

## РЕЦЕНЗИЯ

по конкурса за получаване на научно звание „ДОЦЕНТ” по научната специалност 02.10.09 „Процеси и апарати в химичната и биохимичната технология”, обявен за нуждите на лаборатория „Химични и биохимични реактори” в ДВ бр. 87/05.11.2010 г.

**Рецензент:** доц. д-р Колишка Цекова, Институт по микробиология „Стефан Ангелов” БАН.  
На 05.11.2010 г. в Държавен вестник бр. 87 е обявен конкурс за „доцент” по научната специалност 02.10.09 „Процеси и апарати в химичната и биохимичната технология” за нуждите на лаборатория „Химични и биохимични реактори”, БАН. На този конкурс се явява единствен кандидат гл. ас. д-р Калоян Кирилов Петров.

### ПЕРСОНАЛНИ ДАННИ ЗА КАНДИДАТА

Калоян Кирилов Петров е роден на 04.12.1969 г. в гр. София. През 1994 г. завършва висшето си образование във ВМЕИ-София, специалност „Биотехнология”. Работил е по специалността си в Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН и в различни промишлени предприятия. От 2002 г. е зачислен като задочен докторант в Институт по инженерна химия при БАН, а през 2005 г. получава образователната и научна степен „доктор”. Научен сътрудник е от 2003 г. Има 17 г. общ трудов стаж, от които 9 г. научен стаж по специалността на обявения конкурс в Институт по инженерна химия, БАН.

### МАТЕРИАЛИ, ПРЕДСТАВЕНИ ЗА РЕЦЕНЗИРАНЕ

По настоящия конкурс гл. ас. д-р Калоян Петров представя 23 научни труда- 22 статии и 1 автореферат на дисертационен труд на тема: „Получаване на млечна киселина чрез имобилизация на *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 в полиакриламиден гел”. Те се разпределят както следва:

1. Автореферат- 1
2. Журнални статии в списания с импакт фактор- 15
3. Журнални статии в списания без импакт фактор- 5
4. Статии в сборници от научни форуми- 2

От всички представени материали не подлежат на рецензиране автореферата и 2 научни статии, включени в дисертацията. Освен тези 23 научни труда, кандидатът представя 15 резюмета от участие в научни форуми, 8 от които у нас, а останалите в чужбина.

Статиите в чужбина са отпечатани в реномирани журнали, като например *Food Microbiology*- 1бр. /IF-2.847/, *Applied Microbiology and Biotechnology*- 2бр. /IF- 2.896/, *Z.*

*Naturforschung*- 16p. / IF-0.800/, *Word Journal of Microbiology and Biotechnology*- 2бр. /IF-0.745/ и *International Journal of Dairy Technology*- 16p. /IF-0.647/.

У нас са публикувани 3 статии в *Доклади на БАН* и 4 статии в *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, а останалите статии са публикации в списания без импакт фактор. Общият импакт фактор на Калоян Петров е 13.136, а личният му импакт фактор е 5.261.

Д-р Калоян Петров е на първо място в 9 статии, на второ- в 8 статии и на трето и следващо място в останалите публикувани статии. Кандидатът представя общо 40 цитирания, отнасящи се до 8 от публикуваните в международни списания с импакт фактор, като 35 от цитиранията са от чужди автори в реномирани чуждестранни списания.

Това ми дава основание да считам, че представените разработки са получили и сериозна чуждестранна оценка.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА НА НАУЧНО-ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКАТА И НАУЧНО-ПРИЛОЖНА ДЕЙНОСТ**

Научно-изследователската и научно-приложна дейност на д-р Калоян Петров е концентрирана в научното направление 02.10.09, по което е и обявеният конкурс. Той работи върху създаване на ефективни биотехнологични методи за получаване на ценни за практиката микробни метаболити като млечна киселина, 1,3-пропандиол, 2,3-бутандиол и други и биодegradацията на органични токсични вещества като моно- и дихлороцетна киселина чрез дълбочинно култивиране на изолирани и селектирани бактериални щамове- свободни и имобилизирани клетки в полиакриламиден гел. Актуалността и перспективността на научното направление са безспорни. Млечната киселина се използва широко във фармацевтичната, химическата, хранителната и козметична индустрия, а потреблението ѝ като мономер за получаването на биоразградимата полимлечна киселина нараства с огромни темпове с всяка изминала година. Основно предимство на методите за ферментативно получаване на киселината пред химичните методи е способността на микроорганизмите да синтезират L(+)-оптичната изомерна форма на млечната киселина в чист вид. От друга страна ограниченията по отношение на петролните деривати, които са основен субстрат при химичната синтеза, насочва усилията на учените към откриване на други подходящи субстрати и използването им при микробиалната продукция на млечна киселина.

Не по-малко актуални за решаване са и проблемите, касаещи биологичното разграждане на хлорните производни на оцетната киселина и глицерола- отпаден продукт при производството на биодизел, с цел опазване на околната среда и запазване на биологичното разнообразие. Биодegradацията е ключов процес за отстраняване на тези токсични съединения. От друга страна, ферментацията на отпаден глицерол дава възможност за оползотворяването му като субстрат за получаване на други ценни продукти с широко практично приложение като

1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол. През последното десетилетие усилията на много учени са насочени именно към разработване на нови биотехнологии, базирани на използване на високопродуктивни микроорганизми, способни да продуцират ценни за практиката продукти и да обезвреждат токсични замърсители чрез различни механизми на биодеградация. Научните изследвания на д-р Калоян Петров включват направления именно от тази област на науката, а всички разработки са свързани с получаването на значими микробни продукти и решаването на конкретни екологични проблеми в България.

Една основна част от изследванията на д-р Калоян Петров са свързани с проучвания върху микробиалното получаване на млечна киселина чрез свободни и имобилизирани в полиакриламиден гел клетки на бактериални щамове. Това направление включва два раздела- получаване на млечна киселина чрез изолирани и идентифицирани щамове от род *Lactobacillus* при използване на субстрати глюкоза или лактоза и продукция на млечна киселина от нишесте при използване на изолирани и генетично идентифицирани щамове от род *Lactococcus* и род *Lactobacillus*.

Изследванията в първия раздел /статии № 1, 4, 5/ са свързани с изолиране и характеризиране на чисти култури щамове род *Lactobacillus*, определяне продукцията на млечна киселина, усвояването на субстрата, изследване на ферментационната кинетика в дълбочинни процеси на култивиране, определяне на киселинната толерантност на щамовете, изследвания върху пробиотичните свойства на български вагинални изолати анализирани на факторите, повлияващи антимикуробната активност, продукцията на антимикуробни съединения /млечна киселина,  $H_2O_2$ , етанол/ и тяхната роля в механизмите за поддържане на нормалната вагинална екосистема. От голямо значение в този раздел са изследванията свързани с разработването на подобрен метод за имобилизация на шам *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 в полиакриламиден гел, предпазващ изтичането на клетките от гела по време на млечнокиселата ферментация. Подобреният метод включва предварително третиране на клетките с мономера за осъществяване на физико-химични взаимодействия, в резултат на което се постига минимално изтичане на клетки от имобилизираната система в условия на многократно повтарящи се успешни ферментационни цикли. На базата на получените резултати от експериментите е създаден кинетичен модел на процеса, постигната е висока продуктивност и ефективност на процеса и е преодолян един от основните недостатъци на известните биотехнологични методи, където крайният продукт се получава в смес с биомасата, което затруднява процесите на сепарирането. Трябва да се подчертае, че разработената имобилизирана система е включена в метод за получаване на млечна киселина в чист вид, отделена от биомасата в утвърден патент за изобретение (№ 65664/26.08.2009г.) и може да бъде приложен в промишлени условия за микробиално получаване на широко използваната в практиката млечна киселина.

Вторият раздел касае едно изключително перспективно направление в областта на биотехнологичните процеси за получаване на млечна киселина от възобновяем субстрат нишесте. Основни предимства на тези биотехнологични подходи са, че като продуценти се използват микроорганизми, способни да извършват едновременно хидролиза на субстрата и ферментация на разградните продукти до органични киселини и етанол, каквито могат да бъдат микроорганизмите, продуциращи амилолитични ензими. Тук са включени резултати от статиите № 7, 9, 16, 20, отразяващи резултати от изследвания върху изолирани и идентифицирани щамове бактерии и дрожди, разграждащи нишесте и продуциращи органични киселини /млечна, янтарна/ и етанол. Чрез вариране на компонентите на хранителната среда и условията на култивиране са установени оптималните условия за пълно разграждане на субстрата и за ферментация на хидролизните продукти до млечна киселина. Установено е, че ключов ензим за хидролиза на нишестето е клетъчно свързаната  $\alpha$ -амилаза, показваща максимална ензимна активност при рН 5.4 и температура 45°C. Част от получените резултати са получени при използване на изолиран и идентифициран чрез съвременни генетични методи щам *Lactococcus lactis subsp. lactis* В 84 и са публикувани в реномирано международно списание „*Food Microbiology*”. По статията към момента има 6 цитирания от чужди автори, което свидетелства за висока оценка на получените резултати от научната общност.

Друга част от научната дейност на д-р Калоян Петров третира въпросите за **продукция на диоли чрез ферментация на отпаден глицерол**. През последните години се наблюдава засилен научен интерес към разработването на нови методи за разграждане на глицерола-отпаден продукт от производството на биодизел, чрез селектирани щамове микроорганизми, способни да разградят глицерола и да го превърнат в ценни за практиката продукти. Тези разработки представляват безспорно предизвикателство пред учените, с което се решават едновременно екологични проблеми и се получават продукти като 1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол. Във връзка с това е изолиран щам *Klebsiella pneumoniae* G31 и са проведени полупериодични процеси с подхранване, целящи изместване на метаболитния път към получаване главно на желания метаболит 2,3-бутандиол. Оптимизирани са условията на култивиране, оказващи влияние върху добива на продукта като при оптималните условия на култивиране е достигнат добив 60 г/л, което представлява най-голямото количество 2,3-бутандиол, получено при ферментация на глицерол, описано в литературата до този момент. Резултати по тези проучвания са отразени в излезли от печат статии № 7, 12, 17, 21.

Част от работата на кандидата е фокусирана в направлението „Биодеградация на моно- и дихлороцетна киселина” чрез клетки на *Xantobacter autotrophicus* GL 10. Проведени са експерименти за определяне на оптималните условия за провеждане на полупериодичен процес с подхранване при използване на свободни и имобилизирани клетки в полиакриламиден гел /статии № 13, 14, 18, 22/. Създаден е математичен модел на биодеградация на монохлороцетна киселина чрез клетки на щама, включени в полиакриламиден гел. Установена е по-висока

биоразграждаща способност на свободните клетки, в сравнение с активността на имобилизираните клетки. При разграждане на дихлороцетната киселина е установено наличие на субстратно инхибиране, по-висока консумация на кислород и наполовина по-ниска степен на разграждане на субстрата, в сравнение с монохлороцетната киселина, при еднакви условия на култивиране.

## **РЪКОВОДСТВО НА ДИПЛОМАНТИ И УЧАСТИЕ В НАУЧНИ ПРОЕКТИ И ПАТЕНТИ**

Едновременно с отбелязаната по горе публикационна дейност д-р Калоян Петров е усъществил успешно ръководство на 2 дипломни работи, защитени успешно през 2009 и 2010г. и е ръководител на 2 патента, един от които е утвърден, а вторият е подаден за патентоване и се очаква одобрението му. Това свидетелства за неговата инициативност и самостоятелност при разработката на нови, актуални научни и научно-приложни проблеми, резултатите от които са приложими в практиката. Кандидатът участва активно в разработването на 3 проекта, финансирани по договори с НФ за научни изследвания и е ръководител на 1 проект по оперативна програма „Развитие на човешките ресурси”, където д-р Калоян Петров разработва нов метод за рН контрол, наречен „Метод на изкуствените рН флукуации”. Чрез този метод са постигнати впечатляващи резултати при конверсията на глицерола в 2,3-бутандиол и 1,3-пропандиол.

## **ОСНОВНИ НАУЧНИ И НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ**

1. За първи път е направено детайлно характеризирание на изолирани щамове от род *Lactobacillus* във връзка с растежа, киселинната им толерантност и продукцията на млечна киселина в дълбочинни процеси на култивиране. Получените резултати предоставят полезна информация за възможното им приложение при продукцията на функционални храни.
2. Изследвани са пробиотичните свойства на изолирани български вагинални лактобацили и е установена ролята на продуцираните антимикробни съединения /млечна киселина,  $H_2O_2$ , етанол/ като антибактериални фактори спрямо *E. coli*. Установено е, че пробиотичният ефект и произхода на антибактериалната активност на щамовете се дължи преди всичко на продуцираната от тях млечна киселина. По този начин се потвърждава ролята на лактатната продукция като основен механизъм за поддържане на нормална вагинална екосистема.

3. Изолиран и идентифициран е амилалитичен щам *Lactococcus lactis* В 84 способен да усвоява нишесте и са оптимизирани условията за ферментация на субстрата до млечна киселина. За първи път е изследвана природата на ензимния комплекс, катализираща хидролизата на субстрата до ферментируеми захари при нишесте- усвояващи лактококи.
4. Патентован е нов метод за биотехнологично получаване на млечна киселина, метаболитен продукт от *Lactobacillus rhamnosus*, получена в чист вид, отделена от биомасата, приложима в хранително-вкусовата промишленост и при производство на биоразградими опаковки.
5. Постигнато е разграждане на моно- и дихлороцетна киселина чрез клетки на *Xantobacter autotrophicus* GL 10 и са определени оптималните условия за провеждане на полупериодичен процес с подхранване.
6. Чрез ферментация на отпаден глицерол и прилагане на нов метод за рН контрол, наречен „Метод на изкуствените рН флуктуации” е постигната висока степен на конверсия на глицерол до 2,3-бутандиол и 1,3-пропандиол чрез дълбочинно култивиране на щам *Klebsiella pneumoniae* G31.

### ПРЕПОРЪКИ ЗА БЪДЕЩИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

Като препоръки за бъдещата работа на кандидата следва да се отбележи следното:

1. Да се задълбочат изследванията, насочени към получаване на млечна киселина от нишесте със свободни и имобилизирани на нови носители микробни клетки, включително и при използване на хибридни наноматериали като матрици за имобилизация.
2. Да се положат усилия за внедряване на постигнатите сериозни резултати за биоконверсия на отпаден глицерол до ценни за практиката двувалентни алкохоли.
3. Да продължат изследванията по биодegradация на моно- и дихлороцетна киселина със свободни и имобилизирани на нови перспективни и биоразградими носители клетки на избрания моделен щам *Xantobacter autotrophicus* GL 10.

## ЛИЧНИ ВПЕЧАТЛЕНИЯ

Познавам лично д-р Калоян Петров от 3 години като изключително скромна, инициативен и самостоятелен сериозен изследовател и двигател на нови идеи при разработването на актуални научни проблеми. Той е висококвалифициран специалист в областта на използване на еукариотни микроорганизми за целите на биотехнологията и екологията. Научната му дейност се характеризира с търсене на нови решения на проблеми, свързани с нуждите на важни за страната ни промишлени производства и свързани с тях екологични изисквания. Разработките му са задълбочени и включват използването на широк спектър от съвременни методи за култивиране на продуцентите и за анализ на получените продукти. Освен това той умее да работи в екип със специалисти от други области на науката, което проличава от научната му продукция и спомага за комплексния характер на научните изследвания, резултатите от които предлагат нови научни продукти, с готовност за приложение.

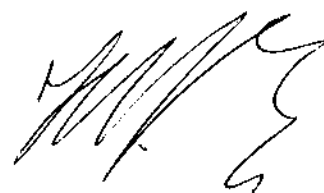
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Д-р Калоян Петров е утвърден учен в областта на процеси и апарати в биохимичната технология, а научните му разработки съдържат важни оригинални и потвърдителни научни и научно-приложни приноси, които могат да бъдат много полезни за индустриални внедрявания. Представените за конкурса материали отговарят на изискванията на **ЗАКОНА ЗА РАЗВИТИЕ НА АКАДЕМИЧНИЯ СЪСТАВ В РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ** за присъждане на научното звание „доцент”. Въз основа на направения анализ препоръчвам на членовете на **НАУЧНОТО ЖУРИ** да гласува за присъждането на научното звание „**ДОЦЕНТ**” на д-р Калоян Петров по научната специалност **02.10.09 „Процеси и апарати в химичната и биохимичната технология”**.

04.04.2011г.

София

Рецензент:



/ доц. д-р Колишка Цекова /