



BIOTEHNOLOGIJA 2

**izv. prof. dr. sc. Sunčica Beluhan
ak. god. 2016/17.**

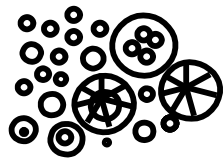
ŠKROB I HIDROLIZA ŠKROBNIH SIROVINA

ŠKROB

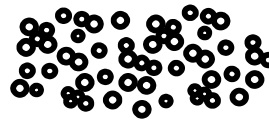
- ugljikohidrat - polisaharid (opće formule $(C_6H_{10}O_5)_n$)
- izgrađen od jedinica **glukoze** povezanih α -1,4 i α -1,6 vezama
- nastaje kao produkt asimilacije (fotosinteze) u lišću zelenih biljaka
- biljke ga skladište kao rezervnu hranu.
- u prirodi se javlja u obliku granula (zrnaca)
- većina škroba unosi se konzumacijom žitarica (proizvodi na bazi brašna), voća, povrća i njihovih prerađevina
- sladila na bazi škroba (glukozni, fruktozni i dr. sirupi) konditorski proizvodi, bezalkoholna pića i dr.

GRAĐA I SVOJSTVA BILJNOG ŠKROBA

- granule ili zrnca, nalaze se u stanicama endosperma (fotosinteza)
- okrugla ili nepravilna, od 1 do 100 μm dužine
- sadržavaju sferokristale sastavljene od molekula amiloze i amilopektina



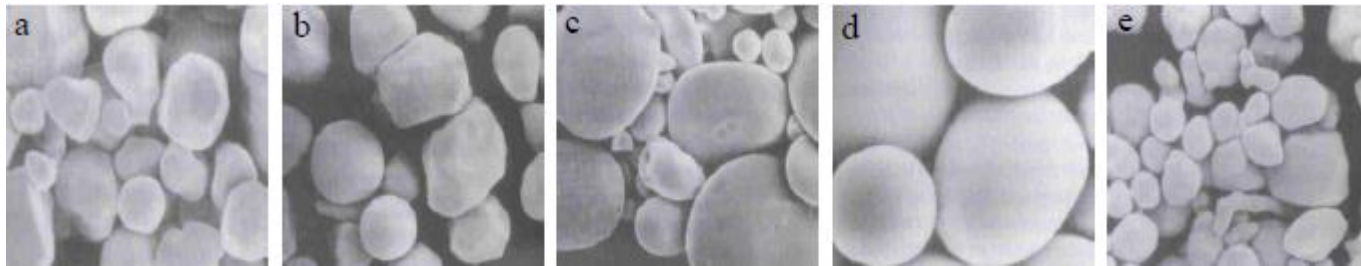
Ječam
zrnca nepravilna oblika
i različite veličine



Riža
sitna zrnca



Kukuruz
krupna i poliedarska
zrnca



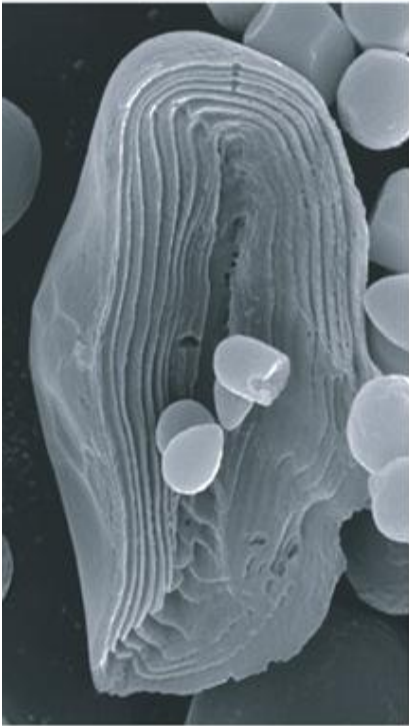
Granule škroba: a) kukuruz; b) voštani kukuruz; c) pšenica; d) krumpir; e) visokoamilozni kukuruz

ŠKROB

- polimer monosaharida glukoze
- sastoji se od 20 do 30 % dugih ravnolančanih molekula **amiloze** (u hladnom reagiraju s jodom – plavo obojenje)
- 70-80 % razgranatih molekula **amilopektina** (u toploj vodi prelaze u škrobni lijepak – ljubičasto obojenje)
- strukturno različiti ugljikohidrati - jednaka bruto formula $(C_6H_{10}O_5)_n$
- **amiloza** - glukoze jedinice povezane α -1,4 glikozidnom vezom
- M_m od $4 \cdot 10^3$ do $1,5 \cdot 10^5$ (25 do 1000 glukoznih jedinica)
- **amilopektin** – 3000 glukoznih jedinica – M_m od 10^7 do 10^9
- na mjestu grananja α -1,6 glikozidne veze (4-6 %), ogranci sadržavaju 20-25 glc jedinica

ŠKROBNO ZRNCE (GRANULA)

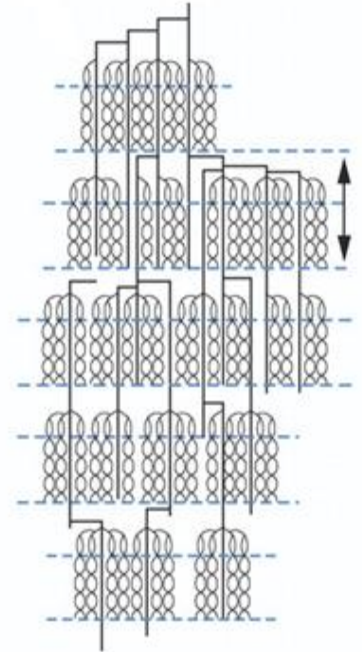
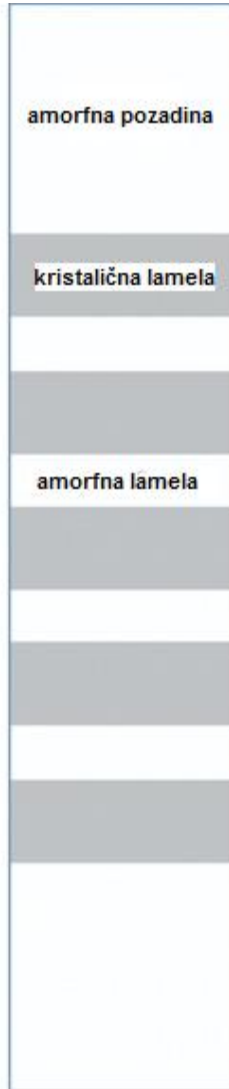
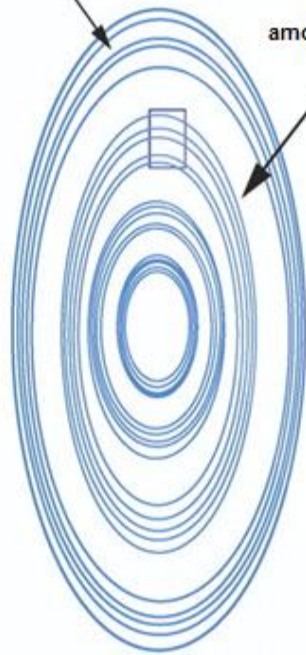
- molekule amiloze i amilopektina povezane vodikovim vezama (kompaktna struktura)
- jedan dio molekula amilopektina izgrađuju kristalična, a drugi dio zajedno s amilozom amorfnu područja
- oblik i veličina razlikuju se s obzirom na botaničko porijeklo škroba
- veličina škrobne granule iznosi od 1 do 100 μm
- nativni škrobovi nisu topljivi u hladnoj vodi, što omogućava laku ekstrakciju granula škroba iz biljnog materijala (kukuruz, pšenica, krumpir, riža, ječam)
- škrobna granula, ovisno o porijeklu, sadrži 1-2 % lipida, slobodnih masnih kiselina, proteina i minerala
- **Posebne vrste škroba:**
 - voštani škrobovi (sadrže preko 85 % amilopektina)
 - visokoamilozni (sadrže 50 - 80 % amiloze)



~15 μm

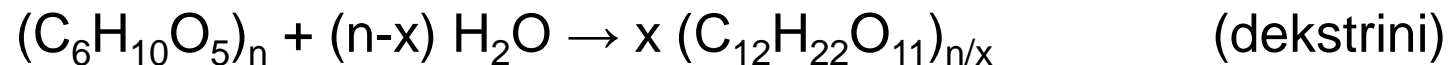
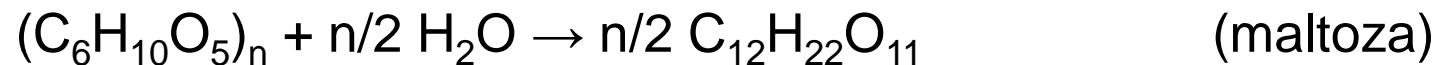
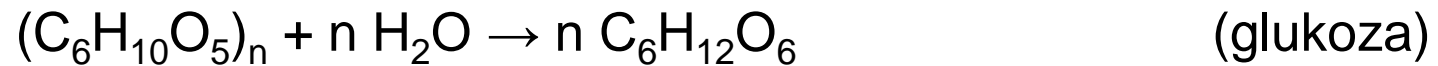
kristalični prsten

amorfni prsten



9.0 nm

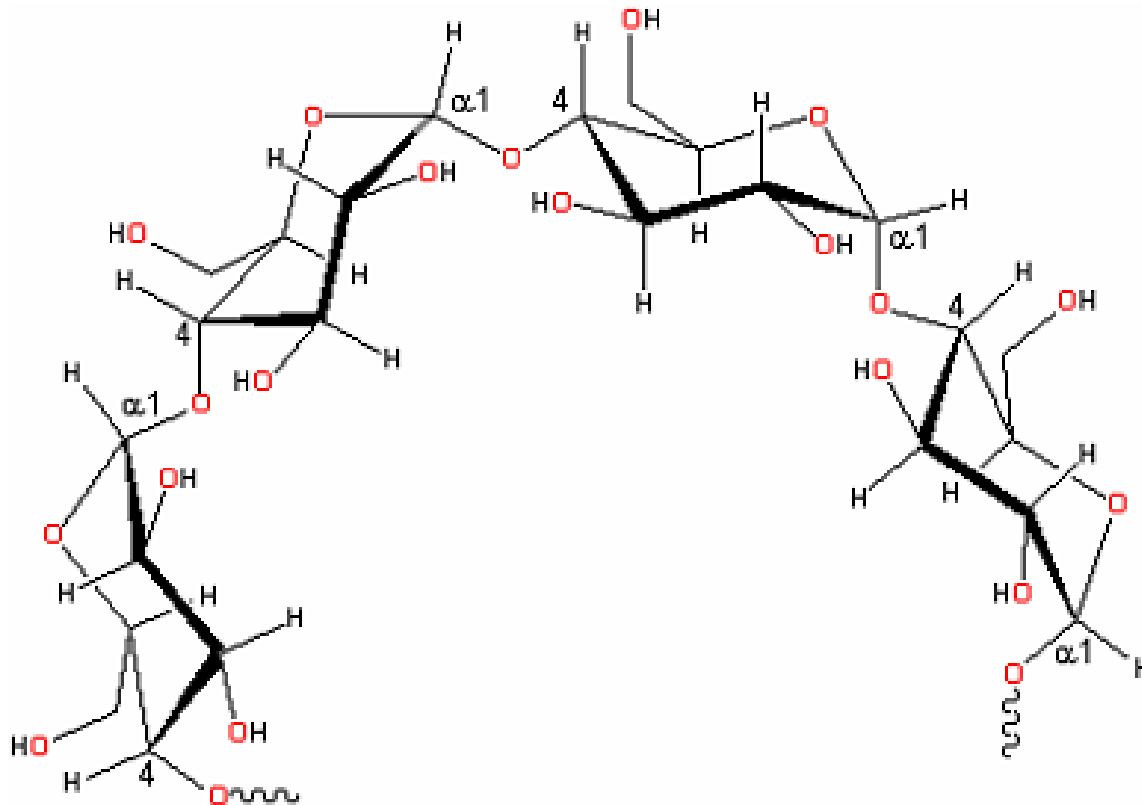
- različita građa amiloze i amilopektina – kiselinskom i enzimskom hidrolizom škroba dobivaju se glukoza, maltoza i dekstrini:



- kiselinskom i toplinskom hidrolizom pretežito se dobivaju dekstrini (nisko-, srednje- i visokomolekulski)

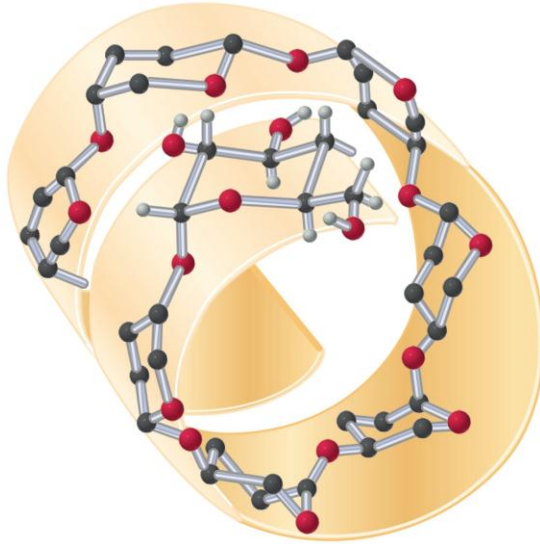
AMILOZA

- polimer D-glukoze ($n = 25-1000$)
- α -1,4 glikozidne veze (C-1 atom povezan sa C-4 atomom druge glukoze)
- sadrži mali udio i bočnih lanaca, vezanih na glavni lanac α -1,6 glikozidnim vezama.
- topljiva u hladnoj vodi

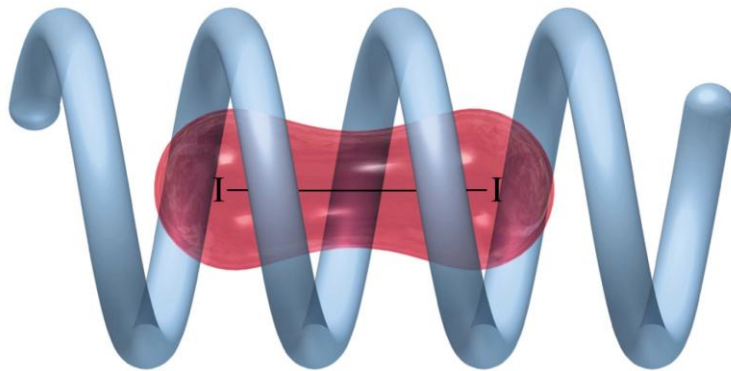




STRUKTURA AMILOZE



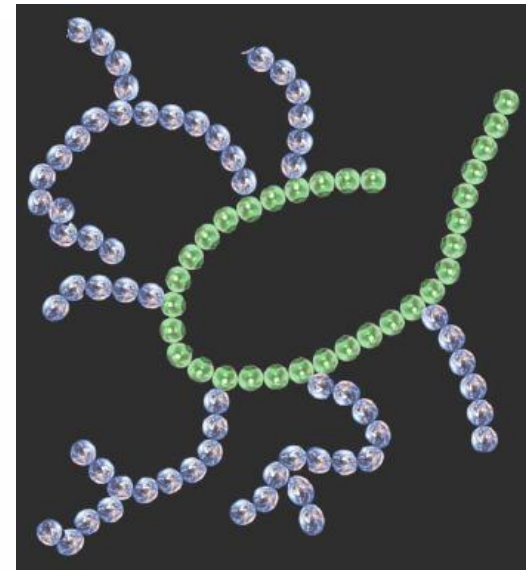
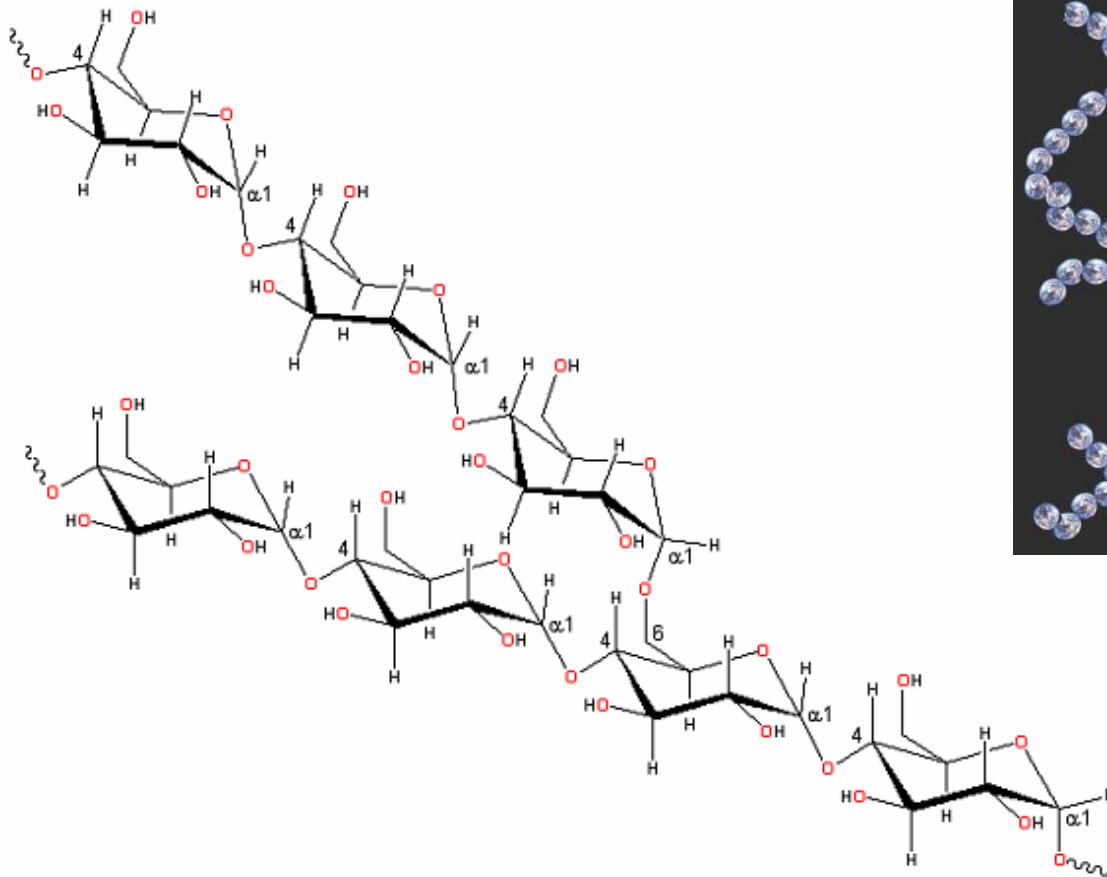
- α -1,4 glikozidne veze u amilozi izazivaju formiranje uzvojnice (heliksa)



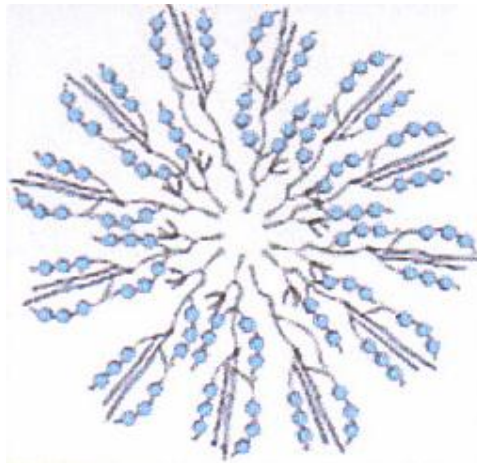
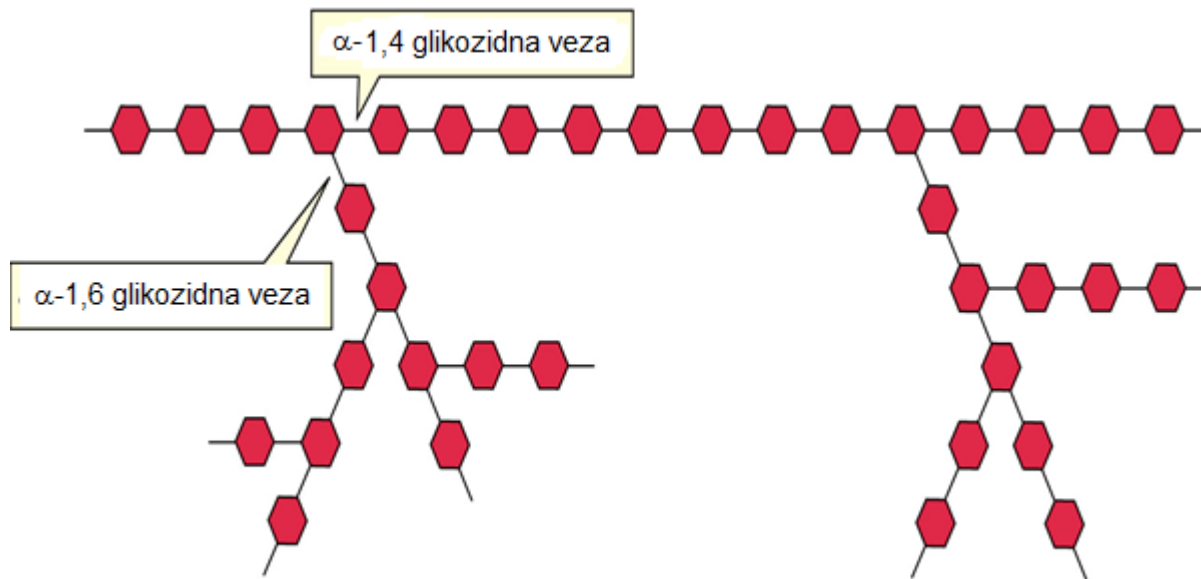
- uzvojnica amiloze formira kompleks s molekularnim jodom (jodna proba)

AMILOPEKTIN

- netopljivi dio (frakcija) škroba
- α -1,6 glikozidne veze na mjestu grananja
- najčešće grananje nakon 12-20 glukoznih jedinica



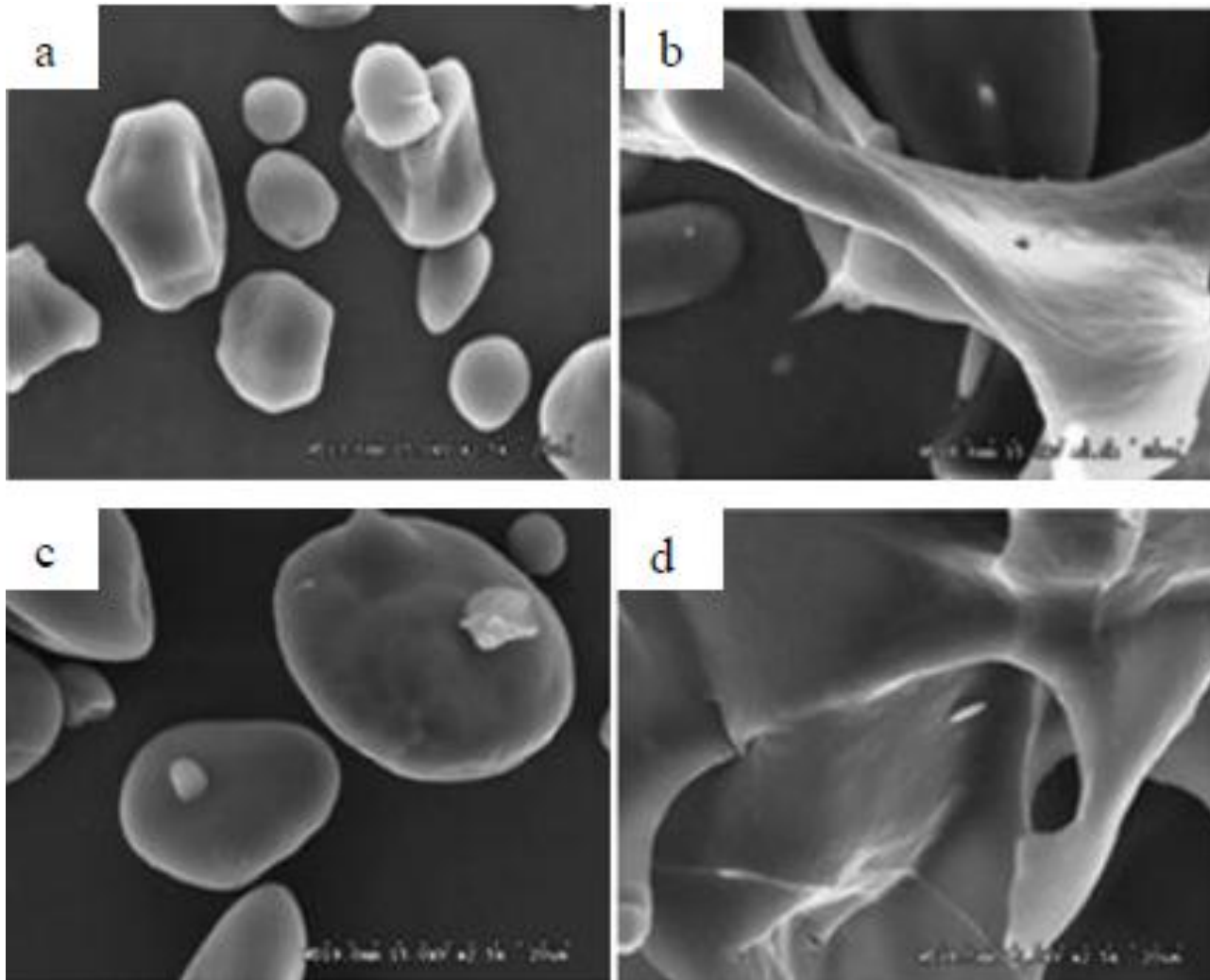
GRANANJE AMILOPEKTINA



- prikaz orijentacije molekula amiloze i amilopektina u škrobnom zrcnu

- 3 uzastopne faze (preklapanje): prevođenje škroba u škrobni lijepak (klajsterizacija ili želatinacija), smanjenje viskoznosti (likvefakcija) i ošećerenje komine
- **prevođenje škroba u škrobni lijepak:**
 - vezanjem vode škrobna zrnca bubre
 - povećanjem volumena pucaju
 - škrob prelazi u otopinu (ljepljiva, viskozna) – škrobni lijepak
- **likvefakcija i ošećerenje:**
 - dugačke lance amiloze i amilopektina α -amilaza cijepa u kraće jedinice – viskoznost se smanjuje (brza reakcija)
 - β -amilaza –odcjepljuje po 2 glc jedinice (maltoza) s kraja škrobne molekule (spora reakcija)
 - hidroliza prestaje kada se lanci amilopektina razgrade do ostataka sastavljenih od 2-3 molekule glc ispred 1,6 veze (α i β -amilaza ih ne mogu razgraditi)
 - slakovina uvijek sadržava te, tzv. granične dekstrine
 - jodna proba (0,2 M otopina joda i K-jodida u EtOH)
 - završetak ošećerenja – „jod normalne boje“

SEM fotografije škroba iz kukuruza (a i b) i pšenice (c i d) u vodenoj otopini nakon toplinske obrade pri 35 °C i 85 °C



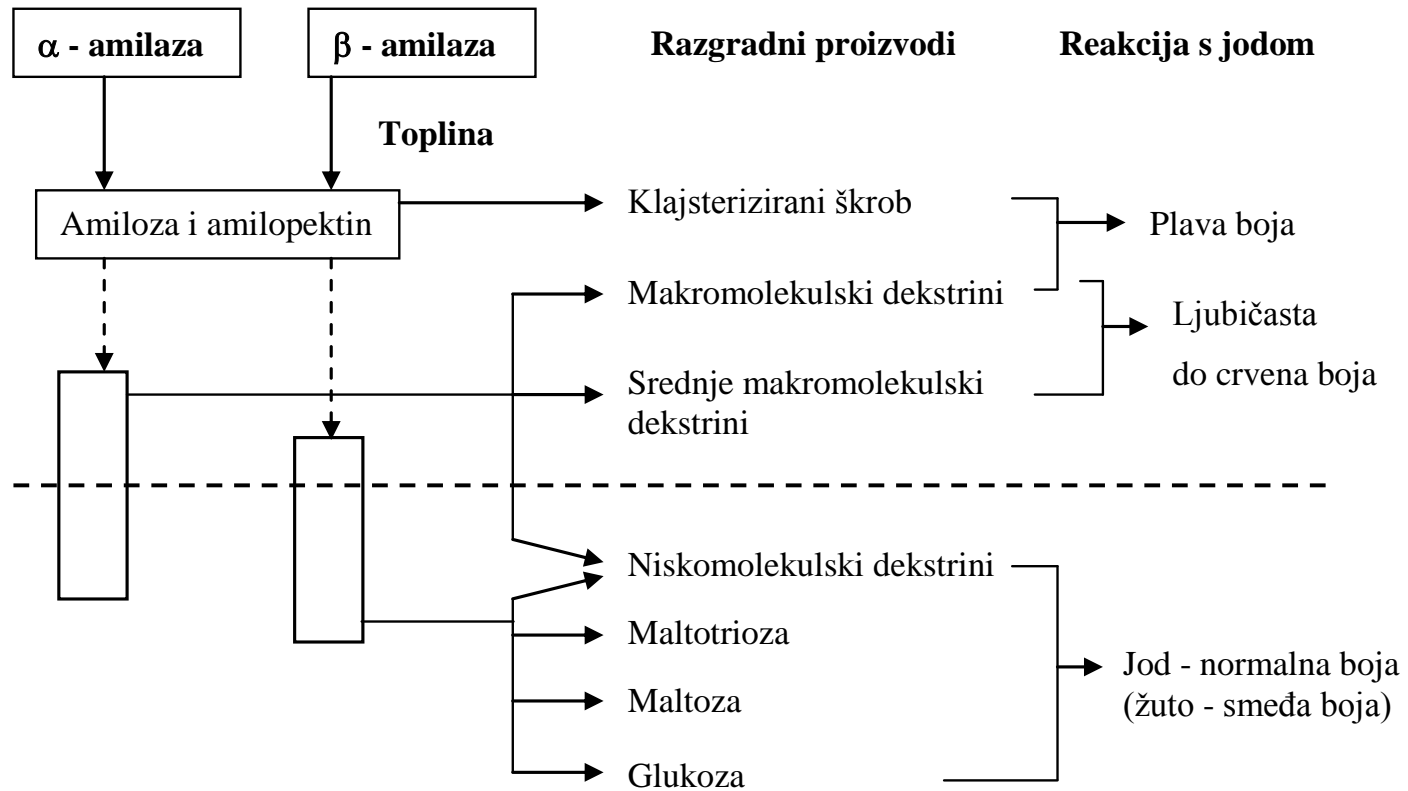
Dekstrini

- Hidrolizom škroba se proizvodi vrlo velik broj različitih proizvoda (sirupa) koji se razlikuju prema **dekstroznom ekvivalentu (DE)**.

DE – dekstrozni ekvivalent – izražava postotak reducirajućih šećera računato kao D-glukoza na suhu tvar (100 g s.tv.) - pokazatelj stupnja razgrađenosti škroba, odnosno postotak hidroliziranih glikozidinih veza u škrobu

- DE vrijednost škroba je 0

DE:	glukoza	100
	fruktoza	100
	maltoza	50
	saharoza	0
	invertirana saharoza	100
	maltotrioza	100:3
	manoza	100
	celobioza	50

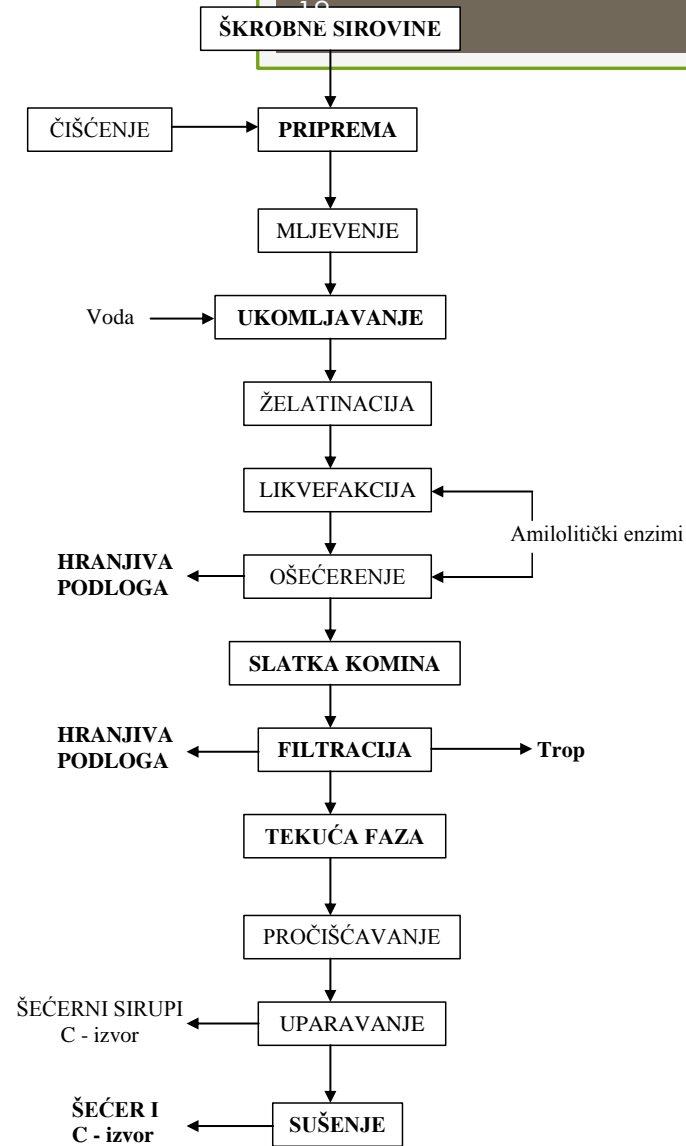


Proizvodi enzimske hidrolize škroba i nadzor hidrolize s jodnom otopinom.

ENZIMSKA HIDROLIZA ŠKROBNIH SIROVINA

Hidrolizirati se može:

- čitavo zrno polisaharidne sirovine** (primjer: proizvodnja žitnog etanola),
- suho mljevena ili usitnjena polisaharidna sirovina** (ječmena, pšenična, ražena, kukuruzna prekrupa), **samljeveni krumpir** - primjena u proizvodnji žitnih rakija, mliječne kiseline, antibiotika, žitnih šećernih sirupa...),
- **škrob izdvojen iz polisaharidne sirovine** po mokrom ili suhom postupku prerade (proizvodnja šećernih sirupa i škrobnih šećera).



Opća shema hidrolize neslađenih škrobnih sirovina

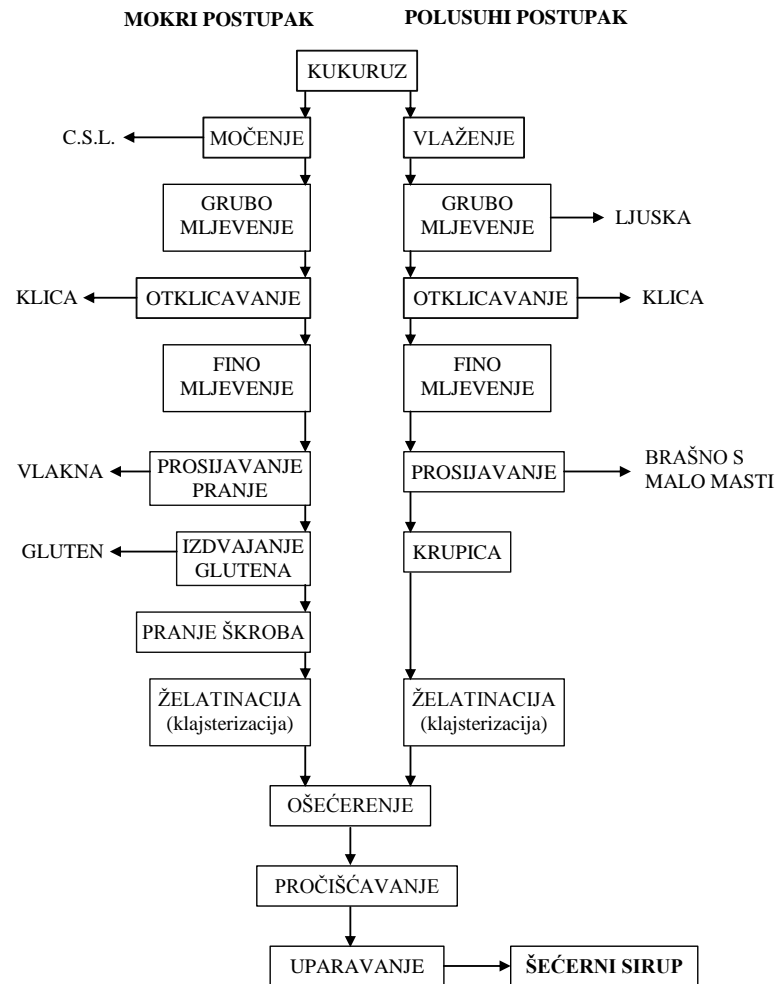
Mikrobni enzimi (hidrolaze) za hidrolizu škrobnih sirovina

Kinetika procesa ošećerenja:

- nadzor postupnom promjenom temperature
- zadržavanje komine određeno vrijeme na optimalnim temperaturama za enzime

Enzim	Supstrat	pH optimum	Temperaturni optimum (°C)
bakterijska α -amilaza (standardna)	želatinirani škrob	5.5-7.0	60-80
bakterijska α -amilaza (termostabilna)	želatinirani škrob	5.5-8.0	75-90
fungalna α i β -amilaza	želatinirani škrob dekstrini	4.0-6.0	45-60
pululanaza	dekstrini	4.0-6.0	55-65

PROIZVODNJA ŠEĆERNIH SIRUPA I ŠEĆERA IZ ŠKROBNIH SIROVINA



Usporedni prikaz proizvodnje šećernog sirupa mokrim i polusuhim postupkom.

DOBIVANJE ŠEĆERA IZ ŠKROBA

- višestupanjski proces koji zahtijeva stupnjevitu primjenu različitih mikrobnih enzima

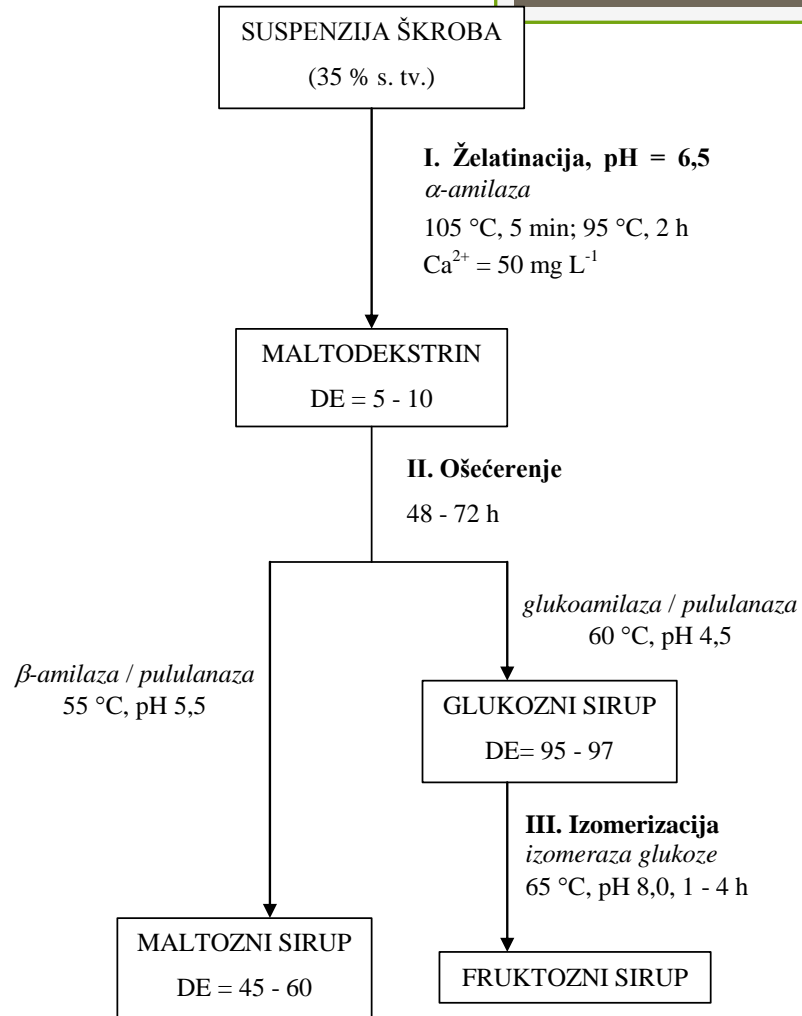
1. želatinacija i prevođenje u vodotopljiv oblik pomoću termostabilne bakterijske α -amilaze (*B. licheniformis*) pri pH 6,0 - 6,5. Nastaju dekstrini i mali udjel oligosaharida.

2. ošećerenje dekstrina u drugom stupnju glukoamilazama plijesni (*A. niger*), koje kataliziraju hidrolizu različitih polimera do glukoze. Kada se želi dobiti maltoza, za hidrolizu se rabi biljna ili fungalna β -amilaza. U cilju dobivanja većeg udjela glukoze ili maltoznog sirupa dodaje se bakterijska (*B. acidopullulyticus*) pululanaza.

3. proizvodnja visokofruktoznog sirupa - izvrsna zamjena za saharozu, temelji se na konverziji glukoze u fruktozu s pomoću bakterijske (*B. coagulans*) glukozne izomeraze. Enzim ima optimalnu aktivnost pri pH 7,5 - 8,0 i 65 °C, pa proces treba uskladiti s tim uvjetima.

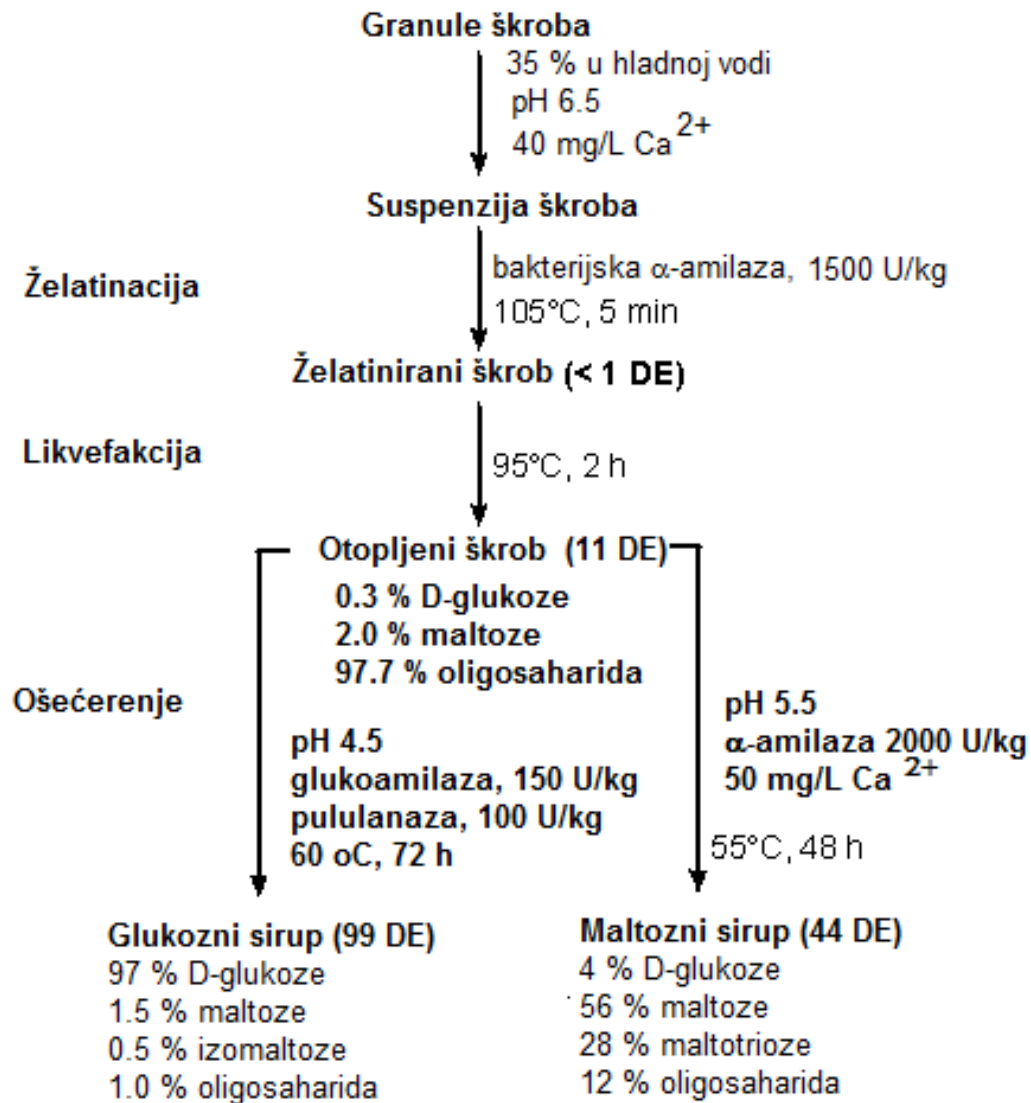
ŽELATINACIJA

- na početku zagrijavanja suspenzije škroba dolazi do apsorpcije vode u granulu – **bubrenje granule** (reverzibilne hidratacije u amorfnim dijelovima granule škroba gdje su prisutne slabe vodikove veze)
- daljnjim zagrijavanjem započinje razaranje amorfnih dijelova granule te dolazi do dodatnog bubrenja
- povišenjem temperature granule kontinuirano primaju vodu do određene granice nakon koje naglo ekspandiraju
- djelovanjem sila naprezanja (miješanjem) dolazi do raskidanja veza i u kristalnom području, potpuna razgradnja granule i otapanja molekula



Biokonverzija škroba u različite šećerne sirupe

Proizvodnja glukoznog i maltoznog sirupa



RETROGRADACIJA

- hlađenjem želatiniranog sustava škrob/voda sustav spontano prelazi u stanje s manjim sadržajem energije.
- **retrogradacija** - molekularne interakcije između otopljenih molekula škroba, odnosno povezivanje molekula
- povezivanje i kristalizacija otopljenih molekula škroba izaziva razdvajanje faza polimera i otapala (odvajanje škroba i vode - **sinereza**).
- molekule amiloze imaju znatno veću tendenciju retrogradacije zbog ravnolančane strukture

Retrogradacija amiloze

