

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на ас. Николина Атанасова Атанасова

Тема: „Разграждане на пластмаси от термофилни и халофилни бактерии, изолирани от български екстремни ниши“,

Научен ръководител: проф. дбн Маргарита Стоянова Камбурова

Рецензент: проф. дн Пенка Петрова, ръководител на Департамент „Обща микробиология“, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН

Разглежданият дисертационен труд е за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология на Института по микробиология „Стефан Ангелов“ - БАН

1. Общо описание на представените материали

С решение на НС на института по Микробиология „С. Ангелов“ при БАН Протокол №44/30.03.2023 г. (Заповед №I-44/31.03.2023г.) съм определен за член на НЖ по процедура за защита на дисертационен труд на тема *„Разграждане на пластмаси от термофилни и халофилни бактерии, изолирани от български екстремни ниши“* за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология. Автор на дисертационния труд е асистент Николина Атанасова Атанасова – докторант самостоятелна форма на обучение към департамент Обща микробиология, лаборатория „Екстремофилни микроорганизми“ с научен ръководител проф. дбн Маргарита Камбурова. Представеният от Николина Атанасова комплект материали е в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на БАН за прилагане на ЗРАСРБ.

2. Кратки биографични данни

Николина Атанасова Атанасова е родена на 16. 07. 1979 г., завършила е специалност "Биология" в БФ на СУ „Св. Кл. Охридски“ и магистратура „Биотехнология“ на същия Факултет. От 2005 г. работи в Института по микробиология в лаборатория „Екстремофилни микроорганизми“, като част от екипа на проф. дн Маргарита Камбурова. През годините ас. Николина Атанасова е натрупала огромен опит в изолирането и характеризирането на щамове с различни екстремофилни потребности: термофили и халофили. Към момента, тя е съавтор в единадесет публикации, реферирани в Скопус, цитирани 159 пъти в същата база данни и има Хирш-индекс 7. Четири от последните статии на колектива са пряко свързани с резултатите от дисертационния труд и са отпечатани през 2021 г. в авторитетните списания *Biomolecules* и *International Journal of Molecular Sciences*.

3. Актуалност на темата на дисертационния труд

Индустриализацията, урбанизацията и съвременният начин на живот на водят до производството и натрупването на милиони тонове пластмаса всяка година. Различни по своите състав и качества, пластмасовите твърди отпадъци са една трета от всички твърди отпадъци от бита. За съжаление, по-малко от 10% от произведената пластмаса се рециклира, четвърт от нея се изгаря, а повече от половината просто се изхвърля в природата. Това води до огромно и неконтролируемо замърсяване на околната среда с неблагоприятно въздействие върху редица екосистеми и в особено голяма степен, световния океан. Добре известно е, че замърсяването с пластмаса, освен че загрозява средата, вреди сериозно на здравето на хората и животните.

Научната разработка на ас. Атанасова представлява един нов поглед върху решаването проблема с унищожаването на пластмасовите отпадъци, като си поставя за цел да бъдат намерени микроорганизми, способни да се справят с тяхното разграждане. Темата е нова за България и света. Съвсем доскоро не беше открит нито един микробен вид, който да разгражда пластмаси. Наскоро бяха описани единични щамове, които вероятно са способни да разграждат полистирен, полиуретан или поликапролактон, но авторите не са показали ефективността на разграждане.

4. Оценка на дисертационния труд

Дисертационния труд е написан на 180 страници със следните раздели: 57 стр. литературен обзор с изводи от литературния обзор, 2 стр. „Цел и задачи“, 13 стр. „Материали и методи“, 66 стр. „Резултати и обсъждане“, 3 стр. „Изводи“ и 2 стр. „Приноси“. Цитираните източници са около 187, като повечето от тях са от последните десет години, една трета – от последните пет години. Материалът е онагледен с 38 фигури и 23 таблици.

От прегледа на литературата личат отлична информираност по темата и аналитичен подход, в духа на съвременните „систематични“ ревюта. Разгледана е литературата от последните години и е извлечена последната статистическа информация от сайтовете на Global Market, Plastics Europe и Световния икономически форум 2021 г. Подробно е разгледана ролята на пластмасите като замърсители на околната среда. Описана е структурата на различните видове полимери. Обсъдени са възможностите на микроорганизмите като продуценти на ензими, които допринасят за разграждането на различните видове пластмаса. Отделна глава е посветена на екстремофилните ензими и техните особености. Подчертано е, че използването на екстремофилни микроорганизми и техните ензими липази от групата на естеразите поначало са обещаващи при процесите на биоразграждане. Литературният обзор е написан с желание и вещина и завършва с раздел „Нерешени проблеми“, след който логично, на фокус се появяват целите и задачите на работата.

Разделът „Цел и задачи“ очертава ясно целта на работата: да се да се проучи способността на екстремофилни бактерии, изолирани от български екстремни ниши, ефективно да разграждат различни видове пластмаси и да бъде направена характеристика на тези процеси. Очертани са основните хипотези и етапи в процеса на работа. Формулираните 12 задачи са твърде подробни, но затова пък насочват читателя какви бъдещи резултати да очаква и предполагат добросъвестно изпълнение на предварителен план за работа.

Раздел „Материали и методи“ напълно изчепателено описва както класическите методи за култивиране на екстремофилни микроорганизми, биохимични и ензимологични методи, така и аналитични методи с голяма прецизност като гел-пермеационна хроматография за анализ на деградационни продукти на полимерите, сканираща електронна микроскопия (SEM) и др.

В раздел „Резултати и обсъждане“ ясно и систематизирано са описани стъпките за постигане на целта на дисертацията. Резултатите включват разнообразни експерименти, доказващи разграждането на пластмаси от микробни съобщества, от чисти щамове и в условията на ко-култивиране на два щамове. Направен е скрининг на екстремофилните изолати в наличните сбирки на лабораторията (термофили и халофили) за растеж в хранителни среди с различни видове пластмаси като единствен въглероден източник. Подбрани са специфични хабитати за изолиране на екстремофилни бактерии, като микробните съобщества от горещи извори и солници са култивирани в среди с различни видове пластмаса. Направен е метагеномен анализ на съобществата. Изолирани и идентифицирани до вид са 18 щамове термофилни и щамове халофилни бактерии от седем различни природни проби. Количествено е определена естеразната активност на новоизолираните щамове, тъй като тя се оказва ключова за разграждането на целевия полимер поликапролактон. Освен ензимната активност, доказателство за деструктивното действие на щамове върху пластмасата е анализът продуктите на деградацията на поликапролактона, както и впечатляващи електронно-микроскопски снимки. Един от изследваните щамове, принадлежащ към вида *Brevibacillus thermoruber* е показал особено висока активност, определен е като първичен разграждащ микроорганизъм и съдържа първата екстремофилна естераза с доказани възможности да разгражда поликапролактон. Като следващ етап в работата са оптимизирани параметрите за разграждане на пластмаси от съобществата, чистите щамове и ко-културите, определени са температурния и рН оптимум на ензимите, оптимална концентрация на субстрата, молекулно тегло на субстрата и др. Голямо достойнство на дисертацията е изолирането и пречистването на ензим липаза от *B. thermoruber* щам 7. Ензимът успешно разгражда ПКЛ ин витро, като е доказано, че атакува основната верига на полимера, а не странични разклонения. Що се отнася до халофилните съобщества, те показват огромно филогенетично разнообразие и имат голям потенциал за бъдещи изследвания. Изследвани са 16 щамове халофили от микробната колекция на лабораторията, но тъй като не са се оказали перспективни, докторантката се насочва към изследване на нови природни проби. От тях са изолирани представители на род *Virgibacillus* и род *Oceanobacillus*, способни да разграждат поливинилалкохол, поликапролактон и полистирен.

Дисертацията завършва с 12 извода и 8 приноса. Приемам напълно и изводите, и приносите, с една забележка за извод 5, при който сравнението остава малко неясно. В изводите биха могли да се избегнат някои чуждици, напр. „демонстрираха възможност“, но като цяло, дисертацията е написана прекрасно, в отличен научен стил и в същото време - напълно разбираемо дори за специалисти в сродни области. Прави много добро впечатление пълната липса на правописни, стилови или пунктуационни грешки.

Сред най-значимите постижения на дисертационния труд са следните:

- За първи път е изолирано бактериално съобщество, разграждащо пластмасата поликапролактон при 55 °C, което разрешава комбиниране на физичните и биологичните фактори на разграждане на тази пластмаса.
- За първи път е приложен селективен натиск върху развитието на микробно съобщество под действието на пластмаси като единствен въглероден източник.
- Изолирани са уникални по своите качества щамове, например *Brevibacillus thermoruber* щам 7 и др., способни активно да разграждат поликапролактон и то, при значителна бързина.
- Обяснени са механизмите на разграждане на ПКЛ от термофилните съобщества.
- Пречистената липаза е първият съобщен термостабилен ензим, способен да разгражда ПКЛ, която може да бъде директно прилагана в процеси на биодеградация на пластмаси.

5. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Във връзка с дисертационния труд са представени четири научни публикации, реферирани и индексирани в световните бази данни: в списанието *Biomolecules* (Q2, IF 6.0), *BioTech* (Q2), *IJMS* (Q1, IF 6.2) и *Ecologia Balkanica* (Q4). Всички тези списания са безспорно авторитетни в областта на дисертационния труд, а Николина Атанасова е първи автор на всички тези статии, което показва нейния ключов принос в тяхното изработване и публикуване. Темата има широк хоризонт пред себе си и предполага продължение и разширение в бъдещи

изследвания, като доказателство за това са цитатите – само до м. април т. г. - 31 на брой.

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на ас. Николина Атанасова е посветен на актуална тематика с огромно значение за качеството на живота на човечеството. Получените резултати са нови, значими и отварят пътя за развитие на цяло ново направление в областта на екстремофилните микроорганизми. Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които отговарят на всички изисквания ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ в БАН и изискванията на Института по микробиология. Докторант Николина Атанасова притежава богати теоретични познания и завидни професионални умения в научната специалност Микробиология.

Давам своята положителна оценка за дисертационния труд, автореферата и приносите на дисертацията и убедено подкрепям присъждането на образователната и научна степен „доктор“ на асистент Николина Атанасова Атанасова в област 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Микробиология.

28.05.2023 г.

Рецензент:

(проф. дн Пенка Петрова)