

Р Е Ц Е Н З И Я

върху трудовете на доц. д-р инж. Любов Константинова Йотова, кандидат за ПРОФЕСОР по Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества

Рецензент : дхн. инж. Борис Василев Алексиев, професор при катедра “Химия и химични технологии” на Филиал – Разград към Университет “Ангел Кънчев” – Русе

На конкурса за професор по научната специалност 5.11. Биотехнологии (01.05.10 Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества), обявен от ХТМУ в Държавен вестник брой 50 от 01.07.2011 г. се е явил само един кандидат – доц. д-р инж. Любов Константинова Йотова. Тя е родена през 1956 г. в София, завършила е висшето си образование в Химикотехнологическия и металургичен университет през 1979 г. по специалността “Химична технология на дървесината”. От тогава до 1984 г. е работила в КФ “Петко Напетов” и Транспортен медицински институт – София, след което постъпва като химик в ХТМУ отначало в катедра “Органична химия” (1984-85 г.) и от 1985 г. – в катедра “Биотехнология”. През 1991 г. защитава докторска дисертация на тема “Конверсия на нискомолекулни субстрати с помощта на ензими, имобилизирани към целулозни носители” под научното ръководство на проф. М. Кръстева и проф. Г. Пеев. Като рецензент на този дисертационен труд, заедно с другия рецензент проф. Т. Николов, оценихме много високо постигнатите резултати.

До 1998 г. д-р Йотова е главен асистент и от тогава е доцент в същата катедра. Била е зам. декан на Факултета по химично и системно инженерство на ХТМУ (2002-2004 г.) и от 2010 г. е ръководител на катедра “Биотехнология”. Нейната разработка “Метод за активиране на синтетична мембрана”- част от докторската й дисертация - получава през

1991 г. златен медал на EXPO – Пловдив и определя в значителна степен по-нататъшното ѝ научно развитие. Доц. Йотова е член на Bioencapsulation group – Nant (Франция) и многобройни експертни групи у нас.

Най-съществените научни интереси и постигнатите резултати на кандидатката са в областта на ензимната химия, най-вече имобилизацията на изолирани ензими и цели клетки на ензимни продуценти. Специално внимание тя отделя на приложението на така създадените препарати в промишлеността, в опазване на околната среда, в медицинската диагностика и в създаването на биосензори. Заслужават упоменаване и постиженията ѝ в областта на анализа на токсични вещества и биопродукти. Доц. Йотова е била ръководител и член на колективи, които са разработили 12 национални и 8 международни проекти, по някои от които се работи и в момента.

Педагогическата работа на доц. Йотова е интензивна и разнообразна. През последните 5 години е изнасяла лекционни курсове по Технология на микробните трансформации, Инструментални методи за разделяне и анализ на биологично активни вещества, Основи на биотехнологията, Биосензори, Фармацевтични биотехнологии (на френски език), била е гост-професор по програмата Еразмус в Университета в Перуджа /Италия/ и е изнесла на английски език курс по Биосензори с 20 ч. лекции и 18 ч. упражнения (2005-2009 г.). Била е ръководител на една успешно защитила докторантка, двама са отчислени с право на защита и в момента ръководи един задочен и двама редовни докторанти. Първи автор е на “Практикум по биохимия” за студентите от ХТМУ. Автор е и на два курса на електронен носител за дистанционно обучение на студенти от Университета в Перуджа : “Determination of enzyme parameters” (editor M. Magni - 2007) и “Biosensors” (ed. M. Magni – 2010).

Общият брой на научните трудове на кандидатката е 76, но за този конкурс от значение са 16 труда, отпечатани в списания с импакт фактор,

14 – в списания без импакт фактор, 8 - в сборници от научни форуми с редактор и 19 участия в научни конференции и симпозиуми с доклади и постери. Представен е и списък със 117 цитати, сред които открих един автоцитат на съавтори на кандидатката. Повечето от цитатите са от чужди автори. Отлично впечатление прави фактът, че и по-старите работи продължават да събират внимание чрез цитиране, включително и през последните години. Това показва убедително актуалността на разглежданата научна тематика.

Най-съществените научни приноси на доц. Йотова в трудовете ѝ след хабилитацията за доцент виждам обобщено в следното :

1. Широко се използва съполимер от акриламид и акрилонитрил. Чрез въздействие с формалдехид се създават N - свързани метилолни групи, за които е известно от предшестващи изследвания на кандидатката, че са с много добра реакционна способност спрямо протеини и пептиди при определени условия. По този начин са имобилизирани клетки от *Trichosporon cutaneum*, чрез ензимните системи на който продуцент са постигнати много добри резултати при пречистване на промишлени отпадни води, съдържащи феноли (трудове № № 1, 33). Кинетичните изследвания, осъществени от авторите заслужават висока оценка. Проведено е и моделиране на изследваните процеси (трудове № № 17,31). Проучена е имобилизацията на споменатите клетки и върху целулозни носители (труд № 18), както и влиянието на мед върху растежа им (труд № 34). Изучена е и устойчивостта на тези клетки спрямо токсично действащи вещества – съдържащи бензеново ядро хидроксилни производни и 1- октанол (труд № 2). Намерени са и определени закономерности, които няма да разглеждам, тъй като са изведени върху малък брой примери (недостатък на тази работа).

Същият съполимер е приложен и в трудове №№ 23 и 3. В първия случай се разглежда биосорбцията на кадмий и мед чрез имобилизирани

клетки на *Trichosporon cutaneum*. Труд № 3 разглежда формирането, развитието и приложението на биофилм с участие на *Arthrobacter oxydans* 1388. Сравнява се ковалентното свързване на клетките с адхезията им и се констатира по-добри резултати в първия случай. Механичната здравина на матрицата се подобрява чрез добавка на целулозен ацетат бутират.

Активиран с формалдехид съполимер от акрилонитрил и акриламид е използван и при имобилизацията на холестерол оксидаза и пероксидаза (труд № 12). Двата ензима се имобилизират поотделно, но е показана възможност и за съвместна имобилизация. В последния случай при използване на гранулиран носител се оказва възможно колонно да се определя холестерол в храни (например в майонеза). Тази ензимна конструкция може да се използва до 300 пъти и според авторите методът е прецизен, лесен за изпълнение и изисква малко време. По аналогичен начин е постигнато и съвместното имобилизиране на уриказата и пероксидаза (труд № 13). Така е създаден метод за колонно определяне на пикочна киселина, което има съществено значение при заболяване от подагра. Разглежданият съполимер се използва успешно и в други случаи на имобилизация на ензими и антитела, включително и при мембранно изпълнение (трудове 25 и 26).

2. На значението и формирането на биофилм (аналогично на труд № 3) е посветен и труд № 4. В този случай като матрица е използван съполимер от хексанлактат и валеролактон. Авторите прилагат модерни методи : повърхностна плазмонна микроскопия и изобразителна елипсометрия за изследване на прикачените клетки и образуването на биофилм. За подобряване на наблюдението те прилагат и метални (алуминиеви) слоеве. В труд № 5 наблюдението се усъвършенства чрез пълна вътрешна рефлективна микроскопия. Използват се клетки от *Saccharom. cerev.* и *Escher. coli*. При тези изследвания матрицата е от поли

(метилметакрилат). Където е възможно авторите сравняват получените резултати с такива, добити чрез обичайната светлинна микроскопия. За разлика от последната, по този начин се получават количествени данни за размера на клетките и разстоянието им от повърхността.

Споменатият по-горе съполимер е нов за полимерната химия и логично е изследвано и неговото ензимно деградиране (труд № 20). Той се оказва подходящ, наред със съполимер от акрилонитрил и акриламид, и за създаване на биосензор за определяне на пестициди чрез имобилизирани ацетилхолинестераза или холиноксидаза (труд № 21). Този резултат заслужава, по мое мнение, висока оценка.

На образуването на биофилми е посветен и труд № 6. За синтез на органично/неорганични хибридни полимерни мембрани е приложена зол-гел технология в присъствие на титанови съединения и съполимер от акрилонитрил и акриламид. Авторите работят по два варианта : А – смесване на всички предшественици заедно (one pot mixing) и В – отделно получаване на неорганичната част на матрицата и след това смесване с органичната такава. Двата метода дават близки резултати, но вариант А е по-лесен за изпълнение. Клетките и в този случай са от *Saccharom. cerev.* Работата се характеризира с добро тълкуване на инфрачервени спектри, чрез които се следи включването на органичните съставки. На този вид матрици е посветен и труд № 22. Доц. Йотова е посветила и други свои трудове на възникването, стабилността и значението на биофилми – така в труд № 24 се изучава влиянието на полимерните субстрати, а съвместно с автори от Франция са разработени нови синтетични полимерни матрици, които включват и аминокиселини и имат отношение към възникването на биофилми (труд № 38).

3. На избелването по ензимен път на различни дървесни материали е посветена серия от трудове (№№ 7-11, 19, 29). Изучена е кинетиката на ензимното действие на търговския препарат Cartazyme NS-10 преди

избелване на дървесен пулп по химични методи. Изследвано е влиянието на началната ензимна концентрация и е изведено полезно за практиката уравнение. Авторите стигат до извода, че механизмът на ензимното действие е топохимичен и е свързан със зоналното протичане на процеса. Установено е значението на предекспоненциалния фактор за понижението на скоростта във връзка с пространственото пречене и промените в контактната повърхност (труд № 7). Търговският ензимен препарат Neutrase е използван и за хидролиз на някои протеини от пшеница и изучаване влиянието на хидролизните продукти върху активността на пероксидазата (труд № 30). Това изследване е проведено съвместно с колеги от Ташкентския химикотехнологичен институт.

За получаване на висококачествена опаковачна хартия се прилага ензимно въздействие върху пулп от тополова дървесина (труд № 8). За същата цел е използвана като продуцент и гъбичката *Phanerochaete chrysosporium* (трудове № 11, 19).

Чрез ензимно разграждане (ензим лаказа) на лигнина в ленените влакна се постига значително биоизбелване, тъй като именно лигнинът е отговорен за потъмняването на влакната. След въздействието на ензима се извършва и меко химическо избелване с натриев пероксид (труд № 9). В трудове № № 10 и 29 за разграждането на лигнина са използвани *Trichosporon cutaneum* R 57 и *Phanerochaete chrysosporium* .

Доц. Йотова използва ензимни препарати в технологията и на друг вид текстилни влакна. Търговски ензимни препарати са използвани и при изпиране на сурова вълна (трудове №№ 27 и 28).

4. На пептидни продукти са посветени също сериозни изследвания на кандидатката. Разработен е точно хроматографски – масспектрален метод за количествено определяне на тироидни хормони, техни метаболити и аминокиселини в черния дроб (труд № 14). Това изследване е от значение и за медицинската химия.

Инхибиращото действие на известни и новосинтезирани пептиди върху сериновите протеинази, които имат отношение към коагулирането на кръвта е изучено в трудове № № 15, 36 и 37). Един новосинтезиран пептид е дал най-добър резултат върху разглежданите протеинази, което намирам за съществен научен принос. Този труд има значение не само за химията на пептидите, но и за ензимологията и медицината. Като недостатък бих посочил много общо формулираното заглавие на труд № 15 “ Изследване на кинетичните параметри *in vitro* на сериновите протеинази...”, докато и трите извода от изследването се отнасят само за инхибиране.

Труд № 16 има съществено значение за пептидния синтез. Става дума за освобождаване на функции, временно блокирани с фенилацетилни защитни групи. Синтезирани са моделни пептиди, върху които е проведено ензимно отблокиране на споменатите групи. Ензимното отблокиране с пеницилин G ацилаза показва 75 % освобождаване при рН 9. Авторите постигат 100 % -ово отблокиране чрез добавка на никелов нитрат.

5. Определено място в трудовете на доц. Йотова е отделено на ензима липоксигеназа. Проведени са кинетични изследвания върху реакция, катализирана от този ензим (труд № 32). Продуцент на ензима е *Penicillium* sp., но са проведени и сравнения с ензим, изолиран от соеви зърна. Имобилизиранието е осъществено чрез съполимер от акрилонитрил и акриламид. Получените данни за имобилизирания препарат са сравнени с тези на свободния ензим и известно отклонение към алкалната област е констатирано по отношение на рН-оптимума. Добро впечатление прави сравняването на данните за гранулиран носител и за мембрана, изработена от същия съполимер. Тези данни са използвани при създаването на биосензор за афлатоксини (труд № 35).

Въз основа на извършения анализ на научните трудове на кандидатката може да се заключи, че те отговарят на обявения конкурс и съдържат

съществени научни приноси : получени са нови имобилизирани ензимни системи, които са приложени, както в изследвания с теоретично значение, така и за решаване на важни за практиката задачи; създадени са нови биосензори и са изпитани важни методични възможности.

Както беше отбелязано в началото на рецензията, доц. Йотова е представила “Практикум по биохимия“, в който е написала главите “Анализ и оценка на експериментални данни : основни правила и формули“, “Методи за изследване на ензими” и “Методи за изолиране и пречистване на ензими” (общо малко над 30 % от обема на Практикума). Написаните от нея глави са прецизно оформени на разбираем език и оставят много добро впечатление. Тя се представя успешно и с посочените вече лекционни материали за дистанционно обучение, издадени на електронен носител от Университета в Перуджа. Тези материали са прецизно оформени и са съобразени с целите на дистанционното обучение. В първия от тях констатирах една грешка, която съм склонен да приема за техническа.

Допълнителните показатели от дейността на доц. Йотова бяха изложени в рецензията и показват изключително широката ѝ работа не само като преподавател, но и активността ѝ като експерт. Имах възможност да се убедя и лично в широтата на международната ѝ научна и преподавателска дейност. Радва уважението на чуждестранните колеги към доц. Йотова и положителните им отзиви за работата ѝ.

Познавам кандидатката още от студентските ѝ години във ВХТИ и съм следил нейното научно развитие. Нейната непосредственост, старание, приветливост, трудолюбие и колегиално отношение са добре известни в колегията.

Критичните ми бележки към някои от трудовете са много ограничени и са изложени на съответните места в рецензията.

З А К Л Ю Ч Е Н И Е

Трудовете на доц. Йотова съдържат съществени научни приноси, както с фундаментално, така и с практическо значение, които бяха изложени вече в рецензията. Не случайно тази голяма по обем продукция е многократно цитирана не само от наши, а широко и от чужди автори.

Педагогическата работа на кандидатката се характеризира с многообразие и интензивност. Тя умее да работи с по-млади колеги и да предава знанията и уменията си.

От изложеното дотук се вижда, че доц. Йотова отговаря на всички критерии, които се предявяват към кандидати за исканата академична длъжност. Въз основа на това си позволявам да препоръчам на членовете на журито по конкурса да гласуват за избирането на доц. д-р инж. Любов Константинова Йотова за професор по биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества.

26.09.2011 г.

Рецензент :



/ Б. Алексиев /