

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Нели Влодова Георгиева

Катедра „Биотехнология“, ХТМУ - София

Относно: дисертационен труд, представен за защита пред научно жури, сформирано със заповед № РД 38-163/01.04.2024 г. на Ректора на Софийския университет „Св. Кл. Охридски“ за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ в област на висше образование 5. Технически науки, професионално направление 5.11. Биотехнологии (Технология на биологично активните вещества).

Тема на дисертационния труд: „Функционални и технологични характеристики на новоизолирани щамове млечнокисели бактерии от традиционни храни“

Автор на дисертационния труд: Рамизе Ходжа

Научен ръководител: доц. д-р Диляна Николова

Настоящата рецензия е изготвена в съответствие с нормативните документи – Закон за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото прилагане и Препоръките на Факултетния Съвет на Биологически Факултет за критериите при придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ за професионално направление 5.11. Биотехнологии.

1. Данни за докторанта

Докторант Рамизе Ходжа придобива бакалавърска степен специалност „Биотехнология“ през 2015 г. в Университета на гр. Тирана, Албания, а през 2017 г. получава ОКС „Магистър“, специалност „Молекулярна и Индустриална биотехнология“ в същия университет. След дипломирането си, тя е зачислена за редовен докторант в професионално направление 5.11. Биотехнологии, докторска програма „Технология на биологично активни вещества“ към катедра „Биотехнология“ на Биологическия факултет, съгласно Заповед № РД-20-1097/11.07.2018 г. на Ректора на СУ „Св. Кл. Охридски“, а със Заповед № РД-20-919/09.05.2023 г. е отчислена с право на защита на основание чл. 74, ал. 1 от Закона за висшето образование, чл.24, ал. 2 и ал. 6 от Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в Република България, чл. 63, ал. 2 и ал. 6 от

Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Кл. Охридски“ и решение на Факултетния съвет на Биологически факултет от 25.04.2023 г. За срока на редовната докторантура, Рамизе Ходжа успешно е положила всички необходими изпити.

2. Актуалност и значимост на дисертационния труд

Дисертационният труд, представен от Рамизе Ходжа е посветен на важните в биотехнологично отношение млечнокисели бактерии, които са с доказана роля за здравето на хората в качеството си на пробиотици. Множество са полезните ефекти свързани с пробиотиците и по-голямата част от тях са добре проучени и документирани в литературата. Изборът на млечнокисели бактерии, които да бъдат използвани като пробиотици, хранителни добавки или биотерапевтични агенти е сложен и многоетапен процес. Пробиотичните бактерии имат потенциала да повлияват и върху имунния отговор в желана посока. През последните години науката и индустрията усилено се стремят да задоволят нарастващото търсене към нови пробиотични продукти. Търсенето на нови щамове с доказан благоприятен ефект върху здравето, различни функционални характеристики, пробиотични и биотехнологично значими показатели е важно за задоволяване на нарастващите нужди на пазара и получаването на разнообразни функционални храни. Приемът на хранителни добавки, съдържащи пробиотици има доказан положителен ефект върху здравето на консуматора, като през последните години са натрупани много данни, доказващи успешната превенция и лечение на чревни инфекции чрез пробиотици, антитуморен ефект, положително влияние при сърдечни заболявания. Пробиотиците дават естествена и щадяща организма алтернатива за справяне с локални дисфункции на гастро-интестиналния тракт, както и свързаните с това състояния на единични, остри и/или хронични възпалителни процеси. Към настоящия момент пробиотичните продукти са се превърнали в многообещаваща възможност за винаги отворения пазар на иновации, целящи подобряване качеството на живот на хората. Ето защо, разработката на пробиотични продукти представлява интерес, както от чисто научна, така и от икономическа гледна точка. Изследванията на докторантката са насочени към изолиране на нови щамове млечнокисели бактерии от микробиотата на традиционно подготвени млечни,

месни и спонтанно ферментирали продукти и изследване на техните функционални и технологични свойства за приложение в нови хранителни продукти с подобрени функционални характеристики и здравословни ефекти. Ето защо считам, че представеният ми за рецензия дисертационен труд от Рамизе Ходжа е актуален и определено с практическо значение. Съдържанието на дисертационния труд напълно покрива обявената номенклатурна специалност по професионално направление 5.11 Биотехнологии, научна специалност “Технология на биологично активните вещества” за присъждане на ОНС “Доктор”.

3. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 143 стандартни страници текст, А4 формат, като е спазена общоприетата схема, както следва: *Увод* – 1 стр., *Литературен обзор*- 50 стр., *Цел и задачи* – 2 стр., *Материали и методи* – 12 стр., *Резултати и дискусия* – 45 стр., *Изводи* – 2 стр., *Приноси* - 1 стр.; *Литература* – 20 стр. (323 източника), *Приложения* – 2 стр. Спазени са препоръчителните съотношения между отделните части на труда. Много добро впечатление правят стегнатия научен стил и техническото оформление на дисертацията. Работата е много добре илюстрирана като резултатите са обобщени и представени в 18 таблици и 22 фигури, както и богат снимков материал и 1 приложение отразяващи получените резултати.

Уводът целенасочено въвежда към актуалността и същността на разработваната тема – изолиране на нови щамове млечнокисели бактерии от микробиотата на традиционно подготвени млечни, месни и спонтанно ферментирали продукти и проучването на техните функционални и технологични свойства за приложение в нови хранителни продукти с подобрени функционални характеристики и здравословни ефекти.

4. Литературен обзор

Литературният обзор е стегнат и в същото време е анализирана голяма по обем научна информация. Съдържа няколко раздела, отразяващи съвременните тенденции по научния проблем. От цитираните литературни източници – 2/3 са от последните 10 години. Това е доказателство за отлична теоретична подготовка на докторантката и е предпоставка за успешна работа. Литературният обзор е написан

на висок научен стил и показва много добра осведоменост в областта на дисертационната тема, умение за боравене с литературни източници, да се обобщава и анализира, умение да се поднася съвременна информация за широк кръг специалисти. Разграничават се няколко основни теми в литературния обзор, тясно свързани помежду си. Докторантката е представила характеристика на функционалните храни и здравословните ползи от тях, като се е спряла подробно на млечнокиселите бактерии (МКБ), тяхното приложение и синтезираните от тях биологично активни вещества. В следващия раздел от литературния обзор, докторантката се спира на класическите и съвременни методи в изследванията на МКБ – целогеномното секвениране, количествена полимеразна верижна реакция, PCR и др. Докторантката обръща внимание също на провежданите досега изследвания върху МКБ от чужди автори в световен мащаб, както и приноса на българските учени в тази област. Традиционните храни като източници на нови щамове МКБ с функционални и пробиотични свойства подробно са обсъдени в литературния обзор, като докторантката подробно е описала тези храни, характерни за регион Гора в Албания.

5. Цели и задачи

Въз основа на представената информация, докторантката ясно и точно формулира целта и свързаните с нейното постигане 4 експериментални основни задачи и 15 подзадачи, което е свидетелство за предварително добре обмислен и задълбочен подход към осъществяване на научното изследване. Основните задачи са: изолиране на нови щамове МКБ от микробиотата на традиционни ферментирани продукти, изследване на функционални и пробиотични свойства на новоизолираните щамове МКБ, определяне на основни технологични характеристики на изследваните щамове, включване на подбрани щамове от новите изолати в моделен продукт и определяне на основни характеристики на продукта.

6. Материали и методи

В раздел Материали и методи прецизно са описани използваните при проведеното проучване новоизолирани микроорганизми, реактиви и консумативи, както и необходимата апаратура. Изследването е осъществено с помощта на подходящи за постигане на поставените цели и задачи класически и съвременни

методи – микробиологични, биохимични, генетични и микроскопски методи. Всички те са описани изключително подробно, което би позволило да бъдат успешно възпроизведени от всеки, проявяващ интерес. Отделните етапи от експерименталната работа са добре представени в този раздел и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и получаване на достоверни резултати.

7. Резултати, обсъждане и изводи

В раздел “Резултати и обсъждане” е включена голяма по обем експериментална работа като се следва хода на поставените задачи и методичните подходи. Резултатите са представени подробно, добре анализирани и дискутирани, съпоставени с литературните данни. Изследванията по дисертацията започват със събиране на проби от ферментирани продукти, приготвени по традиционна технология и изолиране на нови щамове МКБ. Проведени са експерименти за идентификация на новоизолираните 12 щамове МКБ с използване на полифазен таксономичен подход и секвенциозен анализ на гена за 16S rDNA. С висок процент достоверност – 98.8% два щамове са идентифицирани като принадлежащи към *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, 7 щамове са от вида *Lactiplantibacillus plantarum*, 1 щам от вида *Loigolactobacillus coryniformis*, 1 щам – от *Lactilactobacillus sakei*, и 1 щам от вида *Pediococcus pentosaceus*. Следващият етап от изследванията е посветен на изследване на функционалните и пробиотични свойства на новоизолираните щамове като е приложен комплексен подход. Установява се добра антимикробна активност на новоизолираните щамове срещу Грам (+) и Грам (-) тест-патогенни бактерии, както и срещу плесенни хранително асоциативни контаминанти. При някои от щамовете е доказана и антивирусна активност. При новоизолираните щамове е наблюдаван и добре изразен аминоксидазен ензимен профил, както и антибиотична мултирезистентност. За добрите пробиотични показатели важни са също и добре изразените авто и ко-агрегационни способности, като при някои от изследваните щамове са отчетени много добри показатели. Проследена е също и преживяемостта на щамовете при пряко въздействие на стресови фактори, характерни за горните отдели на ГИТ, присъствие на панкреатин и жлъчни соли. С най-добре изразен пробиотичен потенциал е определен щам КС 5-12 (*L. plantarum*).

Получени са моделни продукти кисело мляко със стартерни култури от новоизолираните щамове, като е доказано че те запазват своята жизненост и активност, както и своя функционален и пробиотичен потенциал до края на периода на съхранение. Оценени са също и сензорните характеристики на кисело мляко с инокулиран щам KZM 2-11-3 (*L. delbruekii ssp. bulgaricus*), като те най-много се доближават да контролата, съответстващо на метаболитния профил, включващ ароматоопределящи компоненти, определящо щама като много добър кандидат за включване в моделни функционални продукти. Резултатите са онагледени с подходящи и добре оформени фигури, таблици и снимков материал.

Резултатите от получените експериментални данни в този раздел са особено ценни, тъй като са с научно-приложен характер и формират в голяма част приносите на този дисертационен труд. Прави впечатление добрия научен стил, логическата последователност на отделните изследователски етапи, както и направената обективна и задълбочена дискусия отразяваща публикуваните данни от последните години. Резултатите са коректно представени и обсъдени от докторантката. Въз основа на експерименталната работа са формулирани 13 изводи, произтичащи логично от получените резултати и предоставящи точна информация за стойността на проведените експерименти. Според мен изводите от добре свършената работа са много и биха могли да се обединят - извод 7 и 8, както и извод 9 с 13 с цел по-стегнато представяне.

8. Приноси с научен и приложен характер

В представения дисертационен труд се открояват 6 оригинални научни и научно-приложни приноси, което доказва значимостта на научната разработка. Приносите са представени стегнато без излишни коментари и като по-важни се открояват доказаната приложимост на щамовете KZM 2-11-3 и КС 5-12 с биопротективен и пробиотичен потенциал за включване в стартерни култури за производство на нови функционални храни с определени здравни ползи. За първи път е установена антивирусна активност срещу човешки херпес вирус при щам от вида *L. delbruekii ssp. bulgaricus*. Потвърдена е и приложимостта на ЯМР спектроскопията като високотехнологичен метод за диференциране на различни

видове кисели млека според специфичния им метаболитен профил, обуславящ се от използваните щамове.

9. Публикации и участия по дисертационната тема

Във връзка с дисертацията, Рамизе Ходжа е представила 4 публикации, публикувани в реферирани и индексирани списания, които вече са получили и цитати. Във всички публикации докторантката е първи автор, което ясно отразява водещата ѝ роля в провежданите изследвания и считам, че изпълнението на дисертационния труд е изцяло нейно дело. Резултатите от дисертационния труд са докладвани на 11 национални и международни научни конференции с доклади и постери. Публикационната дейност изцяло съответства на нормативните документи – ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Препоръките ФС на БФ за критериите при придобиване на научни степени. Освен работата си по дисертационния труд, Рамизе Ходжа е повишавала научния си капацитет, като е била участник в 3 научни проекта, свързани с областта на дисертационната ѝ тема, финансирани от ФНИ на Софийски университет „Св. Климент Охридски“.

10. Автореферат

Представеният автореферат отразява цялостно всички важни акценти от научните изследвания и получените резултати, като в съкратен вид са представени най-важните елементи от всички раздели, без разбира се литературния обзор. Оформен е много добре съгласно изискванията на Правилника за приложение на ЗРАСРБ.

11. Препоръки, забележки и въпроси

Критични бележки по работата и нейното представяне нямам. Има някои дребни технически грешки, които по никакъв начин не намаляват качествата на дисертационния труд.

Въпросите ми към докторантката са:

i) Как обяснявате факта, че при изследвания от вас щам KZM 2-11-3 (*L. bulgaricus*) не е отчетена способност за преживяване при директно въздействие на пепсин и рН 2 в рамките на 3 часа, и в същото време доказвате пробиотичен потенциал и приложимост на този щам за включване в стартерни култури за производство на нови функционални храни с определени здравни ползи?

ii) Бихте ли продължили изследванията си в областта на функционалните храни и на какво бихте наблегнали в работата си така, че тези храни ежедневно да се употребяват от консуматорите?

12. Придобрита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „Доктор“

При изпълнението на експерименталната работа по дисертацията от Рамизе Ходжа ясно личи, че тя е придобила компетентност по отношение знания в конкретната научна област, умения за прилагане на комплексен методологичен подход за разрешаване на поставените задачи, умения за работа с научна литература, както и да анализира и обобщава научна информация. Тя е усвоила разнообразни методи – микробиологични, биохимични, молекулярно-генетични, широко използвани в биологичните изследвания, както и компетентност за анализ и оценка на получените резултати.

13. Заключение

Представеният дисертационен труд е едно доказателство за прецизно проведени експерименти и задълбочено интерпретирани резултати, което показва висока професионална култура на Рамизе Ходжа. Считаю, че по актуалност, обем на изследванията, постигнатите научни приноси, както и публикационната дейност, дисертационният труд напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на СУ „Св. Кл. Охридски“ за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“. С убеденост ще гласувам положително, а и препоръчвам на членовете на Научното жури да гласуват положително за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в професионално направление 5.11. Биотехнологии (Технология на биологично активните вещества) на Рамизе Ходжа.

София, 16.05.2024 г.

Рецензент:

/проф. д-р Нели Георгиева/