



Информация за изпълнение на етап на проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на научни изследвания - 2017
Основна научна област:
Технически науки
№ на договор:
ДН 17/25
Начална и крайна дата на проекта:
20.12.2017 г. – 20.06.2021 г.
Заглавие на проекта:
„Получаване, пречистване и имобилизация на липаза при твърдофазово култивиране на <i>Rhizopus arrhizus</i> като средство за разработване на еко и „зелени“ технологии“
Базова организация:
Университет по хранителни технологии
Партньорски организации:
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
Доц. д-р Георги Тодорова Добрев
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
60 000,00 лв.
Интернет страница на проекта (ако има такава):
Научни публикации по проекта:
1. <u>Dobrev G., Strinska H., Hambarliiska A., Zhekova B., Dobрева V., (2018)</u> Optimization of lipase production in solid-state fermentation by <i>Rhizopus arrhizus</i> in nutrient medium containing agroindustrial wastes, The Open Biotechnology Journal, volume 12, 189-203, (Scopus SJR 0.162)
2. <u>Hambarliiska A., Dobрева V., Strinska H., Zhekova B., Dobrev G., (2019)</u> Isolation and purification of lipase produced from <i>Rhizopus arrhizus</i> in solid state fermentation by fractional precipitation, Bulgarian Chemical Communication, volume 51, special issue D, 184-188, (Web of Science IF 0.242, Scopus SJR 0.137), Accepted for publication
3. <u>Dobрева V., Zhekova B., Dobrev G., (2019)</u> Use of aqueous two-phase and three-phase partitioning systems for purification of lipase obtained in solid-state fermentation by <i>Rhizopus arrhizus</i> , The Open Biotechnology Journal, volume 13, 27-36, (Scopus, SJR 0.162)



Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):

Финансираният договор на тема "Получаване, пречистване и имобилизация на липаза при твърдофазово култивиране на *Rhizopus arrhizus* като средство за разработване на еко и „зелени“ технологии" включва научноизследователски дейности насочени към:

Проучване на процеса на получаване на липаза при твърдофазово култивиране на *Rhizopus arrhizus*, разработване на схеми за изолиране и пречистване на продуцираната липаза с цел биохимично охарактеризиране на ензима и получаване на имобилизирани ензимни препарати на липаза.

Реализирането на научноизследователската дейност в настоящето проектно предложение е обособена в 4 работни пакета, както следва:

Работен пакет 1: Оптимизиране на хранителната среда и условията за твърдофазово култивиране на *Rhizopus arrhizus* с цел получаване на липаза;

Работен пакет 2: Изолиране и пречистване на получената липаза;

Работен пакет 3: Биохимична, кинетична и термодинамична характеристика на изолираната липаза;

Работен пакет 4: Получаване и характеристика на имобилизирани ензимни препарати на липаза и изследване на естерификационната и преестерификационната им каталитична активност в нетипична реакционна среда;

Очакваните научни резултати са:

- Разработване на технологична схема и определяне на оптималните условия за получаване на липаза при твърдофазово култивиране на изследвания микробен продуцент;
- Разработване на схеми и методи за изолиране и пречистване на синтезираната липаза;
- Биохимична, кинетична и термодинамична характеристика на изолираната липаза;
- Разработване на методи и носители за имобилизация на изследваната липаза;
- Характеристика на получените имобилизирани ензимни препарати на липаза и провеждане на хетерогенна катализа в органични разтворители;

Реализирането на проектното предложение ще даде възможност да се формира интердисциплинарен екип от научни работници, които да повишат своите знания и умения в приоритетно направление за развитие на научните изследвания в България, да се създадат условия за разпространение на получените резултати в индексирани научни списания и да се повиши качеството на обучението по ензимология на студентите получаващи образование в областта на хранителните технологии и биотехнологии.

Разпространението на резултатите на проекта включва:

- Подготовка и отпечатване на **4 научни публикации (2 през I-етап и 2 през II-етап)** в международни индексирани списания с импакт фактор или импакт ранг;
- Финансиране на част от изследователската работа по дисертацията на редовния докторант Анелия Петрова Хамбарлийска;



Членове на научния колектив

Организации/участници¹	Бележка²
Базова организация:	
Университет по хранителни технологии	
Ръководител на научния колектив	
Доц. д-р Георги Тодоров Добрев, УХТ-Пловдив	
Участници:	
1. Проф. д-р Вяра Николаева Иванова-Пашкулова, УХТ-Пловдив	1.
2. Доц. д-р Боряня Йорданова Жекова, УХТ-Пловдив	2.
3. Доц. д-р Ваня Десиминова Гандова, УХТ-Пловдив	3.
4. Гл.ас. д-р Валентина Цветанова Добрева, УХТ-Пловдив	4. МУ, ПД
5. Гл.ас. д-р Мина Михайлова Тодорова, УХТ-Пловдив	5. ПД
6. Гл.ас. д-р Христина Николова Стринска, УХТ-Пловдив	6. МУ, ПД
7. Докторант Христина Никола Панайотова, УХТ-Пловдив	7. МУ, ДО
8. Докторант Анелия Петрова Хамбарлийска, УХТ-Пловдив	8. МУ, ДО
9. Проф. д-р Илия Николов Илиев, ПУ „Паисий Хилендарски“	9.
10. Доц. д-р Тонка Атанасова Василева, ПУ „Паисий Хилендарски“	10.
11. Доц. д-р Димитър Николаев Петров, ПУ „Паисий Хилендарски“	11. ПД
12. Гл.ас. д-р Веселин Петров Биволарски, ПУ „Паисий Хилендарски“	12. МУ, ПД
13. Гл.ас. д-р Гинка Тодорова Делчева, Медицински университет - Пловдив	13.
Партньорска организация:	
Участници:	
Партньорска организация:	
Участници:	

¹ Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

² Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), или учен от чужбина (УЧ).



Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)

Научноизследователската дейност през първия отчетен период (18 месеца) включва изпълнение на научните задачи предвидени в работни пакети (РП1 и РП2). В резултат на изпълнение на предвидената в работната програма на договора научноизследователска работа бяха постигнати следните значими обобщени резултати:

1. Определени са оптималните условия за получаване на липаза при твърдофазовото култивиране на изследвания микробен продуцент *Rhizopus arrhizus*. Максимална липазна активност се постига при твърдофазово култивиране на продуцента върху пшенични трици като твърд субстрат, съдържание на влага в твърдата среда 66% и концентрация на триптон 5 %. В резултат на разработената процедура за извличане на ензима от твърдата ферментирала среда с 1.0 % воден разтвор на Disponyl NP 3070 се постигна трикратно увеличение на липазната активност в сравнение с контролата. Получената липазна активност 1021.80 U/g е съпоставима с най-високите стойности на липазна активност при твърдофазово култивиране на плесенни продуценти намерени в литературата. Изследваният *Rhizopus arrhizus* и разработената схема за твърдофазово култивиране и извличане на ензима има потенциал за промишлено получаване на липаза. Използването на евтини и достъпни суровини, ниските енергийни разходи и биосинтетичните способности на изследвания щам са предпоставка за добра икономическа ефективност.

2. Разработена е двуфазна водна система (ATPS) за изолиране и пречистване на получената липаза. При ATPS 30% PEG 4000 / 21 % K-Na тартарат, добивът на липазна активност е 217.71 %, а степента на пречистване е 6.1 пъти. Високата липазна активност в горната фаза на използваната ATPS може да се обясни с т.нар феномен „междуфазово повърхностно активиране“ на липазата.

3. Най-добрите условия за изолиране на липазата чрез трифазна система са 1.0:0.5 ензимен извлек/t-бутанол, 30 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и рН 7. При тези условия се постигна добив на липазна активност 71.0 ± 6.8 % и степен на пречистване 19.1 ± 1.75 пъти.

4. Най-висока степен на пречистване на липазата 3.8 пъти се постига при фракционно утаяване на ензима с 65% i-пропанол, като добивът на ензимна активност е около 100 %.

5. Проведена е йонообменна хроматография с цел изолиране на липазата. Чрез SDS-PAGE и зимограма се установи наличието на две множествени форми на липазата с молекулна маса около 28 000 Da и 55 000 Da.

Резултатите от изпълнение на **I-етап** на договора са публикувани в **3** научни статии в списания с импакт фактор и/или импакт ранг.

Предвидената научна програма за първия етап на договора е изпълнена напълно. Постигнати са очакваните резултати, което е предпоставка за успешно реализиране на втория етап от договора, в който научноизследователската дейност е насочена към биохимична характеристика на получената липаза, получаване на имобилизирани ензими на липаза и изследване на тяхната трансестерификационна активност в нетипична реакционна среда, което ще даде възможност за тяхното използване като средство за разработване на нови еко и „зелени“ технологии .