

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на инж. Анна Йорданова Маринова

на тема: *Поточно-инжекционни ензимни методи с амперометрична и спектрофотометрична детекция за определяне на лактат и глюкоза в биологични течности,*

представен за присъждане на образователната и научна степен “Доктор” по научна специалност **4.2 Химически науки (Аналитична химия)**

Дисертационният труд на инж. Анна Йорданова Маринова “*Поточно-инжекционни ензимни методи с амперометрична и спектрофотометрична детекция за определяне на лактат и глюкоза в биологични течности*”, представен за присъждане на образователната и научна степен “Доктор” е разработен в Катедра “Аналитична химия” на ХТМУ - София под ръководството на доц. д-р инж. Андриана Сурлева и доц. д-р инж. Тинка Колушева. Определен съм за член на научното жури със заповед на Ректора на ХТМУ №НД-20-140/22.12.2016 г, а на първото заседание на научното жури съм одобрен и за председател и рецензент на дисертационния труд.

По т. 1. Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата

От представеното CV на кандидатката за присъждане на ОНС „доктор“ става ясно, че тя завършва висшето си образование във ВХТИ (понастоящем ХТМУ) през 1983 г. в катедра „Химична технология на дървесината“. От 1983 до 1986 г. инж. Маринова е работила като преподавател по аналитична химия в ЕСПУ „Димитър Благоев“, гр. Костенец. В следващият тригодишен период ас. Маринова е работила като конструктор в лаборатория по електрохимия към ВМЕИ – София, след което през 1989 г. постъпва във ВХТИ като химик към НИС в „Лабораторията по йон-селективна потенциометрия и анализ в поток“. Същата година след издържан конкурс инж. Маринова е назначена за хоноруван асистент по Аналитична химия и ИМАХ в катедра „Аналитична химия“ на ХТМУ. През 1990г. след спечелен конкурс същата е назначена за редовен асистент в същата катедра. Следва израстване на инж. Маринова до гл.ас. през 2000г. до края на 2014г. и във връзка с наложените промени в ЗРАС на РБългария понастоящем същата е отново асистент и е зачислена на свободна докторантура през декември 2015 година.

През годините на своят трудов стаж ас. Маринова е провеждала лабораторни упражнения и семинари по трите основни дисциплини, които се преподават в катедрата, а именно Качествен анализ, Аналитична химия (Количествен анализ) и ИМАХ за всички специалности, които се обучават в катедрата. Ас. Анна Маринова е участвала в написването на няколко учебни помагала за студенти, обучаващи се по дисциплините в катедра „Аналитична химия“ на ХТМУ.

Научните интереси на докторантка са в областите на атомната спектрометрия, йон-селективна потенциометрия и анализ в поток, където е и разработения от нея дисертационен труд.

По т.2. Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите

Съвременните аналитични техники понастоящем служат не само за качествен и количествен контрол, но те представляват част от целия производствен цикъл. От друга страна развитието на възможностите на детекторите да улавят много ниски концентрации на аналитите прави съвременните аналитични методи абсолютно надеждна алтернатива за доказване на различни замърсявания в екологичен аспект, контрол на физиологично активни субстанции и приложението им в много други области на практиката. Основно предизвикателство представлява разработването на удачни техники за детекция на цели групи аналити, а не на конкретни съединения, както и подходяща пробоподготовка, която да обхваща възможно най-голям брой матрици за анализ. В този глобален контекст направлението избрано от дисертантката и нейните научни ръководители е изключително модерно, актуално и тясно свързано с практиката и нейните нужди от нови бързи и надеждни техники за анализ и детекция на аналити в различни матрици.

Дисертационният труд е изложен на 89 стандартни страници, като включва разделите: Увод – 2 стр., Литературен обзор – 28 стр., Изводи от литературният обзор – 1 стр., Цел и задачи – 1 стр., Експериментална част – 9 стр., Резултати и Дискусия – 28 стр., Изводи – 1 стр., Приноси на дисертационния труд – 1 стр., Използвана литература – 11 стр. и научни публикации и участия в конференции и проекти. Бих искал още тук да изразя, че много добро впечатление прави извеждането на Изводи от направеният литературен обзор, които дават основание и насоки за много точно и коректно формулиране на целите и задачите, които докторантката си поставя в своя дисертационен труд. Цитираната литература в своята цялост обхваща литературни източници след 2000 година, което несъмнено е доказателство за актуалността на

разработваната тематика. Бих искал още тук да отбележа малка забележка, че на места в цитираната литература се забелязва нееднородност, като например липсата на скоби, в които да е поставена годината на цитата, например източници 16, 19, 20-22 и др. Понякога годината е преди броя на списанието, напр. източник 22, на места преди страниците е поставено съкращението pp (напр. източници 16, 27 и др.), което в цялост липсва. Понякога има само първите страници на цитираните източници, а края на цитата не е отбелязан.

Трудът е насочен към разработване на поточно-инжекционни ензимни методи с два вида детекция амперометрична и спектрофотометрична, за определяне на лактат и глюкоза в биологични течности.

Литературният обзор на дисертацията последователно разглежда

- Ензимни методи за определяне на лактат и глюкоза чрез свободен и имобилизиран ензим
- Биосензори за детекция на лактат
- Лактатни биосензори и биореактори в поточно-инжекционния анализ
- Поточно-инжекционен анализ – основни принципи

От така направения задълбочен и добре анализиран литературен преглед много коректно и точно в раздела **ЦЕЛ и ЗАДАЧИ** са изведени целта на дисертационния труд и отделните задачи за нейното осъществяване.

В раздела **Експериментална част** подробно са описани всички използвани реактиви, подготовката на ензимния биореактор и ензимната мембрана необходими за анализите на пробите и методиките за имобилизация на целевите ензими лактат оксидаза и глюкозооксидаза. Изключително коректно и прецизно е описана апаратурата и схемите на поточно-инжекционната система с двата вида детекция (амперометрична и спектрофотометрична). Описано е калибрирането на аналитичната система по метода на външният стандарт.

В основния раздел **Резултати и дискусия** е докторантката с голяма прецизност и аналитични подходи е отразила извършения от нея експериментален труд. Разделът е разделен на две основни части: **ПОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОНЕН ЕНЗИМЕН МЕТОД С АМПЕРОМЕТРИЧНА ДЕТЕКЦИЯ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЛАКТАТ** и **ЕНЗИМЕН СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕН ПОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОНЕН МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЛАКТАТ И ГЛЮКОЗА**. Във всяка от двете части е обърнато специално внимание на характеристиките на всяка една аналитична техника като са

определени линеен обхват, възпроизводимост на аналитичния сигнал и селективност и точност на метода. След разработване на методите е показана тяхната приложимост за голям брой проби кръвен серум и ферментационни течности от млечнокисела ферментация, като резултатите са прецизно обобщени в отделни таблици за двата метода. Значителна по обем работа е извършена и във връзка с подобряване на селективността на поточно-инжекционния ензимен метод с амперометрична детекция за определяне на лактат, както и подобряване на неговата ефективност и удължаване работата на ензимния биореактор. Показано е, че комбинацията от поточно-инжекционен ензимен биореактор и ензимна електродна мембрана запазва ефективността си и не е подложена на продуктно инхибиране в продължение на 100 работни часа при анализ на повече от 400 проби от биологични ферментационни течности. Намалването на относителната активност за изследвания период е само 2 %. Докторантката е продължила това изследване 18 месеца и е наблюдавала, че за този период относителната активност на комбинирания ензимен поточно-инжекционен модул с биореактор и ензимна мембрана показват намаляване на активността с около 5 %. Предложеният от докторантката конструктивен подход значително увеличава работния живот на ензимните модули в сравнение с описаните в литературата ензимни електроди, които се характеризират с дълготрайност от 20-30 дни. Всички получени резултати са представени чрез фигури и са обобщени в таблици, което несъмнено спомага за по-лесното им проследяване.

По т. 3. Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Автореферата на дисертационния труд е разположен на 28 страници и напълно отговаря на изискванията на чл.11, т.5 от ППНСЗД на ХТМУ, като обхваща изцяло следните раздели от дисертационния труд Въведение, Цел и задачи, Резултати и Дискусия, Изводи, Приноси и Списък с публикациите и участията в научни форуми на докторанта по темата на дисертацията.

По т.4. Характеристика и оценка на приносите в дисертационния труд

Считам, че работата по настоящия дисертационен труд е довела до следните позначими приноси :

1. Разработени са оригинална поточно-инжекционна система за определяне на лактат в биологични обекти с комбинация от ензимен биореактор и ензимна мембрана на амперометричния сензор, в които е имобилизиран ензимът лактатоксидаза.

2. Оптимизиран е състава на потока-носител чрез включване на някои нискомолекулни електроактивни матрични компоненти в стандартните калибрационни разтвори на лактат и чрез използване на комбинация от ензимен биореактор и ензимна мембрана е постигнато повишаване на точността на анализа.

3. Разработен е поточно-инжекционен метод със спектрофотометрична детекция за определяне на лактат и глюкоза след ензимното им окисление в колонни биореактори и спектрофотометрична детекция на образувания водороден пероксид.

4. Разработените аналитични методи за детекция на лактат и глюкоза са приложени за анализ на двата анализа в проби кръвен серум и ферментационни течности от млечнокисела ферментация

По т. 5. Мнение за публикациите на докторанта по темата на дисертационния труд

Към момента на представянето на дисертационния труд той е оформен в 3 научни публикации в пълен текст в списание с редактор Journal of Chemical Technology and Metallurgy (SJR 0,194), като една от тях е приета за печат и представлява ревю по разработваната в дисертацията тематика. Цитираните работи напълно удовлетворяват чл. 11 т.4 от ППНСЗД на ХТМУ за защита на дисертация.

По темата на дисертационния труд е забелязан един цитат на една от публикациите от чуждестранни автори, което показва че ас. Маринова е разпознаваема в международната научна общност. В допълнение инж. Маринова е участвала в три научни конференции, в които е докладвала части от дисертационния труд.

По т.6. Критични бележки и коментари

Към разработеният дисертационен труд нямам други критични бележки, освен посочените по-горе в изложението ми на съответните места. Считам, че той е разработен задълбочено в избраната от докторантката и нейните ръководители област, написан е на висок научен стил и показва задълбочено познаване на материята от страна на докторантката.

Препоръчвам на ас. Маринова да засили своята публикационна активност в западни списания с и.ф., тъй като намирам областта на нейните научни интереси за изключително атрактивна и с голям научен потенциал.

По т. 7. Лични впечатления от докторанта

Познавам ас. инж. Анна Маринова от 1995 г., когато тя беше мой асистент на лабораторните упражнения в катедра „Аналитична химия“ в продължение на няколко семестъра. През всички тези години като мой преподавател, а по-късно и колега съм получил само позитивно отношение от нея и смея на твърдя, че голяма част от своите знания в областта на аналитичната химия, които съм придобил и затвърдил са в резултат от нейната отзивчивост и умение за работа със студентите. Считам, че тя е един напълно изграден преподавател и учен в областта на аналитичната химия и заявявам своята готовност при желание и от нейна страна за бъдеща съвместна работа по тематики от общ интерес.

По т. 8. Заключение

Общото ми впечатление е за значителна по обем извършена експериментална работа. Дисертационния труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които са изключително оригинални. Имайки предвид, че „доктор“ е образователна и научна степен, докторантката ас. инж. Анна Маринова напълно е изпълнила и двата аспекта на тази дефиниция. Във връзка с всичко изложено до тук ще подкрепя присъждането на образователната и научна степен „доктор“ на Анна Йорданова Маринова.

02.02.2017 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:
/доц. д-р инж. Д.Даналев/