

До РЕКТОРА на ХТМУ
До ПРЕДСЕДАТЕЛЯ на ФС
на Факултет "Химични технологии"
СОФИЯ

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р инж. Панайот Ангелов Панайотов
Лесотехнически Университет-София, ФГП

Относно: Дисертационен труд на инж. маг. Стойко Александров Петрин на тема "Кинетични закономерности на ензимна хидролиза на лигноцелулозни материали" за придобиване на образователната и научна степен "доктор" по научната специалност: 5.10 "Химични технологии (Технология, механизация и автоматизация на лесохимичните производства)", представена от ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ, Факултет "Химични технологии", катедра "Целулаза, хартия и полиграфия", с научни ръководители доц.д-р.инж. Иво Владимиров Вълчев

РЕЦЕНЗИЯТА е изготвена въз основа на писмо на Ректора на ХТМУ № НД-20-31 от 17.03.2017 г.

I. Кратки биографични данни и научни интереси на кандидата

Стойко Александров Петрин е български гражданин. Роден е на 19.02.1986 г. в гр. София. Завършил е професионална гимназия по екология и биотехнологии "проф. д-р Асен Златаров"- София през 2005 г. Придобил е висше образование в ХТМУ-София през 2009, ОКС бакалавър- „Инженер-еколог“, по специалност „Инженерна екология и опазване на околната среда“. От 2009 до ноември 2010 г. следва магистратура по специалност „Биогорива“ в ХТМУ-София. От 01.03.2011 до 01.03.2014 г. е редовен докторант в катедра "Целулоза, хартия и полиграфия" на ХТМУ-София, по научната специалност: 5.10 "Химични технологии (02.13.04- Технология, механизация и автоматизация на лесохимичните производства) с тема на дисертационната работа: "Кинетични закономерности на ензимна хидролиза на лигноцелулозни материали". Отчислена е с право на защита от 01 март 2015 г., със Заповед Р-ОХ-115/12.03.2015 на Зам. Ректора на ХТМУ-София доц. Едуард Клайн.

Научните му интереси са насочени в новите технологии за ензимна хидролиза на лигноцелулозни материали и методите за анализ на тези процеси.

II. Общи данни за дисертационния труд

Представеният дисертационен труд е оформен на 168 страници, както и 4 страници съдържание и 3 страница тълкования на използваните съкращения в работата. При разработването и оформянето на дисертационната работа са цитирани 207 литературни източника, от които 9 на кирилица и 198 на латиница. Дисертацията съдържа, изискваните от закона и правилника на ХТМУ, въведение-увод (1-2 стр. или общо 2 страници), литературен обзор с обособени в края му цел и задачи (3-80 стр. или общо 77 страници), методична част – използвани материали, методи за анализи, апарати, ензими, реактиви и интегрални форми на използвани кинетични уравнения (81-85 стр. или общо 5 страници), експериментална част, в която са дадени резултатите от проведените опити (86-148 стр. или общо 62 страници) и заключителна част (изводи) структурирана върху три страници (149-151 стр.).

Дисертационният труд е написан върху 151 стандартни печатни страници в това 89 фигури, 88 уравнения и 23 таблици, съдържащи числови данни, характеризиращи условията на експериментите.

III. Актуалност на изследванията и резултатите по дисертацията

Темата на дисертационния труд е актуална по редица признаци по съществените от които са: - ориентирана е към един от съществените нерешени проблеми на отрасъла «Механично и химично преработване на дървесината» а именно (комплексно и екологосъобразно използване на дървесната суровина и растителни лигноцелулозни отпадатни продукти; разработване на технологии за получаване на биомаса, подходяща за производство на биоетанол за гориво), чрез които се отговаря на изисквания на Директива 2004/42/ЕС за намаляване емисиите на органични разтворители и летливи органични съединения. Актуалността на проблема е много добре извлечена от аналитично направеният обзор, в който е извършен широк и задълбочен преглед на прилаганите методи и технологии за производство на лигноцелуозна биомаса, предназначена за получаване на биоетанол и произтичащите от това производство, екологични проблеми. Проследени са технологичните процеси и етапи за производство на биоетанол от дървесни и растителни отпадаци, като коректно са цитирани литературните източници.

На основата на добре направеният обзор ясно е формулирана целта на дисертационното изследване, а именно:

«Изследване на кинетичните закономерности на ензимната хидролиза, за получаване на захари за производството на биоетанол от лигноцелуозна биомаса, които да послужат за изясняване на кинетичният механизъм на процеса с оглед на оптимизирането и повишаването на неговата ефективност»

За постигане на тази цел удачно са формулирани три основни задачи: 1. Установяване на кинетичните модели, описващи най-точно кинетиката на предварителното третиране и последващата ензимна хидролиза с различни ензимни комплекси и лигноцелуозни субстрати; 2. Изучаване на температурната и концентрационната зависимост на скоростта на процеса; 3. Установяване на общи кинетични закономерности, които отчитат хетерогенната природа на системата ензимен комплекс-лигноцелуозен субстрат.

IV. Оценка на методическите основи на дисертационната работа

За провеждане на опитите е използвана дървесна маса от бързо-растящите дървесни видове пауловния, върба и топола (Свищов-ОСБДВ); пшенична слама, царевични стъбла (централна северна България) и избелена сулфатна целулоза от „Свилоцел“ АД- Свищов. За получаване на лигноцелуозна биомаса са използвани автоклавни съоръжения на катедра „ЦХП“ при ХТМУ- София, едно- и дву- литрови лабораторни стоманени автоклави и автоклавна инсталация за паро-взривна хидролиза. Ензимната хидролиза е постигана с помощта на два ензимни продукта: *Целулозен комплекс NS-50013 в комбинация с β -глюкозидаза NS 50010* и *Целулозен комплекс NS- 22086 в комбинация с β -глюкозидаза NS-22118*.

Приложената методика на изследванията е сполучливо избрана, като са приложени съвременни методи за анализ и са използвани прецизни измервателни уреди. На получените хидролизати чрез високотемпературна водна хидролиза, паро-взривно и ензимно третиране е определяно спектрофотометрично съдържанието на редуциращи вещества в проценти по отношение на масата по DNS метод. Установено е количеството на глюкоза, ксилоза и целобиоза в проценти чрез прилагане на HPLC анализ. Протичащите дифузионни, топохимични и хетерогенни каталитични процеси са сполучливо са проверени чрез прилагане на шест кинетични уравнения. Стандартното отклонение от проведените анализи се основава на четири успоредни измервания и е под 0.2 %. Точността на моделите е оценена въз основа на коефициента на корелация (R^2).

V. Оценка на получените резултати

Експериментите са проведени в пет направления:

1. Химичен анализ на лигноцелулозни суровини;
2. Двустепенна хидролиза на дървесна биомаса от Пауловния;
3. Ензимна хидролиза на биомаса от царевични стъбла и пшенична слама с *целулозен комплекс NS-50013 в комбинация с β -глюкозидаза NS 50010* след предварително киселинно третиране;
4. Ензимна хидролиза на биомаса от царевични стъбла и пшенична слама с *Целулозен комплекс NS-22086 в комбинация с β -глюкозидаза NS 22118*, след предварително високотемпературно обработване;
5. Ензимна хидролиза на избелена сулфатна целулоза *и паро-взривно обработена дървесна маса с високо активен целулазен комплекс NS-22086 в комбинация с β -глюкозидаза NS 22118*;

На химичен анализ са подложени лигноцелулозни суровини дезинтегрирани (разрушаване на структурата) на сухо в мелница и след това фракционирани, като са използвани фракции с размери 0.5-1.0 mm. Химичният анализ е сведен до количествено определяне в проценти на съдържанието на: целулоза; лигнин; пентозани; разтворими в гореща вода вещества; леснохидролизуеми полизахариди и пепел. Получените резултати са представени в таблица III.1 и в таблица III.2. Те показват очаквано по-ниско съдържание в дървесната биомаса от пауловния (39.2 %) и сравнително по-високо съдържание на целулоза в дървесната биомаса от топола (49.7 %) и най-голямо в дървесната биомаса от върба (50.3 %).

Киселинното третиране на биомаса от пауловния е проведена с 1 % сярна киселина като катализатор при температури: 100°C; 120°C; 130°C и 140°C. Като кинетична променлива удачно е използвано количеството на редуциращи захари (Rs) в проценти по отношение на масата. Получените резултати са показани в логаритмичен вид на фигура (III.1), фигура (III.2) и таблица (III.3). Установено е, че с повишаването на температура се благоприятства протичането на киселинната хидролиза (увеличават се стойностите на скоростната константа). Получената маса след киселинното третиране е подложена на ензимна хидролиза чрез прилагане на целулазен ензимен комплекс *NS-50013 в комбинация с β -глюкозидаза NS 50010*. Установено е, че ензимната хидролиза протича интензивно в първите 60 минути, когато се достига приблизително 50 %-ен добив на редуциращи захари, (фигура: III.6). Паро- взривната хидролиза на биомаса от пауловния

е проведена при максимална температура 190°C като тази температура е достигана в течение на 60 min при налягане 12.8 atm (1.28 MPa). Количеството на редуцираните вещества след паро-взривната хидролиза и определено чрез HPLC анализ, т.е. високоефективна течна хроматография. Последващата ензимна хидролиза се описва най-добре от експоненциално кинетично уравнение ($R^2=0.998$) като степента на превръщане (добивът на захари) се увеличава с времето (1440 min) и температурата (50°C). На основата на получените резултати се прави извод, че получените кинетични зависимости могат да се използват за контрол и управление на технологичните процеси за получаване на захари от биомасата на пауловнията. По същата методика са изследвани кинетичните закономерности на ензимна хидролиза на биомаса от царевични стъбла. Установено е, че с най-голяма точност тази хидролиза се описва също от експоненциално кинетично уравнение (1.28). Установено е, че определящо влияние върху скоростта на протичане на процесите има активиращата енергия. Използваният ензимен комплекс оказва благоприятно въздействие, тъй като подпомага разрушаването на структурата на растителната биомаса и увеличаване на контактната повърхност. Изследван е и кинетичният модел на ензимна хидролиза на биомаса от пшеничена слама след паро-взривно третиране. Проследено е влиянието на температурата в интервал от 20°C до 50°C върху ензимната хидролиза на пшеничена слама след паро-взривно третиране при постоянно количество на вложения ензим, което е 5 % по отношение на масата и реакционно време от 1 до 24 часа. Установено е, че количеството на редуциращите захари нараства с увеличаване на реакционното време (до 1440 min) и температурата (до 50°C). Установено е, че регистрираните криви се описват най-близко с експоненциално кинетично уравнение (фиг. III.18). Доказано е, че при температура 20°C процесът е енергетично затруднен и е направен извод, че това ниво на температурата не е подходящо за провеждане на ензимната хидролиза. Установено е, че с увеличаване на количеството на вложеният ензим от 1 % до 5 % добивът на редуцираните захари нараства. Тази зависимост също се описва най-близко с експоненциалното уравнение 1.28 (фиг. III.23 и фиг. III.24). Изследвани са и са получени корелационни зависимости между количествата на глюкоза и редуциращи захари получени вследствие на ензимна хидролиза на биомаса от царевични стъбла и пшенична слама с *Целулозен комплекс NS-22086 в комбинация с β -глюкозидаза NS 22118*, след предварително топлинно третиране при висока температура (фиг. III.34; фиг. III.35; фиг. III.36; фиг. III.37). Установено е, че кинетиката на ензимна хидролиза на биомаса от царевични стъбла и пшенична слама с участието на високо активния *целулозен комплекс NS-22086 в комбинация с β -глюкозидаза NS 22118*

се описва най-адекватно с експоненциално кинетично уравнение. Това е дало основание да се допусне, че преобладаващата невлакнеста структура на използваните едногодишни растения е определяща за приложимостта на установения кинетичен механизъм. Кинетиката на ензимната хидролиза на избелена сулфатна целулоза, производство на „Свилоцел“ ЕАД от дървесина на широколистни видове и паро-взривно обработена дървесна маса с високо активен целулазен комплекс NS-22086 в комбинация с β -глюкозидаза NS 22118, е изследвана при температури 30⁰С, 40⁰С и 50⁰С. Установено е, че степента на ензимната хидролиза се увеличава с нарастване на температурата и увеличаване на времето. (фиг. III.54). Установено е, че механизмът на ензимното действие се описва най-добре от топохимичното уравнение на Праут-Томпкинс (1.39) като се допуска, че определяща роля за това има влакнестата структура на целулозата и на биомасата получена от дървесината на използваните дървесни видове: топола, върба и пауловния. Получените резултати дават основание да се препоръча използването на температурно-временната зависимост за контрол и управление на технологичния процес на ензимната хидролиза.

В резултат на проведените изследвания са направени 9 извода, които са описани върху три страници (149-151 стр.), и които са извлечени от отделните раздели на изследванията. Тези изводи са логични и добре обосновани.

VI. Оценка на приносите по дисертационният труд

Научните и научно-приложните приноси на разработеният дисертационен труд се свеждат до обосноваване и доказване на нови страни на проблема по разработване на методи за добив на захари от лигноцелулозни био-материали. По-съществените приноси са следните:

1. Установен е общ компенсационен ефект между предекспоненциалния множител и активиращата енергия в началото на процеса, който не зависи от използваната кинетична променлива (R_s или G) и е валиден за всички изследвани суровини.
2. Изведени са температурно-временни зависимости на базата на кинетичните изследвания, които могат да се използват за контрол и управление на процеса «ензимна хидролиза».
3. Установено е, че влакнестата структурата на дървесната биомаса, получена от върба и топола, е определяща за приложимостта на топохимичния кинетичен механизъм.

4. Преобладаващата невлакнестата структура на биомаса от недървестните суровини (пшеничена слама и царевични стъбла) е определяща за получаването на експоненциаленият кинетичен механизъм.

VII. Мнение за публикациите на докторанта по дисертацията

По дисертацията са направени 4 публикации в списания и сборник от доклади на английски език като двете са в списание с имакт фактор (IF). В една от публикациите (2) докторантът е на първо място, т.е. водещият автор. Има и един доклад изнесен в чужбина (Copenhagen- Denmark), включен в сборника с доклади в пълен текст. Тези публикации са достатъчни за много доброто апробиране на резултатите пред обществото.

VIII. Критични бележки

Критичните бележки се отнасят до допуснати правописни и печатни грешки, неправилно изписани дименсии и използване на неточни термини.

1. Допуснати са правописни грешки:

„алтернативата киселина хидролиза“ вместо „алтернативната“-стр.2;
„полизахадидите“ вместо „полизахаридите“- стр.26; „въглехидати“ вместо „въглехидрати“-стр.45; „сѣбла“ вместо „стъбла“- стр.133;

2. Неправилно изписани дименсии:

„Bar“ и „atm“ вместо N/mm^2 или МПа; „кг“ вместо „kg“; „час“ вместо „h“; „мм“ вместо „mm“; „гр. вместо „g“; „минута“ вместо „min“, „gallon“ ~ „Liter“; „молекулно тегло“ вместо „молекулна маса“ (стр. 6; стр. 16; стр. 21; стр. 24; стр. 25; стр. 29;стр.34 ; стр.92; стр.93;).

3.Неправилно използвани термини като:

«широколистна целулоза» вместо «целулоза от дървесина на широколистни дървесни видове»; «иглолистна целулоза» вместо «целулоза от дървесина на иглолистни дървесни видове»; «широколистна дървесина» вместо «дървесина на широколистни дървесни видове» (стр. 13; стр.15; стр. 23; стр.139;).

4. Необяснени означения

СЕМ (стр. 31); DNS (стр. 81); HPLC (стр. 81);

В заключение следва да се отбележи, че забелязаните пропуски и направените бележки не умаловажават приносите и творческите постижения в дисертацията.

IX. Оценка на съответствието между автореферата и дисертацията

Автореферата е написан на 70 стандартни страници. Съдържа 20 таблици и 62 фигури. Авторефератът отразява основните части на дисертацията. В автореферата са включени и направените изводи в дисертацията, които отразяват същността на проведените изследвания и получените резултати. В тях се съдържат и постигнатите научно – приложни приноси от инж. химик магистър Стойко Александров Петрин.

X. Заключение

Дисертантът е работил методически правилно и целенасочено. Получените резултати са точно отразени и коректно анализирани. Направените изводи произтичат логично от получените резултати. Видно от публикациите по тематиката на дисертационния труд, може да се констатира, че постигнатото е самостоятелно дело на докторанта. Представената дисертация е доказателство за това, че докторантката е усвоил и притежава умения за самостоятелна изследователска работа. Тя представлява завършен изследователски труд по актуален и значим проблем. В дисертацията има новости и са постигнати значими научни и научно-приложни приноси.

Като считам, че са постигнати изискванията на Закона за РАС в Република България, на Правилника за приложение на ЗРАС в ХТМУ- София и приетите от АС при ХТМУ критерии, оценявам дисертационния труд положително и предлагам на научното жури да присъди на инженер магистър СТОЙКО АЛЕКСАНДРОВ ПЕТРИН образователната и научна степен „доктор” по научната специалност 5.10 “Химични технологии (Технология, механизация и автоматизация на лесохимичните производства)”.

Рецензент:  /проф. д-р. инж. Панайот Панайотов/

София, 24.04.2017 г.