

СТАНОВИЩЕ

От: **проф. Искра Витанова Иванова, дбн**

Със заповед № РД-22-1277 от 27.05.2025 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури.

Относно: оценка на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“

Област на ВО: **4. Природни науки, математика и информатика**

Професионално направление: **4.3. Биологически науки;**

Докторска програма: **Биохимия**

А

АНГЕЛ ИЛИЕВ ПЕШКОВ

т

заглавие на дисертационния труд:

ИЗСЛЕДВАНЕ СВОЙСТВАТА НА ОКСИДОРЕДУКТАЗИ, ИМОБИЛИЗИРАНИ В БИОСЪВМЕСТИМИ МАТРИЦИ

н

Научни ръководители:

Проф. д-р Илия Николов Илиев

Доц. д-р Нина Димитрова Димчева

и

с

е

р

т

а

ц

и

о

в

с

и

я

о

к

с

и

д

е

н

и

и

и

и

и

и

и

и

и

и

и

и

и

1. АКТУАЛНОСТ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТВАНИЯ ПРОБЛЕМ

Наличието на тези замърсители в околната среда и водоизточниците, засяга всички живи организми и нарушава екологичното равновесие и отстраняването им е сериозно предизвикателство. Употребата на ензими в процесите на детекция на токсични вещества са важна част от съвременните биотехнологични процеси за пречистване на околната среда. Разработването на практически биокаталитични приложения на оксидоредуктазите е важна цел в биотехнологиите. В процесите на детоксикация, широко се използват оксидоредуктазите лакказа и каталаза. Лакказата и каталазата са ензими, които играят значителна роля в биосензорната технология поради техните каталитични свойства и потенциал за специфични взаимодействия със субстрати. Перспективността на използването на каталаза и лакказа при конструиране на биосензори с множество приложения предполага научните изследвания за разработване на нови методи за имобилизиране на ензимите и включването им в нови биосензори.

Всичко това ми дава основание да оценя като актуална представената научна разработка, с потенциал за научни постижения, които да имат бърза практическа реализация. Перспективността на използването на каталаза и лакказа при конструиране на биосензори с множество приложения предполага научните изследвания за разработване на нови методи за имобилизиране на ензимите и включването им в нови биосензори.

Двата ензима допринасят за разработването на чувствителни, специфични и щадящи околната среда биосензори за приложения в мониторинга на околната среда, здравната диагностика, безопасността на храните и биоелектрониката.

2. ОБЕМ И СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИЯТА

Дисертацията е изложена на 137 стандартни страници текст. Спазена е общоприетата схема и препоръчителните съотношения между отделните части на труда, както следва: *Въведение* – 2 стр.; *Литературен обзор* – 31 стр.; *Цел и задачи* – 1 стр.; *Материали и методи* – 16стр.; *Резултати и обсъждане* – 45 стр.; *Изводи* 2 стр. Получените резултати са илюстрирани с 28 фигури , 14таблицы.1 схема и 238 литературни източника.

3. ЛИТЕРАТУРНА ОСВЕДОМЕНОСТ И ПОСТАНОВКА НА ЦЕЛТА И ЗАДАЧИТЕ

Настоящата дисертация е комплексна и предполага добро познаване на литературните източници и методите за решаването ѝ. Докторантът е направил обстоен преглед на постиженията на други изследователи, които е успял да предаде и анализира върху 31 страници в литературния обзор. Обзорът представя детайлно състоянието на проблема и доказва необходимостта от разработването на дисертационната теза. Литературният обзор се състои от три раздела Авторът последователно разглежда и оксидоредуктазите каталаза и лаккаса, техните свойства, структура, класификация, както и приложението им в хранително-вкусовата промишленост, във фармацевтичната индустрия-вкусовата и в биоремедиацията. Представени са данни за имобилизиране на каталаза и лакказа, като ковалентно имобилизиране, имобилизиране чрез омрежване адсорбция и капсулиране на изучаваните ензими. В третия раздел от литературния обзор авторът разглежда информацията за биосензори на базата каталаза и лакказа и тяхното

значение в биоремедиацията, хранително-вкусовата промишленост и в конструирането на биосензори.

Литературният обзор е конкретен, структуриран е правилно, следва логическата обвързаност на информацията. Данните от справката са послужили за ясното и правилно определяне не само на целта, но и за формулировката на задачите. Поставени са за решаване добре обосновани 5 експериментални задачи.

Литературата (както в обзора, така и в целия труд) е тясно свързана с темата на дисертационния труд. Литературният списък включва внушителния брой от заглавия на латиница. Те са основно от последните години. Това говори за отлична теоретична осведоменост на докторантката и с цел намиране на ново научно предизвикателство.

4. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящата дисертация е да се изследва капацитета на ензимите каталаза и лакказа, получени от различни източници за включване в биосензори за провеждане каталитични реакции в условия на хетерогенна биокатализа и в присъствие на органични разтворители.

5. ОЦЕНКА НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ МЕТОДИ И МАТЕРИАЛИ

Разделът "Материали и методи" демонстрира внушителен набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експериментите. Те са съвременни и адекватни за реализацията на дисертационния труд. Описани са точно и подробно, като изцяло покриват многостранните области на работата: от класическите до модерните изследвания. Биохимични методи включват извличане, концентриране, пречистване и сушене на ензима каталаза *Pen. Chrysogenum* и определяне ензимната активност от различни източници в хомогенна и хетерогенна среда. Определянето на лакказа от различни източници е проведено чрез спектрофотометричен метод в присъствие на органични разтворители. Използвани са Трис-глицинова SDS-полиакриламидна гел електрофореза (SDS-PAGE) и Трис-глицинова нативна-полиакриламидна гел електрофореза (Native-PAGE). От електрохимични методи са използвани модифицирани електродни материали. Проведена е имобилизация на ензим каталаза върху стъклени подложки, електроприсаждане на ензим каталаза върху златен електрод и ковалентно имобилизиране на каталазата върху електрохимично модифицираният златен електрод и

електрохимично характеризиране на модифицираните стъкловъглеродни или златни електроди. В разработката е използвана сканираща електронна микроскопия.

Всички това ми позволява да дам висока оценка на научното ниво и на отличната подготовка, която успява правилно да съчетае многообразие от класически със съвременни методи за целите на дисертацията, успешно решавайки поставените експериментални задачи.

6. ОЦЕНКА НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Раздел „Резултати и обсъждане“ е добре структуриран, подкрепен с табличен и графичен материал, с подходяща интерпретация на получени резултати от чужди научни колективи. Авторът последователно представя доказателствен материал по своята научна теза, като по този начин логически финализира експериментална работа. Извършена е голяма по обем и разнообразна експериментална работа в рамките на комплексно изследване. Получените резултати показват, че каталаза от *Penicilium* имобилизирана, върху глюкан тип URE13-300 запазва до 76% от изходната си активност в присъствие на 5% етанол и 63,5% от изходната активност. В присъствие на нискомолекулни алифатни алкохоли се установява, че най-устойчива на въздействието на органичния разтворител е каталазата от *Penicilium chrysogenum*. Тя запазва 83% и 98% съответно от активността си в присъствие съответно на 1% етанол и 1% метанол, като при увеличаване на съдържанието им до 5%, се запазва съответно 63% и 57%. Разработен е електрохимичен метод за определяне на ензимната активност на имобилизирана каталаза от *Penicilium chrysogenum* в отсъствие и в присъствие на метанол и етанол и е изведена формула за определяне на ензимната активност.

Получени са два вида електрохимични биосензори чрез имобилизиране на ензим лакказа от *Trametes versicolor* и *Trametes pubescens* в полимерен филм и са охарактеризирани с помощта на електрохимични техники като циклична и импулсна волтамперометрия, както и хроноамперометрия при постоянен потенциал. Изследвано е електрохимичното поведение на биосензорите в присъствие на ди – и трихидрокси феноли. Операционните условия на биосензора гарантират ниска консумация на енергия от биосензора и минимални пречещи влияния при анализ на сложни матрици; Проучените два лакказни ензима показват значителна разлика в хетерогенната си биокаталитична активност, като ензимът от *Trametes pubescens* се характеризира с многократно по-висока специфична активност. Биосензорният метод е приложен за определяне на общото фенолно съдържание в билкови екстракти. При съпоставяне с

хроматографски анализ на фенолното съдържимо на пробите е установена добра корелация на резултатите от хроматографския и биосензорния анализи.

Получените резултати представени в „Резултати и обсъждане”, логично следват хода на решаването на поставените задачи. Те са обобщени и дискутирани в светлината на публикуваните данни от последните години. Висока оценка заслужават както идеята, така и обемът от изследвания проведен по изпълнението на тази задача и в целия труд. Направената дискусия по всеки експеримент, съпоставката на резултатите и съпоставката с литературните данни, още веднъж подчертава качествата на докторантката във владенето на експерименталната теория. С това той доказва, че е овладял напълно третата степен на обучението си и е завършен експериментатор.

7. ПРИНОСИ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТКАТА ЗА НАУКАТА И ПРАКТИКАТА, ЗАБЕЛЕЖКИ И ВЪПРОСИ

Приемам направените приноси!

А

Н

Г

е

Към дисертанта имам няколко въпроса:

Л

✓ *Какви междинни агенти, действащи като посредници между реагента или катализатора и твърдия носител (индиректна имобилизация), играят ключова роля за улесняване на прикрепването на реагента или катализатора към носещия материал, повишавайки стабилността и ефективността на процеса на имобилизация?*

О

В

✓ *Какви ферментационни стратегии се използват за производство на лаккази?*

е автор в 3 научни публикации, като в две от тях е водещ изследовател и девет участия в научни форуми, което показва творческата и изследователската ѝ активност при Темата е актуална, докторантът е усвоил съвременни методи, експериментите са изработването и оформянето им. поставени методично правилно, получените резултати са достоверни и са солидна база за следващи научни и приложни разработки. Въз основа на гореизложеното уверено мога да заявя, че рецензираният дисертационен труд представлява оригинална научна разработка, с теоретично и приложно значение. Предложената дисертация е

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

доказателство, че Пешков е развил компетентности необходими за присъждане на образователната степен доктор включващи теоретична подготовка, методологични познания, самостоятелност и опит за планиране на експерименти и способност за анализ на резултатите.

Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и 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“ и давам

с

в

о

31.07.2025 г.

т

а

в

и

с

о

к

а

о

ц

е

н

к

а

и

п

р

е

п

о

Подпис:.....

Проф. Искра Иванова