

ПУБЛИКАЦИИ И РЕЗЮМЕТА

1. Danova S., Petrov K., Pavlov P., Petrova P. (2005) "Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains involved in koumiss fermentation" *International Journal of Dairy Technology*, vol. 58 (2), 100-105.

„Изолиране и характеризиране на щамове *Lactobacillus*, причиняващи ферментацията на кумиса”

Светла Данова, Калоян Петров, Пламен Павлов, Пенка Петрова

Кумисът е слабоалкохолна напитка, която се получава след ферментация на мляко от природни смесени закваски, съдържащи млечнокисели бактерии и дрожди. От лиофилизирани кумисни проби бяха изолирани седем щамове *Lactobacillus*, идентифицирани като *L. salivarius*, *L. buchneri* и *L. plantarum*.

Процесът на млечнокиселата ферментация, причинена от кумисните лактобацили е по-бърз в сравнение с останалите. За 9 – 13 часа, в зависимост от изследвания щам, между 47% и 79% от глюкозата се превръща в млечна киселина. Всички щамове са устойчиви на ниско рН. Три от изолатите бяха устойчиви и на продължително съхранение – във ферментирало мляко – те показаха добра виталност след 3 седмици съхранение при 4°C.

Ключови думи: Кумис, млечна киселина, *Lactobacillus*.

2. Petrov K., Petrova P., Beschkov V. (2007) Improved immobilization of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in polyacrylamide gel, preventing cell leakage during lactic acid fermentation, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, vol. 23 (3), 423-428.

„Подобрена имобилизация на *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 в полиакриламиден гел, осигуряваща стабилно задържане на клетките по време на млечнокиселата ферментация”

Калоян Петров, Пенка Петрова, Венко Бешков

Разработен е нов метод за подобрена имобилизация на *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, продуцент на L(+)-млечна киселина, в полиакриламиден гел. Бе изследвана клетъчната имобилизация в поредица гелове с различна концентрации и различен ред на добавяне на реагентите, като бяха проведени периодични и последователни периодични процеси. Получените резултати показаха, че най-важната стъпка за успешна имобилизация е предварителното инкубиране на клетките в чист 10% акриламид и това води до подобро захващане за полиакриламида. Обратно, ако клетките се поставят в предварително приготвен сток разтвор на акриламид и бис-акриламид, в хода на ферментацията се получава освобождаване на клетките от гела и се формира голямо количество външна биомаса.

Най-успешната получена имобилизация бе при приготвянето на гел, съдържащ клетките на *L. rhamnosus*, инкубирани в 10% акриламид, с добавка на 1% бис-акриламид. Този гел показва оптимална пропускливост и в същото време клетките останаха напълно захванати в полимерната матрица - след 48 часа култивиране бяха образувани само 0.03 г свободна биомаса. Освен това, при използването на този гел в периодични процеси бе постигнато 85% превръщане на лактоза в млечна киселина до доста висока концентрация на лактоза - 30 г/л.

Следващите експерименти бяха насочени към изясняване на механизмите, по които протича подобреното имобилизиране и показаха, че настъпват физикохимични взаимодействия между клетъчната повърхност на *L. rhamnosus* и акриламида.

Ключови думи: Имобилизация, полиакриламид, *Lactobacillus rhamnosus*, млечна киселина.

3. Petrova P., Petrov K., Stoyancheva G. (2007) "Probiotic properties of Bulgarian vaginal *Lactobacillus* isolates", *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, vol. 60 (8), 873-880.

“Пробиотични свойства на български вагинални изолати от род *Lactobacillus*”

Пенка Петрова, Калоян Петров, Галина Стоянчева

Вагиналните лактобацили представляват мощен механизъм за защита от патогенна бактериална инвазия. С цел да бъдат селектирани пробиотични щамове, които да послужат за алтернативно лечение на уро-генитални смущения, от вагинални проби на здрави български жени бяха изолирани десет щамове *Lactobacillus*. Всички те бяха оценени като пробиотични, тъй като подтискаха растежа на два различни щамове *Escherichia coli* strains (HB101 and C600).

Антимикробната активност на изолатите беше оценена количествено чрез сравнение на продуцираните от всеки щам антимикробни агенти: млечна киселина, етанол и водороден пероксид, както и възможността за натрупване на биомаса. Получените резултати показаха, че най-висока антимикробна активност имат щамове, които синтезират едновременно високи количества на млечна киселина и водороден пероксид, които имат синергично действие. Антимикробната активност на етанола се оказа доста по-слаба, макар че хетероферментативните щамове го продуцираха в значителни количества. Хидрофобността на клетъчната повърхност на различните щамове варираше от ниска до средна, което показва, че имат слаби възможности за неспецифична адхезия.

Ключови думи: Млечна киселина, пробиотици, вагинални лактобацили.

4. Petrov K., Urshev Z., Petrova P. (2008) “L (+) - Lactic acid production from starch by a novel amylolytic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* B84”, *Food Microbiology*, vol. 25 (4), 550-557.

„Продуциране на L (+)-млечна киселина от нишесте от нов амилолитичен *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* B84”

Калоян Петров, Золтан Уршев, Пенка Петрова

Нов щам *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* B84, способен да разгражда нишестето като единствен въглероден източник и да образува L (+)-млечна киселина беше изолиран от спонтанно ферментирало ръжено тесто. С цел да бъде получена максимална продуктивност на млечна киселина, бяха варирани съдържанието на хранителната среда и условията на култивиране. В среда MRS, без дрождев и месен екстракт, при 33°C, разбъркване при 200 rpm и pH 6.0 за шест дни беше постигната пълна хидролиза на 18 г/л нишесте и бе образувана 5.5 г/л млечна киселина.

Идентификацията на щама с генетични методи – АРДРА анализ, ПСР с видовоспецифични праймери и секвениране на 16S рибозомалните гени доказва видовата му принадлежност.

Четири гена, отговорни за деградирането на нишестето бяха открити в генома на B84 - *amyL*, *amyY*, *glgP* и *apu*, кодиращи съответно цитоплазмена и извънклетъчна алфа-амилаза, гликоген-фосфорилаза и амилопулуланаза.

Есперименти с ПСР с обратна транскрипция показаха, че два от гените, кодиращи амилази (*amyL* и *amyY*) се транскрибират в матрична РНК, докато *glgP* и *apu* не се експресират.

Изследване на амилазната активност бе направено при различни pH и температури. Клетъчно-свързаната амилаза се оказа ключовият ензим, отговорен за хидролизата на нишестето. Неговата активност е максимална при 45°C и pH 5.4.

Ключови думи: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, млечна киселина, нишесте, хидролиза, амилазна активност.

5. Petrova P., Petrov K., Beschkov V. (2009) “Production of 1,3-propanediol from glycerol by newly isolated strains of *Klebsiella pneumoniae*”, *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, vol. 62 (2) 233-242

„Продуциране на 1,3-пропандиол от глицерол от новоизолирани щамове *Klebsiella pneumoniae*”

Пенка Петрова, Калоян Петров, Венко Бешков

Три нови щамове от вида *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* - G9, G31 и G46, способни да превръщат глицерола в големи количества 1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол) бяха изолирани, идентифицирани и изучени в серии от периодични процеси. Подобрението на съдържанието на хранителната среда и ферментационните

условия разкри, че факторите скорост на разбъркване, рН, аерация и натрупване на оцетна киселина са с най-голямо влияние върху процеса. Силното разбъркване значително засилва процеса на деградация на глицерола, но пълното му изконсумиране зависи от възможностите на щама да произвежда по-ниски количества оцетна киселина. Най-добрият по отношение на консумацията на субстрат щам G31 образува три пъти по-малко ацетат от G46 и два пъти по-малко от G9 и е способен по-късно да я превръща в други продукти.

Сравнителните експерименти без рН контрол и при поддържано рН 7.0 показаха, че неутралното рН насочва процеса към увеличаване на количеството на 1,3-пропандиола, и до значителен спад в синтеза на 2,3-бутандиол. При такова рН (7.0) G31 и G46 продуцираха 25.86 и 21.42 г/л 1,3-пропандиол от 50 г/л глицерол и съответно 1.7 и 0.0 г/л 2,3-бутандиол. Количеството 1,3-пропандиол, произведен от щам G31 съответства на добив от 62.6 mol/100 mol глицерол и е най-голямото, получено в периодичен процес от щам *Klebsiella* до този момент.

Ключови думи: 1,3-пропандиол, 2,3-бутандиол, глицерол, *Klebsiella pneumoniae*.

6. Gouliamova D., Dimitrov R., Petrova P., Stoyancheva G., Petrov K. (2009) “Genomic approaches to yeast taxonomy”, *Biotechnology & Biotechnological equipment*, vol. 23, 519 – 523.

„Геномни подходи към дрождевата таксономия”

Дилнора Гулямова, Румен Димитров, Пенка Петрова, Галина Стоянчева, Калоян Петров

Дрождите са микроорганизми с екологично, медицинско и биотехнологично значение. Те са първостепенни участници в кръговрата на въглерода и са едни от най-ценните микроби с промишлено приложение. Въпреки тяхната важност, дрождите все още не са напълно класифицирани таксономично. Точната им идентификация е от изключителна важност за медицината, биотехнологиите и за разбиране на взаимоотношенията в екосистемите. Настоящият обзор се фокусира върху методите, използвани понастоящем в геномиката на дрожди.

7. Petrova P., Gouliamova D., Petrov K., Stoyancheva G., Dimitrov R. (2009) “Starch-degrading activities of Bulgarian yeast isolates”, *Biotechnology & Biotechnological equipment*, vol. 23, 651 – 654.

„Нишесте-разграждащи активности на български дрождеви изолати”
Пенка Петрова, Дилнора Гулямова, Калоян Петров, Галина Стоянчева, Румен
Димитров

Двадесет дрождеви щама, способни да разграждат нишесте бяха изолирани от растения и насекоми, населяващи българските планини, както и от ферментирали храни. Пробите бяха взети сперилно и съответната микрофлора беше изолирана като чисти култури в селективни среди. Идентификацията на шамовете бе въз основа на клесически критерии: клетъчна и колонийна морфология, физиологични изисквания, усвояеми въглехидрати и тестове за ензимни активности.

Новите изолати принадлежаха към родовете *Saccharomyces*, *Geotrichum*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Clavispora*, *Wickerhamiella*, *Debaryomyces*, *Kloeckera* и *Rhodotorula*. С цел да открием шамове с потенциално биотехнологично приложение, бяха изследвани главните ферментационни продукти, получени след култивиране на изолатите в различни среди. След аеробно култивиране на среда с 20 г/л глюкоза, 14 щама продуцираха големи количества етанол, всички образуваха млечна, а шест щама – сукцинова киселина. Способността на шамовете да разграждат нишестето бе изследвана количествено чрез измерване на адсорбцията на йод-нишестения комплекс.

Бяха проведени периодични процеси със среда, съдържаща 10 и 20 г/л нишесте и всички шамове го разградиха в различна степен. Изследваните дрождеви изолати имат потенциала да произвеждат ценни продукти от нишесте.

8. Vasileva E., Petrov K., Beschkov V. (2009) “Biodegradation of monochloroacetic acid by immobilization of *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 in polyacrylamide gel”, *Biotechnology & Biotechnological equipment*, vol. 23, 788 – 790

“Биоразграждане на монохлороцетна киселина чрез имобилизация на *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 в полиакриламиден гел”

Евгения Василева, Калоян Петров, Венко Бешков

Беше изследвано разграждането на монохлороцетна киселина (МСА) от *Xanthobacter autotrophicus* GJ10. Проучени са следните процеси: кинетика на растежа, разграждане на МСА, продуциране на гликолова киселина и последващата ѝ конверсия в хлориди. Имобилизационните експерименти бяха проведени с микробни клетки, имобилизирани в полиакриламиден гел. Различни съотношения на мономера – акриламид (АА) и омрежващия агент N,N'-methylene-bis-acrylamide (МВАА) бяха използвани за имобилизацията, като съдържанието им беше променяно от 5 % до 15 % (w/v) и от 0.5 % до 1.5 % съответно.

Най-добри резултати бяха получени с полиакриламиден гел съдържащ: 10% (w/v) концентрация на мономера АА, 0.1 % (w/v) омрежващ агент МВАА, 0.67 ml 5%

разтвор на амониев персулфат $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ и 0.5 ml 2.5% разтвор на N,N,N',N'-tetramethylethylene diamine (TEMED) за 10 ml гел. Тази култура разгражда напълно МСА с 10 mM начална концентрация.

След серия от повтарящи се процеси, беше изследвана и кинетиката на изтощаване на гела.

Ключови думи: имобилизация, монохлороцетна киселина, полиакриламид

9. Petrov K., Petrova P. (2009) "Isolation and molecular identification of *Klebsiella pneumoniae* strains, producing diols from glycerol", *Biotechnology & Biotechnological equipment*, vol. 23, 814 – 817

„Изолиране и молекулярна идентификация на щамове *Klebsiella pneumoniae*, продуциращи диоли от глицерол”

Калоян Петров, Пенка Петрова

Сред обещаващите биотехнологии за производство на ценни химически съединения, едни от най-важните са тези за производството на диоли: 1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол – вещества с широко приложение в козметичната и хранителната промишленост, като антифризи, масла, добавки към горивото, а също и като реагенти в производството на полимери. Възможността тези диоли да бъдат синтезирани от отпаден глицерол е ценна поради две главни причини. Първо, отпадният глицерол се произвежда в огромни количества при получаването на биодизел от рестителни масла и е евтин и възобновяем субстрат. От друга страна, освобождаването на големи количества отпаден глицерол в природата би било свързано със сериозни екологични проблеми.

В настоящата работа описваме изолирането на три нови щамове, способни да превръщат глицерола в големи количества 1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол. Те са изследвани чрез класически микробни тестове и генетичния подход 16S рДНК секвениране. Физиологичните и биохимични характеристики на щамовете показваха, че те най-вероятно принадлежат към вида *Klebsiella pneumoniae*: те са факултативни анаероби, оксидазо-негативни и каталазо-позитивни, не растат на 10°C и не образуват сероводород и ферментират типичните за вида въглеводороди.

Секвенирането на 16S рДНК потвърди принадлежността на G9, G31 и G46 към вида *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. Сравнението с базата данни на NCBI показва, че секвенцията на G31 е 99% идентична на секвенцията на типовия щам *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* ATCC 13883^T. Щамовете G9 и G46 са с 99% идентичност с друг колекционен щам - MGH 78578, а също и с *K. pneumoniae* TUAC01, познат в литературата като щам, способен на успешна конверсия на глицерола. Беше направено филогенетично дърво, в което новооткритите щамове са отдалечени от други глицерол-консумиращи видове като *K. oxytoca* и *K. planticola*.

10. Petrov K., Petrova P. (2009) “High production of 2,3-butanediol from glycerol by *Klebsiella pneumoniae* G31”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84 (4) 659–665.

“Продуциране на 2,3-бутандиол от глицерол от *Klebsiella pneumoniae* G31”
Калоян Петров, Пенка Петрова

Микробната продукция на големи количества 2,3-бутандиол от глицерол като единствен въглероден източник от българския изолат *Klebsiella pneumoniae* G31 бе изследвана в серия от периодични процеси с подхранване. Следните условия бяха определени като оптимални: микро-аеробно култивиране в модифицирана среда, без рН контрол, при начално рН=8.0. При тези условия бе получен 49.2 г/л 2,3 бутандиол, а количествата на съпътстващите продукти бяха незначителни. рН по време на процеса се оказва най-важният фактор, управляващ ферментацията. Спонтанните промени в рН и влиянието им върху синтезата на различните продукти във времето бяха проучени, като бяха проведени периодични процеси с подхранване без рН контрол, при различно начно рН. При неконтролирано рН, клетките се опитват да осъществят рН контрол чрез алтернативна продукция на оцетна киселина или 2,3-бутандиол по оксидативния път на разграждане на глицерола. Така кривата, описваща рН на процеса описва флукутации, а културата секретира 2,3-бутандиол в неравномерни количества.

По-алкалното начално рН доведе до повишена продукция на 2,3-бутандиол, като отговор на увеличените амплитуди на рН вариациите. Процесите бяха сравнени с ферментация с контролирано рН, при което продуцирането на 2,3-бутандиол остава доста слабо, тъй като клетките загиват след 72 часа. Обратно, при неконтролирано рН културата се развива и произвежда 2,3-бутандиол 280 часа.

В заключение, формирането на 2,3-бутандиол е резултат от адаптивен механизъм на рН-самоконтрол, отговарящ на спонтанните спадове в рН по време на глицеролната ферментация.

11. Evgenia Vasileva, Venko Beschkov, Kaloyan Petrov (2009) “Review on monochloroacetic acid biodegradation capacity of immobilized cells *Xanthobacter autotrophicus* GJ10”, *Food science, engineering and technologies 2009*”, vol. 56 (1) 311-318.

Преглед на биодеградационната способност на имобилизирани клетки от щама *Xanthobacter autotrophicus* GJ10

Евгения Василева, Венко Бешков, Калоян Петров

Xanthobacter autotrophicus GJ10 е известен с възможността си да разгражда химически замърсители и да ги използва като въглеродни източници. С имобилизирани клетки на този щам направихме 6 последователни периодични процеса, при което се разградиха около 50 mM монохлороцетна киселина (МСА). Много по-добър резултат получихме с прилагането на периодичен процес с подхранване в лабораторен биореактор, при който 150 mM МСА се усвоиха за 330 часа. Беше направен кинетичен модел на процеса.

12. Vasileva E., Petrov K., Beschkov V. (2009) “Fed-batch strategy for biodegradation of monochloroacetic acid by *Xanthobacter autotrophicus* GJ10, immobilized in polyacrylamide gel”, *Comptes Rendus de l'Academie bulgare des Sciences*, vol. 62, № 10, 1241-1246

“Използване на полупериодичен процес с подхранване за биоразграждане на монохлороцетна киселина с имобилизирани в полиакриламиден гел клетки на щама *Xanthobacter autotrophicus* GJ10”

Евгения Василева, Калоян Петров, Венко Бешков

Биоразграждането на монохлороцетната киселина (МСА) е обект на много изследвания по две причини: тя оказва силен токсичен ефект във водните екосистеми и е междинен продукт от процеса на биоразграждане на основния химичен замърсител 1,2-дихлоретан (DCE). Щамът *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 е известен със способността си да разгражда DCE до дихлоретанол, МСА и гликолова киселина (GLA).

В настоящата публикация, чиста култура от *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 е имобилизирана в полиакриламиден гел и е проверена нейната способност да разгражда големи количества МСА като я използва за въглероден източник. С цел увеличаване на крайното количество на разградена МСА и преодоляване на субстратното инхибиране, е използван полупериодичен процес с подхранване. В биореактор с разбъркване, при микро аеробни условия, рН 7.0, 30°C и разбъркване 400 rpm, за 330 часа са получени 150 mM разградена МСА. Ние правим първото научно съобщение, отнасящо се за имобилизация на *Xanthobacter autotrophicus* GJ10, с цел разграждане на големи количества DCE и МСА. Количеството преработена МСА, докладвано тук е най-високото достигнато до момента.

Ключови думи: биоразграждане, монохлороцетна киселина, имобилизация, *Xanthobacter autotrophicus* GJ10

13. Beschkov V., Sapundzhiev Ts., Petrov K., Vasileva E. (2010) “Mathematical modeling for studying microbial processes – some examples” *Serdica Journal of Computing* vol. 4 (1), 19-28.

“Математично моделиране за изучаване на микробни процеси – някои примери”

Венко Бешков, Цветан Сапунджиев, Калоян Петров, Евгения Василева

Математичното моделиране може да има различни цели в химичните и биохимични инженерни науки. Едно от тях е да потвърди или да отхвърли кинетичния модел за даден процес, или да оцени значимостта на някои транспортни явления в областта на химичните и биохимичните реакции. В настоящата статия различни микробни процеси са потвърдени и моделирани за оценяване на кинетични константи за периодични и непрекъснати процеси, осъществени със свободни или имобилизирани клетки. Практическите образци са от областта на почистването на

отпадните води и биосинтезата на продукти, като ензими, млечна киселина, глюколова киселина и др.

В помощ на математичното моделиране, кинетиката и вида на инхибиране са специфични за микробната денитрификация на отпадните води и биоразграждането на халогенираните въглеродороди. Значимостта на свободните и имобилизирани клетки и техният отделен принос за цялостния микробен процес, е също оценено за някои ферментационни процеси: получаване на гликолова киселина, разграждане на дихлоретан, ферментация на млечна киселина и биоразграждане на монохлороцетна киселина.

Ключови думи: микробна кинетика, свободни и имобилизирани клетки, математично моделиране, отделяне на клетки, определяне на параметри

14. Petrova P., Emanuilova M., Petrov K. (2010) “Amylolytic *Lactobacillus* Strains from Bulgarian fermented beverage Boza”, *Zeitschrift für Naturforschung*, vol. 65c (3-4), 218-224.

**„Амилолитични щамове *Lactobacillus* от българската ферментирала
напитка боза”**

Пенка Петрова, Милена Емануилова, Калоян Петров

Млечнокиселата ферментация е световно разпространен метод за обработка на зърнените храни. С участието на амилолитични млечнокисели бактерии (аМКБ) се получат разнообразни храни и напитки. В настоящата работа бе изучено съдържанието на аМКБ в българската зърнена напитка боза. Два от изолираните щамове, Vom 816 и N3 показаха значителна амилолитична активност. Идентификацията им бе основана на генетични критерии – ARDRA метод и секвениране на 16S рибозомалните гени и показа, че щам Vom 816 принадлежи към вида *Lactobacillus plantarum*, а N3 е първият амилолитичен представител на вида *Lactobacillus pentosus*. Бе направена оптимизация на състава на хранителната среда при единствен въглероден източник нишесте. Хидролизата на нишестето бе най-успешна в среда, съдържаща 4 g/l дрождев и 8 g/l месен екстракт. *L. plantarum* Vom 816 успя да консумира 14 g/l нишесте, докато *L. pentosus* N3 – 17 g/l. Най-високите стойности на произведената млечна киселина бяха 9.5 g/l, синтезирани от Vom 816 и 5.5 g/l от N3. В присъствието на дрождев екстракт *L. pentosus* N3 образува 0.8 – 1 g/l секцинова киселина. Ензимите с амилазна активност, продуцирани от двата щам са главно клетъчно-свързани. Техният рН оптимум на действие е 5.5, а активността им варира в зависимост от условията – от 3 - 4 до 21 U/ml за *L. pentosus* N3 и от 0.5 до 11.5 U/ml за *L. plantarum* Vom 816.

Ключови думи: *Lactobacillus*, боза, амилазна активност.

15. Petrov K., Petrova P. (2010) “Enhanced production of 2,3-butanediol from glycerol by forced pH fluctuations”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 87 (3), 943–949.

„Повишена продукция на 2,3-бутандиол от глицерол чрез изкуствени рН флуктуации”

Калоян Петров, Пенка Петрова

При ферментацията на глицерол от *Klebsiella pneumoniae* се получават повече от пет течни продукта – органични киселини, диоли и етанол. С цел насочване на процеса към продуциране на 2,3-бутандиол, бяха изследвани главните фактори, влияещи на превръщането на глицерола (аерация и рН), като бяха проведени серия периодични процеси с подхранване. Режимът на интензивна аерация с подаване на 2.2 vvm въздух бе най-подходящ за синтезата на 2,3-бутандиол и осигури намаляване на количествата на всички останали метаболити. Така без рН контрол бяха продуцирани 52.5 g/l 2,3-бутандиол, като превръщането на глицерол в бутандиол достигна 60.6%. Допълнително повишаване на синтезата на 2,3-бутандиол чрез значително засилване на консумацията на глицерол, бе постигната чрез разработването на нов метод, наречен „метод на изкуствените рН флуктуации”. Той се състои в последователни повишения на рН с определена стойност на точни интервали от време, което позволява множество вариации на метода. Така бяха определени оптималните условия за най-висок добив на 2,3-бутандиол - 70 g/l, което е и най-голямото количество, получено от глицерол като единствен въглероден източник до момента. Методът на изкуствените рН флуктуации разкри ролята на рН като управляващ фактор в процесите на микробно превръщане.

Ключови думи: 2,3-бутандиол, глицерол, *Klebsiella pneumoniae*, рН флуктуации.

16. Vasileva E., Petrov K., Beschkov V. (2010) “Mathematical modelling of biodegradation of monochloroacetic acid by *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 immobilized in polyacrylamide gel”, *Bulgarian Chemical Communications*, vol. 42, 174 – 179.

„Математично моделиране на биоразграждане на монохлороцетна киселина от клетки на щама *Xanthobacter autotrophicus* GJ10, имобилизирани в полиакриламиден гел”

Евгения Василева, Калоян Петров, Венко Бешков

Биологичните методи за пречистване на отпадни води се осъществяват чрез използване на специфични бактериални щамове, които са в състояние да използват халогенираните алифати като въглероден източник.

В настоящата статия е представен кинетичен модел на процеса на биоразграждане на монохлороцетна киселина с междинен продукт гликолова киселина. Този модел позволява оценката на ефекта от микробния растеж и дифузионните

ограничения в гелните частици. Оценен е приносът на свободните и имобилизираните клетки в процеса на биоразграждане при многократно използване на гелните частици.

Резултатите от математичния модел бяха проверени експериментално с клетки на щама *Xanthobacter autotrophicus* GJ10, известен със способността си да разгражда токсичния 1,2-дихлоретан. Щамът е подходящ за обезвреждане на среди, замърсени с монохлорацетати.

Ключови думи: биоразграждане, монохлороцетна киселина, имобилизация, *Xanthobacter autotrophicus* GJ10, полиакриламид, математично моделиране.

17. Petrov K., Vasileva E., Petrova P., Beschkov V. (2010) “Bulk chemicals from glycerol – the Bulgarian contribution to bio-based diols production”, *Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods & Technology*, vol. 4 (1), 258-266.

„Промислени химикали от глицерол – българският принос към биологичното продуциране на диоли”

Калоян Петров, Евгения Василева, Пенка Петрова, Венко Бешков

Биосинтезите на ценни химикали от алтернативни на петрола източници с участието на микроорганизми са обединени в раздела на “белите биотехнологии”. Към продуцирането на органични съединения от отпаден глицерол има повишен интерес, тъй като милиони тонове от този потенциален субстрат се получават в процеса на производство на биодизел. Отпадният глицерол се разгражда от бактериите от род *Klebsiella* и от него се получават редица вещества, като най-важните са 1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол.

През последните години бе сложено началото на изследванията в тази област и в нашата страна. Нови щамове *Klebsiella*, супер-продуценти на диоли бяха изолирани и идентифицирани. Бяха изучени условията, при които има повишена синтеза и бяха определени оптималните параметри на ферментацията на глицерол. Бе направена детайлна оптимизация на състава на хранителните среди, както и влиянието на различните фактори върху количеството на всеки от диолите. Бе оценено потенциалното приложение на българските изолати и икономическото и екологично влияние на свързаните с тяхната употреба биотехнологии.

Благодарности: Авторите благодарят на Европейския Социален Фонд за финансовата подкрепа, договор BG051PO001-3.3.04/30.

Ключови думи: глицерол, 1,3-пропандиол, 2,3-бутандиол.

18. Petrova P., Petrov K. (2010) “Amylolytic lactic acid bacteria and their industrial application” *Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods & Technology*, vol. 4 (1), 349-358.

„Амилолитични млечнокисели бактерии и тяхното промишлено приложение”

Пенка Петрова, Калоян Петров

Способността да разграждат нишестето и да го превръщат в млечна киселина е желано и рядко срещано качество на млечнокиселите бактерии (МКБ). Поначало лишени от амилазни ензими, описаните до този момент амилолитични млечнокисели бактерии са съвсем малко, въпреки важните им промишлени приложения. На първо място, това са съвременните биотехнологии за продуциране на млечна киселина мономер на биодegradимите пластмаси и реагент в редица органични синтези. Биотехнологичното получаване на млечна киселина с участието на амилолитични МКБ, особено от отпадъчно нишесте от растителна биомаса (3.5 млрд тона годишно) е евтино и ефективно поради способността им да превръщат нишестето в млечна киселина в едностъпален процес на ферментация.

Друго приложение на амилолитичните МКБ е хранително-вкусовата промишленост. Тъй като част от тях образуват L (+) стереоизомера на млечната киселина, който се усвоява от човека, те са незаменими закваски при производството на зърнени храни и напитки. Поради пробиотичното действие на голяма част от разглежданите щамове, амилолитичните МКБ могат да бъдат използвани в разработването на функционални храни.

Благодарност: Авторите благодарят на Европейския Социален Фонд за финансовата подкрепа, договор BG051PO001-3.3.04/32.

Ключови думи: Амилолитични млечнокисели бактерии, нишесте, функционални храни.

19. Василева Е., Петров К., Бешков В. “Биоразграждане на монохлороцетна киселина от клетки на щама *Xanthobacter autotrophicus* GJ 10 чрез провеждане на полупериодичен процес с подхранване”, CD от Лятна школа - Бургас, 6-8 юли **2010**, по проект договор № BG051PO001-3.3.04/30/28.08.2009, 148-155.

“Биоразграждане на монохлороцетна киселина от клетки на щама *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 чрез провеждане на полупериодичен процес с подхранване”

Евгения Василева, Калоян Петров, Венко Бешков

Xanthobacter autotrophicus GJ10 разгражда и използва като въглеродни източници значителни химически замърсители. Изследвано е разграждането на монохлороцетната киселина (МСА) като са използвани периодични процеси с подхранване.

В настоящата статия е отразен ефекта от имобилизация на чиста култура от *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 в полиакриламиден гел. Имобилизираните клетки са сравнени с тези от свободната култура и са показани кинетиките на разграждане. С цел

увеличаване на крайното количество разградена МСА и преодоляване на субстратното инхибиране, са използвани периодични процеси с добавка на субстрат. В биореактор с разбъркване, при микро аеробни условия, рН 7.0 и температура 30°C, последователно се променяха дебита на подавания въздух и оборотите на бъркалката. От експерименталните резултати следва, че оборотите оказват влияние върху продължителността на процесите, а въздушния дебит - на концентрацията на разградената монохлороцетна киселина. Най-добро разграждане от 330 mM МСА беше постигнато при разбъркване 500 об/мин и аерация 1.00 л/мин.

Ключови думи: биоразграждане, монохлороцетна киселина, “fed batch” процес, имобилизация, *Xanthobacter autotrophicus* GJ10

20. Petrov K., Petrova P. (2010) “Impact of the forced pH fluctuations on fermentation of the glycerol”, CD от Лятна школа - Бургас, 6-8 юли **2010**, по проект договор № BG051PO001-3.3.04/30/28.08.2009, 134-138.

“Влияние на изкуствените рН флуктуации върху биоразграждането на глицерол”
Калоян Петров, Пенка Петрова

Настоящото изследване е посветено на разработването на нов метод за рН контрол по време на биоразграждането на глицерол, наречен метод на изкуствените рН флуктуации. Като моделна система е използвано глицеролното разграждане от щам *Klebsiella pneumoniae* G31. Постигнато е значително усилване на процеса на разграждане на глицерола, а общата консумация на субстрат е увеличена с повече от 50%. Новият метод е подходящ за получаване на ценни продукти като 1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол от глицерол.

Благодарност: Авторите благодарят на Европейския Социален Фонд за финансовата подкрепа, договор BG051PO001-3.3.04/30.

Ключови думи: глицерол, 2,3-бутандиол, рН флуктуации.