

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност 5.11 Биотехнологии (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества) на инж. Искра Иванова Стойкова на тема „Биоаналитични методи за определяне на пестициди в матрици от черен дроб“

от доц. д-р инж. Андриана Риск Сурлева, катедра „Аналитична химия“, ХТМУ

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

Докторантката инж. Искра Иванова Стойкова е завършила висшето си образование в ХТМУ, специалност „Биотехнологии“, ОКС Бакалавър през 2010 г. и ОКС „Магистър“ през 2012, същата специалност с отличен успех от дипломната защита и среден успех от курса на обучение Мн.добър (5.33). На 01.03.2013г. е зачислена като редовен докторант към катедра „Биотехнология“ при ХТМУ с ръководител доц. Данчо Даналев. Отчислена е с право на защита на 01.06.2016г. (Заповед Р-ФХ-198/15.07.2016г.). Преминала е успешно две специализации: 4-месечна специализация в Европейска референтна лаборатория за пестициди и диоксини в храни, гр. Фрайбург, Германия на със специализирано обучение тема „Методи за пробоподготовка при потвърдителни анализи на замърсители в храни“ и 10-дневно обучение на тема „Иновации и технологичен мениджмънт в медицината и фармацевтичната биотехнология“, организирано от Алма Матер Болонски Университет. Консултант е на 2 магистърски и 2 бакалавърски дипломни работи. Педагогическата й дейност далеч надхвърля изискванията на индивидуалния й план на обучение като докторант. Водила е 300 часа упражнения по дисциплината „Биотехнологични методи за контрол и анализ на храни и напитки“. Владее английски и немски език.

От 2010г. работи като главен експерт в Централна лаборатория по ветеринарно-санитарна експертиза и екология, към БАБХ. Основните дейности и отговорности на дисертантката в лабораторията са свързани с определяне на нива на пестициди в храни от животински произход чрез газова и течна хроматография, разработване на вътрешно-лабораторни методики, спазване на система за качество и работа с нормативни документи.

Научните й интереси са в областта на разработване и валидиране на аналитични методи за определяне на токсични замърсители в храни, съобразно изискванията на европейското законодателство, разработване на биосензори чрез имобилизация на ензими.

2. Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите

Дисертационният труд е на актуална за съвременната аналитична практика тема в областта на контрола и безопасността на храните, където нуждата от чувствителни, бързи, евтини и лесни за изпълнение аналитични методи непрекъснато расте с все по-строгите изисквания за качеството на храните, поставени от Европейската комисия. Представен е на 136 стр. с 30 таблици и 44 фигури. Прави впечатление умението на дисертантката да обобщава експериментални данни и да илюстрира направените изводи чрез подходящо оформени таблици и фигури, които са достатъчно информативни и с отлично качество. Литературният обзор е базиран на 162 литературни източника главно за периода 2005-2015, които са описани прецизно и в пълнота.

Целта на дисертационния труд е разработване и валидиране на аналитичен метод за определяне на пестициди в хранителни матрици от животински произход чрез оптичен биосензор. Целта е ясно обоснована чрез анализ на актуалните научни постижения, представени в литературния обзор. Задачите на изследването са ясно дефинирани и отговарят на поставената цел - разработване на аналитичен метод, като обхващат необходимите етапи на аналитичния процес: пробоподготовка, измерване на аналитичния сигнал, обработка на данните и оценка на характеристиките на аналитичния резултат. Допълнително са поставени задачи по разработване и валидиране на хроматографски потвърдителни методи за определяне на избраните аналити. Прави впечатление, че поставените задачи надхвърлят обхвата на поставената цел и дообогатяват значително представения дисертационен труд.

Експерименталната част е написана последователно, кратко и ясно и съдържа необходимата информация за изпълнение на описаните експерименти.

Резултатите и дискусията към тях са оформени в добре обособени части.

1. Оптимизация на подготовката на пробата при потвърдителните хроматографски методи за анализ. Представени са резултатите от оптимизирането на два подхода за подготовка на пробата и са предложени модификации на класическите процедури: (1) последователни течна и твърдофазна екстракция и (2) течна екстракция по QuEChERS метод, последвана от твърдофазна екстракция. Установено е, че модифицираният метод (1) е подходящ за разделяне на аналити от групата на хлорсъдържащите пестициди в матрици от черен дроб. Модифицираният метод (2) е ефективен за разделяне на аналити от групата на фосфорсъдържащите пестициди и N-метил карбамати.

2. Валидиране на хроматографски методи за определяне на пестициди в матрици от черен дроб: газова хроматография с маспектрометрична детекция за определяне на фосфорсъдържащи съединения и течна хроматография с флуоресцентна детекция за определяне на N-метил карбамати. Потвърдителните хроматографски методи са валидирани съгласно процедурите, описани в документа SANTE/11945/2015. Аналитичните характеристики отговарят на критериите за потвърдителен метод за определяне на пестициди в храни.

4. Синтез на мембрани по зол-гел метод и имобилизация на ензими (пероксидаза, холинестераза, ацетилхолинестераза) с цел разработване на оптичен биосензор. Оптимизирани са условията на имобилизация, определени са специфичната и относителната активност на имобилизираните ензими, възможностите за съимобилизация на ензимите, изследвано е влиянието на матрицата за имобилизация и възможностите за регенерация на ензима. Резултатите показват, че най-висока специфична активност на целевия ензим ацетилхолинестераза, най-широк работен концентрационен обхват и по-дълъг работен живот на сензора се постига при самостоятелна имобилизиране на ензима върху синтезираната хибридна CAP/MTES/PAMAM матрица.

5. Разработване на скрийнинг метод за определяне на пестициди в матрица от черен дроб с разработения оптичен биосензор. Разработена е методика за подготовка на пробата от черен дроб, подходяща за детекция на аналитите с оптичния сензор. Методиката се отличава с висока ефективност. Методът е валидиран съгласно изискванията на SANTE 11945/2015 за аналитичните

характеристики на методите за определяне на пестициди в храни. Получените резултати показват, че предложеният метод напълно отговаря на изискванията и може да се прилага за определяне на следи от пестициди в черен дроб като се характеризира с много добра прецизност (10 пъти над поставените изисквания), което обуславя и ниската вероятност за фалшиво отрицателни резултати - характеристика особено важна за скрийнинг методите, където регламентът постановява много строги ограничения: не повече от 5% фалшиво отрицателни проби. Разработен е и алгоритъм за обработка на данни и контрол на качеството на аналитичните резултати, който позволява бърза оценка на поведението на биосензора и характеристиките на метода и значително улеснява рутинната лабораторна практика.

6. Сравнително разглеждане на аналитичните характеристики на разработените в дисертационни труд аналитични методи. Резултатите показват, че разработеният аналитичен метод на основата на оптичен биосензор отговаря на изискванията на регулаторните органи за скрийнинг метод за определяне на пестициди в храни с предимствата: ниска цена, кратко време и лесно изпълнение на анализа. Начинът на представяне на точността и прецизността на резултатите чрез аналитичния добив и относителното стандартно отклонение, обаче, не позволява сравняването им. Препоръчвам аналитичните добиви и границите за количествено определяне да бъдат представени с доверителните им интервали, което позволява бърза оценка на съпоставимостта на резултатите.

Въз основа на представените резултати смятам, че целта на дисертационния труд и поставените задачи са изцяло изпълнени. Темата на дисертационния труд е интердисциплинарна, извършена е достатъчна по обем експериментална работа и докторантката е усвоила знания и умения в областта на аналитичната и биоорганичната химия.

3. Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Авторефератът отразява напълно дисертационния труд.

4. Характеристика и оценка на приносите в дисертационния труд

Научните постижения в докторската дисертация са представени чрез осем приноса, основните от които са:

Разработен е оптичен биосензор за скрийнинг анализ на отстъпци от пестициди в матрица от черен дроб. За имобилизиране на ензимите и получаване на сензора е приложена оригинална методика, разработена от екип в катедра „Биотехнологии“, която се характеризира с относително висока степен на запазване на активността на ензима и възможност за неговата регенерация. Прави впечатление дългият работен живот на получения сензор. Сензорът е селективен към група пестициди и е приложим за скрийнинг анализ на пестициди от групата на фосфорорганичните съединения и карбаматите. Отличва се с висока чувствителност към избраните аналити, които са описани в нормативните документи за контрол на храните. Разработена и подходяща методика за подготовка на пробата за разделяне на аналитите от матрица черен дроб.

Методът за скрийнинг анализ с разработения биосензор е валидиран за определяне на следи от пестициди в матрица от черен дроб. Методиката за валидиране е подходящо подбрана и позволява оценка на аналитичните характеристики на метода, включително етапите

пробоподготовка и детекция. Получените резултати напълно отговарят на изискванията за аналитичен метод за определяне на пестициди в храни от животински произход.

За потвърдителен анализ са разработени и валидирани два хроматографски метода: течна хроматография с флуоресцентна детекция за определяне на N-метил карбамати и газова хроматография с маспектрометрична детекция за определяне на фосфорорганични съединения. Разработени и валидирани са подходящи методики за пробоподготовка.

Приносите на изследванията имат научно-приложен характер и отразяват представените резултати.

5. Мнение за публикациите на дисертанта по темата на дисертационния труд

Резултати от дисертационния труд са публикувани в 3 научни съобщения: 1 публикация с ИФ в Bulgarian Chemical Communications, 1 с SJR фактор - Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education, и 1 публикация в специализирано научно издание с редактор Annuaire de l'Universite de Sofia „St. Kl. Ohridski“. инж. Искра Стойкова е докладвала резултатите от дисертационния си труд на 10 национални и международни научни конференции.

Публикациите отразяват част от представените в дисертацията експериментални резултати, свързани с разработване и валидиране на методики за пробоподготовка за определяне на пестициди в матрица черен дроб чрез течна хроматография с флуоресцентна детекция и методика за пробоподготовка за определяне на съдържанието на линдан и мазнини в яйца чрез газова хроматография с електрон-улавящ детектор. Една публикация е посветена на изследвания върху инхибиторната активност върху ензима ацетилхолинестераза на пептидни аналози на галантамин и пестицидите паратион и карбофуран.

Препоръчвам в бъдещата си работа дисертантката да засили публикационната си активност. В дисертацията са описани много резултати с високо качество, които представляват интерес за научната общност и могат да бъдат представени в престижни научни списания.

6. Критични бележки и коментари

Дисертацията е написана умело, ясно и кратко, на научен език. Забележките, които поставих по време на представяне и обсъждане на дисертацията на разширения катедрен съвет са взети предвид. Прави впечатление, обаче, неправилната употреба на някои понятия в областта на аналитичната химия, които инж. Стойкова трябва да се стреми да не допуска в бъдещата си работа. Имам няколко основни забележки:

(1) в литературния обзор са засегнати съвсем бегло оптичните биосензори (цитирани са само 6 източника), липсва сравнително разглеждане на аналитичните характеристики на публикуваните в литературата сензори, както това е направено за електрохимичните сензори, а темата на дисертацията е посветена на оптичен биосензор.

(2) забелязват се някои неточности при употребата на понятията селективност и точност на аналитичните методи (стр. 78), мултикомпонентен анализ (стр. 36, извод 5), метод за детекция (стр. 32, ред 26) и други.

(3) отново в обзора в табл. 2, стр. 26 класификацията на електрохимичните сензори е неточна. Потенциометричните и амперометричните сензори по принципа на възникване на аналитичния сигнал са електрохимични сензори. В тази връзка трябва да се прецизират електрохимичните сензори, представени на ред 4 и 5 от таблицата.

(4) в изводите се дискутира само прецизността на разработения биосензор. Препоръчвам неговото аналитично поведение да бъде описано още чрез граници на детекция и на количествено определяне, чувствителност, селективност и точност.

(5) Понятието параметър на метода не е коректно използвано (стр. 119, извод 3). Чувствителност, граница на откриване, работен концентрационен интервал, прецизност, точност се дефинират като характеристики на аналитичните методи.

(6) Препоръчвам качествените оценки на характеристиките на методите да бъдат съпроводени с количествени показатели, например (стр. 119, извод 7) – „висока ефективност“ да се покаже постигнатия аналитичен добив за аналитите. Ефективността на пробоподготовката се доказва още и чрез минимизирането или отстраняването на пречещите сигнали.

7. Лични впечатления за дисертанта

Познавам инж. Искра Стойкова от представянето на дисертационния ѝ труд на разширен катедрен съвет при катедра „Биотехнология“. Бях впечатлена от вещината и увереността, с която тя представи научната си работа. Отлични са впечатленията ми и от отговорите на въпросите по време на дискусията, с което показва добра теоретична подготовка, личен принос в разработването на дисертацията, уменията ѝ да тълкува и обобщава експериментални данни, както и да борави с нормативни и научни документи.

8. Заключение

Дисертационният труд на инж. Искра Стойкова е посветен на актуален за аналитичната практика проблем и получените резултати имат научно-приложен характер. Направените изводи са подкрепени от впечатляващ обем експериментални резултати. Дисертационният труд е много добре оформен и представен с вещина и разбиране, на добър научен език. Резултатите са представени в 3 научни публикации и 10 доклада на научни форуми. Представянето на дисертантката на заседанието на научното звено, дисертационният труд и публикациите по него показват добро познаване на съвременното състояние на проблема, възможност за самостоятелна изследователска работа, висока научна компетентност при представяне и интерпретиране на резултатите. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания в Правилника на ХТМУ за приложение на ЗРАСРБ.

С убеденост препоръчвам на членовете на научното жури да гласуват положително присъждането на образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност 5.11 Биотехнологии (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества) на инж. Искра Иванова Стойкова.

30.11.2016г.

гр. София

доц. д-р инж. Андриана Сурлева