

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Велизар Костадинов Гочев,
Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“
по: област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,
професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Биохимия

Автор: Теодора Минчева Панайотова

Тема: *„Изследване свойствата на биологично активни пептиди, получени при ензимен хидролиз с протеолитични ензими от млечнокисели бактерии“.*

Научен ръководител: проф. д-р Илия Николов Илиев

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № РД-22-742 от 07.04.2026 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 *„Изследване свойствата на биологично активни пептиди, получени при ензимен хидролиз с протеолитични ензими от млечнокисели бактерии“* за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ по: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Биохимия. Автор на дисертационния труд е Теодора Минчева Панайотова - докторантка в задочна форма на обучение към катедра “Биохимия и микробиология“, с научен ръководител проф. д-р Илия Николов Илиев от ПУ.

Представеният от Теодора Минчева Панайотова 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 процедура за защита на дисертационен труд; автобиография в европейски формат; протокол от катедрения съвет, свързан с докладване на готовността за откриване на процедура и с предварително обсъждане на дисертационен труд; 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 изпълнение на минималните национални наукометрични изисквания за придобиване на ОНС „доктор“.

Спазени са всички административни изисквания по процедурата и на университетско, и на национално ниво.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Теодора Минчева Панайотова е завършила ОКС „бакалавър“ по специалност „Технология на месото и млякото“ в УХТ (2010 г.) и ОКС „магистър“ по специалност „Контрол и безопасност на храните от животински произход“ в УХТ (2011 г.). През 2020 г. е зачислена за задочен докторант към катедра „Биохимия и микробиология“ в Биологическия факултет на ПУ, а през 2025 е отчислена с право на защита. От 2012 г до момента тя работи като изследовател в „Ел Би Булгарикум“, ЕАД.

Образованието и професионалният опит на докторантката са тясно свързани с тематиката на дисертационния труд.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Функционалните храни са особено актуални в съвременното хранене, защото освен компоненти, които обезпечават пластичната, енергийната и регулаторната функция на храните, те съдържат и нутриенти с доказан здравословен ефект, каквито са биологично активните пептиди (БАП). БАП се формират в хода на технологичния процес на производство на определена храна или в процеса на храносмилане. Различните форми на биологична активност на тези пептиди, като антиоксидантна, антихипертензивна, антимикробна, имуномодулираща и др. са в основата на положителните ефекти върху здравето на човешкия организъм. Нарастващият научен интерес към тях е продиктуван и от желанието за прилагане на максимално естествени алтернативи на фармакологично значимите биологично активни вещества (БАВ), получени по синтетичен път. Доказателство за актуалността на тематиката е и фактът, че за последните 5 години средно по около 1200 публикации годишно са посветени на функционалните храни.

В този ред на мисли темата на дисертационния труд категорично може да бъде определена като актуална.

Целта на дисертационния труд е ясно и точно формулирана, като за постигането ѝ са поставени 5 логически свързани изследователски задачи, чиято успешна реализация е предпоставка за постигане на целта.

4. Познаване на проблема

За степента на познаване на проблема съдя по съдържателната страна на литературния обзор и обхвата на използваната литература. Литературният обзор е представен на 37 страници, като започва с кратка характеристика и в известна степен ограничена информация за съвременния таксономичен статус на млечнокиселите бактерии (МКБ). Описани са

генетичните и биохимични основи на продукцията, екскрецията и механизма на действието на протеолитичните ензими от МКБ. Основно внимание в обзора е отделено на различните БАП с акцент върху растителните източници за получаването им (боб, грах, соя, ориз, просо, ечемик, елда, пшеница и др.), което напълно кореспондира с целта на дисертационния труд, но без да са пропуснати традиционни суровини за получаването им като млякото. Докторантката е описала различни подходи за получаване на БАП, като много детайлно са описани различните форми на биологичната им активност - антиоксидантна, антихипертензивна, антимикробна, противотуморна, имуномодулаторна, опоидна и др.

Определям обзора, като ясно фокусиран и конкретен, но би могъл да бъде по-аналитичен, което би позволило по-добре да се мотивира необходимостта от настоящото изследване. Считаю, че докторантката е запозната със състоянието на разработвания проблем във степен, която ѝ позволява адекватно да реализира дисертационното изследване.

5. Методика на изследването

Експерименталната схема на изследването е мащабна и правилно структурирана. Разделът Материали и методи е представен на 20 стр., като изключително детайлно са описани прилаганите микробиологични, ензимни, електрофоретични и хроматографски методи, които са правилно подбрани за целта на изследването.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е структуриран по възприетия за стандартен начин и включва разделите: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (37 стр.), Материали и методи (20 стр.), Резултати и обсъждане (72 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (1 стр.), Използвана литература (30 стр.) и Приложения (5 стр.). Между отделните раздели на дисертационния труд са спазени оптимални съотношения. Експерименталната работа по дисертацията започва със скрийнинг на 50 щамове МКБ от видовете *Lactobacillus delbrüeckii subsp. bulgaricus* (30 щамове), *Lactobacillus helveticus* (11 щамове), *Lacticaseibacillus casei* (4 щамове) и *Lactiplantibacillus plantarum* (5 щамове) по отношение на протеолитичната им активност в среда 10 % сухо обезмаслено мляко (СОМ) при две различни температури 37° С и 42° С за щамове от видовете *L. delbrüeckii subsp. bulgaricus*, *L. helveticus* и *L. plantarum*, и при температури 32° С и 37° С за *L. casei*. Като перспективни се открояват представители от видовете *L. delbrüeckii subsp. bulgaricus* и *L. helveticus*. При представителите от тези два вида е проследена зависимостта между интензивността на растеж на културата, рН и протеолитичната активност на щамовете. Аналогични експерименти са проведени с 8 щамове *L. delbrüeckii subsp. bulgaricus*, 5 щамове *L. helveticus* и 3 щамове *L. casei*, но култивирани в среди, съдържащи грахов, соев, конопен и оризов протеин. Най-висока протеолитична активност е установена за щамове от видовете *L. helveticus* и *L. casei*,

култивирани в среда с 10 % сухо обезмаслено мляко и добавка от 5 % грахов протеин. Определена е специфичната протеолитична активност на изследваните щамове в среда mMRS с добавка от различни растителни протеинови хидролизати и протеини. Установено е, че граховият протеинов хидролизат, соевият протеинов хидролизат и суроватъчният протеин се явяват щамово-специфични активатори на протеолитична активност при изследваните щамове МКБ. С най-висока специфична протеолитична активност в изследваните хранителни среди се открояват щамове *L. helveticus* b244 и h70. Проучена е продукцията на аминоклепидазите левцинаминоклепидаза, лизинаминоклепидаза, аргининаминоклепидаза и пролинаминоклепидаза в среди, съдържащи 10 % сухо обезмаслено мляко и среда mMRS с добавка на грахов протеинов хидролизат, соев протеинов хидролизат и суроватъчен протеин. Най-висока продукция на левцинаминоклепидаза и лизинаминоклепидаза е установена при щам *L. helveticus* h25, а най-висока продукция на аргининаминоклепидаза и пролинаминоклепидаза - при щам *L. helveticus* h48. Установено е, че добавките от грахов протеинов хидролизат, соев протеинов хидролизат и суроватъчен протеин не активират ензимната продукция по отношение на аминоклепидазите. Експерименталната работа по дисертационния труд продължава с определяне на АСЕ-инхибиращата активност на пептиди, получени при култивиране на селектирани МКБ (5 щама *L. helveticus* и 1 щам *L. casei*) в среди, съдържащи сухо обезмаслено мляко, сухо обезмаслено мляко с добавки от грахов и соев протеин и изцяло растителни среди. Най-висока АСЕ-инхибираща активност е установена при култивиране на *L. helveticus* b244 в изцяло растителна среда, съдържаща 5 % соев протеин и 2 % глюкоза. За характеризирание на пептидите, формирани при култивиране на *L. helveticus* b244 и *L. helveticus* h70 в среди, съдържащи сумо обезмаслено мляко и изцяло растителни хранителни средки с добавка от 2 % глюкоза е проведена SDS-PAGE електрофореза, като във всички изследвани варианти е доказано образуването на нискомолекулни пептиди. В средите, съдържащи 5 % грахов протеин + 2 % глюкоза и 5 % соев протеин + 2 % глюкоза са доказани нискомолекулни пептиди с молекулна маса, съответно под 6,5 kDa и под 12 kDa. Освен чрез SDS-PAGE електрофореза, докторантката доказва наличието на нискомолекулни пептиди в изцяло растителните и комбинирани среди, инокулирани с *L. helveticus* b244 и *L. helveticus* h70 и чрез UPLC-MS. Получените резултати от UPLC-MS кореспондират с тези от SDS-PAGE.

Получените от докторантката резултати са коректно интерпретирани и представени на 4 таблици и 28 фигури. Всеки отделен етап от експерименталната работа завършва с кратко заключение и изводи.

На база на получените резултати са формулирани 8 извода, които точно отразяват най-съществените установени зависимости. Формулирани са и 4 приноса, които бих категоризирал като научно-приложни с оригинален характер.

7. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Във връзка с дисертационния труд са представени три научни публикации - една в *Bulgarian Chemical Communications* и две в *Acta Microbiologica Bulgarica*, и двете списания с Q4. И на трите публикации докторантката е водещ автор, което доказва активното ѝ участие в реализацията на научните публикации.

8. Автореферат

Авторефератът е направен според изискванията и коректно отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

9. Критични забележки, препоръки и въпроси.

Към дисертационния труд имам следните забележки:

- ✓ В раздела Материали и методи е ненужно да се описват условията за видова идентификация на щамовете, защото те не са обект на изолиране в рамките на дисертационното изследване. Напълно достатъчно е било описанието на щамовете и техния произход, което докторантката е направила.
- ✓ Има известни терминологични неточности при дефиниране на величината ензимна активност.
- ✓ В раздела Материали и методи липсва информация за състава на използваните грахов, соев, оризов, конопен и суроватъчен протеин, грахов и соев протеинов хидролизат. Ако такива бяха налични, вероятно на някои от получените резултати можеха да бъдат направени по-задълбочени коментари и намерени съответни обяснения.
- ✓ Твърде описателно се коментират корелационните зависимости между ензимните активности, клетъчната плътност и рН.

Към докторантката имам следните въпроси:

- ✓ Защо част от експериментите провеждате в базова среда обезмаслено мляко със или без добавки от растителни протеини, а други експерименти - в среда mMRS?

- ✓ Защо в част от експериментите използвате различни растителни протеини, например грахов и соев, а при други експерименти използвате грахов протеинов хидролизат и соев протеинов хидролизат?
- ✓ Какъв е съставът на растителните протеини и съответните растителни протеинови хидролизати и как разликите в състава им се отразяват върху протеолитичната активност на щамовете и продукцията на АСЕ-инхибиторни пептиди?

10. Лични впечатления

Не познавам лично докторантката и единствените ми впечатления от нея са от докладванията на годишните ѝ отчети и отчисляването пред катедрения съвет на катедра „Биохимия и микробиология“. Макар и епизодични, личните ми впечатления са положителни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научноприложни и приложни резултати, които представляват интерес в науката и практиката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), на Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и на съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Дисертационният труд показва, че докторантката Теодора Минчева Панайотова притежава теоретични знания и професионални умения по научна специалност Биохимия.

С оглед гореизложеното давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Теодора Минчева Панайотова в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Биохимия.

08.05. 2026 г.

Рецензент:
(проф. д-р Велизар Гочев)