

СТАНОВИЩЕ

на дисертационен труд на тема: *“Мултиимунофлуоресцентен биосензор за анализ на антибиотици – получаване, характеристики и приложение”* с автор инж. Светла Иванова Стоянова, представена за придобиване на ОНС “Доктор” по научна специалност „Технология на биологично активните вещества (вкл. Ензими, хормони, белтъци)“, шифър 02.11.11, професионално направление 5.11. Биотехнологии, област от висшето образование 5. Технически науки.

ИЗГОТВИЛ СТАНОВИЩЕ: проф. д-р Катя Иванова Вълкова-Йоргова – Ръководител на катедрата по Технология на месото и рибата към УХТ-гр. Пловдив

Съгласно заповед № УМО - 286 от 16.11.2015 г. на Ректора на Университет „Проф.д-р Асен Златаров“– гр. Бургас съм назначена за член на научно жури във връзка със защита на посочения преди това дисертационен труд. На заседание на научното жури проведено на 20.11.2015 г. под председателството на проф. д-р Цонка Иванова Годжевъргова ми бяха предоставени материалите за изготвяне на становище представени от инж. Св. Стоянова във връзка с предстоящата защита на дисертационната ѝ работа.

В представения ми за изготвяне на становище дисертационен труд е разработен един изключително актуален и значим въпрос за теорията и практиката в областта на хранителната промишленост.

Известно е, че млякото и млечните продукти са едни от основните и най-важни източници на пълноценни белтъци, както и на някои биологично активни компоненти в храната на човека. Основният стремеж при преработката на млякото трябва да бъде съхраняване на хранителната стойност на суровината с цел получаването на здравословни млечни продукти, пълноценни по съдържание на незаменими вещества – аминокиселини, полиненаситени мастни киселини, витамини, макро- и микроелементи. Независимо от това пред млекопреработвателната промишленост стоят за решаване редица въпроси, свързани главно със запазването на чистотата и оценка на риска от наличие на ветеринарни лекарствени остатъци.

Съществуващата тенденция в световната практика за откриване на остатъци от антибиотици в храните (вкл. и в млякото) и необходимостта от гарантиране на безопасността на млечните продукти у нас определят съвсем точно актуалността и важността от разработвания проблем.

В частност, наличието на пеницилин в количество 1 mg/ml мляко или стрептомицин – 5 mg/ml води до влошаване на технологичните свойства на суровината и най-често значително забавя протичането на млечнокиселата ферментация при производството на традиционни млечни продукти. В тази връзка трябва да се отбележи, че до настоящия момент все още няма достатъчно рационален, бърз и чувствителен метод, който да разрешава използването му в широки промишлени мащаби.

Дисертационният труд е оформен добре и логично структуриран. Обемът ѝ обхваща 124 стр. В дисертацията има ясно и добре оформени 15 таблици и 21 фигури, които правилно и точно отразяват експерименталните данни.

От направения в дисертацията литературен обзор може да се направи заключението, че инж. Св. Стоянова показва задълбочено и всестранно познаване на проблема. В литературния обзор обстойно и на високо теоретично ниво са изяснени

въпросите относно спецификата на различните скрининг методи за откриване на остатъци от антибиотици в храните като микробиологични тестове, високоефективна течна хроматография (HPLC), имунологични анализи, биосензори и др. От представения обзор е видно, че дисертантката е запозната в достатъчна степен с проблема, изучила го е в детайли с необходимата задълбоченост и показва добра осведоменост и умение да използва литературните източници. В края на литературния обзор компетентно е направено заключение, в което правилно и точно е систематизирана същността на проблема.

Целта на дисертацията е ясно формулирана: Получаване и охарактеризиране на мултиимунофлуоресцентен биосензор за едновременен анализ на пеницилин, сулфадиметоксин и тетрациклин в мляко на базата на имобилизирани антители, магнитни наночастици и флуоресцентен маркер.

Експерименталната работа е методично правилно организирана и осъществена прецизно в логична последователност с литературния обзор, като дава възможност за обективна оценка и количествено определяне съдържанието на различни антибиотици в мляко.

В раздел III. подробно са описани всички използвани в експерименталната работа материали и методи. Прави впечатление използването на твърде разнообразни методи за анализ, които в голяма степен са съвременни и създават възможност да се решат поставените в целта задачи. Като специфично достойнство на работата може да се изтъкне използването на мултианализ (троен ФИА) на основата на МНЧ-NH₂ и три различни флуоресцентни багрила за съвместно определяне на PEN, SDM и TC в мляко, както и прилагането на подходящи методи за математико-статистическа обработка на данните, което гарантира тяхната достоверност.

Разделът “Резултати и обсъждане” е правилно структуриран в осем подраздела, обхващащи поставените в целта две групи изследвания.

Първоначално са получени, пречистени и доказани флуоресцентните конюгати PEN-FITC, PEN-ATTO 488, SDM-ATTO 590 и TC-ATTO 633, като са представени вероятните механизми за тяхното получаване. На цветни диаграми нагледно са представени съответните абсорбционни спектри във видимата и ултравиолетовата област. В дисертационния труд са проведени изследвания с комерсиални МНЧ, съдържащи карбоксилни групи, както и с получени от дисертантката МНЧ с по-малки размери и функционализирани с аминокиселини групи.

Въз основа на получените резултати дисертантката прави компетентен анализ и научно обосновава перспективността от използването на единичния ФИА на основата на МНЧ-NH₂ проведен при 37°C, които отговарят напълно на Европейските критерии за остатъци на антибиотици в мляко.

По-нататък детайлно е проучено влиянието на вида, рН и химичния състав на млякото върху резултатите от имуноанализа при съвместното определяне на трите антибиотика в една и съща проба. Проведени са изследвания, с които дисертантката много задълбочено е представила и дискутирала резултатите от тройния анализ на основата на лиофилизирани МНЧ-NH₂ за определяне на Пеницилин, Сулфадиметоксин и Тетрациклин при 37 °C. Така представените данни дават една пълна завършеност на експеримента.

Въз основа на експерименталните данни, които са представени в подходяща форма и правилно обсъдени в края на дисертацията са формулирани конкретни изводи. Същите произтичат непосредствено от получените резултати и обективно отразяват направените приноси.

Оригинален е приноса на настоящото изследване за изясняване на процесите, свързани с получаването, пречистването и доказването на флуоресцентни конюгати на

PEN, SDM и TC с различни флуоресцентни багрила. Създадените лиофилизирани имобилизирани антители и флуоресцентни конюгати PEN-АТТО 488, SDM-АТТО 590 и TC-АТТО 633 осигуряват голям срок на годност (2 години) на разработения имунофлуоресцентен кит, показващ добри потенциални възможности за анализ и контрол на качеството на млякото.

Забележка: В аспекта на получените до момента резултати малко място е отделено на перспективите на изследователската тема за окачествяване на други хранителни продукти.

Резултатите от проведените изследвания са публикувани в 6 статии, 2 от които с общ импакт фактор 1.925. При четирите публикации инж. Светла Иванова Стоянова е водещ автор, което свидетелства за личното ѝ участие при разработването на дисертационната работа.

Представеният автореферат отразява правилно и точно съдържанието на дисертацията.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Като цяло дисертационния труд е посветен на актуален и значим проблем, използвани са подходящи за целта съвременни методи на изследване, с умение аналитично да се разглеждат, обсъждат и обобщават получените данни и да се правят съответните изводи. На базата на проведената експериментална работа са получени резултати с оригинален и приносен характер. Представената дисертация отговаря на всички изисквания на закона и заслужава най-висока оценка.

Като цяло дисертацията има всички необходими елементи на едно задълбочено научно изследване и ми дава основание да изразя становището си, че инж. Светла Иванова Стоянова може да придобие образователната и научна степен “Доктор” по научна специалност „Технология на биологично активните вещества (вкл. Ензими, хормони, белтъци)“, шифър 02.11.11, професионално направление 5.11. Биотехнологии, област от висшето образование 5. Технически науки.

Дата: 22. 12. 2015 г.

Изготвил становището:



(проф. д-р К. Вълкова-Йоргова)