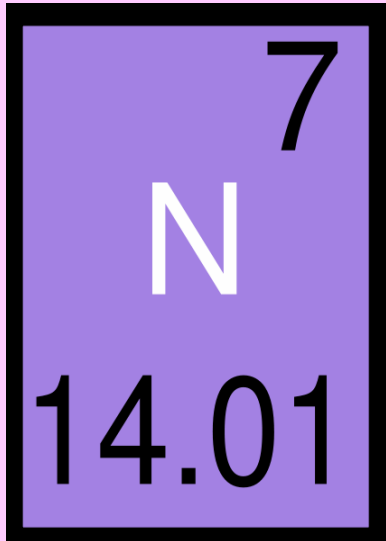


BIOTEHNOLOGIJA 2
akademska godina 2014/15.



IZVORI DUŠIKA

Izv. prof. dr.sc. Vlatka Petravić Tominac
vpetrav@pbf.hr



Izbor izvora dušika:

- prema hranidbenim zahtjevima uporabljenog mikroorganizma
- prema tipu biotehnološkog proizvoda

Koji su mogući izvori dušika?

- jednostavne mineralne soli - ponekad
- organski izvori dušika - dosta često

Općenito: mikroorganizmi rastu brže na organskim nego na anorganskim izvorima dušika!

MINERALNI IZVORI DUŠIKA



amonijeve soli
nitrati

najčešći izvori dušika za uzgoj mikroorganizama u industrijskoj proizvodnji

amonijev hidroksid
amonijev sulfat

prije svega se primjenjuju ovi spojevi

amonijev klorid
amonijev nitrat
amonijev fosfat
natrijev nitrat
kalijev nitrat

također se primjenjuju

Soli tehničke čistoće obično se primjenjuju zbog ekonomike mikrobnih procesa.



Ukupna bilanca dušika:

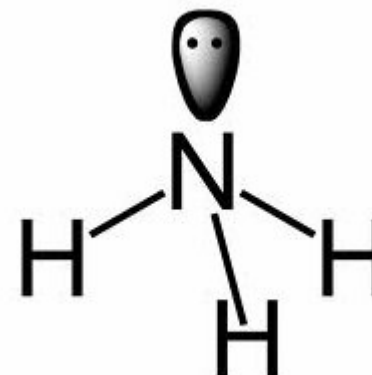
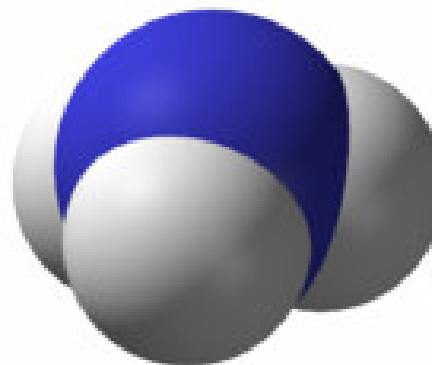
- prema njoj se procjenjuju potrebne količine
- treba uzeti u obzir udjel anorganskog i organskog dušika u svim sastojcima podloge



Amonijak

Oblici u kojima se upotrebljava:

- u **plinovitom stanju**
- u **obliku vodene otopine s 25 % (v/v) amonijaka**



Amonijačna voda tehničke čistoće:

gustoća 0,91

NH₄⁺ 20 do 25 %

isparni ostatak 0,4 g L⁻¹

Amonijačnu vodu treba vrlo pažljivo čuvati, jer se amonijak lako oslobađa iz otopine!

Toksičan i opasan za okoliš!





Amonijev sulfat

- kemijska formula: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- dobro se otapa u vodi
- sadrži 21 % dušika

Amonijev sulfat tehničke čistoće sadrži:

- niži udjel dušika (oko 20,7 %)
- do 0,15 % slobodne sumporne kiseline
- do 2 % vode

Često se koristi kao gnojivo!



<http://www.24sata.hr/tagovi/amonijev-sulfat-96510>

Glumicu, njena dvogodišnjeg sina i majku trovala je amonijevim sulfatom. Liječnik im je objasnio da imaju sreće jer su posljedice mogle biti kobne





Diamonijev hidrogenfosfat

(eng. diammonium phosphate, DAP)

- kemijska formula: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

Sadrži 21,2 % dušika i 74 % fosforne kiseline (preračunato na P_2O_5 iznosi 53,7 %).

Ako je **tehničke čistoće** onečišćen je amonijevim sulfatom.

Prilikom otapanja tvori voluminozni mulj koji se sporo taloži, a sadrži fosfate kalcija i željeza.



Saccharomyces cerevisiae

PRIMJENA:

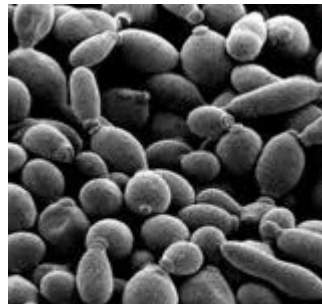
uglavnom kao izvor dušika i fosfora u proizvodnji kvaščeve biomase.

Nitrati

- soli dušične kiseline (stari naziv: nitratna kiselina)
- rijetko se rabe kao izvor dušika u podlogama za mikrobnu proizvodnju
- **nitrobakterije** i mnogi drugi mikroorganizmi (tzv. **denitrifikatori**) asimiliraju nitratni dušik (mogu reducirati nitrate do nitrita, odnosno nitrite do amonijaka, ili jedno i drugo).

Nitrati su češće sastojci tzv. **minimalnih hranjivih podloga za posebne namjene:**

- za biokemijsku identifikaciju bakterija, sporulaciju
- za razlikovanje kvasaca koji ne mogu asimilirati nitrate (**pekarski i pivski**) od kvasaca koji to mogu (***Candida sp.***) upotrebljava se **kalijev i natrijev nitrat**.



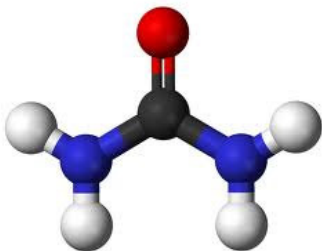
Pekarski kvasac



ORGANSKI IZVORI DUŠIKA

UREA

organski spoj
kemijske formule
 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$

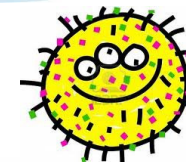
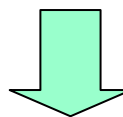


SLOŽENI BILJNI, MIKROBNI I ŽIVOTINJSKI SUPSTRATI

(neki su već spomenuti među izvorima ugljika)

Osim izvora C sadrže:

- izvore N (proteini, polipeptidi, peptidi, aminokiseline)
- druge sastojke (lipidi, vitamini)
- elemente u tragovima



Zato u cjelini pozitivno utječu
na rast mikroorganizama i
nastajanje proizvoda njihovog
metabolizma!



GLAVNI IZVORI DUŠIKA:



žitarice, uljarice ili gomoljike, odnosno njihovi **sekundarni proizvodi** u obliku

brašna ili različiti nusproizvodi koji nastaju prilikom izdvajanja škroba i ulja



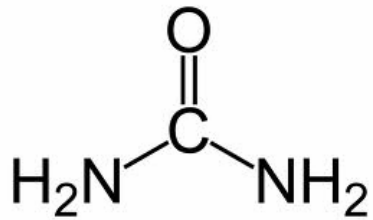
kvaščev ekstrakt



sojini proteini (peptoni)



posebna vrsta prirodnih izvora dušika



Urea
(karbamid ili mokraćevina)



- **jeftina** je i ima veliki **puferski kapacitet**

⇒ vrlo pogodan izvor dušika za hranjive podloge



- glavni nedostatak: **nestabilna tijekom toplinske sterilizacije**

⇒ mora se sterilizirati filtracijom (donekle ograničava njenu primjenu)



Često se primjenjuje u kombinaciji s drugim sirovinama koje sadržavaju dušik.

Aminokiseline, peptidi, purini i pirimidini

Njihovi izvori su složeni biljni, mikrobn i životinjski izvori dušika, kao što su:

- kukuruzna močevina (eng. Corn Steep Liquor, CSL)
- džibra
- različita brašna
- kazein
- pepton
- kvašćev ekstrakt
- mesni ekstrakt
- ekstrakt sladnih klica i sl.

Slobodne aminokiseline tehničke čistoće su sastojci hranjivih podloga samo za proizvodnju nekih aminokiselina ili kada u podlogama služe kao prekursori.

BILJNI IZVORI DUŠIKA

Brašna



- sojino brašno, brašno uljane repice, kukuruzno brašno, kukuruzna krupica, kukuruzno glutensko brašno

Žitarice - prosječno **10 % proteina** (koncentrirani u aleuronskom sloju i klici, tj. u dijelovima zrna koji su najsiromašniji polisaharidima, a najbogatiji mastima, mineralima i vitaminima).

Jednako se mogu koristiti i **odmašćena brašna soje, pamučnih sjemenki, uljane repice ili kukuruza** (zbog prethodnog postupka izdvajanja ulja bogatija su proteinima, a siromašnija ugljikohidratima i ostacima masti).

Brašna su dobar i jeftin izvor aminokiselina, mineralnih soli i vitamina.

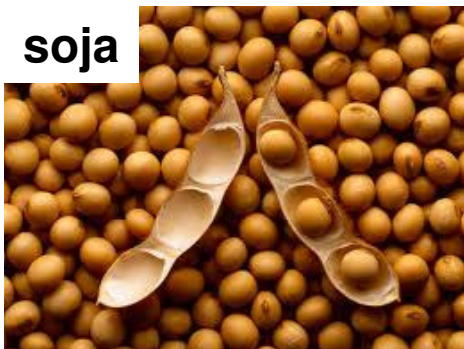


Međutim, njihova primjena često izaziva poteškoće u fazi **pripreme hranjive podloge** i u fazi **izdvajanja proizvoda** iz prevrele podloge:

Pri suspendiranju u vodi nastaju **grudice** različitog oblika i veličine → zato se moraju **sterilizirati pri povišenoj temperaturi** (122 - 127 °C/ 16 - 21 minute).

Ako se koriste u podlogama za dobivanje biotehnoloških proizvoda koji se izdvajaju **ekstrakcijom pomoću otapala**, proteini iz brašna stvaraju **emulzije**, a zaostale masti se ekstrahiraju u formi **voskova** zajedno s proizvodom.

soja



Sojino brašno

- najbogatiji izvor biljnih **proteina (44 do 47 %)**
- proizvod je ili nusproizvod tvornica za preradu soje

Može sadržavati različite udjele **masti** (3 vrste sojinog brašna):



- **punomasno** brašno (najmanje 18 % masti)
- **slabo masno** brašno (4,5 – 9 %)
- **bezmasno** brašno (najviše 2 %)

Udio ostalih sastojaka (**celuloza, ekstraktivne tvari bez dušika, minerali**) varira s koncentracijom masti.

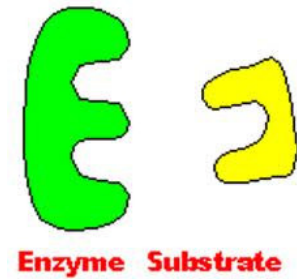
Bezmasno brašno je dobar izvor **kalcija, magnezija, kalija, fosfora i cinka te esencijalnih aminokiselina** (prevladava glutaminska).

U sojinom brašnu se nalaze:

- **inhibitori proteinaza** koje treba termički inaktivirati ako priprema podloge uključuje enzimsku obradu
- **termorezistentni proteini** mogu inhibirati rast nekih bakterija



Sojino brašno je najbolji izvor dušika u proizvodnji nekih antibiotika te enzima sirenja (mikrobni renin).



Odmašćeno brašno kikirikija

- ima sličan kemijski sastav i pogodan je izvor dušika u proizvodnji antibiotika klortetraciklina, ali ne i tetraciklina.





BRAŠNO ULJANE REPICE

- otpadak iz proizvodnje ulja



Prosječni sastav: 35 % proteina
17 % ugljikohidrata
4,5 % masti
6,5 % pepela
1 % fosfora

Primjena:

- zbog toksičnosti je neuporabljivo za krmiva pa se odlaže kao **gnojivo**
- u izvornom obliku može se uporabiti kao izvor dušika u podlogama za mikrobnu konverziju **steroida**
- nakon hidrolize može se koristiti za uzgoj **kvasca *Candida utilis***.



KUKURUZNO BRAŠNO



Sastav kukuruznog brašna:

oko 53 % ugljikohidrata

22% proteina

1,6% masti

3,3 % pepela (0,5 % fosfor)

Primjena:

- složeni izvor ugljika u podlogama za različite mikrobne procese
- služi kao izvor dušika za biosintezu nekih antibiotika i amilolitičkih enzima



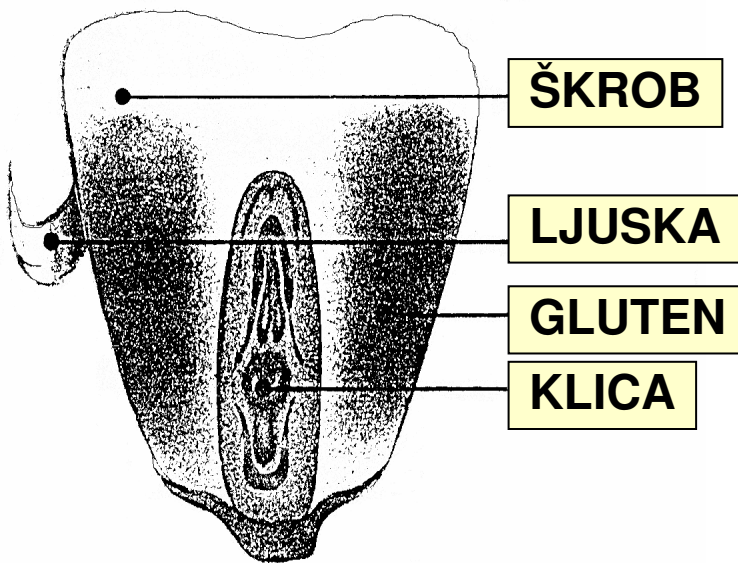
KUKURUZNA KRUPICA

U mnogim se zemljama dio pivarskog slada zamjenjuje kukuruznom krupicom, tzv. **pivarskom krupicom**, proizvedenom iz odmašćenog kukuruza.



Za pivarsku krupicu postoje posebni zahtjevi (više o tome u Tehnologiji slada i piva).

Zrno kukuruza sadrži više ukupnih **masti** nego zrno ječma → zato prilikom njegove prerade u krupicu treba ukloniti suvišnu mast (pretežno se nalazi u embriju i klici).



Shematski prikaz građe kukuruznog zrna

Suho ili mokro otklicavanje zrna → dobiva se odmašćena krupica (udjel masti 0,5 - 1,0 %).

Kukuruzna krupica upotrebljava se u velikim količinama kao izvor ugljika i u mnogim tehnološkim procesima (hranjive podloge za proizvodnju **antibiotika**, **enzima**, **etanola**), no tamo zahtjevi kvalitete, pogotovo s obzirom na udjel masti, nisu previše strogi.

KUKURUZNO GLUTENSKO BRAŠNO



- je nusproizvod tvornica mokre prerade kukuruza.

- **Prosječni sastav:** 59 % proteina

25 % ugljikohidrata

0,10 - 0,15 % fosfora

} promjenljivog je sastava!

Primjena:

- u kombinaciji sa zobenim brašnom u podlogama za biosintezu antibiotika.

- kao zamjena za kukuruznu močevinu (CSL) u proizvodnji antibiotika i u transformacijama steroida

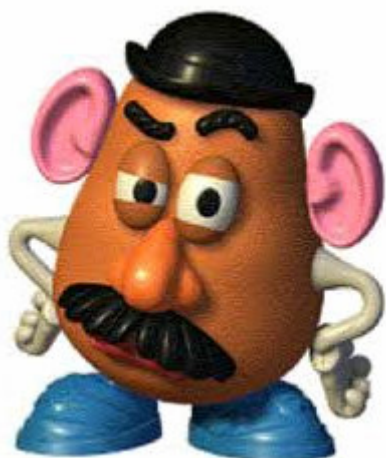
Tablica 7.3. Osnovni sastav nekih vrsta brašna bogatih dušikom

Sastojci (%)	Vrste brašna			
	Repičino brašno	Brašno sjemena pamučike	Kikirikijevo brašno	Glutensko brašno
Voda	8,0 - 9,0	2,0 - 3,0	5,0 - 10,0	5,0 - 8,0
Proteini	33,0 - 35,0	59,0 - 61,0	30,0 - 35,0	56,0 - 62,0
Ugljikohidrati	16,0 - 18,0	23,0 - 24,0	20,0 - 25,0	20,0 - 30,0
Ulja	6,0 - 10,0	4,0 - 5,0	3,0 - 4,0	2,5 - 3,0
Pepeo	5,0 - 7,0	6,0 - 7,0	2,0 - 5,0	2,0 - 3,0



KRUMPIROVI PROTEINI

- su nusproizvod postupka ekstrakcije škroba iz krumpira



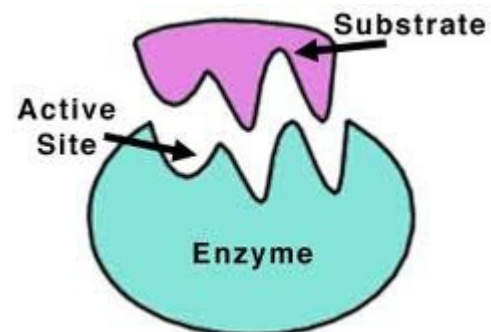
Npr. proizvod pod imenom Alburex®:

- potpuno topljiv u vodi,
- 75 - 85 % proteina u suhoj tvari



Primjena:

- zamjena za sojino brašno u proizvodnji enzima i antibiotika





KUKURUZNA MOČEVINA (eng. Corn Steep Liquor, CSL)

- je nusproizvod postupka za ekstrakciju škroba iz kukuruza

Dobivanje: uparavanjem ili sušenjem mikrobiološki promijenjenog (mliječno kiselo vrenje) vodenog ekstrakta kukuruza što zaostaje nakon močenja kukuruznog zrna prije izdvajanja škroba.



Primjena:

- sirovina za industrijske podloge
- bogata **esencijalnim aminokiselinama, vitaminima i mineralima**
- aminokiseline predstavljaju preko 80 % prisutnih sastojaka s dušikom



Najveći nedostatak: **velike varijacije u sastavu** (zbog više ili manje uspješnog mliječno kiselog vrenja močevine).

→ Zato su uz kukuruznu močevinu ponekad potrebni i dodatni izvori dušika. Ugušćivanjem i sušenjem ugušćene močevine → praškasti proizvod čiji sastav neznatno varira (tablica 7.4.).

Tablica 7.4. Kemijski sastav uparene i osušene kukuruzne močevine (%) (Cejka 1985.)

Vrsta močevine:	Ugušćena	Osušena
Suha tvar	46,80 - 49,60	90,37 - 91,74
Pepeo	8,04 - 10,43	12,89 - 13,74
Ukupni dušik	3,33 - 3,67	7,36 - 8,33
pH	4,00 - 4,70	3,80 - 4,40
Ukupni šećer (kao glukoza)	0,74 - 4,39	5,71 - 5,88
Mliječna kiselina	11,60 - 19,30	15,06 - 17,72
Kiselost (mL 0,1 M NaOH/10 g)	108 - 144	169,00 - 198,00
Hlapljive kiseline (mL 0,1 M NaOH/10 g)	0,10 - 1,10	0,50 - 1,35
Željezo	0,009 - 0,0027	-
Fosfor	1,50 - 1,90	2,60 - 2,80
Kalcij	0,02-0,07	-
Cink	0,005 - 0,012	-
Kalij	2,00 - 2,50	-
SO₂	0,00 - 0,02	-
Suspendirane čestice	38,40 - 52,90	-



Kvaliteta kukuruzne močevine jako ovisi:

- o energiji klijanja kukuruza koji se moči
- o primijenjenom postupku močenja

Udio aminokiselina (tablica 7.5.)

- vrlo važno svojstvo kukuruzne močevine
- jako ovisi o temperaturi močenja kukuruza, odnosno aktivnosti **bakterija mliječne kiseline (BMK)**, koje izlužene šećere previru u mliječnu kiselinu uz istovremenu asimilaciju slobodnih aminokiselina.
- u pravilu, sa smanjenjem koncentracije šećera povećava se koncentracija mliječne kiseline i smanjuje udjel slobodnih aminokiselina u močevini

Aminokiselina	% ukupnog dušika	
	Ugušćena	Praškasta
Asparaginska kiselina	5,50	5,60
Treonin	4,00	4,50
Serin	4,60	3,60
Glutaminska kiselina	17,50	14,00
Prolin	8,00	10,00
Glicin	5,10	6,10
Alanin	11,20	11,70
Valin	5,80	6,20
Cistin	1,90	2,20
Metionin	1,90	2,10
Izoleucin	3,60	3,60
Leucin	11,30	9,50
Tirozin	3,40	2,80
Fenilalanin	4,40	3,75
Lizin	2,50	3,00
Histidin	2,80	3,70
Arginin	3,30	4,00

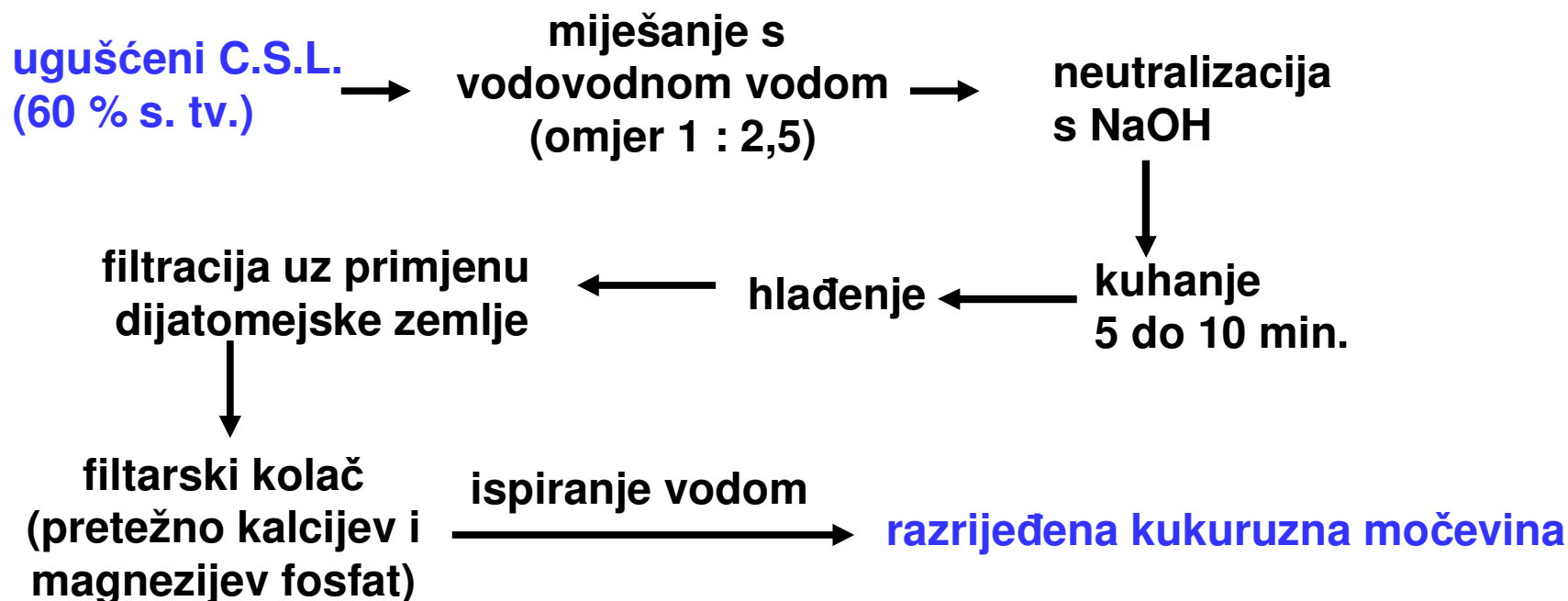
Udio aminokiselina u ugušćenoj i praškastoj kukuruznoj močevini

Ponovimo koje su esencijalne aminokiseline:

arginin
 histidin
 leucin
 izoleucin
 lizin
 metionin
 fenilalanin
 treonin
 triptofan
 valin



Pri zagrijavanju kukuruzne močevine **iznad 100 °C** i zatim hlađenju pojavljuje se **sivo-bijeli talog** koji može biti nepoželjan u hranjivim podlogama. Zato se provodi sljedeća procedura prije dodatka hranjivoj podlozi :



1 kg ugušćenog CSL-a odgovara oko 5 L razrijeđene kukuruzne močevine.

PROTEINSKI HIDROLIZATI

Dobivanje: kiselinskom ili enzimskom hidrolizom biljnih, mikrobnih i životinjskih proteina

Oblici na tržištu: tekući ili praškasti (različiti nazivi)

Kemijski sastav: različit, ovisi o: - porijeklu proteina

- primjenenom postupku hidrolize
- udjelu i topljivosti dušika

Hidrolizati soje i glutena - biljnog porijekla

Proteinski hidrolizati soje i mlijeka - komercijalno dostupni, relativno jeftini, ako su tehničke čistoće.

Mali udjel netopljivih sastojaka nema utjecaja na primjenu u farmaceutskoj proizvodnji.

Komercijalni hidrolizati se mogu zamijeniti priručnim hidrolizatima (na bazi enzimski hidroliziranih brašna žitarica, kiselinski ili enzimski hidroliziranih odmašćenih uljarica te hidroliziranih svježih ili prethodno osušenih i samljevenih **otpadnih mikrobnih biomasa**).



DESTILACIJSKI OSTACI (DŽIBRA IZ RAZLIČITIH PROCESA)

prevrela komina $\xrightarrow{\text{destilacija etanola}}$ u destilacijskoj koloni ostaje **džibra** - to je glavna komina

Džibra sadrži:

- neiskorištene sastojke sirovina (žitarice, kukuruz, melasa, voće, itd.)
- nusproizvode alkoholnog vrenja
- ostatke autoliziranih i termoliziranih kvašćevih stanica

Kemijski sastav džibre: ugljikohidrati
proteini
hlapljive kiseline
želirajuće tvari
mliječna kiselina
glicerol itd.

Kvantitativni sastav džibre: ovisi o vrsti sirovine za pripremu komine te eventualnom postupku ugušćivanja džibre (tablica 7.7.).



Korištenje džibre: - kao krmivo ili gnojivo - u većini zemalja
- visok udjel dušika → mogu se koristiti kao izvori dušika,
posebno u proizvodnji etanola i krmnog kvasca

- melasna džibra - glavni supstrat za proizvodnju **krmnog kvasca (*Candida utilis*)**
- melasna džibra kao izvor dušika u proizvodnji krmnog kvasca iz drvnih hidrolizata.

Tablica 7.7. Kemijski sastav kukuruzne, žitne i melasne džibre (Cejka, 1985.)

Sastojak (%)	Kukuruzna	Žitna (ugušćena)	Melasna (ugušćena)
Suha tvar	5,90	85,99	75,32 - 77,46
Pepeo (u s.tv.)	5,10	6,87	24,11 - 24,80
Organske tvari (u s.tv.)	94,10	79,10	50,52 - 52,93
Ukupni dušik (u s.tv.)	4,40	6,40	3,27 - 3,74
Masti (u s.tv.)	10,00	3,86	-
Ukupni kalij	-	-	14,41 - 14,46

MIKROBNI IZVORI DUŠIKA

- osušena kvaščeva biomasa
- biomasa drugih mikroorganizama
- termolizati, plazmolizati, hidrolizati ili ekstrakti mikroorganizama

izvori dušika, aminokiselina, peptida, purina, pirimidina i faktora rasta u hranjivim podlogama

Suhi kvasac

- čest izvor dušika

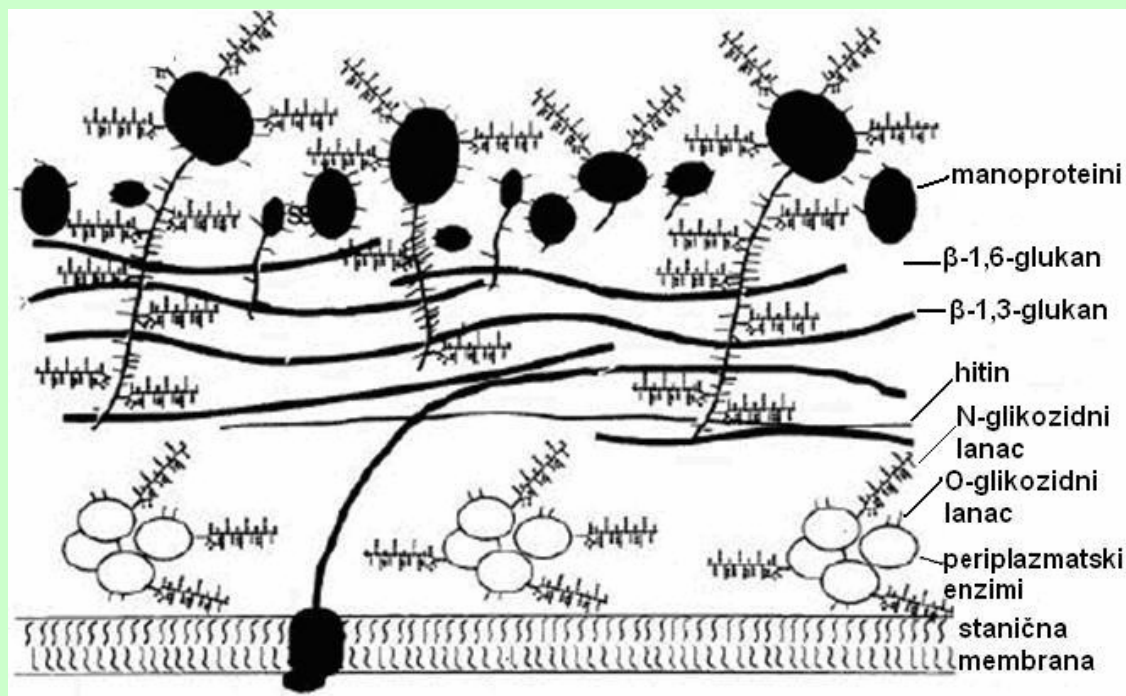
- osušena biomasa različitih kvasaca (*Saccharomyces sp.*, *Kluyveromyces fragilis*, *Candida utilis*)



otpadni pivski kvasac

- **obično se koriste** tzv. krmni kvasci, nusproizvodi pivovara, vinarija i špiritana, ili proizvodi mikrobne prerade nuzproizvoda i otpadaka prehrambene industrije

Sastav i struktura stanične stijenke kvasca *Saccharomyces cerevisiae*



- **termolizom biomase** prije **sušenja** → stanične stijenke pucaju (dio sastojaka osušenog kvasca topljiv je u vodi)

kemijski sastav osušenih biomasa
topljivost njihovih sastojaka

Dosta se razlikuju!
Istražiti ako se ne primjenjuje
komercijalni pripravak deklariranog
sastava.

Tablica 7.8. Kemijski sastav suhe biomase kvasca *Candida utilis* (Cejka, 1985.).

Osnovni sastojci	(%)	Osnovni sastojci	(%)
Voda	7	Pepeo	7
Proteini	54 - 57	Masti	6 - 8
Ugljikohidrati	28 - 35	Vlakna	3 - 7
Minerali (%)	3,9	MgO	0,3
P ₂ O ₅	1,8	Zn	100 (ppm)
K ₂ O	0,7	Cu	8 (ppm)
CaO			
Aminokiseline (%)	3,94	Cistin	0,58
Lizin	0,63	Alanin	3,72
Metionin	3,56	Arginin	2,74
Leucin	2,26	Asparaginska k.	5,05
Izoleucin	2,18	Glutaminska k.	9,71
Fenilalanin	2,40	Glicin	2,27
Treonin	0,72	Prolin	2,02
Triptofan	2,61	Serin	2,27
Valin	1,02	Tirozin	1,73
Histidin			
Vitamini (ppm)	35	Piridoksin	9
Tiamin	53	Nikotinska	347
Riboflavin		kiselina	31

Autolizati kvasca

- bogati su proteinima, aminokiselinama i vitaminima

- kemijski sastav im ovisi o vrsti primjenjene sirovine
- bolji su, ali i skuplji izvori dušika od osušene biomase
- slični su peptonu



biomasa
pekarskog ili
pivskog kvasca

Autoliza
(48 - 50 °C /
miješanje,
nekoliko sati)

endo-enzimi
kvasca

75 °C

(inaktivacija
endo-enzima)

filtracija ili
centrifugiranje

37 °C

konzentriranje

pasta

prašak

kvaščev
ekstrakt

stanične
stijenke



Uz visoke koncentracije
NaCl (do 40 %) → odvija se
plazmoliza (brže).

Tablica 7.9. Kemijski sastav ekstrakta pekarskog i pivskog kvasca.

Sastojci (%)	 Pekarski	 Pivski
Voda	30,00	30,00
Pepeo	8,35	10,00
Pepeo topljiv u kiselini	0,26	0,13
P kao P ₂ O ₅	1,98	4,00
Ukupni dušik	9,97	7,60
Formolni dušik	2,91	4,50

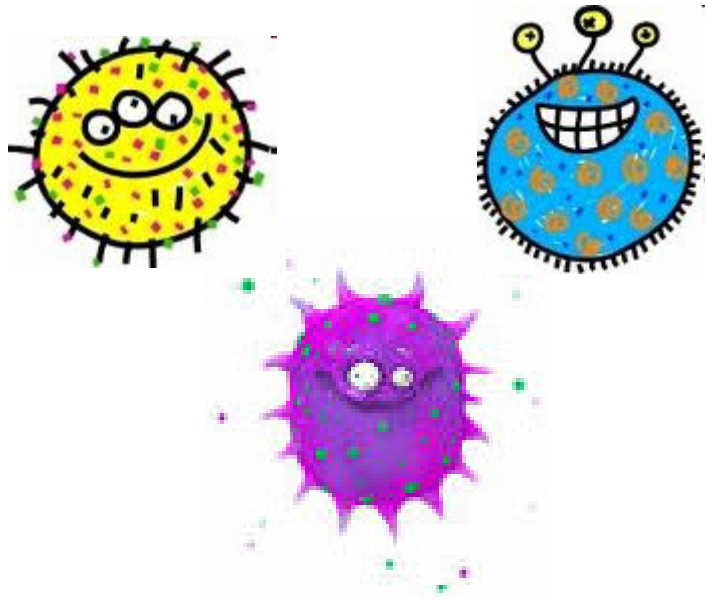
Na tržištu: autolizat kvasca ili kvašćev ekstrakt (različiti komercijalni nazivi).

Međusobno se razlikuju po:

- udjelu suhe tvari (70 do 97 %)
- topljivosti
- udjelu ukupnog dušika (6,8 do 11,7 %)
- udjelu aminodušika (3,8 do 65 %)
- prisutnosti NaCl (od 0 do 38 %)

ovisno o primijenjenom postupku i sušenju

Osim komercijalnih autolizata - **proizvodi dobiveni priručnom hidrolizom** krmnih kvasaca (pomoću kiselina ili enzimskih preparata)



Ostale mikrobne biomase kao izvor dušika

- otpadni micelij iz proizvodnje antibiotika
- bakterijska biomasa iz proizvodnje octa
- aktivni mulj iz aerobne obradbe otpadnih voda

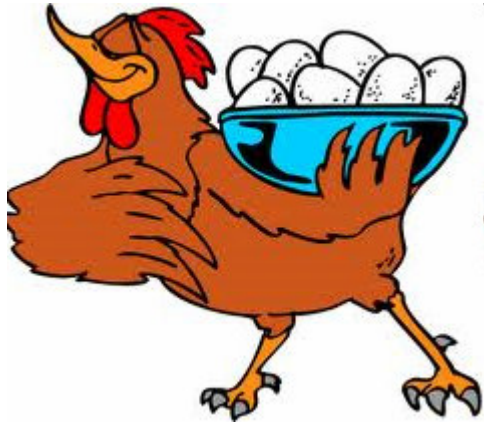
izvori složenih
dušičnih spojeva

Prije primjene:

- obično autoliza ili hidroliza (pomoću enzimskih pripravaka, kiselina ili lužina)
- ponekad ih je dovoljno samo termolizirati

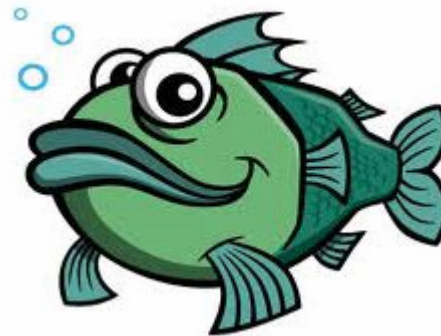
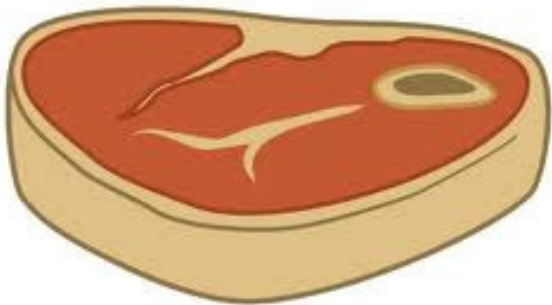
ŽIVOTINJSKI IZVORI DUŠIKA

Postoji relativno mali broj životinjskih (animalnih) izvora dušika.



Uglavnom nuzproizvodi :

- riblje industrije
- prerade mesa
- mlijeka
- peradi

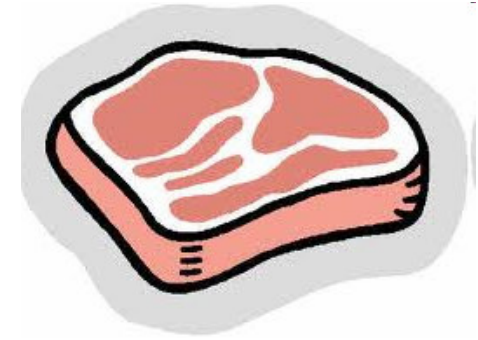


© www.ClipProject.info

Primjeri: riblje brašno, mesno brašno, mesni ekstrakt, pepton, kazein

Meso

- svi sastavni dijelovi toplokrvnih životinja iskoristivi za ljudsku hranu u svježem ili prerađenom obliku
- u užem smislu: skeletno mišićje s uraštenim kostima, hrskavicama, masnim tkivom, limfnim čvorovima, krvnim i limfnim žilama



Sastojci mišićnog tkiva:

sarkolema, sarkoplazma, vlakanca, jezgra

Kemijski sastav mišićnog tkiva:

72 - 75 vode

18,5 - 19 % proteina

1,7 % ekstraktivnih dušičnih tvari

0,9 - 1,0 % bezdušičnih ekstraktivnih tvari

1,0 % mineralnih sastojaka






3 % masti i lipida



ovisi o uhranjenosti životinja i vrsti mesa (tablica 7.11.)

Important
Information

Tablica 7.11. **Kemijski sastav različitih vrsta mesa (%)**

Vrsta mesa	Voda	Proteini	Masti	Minerali
 Piletina	65,5 - 72,1	19,8 - 22,8	4,0 - 11,5	1,1 - 1,2
 Teletina	69,0 - 74,0	19,0 - 22,0	3,1 - 11,0	1,0 - 1,1
 Govedina	55,0 - 74,0	19,0 - 21,0	4,0 - 25,0	0,9 - 1,1
 Svinjetina	49,0 - 71,0	16,0 - 21,0	7,0 - 34,0	0,8 - 1,1
 Ovčetina	53,0 - 75,0	17,0 - 20,0	4,0 - 29,0	0,9 - 1,1

Proteini - najvažniji sastojak suhe tvari mesa

- **topljivi** (miogen i globulin X)
- **netopljivi** (aktin i miozin)

Sastojci mesa bez dušika:

- **masti** (udjel ovisi o uhranjenosti životinja),
- **polisaharidi** (glikogen),
- **šećeri** (glukoza),
- **mineralni sastojci** (Na, K, Ca, Mg, Fe, P, Cl, elementi u tragovima)
- **enzimi** (kathepsini, aldolaze, fosforilaze, lipaze, katalaze, peroksidaze, fosfataze)



Meso je siromašno vitaminima! (u većoj količini nalaze se samo u životinjskim organima: mozak, srce, bubrezi, jetra, slezena, pankreas, timus)



Meso je najbolji izvor životinjskih proteina → potpuna je hranjiva podloga za rast mnogih mikroorganizama.



- slaba topljivost proteina
svježeg mesa



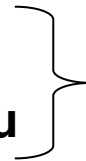
- laka pokvarljivost



svježije meso se ne primjenjuje kao
izvor dušika u hranjivim
podlogama za mikrobne procese

- enzimi iz svježeg mesa

- mikroorganizmi u i na mesu



→ meso je podložno brzim
biokemijskim promjenama



Razne bakterije, plijesni i neki kvasci

→ izazivaju hidrolizu proteina

→ oksidiraju pigmente mesa

→ izazivaju užegnutost masnog tkiva

Najneugodnije promjene:

površinska ili aerobna gnjilež mesa,
dubinska ili anaerobna gnjilež mesa



započinju pojavom ljepljivosti mesa,
fosforescencijom njegove površine
te promjenom boje, okusa (kiselost)
i mirisa (smrad)

PRIMJENA:



Za mikrobne procese se umjesto svježeg mesa primjenjuju **mesna brašna** i **mesni ekstrakti** (lakše se čuvaju, a sadrže dušik u pretežno topljivom obliku)



- svježe meso se primjenjuje kao sirovina jedino za proizvodnju **fermentiranih suhomesnatih proizvoda** - usitnjenom mesu se dodaju **začini** i drugi sastojci (**šećer, vino ili kiseline**)



To omogućava brzi rast poželjnih mikroorganizama: bilo u **mesnoj smjesi** bilo **na ovitku** proizvoda.



homofermentativni i heterofermentativni sojevi bakterija mliječne kiseline, streptomiceti i kvasci



plemenite plijesni

Mesno brašno - rijetko se primjenjuje u mikrobnjoj proizvodnji



Mesni ekstrakt - mnogo se češća primjenjuje
- nezaobilazni sastojak nekih hranjivih podloga
(npr. diferencijalnih)

Tablica 7.12. Osnovni sastav jednog komercijalnog mesnog ekstrakta

Sastojci	Udjel (%)
Suha tvar	95,0
Ukupni dušik	12,2
Amino-dušik (20 % od ukupnog N)	2,4
Pepeo	14,2
NaCl	5,5
Kalij	1,8
Magnezij	137,0 mg/kg
Bakar	2,0 mg/kg
Željezo	18,8 mg/kg



Kazein - glavni protein u mlijeku - ukupni mliječni protein sadrži oko **80 % kazeina** i 20 % proteina sirutke



α 1 - kazein
 α 2 - kazein
 β - kazein
 γ - kazein
 κ - kazein

glavne frakcije kazeina

Ovisno o postupku, dobiva se: - **čitavi kazein**
- **kiseli kazein**
- **mliječno kiseli kazein**

svi se mogu hidrolizirati pomoću kiselina ili enzima

	Ukupni dušik (%)	Amino-dušik (%)	omjer između amino- i ukupnog dušika
Kazein hidroliziran pomoću enzima tripsina	12,9	6,6	0,512
kiselinski hidroliziran kazein	8,3	6,4	0,771

Osim toga, kazeini su **bogati mineralnim sastojcima** (soli **Ca, Mg, Na, K i P**).



Želatina



Dobivanje:

ekstrakcijom i hidrolizom **kolagena** iz odmašćenih i demineraliziranih (naročito defosfatiziranih) životinjskih kostiju ili drugih otpadaka (kožice, vezivno tkivo).

Sastav:

bogata je **aminokiselinama**, osobito **glicinom**, **alaninom**, **serinom**, **leucinom**, **valinom**, **fenilalaninom** i **treoninom**.

Primjena:

izvor dušika u hranjivim podlogama za neke specifične procese - npr. za biosintezu kolagenaza s pomoću *Flavobacterium sp.*



PEPTONI su peptonizirani **proteinski hidrolizati**



- **potpuno su topljivi**
- mogu ih trošiti mnogi mikroorganizmi



- **relativno skupi** za industrijske podloge
- uglavnom se koriste kao izvori organskog dušika u laboratorijskim uvjetima.

PODJELA PEPTONA

prema porijeklu proteina

(sirovini iz koje su dobiveni:
meso, soja, životinjski proteini, kazein,
želatina, laktoalbumin, kvašćev ekstrakt)

Prema postupku hidrolize

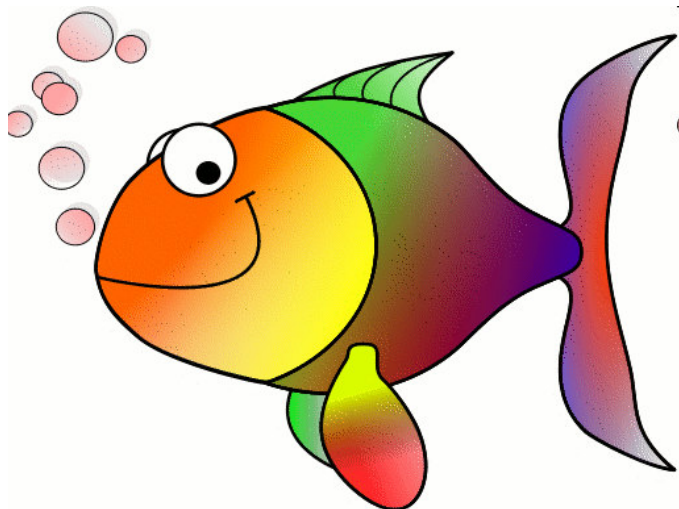
kiselinska
ili enzimska

Razlike: omjer amino-dušik / ukupni dušik, odnosno udjeli ukupnog dušika, ukupnih i slobodnih aminokiselina, pepela soli te ugljikohidrata.



RIBLJE BRAŠNO

- sadrži od 55 do 64 % proteina
- rijetko se primjenjuje kao izvor dušika u mikrobnoj proizvodnji



- uspješna zamjena CSL-a ribljim brašnom u proizvodnji proteolitičkih enzima namjenjenih za potrebe riblje industrije



SUPPORT BACTERIA!

it's the only culture some people have