



# BIOTEHNOLOGIJA 2

akademska godina  
2019/2020.



Izv. prof. dr. sc. Sunčica Beluhan

**sunbel@pbf.hr**

Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo,  
industrijsku mikrobiologiju i  
tehnologiju slada i piva

Zavod za biokemijsko inženjerstvo  
(Pierottijeva 6/IV; Pierotijeva 6/V)

Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišta u Zagrebu



# BIOTEHNOLOGIJA 2

koordinator modula:

Izv. prof. dr. sc. Sunčica  
Beluhan

nastavnici:

Izv. prof. dr. sc. Sunčica Beluhan  
Prof. dr. sc. Vlatka Petravić Tominac



# BIOTEHNOLOGIJA 2

- ECTS: 6
- SATNICA: 20 + 20 + 40
- NASTAVA / SEMINARI:  
petkom, 8,30 - 10,45 predavaonica 2

VJEŽBE: prema rasporedu

## ISPITI:

2 parcijalna ispita (06. 12. 2019/17.01. 2020.)  
2 popravna ispita (zimski semestar)  
(31. 01./2020. 07. 02. 2020.)  
2 popravna ispita (ljetni semestar)  
(lipanj/srpanj 2019.)  
2 ispita pred povjerenstvom (srpanj i rujan  
2019.)



## Parcijalni i popravni ispiti

- 2 računska zadatka - svaki po 10 bodova
- 5 teorijskih pitanja - svaki po 4 boda

- **UKUPNO 40 BODOVA**

60 % potrebno za prolaz

24 - 27 - dovoljan (2)

28 - 32 - dobar (3)

33 - 36 - vrlo dobar (4)

37 - 40 - izvrstan (5)



# BIOTEHNOLOGIJA 2

- Obvezna literatura:  
Marić, V. (2000). Biotehnologija i sirovine
- Svi dodatni materijali u tiskanom obliku na predavanjima, kao i web adrese na kojima se može pročitati više!
- Skripta za vježbe u tiskanom obliku 2 tjedna prije termina vježbi
- **Parcijalni ispiti** su koncipirani izričito na gradivu koje je dostupno u elektronskom i tiskanom obliku!



# BIOTEHNOLOGIJA 2

## Plan rada (tjedno):

- predavanja/seminari (predavaonica 2):  
**potrebno ponijeti:** udžbenik, bilježnicu, kalkulator  
**trajanje:** 90 minuta/45 minuta
- vježbe (IV kat):  
**potrebno ponijeti:** kutu, skripta, bilježnicu, kalkulator  
**trajanje:** 180 minuta



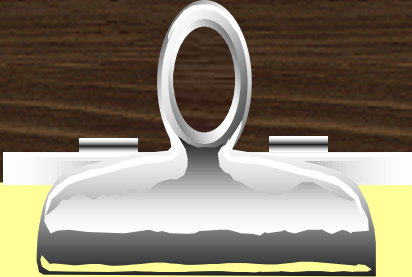
## Sadržaj modula (predavanja)

- Biotehnologija i opseg biotehnološke proizvodnje
- Hranjive podloge za mikrobnne procese
- Sirovine za hranjive podloge
- Izvori ugljika i energije
- Izvori dušika
- Izvori ostalih sastojaka
- Čuvanje i nadzor sirovina
- Priprema hranjivih podloga
- Proizvodnja ječmenog slada
- Proizvodnja šećernih sirupa i šećera iz škrobnih sirovina
- Ukomljavanje i hidroliza celuloznih i pektinskih sirovina





<b>Datum</b>	<b>Metodska jedinica predavanja</b>	<b>Metodska jedinica seminara</b>	<b>Nastavnik</b>
04. 10. 2019.	Biotehnologija i opseg biotehnološke proizvodnje. Hranjive podloge za mikrobne procese i kulture biljnih i životinjskih stanica		Beluhan
11. 10. 2019.	Enzimski pripravci i njihova uloga u biotehnološkoj preradi sirovina	Prikaz mikrobnog procesa pomoću kemijskih jednažbi	Beluhan
18. 10. 2019.	Podjela sirovina prema podrijetlu, značaju i udjelu biogenih elemenata	Elementarni sastav i bruto formula mikrobne biomase	Beluhan
25. 10. 2019.	Primarne, sekundarne i terciarne šećerne sirovine	Sastavljanje jednostavne i složene hranjive podloge za mikrobne procese	Petravić Tominac



<b>Datum</b>	<b>Metodska jedinica predavanja</b>	<b>Metodska jedinica seminara</b>	<b>Nastavnik</b>
08. 11. 2019.	Primarne, sekundarne i tercijarne dušične sirovine za hranjive podloge	Materijalna bilanca hranjive podloge 1	Petravić Tominac
15. 11. 2019.	Izvori ostalih sastojaka hranjivih podloga	Materijalna bilanca hranjive podloge 2	Petravić Tominac
22. 11. 2019.	Prihvat, čuvanje i nadzor sirovina te postupci prethodne obrade	Analitika sirovina i propisi o kvaliteti	Petravić Tominac
29. 11. 2019.	Proizvodnja ječmenog (pivskog ) slada	Dekstrozni ekvivalent, proračuni na bazi škroba, visokofruktoznog i maltoznog sirupa	Beluhan
<b>06. 12. 2019.</b>	<b>1. Parcijalni ispit</b>		Beluhan
13. 12. 2019.	Škrobne sirovine i proces hidrolize slađenih i neslađenih sirovina	Proračun podloge na bazi škroba za proizvodnju mliječne i octene kiseline, te organskih otapala	Beluhan
20. 12. 2019.	Lignocelulozne, inulinske i pektinske sirovine i njihova hidroliza	Ponavljjanje zadataka prije 2. parcijalnog ispita	Beluhan
<b>17. 01. 2020.</b>	<b>2. Parcijalni ispit</b>		Beluhan



**14. 10. 2019.** Početak vježbi (Beluhan; IV kat)

**10. 01. 2020.** Izlaganje seminarskih radova (Beluhan / Petravić Tominac)

**31. 01. 2020.** 1. popravni ispit (Beluhan / Petravić Tominac)

**14. 02. 2020.** 2. popravni ispit (Beluhan / Petravić Tominac)



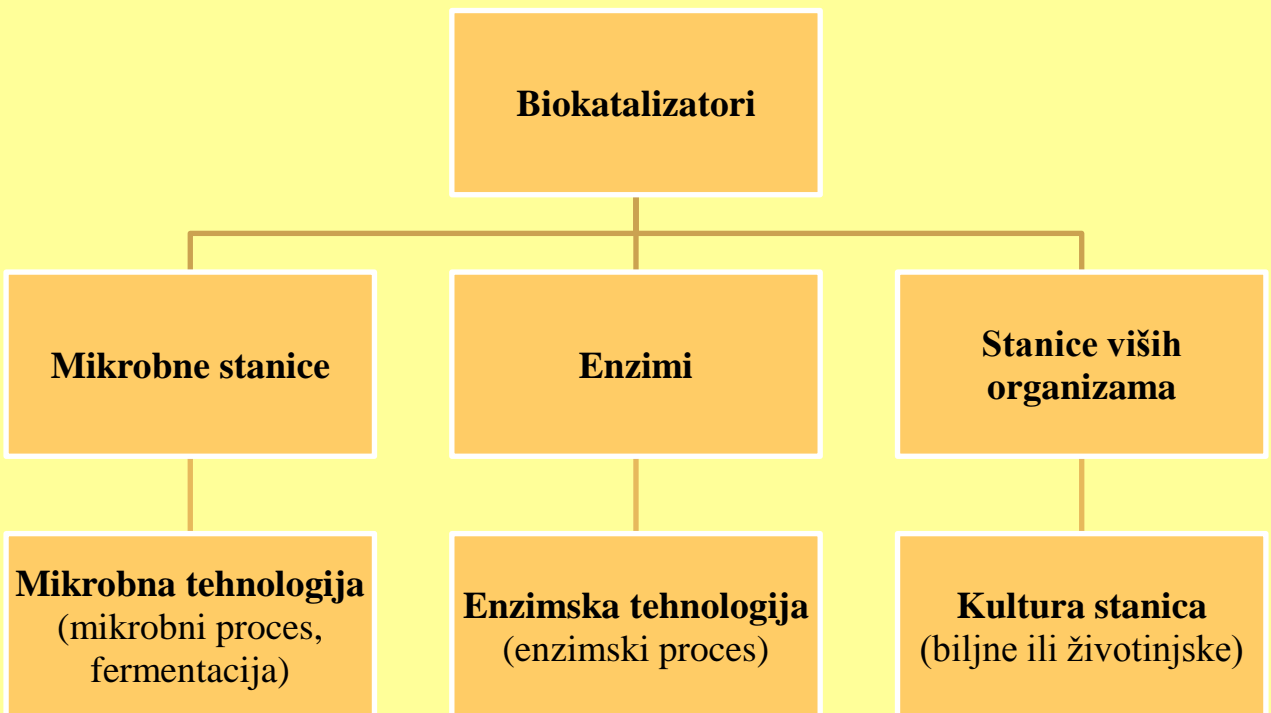
# Otac biotehnologije

1. definicija, 1919. godine, Karl Ereky:  
"Svi načini proizvodnje u kojima su produkti dobiveni iz sirovina uz dodatak živih organizama"





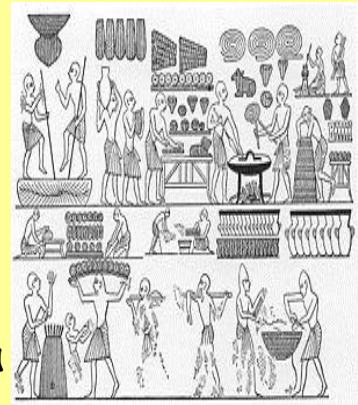
# Podjela biotehnoloških procesa



# Razvoj biotehnologije

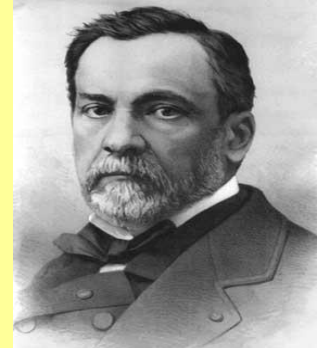
## 1. Razdoblje prije Pasteura, do 1865.

- alkoholna pića i kruh (Sumerani, 6000 g., Egipćani 4000 g. prije Krista), mliječni proizvodi (jogurt, prije 4 500 g. i druga fermentirana hrana (sirevi), ocat



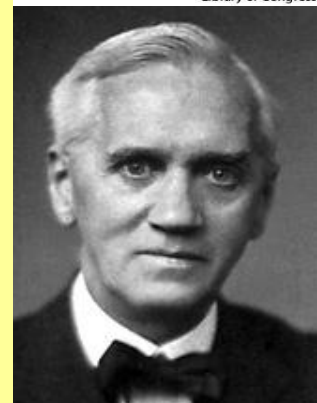
## 2. Pasteurovo razdoblje, 1865-1940.

- etanol, butanol, aceton, glicerol, limunska kiselina, aerobna obrada otpadne vode



## 3. Antibiotičko razdoblje, 1940-1960.

- penicilin i drugi antibiotici (Flemming, 1945. Nobelova nagrada),  
- tehnologija kulture životinjskih stanica (virusna cjepiva)





## Razvoj biotehnologije

### 4. Postantibiotičko razdoblje, 1960-1975.

- aminokiseline, SCP, enzimi za proizvodnju deterdženata i razgradnju škroba, tehnologija imobiliziranih enzima i stanica, bakterijski polisaharidi (ksantan), etanol kao gorivo (gasohol), biološki insekticidi

### 5. Razdoblje novih biotehnologija, 1975-?

- monoklonska protutijela, genetičko inženjerstvo (inzulin, hormoni rasta, rekombinantni proteini)

- kultura tkiva, biljnih i životinjskih stanica, proteinsko inženjerstvo, imobilizirane stanice i enzimi, biosenzori, upravljanje fermentacijama putem računala...



## Osnovne postavke

- **STANICA** - Osnovni strukturni i funkcionalni oblik svakog živog organizma
- **BIOMASA** - rezultat razmnožavanja stanica, ukupna masa živih stanica u populaciji
- **NEKROMASA** - mrtve stanice
- **SUPSTRAT** - kemijski spojevi, izvor energije i hranjiva potrebnih za rast i razmnožavanje stanica





# Podjela biotehnoloških procesa prema biokemijskim reakcijama

## 1. Jednostavne oksidoredukcije:

glukoza → glukonska kiselina

## 2. Složene oksidoredukcije:

glukoza → piruvat → etanol

## 3. Polimerizacije:

glukoza → dekstran

## 4. Biosinteza:

glukoza → antibiotici, enzimi, vitamini...  
mikrobne biomase



# Biotehnološki proizvodi

- Možemo ih razvrstati u 7 osnovnih skupina ovisno o:

1. uporabljenim sirovinama za pripremu hranjive podloge
2. vrsti stanica
3. postupku vođenja biotehnološkog procesa
4. tipu biokemijskih reakcija i nastalih produkata



## 1. Hranjiva podloga s mikrobnim stanicama

- fermentirana pića i hrana (mlado vino, nefiltrirano pivo, kefir, jogurt i ostali fermentirani tekući mliječni proizvodi, sirevi, trajne salame, kupus, itd.)
- Proizvodi sadrže etanol, mliječnu kiselinu, stanice mikroorganizama (kvasci, bakterije octene i mliječne kiseline)

## 2. Izbistrena hranjiva podloga bez mikrobnih stanica

- Dozrela i doradena, pročišćena alkoholna pića iz kojih su filtriranjem uklonjeni kvasci ili bakterije kako bi im se povećala trajnost i stabilizirala organoleptička svojstva (pivo, vino, ocat).



### 3. Mikrobne biomase

- Proizvod ili nusproizvod iz mikrobnih kultura odgovarajućim postupkom izdvajanja (taloženje, centrifugiranje, filtriranje)
- Pekarski kvasac (ciljano vođen uzgoj za dobivanje biomase)
- Proizvodnja etanola (kvasac kao nusproizvod)
- Bakterijske biomase i biomase algi
- Mikrobne starter-kulture (fermentirane namirnice, probiotici, biološka gnojiva, biološki insekticidi, biološka obrada otpadnih voda)



## 4. Proizvodi metabolizma nakupljeni u hranjivoj podlozi ili u mikrobnjoj biomasi

- Primarni metaboliti (potrebni stanici za rast)
- Sekundarni metaboliti (nepotrebni za rast) - izlučuju se u hranjivu podlogu - izdvajanje (većina temeljni biotehnološki proizvodi):
  - **aminokiseline** (L-glu; L-lizin; L-metionin; L-triptofan)
  - **antibiotici** (eritromicin, kloramfenikol; neomicin...)
  - **enzimi** (amilaze, celulaze, proteaze, lipaze...)
  - **goriva** (etanol, metan, vodik)
  - **organske kiseline** (mliječna, limunska, jabučna, octena)
  - **organska otapala** (aceton, butanol, etanol, glicerol)
  - **polimeri** (dekstrani, pululani)
  - **vitamini i faktori rasta** (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>, giberelinska kis.)
  - **ostali proizvodi** (nukleotidi, nukleozidi, insekticidi...)
- Temeljni biotehnološki proizvodi - proizvode se u velikim količinama (t) - cijena relativno niska



## 5. Proizvodi biotransformacija

- Brojni proizvodi nastali kao rezultat jednostavnih ili složenih oksidoredukcija
- Biokonverzija ili biotransformacija odabranih supstrata u potpuno jasno određene proizvode
- Primjena vegetativnih mikrobnih, biljnih i životinjskih stanica koje rastu ili miruju, primjenom enzima iz stanica ili komercijalnih enzimskih pripravaka
- Komercijalni enzimski pripravci:
  - visoka specifičnost
  - povećana učinkovitost
  - jednostavnost postupka
  - mogućnost ponovne uporabe biokatalizatora
  - nema ostataka hranjive podloge i mikrobnog biomase
  - manje nusproizvoda i otpadnih voda
- Proizvodnja finih kemikalija



## 6. Proizvodi genetički preinačenih organizama

- Genetičko inženjerstvo je znanstvena disciplina utemeljena na tehnologiji rekombinantne DNA i molekularnom kloniranju
- Oplemenjivanjem prirodnih i stvaranjem (konstruiranjem) novih organizama mogu se proizvoditi novi, prije nepoznati biotehnološki proizvodi
- Proizvodi dobiveni mikrobnom tehnologijom i uzgojem biljnih i životinjskih stanica: prehrambeni aditivi, enzimi, humani inzulin, hormon rasta,  $\alpha$  i  $\gamma$  inzulin, monoklonska protutijela, virusna cjepiva, virusni insekticidi, itd.



## 7. Proizvodi kultura životinjskih i biljnih stanica

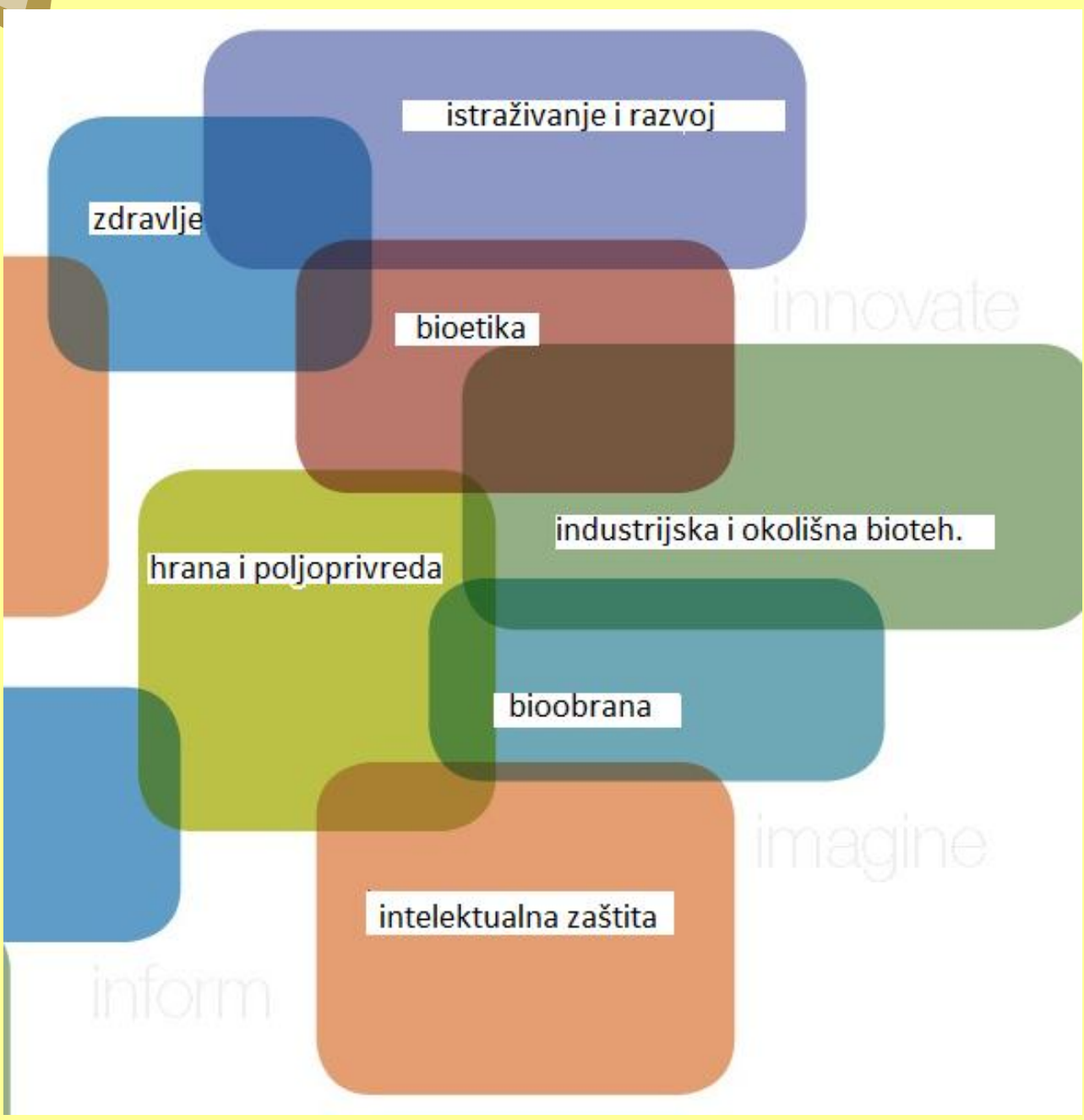
- "Fini" proizvodi visoke dodane vrijednosti
- Životinjske stanice: visoko-molekularni proteinski spojevi
- Biljne stanice: mala ili srednje-molekulska masa
- Tehnologija uzgoja biljnih i životinjskih stanica omogućuje:
  - alternativni put dobivanja nekih poznatih biotehnoloških produkata
  - nove proizvode koji nisu ili ne bi bili tržišno konkurentni da su proizvedeni iz biljnih ili životinjskih stanica
  - izvor enzima za biotransformacije - jeftine sirovine postaju proizvodi visoke dodane vrijednosti



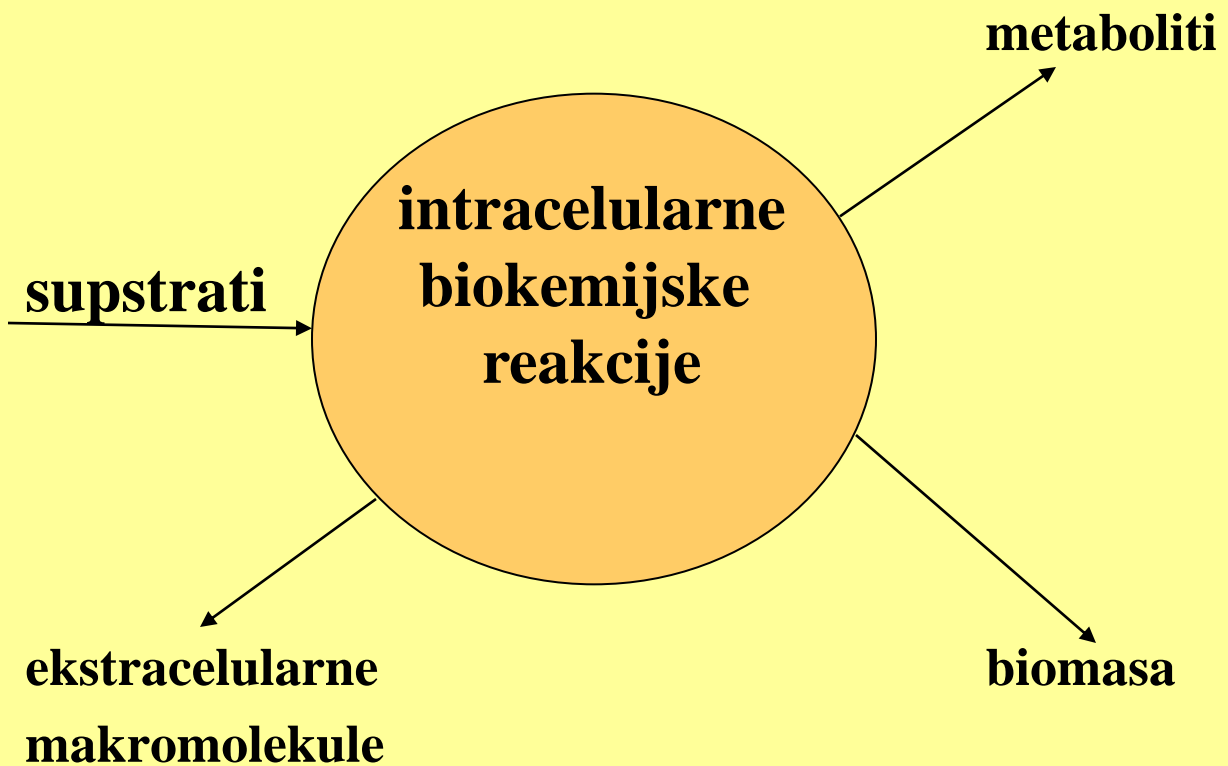


## Sirovinska osnova biotehnologije

- Supstrati: organski i neki anorganski - potrebni za rast mikroorganizma (umnožavanje) i/ili proizvodnju metabolita
- **Prirodni**, npr. mlijeko ili voćni sokovi (jogurt i vino)
- **Umjetni**, kemijski definirani - skupi - ciljano odabrani za proizvodnju finih kemikalija
- Sirovine: biljnog i životinjskog porijekla
  - biljno: žitarice, melasa, sirutka, slama, kukuruzovina, itd.
  - životinjsko: pepton, kazein, mesno brašno



# Opća shema staničnog rasta i nastajanja proizvoda





## Koeficijenti konverzije

- **Supstrata u biomasu**

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (\text{g/g; kg/kg})$$

$X$  = konc. biomase na kraju procesa (g/L)

$X_0$  = konc. biomase na početku (inokuluma) (g/L)

$S_0$  = konc. supstrata na početku (g/L)

$S$  = konc. preostalog supstrata (g/L)

- **Supstrata u proizvod**

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (\text{g/g; kg/kg})$$

$P$  = konc. proizvoda na kraju procesa (g/L)

$P_0$  = konc. proizvoda na početku (g/L)

$S_0$  = konc. supstrata na početku (g/L)

$S$  = konc. preostalog supstrata (g/L)