

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Пенка Ангелова Мончева, д-р, Софийски университет „Св. Кл. Охридски“, Биологически факултет

на дисертационен труд, представен за защита пред научно жури, сформирано със заповед на Ректора на Химикотехнологичен и металургичен университет за получаване на образователната и научна степен „доктор“

Автор на дисертационния труд: Невена Александрова Лазарова

Тема на дисертационния труд: „Биосорбция на йони на тежки метали от шам *Trichosporon cutaneum* R57“

1.Общи сведения за докторанта

Невена Александрова Лазарова е родена през 1986 г. Тя получава бакалавърска степен през 2009 г в Химикотехнологичен и металургичен университет и квалификация Инженер-биотехнолог. Придобива магистърска степен по Инженерство (Биотехнологии) в Университета в Олборг – Дания през 2011 г., а магистърската си дипломна работа изработва в Авеиро, Португалия. От 2012 година е редовен докторант в катедра „Биотехнология“ към ХТМУ. По време на докторантурата тя е пребивавала в Университета в Хамбург, където е извършвала експериментална работа, свързана с дисертацията. Владее отлично английски и немски език. Притежава качества за работа в екип и чуждоезична среда, което е много важно за бъдещото ѝ развитие. Невена Лазарова има много добра публикационна дейност - общо 10 публикации, 5 от които публикувани в списания с импакт фактор, 1 в международно списание без импакт фактор, 3 в български списания без импакт фактор и един доклад от международна научна конференция, отпечатан в пълен текст. Участията ѝ в международни и национални научни форуми са 15. Три от публикациите с нейно участие са цитирани общо 12 пъти, което е признание за тяхната значимост. Участвала е в изпълнението на 8 проекти, два от които финансирани от МОНМ и 6 - от Фонда за научни изследвания на ХТМУ. Тя има и сериозна педагогическа дейност – провежда упражнения по Микробиология, Техническа микробиология (на немски език), Биохимия (на немски език) и Микробиология (на английски език). Била е консултант в изготвянето на 4 магистърски дипломни работи (две, от които на английски език), две бакалавърски дипломни работи и един стажант. Участвала е в четири обучения и семинари, три от които в чужбина (Чехия, Италия и Германия).

2. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Замърсяването с тежки метали, основният източник за което са ефлуентите от някои индустриални процеси като металургията, галванопластиката, химически производства и др. представлява висок риск за живите организми. Повишените нива на йоните на метали като Cd, Pb, Hg, Cr, Cu са токсични както за макро-, така и за микроорганизмите. В хода на еволюцията някои микроорганизми са развили различни механизми, чрез които си осигуряват резистентност към тези йони, което им дава възможност да преживяват и съхраняват своята жизнеспособност в присъствие на високи концентрации на тежки метали и да ги абсорбират за определен период от време. Тази тяхна способност може да бъде използвана от човека за биоремедиационни цели. В този смисъл изучаването на процесите на акумулация на тежки метали от микроорганизмите представлява интерес в екологичен аспект за изследователите и обществото. Използването на биологични системи в процесите на почистване на околната среда от различни замърсители има редица предимства пред другите технологии – ниска цена, висока ефективност, липса на употреба на агресивни и концентрирани химикали и др. Ето защо изучаването на биосорбцията на тежки метали от различни микроорганизми, което е предмет на рецензирания дисертационен труд е актуално и значимо в редица аспекти – екологичен, икономически, фундаментален и т.н.

3. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е построен по стандартния начин и е съставен от 9 раздела: Увод (2 стр.), Литературен обзор (46 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и методи (13 стр.), Резултати и дискусия (40 стр.), Обобщение (2 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (1 стр.), Списък на използваната литература (съдържа 240 източника). Общият обем на труда е 140 А4 формат страници.

3.1. Литературен обзор

Обемът на литературния обзор е приблизително 1/3 от общия обем на дисертацията, което считам за оптимално. В него докторантът разглежда въпроси, свързани с темата на дисертационния труд. Вниманието е фокусирано върху следните по-важни въпроси: Разисквани са токсичните ефекти, които йоните на металите, предизвикват върху микроорганизмите и формирането на резистентност към тях; Оксидативният стрес, който йоните на металите предизвикват при микроорганизмите и неговото влияние върху

физиологичните им процеси и тяхната метаболитна активност; Конвенционалните методи за отстраняване на йони на тежки метали (химичното утаяване, йонообменът, електролизата, мембранната филтрация, електродиализата); Биосорбцията, с която се описват процесите на адсорбция и абсорбция на различни субстанции, в това число и на метални йони от жива или мъртва биомаса; Формиране на биофилми от микроорганизми, които намират приложение в биоремедиацията на тежки метали; Филаментозните дрожди от род *Trichosporon*; Кинетиката на сорбционните процеси; Нерешените проблеми по темата. Обзорът на дисертационния труд е много конкретен, целенасочен, написан на хубав научен стил. Обобщена е най-нова информация по въпроса. Около 71% от цитираните източници са след 2000 г., което е показател за съвременния характер и актуалност на темата на дисертационния труд. Докторантът е отбелязал и българския опит в това направление. Обзорът разкрива много добрата теоретична подготовка на докторанта, умението да се позовава на подходящи литературни източници, там където това е необходимо.

Струва ми се, че частта, разглеждаща кинетиката на сорбционните процеси би трябвало да следва веднага след разглеждането на биосорбцията.

3.2. Цел и задачи

Целта на дисертацията е формулирана ясно и много точно. Нейното постигане докторантът е предвидил чрез изпълнението на също ясно дефинирани пет задачи, много добре обвързани с целта и нейното реализиране.

3.3. Материали и методи

Разделът съдържа прецизно описани използваните в работата материали (апаратура, микроорганизми, хранителни среди, хибридни материали като носители, реактиви, софтуерни продукти) и методи, свързани с култивирането на използвания като обект микроорганизъм, методите за определяне на концентрацията на клетките, микроскопски методи, включващи светлинна и сканираща електронна микроскопия, методи за определяне на биомасата, инфрачервена спектроскопия, определяне на белтък, получаване на безклетъчен екстракт, методи за определяне на СОД и каталаза, аналитични методи при анализ на белтъци, определяне на свободни окси-радикали, определяне съдържанието на гликоген и трехалоза и фенол, метални йони и равновесието на сорбция. Докторантът е овладял и приложил много широк набор от подходящи и разнообразни класически и съвременни аналитични методи при изпълнението на задачите, което гарантира тяхната достоверност.

3.4. Резултати и обсъждане

В този раздел са изложени и дискутирани получените от докторанта резултати по реда на поставените задачи, което улеснява читателя и показва неговото умение да оформя и представя резултатите логично и последователно. Те са илюстрирани богато чрез 2 таблици и 42 много добре изработени фигури.

Изследвана е морфологичната характеристика и растежът на използвания в работата дрождев шам при периодично култивиране в присъствие на глюкоза като единствен въглероден източник. Представени са резултатите за минималната и максималната инхибиторна концентрация, както и леталните за щама концентрации на хроматни, кадмиеви и медни йони и техният ефект върху растежа, виталността и неговата морфология при култивиране в присъствие на тези йони. Показани са настъпващите промени в морфологията и растежа. Изследвано е влиянието на многократно увеличени концентрации на тези йони за проследяване на способността им да индуцират оксидативен стрес при *T. cutaneum* R57. Установено е, че такива концентрации на хром, мед и кадмий предизвикват оксидативен стрес при изследвния шам като един от механизмите на метал-индуцираната токсичност. Показано е, че степента на стреса не зависи от принадлежността на йоните към семейството на редокс-активните или редокс-неактивните метали, но зависи от тяхната концентрация. Доказани са промените, които настъпват в биомаркерите на стреса – ускорено генериране на свободни окси-радикали, повишаване нивото на оксидативно увредените белтъци, както и ускорената синтеза и консумация на гликоген и трехалоза. Изследвано е влиянието на металните йони върху ензимната активност на СОД и каталаза, като е установено, че активността на двата ензима се увеличава в присъствие на нарастващи концентрации на метални йони. Представени са резултати за сорбционната способност и равновесието при сорбция на свободни и имобилизирани дрождеви клетки. Установен е най-висок процент на извличане при медни йони (на втория час от добавянето му), което докторантът обяснява с по-ниските концентрации на мед, които са използвани, в сравнение с другите два метала, което води до бързо насищане на сорбционните места в клетъчната биомаса. Въз основа на експерименталните резултати са създадени равновесни модели с оглед на сравнение между свободни и имобилизирани клетки. Чрез тях и СЕМ докторантът доказва успешното приложение на хибридните материали на основата на хидроксипропил целулоза. При сорбцията на хроматни и кадмиеви йони са установени по-високи стойности за сорбционния капацитет на имобилизираните клетки в сравнение със

свободните. Чрез инфрачервена спектроскопия са установени функционалните групи от клетъчната биомаса, които участват в процесите на биосорбция. Представени са резултатите за способността на *T. cutaneum* R57 едновременно да разгражда фенол и да сорбира медни йони. Тази способност на щам е добре изразена при висока концентрация на биомасата, което прави този щам перспективен за пречистването на отпадни води със смесено замърсяване с фенол и медни йони.

Докторантът е коментирал получените от него резултати в сравнителен аспект с изследвания на други автори.

Извършена е доста голяма по обем експериментална работа на много добро методично равнище. Проведени са прецизни експерименти в необходимия брой повторения, което ме убеждава в достоверността на получените резултати.

3.5. Обобщение

В този раздел от дисертацията е направено сбито обобщение на извършената работа, което много улеснява читателя и намирам идеята за неговото написване за много добра.

3.6. Изводи и приноси

Въз основа на експерименталната работа дисертантът прави 9 извода, които произтичат логично от получените резултати и са формулирани много ясно и последователно. Във връзка с извод 5 бих искала да попитам, какво се разбира под „претоварване на антиоксидантната защита“ и какво представлява?

Дисертационният труд съдържа приноси, които имат фундаментален и приложен характер. Предоставя се нова информация за резистентността на изследвания щам дрожди (*T. cutaneum* R57) към мед, кадмий и хром и морфофизиологичните промени, които настъпват в отговор на покачващи се концентрации на йоните; Допълва се с нови данни участието на оксидативния стрес в механизмите на индуцирана токсичност на редокс-активни и редокс-неактивни метали, като са хракатрезирани биомаркерите на стреса и активността на антиоксидантната ензимна защита; Получени са коефициентите в BET изотерми за сорбция на изследваните метални йони от свободни и имобилизирани клетки на дрождите *T. cutaneum* R57, като е установен и сорбционният им капацитет; Установената способност на щам едновременно да разгражда фенол и да сорбира медни йони има значение за практическото му използване при пречистване на отпадни води.

4. Участие на докторанта в изработването на дисертацията

Не познавам отпреди докторанта Невена Лазарова, но нейното представяне на предварителната защита в първичното звено, както и водещата ѝ позиция в научните публикации, свързани с дисертацията, ми дават основание да смятам, че тя е нейно дело като е осъществена разбира се под умелото ръководство на нейните научни ръководители.

5. Препоръки, забележки и въпроси

Нямам забележки по същността на дисертационния труд. Прави впечатление, че преобладаващата част от отправените забележки по време на предварителната защита, които имаха технически характер са отстранени. Бих отправила следната препоръка:

1. Когато се говори за растежа на изследвания шам в присъствие на метални йони (фиг. 14, 17, 20) считам, че по-правилно е, оптичската плътност да се преобразува в брой клетки като предварително се построи стандартна крива.

6. Публикации във връзка с дисертационния труд

Докторантът е представил списък на научни публикации и участия в научни форуми, свързани с темата на дисертационния труд.

Невена Лазарова има три излезли от печат научни публикации, на 2 от които е първи автор. Една от публикациите е в списание с импакт фактор. Тя има и 15 участия в международни и национални научни форуми. Научната ѝ продукция показва, че тя е активна не само в извършването на експериментална работа, но и в обобщаването на резултатите от нея и подготовката им за публикуване и докладване.

7. Автореферат

Авторефератът е изготвен, съобразно изискванията и вярно отразява резултатите от дисертацията като в съкратен вид са представени най-важните неща от всички раздели (без литературния обзор).

8. Съответствие на придобитата компетентност с изискванията на образователната и научна степен „доктор”

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантът Невена Лазарова е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат групирани по следния начин:

- усвоила и разширила е знанията си в конкретна научна област: биосорбция на йони на тежки метали от шам *T. cutaneum* R57 с цел изследване на неговите възможности за

извличане на йони на тежки метали от отпадни води и изясняване на оксидативния отговор на клетките. Придобила е умения за прилагане на микробиологични, биохимични и аналитични методи за разрешаване на конкретни изследователски задачи.

- развила е уменията си за работа с научна литература, анализирайки и обобщавайки научната информация.

- надградила е методичните си умения

- развила е уменията си самостоятелно да оформя и дискутира резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, да прави изводи на базата на тях, да оформя резултатите си в научни публикации и да ги докладва на научни форуми.

Всичко това ми дава основание да смятам, че Невена Лазарова е придобила компетенциите и уменията, които се изискват за получаване на образователната и научна степен „доктор”.

9. Заключение

Въз основа на гореописаните аргументи оценявам положително и високо предоставения ми за рецензиране дисертационен труд. Извършването на експерименталната работа, оформянето на дисертационния труд, включващо представянето и дискутирането на резултатите, доброто им илюстриране, ми дават основание да смятам, че в хода на докторантурата Невена Лазарова е усвоила теоретични знания и методични умения, напълно съответстващи на изискващите се за образователната и научна степен „доктор“ и се е изградила напълно като млад учен. Извършено е обширно изследване чрез умелото съчетаване на разнообразни методи, което е станало възможно на базата на отличната теоретична и методична подготовка, придобита в предишните степени на образование и доразвита в хода на докторантурата. Дисертационният труд има приносен характер както във фундаментален, така и в приложен аспект.

Въз основа на гореизложеното, както и предвид Правилника за приложение на закона за развитие на академични състав в Република България и този на ХТМУ считам, че настоящият труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на Научното жури да присъди образователната и научна степен „доктор” по научна специалност 5.11. Биотехнологии (Биоорганична химия, химия на природните и физиологичноактивните вещества) на Невена Александрова Лазарова.

31.07.2015 г.

София

Подпис:



(проф. д-р П. Мончева)