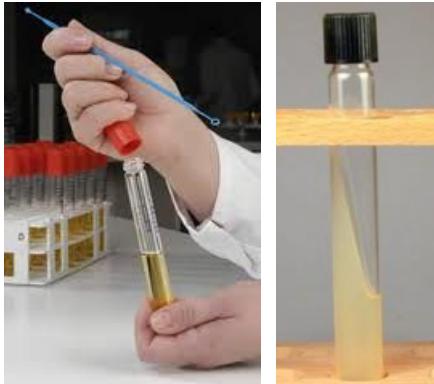


BIOTEHNOLOGIJA 2  
akademska godina 2012/13.

## IZVORI UGLJIIKA I ENERGIJE

Dr.sc. Vlatka Petravić Tominac, docentica  
[vpetrav@pbf.hr](mailto:vpetrav@pbf.hr)





## IZVORI UGLJIKA I ENERGIJE

- ❖ monosaharidi i oligosaharidi
- ❖ polisaharidi
- ❖ alkoholi
- ❖ karboksilne kiseline
- ❖ masti
- ❖ ugljikovodici
- ❖ ugljen
- ❖ plinoviti izvori ugljika i energije

## PRIMARNE BILJNE SIROVINE

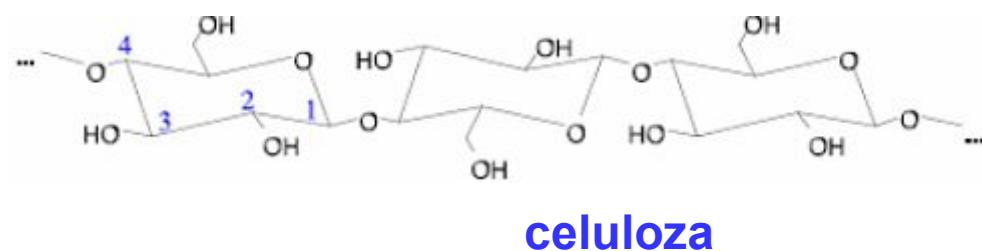
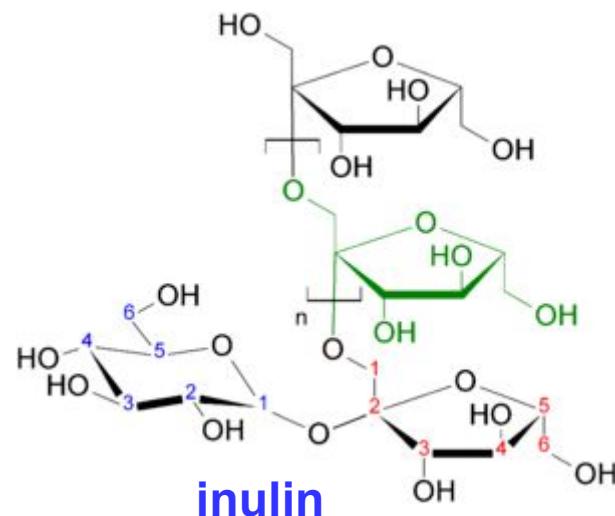
Primarne biljne sirovine su prije svega izvori energije i ugljika.



Grožđe i dr. voće sadrži: monosaharide, disaharide, druge sastojke topljive u vodi.

Nakon ukomljavanja → složene podloge koje podliježu alkoholnoj fermentaciji.

Polisaharidi (škrob, inulin, celuloza) - većina industrijskih mikroorganizama ne može ih koristiti kao izvore energije i ugljika → treba ih hidrolizirati do mono - i oligosaharida.



## **Provođenje hidrolize polisaharida**

**Kemijski**  
**(pomoću kiselina ili lužina)**

**Biokemijski**  
**(enzimski - prednost za**  
**mikrobne procese! )**



**Enzimskoj hidrolizi prethodi priprema supstrata, tj. provođenje polisaharida u vodotopljiv oblik ili priprema za ekstrakciju s vodom.**

## PRIPREMA ŽITARICA – 2 moguća načina:



### 1. Močenje i klijanje namočenog zrna

- u zrnu se sintetiziraju hidrolitički enzimi, a veći dio škroba prelazi u vodotopljiv oblik (proces sladjenja ili sladovanja).
- prerada ječmenog, pšeničnog i prosenog zrna u slad (u proizvodnji piva i žitnih rakija).

### 2. Močenje čitavog ili ukomljavanje usitnjenog zrna te zatim toplinska obrada (kuhanje) namočenog zrna ili komine

- škrob prelazi u škrobni lijepak (postupak klajsterizacije) i otapa se u vodi
- pri obradi svih neslađenih žitarica, gomoljika ili drugih biljnih sirovina koje sadrže škrob, inulin i celulozu (primjena za pripremu mikrobnih podloga ili za proizvodnju mono- i oligosaharida).

## SEKUNDARNE BILJNE SIROVINE

- su **nusproizvodi dobiveni industrijskom preradom primarnih sirovina,** (poljoprivrednih proizvoda poput šećerne repe, kukuruza, soje, itd.)
  - vrlo često mogu poslužiti ne samo kao **izvori ugljika** nego isto tako i kao **izvori dušika i drugih kemijskih elemenata te nekih faktora rasta.**
  - obično su topljni u vodi ili se njihovi vrijedni sastojci mogu ekstrahirati s vodom → mogu se primjeniti kao sastojci hranjivih podloga
  - neke od njih (npr. melasa) ponekad zahtijevaju odgovarajući postupak obrade
- 
- **Otpatci iz poljoprivredne i industrijske proizvodnje** - rijetko nalaze primjenu u mikrobnoj proizvodnji industrijskih proizvoda
  - sadrže veliki broj različitih hranjivih sastojaka, pa su pogodni za samostalno odnosno kombinirano **siliranje** (biološki konzervirana krmiva), **kompostiranje** (biološka gnojiva) ili **proizvodnju bioplina ( $\text{CH}_4 + \text{CO}_2$ )**.



# MONOSAHARIDI I OLIGOSAHARIDI



# **MONOSAHARIDI I OLIGOSAHARIDI**

D-glukoza

D-fruktoza

glukozni sirup

D-ksiloza

maltoza

saharoza

laktoza

**složeni izvori glukoze, drugih šećera, dušikovih i mineralnih tvari**

**(sladni ekstrakt, drugi šećerni sirupi, hidrol, voće, grožđe, povrće, melasa, pulpa šećerne repe i trske, sulfitna lužina, hidrolizati drva, mlijeko, sirutka, ostali otpadni izvori ugljika)**

glukoza  
fruktoza  
saharoza  
maltoza



idealni izvori energije i ugljika za većinu  
biotehnoloških procesa

mikroorganizmi ih **lako asimiliraju i/ili fermentiraju**



**Visoka cijena čistih šećera !**

→ zato se češće primjenjuju:

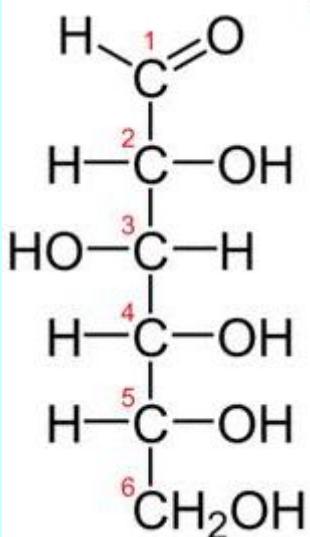
- prirodni izvori šećera (voćne i grožđane komine ili sokovi),
- tekući šećeri (šećerni sirupi iz kukuruza, ječma i krumpira, sladni ekstrakt),
- sekundarni izvori (melasa, hidrol, kukuruzna močevina) ili čak otpadni materijali (voćni trop, sulfitna lužina).



Glukoza i fruktoza su sastojci su svakog voća, a najviše ih ima u grožđu.

### D-glukoza

#### DOBIVANJE:



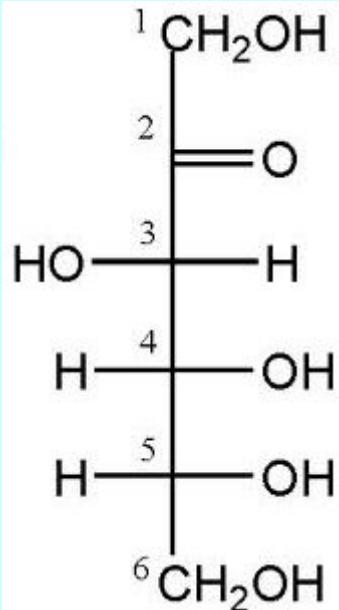
D-glukoza

- kiselinskom ili enzimskom hidrolizom škroba
- pojavljuje se na tržištu pod različitim nazivima

**Glukoza i fruktoza su skuplje od saharoze! → čista glukoza ili glukozni sirup samo za proizvodnju skupljih proizvoda.**

**NAJČEŠĆE** se koristi **glukoza-monohidrat**  
(stari naziv **dekstrozni monohidrat**).

**Obratiti pažnju pri sterilizaciji** glukoznih otopina koje sadrže **proteine, aminokiseline ili amonijeve ione te fosfate** (nepoželjne reakcije - nastaju obojeni spojevi koje mikroorganizmi ne mogu asimilirati).



D-fruktoza

## D-fruktoza

**DOBIVANJE:** inverzijom saharoze

ili

izomerizacijom glukoze.

Čista fruktoza se ne primjenjuje kao sirovina u industrijskim procesima,

ALI

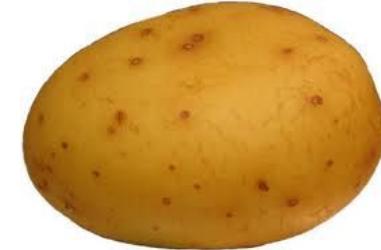
u nekim slučajevima se koriste visokofruktozni sirupi dobiveni izomerizacijom glukoznog sirupa (kada to ekonomika procesa dopušta).

## Glukozni sirup

- komercijalni proizvod

**SASTAV:** 70 do 74 % suhe tvari, od toga 99 % glukoze  
(ovisno o proizvođaču i tipu proizvoda).

**DOBIVANJE:** kiselinskom, enzimskom ili  
kiselinsko-enzimskom hidrolizom **kukuruznog ili krumpirovog škroba.**

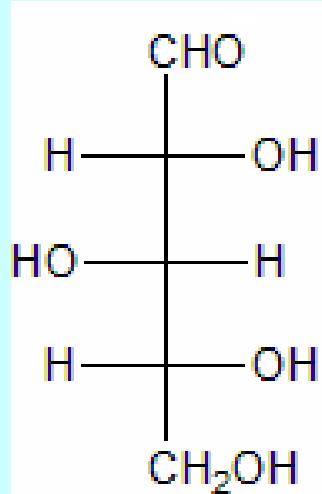


**Udio glukoze u suhoj tvari sirupa ovisi o dekstroznom ekvivalentu  
(tzv. DE vrijednost sirupa).**

Dekstrozni ekvivalent je stupanj depolimerizacije škroba odnosno  
reduksijska snaga glukoze u 100 g suhe tvari sirupa.

DE vrijednost čiste glukoze je 100.

Prema tome, što je DE vrijednost sirupa viša to znači da je udjel glukoze u njemu veći.



D-ksiloza

## D-ksiloza

- pentozni šećer

**Gdje se može naći?**

- u prirodi kao sastojak **hemiceluloze** (obnovljivi izvor ugljika!)
- u **sulfitnoj lužini** (otpad pri dobivanju celuloze).

U **čistom obliku** koristi se u hranjivim podlogama sa škrobom ili glukozom (služi kao induktor pri proizvodnji enzima glukoza-izomeraze).

*Kluyveromyces marxianus*

*Pichia stipitis*

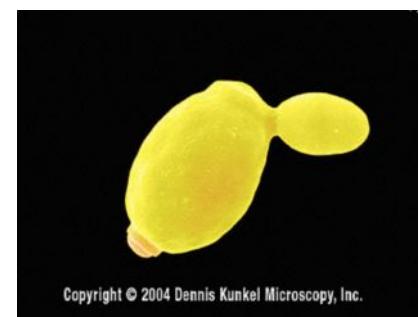
*Candida shehatae*

*Saccharomyces cerevisiae*

*Candida tropicalis*

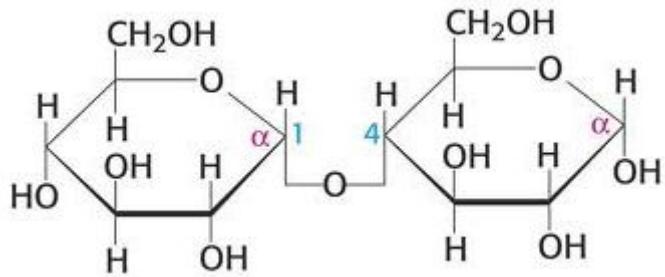
Ovi kvasci mogu fermentirati ksilozu do etanola !

Za ove kvasce potrebna je prethodna enzimska konverzija ksiloze u ksilulozu.



Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

## Maltoza



- reducirajući disaharid,
- sastavljen od dvije jedinice **D-glukoze** vezane  **$\alpha$ -1,4-glikozidnom vezom**

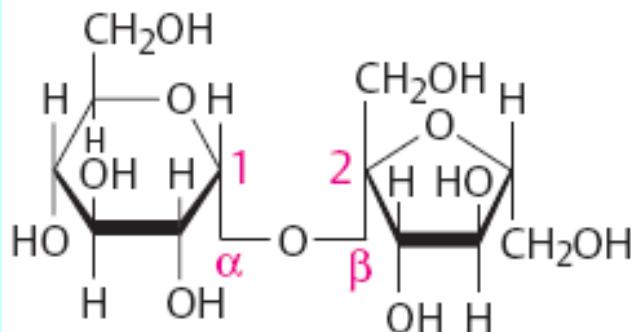
### DOBIVANJE:

- proizvod enzimske razgradnje škroba
- može se dobiti u čvrstom ili tekućem obliku

### Gdje se može naći?

- prisutna u svim šećernim sirupima i hranjivim podlogama čija priprema uključuje hidrolizu škrobnih sirovina

U biotehnološkoj proizvodnji ne primjenjuje se u čistom obliku (ekonomski razlozi !)



## Saharoza

Nereducirajući disaharid, **D-glukoza i D-fruktoza** spojene glikozidnom vezom između C-1 glukoze i C-2 fruktoze.



**DOBIVANJE:** industrijskom preradom šećerne repe i šećerne trske, različitog stupnja čistoće.

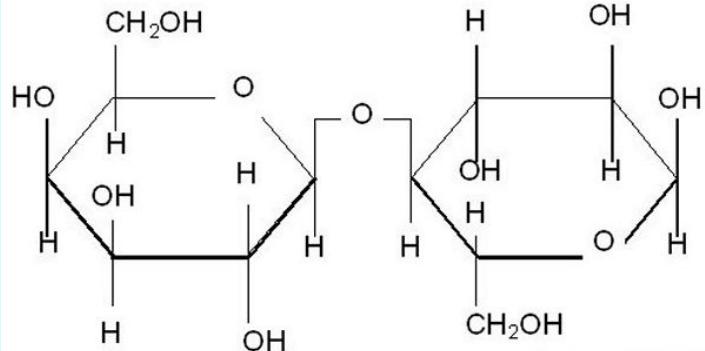
Za biotehnološke procese može se koristiti:

- sirovi (žuti),
- rafinirani (konzumni) šećer
- melasa (nuzproizvod šećerne industrije)



O stupnju čistoće saharoze ovisi za koji tip biotehnološkog proizvoda se ona može primjeniti.

Primjenom konzumne saharoze u submerznoj proizvodnji (npr. limunske i mliječne kiseline) lakši je postupak izdvajanja i pročišćavanja ovih kiselina za prehrambene svrhe.



**Laktoza** - reducirajući disaharid

- **D-glukoza i D-galakoza** spojene **β-1,4-glikozidnom vezom**
- prirodni sastojak mlijeka sisavaca (3 - 8 %).



**DOBIVANJE:** - iz slatke sirutke, koja je nusproizvod pri proizvodnji sira  
 - iskorištenje 70 % obzirom na laktuzu prisutnu u sirutki, čistoća 90 do 95 %



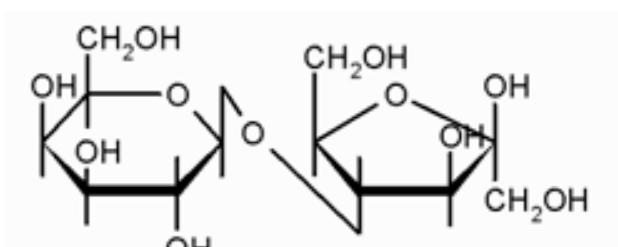
**Noviji postupci:** iz sirutke se prethodno izdvajaju proteini reverznom osmozom.

## LAKTOZU MOGU ASIMILIRATI:

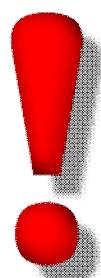
- samo neki prokariotski mikroorganizmi (bakterije mlijecne kiseline, *Enterobacteriaceae* i nekoliko drugih)
- odabrani kvasci (*Kluyveromyces fragilis*) i pljesni (*Penicillium*).

Kao izvor ugljika u hranjivim podlogama lakoza pokazuje **minimalnu represiju** → može se primjenjivati u višim koncentracijama nego drugi šećeri !

Relativno se sporo asimilira → pogodan je izvor ugljika za proizvodnju sekundarnih metabolita (npr. penicilina, ili enzima, npr. alkalne proteaze).



laktuloza



Prilikom sterilizacije u složenim podlogama, lakoza djelomice prelazi u **laktuluzu**, koja se ne može asimilirati → značajan gubitak (do 30 %).

# SLOŽENI IZVORI GLUKOZE, DRUGIH ŠEĆERA, DUŠIKOVIH I MINERALNIH TVARI

## Složeni prirodni supstrati

- koriste se često kao izvori ugljika za hranjive podloge (umjesto čistih monosaharida i oligosaharida)
- osim glukoze i drugih šećera sadrže dušične i mineralne tvari

sladni ekstrakt

grožđe

voće

povrće

mlijeko

potpune složene prirodne podloge  
(pokrivaju sve potrebe mikroorganizama)

šećerni sirupi

melasa

hidrol

sulfitna lužina

hidrolizati drveta

sirutka itd.

upotrebljavaju se kao **osnovni sastojci**  
također složenih, ali ipak na umjetni način  
sastavljenih, hranjivih podloga

## **SLADNI EKSTRAKT** (vodeni ekstrakt ječmenog slada)

- izvrstan složeni izvor ugljika za mnoge mikroorganizme

**SASTAV suhog sladnog ekstrakta:**

- 90 - 92 % ugljikohidrata: heksoze (glukoza, fruktoza)
  - disaharidi (maltoza, saharoza)
  - trisaharidi (maltotrioza)
  - dekstrin
- spojevi s dušikom: proteini, peptidi, aminokiseline, purini, pirimidini
- vitamini
- faktori rasta

Hranjive podloge na bazi sladnog ekstrakta moraju se **pažljivo sterilizirati!**

Pregrijavanje → nepoželjne Maillard-ove reakcije:

**amino-skupine + karbonilne -skupine → smeđi kondenzacijski spojevi**  
**(nepogodan supstrat za rast mikroorganizama → smanjenje prinosa).**

## DRUGI ŠEĆERNI SIRUPI

### DOBIVANJE ŠEĆERNIH SIRUPA:

1. hidroliza različitih škrobnih sirovina (kukuruz, ječam, krumpir)



2. uparavanje dobivenih ekstrakata do 75 % suhe tvari ili više.

Udjel šećera (glukoza, maltoza, maltotriosa) ovisi o stupnju konverzije škroba u šećere.

S porastom stupnja konverzije odnosno DE vrijednosti raste fermentabilnost sirupa, a opada viskoznost.

Tzv. visokofruktozni sirupi dobivaju se izomerizacijom glukoze u fruktozu.

- visokofruktozni sirup sadrži do 50 % fruktoze i isto toliko glukoze
- primjena u pivarstvu (djelomična zamjena za slad)

## HIDROL

- sirupasti ostatak pri proizvodnji glukoze iz škrobnih sirovina (žitna melasa)
- ima 50 do 55 % suhe tvari od čega je 68 do 78 % glukoze, a ostatak su nefermentabilni sastojci, uglavnom dekstrini i genciobioza
- primjena hidrola (fermola) u proizvodnji proteaza, penicilina i pekarskog kvasca

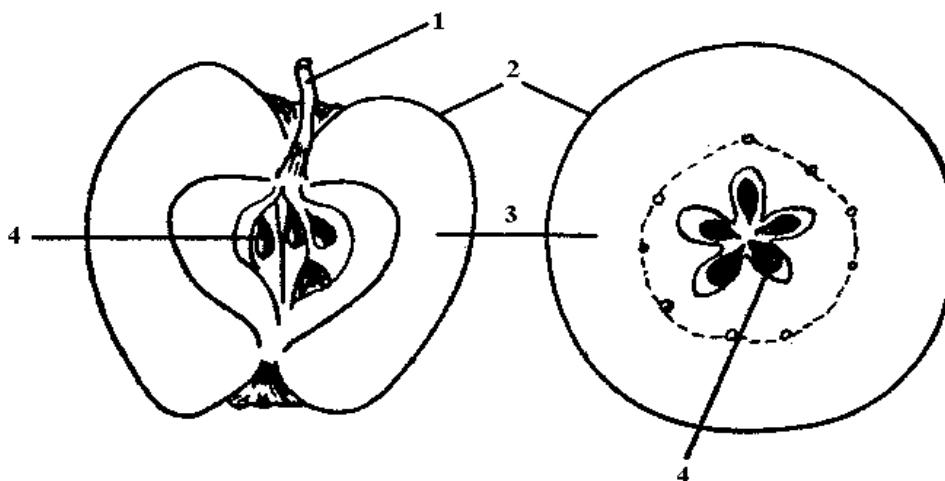




## VOĆE

**Plodovi različitog voća - dobar izvor ugljika i energije u hranjivim podlogama.**

**Sastav ploda voća (s tehnološkog stajališta):  
peteljka, pokožice, meso i sjemeke ili koštice (slika 6.1.).**



**Građa ploda jabuke:** 1 - peteljka,  
2 - pokožica,  
3 - meso,  
4 - sjemenke

**Najkorisniji je njegov mesnati dio, meso (mezokarp) koji se sastoji od rastresito povezanih stanica parenhima.**

**Stanice parenhima su obavijene staničnom stijenkom od pektinskih tvari i hemiceluloze, a ispunjene su sokom.**

## najznačajniji anorganski sastojci

### Kemijski sastav ploda voća:

anorganski i organski sastojci

- {
  - voda** 75 - 90 % (ovisno o vrsti voća, klimatskim uvjetima u vrijeme berbe)
    - Velik udjel vode → ograničena trajnost voća**
  - mineralni sastojci** 0,15 do 80 %
    - pretežno prisutni u obliku soli organskih kiselina
      - **makroelementi** (K, P, Ca, S, Mg, Fe),
      - **mikroelementi** (B, Mn, Zn, Cu, Mo, Co)

### Šećeri (uglavnom fruktoza, glukoza i manje saharoza)

- voće je bogato šećerima, a njihov udjel i vrsta ovisi o vrsti, sortnim karakteristikama i tehnološkoj zrelosti voća.

**Stupanj zrelosti plodova** - povezan s udjelom organskih kiselina ili odnosom ukupnih šećera i ukupnih kiselina.

Voćni plodove sadrže najviše **limunske i jabučne kiseline**.

## **Voćni sok**

**(dobiva se tiještenjem čitavog ili usitnjenog voća)**

## **Voćna kaša**

**(dobiva se a pasiranjem)**

**Potpune hranjive podloge za mikrobnu proizvodnju voćnih vina i voćnih rakija!**



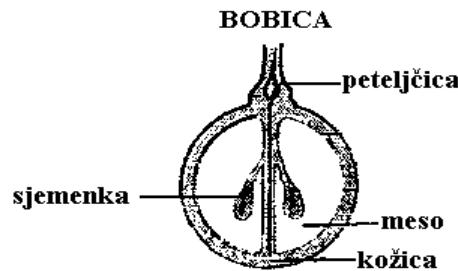
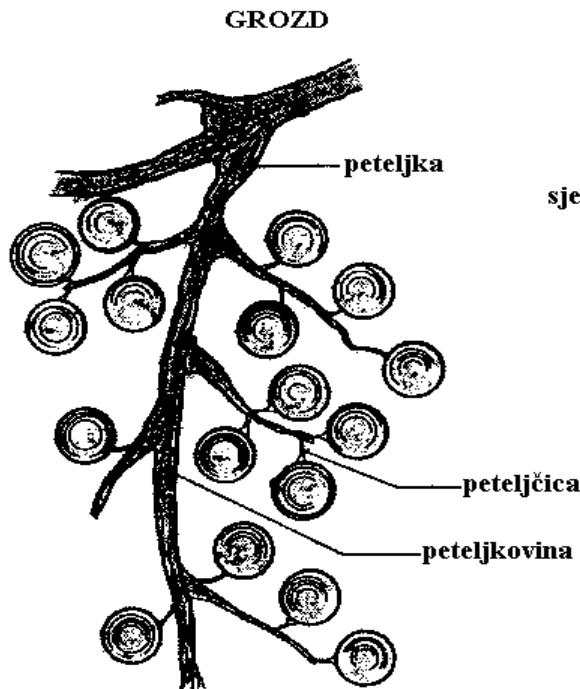
**Volumen soka, tj. kaše ovisi o vrsti i tehnološkoj zrelosti voća.**

**Nakon tiještenja voća dobivaju se voćni sokovi i voćni trop.**

**Npr. tiještenjem jabuka dobiva se jabučni trop (do 80 % vode) - zbog povoljnog kemijskog sastava suhe tvari može se iskoristiti kao sirovina za dobivanje biotehnoloških proizvoda (npr. krmna biomasa, etanol, enzimi).**

## GROŽĐE

- bobičasti plod vinove loze (*Vitis vinifera*) u obliku grozda.
- Grozd - 2 dijela – peteljkovina i bobice (jagode) u različitim udjelima.



### PETELJKOVINA

- čine ju **peteljka** i **peteljčice** (dio peteljke koji nose bobice).
- značajni udjeli **polifenola** i **tanina**

### BOBICE

- sastoje se od **kožica**, **mesa** i **sjemenki**;
- njihovi udjeli i kemijski sastav variraju, ovisno o sorti i zrelosti grožđa.

### MESO BOBICA - velike stanice;

- fina **celulozno-pektinska membrana** (0,3 do 0,5 % težine bobice);
- ispunjene su grožđanim sokom - moštom.

## KOŽICA

- na površini : mikroflora grožđa (kvasci, bakterije, pljesni);
- kemijski sastojci kožice: kiseline, polifenoli, ostale obojene, mineralne i aromatične tvari (odgovorni za boju, okus i miris proizvoda iz grožđa).

## Aromatični sastojci (eterična ulja i esteri)

- svojstveni pojedinim sortama vinove loze
- obično više zastupljeni u kožici nego u mesu bobice
- kožica crnih sorti je bogatija polifenolima i bojom nego kožica bijelih sorti
- boja crnih / crvenih sorti potječe od antocijana, a bijelih od flavona.

## SJEMENKE

- vinske sorte grožđa - različit broj sjemenki u bobicama.

Dijelovi sjemenke: masna jezgra, drvenasta lјuska obavijena taninskom pokožicom.

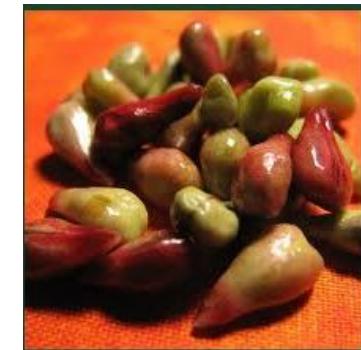
**Kemijski sastav sjemenki:** 25 - 50 % vode

30 - 35 % ugljikohidrata

12 - 20 % ulja

3 - 6 % tanina

2 - 5 % mineralnih sastojaka



## **GLAVNI SASTOJCI GROŽĐANOOG SOKA:**

**Šećeri** (ukupno 170 – 190 g/L, može do 250 g/L): prisutne su podjednako **glukoza i fruktoza** (u zrelom je grožđu nešto više fruktoze od glukoze), vrlo malo saharoze (1-3 g/L).

**Organske kiseline:** prevladavaju **vinska, jabučna, limunska i jantarna kiselina.**



Ako je prisutna plemenita pljesan ***Botrytis cinerea*** (grožđe kasne berbe):

- pojavljuje se i **glukonska kiselina**,
- koncentracija limunske može biti znatno veća .

**Dušik:** 500 - 1500 mg dušika/kg bobica (25 - 30 % od toga su proteini)

- taj dušik najvećim dijelom prelazi u mošt

**Vitamini:** C-vitamin, vitamini **B-skupine**.

**Mineralni sastojci :** preko 30 različitih kemijskih elemenata  
(najviše kalija, kalcija, magnezija i fosfora)

Mošt se može smatrati složenom prirodnom podlogom, koja pokriva sve hranidbene potrebe kvasca.



## POVRĆE



### Povrće i povrtni sokovi

- nisu česta sirovina za pripremu hranjivih podloga.
- gotovo sve vrste svježeg povrća mogu se prevesti u **probavljiviji i trajniji oblik** pomoću bakterija mliječne kiseline (**BMK**) koje prevode šećere u **mliječnu kiselinu**.

**Sokovi korjenastog i zeljastog povrća - dovoljno hranjivih sastojaka za potrebe BMK (ne rastu bez faktora rasta, tj. mnogih vitamina i slobodnih aminokiselina).**



mrkva



pastrnjak



cikla



kupus



## MELASA

- nusproizvod šećerne industrije;

- sadrži **80 do 83 % suhe tvari** u kojoj prevladavaju šećeri (oko **50 %** od ukupne mase melase).
- gusta, vrlo viskozna,
- tamno obojena (zbog **melanoidina, karamelnih sastojaka i proizvoda alkalne razgradnje šećera**)
- česta sirovina u biotehnološkoj proizvodnji (npr. za pekarski kvasac, etanol, organske kiseline, antibiotike i enzime)
- najviše se koristi obična ili tzv. normalna repina i trščana melasa.

**Udjel suhe tvari i kemijski sastav melase može jako varirati, ovisno o:**



šećerna repa



šećerna trska

- porijeklu (repina ili trščana),
- tipu melase,
- tijeku kampanje prerade sirovina (posebno šećerne repe),
- načinu i trajanju skladištenja melase.

**Tablica 6.11. Kemijski sastav repine i trščane melase (Grba, 1999.)**

Sastojci (%)	Repinia melasa	Trščana melasa
Suha tvar	75 - 85	77 - 86
Ukupni šećer	46 - 55	50 - 60
Invertni šećer	0,5 - 1,0	10 - 30
Rafinoza	0,6 - 1,0	-
Dušik	0,8 - 2,5	0,4 - 1,5
Pepeo	5 - 10	7 - 11
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,02 - 0,07	0,6 - 2,0
CaO	0,3 - 0,7	0,1 - 1,1
K <sub>2</sub> O	2,2 - 4,5	2,6 - 5,0
Na <sub>2</sub> O	0,8 - 1,5	0,5 - 2,0
MgO	0,01 - 0,4	0,3 - 1,0
<b>Talog izdvojen centrifugiranjem (%)</b>	0,5 - 1,0	1,0 - 1,5

Sastojci (%)	Repinia melasa	Trščana melasa
<b>Oligoelementi (mg/kg)</b>		
Cink	30 - 50	5 - 20
Bakar	3 - 7	5 - 25
Željezo	50 - 100	150 - 500
Mangan	3 - 12	-
<b>Vitamini (mg/kg)</b>		
Tiamin	1 - 3	3 - 4
Riboflavin	0,1 - 0,7	2 - 3
Piridoksin	3 - 6	6 - 7
Nikotinamid	37 - 51	20 - 30
Ca-pantotenat	40 - 120	20 - 120
Folna kiselina	0,2 - 0,3	0,03 - 0,1
Biotin	0,01 - 0,12	0,8 - 1,8
Inozitol	5000 - 8000	5000 - 6000

**Tablica 6.12. Usporedni prikaz razlika između repine i trščane melase**

Sastojci	Repina melasa	Trščana melasa
Šećeri	prevladava saharoza, malo inverta i rafinoze	2/3 saharoza, 1/3 invert, nema rafinoze
Organski spojevi s N	oko 15 % od ukupnog N; isti udjel aminokiselinskog i betainskog dušika	oko 6 % od ukupnog N, uglavnom aminokiseline bez betaina
Ukupni N (%)	1,0 - 1,5	0,7 - 1,2
Razgradljivi N (%)	0,4 - 0,6	0,1 - 0,2
Organski nešećerni spojevi bez N (%)	4 – 5 (hemiceluloza, organske kiseline, melanoidini)	4 - 5 (slični sastojci kao kod repine melase)
Mineralni spojevi	variraju, prevladava K, manje P i Mg	slično, još manje P
Bitni faktori rasta (mg/kg)	myo-inozitol (5000 - 8000) pantotenska kiselina (50 - 100) tiamin (26 - 75) biotin (0,02 - 0,01)	myo-inozitol (2500 - 6000) pantotenska kiselina (15 -20) tiamin (manje) biotin (1 - 3)
pH	blago lužnat	slabo kiselo (4,4 - 6,0)
suspendirane čestice (%)	0,3 - 0,5	oko 1 i više

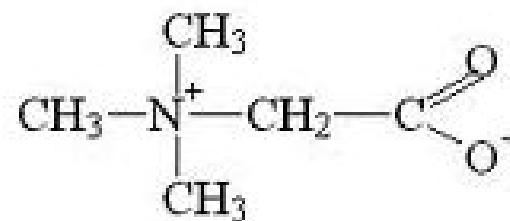
## RAZLIKE REPINE I TRŠČANE MELASE:

- ne toliko po udjelu ukupnih šećera koliko po vrsti šećera i drugih sastojaka

**Što je, osim izvora ugljika, odlučujuće za primjenu melase kao sirovine u mikrobnim procesima? (npr. za pekarski kvasac, etanol i limunsku kiselinu)**

**VAŽNO:** udjeli aminokiselina i ukupnog dušika, betainski dušik, stupanj čistoće, hlapljive organske kiseline, kalcij i puferski kapacitet melase.

**NEPOŽELJNO:** betain, hlapljive organske kiseline, kalcij, koloidi nastali od pektina i karamelnog pigmenta, teški metali, nitrati i nitriti,  $\text{SO}_2$ , pesticidi i preveliki broj životno sposobnih mikroorganizama.



**betain**

**KVALITETA MELASE varira tijekom kampanje prrade šećerne repe - najbolja se melasa dobiva od svježe repe.**

Skladištenjem iskopane repe prije prrade → promjene u repi → to se odražava i na pad kvalitete melase (naročito se smanjuje udio aminokiselinskog, a povećava udjel betainskog dušika).

**SASTAV MELASE iz suvremenih šećerana može se dosta razlikovati od sastava melase iz starih šećerana, a razlozi su:**

- povećana primjena gnojiva pri suvremenom uzgoju repe (→ melasa sadrži više dušikovih spojeva, pepela, kalcija i elektrolita)
- optimizacija tehnološkog procesa proizvodnje šećera u novije vrijeme (poboljšani postupci ekstrakcije šećera iz repe → manji udjel saharoze u melasi → pad prinosa i slabije iskorištenje melase u mikrobnim procesima).



## PULPA ŠEĆERNE REPE I TRSKE

Šećerna repa i trska mogu se izravno koristiti kao šećerne sirovine u nekim mikrobnim procesima (npr. industrijska proizvodnja etanola, pektinolitičkih i celulolitičkih enzima te proteinskih krmiva).

To su složeni supstrati čiji kemijski sastav može zadovoljiti hranidbene potrebe mikroorganizama.

Postupci pripreme hranjivih podloga iz njih se ne razlikuju od postupaka ukomljavanja voća:

usitnjavanje sirovina → pulpa → prešanje ili ekstrakcija šećernog soka

Ovisno o tipu proizvoda, kao hranjiva podloga se može koristiti pulpa, odnosno isprešani ili ekstrahirani sok.

## SULFITNA LUŽINA

- otpadak sulfitnog postupka prerade drveta u celulozu:

**Kuhanje usitnjene drvene otopine u prisutnosti bisulfita, vodika i kalcijevih iona u vodenoj otopini da bi se ekstrahirala celuloza te uklonio lignin i dio hemiceluloze.**

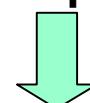
Pritom **sulfitna kiselina** (vodena otopina bisulfita) reagira s **ligninom** tvoreći topljivu **ligninsulfonsku kiselinu** pa gotovo polovica suhe tvari drveta prelazi u otopinu koja se naziva sulfitna lužina.

## KEMIJSKI SASTAV SULFITNE LUŽINE

- ovisi o vrsti drveta i tehnološkom postupku
- varira u ovim granicama (g/L): **reducirajući spojevi** 19,8 - 39,0
  - inhibiraju rast mikroorganizama**
  - slobodni  $\text{SO}_2$**  0,096 - 0,912
  - ukupni  $\text{SO}_2$**  0,416 - 1,888
  - slobodni furfural** 0,144 - 0,768
  - hlapljive kiseline (kao octena)** 0,537 - 6,15
  - pentoze** 5,5 - 20,0

hlapljive kiseline  
 $\text{SO}_2$   
furfural

} inhibiraju rast mikroorganizama,  
utječu na upotrebljivost sulfitne lužine kao izvora C



Obrada sulfitne lužine  
prije upotrebe  
(propuhivanje vrućim zrakom,  
uvodenje vodene pare i  
neutralizacija s  $\text{NH}_4\text{OH}$ )

} → smanjuje udjel nepoželjnih  
sastojaka  
→ manji inhibicijski učinak



Sulfitna lužina dobivena preradom četinara sadržava više heksoza  
(oko 30 % od ukupno prisutnih šećera) - glukoze, manoze i galaktoze.  
- pretežno se koristi kao supstrat za proizvodnju etanola.



U sulfitnoj lužini lisnjača prevladavaju pentoze.  
- povoljniji supstrat za proizvodnju biomase krmnih kvasaca  
(*Candida sp.*)



## KAKO POVEĆATI EKONOMIČNOST MIKROBNOG PROCESA NA SULFITNOJ LUŽINI?

U sulfitnoj lužini je relativno mali udio asimilativnih šećera i ponekad ga treba **povisiti**, npr.:

- a) dodatno **razgraditi lignosulfonate** (glavni sastojak sulfitne lužine) do manjih, asimilativnih jedinica (obrada ozonom);
- b) sulfitna lužina se **hidrolizira sumpornom kiselinom** → **povećava udjel** šećera koje mikroorganizmi mogu asimilirati;
- c) sulfitnu lužinu **kombinirati s drugim izvorima ugljika** - melasa, kukuruzna močevina, biljni hidrolizati ili sokovi (npr. sok lucerne).



Sulfitne lužine su još uvijek najveći ekološki problem svih pogona za proizvodnju celuloze!

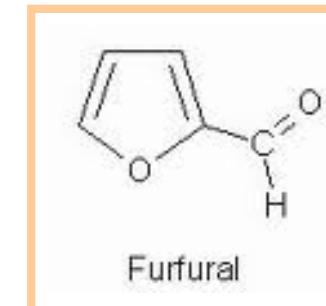
## HIDROLIZATI DRVETA

**Dobivanje:** kiselinskom hidrolizom drvenih otpadaka, do monosaharida.



**Hidrolizati četinjača:** do 80 % heksoza i oko 20 % pentoza

**Hidrolizati lisnjača:** nešto više pentoza (do 28 %).



**Udjel ukupne suhe tvari u hidrolizatima je relativno mali (%):**

reducirajući spojevi (šećeri) 2,1

dekstrini 0,2

furfural 0,04

mineralne kiseline 0,63

organske kiseline 0,31

koloidi 0,44

suspendirane čestice 3,24.

Visoki udjel furfurala limitira primjenu u mikrobnim procesima (inhibira rast kvasca pri proizvodnji etanola i proteinske biomase).  
→ Obrada hidrolizata raznim metodama radi smanjenja udjela furfurala! → veća cijena.

Ponekad se hidrolizati ne koriste sami nego se razrijeduju vodom tj.

primjenjuju kao jedan od sastojaka hranjivih podloga.



## MLIJEKO

- složena prirodna podloga

Svježe mlijeko različitih životinja - osnovna sirovina za proizvodnju fermentiranih mliječnih proizvoda.

86 - 89 % vode

11 - 14 % suhe tvari (otopljenih te emulgiranih / suspendiranih sastojaka)

**Udjel i kemijski sastav suhe tvari - ovise o:**

- pasmini i zdravstvenom stanju životinja
- stadiju laktacije
- načinu hranidbe
- sastavu krme za hranidbu životinja
- načinu mužnje (ručna, strojna)
- specifičnim svojstvima pojedinačnih životinja (starost, tjelesna masa) itd.

Dio otopljenih sastojaka nalazi se u **pravoj**, a dio u **koloidnoj otopini**.

**U PRAVOJ OTOPINI:**

prevladavaju {

- mliječni šećer (laktoza),
- soli makroelemenata (Ca, P, Mg, Na, K, Cl, S )
- soli mikroelemenata (Zn, Br, Ru, Se, Al, Fe, B, Cu, itd).
- vrlo niski udjeli drugih tvari: mali peptidi, slobodne aminokiseline, aminošećeri, kreatin, kreatinin, urea, mokraćna kiselina ...

Proteini se uglavnom nalaze u koloidnoj otopini, a masti su suspendirane odnosno emulgirane.

**Kravlje mlijeko – ima ga najviše → najznačnije kao biotehnološka sirovina.**



**Sastav suhe tvari kravljeg mlijeka:**

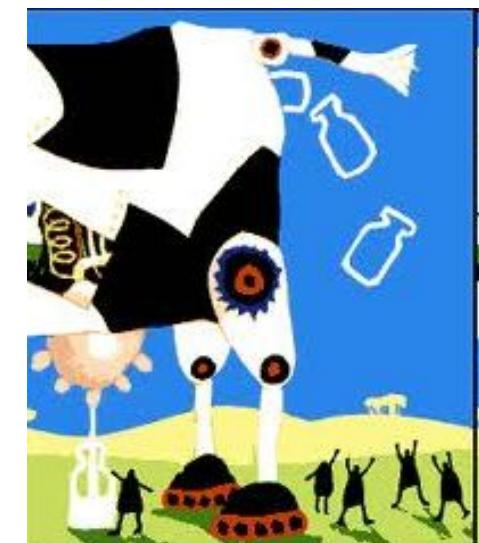
37,5 % laktoze

28,9 % masti

26,6 % proteina

5,5 % pepela

1,5 % neproteinskih dušikovih spojeva



## PROTEINI MLJEKA

2 potpuno različita tipa proteina u proteinima mlijeka:

kazein i proteini sirutke (omjer 80 : 20 %)



Kazein se lako taloži iz mlijeka djelovanjem **kiselina ili enzima** → Na tome se temelji njihovo izdvajanje iz mlijeka (proizvodnja sira i kazeina).

Nakon izdvajanja kazeina u sirutki zaostaju **proteini sirutke** (uglavnom **globulini i albumini**), koji su **termolabilni** (koaguliraju pri 90- 95°C/10-20 min).

### MLJEČNA MAST - najpromjenjiviji sastojak mlijeka.

- u mlijeku se nalazi u obliku finih **globula (kapljica)** suspendiranih ili emulgiranih u otopini ostalih sastojaka
- izdvaja se iz mlijeka pomoću centrifugalnih separatora
- sadrži **triacil glicerole (97- 98 %)**.

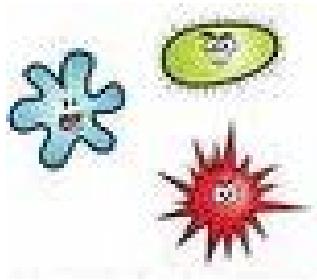


Prema udjelu masti:

- punomasno mlijeko (min. 3,6 % masti),
- djelomično obrano mlijeko (min. 1,6 % masti)
- obrano mlijeko (< 1,6 % masti).

**VITAMINI:** bogato vitaminima  $B_2$  i  $B_{12}$

- neznatni udjeli ostalih vitamina (A, D, E, K, C) ili su prisutni u obliku provitamina ( $\beta$ -karoten, ergosterol).



**MIKROORGANIZMI U SIROVOM MLJEKU:**  $10^5 - 10^6 / \text{mL}$

Podjela: primarna i sekundarna mikroflora mlijeka.

- nekoliko stotina do nekoliko desetaka tisuća mikroorganizama u svježe pomuženom mlijeku

- tijekom manipulacije i transporta broj mikroorganizama se povećava (onečišćenje s drugim bakterijama, kvascima i pljesnima)
- brzo se umnažaju → sirovo mlijeko treba pasterizirati ili sterilizirati

### **PRIMJENA MLJEKA:**

- proizvodnja fermentiranih mliječnih proizvoda i sira.
- dobar izvor laktoze i organskih dušikovih spojeva, ali rijetko je sastojak hranjivih podloga za druge biotehnološke proizvode (zbog velikog udjela vode i biološke nestabilnosti).  
→ **Preporuka:** umjesto sirovog mlijeka koristiti mlijeko u prahu, sirutku i peptonizirani kazein

## SIRUTKA

- nusproizvod pri proizvodnji sira.
- **slatka ili kisela** - razlika u udjelu laktoze i mlijecne kiseline, ovisno o postupku grušanja mlijeka (enzimski ili kiselinski)

**Kiselinski postupak** - uključuje rast bakterija mlijecne kiseline, djelomična pretvorba laktoze u mlijecnu kiselinu.



**Najvažniji proteini sirutke:**

**β-laktoglobulin,**  
**α-laktoalbumin,**  
**imunoglobulini,**  
**albumin krvnog seruma.**

**Aminokiseline  
sirutke:**

**alanin,**  
**valin,**  
**leucin,**  
**izoleucin,**  
**treonin,**  
**prolin,**  
**histidin**

**njihove  
koncentracije  
jako variraju**

**Vitamin A i kolin** su također značajno prisutni u sirutki.

## **Primjena sirutke:**

- svježa sirutka kao krmivo
- u biotehnologiji: prerada u proteinska krmiva i etanol
- za ostale namjene: uparavanje i sušenje sirutke u integralnom obliku
- ili se prije sušenja deproteinizira termičkom odnosno kemijskom obradom, prevodi u permeat ultrafiltracijom i reverznom osmozom, odnosno demineralizirani permeat preko ionskog izmjenjivača.
- 3 - 4 puta manje proteina odnosno minerala, ovisno o provedenoj predobradi.

## OSTALI OTPADNI IZVORI UGLJIKA

- otpadne vode prehrambene industrije
- otpadni sok zelene lucerne (lat. *Medicago sativa*) iz pogona za proizvodnju krmiva
- tekuća faza dobivena prešanjem pivskog tropa (prije sušenja).

### OTPADNE VODE PREHRAMBENE INDUSTRIJE

- sadrže dovoljno hranjivih sastojaka za rast mikroorganizama → pročišćavaju se biološkim putem.
- nastoje se iskoristiti kao supstrat za proizvodnju krmne biomase ili etanola (npr. otpadne vode iz pogona za preradu krumpira i povrća)

Problemi:  veliki volumen,

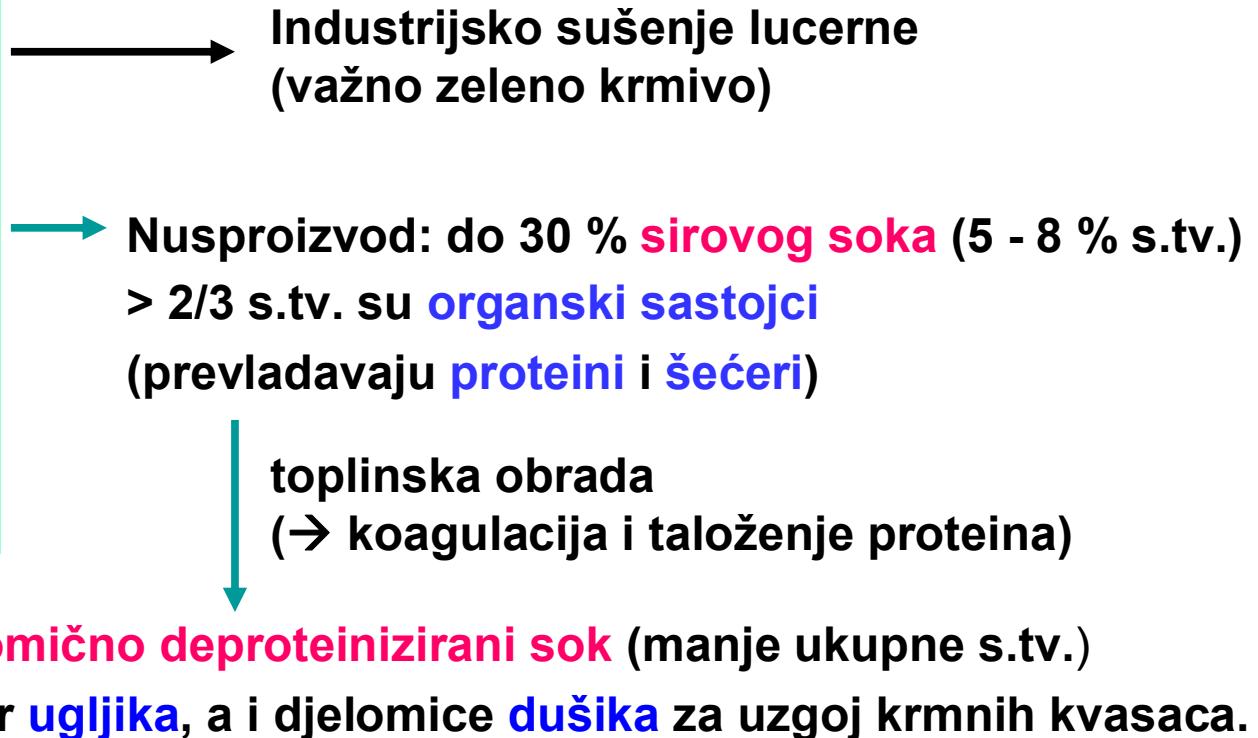


relativno mali udjel fermentabilnog izvora ugljika.

## OTPADNI SOK ZELENE LUCERNE (lat. *Medicago sativa*)



mehaničko usitnjavanje  
i prešanje lucerne



**Glavni nedostaci:**



promjenjivost sastava,



relativno niski udjel šećera



biološka nestabilnost.

U kombinaciji s melasom postižu se veći prinosi kvaščeve biomase.



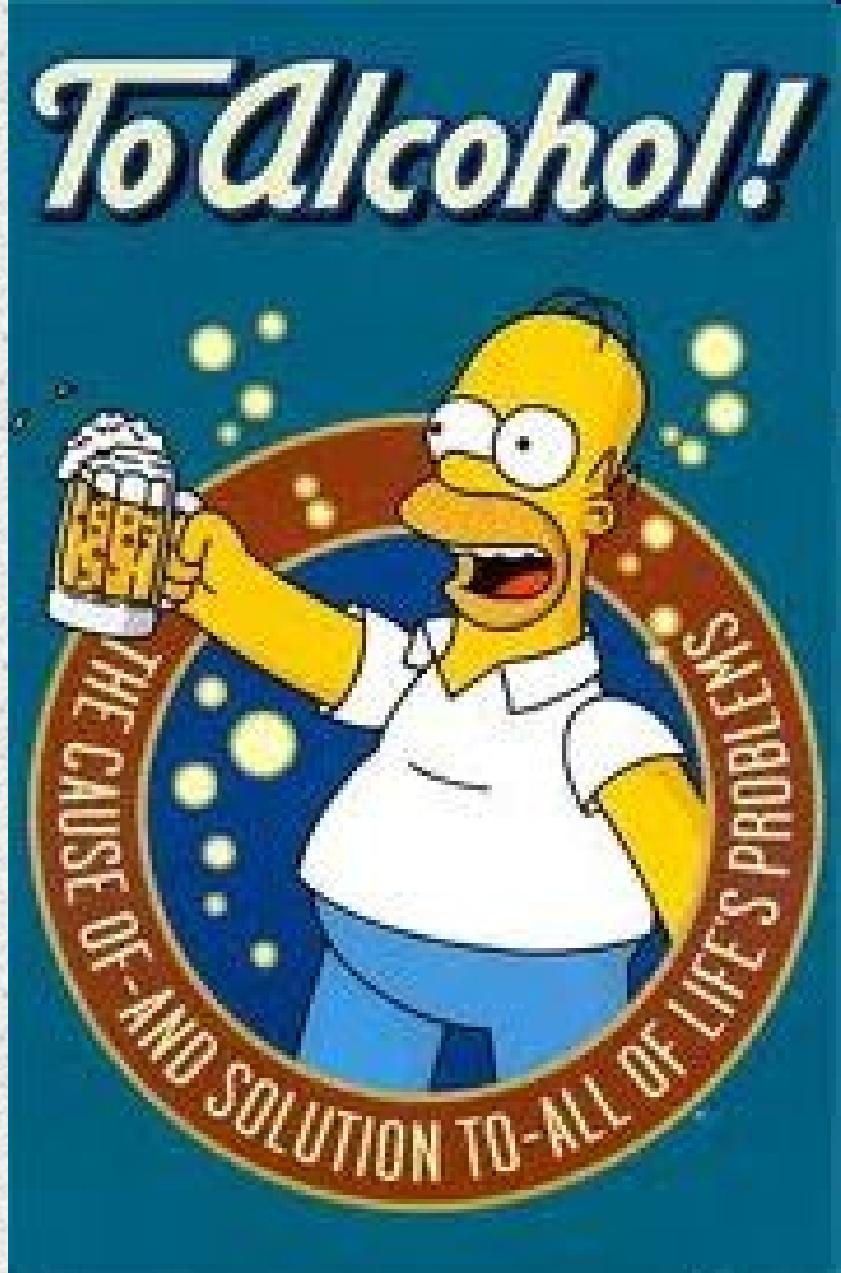
## POLISAHARIDNI IZVORI UGLJIKA



škrob  
dekstrini  
slad  
inulin  
celuloza  
hemiceluloza  
lignin  
treset

bit će tema  
zasebnog  
predavanja





## ALKOHOLI kao izvor ugljika i energije

Mnogi mikroorganizmi mogu kao izvor ugljika i energije koristiti alkohole:

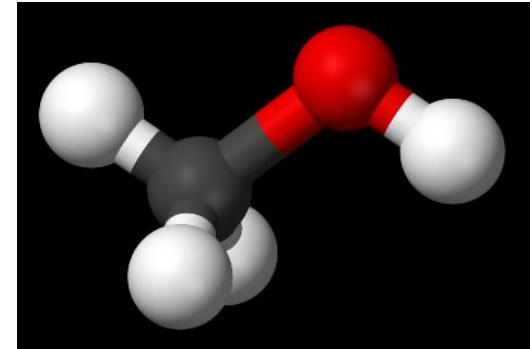
metanol  
etanol  
glicerol  
manitol  
sorbitol



## METANOL

Vrlo otrovan!

- bezbojna tekućina, niskog vrelišta (**64,5 °C**)
- dobro se miješa s vodom, etanolom i drugim organskim otapalima
- **Proizvodnja nekada:** suhom destilacijom drveta
- **Proizvodnja danas:** iz zemnog plina katalitičkom oksidacijom



Neki mikrororganizmi mogu ga koristiti kao jedini **izvor ugljika i energije**.

**PRIMJENA** metanola u proizvodnji :

- proteini jednostaničnih mikroorganizama (single cell proteins, SCP), npr. *Methylophilus methylotrophus*, *Candida boidinii*, *Hansenula polymorpha*
- vitamina B<sub>12</sub> (*Pseudomonas sp.*),
- nekih aminokiselina (lizin, glutaminska, treonin, serin),
- organskih kiselina (limunska, fumarna,  $\alpha$ -ketoglutarna)
- polihidroksi-maslačne kiseline (biorazgradivi polimer).



## Toksičnost spriječava širu primjenu metanola!



Zbog toga se dodaje u hranjivu podlogu **postupno**, u odgovarajućim obrocima ili **kontinuirano**

→ mikrobnii proces mora se voditi **s pritokom supstrata (fed-batch)** ili **kontinuirano**, što može biti prepreka za proizvodnju sekundarnih metabolita čije nastajanje je uvjetovano viškom supstrata u podlozi.



**Velika hlapljivost metanola → gubitak isparavanjem (> 10 %)**

## ETANOL (etilni alkohol, rafinada ili rafinirani špirit)

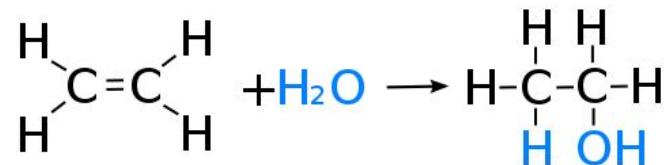
- bezbojna tekućina ugodna mirisa i okusa koji pali.
- miješa se s vodom u svakom omjeru → pritom zagrijavanje i smanjivanje volumena

### DOBIVANJE ETANOLA

alkoholnim vrenjem  
razrijeđenih šećernih  
otopina



petrokemijskim putem tj. izravnom hidratacijom etena (etilena) pri visokoj temperaturi i tlaku uz prisutnost katalizatora:



Fermentacijom se dobivaju različiti etanolni proizvodi

(pivo, vino, jabučnjak, žestoka pića, rafinirani špirit), koji se koriste za:

- mikrobnu proizvodnju octene kiseline (octa) pomoću bakterija octene kiseline;
- proizvodnju krmiva s pomoću kvasaca iz roda *Candida*.

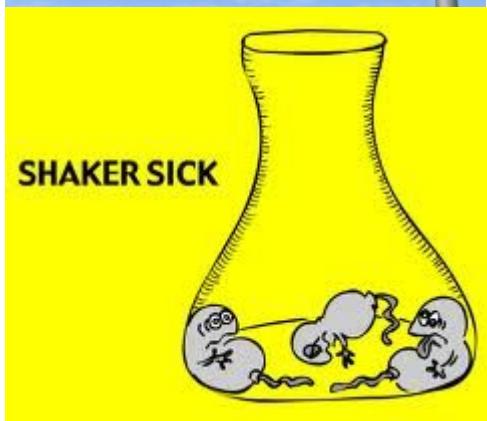




**Cijena etanola** (uključuje troškove destilacije koji su viši što je koncentracija etanola u prevreloj podlozi niža), **najveći nedostatak** fermentativnog ili mikrobiološki proizведенog etanola !

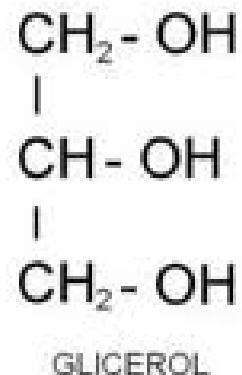


**Visoka hlapljivost etanola** (gubitak zbog isparavanja) - zajednički nedostatak sintetskog i fermentativnog etanola.



**Sintetski etanol tehničke čistoće** može sadržavati različite **nusproizvode** koji su **otrovni** za mikroorganizme → treba provjeravati njihove udjele i ukloniti ih.

**PRIMJENA ETANOLA U BIOTEHNOLOGIJI:** izvor ugljika u proizvodnji prehrambenog kvasca, aminokiselina (glutaminska), trikarboksilnih kiselina, vitamina, polisaharida, ergosterola i cefalosporina.

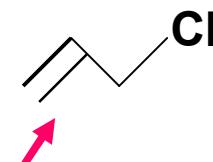


## GLICEROL

- trovalentni alkohol,
- topljiv u vodi i alkoholu,
- bez mirisa, bezbojan, sirupasta tekućina slatkasta okusa,
- među polialkoholima je najčešći izvor C za mikrobne podloge.

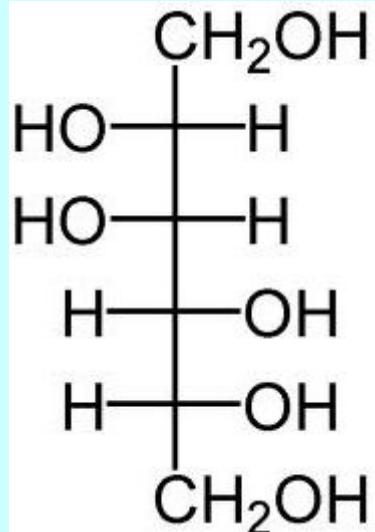
### Dobivanje:

- glicerinskim vrenjem,
- saponifikacijom ulja i masti
- sintetskim putem iz propena (propilena) preko alil-klorida i triklorpropana.



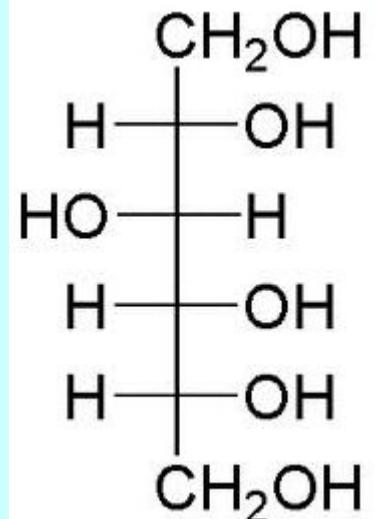
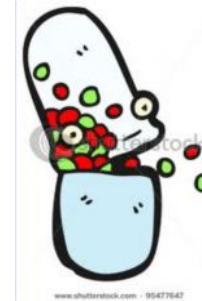
### Primjena:

izvor ugljika u biosintezi nekih antibiotika, aminokiselina, enzima i steroida.



## MANITOL

- šesterovalentni alkohol
- bijeli igličasti kristali topljivi u vodi
- proizvodi se iz glukoze
- izvor C u biosintezi ergot-alkaloida, antibiotika, insekticida



## SORBITOL (GLUCITOL)

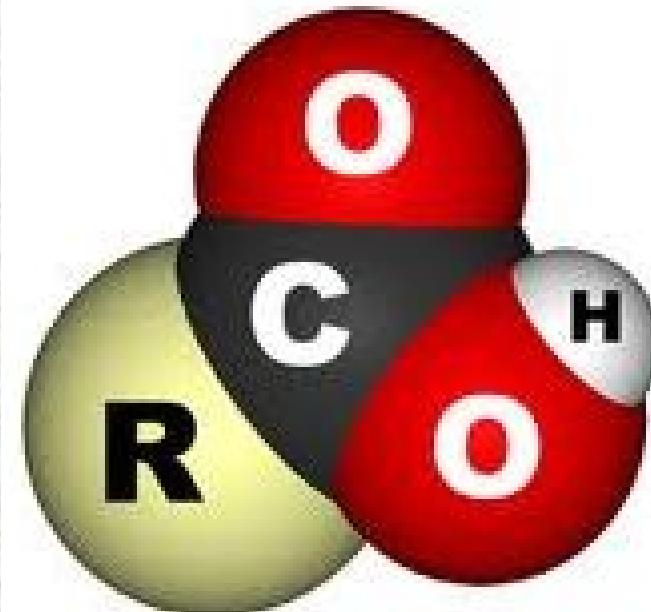
- šesterovalentni alkohol
- dobiva se redukcijom glukoze

sorbitol  $\xrightarrow[\suboxydans]{Acetobacter}$  L-sorboza  $\longrightarrow$   
 (sirovina za  
proizvodnju  
vitamina C)



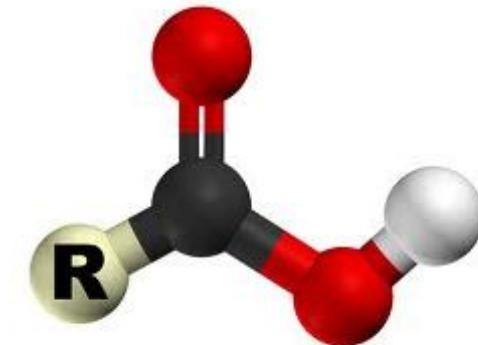


## KARBOKSILNE KISELINE kao izvor ugljika i energije

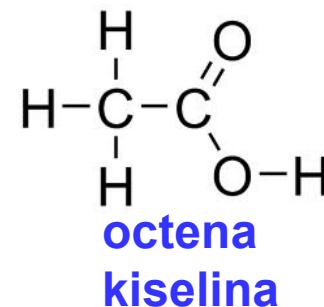
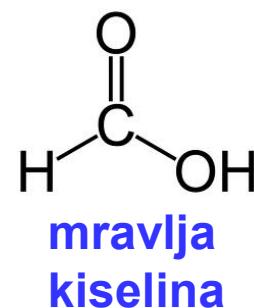


## KARBOKSILNE KISELINE

- organske kiseline s karboksilnom skupinom –COOH
- slabe kiseline
- prema broju karboksilnih skupina: mono-, di- i polikarboksilne kiseline.



Prisutnost: u biljnom i životinjskom materijalu u obliku **soli**, **estera** ili kao **slobodne kiseline**.



Većina karboksilnih kiselina su nusproizvodi, međuproizvodi ili proizvodi mikrobnog metabolizma pa ih mikroorganizmi mogu koristiti kao izvore ugljika.

U vodenoj otopini disociraju, a djelovanjem baza tvore soli kao i mineralne kiseline.

**Masne kiseline** - jednobazične zasićene alifatske kiseline  
- opća formula  $C_nH_{2n+1}COOH$

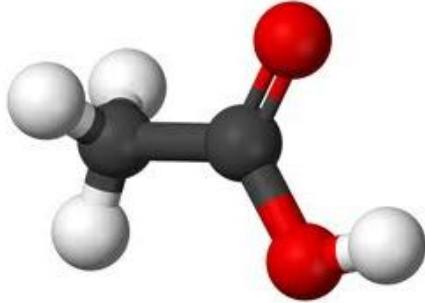
**Homologni niz masnih kiselina:** metanska (mravlja), etanska (octena), propanska (propionska), butanska (maslačna) itd.

palmitinska kiselina  
stearinska kiselina } Viši članovi niza, nisu topljive u vodi i često se nalaze vezane na glicerol u prirodnim mastima

U širem se smislu u masne kiseline ubrajaju i nezasićene jednobazične alifatske kiseline: oleinska,  $C_{18:1}$   
linoleinska (linolna),  $C_{18:2}$   
linolenska,  $C_{18:3}$  } vezane s glicerolom,  
također dolaze u biljnim mastima i uljima

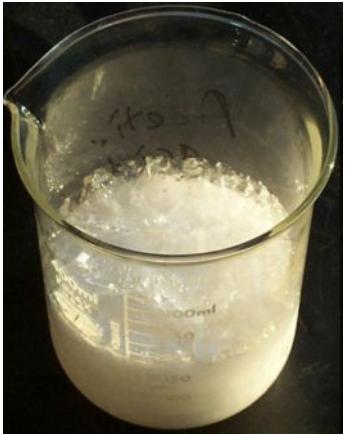
**KORIŠTENJE u biotehnološkoj proizvodnji kao izvor ugljika:**

- najčešće octena
- druge (npr. propionska, maslačna, oleinska i linoleinska) znatno rjeđe.



## Octena kiselina

- bezbojna tekućina oštra mirisa
- miješa se s vodom i organskim otapalima
- pri  $16,7^{\circ}\text{C}$  u čistom stanju prelazi u kristalnu masu sličnu ledu (ledena octena kiselina)



**Dobivanje nekad:** suhom destilacijom drveta

**Dobivanje danas:**

- kemijskom oksidacijom etanola ili acetaldehida odnosno mikrobnim putem
- anaerobnom prerađom celuloznih supstrata s pomoću homoacetogene termofilne bakterije *Clostridium thermoaceticum*



Spada među jeftinije izvore ugljika!

**PRIMJENA:** - sama ili u kombinaciji s drugim izvorima ugljika

- za proizvodnju različitih biotehnoloških proizvoda (L-lizina, L-glutaminske kiseline, L-izoleucina, L-treonina, limunske kiseline, proteinских krmiva).



## MASTI kao izvor ugljika i energije

## MASTI

**Ulja i masti biljnog i životinjskog podrijetla - primjena u mikrobnoj**

**proizvodnji:**      - kao dodatni **izvor ugljika**

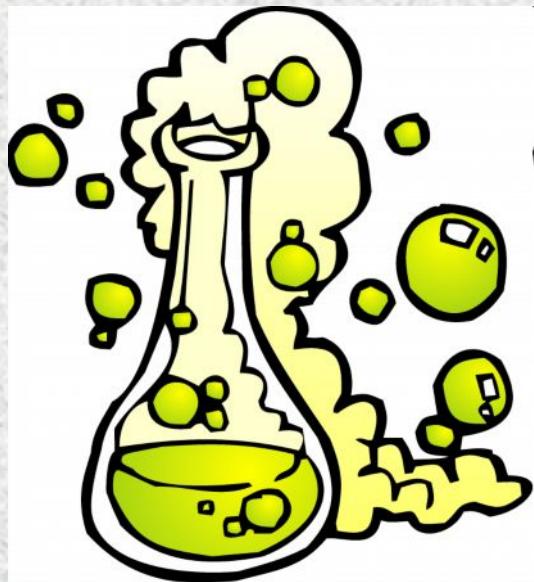
                        - kao biološki razgradljivo **sredstvo protiv pjene (SPP)**

**Upotrebljivost nekog ulja za mikrobni proces određuju:**

- njegova kiselost
- udjel peroksida
- udjel glicerida
- udjel nezasićenih masnih kiselina

**Previsoka kiselost (kiselinski broj iznad 10) i udjel peroksida, koji se povećavaju tijekom skladištenja, mogu inhibirati biosintezu proizvoda (npr. antibiotika i L-lizina).**

**Gliceridi u obliku ulja ili brašna uljarica nalaze primjenu u podlogama za proizvodnju steroida, antibiotika i nekih enzima (lipaza, amilaza i proteaza).**



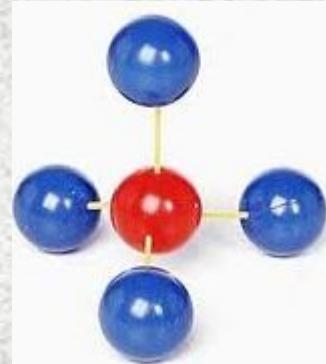
## UGLJIKOVODICI kao izvor ugljika i energije

- sastavljeni samo od ugljika i vodika.
- mogu biti **plinoviti, tekući i čvrsti**, a dijele se na **zasićene i nezasićene**.

### Glavne grupe ugljikovodika:

- **alifatski** - alkani (parafini), alkeni (olefini) i alkini (acetileni)
- **aromatski** - benzen i homolozi
- **nafteni** - cikloparafini
- **terpeni** - sastojci biljnih eteričnih ulja

Kao izvori ugljika u hranjivim podlogama među ugljikovodicima su najznačajniji **n-alkani (n-parafini)** i to osobito **metan**.



## n-alkani (n-parafini)

- zasićeni alifatski ugljikovodici, opća formula:  $C_nH_{2n+2}$
- netopljni u vodi, slabo su reaktivni

Danas se umjesto imena parafini koristi naziv **alkani !!!** Ime parafin je ostalo i kao naziv se koristi za vosak „umjetnih“ svijeća i parafinsko ulje.

**Dobivanje:** kao nusproizvodi naftne industrije.

**Homologni niz:** prva 4 su **plinovi** (**metan, etan, propan i butan**)

- alkani s 5 do 17 ugljikovih atoma su **tekućine**,
- oni više molarne mase (18 i više ugljikovih atoma) su u **čvrstom stanju**

**Mikroorganizmi** ih lako razgrađuju → kao izvori ugljika (najčešće  $C_{10} - C_{20}$ )

Niske cijene → 60-ih godina 20. stoljeća postali zanimljivi:

- proizvodnja **krmnog kvasca (*Candida lipolytica*)** - frakcije alkana  $C_{15} - C_{17}$
- dobar supstrat za proizvodnju **glutaminske kiseline** (ne sadrže betain, koji nepovoljno utječe na izlučivanje glutaminske kiseline iz stanica).

Mikroorganizmi rastu bolje na **smjesi alkana** nego na pojedinačnim alkanima! → kao izvor ugljika korištena je čak i parafinska nafta odnosno teško plinsko ulje.

- porast cijene nafte i nusproizvoda naftne industrije u drugoj polovici 70-ih godina
- prigovori da alkani i iz njih dobiveni biotehnološki proizvodi mogu sadržavati tragove **aromatskih ugljikovodika** (neki kancerogeni)

Zato su mnogi biotehnološki pogoni temeljeni na n-alkanima kasnije zatvoreni.

Mikroorganizmi dobro rastu na **srednjelančanim n-alkanima ( $C_{10}$  -  $C_{20}$ )**. Razlike u brzini i uspješnosti asimilacije su jače izražene u n-alkana s parnim nego neparnim brojem C atoma.

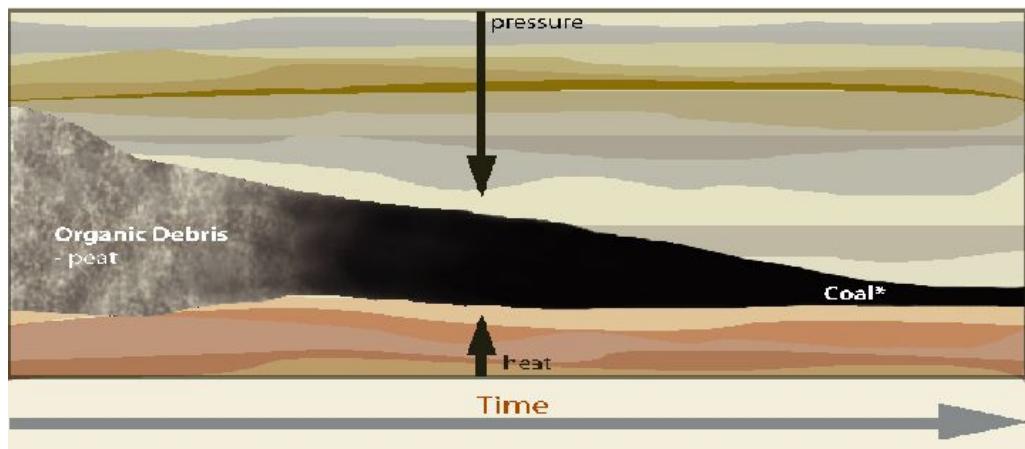
**Niželančani alkani ( $C_2-C_8$ )**  
**višelančani alkani ( $C_{20}$  i više)**

manje su pogodni izvori ugljika (teže se razgrađuju, daju niže prinose proizvoda)



## UGLJEN

Ugljen je smjesa **ugljika** i različitih **ugljikovih spojeva s vodikom, kisikom, dušikom i sumporom.**



Nastaje kao rezultat postepenog raspadanja i pougljenjivanja biljnih ostataka u unutrašnjosti Zemlje, bez dovoljnog pristupa zraka.

Kao izvor ugljika može se upotrijebiti **vodeni ekstrakt dobiven ekstrakcijom ugljena u lužnatom mediju** – sadrži:

**masne kiseline,**  
**alkohole,**  
**ketone,**  
**ugljikovodike,**  
**huminske kiseline.**



## PLINOVITI IZVORI UGLJIKA I ENERGIJE

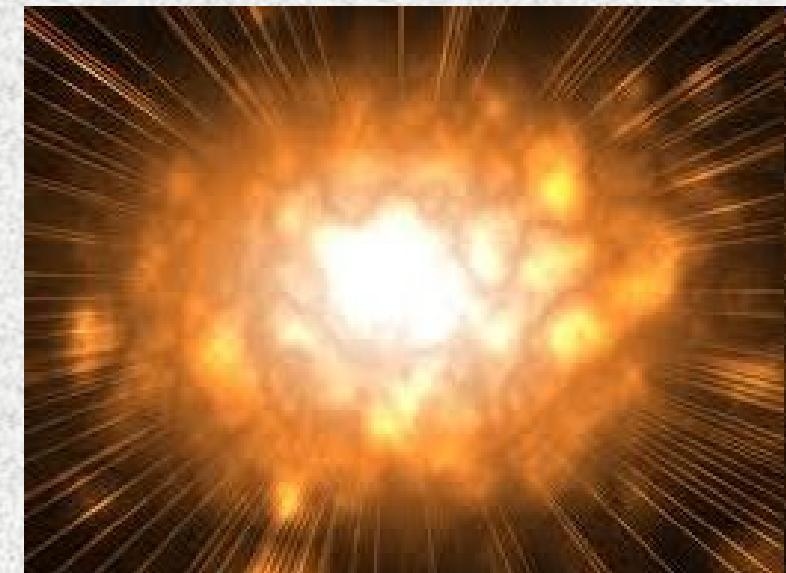
metan ( $\text{CH}_4$ )

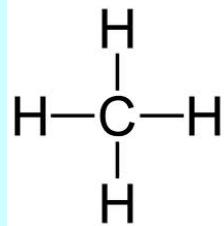
ugljikov(IV) oksid ( $\text{CO}_2$ )

ugljikov(II) oksid (CO)

sumporovodik ( $\text{H}_2\text{S}$ )

vodik ( $\text{H}_2$ )





## Metan



- najjednostavniji ugljikovodik i organski spoj.
- plin, bez boje i mirisa, lakši od zraka s kojim tvori eksplozivnu smjesu.

Explosion risk

Dobar je izvor ugljika za specifične bakterije (*Methylomonas sp.*).

Zemni plin (prirodni plin):

90 do 92 % metana,  
1,5 % etana,  
1 do 2 % butana,  
tragovi CO<sub>2</sub>, argona, dušika, a često i  
sumporovih spojeva.



Tijekom **anaerobne razgradnje organskog materijala** u pogonima za preradu poljoprivrednih i komunalnih otpadaka nastaje i metan:

- plinovita smjesa sadrži **30 do 40% CO<sub>2</sub>** te također **sumporove spojeve** (koje treba ukloniti iz smjese prije primjene u mikrobnim procesima).

Ipak, **metan se ne može smatrati važnim izvorom ugljika za industrijske procese**, zbog:



- malog broja bakterija koje ga metaboliziraju, a ne rastu na konvencionalnim izvorima ugljika, poput glukoze ili acetata



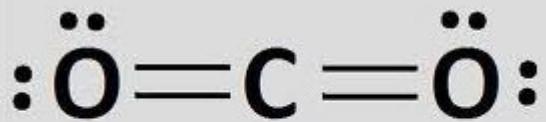
- specifičnog metabolizma i ograničenog broja metabolita



- opasnosti od eksplozije (eksplozivna smjesa metana i zraka).



Metan se lako oksidira u **metanol** koji mogu asimilirati mnogi mikroorganizmi.



[Example of final Lewis electron dot structure for CO<sub>2</sub>]

by Brad DeRidder, with help from compiled sources [See document this accompanied].

## Ugljikov(IV) oksid (ugljični dioksid, CO<sub>2</sub>)

- bezbojni plin

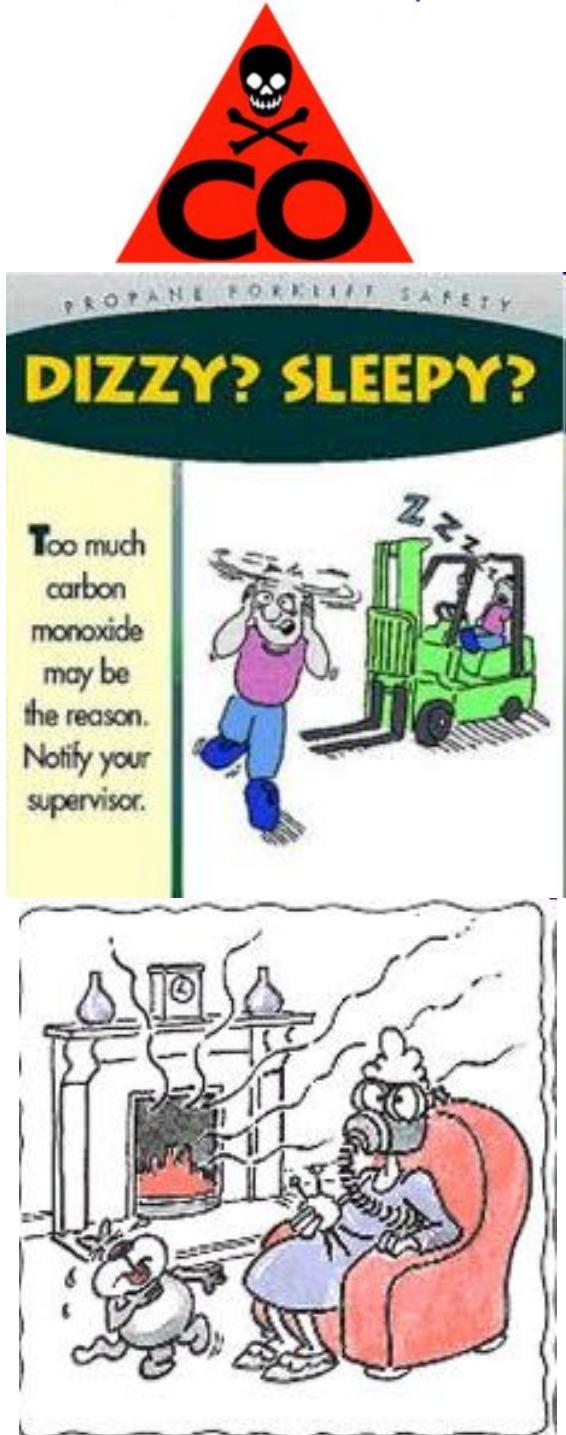
- nastaje sagorijevanjem ugljika i organskih spojeva u uvjetima dovoljne prisutnosti kisika

**Prisutnost:** u zraku (0,03 %), u mineralnim vodama, izbija i iz zemlje.

**Dobivanje:** - kao nusproizvod alkoholnog vrenja  
- žarenjem kalcijevog karbonata

**Biotehnološka primjena:**

- neke **fototrofne bakterije** mogu ga koristiti kao izvor ugljika (proizvodnja sumpora, vodika i nekih pigmenata)
- kao izvor ugljika za umjetni uzgoj biomase **algi**

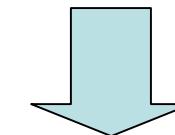


## Ugljikov(II) oksid (ugljični monoksid, CO)

- otrovan plin, bez boje i mirisa
- nastaje sagorijevanjem ugljika i ugljena pri nedostatku kisika

bakterije iz roda *Bacillus*  
bakterije iz roda *Pseudomonas*

} mogu rasti na  
CO kao jedinom  
izvoru ugljika



zanimljivo sa stajališta zaštite okoliša i  
moguće proizvodnje bakterijske biomase  
bogate proteinima

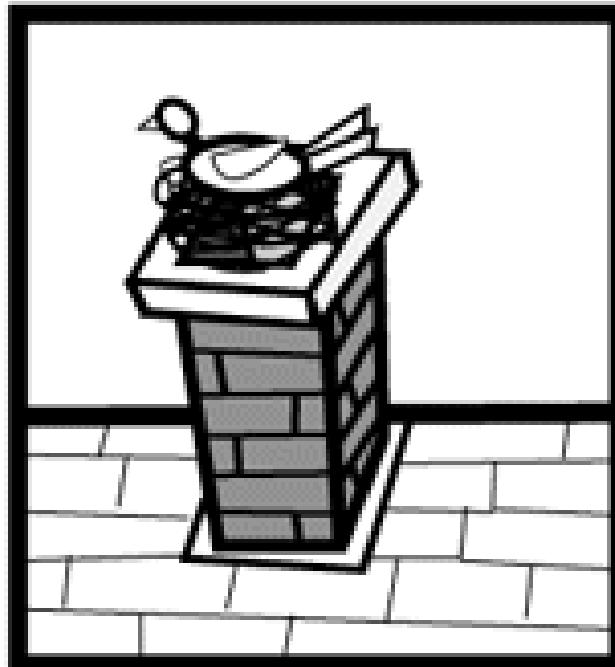
# The Flu or Your Flue?

Flu-like symptoms may not be the flu at all, but indication there is a carbon monoxide (CO) problem in the home. Carbon monoxide is known as the "Great Imitator" because early stages of poisoning often mimic the flu.



Common symptoms of carbon monoxide poisoning:

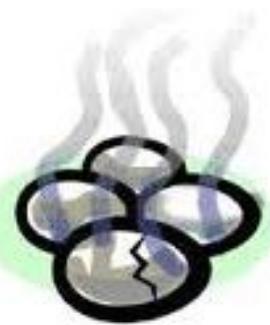
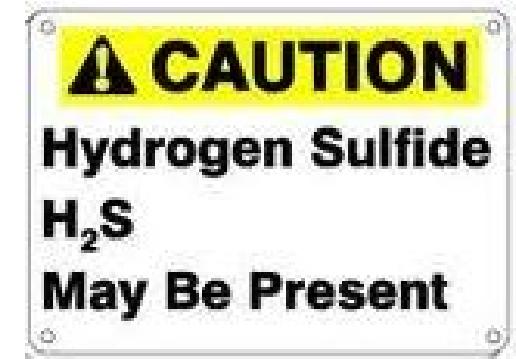
- 
- Headaches
  - Fatigue
  - Disorientation
  - Nausea
  - Dizziness



Common sources of carbon monoxide include:

- 
- Blocked Chimney
  - Cracks in a flue or venting system
  - Malfunctioning fuel burning appliance
  - Car left running in an attached garage

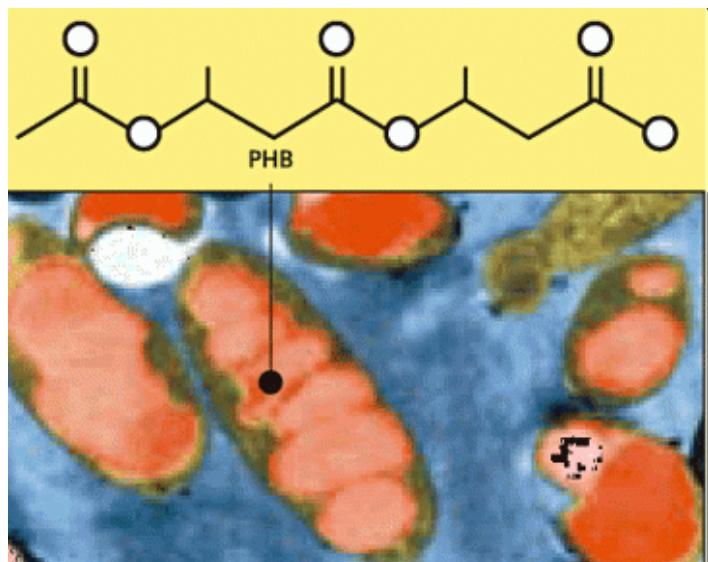
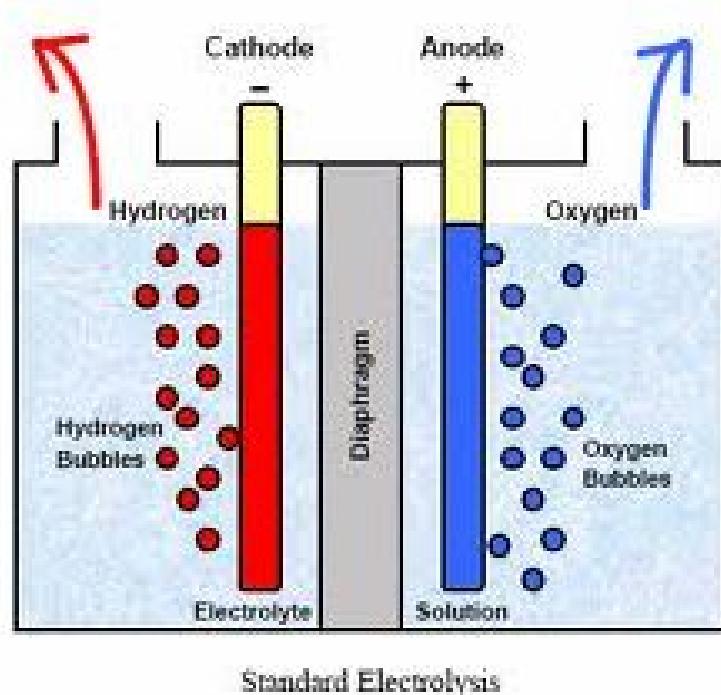
## Sumporovodik ( $H_2S$ )



- bezbojan, otrovan plin karakterističnog mirisa na pokvarena jaja
- sastojak je vulkanskih i sagorjevnih plinova, zemnog plina, bioplina, nekih mineralnih voda i otpadnih plinova kemijske industrije

Bakterije iz roda *Chlorobium* (npr. *Chlorobium thiosulphatophilum*) koriste ga kao izvor energije.

$H_2S$  se može mikrobnim putem ne samo ukloniti nego preraditi u **sumpor i organske kiseline**.



## Vodik ( $\text{H}_2$ )

**Proizvodnja:** elektrolizom vode (skupo!)

- nije isplativ izvor energije za industrijski uzgoj mikroorganizama, iako se može primjeniti.

bakterija *Alcaligenes eutrophus*

aerobno,  
smjesa plinova  
 $(70\% \text{ H}_2 + 20\% \text{ O}_2 + 10\% \text{ CO}_2)$

biomasa ( $> 20 \text{ g L}^{-1}$  s. tv.) koja sadrži  
poli- $\beta$ - hidroksimaslačnu kiselinu (do 80 %)  
- biorazgradlivi polimer!