

РЕЦЕНЗИЯ

от **проф. д-р Стефан Леонидов Цаковски**,
Факултет по химия и фармация при СУ „Св. Климент Охридски“,
член на научното жури одобрено със Заповед РД-09-82/15.06.2022г. на Директора на
ИОХЦФ - БАН

относно дисертационен труд на тема:

"ЯМР МЕТАБОЛОМИКА НА ПЧЕЛЕН МЕД И ВИНО"

за присъждане на образователната и научна степен **“доктор“**,
в професионално направление 4.2. „Химически науки“, научна специалност
„Органична химия“

автор: **Десислава Пламенова Гергинова**
научни ръководители: **проф. дхн Светлана Симова**
гл. ас. д-р Явор Митрев

Десислава Пламенова Гергинова придобива ОКС „Бакалавър“ (Неорганични химични технологии) през 2016 г. в Химикотехнологичния и металургичен университет и ОКС „Магистър“ (Съвременни спектрални и хроматографски методи за анализ) през 2017 г. във Факултета по химия и фармация при СУ „Св. Климент Охридски“. Магистър Гергинова започва професионалното си научно развитие в Института по Органична химия с център по фитохимия на БАН през 2014 г. като техник, а от януари 2018 г. е редовен докторант и в момента работи като асистент в същия институт.

Дисертационният ѝ труд е разгледан и насочен към защита от Научния съвет на Института по Органична химия с център по фитохимия на БАН. Прегледът на представените материали показва, че законовите изисквания по провеждането на докторантурата са спазени.

Основен предмет на представения ми за рецензия дисертационен труд са ЯМР метаболомни изследвания на пчелен мед и вино. Изследванията са фокусирани върху контрола на качеството и доказване на автентичността на изброените хранителни продукти. Настоящото изследване попада в една интензивно развиваща се област в световен мащаб. За съжаление в България липсват системни изследвания за контрол на качеството и доказване на автентичността на български храни и напитки, в които са включени подходящи статистически методи. В този смисъл определям изследванията в дисертационния труд като **актуални и важни** за контрола на качеството и доказване на автентичността на българския пчелен мед и българските вина.

Дисертацията следва **класическа и логична структура** и е добре онагледена с таблици и фигури.

Краткото и стегнато **въведение** логично води до **целта**, а именно разработване на ЯМР методи за определяне на качеството и автентичността на различни видове пчелен мед, вино и други продукти с високо съдържание на захари, както и включването им в бази данни. За изпълнението ѝ са коректно формулирани **пет научни задачи**.

Литературният обзор въвежда цялата необходима информация по отношение на обектите на изследване, но е прекалено обширен (почти 50% от дисертационния труд). Той показва добро разбиране на метаболомиката като изследователска област и детайлно описва ЯМР спектроскопията, използваните хеометрични подходи и изследваните обекти. Към представянето на хеометричните методи имам следните бележки:

1. Възприето е за многомерни (многовариационни) методи да се считат тези при които се работи с 4 или повече променливи. В тази връзка корелационният анализ не би следвало да се числи към групата на многовариационните статистически методи.
2. В обзора многовариационните методи са коректно разделени в две групи: (i) без предварително зададени класове (pattern cognition) – Кластерен анализ и Анализ на главни компоненти и (ii) с предварително зададени класове (pattern recognition) – линеен дискриминантен анализ по метода на частичните най-малки квадрати (PLS-DA) и неговата ортогонална версия OPLS. С оглед на различните цели на двете групи подходи за създаване и разпознаване на образци анализът на ROC кривата и площта под нея (AUC) и матрицата на класификация (confusion matrix) се използват за оценка на статистическите модели, получени при използване на методи с предварително зададени класове. В тази връзка за определяне на броя на компонентите в Анализа на главни компоненти обикновено се използват други параметри (собствена стойност на главния компонент, % обяснена вариация), а не AUC.

Резултатите от дисертацията следват формулираните изследователски задачи и са обособени съгласно изследваните обекти:

1. Пчелен мед:
 - установени са оптималните условия и параметри за анализ на пчелен мед посредством ЯМР;
 - разработени са два модела: PLS-DA (AUC>0.90) и дърво на решенията (293 коректно класифицирани от общо 296 проби), които може да се използват за предсказване на ботаническия произход на пчелния мед на базата на 41 анализирани компонента и сумата от неидентифицирани вещества (U1-U16);
 - представени са първоначални резултати за разграничаване на мед по ентомологичния му произход, които могат да бъдат използвани за основа при провеждане на бъдещи сравнителни изследвания;

- разработени са модели с точност 99% (дискриминантен анализ (LDA), OPLS) за определяне на географския произход на анализиранияте проби за нектарните и мановите проби мед;
- предложена е методика и подходящи маркери за идентифициране на проби от разреден мед и сиропи, както и метод за пресмятане на оптичен ъгъл на въртене на пчелен мед.

2. Вино:

- установени са оптималните условия и параметри за анализ на вино посредством ЯМР;
- представени са няколко класификационни модела с точност по-висока от 98% за разграничаване на вина по сорта грозде, който е използван при тяхното производство, като полученото дърво на решенията дава възможност за бързо идентифициране на нови проби;
- предложен е кластерен и PLS-DA анализ за разграничаване на истински от разредени вина като е описан компонентния профил на двете групи;
- направено е сравнение на химичния състав на вина произведени с и без матерация;
- разработен е OPLS модел за разграничаване на вино от типично български от чуждестранни сортове;
- представени са два PLS-DA модела, разграничаващи бели и червени вина, приготвени от грозде от Дунавската равнина и Тракийската низина.

3. Други продукти с високо съдържание на захари:

- проведен е ^1H ЯМР анализ на медовина и е представено сравнение на установените вещества с тези в проби от вино и мед;
- определен е захарният профил на борови сладка и е направено сравнение със захарните профили на проби от мед.

Дискусията на гореизброените резултати е изчерпателна и коректна. Проведеният анализ, сравнителното разглеждане на резултатите спрямо наличното знание в областта на дисертационното изследване, логичните и коректно изложени хипотези демонстрират добро познаване на проблематиката и изграден научен капацитет.

Направените **изводи** коректно обобщават представените резултати и анализи. Определям приносите като такива с научен и научно-приложен характер.

Нямам критични бележки по съдържанието на работата, но бих си позволил да дам следните препоръки на ас. Десислава Гергинова при следващи метаболомни изследвания.

1. При представянето на многовариационни статистически модели е препоръчително освен използваните подходи за валидиране и основните статистически параметри да се посочат: размера на матрицата от входни данни (брой проби и променливи) и използваната трансформация на входните данни.

2. При представяне на концентрационните профили на дадени класове (диаграма на Nightingale, box plot) е удачно да се определят и посочат статистически значимите разлики чрез подходящи статистически тестове.
3. При разработване на класификационни модели е желателно да се използва и външно валидиране (предсказване) дори само за част от изследваните класове проби.
4. За провеждане на PLS-DA не е необходима селекция на променливите (компонентите) посредством ANOVA. По-удачно е, ако се налага избор на променливи да се използва VIP параметъра и/или selectivity ratio.
5. Приносите на отделните компоненти в представените PLS-DA модели е по-удачно да се представят като heat map чрез едновременно кластериране по проби и по принос на компонентите.

Публикационната дейност на ас. Десислава Гергинова включва четири статии, от които три са в списания с импакт фактор. Следва да се отбележи, че публикациите включват основните дисертационни резултати. При това в три от тях докторантката е първи автор, което говори за ключовата ѝ роля при провеждане на дисертационните изследвания. Забелязани са вече и 15 цитата на научните трудове, включени в дисертационния труд, което е добра атестация за тяхното качество. Научният опит на докторантката включва и двадесет участия в научни форуми. Добро впечатление прави и активната проектна дейност на докторанта, която е задължително условие за успешно кариерно развитие. Ас. Десислава Гергинова участва в общо 18 национални и международни проекта като е и ръководител на проект „¹H ЯМР профилиране на медовина“ в рамките на НП „Млади учени и постдокторанти“.

В заключение считам, че дисертационният труд на ас. Десислава Гергинова представя компетентно и задълбочено проведено изследване с оригинални научни приноси. Получените резултати и публикационна активност надхвърлят изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане, както и Правилника на Института по Органична химия с център по фитохимия на БАН. Авторефератът отразява адекватно съдържанието на дисертационния труд. На базата на гореизложеното, давам положителна оценка и предлагам на Научното жури да присъди образователната и научна степен „**Доктор**“ на **Десислава Пламенова Гергинова** в професионално направление 4.2. „Химически науки“, научна специалност „Органична химия“.

24.08.2022г.

(проф. Стефан Цаковски)