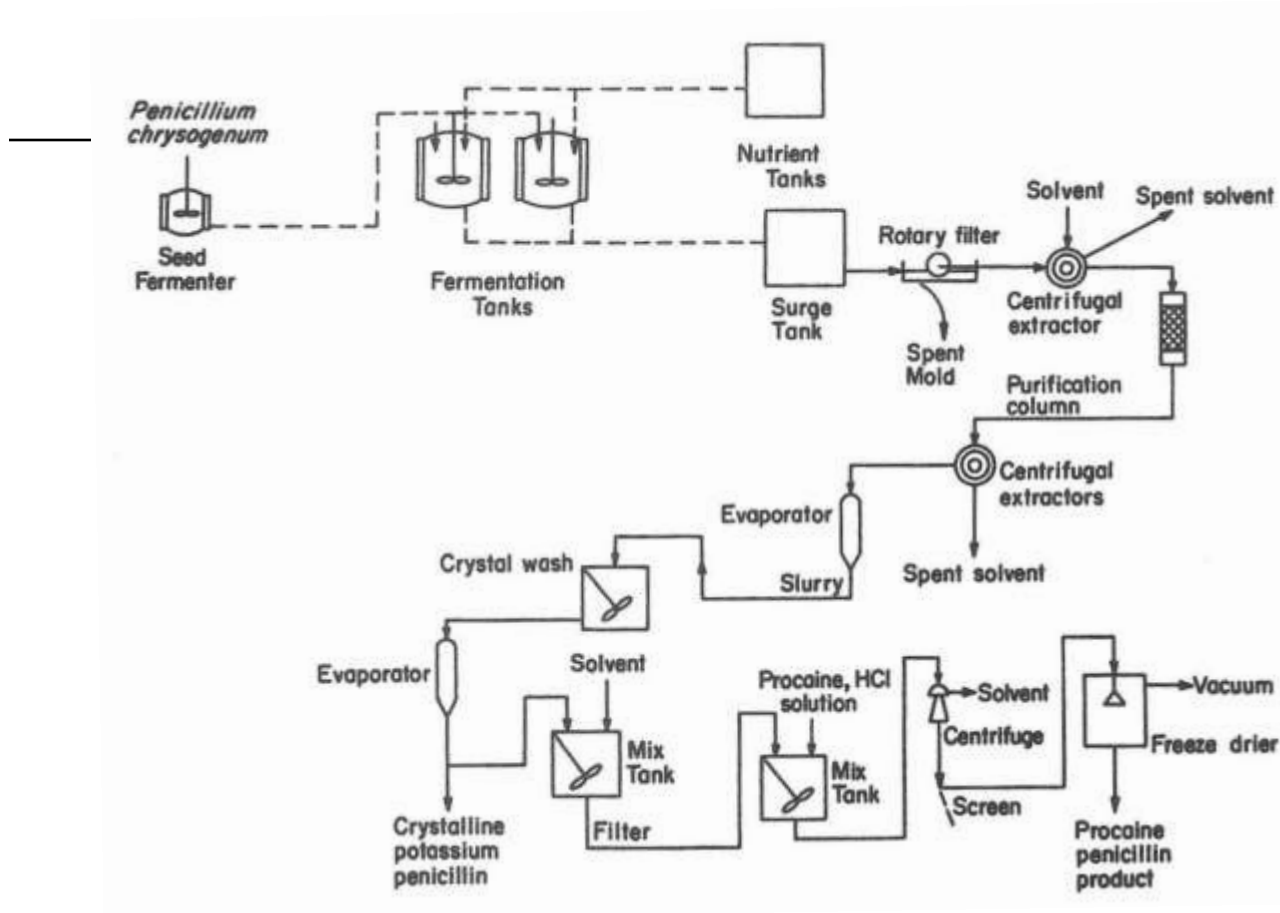
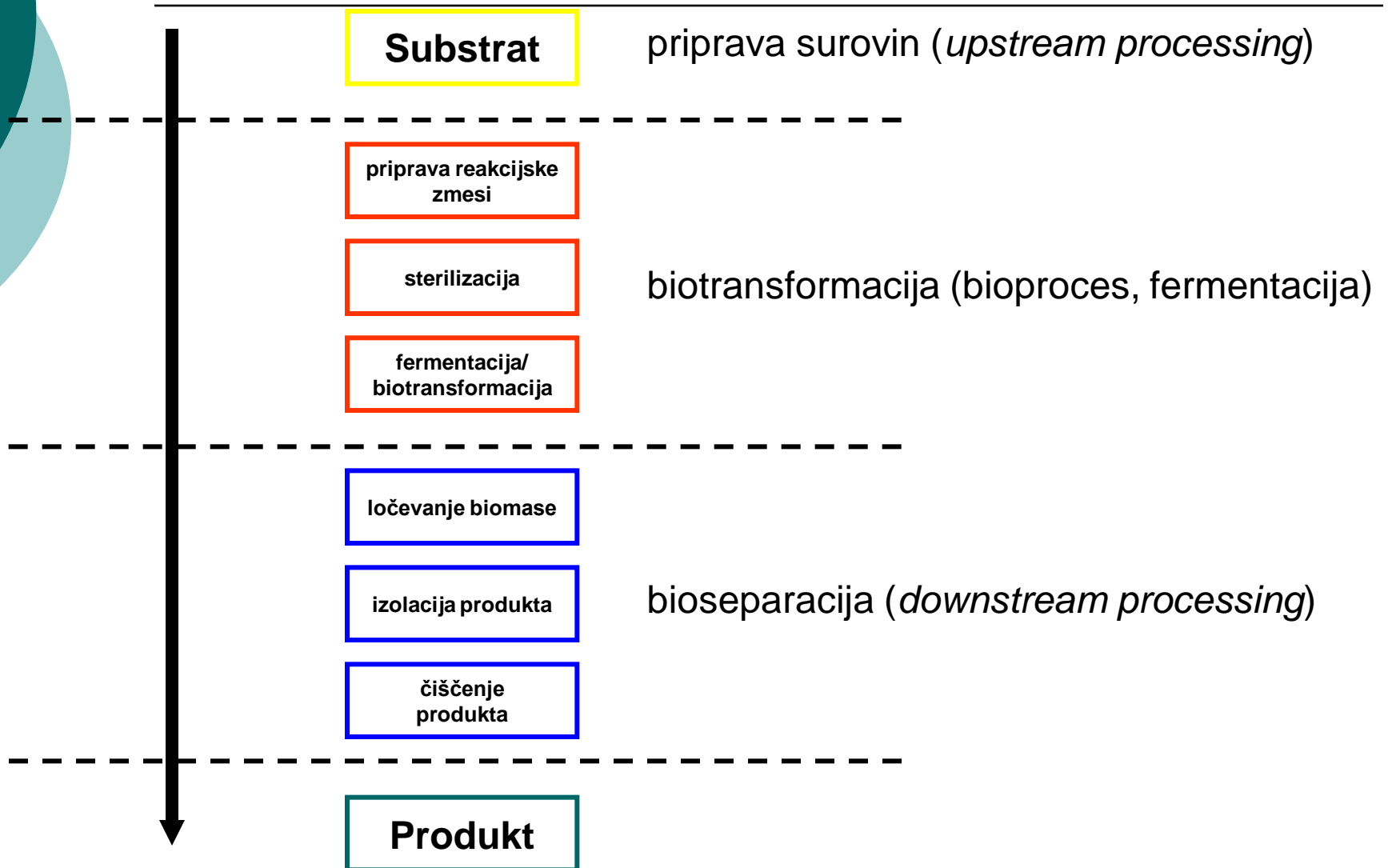


# ZAKLJUČNI PROCESI V BIOTEHNOLOGIJI



Proizvodnja penicilina

# Stopnje biotehnološkega procesa

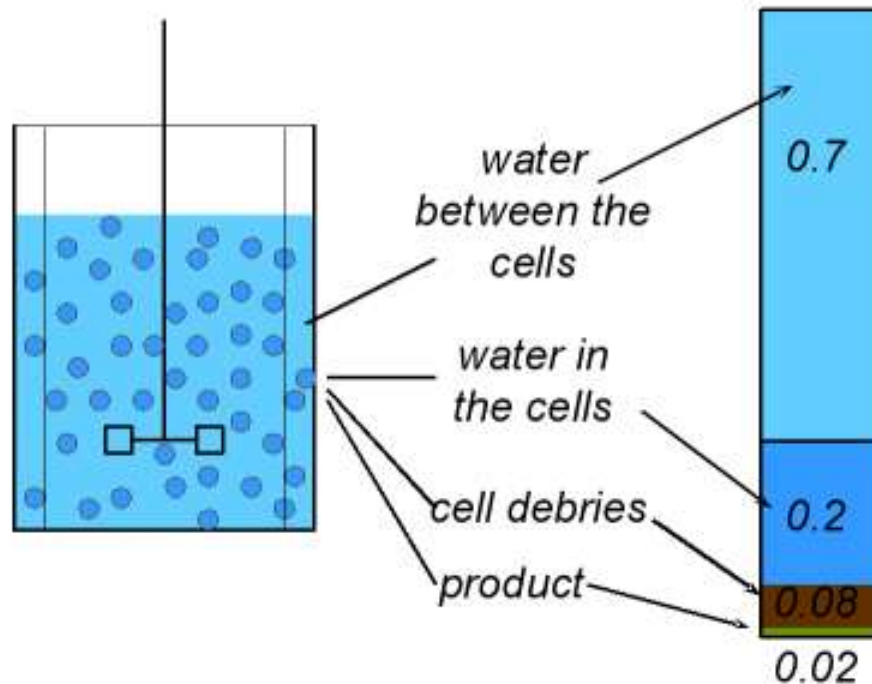


# Sestava fermentacijske brozge

voda:

80% pri proizvodnji etanola

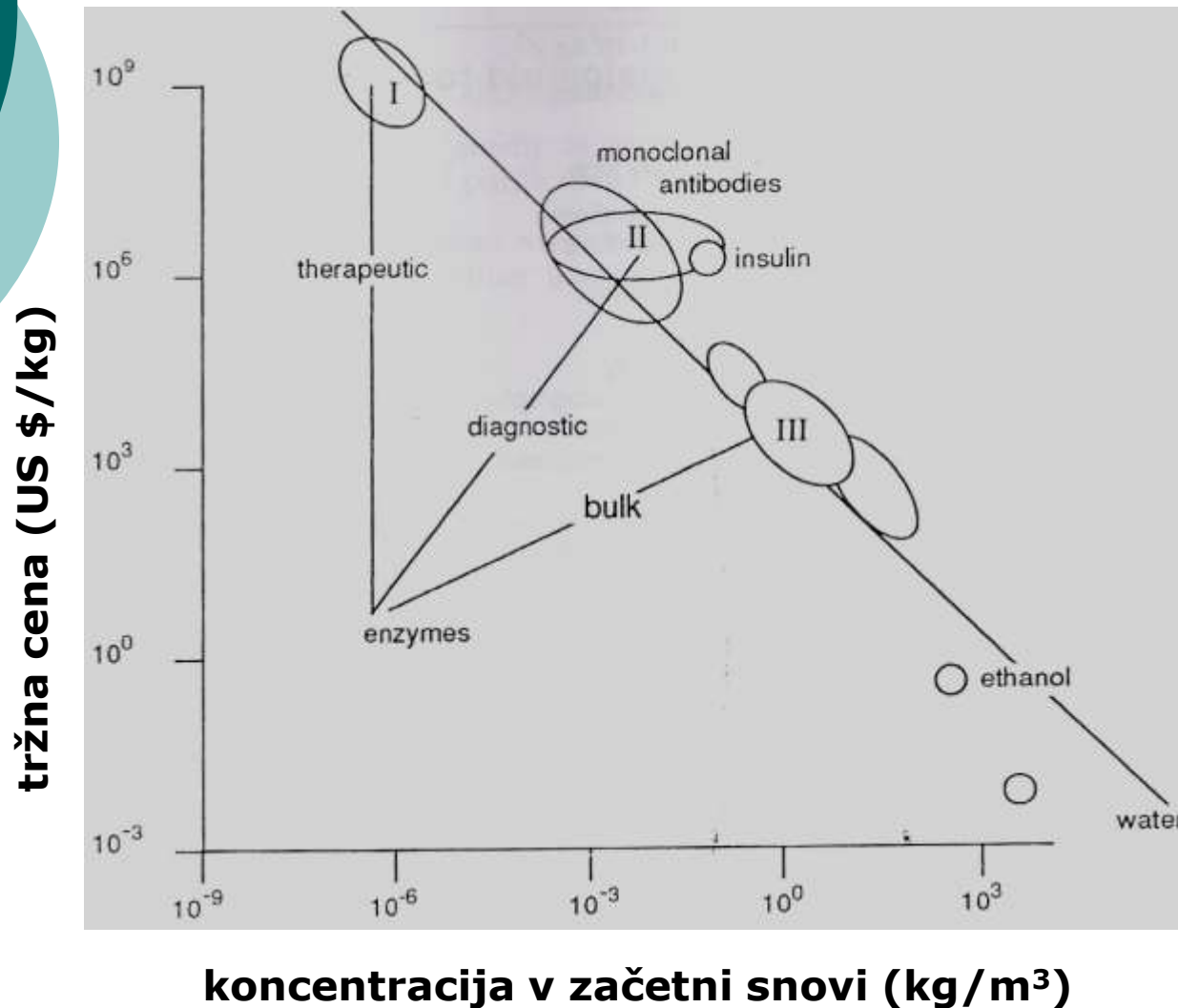
95% pri nekaterih terapevtskih proteinih



# Koncentracije produktov v reakcijskem mediju

Proces	Koncentracija produkta [ut. %]
200 m <sup>3</sup> šarža	
citronska kislina	10
mlečna kislina	5
etanol	7-12
50 - 200 m <sup>3</sup> šarža	
cefalosporin	3
penicilin	3-5
streptomycin	1
ekstracelularni encimi	0,5-1
50 m <sup>3</sup> šarža	
vitamin B12	0,005
riboflavin	0,1

# Odvisnost tržne cene od koncentracije v osnovnem viru (brozga, krvna plazma...)



- I:** terapevtski proteini (faktor VIII, urokinaza)
- II:** diagnostični encimi, monoklonska protitelesa, inzulin, luciferaza, glicerofosfat dehidrogenaza
- III:** industrijska proizvodnja v velikih količinah (antibiotiki, proteaze, amilaze, organske kisline, etanol)

Vir: J.L. Dwyer, 1984, *Bio/Technology* 2, 957-964.

# Značilnosti bioprocessov po tržnih področjih

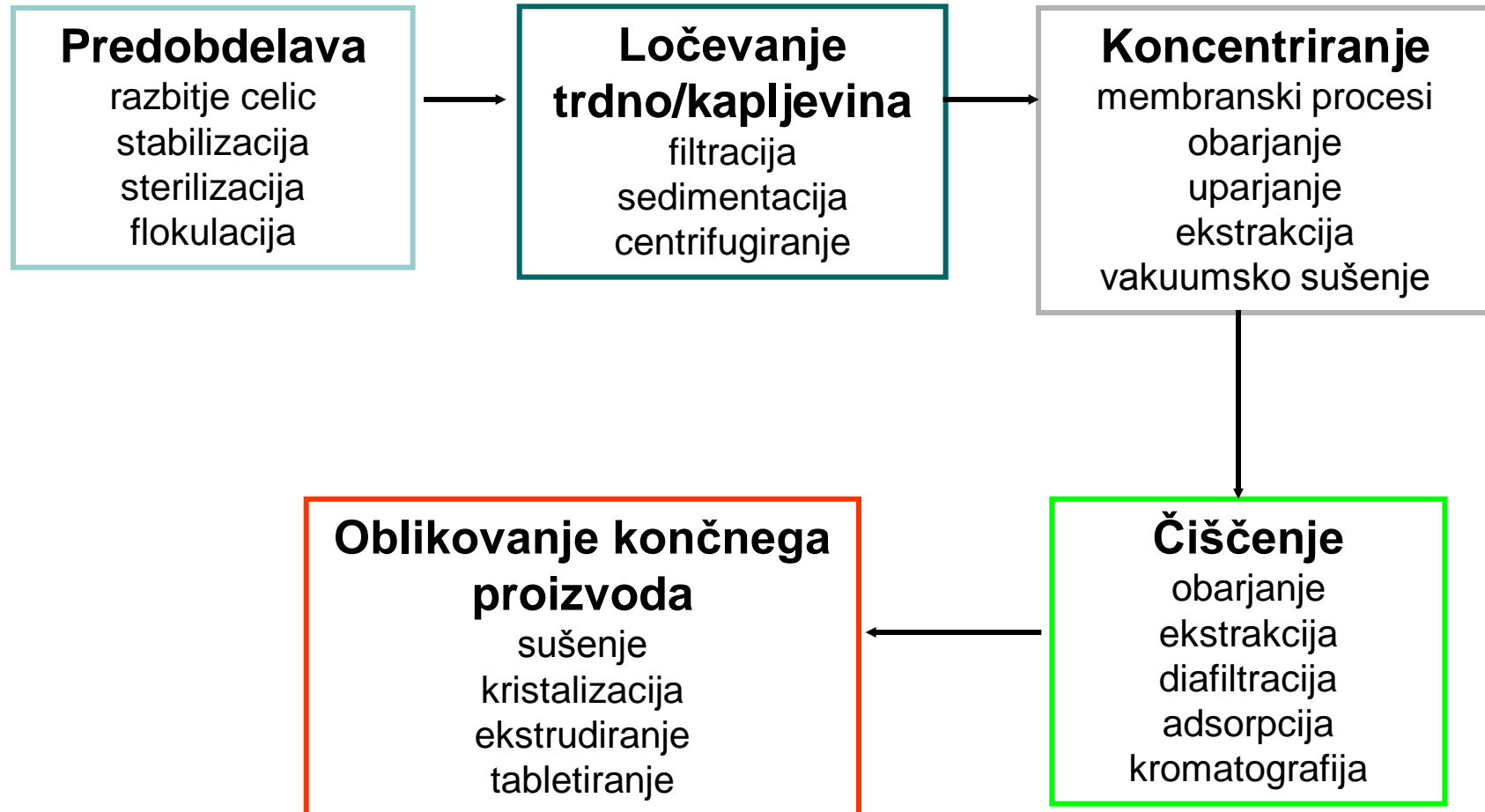
	Področje I	Področje II	Področje III
Velikost proizvodnje	0,1 – 10 <sup>2</sup> kg/leto	10 <sup>3</sup> – 10 <sup>5</sup> kg/leto	10 <sup>6</sup> – 10 <sup>9</sup> kg/leto
Produkcijski organizem	rekombinantna DNA	delno rekombinantna DNA	nespremenjeni organizmi ( <i>wild type</i> )
Čistost produkta	zelo visoka	visoka/zelo visoka	relativno nizka
Izkoristek procesa	ni pomemben	nizek/ni pomemben	zelo visok
Stroški surovin	majhen delež	20 – 50 % cene	50 – 90 % cene
Tehnike izolacije in čiščenja	afinitetna kromatografija, preparativna elektroforeza	adsorpcija, kromatografija, membranski procesi	filtracija, ekstrakcija, adsorpcija, obarjanje, uparjanje, membranski procesi

## Cena izolacije in čiščenja:

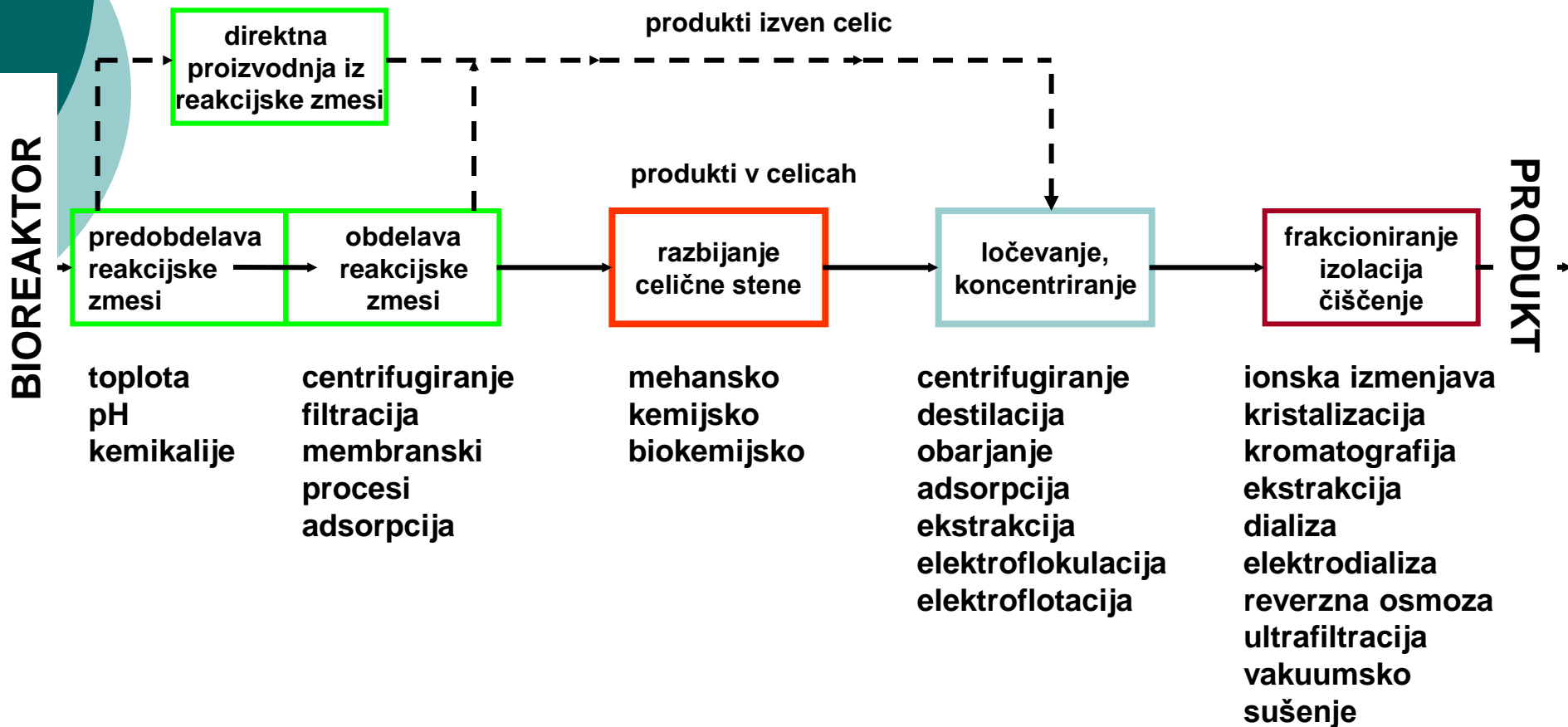
penicilin: 60% proizvodnih stroškov,

rekombinantni proteini, monoklonska protitelesa: 80-90%

# 5 glavnih stopenj pri izolaciji bioproductov

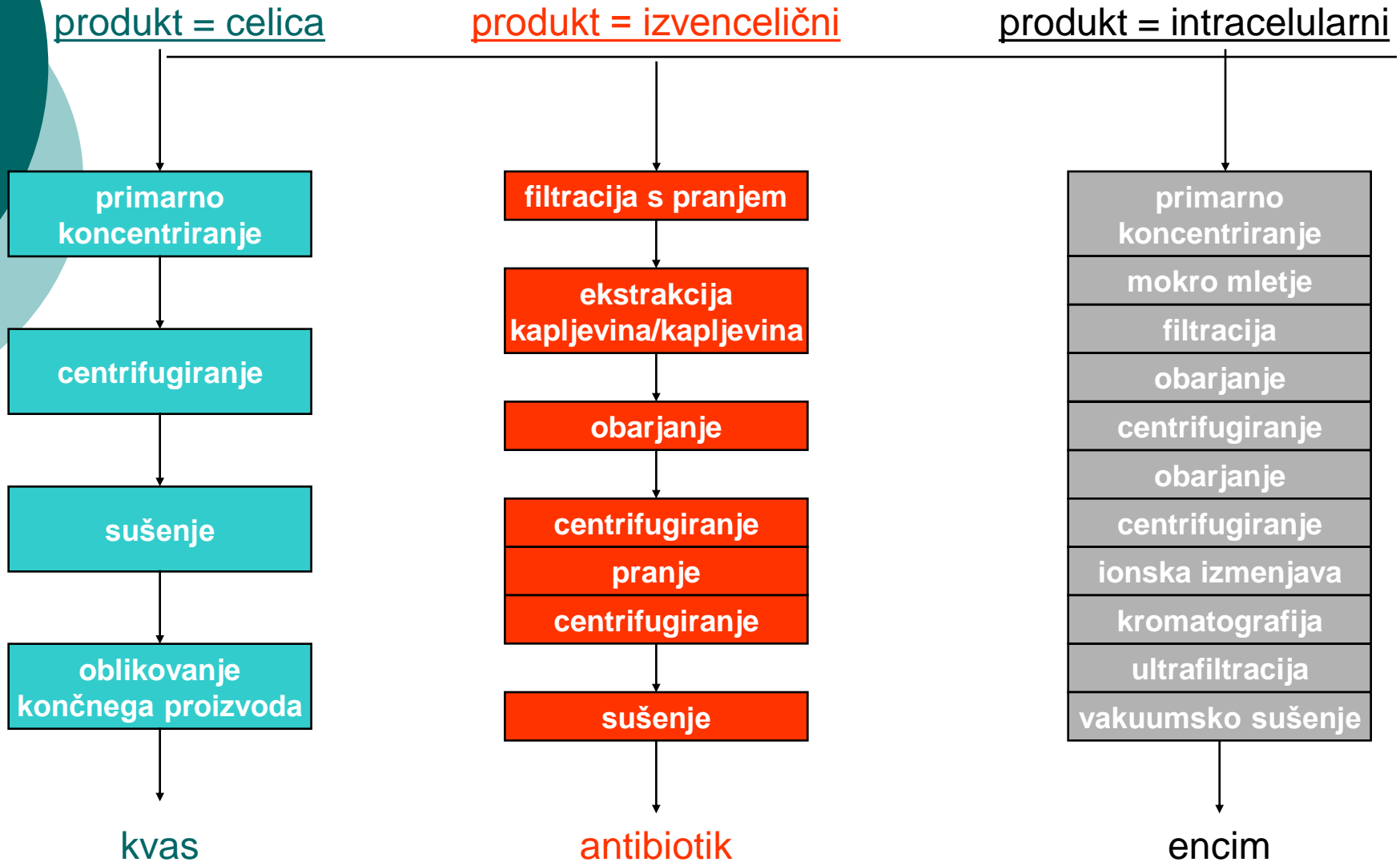


# Bioseparacijski procesi - razdelitev

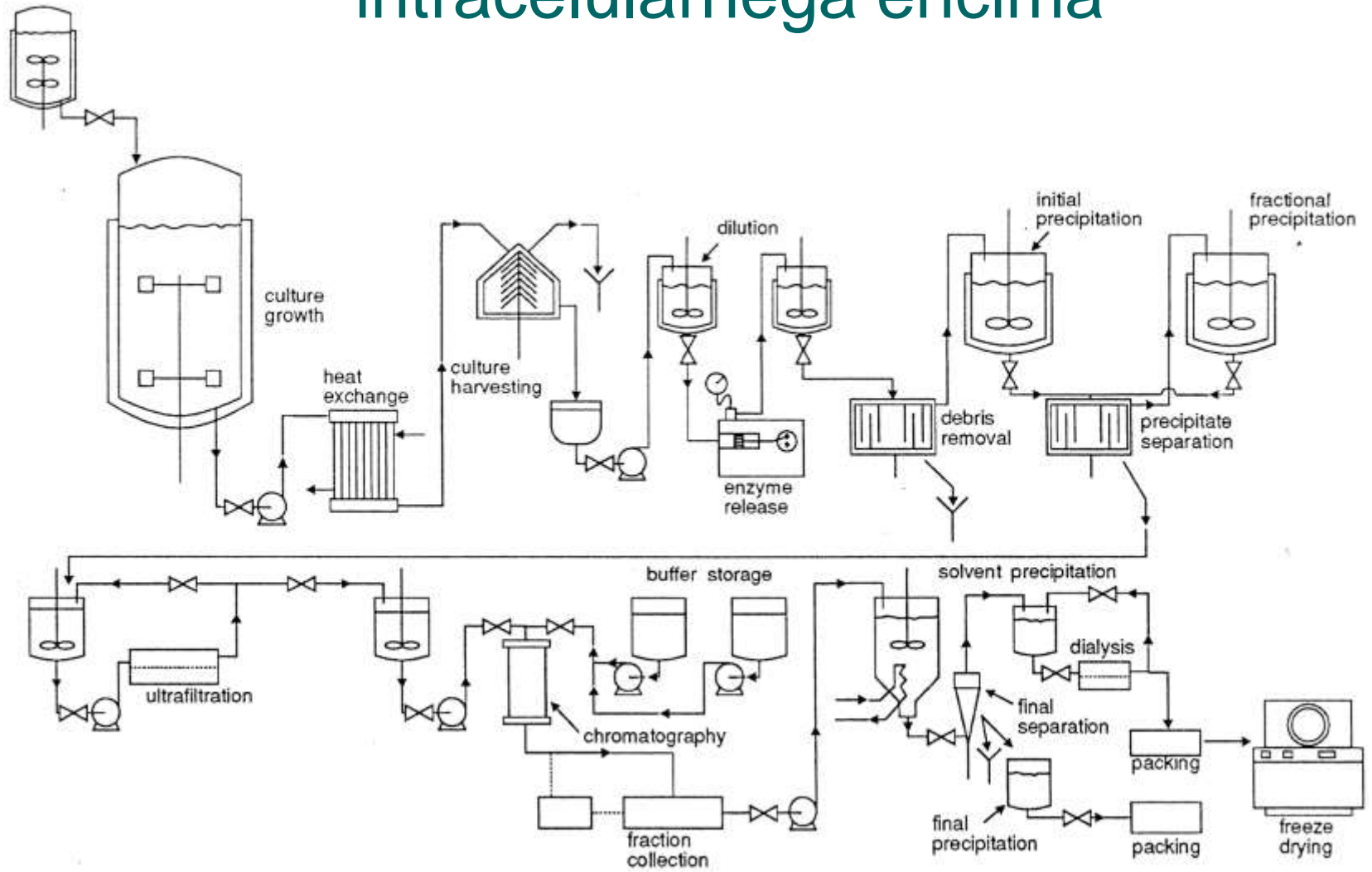




# Bioseparacijski procesi - zaporedje



# Primer: izolacija in čiščenje intracelularnega encima



# Izkoristek odvisen od števila stopenj izolacije

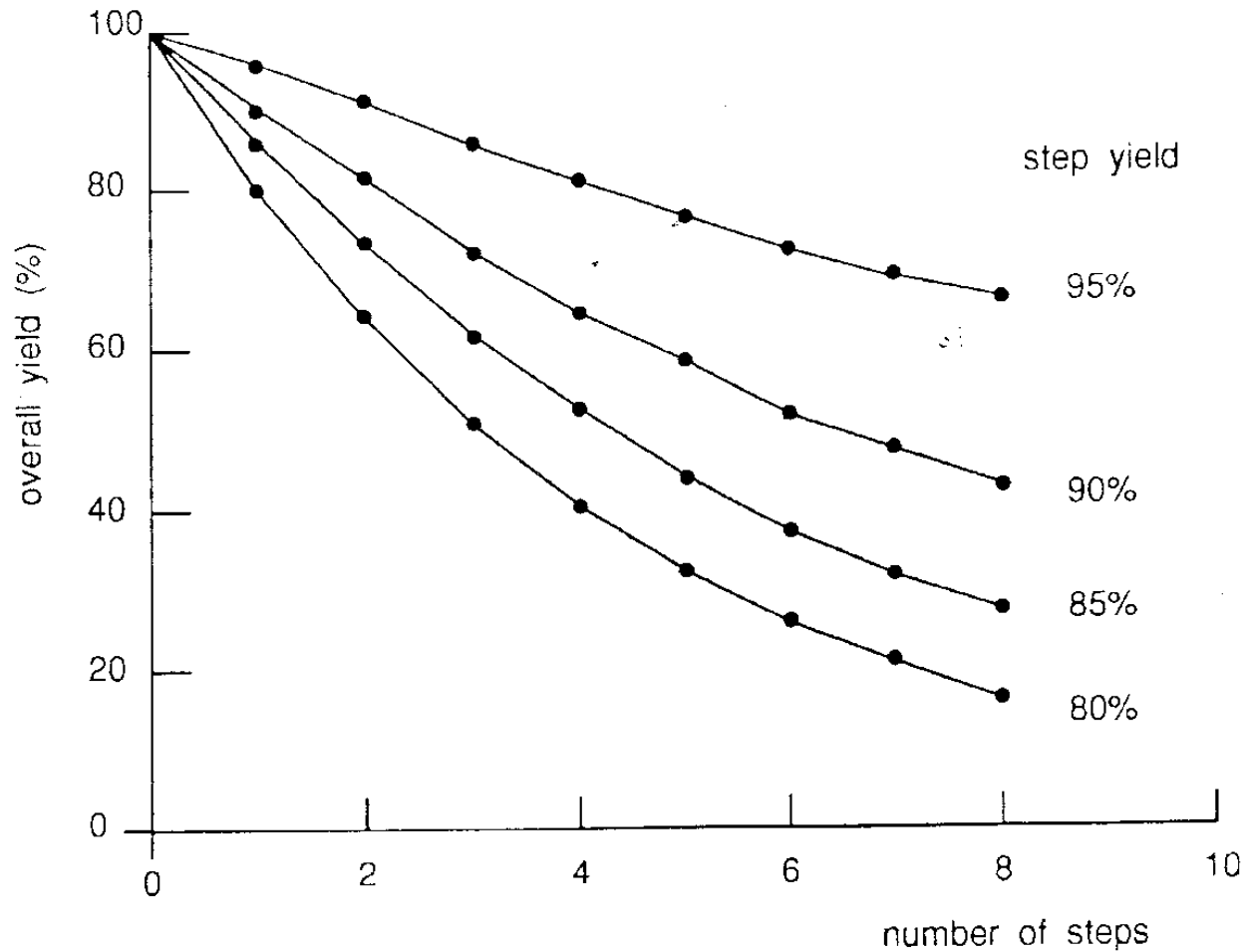
---

Primer: 8 stopenj v procesu izolacije, vsak 85 % izkoristek → 27 % končni izkoristek produkta

po 1. stopnji	0,85
po 2. stopnji	0,72
po 3. stopnji	0,61
po 4. stopnji	0,52
po 5. stopnji	0,44
po 6. stopnji	0,37
po 7. stopnji	0,32
po 8. stopnji	0,27

Če bi bil v tem procesu zahtevan 92 % celotni izkoristek, bi morala imeti vsaka od stopenj izolacije 99 % izkoristek!

# Izkoristek izolacije



# Izbira postopka izolacije

---

- položaj bioprodukta:
  - intracelularni (v celici)
  - ekstracelularni (izven celice)
  - sama celica
- koncentracija produkta v reakcijskem mediju
- kemijske in fizikalne lastnosti produkta
- uporaba produkta
- minimalna zahtevana čistost produkta
- delež nečistoč v reakcijskem mediju
- tržna cena produkta

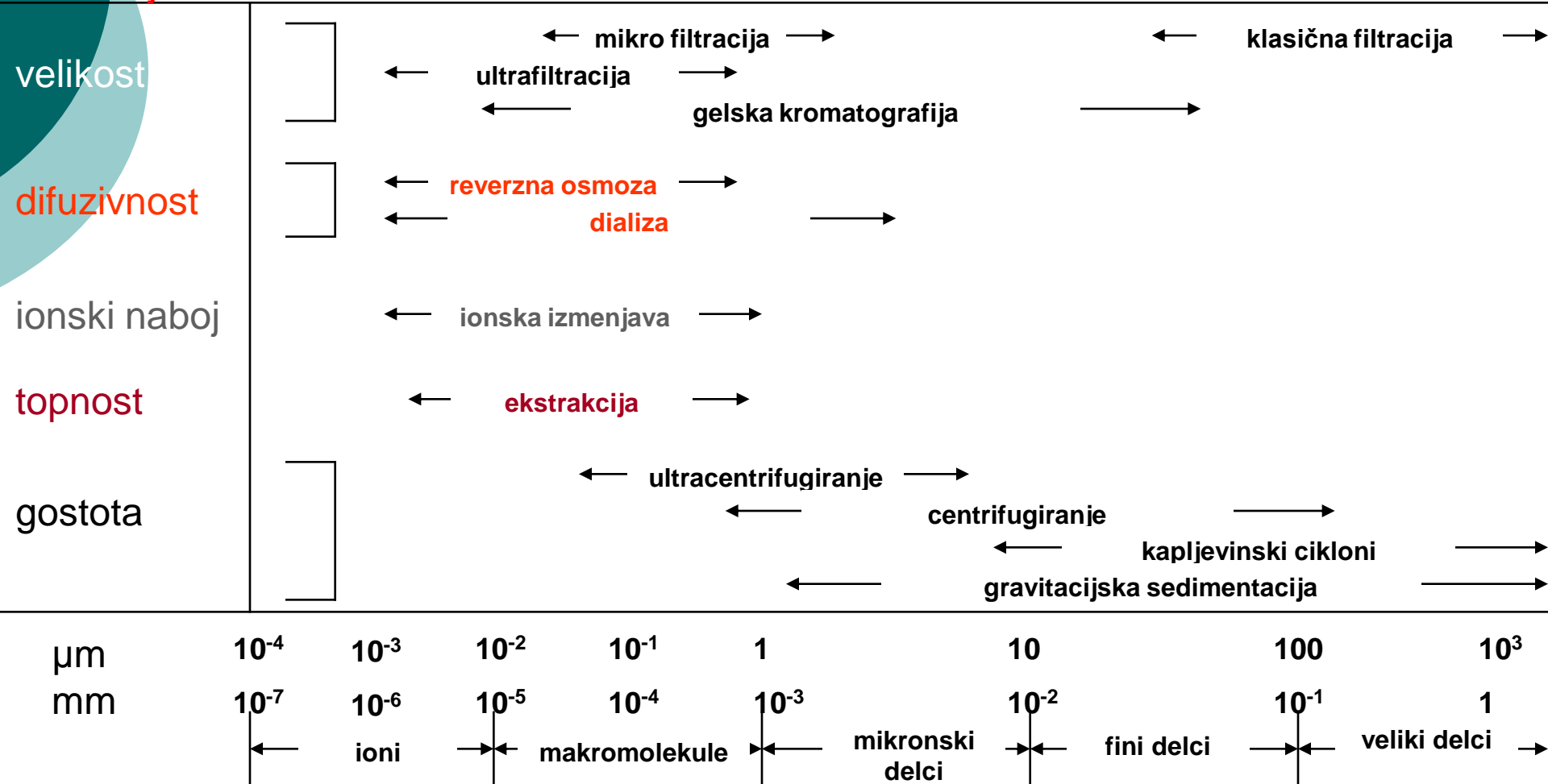
# Značilnosti bioproduktov

---

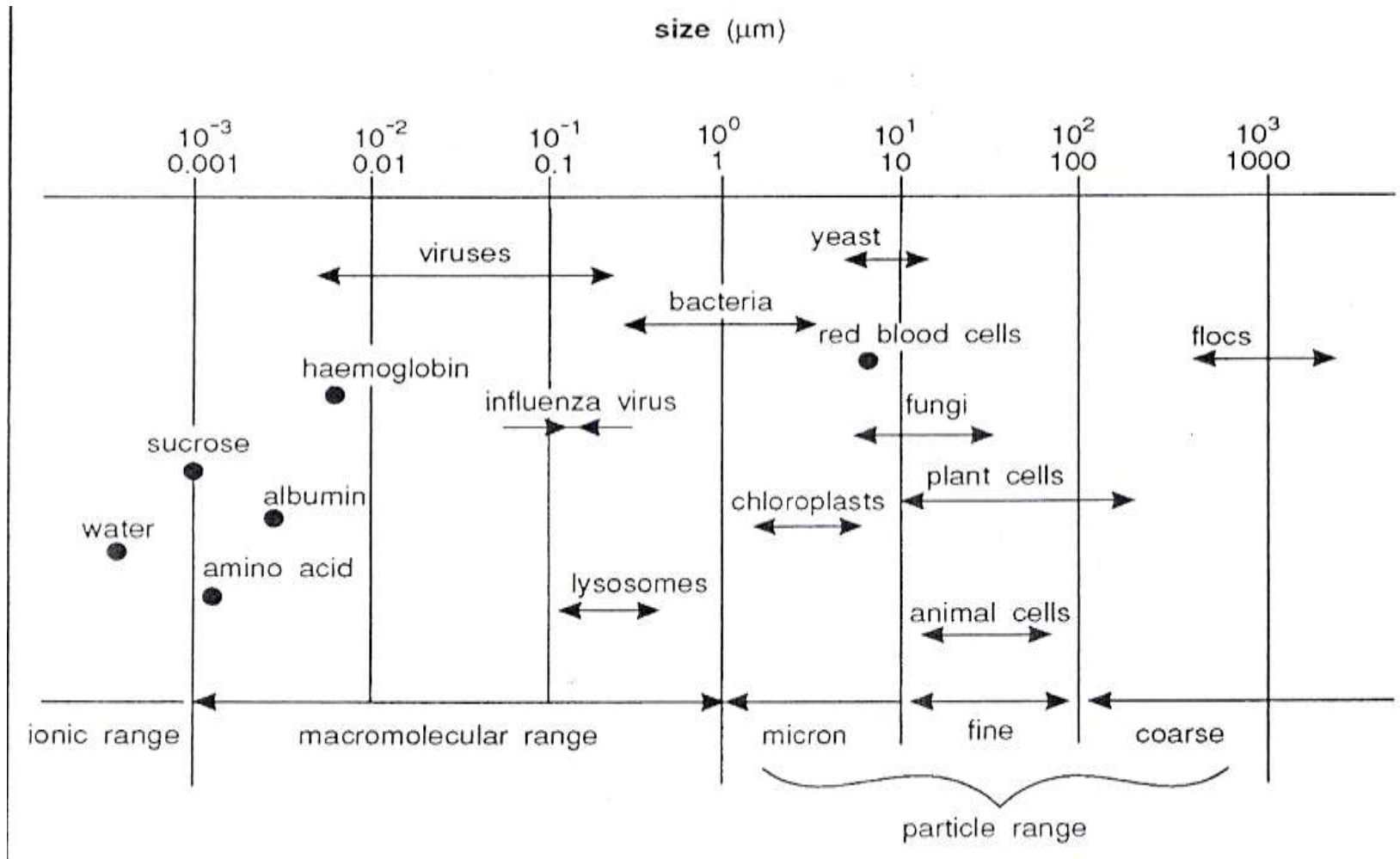
- molske mase od 60 – 2.000.000 g/mol (Da)
- stabilnost bioproduktov funkcija:
  - pH
  - temperature
  - ionske moči
  - vrste uporabljenega topila
  - prisotnosti površinsko aktivnih snovi
  - prisotnosti kovinskih ionov
- številne biomolekule so občutljive na strig
- številne biomolekule so hidrofobne
- male koncentracije produktov

# Ločevanje glede na lastnosti snovi

osnovni  
parameter  
ločevanja



# Velikost delcev





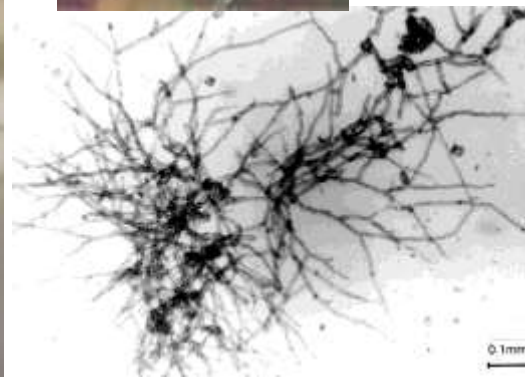
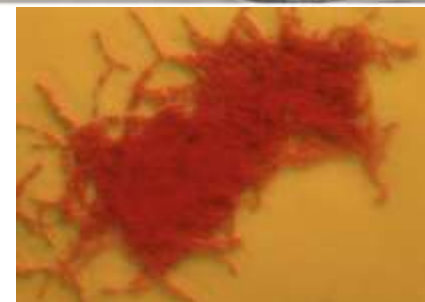
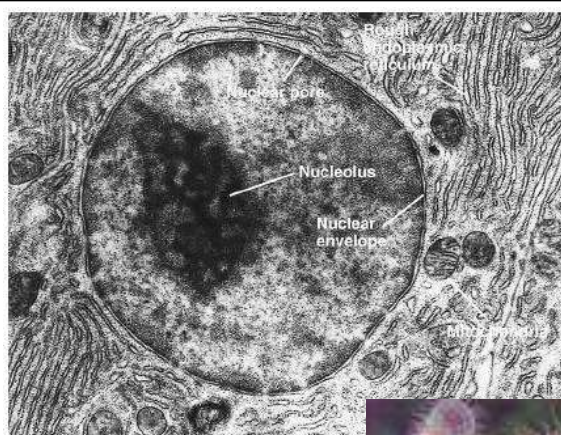
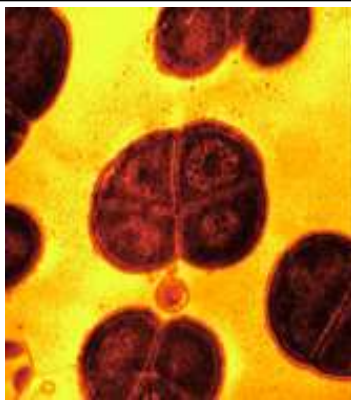
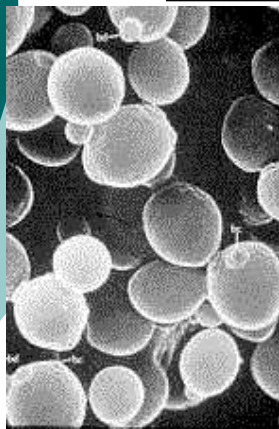
# Karakteristike fermentacijske brozge

---

Odvisne od:

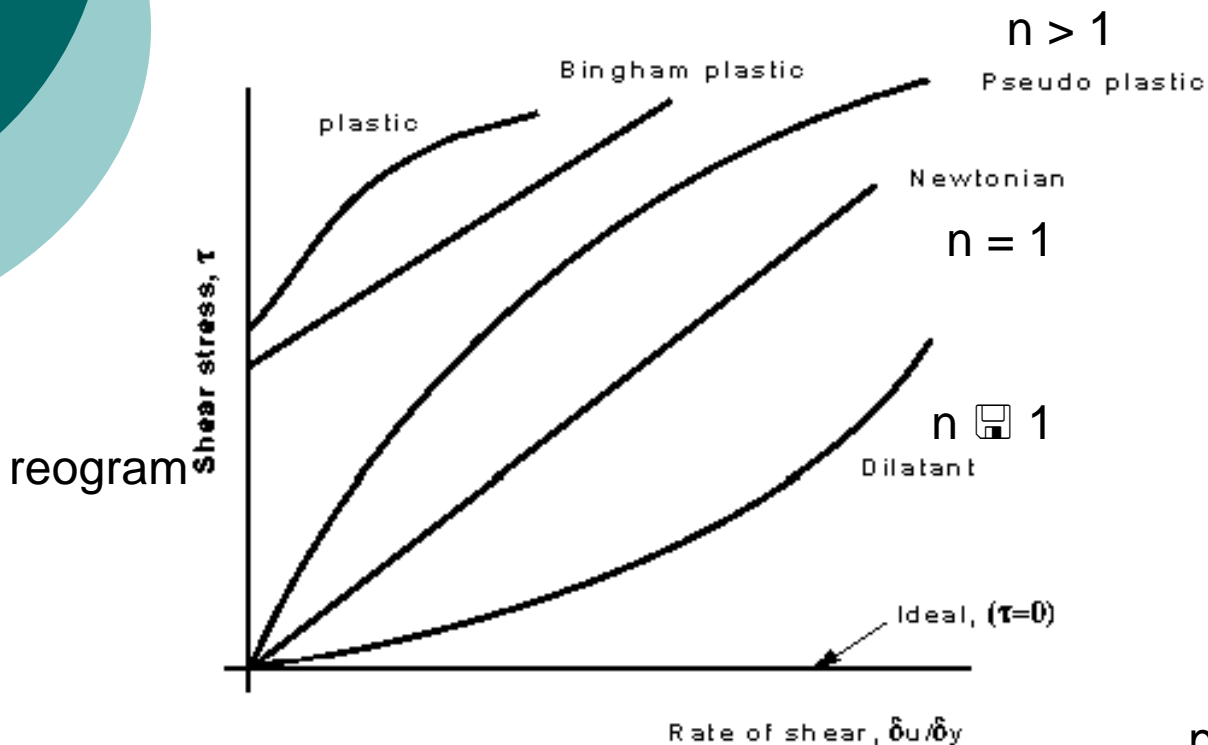
- vrste mikroorganizma
- velikosti in oblike celic (morfologija)
- reoloških lastnosti
- gostote
- koncentracije celic, produktov in stranskih produktov

# Morfologija celic



# Nenewtonske tekočine

- viskoznost se spreminja s strižno hitrostjo



Material	viskoznost $\cdot 10^3$ (Pa s)	T (°C)
zrak	0,017	0
voda	1	20
jajčni beljak	12	20
glicerol	100	60
ricinovo olje	1000	20
glukoza	10000	10

pseudoplastične tekočine

Ostwald-de Waelejev  
(potenčni) model:

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad \text{in} \quad \eta_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = K \dot{\gamma}^{n-1}$$

# Reološke karakteristike

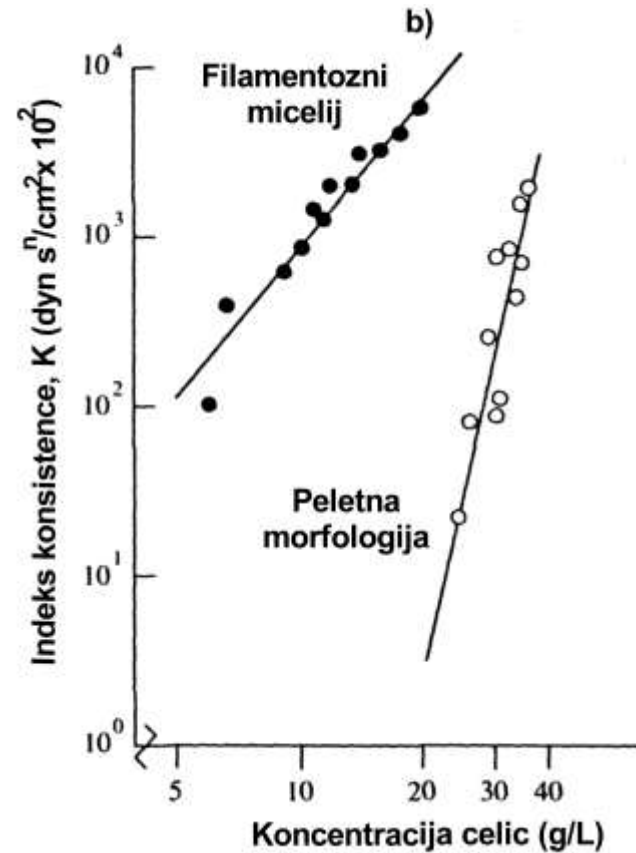
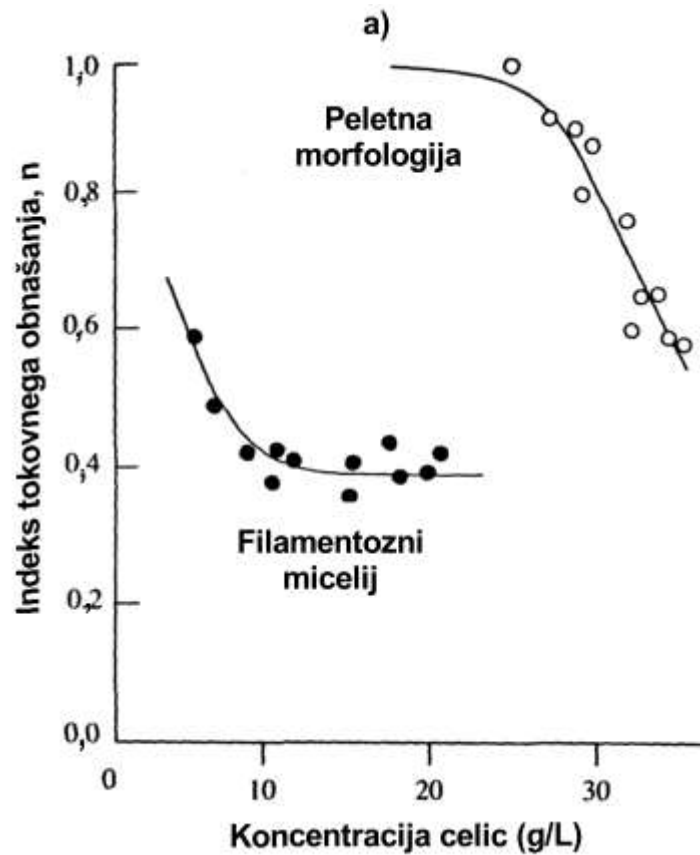
Table 1.9 Typical shear rates encountered in bioprocessing.

Operation	$\dot{\gamma}$ (s <sup>-1</sup> )
Expanded bed	<10
Packed bed	<10 <sup>3</sup>
Stirred tank	10 <sup>2</sup> –10 <sup>3</sup>
High pressure homogenizer	10 <sup>6</sup>

Table 1.10 Viscosities of various fluids at 20°C.

Liquid	Apparent viscosity mPa s
Water	1
Glycerol	1070
Ethanol	1.20
Acetonitrile	0.34
Clarified cell culture supernatant	<5
Blood	10
<i>E. coli</i> homogenate	<40
<i>E. coli</i> broth	<20
<i>Penicillium chrysogenum</i> fermentation broth	40 000
Heinz ketchup	50 000–70 000

# Morfologija in reološke lastnosti fermentacijskih brozg



Potenčni model:

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

# Gostota fermentacijskih brozg

---

- gostota suhe biomase:  
cca 1400 kg/m<sup>3</sup>  
celice vsebujejo 70-80% vode
- gostota brozge:  
cca 1100 kg/m<sup>3</sup>  
peleti in flokule: manjša gostota (več vode med celicami)
- gostota filtrata (supernatanta):  
cca 1030 kg/m<sup>3</sup>

# Koncentracija biomase

---

vrsta celic	produkt	koncentracija (% suhe snovi)
bakterije/kvasovke	proteini (single-cell)	3-6
glive	citronska kislina	2-3
glive	penicilin	2-4
bakterije	encimi	3-5
živalske celice		0,05-0.02
rastlinske celice		0,1-5