

РЕЦЕНЗИЯ

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“ - д-р инж. Недялка Нанева Вълчева

Член на научното жури: Доцент доктор, Даниела Петкова Митева, ИКХТ-София, Технология на месните и рибни продукти, рецензент, съгласно заповед № РД 05-43/27.03.2023г. на Председателя на ССА.

I. Кратко представяне на докторанта (важни биографични данни и научно

Д-р инж. Недялка Нанева Вълчева е родена през 1966г. в с. Ябълково, обл. Хасково. През 1985г. завършва Техникум по индустриална химия „Проф. д-р Асен Златаров“, гр. Димитровград, като технолог - специалност „Технология на неорганични и органични вещества“. От 1990г. до 2016 г. е преподавател в професионална гимназия по химични и хранителни технологии „Проф. д-р Асен Златаров“ гр. Димитровград. Придобива магистърска степен в Университет по хранителни технологии, гр. Пловдив през 1990г., като инженер-технолог, специалност Технология на растителни, хранителни и вкусови продукти. През 2014г. защитава дисертационен труд на тема: „Микрофлора на лечебни и изворни води в Хасковска и Старозагорска област” и придобива ОНС „доктор” по научна специалност Микробиология в УХТ Пловдив

Научната ѝ кариера се развива в Тракийски университет, Аграрен факултет, където д-р Вълчева, като старши експерт и организатор катедра „Биохимия, Микробиология, Физика“, се занимава с цялостната организация на учебната и научно - изследователска дейност на катедрата.

II. Обща характеристика на дисертацията и автореферата – обем и структура

Дисертационния труд е представен на 345 страници и включва следните раздели – въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, обобщени изводи, приноси, литература. Цитирани са 548 литературни източника (13 на кирилица и 535 – на латиница). В научната разработка са включени 124 таблици, 8 фигури и 187 снимки. Литературният обзор е представен обстойно и показва задълбочената информираност на автора относно изследванията в областта на физикохимичния и микробиологичен контрол и характеристика на минерални, планински и изворни води от България и идентификация на изолирани от тях микроорганизми. В раздел „Резултати и обсъждане“ е извършена физична, химична и микробиологична характеристика на минерални, планински и изворни води от различни области на страната. Молекулярно-генетично идентифициране на изолираните от водите микроорганизми. Определяне на биологични свойства на идентифицирани щамове микроорганизми, като ензимна активност, антимикробно действие и адхезивна способност към човешки епителни клетки. При извършената физична, химична и микробиологична характеристика на 90 минерални, планински и изворни води от 11 области в страната е установено, че водите само от 24 водоизточника отговарят по всички контролирани физикохимични параметри на наредба № 9/2001 г., и постановление № 178/ 23.07.2004г. за качеството на водата предназначена за питейни цели, а по микробиологични показатели водите само на 15 водоизточника не отговарят по всички контролирани микробиологични параметри. За първи път е проведено молекулярно-генетично идентифициране на 91 изолирани микроорганизми от 90 минерални, планински и изворни води от 11 области в страната.

Аutoreфератът отразява много точно стегнато и ясно основните резултати, изводи и приноси на дисертационния труд. Очертана е новостта на научните резултати и тяхната практическа значимост. Написан е на 47 стандартни страници и е онагледен с основните фигури, таблици и снимки показани в дисертационния труд. Автореферата отговаря изцяло на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на НС „Доктор на науките“ в ССА.

III. Актуалност на проблема

Проведените научни изследвания са с ясна практико – приложна насоченост, свързани с хигиенноепидемиологичният контрол на планински, минерални и изворни води на територията на България. До момента липсват данни за много минерални лечебни и изворни води, които не се подлагат на физикохимичен и микробиологичен контрол, но са най-използваните извори за питейни нужди и битови цели от населението. Подобни

водоизточници съществуват в почти всички области в страната. Актуалността на проблема се основава и на голямата значимост на контрола на такива водоизточници, както и от необходимостта от системен физико-химичен и микробиологичен анализ на минералните и изворни води. Данните за биологичната активност на изолираните от различни водоизточници микроорганизми са много оскъдни. Актуалността на дисертационната работа е в подбора на др. Вълчева на новоидентифицирани щамове от такива водоизточници с голям потенциал за промишлено приложение. Определянето на ензимни, антимикробни и други биологични свойства на тези микроорганизми дава възможност за бъдещо приложение в биотехнологията, хранително-вкусовата промишленост, селското стопанство и други области от живота на хората

IV. Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата

В представеният научен труд се дава информация за физична, химична и микробиологична характеристика на минерални, планински и изворни води от различни области на страната, анализ на води от различни източници, регулатори на показателите на водите, нови източници на биологично активни субстанции и тяхното отнасяне към питейните води. Докторантката показва и добра литературна осведоменост по отношение на молекулярно-генетично идентифициране на изолирани от водите микроорганизми, определяне на биологични свойства на идентифицираните щамове микроорганизми, ензимна активност и адхезивна способност към човешки епителни клетки. Освен огромната по обем литературна справка в дисертацията кандидатката показва много добра теоретична и практическа способност по отношение на микробиологичния анализ на води от различни източници в страната. В продължение на седем години (от 2015 до 2021 г.) са изследвани минерални, планински и изворни води от 11 области в страната – Хасково, Стара Загора, Сливен, Ямбол, Пловдив, Пазарджик, Бургас, Варна, София, Ловеч и Благоевград.

V. Методичен подход

Целта на настоящата дисертационна работа е физична, химична и микробиологична характеристика на минерални, планински и изворни води от България, и биохимичен анализ на идентифицираните от тях микроорганизми, като за постигането на тази цел са поставени три основни задачи. При тяхното изпълнение е положен огромен труд от страна на докторанта, в продължение на 7 години се изследват и анализират минерални, планински и изворни води от 11 области в страната

Методологията в дисертационния труд е изключително комплексна и разнообразна. Използваните методи са подбрани целенасочено и са в необходима връзка с поставените задачи в дисертацията.

VI. Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретации и изводи

Дисертационния труд е описан и подкрепен с огромен брой данни доказващи, че при изследване на водата от изворите е необходимо осигуряване не само на доброкачествена вода за пиене, а и ефективен и постоянен физикохимичен и микробиологичен контрол. Независимо, че водата е неблагоприятна среда за развитието на микроорганизми, в лечебните и изворни води се открива патогенна и сапрофитна микрофлора. Представените задачи са важни и отразяващи именно физична, химична и микробиологична характеристика на минерални, планински и изворни води от различни области в страната. Изборът за анализ на голям брой водоизточници води до изолиране и идентифициране на нови щамове микроорганизми. От прорасналите колонии от 90 минерални, планински и изворни води на територията на 11 области след микробиологичен анализ са изолирани 91 неизвестни видове микроорганизми, които са подложени на идентификация, съгласно съвременни конвенционални и молекулярно-генетични методи. На базата на множество анализи се доказва адхезивната способност към човешки епителни клетки. С най-значими противовъзпалителни имуномодулиращи свойства, т.е. с най-силно инхибиране на продукцията на цитокина IL-8 (pg/cm³) и индуциране синтеза на трансформиращ растежен фактор бета TGF-beta (pg/cm³) са щамове *Bacillus subtilis* 0-2 и *B. thuringiensis* B62. Резултатите от настоящата дисертация показват, че изследваните щамове притежават ценни биологични свойства - амилолитична, протеолитична и липолитична ензимна активност, проявяват антимикробна активност спрямо различни бактерии, дрожди и плесенни гъби и показват адхезивна способност към човешки епителни клетки, което предполага, че имат противвъзпалителен имуномодулиращ ефект

VII. Приноси на дисертационния труд

Приносите в дисертационния труд са в пълно съответствие с поставената цел, а именно физична, химична и микробиологична характеристика на минерални, планински и изворни води от България и биологични свойства на идентифицирани от тях микроорганизми. Значителна част от представените 4 научни и 2 научно приложни приноси от дисертационния труд водят до получаване на нови знания в изследванията на минерални, планински и изворни води от България и биологични свойства на

идентифицирани от тях микроорганизми. Идентифицирани и селектирани са 21 щамове бактерии от осем рода – *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Geobacillus*, *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* и *Staphylococcus*, изолирани от 90 минерални, планински и изворни в 11 области от страната. От хипертермални минерални извори са установени екстремофили от *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* group, *Bacillus valismortis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus simplex*, *Pseudomonas fluorescens*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Stenotrophomonas maltophilia*. Представители на родове *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Stenotrophomonas* са доказани в хипертермален лечебен извор „Рупи 2“ с температура на водата 74,3 °C, и родове *Bacillus* и *Pseudomonas* – хипертермален лечебен извор „Рупи 1“ с температура на водата 73,5 °C, област Благоевград. Най-голям е броят на факултативния термофил *Bacillus licheniformis* – 15, последван от мезофилите *Bacillus subtilis* – 12, *Bacillus amyloliquefaciens* – 11, *Bacillus valismortis* и *Bacillus cereus* group – 9. Установено е като закономерност, че щамове *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus valismortis* могат да живеят заедно в хипертермални води.

Полезният ефект на получените резултати е конкретизиран в научно-приложният принос, а именно, че щамове *Bacillus subtilis* 0-2 и *B. thurigiensis* B62, които се отличават с най-силно инхибиране на продукцията на цитокина интерлевкин 8 IL-8 и индуциране синтеза на трансформиращ растежен фактор бета TGF-beta, са потенциално перспективни като пробиотици самостоятелно или в съвкупност с млечнокиселите бактерии за да засилят пробиотичната активност, противовъзпалителните свойства, както и да се използват в биотехнологичното производство, като неспециални пробиотици за животни и хора.

Научен интерес представляват проведените задълбочените изследвания, относно адхезионна активност към човешки клетки, като перспектива за приложение като пробиотици, където се открояват – с умерена щам *Bacillus subtilis* 0-2 (10/10), с умерено слаба – щам Н. Вълчева § И. Игнатов *Bacillus subtilis* 2-2-2 (10/7), а със слаба – щамове Н. Вълчева *Bacillus thurigiensis* B62 (10/5) и Н. Вълчева *Geobacillus stearothermophilus* (10/4).

Полезно надграждане на знанията в науката изучаваща минералните води е, че за първи път е проведено молекулярно-генетично идентифициране на 91 изолирани микроорганизми от 90 минерални, планински и изворни води от 11 области в страната

Установено е, че водите на 88 от изследваните 90 термални нетермални минерални, планински и изворни води в 11 области от страната – Хасково, Стара Загора, Ямбол, Сливен, Бургас, Варна, Пловдив, Пазарджик, София, Ловеч и Благоевград, са предимно с

алкално и неутрално pH, което ги прави благоприятна среда за развитие на бактерии, които могат да синтезират различни биологично активни вещества и притежават антимикробни и други биологични свойства. Подбрани са представители от родове *Bacillus*, *Aeromonas* и *Geobacillus* с висока протеолитична, амилалитична и липолитична активност, което ги прави перспективни като продуценти на различни ензими с цел приложение в биотехнологичното производство. Избрани са представители от род *Bacillus* с изявена антимикробна активност, което ги определя като перспективни продуценти на бактериоцини, използвани самостоятелно или като съставка на препарати за растителна защита срещу растителните патогенни плесенни гъби и Gram-отрицателната бактерия *Pseudomonas aeruginosa*.

Приемам оригиналността на получените резултати и изводите, както и на формулираните в дисертацията научни и научно приложни приноси. Дисертационният труд представлява принос в научен и научно-приложен аспект. Считам, че са спазени изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за прилагането му в ССА

VIII. Публикационна активност и оценка на качеството на научните публикации

Получените резултати са докладвани в 17 научни публикации, от които 5 в реферирани научни списания (Scopus – 5 бр., Web of science – 2бр.), 4 (Web of Science, CABI - 4бр) и 8 статии и доклади, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове (свързани с дисертационния труд за НС "Доктор на науките"). В 7 от тези материали авторът на дисертацията е първи автор, а в 5 втори автор. Авторът е представил списък от 20 цитирания по настоящата процедура на публикации с негово участие в реферирани научни издания. Публикациите отразяват същността на работата в дисертационния труд и степента на самостоятелност на автора.

IX. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Към дисертационния труд нямам критични забележки. Високо оценявам положения труд и постигнатите резултати от д-р инж. Недялка Вълчева. Представеният дисертационен труд доказва умението ѝ да планира и реализира експерименти, да следва съвременните тенденции в методите за анализ и контрол на води, както и да работи успешно в интердисциплинарни научни направления. Бих препоръчала в бъдещата дейност на автора да се потърси възможност за провеждане на клинични изпитвания на здравословните ефекти на изследваните от нея щамове със здравословен потенциал.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Въз основа на приложените, от докторанта/ката, различни 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: 31.05.23г.

ИЗГОТВИЛ РЕЦЕНЗИЯТА:

/Доц. д-р Даниела Митева-Гюрова/

REVIEW

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

Topic and author of the dissertation: : " Physical , chemical and microbiological characteristic of mineral , mountain and spring leads from Bulgaria and biological properties of identified from them microorganisms "- Dr. Eng . Nedyalka Naneva Valcheva

Member of the scientific jury : Associate Professor Doctor, Daniela Petkova Miteva, ICFT-Sofia, Technology of meat and fish products, reviewer, according to order No. RD 05-43/27.03.2023. of the Chairman of the Agricultural Academy.

I. Brief presentation of the doctoral student

Dr. Eng. Nedyalka Naneva Valcheva was born in 1966. in the village of Yablkovo , region Haskovo. In 1985 Graduated from Technical School of Industrial Chemistry, "Prof. Dr. Asen Zlatarov", city of Dimitrovgrad, as technologist - specialty "Technology of inorganic and organic substances". Since 1990 until 2016, he was a teacher at a vocational high school in chemical and food technology, Prof. Dr. Asen Zlatarov" Dimitrovgrad. He obtained a master's degree at the University of Food Technology, Plovdiv in 1990, as a technologist, majoring in Plant, Food and Flavor Products Technology. In 2014 defends a dissertation on the topic: "Microflora of healing and spring waters in Haskovo and Starozagorsk regions" and obtains a PhD in the scientific specialty of Microbiology at the UFT Plovdiv. Her scientific career everything develops in Thrace University, Faculty of Agriculture, where Dr. Valcheva , as a senior expert and organizer of the " Biochemistry" department , microbiology , Physics ", everything deals with a comprehensive organization of educational and *scientific research* activity of the department .

II. General characteristics of the dissertation and abstract - volume and structure

Dissertation work is presented on 345 pages and includes the following sections - introduction , literary overview , aim and objectives , materials and methods , results and discussion , summarized conclusions , contributions , literature . Quoted 548 are literary sources (13 in Cyrillic and 535 in Latin). In science development are 124 tables , 8 figures and 187 photographs included . The literary one an overview is presented thoroughly and shows the

thorough awareness of the author regarding research in the field of physicochemical and microbiological control and characterization of mineral , mountain and spring leads from Bulgaria and identification of isolates from them microorganisms . In the "Results and Discussion" section, a physical , chemical and microbiological test was performed characteristic of mineral , mountain and spring leads from different regions of the country . Molecular-genetic identifying the isolates from the waters microorganisms Determination of biological properties of identified strains microorganisms such as is cold activity , antimicrobial action and a adhesive ability to human epithelial cells . When performed physical , chemical and microbiological characteristic of 90 mineral , mountain and spring leads from 11 districts in the country found to be leading only from 24 water sources respond by all controlled physicochemical parameters of Ordinance No. 9/2001, and Decree No. 178/ 23.07.2004. for the quality of water intended for drinking purposes, but microbiological indicators the waters only 15 water sources no respond by all controlled microbiological parameters . For first path has been conducted molecular genetic identification of 91 isolates microorganisms from 90 mineral , mountain and spring leads from 11 districts in the country. The abstract reflects very accurately, concisely and clearly the main results, conclusions and contributions of the dissertation work. The novelty of the scientific results and their practical significance are outlined. It is written in 47 standard pages and is illustrated with the main figures, tables and photographs shown in the dissertation. The auto-abstract fully meets the requirements of LDASRB and the Regulations for the terms and conditions for acquiring the "Doctor of Sciences" degree in the Agricultural Academy.

III. Timeliness of the problem

The conducted scientific research has a clear practical - applied focus, related to the hygienic-epidemiological control of mountain, mineral and spring waters on the territory of Bulgaria. No data so far for many mineral healing and spring waters, which are not subjected to physicochemical and microbiological control, but are the most used springs for drinking needs and household purposes by the population. Similar water sources exist in almost all areas of the country. The relevance of the problem is also based on the great significance of the control of such water sources, as well as the need for systematic physico-chemical and microbiological analysis of mineral and spring waters. Data on the biological activity of microorganisms isolated from different water sources are very scarce. The relevance of the dissertation is in the selection of other Valcheva of newly identified strains from such water sources with great potential for industrial application. The determination of enzymatic, antimicrobial and other biological properties of these microorganisms allows for future application in biotechnology, food industry, agriculture and other areas of human life.

IV. Literary awareness and theoretical preparation of the candidate

The presented scientific work provides information on physical, chemical and microbiological characteristics of mineral, mountain and spring waters from different regions of the country, analysis of waters from different sources, regulators of water indicators, new sources of biologically active substances and their reference to drinking water. The doctoral student also shows a good literary awareness regarding molecular-genetic identification of microorganisms isolated from water, determination of biological properties of the identified strains of microorganisms, enzyme activity and adhesive ability to human epithelial cells. In addition to the huge volume of literature reference in the dissertation, the candidate shows very good theoretical and practical ability regarding the microbiological analysis of water from various sources in the country. For seven years (from 2015 to 2021), mineral, mountain and spring waters from 11 regions in the country - Haskovo, Stara Zagora, Sliven, Yambol, Plovdiv, Pazardzhik, Burgas, Varna, Sofia, Lovech and Blagoevgrad - were studied.

V. Methodical approach

The aim of the current dissertation work is physical, chemical and microbiological characterization of mineral, mountain and spring waters from Bulgaria, and biochemical analysis of the microorganisms identified from them, and three main tasks are set to achieve this goal. During their implementation, a huge amount of work was put in by the doctoral student, for 7 years mineral, mountain and spring waters from 11 regions in the country were studied and analyzed

The methodology in the dissertation work is exceptional complex and diverse. The used ones methods are selected purposefully and are in need connection with placed tasks in the dissertation.

VI. Significance and persuasiveness of the obtained results, interpretations and conclusions

The dissertation work is described and supported by a huge amount of data proving that when studying the water from the springs, it is necessary to ensure not only good quality drinking water, but also effective and permanent physicochemical and microbiological control. Despite the fact that water is an unfavorable environment for the development of microorganisms, pathogenic and saprophytic microflora are found in healing and spring waters. The presented tasks are important and reflect precisely the physical, chemical and microbiological characteristics of mineral, mountain and spring waters from different regions of the country. The choice to analyze a large number of water sources leads to the isolation and identification of new strains of microorganisms. From the overgrown colonies of 90 mineral,

mountain and spring waters on the territory of 11 regions after microbiological analysis are isolated 91 unknown kinds microorganisms that _ are subject to identification , according to modern conventional and molecular genetic methods. On the basis of multiple analyses, the adhesive ability to human epithelial cells is proven . With the most significant anti-inflammatory immunomodulators properties , i.e. _ with the strongest inhibition of IL-8 cytokine production (pg / cm³) and induction the synthesis of transforming growth factor beta TGF-beta (pg /cm³) are *Bacillus* strains subtilis 0-2 and *B. thuringiensis* B62. The results of the present dissertation show that the studied strains possess valuable biological properties - amylolytic , proteolytic and lipolytic enzyme activity, exhibit antimicrobial activity against various bacteria, yeasts and molds and show adhesive ability to human epithelial cells, which suggests that they have an anti-inflammatory immunomodulatory effect

VII. Dissertation Contributions

The contributions in the dissertation labor are in full compliance with the set purpose , viz physical , chemical and microbiological characteristic of mineral , mountain and spring leads from Bulgaria and biological properties of identified from them microorganisms . Significant part from the presented 4 scientific and 2 scientific applied contributions from dissertation labor lead to getting new ones knowledge in research of mineral , mountain and spring leads from Bulgaria and biological properties of identified from them microorganisms . Identified and elected _ are 21 strains of bacteria of eight genus a – *Bacillus* , *Brevibacillus* , *Geobacillus* , *Aeromonas* , *Klebsiella* , *Pseudomonas* , *Stenotrophomonas* and *Staphylococcus* , isolated from 90 mineral , mountain and spring in 11 regions of the country . From hyperthermic mineral springs are established extremophiles from *Bacillus subtilis* , *Bacillus cereus* group , *Bacillus valismortis* , *Bacillus licheniformis* , *Bacillus amyloliquefaciens* , *Bacillus megaterium* , *Bacillus simplex* , *Pseudomonas fluorescens* , *Geobacillus stearothermophilus* , *Stenotrophomonas maltophila* . Representatives of genera *Bacillus* , *Pseudomonas* and *Stenotrophomonas* are proven in hyperthermic medicinal " Rupi 2" spring with a water temperature of 74.3 °C, and genera *Bacillus* and *Pseudomonas* – hyperthermic medicinal source " Rs 1" p water temperature 73.5 ° C, region Blagoevgrad . The number of the facultative thermophile is the greatest *Bacillus licheniformis* – 15, followed by the mesophiles *Bacillus subtilis* – 12, *Bacillus amyloliquefaciens* – 11, *Bacillus valismortis* and *Bacillus cereus* group – 9 . It is established as regularity that _ the strains *Bacillus subtilis* , *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus valismortis* they can Yes live together in hyperthermal waters. The useful one effect of received results is specified in the scientific and applied contribution , namely that _ the strains *Bacillus subtilis* 0-2 and *B. thuringiensis* B62, which everything distinguish with the strongest inhibition of cytokine

production _ interleukin 8 IL-8 and induction the synthesis of transforming growth factor beta TGF-beta, are potentially prospective like probiotics independently or together with lactic acids bacteria for Yes strengthen the probiotic activity , anti-inflammatory properties as well everything used in biotechnology production , as non-essential probiotics for animals and people. Learned interest represent conducted the in-depth ones research , about adhesive activity to human cells , such as perspective for application like probiotics , where everything stand out - with moderate strain *Bacillus subtilis* 0-2 (10/10), with moderate weak - strain N. Valcheva § I. Ignatov *Bacillus subtilis* 2-2-2 (10/7), and with weak - strains N. Valcheva *Bacillus thuringiensis* B62 (10/5) and N. Valcheva *Geobacillus stearothermophilus* (10/4). Helpful upgrading knowledge in science _ studying mineral waters is , that for first path has been conducted molecular genetic identification of 91 isolates microorganisms from 90 mineral , mountain and spring leads from 11 districts in the country. It has been established that the waters of 88 of the 90 thermals studied non-thermal mineral , mountain and spring leads in 11 districts from the country - Haskovo , Stara Zagora , Yambol , Sliven , Burgas , Varna , Plovdiv , Pazardzhik , Sofia , Lovech and Blagovgrad , are mostly with alkaline and neutral pH , which them does favorable environment for development of bacteria that _ they can Yes synthesize different biologically active substances and possess antimicrobial and others biological properties. Selected are representatives from genera *Bacillus* , *Aeromonas* and *Geobacillus* with high proteolytic , amylolytic and lipolytic activity which _ them does prospective like producers of various enzymes with a purpose application in biotechnology production . Selected are representatives from genus *Bacillus* with prominent antimicrobial activity which _ them determines like prospective bacteriocin producers used _ _ independently or like ingredient of preparations for vegetable Protection vs the plant ones pathogenic moldy fungi and Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* .

I accept the originality of the received results and conclusions , as well as of formulated in the dissertation scientific and scientific applied contributions . The dissertation labor represents contribution in scientific and applied science aspect . I think that are complied with the requirements of the LDASRB and the the Regulations for the application his in the Agricultural Academy

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

Received results are reported in 17 scientific publications , by which 5 in referred scientific magazines (Scopus – 5 items , Web of science – 2 items) , 4 (Web of Science, CABI - 4 units) and 8 articles and reports published in non-refereed peer-reviewed journals or published in edited collective volumes (related to the doctoral dissertation). At 7 from these materials the author of

and 8 articles and reports published in non-refereed peer-reviewed journals or published in edited collective volumes (related to the doctoral dissertation). At 7 from these materials the author of the dissertation is first author , and in 5 second author . The author has presented list of 20 citations by the current one procedure of publications with his participation in referred scientific editions . The publications reflect the essence of the work in the dissertation work and the degree of independence of the author .

IX. Critical notes, questions and recommendations to the candidate

To dissertation labor I don't have critical remarks . I highly appreciate the work done and the results achieved by Dr. Eng . Nedialka Valcheva . The representative dissertation labor proves her ability to plans and implements experiments , yes follows the modern ones trends in methods for water analysis and control , as well as works successfully in interdisciplinary scientific directions . I would recommended in the future activity of the author Yes everything search opportunity for conducting clinical trials of healthy them effects of examined them from her strains with healthy potential

CONCLUSION:

Based on the various research methods applied by the doctoral student, the correctly performed experiments, the generalizations and conclusions made, I believe that the presented dissertation fully meets the requirements of the Law for the Development of the Academic Staff in thr Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation and the Rules of the Agricultural Academy for the acquiring of the scientific degree "Doctor of sciences" and for holding academic positions positions in the Agricultural Academy, which gives me reason to evaluate it **POSITIVELY**.

Based on the above, I propose to award Dr. Eng. Nedialka Naneva Valcheva scientific degree "Doctor of Sciences" in field of higher education 5. Technical sciences, professional direction 5.12 Food Technologies, scientific specialty " Technology of biological the active ones substances (incl . enzymes , hormones , proteins)" .

May 31,2023

Member of the Scientific Jury:

/ Assoc.prof. Dr. Daniela Miteva-Gyurova/