

РЕЦЕНЗИЯ

Относно: Дисертация за придобиване на образователна и научна степен “доктор” по научната специалност “Процеси и апарати в химичната и биохимичната технология”, шифър 02.10.09.

На тема: “Биоразграждане на халогенирани мастни киселини от клетки на щама *Xanthobacter autotrophicus GJ 10*”

Представена от: инж. Евгения Красиминова Василева

Начен ръководител – проф. дтн Венко Бешков

Рецензент: Серафим Димитров Влаев, проф. дтн от лаб-я “Химични и биохимични реактори” при ИИХ-БАН.

Рецензията ми е възложена от Научно жури, избрано от НС на ИЕЕС при БАН с решение на заседание от 12 окт. 2011 г, *Декларирам, че нямам общи публикации и разработки с авторката.*

За рецензиране ми бяха предоставени пълен текст на дисертацията, автореферат и документи – автобиография, справка за изпълнената образователна програма, списъци на презентации върху изследванията и четири публикации в пълен текст. От тях се вижда, че докторантката е изпълнила предварителните условия за придобиване на исканата степен: има магистърска степен, покрила е необходимият брой точки по образователната програма, има публикации.

Рецензията отговаря на постановените критерии, както следва:

1. Актуалност и оригиналност на изследването. Рецензията представлява естествено продължение на работите на предишни изследователи от една установена професионално група по биотехнология на проф. Бешков, чиито изследвания върху детоксикация на води по биологичен път станаха широкоизвестни. Тема на работата е въздействието на бактериален щам *Xanthobacter autotrophicus GJ 10* върху разпадането на хлороцетни киселини, които имат установена канцерогенност. Във връзка с решаване на проблема с тези замърсявания, може да се приеме, че работата е актуална. От друга страна, специфичното решаване на проблема с конкретен микроорганизъм и чрез специфично редуциране на субстратното инхибиране чрез имобилизираща техника носи оригиналност на изследването, като едно оригинално решение на един по-общ проблем на процеси на разграждане на халогенни канцерогени във водите.

2. Познаване състоянието на проблема и творческа оценка на литературния материал

- Авторката познава проблема на пречистване на води от халогено-водородни замърсители чрез биоразграждане, включително наговите “тесни места” – инхибиране и имобилизация на микроорганизмите. Проведен е анализ на литературата, включително 177 източника. Литературният обзор обхваща **50** страници (повече от 1/3 от текста). Литературният обзор отразява добре развитието на проблема през последните години – около една четвърт от източниците засягат периода след 2000 г, вкл. 2011г
- В отделен раздел са направени изводи от литературния преглед. Подчертано е, че процес на имобилизация на изследвания щам в ПААГ и последващо дехалогениране на води досега не е изучен и условията на такъв процес не са разкрити, докато в същото време той представлява интерес за практиката, тъй като щамът е с доказана дехалогенираща активност.

3. В методично отношение – използвана е традиционна система от методи общоприети техники на изследване в съвременния експериментален анализ, които са достатъчно достоверни.

- Забележка към този раздел: Инженерното оформление на процеса изисква да се даде диаметъра на съда и на ротора на бъркащото устройство; в случая то може да се вземе и от литературни данни за използваната апаратура, но не е коректно.

4. Аналитична характеристика на естеството и оценка на достоверността

- Съдържанието на дисертацията е изложено на 122 страници - текст, таблици, графики. Трудът е структуриран в пет раздела, в т.ч. литературен обзор, цел и задачи, методи, резултати и изводи. Резултатите обхващат 30 страници от текста. Основните ефекти са обсъдени и са дадени изводи.
- Целта на работата е конкретна - да изследва потенциала на имобилизирани бактериални клетки от вида *Xanthobacter autotrophicus GJ 10* да разграждат хлороцетни киселини.
- Работата е добре оформена и балансирана по раздели с малък превес на литературния обзор: литературен обзор 50 стр., методи и резултати - 50 стр. Съществува паралелност между очертани основни задачи – проведени експерименти по тях – приведени

доказателства и направени изводи. Формулирани са 4 задачи. Направени са 4 основни извода.

- Изследванията процедурно и по традиция са построени в последователност на мащаба – в колби – в реактор, и в морфологична последователност – интактни – имобилизирани клетки – една трета част е посветена на математично моделиране на биопроцеса.
- Изследването е достатъчно изчерпателно с резултати, отразени в 22 фигури и 4 таблици –Резултатите представляват кинетични криви получени при две основни нива на субстрат – 5 и 10 ммол токсично вещество, при две нива на интензивност на разбъркване 400 и 500 об/мин и две нива на аерация 0.5 и 2 об/об/мин Правилно е избрана турбулентната област на разбъркване. Кинетиката на разграждане е регистрирана по отношение на биомаса, субстрати - МХК, ДХК и продукта – гликолова киселина, хлориди, концентрация на кислорода. Изследвани са голям брой междинни състояния, кривите са хармонични, а получените тенденции - логични, което дава уверение, че резултатите са достоверни.
- За определяне на степента на участие на свободни клетки в процес с имобилизиран биокатализатор е използван **оригинален индуктивен подход** чрез математично моделиране: Използван е математичен апарат – динамичен модел – който отчита степента на участие на свободни и имобилизирани клетки в биопроцеса – една характеристика, която е трудно определима експериментално.

5. Научни и научно-приложни приноси. Към тях ни насочват изводите, събрани в гл. V. Направени са 4 основни извода, паралелно на четирите изследвани теми, именно - условия на процеса на разграждане на монохлороцетна киселина при свободни клетки, потенциал на имобилизираните клетки, поведение на системата, проучено чрез математичния модел и поведение по отношение на дихлороцетна киселина.

Приносите се заключават в /1/ разкриване на възможности за разграждане на значителни количества МХК с бактерии *Xanthobacter autotrophicus GJ 10* и установяване на условията за рационално разграждане, /2/ установяване на условия на разграждане при клетки в свободно и имобилизирано състояние; разкрит е частично механизма на участие на бактериите в имобилизирано състояние /3/ Дадена е сравнителна оценка на метода по отношение на МХК и ДХК.

- Работата има стойност на придобиване на **нови данни** върху биопроцесите на дехалогениране, но и **методична** стойност, поради обогатяване на опита с оглед прилагане на резултата за пречистване на води с конкретния бактериален щам.

- Проверката ми върху доказателствата показва, че изводите са основателни.

- Склонен съм да **опонирам** само на последната част от извод 1, който засяга пряко практиката и мисля, че няма достатъчно основание на фиг. 4.1.8 на с.75, тъй като влиянията на по-високи обороти и дебита не са отделени и няма достатъчно данни за тези влияния – трябва повече опити за да се потвърди заявеното диференцирано влияние на оборотите и дебита на газа - едната променлива върху продължителността на процеса, а другата върху количеството разграден субстрат.

6. Самостоятелност. Работата е преобладаващо експериментална, много задълбочена и екстензивна, което според мен е по-силите и изисква посвещаване от страна на един водещ експериментатор, освен това обобщенията от гл.т. на продукта са еднородни и насочват към един изследовател – считам убедено, че това е автора. Изследванията като постановка и изпълнение представляват оригинален авторски труд. Участието и на втори изследовател е обосновано чрез декларация.

7. Публикации. Отпечатани са четири статии в пълен текст – две от тях в специализирани списания с импакт фактор. Две статии представляват доклади публикувани в пълен текст в сборници на конференции. Статиите са на английски език. По проблема са изнесени 4 доклада, три от тях на международни конференции в София, Пловдив, Бургас и Монтенегро. Съобщено е за един цитат.

- Статиите третират различни аспекти на ДТ и данните не се припокриват: Едната статия третира кинетика с имобилизиран биокатализатор, другата статия се отнася до математично моделиране..

- Наукометричните показатели отговарят на изискванията на Правилника на ИИХ.

8. Съответствие на специалността Съдържанието на публикациите съответства на научната специалност 02.10.09. Проведен е инженерен анализ и контрол на биопроцес със средствата на лабораторен експеримент, съчетан с математично моделиране, изследван е реактор с разбъркване, оценката е насочена към инженерно оформление на биопроцеса.

9. Практическа приложимост на резултатите. Данни за това няма. Цялата изследователска работа е подчинена на намерението и практическа цел - да се провери възможността за биодegradация на хлороцетни киселини с конкретния имобилизиран шам и тази възможност е реална.

- Значимостта на работата може да се види от следния пример за приложимост на резултата: Ако се изходи от публикуваните данни за микрорайон на Лондон, който изхвърля отточна вода 1000 м³/час с концентрация 244 микрограма/литър, разглежданият в дисертацията процес би могъл да сведе до нормите тази концентрация в реактор от 500 литра с подхранване с периодичност 10 цикъла за 7 дни и презареждане със свежа биомаса веднаж седмично, което е практически осъществимо.

10. Авторефератът - отговаря на изискванията и отразява основните положения и приноси на ДТ.

Към работата имам следните въпроси и забележки

- Заб. стр.68. Считам за недостатък на работата, че не е дадена фигура, която да демонстрира отсейване на резултатите при 15 и 20 ммол, след като това е основен параметър в логиката по-нататък. Това сега е направено с декларация, а не е обосновано с експериментални данни, които според авторите са налице, но не са демонстрирани.

- Заб. Въпреки че изследваните условия- обороти и скорости на аерация – са близки до възприетите в индустриалната практика, защо не са изпитани по-високи обороти и дебители?

- Въпрос по фиг.4.2.9: Защо опит 2 е нулев – не е коментирано?

- Въпрос : Какво означава “стандартна константа” в означенията за k_1 , k_2 ?

- Въпрос към пълния текст: Според мен не е достатъчно цитиране на източник за избраната хранителната среда. Как е доказана рационалността на хранителната среда, с която е работено - нужен е коментар, тъй като друга среда означава други условия! Такъв коментар липсва.

- Въпрос – Какво е обяснението на факта, че оборотите влияят върху продължителността на биопроцеса с интактни клетки, а скоростта на газа- върху биоконверсията - крайт на извод 1?

● Заб. Според мен, обяснението на удължената лаг-фаза при опитите с биокатализатор в имобилизираното състояние на клетките дадено на с. 80 може да се дължи и на дифузионните съпротивления в биокатализатора, а не само на субстратно инхибиране. Как са разграничени двата ефекта?

● Заб. Високото число на Biot не е показател за смесване, както е споменато на с 66, а за относително влияние на граничния слой в транспорта на маса, както правилно е отбелязано на с.63. Вероятно в случая стойността е използвана като изходна база за дедуктивна оценка на състоянието на смесване, изхождайки косвено от относително ниската стойност на коефициента на дифузия D_L .


Считам, че горните въпроси и забележки регистрират малки отклонения и липса на коментари, които ще бъдат изяснени в процеса на защита.

В заключение

Считам, че работата е изпълнена прецизно и напълно отговаря на изискванията за исканата степен и препоръчвам на Научно жури да предложи на Научния съвет присъждането на инж. Евгения Василева на научната и образователна степен “доктор”.

София, 10 ноември 2011г

РЕЦЕНЗЕНТ:



/ С.Д. Влаев, проф, дн/