

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертация на тема **„Кинетични и диелектрични изследвания върху биодеградация на фенол“**

за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

по научна специалност **„Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“**

на инж. Филадия Павлова Тилева-Дилчовска

Кратки биографични данни и научни интереси

Филадия Павлова Тилева-Дилчовска е родена през 1975 г. Средното си специално образование завършва в Техникум по хранително-вкусова промишленост „Атанас Ченгелев“ в гр. Пещера, а висшето като магистър по „Химични технологии“, специализация „Биотехнологии“ - в ХТМУ – София. Понастоящем работи като аналитик-химик в Аналитична секция – ДНИРД, „Биовет“ – АД – гр. Пещера.

Научните ѝ интереси, които прозират в цялостната ѝ производствена и научно-изследователска дейност, са в областта на аналитичните методи, биодеградацията на токсични замърсители, свързана с възможното ѝ реализиране и управление в реални технологии в практиката. По дисертационния труд има общо 5 публикации – 3 броя в реферирани списания и две, отпечатани в пълен текст в сборници от научни конференции, две участия в международни конференции и участие в два международни проекта – един финасиран от НАТО и един по Еразмус с Университета в Манчестър.

Преглед на дисертационния труд и анализ на резултатите

Дисертационният труд е посветен на изключително актуална тематика. Тя комбинира проблеми и направления, с важно теоретично и приложно значение. Към биодеградацията и биотрансформацията на токсични химически замърсители на околната среда – фенол, бензилов алкохол, пиридин, нафтаген, тежки метали е подхождано с комбинация от съвременни подходи в научно-изследователската – практика – Четири са основните акценти: 1) Използване на моделен биодеградент – дрождевият щам *Trichosporon cutaneum* R57, с възможности да се прилага в реални водопречиствателни процеси; 2)

Експериментално и моделно установяване на кинетичните параметри на биодegradацията на фенола чрез приложение на известните математически модели; 3) Проучване на инхибиращото действие на реални смеси – модели на отпадъчните води от коксопреработвателната промишленост чрез изследване на диелектричните свойства на свободно живущи и имобилизирани клетки. 4) Проучване на биодegradационния процес при различно съчетаване на реални замърсители с различна биоразградимост, токсичност и полярност.

Такава тетра комбинация от изследователски похвати веднага дава заявка, че ще последва експериментална и научна разработка с интересни за изследователската и водопречиствателна практика резултати.

Един пръв поглед на дисертационния труд показва, че той е структуриран според изискванията за подобен вид научни разработки. Изложен е на 118 машинописни страници, групирани както следва: въведение 3 страници, литературен обзор 30 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 15 стр., Резултати – 41, Дискусия – 13 стр., Изводи – 2 стр. и Приноси – 1 стр. Дисертацията е отлично оформена и богато илюстрирана – с 11 таблици и 43 фигури и микроскопски снимки.

Въведението и литературният обзор са написани компетентно и засягат широк кръг проблеми, които имат отношение към разработваната тематика. Подробно са разгледани спецификата на биодegradацията на фенола, като замърсител от коксопреработвателната промишленост, особеностите на различните таксони биодegradанти, осъществяващи фенолното разграждане в хомогенен и в имобилизиран вид, най-известните кинетични математически модели, описващи взаимовръзката на растежна скорост, концентрация на токсиканта и инхибиращото действие на токсичните-субстрати, основите на използването на диелектричните свойства за оценка на токсичността и инхибиращото действие на ксенобиотиците. Независимо от доброто общо конструиране на литературния обзор, може да се пожелае по-добра обвързаност между отделните му части, както и по-плавен преход между литературните факти и поставената цел и задачи. За в бъдеще е добре да се препоръча на младия изследовател да поддържа по-добра връзка и информираност за съвременните постижения на българските автори в тази

област. В литературния обзор могат да се посочат и някои терминологични неточности: като активната утайка е метод (стр.3), ксенобиотиците се разграждат от местната фауна (стр. 5), биодеградарища способност, големият инокулационен обем намалява токсичността (стр.13) и др. Целта и 5-те задачи са формулирани ясно и категорично.

Силна страна на дисертационния труд е богатият арсенал от съвременни методи, които са описани подробно и компетентно. Аналитичните техники са една от бъдещите професионални компетентности на младия специалист. Като доказателствен материал трябва да посоча – разнообразни култивационни техники на дрожди, ковалентна имобилизация на дрождеви клетки, активиране на полимерни гранули, аналитични микробиологични и биохимични методи – определяне на биомаса, на глюкоза, течна и газова хроматография за анализ на ксенобиотиците, атомно-абсорбционна спектрофотометрия за анализ на медните йони. Оригинални моменти в методичните подходи с бъдеща образователна стойност са – обобщението за прилаганите модели за кинетичните параметри на биотехнологични процеси в условията на инхибция – т.е., когато субстратът е ксенобиотик с двойствено действие – субстрат и инхибитор, и изследването на ксенобиотичното действие на ксенобиотиците чрез диелектричните свойства на микробната култура в периодичен и on line режим чрез специално конструирания biomass monitor.

Ако се фокусираме върху най-съществената, най-обемната и най-интересната от научно приложна гледна точка част от дисертационния труд – а именно собствените резултати на докторанта и екипа, стоящ зад него, можем да изнесем както обобщаващи следните групи резултати и акценти:

- 1) Изяснена е динамиката и кинетиката (чрез изчисляване на ключовите кинетични параметри) на растежа на *Trichosporon cutaneum* R 57, обвързан с тривиален (глюкоза) и ред ксенобиотични субстрати (фенол, бензилов алкохол, толуен, пиридин, нафтаген). Определени са константите на специфичната скорост на растеж, максималната скорост на растеж и константата на МОНО при различни фенолни концентрации. Определена е и критичната концентрация за свободноживущите клетки – 1000 мг/л фенол, макар, че тя не се разглежда като такава. Избран е

подходящ кинетичен модел за описание на процесите, който би бил интересен за бъдещо практическо приложение.

- 2) Горепосочените биодеградационни и кинетични характеристики са изследвани повторно, но при имобилизиране на дрождевия биодеградент в полимерни гранули от акрилонитрил-акриламид. В този случай се утвърждава като най-подходящ моделът на Холдейн.
- 3) Направено е сравнение за хода на фенолната биодеградация чрез свободно-живущи и имобилизирани дрождеви клетки при различна концентрация на фенола.
- 4) Получени са резултати относно устойчивостта на дрождевите клетки *Trichosporon cutaneum* R 57 спрямо различни токсични органични съединения посредством проследяване на натрупването на биомаса чрез biomass monitor, чрез проследяване промяната на капацитета на клетъчната суспензия.
- 5) Освен горепосочените акценти като следствие от резултатите трябва да се посочат направените заключения относно адаптивните възможности на биодеградента и бъдещи насоки как да се съхранява и как да се натрупва биомаса за биодеградация, как по-бързо да се постига по-висока биодеградационна активност, как да се управлява целево детоксикационният процес. Макар самият автор да не акцентува върху тези аспекти, аз считам, че при един нов прочит на резултатите могат да се извлекат още зависимости за управлението на реален водопречиствателен процес. Особено ако друг, нов акцент се постави върху скоростта и специфичната скорост на разграждане на фенола.

Дискусията в края на резултатите е написана с разбиране. Тя много добре ориентира получените резултати към тези от световната научна литература и практика, както и прави сравнение на конкретните резултати с тези на други автори за други таксони. Това сравнение утвърждава изследвания биодеградент и конкретните параметри на биодеградационен детоксикационен процес като перспективни за бъдещо приложение при съответното им

хармонизиране с реалното пречистване на води, замърсени с подобни на изследваните замърсители.

Логически дисертационният труд завършва с 11 извода групирани в три подраздела: 1) изводи относно ковалентно свързани клетки от *Trichosporon cutaneum* R 57; 2) относно кинетичните параметри на биodeградация на фенол от свободни и имобилизирани клетки *Trichosporon cutaneum* R 57; 3) относно токсичното действие на фенол, бензилов алкохол и н-октанол, измерено чрез диелектричните свойства на биоиндикаторния организъм *Trichosporon cutaneum* R 57. Това групиране на изводите различно от резултатите, показва, че докторантката свободно борави с изследователския материал и може да го обобщава от различни гледни точки. Част от изводите биха прозвучали по-добре ако се прередактират и им се придаде по-категоричен стил – например изводи 4 раздел I и изводи 1 и 2 раздел II могат да се освободят от разказния си характер.

Оценка на приносните моменти

Формулираните приноси моменти са 6. Те имат оригинален научен и научно-приложен характер. Напълно ги приемам и определено считам, че те са една от най-силните страни на дисертационния труд. Най-общо приносите се свеждат до: 1) Извършено е ковалентно свързване на *Trichosporon cutaneum* R 57 към синтетичен гранулиран полимерен носител. Реализираното фенолно разграждане от имобилизирания и несвързания към носител биodeградант е охарактеризирано по динамика в зависимост от фенолната концентрация и от повлияването на детоксикационния процес от други ксенобиотични замърсители; 2) Определени са кинетичните параметри на растежа на имобилизирания и свободноживущия биodeградант на фенол, като са намерени най-подходящите математически модели, описващи растежа в хода на фенолна биodeградация. 3) Изследвана е устойчивостта на *Trichosporon cutaneum* R 57 спрямо органични ксенобиотици чрез измерване на диелектричните промени. Приемам и 6-тия принос, но добре би било към него да се прибави терминът „моделни отпадъчни води“

Критични бележки

1. Добре би било текстът да се изчисти от терминологични неточности като „почвена дрожда“, „биодеградирана“, „клетъчна биомаса“, правилно е „механизми на резистентност“, а не „резистентни механизми“, разгражда се фенола в дадена концентрация, а не самата концентрация и др. Считам, че това ще се постигне при творческото съзряване на докторантката.
2. На фенола се гледа като на субстрат, но подобно поведение би трябвало да имат и останалите органични ксенобиотици и тяхното количество би могло да се проследи.
3. Част от дискусията има характер на литературен обзор.
4. Не е описано как е определяна биомасата на имобилизираните клетки. Под микроскопските снимки не е посочено увеличението.
5. Извод III 3 може да се прецизира.

Тези забележки не намаляват стойността на дисертационния труд. Те са изцяло с градивен характер и в тази логическа последователност мога да отправя и някои препоръки.

Препоръки

На всички фигури, обвързващи динамиката на натрупване на биомаса с динамиката на остатъчния фенол в средата е написано „скорост на изчерпване на субстрата“. Всъщност се проследява динамиката на остатъчния фенол. Моята препоръка е действително да се изчисли скоростта на биодеградация на фенола и специфичната скорост на биодеградация на фенола отнесена на единица активна биомаса. Това е един друг прочит на вече публикуваните данни, което ще даде възможност със същия експериментален материал да се навлезе в биодеградационните механизми и локализацията на детоксикацията в микробната биомаса.

Би било да се оформи малък раздел с индуктивни и конститутивни оксигенази, тогава ще стане ясно защо посевният материал трябва да се култивира на среда с глюкоза и фенол, а не само на глюкоза, така ще се избегнат някои тривиални вече за биодеградационната теория твърдения относно адаптивните възможности на биодеграданта.

Всичко това разбира се е пожелание за бъдещото развитие и израстване на докторантката.

Докторантката е изпълнила индивидуалния си план като е взела всички предвидени изпити от кандидатския минимум. Авторефератът достоверно отразява изложените в дисертационния труд резултати.

Личните ми впечатления от докторантката са само от предварителната защита, на която тя ми направи добро впечатление с компетентността си и свободата, с която боравеше с литературните факти и собствените резултати. По-добре познавам екипа, в който тя е работила. Мнението ми за него е високо и считам, че той е дал на младия изследовател не само солидна теоретична и практическа подготовка, но и отлична база (като изследователски и личностни качества) за бъдещото ѝ ускорено развитие.

Заклучение

Въз основа на направения по-горе анализ, като отчитам едновременно достойнствата на дисертационния труд, и на неговия автор, убедено предлагам на членовете на научното жури да гласуват в съответствие с чл.10 и чл.11 от ЗРАСРБ и чл. 27 от Правилника за неговото приложение, на инж. Филадия Павлова Тилева-Дилчовска да бъде присъдена образователната и научна степен „Доктор“ по научната специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества“

20.06.2011 г.

Рецензент:



(проф. дбн Яна Топалова)