

## РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен  
“доктор”

Автор на дисертационния труд: Галина Димитрова Йорданова

Тема: **Биодеградация на фенол и фенолни производни с имобилизирани микробни клетки.**

Научна специалност: 02.11.11.“Технология на биологично активни вещества“

Рецензент: доц. д-р Красимир Георгиев Василев

Кат. “Биотехнология” Университет “Проф. д-р Асен Златаров”

Дисертационният труд е в областта на микробната катализа и по специално това изследване е посветено на биодеградацията на фенол и негови производни с имобилизирани клетки върху модифицирани полимерни носители .

Представената ми за рецензиране дисертация съдържа 119 страници. включително литература с цитирани 164 източника 13 табл. и 22 фиг.

Дисертацията е структурирана по следния начин: въведение-2стр., теоретична част-43 стр., експериментална част-14 стр., резултати и обсъждане-36 стр., изводи, приноси и литература.

В раздела “Теоретична част” са представени както предимствата на свободните и имобилизирани клетки, така и предимствата на имобилизираните клетки пред това на ензимите.

Направен е преглед на различните носители които намират приложение за имобилизация на различни микроорганизми като: алгинати, полиакриламид, порести стъкла и др. Също така добре са описани

различните методи за имобилизация като: адсорбция, електростатично свързване, химична с образуване на ковалентни връзки и др.

Хлорофенолите широко замърсяват почвите и подземните води и те се класифицират като приоритетни замърсители съгласно Американската агенция по опазване на околната среда. В обзора се посочва, че биологичните трансформации чрез микроорганизми, е един от основните варианти, които могат да бъдат използвани за решаване на проблемите на околната среда свързани със замърсяването, причинено от хлорофенолите.

В литературният обзор е отделено внимание и подробно описани механизмите на разграждане с микроорганизми на фенол и неговите производни- 4-нонилфенол и бисфенол А.

В края на тази част е направена пълна характеристика на двата щама *Trichosporon cutaneum* R57 и *Aspergillus awamori* NRRL3112. Подробно е описано и усвояването на фенол и фенолни производни от посочените два щама.

Докторанката се е справила успешно със задачата като се е запознала с основните видове имобилизации на микробни клетки използвани за биодegradация на ксенобиотици.

В тази част се срещат и някои неточности:

1. На стр.22 наименованието на бисфенол А е представено като 2,2-бис(4-хидроксифенол)пропан, а правилното е 2,2-бис(4-хидроксифенил)пропан.
2. На стр. 26 е написано- янтарна киселина и пирогроздена киселина, а по-правилно е да се запише сукцинат и пируват.

Независимо от тези забележки, считам, че докторанката като цяло се е справила много добре с образователната цел на докторантурата.

Във втория раздел се формулират целта и задачите на дисертацията:

Създаване на имобилизирани системи на дефинирани единични и смесени култури на щам *Trichosporon cutaneum* R57 и *Aspergillus awamori* NRRL3112 и изследване на биодеградационните им възможности спрямо фенол и фенолни производни.

Считам, че поставената цел и свързаните с нея задачи са актуални. Те дават възможност за получаване на научно-приложни резултати в областта на микробно катализираните реакции.

В експерименталната част подробно са описани всички методики по модификацията на мембраните и имобилизацията на двата щам.

Най-съществената част от дисертацията е биодеградацията на фенол и неговите производни. Иmobилизираните клетки на *Trichosporon cutaneum* и *Aspergillus awamori* върху ПАН (полиакрилонитрил) и ПА (полиамид) са изследвани при биодеградацията на фенол и е установено, че с ПАН мембраната активността е 95% а с ПА 83 %. Изследвани са и различни концентрации, но няма разлика в активностите между двете мембрани.

Проведени са експерименти с имобилизирани клетки на *Trichosporon cutaneum* върху модифицирана ПАН мембрана в осем цикъла. Пълно разграждане при първия цикъл се постига за 48 ч., в следващите цикли времето намалява до 18 ч. при седмия цикъл. Подобни изследвания са проведени и с имобилизирани клетки на *Aspergillus awamori* върху модифицирана ПАН мембрана.

Извършена е и имобилизация на *Trichosporon cutaneum* и *Aspergillus awamori* върху полиамидни гранули и са проведени експерименти с адаптирани и не адаптирани клетки. Установено е, че с имобилизираните адаптирани клетки биодеградацията е по-ефективна.

За да се установи кой шам има по-голям принос при биодegradацията, са получени имобилизирани системи при различно съотношение на *Trichosporon cutaneum* и *Aspergillus awamori* съответно 1:1, 1:4 и 4:1. Експерименталните резултати са показали, че при съотношение 1:4 в полза на *Aspergillus awamori* биодegradацията се извършва с по-висока скорост. В този случай Г.Йорданова е намерила обяснение за получените резултати чрез синергично действие на комбинираната система.

Изследвана е и биотрансформацията на девет фенолни съединения: 2-хлорофенол, 3-хлорофенол, 4-хлорофенол, 2,4-дихлорофенол, 4-нонилфенол, 3-метоксифенол, бисфенол А, 4-хлоро-3,5-диметилфенол и 2-бензил-4-хлорофенол. Усвояването на фенолните производни е най-високо при фенол, бисфенол А и 2,4-дихлорофенол (100%), следвано от 3-метоксифенол (72%) 3-хлорофенол (54%) и 2-хлорофенол (50%) при концентрации 0,1г/л в продължение на 40 ч.

Тези резултати са важни за практиката, тъй като е известно, че бисфенол А и в по-малка степен 4-нонилфенола притежават естрогенна активност.

Направени са 12 извода които отразяват коректно получените експерименталните резултати.

Към тази част имам следните забележки:

1. Добре би било, да се използва някой от методите като HPLC, GC IR-FT поне за малка част от фенолните съединения. От литературата е известно, че в резултат на метаболитната активация на някои субстрати се получават токсични метаболити които са по-активни от самия субстрат.

2. Считаю, че дванадесет извода са много. Според мен 1 и 4 могат да отпаднат.

Към Г. Йорданова имам и два въпроса:

1. Срещали сте подобни експерименти да се провеждат с “почиващи клетки” и ако отговора е положителен, каква е тяхната активност в сравнение с имобилизираните клетки?

2. Как може да се обясни факта, че 3-метоксифенола (който съдържа метокси група която силно активира ароматната структура благодарение на +M ефект) има по-ниска активност в сравнение с 2,4-дихлорофенола (той съдържа хлорни атоми които дезактивират ароматната структура поради -I ефекти)?

Работата включва и основни приноси които имат научна стойност. Резултатите, представени в дисертацията са описани в 4 научни съобщения от които 3 са публикувани в списание с IP ( Process Biochemistry-2.008: Biodegradation-1.873: Biotechnol. Biotechnol. Eq. - 0.76) а четвъртото съобщение в сборник / пълен текст/. Трябва да се отбележи, че тези резултати в значителна степен надхвърлят изискванията на Университет “Проф. д-р Асен Златаров” за образователна и научна степен “доктор”. Забелязани са 14 цитата. От това може да се направи заключение, че областта в която работи е актуална и научната продукция на кандидата се оценява добре от чуждестранната колегия. При решаване на поставените задачи, докторантката е установила връзки със специалисти от института по “Микробиология“-БАН и от кат. “Микробиология“ УХТ-Пловдив, които са изиграли известна роля за нейното научно развитие.

Г. Йорданова е участвала в колективи при разработването на 4 проекта - НИХ, 1 проект-МОМН и един българо - индийски проект.

Авторефератът правилно отразява основните резултати в дисертацията.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Представената дисертация от Галина Йорданова е целенасочено изследване за имобилизиране на клетки върху модифицирани полимерни носители които се прилагат за биотрансформация на ксенобиотици.

Докторантката се е справила успешно с поставените задачи и е извършила достатъчно по обем работа. Правилно е интерпретирала получените експериментални резултати. В процеса на работата над дисертационния труд докторантката се е оформила като квалифициран изследовател. Има достатъчно публикувани научни съобщения. Работата е написана с много добър научен стил.

Всичко това ми дава основание да препоръчам на Научното жури да гласува за присъждането на научната и образователна степен “доктор” на Галина Димитрова Йорданова.

30.08.2013год.

Рецензент:



доц. д-р Красимир Василев