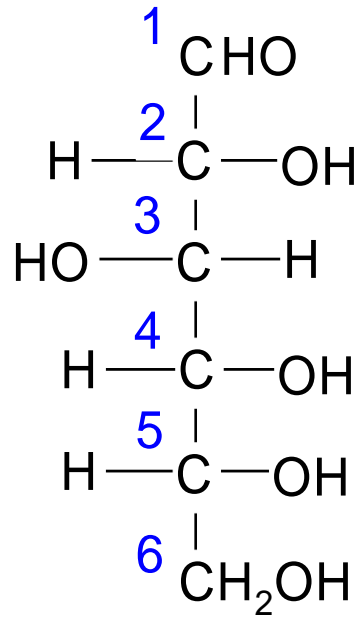


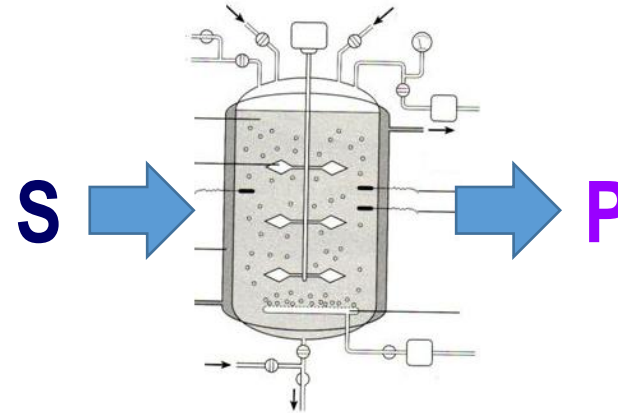
Uvod u biotehnologiju

Prof. dr. sc. Anita Slavica

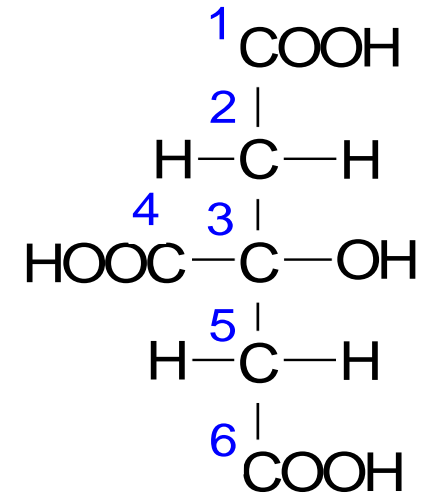
primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (1)



D- glukoza



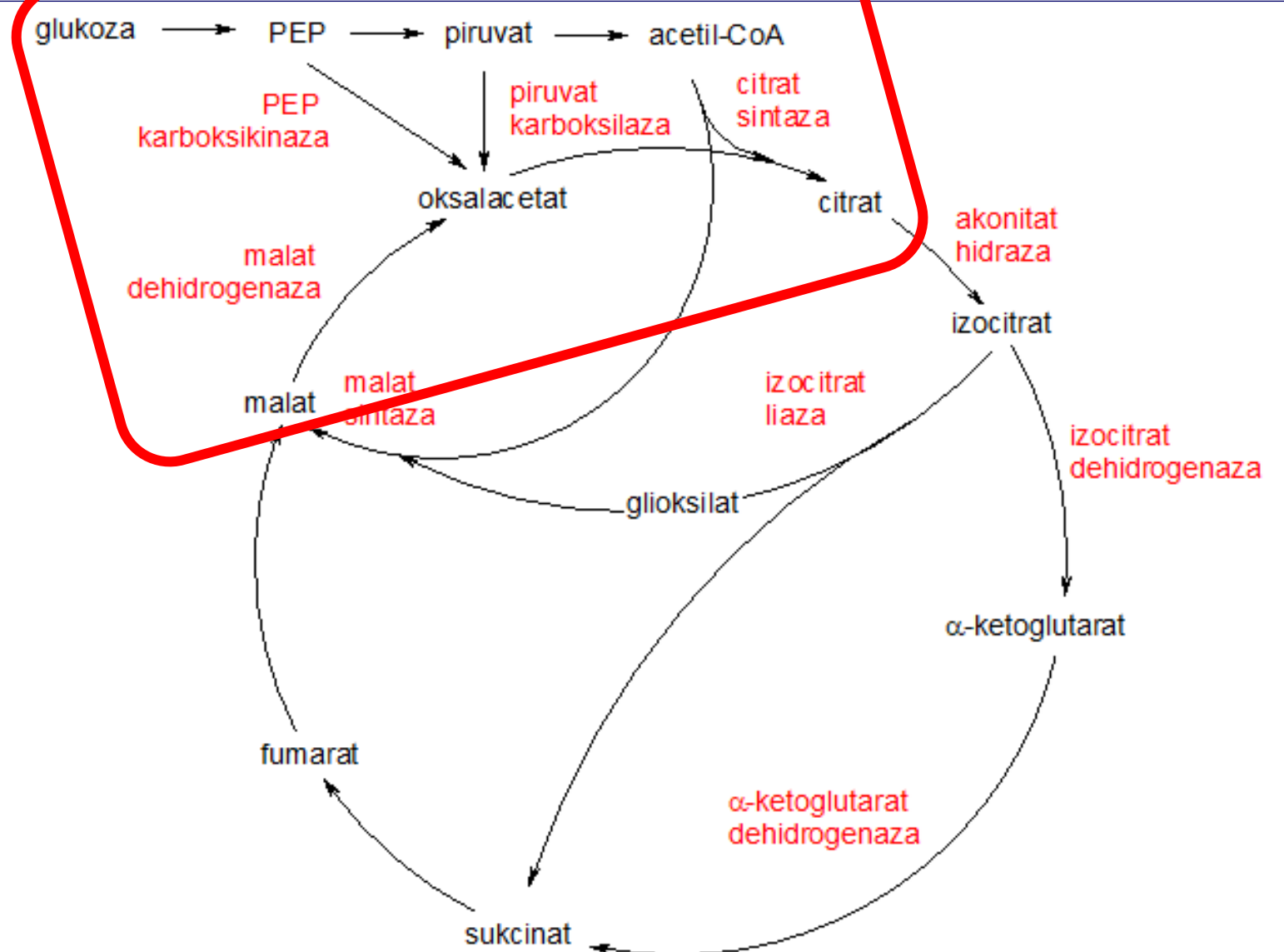
odabrani sojevi (varijeteti) plijesni *Aspergillus niger* u nizu biokemijskih reakcija transformiraju šećere hranjive podloge u **limunsku kiselinu**



limunska kiselina

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (2)

- **Bioprocес u bioreaktoru**



primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (3)

- Bioprocес u bioreaktoru

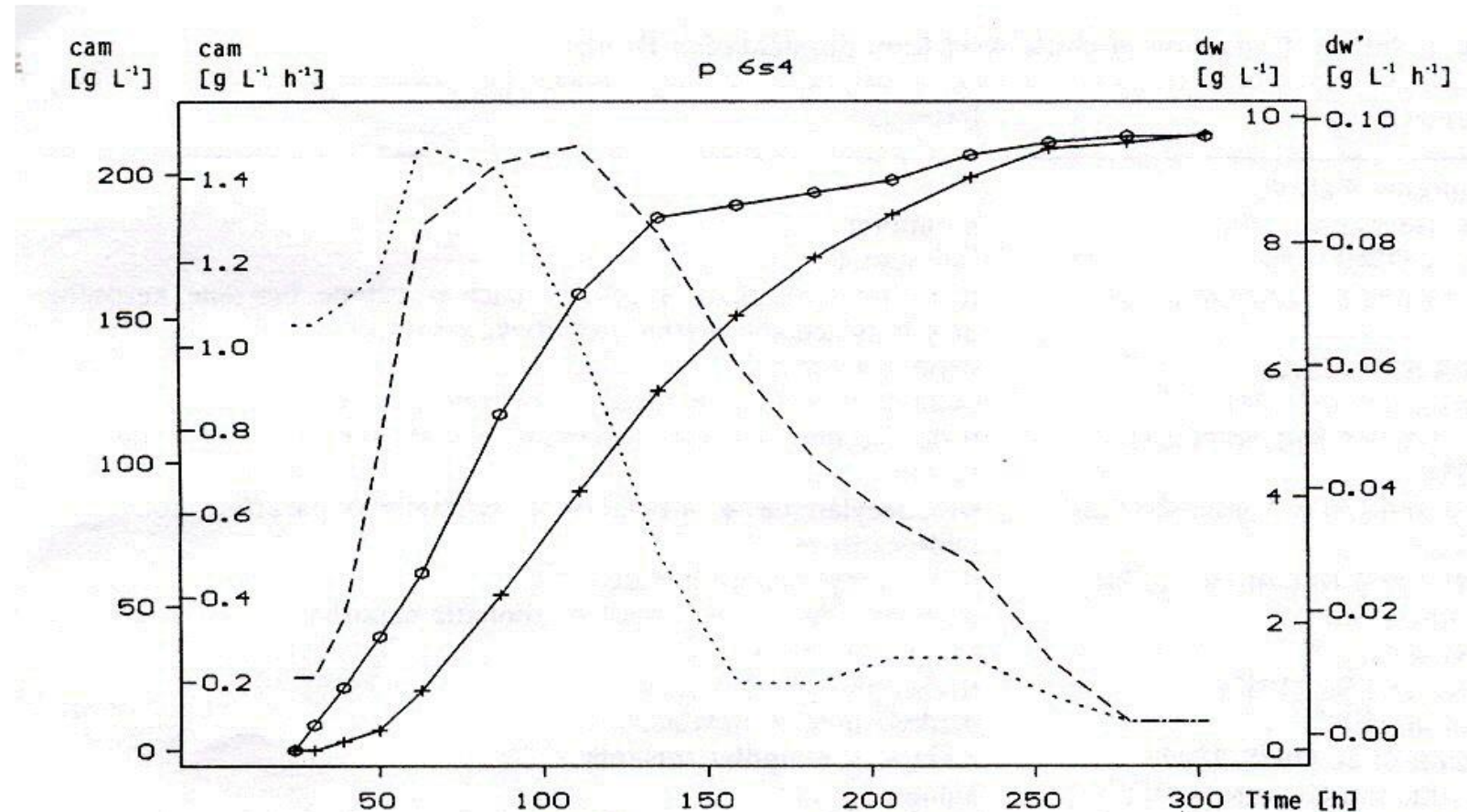


Fig. 4. Time-course of a typical industrial citric acid fermentation showing: + citric acid monohydrate (cam) and O mycelium dry weight (dw) [g L⁻¹]; ——— citric acid volumetric productivity (cam) and ---- specific growth rate (dw') [g L⁻¹ h⁻¹].

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (4)

- **Bioprocес u bioreaktoru**

Na kraju bioprocesa postiže se PRINOS (engl. yield, Y_P) od oko 200 kg CAM/m³.

Iskorištenje bioprocesa na utrošeni šećer (engl. substrate to product conversion coefficient, $Y_{P/S}$) iznosi oko 90% ($Y_{P/S} = 0,9$ g/g).

Teorijski $Y_{P/S}$ iznosi 1,12 g/g za bezvodnu limunsku kiselinu tj. 1,23 g/g za CAM.

Izračun - domaća zadaća.

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (5)

- **Bioprocес u bioreaktoru**

Dio šećera (supstrata, engl. substrate) troši se za rast biomase *A. niger*, koje u procesu nastaje između 150 i 200 kg SUHE TVARI po toni utrošenog šećera (saharoze).

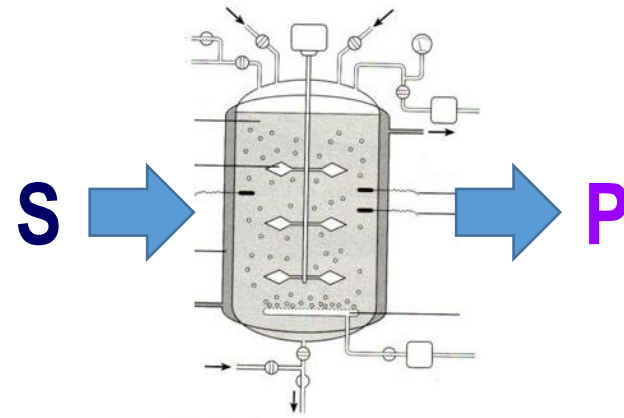
To je koeficijent konverzije supstrata u biomasu (engl. substrate to biomass conversion coefficient, $Y_{X/S} = 0,15-0,2$ kg/kg).

Biološki materijali sadrže do 90% vode. Udio vode u biološkom materijalu može varirati u širokom rasponu. Zato se količina biološkog materijala iskazuje kao SUHA TVAR (engl. dry matter, dry substance dry solids, cell dry weight).

podsjetimo se: procesi prije bioreaktora, bioproces i procesi poslije bioreaktora

upstream processing

downstream processing



bioproces
u
bioreaktoru

priprema hranjive podloge
(engl. medium)

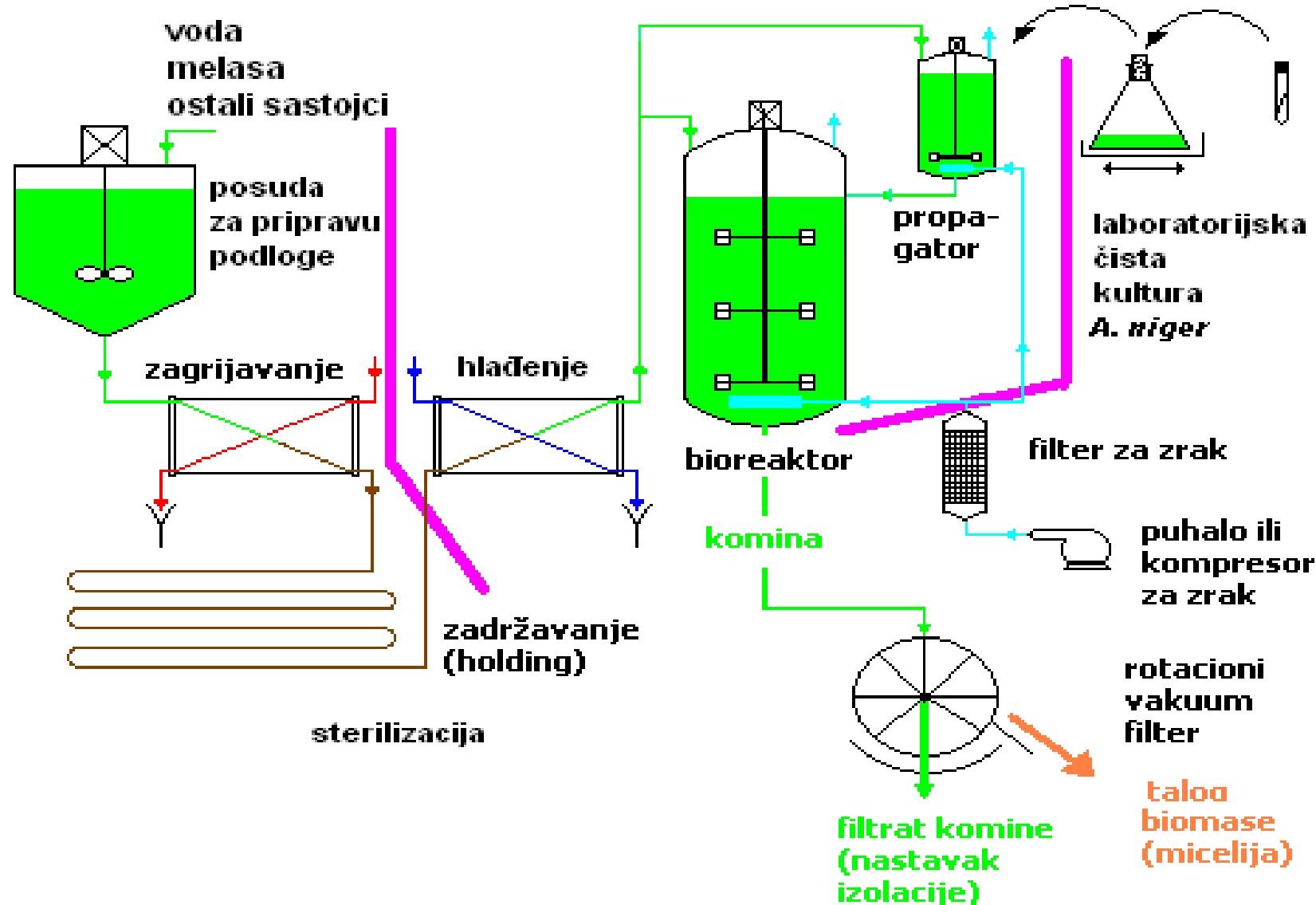
priprema biokatalizatora
enzima
cjepiva (inokuluma)

izdvajanje biokatalizatora

izdvajanje proizvoda

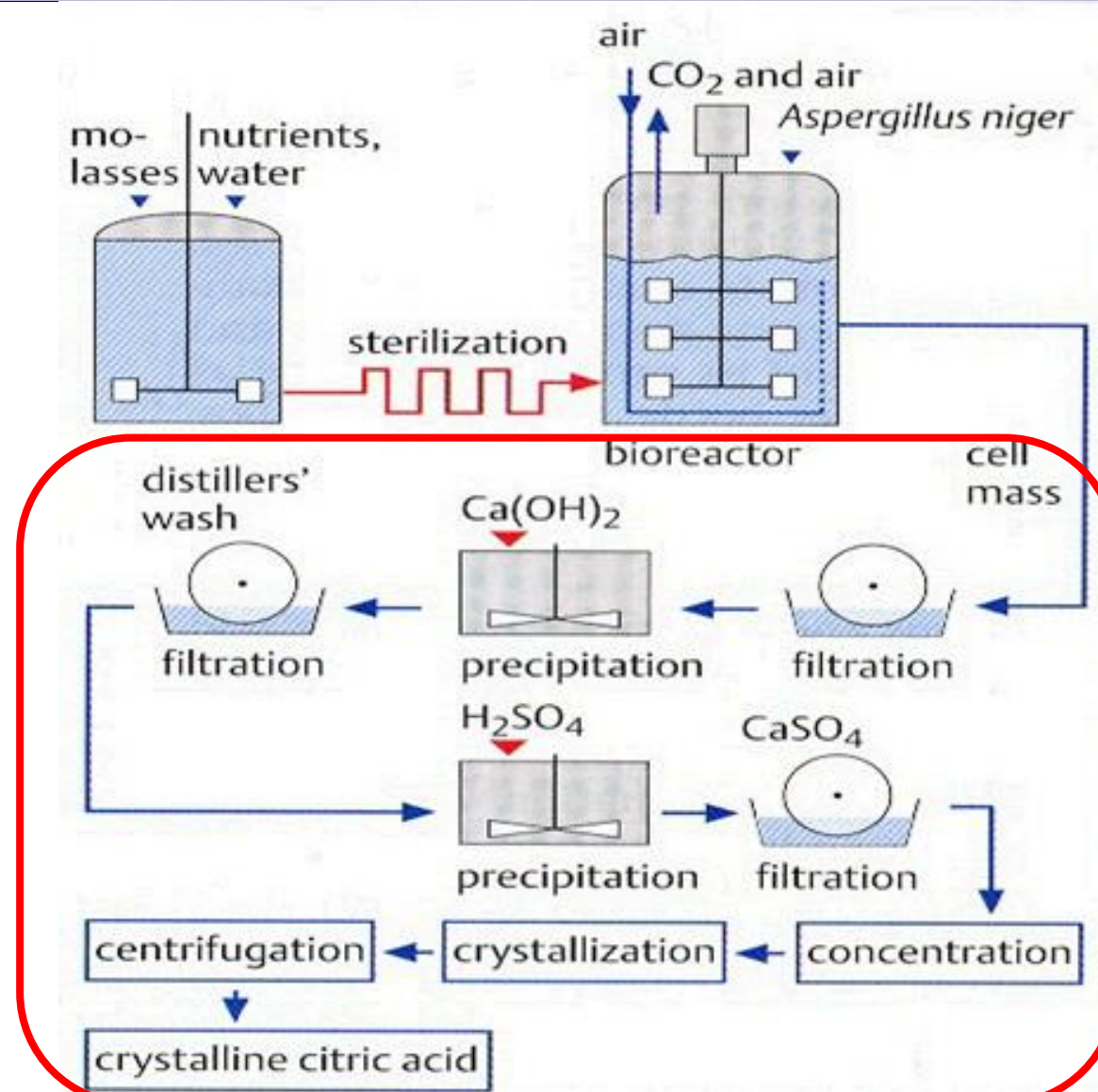
pročišćavanje proizvoda

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (6)



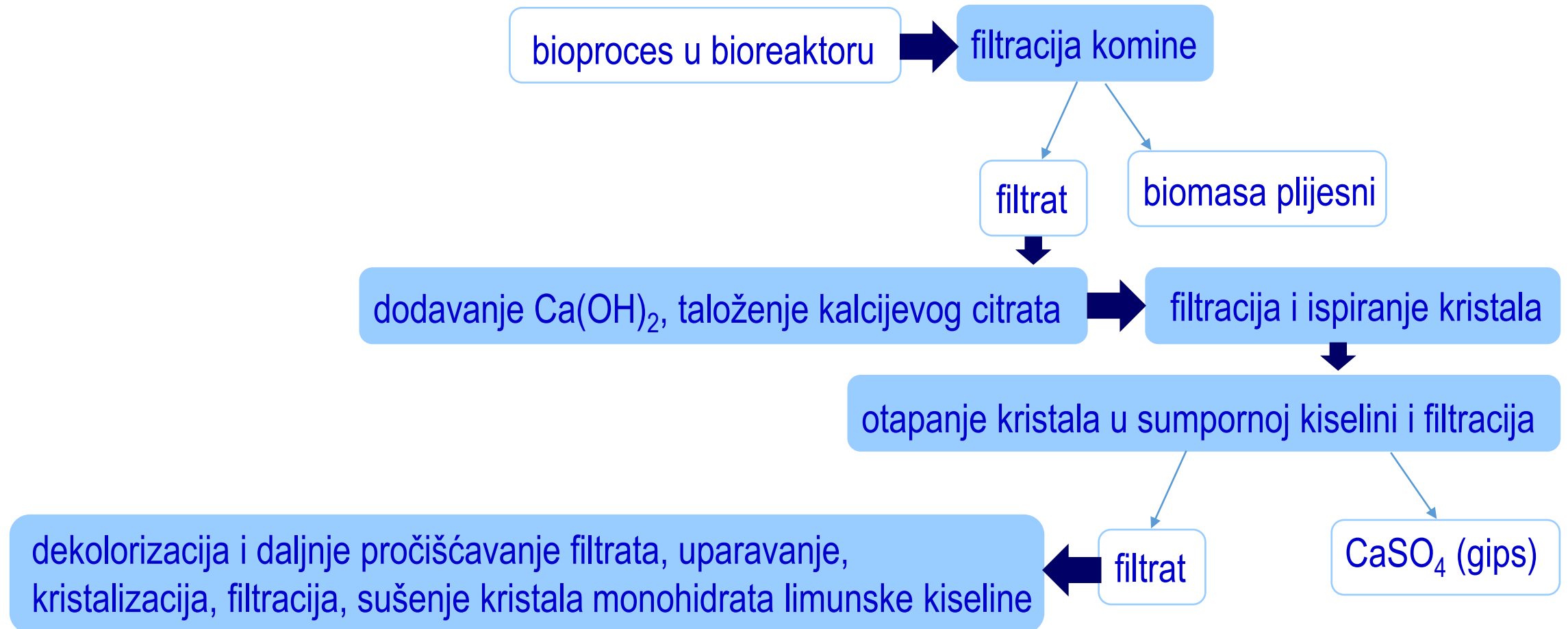
primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (7)

- procesi poslije bioreaktora



primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (8)

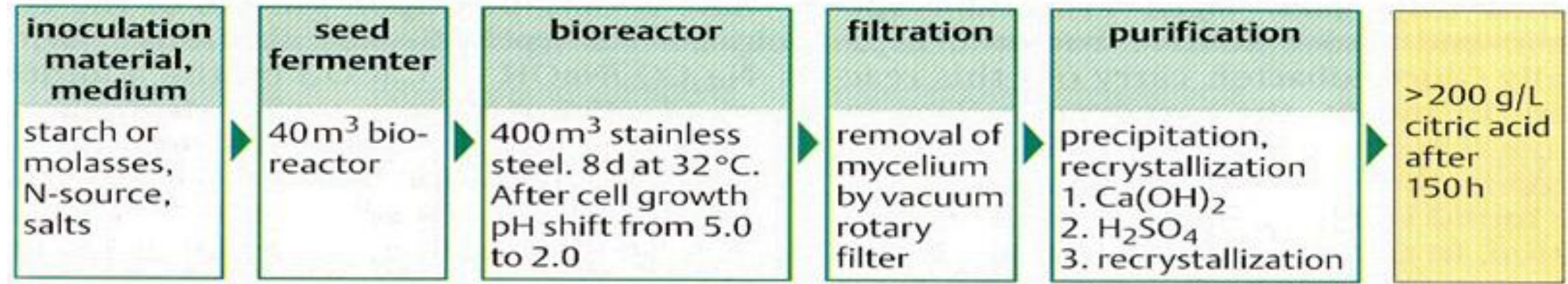
- procesi poslije bioreaktora



primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (9)

- procesi prije, u bioreaktoru i poslije bioreaktora

- Fermentation and recovery



primjer mikrobnog procesa: industrijska

- procesi prije, u bioreaktoru i poslije bioreaktora

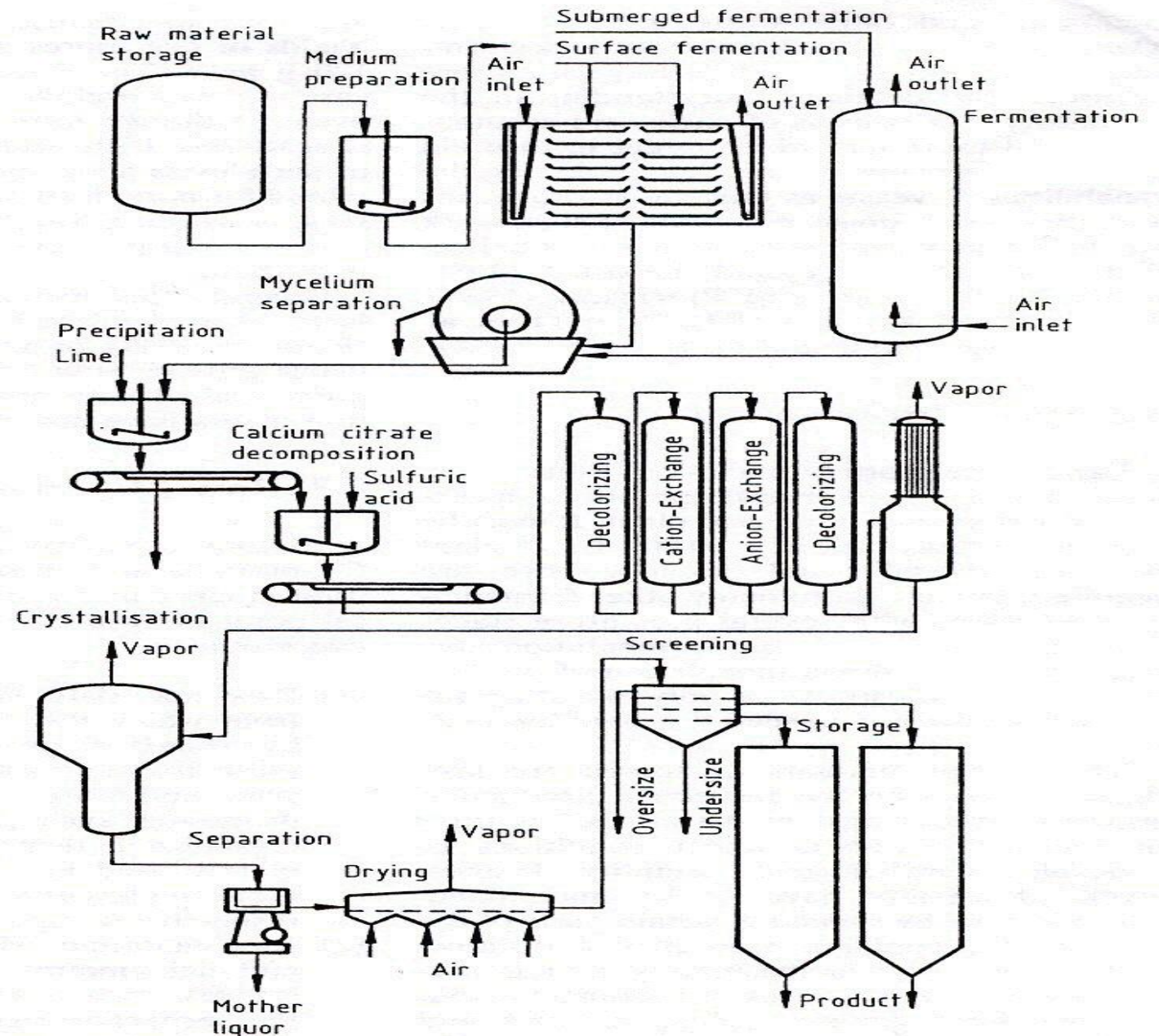


Fig. 2. Flow-sheet of citric acid manufacture by surface or submerged process (from ROEHR et al., 1992, with permission).

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (11)

- **procesi poslije bioreaktora**

FILTRACIJA je izdvajanje taloga iz disperzije čvrsto-tekuće (suspenzije).

Suspenzija prolazi kroz sloj filtracijskog sredstva. Pri tome čvrsti dio (TALOG) zaostaje na filtracijskom sredstvu, a tekući dio (FILTRAT) prolazi kroz filtracijski sloj.

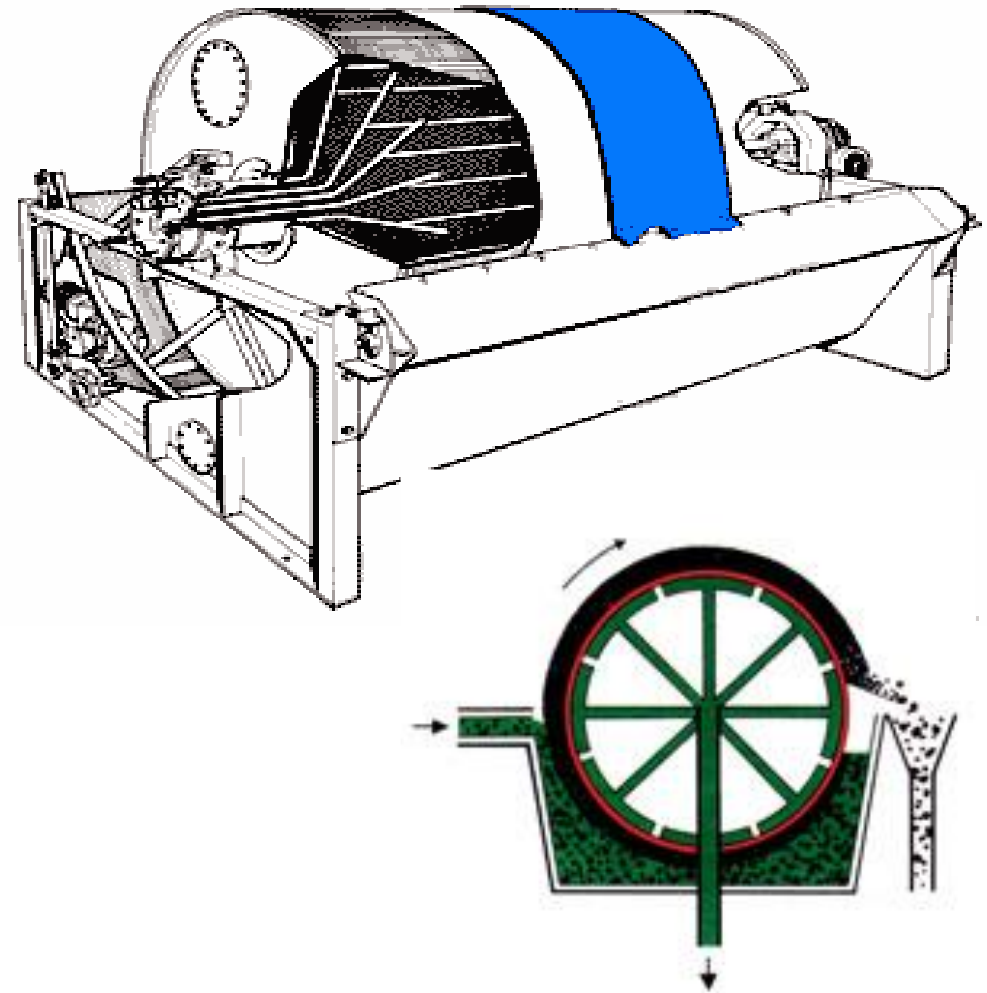
Kao filtracijsko sredstvo (ili filtracijski materijal) najčešće se koristi kremenij pijesak (dijatomejska zemlja, kieselghur) ili škrob.

TALOŽENJE (sedimentacija) je kemijska reakcija u otopini kada jedan od nastalih produkata nije topljiv pa nastaje TALOG (sediment).

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (12)

- **procesu poslije bioreaktora**

rotirajući vakuum filter
(engl. rotary vacuum filter)



primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (13)

- **procesi poslije bioreaktora**

Rotirajući vakuum filter (RTF) dijelom je uronjen u posudu u koju se pumpa KOMINA (hranjiva podloga s izraslom biomasom nakon završetka bioprocasa).

RTF je horizontalni bubanj s platnenim plaštem preko kojeg se nanosi filtracijski sloj od filtracijskog materijala (kremeni pijesak ili škrob).

U unutrašnjosti bubnja je sustav cijevi spojen na vakuum. Zbog vakuuma tekući dio komine usisava se kroz filtracijski sloj na površini plašta i odvodi se kao bistri filtrat iz unutrašnjosti bubnja.

Bubanj polako rotira, a talog biomase (micelijski peleti plijesni *A. niger*) zaostaje na plaštu bubnja i posebnim nožem se skida sa bubnja u prihvatnu posudu sa pužnim transporterom.

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (14)

- **procesu poslije bioreaktora**

Osim micelija u postupku izolacije i pročišćavanja nastaje i 1 tona gipsa po toni CAM-a (problem).

U procesima izolacije i pročišćavanja izgubi se 20 do 30 % limunske kiseline tako da je ukupno iskorištenje cjelokupnog postupka (60-70% od teoretskog). “Naš” postupak sa 20 tona utrošene saharoze po šarži proizveo bi u prosjeku oko 16 tona CAM-a po jednoj šarži.

Obzirom da bioproces traje 9-12 dana te doda li se tomu vrijeme potrebno za *upstream* i *downstream* processing, moguće je u jednom bioreaktoru od 100 m³ korisnog volumena obaviti dvije šarže mjesečno.

Uz obvezni godišnji remont (koji traje oko mjesec dana), godišnja proizvodnja “našeg” postrojenja iznosila bi oko 350 tona CAM-a (350 t/a ili t/y). **PROVJERITI - domaća zadaća.**

primjer mikrobnog procesa: industrijska proizvodnja limunske kiseline (15)

- **procesi poslije bioreaktora**

Svjetska proizvodnja limunske kiseline iznosi oko 700,000 t godišnje.

(KOLIKO BI TO BILO “NAŠIH” POGONA?)

Svjetsko tržište je vrijedno oko 700 milijuna US dolara.

Oko 60 % koristi se u prehrambenoj industriji, jer ima GRAS (Generally Regarded As Safe) status kao i octena, mliječna i vinska kiselina.

Octena i mliječna kiselina također se proizvode mikrobnim procesima, a vinska se dobiva iz vinskog kamena (sporedni proizvod u proizvodnji vina).

I neki mikroorganizmi imaju GRAS status (pekarski kvasac, BMK, bakterije octene kiseline).

domaća zadaća

1. Koliki je $Y_{X/S}$ bioprocesa za proizvodnju limunske kiseline?
2. Koliki je stvarni, a koliki je teorijski $Y_{P/S}$ u bioreaktoru za proizvodnju limunske kiseline?
3. Koji su osnovni postupci u *downstream processing*-u kod proizvodnje limunske kiseline?
4. Što je filtracija?
5. Što je taloženje?
6. Opišite rotirajući vakuum filter.
7. Koje se filtracijsko sredstvo koristi kod filtracije biomase u proizvodnji limunske kiseline?
8. Koja taložna sredstva se koriste za taloženje kalcijeva citrata?
9. Koji talog nastaje otapanjem kalcijeva citrata u sulfatnoj kiselini?
10. Koliki su gubici limunske kiseline tijekom *downstream processing*-a?
11. Što je to GRAS status?
12. Koji mikroorganizmi imaju GRAS status?