

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен „Доктор” в област на висше образование “Аграрни науки и ветеринарна медицина”, професионално направление 6.1 „Растениевъдство”, докторска програма „Растениевъдство” към катедра „Растениевъдство” при Факултетно-технологичен факултет към ТУ – гр.Варна

Автор на дисертационния труд: Димитър Николаев Николов

Тема на дисертационния труд: „Изследване на антимикробни свойства на етерично-маслени култури отглеждани в различни култивационни съоръжения“

Научен ръководител: Доц.д-р Павлина Паскова

Рецензент: Проф. д-р Георги Тодоров Кикиндонов, Земедьлски институт – Шумен, определен за член на Научното жури със Заповед № 105/27.02.2025 на Ректора на ТУ – гр.Варна

Актуалност на проблема. Дисертационният труд изследва антимикробните свойства на някои етерично-маслени култури /кориандър, босилек, риган, лавандула, мащерка, джоджен/, растителни фракции и технологии за приготвяне на екстракти от тях, за борба с определени патогени. Търсенето на възможности за борба с бактериалните инфекции по хора и животни чрез по-безопасни и природосъобразни лекарствени средства е алтернатива на разработките на изкуствени антибиотици, предизвикващи странични ефекти като алергични реакции, токсичен ефект върху организма, понижен имунитет... Тоест, наложително е търсенето на нови лекарствени средства с противовъзпалително, антиоксидантно и антибактериално действие за лечение и профилактика на инфекциозни и възпалителни заболявания. Терапевтичната стойност на много растения, използвани в народната медицина, е доказана с хилядолетната им употреба и с резултати от предклинични и клинични изследвания. Днес все още билковите препарати не могат да заменят напълно терапията с лекарства от синтетичен произход, но намират ефективна употреба в лечението. Наложително е да се попълни празнотата в изследванията на потенциала на растителните извлеци и

тяхното антимикробно действие, физикохимичния и химичния им състав, различните техники на извличане на физиологично активните вещества. Ето защо проучванията в тази област са все по-актуални.

В този смисъл основна цел на изложените в дисертационния труд изследвания е установяването на антибактериалните свойства на някои растителни видове, растителни фракции и технологии за изготвяне на екстрактивни разтвори, за борба с конкретни патогени. От така поставената цел произтичат и основните задачи, които третира дисертационният труд, а именно:

- Провеждане на комплексен опит с отглеждане на шест растителни вида (кориандър, босилек, риган, лавандула, мащерка, джоджен) при различни условия като суровинна основа на по-нататъшните изследвания.
- Разработване на методически и практически способи за получаването на екстрактивни разтвори от различните варианти на растителните видове, фракции и технологии на извличане.
- Провеждане на почвени агрохимични анализи и определяне съответно на почвената биогенност и биогенността на растителните извлекци. Изследване на биогенността на растителните извлекци по основните групи микроорганизми: неспорообразуващи и спорообразуващи бактерии, актиномицети, плесенни гъби.
- Определяне на антимикробната активност на всички експериментално получени разтвори към пет вида патогенни микроорганизми.
- Статистически анализ на влиянието на суровинните и технологични фактори върху антимикробиалната активност на екстрактите, получени при различни условия.

Поставените задачи напълно съответствуват на общата цел на дисертационния труд. Използваната методология в експериментите е правилна и съобразена с поставените задачи.

Прегледът на литературата показва добрата осведоменост на докторанта по проблемите, засегнати в дисертационния му труд. Цитирани са 141 източника, от които 37 на кирилица, а останалите на латиница, всички те свързани с проблема, третиран в дисертацията. Внимателно е проучен химичния състав на растителните извлекци и фитохимичния състав на изследваните растителни видове – риган мащерка, кориандър,

джоджен, босилек и лавандула, средата на отглеждане като фактор за натрупване на биоактивни вещества, факторите на влияние при приготвянето на растителни извлеци. Направен е и подробен опис на техниките и апаратурата за извличане на растителни извлеци. Това до голяма степен показва добро познание на състоянието на проблема и възможностите за творчество при решаването му. Приемам литературният преглед като задълбочен и изчерпателен. Така на базата на обширна чуждестранна и наша литература по въпроса става възможна преценката кои аспекти на проблема трябва да бъдат акцент в настоящото изследване, да се обоснове целта и да се определят задачите му.

Методиката, използвана за решаване на всяка от задачите в изследването, е подбрана внимателно и до голяма степен предопределя успешното им изпълнение.

Първичните експерименти /отглеждане на изследваните растителни видове в различни условия/, са проведени в оптимални контролирани условия /оранжерия и вегетационна клетка/. Използвани са общоприети методи за почвени агрохимични анализи, за оценка на биогенността – почвена и на растителните извлеци, за определяне на ензимната активност на почвата, методи за определяне на антимикробната активност, и не на последно място - умела статистическа обработка на получените резултати. Разделът „Материал и методи“ дава реална представа за извършената мащабна научноизследователска работа. Проучванията са извършени методично правилно, на съвременно научно ниво, с достатъчно експериментален материал.

Обект на изследването е оценката на антибактериалните свойства на екстракти от 6 билки, получени при различни условия, с цел използването им като бъдещи добавки за обеззаразяване на компост. Това определя и структурата на дисертационния труд.

В първата част /глава/ е проучен химичният състав на растителните извлеци, фитохимичният състав на изследваните растителни видове, описана е средата на отглеждане като фактор за натрупване на биоактивни вещества. Направен е обстоен опис на техниките и апаратите, използвани за извличане на растителни извлеци. Тук е посочена и основната цел на дисертационния труд – да анализира антимикробната активност срещу патогенни микроорганизми на различни варианти растителни екстракти от 6-те билки, отглеждани в различни култивационни съоръжения, и да се установи влиянието на условията на средата върху фитохимичния състав на извлеките.

Изброяват се и конкретните задачи за постигане на тази цел. Експериментът е проведен в оранжерията на учебно-опитното поле на катедра „Растениевъдство” към ТУ-Варна и в ДЗИ – Генерал Тошево, заложен е в 2 повторения през 2022 и 2023 г., данните са осреднени за двете години. Методите на работа включват методика за получаване на екстрактивните разтвори в различни варианти, методи за почвен агрохимичен анализ, методи за определяне на биогенност- почвена и на растителните извлеци, методи за определяне на почвената ензимна активност /каталазна и целулазна активност/, методи за определяне на антимикробната активност.

Във втората глава се привеждат резултатите от агрохимичните, микробиологичните и ензимни почвени анализи, оценки на микрофлората на растителните извлеци и тяхната антимикробна активност.

В третата глава е направен сравнителен анализ на влиянието на суровинните и технологични фактори върху антибактериалната активност на екстрактивните разтвори, получени при различни условия. Тук основна задача е да се оцени ефективността на факторите, използвани като суровинни и технологични основи на разтвори с антибактериално действие срещу *Escherichia coli*. Както и статистическа обработка на експерименталните данни: на базата на анализа на антибактериалната активност на екстрактите са формулирани изводи и препоръки за внедряване на резултатите в лабораторната и технологична практика.

Приложенията третират част от лабораторните методи и средства за решаване на поставените задачи.

Повишаването на теоретичните изследвания и практически опити за разработка на лекарствени средства от растителен произход налагат необходимостта за разработване на дисертационния труд. В него се прави опит за въвеждане на ред в научната и приложна дейност с използването на системен подход.

Научно-приложни приноси в дисертационния труд

- *Научна новост* в дисертационния труд е общата система и структурна схема за сравнителен анализ на влиянието на суровинните и технологични фактори върху антибактериалния ефект на растителните извлеци от 6 етерично-маслени култури, като добавки за обеззаразяване на компост.

- Разработена е методика за намаляване размера на моделите за оценка на антибактериалната активност на разтвори с различна суровинна и технологична основа. Чрез сравнителна оценка на качеството на крайния продукт, изработен в три различни класа според начина на отглеждане на първичния експериментален растителен материал сложните многофакторни процедури се свеждат до малък брой модели за експериментални техники и производствени технологии за получаване на краен продукт с най-добро качество.
- Комплексният модел за изследване на антимикробните свойства на етерично-маслени култури, отглеждани в различни култивационни съоръжения, включващ условия за отглеждане на растителните видове и фракции, техника и технология за приготвяне на извлекци и разтвори, методи за почвен агрохимичен анализ, за определяне на биогенност на растителните извлекци и за антимикробна активност, методиката и резултатите от статистическия анализ, поставя основите на един системен подход за решаване на този сложен комплекс от задачи.

Приложните приноси на дисертационния труд се свеждат да получените конкретни резултати:

- От агрохимични почвени анализи на 6 растителни вида, отглеждани в оранжерийни условия и във вегетационна клетка
- Резултати от изследване на микрофлората на растителните видове.
- Конкретните резултати за качеството на крайния продукт. С включването на най-добрите групи от фактори е доказана възможността за съществено намаление на броя и сложността на моделите за оценка на антибактериалната активност на екстрактите.
- Установена е антибактериалната активност срещу *Escherichia coli* на извлекците от фракции на кориандър, босилек, риган, лавандула, мащерка и джоджен.

Резултатите и приносите в дисертационния труд са получени в процеса на работата на дисертанта в колектив. Експериментите в естествени и лабораторни условия и обработката на получените данни са проведени лично от докторанта, под методичното ръководство на научния му ръководител.

Приложените публикации са най-вече колективни, отразяващи някои първични резултати от работата на докторанта с част от билките, обект на изследване в дисертационния труд. Самостоятелната публикация на докторанта също е издадена в авторитетно научно издание.

Авторефератът е изработен изцяло съгласно изискванията, отразява правилно основните положения на дисертационния труд и научните приноси.

Критичните ми бележки са по отношение на някои технически грешки /правопис и т.н./, допуснати неволно при написването на дисертацията/автореферата. Разбира се, това по никакъв начин не се отразява на качеството на представения дисертационен труд. От друга страна, редно е някъде да присъства бележка от автора, че в изложенията няма употреба на AI, още повече, че такава декларация се изисква от авторите от много международни издания.

В заключение считам, че дисертационният труд е всеобхватна и завършена научна разработка, с голям обем от научни и научно-приложни резултати.

Дисертационният труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав и Правилника за приложението му.

Оценявам положително работата на дисертанта, и предлагам научното жури да се присъедини към положителната ми оценка и да присъди на Димитър Николаев Николов образователната и научна степен „доктор” в професионално направление 6.1 „Растениевъдство”.

10.04.2025 г.

Рецензент:

/проф. д-р Георги Кикиндонов /

REVIEW

of a dissertation for the educational and scientific degree "Doctor" in the field of higher education "Agrarian Sciences and Veterinary Medicine", professional field 6.1 "Plant Breeding", doctoral program "Plant Breeding" at the Department of "Plant Breeding" at the Faculty of Mechanical Engineering at the Technical University – Varna

Author of the dissertation: Dimitar Nikolaev Nikolov

Topic of the dissertation: "Investigation of antimicrobial properties of essential oil crops grown in different cultivation facilities"

Scientific Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Pavlina Naskova

Reviewer: Prof. Dr. Georgi Todorov Kikindonov, Agricultural Institute – Shumen, appointed as a member of the Scientific Jury by Order No. 105/27.02.2025 of the Rector of the Technical University – Varna

Relevance of the problem. The dissertation researches the antimicrobial properties of some essential oil crops /coriander, basil, oregano, lavender, thyme, mint/, plant fractions and technologies for preparing extracts from them to combat certain pathogens. The search for opportunities to combat bacterial infections in humans and animals through safer and more environmentally friendly medicines is an alternative to the development of artificial antibiotics, which cause side effects such as allergic reactions, toxic effects on the body, reduced immunity... That is, it is imperative to search for new drugs with anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial effects for the treatment and prevention of infectious and inflammatory diseases. The therapeutic value of many plants used in folk medicine has been

proven by their millennial use and by the results of preclinical and clinical studies. Today, herbal preparations still cannot completely replace therapy with drugs of synthetic origin, but they find effective use in treatment. It is imperative to fill the gap in research on the potential of plant extracts and their antimicrobial activity, their physicochemical and chemical composition, and the various techniques for extracting physiologically active substances. That is why research in this area is increasingly relevant. In this sense, the *main goal of the research* presented in the dissertation is to establish the antibacterial properties of certain plant species, plant fractions and technologies for preparing extractive solutions to combat specific pathogens. From this goal, the *main tasks* addressed by the dissertation arise, namely:

- Conducting a comprehensive experiment with the cultivation of six plant species (coriander, basil, oregano, lavender, thyme, mint) under different conditions as a raw material basis for further research.
- Developing methodological and practical methods for obtaining extractive solutions from different variants of plant species, fractions and extraction technologies.
- Conducting soil agrochemical analyses and determining soil biogenicity and plant extract biogenicity, respectively. Studying the biogenicity of plant extracts by the main groups of microorganisms: non-spore-forming and spore-forming bacteria, actinomycetes, mold fungi.
- Determination of the antimicrobial activity of all experimentally obtained solutions against five types of pathogenic microorganisms.
- Statistical analysis of the influence of raw material and technological factors on the antimicrobial activity of extracts obtained under different conditions.

The tasks set fully correspond to the general goal of the dissertation. The methodology used in the experiments is correct and consistent with the tasks set.

The *literature review* shows the doctoral student's good awareness of the issues addressed in his dissertation. 141 sources are cited, of which 37 are in Cyrillic and the rest in Latin, all of them related to the issue addressed in the dissertation. The chemical composition of the plant extracts and the phytochemical composition of the studied plant species - oregano, thyme, coriander, mint, basil and lavender, the growing environment as a factor for the accumulation of bioactive substances, and the factors influencing the preparation of plant extracts were carefully studied. A detailed description of the techniques and equipment for extracting plant extracts has also been made. This largely demonstrates a good knowledge of the state of the problem and the possibilities for creativity in solving it. I accept the literature review as thorough and comprehensive. Thus, based on extensive foreign and domestic literature on the subject, it becomes possible to assess which aspects of the problem should be emphasized in the present study, to justify the goal and to define its tasks.

The *methodology* used to solve each of the tasks in the study has been carefully selected and to a large extent predetermines their successful implementation.

The primary experiments (growing the studied plant species in different conditions) were conducted in optimal controlled conditions (greenhouse and vegetation cell). Generally accepted methods for soil agrochemical analyses were used, for assessing the biogenicity of soil and plant extracts, for determining the enzymatic activity of the soil, methods for determining antimicrobial activity, and last but not least - skillful statistical processing of the obtained results. The *Material and Methods* section gives a real idea of the large-scale scientific research work carried out. The studies were carried out methodically correctly, at a modern scientific level, with sufficient experimental material.

The *object of the study* is the evaluation of the antibacterial properties of extracts from 6 herbs, obtained under different conditions, with the aim of using them as future

additives for compost decontamination. This also determines the **structure** of the dissertation work.

In the first part /chapter/ the chemical composition of the plant extracts, the phytochemical composition of the studied plant species is studied, the growing environment is described as a factor for the accumulation of bioactive substances. A detailed description of the techniques and apparatus used for the extraction of plant extracts is made. The main goal of the dissertation is also stated here - to analyze the antimicrobial activity against pathogenic microorganisms of different variants of plant extracts from the 6 herbs grown in different cultivation facilities, and to establish the influence of environmental conditions on the phytochemical composition of the extracts. The specific tasks for achieving this goal are also listed. The experiment was conducted in the greenhouse of the educational and experimental field of the Department of Plant Breeding at the Technical University of Varna and at the DAI, it was planned in 2 repetitions in 2022 and 2023, the data are averaged for both years. The working methods include a methodology for obtaining extractive solutions in various versions, methods for soil agrochemical analysis, methods for determining biogenicity - soil and plant extracts, methods for determining soil enzyme activity /catalase and cellulase activity/, methods for determining antimicrobial activity.

The second chapter presents the results of agrochemical, microbiological and enzymatic soil analyses, assessments of the microflora of plant extracts and their antimicrobial activity.

In the third chapter, a comparative analysis of the influence of raw material and technological factors on the antibacterial activity of extractive solutions obtained under different conditions is made. Here, the main task is to evaluate the effectiveness of the factors used as raw material and technological bases of solutions with antibacterial activity against *Escherichia coli*. As well as statistical processing of experimental data: based on the analysis of the

antibacterial activity of the extracts, conclusions and recommendations for implementing the results in laboratory and technological practice have been formulated.

The appendices treat some of the laboratory methods and tools for solving the tasks set.

The increase in theoretical research and practical attempts to develop medicinal products of plant origin necessitates the development of the dissertation. It attempts to bring order to scientific and applied activity using a systematic approach.

Scientific and applied contributions in the dissertation work

- A *scientific novelty* in the dissertation work is the general system and structural scheme for comparative analysis of the influence of raw material and technological factors on the antibacterial effect of plant extracts from 6 essential oil crops, as additives for compost decontamination.
- A methodology has been developed to reduce the size of models for evaluating the antibacterial activity of solutions with different raw material and technological basis. Through a comparative assessment of the quality of the final product, made in three different classes according to the method of growing the primary experimental plant material the complex multi-factor procedures are reduced to a small number of models for experimental techniques and production technologies to obtain a final product of the best quality.
- The complex model for studying the antimicrobial properties of essential oil crops grown in various cultivation facilities, including conditions for growing plant species and fractions, technique and technology for preparing extracts and solutions, methods for soil agrochemical analysis, for determining the biogenicity of plant extracts and for antimicrobial activity, the methodology and results of the statistical analysis, lay the foundations for a *systematic approach* to solving this complex set of tasks.

The applied contributions of the dissertation work are the specific results obtained:

- From agrochemical soil analyses of 6 plant species grown in greenhouse conditions and in a vegetation cell.
- Results from research on the microflora of the plant species.
- The specific results for the quality of the final product. By including the best groups of factors, the possibility of significantly reducing the number and complexity of models for evaluating the antibacterial activity of extracts has been proven.
- The antibacterial activity against *Escherichia coli* of extracts from fractions of coriander, basil, oregano, lavender, thyme and mint has been established.

The results and contributions in the dissertation work were obtained in the process of the dissertation *candidate's work* in a team. The experiments in natural and laboratory conditions and the processing of the obtained data were conducted personally by the doctoral student, under the methodological guidance of his scientific supervisor.

The attached *publications* are mostly collective, reflecting some primary results of the doctoral student's work with some of the herbs - subject of the researches in the dissertation. The doctoral student's independent publication has also been published in an authoritative scientific edition.

The abstract is prepared entirely in accordance with the requirements, correctly reflects the main points of the dissertation work and scientific contributions.

My critical remarks are in relation to some technical errors (spelling, etc.) unintentionally made when writing the dissertation/abstract. Of course, this in no way affects the quality of the presented dissertation work. On the other hand, it is appropriate to include a note from the author somewhere stating that there is no use of AI in the presentations, especially since such an author's declaration is required by many international publishers.

In *conclusion*, I believe that the dissertation is a comprehensive and complete scientific work, with a large volume of scientific and applied scientific results. The

dissertation fully meets the requirements of the Academic Staff Development Act and the Regulations for its implementation.

I positively evaluate the work of the dissertation candidate, and I propose that the scientific jury join my *positive assessment* and award Dimitar Nikolaev Nikolov the educational and scientific degree "Doctor" in professional field 6.1 "Plant Production"

10/04/2025

Reviewer:f.....

/ Prof. Dr. Georgi Kikindonov /