

СТАНОВИЩЕ

относно дисертационния труд на ас. 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 научната специалност 4.2 Химически науки (Аналитична химия)

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

Разработването на биосензори за определяне на лактат и глюкоза е актуален аналитичен проблем във връзка с тяхното приложение за медицинска диагностика и при контрола на процеси и продукти в хранителната индустрия. Биосензорите с електрохимичен преобразувател и ензим като биорецептор (ензимни електроди) са едни от най-интензивно разработваните сензори поради селективния и бърз отклик към специфичен субстрат, ниския откриваем минимум, широкия линеен концентрационен интервал, бързия отклик, възможността за непрекъснат анализ, достъпната апаратура, сравнително ниската цена и възможността за автоматизиране на анализа. Обектите за анализ и определяне на лактат и глюкоза са сложни матрици и детекторните системи трябва да се характеризират с: висока чувствителност и селективност при директни измервания, обратим и непрекъснат аналитичен сигнал, възможност за измервания в естествена среда. Интерес представлява разработване на методи с минимална или без подготовка на пробата. Ограничения за по-широкото приложение на биосензорите за лактат и глюкоза са ниската им стабилност и краткия работен живот. Създаването на дълготрайни биосензори провокира интензивните изследвания в тази посока. Включването им в системи за поточно-инжекционен анализ с биореактори, в които е имобилизиран ензима, позволява да се създадат подходящи експериментални условия, както за ензимната, така и за детекторната реакция. Продуктното инхибиране и незадоволителната стабилност на ензима обаче продължават да са сериозно предизвикателство при разработването и приложението на ензимни методи за определяне на лактат и глюкоза, което обуславя и актуалността на изследванията в дисертационния труд.

Целта на представения дисертационен труд е разработване на поточно-инжекционни ензимни методи за определяне на лактат и глюкоза в биологични течности. В тази връзка са поставени и успешно решени следните задачи:

- Конструирание на поточно-инжекционни системи за определяне на лактат и глюкоза
- Разработване на ензимни биореактори с имобилизирана лактатоксидаза или глюкозооксидаза.
- Разработване на поточно-инжекционен метод за определяне на лактат с амперометрична детекция.
- Разработване на поточно-инжекционен метод за определяне на лактат и глюкоза със спектрофотометрична детекция.

Дисертационният труд е представен е на 89 стр., експериментални данни са обобщени в 13 таблици и 25 фигури. Литературният обзор е базиран на 135 литературни източника.

Дисертационният труд е добре планиран, резултатите са представени в ясно обособени раздели, целите и задачите на дисертацията са формулирани ясно. Представеният литературен

обзор показва добрата осведоменост на докторантката по проблема. Разгледани са различни ензимни методи за определяне на лактат и глюкоза, подробно са разгледани биосензорите за лактат и глюкоза и съвременните решения за включването на ензимни биосензори и биореактори в поточно-инжекционни системи. Литературният обзор завършва с обособени изводи, които подкрепят поставената цел на изследванията. Експерименталната част е описана подробно и в пълнота. Резултатите са обобщени в подходящо оформени таблици и илюстрирани с информативни фигури. Изложението на резултатите и дискусията към тях позволява да се проследят етапите на разработването на аналитичните методи, направените изводи са подкрепени от експериментални данни, сравнени са аналитичните характеристики на разработените методи със съществуващите в литературата.

Получени са следните по-важни резултати:

1. Създадена е 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. Разработената система позволява намаляване на продуктното инхибиране на ензима. В резултат се увеличава стабилността на ензимния модул – 98 % запазена активност за 100 работни часа.

2. Разработен е поточно-инжекционен метод с амперометрична детекция за определяне на лактат в биологични течности без предварително разделяне с подобрена селективност и ефективност на ензимния електрод. Чрез оптимизиране на състава на потока-носител, включване на някои нискомолекулни електроактивни матрични компоненти в стандартните калибрационни разтвори на лактат и използваната комбинация от ензимен биореактор и ензимна мембрана е постигнато повишаване на точността на анализа.

3. Конструирана е триканална поточно-инжекционна система с биореактор за ензимно окисление на лактат или глюкоза и с модул за химична реакция с фотометричен реактив за спектрофотометрична детекция на генерирания след ензимната реакция H_2O_2 . Получените резултати показват, че определянето на водороден пероксид под формата на комплекс с Ti(IV) може успешно да се адаптира за поточно - инжекционен анализ със спектрофотометрична детекция.

4. 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. Методът се характеризира с добра точност и прецизност (2-3 %), висока скорост на анализа 90-120 проби на час и добра селективност (аналитичен добив в присъствие на пречещи компоненти 90-104%).

Резултатите са докладвани на 3 научни форума и в три научни публикации. Две от публикациите представят разработените поточно-инжекционни ензимни методи за определяне на лактат и глюкоза, а третата е обзор върху съвременните постижения в областта на разработването на биосензори за лактат и глюкоза и тяхното включване в системи за поточно-инжекционен анализ. Публикациите са в специализираното научно списание Journal of Chemical

Technology and Metallurgy (SJR₂₀₀₈₋₂₀₁₅=0.19). Публикациите отразяват пълно резултатите, представени в дисертационния труд.

Авторефератът отразява напълно представения дисертационен труд.

Познавам дисертантката от 2000 г., когато постъпих като асистент в катедрата. Съръководител съм на дисертационния ѝ труд от 2015г.. За съвместната ни работа мога да споделя отлични впечатления относно нейната подготовка в областта на аналитичната химия, преподавателския ѝ подход и коректно отношение към студенти и колеги. Имам отлични впечатления и от представянето ѝ на изпита по специалността, както и при подготовката, представянето и дискусията на дисертационния труд.

В заключение смятам, че дисертационният труд на ас. инж. Анна Маринова е посветен на актуален за аналитичната практика проблем и получените резултати имат научно-приложен характер. Представените материали и резултати напълно съответстват на специфичните изисквания в Правилника на ХТМУ за приложение на ЗРАСРБ.

С увереност препоръчвам на членовете на научното жури да гласуват положително присъждането на образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност 4.2 Химически науки (Аналитична химия) на ас. инж. Анна Йорданова Маринова .

08.02.2017 г.

гр. София

доц. д-р инж. Андриана Сурлева