

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Златка Милчева Алексиева

Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН

Относно: Научната продукция на доц. д-р Людмила Владимирова Кабаиванова за участие в конкурс за присъждане на академичната длъжност „Професор” за нуждите на лаборатория „Биоремедиация и биогорива”, Департамент „Биотехнология”, ИМикБ-БАН по професионално направление 4.3. Биологически науки (Микробиология). Конкурсът е обявен в ДВ бр. 43/10.06.2022

Доц. д-р Людмила Кабаиванова е единствен кандидат, подал документи за участие в обявения конкурс. Представени са всички необходими документи съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав, Правилника на БАН и Правилника на Институт по микробиология – БАН за неговото прилагане.

ПРОФЕСИОНАЛНА БИОГРАФИЯ

През 1992 г. доц. д-р Людмила Владимирова Кабаиванова завършва висшето си образование в Софийски Университет „Св. Кл. Охридски”, Биологически Факултет, Специалност - Биохимия и микробиология – магистър. През 1993 г. постъпва в Институт по микробиология - БАН на длъжност специалист. Има над 29 години трудов стаж по специалността при изискуем по правилник минимален стаж от 5 години. Защитава дисертация на тема „Разграждане на нитрилни съединения с имобилизирани в различни носители клетки от *Bacillus sp.* UG-5B, продуцент на термостабилна нитрилаза“ и придобива ОНС „Доктор“ – 2006г. в Институт по микробиология „Стефан Ангелов”, БАН. През същата година е назначена като „главен асистент“. От 2011 г. е избрана и заема длъжността „доцент“. Заемала е акад. длъжност доцент в Департамент „Биотехнология“ на ИМикБ 12 години, при изискуеми две години. От 2016 г. до момента, след конкурс в Института, заема длъжността за Ръководител на департамент „Приложна микробиология”, по настоящем департамент „Биотехнология” и ръководи лаборатория „Биоремедиация и биогорива“. Заемала е длъжността Научен секретар на Института от 2016-та до 2020 г., а в момента е зам. директор. Била е Зам.-председател на Общото събрание на учените в ИМикБ (2013 г.), член е на НС на ИмикБ, Представител в Общото събрание на учените в БАН (2013 - 2020 г.). В същият период е била Член на постоянната атестационна комисия на Института и Председател на Комисия за провеждане атестация на учените и помощния

персонал, както и на редица други оперативни комисии. Многократно е избрана за член на Научни журита и изпитни комисии по прилагане на ЗРАСРБ.

Доц. д-р Людмила Кабиванова е член на Bioencapsulation Research Group, Франция – 1996г. до 2013г. и на ДНЦ „Екологично инженерство и опазване на околната среда“ 2019г. до момента. Била е рецензент на научни статии и проекти, член на организационни и програмни комитети на научни форуми и на 2 редколегии.

Доц. д-р Людмила Кабиванова е преподавала в магистърската програма на катедра „Технология на силикатите“ при ХТМУ – София -2008-2010г. и е участник, като преподавател в програмата „Студентски практики“ и в Докторантски курс към ЦО –БАН на тема: Технологични основи на имобилизацията на микробни клетки и приложение за увеличаване ефективността на анаболитни и катаболитни процеси. Ръководила е 3 докторанти и 6 дипломанти.

Основните научни интереси на доц. д-р Кабиванова са в областта на микробните биотехнологии, създаване на имобилизационни системи, свързани с аеробни и анаеробни биодеградационни процеси, участващи в детоксификацията и очистването на околната среда, получаване на възобновяеми енергийни носители, получаване на нови биологично активни вещества.

ОСНОВНИ НАУКОМЕТРИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ, СВЪРЗАНИ С КОНКУРСА

Анализът на данните, отнасящи се към показателите по Националните минимални изисквания от Правилника за приложение на ЗРАСРБ, показва следното: За притежаването на ОНС „Доктор“ са определени 50 т. По показатели от група В са представени 6 публикации: 3 - с Q2; 2 – с Q3 и 1 - с Q4, което приведено в точки дава сума от 102 т. По показателите от група Г , в рамките на показател 7 са представени 15 публикации, от които 1 - с Q1; 11 публикации - с Q3; и 3 публикации - с Q4. Тези данни дават общо сумата от 226 т.

От показателя за цитирания на публикациите в световно известни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus) или общо за показатели Д, са представени 100 цитирания без автоцитати, с които се набират 200 т. По отношение на показателите от група Е: доц. Кабаиванова е ръководила 1 национален (20 т.) и 1 международен проект (50 т.), участвала е в 5 национални проекта (50 т.) и 1 международен проект (20 т.). Привлечените средства по проекти, ръководени от кандидата се равняват на 46.6 т. Доц. Кабаиванова е ръководител на 1 успешно защитил

докторант (50 т.), 1 докторант, отчислен с право на защита и 1 в процес на обучение. Общият брой точки по показател E е равен на 236.6 т.

Общият брой точки от данните попълнени в Таблицата за минималните национални изисквания е 814.6 т. при минимално необходими 640 т.

Изводът е, че доц. Л. Кабаиванова изпълнява изискванията по всяка една от групите показатели, необходими за заемане на научната длъжност „Професор“ и като цяло набира с 174.6 т. повече точки от задължителния минимум.

Относно „Допълнителни критерии за израстване на академичния състав в ИМикБ“ също може да се отбележи, че критериите са изпълнени. Доц. Кабаиванова е представила 21 публикации в списания реферирани в WoS/Scopus в 19 от които е първи или кореспондиращ автор. Общият ИФ е 55.554. Списъкът на цитирания съдържа 450 източника, H-индекс = 12. Изпълнено е и изискването за ръководство на научно-изследователски проекти – 3 и е ръководител на двама отчислени с право на защита докторанти, единият от които вече защитил.

ОБЩА ХАРАКТЕРИСТИКА НА НАУЧНАТА ДЕЙНОСТ НА КАНДИДАТА

Пречистването на отпадъчни води, замърсени с фенол и фенолни съединения привлича голямо внимание поради тяхната токсичност и ниска биоразградимост. Фенолът и неговите производни са една от най-големите групи екологични замърсители поради присъствието им в много промишлени отпадъчни води поради широкото им използване. Фенолът е в списъка на приоритетните замърсители на Агенцията за опазване на околната среда на САЩ (EPA) и има токсични, канцерогенни и мутагенни ефекти върху хора, животни и водни организми. Хексадеканът е токсично алифатно съединение, компонент на петролни фракции, което се използва като моделна молекула за изследвания на биоразграждането на въглеводороди.

Във връзка с тези глобално значими и не губещи своята актуалност въпроси са представени значителни по обем изследвания в областта на **Аеробните биодegradационни процеси**.

Получени са оригинални резултати за деградацията на значителни количества фенол от имобилизирани клетки на щамове на *Aspergillus awamori* и *Rhodococcus wratislawiensis*. Разкрита е възможността на вторият щам да разгражда поотделно и едновременно представители на ароматни и алифатни съединения, в случая - фенол и хексадекан. Изследванията със сканираща електронна микроскопия показват добре

запазени клетки, уловени в хетерогенната супер-макропореста структура на криогела, което позволява безпрепятствен масов трансфер на ксенобиотици. Имобилизираният щам може да се използва в реални условия за третиране на замърсени промишлени отпадъчни води. Доказано е и ефективното разграждане на хексадекан и от имобилизирани в системата SiO₂-хитозан - полиетилен гликол клетки на *Pseudomonas aeruginosa* (B – 2, B – 3, Г – 3, Г - 4).

Едни от най-интересните оригинални резултати демонстрират изследванията по биоразграждане на нефт, който е смес от газообразни, течни и твърди въглеводороди, съставът на която варира в зависимост от местоположението на находищата.

Изолиран е нов щам, определен молекулярно - таксономично като *Bacillus cereus*, който синтезира биосърфактант и разгражда суровия петрол. Експериментите са проведени със свободни и имобилизирани в два вида криогел клетки. С хроматографски анализ е доказано, че щамът разгражда 93% от алифатната фракция за 48 часа. Тестовите за повторна употреба разкриват, че способността на имобилизираните клетки за разграждане на нефта е стабилна и запазва скоростта си след 47 дни (до 20-ия работен цикъл), при полунепрекъснат режим на работа в сравнение само с три цикъла, извършени от свободни клетки (Г - 6).

Отделно могат да бъдат високо оценени представените в раздела резултати от опити с имобилизиран щам *Bacillus* sp., способен да продуцира ензим нитрилаза и да разгражда широк спектър от токсични нитрилни субстрати, както и установената способност на биосорбент (на базата на тетраетилортосиликат) с включено микроводорасло от вида *Porphyridium cruentum* да отстранява йони на тежки метали - Cu(II), Cd(II) и Ni(II) от водни разтвори (B - 6, Г - 5).

Анаеробното смилане (AD) е широко разпространен биологичен процес за третиране на органични отпадъци за производство на зелена енергия. Основните изследвания на доц. Кабаиванова в направление **Анаеробни биодеградиционни процеси** включват разграждането на селскостопански лигноцелулозни отпадъци за получаване на биогаз и биометан, като възобновяеми енергийни носители.

В ерата на енергийна криза, на биоенергията, базирана на биомаса, се отделя специално внимание. Като цяло, често използвана суровина за производство на биоенергия е лигноцелулозната биомаса, като най-икономичният възобновяем източник. Лигноцелулозната биомаса се отнася до твърди битови отпадъци, горски и селскостопански продукти, водорасли и др.

Проучени са условията за получаване на биогаз и биометан при ефективно анаеробно разграждане на селскостопански отпадъци - царевичните стъбла, предварително обработени с ултразвук.

Реализирана е кръгова, затворена система, следваща основни принципи на кръговата икономика. В началото е осъществява микробно анаеробно разграждане на лигноцелулозни субстрати. Приложен е оригинален подход за култивиране на микроводорасли на базата на остатъчната от началния процес биомаса. Фотосинтезиращите микроводорасли имат промишлени и икономически перспективи, така че тяхното евтино отглеждане има голям потенциал за много приложения. Получената биомаса от микроводорасли се връща обратно в биореактора като косубстрат и процесът започва отново. Отчетено е подобряване на добивите при обработката на субстрата с ултразвук (от 1116 cm³/L до 1350.5 cm³/L), както и възможността за натрупване на биомаса от водорасли. При добавянето на биомаса от водорасли, като косубстрат (4 g/L биомаса) се отчита увеличаване на добива на биогаз в сравнение с експериментите с единствен субстрат - царевични стъбла (Г - 12).

В лабораторен биореактор е проведено проучване на получаването на биогаз/биометан при анаеробното разграждане на смес от пшенична слама и царевични стъбла, използвани като възобновяем източник. Получените резултати показват, че най-високо натоварване на субстрат - 45 g/L и кумулативен обем на добиван биогаз - 8,22 L се наблюдава при температура от 55 °C за 12 дни. Установена е степен на разграждане - 72%. Разработен е и бърз ефективен процес за продуциране на биогаз от пшенична слама, при който между 2-ри и 5-ти ден се проследява най-високо количество на дневно производство на биогаз с концентрация на биометан в него – 60%.

На базата на секвенционна библиотека с праймери за V3–V4 района на 16S РНК и праймери за археална РНК е осъществен метагеномен анализ на бактериалното и археално разнообразие в микробния консорциум, осъществяващ анаеробното разграждане на използваните лигноцелулозни субстрати. Бактериите заемат 76.7%, като най-голяма част от тях принадлежат към клас Clostridia (32,9%). Сред родовете бактерии трябва да се отбележи наличието на Pseudomonas. Делът на археите в консорциума е 1,37%, но идентифицираните родове като Methanocorpusculum, Methanobacterium, Methanomassiliicoccus, Methanoculleus и Methanosarcina заслужават отделно внимание (В - 1). Проучването на микробното разнообразие в анаеробния биореактор е от решаващо значение за управление на процеса на получаване на биогаз и е добре да продължи и се задълбочи.

Оригинално изследване е посветено на биоразграждането на целулозни продукти, които могат да се използват в космическите полети от подходящи целулозоразграждащи непатогенни бактерии. Постигната е 72% степен на биоразграждане при анаеробни, мезофилни условия в биореактор. Проследен е профильт на летливите мастни киселини, придружаващи процеса на биоразграждане. Процесът на разграждане е придружен от отделяне на биогаз, 45% от който е водород. Биологичното производство на водород е значима цел за опазването на околната среда. Водородът е известен като чист енергиен ресурс и получаването му чрез ферментация на различни субстрати с биологичен произход се проучва отдавна, като повечето изследвания са проведени с чисти микробни култури. В представеното изследване разграждането на целулозата е реализирано от смесен микробен консорциум чрез смесена киселинна ферментация. Проведеният метагеномен анализ показва, че преобладаващи в състава на бактериалното съобщество, осъществяващо процеса са видовете *Bacteroides oleiciplenus*, *Clostridium butyricum* и *Ruminiclostridium papyrosolvens*, на които вероятно се дължи деградацията на целулоза (Г - 13).

Създадени са редица математически модели, характеризиращи оптималните условия за осъществяване на двустъпален каскаден процес на анаеробна биодеградация, състояща се от водороден етап, последван от метаногенен етап. Използван е филтър на Калман, базиран на контрол и търсене на екстремум на Нютон, за увеличаване на максималната скорост на производство на водород и метан (Г – 11, Г – 15).

Важно направление в органичното земеделие е замяната на торове с чисто синтетичен химичен състав с органична маса, постигаща повишаване на развитието и добивите на селскостопанските култури. Основна роля в този процес има компостът. Той е смес от разграждащи се растителни и хранителни отпадъци и естествена тор, които при правилно аериране и количество вода, осигуряват хранителни вещества и подобряват качеството на почвата. Този ефект се дължи в значителна степен на наличието на много микроорганизми, които управляват химичните процеси на разграждане, подпомагат обогатяването на почвата с карбодioxid и амониеви йони, отделянето на топлина, както и потискането на развитието на патогени. Компостирането е и важна част от управлението на отпадъците, тъй като храната и

другите компостируеми материали съставляват около 20% от отпадъците в депата и сметищата.

В материалите по конкурса са представени и оригинални резултати от изследвания за включване на отпадни продукти и растителни остатъци от земеделската практика и използване активностите на бактерии и гъби в процеси на биоразграждане. Резултатите от проведените експерименти убедително показват, че прилагането на компост повишава нивата на активност на ключови ензими (целулаза и ендоксилаза), участващи в разграждането на растителни отпадъци, както и води до значително увеличаване на популациите на всички физиологични групи микроорганизми, с изключение на спорообразуващите бактерии и бактериите, използващи минерален азот, което е добър показател за повишена почвена микробна активност при съответните обработки. Приложените органика и торове, снабдени с минерално и листно подхранване, имат статистически доказан положителен ефект върху растежните параметри на картофите. Създадена е колекция от микроорганизми, асимилиращи растителните отпадъци само като източник на въглерод и азот и подходящи за добавяне към компоста. [Г – 10, Г – 14].

Една от приоритетните направления на развитие на биотехнологиите е търсене и проучване на нови, иновативни източници на биологично активни вещества. Съвременните проучвания предполагат, че водораслите могат да се използват за насочен биосинтез на редица съединения. **Микроводораслите са уникална група от многобройни видове едноклетъчни организми с огромен потенциал на приложения в различни области на науката и технологиите.**

Полизахаридите са характерни вторични метаболити на много водорасли. Направени са редица изследвания относно червените водорасли и ползата за здравето на човек на техни полизахариди. В представените изследвания е доказан клетъчно специфичен противотуморен ефект на новоизолиран извънклетъчен полизахарид от червеното микроводорасло *Porphyridium sordidum* при туморни клетки на рак на гърдата MCF-7 и MDA-MB231. Чрез HPLC анализ е остановен захарният му състав (Xyl:Glc и Gal:Man:Rha в моларно съотношение 1:0,52:0,44:0,31). Установен е адювантен терапевтичен ефект при въздействие с електрически импулси. Приложението на 75 µg/mL полизахарид в комбинация с 200 V/cm електропорация предизвиква 40% намаление на жизнеспособността на клетките MDA-MB231 и промени в клетъчната морфология [В - 4]. Имунофлуоресентен анализ показва морфологични промени в третираните с полизахарид от червено микроводорасло

Rhodella reticulata ракови клетки [B - 5]. Прилагането на полизахариди от *Porphyridium cruentum* също показва противотуморен ефект при високомета статичната клетъчна линия MDA-MB 231- 47% [Г – 1]. При изследване на влиянието на промени в температурата и интензитета на светлината върху червеното микроводорасло *Rhodella reticulata* са установени промени в метаболитния му профил. Независимо от интензитета на светлината, съдържанието на протеин е най-високо при по-ниски температури (28°C), а по-високата температура (28°C) показва най-висок процент съдържание на полиненаситената ейкозапентаенова киселина (ЕРА) (46% от цялото съдържание на мастни киселини) и като цяло за мастните киселини, важна характеристика за този щам. Това е предпоставка за използване на ЕРА като добавка в хранително-вкусовата промишленост[Г - 8].

Проследени са физиологичните и биохимични промени в зеленото микроводорасло *Chlorella vulgaris* в условия на оксидативен стрес. Установени са промени във фотосинтетичния апарат и антиоксидантните ензими[Г – 7].

Получаване на нови биологично активни вещества от бактерии е основно направление в съвременните микробиологични и биотехнологични разработки.

От биомедицинска гледна точка е доказано, че трехалозните липидни биосърфактанти упражняват впечатляващ брой физиологични и патофизиологично свързани свойства като антимикробни, антивирусни, антиадхезивни, противоракови или имуномодулиращи свойства. Трехалозен липиден биосърфактант от щам *Nocardia farcinica* е естествено получено вещество с мощна противоракова активност. Натрупани са значителни по обем данни за този трехалозен липиден биосърфактант, като перспективен противораков агент, но научните данни относно възможните странични ефекти или неговата токсичност почти напълно липсват. В тази връзка е изследван ефекта му върху изометричното свиване на изолирани мезентериални артерии на плъх и е показал, че не се наблюдава ефект върху контрактилитета на мезентериалните артерии на плъх *in vitro*, което заедно с откритата намалена жизнеспособност на раковите клетки го прави подходящ за потенциално медицинско приложение [Г – 9].

Изследвано е въздействието на изолиран и пречистен трехалозен липид от щам *Rhodococcus wratislaviensis* върху клетъчната жизнеспособност и миграция на две човешки ракови клетъчни линии (MCF7, MDA-MB231) и една нормална клетъчна линия (MCF10A). Получените данни предполагат механизъм на противотуморно действие и активност на пречистения трехалозен липид и показват неговия потенциал за биомедицинско приложение [Публикация Г – 2].

ОСНОВНИ НАУЧНИ ПРИНОСИ НА КАНДИДАТА

Създадени са оригинални и ефективни имобилизационни системи на базата на хибридна зол-гелна матрица с участие на хитозан, полетилен оксид (PEO) и полиакриламид (PAAm) криогелове. За първи път е изследвана продукцията на рамнолипиди в имобилизирани в криогел клетки на *Pseudomonas aeruginosa* и е доказано, че процесът е нетоксичен, евтин, бърз и може да служи като универсален инструмент за повишаване на добива на рамнолипиди, които подпомагат биодegradацията на трудно разтворими замърсители на околната среда. Добивът на рамнолипиди в имобилизираната система надвишава този на свободните бактериални клетки, отличавайки ефективен биопроцес. Сканиращата електронна микроскопия (SEM) разкрива запазване на формата на клетката и правилното разпределение на клетките под повърхността на матрицата. Полимерните матрици притежават химическа и биологична стабилност и много добри физико-механични характеристики, които са предпоставка за дълъг живот на тези материали. Изолиран е нов щам, определен молекулярно - таксономично като *Bacillus cereus*, който синтезира биосърфактант и разгражда суровия петрол.

Предложена е оригинална технологична схема за повишаване на добива на биогаз от селскостопански отпадъци, при която се използва евтин, достъпен и възобновяем растителен лигноцелулозен субстрат, съчетан с микроводорасли, растящи в отпадъчни води. Постигнато е ефективно разграждане на целулозо съдържащи материали, реализирано от смесен микробен консорциум, съпроводено с добив на биогаз, с високо съдържание на водород.

Проведен е метагеномен анализ на бактериални съобщества, осъществяващи процеси на разграждане на лигноцелулозни и целулозни субстрати във ферментор.

Създадена е колекция от микроорганизми, асимилиращи растителните отпадъци само като източник на въглерод и азот и подходящи за добавяне към компост.

Постигнати са значими и оригинални научни резултати при изследване на противотуморния потенциал на новоизолирани полизахариди от червени микроводорасли, което освен научен, ще даде и перспектива за приложение на получените резултати.

In vitro е доказано противотуморното действие и отсъствието на неблагоприятни ефекти на трехалозолипидни биосърфактанти естествено извлечени от *Nocardia farcinica* и *Rhodococcus wratislaviensis*, което показва потенциал за биомедицинското им

приложение, редуцира жизнеспособността на ракови клетки, но не повлиява на изометричното свиване.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Документите и материалите, представени от доц. д-р Людмила Кабаиванова отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответните Правилници на БАН и Института по микробиология на БАН.

Нивото на представените научни изследвания е високо и съвременно, насочено към установяване на оригинални теоретични знания с перспектива за биотехнологично приложение. Получените резултати са оригинални, актуални, с обществена значимост и разкриват възможности и перспектива за нови изследвания по актуални проблеми, насочени към потребностите на реалните биотехнологични производства. Оценявайки комплексно научната дейност на доц. д-р Людмила Кабаиванова може да се твърди, че от работата ѝ произтичат съществени фундаментални научни и научно-приложни приноси.

Постигнатите от доц. Кабаиванова резултати в научно-изследователската и учебна дейност, напълно съответстват и надвишават минималните национални изисквания, както и на завишените критерии на ППЗРАС на БАН и на ИМикБ за заемане на академичната длъжност „Професор“.

Подробният анализ на представените в конкурса материали и научни трудове и съдържащите се в тях научни, научно-приложни и приложни приноси са основание да дам своята убедена положителна оценка и да препоръчам на Научното жури да предложи на членовете на НС на Института по микробиология „Стефан Ангелов“ да гласуват положително за заемането на научната длъжност „Професор“ от доц. Д-р Людмила Владимировка Кабаиванова.

17.10.2022

Рецензент:

(доц. Златка Алексиева)