

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Илиана Борисова Начева – Институт по криобиология и хранителни технологии - член на научното жури, назначена със Заповед № РД 05-246/17.08.2020г. на Председателя на ССА, на основание решение на Научния съвет по Технически науки: храни, хранителни технологии, електрификация и механизация на земеделието (протокол №17/15.07.2020г)

Относно: Конкурс за заемане на академичната длъжност „Доцент“ в професионално направление 5.12. Хранителни технологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества“, обявен от Институт по тютюна и тютюневите изделия, с. Марково в Държавен вестник, бр.55/19.06.2020г.

Единствен кандидат в обявения конкурс е главен асистент д-р Маргарита Христова Дочева от Институт по тютюна и тютюневите изделия, с. Марково.

Представеният и прецизно изготвен комплект материали е в съответствие с всички процедурни изисквания на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение в Селскостопанска Академия.

1. Кратка биографична справка

Главен асистент д-р Маргарита Дочева е родена на 01.03.1980г. В периода от 1998 до 2010г. се обучава в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“, като последователно придобива обща квалификационна степен „бакалавър“ със специалност „Биология и химия“ и степен „магистър“ със специалност „Микробни биотехнологии“. Назначаването ѝ на длъжност „научен сътрудник III степен“ в Институт по тютюна и тютюневите изделия, с. Марково през 2009г. поставя началото на професионалното ѝ развитие. Академичното ѝ израстване е свързано със заемане на академичните длъжности „асистент“ през 2011г. и „главен асистент“ от 2016г. до сега. През 2016 г. защитава дисертационен труд на тема: „Изследване на екстракти от тютюн, съдържащи флавоноиди и техни синтетични производни“, с което ѝ е присъдена образователна и научна степен „доктор“ в професионално направление 4.2. Химически науки, специалност „Органична химия“ (Диплома № 1000196/25.05.2016г. Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“).

В професионален план кандидатката притежава технически опит и компетенции за работа с течен и газов хроматографи и специфична апаратура, свързана с анализ на тютюн и тютюневи изделия. Владее английски език и работи свободно с MS Word, Excel, Power Point. Членува в научно-технически съюз и Съюза на учените в България, клон Пловдив.

2. Общо представяне на материалите по конкурса

За участие в конкурса гл. ас. д-р Дочева е представила следната научна продукция:

1. Справка за изпълнение на минималните национални изисквания и на изискванията на правилника на ССА за заемане на академична длъжност „доцент“, с приложени доказателства за преценка на съответствието по чл. 75, т.1.
2. Справка за оригиналните научни приноси.
3. Справки и документи, свързани с оценка на изискванията за участие в конкурса за заеманата длъжност.
4. Хабилизационна разширена справка за научните приноси, при процедура за заемане на академичната длъжност „доцент“.
5. Автореферат на дисертационен труд, включващ списък на научните публикации (4 бр.), с които е придобила образователната и научна степен „доктор“.

Анализът на представената справка за изпълнение на минималните национални изисквания за заемане на академична длъжност „доцент“ в област Технически науки показва, че в повечето случаи изискуемият брой точки е надвишен:

- По показатели от група А, кандидатът покрива необходимите 50 т. за придобита ОНС „Доктор“.
- По показатели от група В са постигнати 110 т. от посочените 10 броя публикации, които са отпечатани в реферирани и индексирани в световноизвестните база данни с научна информация *Scopus* и *Web of Science*. Материалите са публикувани в авторитетни международни издания: *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 9 (№1), *Bulgarian Chemical Communication* (№№ 2,5,6,9 и 10), *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* (№ 3), *Industrial Crop & Products* (№ 4), *J. App. Biol. Biotech.* (№ 7) *International Journal of Food Studies* (№ 8).
- По показатели от група Г (7 и 8) са представени 30 публикации в нереферирани списания с научно рецензиране или в редактирани колективни токове - национални и международни издания, което формира 215 точки, надвишаващи необходимите 200.

Част от публикациите (№№ Г7 -2, Г8-1,4,14,17,18,19 и 23) са отразени в международните списания – *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *Turkish Journal of Agricultural and Natural Science*, *Тютун/Tobacco*, *Trends in Phitochemical Research*, *Int. J. Pharm Sci. Drug Res.*, *Adv. Agri Harti and Entomology*.

Публикациите в национални списания са в изданията *Bulgarian Journal of Agricultural Science* (№№ Г7- 1 и 3), *J.Bio.Sci.Biotechnology* (№№ Г7- 4) и *Растениевъдни науки* (№№ Г8-10 и 11).

Посочени са 9 доклада на национални конференции (№№ Г8 – 5,6,7,8,21,22 и 24) и 8 доклада на национални конференции с международно участие (№№ Г8 –2,3, 12,13,15,16,20 и 25).

Представени са заглавия на 11 броя статии и доклади, публикувани в специализирани издания, без приложени копия и 4 броя научни публикации, свързани с дисертационния труд, които не подлежат на рецензиране.

Анализът на личния принос на кандидатката в научните трудове показва, че е водещ автор в 10 публикации, в 13 е втори, а в 17 е трети и следващ автор. Независимо, че научните трудове са в съавторство, ясно е очертан основният принос на гл.ас.д-р Дочева при изготвянето им и същевременно се подчертава и успешната ѝ екипна работа. От представените научни трудове – 21 броя са отпечатани на английски език и 19 - на български език.

Посочените данни свидетелстват за много добра публикационна активност. По съдържание, научните трудове напълно съответстват на тематиката на конкурса. Представените публикации са актуални, а интерпретацията на получените резултати е коректна, изпълнена на високо научно ниво.

- По показатели от група Д са представени 9 цитирания на 2 научни труда в издания, реферирани и индексирани в световноизвестни база данни с научна информация, с които са постигнати 60 точки, при необходими 50. Цитиранията са в авторитетни международни издания: *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, *European Review for medical and Pharmacological Sciences*, *Dental Journal*, *Molecules* и др., което представлява безспорен атестат за оригиналността и качеството на проведените изследвания, както и за разпознаваемостта на научната продукция на кандидата.

За популяризиране на резултатите от своите научни разработки гл. ас. д-р Дочева е участвала в 1 международна научна конференция, посветена на 70 годишнината на ИТТИ, 8 национални научни форума с международно участие, национален младежки форум „Наука, технологии, иновации, бизнес“ и 3 участия в Студентска научна конференция „Предизвикателства в химията“.

Общата характеристика и оценка на научната продукция на гл. ас. д-р Дочева доказва, че тя покрива необходимите критерии и напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ в ССА.

3. Оценка на научно-изследователската дейност и приносите

Научните интереси и изследователска дейност на гл. ас. д-р Дочева са насочени към проучване на химичния състав на различни типове, сортове, линии и реколти тютюни, тютюнев дим, тютюневи бленове и екстракти, с акцент върху съдържанието на биологично активни вещества в тях, с цел алтернативното им приложение в практиката.

Представената справка за оригиналните научни приноси е изготвена коректно, отразява комплексния характер на изследванията, в които кандидатката

е участвала. Считам, че проблематиката, получените резултати, формулираните изводи и приноси съответстват на научната специалност на обявения конкурс.

Анализът на научната продукция очертава няколко основни направления в дейността на д-р Дочева:

1. **Изследвания върху химичния състав на подобрани сортове и линии ориенталски тютюни** от екотипове Джебел Басма, Крумовград, Устина и Средногорска яка, отглеждани при типични и нетипични условия на средата, като са определени основните им химични показатели (никотин, общ азот, захари и белтъци). Установени са закономерности, свързани с промяна на пушателно-вкусовите свойства в сортовете тютюн, отглеждани в нетипичен за сорта регион, които варират в широки граници и показват голяма разлика във вкуса и физиологичното усещане на тютюневия дим .

Съществени за практиката са доказаните факти, че климатичните условия не оказват съществено влияние върху процентното съдържание на белтъци, пепел и амоняк, а общата сума на валежите влияе значително върху намаляването на съдържанието на захари, общ азот и никотин.

2. В областта на **изследване на основните компоненти в тютюневия дим – катран, никотин и СО** са постигнати резултати с приложен характер, свързани с определяне съдържанието на карбонилни съединения в тютюневия дим на различни сортове български тютюни, като най-високо ниво е установено при сортове тютюн Виржиния, следвани от сортовете ориенталски тютюни и сортовете тютюн Бърлей.

Задълбочените изследвания върху съдържанието на ацеталдехид, формалдехид, ацетон, акролеин в главната димна струя на цигари, пурети и тютюни за лула, доказва най-високо съдържание на карбонили в пуретите, а най-ниското - в цигарите. Отчетено е, че върху съдържанието на карбонилни съединения в емисиите на цигари оказва влияние вида на филтъра, а при тютюните за лула и пуретите - вида на аромата.

3. Значителна част от изследванията са посветени на определяне на **полифеноли в тютюн, тютюневи блендове от цигари и тютюнев дим**. Експериментално е установено съдържанието на отделните компоненти на полифенолния комплекс (хлорогенова киселина, рутин и флавоноиди) в листата на различни видове тютюн *N. rustica* и *N. Alata*. Определено е съдържанието на полифеноли в тютюневи блендове, тютюнев дим и угарки от различни марки цигари, както и съдържанието на полифеноли в главната димна струя и в угарките на лабораторно изготвени цигари от ориенталски тютюни от екотип Крумовград. Доказано е, че цигарите без филтър съдържат по-голямо количество флавоноиди в сравнение с цигарите с филтър.

Изследванията на д-р Дочева се фокусират и върху получаване на непречистени тютюневи екстракти от подобрани български сортове тютюни и блендове от цигари и аналитично определяне на съдържанието на полифеноли,

никотин, захари и антиоксидантна активност. Получените данни доказват високо съдържание на полифеноли и намалено съдържание на никотин и захари в екстрактите, получени със 100 % метанол и 60% метанол. В етанолните екстракти е отчетено най-ниско съдържание на полифеноли, никотин, захари и антиоксидантна активност, а при водна екстракция се получават неразтворими комплекси.

За пръв път е постигнато разделяне на двете основни групи вещества от класа на полифенолите, съдържащи се в тютюна – фенолни киселини и флавоноиди с помощта на абсорбционна смола Amberlite XAD7. Изследвано е съдържанието на полифеноли в два вида пречистени тютюневи екстракти, обогатени на фенолни киселини и екстракти, обогатени на флавоноиди, получени от 3 вида тютюн (*N. tabacum* L., *N. alata* Link & Otto и *N. rustica* L.).

4. Друга важна насока в изследванията е **идентификацията на биологично активни вещества в тютюневи листа, тютюневи семена, етерично масло, тютюневи конкрети и резиноиди и др.** В серия от експерименти д-р Дочева установява богат набор от биологично активни вещества в нелетливата и летливата фракция от листата на ориенталски тютюн *N. tabacum* L. Маслото на семената от три вида *Nicotiana* съдържа фосфолипиди, β -ситостерол, последван от холестерол и Δ^5 -авенастерол холестерол, кампестерол, Δ^5 -авенастерол и стигмастерол. В токофероловата фракция преобладава γ -токоферолът.

За пръв път в България е проведено изследване за определяне на съдържанието на фенолни киселини, флавоноиди и тритерпени в листа, етерично масло и екстракти от два генотипа тютюн *N. alata* Link & Otto. Получените данни показват съдържание на 12 компонента с биологично активно действие в листа и екстракти от два генотипа тютюн *N. alata* Link & Otto, 19 компонента - в етеричното масло и конкретите и 16 - в резиноидите. И двата екстракционни продукти проявяват умерена антимикробна активност срещу *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*.

Определено е съдържанието на биологично активни вещества в листата, етеричното масло, конкретата и резиноида на *N. rustica* L. В листата са идентифицирани тритерпени, свободни и свързани фенолни киселини. В се етеричното масло са идентифицирани 19 компонента.

Чрез хроматографски методи са определени количествено полифеноли във видове от род *Achillea*, *Artemisia*, *Mentha*, *Dysphania*.

5. Спектърът на провежданите аналитични изследвания е разширен с определяне на **антиоксидантна и антимикробна активност на тютюневи екстракти и синтетични производни.** Получени са данни от експериментите с DPPH-метод, които доказват висока радикал-улавяща активност на пречистени тютюневи екстракти от *N. alata* Link & Otto, *N. rustica* L., *N. tabacum* L. и определят широките възможности за безопасно използване на екстрактите във фармацевтични и козметични препарати. При изследване на антиоксидантната активност чрез FRAP-метод на непречистени тютюневи екстракти, получени с различни разтворители се наблюдава висока антиоксидантна активност при разтворител метанол и ниска

антиоксидантната активност в етаноловите разтвори, което вероятно се дължи на синергичния или антагонистичен ефект на останалите съединения, присъстващи в екстрактите.

За пръв път е проведено изследване на антиоксидантна активност на новосинтезирани бензтиазолови производни, чрез DPPH и ABTS-метод, което доказва зависимостта на антиоксидантната активност главно от броя и позицията на фенолни хидроксилни групи.

Установена е слаба антимикробна активност на ароматни екстракти (конкрет и резиноид) от листата на ориенталски тютюн *N. tabacum L* и *N. rustica L*. и умерена на екстракти от два генотипа на тютюн *N. alata Link & Otto* срещу бактерии *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*,

6. Изследванията на д-р Дочева обхващат и проследяване на изменчивостта на видове от род *Ranunculus L.*, сканинг електронномикроскопски анализ на семенна повърхност на 3 вида лютичета – *Ranunculus sardous*, *Ranunculus arvensisvar. typicus* и *Ranunculus arvensisvar. tuberculatus* и оценка на гъстотата на популацията и биоразнообразието на полезни хифални почвени микроорганизми.

Приемам формулираните от д-р Дочева приноси с оригинален научен, научно-приложен и методичен характер:

Научни приноси:

1. Установено е, че отглежданите при типични условия на средата сортове ориенталски тютюни се характеризират с балансиран вкус на тютюневия дим, за разлика от сортовете, отглежданите в нетипични региони, в които съдържанието на никотин и захари варира в широки граници.
2. Проучен е начинът на унаследяване на най-важните химически показатели (никотин, общ азот, захари и белтъци) при тютюн Бърлей.
3. Доказано е, че най-значим ефект върху намаляването на съдържанието на захари, общ азот и никотин при тютюн Бърлей, оказва количеството на валежите, а влиянието на средноденонощната температура е по-слабо.
4. Определено е съдържанието на карбонилни съединения в тютюневия дим на различни сортове български тютюни и промишлено произведени марки цигари. Най-високо съдържание на карбонили е установено в пуретите, а най-ниското - в цигарите.
5. Установена е обратнопропорционална връзка между вентилацията на филтъра и съдържанието на флавоноиди в тютюневия дим и положителни корелации между общото съдържание на карбонилни съединения и катран, никотин, СО и отделни карбонили при различните марки цигари.
6. Доказано е, че количеството на флавоноидите в пречистени тютюневи екстракти варира значително и зависи от съдържанието им в тютюневата суровина, а съдържанието на никотин и захари е много по-малко от това на непречистните екстракти.

Научно-приложни приноси

1. Направен е подбор на переспективни селекционни линии ориенталски тютюни от различни екотипове на базата на данни от химични анализи и оценка на пушателните им качества.
2. Използвани са интродуцирани чуждестранни сортове тютюн Бърлей за директно внедряване в тютюнопроизводството и като донори на генплазма за създаване на нови сортове тютюн.
3. Проучени са възможностите за приложение на екстракти на различни видове тютюн в биофармацията, козметиката, парфюмерията, както и за храна за животни и суровина за нови потребителски продукти.
4. Доказана е корелационна връзка между кафеoilхиновите киселини и радикал-улавяща активност, изследвана чрез DPPH метод при екстракти от четири вида *Achillea millefolium*.
5. Установено е, че най-подходящият екстрагент на съединения, принадлежащи към групата на полифенолите е 70% метанол, а за извличане на биоактивни метаболити от листата на *N. alata*, *N. rustica*, and *N. tabacum* - 50 % и 70 % етанол.

Методични приноси

1. Адаптирани са методи за определяне на кофеин в тютюнев пълнеж от цигари чрез високоефективна течна хроматография и метод за определяне на обща антиоксидантна активност чрез желязо-редуциращата активност на плазма (FRAP метод) – Г8-21.
2. Проучени са класически и съвременни техники за пречистване на бензпирен от кондензата на тютюневия дим.

Посочените от кандидатката приноси коректно представят постиженията в научноизследователската ѝ работа, като допринасят за обогатяване на съществуващите и получаване на нови научни знания, потвърждаване на научни факти и адаптиране на аналитични методи.

Професионалният облик на д-р Дочева се допълва и от изпълнението на 7 научни проекти, финансирани от Селскостопанска Академия, ФНИ и МОН. В периода от 2011 -2020 г., тя е част от научния колектив на 4 проекта към ССА, като ръководи 2 от тях.

Участник е в проект по договор № ДН 06/9 "Комплексно проучване върху механизмите на сигнализация, направляващи взаимодействия на ризосферата между растения, микробиота, арбускуларни микоризни гъби и коренови паразитни растения" финансиран от Фонд „Научни изследвания“, както и в 2 проекта за студентски практики: BG051PO001-3.3.07-0002 „Студентски практики“ и Проект BG05M20P001 -2.002-0001- „Студентски практики – Фаза 1” – към МОН, 2016, финансирани от Оперативна Програма „Развитие на човешките ресурси”. Участието на кандидатката в значителен брой проекти е доказателство за високата

стойност на изследователската ѝ работа и умението ѝ да работи последователно за реализиране на поставените научни и приложни цели.

Гл.ас. д-р Дочева съчетава научноизследователската работа и с активна преподавателска дейност (общо 276 часа), свързана с ръководство на упражнения по две дисциплини *Органични вещества в парфюмерийните и козметичните продукти* и *Органична химия* на студенти, както и с ръководство на лабораторни упражнения на следдипломна квалификация за специалисти с висше образование за получаване на професионална квалификация „Специалист по високоефективна течна хроматография” в ПУ “Паисий Хилендарски.

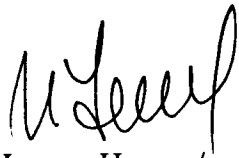
От 2019г. д-р Дочева е ангажирана и с организационно – административни дейности, като заема последователно позициите: заместник ръководител, а понастоящем ръководител на акредитиран Лабораторен комплекс за изпитване при Институт по тютюна и тютюневите изделия – с. Марково. Същевременно от юни 2020 г. е ВРИД Ръководител на отдел „Химия на тютюна и тютюневия дим”.

Признание за високата професионална компетентност на д-р Дочева е изборът ѝ през 2009г. за Координатор за България на Глобална мрежа от държавни, академични и независими лаборатории за укрепване на националното и регионалното качество за изследване и проучване на съдържанието и емисиите на тютюневи изделия и Координатор за България Европейска мрежа за държавни лаборатории за тютюна и тютюневите изделия (GoToLab).

Заклучение

Анализът на цялостната научно изследователска и приложна дейност на кандидата, значимостта на постигнатите резултати и представените оригинални научни приноси, доказват, че д-р Дочева е сериозен изследовател, притежаващ широк диапазон на научни интереси и задълбочени познания в областта на тютюна, тютюневите изделия и съдържащите се в тях биологично активни вещества. Представената научна продукция е актуална по тематика, а по съдържание на научни достижения и наукометрични показатели напълно покрива критериите на ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ в ССА за заемане на академичната длъжност „доцент”. Това ми дава основание да изразя своята **положителна оценка** и да препоръчам на уважаемото Научно жури и Научния съвет по Технически науки да присъди на главен ас. д-р Маргарита Христова Дочева академичната длъжност „доцент” в професионално направление 5.12. Хранителни технологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества“.

11.10.2020г.
гр. София

Изготвил: 
/проф. д-р Илиана Начева/

REVIEW

by Prof. Iliana Borisova Nacheva, PhD - Institute of Cryobiology and Food Technologies - member of Scientific jury, appointed by order No. RD 05-246 /17 Aug 2020 of the Chairperson of the Agricultural Academy – Sofia, based on a decision of the Scientific Council of "Technical Sciences: Food, Food Technology, Mechanization and Electrification in Agriculture" (Minutes №17/15.07.2020)

Concerning: Contest for holding academic position "Associate professor", professional area 5.12 Food technologies " in scientific specialty "Technology of biologically active substances ", announced by the Institute of Tobacco and Tobacco Products - village of Markovo, published in the State Gazette № 55/19 Jun 2020.

As the only candidate in the announced competition is Chief Assistant professor Margarita Hristova Docheva, PhD from the Institute of Tobacco and Tobacco Products - village of Markovo, Agricultural Academy.

The presented and precisely prepared set of materials is in accordance with all procedural requirements of the Law on Development of Academic Staff and the Regulations for its application in the Agricultural Academy.

1. Brief biography information

Chief Assistant professor Margarita Hristova Docheva, PhD was born on March 1, 1980. In the period from 1998 to 2010 she is studying at Plovdiv University "Paisiy Hilendarski ", successively acquiring a general qualification degree " Bachelor " with a specialty " Biology and Chemistry " and Master's degree with a specialty " Microbial Biotechnology ". Her appointment as a scientific research at the Institute of Tobacco and Tobacco Products - village of Markovo in 2009 marks the beginning of her professional development. Her academic growth is related to holding the academic positions of "assistant professor" in 2011 and "chief assistant professor" from 2016 until now. In 2016 she defended dissertation paper on "Study of tobacco extracts containing flavonoids and their synthetic derivatives", which awarded her the educational and scientific degree "Doctor" in the professional area 4.2. Chemical Sciences, PhD programme "Organic Chemistry" (Diploma № 1000196 / 25 May 2016, Plovdiv University "Paisiy Hilendarski").

Professionally, the candidate has technical experience and competencies for working with liquid and gas chromatographs and specific equipment related to the analysis of tobacco and tobacco products. She speaks English and works fluently with MS Word, Excel, Power point. She is a member of the Scientific and Technical Union and the Union of Scientists in Bulgaria- branch Plovdiv.

2. General presentation of the competition materials

For participation in the competition Chief Assistant prof. Docheva, PhD presented the following scientific production:

1. Information for fulfillment of the minimum national requirements and of the requirements of the regulations of Agricultural Academy for holding the academic position "Associate professor", with attached evidences for assessment of the conformity under art. 75, v.1.

2. Reference to the original scientific contributions.

3. References and documents, related to the assessment of the requirements for participation in the competition for the position held.

4. Habilitation extended reference for the scientific contributions, in case of a procedure for holding the academic position "Associate professor".

5. Abstract of a dissertation, including a list of scientific works (4 copies) with which she has acquired the educational and scientific degree "Doctor".

The analysis of the submitted report for fulfillment of the minimum national requirements for holding the academic position of "Associate professor" in the field of Technical Sciences, shows that in most cases the required number of points is exceeded:

- According to indicators from group A, the candidate covers the required 50 points for the acquired the educational and scientific degree "Doctor".

- According to indicators from group B, 110 points were achieved from the mentioned 10 publications, which were printed in referenced and indexed in the world-renowned database with scientific information *Scopus and Web of Science*. The materials have been published in authoritative international publications: *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 9 (№1), *Bulgarian Chemical Communication* (№№ 2,5,6,9 и 10), *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* (№ 3), *Industrial Crop & Products* (№ 4), *J. App. Biol. Biotech.* (№ 7) *International Journal of Food Studies* (№ 8).

- According to indicators from group G (7 and 8) are presented 30 publications in unrefereed journals with scientific review or in edited collective volumes - national and international publications, which forms 215 points, exceeding the required 200.

Some of the publications (№№ G7 -2, G8-1,4,14,17,18,19 and 23) are published in international journals – *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *Turkish Journal of Agricultural and Natural Science*, *Tymyn/Tobacco*, *Trends in Phitochemical Research*, *Int. J. Pharm Sci. Drug Res.*, *Adv. Agri Harti and Entomology*.

Publications in national journals are in the editions *Bulgarian Journal of Agricultural Science* (№№ G7- 1 и 3), *J.Bio.Sci.Biotechnology* (№№ G7- 4) и *Plant science* (№№ G8-10 and 11).

9 reports at national conferences (№№ G8 - 5,6,7,8,21,22 and 24) and 8 reports at national conferences with international participation are indicated (№№ G8 -2,3,12,13,15,16,20 and 25).

Titles of 11 articles and reports are presented, published in specialized editions, without attached copies and 4 scientific publications related to the dissertation, which are not subject to review.

The analysis of the personal contribution of the candidate in the scientific works shows that she is a leading author in 10 publications, in 13 she is a second, and in 17 she is a third and next author. Despite the fact that the scientific works are co-authored, the main contribution of Chief Assistant prof. Docheva, PhD in their preparation is clearly outlined and at the same time her successful teamwork is emphasized. Of the presented scientific papers - 21 were printed in English and 19 - in Bulgarian.

These data indicate a very good publishing activity. In terms of content, the scientific papers fully correspond to the theme of the competition. The presented publications are up-to-date, and the interpretation of the obtained results is correct, performed at a high scientific level.

• According to indicators from group D are presented 9 citations of 2 scientific papers in publications, referenced and indexed in a world- renowned database with scientific information, which achieved 60 points, if necessary 50. The citations are in authoritative international publications: *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, *European Review for medical and Pharmacological Sciences*, *Dental Journal*, *Molecules*, etc., which is an indisputable certificate of originality and quality of research, as well as the recognizability of the scientific output of the candidate.

To promote the results of their research, Chief Assistant prof. Docheva, PhD has participated in international scientific conference dedicated to the 70th anniversary of the Institute of Tobacco and Tobacco Products, 8 national scientific forums with international participation, national youth forum "Science, Technology, Innovation, Business" and 3 participations in the Student Scientific Conference "Challenges in chemistry".

The general characteristics and evaluation of the scientific production of Chief Assistant prof. Docheva, PhD proves that she meets the necessary criteria and fully meets the requirements of of the Law on Development of Academic Staff and the Rules for it Implementing at the Agricultural Academy.

3. Evaluation of research activities and contributions

The scientific interests and research activity of Chief Assistant prof. Docheva, PhD are focused on the study of the chemical composition of different types, varieties, lines and crops of tobacco, tobacco smoke, tobacco flakes and extracts, with emphasis on the content of biologically active substances in them, for the purpose of alternative application in practice.

The presented reference for the original scientific contributions has been prepared correctly, it reflects the complex nature of the research in which the candidate has

participated. I believe that the issues, the results obtained, the formulated conclusions and contributions correspond to the scientific specialty of the announced competition.

The analysis of the scientific production outlines several main directions in the activity of Chief Assistant prof. Docheva, PhD:

1. ***Studies on the chemical composition of selected varieties and lines of oriental tobacco*** from ecotypes *Djebel Basma*, *Krumovgrad*, *Ustina* and *Srednogorska yaka*, grown under typical and not typical environmental conditions, determining their main chemical parameters (nicotine, total nitrogen, sugars and proteins). Regularities have been established related to changes in the smoking-taste properties of tobacco varieties grown in a region not typical for the variety, which vary widely and show a large difference in the taste and physiological sensation of tobacco smoke.

Essential to the practice are the proven facts that climatic conditions do not significantly affect the percentage of protein, ash and ammonia, and the total amount of precipitation significantly affects the reduction of sugars, total nitrogen and nicotine.

2. In the field of ***research of the main components in tobacco smoke - tar, nicotine and CO***, results of applied nature have been achieved, related to determining the content of carbonyl compounds in tobacco smoke of different varieties of Bulgarian tobacco, with the highest level found in *Virginia* tobacco varieties. followed by oriental tobacco varieties and *Burley* tobacco varieties.

In-depth research on the content of acetaldehyde, formaldehyde, acetone, acrolein in the main smoke stream of cigarettes, cigarillos and pipe tobacco, proves the highest content of carbonyl in cigarillos, and the lowest - in cigarettes. The content of carbonyl compounds in cigarette emissions has been reported to be influenced by the type of filter and, in the case of pipe tobacco and cigarillos, by the type of aroma.

3. A significant part of the research is devoted to the ***determination of polyphenols in tobacco, tobacco blends from cigarettes and tobacco smoke***. The content of the individual components of the polyphenolic complex (chlorogenic acid, rutin and flavonoids) in the leaves of different types of tobacco *N. rustica* and *N. Alata* was experimentally established. The content of polyphenols in tobacco blends, tobacco smoke and soot from different brands of cigarettes, as well as the content of polyphenols in the main smoke stream and in the soot of laboratory-made cigarettes from oriental tobacco of *Krumovgrad* ecotype were determined. Filter cigarettes have been shown to contain more flavonoids than filter cigarettes.

Docheva's research also focuses on obtaining unrefined tobacco extracts from selected Bulgarian tobacco varieties and cigarette blends and analytical determination of the content of polyphenols, nicotine, sugars and antioxidant activity. The obtained data prove a high content of polyphenols and a reduced content of nicotine and sugars in the extracts obtained with 100% methanol and 60% methanol. The lowest content of polyphenols, nicotine, sugars and antioxidant activity was reported in the ethanol extracts, and insoluble complexes were obtained by aqueous extraction.

For the first time, separation of the two main groups of substances from the class of polyphenols contained in tobacco - phenolic acids and flavonoids - was achieved using Amberlite XAD7 absorption resin. The content of polyphenols in two types of purified tobacco extracts enriched in phenolic acids and extracts enriched in flavonoids obtained from 3 types of tobacco (*N. tabacum* L., *N. alata* Link & Otto and *N. rustica* L.) was studied.

4. Another important direction in the research is the **identification of biologically active substances in tobacco leaves, tobacco seeds, essential oil, tobacco concrete and resinoids, etc.** In a series of experiments, Chief Assistant prof. Docheva, PhD found a rich set of biologically active substances in the non-volatile and volatile fraction of the leaves of oriental tobacco *N. tabacum* L. The seed oil of three species of *Nicotiana* contains phospholipids, β -sitosterol, followed by cholesterol and Δ^5 -avenasterol cholesterol, campesterol, Δ^5 -avenasterol and stigmasterol. The γ -tocopherol predominates in the tocopherol fraction.

For the first time in Bulgaria a study was conducted to determine the content of phenolic acids, flavonoids and triterpenes in leaves, essential oil and extracts of two genotypes of tobacco *N. alata* Link & Otto. The received data shows the content of 12 components with biologically active action in leaves and extracts of two genotypes of tobacco *N. alata* Link & Otto, 19 components - in the essential oil and concrete and 16 - in resinoids. Both extraction products show moderate antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*.

The content of biologically active substances in the leaves, essential oil, concrete and resinoid of *N. rustica* L. was determined. Triterpenes, free and bound phenolic acids were identified in the leaves. 19 components have been identified in the essential oil. Polyphenols in species of the genus *Achillea*, *Artemisia*, *Mentha*, *Dysphania* have been quantified by chromatographic methods.

5. The range of analytical studies has been expanded to **determine the antioxidant and antimicrobial activity of tobacco extracts and synthetic derivatives.** Data were obtained from experiments with the DPPH method, which proved the high radical scavenging activity of purified tobacco extracts from *N. alata* Link & Otto, *N. rustica* L., *N. tabacum* L. and determined the wide possibilities for safe use of the extracts in pharmaceutical and cosmetic preparations. In the study of antioxidant activity by FRAP-method of crude tobacco extracts obtained with different solvents, high antioxidant activity in solvent methanol and low antioxidant activity in ethanol solutions were observed, probably due to the synergistic or antagonistic effect of the other compounds present in the extracts.

For the first time, a study of the antioxidant activity of newly synthesized benzthiazole derivatives was performed by DPPH and ABTS method, which proves the dependence of the antioxidant activity mainly on the number and position of phenolic hydroxyl groups.

Weak antimicrobial activity was found of aromatic extracts (concrete and resinoid) from the leaves of oriental tobacco *N. tabacum* L and *N. rustica* L. and moderate of extracts of two genotypes of tobacco *N. alata* Link & Otto against bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*,

6. Dr. Docheva's research also includes ***tracking the variability of species of the genus Ranunculus L., scanning electron microscopic analysis of the seed surface of 3 species of buttercups - Ranunculus sardous, Ranunculus arvensisvar typicus and Ranunculus arvensisvar tuberculatus and assessment of population density and biodiversity of beneficial hyphal soil microorganisms.***

I accept the contributions formulated by Chief Assistant prof. Docheva, PhD with original scientific, scientifically applied and methodical character:

Scientific contributions:

1. Oriental tobacco varieties grown under typical environmental conditions have been found to have a balanced tobacco smoke taste, in contrast to varieties grown in atypical regions where nicotine and sugar content varies widely.
2. The way of inheriting the most important chemical indicators (nicotine, total nitrogen, sugars and proteins) in Burley tobacco has been studied.
3. It has been proven that the most significant effect on the reduction of sugars, total nitrogen and nicotine in Burley tobacco has the amount of precipitation, and the influence of the average daily temperature is weaker.
4. The content of carbonyl compounds in the tobacco smoke of different varieties of Bulgarian tobacco and industrially produced brands of cigarettes has been determined. The highest content of carbonyl is found in cigarillos, and the lowest - in cigarettes.
5. An inverse relationship has been established between filter ventilation and the flavonoid content of tobacco smoke and positive correlations between the total content of carbonyl compounds and tar, nicotine, CO and individual carbonyls in different brands of cigarettes.
6. It has been shown that the amount of flavonoids in purified tobacco extracts varies considerably and depends on their content in the tobacco raw material, and the content of nicotine and sugars is much less than that of unrefined extracts.

Scientifically applied contributions:

1. A selection of promising selection lines of oriental tobacco of different ecotypes has been made on the basis of data from chemical analyzes and assessment of their smoking qualities.
2. Introduced foreign varieties of Burley tobacco have been used for direct introduction into tobacco production and as donors of gene plasma for the creation of new tobacco varieties.
3. The possibilities for application of extracts of different types of tobacco in biopharmaceuticals, cosmetics, perfumery, as well as for animal feed and raw materials for new consumer products have been studied.

4. A correlation between caffeoylquinic acids and radical scavenging activity has been demonstrated by DPPH in extracts of four species of *Achillea millefolium*.
5. It has been found that the most suitable extractant of compounds belonging to the group of polyphenols is 70% methanol, and for the extraction of bioactive metabolites from the leaves of *N. alata*, *N. rustica*, and *N. tabacum* - 50% and 70% ethanol.

Methodical contributions:

1. Methods for determination of caffeine in tobacco filling by cigarettes by high-performance liquid chromatography and method for determination of total antioxidant activity by plasma iron-reducing activity (FRAP method) have been adapted.
2. Classical and modern techniques for purification of benzopyrene from condensation of tobacco smoke have been studied.

The contributions indicated by the candidate correctly present the achievements in her research work, contributing to the enrichment of the existing and acquisition of new scientific knowledge, confirmation of scientific facts and adaptation of analytical methods.

The professional image of Dr. Docheva is complemented by the implementation of 7 research projects funded by the Agricultural Academy, Bulgarian National Science Fund and Ministry of Education and Science. In the period from 2011 to 2020, she was part of the research team of 4 projects at the Agricultural Academy, leading 2 of them.

Participant in a project under contract № DN 06/9 "Comprehensive study on signaling mechanisms guiding the interactions of the rhizosphere between plants, microbiota, arbuscular mycorrhizal fungi and root parasites" funded by the Bulgarian National Science Fund, as well as in 2 projects for student internships: BG051PO001-3.3.07-0002 "Student internships" and Project BG05M20P001 -2.002-0001- "Student internships - Phase 1" - to the Ministry of Education and Science, 2016, funded by the Operational Program "Human Resources Development". The candidate's participation in a significant number of projects is proof of the high value of her research work and her ability to work consistently to achieve the set scientific and applied goals.

Chief Assistant prof. Docheva, PhD combines research work with active teaching (276 hours in total), related to the management of exercises in two disciplines *Organic Substances in Perfumery* and *Cosmetics and Organic Chemistry* of students, as well as the management of laboratory exercises for postgraduate qualification for specialists with higher education for obtaining a professional qualification "Specialist in high performance liquid chromatography" at the University of Plovdiv "Paisiy Hilendarski".

From 2019, Dr. Docheva is also engaged in organizational and administrative activities, consistently occupying the positions: Deputy Head and currently Head of Accredited Laboratory Testing Complex at the Institute of Tobacco and Tobacco Products – village of Markovo. At the same time, since June 2020, she has been the Head of the Department of Tobacco Chemistry and Tobacco Smoke.

Recognition for the high professional competence of Chief Assistant prof. Docheva is her choice in 2009 for Coordinator for Bulgaria of the Global network of state, academic and independent laboratories for strengthening national and regional quality for research and study of tobacco content and emissions and Coordinator for Bulgaria European network of state laboratories for tobacco and tobacco products (GoToLab).

CONCLUSION

The analysis of the overall research and applied activity of the candidate, the significance of the achieved results and the presented original scientific contributions, prove that Chief Assistant prof. Docheva, PhD is a serious researcher with a wide range of scientific interests and in-depth knowledge in the field of tobacco, tobacco products knowledge in the field of tobacco, tobacco products and biologically active substances contained in them. The presented scientific production is up-to-date on topics and in terms of content of scientific achievements and scientometric indicators it covers the criteria of the Rules for Implementing the Law on Development of Academic Staff at the Agricultural Academy for holding the academic position "Associate Professor".

This gives me reason to express my **positive assessment** and recommend to the Honorable Scientific Jury and Scientific Board in Technical Sciences: Food, Food Technology, Mechanization and Electrification in Agriculture" to award to Chief Assistant professor Margarita Hristova Docheva, PhD, academic position "Associate Professor" in professional area 5.12. Food technology, scientific specialty " Technology of biologically active substances ".

11.10.2020r.

Sofia

Reviewer:



/Prof. Iliana Nacheva PhD/