

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию Темнова Михаила Сергеевича «Кинетика и аппаратурно-технологическое оформление процессов получения эфиров жирных кислот», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальностям 05.17.08 – Процессы и аппараты химических технологий и 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы работы

Важной задачей развития экономики страны является создание технологий производства возобновляемых источников энергии. Одним из наиболее перспективных видов возобновляемой энергии является биодизельное топливо. В зависимости от сырья для получения биодизеля его относят к биотопливу первого, второго или третьего поколений. Наиболее перспективным для производства биотоплива является использование в качестве сырья биомассы микроводорослей: такой биодизель относится к биотопливу третьего поколения.

Следует отметить следующие преимущества микроводорослей: 1) высокую эффективность конверсии солнечной энергии (от 3 до 8 % против 0,5 % для наземных растений), которая дает возможность получать более высокие урожаи биомассы; 2) большую величину поглощения углекислого газа из атмосферы по сравнению с наземными растениями; 3) нетребовательность микроводоросли к качеству воды для обеспечения их роста; для культивирования можно использовать загрязненные сточные, соленые и другие воды; 4) одновременное решение проблем снижения негативного влияния на окружающую среду промышленных, сельскохозяйственных и муниципальных предприятий, сточные воды которых являются источниками азота и фосфора в процессах культивирования микроводорослей; 5) возможность использования территории, непригодной для сельскохозяйственного производства пищевой продукции, для выращивания одноклеточных водорослей; 6) независимость получения микроводорослей от климатических и сезонных условий и возможность организации круглогодичного производства; 7) возможность использования биомассы микроводорослей в качестве сырья для получения широкого спектра продуктов биосинтеза (белков, полисахаридов, пигментов, биополимеров, кормов, удобрений и др.).

Интерес ученых и предпринимателей к переработке биомассы микроводорослей в энергоносители чрезвычайно велик, количество проводимых исследований в данной области активно растет в XXI веке.

Вместе с тем производство энергии из микроводорослей сопряжено с рядом сложностей, обусловленных высокой энергоемкостью процесса обезвоживания клеток биомассы из суспензии; трудностями, связанными с извлечением целевых внутриклеточных продуктов и неоднозначным предложением доступного и экономичного способа дезинтеграции клеточных стенок микроводорослей, отличающихся высокой прочностью; высокой себестоимостью экстракции липидов из биомассы.

Тема диссертационной работы Темнова М.С. является *актуальной*, так как диссертация посвящена поиску решений указанных проблем на основании результатов теоретических и экспериментальных исследований процессов культивирования одноклеточных водорослей, а также выделению липидов из клеток и их этерификации с определением условий эффективного проведения процессов.

Отмечу, что работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках базовой части государственного задания (проект № 1983) «Разработка технологии комплексной переработки биоразлагаемых отходов» и программы «У.М.Н.И.К» (договор № 6406 ГУ/2015) «Разработка технологии получения биомассы *Chlorella vulgaris* для комплексной переработки», что также подтверждает ее актуальность и перспективы для развития промышленности Российской Федерации.

Объектом исследования в диссертации Темнова М.С. являются процессы и оборудование для получения эфиров жирных кислот (ЭЖК) из биомассы микроводорослей; *предметом исследования* – закономерности процессов получения ЭЖК из биомассы, определение условий их эффективного проведения, методы физического и математического моделирования процессов и аппаратов получения ЭЖК из микроводорослей.

Основное содержание работы

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературных источников, включающего 183 работы отечественных и зарубежных авторов, и пяти приложений. Содержание диссертации изложено на 201 странице машинописного текста, включает 73 рисунка и 38 таблиц.

Во введении сформулированы цель и задачи работы, обоснована ее актуальность, определены научная новизна и практическая значимость, даны рекомендации по реализации результатов исследований в промышленных процессах и научно-инженерной практике.

В первой главе «Современное состояние процессов и аппаратов производства эфира жирных кислот из растительного сырья» проводится анализ проблем и перспектив исследования и разработки энерго- и ресурсосберегающих процессов, аппаратов и технологических схем производства ЭЖК из микроводорослей. Здесь рассмотрены вопросы исследования кинетики процессов культивирования микроводорослей и способов управления накоплением внутриклеточных липидов, экстракции последних, проведения процедур математического моделирования процессов для определения параметров аппаратно-технологического оформления производства ЭЖК.

Вторая глава «Теоретические и прикладные исследования свойств и режимов технологического процесса подготовки и предварительной переработки сырья» посвящена обсуждению результатов экспериментальных исследований процессов подготовки сырья: культивирования микроводоросли *Chlorella vulgaris* ИФР № С-111, концентрирования суспензии и дезинтеграции клеточных стенок. В этой главе

определены условия процесса культивирования микроводорослей: состав питательной среды, температура культивирования, уровень освещенности, толщина слоя суспензии культуры, способ создания стрессовых условий культивирования.

Кроме того, предложена математическая модель процесса культивирования микроводорослей, на основе решения которой предложена модификация состава питательной среды. Экспериментально доказаны преимущества модифицированной питательной среды по сравнению со стандартной средой.

Учитывая, что биомасса хлореллы является источником липидов – сырья для получения компонентов биодизеля, далее в этой главе представлены результаты экспериментальных исследований процесса дезинтеграции клеток микроводорослей различными способами:

- воздействием антибиотика (амоксициллина);
- ферментативным гидролизом клеточных стенок комплексом Целлолюкс А – Протосубтилин ГЗХ;
- воздействием СВЧ-излучения с частотой 2450 МГц;
- воздействием ферромагнитных частиц, движущихся в электромагнитном поле, в аппарате вихревого слоя (АВС);
- созданием «осмотического шока»;
- комплексным воздействием всех указанных способов.

Доказана перспективность комплексного воздействия комплекса ферментных препаратов и СВЧ-излучения, обеспечившего выход внутриклеточных липидов до 23 %.

В *третьей главе*, посвященной исследованию процессов экстракции и этерификации липидов микроводоросли *Chlorella vulgaris* ИФР №С-111 для производства эфиров жирных кислот, приведены результаты экспериментальных исследований и расчетных алгоритмов с целью определения технологических параметров осуществления указанных процессов. Так, установлены оптимальные условия проведения процесса экстракции внутриклеточных липидов, который целесообразно осуществлять при температуре 50 °С, соотношении экстрагентов этанол-петролейный эфир = 1:2 (об.) и соотношении сухих клеток (г) к количеству смеси экстрагента (1:20) (мл). Показано, что реакцию этерификации необходимо проводить при температуре 60 °С, соотношении этанол-липидная фаза 6:1 (моль) в присутствии 3 % (от массы липидов) щелочного катализатора - гидроксида натрия.

В *четвертой главе* «Аппаратурно-технологическое оформление производства эфира жирных кислот из микроводорослей *Chlorella vulgaris*» предложены оригинальные конструкции аппаратов для всех основных стадий технологии: культивирования микроводорослей, дезинтеграции клеток и экстракции липидов, разработана технологическая схема производства ЭЖК из сырья на основе биомассы микроводорослей. В частности, показано, что производительность разработанного фотобиореактора в среднем в 1,3 раза выше по сравнению с аналогами.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

В диссертации получен ряд новых результатов. Новизна работы заключается в следующем:

1. Разработаны оригинальные математические модели процессов культивирования микроводорослей и экстракции внутриклеточных липидов с учетом энергетических факторов процесса (уровня освещенности и температуры при культивировании), а также механизма экстракции, предполагающем три этапа процесса, на каждом из которых определены лимитирующие процессы массопереноса липидов через клеточные мембраны живых и/или отмерших клеток микроводорослей. В зависимости от состояния клеток микроводорослей определены кинетические коэффициенты процесса экстракции внутриклеточных липидов.

2. Экспериментально определены условия эффективного осуществления процессов:

- культивирования микроводорослей: состав питательной среды, температура, уровень освещенности, время культивирования до стресса и способ создания стрессовых условий;

- дезинтеграции клеток: количество и соотношение ферментных препаратов Целлолюкс А и Протосубтилин ГЗХ, мощность и время воздействия СВЧ-излучения, комбинирование которых обеспечило максимальную эффективность процесса;

- экстракции и этерификации: температура, содержание щелочного катализатора, соотношения количеств полярного и неполярного экстрагентов, биомассы и смеси экстрагентов, этанола и липидной фракции, обеспечивающие максимальный выход липидов и ЭЖК.

3. Научно обосновано использование оригинального оборудования для проведения указанных процессов (фотобиореактор, дезинтегратор, экстрактор).

Практическая ценность

Автором диссертационной работы получен ряд важных для практики результатов.

1. Изучены свойства и режимы технологического процесса получения ЭЖК из микроводоросли *Chlorella vulgaris* ИФР №С-111 с высоким уровнем энерго- и ресурсосбережения.

2. Проведенные экспериментальные исследования по определению влияния химического состава питательной среды, температуры, интенсивности света, вида источника азота, способа создания стрессовых условий на кинетику процесса роста биомассы микроводорослей и внутриклеточных липидов позволили разработать способ культивирования микроводорослей, отличающихся повышенным содержанием внутриклеточных липидов (патент РФ № 2569149) и конструкцию фотобиореактора для осуществления биотехнологического процесса подготовки сырья для получения биодизельного топлива (патент РФ № 151576).

3. Исследование особенностей дезинтеграции клеток микроводорослей *Chlorella vulgaris* ИФР №С-111 и подбор наиболее эффективного способа разрушения клеток позволило разработать конструкцию дезинтегратора (патент РФ № 169598).

4. Исследование влияния типов экстрагентов, температуры, соотношения количества микроводорослей и экстрагентов на кинетику процесса экстракции липидов позволило осуществить технологический расчет экстрактора и определить рациональные режимы его функционирования, обеспечивающие выход внутриклеточных липидов на уровне 23 %.

5. Разработаны технологическая схема производства ЭЖК из микроводорослей и практические рекомендации по совершенствованию аппаратного оформления биотехнологического и физико-химического процессов подготовки сырья, экстракции и этерификации внутриклеточных липидов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Представленные в диссертации Темнова М.С. научные положения, выводы и обобщения являются достоверными и обоснованными. Они основываются на анализе большого объема экспериментального материала, полученного с использованием сертифицированных реактивов и материалов, а также разнообразных современных методов экспериментального исследования и апробированных расчетных методик и алгоритмов.

Замечания к содержанию диссертации и автореферата

1. Уравнение (2.6) на с. 60, представляющее собой зависимость удельной скорости роста культуры микроводорослей от уровня освещенности, является уравнением Моно, а не уравнением Михаэлиса-Ментен.

2. Исходя из записи уравнения (2.10), оно позволяет получить значения не удельной скорости биосинтеза продуктов (липидов) (q_p), а экономического коэффициента (выхода) продуктов (липидов) ($Y_{P/S}$).

3. В тексте диссертации продекларирована, но экспериментально не проверена возможность дезинтеграции клеток микроводорослей ультразвуком.

4. Было бы интересным с научной и практической точек зрения исследовать влияния условий культивирования микроводорослей на жирнокислотный состав внутриклеточных липидов.

5. Требуется пояснить, что было основанием для выбора конкретных ферментных препаратов Целлолюкс А и Протосубтилин ГЗХ для ферментализации клеточных стенок микроводорослей.

5. Не приведены рекомендации по очистке липидных экстрактов от побочных продуктов (хлорофилла, каротиноидов и т.д.).

6. В экспериментальных разделах диссертации не представлены результаты статистической обработки данных. В ряде случаев, в частности, на рис. 2.13 и 2.14 (с. 62) не приведена оценка адекватности предложенных математических моделей экспериментальным данным.

7. В тексте диссертации присутствуют технические неточности: опечатки в словах и числах (с. 20, 55, 74, 102); раздел 1.4 стилистически не выдержан и по смыслу дублирует введение (с. 5); в табл. 3.17 (с. 154) выход ЭЖК для гетерогенного каталитического процесса обозначен как нуль (0).

Общая характеристика диссертационной работы

Указанные замечания не имеют принципиального характера. Диссертация заслуживает положительной оценки.

Автором диссертационной работы получены новые научные результаты для теории и практики проектирования процессов и аппаратов биотехнологических стадий подготовки и предварительной обработки растительного сырья, проведены экспериментальные исследования и математическое моделирование процессов эффективного культивирования микроводорослей *Chlorella vulgaris* ИФР № С-111, дезинтеграции клеток с извлечением внутриклеточных липидов и дальнейшим получением эфиров жирных кислот как компонентов биодизельного топлива.

Большой объем проведенных научных исследований позволил получить результаты, опубликованные в 2 монографиях, 4-х статьях в научных изданиях, индексируемых *Web of Science* и *Scopus*, 2 статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК РФ, апробированы на Международных и Всероссийских конференциях.

Результаты исследований используются при подготовке студентов и магистрантов по направлению "Биотехнология". Кроме того, соискателем получены 2 патента на полезную модель и 1 патент на изобретение, 2 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ.

Положения, выдвигаемые на защиту соискателем Темновым М.С., свидетельствуют о личном вкладе автора диссертации в науку.

Автореферат отражает все основные положения диссертации.

Заключение

По тематике, содержанию, методам исследования диссертационная работа соответствует паспорту специальности 03.01.06 – "Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)", а именно, *формуле специальности* как «области науки об использовании живых организмов и биологических процессов в производстве с целью получения полезных продуктов для народного хозяйства, целенаправленно улучшающих воздействие на окружающую среду»

и областям исследования согласно: п. 2 «Исследование и разработка требований к сырью (включая вопросы его предварительной обработки)»; п. 3 «Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов для получения биомассы, ее компонентов», п. 4 «Изучение и разработка процессов и аппаратов микробиологического синтеза, включая ... массо- и теплообмены в аппаратах для ... экстракции».

Автореферат диссертации соответствует содержанию диссертации.

