

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Павлета Стоянова Шестакова, Институт по органична химия с Център по фитохимия, БАН (ИОХЦФ-БАН)

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'
Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално
направление 4.2.Химически науки,
Научна специалност „Органична химия“

Автор: Десислава Пламенова Гергинова

Тема: ЯМР метаболомика на пчелен мед и вино

Научни ръководители: проф. д-р Светлана Симова (ИОХЦФ, БАН) и гл. ас. д-р Явор Митрев (ИОХЦФ, БАН)

Общо описание на представените материали

Представеният от ас. Десислава Гергинова комплект материали във връзка с процедурата за защита на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“, е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИОХЦФ, и отговаря на критериите на ИОХЦФ-БАН за придобиване на образователната и научна степен „доктор“.

Докторантката е приложила 4 броя публикации по темата на дисертацията, списък на забелязани цитати по научните трудове, включени в дисертационния труд, списък на участия в научни мероприятия, списък на участие в изпълнение на научни проекти, награди и съответният доказателствен материал. Документите са подадени в срок и са оформени грижливо и прецизно.

Кратки биографични данни за докторанта

Десислава Гергинова завършва средното си образование през 2011 г. в Професионална гимназия по екология и биотехнологии „Проф. д-р Асен Златаров“, гр. София, със специалност „Екология и опазване на околна среда“. През 2016 г. завършва Химикотехнологичния и металургичен университет в София, като инженер-химик с бакалавърска степен по „Неорганични химични технологии“. През периода ноември 2013 – януари 2014 г. Десислава Гергинова е стажант в ЦЯМРС по програма „Студентски практики“ на МОН, под ръководството на проф. Светлана Симова. Практиката в ЦЯМРС поставя началото на нейните интереси в областта на ЯМР спектроскопията, като през 2016 г. тя продължава обучението си във Факултета по химия и фармация на Софийски университет „Св. Климент Охридски“, където завършва магистратура по „Съвременни спектрални и хроматографски методи за анализ“ през 2017 г. През 2018 г. е зачислена като редовен докторант в Центъра по ЯМР спектроскопия към ИОХЦФ-БАН, с научни ръководители проф. Светлана Симова и гл. ас. Явор Митрев. От януари 2021 г. е отчислена с право на защита и е назначена като асистент в Центъра по ЯМР спектроскопия към ИОХЦФ.

Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Темата на дисертацията е актуална и важна, както в научен, така и в приложно-практически аспект, пред вид нарастващия брой измами, свързани както с качеството на хранителните продукти и напитки, така и с истинският им произход, които водят до икономически и социално-значими проблеми. Независимо от предприетите действия на ниво Европейски съюз, все още липсват ефективни общопризнати законодателни и нормативни документи и мерки, които да позволят стриктен контрол на съдържанието, качеството и произхода на храни и напитки. Проблемите до голяма степен са свързани с ограничения брой утвърдени методи за анализ на техния качествен и количествен състав, които да позволяват бързо, надеждно и

икономически целесъобразно откриване на използваните за фалшифициране вещества. През последните години ЯМР спектроскопията все повече се утвърждава като важен, надежден и бърз метод за контрол на качеството и произхода на храни и напитки. Във връзка с това е формулирана и основната цел на дисертационния труд - разработване на нови ЯМР базирани подходи за бърз и надежден анализ на качеството и автентичността на пчелен мен, вино и други продукти с високо съдържание на захари. Конкретните задачи за постигане на тази цел са подходящо дефинирани, методично и логически свързани помежду си, което още в началото на дисертацията създава впечатление, че дисертационният труд е разработен на базата на внимателно обмислена и добре подредена концепция.

Познаване на проблема

Дисертационният труд включва общо 326 литературни източници, част от които представляват ЯМР спектрални бази данни, програмни пакети за анализ на ЯМР спектри и хемометрични данни, и за метаболомен анализ. Литературният обзор е много добре систематизиран, покрива всички аспекти на изследванията в дисертацията, оформен е изключително прецизно, като част от информацията е представена с красиво оформени фигури, графики и таблици. Прегледът на литературата е написан интересно и увлекателно, като включва шест части, съдържащи описание и аналитично разглеждане на основните експериментални и статистически методи, използвани в метаболомните изследвания, накратко са представени основните принципи на ЯМР спектроскопията и най-важните аспекти на метода при прилагането му за метаболомни изследвания, представени са използваните хемометрични методи и статистически подходи. Направено е описание на състава и основните аналитични методи, използвани за анализ на мед, вино, медовина и борово сладко, като критично са анализирани предимствата и недостатъците им. Кратките исторически бележки в началото на всяка част от литературния обзор, създават приятно впечатление и показват желанието на докторантката за придобиване на по-широка култура и цялостно запознаване с използваните методи и изследваните обекти.

Представянето на литературния обзор, убедително показва, че докторантката познава задълбочено съвременното състояние на изследванията и проблемите адресирани в дисертационния труд, умее критично и компетентно да анализира, осмисля и обобщава съществуващата литература. Това определено е допринесло за правилното формулиране на основната цел и конкретните задачи на дисертацията, както и за намирането на подходяща научна стратегия и подходи за тяхното успешно решаване, което определя и високото ниво на проведените изследвания и получените резултати.

Методика на изследването, характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 235 страници и е богато илюстриран с 84 фигури, 3 схеми и 26 таблици. От цитираните 326 литературни източника, над половината са статии, публикувани след 2015 година. Дисертацията се състои от шест основни раздела: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (104 стр.), Резултати и обсъждане (89 стр.), Експериментална част (26 стр.), Заключение (1 стр.), Литература (13 стр.). Към основния текст, включен в дисертацията е предоставен електронен достъп до 11 Приложения, съдържащи многобройни и отлично представени експериментални данни, графики и детайлно описание на компонентите открити в пчелен мед и във вино.

Резултатите от собствените научни изследвания са представени и дискутирани в три основни раздела, които са групирани според вида на изследваните обекти: 1) пчелен мед, 2) вино и 3) други продукти с високо съдържание на захари – медовина и борово сладко.

Изследванията върху пчелен мед обхващат 300 проби от мед с различен ботанически и географски произход. Поради липсата на утвърден протокол за ЯМР метаболомен анализ на пчелен мед, в дисертацията са определени оптималните условия за провеждане на изследванията: концентрация, рН, температура, импулсни поредици за ^1H и ^{13}C ЯМР експериментите, както и най-подходящите експериментални параметри. Сложният химически състав на пчелния мед, включващ голям брой вещества със сходна структура, поставя сериозни предизвикателства при анализа на ^1H ЯМР спектрите, тъй като те съдържат голям брой близко разположени или припокриващи се сигнали, със сложна мултиплетност, което създава трудности при идентифицирането и количественото определяне на компонентите. За решаване на този проблем в дисертацията са приложени набор от стандартни хомо- и хетерокорелационни двумерни ЯМР техники, селективен едномерен TOCSY експеримент, както и сравняване със спектри на индивидуални захариди и литературни данни. Чрез този подход в ^1H ЯМР спектрите на пчелен мед са идентифицирани 46 съединения. Разработена е и методика за количествено определяне на захариди чрез използване на ^{13}C ЯМР спектри, като са идентифицирани и количествено определени 41 съединения. Получените данни за качествения и количествен състав на пробите от пчелен мед, са анализирани чрез хеометрични техники, в резултат на което са установени характерни компоненти и е предложена методика за разграничаване на мед по ботанически, ентомологичен и географски произход. Предложен е и метод за бързо идентифициране на разреден мед, чрез ^1H спектър с една акумулация и без потискане на сигнала на водата, като се използват съотношенията малтоза/глюкоза и захароза/глюкоза. Разработен е метод за пресмятане на оптичен ъгъл на въртене на мед и сладко, на базата на концентрациите 21 дизахариди определени от ^{13}C спектри и оптичния ъгъл на въртене на индивидуалните захариди.

Изследванията върху вино обхващат 70 проби (от които три разредени), включващи червени и бели вина от различни сортове грозде, както и чуждестранни и български вина, от 4 различни региона на България. За определяне на качествения и количествен състав и идентифициране на различни органични компоненти в изследваните проби вино са приложени едномерни и двумерни ЯМР техники, като подходът е подобен на този при изследване на пчелен мед. Идентифицирани са и са количествено определени 31 съединения, като данните са анализирани с различни хеометрични техники и са демонстрирани възможностите на предложения подход за разграничаване на вино по сорт грозде, по географски произход, както и за определяне на основни компоненти, чрез които е възможно различаване на разредени от истински вина, както и за разграничаване на червени вина от един и същ сорт грозде със и без използване на мацерация при производствения процес. Предложен е модел, който позволява да бъдат разграничени вина от характерни български сортове грозде и чуждестранни сортове, произведени в България.

Изследванията върху други продукти с високо съдържание на захари, включват 2 проби борово сладко и една проба медовина. Установен е качествения и количествен състав на 30 органични вещества в медовина. Проведено е сравнително изследване на медовина, мед и вино като са установени компоненти в медовина, които могат да служат за оценка на качеството ѝ или за наличие на фалшифициране. Идентифицирани и количествено определени са 14 захариди в борово сладко, и е проведено сравнително изследване на захарния профил на борово сладко и мед, както и на сладко от борови шишарки и борови връхчета. Чрез хеометрични анализи са установени разлики в съдържанието им, които биха могли да служат като маркери за разграничаването им, но за създаване на надежден модел, е необходимо продължаване на изследванията чрез анализ на по-голям брой проби.

Всички експерименти са проведени като е използван системен, добре планиран и последователен подход, интерпретацията на експерименталните данни е извършена внимателно и прецизно, анализът на данните с предложените хеометрични подходи и статистически модели е убедителен. Бих искала да отбележа, че извършената работа е впечатляваща по обем и е свързана с обработка и анализ на голям набор от експериментални данни. Докторантката се е справила отлично с тази задача, като освен безспорни умения за работа с огромен брой данни, демонстрира и чудесни умения за тяхното обобщаване, описание и онагледяване по изключително интересен и атрактивен начин.

В раздел Експериментална част са описани детайлно произходът на изследваните проби, методите за пробоподготовка, експерименталните параметри за регистриране на ЯМР спектрите, за обработката им и за техния количествен анализ. Посочени са програмните продукти, методите и параметрите за извършване на хеометричните анализи на данните за пчелен мед, вино, медовина и борово сладко. Начинът, по който е представена експерименталната част предоставя възможност за възпроизвеждане на експерименталните данни и провеждане на независими анализи, което считам като положителен аспект на дисертацията.

Цялостното ми впечатление е, че дисертационният труд представлява сериозна по обем ЯМР експериментална работа, съчетана с прецизен хеометричен и статистически анализ на данните, която е проведена изключително прецизно и на високо научно ниво. Безспорен принос за актуалната тематика, правилния подход и интересните резултати има и високата компетентност на научните ръководители проф. д-р Светлана Симова и гл. ас. д-р Явор Митрев.

Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Изследванията проведени в дисертационния труд и получените резултати имат научен и научно-приложен характер. По същество те са свързани с разработване на нови ЯМР базирани методики за качествено и количествено характеризирание на мед, вино и медовина чрез прилагане на стандартни ЯМР експериментални техники в комбинация с хеометрични подходи за анализ на данните. Проведените изследвания, съдържат оригинални научни резултати и поставят основите на ново направление „ЯМР метаболомика“ в научната тематика на ЦЯМРС и в научните изследвания в България, а обемът на анализиранияте проби и прецизността, с която са извършени експериментите, обработката и анализът на получените данни, както и впечатляващото оформление на дисертацията биха могли да служат за стандарт.

Основните приноси на дисертационни труд могат да бъдат обобщени както следва:

- Чрез анализ на ^1H и ^{13}C ЯМР спектри регистрирани с различни импулсни поредици, параметри и проби, приготвени при различни условия са установени оптималните условия за пробоподготовка и най-подходящите експериментални параметри за анализ на пчелен мед чрез ЯМР метаболомика.
- Разработена и верифицирана е методика на базата на ^{13}C ЯМР спектроскопия чрез, която е извършено полуколичествено определяне на 41 компонента в пчелен мед и борови сладка.
- Оригинални приноси на изследванията свързани с изследване на пчелен мед: за първи път е експериментално доказано, че в мед от африкански безжилни пчели се съдържа високо количество от дизахаридът трехалулоза; за първи път е установено наличие на монозахарида хиновоза в пчелен мед; установени са два характеристични компонента за дъбов манов мед - 1-кестоза и мезо- 2,3-бутандиол; установени са специфични компоненти, които позволяват разграничаване на Странджанският дъбов манов мед от дъбов мед с друг географски произход.

- Чрез набор от хемометрични анализи са идентифицирани специфични компоненти, които могат да служат като маркери за определяне на произхода на мед и вино, с цел установяване и определяне на ботанически произход и държава, производител на пчелен мед, както и район в България, от който е виното.
- Показано е, че във вина от характерни български сортове грозде се съдържат по-високо количество захари и алкохоли в сравнение с вина от изследваните международни сортове.
- На базата на ¹H ЯМР спектри са разработени методи, позволяващи бързо и лесно разпознаване на разреден мед и вино, което е оригинален принос на дисертацията.
- Предложен е метод за пресмятане на оптичен ъгъл на въртене на пчелен мед в зависимост от количествата на съдържащите се захари, позволяващ лесно идентифициране на разреден пчелен мед.
- Чрез ЯМР метаболомика за първи път са определени профилите на борово сладко и медовина и е извършен сравнителен анализ на състава на борово сладко, мед, вино и медовина.

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Изследванията по темата на дисертацията са обобщени в 4 научни публикации, две от които са публикувани в списания, които принадлежат към категорията Q1 (Molecules с IF 4.412 и , Foods с IF 4.350), една към категория Q4 (Bulgarian Chemical Communication с IF 0.242) и една публикация е в списание, което не се реферира в международните бази данни (Journal of the Bulgarian Academy of Sciences, на български език). По публикациите са забелязани общо 15 цитата, като 14 от тях са по двете публикации в Molecules и Foods, публикувани през 2020 и 2021 г., съответно, което показва големият интерес на научната общност и е показателно за значимостта на проведените изследвания.

Резултатите от научната работа на ас. Гергинова са представени пред научната общност чрез доклади (9 броя) и постери (9 броя) на международни и национални научни форуми. Прави впечатление, значителното участие с доклади, от които 5 в национални и 4 в международни мероприятия, както и големият брой наградени постери (3 броя), което е признание не само за високото качество на изследванията, но и за отличните умения на докторантката за представяне на резултатите.

Лично участие на докторантката

Убедена съм, че ас. Десислава Гергинова има безспорно и решаващо лично участие във всеки един етап на проведените изследвания. Бих искала специално да подчертая като нейни важни приноси внимателната пробоподготовка, обработката, анализът и интерпретацията на ЯМР спектрите, обобщаването и систематизирането на големия обем данни и анализът им чрез прилагането на хемометрични и статистически методи. По време на своята работа върху изследванията в дисертацията ас. Гергинова е завършила с отлични резултати курсове по ЯМР спектроскопия и статистически методи, придобила е умения за работа със различни програмни пакети за обработка и анализ на ЯМР спектри, за метаболомен анализ, за хемометричен и статистически анализ на данни. Изцяло неин принос е оформянето и впечатляващото онагледяване на данните и резултатите с фигури, таблици и схеми. Докторантката съвсем заслужено е първи автор в 3 от публикациите по дисертацията, което е признание за нейният значителен личен принос при проведените изследвания.

Бих искала да отбележа, че освен публикациите по дисертацията, ас. Десислава Гергинова е съавтор на още 4 публикации и една глава от книга. Ас. Гергинова участва в 18 научни проекта

финансирани от ФНИ, МОН, ОПНОИР, в рамките на двустранното академично сътрудничество на БАН и от други източници, и вече има опит и като ръководител на проект по НП“Млади учени и постдокторанти“.

Автореферат

Представеният автореферат е изготвен в съответствие с изискванията на ЗРАС, Правилника за неговото приложение и Правилника на БАН за приложение на ЗРАС. Авторефератът отразява обективно структурата, съдържанието и резултатите на дисертационния труд.

Критични забележки и препоръки

Забелязани са някои неточности при описанието на принципите на ЯМР спектроскопията, които приемам, че се дължат на желанието на докторантката да обясни принципите на метода, на ниво, което е разбираемо и достъпно за по-широка аудитория. Бих искала да отбележа, че това не повлиява отличното ми впечатление от качеството на работата на докторантката и високото научно ниво на дисертационния труд.

Нямам критични забележки към представените изследвания и към материалите по дисертацията.

Лични впечатления

Познавам Десислава Гергинова от 2013 г., когато за първи път дойде в ЯМР лабораторията в ИОХЦФ, БАН, като стажант по програма „Студентски практики“. През годините тя натрупа сериозни знания и умения за работа с ЯМР апаратурата, включи се и участва активно в разнообразните дейности, свързани с поддръжка на ЯМР апаратите, като отговаря за обобщаване и изготвяне на ежемесечните отчети за сервизната дейност на ЦЯМРС. Личните ми впечатления като ръководител на ЦЯМРС от Десислава Гергинова са прекрасни. С удоволствие наблюдавах нейното научно развитие и изграждането ѝ като компетентен, отговорен и задълбочен млад изследовател, който умее успешно да се справя с нови предизвикателства, да работи самостоятелно и да решава поставените проблеми. Впечатление правят високите критерии и изисквания, които поставя към собствената си работа, както и желанието ѝ за нови знания, вдъхновението и силната мотивация, които влага в научната работа. Със своята прецизна, упорита и задълбочена работа Деси допринесе за въвеждането на ЯМР метаболомиката и хемометричните анализи в тематиката на ЯМР групата. Благодарение на всички тези качества Деси се превърна в незаменим и високо ценен член на екипа на ЦЯМРС.

Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Бих препоръчала разработените в дисертационния труд ЯМР базирани методи за анализ на качествения и количествен състав на мед и вино да бъдат по-широко популяризирани и представени на БАБХ или други институции и органи за контрол на храни и напитки. Също така би било добре да се помисли за включването на получените данни за състава на изследваните обекти в бази данни за ЯМР метаболомни изследвания (интернет базирани или от друг тип). Това би допринесло за популяризиране на разработените методики и за повишаване на видимостта на получените резултати.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа оригинални научни и научно-приложни разработки, резултати и приноси, които покриват и надхвърлят изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на БАН. Представените материали и дисертационни

резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Правилник на ИОХЦФ-БАН за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд представя ас. Десислава Гергинова като талантлив, сериозен и перспективен млад учен, отличаващ се със собствен научен профил, задълбочен подход, ентузиазъм и високи професионални умения в областта на ЯМР метаболомния анализ на храни и напитки, който представлява важна и актуална научна област. Пожелавам на Деси здраве, много успехи и още много интересни изследвания и хубави резултати в бъдещата ѝ работа. Бих искала също да поздравя научните ръководители за интересната научна тематика, добре формулираната изследователска стратегия и оригиналните резултати, получени в дисертацията.

Въз основа на гореизложеното, с удоволствие давам своята **положителна оценка** за проведените изследвания, постигнатите резултати и приносите, представени в дисертационния труд и **предлагам на Уважаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'доктор'** на асистент Десислава Гергинова в област на висше образование: Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.2.Химически науки, Научна специалност „Органична химия“.

25.08.2022г.

Рецензент:

проф. д-р Павлета Шестакова