

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р. Стефка Любова Атанасова, катедра „Биохимия, Микробиология и Физика“,
Тракийски Университет, Стара Загора

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'
в област на висше образование: **4. Природни науки, математика и информатика.**

професионално направление: **4.1. Физически науки**

докторска програма: **Електрични, магнитни и оптични свойства на кондензираната ма-
терия**

Автор: ВАЛЕНТИН ГАНЧЕВ КАБАДЖОВ

**Тема: ОПТИЧНИ МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ НА СТРУКТУРНИТЕ ИЗМЕНЕ-
НИЯ НА БЕЛТЪЦИ В ПОЛИДИСПЕРСНИ СИСТЕМИ**

Научен ръководител: доц. д-р Тодорка Лулчева Димитрова, Пловдивски университет
"Паисий Хилендарски".

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № Р33 -1604 от 17.04.2018 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема ОПТИЧНИ МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ НА СТРУКТУРНИТЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА БЕЛТЪЦИ В ПОЛИДИСПЕРСНИ СИСТЕМИ за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.1. Физически науки, докторска програма „Електрични, магнитни и оптични свойства на кондензираната материя“. Автор на дисертационния труд е ВАЛЕНТИН ГАНЧЕВ КАБАДЖОВ – докторант в редовна форма на обучение към катедра „Физика“ с научен ръководител доц. д-р Тодорка Лулчева Димитрова от Пловдивския университет "Паисий Хилендарски".

Представеният от ВАЛЕНТИН ГАНЧЕВ КАБАДЖОВ комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ, включва всички необходими документи.

Докторантът е приложил 3 научни публикации, от които една в реферирано списание с импакт фактор, една в научни трудове на Пловдивския Университет и една в сборник от международна научно-практическа конференция.

2. Кратки биографични данни за докторанта

ВАЛЕНТИН ГАНЧЕВ КАБАДЖОВ е роден на 21.03.1961 г. Той е завършил Харковския национален университет през 1988 г като магистър по физика по специалност „Радиофизика и електроника“. През 2008 г. завършва и магистратура по биофизика в Софийския Университет.

Работил е в Научно-изследователски институт по оптика и лазерна техника, Пловдив, Завод за лазерна техника ОПТЕЛА АД, Пловдив, Аграрен Университет, Пловдив и от 2012 до момента е асистент по биофизика в ПУ „Паисий Хилендарски“.

Зачислен е в докторантура от 1.03. 2014 г. и е отчислен е с право на защита на 1. 03. 2018 г.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Целта на научните изследванията, представени в дисертационния труд, е разработване на оптичен метод за проследяване на процесите на структурни изменения на млечните белтъци по време на ензимна коагулация. Млякото е много сложна полидисперсна система. Съставът и свойствата му зависят от много фактори – вид животно, генетични особености, етап на лактация, болести, хранене, и др. Класическите методи за изследване са сложни, трудоемки, деструктивни и изискващи висококвалифицирани специалисти. Повечето изследвания на процесите на коагулация на мляко се фокусират върху определяне на технологични параметри като твърдост на коагулума и др., без акцент върху протичащите физични и физико-химични процеси. Разработването на бързи и недеструктивни спектрални методи и влакнесто-оптично устройство за изследване на физичната същност на процеса на коагулация на млечни белтъци е много актуално и има както теоретично, така и практическо значение и приложение.

За реализирането на тази цел са поставени 4 конкретни задачи. Тези задачи обхващат необходимите етапи от разработването на планираното влакнесто-оптично устройство - избор на метод и спектрален диапазон, разработване на устройство, измервания на процесите на коагулация и сравнение с други експериментални методи за сравнение и потвърждаване на получените резултати.

4. Познаване на проблема

Направеното изложение и анализ в докторската дисертация показва, че докторантът добре познава състоянието на проблема. Представени са структурата и свойствата на протеините, влиянието на различни фактори върху разтворимостта и денатурацията им. Разгледано е млякото като колоидно-дисперсна система и видовете коагулация на млечните белтъци. Показано е детайлно познаване на различните методи за изследване с акцент върху оптичните и спектрални методи.

В дисертацията са използвани 216 литературни източници, главно книги и статии на утвърдени научни издателства, като повечето от тях са публикувани след 2000 година.

5. Методика на изследването

Избраните методики на изследване позволяват да се постигнат поставените цели и получаване на адекватен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд. Използвана е оптична микроскопия, флуоресцентна микроскопия, атомно-силова микроскопия, оптична, флуоресцентна и Раманова спектроскопия, топлинна денатурация и др.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертацията е написана на 152 стр. и организирана в увод, цел и задачи, 4 глави, заключение, изводи, справка за научните приноси, литература, участие в научни форуми, публикации и забелязани цитати. Илюстрацията на получените резултати с графики и фигури е много добра - представени са 52 фигури и 17 таблици.

В *първата глава* са представени структурата и свойствата на протеините, оптичните им свойства, подвижност в електрично поле, влияние на различни фактори върху разтворимостта и денатурацията им. Детайлно е разгледано млякото като колоидно-дисперсна система химичен състав, протеинови компоненти, видовете коагулация на млечните белтъци и етапите на протичане, и методите за проследяване на млечната коагулация.

Във *втората глава* са разгледани оптичните и спектрални методи за изследване на протеини в полидисперсни системи. Представени са оптичните свойства на такива системи и процесите на поглъщане и разсейване. Разгледани са различните видове микроскопски методи – светлинна, поляризационна, флуоресцентна, лазерна сканираща конфокална и мултифотонна, атомно-силова и електронна микроскопия, като е акцентирано върху предимствата и недостатъците на тези методи. Представени са и рефрактометрията и спектралните методи за изследване- Абсорбционна спектроскопия, Турбидиметрия и нефелометрия, Инфрачервена спектроскопия, Раманова спектроскопия, Флуоресцентна спектроскопия и Фотон-корелационна спектроскопия (динамично разсейване на светлината).

В *трета глава* са представени анализирани проби мляко, методите за изследване и методиките на провеждане на експериментите, както и лабораториите, в които са провеждани експериментите и измерванията с Раманова спектроскопия, Флуоресцентна спектроскопия, Атомно-силова микроскопия (AFM) и Диференциална сканираща калориметрия (ДСК). Описано е конструираното и разработено от докторанта влакнесто-оптично измервателно устройство за турбидиметрично проследяване на структурните изменения и кинетиката на агрегация на млечните белтъци при различни видове коагулация и денатурация. Представен е и софтуерът, използван за статистическа обработка на експерименталните резултати.

В четвърта глава са представени и анализирани експерименталните резултати. Изследвана е кинетиката на ензимна коагулация на млечни белтъци чрез измерване на привидното поглъщане на лъчението в диапазона от 350 nm до 1050 nm в експерименталните проби мляко в зависимост от концентрацията на коагулиращия ензим: Установена е максималната стойност на привидното поглъщане от диспергирани в разтвора млечни белтъци по време на превръщането на емулсията в гел под действието на коагулиращ ензим и CaCl_2 , скоростта на протичане на ензимната реакция, както и константата на скоростта на протичане на ензимната реакция за различните концентрации на млечен белтък. Изчислени са първа и втора производни на привидното поглъщане като функция от времето. На база на корелацията между реално измерените и предсказани стойности на привидното поглъщане по време на ензимна коагулация са дефинирани най-информативните дължини на вълните, които възможно най-точно биха описали процесите, протичащи в млечно-протеиновите дисперсни среди и настъпващите структурни промени в тях по време на ензимна коагулация.

Представени са резултатите от изследвания на топлинната денатурация на млечните белтъци чрез оптичен и термокалориметричен метод. Анализирани са калориметричният профил на изследваните млечни образци. Установени са корелиращи промени на абсорбцията и на ендотермичните пикове по време на топлинната денатурация на млечните белтъци.

За химична денатурация на млечните белтъци е използвана урея в различна концентрация. Процесът е проследен чрез измерване на привидната абсорбция, пресметнати са кинетичните параметри и са определени най-информативните дължини на вълните.

Получени са раманови спектри на млечни протеини при топлинна денатурация и при химична денатурацията на алкален разтвор на пречистен казеин и са анализирани структурните изменения в тях по време на денатурацията.

Изследвани са структурните изменения на млечни протеини с помощта на флуоресцентна спектроскопия при термо-денатурация, промяна на рН на средата и ензимна хидролиза на млечните протеини и са анализирани получените спектри. С флуоресцентна микроскопия е изследвана промяната на структурата на белтъчната полидисперсна среда през различните етапи на протичане на ензимна коагулация, определена е топографията, вида на повърхността на формираният се куагулум, диаметъра, височината и формата на белтъчните частици в образеца. Извършен е анализ на топографските изображения.

Представени са резултати от визуализация и регистрация на млечни белтъчни агрегати чрез атомно-силовата микроскопия.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Основните приноси на дисертационния труд са значими за науката и за практиката. Те имат научно-приложен характер:

- Проектирано, конструирано и разработено е влакнесто-оптично измервателно устройство, с помощта на което са проведени изследванията. Много интересна е идеята за вграждане на оптично влакно за измерване на разсеяното лъчение. Това устройство би могло да се използва в бъдеще и за други измервания на течни и полидисперсни проби с цел количествени определяния на състава, кинетични изследвания или класификация.

- Определени са най-информативните дължини на вълната във VIS-SWNIR диапазон за описване на кривата на коагулация.

- Установена е пропорционална зависимост между мътноста на разтвора и количеството агрегирал млечен белтък.

- Изследвано е влиянието на различни фактори като температура, рН, концентрация на коагулиращ ензим и CaCl_2 върху структурните изменения на млечни белтъци по време на ензимна коагулация, термо- и химична денатурация.

- Разработена е методика за определяне размера на белтъчните частици в силно разредени протеинови разтвори, подчиняващи се на теорията на Релей ($r \leq \lambda$) на примера на натурално прясно мляко. Тази методика е използвана при обработка на емпиричните резултати от флуоресцентната и атомно-силова микроскопия.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Публикациите, които отразяват резултатите на дисертацията, са 3 на брой. Една от статиите е в българско списание с импакт фактор, в която са представени изследвания във връзка с влиянието на мазнините върху разсейването и флуоресцентния спектър на мляко. Втората статия е самостоятелна, публикувана в научни трудове на Пловдивския Университет, представляваща обзор на различните методи за анализ на мляко и за проследяване на процесите на коагулация. Третата статия, на която дисертантът е първи автор, е публикувана на английски език в сборник от международна научно-практическа конференция. Тя е свързана с определяне на размерите на казеиновите мицели чрез турбидиметрични методи. Освен това резултатите от изследванията са докладвани на 5 международни конференции и 3 научни семинари. Част от представените резултати в дисертацията не са публикувани и се надявам дисертантът да подготви публикации във водещи списания в областта. Забелязани са две цитирания, едно свързано и едно от чужд автор, което е особено престижно..

9. Лично участие на докторанта

Докторантът е извършил голяма експериментална работа, при която е използвал много съвременни методи и е направил обработка на получените резултати. Сам е конструирал влакнесто-оптично устройство за изследване на процеса на коагулация на млечни белтъци. Коректно са описани експерименталните резултати. Безспорно е познанието на използваните методи и техните теоретични основи. Докторантът е придобил практически знания и умения за провеждане на научен експеримент и анализ на получените резултати. Считаю, че личното участие на докторанта в изготвяне на дисертационния труд е основно.

10. Автореферат

Авторефератът отговаря на съдържанието на дисертационния труд и включва най-съществените резултати, илюстрирани с подходящи графики, схеми и снимки. Той е изработен според изискванията на съответните правилници и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията

11. Критични забележки и препоръки

Имам някои забележки към работата и въпроси. Използваното пълномаслено сурово краве мляко има много голяма масленост, която не е типична стойност за краве мляко. Това води до големи разлики в резултатите за обезмаслено и пълномаслено мляко, които не са обяснени в текста. Спектрите на поглъщане и на пропускане на изследваните видове млека при различна концентрация на коагулиращия ензим, представени на Фиг. 3.2, 3.3 и 3.4 е по-добре да се представят в глава 4 – резултати и дискусия. В Таблица 7.- основни физико-химични показатели на изследваните образци в колоната Гранични Стойности за съдържанието на мазнини има стойност 210. Вероятно би трябвало да е 2-10. В справката за научните приноси е написано „За първи път е направен комплексен анализ на структурните изменения на белтъците на различни видове млека с различна концентрация на млечния белтък с различни оптични методи“. Обикновено под различни видове млека се разбира мляко от различни видове животни, а в изследването се работи с краве мляко.

Правени ли са измервания с оптичното влакно за измерване на разсеяното лъчение в конструираното влакнесто-оптично измервателно устройство?

Как се обяснява разликата в зависимостта на скоростта на агрегация на млечните белтъци и втората производна на спектъра на привидното поглъщане на изследваните проби от времето за протичане на кинетичната реакция (фиг. 4.4 и 4.5) между производните на привидното поглъщане на 350 nm и на останалите дължини на вълните?

12. Лични впечатления

Моите впечатления от контактите ми с докторанта са за компетентен специалист в широк кръг оптични и спектрални методи за изследване.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Разработеното влакнесто-оптично измервателно устройство би могло да се използва в бъдеще и за други измервания на течни полидисперсни проби с цел количествени определяния на състава, кинетични изследвания или класификация.

Изследванията биха могли да се продължат, като разработените методики се използват и при анализиране на мляко от различни видове животни и на разликите между коагулацията на мляко от здрави и болни животни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания на Физико-технологичния факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантът Валентин Ганчев Кабаджов **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения, като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на Валентин Ганчев Кабаджов в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.1 Физически науки, докторска програма: Електрични, магнитни и оптични свойства на кондензираната материя.

31.05. 2018 г.

Рецензент:

Доц. д-р. Стефка Атанасова