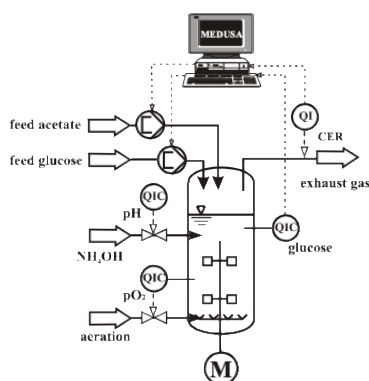


nije moguće glukozu konvertirati u piruvat uz 100 %-tno iskorištenje. Osim toga ovim pokusima je ustanovljeno da visoke koncentracije piruvata u mediju imaju za posljedicu inhibiciju rasta biomase, ali i inhibiciju nastajanja samog piruvata. Pokusi provedeni na tresilici rezultirali su niskom konačnom koncentracijom piruvata, $c = 30 \pm 5 \text{ mmol dm}^{-3}$, uz visoko iskorištenje piruvata na glukozu, $Y = 95 \%$ što je neznatno manje od teoretski mogućih 100 %. Kod pokusa provedenih u laboratorijskom reaktoru s dotokom ostvarena je konačna koncentracija piruvata, $c = 30 \pm 5 \text{ mmol dm}^{-3}$, uz smanjenje iskorištenje piruvata na glukozu koje je u ovim pokusima bilo, $Y = 75 \%$.

Kako bi se prevladali uočeni nedostatci procesa i povećala konačna koncentracija piruvata u reakcijskoj smjesi do razine koja omogućuje komercijalizaciju, proizvodnja piruvata je provedena u kotlastom laboratorijskom reaktoru s dotokom za koji je osmišljen inovativni sustav doziranja oba supstrata što je pojednostavljeno prikazano na slici 2. Doziranje glukoze bilo je temeljeno na *on-line* mjerenju koncentracija glukoze u reaktoru, dok je doziranje acetata bilo temeljeno na *on-line* mjerenju koncentracije CO_2 u izlaznoj plinskoj struji. Temeljen izmjerene koncentracije CO_2 u izlaznoj plinskoj procesnoj struji računata je, pomoću u kući razvijenog programskog paketa (MEDUSA, Research Center Juelich, Germany), brzina proizvodnje CO_2 koja je jednaka brzini potrošnje acetata što je potvrđeno neovisnim pokusima.



Slika 2. Pojednostavljeni shematski prikaz laboratorijskog bioreaktora za proizvodnju piruvata sa sustavima za doziranje glukoze i acetata

Primjena ovakvog reaktorskog sustava rezultirala je visokom konačnom koncentracijom piruvata, $c = 500 \pm 20 \text{ mmol dm}^{-3}$, uz relativno nisko iskorištenje piruvata na glukozu, $Y = 40 \%$ te visokom koncentracijom sporednog produkta, laktata. Zbog toga je bilo nužno usmjeriti daljnja istraživanja na daljnji razvoj mikroorganizma, odnosno smanjiti ekspresiju nukleotidnih sekvenci koje kodiraju enzim laktat dehidrogenazu.

3. Zaključak

Razvijen je proces proizvodnje piruvata iz glukoze i acetata pomoću genetski modificirane *Escherichia coli* NYC202. Primjenom inovativnih načina vođenja procesa postignute su visoke koncentracije piruvata u reakcijskoj smjesi uz istovremeno nisko iskorištenje na glukozu i visoku koncentraciju sporednog produkta laktata što je zahtjevalo daljnji rad na razvoju mikroorganizma.

4. Literatura

- Gerharz, Tanja; Zelić, Bruno; Takors, Ralf; Bott, Michael. Produktion von Pyruvat aus Glucose mit *Escherichia coli*. Biokatalyse, U ur.: Heiden, Stefanie; Erb, Rainer, Spektrum akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, pp 29-33, 2001
- Zelić, Bruno; Gerharz, Tanja; Bott, Michael; Vasić-Rački, Đurđa; Wandrey, Christian; Takors, Ralf. Fed-batch process for pyruvate production by recombinant *Escherichia coli* NYC202 strain. Chemical Engineering and Technology, Engineering in Life Sciences, 3 (2003) 299-305
- Zelić, Bruno; Gostović, Srđan; Vuorilehto, Kai; Vasić-Rački, Đurđa; Takors, Ralf. Process strategies to enhance pyruvate production with recombinant *Escherichia coli*: From repetitive fed-batch to *in situ* product recovery with fully integrated electrodialysis. Biotechnology and Bioengineering, 85 (2004) 638-646
- Zelić, Bruno; Vasić-Rački, Đurđa; Wandrey, Christian; Takors, Ralf. Modeling of the pyruvate production with *Escherichia coli* in a fed-batch bioreactor. Bioprocess and Biosystems Engineering, 26 (2004) 249-258