



БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО МИКРОБИОЛОГИЯ
„СТЕФАН АНГЕЛОВ“



А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд

БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ПРОБИОТИЧЕН ПОТЕНЦИАЛ НА МЛЕЧНО КИСЕЛИ БАКТЕРИИ ОТ РАЗЛИЧНИ ЕКОЛОГИЧНИ НИШИ

Доц. д-р Светла Трифонова Данова

за присъждане на научна степен
Доктор на науките
професионално направление *Биологични науки*
научна специалност *Микробиология*



София, 2015

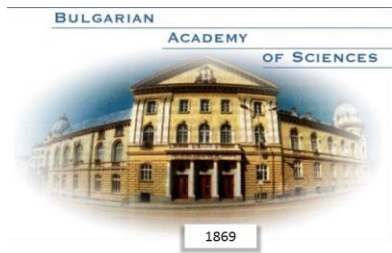
Дисертационният труд съдържа 344 страници, илюстриран е със 129 фигури и 59 таблици. Библиографската справка включва 749 литературни източника.

Научните изследвания са проведени основно в лабораторията „Млечно кисели бактерии & Пробиотици“ - секция „Микробна генетика“ към Департамент по Обща микробиология, Институт по микробиология „Акад. Стефан Ангелов“, Българска Академия на Науките, в Лабораторията по Физиология и Биохимия на микроорганизмите“, катедра Обща и промишлена микробиология, СУ „Св. Климент Охридски“ и в сътрудничество с ИНРА и ЕНИТИАА – гр. Нант, Франция; Университета в гр. Стеленбош – ЮАР и Университета в гр. Лиеж, Валония-Белгия.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на заседание на Научния семинар по „Обща микробиология“ на 12.01.2015 г. в Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, БАН .

Защитата на дисертационния труд ще се състои на открито заседание пред научно жури на2015 г. от часа в залата на Институт по микробиология „Акад. Стефан Ангелов“, ул. „Акад. Г. Бончев“, бл. 26, гр. София.

Материалите по защитата са на разположение в кабинета на научния секретар на Институт по микробиология „Акад. Стефан Ангелов“, ул. „Акад. Г. Бончев“, бл. 26, гр. София, както и публикуван съгласно ЗРАСРБ на уеб адрес www.microbio.bas.bg.



БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО МИКРОБИОЛОГИЯ
„СТЕФАН АНГЕЛОВ”



Доц. д-р Светла Трифонова Данова

БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ПРОБИОТИЧЕН ПОТЕНЦИАЛ НА
МЛЕЧНО КИСЕЛИ БАКТЕРИИ ОТ РАЗЛИЧНИ ЕКОЛОГИЧНИ
НИШИ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд
за присъждане на научна степен “Доктор на науките”
професионално направление 4.3 „Биологични науки”
научна специалност “Микробиология”

НАУЧНО ЖУРИ

Проф. д-р Райчо Димков; проф. Стефан Денев, дсн;
Проф. Тодор Кантарджиев, дмн; Проф. Алберт Кръстанов, дтн;
проф. д-р Вяра Иванова; доц. Маргарита Камбурова, дбн;
доц. д-р Златка Алексиева

София, 2015

УВОД	1
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	3
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	4
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	8
ГЛАВА 1 БИОРАЗНООБРАЗИЕ НА МКБ ОТ РАЗЛИЧНИ МЕСТООБИТАНИЯ	8
1. Събиране на проби и изолиране на чисти култури млечно-кисели бактерии (МКБ)	8
2. Полифазно-таксономична характеристика на МКБ от различни местообитания	9
3. Вътревидово разнообразие и генотипиране на МКБ от различни местообитания	17
4. Характеризиране на биоразнообразието на МКБ в смесени съобщества с различни молекулярни и културелно-независими методи:	21
5. Заключителна дискусия	26
ГЛАВА 2. АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ НА МКБ ОТ РАЗЛИЧНИ ЕКОЛОГИЧНИ НИШИ	27
1. Антибактериална активност на лактобацили, изолирани от различни екологични ниши	27
2. Характеризиране на бактериоциногенни щамове МКБ, от различни местообитания	32
3. <i>In vitro</i> тестове за определяне на антигъбична активност.	37
4. Анти-вирусна активност на лактобацили от различни местообитания	42
5. Заключителна дискусия	43
ГЛАВА 3. ПРОБИОТИЧЕН ПОТЕНЦИАЛ НА МКБ ОТ РАЗЛИЧНИ МЕСТООБИТАНИЯ	44
1. Транзитна толерантност и преживяемост в симулирани условия на гастроинтестиналния тракт	44
2. Функционални характеристики и механизми на полезно действие при кандидат-пробиотични лактобацили от различни местообитания	50
3. Функционални характеристики на МКБ свързани с критериите за безопасност	61
4. Заключителна дискусия	62
ГЛАВА 4 ТЕХНОЛОГИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ПРИЛОЖИМОСТ НА МКБ ОТ РАЗЛИЧНИ ЕКОЛОГИЧНИ НИШИ ЗА РАЗРАБОТКАТА НА ФУНКЦИОНАЛНИ ХРАНИ И В МЕДИЦИНАТА	63
1. Технологично-значими характеристики на МКБ	63
1.2. Определяне преживяемостта на МКБ в процеса на лиофилизация	66
1.3. Протеолитична активност на МКБ от различни екологични ниши	70
2. Оценка на време за заквасване на мляко	70
3. <i>In vitro</i> оценка на ензимната активност на щамове <i>L. plantarum</i> от домашни проби саламурено сирене и на лактобацили от ржени теста	73
4. Способност на МКБ от различни местообитания да усвояват пребиотици от типа на олигозахаридите	73
5. Влияние на хранителни консерванти върху растежа на щамове от сирена и от кисели ржени теста	76
6. Определяне преживяемостта на щам <i>L. plantarum RL34</i> в пастетно сирене по време на съхранение в присъствие и отсъствие на консервант	77
7. Определяне преживяемостта на щамове <i>L. plantarum</i> във ферментирано мляко и промяна на рН	78
8. Оценка приложимостта на новохарактеризирани щамове като пробиотични добавки при производство и съхранение на кисело мляко в комбинация с комерсиална закваска	79
10. Заключителна дискусия и изводи от изследванията представени в Глава 4	79
ИЗВОДИ ОТ ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	87
РЕЗЮМЕ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	88
СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	88
ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА	90
ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	90

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

НА ЛАТИНИЦА	НА КИРИЛИЦА
950BP– Фруктоолигозахариди (от инулин)	АК – Аминокиселини
ACV - Ацикловир	АТФ – Аденозин трифосфат
ARDRA - Amplified ribosomal DNA restriction analysis	БПС - - бактериоцин подобна субстанци
ATCC - American Type Culture collection	БФС - - безклетъчни филтрувани
BLIS – Bacteriocin –like inhibitory substance	супернатанти
CFU - Колонии образуващи единици	Г+Ц – Гуанин + цитозин
DIG - Дигоксигенин	ГИТ – Гастро-интестинален тракт
EFSA – European Food Safety Authority	ДНК – Дезоксирибонуклеинова киселина
ERIC - <i>Enterobacterial repetitive intergenic consensus</i>	ЕМП – Ембден Майерхоф-Парнас ;
FOS – Фруктоолигозахариди	КВМК - Късо-верижни мастни киселини
GLOS – Глюкоолигозахариди	МНК - -Максималната нетоксична концентрация
GOS – Галактоолигозахариди	МК – Млечна киселина
GRAS – Generally recognized as safe	МКБ – Млечно-кисели бактерии;
HSV-2 - <i>Herpes simplex virus type 2</i>	нБФС- - Неутрализирани безклетъчни филтрувани супернатанти
IDF – International Dairy Federation	НСМ - не-стартерна микрофлора
LDH – Лактатдехидрогеназа	НСМКБ – не-стартерни млечно кисели бактерии
LPS - липополизахарид	ПБ – Повърхностни белтъци
МДБК - клетъчна култура от говежди бъбрек	РНК – Рибонуклеинова киселина
MRSA – Metacillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	СМК – Стартерни МКБ
FDA Агенцията по контрол на лекарствата и храните	СЗО – Световна Здравна Организация
OD - Optical Density	УГТ – Урогенитален тракт
P95 Рафтилоза	ФЕП – Фосфоенол пируват
PCA – Plate count agar	RSM Възстановено обезмаслено мляко
PCR – Полимеразна верижна реакция	
PSP – Пеницилин свързващи протеини	
PLA - фенилмлечна киселина	
QPS - Quality Presumption of Safety	
RAPD – Restriction analysis length poly-morphism	
REA PCR – Restriction endonuclease analysis of PCR products	
Rep-PCR – Repetitive PCR	
RFLP – Restriction fragment length polymorphism	
rn - рибозомален оперон	
SLP Surface layer protein	
VRBG - Violet Red Bile Agar With Glucose	
WHO - World Health Organisation	