

РЕЦЕНЗИЯ

От: **проф. Искра Витанова Иванова, дбн**

Относно: оценка на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен “Доктор” в област на висше образование, „Доктор“, Област на ВО: 4. Природни науки, математика и информатика Професионално направление: 4.3. Биологически науки; Докторска програма: Биохимия

Автор на дисертационния труд: Теодора Минчева Панайотова

Заглавие на дисертационния труд: „Изследване свойствата на биологичноактивни пептиди, получени при ензимен хидролиз с протеолитични ензими от млечнокисели бактерии“

Научен ръководител: проф. д-р Илия Николов Илиев

Със заповед № РД-22-742 от 07.04.2026 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури.

1. АКТУАЛНОСТ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТВАНИЯ ПРОБЛЕМ

Пептидите, получени от естествени източници, представляват богат и универсален клас биоактивни съединения с огромен потенциал в биомедицината, биотехнологиите и хранителните науки. Тяхната многостранна способност да упражняват антимикробни, антитромбоцитни, антиоксидантни и противотуморни ефекти ги позиционира като незаменими инструменти в преследването на иновативни терапии и висококачествени функционални продукти. Въпреки това, пълномащабното им използване продължава да се сблъсква със значителни препятствия по отношение на промишленото производство, метаболитната стабилност и системната бионаличност. Синергията на технологичния напредък в протеомиката, биоинформатиката, химичния синтез и рекомбинантното производство ефективно трансформира тези ограничения в стратегически възможности. Тези интегрирани платформи позволяват прецизна оптимизация на активността и безопасността на пептидите, улеснявайки успешното им преминаване в различни индустриални сектори. Освен това, прилагането на

мултидисциплинарни подходи, включително изкуствен интелект и нанотехнологии, обещава значително да разшири терапевтичния им обхват. Бъдещите изследвания в областта трябва да дадат приоритет на разработването на устойчиви, мащабиращи производствени модели и проектирането на многоцелеви пептиди с подобрени системи за контролирано освобождаване. От съществено значение за този напредък ще бъде строгата оценка на ефикасността и безопасността *in vivo*, наред с дълбоката интеграция на мулти-омиката и инструменти, задвижвани от изкуствен интелект, за ускоряване на откриването и скрининга на продукти. Чрез справяне с тези приоритети, естествените пептиди ще затвърдят ролята си на фундаментални стълбове в персонализираната медицина и функционалното хранене, предоставяйки по-ефективни и екологични алтернативи. С многообещаващи перспективи, тези биомолекули продължават да проправят пътя към нова ера на иновации и устойчивост в науките за живота. Материалите, получени от растения, представляват един от най-обстойно изследваните източници на биологично активни пептиди. Често срещаните растителни източници включват соя, оризови трици, сусам, орехи, пшеница, царевичен глутен. Пептидите, генерирани от тези материали, често са свързвани с пробиотично-подкрепящи ефекти, по-специално насърчаване на растежа на *Lacticasebacillus* и *Bifidobacterium*.

Всичко това ми дава основание да оценя като актуална представената научна разработка, с потенциал за научни постижения, които да имат бърза практическа реализация.

Представените материали от докторантката напълно покриват изискванията за защитата на докторантската теза и представят специфичната доказателствена част, относно изискуемите критерии, както и представят цялостната продукция на кандидата.

Дисертацията е изложена на 182 стандартни страници текст. Спазена е общоприетата схема и препоръчителните съотношения между отделните части на труда, както следва: *Въведение* – 1 стр.; *Литературен обзор* – 36 стр.; *Цел и задачи* – 1 стр.; *Материали и методи* – 19стр.; *Резултати и обсъждане* – 71 стр.; *Изводи* 2 стр. Получените резултати са илюстрирани с 52 фигури, 7 таблици, 2 приложения и 324 литературни източника.

2. ЛИТЕРАТУРНА ОСВЕДОМЕНОСТ И ПОСТАНОВКА НА ЦЕЛТА И ЗАДАЧИТЕ

Настоящата дисертация е комплексна и предполага добро познаване на литературните източници и методите за решаването ѝ.

Докторантката е направила обстоен преглед на постиженията на други изследователи, които е успяла да предаде и анализира върху 36 страници в литературния обзор. Обзорът представя детайлно състоянието на проблема и доказва необходимостта от разработването на орката е кратка характеристика на млечнокиселите бактерии и тяхната протеолитична система. Авторката разглежда последователно данните за протеолитичната система, която се състои от извънклетъчно разположени протеинази, транспортни системи, специфични за ди-трипептиди и олигопептиди (> 3 остатъка), и множество вътреклетъчни пептидази.

Разгледани са пептидите, генерирани вследствие действието на клетъчно-свързаните протеинази освободени в извънклетъчната среда и проникването им клетката чрез различни транспортни системи, като олигопептидна пермеаза (Opp), пренасяща пептиди с 4 до 18 аминокиселинни остатъка и транспортни системи за пренос на ди- и трипептиди. Разграждането на протеините от клетъчно-свързаните протеинази, новополучените олигопептиди се поемат от олигопептидния транспорт на клетките и се хидролизират до по-нискомолекулни пептиди и аминокиселини чрез съгласуваното действие на пептидази с различни и частично припокриващи се специфичности.

Понастоящем, повече от 1500 различни биологични пептиди са докладвани в база данни под името „Biopep“. Те показват активност, подобна на хормоните или фармацевтичните продукти и могат да бъдат класифицирани въз основа на техния начин на действие като антимикробни, антитромботични, антихипертензивни, опиоидни, имуномодулиращи, минералносвързващи и антиоксидантни. Авторката разглежда връзката между източници на биоактивни пептиди изолирани от растения и увеличеното търсене на храна за покриване на нуждите на бързо нарастващото население в света. Краве млякото, сиренето и млечните продукти са най-големите източници на биоактивни протеини и пептиди получени от храни.

Представени са методите за изолиране биоактивните пептиди чрез ензимна хидролиза, използвайки протеолитични ензими на храносмилателната система, микробна ферментация, химически и/или физични методи. За повишаване на степента на хидролиза при генериране на биоактивни пептиди са представени нови подходи, като микровълнова, ултразвукова екстракция, омично нагряване, импулсни електрически полета, субкритична водна екстракция.

Литературният обзор е конкретен, структуриран е правилно, следва логическата обвързаност на информацията. Данните от справката са послужили за ясното и

правилно определяне не само на целта, но и за формулировката на задачите.

Литературата (както в обзора, така и в целия труд) е тясно свързана с темата на дисертационния труд. Литературният списък включва внушителния брой от 324 заглавия на латиница. Те са основно от последните години. Това говори за отлична теоретична осведоменост на докторантката и с цел намиране на ново научно предизвикателство.

3. ОЦЕНКА НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ МЕТОДИ И МАТЕРИАЛИ

Целта на настоящата дисертация е да се изследва получаването на биологичноактивни пептиди с АСЕ-инхибираща активност при култивиране на млечнокисели бактерии в хранителни среди с растителни протеини. Поставени са за решаване добре обосновани 5 експериментални задачи.

Разделът "Материали и методи" демонстрира внушителен набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експериментите. Те са съвременни и адекватни за реализацията на дисертационния труд. Описани са точно и подробно, като изцяло покриват многостранните области на работата: от класическите до модерните изследвания. Използвани са микробиологични и биохимични методи включващи определяне на ензимна активност, полиакриламидна електрофореза и ултрависокоэффективна течна хроматография с масспектрометрия (UHPLC-MS) и др.

Всички това ми позволява да дам висока оценка на научното ниво и на отличната подготовка, която успява правилно да съчетае многообразие от класически със съвременни методи за целите на дисертацията, успешно решавайки поставените експериментални задачи.

4. ОЦЕНКА НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Раздел „*Резултати и обсъждане*“ е добре структуриран, подкрепен с табличен и графичен материал, с подходяща интерпретация на получени резултати от чужди научни колективи. Авторката последователно представя доказателствен материал по своята научна теза, като по този начин логически финализира експериментална работа.

Извършена е голяма по обем и разнообразна експериментална работа в рамките на комплексно биохимично изследване. На основата на първоначален скрининг на 50 щамове лактобацили, спадащи към четири вида *Lactobacillus delbr. ssp. bulgaricus* (30), *Lactobacillus helveticus* (11), *Lactocaseibacillus casei* (4) и *Lactiplantibacillus plantarum* (5) са селектирани следните: с най-висока протеолитична активност щамове *Lactobacillus*

helveticus AB, и един Lacticaseibacillus casei. Граховият протеинов хидролизат, соевият протеинов хидролизат и суроватъчният протеин WP 80 в най-висока степен активират протеолитичната система при селектираните щамове лактобацили. Установена е специфична аминопептидазна активност при изследване на четири аминопептидази – левцин-аминопептидаза, лизин-аминопептидаза, аргинин –аминопептидаза и пролин-аминопептидаза от селектираните щамове лактобацили. Изследвания щам Lactobacillus helveticus b244 е с най-висока ACE инхибиторна активност при култивиране на хранителна растителна среда със соев протеин и грахов протеин. Най-висока ACE-инхибиторна активност беше получена в изцяло растителна хранителна среда съдържаща 5 % соев протеин и 2% глюкоза. Щам Lactobacillus helveticus b244 показва най-високи стойности на ACE инхибиторна активност във всички тествани среди. След проведената SDS-PAGE трис-трицинова електрофореза е установено, че избраните щамове Lactobacillus helveticus h70 и Lactobacillus helveticus активно хидролизират не само млечните протеини, но и протеиновите фракции в хранителни среди съдържащи растителни протеини.

Електрофоретичният анализ потвърждава, че щамовете Lactobacillus helveticus h70 и Lactobacillus helveticus b244 култивирани в хранителна среда с грахов протеин присъстват нискомолекулни пептиди < 6,5 kDa. Проведената ултрависокоэффективна течна хроматография с масспектрометрия (UHPLC-MS) установява нискомолекулни пептиди при култивиране на щамове Lactobacillus helveticus h70 и Lactobacillus helveticus b244 в растителна хранителна среда с грахов протеин. Комбинираните хранителни среди съдържащи млечни и растителни протеини (грахов и соев протеин) оказват синергичен ефект и допринасят за появата на нови пептидни фракции след ферментация с щамове Lactobacillus helveticus h70 и Lactobacillus helveticus b244.

Получените резултати представени в *„Резултати и обсъждане“*, логично следват хода на решаването на поставените задачи. Те са обобщени и дискутирани в светлината на публикуваните данни от последните години.

Висока оценка заслужават както идеята, така и обемът от изследвания проведен по изпълнението на тази задача и в целия труд. Направената дискусия по всеки експеримент, съпоставката на резултатите и съпоставката с литературните данни, още веднъж подчертава качествата на докторантката във владенето на експерименталната теория. С това тя доказва, че е овладяла напълно третата степен на обучението си и е завършен експериментатор.

5. ПРИНОСИ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТКАТА ЗА НАУКАТА И ПРАКТИКАТА, ЗАБЕЛЕЖКИ И ВЪПРОСИ

Приемам направените приноси.

За особено значими считам, че представените данни доказващи получаването на биоактивни пептиди с АСЕ-нхибиторна активност при култивиране на избрани щамове лактобацили на хранителни среди, съдържащи грахов и соев протеин. За първи път са формулирани две нови растителни хранителни среди съдържащи грахов и соев протеин, подходящи за култивиране на избрани щамове лактобацили, които ще са лесно приложими в производствените процеси.

Панайотова е автор в 3 научни публикации, като в трите от тях е водещ изследовател и три участия в научни форуми, което показва творческата и изследователската ѝ активност при изработването и оформянето им.

Към дисертанта имам няколко въпроса:

- ✓ Дали биологично активни пептиди със специфична аминокиселинна последователност могат да бъдат произведени селективно чрез съществуващите ензимни или микробни ферментационни методи, а не чрез химичен синтез?
- ✓ Кои са най- използваните методи за анализ на структурата на пептидите?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Темата е актуална, докторантката е усвоила съвременни методи, експериментите са поставени методично правилно, получените резултати са достоверни и са солидна база за следващи научни и приложни разработки. Открояват се изключително оригинални научни и приложни приноси.

Въз основа на гореизложеното уверено мога да заявя, че рецензираният дисертационен труд представлява оригинална научна разработка, с теоретично и приложно значение. Предложената дисертация е доказателство, че Теодора Панайотова е развила компетентности необходими за присъждане на образователната степен доктор включващи теоретична подготовка, методологични познания, самостоятелност и опит за планиране на експерименти и способност за анализ на резултатите.

Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България

(ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“ и давам своята висока оценка и препоръчвам на членовете на научното жури да присъдят на дисертантката ТЕОДОРА МИНЧЕВА ПАНАЙОТОВА образователната и научна степен „Доктор“ по професионално направление 4.3. Биологически науки, Специалност биохимия.

15.05.2026 г.

Подпис:

Проф. дбн Искра Иванова