



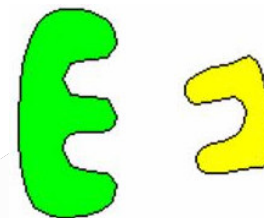
BIOTEHNOLOGIJA 2
akademska godina 2014/15.

IZVORI OSTALIH SASTOJAKA

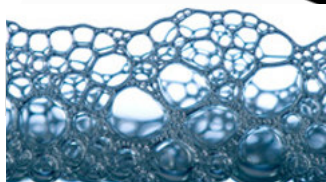
Izv. prof. dr. sc. Vlatka Petravić Tominac
vpetrav@pbf.hr

O čemu ćemo danas govoriti?
IZVORI OSTALIH SASTOJAKA

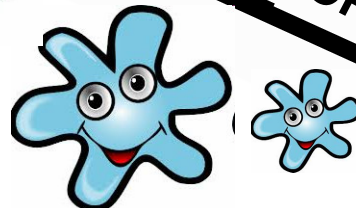
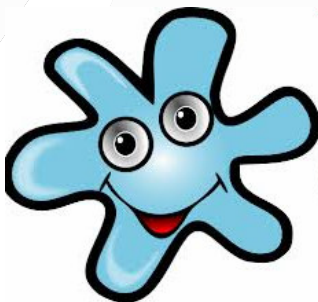
OKUSNE I
MIRISNE TVARI



ENZIMSKI
PRIPRAVCI



PREKURSORA
I INDUKTORA



FAKTORA RASTA
OSTALIH KEMIJSKIH₂
ELEMENTATA

H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba		Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra		Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Uun	Uuu	Uub						
		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
		Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	

IZVORI OSTALIH SASTOJAKA

1. IZVORI OSTALIH KEMIJSKIH ELEMENATA

- plinoviti kisik
- fosfor
- sumpor
- makroelementi (K, Mg, Ca, Zn, Cl)
- mikroelementi (Co, B, Cd, Cr, Cu, Mo, Ni)



2. IZVORI FAKTORA RASTA (vitamina i aminokiselina)

3. IZVORI PREKURSORA I INDUKTORA

4. PROTUPJENILA

5. IZVORI OKUSNIH I MIRISNIH TVARI (npr. hmelj)

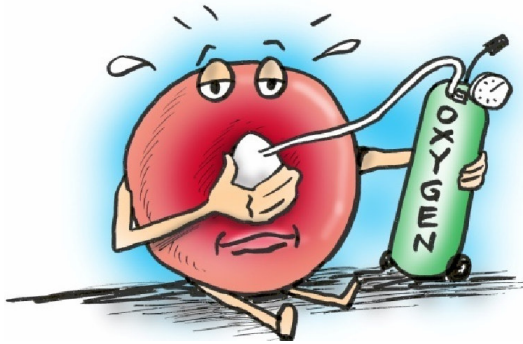
6. ENZIMSKI PRIPRAVCI

- tipovi enzimskih pripravaka
- čuvanje enzimskih pripravaka
- sigurnosne mjere pri radu s enzimima
- primjena enzimskih pripravaka

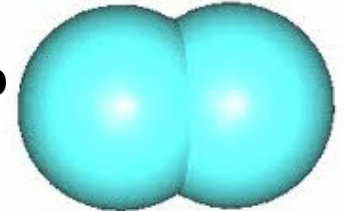


IZVORI OSTALIH KEMIJSKIH ELEMENATA




Izvori plinovitog kisika



Pomoću **čistog kisika** mogu se postići puno više koncentracije otopljenog kisika u hranjivoj podlozi nego pomoću zraka!



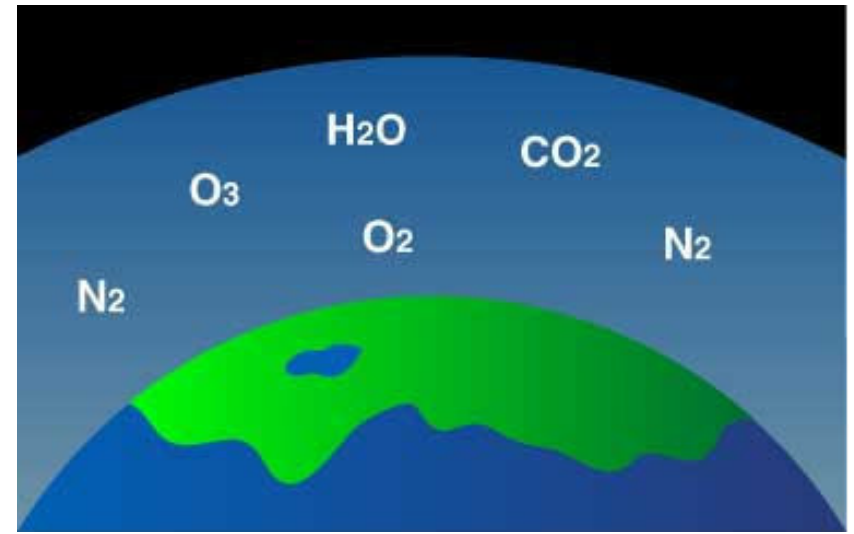
U mikrobnjoj proizvodnji **čisti kisik se ipak rijetko primjenjuje:**

-  - kisik je skuplji od zraka
-  - moguća toksičnost previsokih koncentracija otopljenog kisika na stanice mikroorganizama
-  - potrebna je puno finija i točnija regulacija dobave kisika nego zraka

Za većinu aerobnih mikrobnih procesa izvor kisika je **okolišni tj. atmosferski zrak**, koji je smjesa plinova:

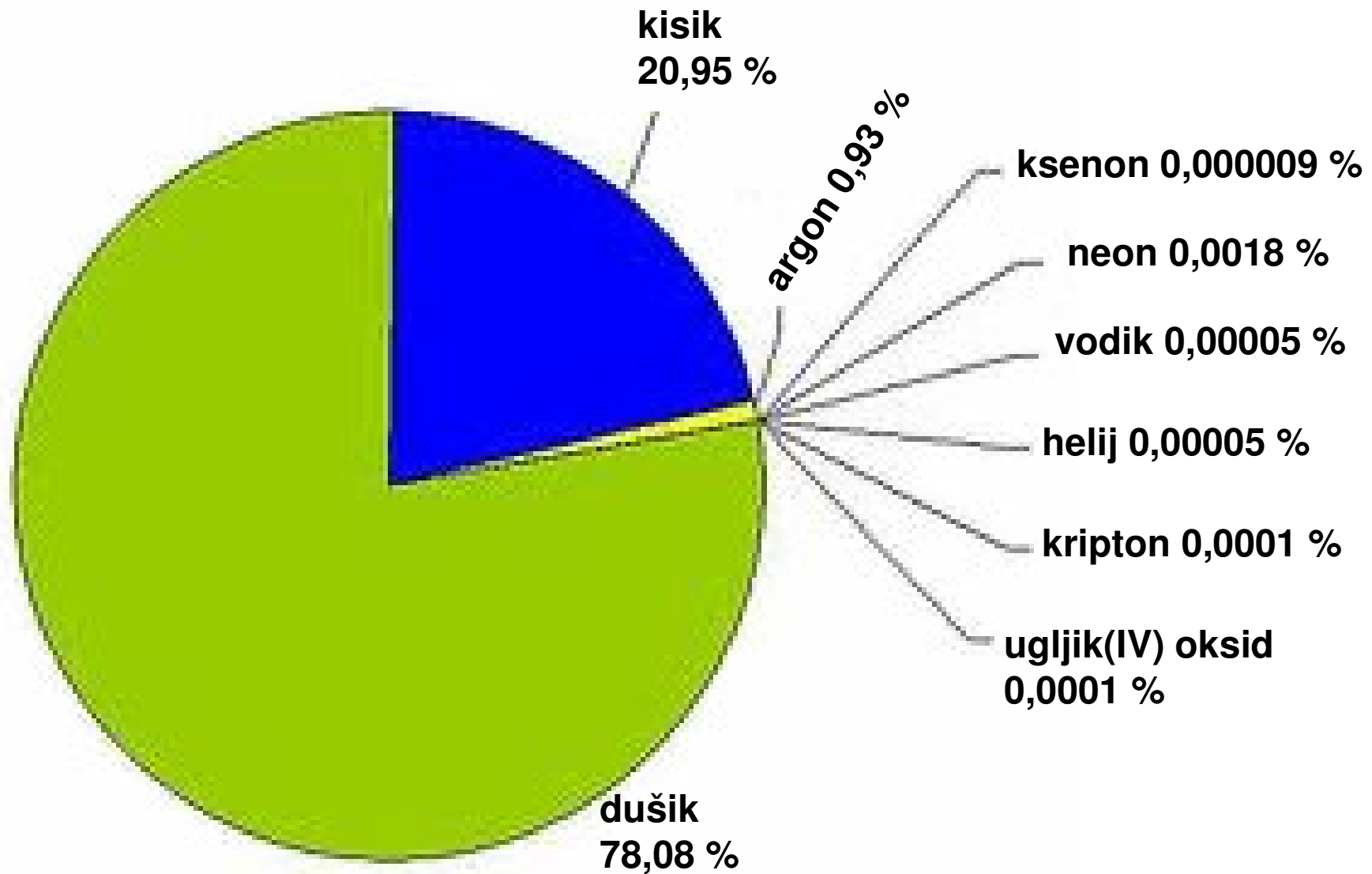
- **dušik** ($\varphi = 78,08 \%$)
- **kisik** ($\varphi = 20,95 \%$)
- **plemeniti plinovi** ($\varphi = 0,94 \%$)
- **ugljkov(IV) oksid** ($\varphi = 0,03 \%$)

- **vodena para**,
- **čvrste čestice**
- **vegetativni i sporogeni mikroorganizmi**



veći ili manji udio
(ovisno o okolišu)

Volumni udjeli (φ) pojedinih plinova u atmosferi



Broj mikroorganizama na m³ zraka

- **podložan je stalnim promjenama** (mikroorganizmi dopijevaju u zrak uglavnom s česticama zemlje) → sve što povećava udio čvrstih čestica / prašine u zraku povećava i broj mikroorganizama → stoga su **vjetar i godišnja doba** glavni čimbenici “čistoće” zraka.



tiho vrijeme (bez vjetra)
i zimi (više oborina)

} manje mikroorganizama
u zraku



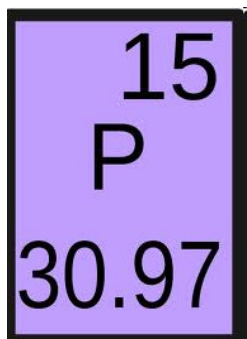
Ljeto i rana jesen (suha površina zemlje): mikroorganizmi se brže umnožavaju → veći udio mikroorganizama u zraku



} Poslije kiše ili snijega: zrak je osobito čist
(mikroorganizmi se talože s oborinama)

Najviše mikroorganizama:

- niži slojevi zraka industrijskih gradova (deseci tisuća / m³)
- najčešće: **sporogene bakterije, plijesni, sporogeni kvasci**



Fosfor

Izvor: soli fosforne kiseline, koja tvori tri vrste soli zamjenom jednog, dva ili tri vodikova atoma (iona) u molekuli kiseline (primarni, sekundarni i tercijarni fosfati).

Najčešće se koriste:

kalijev hidrogenfosfat, K_2HPO_4

kalijev dihidrogenfosfat, KH_2PO_4

natrijev hidrogenfosfat, Na_2HPO_4

amonijev hidrogenfosfat, $(NH_4)_2HPO_4$

kao soli tehničke
čistoće



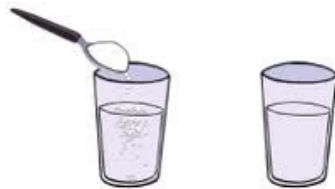
Nekada se (u proizvodnji kvasca iz melase) koristio **superfosfat** (najvažnije fosfatno gnojivo, smjesa kalcijevog dihidrogenfosfata i kalcijevog sulfata).

Dobar izvor fosfora može biti i **kukuruzna močevina** (CSL) - udio fosfora proporcionalan je udjelu pepela.

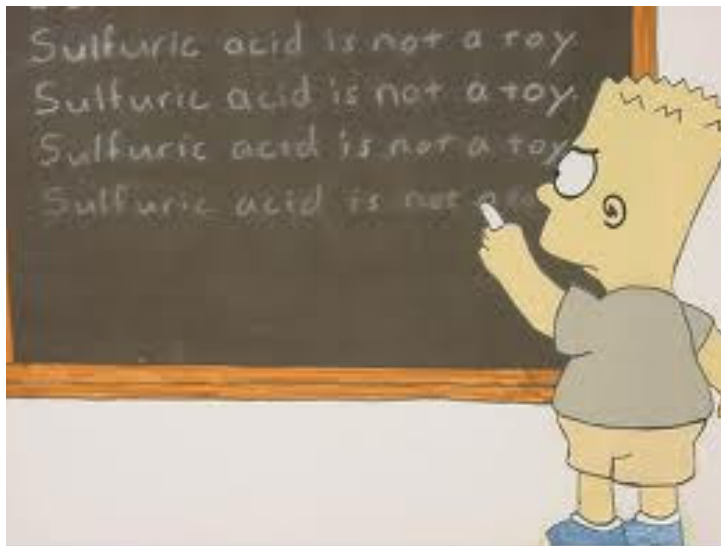
Sumpor



Najčešći izvori sumpora:



-**sulfati** topljivi u vodi



- **sumporna kiselina**

(stari naziv: sulfatna kiselina) koristi se za regulaciju pH-vrijednosti podloge

Netopljivi su **sulfat olova** i **sulfati zemnoalkalijskih metala**.

Makroelementi (K, Mg, Ca, Zn, Cl)

Izvori:

- **soli fosforne, sumporne i klorovodične kiseline** (stari nazivi: solna kiselina, kloridna kiselina)
- **sirovine biljnog porijekla** (spaljivanjem daju mnogo pepela u kojem je i fosfor)

Mikroelementi (Co, B, Cd, Cr, Cu, Mo, Ni)

biljne sirovine,
vodovodna voda

Većina složenih hranjivih podloga pripremljena od ovih sastojaka zadovoljava potrebe mikroorganizama za mikroelementima!

U nekim slučajevima (ovisno o vrsti sirovine) izravno se dodaju u podlogu **soli ovih elemenata** ili njihovi **prirodni izvori**.

npr. **pepeo** dobiven spaljivanjem melasne džibre, **otpadni talog** iz proizvodnje kalijevih gnojiva

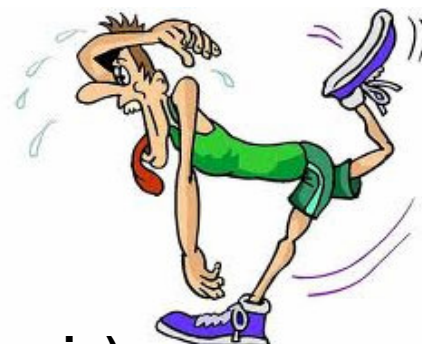
Priprava sintetske podloge od **destilirane/deionizirane vode** i **čistih kemikalija** ili sirovina za koje se zna da ne sadrže primjese → takve elemente treba **izravno dodati u podlogu**.

vitamin A (retinol, akseroftol)

vitamin D (kalciferol)

vitamin E (α -tokoferol)

vitamin K



**vitamini
B-skupine**

vitamin B1 (tiamin, aneurin)

vitamin B2 (riboflavin)

vitamin B3 - nikotinska kis. (niacin) i nikotinamid (niacinamid)

vitamin B5 (pantotenska kiselina)

vitamin B6 (piridoksin, adermin)

vitamin B9 - folna kiselina (pteroilglutaminska kiselina, folacin)

vitamin B12 (cijanokobalamin)

vitamin H (biotin)

vitamin C (askorbinska kiselina)

myo-inozitol

kolin

PABA (*p*-aminobenzojeva kiselina)

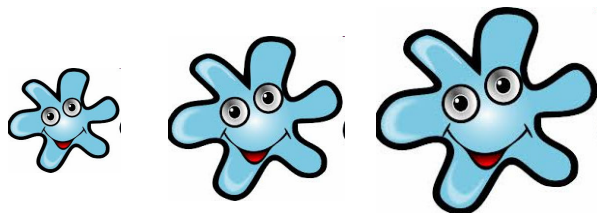
vitaminima
slične stvari



IZVORI FAKTORA RASTA

Izvori vitamina

Izvori aminokiselina



Izvori vitamina

tvari slične vitaminima

Tablica 8.1. Udio vitamina ($\mu\text{g/g}$) u C i N izvorima (Cejka 1985.)

C i / ili N izvor	Tiamin	Ribo- flavin	Piri- doksin	Biotin	Panto- tenska kiselina	Niacin	<i>myo</i> - inozitol	Kolin
Repina melasa	-	-	-	0,02	36,0	-	280,0	-
Trščana melasa	8,3	2,5	6,5	1,20	214,0	210,0	-	-
Sojino brašno	-	3,1	-	-	14,1	30,1	-	2420,0
Sjeme pamučike (brašno), Proflo	4,4	5,1	0,88	0,79	12,5	83,9	3640,0	33,5
C.S.L.	5,4	11,0	15,0	-	28,0	170,0	4950,0	5400,0
Autolizat kvasca BYF, serija 100	50,0	35,0	25,0	2,00	100,0	550,0	3000,0	2000,0
Yeatex C pasta	10,0	20,0	25,0	1,00	50,0	400,0	1500,0	1500,0
Osušena džibra (topljivi dio)	5,5	15,4	-	2,86	19,8	110,0	-	4400,0 12

Mnogi **složeni prirodni izvori** ugljika i dušika sadrže značajne količine vitamina za mikrobní rast - u literaturi različiti podaci o udjelima vitamina u takvim sirovinama.



Melasa sadrži i **vitamine B-skupine**, no udjeli nekih od njih, poput **biotina** i **tiamina** obično nisu dovoljni → zato se ova dva vitamina često moraju posebno dodavati.

Slično vrijedi za **myo-inozitol** i **pantotensku kiselinu**, posebice u proizvodnji **pekarskog kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*)**.

Nedostatak biotina u repinoj melasi nadoknađuje se dodatkom **čistog biotina**, **destiobiotina**, **CSL-a**, **sirutke** ili **kombinacijom repine i tršćane melase**.

Biotin i **tiamin** (kao čisti vitamini ili u pripravcima kvašćevog ekstrakta) treba dodati pri uzgoju **krmnih kvasaca (*Candida sp.*)** na metanolu, etanolu, n-alkanima i celuloznim hidrolizatima.

Izvori aminokiselina

Kao izvor aminokiselina mogu se primjeniti svi **organski izvori dušika bogati slobodnim aminokiselinama** (kazein, pepton, kvašćev ekstrakt, CSL).

VODENI EKSTRAKT SLADNIH KLICA (nusproizvod tvornica slada)

- dobar složeni izvor faktora rasta (sadrži i aminokiseline)
- često se koristi u procesima s **bakterijama mliječne kiseline**
- osim **aminokiselina** sadrži **vitamine** (najviše kolina, *myo*-inozitola, nikotinske kiseline, biotina, pantotenske i folne kiseline) i **mikroelemente** (najviše željezo, mangan i cink)



AUTOLIZAT ILI KISELINSKI HIDROLIZAT OTPADNE BAKTERIJSKE BIOMASE IZ PROIZVODNJE OCTA - za uzgoj **bakterija octene kiseline**

POJEDINAČNE AMINOKISELINE TEHNIČKE ČISTOĆE mogu se dodati u podlogu kada je to potrebno (uzgoj **mikrobnih sojeva ovisnih o nekoj aminokiselini** ili kada određena aminokiselina služi kao **prekursor ili induktor**).

Dostupni su L- i D,L- oblici aminokiselina specijaliziranih proizvođača.

IZVORI PREKURSORA I INDUKTORA

- **kemijski čisti spojevi** se rijetko primjenjuju kao prekursori i induktori (zbog cijene)



Prekursor može ujedno biti i sastojak:

- neke sirovine za hranjivu podlogu (npr. **β -feniletilamin** u CSL-u)
- nekog drugog otpadnog supstrata (npr. **ksiloza** u kukuruznim oklascima, **kolagen** u mesnim otpacima, **lecitin** u soji itd.)
- prekursor se prije ili tijekom pripreme hranjive podloge mora “osloboditi”, odnosno prevesti u odgovarajući oblik pomoću pogodne predobrade sirovine



PROTUPJENILA

- za suzbijanje pjene
- u praksi se često koriste nazivi “protupjeniči” ili sredstva protiv pjene (SPP)

TRADICIONALNA PROTUPJENILA

- koristila su se prije pojave komercijalnih
- istovremeno olakšavaju regulaciju pH-vrijednosti podloge

- **biljna ulja** (laneno, repičino, sojino, maslinovo i ulje pamučikina sjemena)
 - **životinjska (animalna ulja)** (kitovo ulje, ulje od svinjskog sala)
 - **sulfonirano repičino i ricinusovo ulje**
 - **ulje dobiveno hladnim prešanjem svinjskog sala** (u proizvodnji penicilina)
 - **mineralno ulje** (u proizvodnji limunske kiseline)
 - **alkoholi** - najčešće **oktadekanol** (sam ili u kombinaciji s uljem)
- mikroorganizmi ih mogu metabolizirati



DANAS: KOMERCIJALNA SPP se sve više koriste umjesto prirodnih.

- razvijena tako da zadovolje potrebe različitih mikrobnih procesa

SILIKONI (organski spojevi silicija) - 2 vrste silikonskih sredstava:



čisti polisiloksani u nosaču

- metil-polisiloksani - obično se primjenjuju s **parafinima** ili rjeđe s **ricinusovim uljem** kao nosačima.

-  - velika **viskoznost**
-  - pojava **razdvajanja silikona od nosača** pri sterilizaciji


vodene emulzije (oko 10 % silikona)

češće se koristi vodena emulzija silikona:

-  - manje viskozna
-  - ne zahtijeva primjenu nosača

  - bakterijski procesi, alkalni pH → puno učinkovitiji

- pogodni su za procese s kvascima (pH < 5)

 - manje su učinkoviti u procesima s plijesnima (pH oko 5) – vjerojatno micelij na neki način sprječava djelovanje



Prije primjene **provjeriti moguće inhibicijsko djelovanje** na mikrobnii rast i metabolizam!

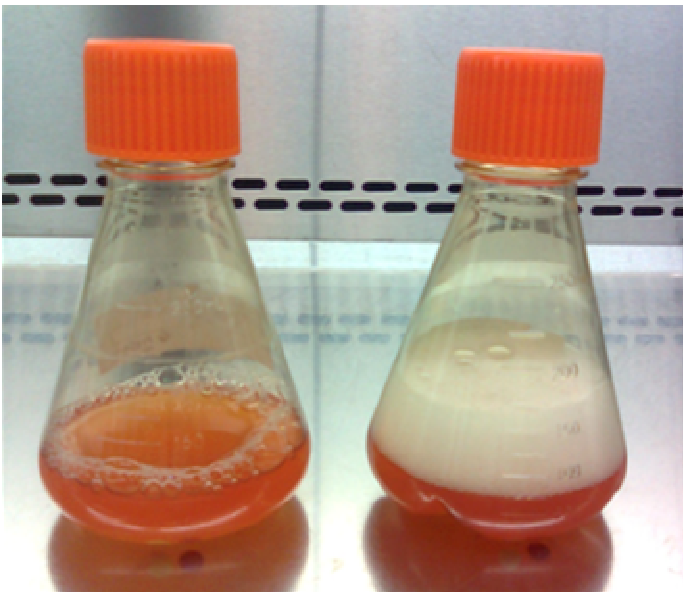
Moguća mikrobna razgradnja nekih silikonskih emulzija tijekom skladištenja.

POLIGLIKOLI - djeluju dugotrajno poput silikona, pogodniji za procese s plijesnima, primjenjuju se bez nosača.

Npr. **esteri polietilenglikola** u proizvodnji kvasca.

Esteri viših masnih kiselina

Veliki broj SPP
kemijska raznolikost SPP



ne može se jednoznačno ustvrditi koje je protupjenilo najbolje za određeni mikrobní proces → treba **eksperimentalno ustanoviti koje je sredstvo prikladnije.**



IZVORI OKUSNIH I MIRISNIH TVARI

- **biljne sirovine** koje nisu niti hranjivi sastojci niti reaktanti
- služe kao izvor okusnih i mirisnih tvari koje se iz njih ekstrahiraju, a **biotehnološkim proizvodima daju poseban okus i miris**



PRIMJER 1:
plod borovice (*Juniperi fructus*)
u proizvodnji **gina**



PRIMJER 2:
hmelj (*Humulus lupulus*) u
proizvodnji **piva**





IZVORI OKUSNIH I MIRISNIH TVARI -

PRIMJER 1: plod borovice (*Juniperi fructus*)

- naziv biljke: borovica (*Juniperus communis*)
- ostala imena u Hrvatskoj: kleka, klek, brinja, brinje, smrička...
- koristi se u proizvodnji **gina**



Plodovi borovice mogu se izravno dodati u **žitnu kominu** neposredno prije alkoholnog vrenja jer su **mirisni i okusni sastojci plodova borovice** topljivi u etanolu → postepeno prelaze u kominu kako se povećava udio etanola koji nastaje vrenjem.



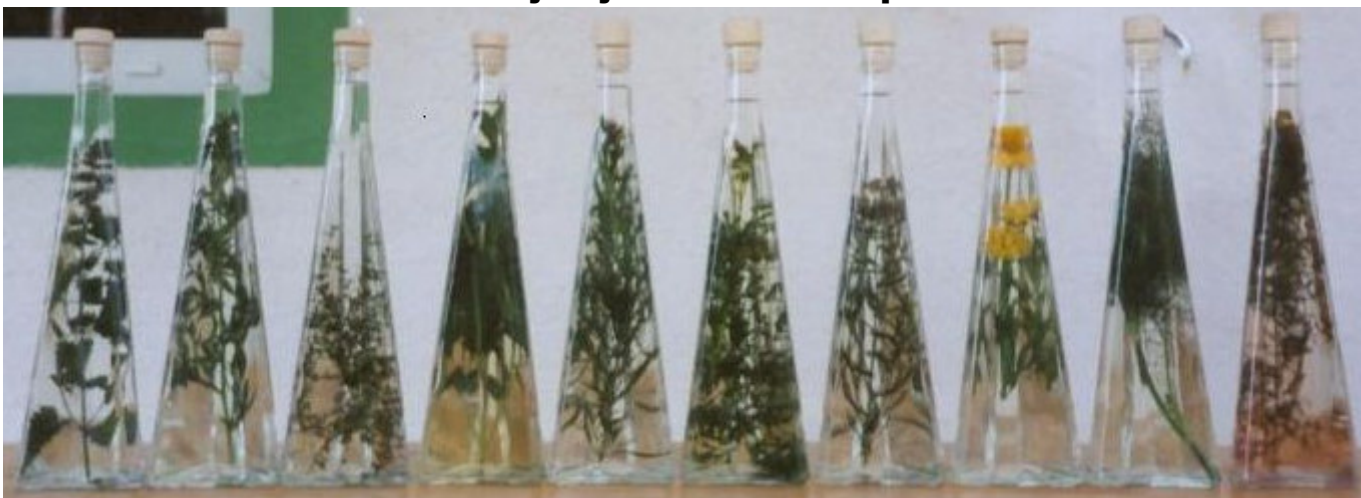
Na istom se principu temeljila tradicijska proizvodnja mnogih žestokih alkoholnih pića.

Brojne biljne sirovine iz kojih su se također ekstrahirale različite, vrlo specifične okusne i mirisne tvari:

- **korijen s podankom**
- **lišće s dijelovima stabljike**
- **sjeme i plodovi** različitog, pretežno ljekovitog, bilja i raslinja

Alkoholni ekstrakti ili macerati spomenutih sirovina

- koriste se u suvremenoj proizvodnji spomenutih pića
- izravno se dodaju u vino, odnosno destilate alkoholno prevrelih komina
- koriste se u fazi izdvajanja ili dorade proizvoda



IZVORI OKUSNIH I MIRISNIH TVARI - PRIMJER 2:

hmelj (*Humulus lupulus*) u proizvodnji piva

Kuhanje sladovine s hmeljom → ekstrakcija **okusnih i mirisnih sastojaka hmelja** (gorki sastojci hmelja su netopljivi u vodi, pa ih treba prethodnom termičkom obradom prevesti u **vodotopljive izomere**).

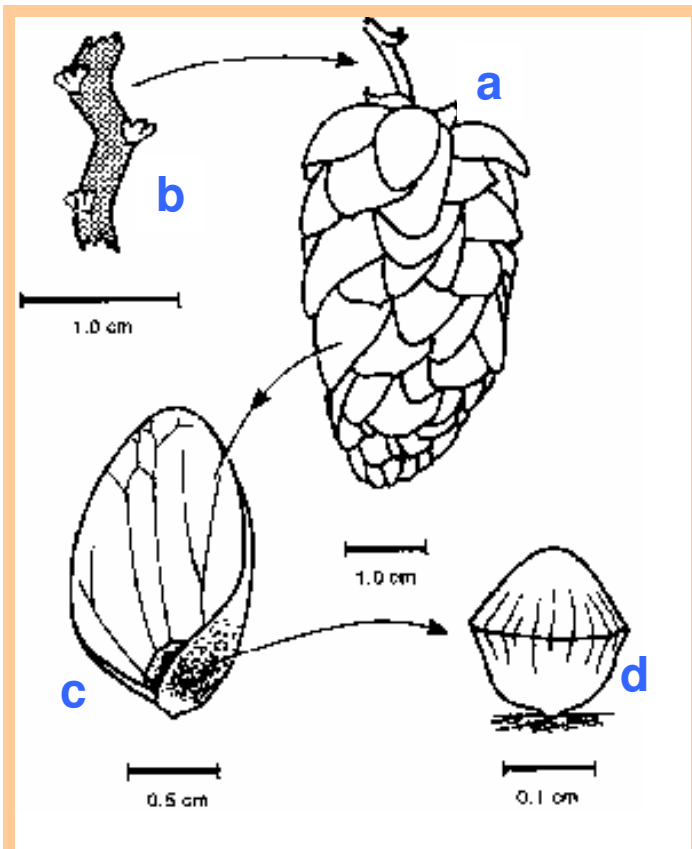
Dostupni su i **izomerizirani hmeljni ekstrakti**, koji se mogu također primjenjivati u fazi dorade piva, ali u praksi još uvijek prevladava upotreba **prirodnog hmelja** ili **neizomeriziranih pripravaka** dobivenih iz hmelja.



Hmelj (*Humulus lupulus*):

- višegodišnja dvodomna biljka puzavica iz grupe kopriva i porodice konoplja (*Cannabaceae*).
- u pivarstvu se koriste osušeni **neoplođeni ženski cvjetovi hmelja**
- na tržište dolaze pod imenom **hmeljne šišarice** ili jednostavno **hmelj** i **prepravci dobiveni njihovom preradom**
- šišarice sadrže **gorke smole** i **eterična ulja** → pivu daju specifičan gorak okus i hmeljnu aromu





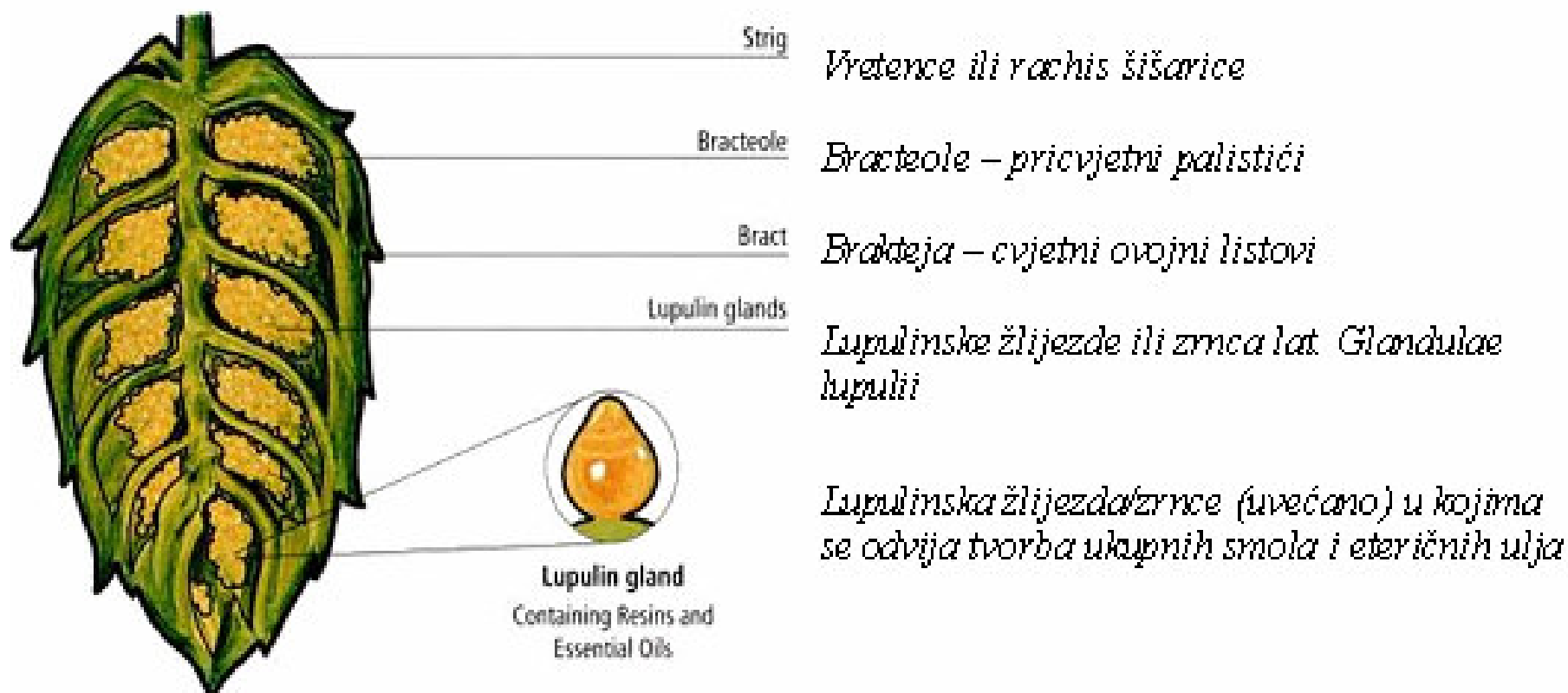
- **peteljka** (središnja os) je uglasto vijugava (cik-cak)
- na svakom uglu peteljke nalazi se skoro neprimjetan **cvijet** (cvast) i dva **pokrovna listića** (latice)
- pri dnu pokrovnih listića su smještena **lupulinska zrnca** (sadrže najvažnije sastojke hmelja s pivarskog gledišta)



Hmeljna šišarica i njeni dijelovi:

- a) **šišarica**; b) **peteljka**;
- c) **pokrovni listić** (latice);
- d) **lupulinsko zrnce** (ljepljiva, zelenkasto žuta “prašina” između središnje osi i dna pokrovnih listića).

U slučaju **oplodnje cvjetova**, pri dnu se pojavljuje i **sjeme**, što **smanjuje pivarsku kvalitetu šišarica** → pojava nepoželjnog okusa i mirisa.



*Sl. 1. Uzdužni presjek šišarice hmelja lat. *Strobylis lupuli* (materijal tvrtke Joh. Barth & Sohn, 1999. www.johbarth.com)*

Srećec, Siniša. Hmeljarstvo. Križevci : Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, 2004 (monografija).

S pivarskog stanovišta u hmelju su najvažniji:



- ukupne smole
- eterična ulja
- taninske tvari



DRAW!

HMELJNE SMOLE

- najvažnije svojstvo je njihova gorčina
- razlikuju se **meke i tvrde smole**
- meke smole su topljive u heksanu, a sastoje se od α -kiselina i β -frakcija.

ETERIČNA ULJA HMELJA

- sastoje se od **preko 200** različitih spojeva



mircen - lako isparava i može se oksidirati, izaziva oštar hmeljni miris → gruba, neplemenita nijansa arome piva



β -kariofilen, β -farnezen, humuleni - poželjni sastojci hmeljne arome



Nositelj tipične hmeljne arome nisu eterična ulja nego u vodi topljivi proizvodi njihove oksidacije.

Udio ukupnih smola i eteričnih ulja u šišaricama jako ovisi o: sorti hmelja, godini berbe, trajanju čuvanja, uvjetima čuvanja šišarica.

Podjela sorata hmelja s obzirom na udio gorkih tvari i eteričnih ulja

Aromatične sorte

- tradicionalne aromatične sorte (6 - 8,5 % α -kiselina)
- nove aromatične sorte - veći udio α -kiselina (7,6 - 11,4 % α -kiselina)

Gorke sorte

- tipične gorke sorte 6,0 - 8,5 % α -kiselina (neke i do 14 %)

Podjela se zasniva na:

- ukupnom udjelu α -kiselina,
- omjeru između α i β -kiselina u ukupnim smolama,
- udjelu kohumulona u α -kiselinama,
- udjelu i sastavu eteričnih ulja,
- udjelu taninskih tvari u hmelju.



TANINSKE TVARI HMELJA

- smjesa pravih tanina, flavonola, katehina i antocijanogena
- oporost
- sposobnost tvorbe kompleksa s proteinima (pomažu taloženje)
- nakon oksidacije pojava spojeva crveno-smeđe boje
- spajanje sa solima željeza (spojevi crne boje)



PRIRODNE HMELJNE ŠIŠARICE

- u jutanim ili polietilenskim vrećama ili balama →



voluminozna sirovina, dosta prostora za transport i čuvanje šišarica (skupo)



- čuvanjem prirodnih šišarica → nepoželjne kemijske promjene, neprijatna aroma po siru, neprijatna gorčina

- nepoželjne promjene mogu se usporiti, ako se hmeljne šišarice čuvaju pri niskoj temperaturi (+ 4 °C)



HMELJNI PRIPRAVCI

- sve se više koriste jer je **iskorištenje** gorkih i aromatičnih tvari pri kuhanju sladovine s prirodnim šišaricama dosta nisko



- jače su stiješnjeni ili **koncentrirani** (manji volumen!)



- u međuprostorima sadrže manje zraka ili je **zrak uklonjen** → manje vjerojatne ili nemoguće oksidacijske promjene gorkih sastojaka

- odgovarajući postupak predobrade šišarica doprinosi povećanju iskorištenja njihovih gorkih i mirisnih sastojaka

- takvi pripravci su: **hmeljni prah** i **peleti** (tip 90 i tip 45), **hmeljni ekstrakti** i **izomerizirani hmeljni ekstrakti**



T-45 Pellets



T-90 Pellets



DOBIVANJE HMELJNIH PRIPRAVAKA

hmeljni prah

i peleti tip 90

1. **usitnjavanje** osušenih hmeljnih šišarica (do 1- 5 mm)
2. **miješanje**
3. **tiještenje u valjčiće** (6 x 10 mm)
4. **hermetičko pakiranje** u atmosferi CO₂ ili N₂

Σ 100 kg prirodnog hmelja → **90** kg praha

(sačuvani svi najvažniji sastojci).

hmeljni prah

i peleti tip 45

pri 35 °C hladno usitnjavanje i prosijavanje šišarica (uklanja se dio listića i središnje osi → povećani udio lupulina);

Σ 100 kg šišarica → oko **45** kg praha

(veće iskorištenje gorkih sastojaka za oko 10 % u odnosu na izvorne hmeljne šišarice)

- **ekstrakcija hmeljnog praha s etanolom ili tekućim CO₂** → najbolji hmeljni ekstrakti
- hmeljne ekstrakte treba termički izomerizirati, pa se oni dodaju u sladovinu prije njena kuhanja
- svi hmeljni pripravci imaju povećani udio gorkih i mirisnih sastojaka, manji volumen i masu nego izvorne hmeljne šišarice

Hmeljarnik Hmeljarske zadruge Gregurovec

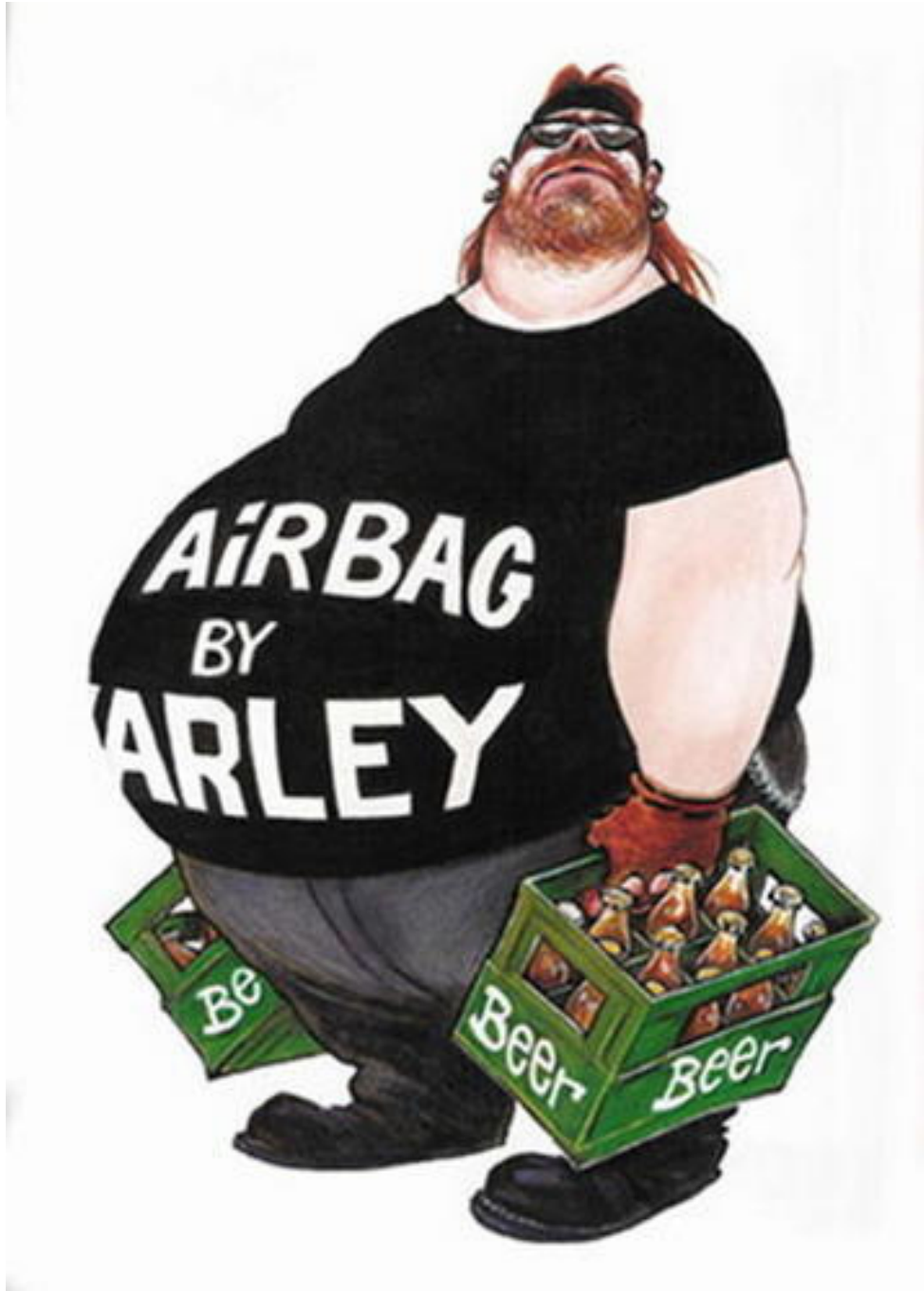


Šišarice na hlađenju nakon sušenja:



Hmeljni peleti u triplex ambalaži prije dodavanja dušika i zavarivanja:





ENZIMSKI PRIPRAVCI

- važno pomoćno sredstvo u biotehnološkoj proizvodnji i u različitim gospodarskim granama

PODJELA ENZIMA OBZIROM NA PRIMJENU

```
graph TD; A[PODJELA ENZIMA OBZIROM NA PRIMJENU] --> B[Komerციјални ензимски препарати<br/>tehničke ili prehrambene čistoće]; A --> C[Pročišćeni enzimi za farmaceutske i<br/>znanstveno-istraživačke namjene];
```

Komerციјални ензимски препарати
tehničke ili prehrambene čistoće

Pročišćeni enzimi za farmaceutske i
znanstveno-istraživačke namjene

- djelomično pročišćeni pripravci (tekući ili praškasti) - primjenjuju se i prodaju u velikim količinama (bazne kemikalije) - zanimljivi za primjenu u biotehnologiji
- visoko pročišćeni, često kristalinični, enzimi - u miligramskom ili gramskom mjerilu (“fine kemikalije”)



kimozin

- životinjskog porijekla
- **dobivanje:** ekstrakcijom želuca zaklane teladi ili mladunčadi drugih preživača
- **primjena:** za sirenje (koagulaciju) mlijeka u proizvodnji sira

Najstariji i najpoznatiji enzimi

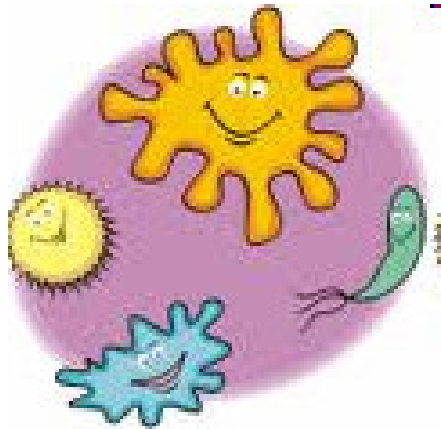
dijastaza



- biljnog porijekla
- **dobivanje:** ekstrakcijom proklijalog ječmenog zrna – slada
- **primjena:** kao smjesa amilolitičkih enzima za ošćenje škroba pri proizvodnji hranjivih podloga za pivo i žestoka alkoholna pića

papain
bromelin

} biljne proteinaze



Iako se spomenuti enzimi primjenjuju i danas, njih su između 1950. i 1960. počeli polako, a zatim sve više, zamijenjivati **enzimi mikrobnog porijekla**.



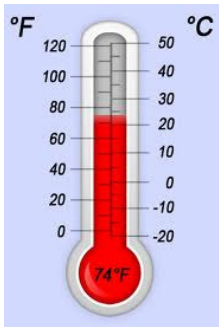
- prvotni izvori enzima su postali **nedostatni**, zbog naglog razvoja industrijske proizvodnje sira (kimozin) ili preskupi te nedovoljno specifični (dijastaza)
- zbog **ekonomike procesa** zahtijevala se zamjena skupih s jeftinijim sirovinama (npr. zamjena slada s neslađenim žitaricama)
- javila se potreba da se grubi mehanički i kemijski postupci zamijene ili kombiniraju s finijim enzimskim metodama



Primjeri primjene komercijalnih enzimskih preparata u biotehnologiji

- za hidrolizu **polisaharidnih sirovina** (škrob, inulin, celuloza, pektin)
- za razgradnju **proteina** (osobito onih koji izazivaju pjenjenje podloga)
- za **izolaciju** biotehnoloških proizvoda iz složenih proizvoda koji sadrže mikrobne stanice i njihove metabolite
- u procesima **dozrijevanja** i/ili **dorade (bistrenja)** nekih proizvoda
- za proizvodnju **tekućih šećera** iz škrobnih sirovina
- za specifične **enzimske transformacije** čistih supstrata
- za **poboljšanje probavljivosti** hrane i krmiva
- za **uklanjanje nepoželjnih sastojaka**, itd...

Mikrobne, biljne i životinjske stanice mogu sintetizirati **nekoliko tisuća različitih enzima**, međutim za sada se industrijski proizvodi i primjenjuje **samo ograničen broj enzima**:



- **hidrolitički enzimi** različitog porijekla
- imaju različite temperaturne i pH optimume

- njihovi supstrati su **sastojci različitih biotehnoloških sirovina** (žitarice, gomoljike, brašno, tijesto, grožđe, voće, mlijeko itd.) ali i sastojci **složenih biotehnoloških proizvoda** (pivo, sir)



Proizvodnja mikrobnih enzima

pomoću nekoliko vrsta **plijesni**:

Aspergillus niger



Aspergillus oryzae



Aspergillus awamori



Mucor miehei



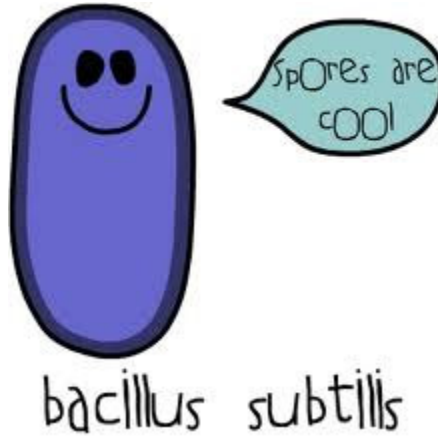
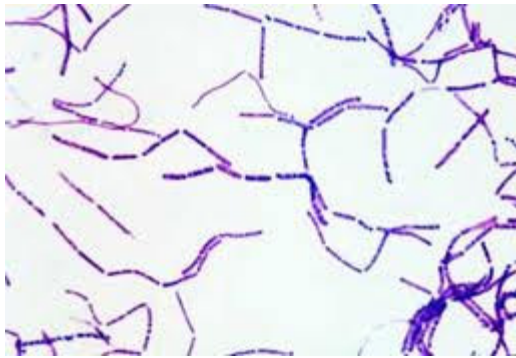
Trichoderma sp.



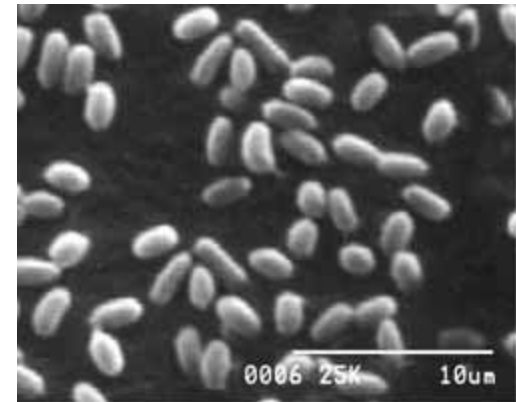
Proizvodnja mikrobnih enzima

pomoću nekih štapićastih bakterija:

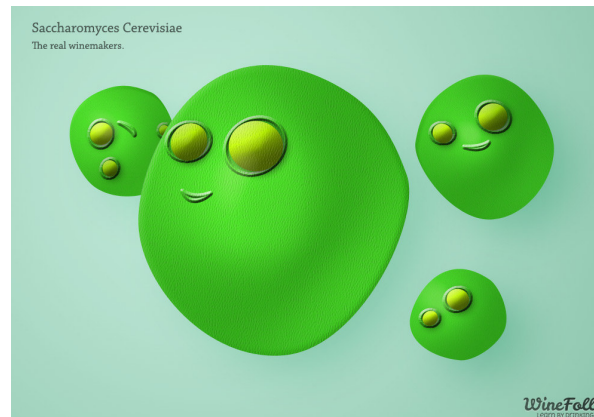
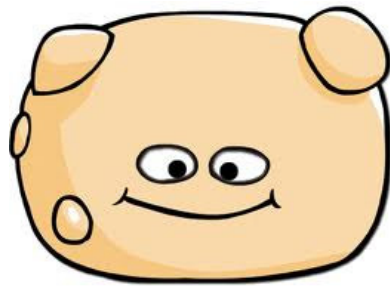
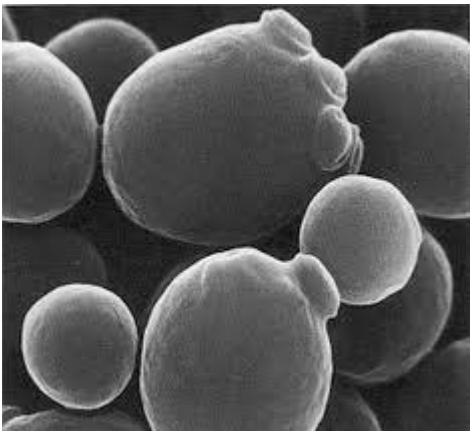
Bacillus subtilis



Bacillus licheniformis



pomoću kvasaca: ***Saccharomyces cerevisiae***



Tipovi enzimskih pripravaka

Tekući
(uglavnom se danas primjenjuju)

Suhi / praškasti
(izbjegavaju se)

Vezani na nosače
(rijetko u industrijskoj
pripremi hranjivih podloga)



TEKUĆI ENZIMSKI PRIPRAVCI

- pretežno se primjenjuju koncentrirani tekući pripravci
- koncentrirani i viskozni enzimski pripravci su aktivniji od onih manje koncentriranih

Prednosti koncentriranih tekućih pripravaka:

- sigurnost (lakše rukovanje, smanjena opasnost od bućkanja/prolijevanja i tvorbe aerosola)
- smanjeni troškovi nabave, transporta i čuvanja enzima
- smanjenje ostataka stabilizirajućih i konzervirajućih sastojaka pripravka u hranjivim podlogama.



PRAŠKASTI PRIPRAVCI

- izbjegavaju se (opasnost od prašenja)
- vrlo se teško rukuje praškastim pripravcima - dostupni su u granuliranom ili kapsuliranom obliku i vezani na odgovarajućim nosačima

ENZIMI VEZANI NA NOSAČE

- primjenjuju se samo onda kada se koriste čisti tekući supstrati (procesni uvjeti mogu se tako optimizirati da njihova primjena daje veću učinkovitost)
- rijetkost u industrijskoj pripremi hranjivih podloga

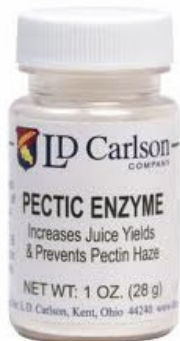
ČUVANJE ENZIMSKIH PRIPRAVAKA

- uvjeti čuvanja - **tehnički naputak** za primjenu koji navodi proizvođač
- suvremeni enzimski pripravci su u pravilu **vrlo stabilni** kroz **relativno dug** vremenski period



ČUVANJE TEKUĆIH PRIPRAVAKA

- važno je očuvati aktivnost tekućih pripravaka što duže (pri **5 °C** deklarirana aktivnost većine enzima stabilna **do godinu dana**).
- više temperature čuvanja (**20 - 25 °C**) smanjuju deklariranu aktivnost za **nekoliko postotaka svaki mjesec** (enzim ima deklariranu aktivnost samo prvih nekoliko mjeseci čuvanja)
- ako je enzimski pripravak nepropisno čuvan onda treba koristiti veću količinu



ČUVANJE PRAŠKASTIH I GRANULIRANIH PRIPRAVAKA

- držati u zatvorenim posudama na suhom mjestu

SIGURNOSNE MJERE PRI RADU S ENZIMIMA

Nestručna upotreba enzima može ugroziti ljudsko zdravlje!!!

- svi enzimi su biološki aktivni proteini → mogu izazvati alergije, nadražaj i razvoj preosjetljivosti
- s enzimima ne smiju raditi osobe koje imaju astmu, poteškoće s disanjem, ekcem, dermatitis, groznicu uzrokovanu sijenom !
- ostali se moraju pridržavati **sigurnosnih mjera u tehničkim uputstvima o primjeni enzima!!!**



MJERE PREDOSTROŽNOSTI – OPĆENITE PREPORUKE

- zamjena praškastih pripravaka s tekućim ili imobiliziranim (izbjegavanje udisanja enzimske prašine, dodira s očima, kožom i sluznicama)



- zaštitna odjeća, maska, naočale, rukavice, dobro prozračeni prostori bez propuha
- izbjegavanje dodira tekućih enzima s kožom i sluznicama
- obrazovanje osoblja
- potreba praćenja i izvještavanja o mogućim reakcijama kože (crvenilo, svrbež) ili dišnog sustava (hripanje, nedostatak daha i sl.) pri dodiru s enzimima
- vaganje i doziranje - uz uobičajene mjere predostrožnosti (u ventiliranim prostorijama) - spriječiti udisanje i dodir s golom kožom



U SLUČAJU PROLIJEVANJA ILI PROSIPANJA ENZIMA:



- manje količine tekućih pripravaka treba **pokupiti vlažnom krpom**, a veće pažljivo **sprati vodom** prije no što se osuše da ne bi nastala **enzimska prašina**
- veće količine praškastih ili granuliranih pripravaka treba ukloniti pomoću **vakuum-usisavača** u filtarsku vreću, a izlazni zrak iz usisavača mora prolaziti kroz odgovarajući filter
- manje količine praškastih pripravaka treba navlažiti vodom i pokupiti krpom
- skupljene otpatke spaliti u običnoj peći ili u peći za spaljivanje

U SLUČAJU DODIRA ENZIMSKOG PRIPRAVKA S KOŽOM ILI OČIMA RADNIKA:



- dodirnuo mjesto odmah **isprati vodom** pomoću boce štrcaljke ili tuša, odnosno potopiti ga pod vodu (enzimi su topljivi u vodi → dijelovi tijela koji su došli u dodir s enzimima ispiru se samo vodom)
- onečišćenu odjeću treba skinuti i oprati, a tijelo otuširati
- ako enzimi dospiju u usta → isprati s dosta vode, zatim popiti što više vode
- ako se uoče promjene na dišnim putevima, koži ili probavnom traktu treba potražiti liječničku pomoć

