

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Анна Атанасова Томова
Катедра „Обща и промишлена микробиология”,
Биологически факултет, СУ „Св. Климент Охридски”

Член на Научно жури, утвърдено със Заповед № I-44 / 31.03.2023 г. на Директора на Институт по Микробиология "Стефан Ангелов" - БАН за провеждане на процедура за защита на дисертационен труд на Николина Атанасова Атанасова - ИМикБ - БАН.

Относно: дисертационен труд за присъждане на ОНС „Доктор“ на Николина Атанасова, докторант на самостоятелна подготовка към лаборатория „Екстремофилни бактерии“, Департамент „Обща микробиология“ на тема: „**Разграждане на пластмаси от термофилни и халофилни бактерии, изолирани от български екстремни ниши**“ Професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология)

Актуалност на изследванията

Научните изследвания в дисертационния труд на Николина Атанасова са насочени към проучване на потенциала на термофилни и халофилни бактерии, изолирани от български екстремни ниши, да разграждат пластмаси. Откриването на предимствата на тези синтетични полимери от компаниите за производителски стоки, води до навлизането им в различни сфери на производство, което е свързано с генериране на нарастващи количества боклук. Замърсяването с пластмаса вече е документирано във всички големи океански басейни, крайбрежни ивици, реки, езера, сухоземни местообитания и дори в отдалечени места като Арктика и Антарктика. През 2019 година глобалното изтичане на макро- и микропластмаси в околната среда беше оценено на 22 Mt, като се предвижда тази стойност да се удвои до 2060 г. Замърсяването с пластмаса оказва силно негативно влияние върху човешкото здраве и изменението на климата, вследствие значителния въглероден отпечатък и отделените огромни количества парникови газове в атмосферата. Тези факти подчертават спешната необходимост от прилагането на устойчиви, еколого-съобразни решения за управление на отпадъците, като същевременно се търсят нови подходи за ефективна биодegradация на пластмасите. Със своите експерименти Николина Атанасова допринася за разрешаване на този световен проблем, като предлага възможност за развитието на нов ефективен процес за биодegradация на пластмаси с участие на екстремофилни микроорганизми и техните ензими. До този момент броят на описаните ензими от

екстремофилни бактерии, разграждащи пластмаси, е оскъден. В отговор на това, докторантката провежда скрининг на 96 броя термофилни и халофилни щамове от колекцията на лаборатория Екстремофилни бактерии, относно способността им да усвояват различни видове пластмаси като единствен въглероден източник. Паралелно с това, тя използва микробния ресурс на българските екстремни ниши в търсене на ефективни деградатори на пластмаси. За тази цел, ас. Атанасова изолира 13 микробни съобщества от проби от горещи извори (5) и солници (7) и проучва растежа и естеразната им активност, както и на изолираните от тях чисти бактериални култури. До момента не е провеждано подобно обширно проучване на българските екстремни ниши, относно микробния капацитет за разграждане на различни видове пластмаси, което определя актуалността и научната значимост на представеното изследване. Дисертационният труд съдържа нови резултати относно растежа и естеразната активност на новоизолираните термофилни и халофилни съобщества в присъствие на 4 различни вида пластмаси (поликапролактон, полистирен, полипропилен и поливинилалкохол). Получени са данни относно микробното разнообразие в две пластмаса – активни съобщества и е доказано влиянието на ПКЛ и ПС върху видовия им състав. Изолиран е перспективен термофилен щам *Brevibacillus thermoruber* щам 7, продуциращ липаза и разграждащ ефективно поликапролактон при 55°C. Разработена е технологична схема за пречистване на ензима и са охарактеризирани свойствата на чистия ензимен препарат. Това е първия съобщен термостабилен ензим, способен да разгражда поликапролактон при висока температура и позволяващ създаване на ефективен процес на биоразграждане на пластмаса. Представеното изследване предоставя нова информация за динамиката на процеса на биоразграждане на поликапролактон от микробно съобщество и само от един щам, *Brevibacillus thermoruber* щам 7, като постигнатата скорост на разграждане от 4 седмици е сред най-високите съобщени досега при субстрат пластмаса.

Представения дисертационен труд е написан на 180 страници, включително 38 фигури и 23 таблици. Материалът е структуриран в стандартните раздели за такъв тип научна разработка, а именно: Увод (2 стр.), Литературен обзор (68 стр.), Цел и Задачи (2 стр.), Материали и методи (13 стр.), Резултати и обсъждане (66 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (2 стр.) и Литература (26 стр.). Литературната справка и интерпретацията на резултатите се базира на използването на 187 литературни източници, всички на латиница и повечето от последните 10 години.

Увод и литературен обзор

Уводът е написан кратко и стегнато и акцентира върху проблема със замърсяванията с пластмаса и възможностите за създаване на нови подходи за биоразграждането им, чрез използване на екстремофилни микроорганизми и техните ензими.

В литературния обзор се представя много добре обобщена и анализирана информация, изложена на точен научен език. Големият брой цитирани литературни източници показват добрата осведоменост и подготовка на докторантката за изпълнение на задачите, свързани с разработвания проблем. В литературния обзор логично е включено описание на видовете пластмаси и областите на тяхното приложение, механизмите на биоразграждане и ролята на микроорганизмите от екстремни ниши, като ефективни биодеградатори на различни видове пластмаси. Основателно се акцентира върху описаните до момента мезофилни и термофилни ензими, които участват в процеси на биодеградация на пластмаса, като е подчертано предимството на екстремозими, в частност термостабилните липази, при разработване на различни биотехнологични процеси.

Цел и задачи

Целта на дисертационния труд и формулираните за нейното изпълнение 10 изследователски задачи произлизат от работната хипотеза за неизследвания потенциал на термофилните и халофилни микроорганизми да разграждат пластмаси, водещо до възможности за изолиране на ефективни биодеградатори от български екстремни ниши. Основните задачи са логично подбрани и подредени.

Материали и методи

Експерименталната работа по дисертационния труд е осъществена вследствие прилагането на разнообразни методи, включващи микробиологични и биохимични методи, метагеномен и хроматографски анализ, електрофоретични методи и сканираща електронна микроскопия. Докторантката е усвоила голям брой лабораторни методики, които тя е описала прецизно и разбираемо в раздел Материали и методи.

Резултати и обсъждане

Получените резултати са описани в логична последователност, съобразно реда на поставените задачи. В табличен вид са представени данните от скрининга за разграждане на различен вид пластмаса от колекционни и новоизолирани екстремофилни щамове и микробни съобщества, което значително улеснява тяхното възприемане. В резултат на

проведеното изследване, от български екстремни ниши са изолирани общо 13 термофилни и халофилни бактериални съобщества и е изучен техния потенциал да разграждат ПКЛ, ПС, ПП и ПВА (анализ на естеразна активност). Две от проучваните термофилни и халофилни съобщества се открояват със значителна способност да разграждат пластмаса. За съобщество Марикостиново МК се докладва най-високата съобщена до момента температура за разграждане на поликапролактон - 55°C. В термофилното и халофилно съобщество е доказана връзка между броя и вида на таксономичните групи и присъствието на поликапролактон в средата. Извършеният филогенетичен анализ на микробните съобщества предоставя ценна информация за таксоните, които активно участват в разграждането на пластмасови отпадъци. Като следващо направление са представени резултатите от изолирането и идентификацията на термофилни и халофилни бактерии и е направена оценка на потенциала на изолатите да разграждат пластмаса. Естеразна активност спрямо поликапролактон е установена при 12 изолата, като най-висока е при *Brevibacillus thermoruber* щам 7. При халофилните бактерии се открояват 6 щамове, продуциращи естераза, сред изследваните общо 25. В рамките на 4 седмици е проследен процеса на биоразграждане на поликапролактон по отношение загуба на гравиметрично тегло и получени крайни продукти от разграждането на полимера. Получените резултати са представени в сравнителен аспект за съобщество МК, *Brevibacillus thermoruber* щам 7 и ко-култура от щам 7 и щам 2. При съобщество МК и щам 7 резултатите се допълват и от анализ на промени в повърхността на полимера, направен чрез СЕМ.

Като следващо направление в главата са представени експерименталните резултати от изследването на термостабилната липаза от *Brevibacillus thermoruber* щам 7. Те включват данни от пречистването на ензима, определяне на молекулната маса, както и детайлно характеризирани на свойствата на чистата липаза. Доказани са значителни промени на повърхността на ПКЛ перли, вследствие разграждане им както от ултраконцентрат така и от чистия ензим.

Представените резултати са задълбочено интерпретирани и сравнени с резултати от сходни изследвания.

Изводи и приноси

Въз основа на данните от проведеното комплексно изследване са формулирани 12 извода и са очертани 7 приноса, които подчертават оригиналността на проведеното проучване и разкриват важността на научните резултати при разработване на ефективни процеси за биоремедиация на замърсени с пластмаси места.

Административни документи

Докторантката е представила четири публикации по темата на дисертацията, в които тя е първи автор. Те са отпечатани в международни научни списания с висок квартил и SJR. Със събраните 287 точки, вследствие изпълнението на всички критерии, заложи в учебната програма за целия курс на обучение, ас. Атанасова значително надхвърля изискваните 200 точки за защита на дисертационен труд.

Автореферат

Приложеният към дисертацията автореферат е с обем от 51 стр. и е изготвен като синтезиран вариант на дисертационния труд, който напълно отразява всички основни негови раздели и е много добре структуриран и онагледен с фигури и таблици.

Бележки и въпроси

Към докторантката имам две дребни технически забележки:

- в описанието на Табл. 7, стр. 85 от глава Резултати и обсъждане, фигурира среда № 7, която не е описана в раздел Материали и методи.
- формулирани са 10 задачи, но от номерирането им става объркване, че броят им е 12.

Въпрос:

Кои характеристики на халофилните бактерии и техните ензими ги определят като перспективни за приложение в процеси за разграждане на пластмаси?

Заклучение

В заключение бих искала да обобщя, че представения дисертационен труд и съпътстващите го документи напълно отговарят на законовите критерии за получаване на образователна и научна степен „Доктор“. Предвид проведеното мащабно и задълбочено проучване и изведените приноси от него, използването на различни съвременни методи, важността на получените оригинални резултати с фундаментален и приложен характер, давам своята положителна оценка и препоръчвам на научното жури да присъди научната и

образователна степен “Доктор” на Николина Атанасова.

25.05.2023 г.

Гр. София

Член на Научно Жури:

/доц. д-р Анна Томова/