demonstrated very high antibiofilm activity against methicillin-resistant *S. aureus*. Ultra-high-performance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry revealed the three most potent samples as rich sources of biologically active phloroglucinols. They were shown to be good drug or nutraceutical candidates, presumably without some of the side effects of conventional antibiotics

4. Petrova, D., Gašić, U., **Yocheva, L.**, Hinkov, A., Yordanova, Z., Chaneva, G., Mantovska, D., Paunov, M., Ivanova, L., Rogova, M., Shishkova, K., Todorov, D., Tosheva, A., Kapchina-Toteva, V., Vassileva, V., Atanassov, A., Mišić, D., Bonchev, G. and Zhiponova, M. (2022). Catmint (*Nepeta*

*nuda* L.) Phylogenetics and Metabolic Responses in Variable Growth Conditions. *Frontiers Plant Science*. 13, 866777. ISSN: 1664462X. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.866777>.

### Резюме

*Nepeta nuda* (Котешка мента; Lamiaceae) е многогодишно лечебно растение с широко географско разпространение в Европа и Азия. Това изследване първо характеризира таксономичната позиция на *N. nuda*, използвайки технология за ДНК баркодиране. Тъй като лечебните растения са богати на вторични метаболити, допринасящи за техния адаптивен имуен отговор, ние изследвахме метаболитната корекция на *N. nuda*, проявяваща се при променливи условия. Чрез сравнителен анализ на диворастящи и *in vitro* култивирани растения, ние оценихме промяната във фенолните и иридоидните съединения и свързаните с тях имунни ефекти. Диворастящите растения от различни места в България съдържат различни количества фенолни съединения, проявяващи се с общо увеличение на цветовете в сравнение с листата, докато силно намаление се наблюдава при *in vitro* растенията. Подобна тенденция се наблюдава при антиоксидантната и антихерпесната активност на екстрактите. Антимикробният потенциал обаче е много подобен, независимо от условията на растеж. Анализът на екстрактите от *N. nuda* доведе до идентифицирането на 63 съединения, включително фенолни киселини и производни, флавоноиди и иридоиди. Количественото определяне на съдържанието на 21 целеви съединения показва тяхното общо намаление в екстрактите от *in vitro* растения и само феруловата киселина (FA) бе увеличена. Култивирането на *in vitro* растения при различно качество и интензитет на светлина показва, че тези променливи условия на светлината променят съдържанието на биоактивни съединения, като ескулин, FA, розмаринова киселина, цирсимаритин, нарингенин, рутин, изокверцетин, епидезоксилоганова киселина, хлорогенова киселина. По този начин това проучване генерира нова информация за регулирането на продуктивността на *N. nuda* с помощта на светлина и други условия на култивиране, които могат да бъдат използвани за биотехнологични цели.

### Abstract

*Nepeta nuda* (Catmint; Lamiaceae) is a perennial medicinal plant with a wide geographic distribution in Europe and Asia. This study first characterized the taxonomic position of *N. nuda* using DNA barcoding technology. Since medicinal plants are rich in secondary metabolites contributing to their adaptive immune response, we explored the *N. nuda* metabolic adjustment operating under variable environments. Through comparative analysis of wild-grown and *in vitro* cultivated plants, we assessed the change in phenolic and iridoid compounds, and the associated immune activities. The wild-grown plants from different Bulgarian locations contained variable amounts of phenolic compounds manifested by a general increase in flowers, as compared to leaves, while a strong reduction was observed in the *in vitro* plants. A similar trend was noted for the antioxidant and anti-herpesvirus activity of the extracts. The antimicrobial potential, however, was very similar, regardless the growth conditions. Analysis of the *N. nuda* extracts led to identification of 63 compounds including phenolic acids and derivatives, flavonoids, and iridoids. Quantification of the content of 21 target compounds indicated their general reduction in the extracts from *in vitro* plants, and only the ferulic acid (FA) was specifically increased. Cultivation of *in vitro* plants under different light quality and intensity indicated that these variable light conditions altered the content of bioactive compounds, such as aesculin, FA, rosmarinic acid, cirsimaritin, naringenin, rutin, isoquercetin, epideoxyloganic acid, chlorogenic acid. Thus, this study generated novel information on the regulation of *N. nuda* productivity using light and other cultivation conditions, which could be exploited for biotechnological purposes.

5. Mantovska, D., Petrova, D., **Yocheva, L.**, Yordanova. Zh. (2022). Comparative Determination of Antimicrobial Activity of the Balkan Endemic Species *Stachys thracica* Davidov During the Process of *ex situ* Conservation. In: Chankova S., Peneva V., Metcheva R., Beltcheva M., Vassilev K., Radeva G., Danova K. (Eds) *Current trends of ecology*. *Bio Risk*, 17(4), 357–365. Print ISSN: 1313-2644, Online ISSN: 1313-2652. <https://doi.org/10.3897/biorisk.17.77484>.

### Резюме



*Stachys thracica* Davidov – Тракийски ранилист е балканско ендемично растение, включено в Червената книга на България с консервационен статус „рядък вид”. Растенията от род *Stachys* имат дълга история на употреба за лечение на различни заболявания, възпалителни състояния, кашлица, язви, генитални тумори и инфектирани рани. Поради консервационния си статус информацията за биологичната активност и химичния състав на *S. thracica* е доста оскъдна. Целта на настоящото изследване е сравнително определяне на антимикробната активност на метанолови екстракти, получени от *in situ* диви, *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани растения *S. thracica*. Културата *in vitro* на тракийския ранилист беше поддържана в среда MS без хормони при контролирани условия на околната среда. Метаноловите екстракти от *in situ*, *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани растения *S. thracica* показаха активност главно срещу Грам-отрицателни бактерии. И трите екстракта показваха еднаква активност срещу *Acinetobacter calcoaceticus*.

Създаването на *in vitro* култура и последващото ѝ адаптиране при условия *ex vitro* се оказва подходящ алтернативен подход за *ex situ* опазване на *S. thracica*, както и за изследване на неговата биологична активност.

### Abstract

*Stachys thracica* DAVIDOV – Thracian woundwort is a Balkan endemic plant included in The Red Data Book of Bulgaria with conservational status “rare”. The plants from genus *Stachys* have long history of use for the treatment of various diseases, inflammatory conditions, coughs, ulcers, genital tumours and infected wounds. Due to its conservational status the information about the biological activity and chemical composition of *S. thracica* is rather scarce. The aim of the present research is comparative determination of the antimicrobial activity of methanolic extracts obtained from *in situ* wild, *in vitro* cultivated and *ex vitro* adapted *S. thracica* plants. The *in vitro* shoot culture of The Thracian woundwort was maintained in hormone-free MS medium under controlled environmental conditions. The methanolic extracts from *in situ*, *in vitro* cultivated and *ex vitro* adapted *S. thracica* plants were active mainly against Gram-negative bacteria. All three extracts showed equal activity against *Acinetobacter calcoaceticus*. The establishment of *in vitro* shoot culture and its subsequent adaptation in *ex vitro* conditions was an appropriate alternative approach for the *ex situ* conservation of *S. thracica* as well as for the study of its biological activity.

- Ivanova, I., Pavlova, E., Kostadinova, A., Toshkovska, R., **Yocheva, L.**, El-Sayed, K., Hassan, M., El-Sayed El-Zorkany, H., Elshoky, H. (2022). Investigation of Biological and Prooxidant Activity of Zinc Oxide Nanoclusters and Nanoparticles. *Acta Chimica Slovenica*, 69(3), 722-733. Print ISSN: 1580-3155, Online ISSN: 1318-0207. <https://doi.org/10.17344/acsi.2021.7337>

### Резюме

Наноматериалите от цинков оксид (ZnO) проявяват някои обещаващи антибактериални ефекти. В това изследване е синтезирана нова форма на ZnO, наречена ZnO наноклъстерни барове (NC). Бяха синтезирани и охарактеризирани ZnO NCs, ZnO наночастици (NPs), ZnO, покрит със силициев диоксид (ZnOSiOA, ZnO-SiOB), и SiO<sub>2</sub> NPs и беше тествана тяхната антимикробна и прооксидантна активност. Прооксидантната активност на всички наноматериали беше изследвана в хемилуминесцентни моделни системи с реакции на окисление, генериращи свободни радикали (pH 7,4 и pH 8,5). Всяка форма на новосинтезираните ZnO наноматериали показва уникално поведение, което варираше от леки до силни прооксидантни свойства в системата на Fenton. ZnO NPs и ZnO NCs проявиха силни антибактериални ефекти, докато ZnO-SiOA NPs не показаха никаква антибактериална активност. Всички тествани NMs претърпяха окисление от H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. ZnO NCs и ZnO NPs показаха силно окисление при pH 8,5 в система, генерираща O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Докато SiO<sub>2</sub>, ZnO-SiOA и ZnO-SiOB притежаваха изразени 60–80% антиоксидантни ефекти, SiO<sub>2</sub> NP действаша определено като прооксидант, което не се наблюдаваше при други тестове. ZnO NC бяха силно окислени, което предполага, че ZnO NC осигуряват по-бавно освобождаване на ZnO и това води до по-силен ефект върху бактериалните щамове. По този начин ZnO NCs се проявяват като важен антибактериален агент, който в бъдеще може да замени някои от традиционните антибиотици.

## Abstract

Zinc oxide (ZnO) nanomaterials offer some promising antibacterial effects. In this study, a new form of ZnO is synthesized, named ZnO nanocluster bars (NCs). Herein, ZnO NCs, ZnO nanoparticles (NPs), ZnO coated with silica (ZnOSiOA, ZnO-SiOB), and SiO<sub>2</sub> NPs were prepared, characterized, and their antimicrobial and prooxidant activity were tested. The prooxidant activity of all nanomaterials was studied according to free-radical oxidation reactions (pH 7.4 and pH 8.5) in chemiluminescent model systems. Each form of new synthesized ZnO nanomaterials exhibited a unique behavior that varied from mild to strong prooxidant properties in the Fenton's system. ZnO NPs and ZnO NCs showed strong antibacterial effects, ZnO-SiOA NPs did not show any antibacterial activity representing biocompatibility. All tested NMs also underwent oxidation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. ZnO NCs and ZnO NPs exhibited strong oxidation at pH 8.5 in the O<sub>2</sub><sup>-</sup> generating system. While, SiO<sub>2</sub>, ZnO-SiOA and ZnO-SiOB possessed pronounced 60–80% antioxidant effects, SiO<sub>2</sub> NPs acted as a definitive prooxidant which was not observed in other tests. ZnO NCs are strong oxidized, assuming that ZnO NCs provide a slower release of ZnO, which leads to having a stronger effect on bacterial strains. Thus, ZnO NCs are an important antibacterial agent that could be an emergent replacement of traditional antibiotics.

7. Pavlova, E., Ivanova, I., Staneva, A., Kostadinova, A., Kichukova, D., Yocheva L. (2022). Prooxidant, Antioxidant and Biological Activity of Nanocomposites of Reduced Graphene Oxide, Silver, Copper and their Combinations. *Chemical Papers*, 76, 6789-68000. Print ISSN: 03666352, Online ISSN: 13369075. <https://doi.org/10.1007/s11696-022-02360-4>

## Резюме

Проучването имаше за цел да оцени прооксидантната, антиоксидантната и биологичната активност на новосинтезирани нанокompозити от редуциран графенов оксид (RGO) и неговите комбинации със сребро и мед чрез луминесцентни и микробиологични анализи. Антимикробната активност бе тествана в течна среда в продължение на 24 часа спрямо *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Грам-положителните бактерии се оказаха по-устойчиви от Грам-отрицателните. Най-силен антибактериален ефект демонстрира графеновият нанокompозит, декориран със сребро и мед. Кубичните сребърни нанокластери с размер 30 nm показаха по-добър бактериостатичен ефект от сферичните наночастици върху графенови листове с диаметър 43 nm. Цитотоксичният ефект върху еукариотни клетки беше оценен чрез прилагането на нанокompозитите върху две клетъчни линии - MDCK нормални клетки от бъбречен епител и A549 белодробни ракови епителни клетки, тествани в среда за клетъчни култури в продължение на 24 часа. Нашите резултати показаха, че RGO Ag:Cu има по-силен цитотоксичен ефект върху еукариотните клетки. Установихме, че раковите A549 клетки проявиха по-силна чувствителност към наноматериалите, отколкото нераковите MDCK-клетки. Про- и антиоксидантната активност на всички наноматериали бе изследвана с помощта на реакции на окисление, генериращи свободни радикали (pH 7,4 и pH 8,5) в следните хемилуминесцентни моделни системи: (1) химическа, с реагент на Фентън (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-FeSO<sub>4</sub>), за генерирането на хидроксилни радикали (.OH), (2) химическа, с окислител водороден пероксид (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), (3) химическа (NAD.H-PhMS), за генериране на супероксидни радикали (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Всички тествани наноматериали показаха отчетлива антиоксидантна активност и в двете тествани среди при неутрално и алкално pH. Единственото изключение бяха наночастиците RGO Ag с размер 30 nm, които показаха по-малко от 10% прооксидантна активност в системата на Fenton при pH 8,5. Тези резултати подкрепят идеята за използване на такива наноматериали в телесни импланти.

## Abstract

The study aimed to evaluate the prooxidant, antioxidant and biological activities of newly synthesized nanocomposites of reduced graphene oxide (RGO) and its combinations with silver and copper by luminescent and microbiological assays. The antimicrobial activity was tested in a liquid medium during 24 h against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The Gram-positive bacteria were more resistant than the Gram-negative. Strongest antibacterial effect was demonstrated by the graphene nanocomposite

decorated with silver and copper. The cubic silver nanoclusters size 30 nm showed better bacteriostatic effect than the spherical nanoparticles on reduced graphene sheets with 43 nm diameter. The eukaryotic cell cytotoxicity effect was evaluated with two cell lines - MDCK kidney epithelium noncancerous cells and A549 lung cancerous epithelium cells, tested in cell culture medium for 24 h. Our results showed that RGO Ag:Cu had stronger cytotoxic effect on eukaryotic cells. We have discovered that the cancerous A549 cells show stronger sensitivity to the nanomaterials than the noncancerous MDCK-cells. The pro- and antioxidant activity of all nanomaterials was studied according to the free-radical oxidation reactions (pH 7.4 and pH 8.5) in the following chemiluminescent model systems: (1) chemical, with Fenton`s reagent ( $H_2O_2$ - $FeSO_4$ ), for the generation of hydroxyl radicals ( $\cdot OH$ ), (2) chemical, with oxidant hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), (3) chemical (NAD.H-PhMS), for the generation of superoxide radicals ( $O_2\cdot^-$ ). All tested nanomaterials presented definitive antioxidant activity in both tested media at neutral and alkaline pH. The only exception was RGO Ag nanoparticles, sized 30 nm, that exhibited less than 10% prooxidant activity in the Fenton`s system, at pH 8.5. Those results support the idea to use such nanomaterials in body implants.

8. Vasileva, I., Toshkova-Yotova, T., Georgieva, Zh., Karcheva, Z., Petrova, D., Chaneva, G., **Yocheva, L. (2021)**. Effect of Temperature and Light on the Biochemical Profile and Antimicrobial Activity of *Chroococcus* sp. R-10 (Cyanoprokaryota), *Oxidation Communications* 44(4), 723-736; Print ISSN: 0209-4541.

### Резюме

Новоизолиран български щам цианобактерии *Chroococcus* sp. R-10 е изследван за определяне на подходящите условия на култивиране и ефекта на светлината и температурата върху състава на биомасата. Щамът е култивиран успешно в температурен диапазон 26 °C – 35 °C, доказвайки, че е толерантен към по-висок интензитет на светлина. При оптимални условия (26 °C и едностранно осветяване от 132  $\mu mol$  фотони  $m^{-2} s^{-1}$ ), максималният добив, получен от *Chroococcus* sp. R-10 след 336 часа култивиране е 10,3 g L<sup>-1</sup>. Биомасата съдържа 37% DW протеин и по-голямо количество въглехидрати - 42% DW. Ниската температура и по-ниската интензивност на светлината благоприятстват биосинтезата на фикобилипротеини – 10,8% DW, докато високият интензитет на светлината стимулира натрупването на липиди в клетките – 16,4% DW.

При изследване на антимикробната активност на екстракти от *Chroococcus* sp. R-10, е установено, че екзополisahаридната фракция и културалната среда проявяват значителна антимикробна активност срещу някои Грам-отрицателни и Грам-положителни бактерии, както и спрямо *Candida albicans*. И двете проби от микроводорасли са особено ефективни спрямо *Bacillus subtilis*, но имат различна ефективност спрямо другите тест-микроорганизми. Етаноловият екстракт проявява фунгистатично действие срещу *Candida albicans*.

В заключение, *Chroococcus* sp. R-10 може да се счита за един от най-добрите производители на биомаса сред цианопрокариотите. Щамът расте бързо, натрупва големи количества протеин и екзополisahарид и произвежда антимикробни вещества, което му дава предимство при потенциални бъдещи изследвания и биотехнологично приложение.

### ABSTRACT

A newly isolated Bulgarian cyanoprokaryote *Chroococcus* sp. R-10 was studied to determine the appropriate cultivation conditions and the effect of light and temperature on the biomass composition. The strain was successfully grown in the temperature range 26°C - 35°C, proving to be tolerant to higher light intensity. Under optimal conditions (26 °C and unilateral illumination of 132  $\mu mol$  photons  $m^{-2} s^{-1}$ ), the maximum yield obtained from *Chroococcus* sp. R-10 was 10.3 g L<sup>-1</sup>, after 336 hours of cultivation. The biomass contained 37% DW protein and higher amount of carbohydrates - 42% DW. The low temperature and lower light intensity favored the biosynthesis of phycobiliproteins – 10.8% DW, while high light intensity stimulated the lipid accumulation in the cells – 16.4% DW.

When studying the antimicrobial activity of some algal extracts, it was found that exopolysaccharide fraction and culture medium expressed significant antimicrobial activity against several Gr (-) and Gr (+) bacteria, as well as *Candida albicans*. Both microalgal samples were particularly effective towards

*Bacillus subtilis*, but they had varying efficiency towards the other test-microorganisms. The ethanol extract showed only fungistatic action against *Candida albicans*.

In general, *Chroococcus* sp. R-10 may be considered as one of the best biomass producers among the cyanoprokaryotes. The strain grows rapidly, accumulates large amounts of protein and exopolysaccharide, and produces antimicrobial substances, which gives it an advantage in potential future research and biotechnological application.

9. Tomov, A., Petrova, D., **Yocheva, L.**, Georgieva, Z., Karcheva, Z., Chaneva G. (2021). Antioxidant Status of Hydroponically and Aquaponically Grown Plant Species. *Oxidation Communications*, 44(2), 397-408. Print ISSN: 0209-4541.

### Резюме

Изследването сравнява растежа, съдържанието на пигмент и отговора към антиоксидативния стрес на *Pisum sativum* L. (грах), *Zea mays* L. (царевица) и *Lactuca sativa* L. (маруля), култивирани в хидропонни и аквапонни системи. Установено е, че аквапонното отглеждане на царевица и маруля заедно със златна рибка (*Carassius auratus* L.) е високоефективно. При тези условия е измерен повишен растеж и най-високото съдържание на пигмент и редуциращи захари в листата на царевицата. В същото време по-висока скорост на растеж и съдържание на метаболити са наблюдавани при марулята, но не и в граховите растения.

За да се изследва наличието на условия на оксидативен стрес в системите за култивиране, са определени активностите на ензимите супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и гваякол пероксидаза (GPER). При царевицата не са регистрирани големи вариации в активността на SOD и CAT сред трите експериментални системи, докато активността на GPER е леко повишена при аквапоника. Активността на SOD в марулята е най-висока в хидропонната система (ES 1, чешмяна вода), аналогично на нивото на общите пероксиди. Въпреки това, активността на CAT и GPER е значително увеличена при хидропоника (ES 2, разтвор на Knop) и аквапоника (ES 3). Обратно, *P. sativum* не расте добре при аквапонните условия, където са измерени най-високи стойности на MDA и общи пероксиди, както и повишена ензимна активност. Граховите растения достигат най-добър растеж в хидропонната система (ES 2).

В обобщение, аквапонната система се оказва най-благоприятната за растежа на царевицата, докато марулята се развива еднакво добре както в хидропонната (ES 2), така и в аквапонната система.

### Abstract

The study compared growth, pigment content and antioxidative stress response of *Pisum sativum* L., *Zea mays* L. and *Lactuca sativa* L., cultivated in hydroponic and aquaponic systems. It was observed that aquaponic farming of maize and lettuce together with goldfish (*Carassius auratus* L.) was highly efficient. Under these conditions, the increased growth and the highest pigment and reducing sugars' content were measured in the leaves of maize. At the same time, higher growth rate and metabolite content were also observed in lettuce, but not in pea plants.

In order to study the presence of oxidative stress conditions in the cultivation systems, the activities of superoxide desmutase (SOD), catalase (CAT) and guaiacol peroxidase (GPER) were determined. In maize, no large variations in SOD and CAT activities were recorded among the three experimental systems, while GPER activity was slightly enhanced under aquaponics. The activity of SOD in lettuce was the highest in the hydroponic system (ES 1, tap water), analogous to the level of total peroxides. However, CAT and GPER activities were significantly increased under hydroponics (ES 2, Knop's solution) and aquaponics (ES 3). In contrast, *P. sativum* did not performed well under aquaponic conditions, where the highest MDA and total peroxides were measured, as well as the increased enzyme activities. Pea plants reached their best growth in the hydroponic system (ES 2).

In summary, the aquaponic system proved to be the most favourable for maize growth, while lettuce developed equally well in both, the hydroponic (ES 2) and the aquaponic system.



10. Toshkova-Yotova, T., Alexandrov, S., Pilarski, P., **Yocheva, L.**, Petrova, D., Chaneva G. (2020). Screening of Antimicrobial and Antioxidant Properties of Green Microalga *Coelastrrella* sp. BGV, *Oxidation Communications*, 43(2), 265-279. Print ISSN: 0209-4541.

### Резюме

Скринингът на четири щамове зелени микроводорасли от род *Coelastrrella* – *Coelastrrella* sp. BGV, *Coelastrrella multistriata* var. *corcontica* (CCALA 308), *Coelastrrella multistriata* var. *multistriata* (CCALA 309) и *Coelastrrella vacuolata* (CCALA 356) показва, че *Coelastrrella* sp. BGV – новоизолиран български щам, има най-висок потенциал за растеж в лабораторни условия. Благоприятният състав на биомасата (протеини – 35,32%, въглехидрати – 38,66% и липиди – 13,9%) даде основание да считаме този щам за биотехнологично перспективен и да изследваме неговите антимикробни и антиоксидантни свойства.

Етаноловият екстракт, получен от биомасата на *Coelastrrella* sp. BGV показва най-висока антимикробна активност – той е ефективен срещу шест от деветте тест-микроорганизма (2 Грам-положителни и 7 Грам-отрицателни бактерии). Сместа от мастни киселини инхибира развитието на четири бактериални щамове, последвани от полизахаридната фракция и културалната течност. Най-чувствителни се оказаха *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* и *Escherichia coli* UPEC. Всички продукти от водорасли са активни срещу *Candida albicans*, а най-силен противогъбичен ефект е установен при етанолови екстракти и мастни киселини.

Изучавайки антиоксидантните свойства, установихме, че етаноловият екстракт има повишено съдържание на фенол (279 mg g<sup>-1</sup> DW) и на флавоноиди (84,3 mg g<sup>-1</sup> DW). Повишената обща антиоксидантна активност (238,5 mM g<sup>-1</sup> DW) може също да показва, че етаноловият екстракт има висок биоактивен потенциал и следователно е необходимо по-задълбочено проучване за характеризиране на неговия биохимичен състав.

### Abstract

The screening of four green microalgal strains of genus *Coelastrrella* – *Coelastrrella* sp. BGV, *Coelastrrella multistriata* var. *corcontica* (CCALA 308), *Coelastrrella multistriata* var. *multistriata* (CCALA 309) and *Coelastrrella vacuolata* (CCALA 356) showed that *Coelastrrella* sp. BGV – a newly isolated Bulgarian strain, had the highest growth potential under laboratory conditions. The favourable biomass composition (proteins – 35.32%, carbohydrates – 38.66% and lipids – 13.9%) gave us a reason to consider that strain as biotechnologically promising and to investigate its antimicrobial and antioxidant properties.

The ethanol extract obtained from *Coelastrrella* sp. BGV biomass exhibited the highest antimicrobial activity – it was effective against six of the nine test-microorganisms (2 Gram-positive and 7 Gram-negative bacteria). The fatty acid mixture inhibited the development of four bacterial strains, followed by the polysaccharide fraction and culture medium fluid. *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* UPEC proved to be the most sensitive. All algal products were active against *Candida albicans*, and the strongest antifungal effect was shown with ethanol extracts and fatty acids.

Studying the antioxidant properties, we found that the ethanol extract contained enhanced phenol (279 mg g<sup>-1</sup> DW) and flavonoid content (84.3 mg g<sup>-1</sup> DW). The increased total antioxidant activity (238.5 mM g<sup>-1</sup> DW) might also indicate that ethanol extract has a high bioactive potential and therefore, more in-depth study to characterise its biochemical composition is needed.

11. Petrova, D., **Yocheva, L.**, Petrova, M., Karcheva, Z., Georgieva, Zh., Toshkova-Yotova, T., Pilarski, P., Chaneva, G. (2020). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Microalgal Extracts, *Oxidation Communications*, 43(1), 103-116. Print ISSN: 0209-4541.

### Резюме

Два недостатъчно добре проучени щамове цианобактерии, *Arthronema africanum* Lukavsky и *Nostoc commune* Vaucher, са изследвани за установяване на техния биоактивен потенциал. Най-силно изразена антиоксидантна активност – най-високи количества фенолни съединения, флавоноиди и обща антиоксидантна активност са измерени при етаноловите екстракти. Освен това, водните

екстракти, приготвени от двата щама, показват значително по-високи антиоксидантни свойства в сравнение с полизахаридните фракции.

Антимикробната ефективност на цианобактериалните продукти е тествана срещу 9 бактериални щама (2 Грам-положителни и 7 Грам-отрицателни щама) и 1 шам дрожди – *Candida albicans*. Водните екстракти, получени от биомаса на *N. commune*, са високо ефективни срещу повечето от тест-микроорганизмите. Всеки продукт, изолиран от *N. commune*, инхибира растежа на *C. albicans*, което се счита за много обещаващо. Водните екстракти и културелната среда от *A. africanum* показват най-висока антимикробна активност. Освен това *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* и *C. albicans* се оказват най-чувствителни и растежът им е инхибиран от всички продукти на *A. africanum*.

Въз основа на техните изразени антибактериални и антиоксидантни свойства, *Nostoc commune* и *Arthronema africanum* могат да се считат за потенциално ценни щамове за биотехнологиите и медицината. Следователно по-нататъшните изследвания ще бъдат насочени към определяне на метаболитния състав на продуктите с най-висока биоактивност за тяхното евентуално практическо приложение.

### Abstract

Two insufficiently explored cyanobacterial strains, *Arthronema africanum* Lukavsky and *Nostoc commune* Vaucher, were studied to identify their bioactive potential. Most pronounced antioxidant activity – highest amounts of phenolic compounds, flavonoids and total antioxidant activity were measured in the ethanol extracts. Furthermore, the aqueous extracts prepared from both strains, showed significantly higher antioxidant properties as compared with the polysaccharide fractions.

Antimicrobial efficiency of cyanobacterial products was tested against 9 bacterial strains (2 Gram-positive and 7 Gram-negative strains), and 1 fungal strain – *Candida albicans*. Water extracts obtained from *N. commune* biomass were highly effective against most of the test-microorganisms. Each product isolated from *N. commune* inhibited growth of *C. albicans*, which result was considered as a very promising. Water extracts and cultural medium from *A. africanum* showed the highest antimicrobial activity. Besides, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* proved to be the most sensitive and their growth was inhibited by all *A. africanum* products.

Based on their pronounced antibacterial and antioxidant properties, *Nostoc commune* and *Arthronema africanum* could be considered as potentially valuable strains for biotechnology and medicine. Hence, the further research would be focused on determining the metabolite composition of the products with the highest bioactivity for their eventual practical application.

12. Hristoskova, S., Yocheva, L., Yankov, D., Danova, S. (2018). Newly Characterized Butyrate Producing *Clostridium* sp. Strain 4a1, Isolated From Chickpea Beans (*Cicer arietinum* L.). *Bulgarian Chemical Communications*, 50(3), 459-466. Print ISSN: 0324-1130.

### Резюме

Маслената киселина е ценно съединение с широко приложение в различни клонове на индустрията. Интересът към нейното биотехнологично производство се възражда с оглед на приложението ѝ за получаване на алтернативни горива от биомаса. Микроорганизмите от рода *Clostridium* са добре известни като производители на маслена киселина. Установено е, че те доминират при спонтанната ферментация на зърна от нахут. В настоящото изследване шамът *Clostridium* sp. 4a1, изолиран при нахутовата ферментация, е избран като продуцент на маслена киселина. Определени са някои параметри на процеса като първоначално рН на средата (7.5), температура (37 °C), състав на средата и концентрация на глюкозата (20 g/l). С помощта на класически и съвременни полифазни таксономични методи шамът е идентифициран като *Clostridium beijerinskii* с 97% подобие.

### Abstract

Butyric acid is a valuable chemical with wide application in various industries. The interest in its biotechnological production is revived in view to the application in the production of alternative fuels from biomass feedstocks. Microorganisms of genus *Clostridium* are well known as producers of butyric

acid. *Clostridium* species was found to dominate the system in the spontaneous chickpea fermentation. In the present study a *Clostridium* sp. strain 4a1 from chickpea beans fermentation was selected as a good producer of butyric acid. Some process parameters as initial pH of the medium (7.5), temperature (37 °C), medium composition and glucose concentration (20 g/l) were determined. The strain was identified as *Clostridium beijerinckii* (97% similarity) on the basis of classical and modern polyphasic taxonomy methods.

13. Ivanova, I., Damyanova, S., **Yocheva, L. (2016)**. Microflora of Mineral Spring Water from the Western Part of Bulgaria. *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences, BIOLOGIE Microbiologie* 69(12), 1581-1586. Print ISSN: 1310-1331. <https://doi.org/EID:2-s2.0-85006918600>.

#### Резюме

През периода 2014 и 2015 г. са изследвани водни проби от три минерална извора, разположени в западната част на България. Анализирани са общият брой микроорганизми и наличие на бактериални индикаторни организми: *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* и сулфит-редуциращи бактерии (*Clostridium* spp.). Броят на аеробните и анаеробни хетеротрофи и спори на гъби е под границите на българските държавни и европейски стандарти. *E. coli*, *Enterococcus* spp. и сулфит-редуциращи бактерии не са открити. В проби от два извора са установени единични колонии на *Pseudomonas* sp. През пролетта и есента във водата от извор Ком е установено голямо количество бактерии, растящи при 20 °C. Резултатите потвърждават високото качество на изследваните български минерални води.

#### Abstract

Three mineral water sources situated in the Western part of Bulgaria were investigated in 2014 and 2015. Total microbial count and the presence of bacterial indicators: *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and sulphite-reducing bacteria (*Clostridium* spp.) were analyzed. The number of aerobic and anaerobic heterotrophs and fungal spores were under the limit of Bulgarian State and European Standards. *E. coli*, *Enterococcus* spp. and sulphite-reducing bacteria were not detected. Single colonies of *Pseudomonas* sp. were established in samples of two wells. High quantity of bacteria grown at 20°C was observed in the water from Kom source during the spring and autumn. The results confirm the high quality of investigated Bulgarian mineral waters.

14. Damyanova, S., Ivanova, I., **Yocheva, L. (2016)**. Microbiological Safety of Bottled Natural Mineral Water. *Journal of Environmental Protection and Ecology, Water pollution*, 17(3), 896–902. Print ISSN: 1311-5065.

#### Резюме

Изследвано е микробиологичното качество на три марки негазирана минерална вода, продавани в България. Изследването е проведено за установяване наличие на хетеротрофни бактерии при 22 и 37 °C (дълбочинна посявка) в пробите от минерални води съхранявани при 22 °C за период от 7-100 дни. Анализирани са проби от води, бутилирани в пластмасови бутилки от различни партии и източници за микробиологични показатели по европейски и световни стандарти за питейни води. Не са установени санитарно-показателни бактерии като: *E. coli*, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, сулфит-редуциращи бактерии (*Clostridium*) и гъбички в 100 и 250 cm<sup>3</sup> минерална вода. Общият брой хетеротрофни аеробни и анаеробни бактерии при 22 и 37 °C в 1 cm<sup>3</sup> минерална вода е най-висок за марка G, а най-нисък за марки B и K. Броят на нито един от индикаторните бактериални видове не надвишава стандартите на Министерството на здравеопазването. При някои партии бутилирана вода първоначалният бактериален брой не се променя, докато при марка G броят на хетеротрофните бактерии нараства в съответствие с продължителността на съхранение при стайна температура.

## Abstract

The microbiological quality of three brands of non-carbonated mineral water sold in Bulgaria was studied. The study was carried out on the survival of heterotrophic bacteria at 22 and 37 °C (pour plate technique) in the samples of mineral waters stored at 22 °C for a period of 7–100 days. Samples from plastic bottled waters from different batches and sources were analyzed for microbiological indicators according to EU and world standards for drinking waters. The bacteria such as: *E. coli*, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* and sulphite-reducing bacteria (*Clostridium*) and fungi in 100 and 250 cm<sup>3</sup> of mineral water were unidentifiable. Total viable count of heterotrophic aerobic and anaerobic bacteria at 22 and 37 °C in 1 cm<sup>3</sup> of mineral water was the highest respectively for brand G, the lowest for brand B and K. None of the indicator bacterial species had bacterial counts greater than Ministry of Health standards. In some batches of bottled waters the initial bacterial number was not changed while in brand G the number of heterotrophic bacteria has increased with the time of storage at room temperature

15. Zhelezova, G., Yocheva, L., Tserovska, L., Mateev, G., Vassileva, S. (2015). Prevalence of *Helicobacter pylori* Seropositivity in Patients with Psoriasis. *Problems of Infectious and Parasitic Diseases*, 43(1), 13-17. Print ISSN: 0204-9155.

## Резюме

**Цел:** Целта на настоящото проучване е да се определи разпространението на серумни антитела срещу *Helicobacter pylori* и наличието на анти-CagA и анти-VacA антитела при пациенти с псориазис.

**Материали и методи:** Изследвани са 25 пациенти с диагноза псориазис вулгарис и контролна група от 24 здрави лица. Серумните антитела срещу *H. pylori*, CagA и VacA са определени с помощта на ELISA и Western blot методи.

**Резултати:** Шестнадесет от 25 (64%) пациенти са определени като серопозитивни със средна стойност на титъра на антителата (IgG, anti-*H. pylori*)  $149,2 \pm 85,6$  RU/ml. В контролната група осем от 24 (33,3%) здрави индивиди са определени като серопозитивни със средни стойности на титъра на антителата  $118,8 \pm 41,4$  RU/ml. По отношение на серопозитивността на *H. pylori* е установена значителна разлика между двете групи. Резултатите, получени чрез Western blot метода, показват наличие на антитела срещу CagA антиген при шест от 16 (37,5%) и антитела срещу VacA антиген при един от 16 (6,3%) *H. pylori* серопозитивни пациенти.

**Заключение:** Нашето проучване показва, че степента на разпространение на серопозитивността на *H. pylori* е по-висока при пациенти с псориазис, отколкото при здрави индивиди. Установено е наличието на анти-CagA и анти-VacA антитела в сравнително ниски нива. Тъй като проучването е проведено като пилотно с относително малък брой пациенти, са необходими допълнителни изследвания, за да се обясни връзката между *H. pylori* и патогенезата на псориазиса.

## Abstract

**Aim:** The aim of the present study was to determine the prevalence of *Helicobacter pylori* seropositivity and the presence of anti-CagA and anti-VacA antibodies in patients with psoriasis.

**Materials and methods:** Twenty five patients diagnosed with psoriasis vulgaris and a control group of 24 healthy individuals were examined. *H. pylori*, CagA and VacA serum antibodies were determined using ELISA and Western blot methods.

**Results:** Sixteen out of 25 (64%) patients were determined as seropositive with an average value of antibodies titer (IgG, anti-*H. pylori*)  $149.2 \pm 85.6$  RU/ml. In the control group eight out of 24 (33.3%) healthy individuals were determined as seropositive with average values of antibodies titer  $118.8 \pm 41.4$  RU/ml. With regard to *H. pylori* seropositivity, significant difference between the two groups was found. Results obtained by Western blot method showed presence of antibodies against CagA antigen in six out of 16 (37.5%) and antibodies against VacA antigen in one out of 16 (6.3%) *H. pylori* seropositive patients.

**Conclusion:** In our study the degree of *H. pylori* seropositivity prevalence was higher in patients with psoriasis than in healthy subjects. The presence of anti-CagA and anti-VacA antibodies was established in comparatively low levels. As the study was performed as a pilot with a relatively small number of



patients, further investigations are necessary to explain the relationship between *H. pylori* and the pathogenesis of psoriasis.

16. Georgieva, R., Yocheva, L., Tserovska, L., Zhelezova, G., Stefanova, N., Atanasova, A., Danguleva, A., Ivanova, G., Karapetkov, N., Rumyan, N., Karaivanova, E. (2015). Antimicrobial Activity and Antibiotic Susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. Intended for Use as Starter and Probiotic Cultures. *Biothechnoly and Biothechnological Equipment*, 29(1), 84-91. Print ISSN: 1310-2818, Online ISSN: 1314-3530. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.987450>

### Резюме

Тествани са антимикуробната активност и чувствителността към антибиотици на 23 щама *Lactobacillus* и три щама *Bifidobacterium*, изолирани от различни екологични ниши. Агар-дифузионният метод е използван за тестване на антагонистичния ефект (срещу *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* и *Candida albicans*) на кисели и неутрализирани (pH 5,5) лиофилизирани концентрирани супернатанти (безклетъчна супернатанта; CFS) и суроватка (безклетъчни суроватъчни фракции; CFW) от deMan-Rogosa-Sharpe/триптиказо-фитон-дрождев бульон и обезмаслено мляко. Киселите CFS и CFW показват бактериално инхибиране, силно зависимо от скоростта на подкиселяване; пет щама са активни срещу *C. albicans*. Анализите на неутрализираните CFS/CFW показват, че шест щама са активни срещу *S. aureus* (*L. acidophilus* L-1, *L. brevis* 1, *L. fermentum* 1, *B. animalis* subsp. *lactis* L-3), срещу *E. coli* - *L. bulgaricus* 6 и срещу *B. cereus* - *L. plantarum* 24-4B. Установено е инхибиране на два патогена с неутрализирани CFS (*L. bulgaricus* 6, *L. helveticus* 3, *L. plantarum* 24-2L, *L. fermentum* 1)/CFW (*L. plantarum* 24-5D, *L. plantarum* 24-4B). Някои щамове поддържат активност и след неутрализиране на рН, което показва наличието на други активни вещества освен млечна киселина. Минималните инхибиращи концентрации на антибиотиците (MICs) са определяни чрез Е-тест. Всички щамове са чувствителни към ампицилин, гентамицин, еритромицин и тетрациклин. Четири лактобацили са резистентни към един антибиотик (*L. rhamnosus* Lio 1 към стрептомицин) или два антибиотика (*L. acidophilus* L-1 и *L. brevis* 1 към канамицин и клиндамицин; *L. casei* L-4 към клиндамицин и хлорамфеникол). Високата MIC на ванкомицин (> 256 mg/mL) е индикатор за естествена резистентност, характерна за всички хетероферментативни лактобацили. Щамовете, проявили антимикуробна активност не предизвикват опасения относно преноса на антибиотична резистентност и могат да се използват като естествени биоконсерванти в храни и терапевтични формулировки.

### Abstract

Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility were tested for 23 *Lactobacillus* and three *Bifidobacterium* strains isolated from different ecological niches. Agar-well diffusion method was used to test the antagonistic effect (against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Candida albicans*) of acid and neutralized (pH 5.5) lyophilized concentrated supernatants (cell-free supernatant; CFS) and whey (cell-free whey fractions; CFW) from deMan-Rogosa-Sharpe/trypticase-phytone-yeast broth and skim milk. Acid CFS and CFW showed high acidification rate-dependent bacterial inhibition; five strains were active against *C. albicans*. Neutralized CFS/CFW assays showed six strains active against *S. aureus* (*L. acidophilus* L-1, *L. brevis* 1, *L. fermentum* 1, *B. animalis* subsp. *lactis* L-3), *E. coli* (*L. bulgaricus* 6) or *B. cereus* (*L. plantarum* 24-4B). Inhibition of two pathogens with neutralized CFS (*L. bulgaricus* 6, *L. helveticus* 3, *L. plantarum* 24-2L, *L. fermentum* 1)/CFW (*L. plantarum* 24-5D, *L. plantarum* 24-4B) was detected. Some strains maintained activity after pH neutralization, indicating presence of active substances. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics were determined by the E-test (Epsilometer test method). All strains were susceptible to ampicillin, gentamicin, erythromycin and tetracycline. Four lactobacilli were resistant to one antibiotic (*L. rhamnosus* Lio 1 to streptomycin) or two antibiotics (*L. acidophilus* L-1 and *L. brevis* 1 to kanamycin and clindamycin; *L. casei* L-4 to clindamycin and chloramphenicol). Vancomycin MICs > 256 mg/mL indicated intrinsic resistance for all heterofermentative lactobacilli. The antimicrobially active strains do

not cause concerns about antibiotic resistance transfer and could be used as natural biopreservatives in food and therapeutic formulations.

17. Stoyanovski, S., Chipeva, V., Dimov, S., Danova, S., Dimitrova, I., **Yocheva, L.**, Antonova-Nikolova, S., Ivanova, I. (2009). Characterization of Lactic Acid Bacteria from Dried Sausages. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 23(sup 1), 870-873. Print ISSN: 1310-2818 Online ISSN: 1314-3530. <https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818560>

### Резюме

Осем рода бактерии (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*) са най-често използваните стартерни култури за месо. Лактобацилите, свързани с ферментацията на месото, както и усилията за тяхната точна класификация и идентифициране стават все по-важни, тъй като различни изолати на млечнокисели бактерии (LAB) все по-често се използват като стартерни култури.

Настоящата работа е насочена към характеризирание на микрофлората, свързана с естествено ферментирани български колбаси (Луканка) и колбаси (Луканка) с дефинирана закваска, произведена от „Тандем“. Повече от 200 щамове от рода *Lactobacillus* са изолирани по време на различните етапи от процеса на ферментация на естествено ферментиралите колбаси. Извършени са морфологични, културални, физиологични и биохимични анализи. В такава система като месото, характеризираща се с голямо разнообразие от сложни субстрати, служещи като източници на пентози, органични киселини и други съединения, които биват ферментирани, се образуват различни крайни продукти. Извършени са изследвания за продукция на млечна киселина, определяне на рН, както и скрининг на щамове, продуценти на антимикробни вещества.

### Abstract

Eight genera (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*) are most commonly used meat starter cultures. The Lactobacilli associated with meat fermentation and the efforts to accurate classification and identification of them are becoming more important as various isolates of LAB become more commonly used as starter cultures.

The present work deals with characterization of the microflora associated with naturally fermented Bulgarian sausages (Lukanka) and sausages (Lukanka) with defined starter culture produced by “Tandem“. More than 200 strains of genera *Lactobacillus* were isolated during the different stages of the fermentation process of the naturally fermented sausages. The morphological, cultural, physiological and biochemical analysis were performed. In such a system such as meat with a wide variety of complex substrates serving as sources of peptoses, organic acid and other fermentable compounds different end products are formed. Research on the production of lactic acid, determination of pH, screening for producers of antimicrobials was performed.

18. Dobreva-Yosifova, G., **Yocheva, L.**, Mehmed, A., Danova, S., Antonova-Nikolova, S. (2009). *In vitro* Characterization of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria from Bulgarian Rye Sourdoughs. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 23(sup 1), 801-805. Print ISSN: 1310-2818 Online ISSN: 1314-3530. <https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818544>

### Резюме

Млечнокиселите бактерии играят ключова роля за човешкото здраве. Тези бактерии като част от микрофлората на гастроинтестиналния тракт (ГИТ) оказват благоприятно влияние върху микробния баланс. Пробиотичните култури стимулират растежа на полезни микроорганизми, конкурират се с потенциално вредните бактерии и подсилват естествените защитни механизми на организма. Последните данни доказват положителните ефекти на пробиотиците и стимулират изследванията за откриване на нови щамове млечнокисели бактерии с пробиотични свойства.

В настоящата работа е изследван *in vitro* пробиотичният потенциал на 23 щам млянокисели бактерии, изолирани от български ръжени закваски от различни географски региони. Принадлежността им към род *Lactobacillus* и *Pediococcus* е определена чрез класически фенотипни методи. Първо беше извършен скрининг на щамове при селекциониращи фактори: висока киселинност и различни концентрации на жлъчни соли. Освен това бяха определени чувствителността към антибиотици, продукцията на водороден прекис и спектърът на антимикробна активност. След първоначалната селекция бяха избрани 8 щам и те бяха тествани в моделна система за *in vitro* симулация на условията в човешкия ГИТ.

### Abstract

Lactic acid bacteria play a key role in human health. These friendly bacteria as a part of the microflora of the gastrointestinal tract (GIT) have a beneficial influence on microbial balance. The probiotic cultures stimulate the growth of beneficial microorganisms, crowd out potentially harmful bacteria and reinforce the body's natural defense mechanisms. Recent data improve the positive effects of probiotics and stimulate research for discovering of new lactic acid bacteria strains with probiotic properties.

In present work the probiotic potential of 23 strains lactic acid bacteria, isolated from Bulgarian rye sourdoughs from different geographical regions was studied *in vitro*. Their affiliation to the genus *Lactobacillus* and *Pediococcus* was determined by classical phenotyping methods. Screening of the strains at selecting factors high acidity and different concentrations of bile salts was first accomplished. In addition, susceptibility to antibiotics, production of hydrogen peroxide and spectrum of antimicrobial activity were determined. After primary selection, 8 strains were chosen and they were tested in a model system for *in vitro* simulation of the conditions into the human GIT.

19. **Yocheva, L., Antonova-Nikolova, S. (2003).** Effect of the Exogenous Added Amino Acids on the Component Composition of the Actinomycin Complex 695. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 17(2) Supplement – General and Applied Microbiology, 136-143. Print ISSN: 1310-2818, Online ISSN: 1314-3530.

### Резюме

Чрез тънкослойна хроматография бе установено, че всички аминокиселини, въведени във ферментационната среда или като единствен източник на азот, или като прекурсор, предизвикват промени в типичното съотношение на компонентите на антибиотичния комплекс 695, произвеждан от щам *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes* 695. Тези промени бяха специфични в зависимост от вида на аминокиселините и особено ясно изразени, когато аминокиселините бяха въведени като единствен азотен източник. Внасянето на аминокиселини от левциновата група, иминокиселини, L-глутаминова киселина, L-аспарагинова киселина, L-аспарагин, L-тирозин, DL-фенил-аланин и DL-хистидин доведе до промени в относителното съдържание на компонентите, както и до появата на нови фракции на актиномициновия антибиотик.

### Abstract

By thin-layer chromatography it was established that all amino acids introduced in the fermentation medium either as an only nitrogen source or as a precursor induced changes in the typical proportion of the components of the antibiotic complex 695 produced by strain *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes* 695. These changes were specific and depended on the amino acids and were expressed when they were introduced as the only nitrogen source especially. The introduction of the amino acids of the leucine group, imino acids, L-glutamin acid, L-aspartic acid, L-asparagine, L-tyrosine, DL-phenylalanine and DL-histidine resulted in changes in the relative content of the components, as well as in the appearance of new actinomycin fractions in the antibiotic.

20. Antonova-Nikolova, S., Kalcheva, T., Vassileva, R., **Yocheva, L. (2003)**. Effect of Storage Conditions on Technological Properties of Spontaneous Chick-Peas Fermentation Isolates. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 17(2) Supplement – General and Applied Microbiology, 129-135. Print ISSN: 1310-2818, Online ISSN: 1314-3530.

### Резюме

Изследван е ефектът на различни методи за съхранение върху микроморфологията и биологичната активност на 15 клостридиални щамове, изолирани от естествена нахутова мая. Нашите резултати показват, че докато условията на съхранение не влияят върху формата, размера, разположението и подвижността на микробните клетки, лиофилизацията и съхранението в течен азот забавят или потискат в някои случаи образуването на скорбелни гранули и спори. Технологичната оценка на реактивираниите щамове, включваща определяне на пет показателя, показва, че дългосрочното съхранение има различен ефект в зависимост от индивидуалните особености на щамовете и условията на съхранение.

### Abstract

The effect of different preservation methods on the micromorphology and biological activity of 15 clostridial strains, isolated from natural chick-pea yeast was studied. Our results demonstrated that while the conditions of preservation did not affect the shape, size, location and motility of the microbial cells, the lyophilization and the preservation in liquid nitrogen delayed or depressed in some cases the formation of starch granules and spores. The technological assessment of the reactivated strains, included the determination of five indexes, showed that the long-term preservation had different effect depending on the individual nature of the strains and the conditions of preservation.

21. Antonova-Nikolova, S., Vassileva, R., **Yocheva, L. (2002)**. Dynamics of the Development of Chick-Peas Fermentation Microflora. *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences*, 55(8), 79-82. Print ISSN: 1310-1331, Online ISSN: 2367-5535.

### Резюме

Хлябът, приготвен с мая от нахут (симид) е много популярен продукт в България и някои от балканските страни и Близкия изток.

Микрофлората на маята от нахут е изследвана чрез стандартни микробиологични методи по време на ферментацията до преливане на образуващата се пяна от гърлото на колбата. Установено е, че в културалната среда има Грам-положителни пръчковидни бактерии, чиито клетки имат различна форма, размер, разположение и подвижност. Коки и дрожди липсват. По време на ферментацията е наблюдавана промяна в съотношението аероби/анаероби. Резултатите от нашите проучвания и особеностите на ферментацията на нахут ни дават основание да разглеждаме нахутовата мая като смесена култура от представители на родовете *Bacillus* и *Clostridium*.

### Abstract

Bread prepared with chick-peas yeast (simitts) is a very popular product in Bulgaria and some of the Balkan countries and Near East.

The microflora of the chick-peas yeast was studied by standard microbiological methods during the fermentation up to overflow of the formation foam from the neck of the flask. It was found that in the culture medium there are Gram-positive rod bacteria which cells have different shape, size, location and motility. Cocci and yeast were missing. A variation in the ratio aerobe/anaerobe during the fermentation was observed. The results of our studies and the special features of the chick-peas fermentation give us the reason to consider the chick-peas yeast as a mixed culture from representatives of genera *Bacillus* and *Clostridium*.

22. **Yocheva, L.**, Antonova-Nikolova, S. (2001). Influence of the Amino Acid DL-Histidine on the Biosynthesis of Antibiotic 695, Produced by Strain *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes*



695. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 15(1), 72-75. Print ISSN: 1310-2818, Online ISSN: 1314-3530. <https://doi.org/10.1080/13102818.2001.10819109>

### Резюме

Изследвано е влиянието на аминокиселината DL-хистидин върху образуването на антибиотик 695 от щам *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes* 695. Аминокиселината, предшественик в биосинтеза на антибиотика, е добавяна към ферментационната среда в различни концентрации и в различно време при култивирането на щама. Установено е, че щам 695 расте добре и количеството биомаса е по-голямо в сравнение с контролата, независимо от концентрацията на DL-хистидин в средата. Повишаването на концентрацията на аминокиселината до 1000 µg/ml води до увеличаване количеството на синтезирания антибиотик 695. Въвеждането на DL-хистидин в концентрации 2000 и 4000 µg/ml води до промяна в компонентното съотношение на антибиотичния комплекс 695. При добавяне на аминокиселината в средата едновременно с инокулацията и на 24-ия час от инкубирането на щама се получава три пъти по-голямо количество антибиотик 695 в сравнение с контролата. Също така, води до значителни промени в състава на компонентите, въпреки че не води до образуване на нови компоненти. По-късното добавяне на аминокиселината рязко намалява антибиотичния синтез.

### Abstract

The influence of the amino acid DL-histidine on the formation of antibiotic 695 by strain *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes* 695 was studied. The amino acid, a precursor of the antibiotic biosynthesis, was added to the fermentation medium at different concentrations and at different time of the incubation of the strain. It was established that strain 695 grew well and the quantity of biomass was greater in comparison with the control regardless of the DL-histidine concentration in the medium. Increasing of the amino acid concentration to 1000 µg/ml enhanced the quantity of synthesized antibiotic 695. The introduction of DL-histidine at concentrations 2000 and 4000 µg/ml lead to change in component proportion of antibiotic complex 695. Three-fold larger quantity of antibiotic 695 compared to the control was obtained at the addition of the amino acid in the medium simultaneously with the inoculation and at 24-th hour from the incubation of the strain. It lead to significant changes in component composition although it did not result in the formation of new components. The later addition of the amino acid reduced sharply the antibiotic synthesis.

23. Antonova-Nikolova, S., **Jotcheva, L.**, Huong, N. K., Ivanova, I. (2001). Formation of Protoplasts from Strain *Streptomyces albogriseolus* 444. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 15(1), 69-71. Print ISSN: 1310-2818, Online ISSN: 1314-3530. <https://doi.org/10.1080/13102818.2001.10819108>

### Резюме

Изследвани са културалните условия за получаване на протопласти на щам *Streptomyces albogriseolus* 444, продуциращ антибиотичен комплекс с широк антимикуробен спектър. Ефективното образуване и стабилизиране на протопластите се осъществява чрез 24-часово култивиране на щам 444 в среда, съдържаща 0,5% глицин и 1% захароза. След това мицелът се третира с 4 mg/ml лизозим. При тези оптимални условия добивът възлиза на  $5.13 \times 10^7$  протопласти на ml.

### Abstract

Cultural conditions for protoplast preparation of strain *Streptomyces albogriseolus* 444, producing antibiotic complex with wide antimicrobial spectrum were studied. Effective formation and stabilization of the protoplasts was accomplished by 24 h cultivation of the strain 444 in a medium, containing 0.5% glycine and 1% sucrose. After that the mycelia were treated with 4 mg per ml lysozyme. Under these optimal conditions it amounted up to  $5.13 \times 10^7$  protoplasts per ml.

## II. ПУБЛИКАЦИИ В НЕИНДЕКСИРАНИ СПИСАНИЯ С НАУЧНО РЕЦЕНЗИРАНЕ

(публикации **извън** дисертационен труд за придобиване на ОНС “доктор”)

24. Mantovska, D., Petrova, D., **Yocheva, L.**, Yordanova, Zh. (2022). *Ex situ* Conservation and Comparative Determination of Antimicrobial Activity of Endemic Species from Genus *Stachys*. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 68(Suppl 2), 167-168. Online ISSN: 1857 – 8969. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2022.68.04.076>

### Резюме

В България се срещат 22 вида от род *Stachys* (сем. *Lamiaceae*), 5 от които са под закрилата на българския закон за биологичното разнообразие. *Stachys thracica* Davdov, *Stachys bulgarica* Degen & Neic и *Stachys scardica* Griseb са балкански ендемични видове, включени в Червената книга на България със статус „застрашен“.

Целта на настоящата работа е *ex situ* опазване на ендемичните видове *S. thracica*, *S. bulgarica*, *S. scardica* и сравнително изследване на антимикробната активност на екстракти, изолирани от *in situ*, *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани растения.

За *in vitro* култивиране на *S. thracica*, *S. bulgarica* и *S. scardica* бяха използвани предварително дезинфекцирани зрели изсушени семена. За покълване и култивиране бе използвана MS среда съответно разреждана или допълнително обогатена. Беше изследван ефектът на различни концентрации на цитокинин ВА върху растежа на *S. bulgarica* и *S. scardica*. *Ex vitro* адаптацията беше извършена във фитотронна камера с контролирани условия на околната среда и след това в оранжерия и опитно поле. Антимикробната активност на метанолните екстракти, получени от *in situ*, *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани растения от трите вида беше тествана срещу 9 Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии и *Candida albicans* чрез дисково-дифузионния метод. Минималната инхибираща концентрация (МИС) беше определяна чрез микро Разреждане в бульон. *In vitro* култури от застрашените видове *S. thracica*, *S. bulgarica* и *S. scardica* бяха успешно индуцирани чрез стерилизирани зрели изсушени семена. Регенерираните растения *S. thracica* имаха обилен растеж и добре развита коренова система, но при *S. bulgarica* и *S. scardica* растежният индекс беше по-слаб. Най-ефективните концентрации на цитокинина ВА за стимулиране на развитието при *S. bulgarica* и *S. scardica* бяха съответно 1 mg/L ВА и 1,5 mg/L ВА. *Ex vitro* адаптацията беше успешно извършена във фитотронна камера, оранжерия и опитно поле със 100% преживяемост за *S. thracica*, 96% за *S. bulgarica* и 92% за *S. scardica*.

В нашето пилотно проучване антимикробният спектър на метаноловите екстракти от отгледани *in situ*, *in vitro* култивирани и *ex vitro* адаптирани растения *S. thracica*, *S. bulgarica* и *S. scardica* беше подобен – с по-висока активност спрямо грам-отрицателните тест бактерии отколкото спрямо грам-положителните. Най-висока активност бе наблюдавана срещу *Acinetobacter calcoaceticus* и *Klebsiella pneumoniae*.

### Abstract

In Bulgaria there are 22 species of the genus *Stachys* (family *Lamiaceae*), 5 of which are under the protection of the Bulgarian biodiversity law. *Stachys thracica* Davdov, *Stachys bulgarica* Degen & Neic and *Stachys scardica* Griseb are Balkan endemic species included in The Red Data Book of Bulgaria with conservation status “endangered”.

The aim of the present work is *ex situ* conservation of the endemic species *S. thracica*, *S. bulgarica*, *S. scardica* and comparative study of antimicrobial activity of extracts isolated from *in situ*, *in vitro* cultivated and *ex vitro* adapted plants.

*In vitro* shoot cultures from *S. thracica*, *S. bulgarica*, *S. scardica* were induced from ripe dried seeds after sterilisation. For germination and cultivation was used halfstrength or supplemented MS medium, respectively. Then the effect of different concentrations of cytokinin BA on the growth of *S. bulgarica* and *S. scardica* was examined. *Ex vitro* adaptation was carried out in phytotron chamber with controlled environmental conditions and then in greenhouse and experimental field. The antimicrobial activity of the

methanolic extracts obtained from *in situ*, *in vitro* cultivated and *ex vitro* adapted plants from the three species was tested against panel of Gram-positive and Gram-negative bacteria and *Candida albicans* by agar disk diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by broth microdilution assay.

*In vitro* cultures from the endangered species *S. thracica*, *S. bulgarica* and *S. scardica* were successfully induced by sterilized ripe dried seeds. The regenerated *S. thracica* plants had vigorous growth and well-developed root system, but still *S. bulgarica* and *S. scardica* had poor growth index. The most effective concentrations of the cytokinin BA for stimulation of development in both *S. bulgarica* and *S. scardica* were 1 mg/L BA and 1.5 mg/L BA respectively. *Ex vitro* adaptation was successfully accomplished in phytotron chamber, greenhouse and experimental field with 100 % survival for *S. thracica*, 96% for *S. bulgarica* and 92% for *S. scardica*.

In our pilot study the antimicrobial spectrum of the methanolic extracts from *in situ* grown, *in vitro* cultivated and *ex vitro* adapted *S. thracica*, *S. bulgarica* and *S. scardica* plants was similar – the extracts were more active against Gram-negative bacteria rather than Gram-positive. A highest activity was observed against *Acinetobacter calcoaceticus* and *Klebsiella pneumoniae*.

25. Hristoskova, S., Yocheva, L., Yankov, D. (2016). Effect of Different Carbon and Nitrogen Sources on the Growth of Newly Isolated *Clostridium* Strains and Butyric Acid Production, *Scientific works of University of Food Technologies*, 63(1), 171-176. ISSN: 2535-1311.

### Резюме

През последните години нараства интересът към ферментативното производство на маслена киселина поради широкото ѝ приложение в химическата, хранителната, фармацевтичната и горивната промишленост.

В тази статия е изследван ефектът на различни източници на въглерод (глюкоза, арабиноза, ксилоза, глицерол и глицерол+глюкоза), с оглед увеличаване на добива на маслена киселина от 14 новоизолирани бактериални щамове от род *Clostridium* чрез периодично култивиране. Също така, към основната среда с оптимален източник на въглерод са добавяни пептон, дрождев екстракт, месен екстракт, триптон, така че да се определят и най-добрите източници на азот.

Резултатите от това проучване показват, че температура 37 °C, начално pH 7.5, глюкоза 20 (g/l) и комбинация от източници на азот, както следва: пептон (5 g/l), дрождев екстракт (6,5 g/l), триптон (2 g/l) води до по-високо производство на маслена киселина.

#### Практически приложения

Определянето на оптимални начални концентрации на въглеродни и азотни източници в средата е съществена стъпка за оптимизиране на процеса на ферментация.

Маслената киселина се използва широко в хранителни добавки, фармацевтични продукти, както и като консервант, поради което естественият ѝ произход е от изключително значение.

При последваща оптимизация на компонентите на средата и увеличаване на добива на целевия продукт може да се получи маслена киселина от микроорганизми, които не са генетично модифицирани.

### Abstract

In the recent years there is a growing interest in the fermentative production of butyric acid because of its wide applications in chemical, food, pharmaceutical, and fuel industries.

In this paper, the effect of different carbon sources, including glucose, arabinose, xylose, glycerol and glycerol+ glucose, in view to increase the yield of butyric acid by 14 new isolated bacteria of the genus *Clostridium* was studied by batch fermentation. Similarly, peptone, yeast extract, meat extract, tryptone, were added to the basic medium with optimal carbon source so that the best nitrogen sources were determined.

The results of this study showed that temperature of 37 °C, initial pH 7.5, glucose 20 (g/l) and a combination of nitrogen sources as follows: peptone (5 g/l), yeast extract (6.5 g/l), tryptone (2 g/l) led to higher butyric acid production.

Practical applications

The determination of optimum initial concentrations of carbon and nitrogen sources in the medium is an essential step in optimizing the fermentation process.

Butyric acid is widely used in food additives, pharmaceuticals, as well as a preservative, and therefore the natural origin is extremely important.

A subsequent optimization of the components of the medium and increasing the yield of the target product could be produced butyric acid by microorganisms that are not genetically modified.

26. Дреновска, К., Железова, Г., **Йочева, Л.**, Церовска, Л., Мануелян, К., Матеев, Г., Василева, С. (2013). Антивирусни серумни антитела при пациенти с автоимунни булозни дерматози. *Дерматология и венерология*, 2, 17-21. Print ISSN: 0417-0792.

### Резюме

Основна цел на настоящото проучване е определяне на наличието на антивирусни серумни антитела срещу определени херпесни и хепатитни вируси при болни с автоимунни булозни дерматози (АИБД). Изследвани са 44 пациенти с АИБД (19 с пемфигус и 25 с пемфигоид). За контроли са използвани 24 здрави лица и 20 пациенти с псориазис. Наличието на специфични серумни антитела срещу вирус херпес симплекс-1 (HSV-1), Epstein-Barr вирус (EBV), повърхностен антиген на хепатит В вирус (HbsAg) и хепатитен вирус С (HCV) се определя посредством търговски китове ELISA.

Антитела срещу HSV-1 се установяват при 44/44 (100%) от пациентите с АИБД - в значимо по-високи стойности в сравнение с болните с псориазис - положителни 17/20 (85%),  $p=0.027$ , и здравите контроли - положителни 21/24 (87.5%),  $p=0.040$ . Анти-EBV антитела се установяват също в най-висок процент при болните с АИБД - положителни 11/44 (25%), статистически значимо по-високи в сравнение с болните с псориазис - положителни 0/20 (<0%),  $p=0.013$  и здравите лица - положителни 1/24 (4.2%),  $p=0.044$ .

Антителата срещу HbsAg са положителни при 7/44 (15.9%) от болните с АИБД и съответно при 5/20 (25%) и 2/24 (8.3%) от болните с псориазис и здравите контроли. Не се доказва значима разлика между изследваните групи по отношение на тяхната серопозитивност. Антитела срещу HCV бяха установени в нисък процент само в групата с АИБД - 1/44 (2.3%).

Наличието на антитела срещу HSV-1 и EBV в по-висок процент при пациентите с пемфигус и пемфигоид в сравнение с контролите би се явило в подкрепа на предположението за участието им в патогенезата на АИБД.

### Abstract

The aim of our study was to detect the presence of antiviral serum antibodies against certain herpes and hepatitis viruses in patients with autoimmune bullous diseases (AIBD). Forty-four patients with AIBD (19 with pemphigus and 25 with pemphigoid) were studied and compared to control groups of 24 healthy individuals and 20 patients with psoriasis. Specific serum antibodies against herpes simplex virus-1 (HSV-1), Epstein-Barr virus (EBV), hepatitis B virus surface antigen (HbsAg) and hepatitis C virus (HCV) were detected using the corresponding commercial ELISA kits.

Circulating antibodies to HSV-1 were found in all patients 44/44 (100%) with AIBD in significantly higher values, compared to patients with psoriasis - positive 17/20 (85%),  $p=0.027$  and healthy controls - positive 21/24 (87.5%),  $p=0.040$ . EBV antibodies in patients with AIBD were positive in 11/44 (25%), which is statistically significant when compared to patients with psoriasis - positive 0/20 (0%),  $p=0.013$  and healthy individuals - positive 1/24 (4.2%),  $p=0.044$ .

HbsAg antibodies were detected in 7/44 (15.9%) of patients with AIBD, in 5/20 (25%) of patients with psoriasis and in 2/24 (8.3%) in healthy individuals. There was no statistically significant difference between the study groups in terms of distribution of seropositivity. Anti-HCV antibodies were detected only in the AIBD group - 1/44 (2.3%).

The presence of antibodies against HSV-1 and EBV in a high percentage in patients with pemphigus and pemphigoid compared to controls might suggest their involvement in the pathogenesis of these AIBD.



27. Железова, Г., Церовска, Л., **Йочева, Л.**, Матеева, В., Матеев Г. (2011). *Staphylococcus aureus* – колонизация и антибиотична резистентност при пациенти с атопичен дерматит, *Journal of Clinical Medicine* (JCM), 4(3), 40-46. ISSN: 1313-7778, ISSN: 1313-776X (engl).

### Резюме

**Цели и задачи:** Колонизацията със *Staphylococcus aureus* при болните с атопичен дерматит е важен фактор за възникване на усложнения, а нарастващата антибиотична резистентност на щамовете намалява възможностите за ефективна терапия. Цел на проучването бе да се установи наличието на колонизация със *S. aureus* по кожата и в носа при пациенти с атопичен дерматит и да се определи антибиотичната чувствителност на изолатите.

**Материали и методи:** Изследвани бяха 22 лица (деца и юноши) с различна тежест на заболяването. Прилагани бяха стандартни микробиологични методи за култивиране на щамове *S. aureus* и определяне на тяхната антибиотична резистентност.

**Резултати:** *S. aureus* бе изолиран при 64% от изследваните пациенти. При 46% от тях бе установена колонизация с бактерии едновременно върху засегнатите участъци от кожата и в носа, а при 18% - само при кожните лезии. При определяне на антибиотичната чувствителност на изолатите установихме: резистентни към penicillin 79%, към oxacillin и cefoxitin - 8% и към tetracycline - 28%. Всички щамове бяха чувствителни на clindamycin, vancomycin и fusidic acid (фузидиева киселина).

**Заключение:** При изследваните пациенти с атопичен дерматит установихме преобладаваща колонизация със *S. aureus* в кожните лезии в сравнение с носа и липса на антибиотична резистентност към фузидиевата киселина, често използвана за емпирично лечение на кожни стафилококови инфекции.

### Abstract

**Aims and objectives:** *Staphylococcus aureus* colonization in patients with atopic dermatitis is an important factor in the occurrence of complications, and increasing antibiotic resistance of the strains reduces the possibilities for effective therapy. The aim of the study was to determine the presence of colonization with *S. aureus* on the skin and nose in patients with atopic dermatitis and to determine the antibiotic susceptibility of isolates.

**Materials and methods:** 22 persons (children and adolescents) with different severity of the disease were studied. Standard microbiological methods were used to cultivate *S. aureus* strains and determine their antibiotic resistance.

**Results:** *S. aureus* was isolated in 64% of the studied patients. In 46% of them, colonization with bacteria was found simultaneously on the affected areas of the skin and in the nose, and in 18% - only in skin lesions. In determining the antibiotic susceptibility of the isolates, we found: resistant to penicillin 79%, to oxacillin and cefoxitin - 8% and to tetracycline - 28%. All strains were sensitive to clindamycin, vancomycin and fusidic acid.

**Conclusion:** In the studied patients with atopic dermatitis, we found a predominant colonization with *S. aureus* in skin lesions compared to the nose and lack of antibiotic resistance to fusidic acid, often used for empirical treatment of staphylococcal skin infections.

28. **Йочева, Л.**, Железова, Г., Церовска, Л. (2011). *Helicobacter pylori* инфекция при асимптоматични деца. *Journal of Clinical Medicine* (JCM), 4(3), 12-21. ISSN: 1313-7778, ISSN: 1313-776X (engl).

### Резюме

Инфекцията с *Helicobacter pylori* представлява проблем от световен мащаб, тъй като е разпространена в обществото с особено висока честота. Тя може да протече без никакви симптоми в продължение на редица години при част от инфектираните лица, но при други води до развитие на заболявания, като хроничен гастрит, язва и рак на стомаха, ако остане нелекувана. Счита се, че децата са най-чувствителни и възприемчиви към инфекцията с *H. pylori*, но сравнително по-рядко проявяват клинични признаци на заболяване. За да се разработи подходяща стратегия за

превенция, е важно да се разбере кога и как настъпва инфекцирането. Целта на настоящия обзор е да обобщи данните от епидемиологичните проучвания и да покаже тенденциите в разпространението на *H. pylori* инфекцията сред асимптоматични деца в периода 2000-2010 г. В обзора са представени възможните резервоари на *H. pylori*, очертани са основните пътища за предаване на инфекцията, показани са рисковите фактори за заразяване.

### Abstract

*Helicobacter pylori* infection is a problem of global importance as it is worldwide spread and has a particularly high prevalence among population. It may persist without any symptoms for many years but if untreated some people may develop diseases such as chronic gastritis, peptic ulcers and gastric cancer. It is considered that children are most susceptible to this infection, although they rarely present with clinical symptoms of illness. For the development of an appropriate prevention strategy, it is important to understand when and how the colonization occurs. The objective of the present review is to summarize the data of the epidemiological studies and to show the trends in the prevalence of *H. pylori* infection among asymptomatic children in the period 2000-2010. The article reveals the possible reservoirs of *H. pylori* as well as the basic transmission routes and the infection risk factors.

29. Железова, Г., Ташева-Терзиева, Е., Пенчева, Б., Михайлов, Р., Карагъзова, Д., Церовска, Л., **Йочева, Л. (2011)**. Серологично проучване на разпространението на инфекции с *Helicobacter pylori*, хепатит А и връзка между пътищата им на предаване при здрави български деца. *Journal of Clinical Medicine (JCM)*, 4(2), 25-31. ISSN: 1313-7778, ISSN: 1313-776X (engl).

### Резюме

**Цели и задачи:** Цел на настоящото изследване е определяне на серологичното разпространение на *H. pylori* и хепатит А инфекциите при здрави, асимптомни деца в България, както и изясняване ролята на фекално-оралния път на инфекциране при *H. pylori*.

**Материали и методи:** В настоящото изследване са включени 93 здрави деца на възраст от 1 до 15 г. Чрез ELISA метод бяха определени серумните нива на антитела срещу *H. pylori* и хепатит А.

**Резултати:** Определени бяха средните стойности на инфекцираност при здрави деца - 10.8% за *H. pylori* и 18.3% за хепатит А. Установено бе нарастване на процента инфекцирани деца с възрастта при хеликобактерната инфекция. От всички 93 изследвани деца, 6.4% бяха серопозитивни само за *H. pylori*, 14% само за хепатит А, 4.3% позитивни едновременно за хепатит А и *H. pylori* и 75.3% отрицателни и за двете инфекции.

**Заключение:** Установеното ниво на инфекцираност с *H. pylori* показва сравнително ниски стойности за нашата страна, а сравнението с хепатит А инфекцията не подкрепя фекално-оралния път на заразяване като основен.

### Abstract

**Aims and objectives:** The aim of the present study is to determine the serological prevalence of *H. pylori* and hepatitis A infections in healthy, asymptomatic children in Bulgaria, as well as to clarify the role of the faecal-oral route of infection in *H. pylori*.

**Materials and methods:** 93 healthy children aged 1 to 15 years were included in the present study. Serum levels of antibodies against *H. pylori* and hepatitis A were determined by ELISA.

**Results:** The average values of infection in healthy children were determined - 10.8% for *H. pylori* and 18.3% for hepatitis A. An increase in the percentage of infected children with age in *Helicobacter pylori* infection was found. Among 93 children studied, 6.4% were seropositive for *H. pylori*, 14% for hepatitis A, 4.3% were positive for both hepatitis A and *H. pylori*, and 75.3% were negative for both infections.

**Conclusion:** The established level of *H. pylori* infection shows relatively low values for our country, and the comparison with hepatitis A infection does not support the faecal-oral route of infection as the main mechanism of transmission.

30. **Йочева, Л.**, Панайотова, И., Антонова-Николова, С. (2011). Стартерни култури и тяхната роля в производството на сурово сушени колбаси. *Месо и месни продукти*, 4, 24-27 и 5, 31-35 (продължение). Print ISSN: 0861-6655.

#### Резюме

Ферментацията на месото е процес, използван от дълбока древност за удължаване на годността на иначе нетрайната суровина. По време на ферментацията, в резултат на сложни биохимични и физико-химични реакции, се променят съставът и структурата на месото, ароматните и вкусовите му качества и се получава съвършено нов продукт. Съществена роля в тези процеси има естествената микрофлора на месото и нейните метаболитни способности. В обзорната статия са обобщени данните за микробните видове важни за протичане на ферментационните процеси в месото, както и за прилаганите стартерни култури и технологичните изисквания към тях в производството на сурово сушени колбаси.

#### Abstract

Meat fermentation is a process used since ancient times to extend the shelf life of otherwise perishable raw materials. During fermentation, as a result of complex biochemical and physico-chemical reactions, the composition and structure of the meat, its aromatic and taste qualities are changed and a completely new product is obtained. The natural microflora of meat and its metabolic abilities play an important role in these processes. The review article summarizes the data on microbial species important for the fermentation processes in meat, as well as on the applied starter cultures and technological requirements for them in the production of raw dried sausages.

31. Добрева-Йосифова, Г., **Йочева, Л.**, Данова, С., Антонова-Николова, С. (2011). Киселите закваски в производството на ръжени и ръжено-пшенични хлебни изделия. *Хранително-вкусова промишленост*, 5, 42-48. Print ISSN: 1311-0179.

#### Резюме

Производството на ръжен и ръжено-пшеничен хляб с използване на кисели закваски е традиционно за много от европейските страни. В последните години и в България се увеличава консумацията на този вид хлебни изделия. Настоящият обзор дава информация за химичния състав на ръженото брашно като основен компонент на киселото тесто и за различията му с пшеничното брашно по отношение на белтъчини, въглехидрати, минерални вещества, витамини и ензими. Описани са характерните особености на закваските, прилагани в киселата ферментация на тестото при традиционните технологии и в индустриалното производство и са обобщени данните за техния микробен състав. Подчертано е, че видовото разнообразие на двете основни групи ферментиращи микроорганизми - дрожди и млечнокисели бактерии, както и сложните метаболитни взаимодействия между тях са от решаващо значение за качеството на хляба.

#### Abstract

The rye and rye-wheat bread production using sour-dough is a tradition for many European countries. The consumption of this kind of bread in Bulgaria increases in recent years, too. The present review gives information about chemical composition of rye flour as a main component determining the sourdough quality. It shows the differences between the rye and wheat flour about the composition of proteins, carbohydrates, mineral substances, vitamins and enzymes. The characteristics of the three types sourdough applied in traditional technologies and industrial production are described. The data for microbial composition of these types sourdough are summarized. It is emphasized, that species diversity of two major group microorganisms - yeasts and lactic acid bacteria and complex metabolic relationships between them are of prime importance for bread quality.

32. **Yocheva, L., Vassileva, R., Antonova-Nikolova, S. (2010).** Some Microbiological and Technological Aspects of Chickpea Fermentation. *Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus*, 659-661. April 15-17, 2010. Tekirdağ, Turkey.

### Резюме

Симидът - хляб, приготвен от бяло пшенично брашно и мая от нахут (*Cicer arietinum*), е едно от традиционните хлебни изделия за България и някои страни от Балканите и Близкия Изток. Производството на симид се извършва на няколко етапа. Първата стъпка - получаване на активна закваска има решаваща роля за формиране на характерен вкус, аромат и фина зърниста средина на хляба. Този етап се основава на спонтанна ферментация, причинена от естествената повърхностна микрофлора на нахутовите зърна.

Целта на настоящата работа е да се изследва микробната популация по време на ферментационния процес, да се определи съотношението на микробните компоненти и тяхното влияние върху някои технологични показатели на закваската.

Наблюдавани са значителни различия между изследваните проби нахут от различни географски региони на България според интензитета на газообразуване и продължителността на ферментацията, които варират между 8 и 18 часа. Теста, замесени със закваска, получена на различни етапи на ферментация, имат различна текстура. Установихме, че спонтанната ферментация е причинена от смесена микробна популация, включваща Грам-положителни аеробни, анаеробни и факултативни анаеробни спорообразуващи бактерии. Съотношението аероби/анаероби се променя по време на процеса на ферментация. Коки, дрожди и плесени не са открити. Представители на родовете *Bacillus* и *Clostridium* бяха доказани като основни компоненти на смесената микробна популация в активната закваска. Доказана е и решаващата роля на видовете *Clostridium* за образуването на газ. При съхранение на изолатите в течен азот и в лиофилизирано състояние технологичните им свойства се запазват.

### Abstract

The simit, bread prepared from white wheat flour and chick-pea (*Cicer arietinum*) starter, is one of the traditional baked goods for Bulgaria and some countries from the Balkans and the Near East. The simit production is carried out in several stages. First step - obtaining an active starter has a decisive role for formation of characteristic taste, aroma and fine granular crumb of the bread. This stage is based on a spontaneous fermentation caused by natural surface microflora of chick-pea beans.

The aim of the present work is to study microbial population during the fermentation process, to determine the proportion of microbial components and their impact on some technological indexes of the starter.

Significant differences among studied samples chick-pea from different geographical regions of Bulgaria according to gas formation intensity and duration of fermentation, which varied between 8 and 18 hours, were observed. The doughs kneaded with starter obtained at different fermentation stages had different texture. We established that spontaneous fermentation was caused by mixture microbial population including Gram positive aerobe, anaerobe and facultative anaerobe spore forming bacteria. The proportion aerobes/anaerobes changed during the fermentation process. Cocci, yeasts and moulds were not found. Members of the genera *Bacillus* and *Clostridium* were proved as basic components of the mixed microbial population in active starter. The decisive role of *Clostridium* species for gas formation was proved, too. The preservation of the isolates in liquid nitrogen and in lyophilized state kept their technological properties.

33. **Yocheva, L., Dobreva, G., Savova, I., Antonova-Nikolova, S. (2009).** Microflora of Rye Sourdoughs from Different Geographical Regions of Bulgaria, *Ecologica*, year XVI, 53, 9-14. ISSN: 0354-3285.

### Резюме



Изследвани са кисели теста, приготвени чрез спонтанна ферментация на ръжени брашна, произведени в два географски района на България. Установено е, че смесена микробна популация от млечнокисели бактерии и дрожди причинява спонтанна ферментация на изследваните ръжени брашна. По отношение на ферментацията тази популация става доминираща над останалите бактериални групи, присъстващи в брашната и напълно инхибира растежа им. Изолираните дрожди са определени таксономично чрез морфологични и биохимични тестове. Установени са само два вида дрожди: *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida glabrata*. Изолираните щамове млечнокисели бактерии са охарактеризирани чрез класически методи и е определена принадлежността им към родове: *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* и *Streptococcus*. През целия период на ферментация в двете теста преобладават представители на род *Pediococcus* и лактобацили с хомоферментативен тип на усвояване на глюкозата. Установено е, че количеството метаболитно активни клетки, родовото и видовото разнообразие на микробната популация зависят от географския регион на производство на брашното.

### Abstract

The sourdoughs prepared by spontaneous fermentation of rye flours produced in two geographic regions of Bulgaria were studied. Mixed microbial population of lactic acid bacteria and yeasts was found to cause the spontaneous fermentation of studied rye flours. In term of the fermentation this population became dominant over the other bacterial groups present in the flours and inhibited their growth completely. The isolated yeasts were determined by using morphological and biochemical tests. They were composed only of two species: *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida glabrata*. Isolated strains of lactic acid bacteria were characterized by classical methods and were related to the genera: *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Streptococcus*. The representatives of genus *Pediococcus* and lactobacilli with homofermentative type of glucose utilization were predominant in two doughs over the whole fermentation period. It was found that the amount of metabolic active cells, genus and species diversity of microbial population depended on the geographical region of flour production.

34. Dobreva-Yosifova, G., **Yocheva, L.**, Georgieva, R., Danova, S., Antonova-Nikolova, S. (2009). Phenotypic Characterization and Molecular Analysis of Lactobacilli from Bulgarian Rye Sourdough, Crop 2004 year. "Food Science, Engineering and Technologies 2009", October 23–24, 2009, Plovdiv, Bulgaria. *Scientific works of University of Food Technologies*, 56(1), 609-614. ISSN: 2535-1311.

### Резюме

Ръженият хляб е традиционен продукт с отличен потенциал в здравословното хранене. В България, производството на ръжен хляб се основава на спонтанна ферментация на кисело тесто и данните, които съществуват за стартерната микрофлора са много ограничени.

Млечнокиселата популация на българско кисело тесто, реколта 2004 година е изследвана с помощта на конвенционални физиологични и биохимични тестове. Въз основа на предварителен скрининг, основаващ се на фенотипни характеристики са изолирани 53 щамове. Установено е присъствието на млечнокисели бактерии от 4 рода. С помощта на API 50 CHL system 14 щамове лактобацили са идентифицирани и отнесени към вида *Lactobacillus plantarum*. Секвенционният анализ на 16S рДНК на 6 лактобацилни щамове потвърждава тяхната принадлежност към *L. plantarum* и *L. brevis*.

### Abstract

Rye bread is a traditional product with great potential in healthy nutrition. In Bulgaria, the production of rye bread is based on spontaneous sourdough fermentation and very limited data about the starter microflora exists.

The lactic acid population of Bulgarian sourdough from rye crop 2004 year was investigated with conventional physiological and biochemical tests. The preliminary screening based on observed phenotypic characteristics allowed isolation of 53 strains. The presence of lactic acid bacteria from four genera was found. Fourteen *Lactobacillus* strains were identified by API 50 CHL system and were related

to the species *L. plantarum*. Sequence analysis of 16S rDNA of 6 *Lactobacillus* strains confirmed their affiliation to *L. plantarum* and *L. brevis*

35. Антонова-Николова, С., Йочева, Л., Панайотова И. (2009). Микрофлора на сурово сушени колбаси и стартерните култури при тяхното производство. *Хранително-вкусова промишленост*, 5, 53-56. Print ISSN: 1311-0179.

#### Резюме

В тази обзорна публикация се дава информация за микрофлората и промените на месото при зреене на традиционните сурово сушени колбаси, за ролята на млечнокиселите бактерии и коагулазоотрицателните микрококи при формирането на уникална структура, цвят, аромат и вкус на естествено ферментирани колбаси, както и за възможностите за използването им като стартерни култури.

#### Abstract

The present review gives information about the microflora and the changes flowing in the meat during ripening period of traditional dry sausages. It is shown the important role of lactic acid bacteria and coagulase-negative cocci for the formation of the unique structure, colour, aroma and taste of the naturally fermented sausages. The possibilities for their application as starter cultures are pointed.

36. Yocheva, L., Baeva, M., Vassileva, R., Lambov, S., Panchev, I. (2007). Investigation the Influence of Edible Films upon the Microbiological Characteristics of a Small Loaf during Storage, *Food Processing Industry Magazine*, Specialized edition, 2, 8-13. Print ISSN: 1311-0179.

#### Резюме

Микробиологичните показатели за трайността на малко хлебче са определени съгласно стандартни класически методи. Проведен е сравнителен анализ за влиянието на четири вида хранителни покрития върху микробиологичното състояние на малко хлебче в процес на съхранение до 3 дни. Хранителните полизахаридни покрития са приготвени на основата на карбоксиметилцелулоза, ксантан, пектин и полимиксан. Установено, е че те благоприятстват развитието на микроорганизми в сравнение с контролата, както по повърхността, така и в средината на хляба. Източник на установените колиформи се оказват емулсиите на всички изследвани хранителни покрития. По показател коагулазоположителни стафилококи, салмонели, дрожди и плесени, всички видове проби от малкото хлебче (без и с покрития) и емулсиите на покритията отговарят на изискванията за добра производствена практика. Възможна алтернатива за запазване на добро санитарно-хигиенно състояние на хляб с хранителни полизахаридни покрития в процеса на съхранение е добавяне на компонент с бактерициден или бактериостатичен ефект към емулсиите на покритията.

#### Abstract

The microbiological characteristics for small loaf durability were determined according the standard classic methods. Comparative analyses of four types of edible films deposited onto a small loaf in respect to its microbiological status during three-days storage were carried out. During the deposition of edible films, containing four types of polysaccharides (carboxymethylcellulose, xanthan, pectin and polymyxan), onto a small loaf in the process of storage was found that the films have advantaged the development of microorganisms both on loaf surface and crumb. The sources of the ascertained coliforms in the covered small loaf were the emulsions of all four examined edible films. According to the index data for coagulase-positive staphylococci, *Salmonella* spp., yeasts and moulds all types of examined samples of small loaf (covered and uncovered) and the corresponding emulsions of films comply with the good manufacturing practice requirements. An alternative for keeping the sanitary-hygienic state of the

covered small loaf during three-days storage is the addition of a component with bacteriocidal or bacteriostatic effect to the emulsion of polysaccharide film.

37. Antonova-Nikolova, S., Stefanova, V., **Yocheva, L. (2007)**. Taxonomic Study of *Streptomyces* Strain 34-1. *Journal of Culture Collections*, (2006-2007), 5, 10-15. Print ISSN: 1310-8360.

#### Резюме

Настоящата работа е част от комплексно изследване на *Streptomyces* sp. щам 34-1 – продуцент на трипсин и трипсин-подобни протеазни инхибитори с антивирусен ефект. Таксономично значимите свойства на щама са изследвани съгласно International Streptomyces Project (ISP). Идентифицирането на щама се основава на ключа на Nonomura. Морфологичните, културалните, физиологичните и биохимичните характеристики на *Streptomyces* sp. щам 34-1 бяха сравнени с тези на референтни шамове на няколко вида стрептомицети. Щамът е идентифициран като *Streptomyces chromofuscus* и е обозначен като *S. chromofuscus* 34-1.

#### Abstract

The present work is a part of a complex study of *Streptomyces* sp. strain 34-1 -a producer of trypsin and trypsin-like protease inhibitors with antiviral effect. The taxonomically significant properties of the strain were examined according to the International Streptomyces Project (ISP). The identification of the strain was based on Nonomura's key. The morphological, cultural, physiological and biochemical characteristics of *Streptomyces* sp. strain 34-1 were compared with the references for similar streptomyces species. The strain was identified as *Streptomyces chromofuscus* and designated as *S. chromofuscus* 34-1.

38. Antonova-Nikolova, S., Tzekova, N., **Yocheva, L. (2005)**. Taxonomy of *Streptomyces* sp. Strain 3B. *Journal of Culture Collections*, (2004-2005), 4, 22-29. Print ISSN: 1310-8360.

#### Резюме

Щам *Streptomyces* sp. 3B произвежда високоактивен извънклетъчен протеолитичен комплекс, в който са идентифицирани серинови и металопротеази. Основните и някои други значими за таксономията свойства на щама са изследвани по методите на International Streptomyces Project. Резултатите от изследването на *Streptomyces* sp. 3B и сравнителните данни за видове от род *Streptomyces* със сходни таксономични характеристики го идентифицират като *Streptomyces albovinaceus*. Тествана е също така и антимицробната активност и чувствителността към антибиотици на щама. Щам 3B е резистентен към групата на пеницилиновите антибиотици.

#### Abstract

Strain *Streptomyces* sp. 3B produces high activity extracellular proteolytic complex, in which serine- and metalloproteases are identified. The general and some other significant properties for the taxonomy of the strain were studied by the methods of the International Streptomyces Project. The results of the investigation of *Streptomyces* sp. 3B and the comparative references about *Streptomyces* species with similar taxonomic characteristics identified it as *Streptomyces albovinaceus*. The antibiotic activity and susceptibility were also tested. Strain 3B was resistant to the group of the penicillin antibiotics.

39. Антонова-Николова, С., Василева, Р., **Йочева, Л. (2003)**. Нахутова ферментация за производство на симиди. *Хранително-вкусова промишленост*, 7, 11-13. Print ISSN: 1311-0179.

### Резюме

В настоящата статия са обобщени резултатите от проведените изследвания върху нахутовата ферментация, която е в основата на производството на симиди. Производството на симиди е традиционно за България, но не е достатъчно познато на повечето млади българи. Автентичното производство на симиди като ритуални хлебни изделия на семейството е запазено само в някои региони на страната.

Проучено бе, че нахутовата мая по своята същност е спонтанна маслено кисела ферментация, предизвикана от спорообразуващите микроорганизми по повърхността на нахутовите семена. От микробиологична гледна точка нахутовата мая съдържа смесена микробна популация от Грамположителни, аеробни, анаеробни и факултативни анаеробни бактерии от род *Bacillus* и род *Clostridium*. Качественият състав на маята варира в зависимост от наличните микроорганизми в семената на нахута, условията на тяхното съхранение и от чистотата на закваската. Селекционирани са активни стартерни култури и са разработени варианти на етапите за производство на симид.

### Abstract

The present work summarizes the results of the scientific investigations on the fermentation of the chickpeas beans, which lies at the root of the simitt production. The simitt is an excellent traditional product for Bulgaria, which is completely unknown for the most of the young Bulgarian. The authentic preparation of the simitts as ritual breads at the family ceremonies is conserved in some regions of the country.

It was established that chickpeas yeast was obtained by spontaneous butyric acid fermentation caused by spore forming surface microflora of the chickpeas beans. From the point of view of the microbiology the chickpeas yeast was mixed microbial population from Gram-positive, aerobe, anaerobe and facultative anaerobe bacteria from genera *Bacillus* and *Clostridium*. The quality of the starter varied depending on the microflora content of the chickpeas beans, the storage conditions of the pure starter cultures. The qualitative active starter cultures were selected and variants of the basic stapes for preparation and production of simitt was suggested.

40. Ivanova, V., **Yocheva, L.**, Schlegel, R., Graefe, U., Kolarova, M., Aleksieva, K., Naidenova, M. (2002). Antibiotic Complex from *Streptomyces flavovirens* 6<sup>7</sup>, Isolated from Livingston Island, Antarctica. *Bulgarian Antarctic Research, Life Science*, 3, 35-42. ISBN: 954-642-219-3.

### Резюме

Три основни актиномицинови антибиотика бяха открити чрез химичен и биологичен скрининг в културалната среда на *Streptomyces flavovirens* 6<sup>7</sup>, изолиран от почвени проби, събрани на антарктическият остров Ливингстън. Антибиотиците бяха разделени и пречистени чрез препаративни хроматографски методи. Идентифицирането е извършено чрез TLC, HPLC, UV-VIS и мас-спектрометрични изследвания.

### Abstract

Three main actinomycin antibiotics were discovered by chemical and biological screening in the culture broth of *Streptomyces flavovirens* 6<sup>7</sup>, isolated from soil samples collected on the Antarctic Livingston Island. The antibiotics were separated and purified by preparative chromatographic methods. The identification was performed by TLC, HPLC, UV-VIS and mass-spectrometric studies.



41. **Yocheva, L.,** Najdenova, M., Doncheva, D., Antonova-Nikolova, S. (2002). Influence of the Long-Term Preservation on Some Biological Features of Three Streptomyces Strains, Producers of Antibiotic Substances. *Journal of Culture Collections*, 4, 30-39. Print ISSN: 1310-8360.

#### Резюме

Изследвано е влиянието на дългосрочното съхранение в лиофилизирано състояние върху преживяемостта, морфологията и антимикробната активност на три стрептомицетни щама: *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes* 695, *Streptomyces albogriseolus* 444 и *Streptomyces* sp. T 741. Установено е, че жизнеспособността на щамове зависи не само от условията на лиофилизация, но и от физиологичното състояние и щамовите особености на културите. Спорите на щамове 695, 444 и T-741 остават жизнеспособни съответно 13, 21 и 8 години. В същото време се наблюдава повишаване на полиморфизма на щамове 695 и 444 и поява на нови морфологични типове. Методът на лиофилизация е подходящ и за дългосрочно съхранение на антибиотичната активност на трите щама. Активността се запазва до 80-90% от първоначалната.

#### Abstract

The influence of long-term preservation in lyophilized state on the survival, the morphology and antibiotic activity of three streptomyces strains *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes* 695, *Streptomyces albogriseolus* 444 and *Streptomyces* sp. T 741 was studied. It was established that viability of the strains depended not only on the conditions of lyophilization but also on the physiological state and strain features of the cultures. The spores of the strain 695, 444 and T- 741 remained viable 13, 21 and 8 years respectively. At the same time an increase of the polymorphism of the strains 695 and 444 and appearance of new morphological types was observed. The method of lyophilization was suitable also for long-term storage of antibiotic activity of the three strains. The activity was retained to 80-90% from initial one.

42. **Yocheva, L.,** Antonova-Nikolova, S. (1998). Natural Polymorphism of Strain *Streptomyces galbus* (F) subsp. *achromogenes* 695. *Journal of Culture Collections*, 2, 30-39. Print ISSN: 1310-8360.

#### Резюме

Изследвана е естествената изменчивост на щам *Streptomyces galbus* (F.) subsp. *achromogenes* 695. Промените на три характеристики: морфология на колонии, образуване на дифундиращ пигмент и антибиотична активност са проследени при растеж върху 21 агарови среди. Установено е, че полиморфизмът на щама е най-голям на среда Гаузе 1. Популацията се разделя на четири морфологични типа колонии и един подтип от тип I, които се различават по етапа на развитие на въздушния мицел и по интензивността на цвета на въздушния и субстратния мицел и на разтворимия пигмент.

Наблюдава се положителна корелация между антибиотичната активност и биосинтеза на дифундиращия пигмент.

Вариантите от основния (I) морфологичен тип имат най-висока антибиотична активност. За по-нататъшно проучване е избран щам 695-3, чиято активност е с 20% по-висока от тази на първоначалната култура.

#### Abstract

The natural variability of strain *Streptomyces galbus* (F.) subsp. *achromogenes* 695 was examined. The changes of three characteristics: morphology of the colonies, formation of diffusible pigment and antibiotic activity, were studied on 21 agar media.

It was established that the polymorphism of the strain was the greatest on Gauze's № 1 medium. Its population divided into four morphological types of colonies and one subtype of type I, which differed in the development stage of the aerial mycelium and in the colour intensity of the aerial and vegetative mycelium and of the soluble pigment.

A positive correlation between the antibiotic activity and the biosynthesis of diffusible pigment was observed.

The variants of the basic (I) morphological type had the highest antibiotic activity. Strain 695-3, which activity was with 20% higher than the one of the initial culture, was chosen for further investigation.

43. Ремичкова, М., Бакалов, Б., Рачев, Р., **Йочева, Л. (1998)**. Характеризиране на извънклетъчни бета-лактамази от *Streptomyces galbus* 695-P59. IX Congress of Bulgarian Microbiologists with Foreign Participation, Proceeding, vol. 2, Appl Microbiol Virology, 37-41, (Eds. S. Neytcheff, Ts. Angelova, S. Dimov), Publishing group, Union of Scientists in Bulgaria.

#### Резюме

Изследвана е продукцията на  $\beta$ -лактамази от *Streptomyces galbus* 695, *S. galbus* 154, *S. galbus* 695-3-2, *S. galbus* 695-3-2-154 и *S. galbus* 695-P59. Всички щамове синтезират  $\beta$ -лактамази. *S. galbus* 695-P59 е най-активният продуцент сред щамовете. Щамът синтезира  $\beta$ -лактамази конститутивно и извънклетъчно, като повечето стрептомицети. Изследвани са времевия интервал на продукция на  $\beta$ -лактамази, оптималното рН, топлинната стабилност и растежа на *S. galbus* 695-P59. От супернатанта на културалната среда на *S. galbus* 695-P59 са изолирани и пречистени два типа  $\beta$ -лактамази. Установено е, че ензимите функционират като пеницилинази, а не като цефалоспоринази.

#### Abstract

The production of  $\beta$ -lactamases by *Streptomyces galbus* 695, *S. galbus* 154, *S. galbus* 695-3-2, *S. galbus* 695-3-2-154 and *S. galbus* 695-P59 was studied. All strains produced  $\beta$ -lactamases. *S. galbus* 695-P59 was the highest producer among the strains. The strain produced  $\beta$ -lactamases constitutively and extracellularly like most *Streptomyces* strains. The time course of  $\beta$ -lactamase production, pH optimum, heat stability and growth of *S. galbus* 695-P59 were studied. Two  $\beta$ -lactamases from culture supernatant of *S. galbus* 695-P59 were isolated and purified. The enzyme function was established primarily as penicillinases rather than cephalosporinases.

44. Василева, Р., Антонова-Николова, С., **Йочева, Л. (1998)**. Технологична оценка на щамове бактерии, изолирани от нахутова мая за хлебни изделия. IX Congress of Bulgarian Microbiologists with Foreign Participation, Proceeding, vol. 2, Appl Microbiol Virology, 245-249, (Eds. S. Neytcheff, Ts. Angelova, S. Dimov), Publishing group, Union of Scientists in Bulgaria.

#### Резюме

Извършена е технологична оценка на 41 щамове бактерии, изолирани от естествената микрофлора на нахутовата мая. Направена е оценка на способността на културите да предизвикват нахутова ферментация на тестото. Това е необходимо за избор на най-добре активирани бактериални щамове с цел създаване на закваски за приготвяне на симидени хлебни изделия. Проследени са следните технологични свойства: газообразуваща способност, подемна сила и мирис на нахутовата мая, която е приготвена от изолираните култури. Определени са най-добрите бактериални щамове за приготвяне на хляб: ба-1, ба-2 и Vm, които ще бъдат изследвани по-обстойно.

#### Abstract

It was held technological evaluation of the 41 strains bacteria, isolated from the natural microflora of the chick-pea's yeast. An evaluation of the capacity of the cultures to defy chick-pea's fermentation of the dough was made. It was necessary for choice of the best activated bacterial strains with aim creating of starter-cultures for prepare of simitt bread products. It was utilized the following technological properties: gas producing power, raising power and odour of the chick-pea's yeast, which was prepared with the isolated cultures. The best bacterial strains for the bread making were determined: ба-1, ба-2 and Vm, which will be research in depth.

45. Василева, Р., Антонова-Николова, С., Йочева, Л. (1997). Изолиране на чисти култури от нахутова (симитена) мая. *Научни трудове на СА*, 4(3), 14-17. ISSN: 1310-4462.

#### Резюме

Хлебните продукти, приготвени с помощта на нахутова мая, имат специфичен вкус и мирис. Старите българи ги помнят като много вкусен и привлекателен деликатес. Възраждането на тяхното производство изисква стабилен технологичен подход и това налага задълбочено изследване на ферментативната микрофлора. Целта на изследването е изолиране на чисти култури от нахутовата мая с оглед проучване на възможностите за създаване на стартерна култура. Отработени са културелните условия за изолиране на чисти култури от специфичната микрофлора на нахутовата мая. Изолирани са двадесет и три щама, причиняващи ферментация. Те принадлежат към 6 морфологични типа колонии. Представяват подвижни пръчковидни бактерии със заоблени краища. По-старите клетки са вретеновидни със субтерминално разположени ендоспори, което предполага принадлежността им към род *Clostridium*.

#### Abstract

Bread products prepared with the help of chick-pea's yeast have specific taste and odour. The old Bulgarians remember them as very tasty and attractive delicacy. The revival of their production needs a stable technological approach and this imposes deep investigation of the fermentative microflora. The aim of the investigation is an isolation of pure cultures from chick-pea's yeast with a view to study the opportunities of creation of starter culture for its preparation. The cultural conditions for isolation of pure culture from chick-pea's yeast specific microflora are worked off. Twenty-three strains causing the fermentation are isolated. They belong to 6 morphological types of colonies. They are motile rod-shaped bacteria with rounded ends. Older cells are spindle-shaped with subterminal endospores, which suppose their belonging to genus *Clostridium*.

03.08.2023 г.

София

Подпис: .....  .....

гл. ас. д-р Любомира Димитрова Йочева