

До Председателя на Жури към Института по
Инженерна Химия-БАН

РЕЦЕНЗИЯ

по конкурс за получаване на длъжност „професор“ по
научната специалност 02.10.09 „Процеси и апарати в химичната и
биохимичната технология“ за нуждите на лаборатория „химични и
биохимични реактори“ в ИИХ-БАН, обявен в ДВ бр.108 от 17.12.2013г
с единствен кандидат доцент д-р Калоян Кирилов Петров
рецензент: Проф.дбн Милка Асенова Кръстева

Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата.

Калоян Кирилов Петров е роден през 1969г в София. Висшето си образование получава през 1994г като магистър инженер по Биотехника с успех мн.добър 5, като първите две години учи в Биологическия Факултет на СУ, а след това продължава в ВМЕИ-София, Факултет по Биотехника, съгласно тогавашната програма на професионално направление по Биотехнология. През 1997г постъпва като специалист в Института по Микробиология на БАН за кратък период, а през 2003г е назначен за технолог в Института по Инженерна Химия на БАН. В същност от тогава започва научната му кариера, като последователно преминава през различните степени на научен сътрудник (III-I). През 2005г защитава дисертация на тема ” Получаване на млечна киселина чрез имобилизация на *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 в полиакриламиден гел” под ръководството на Проф.дтн Венко Бешков и получава научно-образователната степен-доктор. През 2011г става

доцент по научната спец.02.10.09. „Процеси и апарати в химичната и биохимичната технология” към ИИХ – БАН, където работи и до днес.

Оценка на представените материали

Кандидатът за професор доцент д-р Калоян Кирилов Петров се представя на обявения конкурс общо с 23 заглавия от списъка за научните си трудове, които могат да се класифицират по следния начин:

Научни статии отпечатани в български списания: 7 броя, както следва: Екологично инженерство и опазване на околната среда 1; Biotechnology & Biotechnological Equipment 2; Food science, engineering and technologies-Scientific works of UFT-1; J. BioSci.Biotech-special edition on line for materials of National youth conference -1; Bulgarian Chemical Communication-1; Compt.Rend.Acad.bulg. Sci-1;

Научни статии отпечатани в чуждестранни списания: 11, както следва: J.Int..Sci.Publ.Ecology&Safety-2; J. Int.Sci.Publ. materials, methods, & technology-1; Starch-Starke-2; Bioprocess and Biosystems Engineering-1; Process Biochemistry-1; Veterinary Microbiology-1; Appl.Biochem.Biotechnol.-1; Appl.Microb.Biotechnol.-1; International ReviewChem.Ing.-1;

Статии отпечатани в пълен текст в материали от конгреси - 3бр. Патенти-2 бр. Участия в конгреси конференции през рецензирания период са 10, а общо са 29.

Обща характеристика на научно-изследователската и научно-приложната дейност на кандидата.

От представените материали, може да се заключи, че доц. Петров успешно разработва тематика, която според мен е главно в три области, и която е в сферата на обявения конкурс : 1. Биотехнологични пътища за получаване на алкохоли с важно приложно значение; 2. Получаване и изследване на циклодекстрин глюканотрансфераза; 3. Изследване на конверсията на нишесте с млечнокисели бактерии;

Доцент Петров е бил на едногодишна специализация в Южна Африка в Университета в град Стеленбош през 2011г. През този период той е специализирал генетични манипулации и получаване на рекомбинантни продукти.

Ръководи двама редовни докторанти, които разработват дисертационни трудове в областта на получаване на 2, 3 бутандиоли с биотехнологични методи. Той също

така е ръководител на 8 студенти, които са на стаж в ИИХ-БАН по програма „студентски практики”, по проект финансиран по ОП”Развитие на човешките ресурси”и изучават техники при ферментационно получаване на алкохоли, използвани като заместители на горива.

Основни научни и научно- приложни приноси

1. Биотехнологични пътища за получаване на алкохоли с важно приложно значение. В това направление са включени резултати, представени в 7 статии . В ревю – статия (30) доц.Петров излага теоритичните основи на биотехнологичното получаване на алкохоли, използвани като горива в това число етанол, метанол, пропанол и бутанол, техните метаболитни пътища и използвани микроорганизми за ферментационния процес, както и критична оценка за тяхното получаване и използване. Авторът разглежда възможностите за получаване и използване по-нататък на алкохоли с разклонена верига, които сполучливо могат да заместят газолена. Едно решение за получаване на алкохоли с разклонена верига е използването на биосинтетичния път на получаване на аминокиселини с разклонена верига. Така чрез прилагане на генни манипулации биха могли да се получат 2-метил-1 бутанол и 3-метил-1 бутанол (31). 1,3- пропандиол е важен изходен продукт в полимерните синтези и може да се получи чрез ферментация на глицерол с *Klebsiella pneumoniae* като едновременно с това се получават и редица странични продукти. Един интересен подход е разработен от доц. Петров, който позволява преодоляване на този проблем чрез ефективен контрол на рН на процеса(28). Авторът намира, че форсирани рН флуктуации с амплитуда от 1 до 2 през интервал от време от 2-4 часа води до редукция на страничните продукти, както и значително повишение на добива на основния продукт. Българският щам на *Klebsiella pneumoniae* използван за получаване на 2,3-бутандиол чрез ферментация на глицерол е заместен с глюкоза. Процесът е оптимизиран по отношение на хранителната среда, рН, и аерация, което води до значително повишаване на добива на 2,3-бутандиола (37, 44) . Едно продължение на тези изследвания за получаване на 2,3-бутандиол е използването, като основен субстрат на нишесте. За целта щама *Klebsiella pneumoniae* е подложен на генна манипулация и се установява, за първи път, че той вече може едновременно да озахарява и

ферментира нишестето до 2,3-бутандиол в едни стадий с висок добив (43). Изследванията върху получаване на 2, 3-бутандиол са защитени с патент (46).

2. Получаване и изследване на циклодекстрин глюканотрансфераза

Тук се включват 4 статии. Циклодекстрин глюканотрансфераза, представлява един интересен и важен ензим, който може да превръща нишестето в циклодекстрини (α , β , и γ). Последните притежават интересна структура с хидрофобна вътрешност и хидрофилна покривка, която им позволява да включват в структурата си хидрофобни съединения като някои хормони, фармацевтични съединения и др. и по този начин да ги изолира от дадена среда. Изследванията на кандидатът са насочени към експресията, пречистване и свойства на рекомбинантна циклодекстрин глюканотрансфераза от *E.coli* BL21 (DE3) pJCGT8-5 (32, 39). Ензимът е охарактеризиран по отношение на рН и температурна стабилност, той притежава способността да продуцира смес от трите вида циклодекстрини, с преобладаващо количество от γ -циклодекстрин от нишестето. Разработен е метод за имобилизирането на циклодекстрин глюканотрансфераза, получена от генетично модифициран *E.coli*. Кандидатът използва различни носители като силициеви частички, поресто стъкло, магнитни микро частички и др, които се силанизират с оглед на създаване на amino група, която по нататък се обработва с глутаров алдехид и така модифицираният носител се свързва с amino групи от ензима. Използвани са и методи на адсорбция върху носители като слама, кафени зърна, водорасли и др. Ковалентно имобилизираният ензим показва високо съдържание на белтък, както и много добри кинетични характеристики. Адсорбираният ензим също има твърде добри показатели (33, 42).

3. Изследвания върху конверсията на нишестето с млечнокисели бактерии

Този раздел от изследванията на доц. Петров, представлява едно естествено продължение от решаване на научни проблеми, започнати още с неговата дисертационна работа и продължени по-нататък. Тези изследвания включват 7 научни статии и един патент. Кандидатът и колектив провеждат интересно изследване на генетично ниво, с което показват, че различни α -амилазни гени, които присъстват в геномите на *Lactococcus lactis* и *Lactobacillus paracasei* имат отношение към разграждането на нишестето, противно доскоро на становището, че

млечно киселите бактерии не могат да разграждат нишестето (29). Изолиран и идентифициран е нов амилолитичен щам от *Lactobacillus paracasei*, който може да превръща нишестето в млечна киселина. Това е позволило по-нататък да бъде организиран ферментационен бач процес. Едно изследване, свързано с оптимизиране на хранителната среда и електопорация на буфера при трансформацията на *Lactobacillus paracasei* е проведено и са намерени най-благоприятните условия (41). Доц. Петров изследва антимикробните свойства на боза, произтичащи от наличието на пробиотични микробни щамове. Той успява да изолира три щамове – *Lactobacillus paracasei* B41, *Lactobacillus plantarum* Vom 816 и *Lactobacillus pentosus* N3, които притежават свойството да инхибират развитието на някои патогени, като *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *B.subtilis* и др. които обикновено се развиват в хранителни продукти. Това свойство се дължи на отделяне на бактериоцини, които от своя страна не влияят на развитието на дрождите, важен фактор във ферментационните процеси (26). Все в тази посока са и изследванията (40), които имат важно значение в хранителната технология, свързани с млечнокиселите бактерии. Изолирани са някои необикновени млечнокисели бактерии, които разграждат нишестето до млечна киселина в един стадий и които имат потенциал за стартерни култури, намиращи приложение при приготвяне на хранителни продукти. В едно ревю, написано на съвременно ниво са сумирани световните достижения, включително и тези на кандидата върху ензимите от млечнокиселите бактерии, които деградират нишестето (36). Тук са включени сравнения на аминокиселинна последователност, пространствена структура, и др. и включва 96 литературни източника. Този анализ е публикуван в международно специализирано списание. Това направление завършва с патент за получаване на млечна киселина (45), което ме кара да мисля, че голяма част от тези изследвания ще намерят практическо приложение. Към това направление може да се отнесе и изследването върху свойствата на род *Rhizopus*, който показва възможности за превръщане на нишесте в млечна киселина и етанол. Най-добри свойства показват щамове на *Rhizopus arrhizus* и *Rhizopus oryzae*, които при дълбочинно култивиране върху нишесте и царевичен екстракт превръщат субстрата в млечна киселина в концентрация 25.3 g/L и 17.88g/L, съответно за двата щамове (24). Доц.

Петров представя също една статия (25), която се отнася до деградация на монохлороцетна киселина с *Xanthobacter autotrophicus*. Този процес се интензифицира значително чрез аерация и механично разбъркване. Два нови екзополизахариди са изолирани и частично охарактеризирани и е показано, че те се синтезират от термофилни микроорганизми (38). Тези микроорганизми са изолирани от термални извори в България. Двата полизахариди имат подобен захарен състав, високомолекулни са и са термостабилни. Представени са и две статии (34, 35), които третираха заболяване на конско копито и се изследва, кои от два познати микроорганизма са отговорни за това заболяване. Кандидатът намира, че това заболяване се причинява от *Fusobacterium necrophorum* след детайлно генетично изследване. Другата статия е в същия аспект и е ревю, третиращо заболяване по копитата на коне и други копитни животни. В него са представени данни за бактериалните причинители на болестта, заразяването и възможностите за превенция.

От направения преглед на научното творчество на доц.Петров може да се заключи, че кандидатът за професор съчетава в своите изследвания много добре микробиологични, генно-инженерни и инженерни познания.

Основните научни приноси в представените научни изследвания виждам в следното:

А. Създаване на нови подходи при получаване на алкохоли с разклонена верига, а. използването на биосинтетичния път на аминокиселини за получаване на алкохоли като 2-метил-1 бутанол и 3-метил-1 бутанол; б. форсирани рН флуктуации при получаване на 1,3 пропандиол чрез ферментация на глицерол; в. генна модификация на *Klebsiella pneumoniae* така, че едновременно да озахарява и ферментира нишесте при получаване на 2,3-бутандиол;

Б. Нови данни за експресия, пречистване, свойства и имобилизиране на рекомбинантна циклодекстрин глюканотрансфераза от *E.coli*.

В. Откриване на нови свойства на млечнокиселите бактерии- получаване на нови щамове, които могат да ферментират върху нишесте; инхибиране на патогени чрез отделяне на бактериоцини; разграждане на нишесте до млечна киселина в един стадий;

Отражение на научните публикации на кандидата в литературата

Общият брой на научните публикации на Калоян Петров от началото на кариерата му е 45, които са цитирани, общо 181 пъти. Прави впечатление, че някои от статиите върху ферментационното получаване на алкохоли се радват на голям интерес, същото се отнася и за млечнокиселите бактерии. Последните статии на кандидата в тези области, вероятно също се очаква да се посрещнат добре в литературата. Общият импакт фактор на кандидата е 30.798, а личният е 12.084. Наред с това доц. Петров притежава много висок рейтинг 107.11 в ИИХ спрямо този, който се изисква - 92 по правилата на Института. Научните статии на кандидата са оформени и написани много добре, както на английски, така и на български език.

Препоръки. Бих препоръчала на кандидата да прилага и други методи за имобилизация на ензими, освен приложената силанизация, тъй като този метод е доста скъп от една страна, а от друга създадената химична връзка от тип "шифова база" е стабилна в тесен рН интервал. Бих препоръчала да се имобилизира също и продуцента на циклодекстрин глюканотрансферазата (*E.coli*)

Заклучение

Доц. Д-р Калоян Кирилов Петров се представя на обявения конкурс с много добра научна дейност в областта на биотехнологията и инженерната химия чрез използване на модерни подходи и методики. Разработваните проблеми са интересни, както от научна, така и от приложна гледна точка и му разкриват дълго срочни възможности за разработване с участие на смесени колективи.

В заключение смятам, че кандидатурата на доц.д-р Калоян Кирилов Петров за заемане на длъжността **професор**, напълно отговаря на изискванията на закона и аз я подкрепям с ДА.

14.05.2014г

Рецензент



Проф.дбн М.Кръстева