

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р инж. Стела Иванова Георгиева-Кискинова, катедра „Аналитична химия”,
ХТМУ-София

ОТНОСНО: Дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност 4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества) от **инж. Милена Иванова Фунева-Пейчева**

Тема на дисертационния труд:

„ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АНТИХЕЛМИНТИ В ХРАНИ ЧРЕЗ HPLC/MS ”.

Научни ръководители: проф. д-р инж. Данчо Даналев и доц. д-р Тодорка Янковска-Стефанова

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е посветен на актуален проблем с научно и приложно значение. Проблемът с намиране на правилна терапия и минимизиране на резистентността към наличните лекарствени средства при лечение на хелминти в животинския и човешки организъм е значително нараснал през последните години. Антихелминтните средства се използват широко във ветеринарната медицина. Това налага необходимост както от аналитичен контрол, така и от разработване на чувствителни и бързи методи за детекция на антихелминтни лекарствени остатъци в различни биологични проби. Настоящият дисертационен труд разглежда разработване и валидиране на аналитични методи за количествено определяне на остатъчни количества от антихелминтни препарати Левамизол, Макроциклични лактони и Бензимидазолни съединения в проби от животински произход – матрици „мускул” и „мляко” чрез адаптиране, модифициране и валидиране към наличната апаратура и технически възможности на „Централната лаборатория по ветеринарно-санитарна експертиза и екология“ (ЦЛВСЕЕ) и „Българската агенция по безопасност на храните“ (БАБХ), като национален компетентен орган за контрол на храни.

Окомплектоване на предоставените документи

Инж. Милена Пейчева е отчислена с право на защита със заповед Р-ФХ32 на основание ППОД в ХТМУ и решение на Факултетния съвет на Факултета по химично и системно инженерство (протокол 55/18.02.21). Предоставя следните документи,

съгласно изискванията за откриване на процедура по защита на дисертационен труд на правилника на ХТМУ:

- Автобиография.
- Диплома за завършено висше образование, магистърска степен по специалност „Биотехнологии“;
- Заповед №Р-ФХ-50/16.02.2017 г. за зачисляване като редовен докторант при катедра: „Биотехнология“ по научна специалност 4.2 Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества);
- Протоколи за успешно положени изпити от кандидатския минимум - на 26.01.2018г. по „Университетско преподаване и научно изследователска дейност“, на 24.10.2018г. по английски език, на 21.06.2017г. по „Молекулен дизайн на биологично активните вещества“ и 13.11.2019г по „Биоорганична химия на природните и физиологично активните вещества“;
- Заповед № Р-ФХ-32/19.02.2021 г. за отчисляване с право на защита;
- Декларация за авторство;
- Списък с четири публикации по темата на докторската дисертация и пълни текстове на тези публикации;
- Оформен и подвързан дисертационен труд;
- Автореферат

Кратки биографични данни

Докторант Милена Пейчева е завършила висшето си образование в Химикотехнологичен и Металургичен Университет, София в ОКС „Бакалавър“ по специалност „Биотехнологии“ и ОКС „Магистър“ по специалност „Биотехнологии“ с много добър успех. Паралелно на основното си обучение, инж. Пейчева записва и успешно завършва допълнителна квалификационна специалност „Учител по химия и опазване на околната среда, общотехнически и специални учебни предмети“ към „Деканата по продължаващо и дистанционно обучение“ на ХТМУ-София. Има 19г. трудов стаж в областта на анализа като главен специалист и в последствие като експерт в отдел „Развитие на нови методи и анализ на ветеринарно медицински препарати“ (РНМАВМП) при ЦЛВЦЕЕ към БАБХ. Инж. Пейчева активно участва в работни срещи, организирани от референтни лаборатории на Европейския съюз в държави като Франция, Германия и Нидерландия. От 16.02.2017 г. тя е зачислена, като редовен

докторант в катедра Биотехнологии на ХТМУ с тема на докторска дисертация, съответстваща на основната ѝ дейност и сфера на работа.

Удовлетворяване на минималните изисквания съгласно Правилника

Инж. М. Пейчева е обобщила и представила резултатите по дисертационната си работа в общо четири научни публикации, една от които е в списание с висок импакт фактор (IF 3.498 (2012)), рефериращо и индексиращо се в Scopus и Web of Science (Georgi Stoev, Yue Xuan, Milena Peycheva, Michaela Scigelova “Quantitative assessment of the contribution of high resolution mass spectrometric analysis to the reliability of compound confirmation”, Talanta, 98 (2012) 19-27). Трябва да се отбележи, че публикуването на резултатите в списание „Talanta” е от особена висота, тъй като списанието е специализирано в областта на аналитичната химия и в частност разработване на нови техники и методи за анализ и напълно съответства на идеята на дисертацията. В дисертационния труд обаче слабо са засегнати резултатите и почти липсва дискусия по проблема, обект на разглеждане именно в посочената публикация. Въпреки това смятам, че стойността на публикуваната информация за оценка на приноса на маспектрометричния анализ с участието на инж. Пейчева е значителна, тъй като докторантката прилага количествения критерий за надеждност на идентифициране при маспектрометричното определяне върху своите резултати. Именно върху тази статия са и забелязани 14 цитата на чуждестранни учени, което потвърждава интереса и напредъка на науката в тази област. Две от останалите публикации са отпечатани в реферирани, извън посочените бази данни списания, а една се открива в редактиран сборник. Докторантката има и 8 участия на национални и международни научни форуми, където е разпространила и представила резултатите си пред широка научна аудитория. Четирите публикации по темата на дисертационната работа, 8-те участия в научни форуми и успешно положените изпити от докторантския минимум, показват, че инж. М. Пейчева удовлетворява, дори надхвърля, минималните изисквания, съгласно Правилника на ХТМУ, София, в двете направления: образователна и научна част.

Преглед и обща характеристика на дисертационния труд

Дисертационният труд на инж. М. Пейчева е много добре структуриран като цялостната информация по проблема е изложена на 135 стр., илюстрирана е с 52 фигури и част от резултатите са обобщени в 19 таблици. Ясно се отличават основните раздели, характерни за подобен тип ръкописи, а именно: въведение, литературен обзор, цел и задачи, експериментална част, заключение, основни приноси, библиография, както и приложен списък на научните публикации и участия на конференции. Съдържа

и списък на използваните съкращения, което значително улеснява четенето. Отчетливо се вижда, че за да вникне в проблематиката, обект на изследване в дисертационната работа, а именно търсене на нови методи за определяне на антихелминти в храни, М. Пейчева е направила задълбочен литературен преглед, състоящ се от: Класифициране както на основните хелминти, поразяващи живия организъм, така и на известните до момента антихелминтни средства, включващи голям брой съединения, групирани в зависимост от тяхната химична структура и спектър на действие; Описание на наличните в литературата физикохимични и биологични данни, механизъм на действие, приложение, мониторинг и преглед на използваните методи за анализ на основни класове антихелминтни средства като имидазолтиазоли (левамизол), макроциклични лактони и бензимидазоли. Това прави възможно правилния избор на подход при търсенето на нови методи за анализ на посочените биологично активни субстанции. Представени са и изводи от литературния обзор, демонстриращи запознатост с изследванията по проблема. Използваната литература, на която се позовава литературния обзор съдържа 127 източника, като над 50% от тях са от последните години.

Основните изводи от литературния обзор са предпоставка за формулиране на целта на дисертационния труд, а именно разработване и валидиране на аналитични методи за количествено определяне на остатъчни количества от антихелминтни препарати левамизол, макроциклични лактони и бензимидазолни съединения в проби от животински произход – матрици „мускул” и „мляко”. За постигането на заложените цели са формулирани четири конкретни задачи: 1) Да се разработи и валидира метод за количествен анализ на левамизол в проби от животински произход матрица „мляко”, като се създаде и/или оптимизира подходящ метод за пробоподготовка на избраната матрица. Методът да се валидира според изискванията на Решение на Комисията 657/2002/ЕО; 2) Да се разработи и валидира метод за количествен анализ на макроциклични лактони в проби от животински произход матрица „мляко” чрез HPLC с FLD, като се създаде и/или оптимизира подходящ метод за пробоподготовка на избраната матрица. Методът да се валидира според изискванията на Решение на Комисията 657/2002/ЕО; 3) Да се разработи и валидира метод за количествен анализ на бензимидазоли в проби от животински произход матрици „мускул” и „мляко” чрез LC/MS/MS, като се създаде и/или оптимизира подходящ метод за пробоподготовка на избраната матрица. Методът да се валидира според изискванията на Решение на Комисията 657/2002/ЕО; 4) Да се демонстрира приложимостта на валидираните методи

за остатъчни количества от левамизол, макроциклични лактони и бензимидазолни съединения при анализ на рутинни проби от матрици „мускул” и „мляко” от лабораторната практика на ЦЛВСЦЕЕ при БАБХ.

В следващата глава от дисертационния труд „Експериментална част“ на 9 стр. са описани начина на приготвяне на помощни и стандартни разтвори, методите на пробоподготовка и методиките за изпълнение на инструменталния анализ с използваните инструменти за анализ за постигане на поставените цели. В глава „Резултати и дискусия“ на 60 стр. са представени конкретните научни резултати, следвайки хронологично аналитичните процедури за изпълнение. Посочените изводи и приноси адекватно обобщават резултатите от проведените анализи и ясно показват изпълнение на поставените цели.

Актуалност на тематиката.

Изследванията в областта на разработване на нови чувствителни и селективни методи за аналитичен контрол на биологично активни субстанции в сложни биологични матрици с потенциално приложение в практиката са традиционно актуални. Остатъчни количества от ветеринарномедицински продукти в животновъдството и хранителната промишленост обикновено имат канцерогенно, тератогенно, мутагенно и хепатогенно действие и възможност да причиняват алергични реакции при хората. Тяхното присъствие може да се определи като следа от вещество в една матрица, прилагайки определен вид анализ. Постоянно се търсят нови подходи за анализ на следи от фармакологично активни субстанции в храни и продукти от животински произход, застрашаващи здравето на човека, което е и в съответствие с националните и европейските приоритети в областта на научните изследвания, какъвто е обектът на изследване на настоящия дисертационен труд.

Оценка на достоверността на материала

Нямам съмнение, че представените анализи и резултати по дисертационната работа на инж. Пейчева са достоверни. Самият факт, че разработените методи са внедрени в реалната лабораторна практика на държавен контролен орган ЦЛВСЦЕЕ при БАБХ потвърждава истинността и приложимостта на постигнатите резултати. В допълнение, направената верификация на методите за определяне на остатъчни количества от Левамизол, Макроциклични лактони и Бензимидазоли в биологични матрици чрез участие в междулабораторно изпитване, организирано от Референтна лаборатория на ЕС определя постигнатите резултати като задоволителни и доказва тяхната достоверност.

Приносите в дисертационния труд.

Приносите в дисертационния труд се състоят в разширяване на знанията и получаване на нови данни за методите за анализ на няколко групи антихелминтни съединения като:

- са разработени и оптимизирани методи за пробоподготовка на няколко групи антихелминти в животински матрици „мускул” и „мляко”;
- са разработени и валидирани методи за определяне на няколко групи антихелминти в животински матрици „мускул” и „мляко” чрез използване на най-съвременни биоаналитични техники, а именно LC/MS/MS и HPLC/FLD.

Като най-съществен принос бих отличила демонстрирането на реалното приложение на разработените методи за анализ на антихелминти в практиката на ЦЛВСЕЕ – официална лабораторията за контрол на храни при БАБХ.

Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд.

Обемът на автореферата е 71стр. и представлява съкратен вариант на същността на дисертацията като отразява извършената изследователска работа. Възпроизведени са основните наблюдения и изводи от дисертационния труд и са посочените адекватно приносите на дисертационното изследване.

Тип на изследванията

Дисертационният труд съдържа фундаментални резултати с приложна насоченост. Разработени и валидирани са методи за количествен анализ на активни субстанции в проби от животински продукти, водещи до получаване на нови методики за изпълнение в лабораторна практика. Приложната насоченост се доказва с демонстрираното реално внедряване на новите методи в лабораторната практика.

Участие на докторанта при постигане на резултатите в дисертационния труд

Не познавам лично инж. М. Пейчева, но прочитът на дисертационния ѝ труд, прегледа на автобиографията ѝ и участието ми в предварителната ѝ защита без съмнение ме въвежда на мисълта, че докторантката активно е участвала както в изпълнение на заложените експериментални задачи, така и в обобщаването на резултатите и представянето им пред научната общност под формата на публикации и участия в научни форуми. От предоставеният списък с участия на научни конференции се вижда, че в повечето от тях инж. М. Пейчева е първи автор, вярвайки, представящ по убедителен начин постигнатите резултати. Дългогодишният ѝ опит като експерт-аналитик безспорно е допринесъл за коректното изпълнение на поставените цели. Добро впечатление прави представянето на перспективи за бъдеща работа по темата на

дисертационния труд въз основа на постигнатите резултати, което е показател за желанието на докторантката за продължаващо развитие в областта на анализа на биологично активни вещества.

Критични бележки и въпроси

Критични бележки по представената дисертация нямам, но ще изложа някои препоръки, които биха били полезни при оформяне на бъдещи публикации и други научни трудове, без да намаляват стойността на дисертацията:

1. Откриват се някои неточности в аналитичната терминология като например: „основни и работни стандартни разтвори“ е по редно да се класифицират като помощни и стандартни разтвори, тъй като така представените в експерименталната част „основни“ разтвори не са стандартни.
-не е препоръчително използване на термина „бланкови“ проби. Редно е те да се обозначават като „празни“ проби.
2. Описанието на добре познатите и широкоизползвани в аналитичната практика методи за статистическа оценка на резултати от анализа би могло да се избегне – достатъчно е да се посочи вида на характеристиката на аналитичните резултати, която се оценява и типа на приложения критерий.
3. Качеството на някои от фигурите (например Фиг.22, Фиг.27, Фиг.38, Фиг.49) би могло да се подобри, за да има по-добра видимост и четливост на изложената информация.
4. Авторефератът би могъл да се представи по сбито, като се редуцират подробности и се акцентира само върху получените резултати и изводи.

Имам следния въпрос към докторантката:

На калибровъчните графики на стандартни разтвори и контаминирани проби матрица „мляко“ съответно с Ивермектин (Фиг.28), Дорамектин (Фиг.29), Абабектин(Фиг.30) и Моксидектин (Фиг.31) се забелязва отрез в линейните уравнения на представената аналитична функция, който в зависимост от неговата големина може да съответства на наличие на системна грешка. Как се доказва, че отрезът е незначителен и не повлиява точността на резултатите?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

В заключение мога да обобщя ще представената ми за рецензия докторска дисертация на инж. Милена Пейчева съдържа един голям обем експериментална работа

с постигнати значителни резултати в областта на разработването и валидирането на методи за анализ на антихелминти в храни, които представляват оригинален принос в науката. Актуалността на засегнатата проблематика, добре изложената информация, представяне на резултатите в 4 научни публикации напълно отговаря на изискванията за оформяне на дисертационен труд и на Правилника на ХТМУ за придобиване на научни степени. Всичко това ми дава основание да препоръчам на членовете на Научното жури да гласуват положително за присъждането на образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност 4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества) на **инж. Милена Иванова Фунева-Пейчева**.

18.10.2021 г. Рецензент :

/доц. д-р инж. Стела Георгиева-Кискинова/