

До Председателя на Научно жури
доц. д-р Траяна Недева,
при БФ на СУ „Св. Климент Охридски”

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор” по: област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки (Хидробиология – биологично водопречистване).

Автор на дисертационния труд: Нора Кирилова Динова, редовен докторант към катедра „Обща и приложна хидробиология” при Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”.

Тема на дисертационния труд: Стратегии за функционален контрол на метаногенезата в ключови технологии за производство на биогаз.

Рецензент: чл.-кор. Христо Миладинов Найденски, д-р, Институт по микробиология „Стефан Ангелов” – БАН, определен за член на научното жури със заповед № Ро038-707/20.12.2018 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски”

Декларирам, че не съществуват условия за конфликт на интереси между мен и авторът на дисертационния труд по смисъла на параграф 1, точки 2а, 3, 4 и 5 от ДР на ЗРАСРБ.

1. Кратко представяне на кандидата

Нора Кирилова Динова е родена в гр. Стара Загора и е завършила висше образование с образователна квалификационна степен (ОКС) „бакалавър” по специалност „Биомениджмънт и устойчиво развитие при Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски” през 2014 г., а през 2015 г. получава ОКС „Магистър” след успешно преминал курс на обучение по магистърска програма „Екологична биотехнология” и защита на дипломна работа на тема

„Сравнителна оценка на процесите на денитрификация и нитрификация в ПС „Кубратово” и ПС „Садината”.

Зачислена е като редовен докторант по посоченото професионално направление на 05.01.2016 г. със срок на обучение 3 години и научен ръководител проф. дбн Яна Топалова.

2. Обща оценка за структурата на дисертацията

Дисертационният труд включва 186 страници и е написан съгласно стандартните изисквания с основни раздели: Увод (1 страница), Литературен обзор (36 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материал и методи (21 стр.), Резултати и обсъждане (97 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (1 стр.). Най-важните получени резултати са отразени в 13 извода, а научното и приложно значение е представено в 4 оригинални и 4 потвърдителни приноса, които приемам. Научните факти са подходящо онагледени с 67 цветни фигури, 22 таблици и 5 приложения. За изготвянето на дисертационен труд е използван широк набор от литературни източници – цитирани са 254 заглавия (вкл. и 17 линка), от които 220 на латиница и 34 на кирилица. Важно е да се отбележи, че 2/3 от литературните източници са от последните 10 години, което ясно показва доброто познаване на актуалното състояние и достиженията по изследваните въпроси. Публикациите във връзка с дисертацията са 4 (2 в реферирани списания с импакт фактор и 2 в международно реферирани български списания), като във всичките докторантката е първи автор, което подчертава нейното водещо участие в разработването на темата. Представеният автореферат отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

3. Актуалност на проблема

Натрупването на огромни количества органични отпадъци от човешката дейност, интензивното животновъдство, както и на отпадъчни води, част от които постъпват в градските пречиствателни станции поставят редица въпроси за тяхното обезвреждане и рециклиране, които в по-голямата си част са

нерешени в световен мащаб. Известен е сериозният риск не само за замърсяването на околната среда, но и за екологичната безопасност на крайните продукти, които постъпват в хранителната верига.

Търсенето на подходи и стратегии с които да се постигне бързо и сигурно пречистване на отпадъчните води и техните утайки и надеждно обеззаразяване при тяхната преработка в разнообразни биотехнологични системи, мобилизира усилията на много изследователи през последните години, което определя актуалността и значимостта на провежданите изследвания, предмет на настоящия дисертационен труд. Нещо повече, стремежът и усилията за оптимизиране на тези процеси (не само в лабораторни, но и в промишлени условия) и тяхното включване като елементи за постигане целите на кръговата икономика и достигане на устойчиво технологично развитие налагат необходимостта от допълнителни екосистемни проучвания и определят целта за икономическа ефективност и екологична безопасност на получените крайни продукти. Перспективата за използването на големите количества утайки, генерирани от пречиствателните станции за отпадъчни води (ПСОВ) за производство на биогаз (с възможност за съхраняване и транспортиране), ще задоволи енергийните нужди не само на пречиствателната станция, но и на част от енергийните нужди на страната. Редица градски пречиствателни станции за отпадни води (ГПСОВ, общо 16 у нас) са декларирали и обработват около 74% от всички образувани утайки, но недостатъчното количество утайки, генерирани в малките населени места налага да се търсят решения в посока синергизъм на технологиите и включването на различни отпадъци за преработка, което е и определено предизвикателство за автора главно поради малкия брой съобщения в литературата по тези въпроси.

4. Състояние на проблема и творческа интерпретация на литературните данни.

В разделът *Литературен обзор* е отделено внимание на историята на инсталациите за производство на биогаз, използваните суровини в отделните

технологии и техните източници – селско стопанство, индустрия, общини, както и тяхното третиране с акцент върху ко-биодеграцията. Представени са и обобщени данни за основните микробиологични и биохимични процеси, свързани с анаеробното разграждане на различни субстрати, а именно – хидролиза, ацидогенеза, ацетогенеза и метаногенеза. Подробна характеристика е направена на метаногенните микроорганизми, принадлежащи към царство *Archaea* и домен *Bacteria* и на състава на крайния продукт от процеса на метаногенеза – биогаз. Изяснена е ролята на резидентната микрофлора в разграждането на органичните вещества и метаногенезата при различни температурни режими (психрофилен, мезофилен и термофилен), оптималния времепрестой, рН на средата, нейния редокс потенциал и съотношението между летливите мастни киселини и алкалността, както в анаеробна, така и в кислород съдържаща среда. Подчертана е зависимостта на процеса на метаногенеза от химичния състав на субстрата, като се изтъква необходимостта от биогенен баланс за ефективна анаеробна биодеграция – съотношение азот/фосфор, въглерод/азот, добавянето на микроелементи – желязо, кобалт молибден, никел и други макроелементи. Компетентно са анализирани и представени в технологичен аспект взаимоотношенията между метаногените и сулфат-редуциращите бактерии, както и ефекта на различни инхибитори на процесите в метан танковете – кислород, амоняк и хлорираните въглеводороди. Като важен етап в изготвянето на стратегия за контрол, подбор на индикатори и критични контролни точки умело са разгледани видовете технологии за производство на биогаз и са сравнени получените продукти с акцент върху биогаза.

В светлината на съвременните научни схващания са представени данни за разработени сложни модели и атрактивни технологии за ко-ферментации с цел повишаване на метаногенезата при анаеробното разграждане на животински отпадъци, зърнени култури, битови отпадъци, утайки от пречиствателни станции др. чието приложение в индустриален мащаб обаче е трудно изпълнимо и изисква сериозни финансови инвестиции.

5. Цел, задачи, хипотези и методи на изследване. Съответствие на проведените изследвания с поставената цел и задачи на дисертационния труд.

Върху основата на направения преглед на достъпната литература по темата са идентифицирани проблемни технологични точки и е изведена целта на настоящата работа, която е формулирана точно и ясно. Определени са и общо 5 изследователски задачи, свързани с изготвянето на SWOT и PEST анализи на технологиите за производство на биогаз, технологични, химични, микробиологични, ензимологични и флуоресцентни показатели в метантанкове и биореактори, използващи различни типове суровини, изследвания върху метаногенни микроорганизми от родовете *Pseudomonas* и *Acinetobacter*, и изготвянето на стратегия за функционален контрол и повишаване ефективността на технологиите за производство на биогаз.

Частта *Материали и методи* представя работна хипотеза, включваща няколко взаимосвързани компонента като функционален контрол на технологиите, структура на микробните съобщества, обща и микробна биомаса, биомениджмънт и други елементи на микробиологията, молекулярната биология и екологичната биотехнология. Тяхното компетентно обобщаване и верифициране е в основата на предложените биостратегии, които дават възможност след обратен контрол технологията да се коригира в зависимост от крайния резултат и ефективност. Добре описани и технологично охарактеризирани са 1 инсталация за биологично третиране «Хан Богров», 4 метантанка на Софийската пречиствателна станция «Кубратово», 5 частни инсталации за производство на биогаз в България, 1 инсталация за производство на биогаз в Италия, два лабораторни и един пилотен биореактор. Направено е и проучване сред 20 фирми, разпространяващи технологии за производство на биогаз. Използваните технологични, химични, ензимологични, спектрофотометрични, микроскопски, микробиологични и молекулярно биологични методи, както и технологични подходи подбрани в съответствие с поставените цел и задачи допринасят за разработването и адаптирането на

стратегии за функционален контрол, който в дългосрочен план да допринесе за повишаване на ефективността и ефикасността на съществуващите технологии за производство на биогаз. Прилагането на тези методи се съчетава с доброто описание на различните опитни постановки, сформирани при отделните анализи и прецизната статистическа обработка на резултатите, което демонстрира многостранната практическа подготовка на кандидата.

6. Представяне и обсъждане на получените резултати.

В разделът *Резултати и обсъждане* са описани и анализирани 20 съоръжения за производство на биогаз, разпространявани на пазара у нас и в чужбина, и базирани на мокра (с най-голям дял – 40%), суха или хибридна анаеробна биодеградация. Идентифицирани са множество критични точки и трудности, които срещат технолозите при управлението на реално функциониращи инсталации за производство на биогаз. Изяснени са редица ключови въпроси, свързани с типа на използваните съоръжения, техните силни и слаби страни, най-важните икономически и технически фактори, показатели и параметри на вътрешния контрол, влаганите за преработка субстрати, най-често срещани проблеми при функционирането на инсталациите, използването на аугментационни препарати и др. Основните идентифицирани проблеми са ранкирани на базата на индикатори, засягащи самия процес, степента на научното развитие и регионалното развитие.

Обект на изследване са и сезонните флукуации в продукцията на биогаз, като най-ниска е през м. октомври и най-висока през м. юли (за 3 от метан танковете) и м. януари за един от метан танковете. Не се открива пряка зависимост между изследваните ензимни активности – аеробна сумарна дехидрогеназна активност (аеДХА) и анаеробна сумарна дехидрогеназна активност (анДХА) и продукцията на биогаз и метан, а количеството на *Archaea* варира между 15 и 24% за всички изследвани ситуации. Чрез флуоресцентен *in situ* хибридизационен анализ (FISH) се доказва, че процента на *Archaea* е най-висок през есенното пробовземане. В реакторите, използващи различни видове

субстрати за производство на биогаз се доказват различни нива на активност на аеДХА и анДХА, като те са най-високи в биореактор 1 (преработва хранителни биоотпадъци), респ. биореактор 3 (преработва царевичак). В биореактор 1 се доказва стабилно метаногенно съобщество и най-висока стойност на съотношението среден размер/брой кълстери, индикиращо за най-висока степен на подържане на синтрофни и синергетични взаимоотношения между изследваните метаногенни представители от сем. *Methanobacteriaceae*, и родовете *Methanosaeta* и *Methanosarcina*. Тези групи метаногени са доминиращите представители на археите с капацитет да преработват утайка от пречистването на отпадъчни води. Установено е, че те се локализируют в центъра на образуваните кълстери, което би могло да играе ролята на защитна реакция срещу флуктуации във факторите на средата. Доказана е стабилна популация от представители на род *Acinetobacter*, конкурираща се по количество с археите, отговорни за производството на биогаз в метан танковете, за разлика от представителите на род *Pseudomonas*, които заемат нисък, но стабилен процент във формираното микробно съобщество. По-голямото количество натрупани полифосфати в метан танковете се свързва и с по-голямото количество отчетени микроорганизми от род *Acinetobacter* през същия период.

7. Приноси на дисертационния труд.

Настоящият дисертационен труд представя редица оригинални приноси, свързани със разработването и въвеждане на нови индикатори за биологичен контрол на инсталациите за производство на биогаз. За първи път се прилага в реални технологии и био-индикаторна система за оценка и контрол на метантакове, базирана на автофлуоресценцията на ко-фактор F₄₂₀. Установени са корелации между продукцията на биогаз и метан с количеството микроорганизми от род *Acinetobacter* и род *Pseudomonas*, натрупването на полифосфати и други показатели с потенциал за включването им във функционалния контрол на технологиите за производство на биогаз.

8. Оценка за степента на личното участие на дисертанта в приносите.

Личното участие на докторантката в приносите определям като значително предвид на нейното активно участие в общо 6 изследователски проекта - 3 към ФНИ на СУ „Св. Климент Охридски“, 1 по ОП „Иновации и конкурентноспособност, 1 по ОП „Наука и образование за интелигентен растеж“ и 1 със Софийска вода АД – „Жива вода – река, язовир, биоразнообразие, живот“. Докторантката има водещо място в 8 участия на конференции – национални с международно участие.

9. Критични бележки и препоръки.

Към дисертацията имам следните забележки: някои от фигурите са прекалено малки и трудно се разчитат отделни текстове – фигури 2.7, 2.8, 2.9, 2.11, 5.3 и др. Таблица 2.6 и фигура 5.41 не са достатъчно информативни и биха могли да се премахнат. Бих препоръчал и добива на биогаз да се представя за единица обем на биореактора, което ще дава по-ясна представа за ефективността на процеса. Тези, както и някои други критичните бележки като нарушена номерация на таблици (табл.5.6 липсва), фигури (липсва фиг.5.4, фиг.5.16 е дадена след фиг. 5.17) и др. са предимно от технически характер и не намаляват значимостта на представения дисертационен труд.

Заключение: Намирам, че представеният ми за рецензиране дисертационен труд на Нора Кирилова Динова на тема „Стратегии за функционален контрол на метаногенезата в ключови технологии за производство на биогаз“ е напълно експериментално завършен с оригинални научни и научно-приложни приноси за развитието на екологията, микробните биотехнологии и енергийната ефективност на страната ни. Въз основа на научените и приложени от докторантката различни методи на изследване, правилната интерпретация на резултатите и направените анализи, обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, и Правилника на Биологическия факултет при СУ „Св. Климент

Охридски“ за неговото приложение, което ми дава основание да го оценя
ПОЛОЖИТЕЛНО.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува
положително и да присъди на Нора Кирилова Динова образователната и научна
степен „доктор“ по професионално направление 4.3. Биологически науки
(Хидробиология – биологично водопречистване).

София, 15.02.2019

Изготвил:

(чл.-кор. Христо Найденски, дvmн)