

СТАНОВИЩЕ

върху дисертационен труд за получаване на научната степен „доктор на науките” в област на висше образование 5. Технически науки, професионално направление 5.12. Хранителни технологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества (вкл. ензими, хормони, белтъчини)“.

Тема и автор на дисертационния труд: „Физична, химична и микробиологична характеристика на минерални, планински и изворни води от България и биологични свойства на идентифицирани от тях микроорганизми“ от д-р инж. Недялка Нанева Вълчева

Член на научното жури: доц. д-р Светла Максимова Дянкова, Институт по кробиология и хранителни технологии - София, научна специалност „Технология на биологично активните вещества (вкл. ензими, хормони, белтъчини)“, Заповед за назначаване № РД 05-43/27.03.2023 г. на Председателя на ССА.

I. Актуалност на проблема

Водата е незаменима за жизнената дейност и оцеляването на всички организми на нашата планета. Запазването на чистотата и качеството на естествените водоизточници е от съществено значение не само за здравето и благосъстоянието на човека, но и за поддържане на екологичното равновесие. Освен това нашата страна е богата на термални- и хипертермални минерални извори, като водите от тях се използват успешно в терапията на различни заболявания. От тази гледна точка едно обширно изследване на физикохимичните и микробиологичните показатели на изворните и минералните води в България е актуално и значимо. В дисертационната работа е направен подробен сравнителен анализ на водите от 90 извора от 11 области в страната, използвани за питейно водоснабдяване, както и за лечебни цели. Получените резултати са систематизирани и дават възможност да се направят важни изводи за състоянието на естествените водоизточници в страната, както и да се направят препоръки за предпазването им от химично и биологично замърсяване. Актуалността на дисертацията се допълва от извършеното биохимично и генетично типизиране на изолираните микроорганизми от минералните води и изследването им с оглед на селектиране на нови пробиотични щамове.

II. Цел, задачи и методи на изследване

Целта на дисертационната работа е формулирана ясно и конкретно и се отнася до пълното охарактеризиране на минерални, планински и изворни води от България и анализ на

идентифицираните от тях микроорганизми. В изпълнение на поставената цел логично са формулирани три задачи, които са успешно реализирани. Използваната методология отговаря на поставените цел и задачи и включва широк набор от класически и модерни методи за изследване. В раздел „Материали и методи“ е дадено подробно описание на извършените анализи като са цитирани и съответните литературни източници. За определяне на адхезията към човешки епителни клетъчни линии и имуномодулацията на изолираните щамове са използвани подходящи биологични методи.

III. Нагледно представяне и интерпретация на получените резултати. Използвана литература

Логично раздел „Резултати и обсъждане“ заема най-голям обем от дисертационния труд. Много добро впечатление прави извършената експериментална работа. Освен пълния анализ на водите от тестваните водоизточници, са направени опити за подобряване на тяхното санитарно-хигиенно състояние чрез обработката им с метални йони/EVOdrop, електромагнитни вълни или зеолит. Анализирано е взаимодействието на водата с биологично активни субстанции от розово масло и екстракти от *Lemna minuta* и *Haberlia rhodopensis* и образуването на водни клъстери. От термалните и хипертермалните води са изолирани и идентифицирани 91 щама микроорганизми. Определени са и техните биологични свойства. Получените резултати са представени в 124 таблици и са онагледени с 187 снимки и 8 фигури. Интерпретацията на резултатите е коректна и е сравнена с изследванията на други учени от цитираната литература. Изводите в края на изложението са добре обосновани и обобщават получените експериментални данни.

Приложената библиография е впечатляваща - 548 броя литературни източници, като значителна част от тях е от последните 15 години. Всички те са във връзка дисертационното изследване.

IV. Приноси на дисертационния труд (оценяват се поотделно научно-фундаменталните и научно-приложните приноси)

Приемам напълно представените от д-р Вълчева научни, научно-приложни и приложни приноси. С **научно значение** е проведеното за пръв път молекулярно-генетично изследване на 91 изолирани микроорганизми от 90 минерални, планински и изворни води в България. Идентифицирани са 21 нови щама бактерии. Определена е тяхната родова принадлежност и условията, при които се развиват в естественото местообитание.

Научно-приложните приноси от дисертацията са свързани с откритата пробиотична активност и противовъзпалителни свойства на щамове *B. subtilis* 0-2 и *B. thurigiensis* B62 и потенциалното им приложение като пробиотици, самостоятелно или заедно с лактобацили.

Установена е също така адхезионна активност към човешки епителни клетки на изолираните щамове *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* B62 и *Geobacillus stearothermophilus*.

Към оригиналните **приложни приноси** могат да се отнесат: 1) получените резултати за висока протеолитична, амилалитична и липолитична активност на подбрани представители от родове *Bacillus*, *Aeromonas* и *Geobacillus*, което ги прави перспективни като ензимни продуценти; 2) установената антимикробна активност на представители от род *Bacillus*, което ги определя като потенциални продуценти на бактериоцини, използвани самостоятелно или като съставка на препарати за растителна защита срещу растителни патогенни плесенни гъби.

V. Публикационна активност и оценка на качеството на научните публикации

Д-р Вълчева е включила 17 публикации по темата на дисертацията. От тях 9 са публикувани и реферирани в Scopus и/или Web of Science. Високото качество на публикациите е потвърдено и от откритите цитирания - общо 20 броя. Представената наукометрична справка напълно покрива минималните национални изисквания и изискванията на Правилника за развитие на академичния състав на ССА за придобиване на научна степен „доктор на науките”.

VI. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Нямам критични бележки и препоръки към д-р инж. Н. Вълкова и представената дисертационна работа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Въз основа на приложените, от докторантката методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ССА, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Въз основа на гореизложеното предлагам да се присъди на д-р инж. Недялка Нанева Вълчева научната степен “доктор на науките” в област на висше образование 5. Технически науки, професионално направление 5.12. Хранителни технологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества (вкл. ензими, хормони, белтъчини)“.

Дата: 09.06.2023 г.

ИЗГОТВИЛ СТАНОВИЩЕТО: 

/доц. д-р Светла Дянкова/

OPINION

on a dissertation work for obtaining the scientific degree "Doctor of Sciences" in the field of higher education 5. Technical sciences, professional direction 5.12. Food technologies, scientific specialty "Technology of biologically active substances (including enzymes, hormones, proteins)".

Topic and author of the dissertation: "Physical, chemical and microbiological characteristics of mineral, mountain and spring waters from Bulgaria and biological properties of microorganisms identified from them" by Nedyalka Naneva Valcheva, Ph.D.

Member of the scientific jury: Associate Professor Svetla Maksimova Dyankova, Ph.D, Institute of Cryobiology and Food Technologies - Sofia, scientific specialty "Technology of biologically active substances (incl. enzymes, hormones, proteins)", according to Order No. RD 05-43/27.03.2023 of the Chairman of the Agricultural Academy.

I. Actuality of the problem

Water is indispensable for the vital activity and survival of all organisms on our planet. Preserving the purity and quality of natural water sources is essential not only for human health and well-being, but also for maintaining ecological balance. In addition, our country is rich in thermal and hyperthermal mineral springs, and their waters are successfully used in the therapy of various diseases. From this point of view, an extensive study of the physicochemical and microbiological indicators of spring and mineral waters in Bulgaria is relevant and significant. In the dissertation, a detailed comparative analysis of the waters from 90 springs by 11 regions in the country, used for drinking water supply, as well as for medicinal purposes, was made. The obtained results are systematized and provide an opportunity to draw important conclusions about the state of natural water sources in the country, as well as to make recommendations for their protection from chemical and biological pollution. In addition, the actuality of the dissertation is complemented by the performed biochemical and genetic typing of the isolated microorganisms from the mineral waters and their investigation with a view to the selection of new probiotic strains.

II. Purpose, tasks and research methods

The aim of the dissertation work is formulated clearly and specifically and refers to the complete characterization of mineral, mountain and spring waters from Bulgaria and analysis of the microorganisms identified from them. In fulfillment of the set goal, three tasks were logically formulated, which were successfully implemented. The methodology used corresponds to the set goals and objectives and includes a wide range of classical and modern research methods. In the "Materials and methods" section, a detailed description of the applied analyzes is given, citing the corresponding

literature sources. Appropriate biological methods were used to determine adhesion to human cell lines and immunomodulation of the isolated strains.

III. Illustrative representation and interpretation of the obtained results. References

Logically, the "Results and Discussion" section occupies the largest volume of the dissertation. The experimental work done makes a very good impression. In addition to the complete analysis of the waters from the tested water sources, attempts were made to improve their sanitary hygienic quality by treating them with metal ions/EVOdrop, electromagnetic waves or zeolite. The interaction of water with biologically active substances from rose oil and extracts from *Lemna minuta* and *Haberlia rhodopensis* and the formation of water clusters was analyzed. 91 strains of microorganisms were isolated and identified from thermal and hyperthermal waters. Their biological properties are also determined. The obtained results are presented in 124 tables and illustrated with 187 photos and 8 figures. The interpretation of the results is correct and has been compared with the studies of other researchers from the cited literature. The conclusions at the end of the presentation are well-founded and summarize the obtained experimental data.

The attached bibliography is impressive - 548 references, a significant part of which is from the last 15 years. All of them are related to the dissertation research.

IV. Contributions of the dissertation work (scientific and scientific-applied contributions are evaluated separately)

I fully accept the scientific, scientific-applied and applied contributions presented by N. Valcheva, PhD. The first molecular genetic typing of 91 isolated microorganisms from 90 mineral, mountain and spring waters in Bulgaria is of scientific importance. 21 new strains of bacteria were identified. Their genera and the natural habitat conditions have been determined. The **scientific-applied contributions** of the dissertation are related to the discovered probiotic activity and anti-inflammatory properties of *B. subtilis* 0-2 and *B. thurigiensis* B62 strains and their potential application as probiotics, alone or together with lactobacilli. Adhesion activity to human epithelial cells of the isolated strains *Bacillus subtilis*, *Bacillus thurigiensis* B62 and *Geobacillus stearothermophilus* was also established.

The original **applied contributions** include: 1) the obtained results for high proteolytic, amylolytic and lipolytic activity of selected representatives of the genera *Bacillus*, *Aeromonas* and *Geobacillus*, which makes them promising strains as enzyme producers; 2) the established antimicrobial activity of representatives of the genus *Bacillus*, which defines them as potential producers of bacteriocins, used alone or as a component of preparations for plant protection against plant pathogenic fungi.

V. Publication activity and evaluation of the quality of scientific publications

Nedyalka Valcheva, PhD has included 17 publications on the topic of the dissertation. Of these, 9 publications are in Scopus and/or Web of Science indexed journals. The high quality of the publications is also confirmed by the presented citations: a total of 20. The applicant fully covers the minimum national requirements and the requirements of the Regulations for the Development of the Academic Staff of the Agricultural Academy for the acquisition of the scientific degree "Doctor of Sciences".

VI. Critical notes, questions and recommendations to the candidate

I have no critical remarks and recommendations towards N. Valkova PhD and the presented dissertation work.

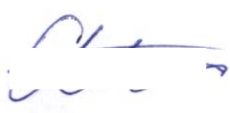
CONCLUSION:

Based on the research methods applied, the correctly conducted experiments, the summaries and conclusions made, I consider that the presented dissertation meets the requirements of the LDASRB and Regulations for the Development of the Academic Staff of the Agricultural Academy, which gives me reason to evaluate it POSITIVELY.

Based on the above, I propose to award to Nedyalka Naneva Valcheva, PhD the scientific degree "Doctor of Sciences" in the field of higher education 5. Technical sciences, professional direction 5.12. Food technologies, scientific specialty "Technology of biologically active substances (including enzymes, hormones, proteins)".

09.06.2023 r.

MEMBER OF THE JURI:


/Assoc. Prof. Svetla Dyankova, Ph.D/