

СТАНОВИЩЕ

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

Изготвил становище: проф. д-н Цонка Иванова Годжевъргова

Поради нарастващата необходимост от повишаване на качеството и безопасността на храните и опазване на околната среда е наложително разработването на модерни и бързи методи с висока чувствителност и селективност за количествено определяне на пестициди в храни и води. В последните десетилетия органохлорните инсектициди постепенно се изместват от органофосфорните инсектициди и от инсектициди, производни на карбамиловата киселина, които сравнително лесно се разграждат в околната среда, но и крият сериозен риск заради високата си токсичност. По същество те са инхибитори на холинестеразните ензими, които участват в съкращаването на мускулните влакна и в пренасянето на импулсите в нервната система и водят до тежки заболявания на човешкия организъм – Паркинсон, Ауцхаймер и др. Основните рискове за човека присъстват както в професионален план (при промишленото производство на пестициди или използването им в селското стопанство), така и в непрофесионален (при домашна употреба, при замърсяване на храни и питейни водоизточници).

За определяне на ниски концентрации от пестициди в аналитичните лаборатории се използват газхроматографски-масспектрометричен метод, високоефективна течна хроматография и др. Тези методи са много подходящи за мониторинг на токсичните пестициди, но са скъпи, отнемат много време, изискват добре обучен персонал и не са адаптирани за провеждане на анализа на място и в реално време. Като алтернатива на трудоемките и скъпи инструментални методи, използвани за количествено определяне на пестициди се наложиха електрохимичните и оптични методи с използването на ензимни биосензори.

Настоящият дисертационен труд третира един много актуален проблем както в научно, така и в научно-приложно отношение, а именно разработването и валидиране на метод за анализ на различни групи пестициди в храни от животински произход чрез оптичен биосензор и чрез хроматографски методи. При конструирането на биосензора е имобилизирана AChE, като целеви ензим, върху новосинтезирани мембрани, получени по зол-гелен метод. Разработени са и хроматографски методи-HPLC-FL за N-метилкарбаматите и GC-MS за ФОС и ХОП за да се

направи потвърждение, сравнение и валидиране на резултатите от новоконструирания биосензор.

Оптичните сензори притежават предимства като компактност, гъвкавост и устойчивост на електрически шум. Те не се нуждаят от сравнителен електрод и имат възможността за конструиране в много малки размери, благодарение на оптичните влакна, което прави тези сензори подходящи за изграждане на преносими устройства и провеждане на скрининг анализи на реално място.

В структурно отношение дисертационния труд е оформен добре и е разработен съобразно действащите в момента изисквания и съответства като обем, и като самостоятелно обособени раздели. Общият обем обхваща 136 стр. В дисертацията има ясно и добре оформени 30 таблици и 44 фигури, които правилно и точно отразяват експерименталните данни.

В литературния обзор са разгледани подробно всички въпроси свързани с експерименталната част на докторантката. Те са подредени в логична последователно. Първо е обърнато внимание на по общи въпроси относно Европейско законодателство за безопасност на храните; класификацията и токсикологията на пестицидите, принцип на действие на пестицидите, а след това е отделено специално внимание на структура и механизъм на действие на ацетилхолинестеразата, на механизма на инхибиране и възстановяване на ензима и на съвременните аналитични техники за анализ на остатъци от пестициди в храните. От разработения литературен обзор се вижда, че докторантката познава много добре състоянието на проблема, който разработва в дисертационния труд и е представила компетентно всички литературни материали в нейната научно-изследователска област.

В експерименталната част са описани методиките, използвани от докторантката в нейния дисертационен труд. Те са подходящи и правилно подбрани. Приложени са адекватни методи за обработка и анализ на резултатите. Макар и малко на брой в някои методики има неточности като имобилизатор, запречващи ефекти, технически пропуски като наличие едновременно на об/мин и gpm, наименования на реактиви оставени на английски език, 0,05 - обем ChO, граница на докладване, вместо граница на откриваемост и др. Експерименталните постановки не пораждат съмнение, тъй като са изпипани до най-малките подробности. Докторантката умело е разработила и съчетала прилагането на необходимите съвременни методи за анализ като високоефективна течна хроматография, газ-мас хроматография за валидиране и сравнение с метода с оптичен биосензор.

Приносите на дисертационния труд могат да се обобщят по следния начин:

1. Конструиран е оптичен биосензор с имобилизирана AChE за определяне на пестициди
2. Разработен е и е валидиран скрининг метод за определяне на пестициди в проби от черен дроб на основата на конструирания биосензор.
3. Разработен е и е валидиран хроматографски метод за определяне на N-метил кабамати в черен дроб чрез HPLC-FL.
4. Разработен е и е валидиран хроматографски метод за определяне на фосфорорганични съединения в черен дроб чрез GC-MS/MS-IT.
5. Направено е потвърждение и сравнение на скрининг метода с хроматографските методи.
6. Предложена е методика за бърза оценка на качеството на анализа с биосензор, подходяща за рутинната лабораторна практика.

Информацията за получените резултати в дисертационния труд е убедително изнесена и заслужава висока оценка. Изнесените данни се съпътстват от задълбочена дискусия и прецизна статистическа обработка. Резултатите са онагледени с качествени графики. Извършена е голяма по обем работа. Считаю, че някои от изводите са много общо формулирани и биха били по убедителни с включването на конкретни данни. Проведените изследвания намират решение на поставените задачи и целта на дисертацията е постигната. Разработен е чувствителен скрининг метод, чийто внедряване в практиката би намалило чувствително разходите на лабораториите за анализ на храни. В практиката повече от 80% от пробите са отрицателни, поради което интересът към подобен бърз, евтин и в същото време с достатъчно добри аналитични параметри метод, постоянно нараства. Работните стъпки на разработения метод са много по-малко, което прави боравенето с пробите значително по-лесно и не изисква високо квалифициран персонал, който да е специално обучен за работа със специфичните и скъпо струващи инструментални методи. В лабораториите за контрол на храни задължително трябва да има и валидиран потвърдителен метод, тъй като при резултати от биосензора над ПДК, пробата трябва да бъде повторно анализирана чрез потвърдителен хроматографски метод, за да се определят точните концентрации на всеки отделен аналит.

Като цяло нивото на представената дисертация като научен стил и словесна формулировка считам, че е много добро. Имам следните въпроси и препоръки:

1. Добре би било, ако докторантката бе представила информация за количеството активни групи на носителите и бе проследила тяхното влияние върху изместването на рН оптимума на отделните имобилизирани ензими спрямо свободните ензими.

2. Оптимизирани ли са количествата на трите ензима при имобилизацията им, защото прави впечатление, че има голяма разлика в използваните изходни концентрации?

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 3 публикации. Две от тях са с импакт фактор. Статиите са в съавторство, като в 2 статии докторантката е на първо място, а в третата на второ място. Част от материалите включени в дисертационния труд са докладвани на 10 научни конференция и това показва едно много добро популяризиране на научните и резултати.

Представеният автореферат отразява правилно и точно съдържанието на дисертацията.

Заклучение

В дисертационния труд на инж. Искра Иванова Стойкова се разглеждат актуални теоретични и практични въпроси. Дисертационния труд е на високо научно ниво. Считам, че е изпълнена не само научната, но и образователната задача при разработването му. Публикуваните материали във връзка с дисертацията отговарят на наукометричните изисквания и покриват изискванията за придобиване на образователната и научна степен "Доктор" съгласно ЗРАСРБ, Правилника за прилагането му и на Правилника на ХТМУ.

Въз основа на направения анализ давам положителна оценка на разработения дисертационен труд и считам за основателно да предложа инж. Искра Иванова Стойкова да придобие образователната и научна степен „доктор“ по научна специалност 4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества).

Дата: 24.11. 2016г.

Изготвил становището:


/проф. д-р Ц. Годжевъргова/