

РЕЦЕНЗИЯ

**Върху дисертационен труд на Мария Стефанова Абаева
от катедра Биотехнология на Биологическия Факултет
Софийски Университет „Св.Климент Охридски”**

**на тема „ Изследване на биосинтезата на хидролазни ензими от
имобилизирани микромицетни продуценти”**

**рецензент: Проф. дбн Милка Кръстева
от ХТМУ - София**

Имобилизирането на микробни клетки върху различни носители и възможностите за многократното използване на техните биосинтетични свойства днес е широко изследвано, тъй като тези системи позволяват да се използват многократно, да се оптимизират и автоматизират. От друга страна имобилизираните клетки са значително по-стабилни, с по-лесен контрол в реактори и последващи различни манипулации с тях.

Дисертационният труд на Мария Абаева е посветен на изследване на биосинтетичните възможности на някои имобилизирани микромицетни щам продуценти на хидролазните ензими амилази, липази и ксиланази, които имат широкото приложение в различни области на индустрията, козметика и фармация.

Предвид на това смятам, че изследването на докторантката е интересно и важно, а получените резултати, показват, че то е дисертабилно.

Докторският труд е написан на 182 страници. Той е структуриран по обичайния начин включващ: литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, заключение, изводи,

приноси, публикации свързани с дисертацията и използвана литература.

Литературният обзор е изложен на 75 страници. Той запознава с обща характеристика на продуцентите на липази, амилази и ксиланази и специфични характеристики на тяхния биосинтез. Представени са съвременни данни за механизма на действие на отделните ензими, както и техни приложения в различни области.

Отделна глава от обзора е посветена на имобилизирането на микробни продуценти на ензими към различни носители. Докторантката подробно разглежда използването на различни матрици, като отделя особено внимание на зеолитите, поради тяхните специфични качества като термична и киселинна устойчивост, високи адсорбционни свойства към метали и газове, както и висока поръзност.

Литературният обзор е изложен на 75 страници и по мое мнение е прекалено подробен, особено при описание на условия за биосинтеза на амилази и ксиланази-стр.42, 53 и др., които биха могли в дадени части да се опишат само с цитати. Обзорът е написан на добър научен език и обхваща 277 източника, голямата част, от които са съвременни.

След обстойния литературен обзор е изложена целта на дисертационния труд с 4 основни задачи, описани подробно. Основната цел на докторантката може да се резюмира така: Изследване на биосинтетичните свойства на щамове от *rod Rhizopus u Aspergillus*, за продукция на ензимите липаза, амилаза и ксиланаза при условие на свободни култури и сравнени с такива, които са имобилизирани върху различни матрици. Тази сравнително обемиста задача, докторантката изпълнява последователно, като съчетава известни познания с такива намерени от нея по експериментален път. Разделът „материали и

методи” е описан достатъчно подробно, за да може да се повтори даден експеримент, като сполучливо са приложени принципите на математическото моделиране, за да се подберат най-сполучливите параметри при редица експерименти.

В раздела „**Резултати и Обсъждане**” докторантката описва намерените от нея резултати, които биха могли да се сумират така: 1. намиране на оптималните условия на култивиране, чрез прилагане на методите на математическото моделиране, при което съответния продуцент на ензим, показва най-висока ензимна активност – както следва: за *Rhizopus arrhizus* КБ-2, продуцент на липаза, с ензимна активност до 60.72 Е/мл при дълбочинни условия на култивиране; за *Aspergillus oryzae* РР продуциращ α -амилаза с ензимна активност до 3011.28 Е/мл и *Aspergillus awamori* К-1 с ензимна активност от 33.83 Е/мл за ксиланаза при добавяне на 2% царевичен екстракт във ферментационната среда; 2. Изследване на биосинтетичните възможности на изследваните щамове след имобилизация върху зеолит, модифициран с медни и железни йони, луфа и хибридна матрица с 5 и 10 % от калциев алгинат. Докторантката намира, че най-добри показатели за ензимна активност показват продуцентите на липаза и ксиланаза, имобилизирани върху зеолити, модифицирани с медни йони, като в случая с липазния продуцент, ензимната активност е по-висока от тази на свободния, а при ксиланазния тя е равна на свободния продуцент. Имобилизираният *Aspergillus oryzae* РР, продуцент на α -амилаза показва максимална ензимна активност равна на тази на нативния, когато е включен в хибридна матрица, съдържаща 10% калциев алгинат. Ксиланазният продуцент се отнася с най-добри показатели на ензимната активност чрез адсорбция върху луфа и

зеолит, модифициран с медни йони. 3. Авторката намира, че в биосинтетичния процес, изследваните щамове, продуцират растежни регулатори, като вторични метаболити и които биха могли да се използват в растениевъдството, за което свидетелства направения сполучлив експеримент със соево растение.

Всички изследвания са богато илюстрирани с добре изработени графики, общо 39, 10 таблици и 16 фигури.

Научната значимост на резултатите, получени в настоящата дисертация виждам в детайлното изследване на биосинтетичните възможности на щам-продуцентите *Rhizopus arrhizus* КБ-2, *Aspergillus oryzae* и *Aspergillus awamori* К-1, съответно на ензимите липаза, амилаза и ксиланаза и намиране на най-подходящите условия за получаване на най-висока ензимна активност. Важен резултат намирам в установяване на много добрите възможности на матрица за имобилизация- зеолит, модифициран с медни йони, при който продуцентите на липаза и ксиланаза, показват активност сравнима със свободните такива, дори и по-високи. Този резултат може да се обясни с много добрия масообмен, дължащ се на структурата на зеолитната матрица и по-този начин открива възможности за приложение, тъй като тя се отличава с устойчивост и много добри филтриращи свойства. От друга страна може да се предполага, че модифицираната с медни йони зеолитова матрица може да свързва кислородни молекули, които по-определен начин се активират и обогатяват средата, която съдейства за развитието на високо аеробните *Rhizopus* и *Aspergillus*, повишавайки техните продуцентски възможности. Интересен научен факт също е намирането на растежни регулатори, като вторични метаболити в

културалната течност при биосинтезата на ензимите от изследваните продуценти, които могат да намерят приложение в растениевъдството.

Тези научни резултати мога да отнеса към обогатяване на научните знания за биосинтетичните възможности на изследваните щам-продуценти (*Rhizopus* и *Aspergillus*) на хидролазни ензими, както и на нови факти за тяхната имобилизация върху различни матрици и повишаване на техната продукция на ензими.

Научните резултати в дисертацията са публикувани в три научни списания съответно Bulgarian Journal of Agricultural Science -2 (едната статия е под печат) и Biotechnology & Biotech. Equipment, в които докторантката в две от тях е на първо място и в третата на второ място. Докторантката Абаева е участвала в 3 международни конференции и в 4 български конференции, като в 2 от тях изследванията са публикувани в пълен текст.

Към докторантката имам следните въпроси и препоръки:

1. Какви са били съображенията да се избере за изследванията зеолитна матрица и какво се знае за нейната структура?
2. Терминът неоргано-органични носители не ми се струва особено сполучлив и вместо него може да се използва „ комплексна матрица с органични и неорганични компоненти” или още по-просто „ хибридни матрици”

Докторантката Мария Стефанова Абаева е родена през 1986г в София. Завършва висшето си образование в Биологическия Факултет на Софийския Университет „Св.Климент Охридски” по спец. „Биотехнологии” със Квалификационна степен-Бакалавър през 2010г, а през 2011г получава магистърска степен по „Индустриални

биотехнологии”, която завършва с отличен успех. През същата година е зачислена за редовен докторант към кат. Биотехнология на Биологическия Факултет с научен ръководител доц. д-р Светла Илиева. Докторантката Мария Абаева е положила всички изпити от индивидуалния си план, като в три от тях е получила отличен б и по един мн.добър 5. Наред със споменатите научни публикации, докторантката е участвала в един научен проект, финансиран от Фонд Научни изследвания на МОМН и един друг, финансиран от Фонд Научни Изследвания на СУ. Участвала е също в проект от Европейска Оперативна програма-Развитие на човешките ресурси, в частта отнасяща се до докторанти и млади учени. Докторантката е взела участие в 5 обучителни курса и семинари, за които има представени съответните сертификати. Докторантката Мария Абаева, разработвайки дисертацията си е имала възможност да се запознае и усвои методи за култивиране на шам-продуценти, проследяване и анализ на ферментационни процеси, анализ на ензимни активности, имобилизация на посевен материал от шамове продуценти на хидролазни ензими, оптимизация на технологични параметри в различни процеси на изследването, което е допринесло за повишаване на квалификацията ѝ.

Авторефератът отговаря на съдържанието на дисертационния труд и е изготвен много добре.

Заклучение

Предложеният дисертационен труд притежава качества на научно изследване, насочено към установяване на биосинтетичните възможности за продукция на α -амилаза, ксиланаза и липаза на свободни и имобилизирани микромицетните шамове от родове

Aspergillus и *Rhizopus* . Намерени са най-добрите условия за тяхното култивиране, както и състав на хранителна среда чрез използване на методите на математическото моделиране. Получени са много добри резултати при имобилизиране на изследваните щамове върху зеолитни матрици и хибридни матрици, използващи зол-гелна техника, които откриват възможности за тяхно бъдещо приложение при получаване на ензимите α -амилаза, ксиланаза и липаза в по-широки мащаби. Научните резултати са публикувани в специализирани научни списания, както и са докладвани на международни и български конференции.

Чрез усвояване на нови методи и използване на редица техники, докторантката Мария Абаева е повишила квалификацията си и е изградила много умения, необходими за добър изследовател.

Смятам, че докторският труд отговаря напълно на изискванията на закона за придобиване на докторска степен, както по отношение на научната и приложната му значимост, така и на излагането и онагледяването на резултатите.

Предлагам на Почитаемото Жури да присъди на Мария Стефанова Абаева, научната степен **доктор**.

10.02. 2015г.

Рецензент:

Проф. дбн Милка Кръстева