

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Пантелей Петров Денев д.х.н.

Университет по хранителни технологии - Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен '**доктор**' в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика професионално направление 4.2. Химически науки докторска програма „Органична химия“

Автор: Димитър Георгиев Божилов

Тема: Фитохимични изследвания върху етеричното масло и полифенолния комплекс на бял равнец, мента и огниче

Научен ръководител: доц. д-р Солея Запрянова Даньо от Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“

Общо описание на представените материали

Със заповед № Р33-3871 от 27.07.2017 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определен за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Фитохимични изследвания върху етеричното масло и полифенолния комплекс на бял равнец, мента и огниче“ за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.2. Химически науки, докторска програма Органична химия. Автор на дисертационния труд е Димитър Георгиев Божилов – докторант на самостоятелна подготовка към катедра „Органична химия“ с научен ръководител доц. д-р Солея Запрянова Даньо от Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“

Представеният от Димитър Георгиев Божилов комплект материали на хартиен носител е в съответствие с чл. 36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ, включва следните документи:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;

- диплома за образователно-квалификационна степен ‘магистър’ серия ПУ - 2009, № 030338, с приложение регистрационен №:593 ОХ от 31 юли 2009 г. - оригинал
- заповед Р33-2145 от 05.06.2015 г. за зачисляване в докторантура на самостоятелна подготовка с научен ръководител доц. д-р Солея Запрянова Даньо;
- заповед № Д - 08/16.10.2015 година. за провеждане на изпит от индивидуалния план и протокол от 20 октомври 2015 г. за издържан изпит по специалността с успех отличен б;
- протокол № 282 от 16.06.2017г. на катедрения съвет при кат. „Органична химия“, свързан с докладване на готовност за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- заповед Р33-3369 от 11.07.2016 г. за отчисляване с право на защита.
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на специфичните изисквания на съответния факултет;

Докторантът е приложил 3 публикации и 8 сертификата за завършени обучителни курсове, специализация по газова хроматография с маспектрометричен детектор и от научни конференции.

Кратки биографични данни за докторанта

Димитър Георгиев Божилов е роден на 28 юни 1976 г. в град Карлово. Средното си образование завършва в СОУ ”Васил Левски” град Карлово през 1996 г. В периода от 1998-2004 учи и завършва бакалавърска степен в Университет по хранителни технологии – Пловдив, специалност «Технология на месото и млякото». През 2004-2008 г. завършва бакалавърска степен Компютърна химия на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски”. През следването си в ПУ той осъществява мобилност по програма Сократ Еразъм в Университета в Аликанте, Испания. В продължение на 4 месеца той работи в групата на професор Антонио Каналс по темата ”Приложение на магнитни наночастици за твърдофазна екстракция”. Дипломира са през м. септември 2008 г. след отлично защитена дипломна работа на тема „Получаване и приложение на магнитни наночастици за твърдофазна екстракция и хроматографски анализ на разрешени за употреба УВ-филтри в козметични продукти”. През същата година е приет в магистърска програма „Органична химия“ към същата катедрата. В периода 2009/2010 работи като

химик в катедра „Физикохимия“. През м. юли 2009 г. завършва магистърска програма „Органична химия“. На 01.02.2012 г. е назначен на длъжност химик, а от 22.07.2013 г. до момента е асистент в катедра „Органична химия“. Участва активно в провеждане на практически и семинарни упражнения по органична химия, биоорганична химия, съвременни хроматографски методи, хроматографски методи във фармацевтичния анализ на студенти от бакалавърските и магистърските програми на Химически факултет при ПУ. Като асистент изследователска работа на Д. Божилов е свързана с фитохимични изследвания на вторични метаболити с биологична активност. През този период успешно завършва специализация за работа с газова хроматография с маспектрометричен детектор и идентификация на компоненти в етерични масла.

На 26.05.2015 г. със заповед на ректора на ПУ № Р33-2145 е зачислен докторант на самостоятелна подготовка в катедра „Органична химия“ на тема „Фитохимични изследвания върху етеричното масло и полифенолният комплекс на бял равнец, мента и огниче“.

Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Темата, на която е посветен дисертационния труд, се отличава със значителна актуалност. Голям брой съединения, полифеноли и компоненти на етеричните масла се използват като лекарства, фитонутриенти и хранителни добавки заради тяхното противомикробно, противовъзпалително, антибактериално и антиоксидантно действие. Развитието и модернизиранието на методите за анализ предоставя нови възможности за получаване на информация за химичния състав на растенията въз основа на техните вторични метаболити. Това спомага и за тяхната идентификация и автентичност, резултат на което се повишава ефективността и безопасността при използването им за терапевтични и профилактични цели.

В своята цялост изследването поставя във фокус биологично активните компоненти, изопреновите деривати в етеричното масло, както и полифенолният комплекс в традиционно познати и култивирани билки в България - диворастващо огниче (*Chenopodium botns*), диви видове бял равнец (*Achillea millefolium*) отгледани при контролирани условия и три вида култивирано отгледана мента (*Mentha piperita*, *Mentha citrata* и *Meinha suaveolens*).

Познаване на проблема

Доброто познаване на състоянието на проблема е представено в литературния преглед, разработен на база на 221 източници, предимно на латиница и публикувани през последните 10 години. Докторантът Димитър Божилов творчески е осмислил и интерпретирал съществуващите експериментални данни, научни проблеми и техническа литература, които са представени кратко и ясно в литературния обзор. Принос към образователната част на докторантурата е показаното умение за оценка, обсъждане и обобщение на коректно цитираните научни факти

и идентифицирането на проблеми, които обосновават ясно формулираната основна цел. Литературният преглед дава възможност на дисертанта да се ориентира правилно в тематиката и да открие нерешените проблеми както в чисто научен така и в научно-приложен аспект. Проучванията върху избраните за изследване три вида билки, растящи на територията на страната, са съпоставени с тези от съседни балкански страни както и от отделни територии в Азия. Направен е обстоен анализ на ботаническата характеристика, биологичната активност и състава на вторичните метаболити - полифеноли и терпенови съединения в трите вида растения - огниче, мента и бял равнец.

Поставените 5 изследователски задачи са конкретни, изпълними и правилно подредени, а решаването им изгражда експерименталната част на дисертацията.

Методика на изследването

Целта е формулирана ясно – да се изследва съставът на полифенолния комплекс във видове бял равнец, мента и огниче, както и компонентите на етеричното масло, получено от мента и огниче с помощта на комбинирани хроматографски методи.

За изпълнението поставената цел са поставени набор от задачи: Разработване на хроматографски профили “пръстов отпечатък“ на полифеноли в нехидролизирани екстракти; установяване на изменения в хроматографските профили на полифенолите в резултат на хидролиза на компонентите в екстракт от огниче; идентификация и структурна характеристика на компонентите на полифенолния комплекс на изследваните билки; определяне на съдържанието на основни компоненти на полифенолния комплекс в нехидролизирани екстракти от билки; идентификация и количествено определяне на компоненти на етеричното масло от три вида култивирана мента и диворастящо огниче.

Характеристика и оценка на дисертационния труд

Характеристика и оценка на труда (аналитичен преглед на съдържанието по глави, без да се преразказва съдържанието. За естеството и оценка за достоверността на материала, върху който се градят приносите на дисертационния труд.

Дисертационният труд е представен на 135 стандартни машинописни страници и съдържа 15 таблици, 34 схеми, 32 фигури. Цитирани са 221 литературни източника на латиница. Конструирването на дисертационния труд отговаря на изискванията определени в чл. 27 от ППЗРАСРБ, съдържайки необходимите основни части (заглавна страница, съдържание, въведение, литературен обзор (37 страници), цел и задачи, материали и методи (10 страници), ре-

зултати и дискусия (60 страници), обобщени резултати, приноси, използвана литература), които следват логическа последователност, позволяваща на докторанта да изследва и анализира с избраните научни методи поставените проблеми.

Дисертационният труд е написан на много добър професионално-научен език, с добър стил, стегнатост и прегледност. Материалът се чете и възприема лесно. Отделните части са добре балансирани по обем.

Литературният обзор е върху публикации предимно след 2000 г. В него подробно са разгледани биохимичният път на синтез на полифеноли, фенолни киселини и терпеноиди. Дадена е обобщена и точна класификация на посочените биологично активни съединения, като структурните формули на всяко едно по отделно е написана от дисертанта с еднакъв стил, а оптичните изомери са представени с перспективни формули. Описана е подробно ботаническата характеристика на огниче, мента и бял равнец, както и специфичния състав на полифенолния комплекс, етеричното масло и биологичната активност на изследваните растения. Направен е анализ на съществените разлики в качествения състав на етеричното масло от огниче от различните географски местонахождения (Казахстан, Испания, Австрия, Турция, Гърция, Иран, Израел и др.). Повече от една трета от литературния обзор е отделена за коментари по методите за извличане на полифеноли и етерично масло, както и идентификация на компонентите

В раздел „Материали и методи” са прецизно описани местата на събиране на растителния материал (район, надморска височина, време на вегетиране, месеци и година) почва и климатични условия. Посочен е и начинът на идентифициране на растителния материал.

Подробно и точно са описани основните методи, които са прилагани при изпълнението на поставените задачи в дисертацията: методи за изследване на полифенолния комплекс - екстракционна процедура, хидролиза на екстракта, фракциониране на компонентите на полифенолния комплекс с различни по полярност разтворители, анализ, идентификация и количествено определяне на полифеноли с високоефективна течна хроматография с детектор с фотодиодна матрица (HPLC-PDA), Анализ на полифеноли с ултрависокоефективна течна хроматография с Орбитрап масспектромегър (UHPLC-MS/MS)

Докторантът умело е подбрал условията за анализ в пълно съответствие с поставената цел и задачи на дисертационната работа. Димитър Божилов е придобил необходимия методичен опит при извеждане на научен експеримент. Описаните методики и техники за провеждането на експериментите и анализа позволяват те да бъдат повторени и проверени от други учени и изследователски групи, което е показател за обективността и достоверността на получените резултати.

В раздела „Резултати и обсъждане“ ясно и точно са описани проведените експерименти. При изследването на полифенолния състав на огниче, мента и бял равнец са приложени експериментални подходи, които включват различни процедури на екстракция и методи за детектиране. Докторантът е използвал различни по полярност разтворители за екстрахиране на полифенолния комплекс и хроматографска апаратура - HPLC-PDA, Orbitrap UHPLC-MS/MS. Изясняването на структурата на полифенолните съединения е осъществено чрез обединяване на резултатите, получени от хроматографските профили “пръстов отпечатък“, UV-спектрите, молекулното тегло, молекулните йони и фрагментацията на компонентите. Чрез променяне на хроматографските и масспектрални условия е изследвано разделянето, чистотата на пиковите и различията в масспектрите. В резултат на направената идентификация, количествено са определени основните полифенолни компоненти, представители на гликозидите, агликоните и фенолните киселини.

Въз основа на получените резултати от достоверните анализи, в края на раздела са дадени обобщени изводи и резултати.

Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Дисертационният труд представлява оригинална научнообоснована база данни за състава на вторичните метаболити от популярни български билки с традиционно приложение в народната медицина. Резултатите от дисертационния труд имат преди всичко научно-приложна стойност и са пряко насочени за разрешаването на конкретни проблеми в преработването и предлагането на хранителни добавки. Направени са изводи с теоретичен и са предложени практически методи за определяни състава и качеството на билкови екстракти, широко прилагани като биологично активни добавки.

Основните приноси могат да се систематизират в следните насоки:

- Установен е методологичен подход за изследване на полифеноли чрез HPLC-PDA и UHPLC-MS/MS;
- Предложен е механизъм за фрагментация на 6-метоксифлаволи, хесперетин и диосметин в условията на ESI-MS/MS;
- Изяснен е съставът на полифенолния комплекс на диворастящо огниче, който до този момент не е бил обект на изследване в България;
- Установен е съставът на етеричното масло от диворастящо огниче в България и за първи път γ -костол е идентифициран в състава на етеричното масло;
- За първи път е установен съставът на етеричното масло от *M. suaveolens* и *M. citrata*, култивирани в България

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Ас. Божилов до момента има 11 публикации в български и международни специализирани списания. В представените ми за рецензиране материали са приложени 3 публикации по дисертационния труд. Две от тях са в списания индексирани в Thomson Reuters-WEB OF SCIENCE с $IF = 1.418$ и $IF = 0.238$. Публикациите са през 2017 г. и за тях все още няма забелязани цитати. Третата публикация е от 2013 г. и са открити 2 две цитирания от чуждестранни автори, едното от които е в списание с $IF = 2.741$. Материалите от публикациите са включени в дисертацията. Докторантът е представил списък с участия в 2 международни и 5 наши научни конференции с международно участие. В повечето научни доклади и съобщения Димитър Божилов е водещ автор, което показва, че той е основният изпълнител на научния експеримент. Докторантът Ас. Божилов е участвал в общо седем научни проекта, финансирани от Фонд "Научни изследвания" при Пловдивския университет "Паисий Хилендарски", и от ССА-Институт по овощарство- Пловдив. Част от проектите са пряко свързани с научната работа на ас. Божилов. Като член на организационния комитет, ас. Божилов взема активно участие при провеждането на Първата, Втората и Третата научна конференция за студенти и докторанти „Предизвикателствата в Химията”, проведени през 2013, 2014 и 2015 г.

Тези данни ми дават основание да твърдя, че представените научни разработки покриват наукометричните изисквания за получаване на образователната и научна степен „доктор" на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски".

Лично участие на докторанта

Изследванията в дисертационния труд са извършени лично от доктората в научните лаборатории на катедра „Органична химия” в Пловдивския университет „Паисий Хилендарски"

Представените резултати и направеният научен анализ са оригинални, извършени прецизно с необходимата прецизност. Направените коментари и изводи са на добро научно ниво.

Автореферат

Авторефератът е в обем 50 стр. и съдържа 7 таблици, 7 схеми и 34 фигури, които точно отразяват основните резултати и приноси на дисертационния труд и отговаря на специфичните изисквания на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски"

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При разработване на дисертационния труд Димитър Георгиев Божилов е усвоил знание и умение да интерпретира и анализира известното в литературата, самостоятелно да си поставя научни задачи и правилно да ги решава. Показва задълбочени познания в областта на

биологично активните вещества, владее, прилага и интерпретира съвременните методи за изолиране и анализ на тези вещества. Получените резултати в хода на разработката са правилно интерпретирани и представляват определен интерес и принос в научно-приложен и приложен аспект. Цялостната ми оценка на дисертационния труд, основаващ се на неговата актуалност, структура, съдържание и теоретични обобщения, ми дава основание да приема, че дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички на изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Факултета по химия, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Въз основа на направения анализ давам положителна оценка на разработения дисертационен труд и предлагам на Димитър Георгиев Божилов да бъде присъдена образователната и научна степен „доктор“ в научна област 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.2. Химически науки по докторска програма „Органична химия“.

28.08.2017 г.

Рецензент:

проф. д.н. Пантелей П. Денев