



ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ

**ФАКУЛТЕТ ПО ОРГАНИЧНИ ТЕХНОЛОГИИ И ИНЖЕНЕРНА
ХИМИЯ**

КАТЕДРА „ТЕКСТИЛНА ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ”

инж. Данчо Любенов Йорданов

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация

Приложение на протеолитични ензими за обработка на вълнени материали в ултразвуково поле

за придобиване на образователната и научна степен „доктор”

по научна специалност

„Химична технология на влакнестите материали”

Научни ръководители: 1. проф. д-р Росица Бечева

2. проф. д-р Любов Йотова

Научно жури: 1. доц. д-р Виолета Василева

2. проф. д-р Росица Бечева

3. проф. д.т.н Божидар Чорбанов

4. доц. д-р Иванка Стойнева

5. доц. д-р Иван Гошев

София, 2012

Дисертационният труд е написан на 140 страници и съдържа 42 фигури, 9 таблици и 14 уравнения. Цитирани са 214 източника.

Представеният дисертационен труд е обсъден и приет на защита на заседание на разширен научен съвет на научното звено на катедра „Текстил и кожи”, състояло се на 29.05.2012г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 5.11.2012 г. от 14 часа в зала 424, сграда „А” на ХТМУ.

Материалите са на разположение на интересувашите се на интернет страницата на ХТМУ и в отдел „Научни дейности”, стая 406, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

Въведение

Вълната е естествен материал, който притежава комбинация от свойства (отлична топлоизолационна способност, еластичност, мекота, въздухопроводимост, разнообразни възможности за багрене), които ѝ дават много предимства в сравнение с останалите природни и синтетични текстилни влакна. Тя притежава и уникалното, макар и в много случаи нежелано свойство да се затепва. Проявата на това нейно свойство се изразява в намаляване на размерите на изготвените от вълна изделия, влошаване на техния външен вид, изменение в тяхната маса, опип и структура. Способността на вълнените влакна да се затепват е свързана с тяхната специфична структура. Ето защо, от гледна точка качеството на по-голямата част от текстилните материали от вълна, от особено значение е проблемът за ефективната обработка на влакната, целяща отстраняването на техния рогов (придаващ затепването) слой при запазване на останалите техни ценни свойства.

Chlorine-Hercosett е най-разпространеният метод за придаване незатепваемост на вълнените материали. На тази обработка се подлагат около 75 % от произведените вълнени текстилни материали, които са устойчиви на затепване. При това обаче, една значителна част от химическите средства, като: натриев хипохлорит, водороден пероксид, хлорити, бромати, а също така свободни халогени, прилагани при този вид обработка се характеризират със сравнително вредно влияние върху околната среда и са обект на все по-строги специализирани нормативи за превантивни мерки и контрол.

Развитието на биотехнологиите доведе до бързото развитие на генното инженерство и разработване на специфични ензимни препарати, които успешно замениха част от традиционните химични методи за обработка на текстилните материали. Прилагането на специално избрани протеази със специфична активност към кератина е изследователски и технологичен проблем поради невъзможността за ограничаване на хидролизния процес само върху повърхността на вълнените влакна, а от там и ограничаване на деструкцията и запазването на физикомеханичните им свойства. Регулирането на масообменните процеси и кинетиката на протеолитичния процес са обект на задълбочени изследвания, свързани главно с подбор на ензими и контролирано изменение на големината на молекулите им. Сравнително ограничени са данните в литературата относно възможността за регулиране на протеолитичния масообмен върху повърхността на вълнените влакна чрез високоенергийни полета, каквото е ултразвуковото, което се прилага широко за отстраняване на замърсявания от текстилни повърхности (ултразвуково пране).

ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИОННАТА РАБОТА

Настоящият дисертационен труд има за цел да изследва възможностите за приложение на протеолитични ензими за обработка на вълнени материали в ултразвуково поле.

За изпълнението на така поставената цел бе планирано изпълнението на следните задачи:

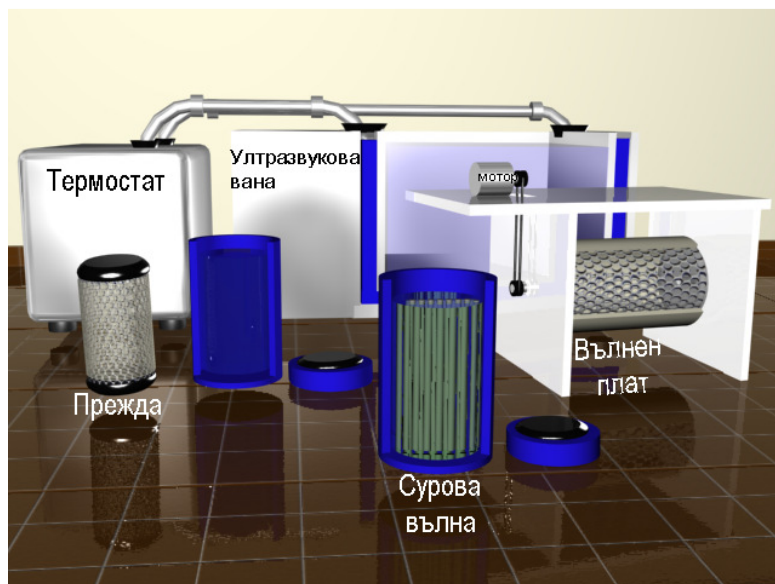
1. Да се конструира оригинална експериментална установка за третиране на вълнени текстилни материали в условията на ултразвукова обработка.
2. Да се установят оптималните условия на действие на протеолитични ензими в присъствието на ултразвуково поле.
3. Да се определи влиянието на комбинираната обработка (ултразвуково поле и протеинази) върху качествените показатели на вълнени материали – плат, прежда и сурови влакна.
4. Да се конструира оригинален биоконтактор, позволяващ ефективна обработка на отпадъчни води, получени при преработването на вълнени материали.
5. Да се изследва възможността за използване на пречистените отпадни води отново в технологичния процес.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

1. КОНСТРУИРАНЕ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА УСТАНОВКА ЗА ТРЕТИРАНЕ НА ВЪЛНЕНИ ТЕКСТИЛНИ МАТЕРИАЛИ С УЛТРАЗВУК.

Оптималното използване на ултразвуковото поле в технологичните процеси би следвало да повиши добива на ценни продукти, както и да намали времето за обработка на използваните природни суровини – или казано по друг начин – интензифициране на процеса. Съществуващите до този момент методи, използващи ултразвуково поле създават трудности, свързани с контролирането на реакционните условия на експеримента и възпроизводимостта на резултатите. Ето защо изработването на специфично лабораторно оборудване за нуждите на конкретния експеримент позволи да се използват и контролират в максимална степен създадените от ултразвуковите вълни кавитационни, турбулентни и др. сонохимични ефекти в желана от нас посока.

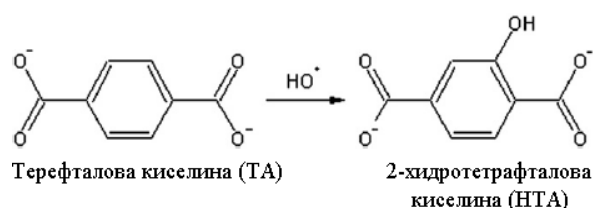
На фигура 1 е представена принципната схема на конструираната от нас оригинална лабораторна установка за пране и облагородяване на вълнени материали (сурови влакна, прежда и плат) в условията на ултразвуково поле. Тялото на лабораторния реактор е изработено от плексиглас, лагери и електромотор. Към тази установка се захващат специално изработени барабанни реактори 1,2,3, подробно описани в методичната част на дисертационния труд.



Фиг. 1. Лабораторна установка за пране и облагородяване на вълнени материали.

1.1 Определяне работната честота на пиезоелектричен източник на УЗ поле

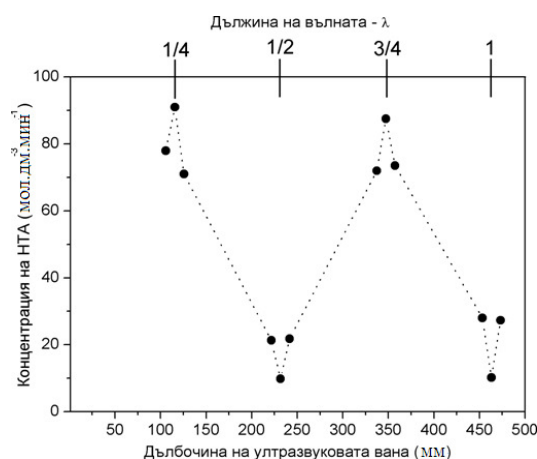
Максималната честота на излъчване на пиезоелектричния източник е определена спектрофотометрично. За целта бе определена концентрацията на 2-хидротетрафталова киселина, получена в резултат на окислението на тетрафталовата киселина от хидроксилни радикали, получени при сонолиза на водните молекули в зоната на кавитация:



Резултатите от проведените изследвания са показани на (фиг. 2). Експериментално определената дължина на ултразвуковата вълна, генерирана от използвания от нас пиезоелектричен източник, е равна на 4.6 см, а реалната ѝ честота - 32 kHz. Определянето на реалната честота на излъчване извършихме с помощта на следното уравнение:

$$\lambda = \frac{c}{f},$$

в която c е означена скоростта на УЗ във вода (1.482 м/сек при $T = 20^\circ\text{C}$), f – честотата на излъчване, а с λ – дължината на вълната.

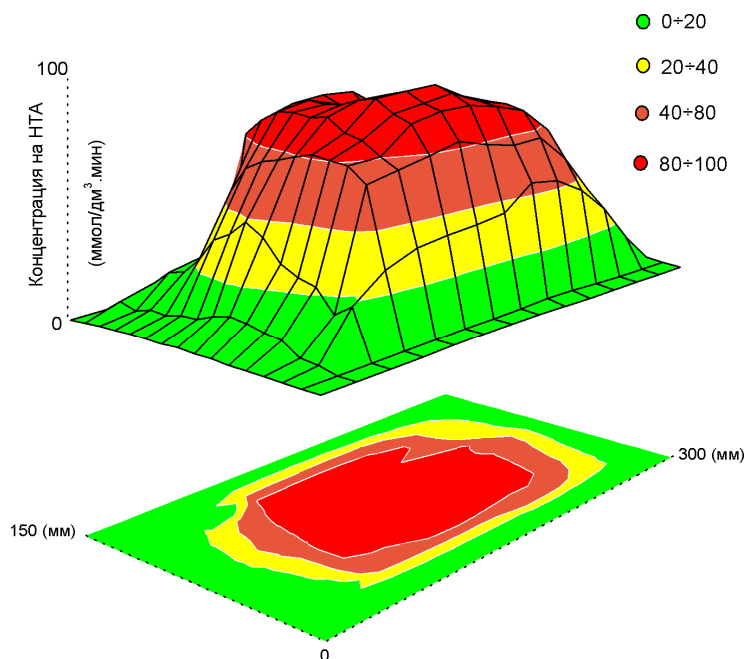


Фиг. 2. Образуване на 2-хидротетрафталова киселина в дълбочина на УЗ вана.

1.2. Определяне позицията на ензимен реактор в ултразвукова вана

Определянето на позицията на ензимния реактор в ултразвуковата вана е от особено значение, за да се достигне максимална ефективност на приложеното ултразвуково поле върху активността на използваните протеолитични ензими и текстилни спомагателни средства (проявяващи протеолитична активност). За целта е определено натрупването на 2-хидротетрафталова киселина при $\frac{3}{4} \lambda$ в продължение на 10 минути. Получените резултати са представени графично на фигура 3.

От представената тримерна графика (фиг. 3) се вижда, че натрупването на 2-хидротетрафталова киселина, протича по-интензивно в центъра на УЗ вана. Причината, най-вероятно се състои в конструктивното оформление на УЗ съд. Пиезокерамичният излъчвател е поставен под и в центъра на работния метален корпус, така че да генерира ултразвукови вълни, които покриват максимален работен обем в металния корпус. Базирайки се на получените резултати и определената по-горе “реална” честота на излъчвателя (32 kHz), ние определихме най-подходящата позиция на конструирания ензимен реактор в ултразвукова вана, а именно: да бъде поставен на равни отстояния от краищата на ултразвукова вана – на дължина 30 см, ширина 25 см и височина 3.5 см. Определената позиция отговаря на $\frac{3}{4} \lambda$. Така определената позиция на ензимния реактор в ултразвукова вана следва да осигури максимално оползотворяване на сонохимичната енергия и ефектите, получени от разпадането на кавитационни мехурчета - смесване, микропотоци и увеличаване на масообмените процеси в реакционната среда и т.н.

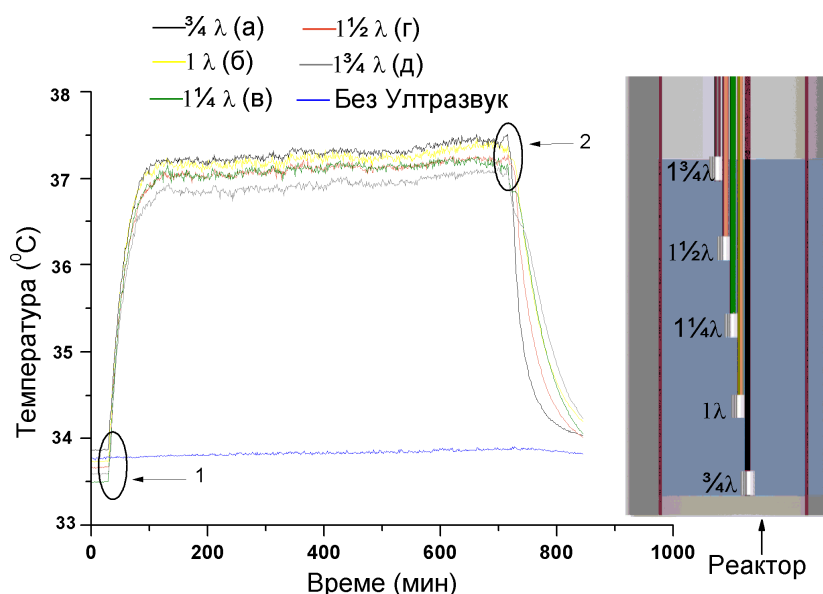


Фиг. 3. Образуване на 2-хидротетрафталова киселина като функция от позицията на реакционния съд в УЗ вана.

1.3 Изменение на реакционната температура от ултразвуково поле в конструируания реактор

Измененията в реакционната температура в конструируания реактор под действието на ултразвуково поле бе експериментално проследено. За целта бе приложен оригинален подход, а именно: използването на тестов реактор, в който бяха поставени едновременно пет термодвойки на различни дълбочини, съответстващи на $\frac{1}{4} \lambda$, $\frac{1}{2} \lambda$, $\frac{3}{4} \lambda$ и 1λ . Посредством тези термодвойки *on-line* бе регистрирано изменението на температурата в реакционния обем под действието на ултразвуковото поле (Фиг. 4).

Проведените експерименти показаха, че температурата в реакционната среда под действието на ултразвуково поле варира в граници от $36.8 - 37.2$ °C (фиг. 4; наблюдават се участъците от криви а - д между точки 1 и 2, които означават съответните позиции на включване и изключване на ултразвуково поле). Следователно можем да направим заключение, че очакваната евентуална грешка при отчитането на ензимната активност ще бъде по-малка от 2 %. Разликата между посочената и теоретично очаквана грешка е приблизително 2 - 3 %, разбира се по посока към по-малки стойности. Това е така, защото при провеждането на експеримента в условието на ултразвуково поле имаме изменение в температурата на реакционната среда с 0.4 градуса само в граничните обеми на реакционния съд, а при теоретичния модел – измененията в реакционната температура са в целия работен обем.



Фиг. 4. Температурни изменения в реакционния обем под действието на ултразвуково поле.

2. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ОПТИМАЛНИТЕ УСЛОВИЯ ЗА ПРИЛОЖЕНИЕ НА ПРОТЕОЛИТИЧНИ ЕНЗИМИ В УЛТРАЗВУКОВО ПОЛЕ

Целта на изследването е да се установят оптималните условия за приложение на избраните от нас протеолитични ензими в присъствие на ултразвуково поле при различни облагородителни процеси (пране на сурови вълнени влакна и при заключителното им облагородяване) на вълнени материали. За реализиране на поставената цел беше необходимо да се изследват и определят:

- възможността за „нежелана“ хидролиза на използвани белтъчни макромолекули – казеин, говежди серумен албумин и кератин в условията на ултразвукова обработка;
- влиянието на ултразвуковото поле върху активността на ензимната реакция;
- влиянието на ултразвуковото поле върху ензимното действие и
- дефиниране на оптималните реакционни условия (температура и рН) за достигане на максимална ензимна активност

2.1. Определяне на възможността за „нежелана“ хидролиза на казеин, говежди серумен албумин и кератин в условията на ултразвукова обработка

В научната литература отсъстват данни относно хидролизата (деструкцията) на белтъчни молекули в присъствието на ултразвуково поле. Логично е да се предположи, че образувалите се в резултат на ултразвуковото поле силно реактивоспособни радикалови форми са способни да деструктират в известна степен различни белтъчни макромолекули. За да се провери тази хипотеза, са проведени серия от експерименти с водоразтворими и водонеразтворими белтъчни макромолекули. Резултатите са представени в таблица 1.

Таблица 1. Данни за степента на хидролиза на използвани белтъци при различни концентрации.

Белтък	Концентрация, мг/мл	Абсорбция*,
Казеин	10	0,00
	20	0,00
	30	-0,01
	40	0,00
	50	0,01
Говежди серумен албумин	10	0,01
	20	0,00
	30	0,01

Белтък	Концентрация, мг/мл	Абсорбция*,
	40	0,01
	50	0,00
Кератин	0,01 г	0,00

* Определен е интензитетът на ивица на поглъщане с максимум при 420 нм. Използваната ивица е характерна за реакционния продукт между крайни аминокиселини и *TNBS*.

От представените резултати, ясно се вижда, че приложеното ултразвуково поле не хидролизира изследваните белтъчни молекули до по-нискомолекулни фрагменти и/или аминокиселини. Следователно, може да се каже, че използваното от нас УЗ поле ще ни позволи да получим **коректни стойности за изследваните величини – активност, рН оптимум, температурен оптимум, ензимно действие на протеолитичните ензими и степента на хидролиза на използвани субстрати.**

2.2. Влияние на ултразвуковото поле върху активността на протеолитични ензими

Влиянието на ултразвуковите вълни върху каталитичната активност на протеолитични ензими не е все още напълно изяснено. Разпространението на ултразвукови вълни води до образуването на малки мехурчета, които след време се разрушават с отделяне на известно количество топлина. Логично е да се предположи, че предизвиканото изменение (нарастване) на температурата на средата от ултразвуково поле, следва да промени (увеличи) активността на различни ензими; известно е, че ензимната активност нараства приблизително с 10 % за всеки градус. Ето защо за да се определи действителната активност на даден ензим в присъствието на ултразвуково поле е необходимо да се поддържа постоянна температура по време на неговото действие. В предходната част, касаеща конструирането на експерименталния реактор бяха показани условията, при които температурата на обработващата среда се запазва постоянна. В тази част на изследването бяха поставени следните задачи:

- да се изследва действието на високочестотни ултразвукови вълни (32 kHz) върху активността на различни видове протеази и
- да се проследят измененията в активността на използваните ензими при различни реакционни условия - изменение на концентрацията на водородни катиони, реакционна температура и време.

Тук бяха проведени серия експерименти с водоразтворим субстрат – казеин. Получените експериментални данни са представени в таблица 2. От тях ясно се вижда, че в присъствието на УЗ поле активността на използваните ензими нараства

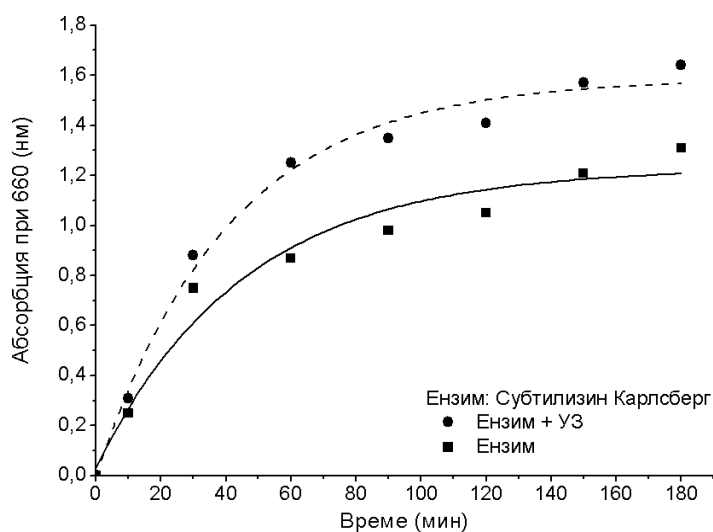
в границите от 8 до 14 %. Посочените разлики са значително по-големи от определената очаквана експериментална грешка от 2 %. Разликите са статистически, проявени в рамките на три експериментални повторения. Най-вероятно повишаването на ензимната активност се дължи на предизвикания от ултразвуковото поле кавитационен ефект, който следва да повиши скоростта на масопренасяне в реакционната система, т.е да увеличи възможността на ензимните макромолекули да срещнат молекулите на субстрата.

Таблица. 2. Ензимна активност на протеинази и ТСС.

Ензим	Ензимна активност* (U/мг)		
	Без приложено УЗ поле	В условия на УЗ поле	Увеличение ензимната активност, %
Субтилизин Карласберг	542	611	12.7 ± 0.5 %
Еспераза	310	348	12.5 ± 0.2 %
Трисин	466	514	10.3 ± 0.4 %
Алкалаза	275	304	10.5 ± 0.6 %
Еспераза имобилизирана	105	116	10.4 ± 0,4 %
<i>Bioprot Multi</i>	727	804	10.5 ± 0.3%
<i>Bioprot Gental</i>	712	769	8.0 ± 0.7%
<i>Neoproteasa-L</i>	668	731	9.4 ± 0.5 %

* Активност, определена при реакционни условия: температура 37 °C, pH 7.8 и време 10 минути.

Устойчивостта на наблюдавания ефект във времето бе изследван посредством допълнителни експерименти за определяне на ензимното действие на отделните протеази за период от 10 до 180 минути. За целта, от селектираните осем протеолитични ензима бяха приготвени разтвори с различни концентрации, на които беше определено ензимното действие. Използваните концентрационни интервали за съответните ензими и ТСС бяха избрани като подходящи за спектрофотометрични измервания. Като пример са дадени експерименталните резултати за протеолитичния ензим субтилизин Карлсберг, който показва значително по-висока активност и селективност в изследваните реакции. На фигура 5 са представени получените експериментални резултати.

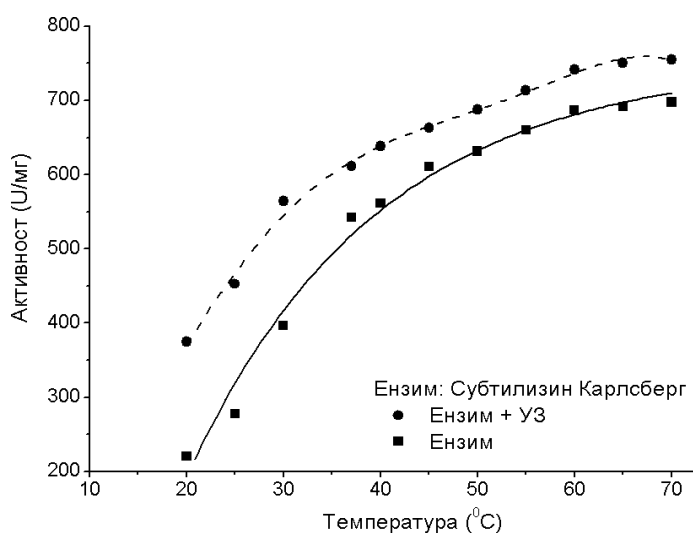


Фиг. 5. Ензимно действие на субтилизин Карлсберг спрямо казеин в присъствие и отсъствие на ултразвуково поле.

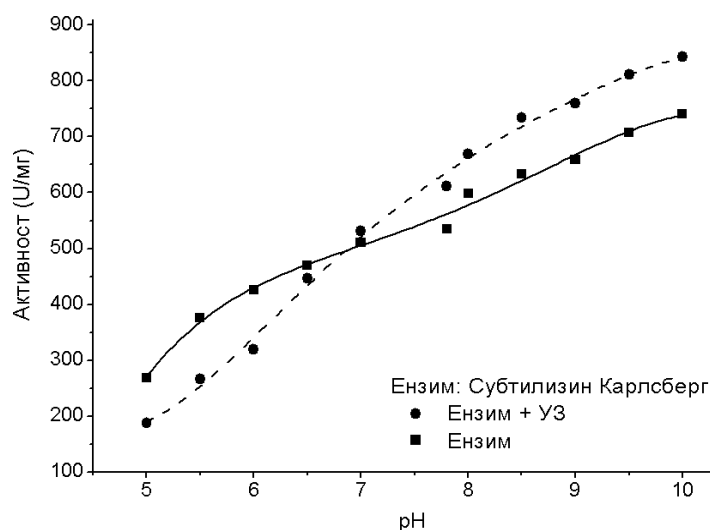
2.3. Определяне на оптималните реакционни условия (температура и рН) за достигане на максимална ензимна активност

Влияние върху ензимната активност оказват и други фактори като рН и температура. Определянето им е от важно значение, тъй като те определят ензимното действие.

На фигури 6 и 7 са представени данните от изследвания върху температурния и рН профил на ензимното действие на субтилизин Карлсберг спрямо казеин.



Фиг. 6. Определяне на ензимна активност при различни температури.



Фиг. 7. Определяне на ензимна активност при различно pH.

От представените графични зависимости се вижда, че използваният ензим субтилизин Карлсберг, проявява значителна протеолитична активност към използвания субстрат в изследваната температурна област. Прави впечатление, че ензимната активност към изследвания субстрат е значително по-висока в присъствието на ултразвуково поле, а наблюдаваната разлика в активността в отсъствието на това поле се запазва в целия температурен интервал.

При промяна на pH от 4 до 10 ензимната активност на субтилизин Карлсберг е по-голяма в отсъствието на ултразвуково поле, отколкото в негово присъствие. Посочените разлики се запазват до достигане на pH 7, след това обаче, ензимната активност в присъствието на ултразвуково поле се увеличава значително (виж фиг.7). Причината за наблюдаваните отклонения в ензимното действие най-вероятно се дължат на 'лабилната' белтъчна структура на тези макромолекули. По литературни данни е известно, че ензимът субтилизин Карлсберг проявява своя оптимум на действие в pH интервал от 9 до 10. pH на средата ще влияе по-интензивно в условията на ултразвуково поле върху йонизацията на аминикиселините, изграждащи ензимната молекула и по този начин ще контролира нейната активност. Логично е да се предположи, че при по-ниски стойности на pH активността на субтилизин Карлсберг ще бъде потисната, а при увеличението на масообмена в средата (ефект предизвикан от УЗ поле) настъпилият градиент в разпределението на H^+ йони ще се наруши и ще предизвика евентуално инактивиране на използвания ензим. При увеличението на pH над 7 обаче, наблюдаваме увеличение на активността на субтилизин Карлсберг и достигане на по-високи стойности на неговото действие в условията на ултразвуково поле спрямо тези в отсъствието на такова. Наблюдаваното изменение в активността на използвания ензим в присъствието на ултразвуково поле може отново да припишем на масообменни процеси, които следва да увеличат концентрацията на аниони до активния център на ензима и увеличат неговото действие.

От получените резултати можем да обобщим следното:

- ✓ Експериментално получените резултати за стабилността и активността на използваните ензими и текстилни спомагателни средства дават възможност за определяне на оптималната реакционна температура и рН на средата за тяхното действие.
- ✓ Изследваните ензими, приложени в ултразвуково поле повишават активността си спрямо изследвания протеинов субстрат.
- ✓ Оптималните за действието на изследваните ензими рН и температурен интервали са подходящи за провеждането на обработка на кератин, респективно на вълнени материали.

2.4. Определяне на оптимална концентрация на ензим за обработка на вълна

Във връзка с възможността за практическо приложение на предложената лабораторна установка за обработка на вълнени влакна, бе определена и целта на настоящето изследване, именно установяване на оптималните концентрации на използваните протеолитични ензими – еспераза, субтилизин Карлсберг, алкалаза, трипсин, и имобилизирана еспераза и текстилни спомагателни средства - Bioprot Multi, Bioprot Gental и Neoprotease-L използвани при обработката на вълнени материали в ултразвуково поле. За постигане на поставената цел беше необходимо да се проследи промяната в степента на адсорбция на тези ензими и ТСС върху водонеразтворимия субстрат (вълнени влакна), при еднакви реакционни условия (температура, рН и субстратна концентрация), като в хода на експериментите концентрацията им бе варирана при спазване на точно определено време на обработка.

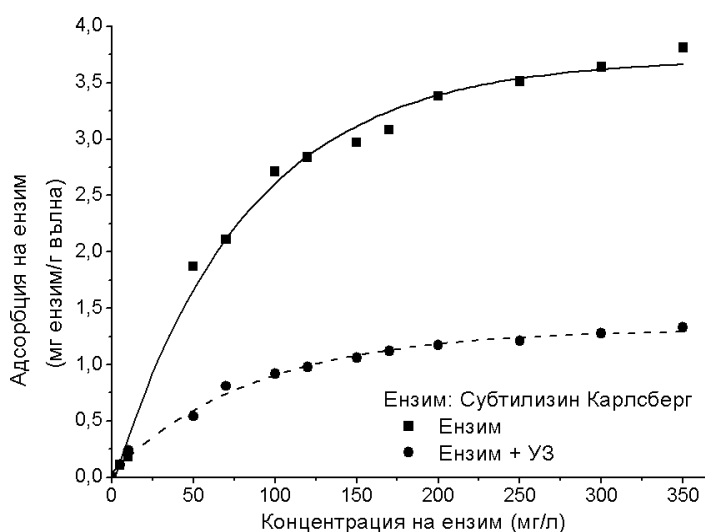
Определянето на оптималното количество ензим, което трябва да се използва за даден технологичен процес, е особено важна задача, която определя себестойността на крайния продукт. Ето защо бяха проведени серия от предварителни експерименти върху вълна при различни ензимни концентрации и при равни други условия, а именно - температура 37 °С, рН 7.8, модул на банята 1:100 и време на обработка 180 мин. Проведените експерименти показаха, че с увеличение на ензимната концентрация нараства и количеството адсорбиран ензим върху вълнените влакна (фигура 8). В отсъствието на ултразвуково поле наблюдаваната зависимост е линейна или полулинейна. Отклонение от тази зависимост беше наблюдавано единствено при ензимите субтилизин Карлсберг и еспераза, които най-вероятно проявяват максимална кератиназна активност и освобождават нова абсорбционна площ за останали „свободни“ (неадсорбирани) ензимни молекули.

В присъствието на ултразвуково поле, обаче е налице значително понижаване на количеството на адсорбираните ензимни макромолекули от вълнените влакна. Зависимостите са нелинейни и наподобяват класическите абсорбционни изотерми на Лангмюир. Последните описват процеси, които изменят редица параметри на абсорбционната система - вида на абсорбционните центрове, запълването на свободни обеми и др. Предполагаме, че използваното енергетично поле способства

както за повишаване на масообмена в системата, но също така и за създаването на нови реакционни площи, обеми и др. по повърхността на вълнените влакна.

Въз основа на всички получени до тук експериментални резултати определихме, че оптималните работни условия на използваните протеолитични ензими в среда от ултразвуково поле са:

- ✓ оптималното рН за обработка е 7.8;
- ✓ оптималната температура за обработка на вълнени материали е 37 °С;
- ✓ времето за обработка – 180 минути и
- ✓ оптималната концентрация на ензим е 0.4 г/л - при пране на сива вълна, а при заключително облагородяване на вълнен плат и прежда - 0.1 г/л.



Фиг. 8. Изменение на ензимна адсорбция върху вълнени влакна.

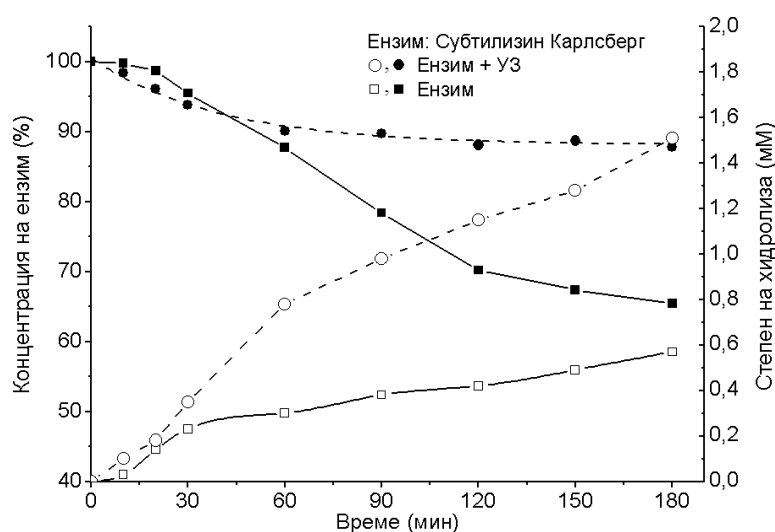
3. ВЛИЯНИЕ НА КОМБИНИРАНАТА ОБРАБОТКА (УЛТРАЗВУКОВО ПОЛЕ И ПРОТЕИНАЗИ) ВЪРХУ СВОЙСТВАТА НА ВЪЛНЕНИ МАТЕРИАЛИ

Целта на настоящото изследване е да се установи и сравни ефектът от комбинираната (УЗ/ензим) обработка и само ензимна такава върху вълнени материали – плат, прежда и сурови влакна.

3.1. Определяне степента на хидролиза на вълнен плат и концентрация на 'свободен' (неадсорбиран) ензим в реакционната среда в присъствието и отсъствието на УЗ поле

Степента на хидролиза е един от най-важните параметри на хидролизната реакция. Определянето ѝ е важна задача както от експериментална така и от технологична

гледна точка. Както вече стана ясно, ензимната обработка на вълната е свързана със значителна деструкция както на кутикулата, така и на кортекса ѝ. Всички тези промени са съпроводени и със значителни загуби в масата и здравината на вълнените влакна. Ето защо бяха проведени серия от експерименти, за определяне степента на хидролиза на вълнените влакна в плат като функция на времето при реакционни условия - температура 37°C , pH 7.8, ензимна концентрация 0.1 г/л и модул на банята 1:200. Получените експериментални данни за степента на хидролиза под действието на субтилизин Карлсберг в условията на ултразвуково поле и концентрация на неадсорбиран ензим в реакционната среда са представени на фигура 9. В представената фигура са поместени и данни за степента на хидролиза и концентрация на неадсорбиран ензим върху вълнен плат в отсъствието на ултразвуково поле (използвани като контрол при сравнение).



Фиг. 9. Изменение на степента на хидролиза - (○, □) и концентрацията на "свободен" ензим - (●, ■), в хода на обработка на вълнен плат

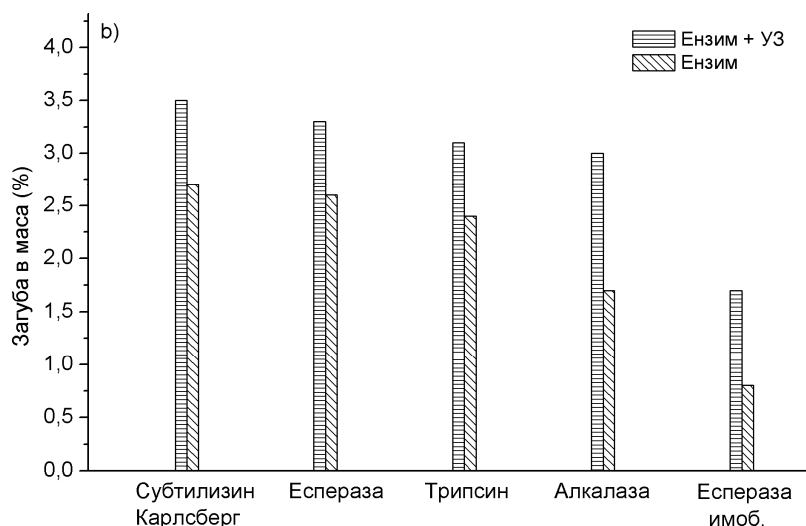
Получените резултати са доказателство за това, че при прилагането на ултразвуково поле процесът хидролиза на вълнени влакна протича в значително по-висока степен в сравнение с този, проведен в отсъствието на ултразвуково поле. Най-вероятната причина за това вероятно е увеличеният брой активни удари (взаимодействия) между молекулите на използваните ензими и вълнения субстрат, породени от наличната в ултразвуковото поле кавитация. В зоната на кавитация в ултразвуковата вана, като беше отбелязано в литературния обзор, след разпадането на кавитационното мехурче се освобождава голямо количество енергия под формата на ударна вълна, която следва да отстрани в значително по-висока степен получените продукти от хидролизата на люспестия слой в супернатанта (реакционната среда) и по този начин да „освободи“ нова активна повърхност - субстрат за използваните протеази. Освен това при разпадането на кавитационното мехурче се получават и съответни радикали, които са способни да променят в значителна степен химичния

състав на субстратната повърхност и действат синергитично с посочените по-горе ефекти (ускорен масообмен). В подкрепа на това са и определените степени на адсорбция на използваните протеолитични ензими. Наблюдаваната промяна на адсорбирано количество ензими в условията на ултразвуково поле е очаквана, като установените стойности за адсорбирани количества са значително по-ниски в сравнение с тези, получени при обработки в отсъствие на ултразвуково поле. В случая количеството десорбиран ензим от повърхността на вълнените влакна ще бъде значително по-високо и следователно определените количества ензими в реакционната среда – отново по-високи, което бе наблюдавано при всички проведени от нас експерименти с комбинирана обработка ултразвук- протеаза.

В допълнение можем да кажем, че масообменът в реакционната среда се създава не само от микрокавитационно движение, но и от налично макротурболентно (вихрово) движение. Известно е, че последното се генерира отново от приложеното ултразвуково поле, но се наблюдава единствено при използвания от нас тип конструкции (наличие на гранични повърхности и излъчвател с крайни размери).

3.2. Определяне изменението в масата и здравината на вълнен плат след ензимна противозатепваща обработка

Изменението на масата на подложения на ензимна обработка вълнен материал е важна характеристика, която се свързва с други физикохимични показатели като дебелина на плата, неговата специфична плътност и здравина. Ето защо за нас бе от особен интерес да установим загубата в маса на вълнените материали в условията на ензимна хидролиза и присъствие на ултразвуково поле. Загубите в маса на изследваните проби в присъствие и отсъствие на ултразвуково поле са представени на фигура 10.



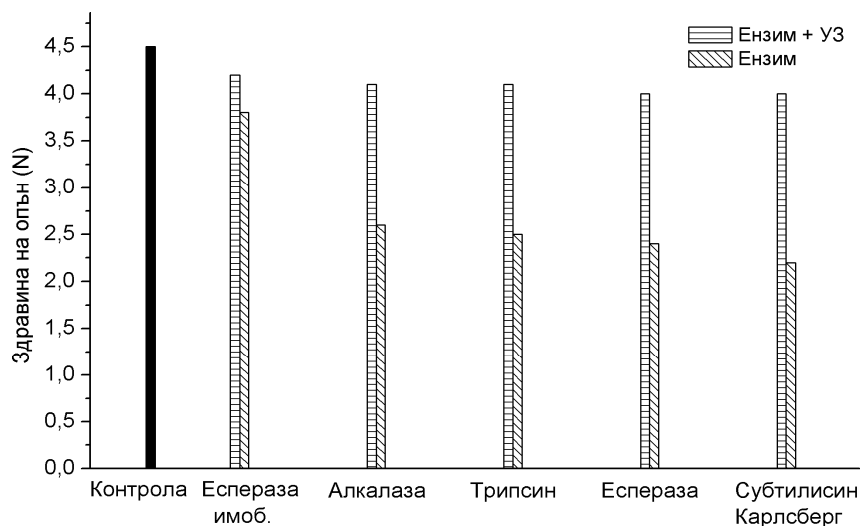
Фиг. 10. Определяне на загубата в маса на обработените против затепване вълнени платове с различни видове ензими.

От графиката се вижда, че в условията на ултразвукова обработка относителното понижение в масата на вълнения плат е значително по-високо от това определено в отсъствието на ултразвуково поле. Установените разлики в загуба на маса се различават по числена стойност за всеки един ензим. Така например, действието на субтилизин Карлсберг, еспераза и трипсин спрямо вълнения плат в присъствието или отсъствието на ултразвуково поле е почти аналогично, но се различава от това на ензима алкалаза. Може да се предположи, че увеличената активност на ензима алкалаза в присъствието на ултразвуково поле се дължи на увеличения масопренос в реакционната система. Както посочихме по-горе, увеличеният масопренос в реакционния обем следва да увеличи десорбцията на хидролизен продукт от повърхността на вълнения материал, който обикновено инактивира изследваните ензими. В случаите на сублитизин Карлсберг, еспераза и трипсин, най-вероятно стабилността на образуваните комплекси с изследвания субстрат или продукти на хидролиз е значително по-малка и действието на ултразвуково поле е по-слабо изразено. По отношение на определените по-ниски стойности на действие на ензима имобилизирана еспераза, следва да имаме предвид и наличието на полимерна компонента, която вероятно създава известни стерични ограничения на ензима към изследвания субстрат (вълнен плат).

Експлоатационните свойства и трайността на изработеното облекло в голяма степен зависят от устойчивостта на платовете при подлагането им на разрушаващи натоварвания. Въпреки, че в реалните условия на експлоатация на вълненото облекло рядко се прилагат разрушаващи напрежения, здравината на скъсване на вълнените платове е задължителен показател, залегнал във всички стандарти за качеството на текстилните вълнени материали. Прилагането на протеолитични ензими и ТСС, съдържащи такива, разграждат (отстраняват) част от повърхността на вълнените влакна, което доказано води до намаляване на здравината им. Затова интерес представляваше установяването на действието на използваните от нас протеолитични ензими върху измененията в здравината на вълнени платове.

Измененията в здравина на изследваните проби в присъствие и отсъствие на УЗ поле са представени на фигура 11. Както ясно се вижда от представената фигура, здравината на опън на вълнения плат след неговата обработка с ултразвуково поле и протеолитични ензими се запазва близка до тези на необработения (изходно използван) материал. Определените стойности за тази величина се различават в рамките на по-мако от един процент между изследваните ензими. Значителни са обаче разликите в здравината на опън между вълнени платове, обработени само с ензими, и тези от комбинирана обработка с ултразвуково поле и ензими. Най-вероятно, както споменахме и по-горе, причината за намалението в здравината на опън на вълнен плат, обработен с изследвани ензими в отсъствието на ултразвуково поле, се дължи на неравномерното хидролитично действие на тези ензими спрямо вълнените влакна. Последната следва да е и причина за нарушението на структурната хомогенност на корковия слой на вълнените влакна, който определя и здравината на вълнените влакна. Отклонение от тази зависимост е наблюдавана единствено при ензима имобилизирана еспераза. Причината за това можем да

намерим в неговата структурна специфика – наличието на стерични ограничения в неговото действие както в присъствие, така и при отсъствието на ултразвуково поле спрямо изследваният субстрат.



Фиг. 11. Определяне загубата в здравина на обработените против затепване вълнени платове с различни видове ензими.

3.3. Влияние на обработката с протеинази върху степента на затепване на вълнен плат

Изменението на размерите на вълнените материали е специфично свойство, което се дължи най-вече на люспестата структура на вълнените влакна. При ефективното отстраняване на люспестия слой на вълната би следвало да очакваме промяна в степента на затепване на обработените против затепване вълнени изделия.

Резултатите от измерванията на затепваемостта на вълнените материали са представени в таблица 3. За да получим по-точна представа за действието на предложената от нас ензимна обработка в комбинация от ултразвуково поле в същата таблица 3, са поместени и резултати от проведени експерименти със съответните ензими в отсъствие на ултразвуково поле. От представените резултати ясно се вижда, че ефектът на намалена затепваемост не е така ясно изразен, както при комбинираната обработка. Както се и очакваше, по-ниски стойности за затепваемостта показаха пробите обработени със субтилизин Карлсберг, еспераза, трипсин и алкалаза. Причината за това, най-вероятно е свързана с проявяваната и запазена по-висока активност и специфичност на тези ензими към кератиновите влакна в сравнение с тази на модифицираната еспераза. Логично е да се предположи, че тези ензими отстраняват по-ефективно твърдия и трудно разградим рогов слой на вълнените влакна.

Таблица. 3. Относително изменение на свиваемостта на вълнени плоски изделия в зависимост от броя на пранетата след обработки със съответен протеолитичен ензим и комбинирана (ензим/ултразвук).

Обработка	Затепваемост	
	Релаксация	Свиваемост
Контрола	$7.1 \pm 0.6 \%$	$17.2 \pm 0.8 \%$
Алкалаза	$5.8 \pm 0.4 \%$	$11.2 \pm 0.3 \%$
Алкалаза + УЗ	$3.1 \pm 0.2 \%$	$3.4 \pm 0.2 \%$
Еспераза	$4.7 \pm 0.3 \%$	$9.8 \pm 0.5 \%$
Еспераза + УЗ	$2.4 \pm 0.1 \%$	$2.7 \pm 0.4 \%$
Еспераза имобилизирана	$6.5 \pm 0.4 \%$	$12.8 \pm 0.6 \%$
Еспераза имобилизирана+УЗ	$4.0 \pm 0.5 \%$	$6.3 \pm 0.7 \%$
Трисин	$5.0 \pm 0.2 \%$	$10.3 \pm 0.3 \%$
Трисин + УЗ	$2.8 \pm 0.1 \%$	$3.4 \pm 0.4 \%$
Субтилизин Карласберг	$4.5 \pm 0.3 \%$	$9.3 \pm 0.5 \%$
Субтилизин Карласберг+УЗ	$2.0 \pm 0.2 \%$	$2.5 \pm 0.4 \%$

Освен това, влияние върху свиваемостта на вълнените платове оказват и други фактори като: плътността на тъканта, вид на сплитката, дебелина на преждата, характера на отделните процеси и операции при цялостната завършителна обработка. За да се сведе до минимум възможността за свиваемост на готовите вълнени изделия, заключителното им облагородяване трябва да осигури възможността за свободно отстраняване на предизвиканите от предходни обработки деформации (вътрешните напрежения) в тях. В заключение можем да кажем, че комбинираната (ултразвук/ензим) обработка на вълнени изделия може успешно да се приложи и в промишлени условия при заключителното облагородяване на вълнени материали.

3.4 Структура на повърхността на вълнени влакна, подложени на противозатепваща обработка

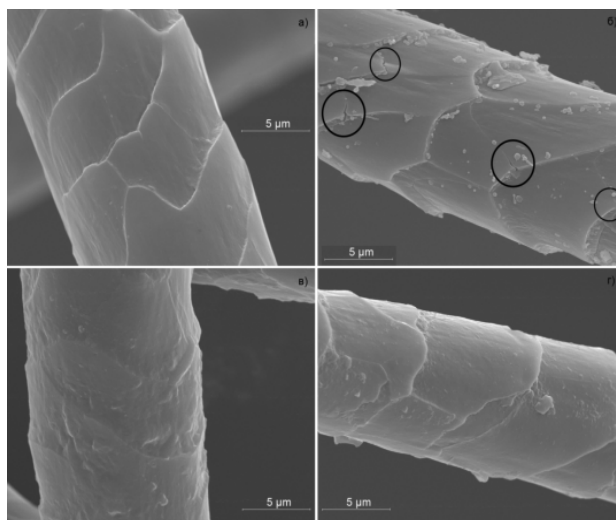
Причината, поради която вълната се сплъстява и свива се дължи най-вече на наличието на люспеста (рогова) повърхност. Известно е, че в случаите на приложена ензимна обработка част от тази обвивка се отстранява и се подобряват

качествените показатели на обработените вълнени материали. Обработка на последните с протеолитични ензими в комбинация с ултразвуково поле следва да осигури значително по-висока степен на отстраняване на този люспест слой и намали затепваемостта на вълнените материали. Този тип обработка следва да осигури и равномерното протичане на ензимната хидролиза по повърхността на вълнените влакна (фигура 12).

На фигура 12 са представени съответните електронно-микроскопски фотографии на вълнени влакна третирани с протеолитичен ензим - субтилизин Карлсберг фигура 12в и комбинирана обработка с ензим (субтилизин Карлсберг) и ултразвуково поле (фигура 12г).

От представената микрография на нетретирано вълнено влакно ясно се вижда люспестият строеж на неговата повърхност. При обработката на вълнените влакна с ултразвуково поле се наблюдават микропукнатини – нарушения в хомогенността на структурата на отделните кератинови люспи. За по-ясно онагледяване в представената фигура, отделните микропукнатините са очертани. Микропукнатините са наблюдавани основно в краищата на отделните рогови люспи. Те са получени най-вероятно от въздействието на ултразвукови вълни, което се проявява в значителна степен в гранични повърхности – в случая, това е граничната повърхност вода-вълнено влакно. Там следва да се очаква наличието на значително по-високо количество адсорбирана от вълненото влакно вода. Адсорбираната вода следва да действа и като среда за генерирането на по-голямо количество „близко разположени” кавитационни мехурчета, които следва да образуват и силно-реактивоспособни радикали, способни да окислят люспестия слой.

При обработката на вълнените влакна със субтилизин Карлсберг ясно се вижда, че използваният ензим отстранява само част от люспестия слой. Наблюдаваните промени в морфологията на вълнените влакна са очаквани, предвид „селективността” в действието на използвания ензим. В този случай говорим за неравномерно протичащ хидролизен процес. При обработката на вълнени влакна с протеази и присъствието на ултразвуково поле ние наблюдаваме равномерно отстраняване на люспестия слой; запазване обемната хомогенност на вълнените влакна; наличието на незначително количество по повърхността на вълнените влакна, нехидролизирани фрагменти от люспестия слой и наличието на „гладка” повърхност.



Фиг. 12. Електронно-микроскопски снимки на вълнени влакна А) необработен материал, Б) обработка с УЗ поле В) обработка със subtilizin Карлсберг и УЗ поле и Г) обработена със subtilizin Карлсберг.

В заключение може да се отбележи, че при обработката на вълнени влакна с протеолитични ензими и ултразвуково поле, настъпват драстични изменения в повърхността на влакната, свързани със селективното отстраняване на „нежелания“ рогов слой и получаването на равномерна ”гладка“ повърхност. Получените в резултат на тази комбинирана обработка влакна следва да проявяват по-малка степен на затепваемост в сравнение с влакната, обработени в отсъствието на ултразвуково поле.

4. ЕНЗИМНА ОБРАБОТКА НА СУРОВИ ВЪЛНЕНИ ВЛАКНА

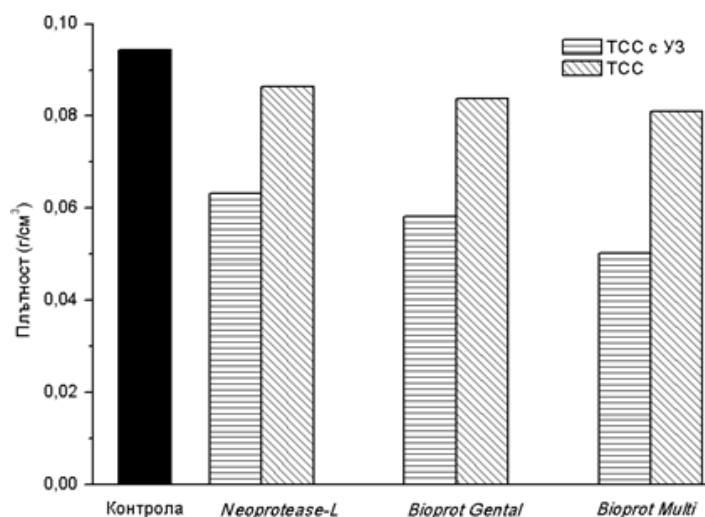
Суровите вълнени влакна съдържат голямо количество онечиствания от органичен и от неорганичен произход. Тези замърсители налагат използването на специални перилни машини, използващи разнообразни детергенти и химикали. Известно е, че всички тези детергенти и химикали оказват особено вредно въздействие върху околната среда. Процесът на пране на сурова (серява) вълна е първият и много важен технологичен етап на обработка, който трябва да се провежда много внимателно, за да не се позволи нарушаване на структурата на вълнените влакна. Всичко това налага търсенето на нови, авангардни решения и подходи за оптимизиране или замяна на този екологично непригоден метод. Ето защо за нас бе особено важно да конструираме оригинална мултифункционална лабораторна установка (виж фиг. 1) приложима в процеса на:

- облагородяване на вълнени влакна и
- пране на сурови вълнени влакна.

За целта бяха проведени серия от изследвания с различни текстилни спомагателни средства (ТСС) - *Neoprotease-L*, *Bioprot Multi* и *Bioprot Gentle*.

4.1. Затеждане на сурови вълнени влакна след ензимна обработка

За определяне на степента на затеждане бе използван обективния метод, предложен от *Blankenburg*. Получените резултати са представени на фигура 13.



Фиг. 13. Определяне на свиваемостта на ензимно обработени сурови вълнени влакна.

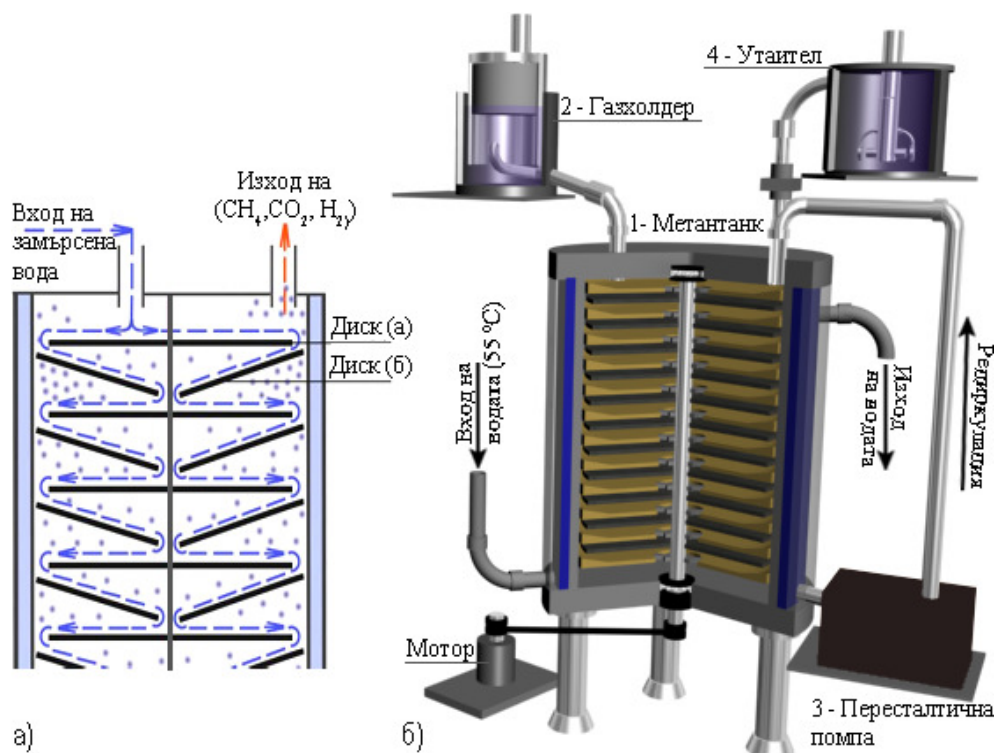
Тук отново може да се даде обяснение на измененията в степента на затеждане, аналогично на това при изследването на вълнени платове, а именно, че ензимната хидролиза на вълнени влакна протича много по-интензивно в присъствието на ултразвуково поле. В следствие на това, вълнените влакна получават много по-добър антизатепващ ефект от този, постигнат само с използване на текстилни спомагателни средства. Посочените изменения в действието на протеази както и на ТСС, съдържащи протеази биха могли да се обяснят с ускоряването на масообменните процеси в реакционната среда, породени от използваното ултразвуково поле. Следва да се очаква и значително влияние върху каталитичните свойства на използваните в процеса на пране ензими и ензимни ТСС както и върху ефективното отстраняване на замърсителите от повърхността на използваната сурова вълна. Образувалите се сфери показват най-ниска плътност при обработката с ултразвук и текстилни спомагателни средства, от които с по-добър антизатепващ ефект се оказва *Bioprot Multi*. Това текстилно спомагателно средство прояви и най-висока протеолитична активност към белтъчните молекули на казеина. Може да се очаква и, че този ензим следва да прояви и по-висока кератиназна активност в сравнение с другите използвани текстилни спомагателни средства – *Neoprotease-L* и *Bioprot Gentle*.

5. КОНСТРУИРАНЕ НА БИОКОНТАКТОР ЗА ОБРАБОТКА НА ОТПАДЪЧНИ ВОДИ ОТ ПРЕРАБОТВАНЕТО НА ВЪЛНЕНИ МАТЕРИАЛИ.

Въвеждането на конструктивни модификации в процесите на биометацизация с оглед достигане на висока степен на пречистване на отпадъчните води при минимален време престой на последните в обема на биоконтактора са твърде важни от гледна точка на практическото му приложение. В тази част на дисертационната работа, бе поставена задача да се конструира анаеробен биоконтактор, позволяващ максимално бързо разграждане на органичните и неорганичните замърсители, присъстващи в отпадъчните води от микробиалната популация.

Класическият процес за пране на сурова вълна е съпроводен със силно замърсяване на използваните води. Получените отпадни води съдържат замърсители от органичен и от неорганичен произход (мазнини, белтъци, детергенти и др.). Прилаганите към този етап биохимични методи за тяхното пречистване, обаче не са достатъчно ефективни и следователно, така получените 'пречистени води' не могат да бъдат върнати обратно в техните естествени хранилища (езера, реки, морета и др.). За повишаване на тяхната ефективност обикновено се създават различни хидродинамични условия, свързани с модифицирането на използваните основни типове биореактори. Една от тези модификации е свързана с използването на въртящ се анаеробен биоконтактор с фиксирана биомаса.

На фиг. 14б е схематично представена създадената в хода на дисертационната работа лабораторна апаратура за третиране в анаеробни условия на отпадни води, получени от комбинираната УЗ/ТСС обработка на сурови вълнени влакна. Принципът на действие на анаеробния биоконтактор е представена на фиг. 14а. Отпадъчната вода, намираща се върху диск - а' се придвижва от центробежните сили от центъра на диска към неговата периферия, посредством различията в диаметрите на използваните дискове, отпадъчната вода попада върху диск б'. От там под действието на гравитацията отпадната вода се насочва към центъра на конусния диск и преминава през специално направени отвори на диск а''. По този начин третираните води преминават по повърхността на отделните биодискове, достигайки до помпа 3, която ги връща обратно в АБК (цикъла многократно се повтаря, с цел пълно разграждане на замърсителите). В резултат на хидролиза на съдържащите се в отпадната вода органични вещества, продуцираният от имобилизираните микроорганизми биогаз се събира и съхранява в градуиран стъклен газхолдер над наситен разтвор на NaCl.



Фиг. 14. Анаеробен биоконтактор с фиксирана биомаса към поръзен носител.

Изработената по този начин оригинална апаратура за третиране на отпадъчни води позволява да се постигнат:

- ✓ равномерно разпределение на замърсителите по повърхността на биодисковете;
- ✓ по-дълга експлоатация в сравнение с биодисковете работещи в аеробна среда;
- ✓ по-интензивен контакт между замърсителите и микроорганизмите;
- ✓ по-добър контрол на анаеробния процес и
- ✓ намалено време за обработка.

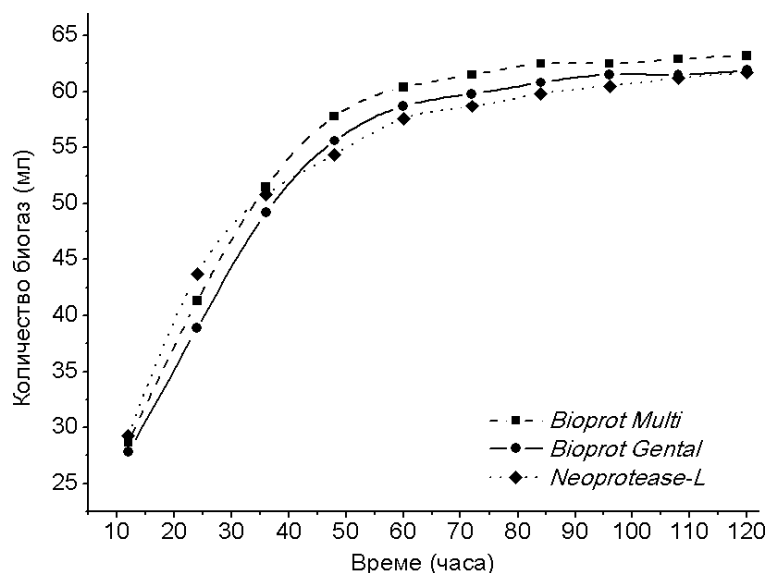
5.1. Възможности за рециклиране на пречистените отпадъчни води

Целта на настоящото изследване е да се определи степента на пречистване на отпадъчните води, получени от приложената от нас оригинална лабораторна установка за пране и облагородяване на сурови вълнени влакна, с оглед използването им отново в технологичния процес. Достигане на затворен технологичен цикъл е в духа на съвременните изисквания за ефективни и безотпадъчни технологии.

Процесът биометанизация бе проведен при стриктни анаеробни условия и температура 55 °C. За достигане на висока степен на очистка на отпадни води е

необходимо бързо и лесно адаптиране на използваната за биоремедиация микробна популация. В случая адаптирането на използвания от нас метаногенен консорциум, към присъстващите замърсители в отпадъчните води получени при пране на сурови вълнени влакна е проследен посредством продуцирането на биогаз. Последният представлява катаболитен продукт на присъстващите в биореактора микроорганизми.

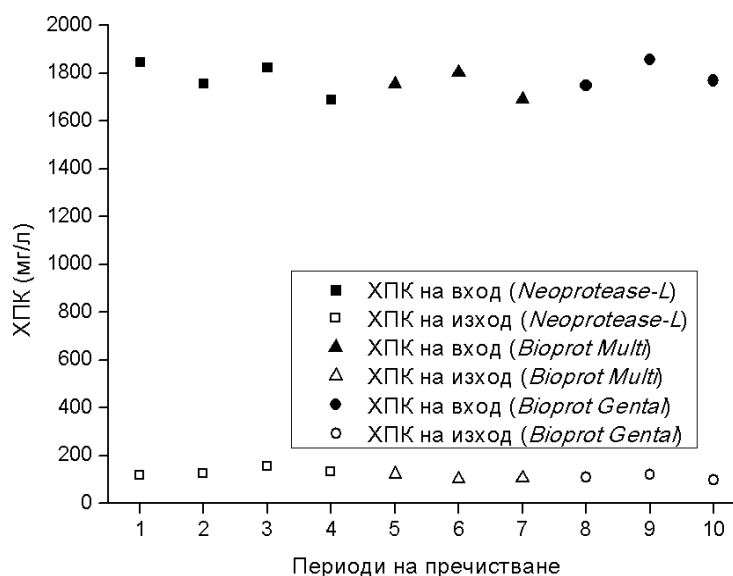
Кинетиката на продуциране на биогаз от реакторната система при биометанизацията на отпадъчните води получени при комбинираната ензим/УЗ обработка е представена на фигура 15. Представената зависимост е свързана най-вече с адаптацията на микроорганизмите към използвания субстрат (замърсителите в отпадъчните води) и определят производителността на биоконтактора.



Фиг. 15. Кинетика на продуциране на биогаз при метанизация на отпадъчни води от комбинираното (УЗ/ензим) пране на сива вълна.

Както се вижда от представената фигура, след подаване на замърсените отпадни води (получени при пране на сурови вълнени влакна от УЗ/ТСС) в обема на биоконтактора, продукцията на биогаз от имобилизирания анаеробен консорциум може да се раздели на две фази: експоненциална с продължителност от 40 до 50 часа и стационарна от 50 до 120 часа. Прави впечатление, че при известните конструкции биоконтактори продукцията на биогаз се разделя в повечето случаи на три фази (ланг фаза, експоненциална фаза и стационарна фаза), но също така и времето на обработка е значително по-дълго. Причините за посочените разлики в действието на използвани биоконтактори най-вероятно се състоят в това, че използваната от нас биоконтакторна конструкция позволява интензифицирането на процеса очистка и най-вероятно осигурява по-добър контакт на замърсителите с микробната популация. Получените резултати ни позволяват да се определи и оптималното

реакционно време за биоочистка на отпадъчните води, получени от комбинираната обработка ТСС/УЗ на сурови влакна - 72 часа. Освен това, преди и след анаеробния процес бяха проведени и редица изследвания, които ни позволяват да определим измененията в ХПК и БПК в отпадъчни води и определим ефективността на предложената от нас конструктивна схема на анаеробен биоконтактор представени на фигури 16 и 17.



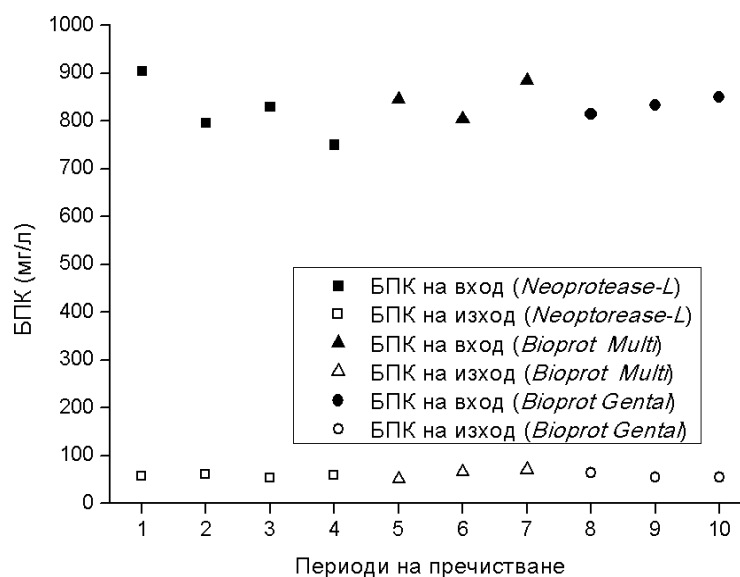
Фиг. 16. Определяне на химическото потребление от кислород (ХПК), на отпадъчни води от комбинираното (УЗ/ензим) пране на сурови вълнени влакна Отворен знак (□ - Neoprotease-L, △ - Bioprot Multi, ○ - Bioprot Gental) – БПК на вход, затворен знак (■ - Neoprotease-L, ● - Bioprot Multi, ▲ - Bioprot Gental) – БПК на изход след 72 часа третиране в анаеробна среда.

От представените фигури 16 и 17 ясно се вижда, че подложените на анаеробна обработка отпадъчни води, получени при прането на сурова вълна, показват намаление на ХПК и БПК в границите от 96 до 98 % при сравнително малък времепрестой на отпадъчните води в обема на реактора - три дни. Следователно така подложения на анаеробна обработка замърсител получен от комбинираната обработка (ултразвук и текстилни спомагателни средства) ще се окислява в значително по-голяма степен или напълно от използвания от нас микробен консорциум. Факторите, влияещи върху високата продуктивност и стабилност на анаеробния процес, могат да се представят в следния ред:

- Допълнителното разделение на общия обем на по-малки секции от налични биодискове, води до стабилизиране и контролиране на анаеробния процес извършващ се в биореактора.
- Анаеробният биоконтактор използва центробежната сила за акселериране на масообменните процеси, които спомагат за създаването на по-интензивен

контакт между замърсителите и микроорганизмите (и следователно ускорява техния хидролиз).

- В сравнение с биодисковете, работещи в аеробна среда, тези работещи в анаеробна среда, натрупват биомаса в значително по-малки количества (до един порядък). В този случай използваните от нас биодискове работещи в анаеробна среда, следва да са по-удачен вариант.



Фиг. 17. Определяне на Биологичното потребление от кислород (БПК) на отпадни води от комбинираното (УЗ/ензим) пране на сурови вълнени влакна. Отворен знак (□ - Neoprotease-L, △ - Bioprot Multi, ○ - Bioprot Gental) – БПК на вход, затворен знак (■ - Neoprotease-L, ● - Bioprot Multi ▲ - Bioprot Gental) – БПК на изход след 72 часа третиране в анаеробна среда.

На основата на получените резултати от тези изследвания можем да обобщим, че пречистените по този начин отпадъчни води могат да се използват отново (т.е. да се върнат) в технологичния процес за пране на сурова вълна, като по този начин достигахме един завършен и затворен производствен цикъл.

Като заключение от направените изследвания можем да кажем, че:

- ✓ Разработената от нас анаеробна лабораторна установка с фиксирана биомаса ни позволи да постигнем стабилен процес на биометанизация на подложените на обработка отпадъчни води, получени при прането на сурова вълна. Най-вероятно постигнатата висока степен на биоочистка се дължи на конструктивните нововъведения и новаторски подход за третиране на сурова вълна, които позволяват високи скорости на биотрансформации на отпадъчните органични

замърсители, а последните да доведат и до намаление степента на субстратно пренатоварване.

- ✓ По време на комбинираното пране (ултразвук и текстилни спомагателни средства) на суровата вълна от нея се отделят отпадъчни води, които се поддават на по-лесна биоочистка в сравнение с детергенно замърсени води, отделяни при класическото им пране.
- ✓ Различните протеази, използвани при прането на сурова вълна, не влияят на основните показатели на замърсеността на отпадъчните води преди и след процеса на анаеробно разграждане.
- ✓ След анаеробната обработка отпадъчните води могат да бъдат заустени в приемник втора категория.

Изводи

1. На основата на спектрофотометрични изследвания определихме дължината на ултразвуковата вълна - генерирана от използвания пиезокерамичен излъчвател. За достигане на максимална ефективност на използваните протеолитични ензими (субтилизин Карлсберг, еспераза, трипсин, алкалаза и имобилизирана еспераза) и текстилните спомагателни средства (*Bioprot Multi*, *Bioprot Gental* и *Neoprotease-L*) бе определена също така и позицията на изработения от нас оригинален реактор за ензимна обработка в обема на ултразвуковата вана.

2. Приложението на ултразвуково поле с параметри 32 kHz не хидролизират кератина до по-нискомолекулни фрагменти и аминокиселини и позволява да се определят и сравнят коректно активността и действието на протеолитичните ензими в присъствието и отсъствието на ултразвуково поле.

3. При дължина на вълната 4.6 cm ултразвуковото поле ускорява масопеноса на повърхността на вълнените влакна, което има за резултат намаляване на количеството адсорбирани протеази до 40 %.

4. В условията на ултразвуково поле изследваните протеолитични ензими и ТСС, съдържащи такива ензими, повишават активността си с 12%.

5. Установени са следните условия за протеолитична обработка на вълнени влакна в присъствието на ултразвуково поле:

- Температура: от 30 °C до 40 °C.
- Концентрация на ензим: от 0.1 mg/l до 0.4 mg/l.
- pH: от 7 до 8.

6. Разработена е оригинална експериментална установка за ензимна обработка на вълна в среда от ултразвук, която позволява намаляване степента на затепване на вълнените влакна, като придадения ефект е устойчив на многократно машинно пране.

7. При обработката на вълнени влакна в конструираната лабораторна апаратура и в условията на ултразвуково поле се постига равномерно отстраняване на техния люспест слой и запазване на вътрешния (корков) слой.

8. С най-добри показатели в комбинация с ултразвуково поле при обработка на прежда и плат могат да се посочат ензимите субтилизин Карлсберг и еспераза.

9. Свиваемостта на вълнени плоски изделия, обработени с ензим в присъствието на ултразвуково поле, са с 45 %-но намаление в тяхната затепваемост спрямо тази, получена при обработката им единствено със съответни протеолитични ензими.

10. Установено е, че показателите, количествено характеризиращи опипа на повърхността (топлопроводимост (λ), топлинна дифузия (q) и топлинна абсорбция (b)) на вълнения плат имат по-малко отклонение с 30% от тези показатели на изходния материал в сравнение с показателите на плат, обработен комбинирано с ултразвук и ензим.

11. От използваните три вида текстилни спомагателни средства (*Bioprot Multi*, *Bioprot Gental* и *Neoprotease-L*), най-чувствително изменение на изследваните показатели - отражателна способност и затепване, прояви текстилното спомагателно средство *Bioprot Multi*.

12. Доказана е възможността за приложение на комбинираната (ензим/ултразвук) обработка да бъде приложена за почистване на сурови вълнени влакна.

13. Разработена е конструктивна модификация на анаеробен биоконтактор с цел повишаване ефективността на пречистване на отпадъчни води от комбинирано (ензим/ултразвук) пране на вълна и връщането им в технологичния процес, в който е осъществена е успешна имобилизация на метаногенен консорциум към твърда подвижна повърхност (биодиск) от полиетилен.

14. Имобилизираният консорциум демонстрира еднаква устойчивост спрямо отпадъчните води, получени от използваните текстилни спомагателни средства, като запази високи стойности на пречистване.

15. По време на комбинираното УЗ/ТСС пране на суровата вълна от нея се отделят отпадъчни води, които се поддават на по-лесна биоочистка в сравнение с води съдържащи перилни средства, отделяни при класическото им пране.

16. След анаеробната обработка отпадъчните води могат да бъдат заустени в приемник втора категория.

ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИЯТА

1. Установено е влиянието на ултразвуковото поле върху хидролизата на вълна от протеолитични ензими.
2. Изработена е специализирана апаратура за обработка на текстилни материали в условията на ултразвуковото поле.
3. Разработен е и е оптимизиран ензимен метод за пране и облагородяване на вълна в ултразвуковото поле, целящ намаляване на затепваемостта на вълната, без да се засягат типичните и ценни природни свойства на вълната.
4. Разработен е биоконтактор, който позволява интензифициране на анаеробния процес за пречистване на отпадъчни води и въвеждането им отново в производствения цикъл за обработка на сурови вълнени влакна.

СПИСЪК

на научните съобщения, включени в дисертационния труд

Публикации:

1. Dancho Yordanov, Rositza Betcheva and Lubov Yotova. "Biotechnological Treatment of Effluent from the Combined Enzymatic - Ultrasound Scouring of Raw Wool". European Journal Chemistry (2010) 1: 12-14.
2. Betcheva Rositza, Yordanov Dancho, Yotova Lubov. "Enzyme Assisted Ultrasound Scouring of Raw Wool Fibres". Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology (2011) 2: 65-70.

Постерни съобщения в научни конференции:

1. Dancho Yordanov, Betcheva R., Yotova L. Biotechnological Treatment of Effluent from the Scouring of Raw Wool. VIth scientific poster session, University of Chemical Technology and Metallurgy, 21 May 2009, poster presentation, Sofia;
2. Dancho Yordanov, Betcheva R., Yotova L. Kinetics of Ultrasound Assisted Enzymatic Hydrolysis of Wool. VIth scientific poster session, University of Chemical Technology and Metallurgy, 21 May 2009, poster presentation, Sofia;
3. Dancho Yordanov, Betcheva R., Yotova L., A. Cavaco-Paulo. Wool Textile Quality Improvement through Combined Enzymatic-Ultrasound Washing . VIIth scientific poster session, University of Chemical Technology and Metallurgy, 19 May 2010, poster presentation, Sofia;
4. R. Betcheva, Dancho Yordanov, L. Yotova , A. Cavaco-Paulo „Wool Textile Quality Improvement through Combined Enzymatic-Ultrasound Washing". COST 868 Workshop Understanding Polymer (Bio)functionalisation at the Nanoscale, 3 September 2010, poster presentation, Crete – Greece.

Забелязани цитати върху научните публикации, включени в дисертационния труд:

1. Dancho Yordanov, Rositza Betcheva and Lubov Yotova. "Biotechnological Treatment of Effluent from the Combined Enzymatic - Ultrasound Scouring of Raw Wool". European Journal Chemistry (2010) 1: 12-14.
- 1) Ganjar Samudro, Sarwoko Mangkoedihardjo. "Leachate Stabilization by the Unstable and Immature Compost in Evaporanspiration Bed". International Journal of Modern Manufacturing Technologies (2011) 3: 81-86.