ИР - БАН
Вх. № 110/10.02.2021 г.

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „доктор“

Автор на дисертационния труд: **ас. Анастасия Йорданов Златкова, Институт по Роботика, Българска Академия на науките, София**
Тема на дисертационния труд: **Моделиране и мониторинг на динамиката на процесите при култивиране на щам *Escherichia coli***
Рецензент: **проф. д.н. инж. Георги Атанасов Костов, катедра „Технология на виното и пивото“, Университет по Хранителни технологии – Пловдив.**

1. Описание на материалите, които подлежат на рецензиране.

ас. А. Златкова представя пред научното жури следните документи:

1. Дисертационен труд в обем от 139 страници. Дисертационният труд съдържа 62 фигури, 13 таблици, изводи, приноси, декларация за оригиналност. По дисертационния труд е представен списък от 182 литературни източника, използвани при формирането на литературния обзор и дискусията на резултатите.
2. Автореферат на дисертационния труд в обем от 28 страници.
3. Списък с публикации и доклади на научни конференции, както и пълен текст на всички публикации. По дисертационния труд са представени 3 научни публикации, публикувани в списания индексирани под Scopus и/или Web of Science и 4 доклада на научни конференции.
4. Документи, удостоверяващи полагането на изпити по дисциплини от докторантския учебен план, действаш в Българската академия на науките, както и изпълнението на кредитните точки от същия учебен план.
5. Документи, удостоверяващи провеждането на предварително обсъждане пред разширен семинар в Института по роботика на БАН.

Така представените материали напълно съответстват на изискванията на ЗРАСРБ и правилниците за неговото приложение и позволяват да се направи детайлна оценка на научно-изследователската дейност на докторантката. На рецензиране подлежат материалите по т. 1, т. 2 и т. 3. Макар научните публикации да са преминали независимо рецензиране преди тяхното публикуване се представя оценка и за тях в общия контекст на дисертационния труд. От научните публикации не приемам за оценка публикация №2, тъй като съм един от съавторите. Въпреки това тя ще бъде взета под внимание при изготвянето на крайното становище по дисертационния труд.

2. Актуалност на тематиката и преценка на литературния обзор по темата.

Биотехнологичните производства са едни от най-динамично развиващите се области в науката. Независимо, че се прилагат от дълги години тяхната актуалност не е изчезнала. Откриването на нови микроорганизми и тяхното охарактеризиране дават нови насоки и

възможности на биотехнологичната наука и практика. Приложението на биотехнологията е всеобхватно – от получаването на ваксини, през производството на храни, напитки, добавки, лекарствени препарати до получаването на биогорива и други продукти, необходими в ежедневието на човека. Биотехнологията е комплексна наука и изисква познаването на редица механизми: биологични, описващи процесите в клетката и трансформацията на субстрата до целевия продукт; физични, описващи поведение на системите за контрол и управление на процеса; кинетични, описващи взаимодействието на клетките в реалната популация и други. Сложните механизми на биолотехнологичните процеси са трудни за описание без наличието на разработени и изучени модели за тяхното поведение. Много често тези модели се изграждат на база на различни формализации, опростявания и адаптирания към различни ситуации.

Представеният ми за резензиране дисертационен труд е посветен на моделирането и управлението на различни типове ферментационни процеси, провеждани с помощта на щам *E. coli*. Поради своите специфични характеристики и известен метаболизъм различни щамове на *E. coli* се използват като моделни микроорганизми за производството на различни типове биотехнологични продукти.

Литературният обзор и дискусията на резултатите се базира на 182 литературни източника. Обзорът е целенасочен и представя в детайли различните аспекти на разработката. Обзорът започва с кратко и стегнато описание на методите за моделиране на ферментационната кинетика като основа за управлението на биотехнологичния процес. Тук докторантката представя, както класически системи за описание на ферментационната кинетика, така и нови подходи в нейното описание. Това се налага от факта, че при изграждането на системата за управление на ферментационния процес неговата кинетика трябва да бъде частично или изцяло позната. ас. Златкова представя в синтезиран вариант теорията на Обобщения динамичен модел, като основа за своето изследване. Прави добро впечатление, че докторантката се е съобразила с забележката от вътрешната защита и е представила кратко описание на ферментационни метаболизъм, който е характерен за *E. coli.* Това е допълнило литературния обзор и позволява да на по-късен етап да се правят изводи за връзката между метаболизма, ферментационната кинетика и управлението на ферментационния процес.

В обзорът е направен подробен преглед на структурните и неструктурните модели за описание на кинетиката на ферментационния процес, както и на методите за идентификация на параметрите на моделите в тях.

Специално внимание е отделено на мониторинга на ферментационните процеси, методите за синтез на т.нар. софтуерни сензори и връзката им с управлението на биотехнология процеса. Тази част от литературния обзор представя ас. Златкова като отличен изследовател, който може да прави връзка между различните аспекти на един ферментационен процес – ферментационната динамика, кинетиката на процеса, определянето на параметрите, синтеза на софтуерни сензори и тяхното приложение за управление на процеса.

От литературния обзор за изведени два извода, които са основа за формиране на целите и задачите на дисертационния труд.

От така представените данни считам, че темата на дисертационния труд е актуална, а докторантката е направила много добра връзка между научните изследвания, които са цел на нейната разработка и изследванията на други автори в тази област. Тези ми наблюдения се потвърждават и от проведената дискусия на резултатите в следващите части от дисертационния труд.

От съществено значение за актуалността на тематиката е и факта, че част от изследванията се провеждани в катедрата по Бионженерство на Университета на Миньо, град Брага, Португалия. Това доказва, че в световен мащаб оценката на ферментационната кинетика при култивиране на *E. coli* се разглежда като актуална научна задача.

Целта и задачите на дисертационния труд са формулирани правилно и са основа за създаване на връзка между литературния обзор, резултатите и тяхната дискусия.

3. Методика на изследването и оценка на достоверността на получените резултати.

Същинската част на изследването е развита в три отделни глави, съответстващи на формулираните задачи на научното изследване. Глава 2 „*Разработка на модели, описващи различни метаболитни състояния при култивиране на щам E. coli* “ започва с анализ на експерименталните резултати от два ферментационни процеса, проведени от биотехнологичния екип на Университета Миньо в Брага, Португалия. За целта на изследването е избран периодичен процес с подхранване. В този случай представеният режим е подбран с оглед осигуряването на висок титър клетки в края на ферментационния процес при намаляване на влиянието на субстратното инхибиране и минизиране на загубите вследствие продуцирането на странични метаболити. Като моделен микроорганизъм е използван щам *E. coli* JM109(DE3) с плазмид pET-INFα, с известна резистентност към някои видове антибиотици. Като малък недостатък тук бих посочил факта, че липсва подробно описание на условията на провеждане на ферментационния процес. Въпреки, че тези изследвания не са собственост на докторантката е било възможно да се направи кратко приложение, а не просто да се цитира литературен източник.

Следва изключително подробно описание на различни неструктурни модели и тяхната параметрична оптимизация, като ас. Златкова показва изключителни възможности в тълкуването на получените резултати. В следствие на проведените експерименти и тяхното тълкуване е предложени надежден оперативен модел за определяне на параметрите на състоянието на микробната популация. Моделът включва едновременно три състояния на процеса – растеж на биомасата, ферментация на глюкозата и окислителния растеж върху ацетата като междинен метаболит. В този случай моделът съдържа два подмодела, които описват различните състояния на микробната популация. В резултат на изследването е предложен един ключов параметър, върху който се базират последващите оптимизации в кинетиката ни микробния растеж, синтезът на софтуерни сензори и параметрите на управлението на процеса. Представеният подход е сравнен с данните на други автори, като са изтъкнати предимствата на подходът, приложен от ас. Златкова. Едно от основните

предимства на предложения модел е неговата простота и минималния брой параметри, които следва да бъдат идентифицирани. Това от своя страна води до по-добра информативност на модела по отношение на състоянието на микробната популация и възможността модела да се адаптира към процесите в реално време. По тези причини новият модел с предложения адаптивен критерий ще бъде в основата на разработката на софтуерни сензори за целите на мониторинга на кинетиката на разглежданите процеси в реално време.

Глава 3 „Мониторинг на две физиологични състояния при периодична с подхранване ферментация на *E. coli*“ разглежда изграждането на софтуерни сензори за мониториг на състоянието на микробната популация. Ас. Златкова предлага иновативни способи за синтеза на софтуерните сензори, като в резултат на това са определени различни структури на тези сензори и е установено влиянието на различни параметри на популацията върху точността на измерването (определянето на параметрите) чрез софтуерните сензори. Това подобрява точността на оценяване на скоростите на растеж на микробната популация в окислително-ферметационното състояние на културата. Установено е, че по-силно влияние оказва шума от измерването на ацетата, който се явява междинен метаболит. Настройката на предложените софтуерни сензори е сведена до избор на една собствена стойност, която се определя като компромис между скоростта на сходимост на оценките и тяхната чувствителност по отношение на смущенията в реалната система. Установено е, че влиянието на шумове в измерванията на ацетата и глюкозата върху специфичната скорост на окислителен растеж е по-силно в началото на процеса, когато концентрацията на биомаса е с ниски стойности.

В глава 4 „Мониторинг на три физиологични състояния при периодична с подхранване ферментация на *E. coli*“ е направено детайлизиране на софтуерните сензори по отношение на отделните физиологични състояния на микробната популация. Получените сензори са използвани за описание на различните параметри на системата, като е установено, че липсата на шумове в измерванията подобрява точността на описание на ферментативния растеж за сметка на окислителния растеж по отношение на глюкозата и натрупването на биомасата. Потвърдено е, че усвояването на междинния метаболит ацетат се характеризира с най-висок шум, поради което се наблюдава намаляване в точността на сензорите. Настройката на предложените софтуерни сензори е сведен до избор на една собствена стойност, който се определя като компромис между скоростта на сходимост на оценките и тяхната чувствителност по отношение на смущенията. Поради по-силното влияние на шума в измерванията на ацетата върху качеството на мониторинга препоръчително е да бъде осъществена подходяща филтрация в зависимост от характеристиките на шума.

Предложените изследвания в работата на ас. Златкова са проведени прецизно, методиката на изследването е избрана подходящо, в резултат на което са получени адекватни и достоверни резултати от научното изследване.

Последната глава от експерименталната работа е оформена като заключение, където прецизно са формулирани изводи от изследването. Тяхната структура и същност съответства на резултатите, поради което ги приемам напълно.

В методично отношение резултатите и тяхната дискусия са адекватно структурирани и показват, че ас. Златкова е изграден учен, който може да формулира цели и задачи по определена проблематика, да избира подходяща методология за нейното изследване, да получава и анализира качествено различни типове данни.

4. Приноси на дисертационния труд и приложимост в науката и практиката на получените резултати.

Приноси от дисертационния труд могат да бъдат определени като научни-приложни. Те могат да се обобщят по следния начин:

1. Чрез анализ на динамиката на култивиране на щам E. coli е предложен нов подход за моделиране на биотехнологичния процес, който се основава на синтеза и консумацията на междинни метаболити. В този случай е необходимо да се въведе адаптивен ключов параметър на състоянието на микробната популация и по този начин да се постигне повишаване на точността на описание на процесите. Представения подход е приложен за описание на кинетиката на ферментационния процес, като е доказана неговата адекватност.
2. Въз основа на предложения модел за описание на кинетиката на ферментационния процес са предложени каскадни сензори за мониторинг на кинетиката на ферментационния процес и са предложени алгоритми за настройка на параметрите, повишаване на точността и устойчивостта на софтуерните сензори при наличие на вътрешни и външни смущения.
3. Доказана е работоспособността на предложената каскадна схема за мониторинг чрез симулационни изследвания на модификациите на структурата й в зависимост от стойността на адаптивния маркер и броя на метаболитните състояния на процеса.

Представените резултати и приноси от изследването на ас. Златкова намират приложение не само в конкретния случай, но могат да се използват и за описание на други типове ферментационни процеси. Този подход е използван за описание на ферментационен процес за получаване на пиво с имобилизирани дрождеви клетки и в частност за определяне на концентрацията на биомасата вътре в капсулите. Тъй като това е практически трудна задача синтезът на сензор за определяне на концентрацията на биомасата и нейната скорост на растеж се явява основополагащ елемент за оценка на кинетиката на ферментация и качеството на получаваното пиво.

Считам, че резултатите от изследването като принципен подход могат да се използват и в други типове ферментационни процеси, поради което давам висока оценка на формулираните от докторантката изводи и приноси.

5. Преценка на публикациите и автореферата по дисертационния труд.

Докторантката е представила автореферат, който напълно съответства на резултатите в дисертационния труд.

По дисертационния труд са представени 4 доклада на конференции и 3 научни публикации, като 2 от публикациите директно произхождат от описаните изследвания, а третата

публикация е посветена на проблемите на ферментацията с имобилизирани клетки в пивопроизводството. И трите публикации са индексирани в Scopus.

Това ми дава основание да считам, че образователна страна на дисертационната разработка е напълно изпълнена и ас. Златкова е усвоила всички страни в методиката на научните изследвания.

6. Мнения, препоръки и бележки

По същество, освен отбелязаните в рецензията бележки, нямам въпроси и критични бележки към докторантката. Тъй като присъствах на вътрешния семинар за предварително обсъждане на дисертационния труд съм длъжен да отбележа блестящото представяне на материала и спокойната дискусия, която ас. Златкова проведе с членовете на разширения съвет.

7. Заключение с ясна положителна или отрицателна оценка на дисертационния труд.

Въз основа на направения анализ давам **ПОЛОЖИТЕЛНА** оценка на разработения дисертационен труд и **СЧИТАМ** за основателно да предложа **ас. Анастасия Йорданов Златкова** да придобие образователната и научна степен „доктор“ в научна област 5. Технически науки, професионално направление 5.2 “Електротехника, електроника и автоматика“ по докторска програма „Автоматизация на производството“.

Дата: Рецензент:

03.02.2021 г. /проф. д.н. Георги Костов/