

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Илия Николов Илиев,

катедра „Биохимия и микробиология“ при ПУ „Паисий Хилендарски“ – Пловдив

Относно: дисертационен труд на тема „Получаване, пречистване и характеристика на микробни хитинази“ представен от докторант инж. Юрий Михайлов Стойков към департамент „Приложна микробиология“ на Института по Микробиология на БАН „Стефан Ангелов“ за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ по професионално направление по област на висше образование 5. Технически науки; професионално направление 5.11. Биотехнологии (Докторска програма „Технология на биологично активните вещества“).

Получени материали: Дисертация, автореферат, списък с публикации по дисертацията, папка с материали, описани в заявление на докторанта в 13 позиции, CD с материали по дисертацията.

Със заповед № I - 19/05.02.2018 г. на Директора на Института по Микробиология на БАН „Стефан Ангелов“ съм определен за член на научно жури за защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ от докторант инж. Юрий Михайлов Стойков на тема „**Получаване, пречистване и характеристика на микробни хитинази**“. Експерименталната работа по дисертационния труд е проведена основно в лаборатория по приложни биотехнологии на департамента „Приложна микробиология“ към Института по Микробиология на БАН „Стефан Ангелов“.

Представяне на докторанта

Инженер Юрий Михайлов Стойков е зачислен като редовен докторант със заповед на № I 20/03.02.2012г. към департамента „Приложна микробиология“ към Института по Микробиология на БАН „Стефан Ангелов“.

Юрий Стойков получава диплома за висше образование № 177522 от 2011 г. след успешно преминаване на пълния курс на обучение по специалност биотехнологии на УХТ - Пловдив с професионална квалификация магистър – инженер. От февруари 2012г. е зачислен за редовен докторант в Института по Микробиология

на БАН, а от месец май 2015г. и в момента работи в „Биовет“ АД - Разград, като последователно заема различни длъжности – технолог, технолог ОУП. Има успешен стаж в областта на биотехнологиите в IASP - Берлин, Германия.

Актуалност и значимост на темата на дисертацията

Според доклад на Организацията за Икономическо Коопериране и Развитие (OECD) до 2030 година над 40% от световната икономика ще бъде резултат на биотехнологиите. Биотехнологичната индустрия предлага решения на много здравословни проблеми, както и на проблемите с недостига на суровини. Важен дял в биотехнологичната индустрия е производството на ензими, като пазарният дял на ензимите за 2015 година е 4 билиона долара. В индустриален план биокаталитичните процеси изискват ензими с висока активност, термостабилност, устойчивост на органични разтворители и устойчивост на високи концентрации на субстрат. Приложението на ензимите в различните области на индустрията (фармацевтична, химическа, хранителна, агроиндустрия и други) се намира на различен етап на развитие.

Предлаганата дисертационна работа е по актуална тематика в областта на получаване на ензимен препарат на хитиназа. Липсата на ензимни препарати от хитиназа на пазара подсказва за недостатъчен напредък на научните и технологичните изследвания за промишлено получаване на хитинази. От друга страна субстрат на хитиназата е един от най-разпространените полизахариди на нашата планета – хитин. Приложението на хитиназите непрекъснато се разширява като се простира от препарати за биоконтрол и се стигне до специфични фармацевтични продукти и хранителни добавки (олигозахариди с антимикробни свойства).

Анализ на дисертационния труд

Дисертацията е оформена по стандартен за България модел, написана е на 166 стандартни машинописни страници и съдържа следните основни глави: Съдържание – 6 стр., Използвани съкращения – 2 стр., Въведение – 1 стр., Литературен обзор – 22 стр., Цел и задачи – 2 стр., Материали и методи – 22 стр., Резултати и обсъждане – 85 стр., Заключение – 4 стр., Изводи – 2 стр., Приноси – 1 стр., Литература – 12 стр., Публикации, свързани с дисертацията – 1 стр. Литературният преглед и резултатите са удачно онагледени с 75 фигури и 29 таблици. Докторант Юрий Стойков е използвал достатъчно голям брой литературни източници общо 178 на латиница, над 50% от които са след 2010г.

Литературният обзор е написан конкретно по темата на дисертацията и фокусира вниманието ни върху микробни източници на хитинази, механизъм на действие, структура, основните етапи на биотехнологичното им получаване и тяхното приложение. Той е онагледен с 8 фигури и 3 таблици. В резултат на направения литературен обзор, авторът на дисертацията ясно формулира целта на изследването, която включва подбор, оптимизиране условията на култивиране и сравнителен анализ на продуцентите на хитинази. Постигането на целта изисква решаването на множество разнообразни задачи, които докторантът е формулирал в осем точки.

В раздел „Материали и методи” са описани прецизно основните методи, които са прилагани при изпълнението на поставените задачи в дисертацията. Мащабността на заложения експеримент при разработването на дисертационния труд изисква прилагането на голям брой както класически, така и съвременни микробиологични, биотехнологични, химични, биохимични и ензимологични методи, които докторантът е усвоил. Трябва специално да се отбележи прилагането на биотехнологични методи с използване на биореактор и разработването на серия от методи за определяне активността на хитиназата. Всичко това е основание да се счита че Юрий Стойков е придобил необходимия методичен опит при извеждане на научен експеримент в областта на биотехнологиите и да извежда експериментална работа по създаване на технологии за получаване на ензимни препарати.

Резултатите от направените изследвания са представени детайлно в раздел „Резултати и обсъждане” като са разделени в шест отделни точки и онагледени с 26 таблици и 67 фигури. Докторантът стартира със скрининг на бактериални и плесенни щам-продуценти на хитинази, след което идентифицира перспективните щамове. Една основна част от дисертацията третира оптимизирането състава на хранителната среда и условията на култивиране. Инж. Стойков подробно се занимава с оптимизиране на условията за изолиране и пречистване на получената хитиназа, като прилага и оптимизирани хроматографски методи – молекулно-ситова и йонообменна хроматографии и постига висока степен на чистота на ензима след йонообменна хроматография и доказва наличието на една ивица при SDS-PAGE с молекулна маса около 70 кДа. В шеста глава докторантът охарактеризира основните параметри на пречистения ензим. Особено важни както от научна така и от технологична гледна точка са експериментите за установяване на субстратната специфичност и определяне на екзо- и ендохитиназната активност. Авторът завършва с експерименти за приложение на получената хитиназа като антиплесенен препарат.

Всички резултати са представени и дискутирани в отделните глави от раздела „Резултати и обсъждане”, които логично следват хода на решаването на поставените задачи. Необходимо е да се отбележи факта, че докторантът представя много оригинални данни от направеното проучване на основата на които може да се изработи технологична схема за получаване на хитиназа в промишлени условия.

В резултат на проучването докторантът е формулирал 8 извода, които по принцип следват хода на изследването и решаването на задачите.

Инж. Юрий Стойков има два оригинални приноса според мен:

- 1 Скриниране и идентифициране на няколко щам-продуцента на хитиназа, с потенциал за промишлено приложение.
- 2 Разработване и оптимизиране на методи за хитиназна активност, които да охарактеризират типа на хитиназите и перспективите на приложението им.

Автореферат и публикации

Дисертацията е написана на ясен и стегнат научен език. Авторефератът отговаря напълно на целите, задачите и постигнатите резултати в дисертационния труд.

Резултатите от дисертацията са публикувани в три научни публикации, в две от които докторантът е първи автор. Една от публикациите е в списания с импакт фактор. Резултатите от дисертацията са представени и на 3 научни форума, 2 от които са международни.

Въпроси, забележки и препоръки

Към докторатът имам следните въпроси:

1. Изследвани ли са хитиназните препарати за съпътстващи ензимни активности?
2. В резултат на вашите експерименти по пречистването на ензимите, възможно ли е опростяване на схемата на пречистване с цел промишлено приложение, така че да се получи препарат с достатъчна чистота и висока ендохитиназна активност, за да се прилага за получаване на хитоолигозахариди?

Към докторантът имам следната препоръка:

1. При бъдещи разработки да отделя по-голямо внимание на техническото оформяне на документите.

Заключение:

Оценката ми за дисертационния труд, автореферата, научните публикации и научните приноси на докторант инж. Юрий Михайлов Стойков е напълно положителна. Бих искал да искажа своето задоволство от представената дисертация, която напълно покрива изискванията за научно изследване в областта на биотехнологиите с акцент приложение в практиката. Достойнствата на работата са – на първо място една мащабна по размер изследователска работа, надхвърляща значително необходимия минимум за една дисертация, съдържаща огромно количество резултати, правилно интерпретирани и обобщени.

Представената дисертация напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото прилагане. Постигнатите резултати ми дават основание да предложа на научното жури да бъде присъдена образователна и научна степен „доктор” на **инж. Юрий Михайлов Стойков** по професионално направление по област на висше образование 5. Технически науки; професионално направление 5.11. Биотехнологии (Докторска програма „Технология на биологично активните вещества).

28.03.2018г.

Изготвил:

Пловдив

(проф. д-р Илия Илиев)