

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертация на тема *“ПОЛУЧАВАНЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НА БИОЛОГИЧНО АКТИВНИ ПЕКТИНОВИ ПОЛИЗАХАРИДИ ОТ ПРАЗ (*Allium porrum*) ”* за получаване на образователна и научна степен **доктор** по специалност **шифър 01.05.01** „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества”,

на **Мариана Манолова Николова**, редовен докторант при Лабораторията по биологично активни вещества, Пловдив, към ИОХ с Център по Фитохимия към БАН, София, с научен ръководител доц. д-р Мария Георгиева Крачанова,

от проф. д-р **Цветан Димитров Обретенов**, д.н., УХТ, Пловдив.

Изработването на настоящата рецензия ми беше възложено с решение на **Научното жури** от 10.05.12, в чийто състав съм включен със Заповед № РД 09-71 от 03.05.12 на Директора на ИОХ с ЦФ на БАН, София. Предоставените материали показват пълно удовлетворяване на законовите изисквания за провеждане на защита. Авторефератът вярно и точно отразява основните постижения на дисертационната разработка.

Обсъждането на дисертацията ще извърша в следните основни направления:

I. Представяне на докторантката.

Мариана Манолова Николова е родена през 1977 г. в Пловдив, където завършва средното си образование. За периода от 1995 – 2009 г. в Химическия факултет на ПУ „П. Хилендарски” получава образователно-квалификационната степен **магистър** по специалност Химик-органик и учител по химия и химична технология. В Свободния факултет на същия университет придобива специалност по компютърна лингвистика, а във факултета по Икономически и социални науки става **магистър** по Счетоводство и анализ. Професионалният ѝ път започва в Института по растителни и генетични ресурси през 2001 в Садово, след което (2002 г.) е редовен докторант в ЛБАВ, Пловдив, към ИОХ с ЦФ на БАН, София. От 2005 г. работи в същата лаборатория като химик, а от 2007 г. е избрана за асистент. Участвала е в разработването на 5 научни проекта, на един от които е била ръководител. На добро ниво ползва английски и руски език.

II. Количествена характеристика и обща оценка на дисертационната работа.

Проблемът е изложен на 146 страници и съдържа 23 фигури, 4 схеми, 39 таблици и 250 литературни източника. Литературният обзор заема 19.2 %

от общия обем на ръкописа, Материали и методи – 9,6 %, Резултати и обсъждане – 42.5 %, и други (Въведение, Съдържание, Изводи, Литература, и др.) – 28.7 %, което прави дисертацията добре структурирана.

Във връзка с труда има 5 броя публикации и 5 постера. Две от публикациите са отпечатана в международни списания, едно от които е сред най-реномираните в областта на Хранителната наука (J. Sci. Food Agric.). Тази статия е цитирана два пъти в чужбина. IF = 1,576.

Дисертацията е написана на много добър професионален език, изказът е ясен, лек и лаконичен. Техническото оформление е осъществено грижливо и оставя приятно впечатление. При запазване на класически приетата обща структура на ръкописа, подреждането на проблемите в самите раздели е логично, аргументирано и убедително.

Прегледът на литературата е многопланов, задълбочен, критичен и богато информативен. Доминират изследвания от последните години, което е показателно за нарастващата актуалност на пектините. В него са намерили място и трудове на български автори, без обаче да е направен опит да се покаже колко силно обусловена е тази разработка от осъществените изследвания върху близки на праза растителни обекти в обкръжаващата докторантката изследователска среда. Целта на дисертацията и задачите са убедително дефинирани.

Описанието на големия брой използвани аналитични и препаративни методики предполага някаква степен на неяснота, каквато докторантката с много умение не е допуснала.

Лесно и убедително се възприема и основната част на дисертацията, посветена на получените резултати и тяхната интерпретация. Тука са намерили място част от литературните източници, които докторантката сполучливо използва да съпостави постигнатото от нея с това на други автори.

Дисертационният труд съдържа в себе си приноси с научен и приложен характер, представляващи новост за науката, обогатяване на съществуващите знания и приложение в практиката. Основната част от резултатите е направена достояние на научната и приложната общност чрез представяне на научни форуми и отпечатване в научни списания. Важна част от експерименталната работа е извършена в тясно сътрудничество със специалисти от областта на медицината у нас и в чужбина, резултатите от което са безспорни.

Всичко отбелязано дотук създава достатъчно сериозни предпоставки за нейната успешна защита.

III. Научна същност на дисертацията.

Вероятно още дълго време опознаването на пектиновите вещества ще запази своя подчертан актуален характер. От една страна, поради все още недостатъчното познаване на тяхната химична структура, обусловено от сложния химичен състав, както и от необхватното им разнообразие. От друга

страна, паралелно на тези проблеми се пораждат нови, произтичащи от потребността за разкриване на перспективни източници на храни или важни хранителни компоненти с ценна биологична активност, на нови съставки за функционални храни, заместители и други предназначения.

С почти претенциозна последователност докторантката търси решения на тези проблеми, като във фокуса на научните ѝ интереси попада празът (*Allium porrum*). Той може да се счита за богат източник на различни въглехидратни представители (над 50 %), които са от значение за усвояването на храната от човешкия организъм в ролята им на хранителни влакнини, за микрофлората на стомашно-чревния тракт, за обмяната на веществата, за фитотерапията, за приготвяне на продукти с лечебно-профилактично предназначение и като обект с нарастващо значение за хранителната технология. Следователно, дисертационният труд е подчинен на една силно актуална цел, каквато е опознаването на пектиновите хетерополизахариди на *Allium porrum*.

С помощта на богат по своето разнообразие и възможности препаративен и аналитичен инструментариум докторантката най-напред изолира интересуващите я алкохолнеразтворими вещества на праза от четири последователни години на отглеждане (2001 – 2004 г.), което ѝ позволява да направи извод, че видът на реколтата не ще влияе на изследванията, тъй като няма съществени различия в данните за алкохолнеразтворимите вещества. След установяване на индивидуалния качествен и количествен състав на монозахарите, пектиновите полизахариди на алкохолнеразтворимата фракция са подложени на петкратно последователна обработка с различни по химична природа екстрагенти и на получените екстракти е определен добива, полиуронидното съдържание, степента на естерификация, неутралните захари, белтъка и общите полифеноли. После са анализирани монозахарите, участващи в структурата на пектиновите вещества от алкохолнеразтворимата част, и са характеризирани полимерните ѝ фракции чрез молекулна маса, характеристичен вискозитет и биологична активност.

Застанала убедено на позицията, че в сложния състав и строеж на пектиновите полимери може да се навлезе посредством различни методични подходи, докторантката избира нови екстракционни условия за изолиране на пектиновите вещества от алкохолнеразтворимата част на праза, като за целта използва вода и солна киселина. Водата извлича водоразтворимите пектинови субстанции в нативен вид, а солната киселина осигурява висока степен на екстракция, което е от значение за промишлеността. Двата извлека са характеризирани с осем вида специфични анализи, идентифицирани са съдържащите се монозахари, определена е молекулната маса, вискозитета, аминокиселинното присъствие, пенообразуващата способност, стабилността на пяната, емулсионната стабилност и биологичната им активност. Следват различни хроматографски операции за пречистване на същите екстракти, което дава възможност чистите пектинови вещества да бъдат подложени на

редица биологични тествания. С помощта на пектолитични ензими са получени данни за природата на връзките в пектиновата молекула, а ензимните хидролизати са характеризирани с химични и биологични анализи.

Така завършва теоретичната част на дисертацията, след което са представени изследванията на възможностите за приложение на пектиновите вещества на праза за получаване на функционални храни.

IV. Приноси на дисертацията.

Дисертационната разработка е посветена главно на опознаване на пектиновите вещества на праза чрез получаване на информация за монозахарите, влизащи в структурата на полимерните им вериги, нови по химична природа свързвания между тях, оформяне на индивидуалността на пектиновите полимери, както и тяхната биологична активност, правеща целесъобразно използването им при получаването на функционални храни с разнообразно приложение.

Основни научни постижения:

1. Извършена е задълбочена характеристика на свежия праз чрез полиуронидно съдържание, степен на естерификация, сухо вещество, качествен и количествен състав на въглехидратите по дължината на стеблото на растението, минерален състав, количество на влакнините, фенолни съединения и органични киселини. Резултатите от това изследване са важен принос в разкриване на химичната същност на праза, като го правят по-познат за хранителната наука и практиката и засилват интереса към него.

2. Направен е съществен принос в опознаване на пектиновите вещества, участващи в изграждането на клетъчната стена на клетките на праза:

- установено е количеството на алкохолнеразтворимите вещества на праза, техния фракционен състав и характеристика;

- идентифицирани са неутралните монозахари и уроновите киселини, изграждащи пектиновите молекули;

- получен е голям брой пектинови препарати, които са характеризирани с широк набор от физикохимични, хроматографски, биохимични и други методи.

3. Обогатена е методологията в изследването на пектиновите вещества чрез разработване на нови подходи или модифициране на съществуващи за тяхното изолиране от растителната суровина чрез:

- използване на различни екстракционни методи и различни по химична природа екстрахиращи вещества, както и оптимизиране на факторите, определящи ефективността на екстракционния процес. Получените пектинови препарати са многостранно характеризирани чрез което е обогатена представата за химичната природа на пектините в праза и тяхната биологична активност;

- разработени са 2 лабораторни схеми (схема за пречистване на пектинови полизахариди от праз и схема на ензимен хидролиз на осапунен

киселинно екстрахиран пектинов полизахарид от праз); разширен е обсега на приложение на схемата на Voragen и сътр. чрез прилагането ѝ за екстракция на пектинови полизахариди от праз; разработени са начини за приготвяне на функционалните храни с възможности за използване в практиката.

4. Съществен принос за химията на пектиновите вещества е установяването на:

- наличие на глюкуронова киселина в уронидната част на пектиновите полизахариди в количество до 15 %;

- доминиращо участие на галактаните в страничните вериги на рамногалактуронана. С помощта на ендо- β -(1 \rightarrow 4)-галактаназа, α -галактозидаза и β -галактозидаза е доказано, че свързването на галактозните остатъци в галактановата верига е от типа β -1,4-скачване.

5. Извършено е мащабно изследване в обсега на дисертацията на биологичната активност на пектините на прازа, като е доказано:

- че имуностимулиращата активност на пектиновите полизахариди на прازа се дължи на страничните галактанови вериги и е потвърдено схващането, че отговорни за проявяваната биологична активност са разклонените области на пектиновите полизахариди; допринесено е за изясняване на връзката между състава, структурата и биологичната активност на изследваните пектинови вещества;

- силно изразена имуностимулираща активност на водно- и хелатноекстрахираните пектини, притежаващи висока молекулна маса и високо съдържание на галактууронова киселина;

- функционална активност на водноекстрахирания пектин спрямо перитониални макрофаги на мишки;

- чрез теста за активиране на комплемента по класически и алтернативен път е установено, че водноекстрахираният пектин най-силно инхибира хемолизата;

- проява на антикомплементарна активност на пектиновите полизахариди, дължаща се на галактаните;

- че белтъчните вещества не влияят измеримо на биологичната активност на пектиновите вещества.

Приноси с приложен характер:

1. Получени са пюреобразни продукти от праз при намерени най-подходящи условия за увеличаване на количеството на пектин чрез киселинна екстракция от клетъчните стени на растението с хидротермично въздействие и подобряване на тяхната имуностимулираща активност. Пюретата са многостранно характеризирани чрез различни по природа анализи, в това число и чрез тяхната биологична активност.

2. Разработени са 9 рецепти за приготвяне на зеленчукови сокове, пюре от праз и храни на основата на праз и други зеленчуци.

3. Проведени са клинични изпитания на продуктите и е установена сферата на тяхното използване.

V. Съображения и препоръки.

С удовлетворение ще отбележа, че към нито един от разделите на дисертацията нямам основание да отпраща съществени критични бележки. Този извод се отнася и за техническото ѝ оформление. Работено е високо отговорно и някои слабости в организацията на заглавията на отделните части на ръкописа, въвеждането на съкращения, които почти не се използват самостоятелно, както и незначителни пропуски от технически или друг характер, са несъществени и не заслужават адресирано обсъждане.

Накрая ще споделя, че дисертационният труд на Мариана Николова далеч не поставя, разбира се, началото на изследванията на пектиновите вещества в ЛБАВ, но пък е плод както на нейния всеотдаен труд, така също и на извървяния повече от шейсет години творчески изследователски път от нейните предшественици, на натрупания огромен опит и изградените високи научни критерии. Поставеното от проф. Стойков начало върху изучаването на пектините придоби неимоверно развитие. Днес в ЛБАВ на БАН в Пловдив и в УХТ творят плеяда от неговите всеотдайни последователи, сред които е и научната ръководителка на докторантката д-р Крачанова. В контекста на споделената ретроспекция настоящата дисертация е колкото логична, толкова и високо стойностна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Представеният дисертационен труд представлява завършена актуална и прецизно изпълнена разработка с убедителен научен и приложен характер в областта на природните биологично активни вещества. След нея *Allium porrum* стана по-познат като изследователски обект и много по-перспективен за медицината, както и като суровина за хранителната промишленост. Широко разгърнатата експериментална работа, както и получените научни и приложни резултати, не оставят съмнение в пълното удовлетворяване на научните и образователните критерии за успешна защита.

С убеденост **предлагам** на *почитаемото Научно жури* да присъди образователната и научната степен **доктор** на Мариана Манолова Николова, докторант при Лабораторията по биологично активни вещества, Пловдив, към ИОХ с Център по Фитохимия към БАН, София.

25.05.12
Пловдив

С уважение: