

РЕЦЕНЗИЯ

по конкурс за получаване на академичната длъжност „Професор”
по професионално направление 4.2. Химически науки (Биофизикохимия),
обявен от Софийски университет „Св. Климент Охридски“ в ДВ, бр. 21 от 18.03.2016г.

Кандидат: доц. дн Константин Тодоров Балашев,
Катедра по физикохимия, Факултет по химия и фармация,
Софийски университет „Св. Климент Охридски“

Член на журито: проф. дхн Елена Димитрова Милева, Институт по физикохимия, БАН

1. Кратки биографични данни за кандидата

Доц. дн Константин Балашев е завършил специалност Биотехнологични процеси в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски” и специалност Биотехника във Факултет по автоматика на Техническият университет в София през 1993 г. През 1999 г. е защитил успешно дисертация за ОНС „Доктор“ (Физикохимия) на тема „Състояние и фотохимични свойства на монослоеве от бета-дикарбонилни и спиропиранови съединения, организирани на гранични повърхности”. В периода 1998-2005 г. е бил на дългосрочни специализации в: (1) Център по интердисциплинарни изследвания (CISMI), Копенхагенски университет, Копенхаген, Дания (1998-2000, проф. Томас Бьорнхолм); (2) Университет на Мичиган, Ан Арбър, САЩ (2000-2001, проф. Марк Бензак Хол и проф. Бранфорд Ор); (3) Център по нанонауки (Nanoscience center), Копенхагенски университет, Копенхаген, Дания (2001-2003); (4) Университет Дрексел, Филадельфия, САЩ (2003-2005, проф. Джон Ди Нардо). Бил е и на краткосрочни специализации в: (1) Университет на гр. Тулон, Франция (1995); (2) Макс Планк институт по полимери, Майнц, Германия (2012, 2015). От 2005 г. Константин Балашев работи в Катедра по физикохимия на ФХФ-СУ, последователно като старши (2005-2006) и главен асистент (2006-2008), а от 2008 г. – като доцент по физикохимия (Биофизикохимия). През 2015 г. кандидатът е защитил дисертация за получаване на НС „Доктор на науките“ (Физикохимия) на тема „Атомно-силова микроскопия (AFM) с приложения в биокатализа и при охарактеризиране на наночастици и молекулно-подредени наноструктури“.

2. Научна и научно-приложна дейност

Научната дейност на доц. Балашев е в областта на физикохимията и биофизикохимията на повърхностите и дисперсните системи. Основните направления, по които е работил, са свързани с изследване на организацията на мономолекулни слоеве, молекулни филми, биологични мембрани и структури, ензимо-каталитични реакции, както и изучаване на физикохимични и фотохимични свойства на моно- и мултислойни молекулни системи (монослоеве, бислойни моделни мембрани и липозоми), организирани върху гранични повърхности. Доц. Балашев е автор общо на 62 научни публикации, от които 50 са статии в специализирани научни издания (45 в списания с импакт фактор/ранг), 10 – статии в сборници от конференции и др. и 1 глава от книга (Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, Vol. 87, Burlington: Academic Press, 2012). Той участва в конкурса с общо 54 научни труда и една дисертация за получаване на НС „доктор на науките“. От публикациите 39 са в реномирани научни списания с импакт фактор, като например: Phys. Rev. Letters (IF=7.645) – 1; Chemistry A Eur. J. (IF=5.771) – 1; BBA-Gene Regulatory Mechanisms

(IF=5.373) – 1; Langmuir (IF=3.993) – 4; I. J. Biochem. Cell Biol. (IF=3.905) – 1; Coll. Surf. B (IF=3.902) – 2; J. Coll. Interface Sci. (IF=3.782) – 2; BBA Biomembranes (IF=3.687) – 2; Biophys. J. (IF=3.632) – 4; Eur. Polymer J. (IF=3.485) – 1; J. Phys. Chem. B (IF=3.187) – 1; Biochimie (IF=2.963) – 2; Microchemical J. (IF=2.893) – 1; Coll. Surf. A (IF=2.760) – 6; J. Photochemistry and Photobiology (IF=2.008) – 1, и др. Той е първи автор в 15 от статиите. След конкурса за заемане на академичната длъжност „Доцент” (2008 г.) са публикувани 33 труда; 30 от тях са в международни списания с импакт фактор/ранг. След написване на дисертацията за получаване на НС „Доктор на науките“ (2015 г.) са публикувани 19 научни статии в специализирани списания, от които 14 са в издания с импакт фактор. Досега по работите на доц. Балашев са забелязани общо над 450 цитата, като в конкурса той участва с 394 цитата; h-индексът на кандидата е 9. Статията с най-много цитати е от 2003 г., публикувана в Phys. Rev.Lett. – 155 (B30); 3 от статиите са с над 25 цитата (B32, B34, B35, от списъка на научните трудове за участие в конкурса); 5 – са с над 10 цитата (B13, B19, B28, B33, B44). Резултати от изследователската работа на кандидата са представяни в 16 материала (вкл. 5 доклада) на различни международни научни форуми.

Авторската справка за периода след хабилизацията през 2008 г. обхваща няколко групи от явления и системи, в изследването на които доц. Балашев има значими приноси.

1. По мое мнение, най-важните научни достижения на кандидата са свързани с използването на Атомно-силова микроскопия (AFM) за изследване на структурата и свойствата на комплексни системи с участието на липидни субстрати, белтъчни адсорбционни слоеве, ензимо-каталитични реакции и при охарактеризиране с нанометрична разделителна способност на метални и полимерни наночастици, наноструктури и различни материали. Този област принадлежи към едно от най-модерните направления в колоидната наука: технологии на получаване и охарактеризиране на наноструктурирани състави, които се основават на ‘меки’ повърхности и колоиди, с фино-регулируеми свойства, и които намират важни приложения, напр. в биологията, биомедицината и фармацевтичната промишленост. Основна част от резултатите на кандидата в тази група от изследвания бяха представени и в успешно защитената през 2015 г. дисертация за получаване на НС „Доктор на науките”. Тук ще отбележа някои от главните акценти и достижения.

(1.1) Приложение на Атомно-силовата микроскопия при изследване на молекулната организация в Лангмуир-Блоджетови филми (LB) от амфибилни съединения (A1, B3, B10, B19, B27, B33)

- Особено внимание заслужава работата (B33), в която са охарактеризирани топографията, физикохимичното състояние и молекулната подредба в LB филми от новосинтезирани амфибилни съединения – хексабензокоронени (HBC), които са с потенциални приложения в молекулната електроника. Използван е комбиниран експериментален протокол, който включва методи на рентгено-структурния анализ (GIXD и XR), както и AFM с Келвинова силова микроскопия. Показано е, че HBC молекулите се самоорганизируют на границата вода/въздух в различни ламеларни фази в зависимост от стойността на повърхностното налягане: при по-ниски налягания в монослоя се образуват π -стекове, подредени под наклон, докато при по-високо налягане в монослоя възниква фазов преход, при който въглеродородните вериги преминават в 2D кристално състояние, загубва се последователността в π -стека и се получават промени в електронните свойства на молекулния филм.

- Друг принос в приложението на AFM, и в комбинация с реологични измервания, е систематичното охарактеризиране на морфологията и структурната организация на LB филми от протеина хидрофобин (HFBI) (B19). Установено е образуването на монослойни или трислойни

покрития от HFBI върху слюдена повърхност. Получени са два типа структури на трислоя от HFBI, които са резултат от действието на различните молекулни механизми при свиване на монослоя от HFBI на границата вода/въздух.

- AFM е използван и за анализ на морфологията на LB филми, получени от монослоеве на фосфолипидни смеси при изучаване природата на взаимодействие между ензима фосфолипаза A₂ (PLA₂) и неговия липиден субстрат, организиран в униламеларни липозоми (B3). С помощта на AFM, в друга статия (B10), са получени интересни резултати от изследване на конкурентната адсорбция на серумен албумин (BSA) и n-dodecyl-maltoside (C₁₂G₂) по границата вода/въздух.

- С комбиниран експериментален протокол, който включва монослойни измервания и AFM, е изучавано и действието на ензима Savinase върху монослой от инсулин на границата вода/въздух (B27). Установени са съществени различия в морфологията на LB филми: преди ензимното действие филмите са сравнително гладки, а след хидролитичното действие на ензима, грапавостта им се увеличава двойно и се наблюдават 3D структури от хидролизирани B-вериги на инсулина.

(1.2) Приложения на Атомно-силовата микроскопия за изучаване на ензимо-каталитични реакции (A1, B24, B26, B28, B29, B32, B34, B37, C1, D7). Тук специално трябва да се отбележат работите (B34, B37, D7), в които за пръв път е показано как AFM с т.нар. liquid cell, може да се приложи като аналитична методика за изследване на ензимо-каталитични реакции.

По-подробно са изучени следните случаи:

- Хидролиза на фосфолипидни мембрани при каталитичното действие на *Phospholipase A₂* (PLA₂) (A1, B28, B29, B32, B34, B37). Изследвана е ензимната реакция със смесени бислоеве: фосфолипид/лизолипид/ палмитинова киселина. Доказано е наличието на два типа бислойни дефекти (структурни и композиционни) при бислоеве, които съдържат 75% лизопродукти. Резултатите подкрепят хипотезата, че продуктите на ензимната реакция имат определящо значение за активиране на ензима.

- Хидролиза на липидни слоеве под каталитичното действие на *Humicola lanuginosa lipase* (HLL) (A1, B31). Изследвано е липолитичното действие на HLL върху хибридни липид/фосфолипид (MOG/DPPC) бислоеве за различни ензимни концентрации. Получените данни показват, че скоростта на хидролиза зависи от концентрацията на ензима и от дължината на периметъра на първоначалните структурни дефекти в бислоеве. Анализът на AFM изображенията подкрепя хипотезата, че ръбовете на съществуващите дефекти в хибридните бислоеве са предпочитани места за ензимна атака.

- Хидролизата на фосфолипидни бислоеве под действие на Viroxin PLA₂. (A1, B24, C1). Чрез използване на AFM методиката, са установени появата и растежът на уникални триизмерни (3D) кристалоподобни структури в рамките на бислоеве.

(1.3) Приложения на Атомно-силовата микроскопия при изследване морфологията на наночастици, наноструктури и при кинетиката на растеж на златни наночастици. (A1, B1, B2, B4, B8, B11, B12, B13, B15, B16, B17, B18, B20, D2, D3, D5, D6)

- Метални наночастици са изследвани в (A1, B1, B4, B8, B11, B15, D2, D5, D6). В работите (B11, D5) за пръв път е предложен експериментален подход, основан на AFM, за охарактеризиране размера и формата на златни наночастици в хода на синтеза им и е изследвана кинетиката на растежа им. Тази методика е приложена успешно и при изследване влиянието на метални (Cu²⁺ и Eu³⁺) йони върху кинетиката на растеж на златни наночастици (B1, D6), както и при

модификацията на частиците с BSA (B8). В (B15, D20) AFM е комбинирана с EDS и XRD за анализ на структурата на филми от ZnO, модифицирани със златни наночастици. Установено е, че наличието на златните частици във филмите подобрява фотокаталитичната им активност. Подобни резултати са получени и за филми от TiO₂ с вградени златни наночастици (B4).

(1.4) Приложения при изследване структурата на полимерни наночастици, наноструктури и липозоми (A1, B2, B12, B13, B16, B17, B18, B20, D3)

В работите (B2, B17, B18, B20) AFM е приложена за охарактеризиране размера и морфологията на полимерни наночастици. Изследвани са наночастици, синтезирани на основата на полимери Poly(VA-ко-DMAPS), с различни размери и структура в зависимост от молното отношение на мономерите VA/DMAPS. AFM позволява да се установят морфологични промени в тези наночастици, когато се натоварят с водоразтворим кардиоселективен β -блоккер Metoprolol tartrate. В публикациите (B12, D3) е показано използването на AFM за изследване на структурната организация на сегментирани съ-полимерни мрежи (SCN), получени от poly(2-ethyl-2-oxazoline) и които съдържат 2-hydroxyethyl methacrylate. Това също са потенциални системи за забавено освобождаване на β -блоккера.

(1.5) Приложения на Атомно-силовата микроскопия при изследване морфологията на биологични структури (B6, B9, B14, B22, B23)

- Изследване структурата на хроматин от дрожди (B9, B22, B23).

- Изследване структурата на фотосинтетичния апарат при растения (B6, B14). Проучено е влиянието на pH върху макроорганизацията и термичната стабилност на фотосинтетичния комплекс (PSII) на грана мембрани като AFM е използван за получаване на изображения с нанометрична разделителна способност на мембранни фрагменти в протонирано и частично депротонирано състояние (B6) и е изследвана промяната в молекулната архитектура и функция на мембрани от фотосинтезния комплекс на Arabidopsis под действието на растителни стероидни хормони (BRS) (B14).

(1.6) Приложения на AFM при изследване наноструктурата на различни други материали

- Изследване топографията на модифицирани покрития от TiO₂ или TiO₂/ ZnO, във връзка с трибологичните свойства на изследваните филми (B5, D1, D4).

- Охарактеризиране на функционални хибридни оптични композити (B7)

- Приложение в микроелектронните технологии за изследване на свойствата на повърхностите на контактни площадки на интегрални схеми (B21).

(2) Кандидатът е получил интересни резултати при изследване на моделни монослойни системи на граничната повърхност вода/въздух с помощта на рентгенова дифракция от източник на синхротронно лъчение (GIXD) и пълно вътрешно отражение на рентгеново лъчение (XR) (A1, B30, B33, B35, B36, D8, D9, D10)

(2.1) В работите (B35, D8, D9, D10) са изследвани липид-липазни взаимодействия на граничната повърхност вода/въздух. За пръв път с тази методика са изследвани монослоеви от два класа липиди – с наситени (дипалмитоилглицерол, DPG) и ненаситени (моноолеилглицерол, MOG) въглеродородни вериги, без и в присъствие на HLL. В (B36), чрез GIXD-XR и молекуло-динамични симулации, е изследвана за пръв път адсорбцията на HLL на граничната повърхност вода/въздух като е изучено взаимодействието на липазата с моделни монослоеви от липиди и е анализиран механизъмът на активация на HLL. Получен е профилът на електронната плътност на

HLL-слоя на граничната повърхност вода/въздух. Установена е двумерна хексагонална опаковка на липазния монослой с параметър на кристалната решетка $a = 53 \text{ \AA}$

(2.2) Особено внимание заслужава работата (B30), в която с помощта на XR методика количествено е изследван хидрофобният ефект. За пръв път е установено явлението „съхнене” (dewetting) на хидрофобна повърхност при контакт с водната фаза. За целта е изследвана 2D кристалната структура на монослой от n-алкан $C_{36}H_{74}$. Експерименталните данни са сравнени с данни от MD симулации. Значението на резултатите, получени в (B30), се потвърждава от високата цитируемост на работата (повече от 150 цитата, най-цитирана статия на кандидата).

(3) Доц. Балашев е работил и по систематичното изучаване на физикохимични и фотохимични свойства на моно- и мултислойни молекулни системи (монослое, бислойни моделни мембрани и липозоми), организирани на гранични повърхности (B25, B38, B39, B40, B41, B42, B43, B44)

Повечето от тези разработки са били предмет на рецензиране във връзка с конкурса за получаване на НЗ „Доцент по биофизикохимия” през 2008 г. Ще отбележа само по-новата работа (B25), която касае изследване фазови преходи в мономолекулни слоеве. С помощта на флуоресцентна микроскопия (FM), адаптирана към Лангмюирова везна, и измервания на повърхностния потенциал на границата вода/въздух е изучавана природата на фазовия преход G/LE във фосфолипидни монослое от DPPC. За интерпретация на получените резултати и определяне стойността на линейното напрежение λ по линията на контакта между двете фази е приложен теоретичния подход на MacConnell и Meunier.

Като цяло изследователската дейност на Константин Балашев се характеризира с целенасоченост и последователност, като основен елемент е развитие и оригинални приложения на AFM, в комбинация с допълнителни методики, и прецизен подбор на обектите на изследване. Във всяка от представените тематични направления научните проблеми са формулирани ясно, резултатите са получавани със задълбочено експериментално изследване и с чрез подходящи подходи за интерпретация на получените резултати.

Доц. Балашев е ръководил три научни проекта към ФНИ на СУ „Св. Климент Охридски“ за периода 2005 – 2014 г. В основната си част научните приноси от изследователската дейност на кандидата могат да се определят като доказване с нови средства на съществени нови страни на съществуващи научни проблеми. Получените нови научни резултати имат съществено значение за науката и безспорно ще послужат като отправна точка на бъдещи изследвания.

3. Учебно-преподавателска дейност

Константин Балашев преподава в катедра Физикохимия на ФХФ в Софийски университет „Св. Климент Охридски“ от 2005 г., отначало като старши асистент (2005-2006 г.), главен асистент (2006-2008 г.), а от 2008 г. – като доцент. От приложените документи се вижда, че преподавателската дейност на кандидата е разнообразна. Средната годишна учебната натовареност в последните години е над 220 часа. Той чете лекции по четири курса за бакалаври (Физикохимия на биологичните системи – Екохимия; Физикохимия с колоидна химия – Биология, Екология и опазване на ОС; Физикохимични методи в биологията – Молекулярна биология, Биотехнологии; Биоматериали – Инженерна химия), и по три курса за магистри (Физикохимия с колоидна химия 1 ч. – Фармация; Колоидно-дисперсни системи в медицината и фармацията – Химия; Наноматериали и основи на нанотехнологията – Химия). Доц. Балашев е бил ръководител на дипломните работи на шест магистри. Той е ръководител и на успешно-

защитил през 2014 г. докторант (Петър Георгиев, тема на дисертацията „Кинетика на синтеза на златни наночастици в присъствие на метални йони, с нов подход за охарактеризирането им и приложения във фотокатализата“, СУ–ФХФ).

4. Допълнителна организационна и преподавателска дейност

Макар да не е упоменато в документите по конкурса, искам да отбележа и следните допълнителни активности на кандидата: Доц. Балашев беше член на Организационния комитет на 27-мата Конференция на Европейското дружество по повърхности и колоиди, проведена през 2013 г в София, като с дейността си допринесе значително за успешната организация и провеждане на конференцията. Освен това, през 2012 г. и 2015 г., той изнесе две много интересни поканени лекции пред Колоквиум „Алексей Шелудко” (ИФХ-БАН). През 2014 г. доц. Балашев беше поканен и като лектор в IV-ти обучителен семинар „Методи и апаратура за изследвания в течни среди и на повърхностни явления, вкл. с възможности за приложения в екологията”, който беше организиран по договор проект BG051PO001-3.3.06-0038 „Изграждане и развитие на научен потенциал в областта на материалознанието, включително създаване на нови материали” (финансиран от ОП „Развитие на човешките ресурси”, съфинансирана от Европейския социален фонд на Европейския съюз).

5. Заключение

В своята съвкупност представените за този конкурс научни трудове и допълнителни материали на доц. дн Константин Балашев го характеризират като високо квалифициран, утвърден учен и преподавател в областта на биофизикохимия на повърхностите и колоидите. Определено считам, че цялостното досегашно научно развитие на кандидата, актуалността и перспективността на резултатите от неговата научно-изследователска дейност, естеството и качеството на преподавателската му работа надхвърлят изискванията за заемане на академичната длъжност „Професор”, заложен в ЗРАСРБ, Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности и Препоръчителните критерии при придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски” за професионално направление „Химически науки”. **Затова с пълна убеденост препоръчвам на Почитаемия Факултетен съвет на Факултета по химия и фармация в СУ „Св. Климент Охридски“ да присъди на доц. дн Константин Тодоров Балашев академичната длъжност „Професор“ в професионално направление 4.2.Химически науки (Биофизикохимия).**

Член на научното жури:

София, 06 август 2016 г.

(проф. дхн Елена Милева)