

# РЕЦЕНЗИЯ

на дисертация на тема *"Получаване и ензимна модификация на биологично активни пектинови полизахариди"* за присвояване на образователна и научна степен *доктор* по професионално направление *"Химични науки"*, шифър *4.2*, научна специалност *"Биологична химия, химия на природните и физиологично активните вещества"*,

на *ас. Манол Христов Огнянов*, редовен докторант в "ЛБАВ-Пловдив" към ИОХ ЦФ-БАН, София, с научни ръководители *проф. дн Светлана Симова* и *доц. д-р Мария Крачанова*,

от *проф. д-р Цветан Димитров Обретенов*, дн, УХТ, Пловдив.

Изработването на настоящата рецензия ми беше възложено с решение на Научното жури от 09.05.2016, в състава на което съм включен със Заповед НО-05-05-12/03.05.2016, ИОХ ЦФ-БАН, София. Предоставените материали показват пълно удовлетворяване на законовите изисквания за провеждане на защитата. Авторефератът пълно и точно отразява основните постижения на дисертационната разработка.

## *I. Представяне на докторанта.*

Ас. Огнянов е роден на 20.11.1985 г. в гр. Варна. През 2004 г. завършва с отличие средно образование по специалност „Техника и технология на хляба и хлебните изделия“. През 2009 г. придобива диплома за висше образование за образователно-квалификационна степен *бакалавър* по специалност „Биотехнологии“ и професионална квалификация *инженер* от УХТ, Пловдив. Научно-изследователската си кариера започва след постъпването му като инженер-технолог в "ЛБАВ-Пловдив" към ИОХ ЦФ-БАН, където изработва и магистърската си теза, озаглавена „Ензими за изучаване структурата на биологично активни полизахариди“. От януари 2011 г. е зачислен като редовен докторант. През май 2012 г. участва в конкурсна процедура за „Подбор на пост докторанти и млади учени за едномесечни обучения във високотехнологични научни комплекси и инфраструктури“ по проект „Наука и бизнес“, а през октомври посещава Лабораторията по свободни радикали и патофизиология в Института по биофизика към ЧАН в гр. Бърно (Чехия). През май 2013 г. осъществява едномесечна специализация в Лабораторията по хранителна химия към катедрата по „Аграрни технологии и хранителна наука“ на Университета във Вагенинген (Нидерландия). През октомври 2014 г., съгласно план-програмата на проект „Получаване на нутрацевтици с антиоксидантно и имуностимулиращо действие“, осъществява оперативна командировка в същата лаборатория, където продължава усвояването на съвременните методи за получаване, модификация и характеристика на полизахариди. Участвал е в 10 научно-изследователски проекта, на един от които е бил ръководител, както и в над 10 конференции, семинари и симпозиуми. Автор е на 13 публикации, от които 5 в съавторство. От 1 февруари 2014 г. е



отчислен с право на защита и е назначен на длъжност *асистент* в ЛБАВ-Пловдив, където продължава своята изследователска работа.

## *II. Количествена характеристика и обща оценка на дисертационната работа.*

Многоплановата и синтезирано поднесена информация по дисертацията е разположена на 234 стр., от които 57 стр. Литературен обзор (24,4 %), 25 стр. Материали и методи (10,7 %), 119 стр. Резултати и обсъждане (50,9) и 33 стр. други текстове (Въведение, Съдържание, Литература и др.)(14,0 %). Таблиците са 38 бр., фигурите - 50 бр., а литературните източници - 295 бр. На ~30 стр. се намират важни за разработката Приложения. Тези количествени съотношения правят дисертацията много добре структурирана.

По дисертацията са публикувани 5 статии в реномирани научни списания. Има 9 докладвания на научни форуми. От статиите 4 бр. са цитирани 18 пъти от чуждестранни и наши автори. Тяхният IF е 4,923, а JIF - 2,3202. Тези данни са атестат за високата актуалност и ниво на получените от докторанта научни резултати.

Дисертационният труд е написан на много добър професионален език, при грижливо техническо оформление и логично, аргументирано и убедително подреждане на проблемите в самите раздели на ръкописа. Прегледът на литературата е многопланов, задълбочен, критично-аналитичен и много богато информативен. Лесно и убедително се възприемат голямия брой препаративни и аналитични методики, задачите на дисертацията, изводите, както и нейната основна част, посветена на резултатите и тяхната интерпретация. В обзора и при обсъждането на собствените резултати са използвани убедителен брой източници от водещите изследователи на пектиновите вещества и техните сътрудници, като Voragen (37 бр.), Крачанов (30 бр.), Pilnik (11 бр.) и др. На българския принос в опознаването на пектиновите вещества е отделено специално внимание. Този стремеж на докторанта Огнянов постоянно и критично да съизмерва своите резултати с постиженията на световно известни пектинови изследователи недвусмислено го нарежда сред знаещите, можещите и надеждните млади български учени.

Дисертационният труд съдържа главно приноси с научен характер, като съществената част от тях са безспорна новост за науката (хипотези върху състава и строежа на цели пектинови молекули, химичен състав и структура на голям брой фрагменти от пектиновите молекули, биологична активност на изолираните вещества, и др.). Другата част от приносите са оригинални разширения на познанията (характеристика на пектинови изолати от различни източници, приложение на ензими за изучаване на пектиновите молекули, и др.) и такива с приложен характер (производство на функционална напитка). Всичко отбелязано дотук създава достатъчно сериозни предпоставки за една успешна защита.



### ***III. Научна същност на дисертацията.***

Дълбоката същност на тази дисертация се изразява посредством постигнатото в изучаване на химичния състав и химичната структура на пектиновите молекули, разширяване познанието за биологичното поведение на изследваните пектинови вещества, тяхната задълбочена многоаспектна характеристика и възможността за практическото им използване. Но в същност ходът на осъщественото изследване е по-различен. Най-напред на избраните суровини от портокали, лимони, шипкови плодове и стебла от мурсалски чай е направена подходяща характеристика и от тях са изолирани полизахаридите, характеризирани с монозахарен състав и молекулна маса. На изходните пектини на цитрусови кори, праз и шипкови люспи е извършена ензимна модификация с endo-полигалактуроназа-I (II), а алкохолнеразтворимата част е модифицирана с галактуронан-разграждащи ензими. Модифицираните продукти са характеризирани чрез молекулна маса, монозахарен състав и хроматографски анализи. Разпределението по молекулна маса на хидролизните продукти, сепарирането и идентифицирането на олигомерите е осъществено посредством мултиензимен фингърпринтинг анализ. Направена им е спектрална характеристика. След това изследването навлиза в отговорното изучаване на биологичната активност на изходните и модифицираните пектини. В логичния край на докторантското изследване се разполага производственият опит за получаване на сок от арония, шипка и пектин. Дисертацията без съмнение напълно отговаря на посочените шифър и научна специалност.

Тази докторска разработка е пример за най-добросъвестно и прецизно извършване на огромен обем експериментална работа. В нейния ход ас. Огнянов овладява много препаративни и аналитични методи и техники, натрупва познания, и се изгражда като заслужаващ уважение млад изследовател.

### ***IV. Приноси на дисертацията.***

Дисертационната разработка е посветена на опознаването на 5 природни растителни обекта чрез получаване на информация за химичния състав и строеж на пектиновите им вещества, хода на ензимната им модификация и биологичната им активност.

#### ***Основни научни постижения:***

1. Направен е съществен принос в опознаването на пектиновите вещества чрез количествено изолиране на алкохолнеразтворимите пектинови фракции на портокалови и лимонови кори, праз, шипкова люспа, мурсалски чай, като е установено, че съществува съществена разлика в общото количество пектин и количеството на алкохолнеразтворимите фракции; основни монозахари в пектиновите молекули от портокалови кори са уроновите киселини и глюкозата, а в тези от праз преобладава глюкозата.



2. В резултат на разделяне на алкохолнеразтворимата пектинова фракция посредством вода и киселина е намерено, че изолираните пектинови вещества се различават по количество в зависимост от предварителната обработка на суровината и екстракционните условия; налице са сходства и различия в монозахарния състав, молекулните маси, степента на хомогенност, естерификация и ацетилиране, полифенолно съдържание; водноекстрахируемите пектини се отличават с по-висока молекулна маса и хомогенност от екстрахираните с разредена киселина; изказани са важни структурни съображения, свързани с присъствието на хомогалактуронанови и рамногалактуронанови (тип I) структури в пектиновите молекули.

3. За първи път извлечените от цитрусови плодове, шипка, праз и мурсалски чай пектини са охарактеризирани чрез показателя "степен на ферулоилиране". Приложен е нов подход за изчисляване на моларни съотношения между отделните захари, чрез който се получава информация за относителното рамногалактуронаново и хомогалактуронаново съдържание в изходни и модифицирани пектини.

4. Ензимната модификация на изолираните пектинови полизахариди е довела до натрупване на обилна и ценна нова информация за структурата на пектиновите молекули. С подчертано висока научна стойност е установено, че действието на endo-полигалактуроназа-I върху осапунени пектини от цитруси, праз и шипка води до намаляване на молекулната маса, хомогалактуронановото съдържание, увеличаване на молекулната хетерогенност и рамногалактуронан-I блокове и други; хомогалактуронан- и галактанразграждащите ензими потвърждават наличието на арабино-4-галактан и арабиногалактан-II в цитрусовите и шипковите пектини; водоразтворимите пектини от цитрусови кори и шипкова люспа съдържат пектинови полизахариди с различна степен на естерификация и разпределение на Me-естерните групи в тях.

5. Разкрити са интересни особености на ензимното действие (6 броя използвани ензими) в зависимост от структурата на основната пектинова верига; разположението, състава и строежа на нейните разклонения; количеството и разпределението на метилестерните и ацетоксигрупите в молекулата. Разширени са представите за широките възможности на пектолитичните ензими в изследване на пектиновите вещества.

6. От мултиензимния фингърпринтинг анализ и съпътстващите го други анализи е получена стойностна информация за структурата на хомогалактуронановите фрагменти и рамногалактуронан-I областта; разпределението на Me-естерните блокове и тяхното количество; клъстерно разположени неестерифицирани блокове с малка дължина, къси вериги от O-ацетилирани звена и тяхната локализация и други. Умело е използвана възможността за прецизна съпоставка между пектиновите структури на мурсалски чай, цитруси и шипка.

7. На базата на убедителни експериментални данни докторантът предлага около 100



броя първични химични структури на фрагменти от основната пектинова молекула, на нейни странични разклонения, както и 5 варианта на идея за възможния блоков строеж на пектиновата молекула. Резултатите са под печат в специализираното научно списание *Carbohydrate Polymers*, 2016, с IF 4.074.

8. Важна новост за науката са резултатите от обемните изследвания върху биологичната активност на изходните и модифицираните пектинови полизахариди. Оценени са антиоксидантната им активност, концентрационно- и времево-зависимото влияние върху антитуморната активност и системата на комплемента, способността да модулират функциите на чревната имунна система, слабо да активират продуцирането на реактивни форми на кислорода от фагоцити.

#### ***Приноси с приложен характер:***

Приложните приноси са свързани с получаване на функционална напитка чрез използване на концентриран екстракт от шипка и сок от арония в производствени условия:

1. Разработена е технология за получаване на функционална напитка от арония и шипка с добавен 0.4% ябълков пектин. Осъществен е производствен опит. Приложена е необходимата технологична документация.

2. Функционалната напитка е подложена на биологични изследвания в две медицински структури в Пловдив. Резултатите със стари плъхове показали добре изразен кардиопротективен ефект и антиейджинг ефект. При болни от диабет тип II пациенти се подобрява качеството на живот, като кръвната им захар се понижава от 8 до 12%.

#### ***V. Съображения и препоръки.***

Със задоволство отбелязвам, че към нито един от разделите на дисертацията нямам основание да отправя критични бележки. Това се отнася и за техническото оформление. Работено е високо отговорно и някои особености (голям брой натоварващи четенето съкращения, без част от които текстът няма да пострада, други няколко не са включени в листа на съкращенията, незначителни пропуски от технически или друг характер) са несъществени и не заслужават моето обсъждане.

В заключение ще отбележа, че дисертационната работа на ас. Огнянов, като един многопланов, комплексен и значим докторантски труд, достойно представя както неговите научни ръководителки проф. дн Симова и доц. д-р Крачанова, така и цялата "ЛБАВ-Пловдив" към ИОХ ЦФ-БАН, София. Надявам се българската пектинова школа да е спечелила още един обещаващ млад последовател.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Дисертационният труд е посветен на опознаване на химичната природа на биологично активните пектинови съединения и представлява задълбочено изследване, създадо богата възможност за многостранно повишаване на



професионалната подготовка на докторанта. Многогранната експериментална работа, получените научни и приложни резултати, както и убедителното им обсъждане, не оставят съмнение в пълното удовлетворяване на научните и образователните критерии за успешна защита.

С увереност предлагам на почитаемото **Научно жури** да присъди образователната и научната степен доктор на *ас. Манол Христов Огнянов*, редовен докторант в "ЛБАВ-Пловдив" към ИОХ ЦФ-БАН, София.

26.05.2016

Пловдив

**РЕЦЕНЗЕНТ:**

