

РЕЗЮМЕТА НА ОСНОВНИТЕ РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ

в научните трудове на гл. ас. д-р инж. Иво Георгиев Лалов

1. Krysteva M., Yotova L., **Lalov I.**, Geneva Ch. K. (1994) Destroying of urea by *Arthrobacter oxydans* covalently bound to cellulose granules. *Conference of Bioprocess Engineering' 94*, 38-41, September 26-29, Sofia.

Осъществено е ковалентно свързване на клетки от *Arthrobacter oxydans* с висока уреазна активност към целулозни гранули. Максимум на уреазната активност на имобилизираните клетки е постигнат при следните реакционни условия: рН 8, температура 20°C и концентрация на клетъчната суспензия 50 мг/мл. Имобилизационният добив бе 86%. Изследвано е влиянието на субстратната концентрация върху уреазната активност на имобилизираните клетки за концентрационния диапазон от 2 до 10 г/л. Изследвана е стабилността на имобилизираните клетки от *A. oxydans* при процес на разграждане на карбамид в биореактор с непрекъснато действие. Клетките демонстрираха ненарушена стабилност за 80 часа при най-неблагоприятните условия.

2. Tzibranska I., Karsheva M., Krysteva M., Yotova L., **Lalov I.** (1995) Kinetics of growth of covalently immobilized cells of *Arthrobacter oxydans* – experiment and modeling. *Conference of Bioprocess Engineering' 95*, 55-58, October 2-5, Sofia

Осъществено е сравнително експериментално изследване на кинетиката на клетъчен растеж за случаите на свободни и ковалентно имобилизирани клетки. Определени са кинетичните константи на процесите. Създаден е модел описващ процесите със задоволителна точност.

3. **Lalov I.**, Parashkov R., Krysteva M., Bonnett R., Glavchev I. (1998) Formation of bactericidal surfaces with a possible application in fruits preservation and water sterilization. *Conference of Bioprocess Systems' 98*, V.63-V.66, September 30 – October 2, Sofia.

Серия от полимерни повърхности притежаващи фотодинамично бактерицидно действие са получени посредством ковалентно имобилизиране на подходящи фотосенсибилизатори върху повърхността на триацетилцелулозни или синтетични полимерни филми както и посредством адсорбция върху целофан. Оценена е фотодинамичната активност на получените конюгати. При изследването на

бактериалната цитотоксичност на конюгатите както и за оценка на потенциалните приложения на двете най-обещаващи полимерни повърхности са използвани три бактериални щама от видовете *E. coli*, *B. subtilis* и *Ps. fluorescens*.

4. Krysteva M., **Lalov I.**, Phelouzat J. L. (1999) Chaptire 6. Energie de Biomasse, 205-238, in the book Sources D'Energie Renouvelables, Edition de l' Universite Technigue deSofia.

Разгледани са основните биотехнологии за генериране на алтернативна енергия. Обърнато е особено внимание на биомасата като източник на енергия. Представени са принципите на процеси, важни за генерирането на биоенергия като фотосинтезата. Дискутирани са принципите и някои практически приложения на биотехнологии за получаване на етанол, биометан и биоводород.

5. Krysteva M., Bonnett R., **Lalov I.**, Artarsky S., (2001) Preparation of chitosan membranes via immobilized photosensitizers for water sterilization. *Научни трудове на ВИХВП*, томXLVI, 59-66, *Polysaccharides '2001*, Scientific Conference, 30-31 October, Plovdiv.

Осъществена е модификация на хитозанови мембрани с фотосенсибилизаторите 5,10,15,20-тетра-(*p*-хидроксифенил)-порфирин, 5,10,15,20-тетра-(*p*-аминофенил)-порфирин и цинк (II) фталоцианин тетрасулфонова киселина. Изследвани са фотобактерицидните свойства на модифицираните мембрани спрямо тест-щам на *E. coli* във водна среда. Създадена е лабораторна система за непрекъсната фотодезинфекция на води.

6. Yotova L., Tzibranska I., **Lalov I.**, Karsheva M., Krysteva M. (2002) Kinetic study and mathematical modeling of growing of *Arthrobacter oxydans* cells covalently immobilized on cellulose granules., *Hungarian Journal of Industrial Chemistry*, 30 (2), 87-95.

Осъществено е сравнително изследване на кинетиката на растеж на имобилизирани и свободни клетки както експериментално така и числено. Клетки от *Arthrobacter oxydans* са имобилизирани ковалентно върху гранули от регенерирана и частично деацетилирана ацетилцелулоза последователно активирана с натриев перйодат, карбамид и формалдехид. Сравнението на получените данни показва, че свободните и имобилизираните клетки демонстрират типичните три фази на растеж. Началната фаза на развитие на свободните клетки продължава около 10 часа, а за имобилизираните не

повече от 5 часа. Втората експоненциална фаза показва доста по-забележителна разлика между двата типа клетки. Кривата за имобилизираните клетки е по-стръмна от тази за свободните и достига два пъти по-бързо трета фаза. Пълната утилизация на глюкозата при имобилизираните клетки завършва за 15 часа, а при свободните за 25 часа. Възпроизводимостта на резултата е задоволителна в достатъчна степен (средна грешка 7,42%). Използван е математически модел за описанието и анализа на ефекта на различните масопреносни и кинетичните параметри. Показано е, че делението на имобилизираните клетки е комплексен процес, включващ майчините и новопродуцирани клетки.

Тези резултати могат да намерят приложение при използване на имобилизирани клетки като постоянен източник на свободни. Те са витални и предлагат траен материал със стабилна уреазна активност.

7. Karamihov V., **Lalov I.**, Dimitrov I. (2004) Treatment of heavy metals contained wastewaters with chitosan. *Food science, technique and technologies* '2004, LI, 2, 55-61, 27-29 October, Plovdiv.

Изследването е насочено към изясняване на биосорбционния ефект на хитозана и разработване на метод за пречистване на отпадъци от металургично производство води, които съдържат тежки метали. Определени са адсорбционните параметри на хитозан по отношение на различни метали, съдържащи се в отпадните води в реални условия и е установено, че капацитета на насищане на хитозана за основния замърсител – арсен е съответно 36,48 мг/г носител, а свързващата константа – 0,014 л/мг.

Изследван е процес на пречистване на нетретирани отпадъчни води и е установено, че се постига различна степен на пречистване за различните метали, която варира от 30% при арсена до 92% при медта. Осъществено е допречистване на отпадъчните води напускащи пречиствателната станция на Umicore – гр. Пирдоп, при което съдържанието на арсен е понижено с 96%. Едновременно с това съдържанието на всички останали метали с изключение на кадмия също се понижава значително.

8. Bonnett R., Krysteva M., **Lalov I.**, Artarsky S (2006) Water disinfection using photosensitizers immobilized on chitosan., *Water Research*, 40 (6), 1269-1275.

Експериментално е изследвана идеята, че фотодинамичния ефект може да бъде използван за понижаване на микробните нива във воден поток като се използва фотосенсибилизатор

включен в полимерна мембрана. За целта бе избран природния омокряем полимер хитозан, подсилен с найлонова мрежа. Фотосенсибилизаторите използвани за генериране на синглетен кислород бяха включени в прозрачни хитозанови мембрани посредством адсорбция (5,10,15,20-тетра-(*p*-хидроксифенил)-порфирина, *p*-THPP), разтваряне и отливане (5,10,15,20-тетра-(*p*-аминофенил)-порфирина, *p*-TAPP) и ковалентно свързване осъществено посредством реактивно багрене (цинк (II) фталоцианин тетрасулфонова киселина, ZnPCs). По-ранни изследвания на фотобактерицидната активност в статични системи по отношение *E. coli* показаха определена активност във всеки от случаите като най-голяма активност демонстрира мембраната фталоцианин/хитозан. Нов реактор с фотобактерицидно действие е проектиран и конструиран като модел за промишлена водопроточна система. Използвайки новата подсилената мембрана ZnPCs/хитозан като фотосенсибилизираща повърхност бе постигнато значително редуциране на броя на клетките на *E. coli* в системата като по този начин хипотезата бе потвърдена.

9. Bozadzhiev, O., Valchevski, I., **Lalov, I.** (2007) Biometanation of distillery wastewater in an anaerobic baffled reactor system., *Bioautomation*, 8, 146-153.

Анаеробното третиране на водите отпадащи от дестилерии е утвърдена технология, която предлага обещаваща алтернатива за българската промишленост. В това изследване е сравнена метаногенната активност на два природно сформирани метаногенни консорциума. По-добрият бе използван за стартиране на непрекъснат процес на анаеробно третиране на високо натоварени води отпадащи от дестилерия (ХПК 85 520 $\text{mgO}_2\cdot\text{л}^{-1}$) в лабораторна анаеробна многокамерна реакторна система. Средните стойности на органичното натоварване и времепрестоя бяха съответно 4.28 $\text{kg XPK m}^{-3}\cdot\text{д}^{-1}$ и 20 дни. Постигнатата степен на пречистване бе 98%, а специфичната скорост на продуциране на метан – 0,39 $\text{m}^3\cdot\text{kg}^{-1}\text{XPK}$. Бе изследван ефекта от въздействието на различни инхибиращи фактори като ниско рН и присъствие на кислород върху анаеробния процес. Независимо от едновременното прилагане на неблагоприятните фактори, след период на адаптация, стабилността на процеса в избраната от нас реакторна система бе възстановена. Получените резултати потвърдиха възможността подобен процес да бъде използван за подобряване на ефективността на третиране на отпадъчните води.

10. Krysteva, M., **Lalov, I.**, Beschkov, V. (2010) Acceleration and increase of hydrogen production by simultaneous fermentation of *Clostridium butyricum* and *Rhodobacter sphaeroides* on wine-vinasse substrate., *Bulgarian Chemical Communications*, 22 (1), 46-50.

Осъществено е ферментативно генериране на водород от винаса с помощта на едновременно култивиране на *Rhodobacter sphaeroides* и *Clostridium butyricum* в осветен фотобиореактор. Кинетиката на кооперативния процес показва бързо и усилено продуциране на водород с добив от 65,41 ммол/л винаса с помощта на смесената култура в сравнение с процесите използващи двата вида бактерии отделно и постигащи добиви от 27,41 и 25,49 ммол/л винаса съответно за *Rhodobacter* и *Clostridium*. Експериментът със смес от двете бактерии показва кооперативно усвояване на почти всички изследвани компоненти в следната последователност: малат > лактат > остатъчни захари > тартарат > цитрат. Използването на винасата като субстрат за продуциране на водород може да бъде значим екологичен енергиен ресурс за предприятията произвеждащи винени брендите.

11. Krysteva, M., **Lalov, I.**, Beschkov, V. (2010) Bioenergy (methane and hydrogen) on the basis of wine industry waste, *Asian Chemistry Letters*, 14 (2), 123-130.

Осъществено е изследване в две направления целящо получаване на енергия под формата на метан (направление 1) и водород (направление 2) от отпадъци от винарската промишленост. Вторичния продукт отпадащ след дестилацията при производството на винени брендите се нарича винаса и се характеризира главно с висока концентрация на остатъчни захари и органични киселини.

При първото направление е постигнато значително подобряване на продуцирането на метан от винаса посредством ковалентна имобилизация на метаногенните бактерии върху полимерен носител. Изследването на кинетиката на растеж на имобилизираните бактерии показва, че микробната концентрация нараства от 12,3 до 52,1 мг.г⁻¹носител. Добивът на метан достигна 0,33м³.кг⁻¹ХПК, а максималната степен на пречистване 92%.

При второто направление бе изследвано ферментативно генериране на водород от винаса с помощта на едновременно култивиране на *Rhodobacter sphaeroides* и *Clostridium butyricum* в осветен фотобиореактор. Кинетиката на кооперативния процес показва бързо и усилено продуциране на водород с добив от 65,41 ммол/л винаса с помощта на смесената култура в сравнение с процесите използващи двата вида бактерии отделно и постигащи добиви от 27,41 и 25,49 ммол/л винаса съответно за *Rhodobacter* и *Clostridium*. Експериментът със смес от двете бактерии показва кооперативно усвояване на почти всички изследвани компоненти в следната последователност: малат > лактат > остатъчни захари > тартарат > цитрат.

12. Камбуров М., Лалов И., (2011) Получаване на хитозанови частици с имобилизиран трипсин и използването му за пречистване на апротинин, “*Хранителна наука, техника и технологии -2011*”, 189-194, 14-15 октомври 2011, Пловдив.

Целта на настоящото изследване бе да се имобилизира трипсин (ЕС.3.4.21.4) чрез ковалентно взаимодействие с химично модифицирани гелни хитозанови частици, омрежени и активирани с глутаров алдехид и да се използват за афинитетно пречистване на апротинин от говежди бял дроб. Полученият трипсинов инхибитор е охарактеризиран с SDS-полиакриламидна електрофореза като единична полипептидна верига с молекулна маса 6,5 kDa и инхибиторна активност 3250 AtpE/mg.

13. Лалов И., Камбуров М., Бозаджиев О., Иванова Х., Димитров И., (2011) Получаване на хитозан посредством микробиологична трансформация на спиртна шлемпа, “*Хранителна наука, техника и технологии -2011*”, 195-200, 14-15 октомври 2011, Пловдив.

Целта на изследването е да бъде разработен лабораторен метод за получаване на хитозан посредством микробиална трансформация на отпадащ при производството на зърнен етанол продукт, известен като спиртна шлемпа. Като продуцент на микробиален хитозан е изследван щам на плесента *Absidia coerulea*, култивиран в синтетична среда както и в среда на основата на спиртна шлемпа. При култивирането на *Absidia coerulea* в среда от спиртна шлемпа е постигнат добив на въздушно сух мицел от 4,46 г/л, съдържащ 1,28 % екстрахируем хитозан.

14. Kamburov M., Lalov I., (2012). Preparation of chitosan beads for trypsin immobilization, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 26, 156-163.

Настоящото изследване се занимава с потенциалното приложение на хитозанови макрочастици за имобилизиране на трипсин. Макрочастиците бяха приготвени посредством преципитация като механичните им свойства бяха подобрени посредством ковалентно омрежване с глутаров алдехид. Електронномикроскопските изследвания показаха, че размерът на частиците варира между 2,5 и 3,5 μ m в зависимост от съдържанието на хитозан и моларния излишък от глутаров алдехид. Трипсинът (ЕС.3.4.21.4) бе избран като моделен ензим за имобилизация върху хитозанови гелни частици предварително активирани с глутаров алдехид. Определени са каталитичните и

кинетични параметри на свободния и имобилизирания трипсин като е изследвано влиянието на различни технологични параметри върху ензимната активност. Получените резултати показаха, че оптималните рН и температура за хидролизата на нискомолекулен субстрат катализирана от имобилизирания трипсин са съответно рН 8,0 и 50°C. Изследвано е и влиянието на субстратната концентрация като стойностите на константите бяха $K_m=1,54 \text{ mM/L}$ и $V_{\max} - 3.3 \text{ }\mu\text{M/min}$.

15. Камбуров М., Лалов И., (2012) Изследване омрежването и активирането на хитозан с глутаров алдехид за имобилизиране на ензими, *Научни трудове на УХТ, "Хранителна наука, техника и технологии -2012"*, 19-20 октомври 2012, Пловдив, т.LIX, 579-583.

Целта на тази статия е да бъде изследван процеса на омрежване на хитозанови частици, използвани като носител за имобилизиране на ензими. Глутаровият алдехид е един от най-ефективните омрежващи агенти за протеини и въглехидрати. Той може да присъства в различни форми в зависимост от такива условия на разтвора като рН и температура. Глутаровия алдехид може да реагира с хитозана по няколко начина като образуване на Шифови бази или чрез присъединяване тип Michael. Получени са FTIR спектри на омрежения хитозан. Получените омрежени частици притежават определена полимерна структура и представляват потенциални матрици за твърдофазната биохимия.

16. Лалов И., Камбуров М., Бозаджиев О., Иванов Т., Димитров И., Димитров Д., (2012) Пречистване на отпадни води замърсени с тежки метали с помощта на модифициран хитозанов биосорбент, *Научни трудове на УХТ, "Хранителна наука, техника и технологии -2012"*, 19-20 октомври 2012, Пловдив, т.LIX, 595-600.

Това изследване е насочено към проучване на процеса на биосорбция и разработване на метод за третиране на води замърсени с тежки метали. Създаден е нов композитен биосорбент посредством отлагане на хитозан върху гранулиран активен въглен. Отложеният върху въглеродния носител хитозан бе около 10% от масата на композита. Адсорбционния капацитет на композитния биосорбент бе определен посредством измерване на степента на адсорбция на металите Cu^{2+} , Zn^{2+} и Ni^{2+} от воден разтвор при равновесни условия и температура 25 °C. С помощта на Лангмюровия изотермен модел, от равновесните данни са определени следните максимални капацитети на свързване на тежки метали от биосорбента за грам хитозан: 285,7 $\text{mgCu}^{2+}/\text{g}$, 277,7 $\text{mgZn}^{2+}/\text{g}$ и

270,3мгNi²⁺/г. Проведени са и изследвания на колонен процес на биосорбция на тежки метали организиран с новополучения композитен биосорбент.

17. **Лалов И.**, Камбуров М, Бозаджиев О., (2013) Пречистване на води отпадащи от производството на дървесно-влакнести плоскости., *Научни трудове на УХТ, "Хранителна наука, техника и технологии-2013"*, 18-19 октомври 2013, Пловдив, т.LX, 911-916.

Изследвани са процеси на аеробно и анаеробно третиране на води отпадащи при производството на дървесно-влакнести плоскости. Демонстриран е прост и надежден метод за селекция и адаптиране на естествено формиран метаногенен консорциум към различни субстрати. Показано е, че успешна адаптация на смесена метаногенна култура към водите отпадащи при производство на дървесно-влакнести плочи се постига когато в състава ѝ присъстват фенол разграждащи микроорганизми.

Аеробното биологично третиране на отпадъчните води е осъществено с бактериален инокулат, получен от промишлена пречиствателна станция за обработка на този тип води. Показано е, че 73 %-но понижаване на разтворима ХПК се постига в продължение на 5 часа като по-нататъшното удължаване на времепрестоя води до пренебрежимо ниско увеличение на степента на пречистване.

Организиран е полунепрекъснат процес на биометанизация с помощта на успешно адаптиран към индустриалните отпадъчни води метаногенен консорциум. При използване на времепрестой от 25 дни и органично натоварване 0,29 кгХПК.м⁻³.д⁻¹ е постигнат специфичен добив на биогаз от 0,74 м³.кг⁻¹ и степен на пречистване 74%.

18. Камбуров М, **Лалов И.**, (2013) Изследване афинитета на апротинина към имобилизиран върху хитозан трипсин, *Научни трудове на УХТ, "Хранителна наука, техника и технологии -2013"*, 18-19 октомври 2013, Пловдив, т.LX, 1020-1024.

Целта на настоящата работа е да се изследва афинитета на получените афинитетни сорбенти на основата на хитозан като неразтворим носител и трипсин чрез определяне на константата на инхибиране спрямо апротинин. Определянето на K_i при здраво свързващи се (асоцииращи) белтъци се извършва чрез титруването на ензима с инхибитор съгласно методология предложена от Bieth. От резултатите получени при титруването на активния център на трипсин (3,36.10⁻⁷ M/l) с увеличаващи се количества апротинин е изчислена K_i=0,41.10⁻⁹ [M/l]. Резултатите от титруването на активния център на имобилизиран

трипсин в хитозанови частички с увеличаващи се количества апротинин са представени посредством нелинейна зависимост и с тяхна помощ е изчислена $K_i = 0,356 \cdot 10^{-7}$ [М/л].

19. Иванов Т., Лалов И., (2013) Адсорбция на тежки метали с магнитни хитозанови композити, *Научни трудове на УХТ, "Хранителна наука, техника и технологии-2013"*, 18-19 октомври 2013, Пловдив, т. LX, 1051-1055.

Хитозанът има добър свързващ капацитет по отношение на метали, но чистият хитозан не е особено устойчив в химично и механично отношение. За подобряването на химическите и механичните му характеристики се използват различни физични и химични модификации като, например, отлагане на хитозана във вид на тънък филм върху синтетични или природни носители. За адсорбция на тежки метали са използвани и магнитни адсорбенти. Основното преимущество на тази технология е възможността тези частици да бъдат лесно отстранявани посредством прилагане на магнитно поле. Настоящата работа представлява изследване на пречистването на води съдържащи тежки метали с помощта на покрит с хитозанов филм магнитен композит. Максималните капацитети на свързване на изследваните хитозан – магнетитни композити получени при определени оптимални експериментални условия бяха съответно: 285,5 мг/г за $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, 258,6 мг/г за Cu^{2+} и 251,3 мг/г за Ni^{2+} . Резултатите от изотермните моделни изследвания показаха, че адсорбционните данни съответстват добре на модела на Лангмюър.

20. Лалов И., Бозаджиев О., (2014) Biomethanation of wastewater from wood fiberboard industry in anaerobic multichamber reactor, *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. - in press.

Изследван е процес на анаеробно третиране на води отпадащи от производството на дървесно-влакнести плоскости. Демонстриран е прост и надежден метод за селектиране и адаптация на природно формиран метаногенен консорциум към изследвания субстрат. Показано е, че успешна адаптация на смесената метаногенна култура към водите отпадащи от производството на дървесно-влакнести плоскости се постига когато в нея се съдържат фенол разграждащи микроорганизми. С помощта на успешно адаптирания към индустриалните отпадъчни води метаногенен консорциум бе организиран полунепрекъснат лабораторен процес на биометанизация в периодично разбъркван анаеробен реактор. Процесът бе стабилен при условията на относително дълъг времепрестой (50 дни) и ниско органично натоварване ($0,15 \text{ гХПК} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{д}^{-1}$). Постигната бе специфична скорост на продуциране на биогаз от $0,55 \text{ л} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ХПК}$ и степен на пречистване

от 75%. При по-кратки времена на задържане и съответно по-високи органични натоварвания бе наблюдавано инхибиране на метаногенната активност.

За да изследват възможностите за подобряване на стабилността на процеса беше реализиран процес на непрекъсната биометанизация в многокамерен анаеробен реактор. Независимо от едновременното прилагане на няколко неблагоприятни фактора (ниско рН, по-високо органично натоварване и по-кратък времепрестой) след определен период на адаптация реакторът демонстрира стабилен режим на работа.

Получените резултати показаха приложимостта на този анаеробен процес при третиране на води отпадащи от производството на дървесно-влакнести плочи предлагайки добра алтернатива за подобряване на ефективността на обработката на този тип отпадъчни води.