

## СТАНОВИЩЕ

Относно: защита на дисертационен труд на тема: „Получаване на 2,3-бутандиол от нишесте чрез рекомбинантен щам *Klebsiella pneumoniae* G31-A”

за придобиване на образователна и научна степен “доктор”,  
по научна специалност 02.10.09 „Процеси и апарати в химичната и биотехнологичната  
технология”

с кандидат **Флора Венциславова Цветанова**  
Научен ръководител: **Проф. Д-р Калоян Петров**

От: Доц. дбн **Маргарита Стоянова Камбурова**  
Институт по микробиология, БАН

С решение на НС на ИЕЕС (протокол № 2, т. 3/28.01.2016 г.) и заповед на Директора на Институт по Инженерна химия (ИИХ), БАН № 75/29.01.2016 г. съм определена за Член на научно жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на Флора Венциславова Цветанова.

### 1. Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем

2,3-бутандиолът е важна суровина за производство на редица продукти в химическата, хранително-вкусовата, фармацевтичната и козметичната промишлености, като добавка в горивата. Непрекъснатото разширяване на областите на неговото приложение и драстичното намаление на количеството на петрола, използван за производството на синтетична гума, пластмаса и разтворители определят интереса към биотехнологично производство, основано на евтини и възобновяеми суровини, което би се отразило на цената на неговото получаване и би съдействало за разработването на нови продукти. Такава евтина суровина е нишестето, третият по разпространеност, но най-лесно хидролизиращ се полизахарид в природата. Трудът на магистър Цветанова за разработване на ефективен биотехнологичен процес за синтеза на 2,3-БД с използването на нишесте е част от научните усилия за нарастване дела на екотехнологиите и биотехнологиите в националната икономика в съгласие с Националната стратегия за развитието на науката в България и научната стратегия на Европейския съюз „Европа 2020”. В този смисъл темата на дисертационната работа за свръхекспресия на  $\alpha$ -амилаза в продуцента на 2,3 БД *Klebsiella pneumoniae* G31-A, което да позволи в едностъпален процес хидролиза на нишестето и трансформация на продуктите на нейното действие в 2,3 БД е актуална, модерно звучаща, значима за науката и практиката и е дисертабилна.

### 2. Основни научни и научно-приложни приноси.

Въз основа на представените резултати докторантката формулира два приноса, като единия бих отнесла към научните (принос 2), а другия – към научно-приложните (принос 1). Като запозната с дисертационния труд намирам, че приносите са скромно представени. Като достижения на дисертационния труд бих добавила още два приноса: 3, Чрез свръхекспресия на AmyL е постигната необичайно висока за представителите на род *Klebsiella* амилазна активност (както се вижда от научната публикация на докторанта в списание с ИФ). 4, Разработеният биотехнологичен процес е едностъпален, което спестява време и човешки труд с реализиране на икономически и социален ефект.

Също така считам, че в изводите трябва да се акцентира на значението на получените резултати, поради което предлагам тяхното преформулиране:

Извод 2: Добавянето на IPTG стимулира експресията на гена *amyI* в *Klebsiella pneumoniae* G31-A.

Извод 3 – Кофакторът  $Ca^{2+}$  повишава амилазната активност, но намалява крайната концентрация на 2,3 БД поради инхибиращото действие на олигозахаридите, освободени от действието на амилазата.

Извод 4 – Добавянето на глицин към средата води до повишаване добива на 2,3 БД, дължащо се на улеснен транспорт на  $\alpha$ -амилазата през клетъчната стена.

Дисертационният труд демонстрира задълбочените научни познания в областта на 2,3-БД биосинтеза, както и професионални умения на дисертантката, придобити в две водещи за съответните научни организации лаборатории – лаборатория „Химични и биохимични реактори“, Институт по инженерна химия и лаборатория «Генна експресия», Институт по микробиология, БАН. Ясното формулиране на целта и логичната връзка между произтичащите от нея пет задачи, постановката на опитите и компетентното обсъждане на получените резултати демонстрират доброто познаване на материала и са доказателство за личния принос на докторантката в разработването на настоящия труд.

### **3. Описание и оценка на представените материали:**

Като член на научното жури ми беше предоставен дисертационният труд и автореферат. Дисертационният труд е конструиран по класическа за този тип работи схема – Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и Методи, Резултати, Обсъждане, Изводи, Приноси, Литература. Той съдържа 103 страници, 9 таблици и 20 фигури. В библиографската справка са включени 155 заглавия като 67 от тях са след 2000 г. Авторефератът пълно и достоверно отразява основните резултати, формулираните изводи и приноси на дисертационния труд.

Публикационната активност на дисертантката покрива изискванията на ИИХ за придобиване на научни степени, тъй като тя има две публикации по темата на дисертационния труд, отпечатани в периодични научни списания, от които една е в международно списание с висок Импакт фактор (3.337) и една е в българско списание без ИФ.

### **4. Отражение на научните публикации на кандидата в българската и чуждестранната литература.**

Въпреки че публикацията в международното списание е отпечатана едва през 2014 г. вече са забелязани 4 цитата (без автоцитати), което предполага и по-нататъшен интерес към този труд.

### **5. Критични бележки и препоръки към научните трудове на кандидата:**

1. Чрез определяне на сухо тегло да се установи какво количество биомаса съответства на 1 ОД и биомасата да се изразява в г/мл.
2. Да бъде проверена културалната течност на дивия щам *Klebsiella* за наличие на екзоензими (бета-амилаза и глюकोамилаза), които да хидролизират отделените от алфа-амилазата олигозахариди до глюкоза и малтоза.
3. Тъй като академичната степен „доктор“ освен научна е и образователна бих препоръчала стилът на дисертационния труд да не е толкова лаконичен. Например, в раздел Материали и методи подробно да се опише съдържанието на използваните

разтвори; как са били конструирани праймерите amyF и amyR; използваните методи да бъдат описани, а не само да се споменават референции. Същата лаконичност се наблюдава и при заглавията на фигурите, например във Фиг. 12 не се обяснява какви са колониите на Петриевата паничка и дали е включена контрола сред тях, съдържа ли агаровата среда някакъв антибиотик; във Фиг. 13 не е означена дължината на ДНК фрагментите отговарят двете ивици, фрагментите в маркера на каква дължина отговарят и т.н.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационният труд обобщава съществени резултати със значение за науката и практиката като демонстрира както задълбочени теоретични знания на докторантката, така и способност за самостоятелни, логично построени и задълбочени изследвания, чрез които се постига изпълнение на поставените задачи и реализиране на целта. Работата е актуална и комплексна – проведени са изследвания в областта на генното инженерство на микроорганизмите и биотехнологични процеси за получаване на 2,3-БД с използване на класически и съвременни методи в добра методична база. Въз основа на приведените аргументи за актуалност на проблематиката и оригиналните приноси, отразени в дисертационния труд давам своята висока оценка за неговата защита и препоръчвам на членовете на научното жури да присъдят на докторант Цветанова научната степен „Доктор”.

06.04.2016

Изготвил становището:  
Доц. дбн М. Камбурова

