

## РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд, представен за защита по процедура за присъждане на образователна и научна степен “доктор” по професионално направление

4.3. „Биологически науки“ (Микробиология)

Тема: „Антимикробна активност на наноструктурни материали“

Автор: редовен докторант Драгомира Светлозарова Стоянова

Научни ръководители: доц. д-р Илияна Иванова и доц. д-р Орлин Ангелов

Рецензент: доц. д-р Траяна Недева

Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”

Настоящата рецензия е изготвена в съответствие с нормативните документи – ЗРАС и ППЗРАС и Препоръките на ФС на БФ за критериите при придобиване на научни степени, съобразени с тях.

### **1. Съвременно състояние на научния проблем и актуалност на дисертационната тема**

Понастоящем нанотехнологиите се очертават като шестата революционна технология, след зелената революция от 1960-те и биотехнологичната революция от 1990-те години на миналия век. Нанотехнологиите са иновативен научен подход, включващ използването на материали и оборудване, които могат да манипулират физичните и химичните свойства на дадено вещество при молекулярни нива. Те обединяват наука и технологии, водещи до революционен пробив в областта на електрониката, енергетиката, ремедиацията, космическите технологии и науките за живота. Потенциалните приложения и ползи от нанотехнологиите са огромни. В днешно време, нанотехнологиите постепенно се насочват от експерименталната в практическите области. В този смисъл се усъвършенстват подходите и методите за получаване на наноматериали и наночастици в широк мащаб и се изучават техните свойства, свързани с практическо приложение в различни сфери на икономиката. Неслучайно, през 2015 г. нанотехнологията бе определена за индустрия на стойност \$ 1 милиард.

В контекста на гореизложеното, представеният ми за рецензиране научен труд е посветен на актуална научна и научно-приложна тематика, свързана с изследване на антимикробния ефект на различни наночастици, нанокompозити и тънки филми, съдържащи наночастици и проучване на механизмите, чрез които се реализира този ефект за целите на бъдещи приложения в киничната практика.

## **2. Оценка на структурата, специфичните задачи и тяхното съответствие с поставения научен проблем**

Дисертационният труд е с обем 178 стр., от които основен текст 129 стр. и списък на използваните литературни източници – 32 стр. (432 заглавия), други приложения – 17 стр., (в т.ч. списък с използваните съкращения, списък на приложените таблици и фигури, съдържание и справка за публикационната активност). Работата е структурирана по общоприетия за такъв вид труд схема, като включва част „Въведение“, „Литературен отбор“ (46 стр.); „Цел и задачи“, „Материали и методи“ (11 стр.); „Резултати и обсъждане“ (58 стр.), „Изводи“ и „Приноси“ (2 стр.). Научните доказателства са представени с графики и снимки (69 бр.) и таблици (3 бр.). Съотношението на текст към илюстративен материал е приблизително 1:1, което е очаквано за една експериментална работа. Представени са 10 извода, за обсъждане на резултатите са цитирани близо  $\frac{1}{4}$  от използваните литературни източници.

В работата е формулирана 1 обобщена цел и 5 специфични задачи. Те определят логичната последователност от изследователски решения, които започват с подбор на наноструктурни материали, проучване на антимикробното действие на трите типа такива материали чрез микробиологични и физикохимични методи и изследване на процеса на гена експресия на целеви гени от вътреклетъчните системи на *E. coli* за елиминиране на токсичност от метални йони, като завършващ етап на това комплексно научно изследване. Тези специфични задачи, чието изпълнение е реализирано с помощта на микробиологичен, ензимологичен, физико-химичен и молекулярно-биологичен инструментариум са достатъчни за постигане на целта на труда.

## **3. Оценка на съответствието на методичните подходи с поставените цели**

За реализиране на научния труд е използван набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експерименталните задачи. Те включват микробиологични

техники за оценка на антимикробния ефект на изследваните наноматериали, в т.ч. и култивиране на тест-микроорганизмите; ензимологичен метод за определяне на активност на ключов ензим, маркер за метаболитно състояние на тест-културите, физикохимични методи за оценка на състав, структура и поведение на наноматериалите и ефекта им върху тест микроорганизмите; молекулярни подходи, приложени за проследяване на генната експресия на таргетни гени от системите, свързани с елиминиране на токсичност на Cu и Ag йони и нанопилми, които ги съдържат.

Трябва да отбележа, че този раздел е добре структуриран. Методологичният подход е развит последователно; описанията на микробни култури, хранителни среди, на методите - от култивиране до генна експресия са прецизирани фактологично. Описанията са поднесени интелигентно с достатъчно детайли за повторяемост. За методите на сканираща електронна микроскопия, енергиен дисперсионен рентгенов анализ, пламъчна атомно абсорбционна спектрометрия, флуоресцентна микроскопия, освен принципите са представени и конкретни работни параметри и режими.

#### **4. Оценка на съответствието на теоретичната обосновка с експерименталните решения, резултати и приноси**

##### *Въведение и Литературен обзор*

Въведението последователно насочва към проблематиката на дисертацията с достатъчен акцент върху практическата приложимост на фундаменталните изследвания в труда.

Литературният обзор е написан въз основа на над 400 заглавия на публикации от тематичния обхват на дисертацията. Те отразяват световните постижения и съвременни тенденции по научната проблематика – повечето от цитираните публикации са излезли от печат след 2010 година. Тези данни показват, че докторантката е приложила принципа на изчерпателност и библиографска точност, а така също се е съобразила с изискванията за актуалност на използваната информация. Цитираните факти са прецизирани по отношение на превод и интерпретация. Що се отнася до структурата на обзора: съгласно съдържанието си е структуриран в две големи части: видове наноматериали и методи за получаване и антимикробни свойства и механизъм на действие на тези наноматериали. Добър обем - 46 стр., вътрешно балансиран и обхващащ основните аспекти на проблема, обзорът изцяло отразява отправените на етап вътрешна защита препоръки за реструктуриране.

По отношение на съдържание на Литературния Обзор: обемната фактология е обобщена в тенденции; умело е елиминирано частичното повторение на информацията; стилът е професионално издържан; използван е академичен език при излагане на научните факти.

#### *Експериментални решения, резултати и анализи*

Получените резултати са представени и интерпретирани в логическа последователност, съответстваща на поставените задачи. Така и ще бъдат коментирани в рецензията.

#### **Физико-химични характеристики на тънките слоеве, синтезирани чрез магнетронно разпръскване (стр. 72 – 77)**

В този раздел са представени данни за повърхностните характеристики на нанопокритията, обект на изследване получени чрез сканираща електронна микроскопия, рентгенова фотоелектронна спектроскопия и енергийно-дисперсионна рентгенова спектроскопия. Коментирано е значението на тези характеристики за закрепването на бактериите и излагането им на действието на различните химични елементи в състава на слоя, а така също и за възможностите за образуване на биофилм от микробни клетки, който се повлиява по различен начин от наночастиците в сравнение с планктонните култури.

#### **Антимикробно действие (стр. 77 – 107)**

Този втори раздел е най-обемният от работата и разглежда комплексно антимикробния ефект на дисперсии от наночастици, колаген базирани нанокомпозиции и на тънки филми с оценка на морфологичните и физиологични промени в тест културите. Именно на този раздел се дължат основните положителни характеристики на дисертационния труд. Резултатите в него са представени в градация – от качествено определяне на антимикробно действие на дисперсии от наночастици и колаген базирани нанокомпозиции и на тънки филми до проследяване на кинетиката на растеж на бактериите в присъствие на тънки филми чрез моделиране на процеса на десорбция на йони от наноматериалите. Извършена е забележителна по обем и комплексност експериментална работа. Проучен е ефекта на 15 наноструктурни материали, 9 режима на технологични параметри за синтеза на тънки филми върху 9 моделни тест култури. Допълнително е оценена жизнеспособността на бактериални клетки след третиране с тънки филми, като са проследени настъпилите морфологични промени. Аргументационният материал отразява коректно наблюдаваните факти.

Интерпретацията им е изчерпателна, аргументирано обсъдена в светлината на представително количество литературни данни и напълно убедителна. Тук личи не само сериозната експериментална работа, но и това, че тя е била добре и логично обмислена.

**Стрес ефект и молекулни механизми за устойчивост на *E. coli* ATCC 10536 към метали; експресия на таргетни гени от медната хомеостаза на *E. coli* ATCC 10536 в присъствие на тънки филми (стр. 108 – 139)**

Следващите 4 под-раздела, които е могло същностно да се обединят и в отделен раздел представят данни, свързани с поведението на моделен обект *E. coli* по отношение на медната хомеостаза, в присъствие на тънки филми. Те са добре структурирани и прецизни по отношение на експериментален дизайн и фактология. Тук е получена ценна информация за молекулните механизми на устойчивост на *E. coli* към метали чрез проследяване на експресията на целеви гени от медната хомеостаза на *E. coli* в присъствие на тънки филми от  $\text{TiO}_2\text{:Cu:Ag}$ . Нещо повече, получени са ценни данни за стабилността, респ. разтворимостта на тънките филми и възможността за повторната им употреба. Интерпретацията на данните е задълбочена и подробна и позволява читателят да тълкува правилно представения доказателствен материал.

Резултатите са обобщени в 10 извода, които отразяват постиженията на представения докторантски труд. Изводите следват логиката и хронологията на формулираните задачи.

Представени са и 9 приноса, подредени по логиката на значимост. Те отразяват адекватно новаторските елементи в дисертацията и съответстват на Професионално направление 4.3. „Биологически науки“ (Микробиология).

Въз основа на изброените изводи и приноси смятам, че с новаторски характер по отношение на съдържание и потенциално приложение са следните факти:

- Изследваните дисперсии, тънки филми и колаген базирани нанокompозити имат изразен антимикробен потенциал, който зависи от комплексното действие на няколко основни фактора: състав на наноматериала, технологични параметри на изготвяне, видова принадлежност на тест културите.
- Сериозните морфологични промени в клетките-мишени, заедно с времето на задържане на микробния растеж са индикатор за това, че могат да се подберат покрития с компонентен състав и технологични условия на нанасяне, които да намерят приложение в медицинската практика.

## **5. Предлагани допълнения и въпроси**

### *Допълнения*

Подробности по някои дребни забележки и препоръки, не коментирани в рецензията бяха споделени в личен разговор с докторантката, която внесе допълнителни разяснения и яснота по голяма част от тях.

### *Въпроси*

1. Каква е причината да изберете като тест микроорганизъм *Ps. putida*, в контекста на потенциалното приложение на изследваните наноматериали в клиничната практика?
2. Какви перспективи за конкретно практическо приложение на постигнатите от вас фундаментални резултати можете да очертаете?

## **6. Публикации във връзка с дисертационния труд**

Публикационната дейност изцяло съответства на нормативните документи – ЗРАС и ППЗРАС и Препоръките ФС на БФ за критериите при придобиване на научни степени, съобразени с тях. Държа да отбележа сериозната научна продукция, съпътствана вече и от цитати. Подробности от публикационната дейност са отразени коректно в дисертационния труд и в автореферата. Кратката статистика в цифри показва 6 публикации в реферирани научни списания; 1 с IF= 1.76; Q2 и 5 с общ SJR 0.852, (Q3 и Q4); 1 публикация в нереферирано списание; 17 участия в научни форуми (12 международни и 5 национални), участие в 4 научни проекта; 7 цитирания. В 4 от публикациите и в повечето доклади и постерни материали докторантката е на първо място, което определя нейният съществен дял в разработването на дисертационния труд.

## **7. Съответствие на придобитата компетентност с изискванията на образователната и научна степен „доктор”.**

### *Знания:*

Докторантката е усвоила нови знания в конкретна научна област: изучаване на структурата, свойствата и ефекта на наноматериали във връзка с тяхната антимикробна

активност; механизми на техния ефект и физиологичните последици за микроорганизмите –мишена.

*Умения:*

Докторантката е придобила умения за прилагане на разнообразен методичен подход за разрешаване на конкретни изследователски задачи. Тя е усвоила микробиологични, физико-химични, ензимологични и молекулярно-биологични методи. В допълнение на специализираните техники докторантката е придобила умения за анализ, интерпретация и оценка на експериментални данни. Тези умения са принос към съществуващите практики в професионалното направление.

*Самостоятелност и отговорност:*

Докторантката демонстрира самостоятелност при разработването на новаторски идеи и научни изследвания в работен контекст; независимост и поемане на отговорност при разрешаване на научни проблеми, успешно адаптиране към работна среда и екип, включително и в чуждоезично културно и професионално обкръжение – част от дисертационния труд е разработен в Университета на Намюр, Белгия, с финансовата подкрепа на Програма Еразъм+.

Личните ми впечатления от Драгомира Стоянова са за един инициативен млад човек, работлив и мотивиран.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Въз основа на посочените по-горе аргументи изразявам подкрепа на актуалността на проблемите, обект на дисертационната работа. По отношение на структура, специфични задачи за разрешаване на поставения научен проблем, методични подходи, експериментални решения, реализирани резултати и тяхната интерпретация, изразявам мнение, че дисертацията на докторант **Драгомира Стоянова** е напълно завършен авторски труд, който изцяло отговаря на критериите обем, съдържание и творчество.

Във връзка с това, препоръчвам почитаемото Научно Жури, назначено със Заповед № РД 38-722 / 18.12.2019 г., да присъди на **Драгомира Светлозарова Стоянова** образователната и научна степен „доктор”.

07.03.2020 г.

София

рецензент:

(доц. д-р Траяна Недева)