

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на инж. Евгения Красимова Василева
за присъждане на образователната и научна степен „доктор”

Тема на дисертационния труд: „Биоразграждане на халогенирани мастни
киселини от клетки на щама *Xanthobacter autotrophicus GJ 10*”

Рецензент: проф. д-р инж. Богдана Куманова Куманова
Химикотехнологичен и металургичен университет

Рецензирането на дисертационния труд ми е възложено с писмо №
430/14.10.2011 г. на Директора на Института по Инженерна химия след
избора ми за рецензент на заседание на научното жури, състояло се на
12.10.2011 г.

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е разработен от
инж. Евгения Красимова Василева в Института по Инженерна химия,
лаборатория „Биохимични реактори”. През 1996 г. тя се дипломира в
ХТМУ, специалност „Информационни и управляващи технологии”. През
2003 г. постъпва на работа в ИИХ, първоначално като технолог в
лаборатория „Автоматизация и обработка на данните”, през 2007 г. става
н.с. III ст. в лаборатория „Биореактори” и от 2010 г. до сега е асистент в
лаборатория „Биохимични реактори”.

1. Актуалност на проблема

Пречистването на замърсените води и тяхното многократно
използване е единственото разумно решение за съхраняването на чиста
природна вода, жизнено необходима за човечеството. Разработването на
ефективни методи за третиране на води, замърсени с токсични вещества, е
проблем с важно значение. Ето защо смятам, че представеният
дисертационен труд е посветен на тема, чиято актуалност и важност не
будят съмнение. В дисертацията се представят резултати, демонстриращи
биоразграждането на монохлороцетна киселина и дихлороцетна киселина с
бактериален щам *Xanthobacter autotrophicus GJ 10* (свободни и
имобилизирани клетки).

В дисертацията са цитирани 177 литературни източника. От тях след
2000 г. са 43. Това показва, че проблемът продължава да бъде актуален и
съществува интерес за неговото ефективно решение.

2. Степен на познаване на състоянието на проблема

В литературния обзор, обхващащ 39 страници, дисертантката
разглежда последователно:

- Замърсяването на водите с халогено-въглеводородни замърсители;
- Биологичното разграждане на хлорирани алифатни съединения с микроорганизми;
- Методите за пречистване на отпадъчни води и предимствата на биологичните методи;
- Кинетиката на биохимичното окисление;
- Дихлоретанът като основен органичен замърсител и разграждането му, чийто междинен продукт е монохлороцетната киселина;
- Бактериалният щам *Xanthobacter autotrophicus GJ 10* и неговото приложение за усвояване на халогенирани алкани;
- Инхибирането на биоразграждането;
- Имобилизация на клетките и използваните носители, в т.ч. гелове.

Направените в края на литературния преглед изводи стоят в основата на поставените цел и задачи при разработването на дисертацията.

Начинът на систематизиране и логична преценка на литературния материал, както и направените изводи, ми дават основание да приема, че докторантката познава много добре литературата, свързана с разработения дисертационен труд.

3. Оценка на избраната методика

Обект на изследванията е биоразграждането на монохлороцетна и дихлороцетна киселина със свободна и имобилизирана върху полиакриламиден гел култура *Xanthobacter autotrophicus GJ 10*. За целта са използвани подходящи разтвори на реагенти за получаване на гела. Ефективността на процеса на биоразграждане е оценявана чрез спектрофотометричен метод за определяне съдържанието на биомасата, течна хроматография за определяне на монохлороцетната и гликолова киселина, колориметричен метод за определяне на хлориди, кислороден електрод и DO анализатор за определяне концентрацията на разтворен кислород. Използваните методи и постановка на експерименталната работа са правилни и може да се приеме, че осигуряват достоверни резултати, въз основа на които се правят правилни изводи и заключения.

4. Оценка на достоверността и интерпретацията на получените резултати

Накратко основните изследвания, представени в дисертацията, се състоят в следното:

- Изследване кинетиката на биоразграждане на монохлороцетна киселина от свободни клетки на щама с периодични опити в колби на клатачна машина при четири начални концентрации. Установено е, че разграждането на МСА до гликолова киселина се извършва предимно във фазата на експоненциалния растеж на клетките, както и субстратно инхибиране при по-високите начални концентрации на МСА.
- Изследване кинетиката на биоразграждане на монохлороцетна киселина от свободни клетки на щама с процеси с подхранване в биореактор. Проведени са експерименти при две скорости на разбъркване на системата и при два дебита на въвеждания в реактора въздух. Установена е по-висока концентрация на МСА, при която не се наблюдава субстратно инхибиране. Обяснението за това е периодичното подаване на малки порции киселина. Установено е също, че дебитът на подавания въздух влияе върху динамиката на консумация на МСА.
- Кинетика на биоразграждане на МСА от имобилизирани клетки на щама с периодични опити в колби на клатачна машина. При тази серия експерименти са установени подходящите количества реагенти за приготвяне на полиакриламидния гел като носител на клетките. Показаните криви за разграждане на МСА, получаването на гликолова киселина и натрупване на хлориди илюстрират по-дълга лаг фаза от тази на свободните клетки. Провеждането на шест последователни експерименти показват, че пълно разграждане на киселината се извършва с по-голяма скорост в началните етапи, което в същото време се съпътства от изтощаване на гела при петия и шестия опити. Приема се, че гелните частици са резервоар за клетки, които постепенно се откъсват и свободни попадат в обема на системата.
- Кинетика на биоразграждане на МСА от имобилизирани клетки на щама с процес с подхранване в биореактор. Получените резултати показват, че се постига пълно разграждане на 150 ммол МСА, а имобилизираната култура служи както за разграждане на киселината, така и за резервоар на нови бактериални клетки, откъсващи се от гела, и допринасящи за биоразграждането в обема на системата.
- Изследване кинетиката на биоразграждане на дихлороцетна киселина, характеризираща се с по-висока токсичност от МСА, при условия оказали се подходящи за разграждането на МСА. Обръща се внимание, че количеството разтворен кислород може да се увеличи чрез увеличаване скоростта на разбъркване или чрез увеличаване дебита на подавания в реактора въздух. Постигнато е максимално количество разградена киселина 80 ммол.

- Математическо моделиране на процесите за отчитане приноса на имобилизираните и на свободните клетки, откъснати от гела, върху биоразграждането. За целта е използван известен вече динамичен модел. Определени са стойностите на четири коефициента в математичния модел. Показано е субстратно инхибиране, изразяващо се в намаляване модула на Thiele за субстрата.

По дисертацията възникват някои въпроси, на които докторантката трябва да отговори, както и да се направят следните бележки:

- В дисертацията на всякъде се казва „концентрация“, а се дава дименсия за количество в ммол. В част 4.1.1. се твърди, че са проведени експерименти с начална концентрация 5, 10, 15 и 20 ммол. Добре би било, ако бяха илюстрирани резултатите при по-високите стойности – 15 и 20 ммол.
- Коментира се, че количеството на разтворения кислород се влияе от оборотите на бъркачката, както и от дебита на подавания въздух, а всъщност са проведени експерименти само с две скорости на разбъркване и два дебита на постъпващия въздух. Какви са били съображенията за това?
- От данните на таблица 4.3.1. се вижда, че количеството консумирана монохлороцетна киселина е най-голямо при по-големия дебит на въздуха (при еднакви скорости на разбъркване). Очевидно е, че количеството разтворен кислород играе важна роля, а разбъркването по-скоро осигурява равномерното му разпределение в обема на сместа.
- Добре би било да се опишат по-подробно начините, по които са определени стойностите на коефициентите, посочени в Таблицы 4.4.1. и 4.4.2.
- На стр.10-11 излишно се коментират показатели за качеството на водата, тъй като те не са използвани при представянето на експерименталните резултати.
- На стр. 14 е използвано понятието „подпочвени“ води вместо правилното „подземни“ води.
- По-добре би било дименсиите да бъдат на латиница.

5. Научни и научно-приложни приноси на дисертационния труд

Приносите на дисертационния труд могат да се определят като научни, които е възможно да станат приложими в практиката в бъдеще. За първи път е изследвано разграждането на монохлороцетната киселина от имобилизирани клетки върху полиакриламиден гел. Този резултат е докладван на международен симпозиум по химия и околна среда, проведен в Черна гора.

6. Степен на лично участие на докторанта в основните резултати

Научната продукция, на която се основава дисертацията, е в съавторство на дисертантката с научния и ръководител и други автори, като навсякъде тя е на първо място. Това ми дава основание да смятам, че е била достатъчно самостоятелна при изработването на настоящия труд. В същото време считам за необходимо да подчертая, че като имам пред вид разликата в специалността, по която се е дипломирала, и темата на дисертационния труд, очевидно е, че дисертантката е придобила много нови знания и умения в нова за нея област.

7. Преценка на публикациите по дисертацията

По дисертацията са публикувани както следва:

- една публикация в списанието *Biotechnology&Biotechnological Equipment*, в която дисертантката е на първо място от 3 автори.
- една публикация в списанието *Bulgarian Chemical Communications*, в която дисертантката е на първо място от 3 автори.
- Една публикация в сборник от международна конференция в съавторство с двама автори.
- Една публикация в сборник от лятна школа в съавторство с двама автори.
- Участия в осем национални и международни конференции с постерни доклади.

Ще отбележа, че първите две статии са отпечатани в списания с импакт фактор.

- Забелязан е един цитат на статия.

Наукометричните показатели на дисертацията отговарят на изискванията за образователната и научна степен „доктор”.

Авторефератът правилно отразява съдържанието на дисертационния труд.

Заклучение

Изложеното до тук ми позволява да препоръчам на научното жури да предложи присъждането на научната и образователна степен „доктор” по научната специалност 02.10.09 „Процеси и апарати в химичната и биохимичната технология” на инж. Евгения Красимова Василева.

5 декември, 2011 г.

Рецензент:



Проф. д-р инж. Богдана Куманова