

Válasz

Gubicza László MTA doktora opponensi véleményére

Köszönöm Bírálóm mindenre kiterjedő értékes véleményét s engedje meg, hogy rendhagyó módon először ne a kérdésekre válaszoljak, illetve a megjegyzésekre reagáljak, hanem azt írom le, ami különösen jól esett a bírálatában.

- „A dolgozat olvasásakor és bírálatakor szem előtt tartottam, hogy mérnöki munka eredményeiről mondok véleményt, melynek sajátos aspektusai vannak, s talán éppen ezért ritkábban kerülnek ilyen értekezés formájában összefoglalásra”.
- A dolgozat terjedelmét, tömörségét értékelve az a fél mondat, hogy „nem hagyja ki egyik édes gyermekét, de még unokáját sem”.
- S végezetül az a megállapítás, hogy „A Réczey-tanítványok tudását és képességeit ma már egész Európában ismerik és elismerik”

Ami a bíráló megállapításait illeti: Resteltem, hogy maradtak a dolgozatban helyesírási, elütési hibák, de örülök, hogy Bírálóm szerint csak csekély számban. Az ábra feliratok „kevert nyelvűségéről” sajnos tudtam, az angol feliratos ábráknak nem voltak meg az alapadatai, s a megjelent publikációkból csak így sikerült kivenni.

Kérdésekre adott válaszaim:

1. *Nincsenek matematikai vagy kémiai egyenletek a dolgozatban.*

Valóban nincsenek, a különböző konverzió, veszteség, kihozatal számítások ismertetésével, vagy az etanol, illetve hidrogénképződés egyenleteivel nem kívántam a dolgozat számomra szűkös kereteit kitölteni, ezek az általam feldolgozott cikkekben megtalálhatók. Az enzimaktivitások és egyéb módszerek ismertetésénél mindenütt megadtam a referenciát, ahol a módszer és a számítás is le van írva. Az előkezelések erősségének értékelésénél alkalmazhattam volna egy „általánosítható” egyenletet az un. Severity factor-t (magyarul talán reakció intenzitási faktornak nevezhető) $R_0 = t \cdot \exp[(T-100)/14,75]$, melyet Overend és Chornet (1) definiált, s ahol t az idő percben, T pedig a hőmérséklet °C-ban, s mely az előkezelés erősségét lenne hivatva jellemezni.

Néhány cikkünkben mi is számoltuk ilyen intenzitási faktorokat (Kálmán és mtsi. (2), Sipos és mtsi. (3)), de miután ezek a faktorok a lignocellulózok előkezelésének

értékelésénél, összehasonlításánál nem igazán terjedtek el, és nem informatívak az előkezelés „jóságát” illetően, dolgozatomban kihagytam a számításukat és megjelenítésüket és az előkezeléseket aszerint értékeltem, hogy mennyire sikerült a polimer komponenseket elválasztani, milyen volt a szénhidrát komponensek visszanyerése az előkezelt anyagban, s végül, de nem utolsó sorban, hogy mennyire sikerült növelni a szubsztrát bonthatóságát.

- 1.) Overend R.P., Chornet E. (1987): Fractionation of lignocellulosics by steam Aqueous pretreatment, Philos. Trans. R. Soc. Lond. A, 321, 523-536
- 2.) Kálmán, G., Varga, E., Réczey, K. (2002) Dilute sulphuric acid pretreatment of corn stover at long residence times. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 16:151-157.
- 3.) Sipos, B., Kreuger, E., Svensson, S.E., Réczey, K., Björnsson, L., Zacchi, G. (2010) Steam pretreatment of dry and ensiled industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) for ethanol production. Biomass and Bioenergy, 34:1721-1731.

2. A kísérleteket minden nyersanyagnál csak egy mérettartományú, méretű (pl.: kukoricaszár: 2-3 mm, cukorcirok bagasz: 3-15 mm, balatoni nád: 2 mm) frakcióval végezték. Léptek-e fel ezeknél a viszonylag nagyméretű kiindulási anyagoknál anyagátadási problémák, és a méret csökkentésével (ami természetesen többletenergia bevitellel jár) lenne-e lehetőség a kiküszöbölésükre?

Kísérleteink során nem vizsgáltuk a részecske méret hatását az előkezelések hatékonyságára, de tapasztalataink szerint **gőzrobbantás esetén** a nagyobb szemcseméreték előnyösek, annak dacára, hogy ott könnyebben léphetnek fel hőátadási problémák, melyek egyrésről azt eredményezhetik, hogy a szemcsék felülete túlhevül, s ott nem kívánatos bomlástermékek (inhibitorok) képződhetnek, ugyanakkor ezzel egyidejűleg a szemcse belsejében nem lesz megfelelő a hidrolízis, így a feltárás sem. Ballesteros és mtsi (4) *Brassica carinata* (Etióp mustár) szárának előkezelésekor vizsgálták a gőzrobbantást megelőző aprítás hatását 2-5 mm, 5-8 mm és 8-12 mm-es szemcse méreteknél, s megállapították, hogy mind a legkisebb cellulóz veszteséget, mind a legjobb konverziót az előkezelést követő enzimes hidrolízis során a legnagyobb, 8-12 mm-es frakcióval érték el.

Kémiai előkezelések során valószínűleg segítette volna a jobb anyagátadást a minták aprítása, de itt az volt a célunk pl.: kukoricarost és kenderpozdorja esetében, hogy a melléktermékeket úgy használjuk fel, ahogyan a technológia során keletkeztek. **Kukoricarost** (2x1x10 mm-es lapocskák) esetében kísérleteink mind savas, mind lúgos kezeléskor jól bontható előkezelt anyagot eredményeztek, de tény, hogy erre 1 ill. 2 órás kezelési időt alkalmaztunk. **Jelenleg** folyó kísérleteink során darált kukoricarostot használunk (átlagos szemcseméret: 0,32 mm), s a lényeges különbséget a szükséges reakcióidő jelentős lerövidülése (15 min) jelenti.

A kémiai előkezelések közül az **ionos folyadékokkal** végzett feltárásoknál jelentős a méret hatása, Li és mtsi. (5) három különböző keményfa, illetve puhafa mintánál vizsgálták az aprítás hatását, s megállapították, hogy az aprítási idő növelésével (mely feltételezhetően a szemcseméret csökkenését eredményezte) erőteljesen romlott a regenerált fa kihozatala, de a kezelést követő enzimes hidrolízisben a glükóz hozam javult. Kísérleteikben a fa minták feloldásához 1-allil-3-metilimidazolium-kloridot használtak, majd a fát vízzel regenerálták. Bahcegul és mtsi. (6) gyapotszár ionos folyadékokkal történő előkezelésénél azt tapasztalták, hogy míg az 1-etil-3-metilimidazolium acetát (EMIMAc) alkalmazásakor nagyobb szemcseméretű (1,0-2,0 mm) alkalmazása eredményezte a jobb glükóz hozamot, addig ugyanannál a szubsztrátnál az 1-etil-3-metilimidazolium klorid (EMIMCl) alkalmazásakor a kis szemcseméretű alkalmazásakor ($d < 0,15$ mm) érték el a legjobb glükózhozamot (49%), mely a részecskeméret növelésével jelentősen (33%-ra) csökkent.

Pusztán **fizikai előkezelések** alkalmazásakor kicsit egyértelműbb a helyzet, az aprítás hatására csökken a részecskeméret, nő a fajlagos felület, s ez kedvez az enzim – szubsztrát interakciónak, mely a kezdeti hidrolízis sebesség növekedését, s emellett a meghatározott ideig lefolytatott enzimes hidrolízis konverziójának emelkedését is eredményezi. Silva és mtsi (7) búzaszalma őrlemények viselkedését tanulmányozták 20-800 μm tartományban, s azt tapasztalták, hogy az őrléssel 100 μm részecske méretig nőtt a glükóz hozam (40%), de ez alatt nem. Amennyiben a búzaszalmát golyós malomban őrölték, az átlagos részecskeméret 10 μm -re csökkent és a glükóz hozam 72%-ra emelkedett, ekkor már nemcsak a részecskeméret csökkenésből eredő **nagyobb fajlagos felület, jobb anyagátadási viszonyok**, hanem a komplex

lignocellulóz struktúra fellazítása, a cellulóz kristályosságának csökkenése is szerepet játszott a jobb enzimes bonthatóság elérésében.

Agger és Meyer (8) búzakorpa frakcionálásának vizsgálatakor megállapította, hogy a részecskeméret csökkenésével az összetétel is változik. Míg a 700-100 µm-es frakció gazdagabb volt cellulózban és arabinoxilánban, (de az arabinofuranozid oldalláncok száma kevesebb volt), addig a 15-250 µm-es frakció kevesebb cellulózt tartalmazott, de több arabinofuranozid oldalláncot tartalmazó arabinoxilánt (A/X arány megnövekedett). Az **enzimes hidrolízis hozama a szemcseméret csökkenésével nőtt**, amit az aprítás hatására bekövetkezett **fajlagos felület növekedés** mellett a **különböző összetétel** is eredményezhetett.

Kandidátusi disszertációmban az „in situ” immobilizált β-glükozidáz pelletek fermentatív előállításakor és vizsgálatakor megállapítottam, hogy „...a fermentációt úgy érdemes lefolytatni, hogy a gyöngy átmérő 1-2 mm legyen. Így a gyöngy még megfelelő mechanikai szilárdsággal rendelkezik, és minimális a diffúziós gátlás.” A mikrobiológiai pellet átmérőjét 2 mm-ről 3 mm-re emelve a gyöngyök aktivitása 25-30%-ra csökkent (9).

4. Ballesteros I., Oliva J.M., Negro M.J., Manzanares P., Ballesteros M. (2002) Enzymatic hydrolysis of steam exploded herbaceous agricultural wastes (Brassica carinata) at different particle size : Proc.Biochem. 38, 187-192
5. Li B., Asikkala J., Filpponen I., Argyropoulos D.S. (2010) Factors Affecting Wood Dissolution and Regeneration of Ionic Liquids, Ind. Eng. Chem. Res., 49, 2477-2484
6. Bahcegul E., Apaydin S., Haykir N.I., Tatli E., Bakir V. (2012) Different ionic liquids favor different lignocellulosic biomass particle size during pretreatment to function efficiently, Green Chem. 14, 1896-1903
7. Silva G.G.D., Couturier M., Berrin J.-G., Buléon A., Rouau X. (2012) Effect of grinding process on enzymatic degradation of wheat straw, Bioresource Technology, 103, 192-200
8. Agger J., Meyer A.S. (2012) Alteration of biomass composition in response to changing substrate particle size and the consequences for enzymatic hydrolysis of corn bran, Bioresources, 7, 3378-3397
9. Réczey K. (1991) Lignocellulózok biotechnológiai hasznosításának lehetőségei és problémái, Kandidátusi értekezés

3. Egy adott alapanyagon belül is számos variációs lehetőség nyílik az 1. ábrán bemutatott technológiai séma változtatására. Becsülhető-e ezeknek a variációs

lehetőségeknek az eljárás gazdaságosságára való hatása, kiválasztható-e adott alapanyagra a leg gazdaságosabb eljárás?

Igen, becsülhető, ennek eszköze a folyamatmodellezés, mely a folyamat anyag- és energiamérlegeinek megoldásával teszi lehetővé a beruházási és működési költségek becslését, amelyekből aztán az előállítási költség és megtérülési idő számolható. Kutatócsoportom az elmúlt években végzett is ilyen jellegű számításokat Aspen programokkal (Aspen Plus – folyamatszimulátor, Aspen Icarus – beruházási költségbecslés). Az egyik tématerület az **üzemen belüli celluláztermelés modellezése** (10) volt, ahol három enzimtermelő folyamatkonfigurációt vizsgáltunk, a másik a **desztillációs fenéktermék anaerob erjesztéssel történő hasznosítása** (11), ahol öt folyamatkonfigurációt hasonlítottunk össze. Mindkét tématerületen jelentős különbségeket tapasztaltunk az etanol előállítási költségben az egyes variációs lehetőségek között. Az anaerob rothasztással történő fenéktermék hasznosításnál végzett számításaink arra is rávilágítottak, hogy a folyamat melléktermékeinek (tűzipellet, tisztított biogáz, elektromos áram, távhő) piaci ára meghatározó az adott konfiguráció gazdaságossága szempontjából.

10.) Barta, Zs., Kovács, K., Réczey, K., Zacchi, G. (2010) Process design and economics of on-site cellulase production on various carbon sources in a softwood-based ethanol plant. Enzyme Research. 2010, 734182, doi:10.4061/2010/734182

11.) Barta, Zs., Réczey, K., Zacchi, G. (2010) Techno-economic evaluation of stillage treatment with anaerobic digestion in a softwood-to-ethanol process. Biotechnology for Biofuels. 2010, 3:21 doi:10.1186/1754-6834-3-21

Megjegyzés: Bírálóm megjegyzésére, miszerint a **biofinomításról** lényegesen kevesebb szó esik, mint az etanol előállításról csak azt válaszolhatom, hogy az egész dolgozat a biofinomításról szeretne szólni, ezért vizsgáltam a különböző mellékáramok enzimfermentációra való alkalmazhatóságát, a kukoricarost hemicellulóz frakciójának polimerként (CFG:corn fibre gum), vagy monomerként történő hasznosítását. Tudom, hogy egy ilyen viszonylag új kifejezésnek, mint a biofinomítás, még nem egyértelmű a **definíciója**, én azt az általános megfogalmazást alkalmazom, hogy a biofinomítás során - a kőolaj finomításhoz hasonlóan - a kiindulási nyersanyagból, mely ez esetben nem kőolaj, hanem lignocellulóz biomassa, **több hasznos terméket állítunk elő egymás mellett**. Dolgozatban

többnyire csak a cellulóz és a hemicellulóz külön hasznosítási lehetőségét vizsgáltam. Kukoricarost nyersanyag esetében ezek mellett a keményítő és a rost olaj elválasztásával tettem lehetővé azok külön hasznosítását. Miután a lignocellulóz biomassa 15-25%-a lignin, fontosnak éreztem, hogy ennek a hasznosítására is tegyünk kísérletet. A termoplasztikus keményítő tulajdonságainak javítására nem találtuk alkalmasnak, viszont egy COST együttműködésben (Biotechnology for Lignocellulose Biorefineries (BIOBIO) FP0602) szlovén együttműködő partnerünknek izoláltunk lignint kukoricaszárból gőzrobbantásos előkezelést követő enzimes hidrolízissel, melyet ők elfolyósítás után poliuretán előállításra használtak fel (12).

Ugyancsak kukoricaszárból izoláltunk lignint a tajvani ITRI (Industrial Technology Research Institute) intézetnek, ahol azt bioműanyag előállítás céljából kívánták felhasználni.

A biofinomítási koncepciókhoz tartozik, - amennyiben a hemicellulóz frakciót előre nem választjuk el a reakcióelegyből -, hogy a hexóz fermentáció utáni maradékot utólag hasznosítjuk. Csoportunk az utóbbi években az alkoholf fermentáció utáni desztillációs maradék (szeszmoslék) biogázosításával is foglalkozik (13, 14).

12.) Sipos B., Szilágyi M., Cuk N., Kunaver M., Zacchi G., Crestini C., Réczey K. (2010) Production of fermentable sugars and polyurethane from softwood in a biorefinery concept. 4th Annual Workshop of COST FP0602. Izmir, Törökország, 2010.09.21-2010.09.24.

13.) Kreuger E., Sipos B., Svensson S-E., Réczey K., Björnsson L., Zacchi G. (2011) Bioconversion of industrial hemp to ethanol and methane: The benefits of steam pretreatment and co-production, Bioresource Technology, 102, 3457–3465

14.) Barta, Zs., Kreuger, K., Björnsson, B. (2012) Effects of steam pretreatment and co-production with ethanol on the energy efficiency and process economics of combined biogas, heat and electricity production from industrial hemp. Biotechnology for Biofuels. Beküldött

Még egyszer köszönöm a gondos és alapos bírálatot.

Budakeszi, 2012. 12.04.

Dr. Réczey Istvánné Csorba Katalin