



mezioborová integrace výuky zaměřená na rostlinnou biochemii a fytopatologii

CZ.1.07/2.2.00/28.0171

Biotechnologie

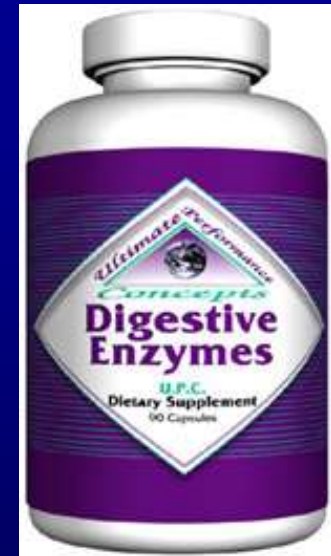
6. Biotechnologické výroby proteinů a biopolymerů

Marek Petřivalský

Katedra biochemie PŘF UP



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Biotechnologie:

Enzymy a biopolymery

MIKROBIÁLNÍ ENZYMY

Tradiční použití:

* **potravinářství:**

zpracování škrobu, sýrů, ovocných šťáv, ..

* **zemědělství:**

siláž

Proč mikrobiální enzymy?

- 1) **vylučování enzymů** do extracelulárního prostředí
rozklad organické hmoty
- 2) **široké spektrum** směsí enzymů

MIKROBIÁLNÍ ENZYMY

Applications of Enzymes to Food Production and Processing

Enzyme	Use	Product	Source of Enzyme
α -Amylase	Starch processing	Dextrins	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>
β -Amylase	Brewing (mashing)	Maltose	<i>B. subtilis</i>
Glucoamylase	Starch processing and brewing	Glucose	<i>Aspergillus niger</i>
Glucose isomerase	Fructose production	Fructose	<i>Streptomyces</i> spp.
Invertase	Candy processing	Glucose + fructose	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Pullulanase	Starch processing	Debranched starch	<i>Klebsiella</i>
Pectinase	Juice clarification	Galacturonate	<i>Aspergillus oryzae</i>
Chymosin	Milk coagulation	Cheese curd	<i>Kluyveromyces</i> spp.
Rennin	Milk coagulation	Cheese curd	<i>Mucor miehei</i>
β -Glucanase	Brewing (mash)	β -Glucose	<i>A. niger</i>
Lipase	Cheese making	Flavor compounds	<i>Rhizopus oryzae</i>
Lactase	Dairy processing	Glucose + galactose	<i>A. niger</i>

AMYLASY

- nejdůležitější enzym potravinářského průmyslu
- levné zdroje škrobu

α -amylasy: zvýšení rozpustnosti škrobu (vazba α -1,4)

β -amylasy: odštěpení maltosy (koncová vazba α -1,4)

pullulanasy: vazba mezi řetězci amylopektinu

glukoamylasy: odštěpení glukosy

glukosoisomerasa: Glu-Fru

cyklodextrin glukosyltransferasa: cyklické dextriny

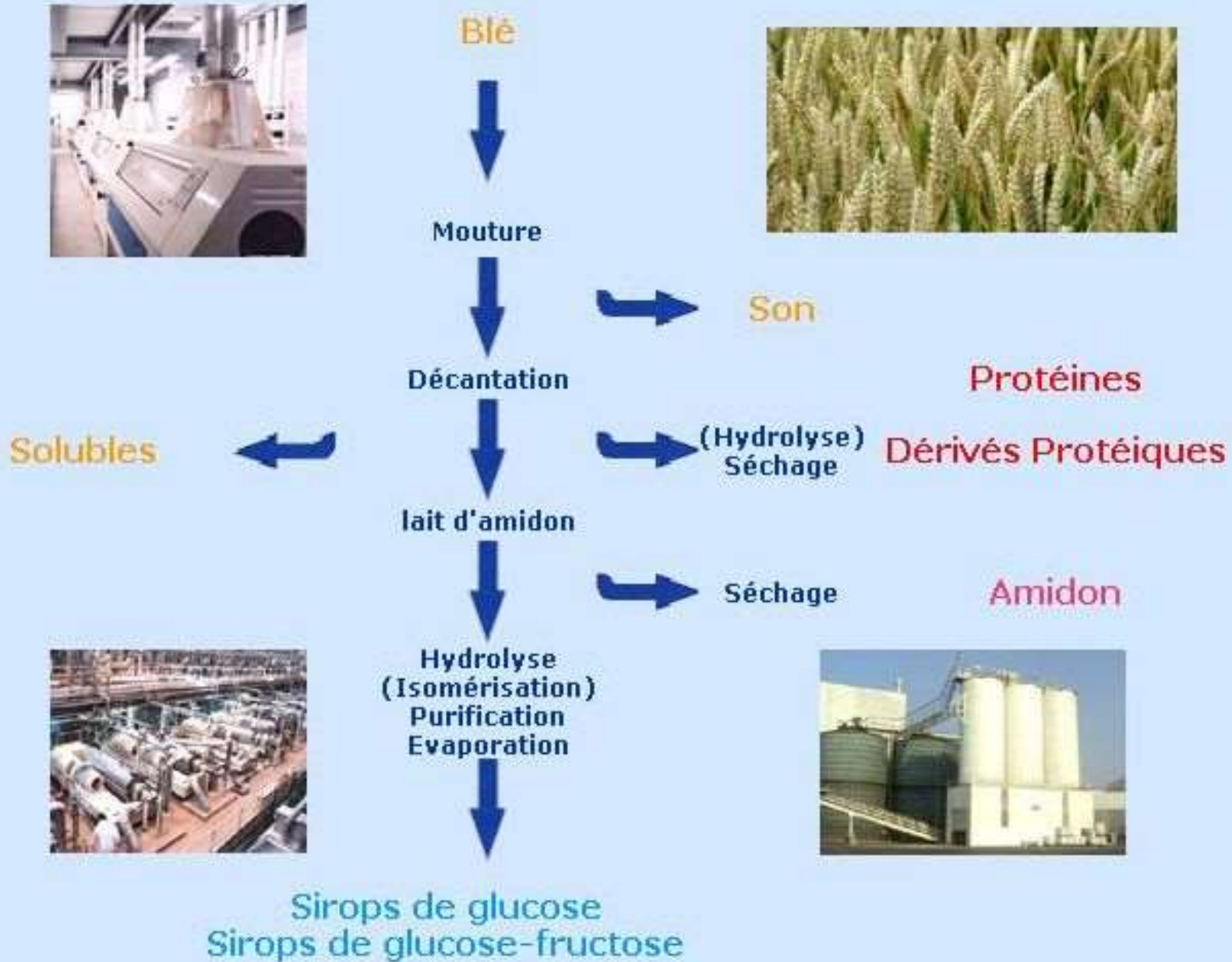
Kombinace enzymů – požadovaný stupeň štěpení škrobu

stupeň hydrolýzy = hodnota DE (*dextrose equivalent*)

původní škrob = 0

zcela rozštěpený na glukózu = 100

Le process



AMYLASY

Postup hydrolýzy škrobu:

1) **zkapalnění** (likvefakce):

při 95°C **amylasa** z *B. licheniformis*

2) **sacharifikace**:

při 60°C – omezení karamelizace

glukoamylasa (*A. niger*)

pullulanasa (*Bacillus*, *Klebsiella*)

stupeň štěpení závisí na době působení enzymů
maltosový sirup – použití rostlinné α -amylasy

3) **purifikace**:

odbarvení aktivním uhlím, tepelné zahuštění

4) **isomerizace**:

glukoisomerasa (*Streptomyces*) – pouze 50% přeměna
oddělení Glu/Fru krystalizací – ročně 100 miliard tun!!

PRODUKTY:

Škrob (DE 0):
zahušťovací složka (kukuřičný)

Maltodextriny (DE 20):
snížení hygroskopicity
zlepšení textury
snížení tvorby ledových krystalků

“Corn-sirup solids” (DE větší než 20)
lehce nasládlé
antioxidanty

Kukuřičný sirup (DE skoro 100)
laciné náhražkové sladidlo

Fruktosový sirup (fruktosa 2x sladší než sacharosa)



AMYLASY



Pekárenství

Přídavek α -amylas do mouky

- * snížení viskozity těsta
- * zvýšení rozklad na dextriny = barva a chuť
- * více fermentovatelných substrátů = lepší kynutí
- * trvanlivější kůrka – snížení tvorby krystalů škrobu

Hemicelulasy – odštěpení rozpustných sacharidů z hemicelulos

- * zvýšení obsahu rozpustné vlákniny
- * lepší střevní absorpce

A) Produkce specifických lipidů (transesterifikace)**lipasy z *Candida rugosa***

- * nspecifické místo substituce MK
- * nízká substrátová specifita
 - pro běh reakce v syntetickém směru: < 5% vody (organická rozpouštědla)
- * produkce specifických detergentů a biosurfaktantů
- * zvýšení obsahu nenasycených lipidů
- * změna fyzikálních vlastností jedlých olejů

B) Tvorba těkavých mastných kyselin (hydrolytická funkce)

sýry – zkrácení doby zrání a zvýraznění chutě
přídavek do sráženého mléka = intenzivní chuť tvarohu
“*enzymově-upravené sýry*” – crackery

Lignocelulosa = největší zdroj obnovitelné energie na Zemi

Zdroje enzymů - **celulasy, hemicelulasy, pektinasy:**

Aspergillus

Trichoderma

* Potravinářství

- výroba piva, vína,
- ovocné šťávy a nektary (tropické ovoce)
- rozpustná vláknina
- olivový olej - zvýšení výtěžku, obsah antioxidantů
- chléb (endo-xylanasy)

* Zemědělství - krmiva

* Papírenství - bio-bělení, úprava vláken

* Textilní průmysl

CELULASY

Celulasy v pivovarnictví a vinařství

Enzyme/micro-organism	Function	Application
β -Glucanase/glucanolytic yeast	Hydrolysis of β -1,3, and β -1,4 glucan; reducing the viscosity and releasing reducing sugars during primary fermentation	Improvement in primary fermentation, filtration and quality of beer
Pectin esterase	De-esterification and gelling of pectins	Improvement in the clarification of cider
Macerating enzymes (cellulases, hemicellulases and pectinases)	Hydrolysis of plant cell wall polysaccharides	Improvement in skin maceration and colour extraction of grapes; quality, stability, filtration and clarification of wines
β -Glucosidase	Modification of aromatic residues	Improvement in the aroma of wines

Cellulases in textile and laundry biotechnology

Enzyme	Function
Cellulase, preferably neutral and endoglucanase rich	Removal of excess dye from denim fabrics; soften the cotton fabrics without damaging the fibre
Cellulase, preferably acid and endoglucanase rich	Removal of excess microfibrils from the surface of cotton and non-denim fabrics
Cellulase, preferably endoglucanase rich	Restoration of softness and colour brightness of cotton fabrics

POLYGALAKTURONASY (pektinasy)

Pektinasy

Pektin = polysacharid buněčné stěny rostlin

- * **α -1,4 – polygalakturonan**
+ postranní arabinany, rhamnany a arabinogalaktany
- * vysoký obsah **protopektinů** v ovocných šťávách
(snižuje se během zrání)
= nerozpustné složky
= zákaly

Polygalakturonasy (pektinasy) z *Aspergillus niger*:

- součást mechanismu narušení buněčných stěn houbou

Použití: přeměna protopektinů na rozpustný pektin
čiření jablečných šťáv a vinného moštu

POLYSACHARIDY

Ne-biotechnologické:

škrob

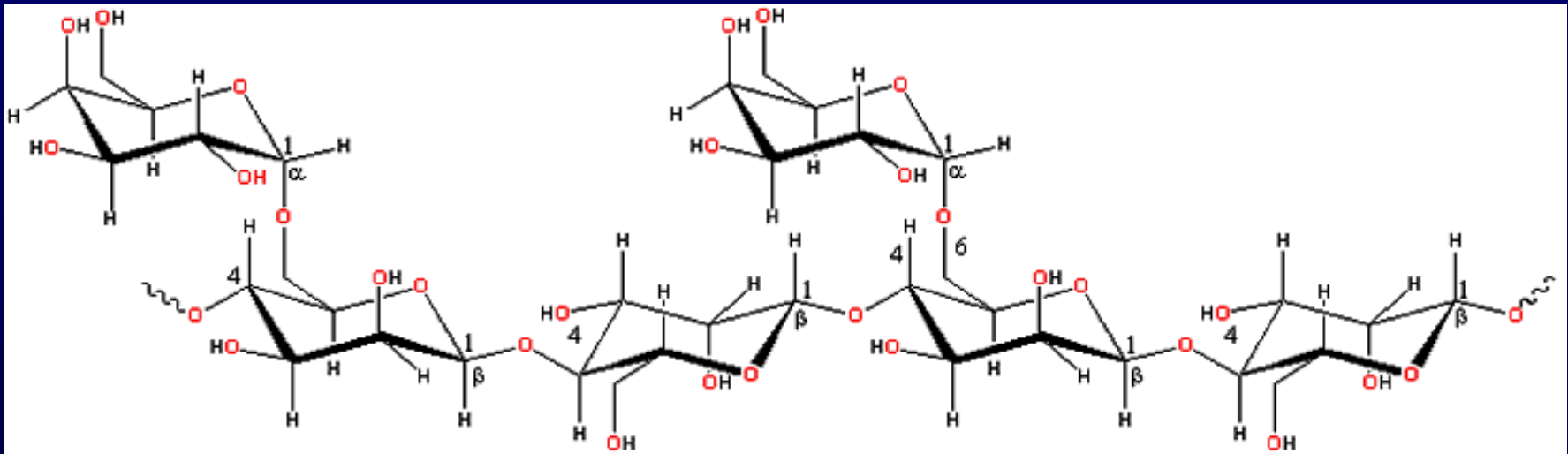
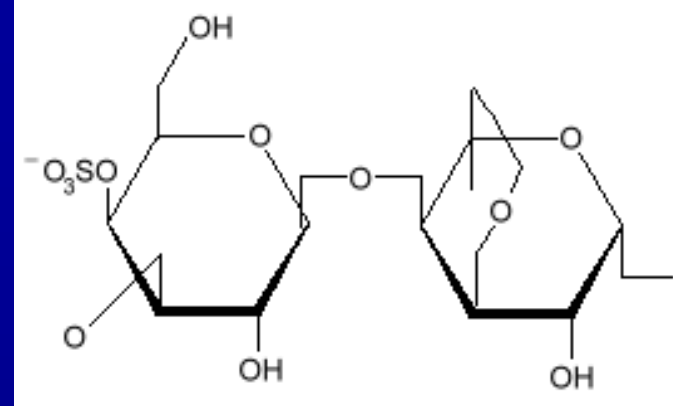
karageenan (polysulfogalakturonan – řasy)

tvorba komplexů s proteiny a Ca^{2+} – náhrada gelatiny
zahušťování mléčných výrobků, zmrzliny, puding

guar gum (semena *Cyamopsis tetragonoloba*)

zahušťovadla, odolnost na zamrazování

„thixotropní“ – přechod ze tuhého stavu do tekutého třepáním



Biotechnologické (velkovýroba v kulturách)

alginát – hnědé řasy

dextran – bakterie (např. *L. mesenteroides*)

xanthanová guma – bakterie *Xanthomonas campestris*

pullulan – kvasinka *Aureobasidium pullulans*

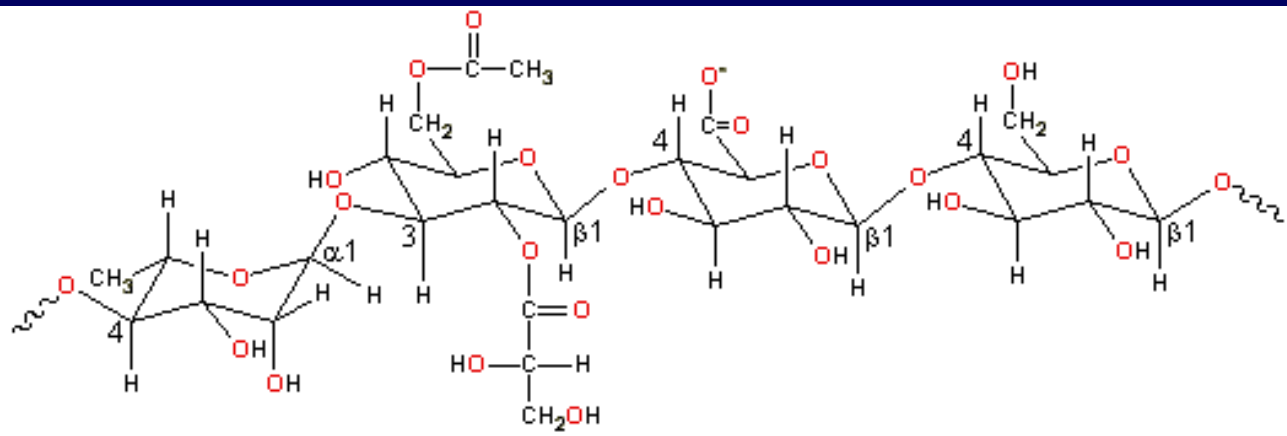
lineární α -glukan = špatně stravitelný pro člověka

výroba folií nepropustných pro O_2 (statut GRAS)

potahy kapslí, tabletek – farmacie, kosmetika

gellan – aerobní fermentace *Pseudomonas elodea*

tvorba nízkoviskozních gelů = „rozpuští se na jazyku“



POLYSACHARIDY

Xanthanová guma:

nejvýznamnější- roční produkce 20.000 tun

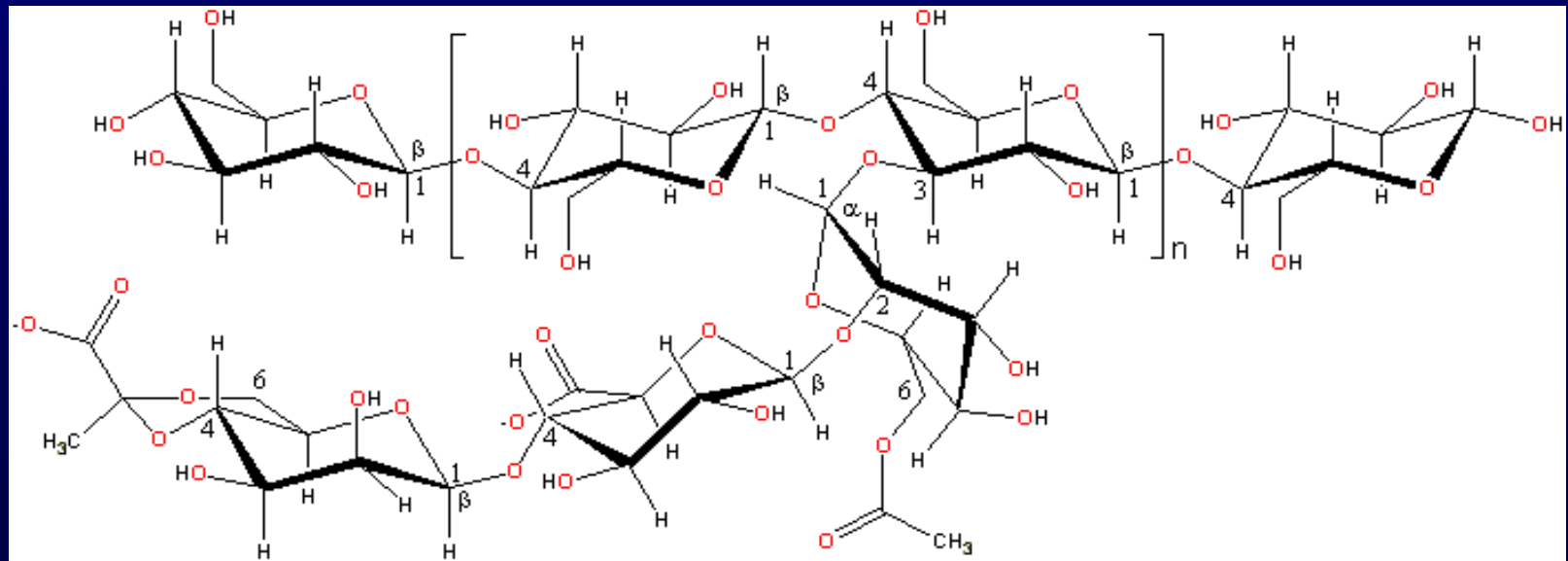
Xanthomonas campestris

rostlinný patogen:

- * ucpání cév polysacharidy
- * znemožní transport vody

aerobní kultivace – vsádkový reaktor

precipitace isopropanolem, usušení, pomletí, zabalení



Xanthanová guma:

celulosa páteř – dvoušroubovice – mikrofibrily

pentasacharid (2 Glu + postranní řetězec 3 sacharidů

gum operon – 12 enzymů syntézy polysacharidu

* složení polymeru a exkrece do vnějšího prostředí

* těsné spřažení s dostupností monosacharidových jednotek kontrola dalšími genovými klustery

Vlastnosti:

* ředěný roztok vysoce viskózní

* nezávislé na teplotě a pH

Použití:

* zahušťovadlo, stabilizátor pивní pěny

* emulgátor (salátový dressing)

* inhibice růstu ledových krystalů (zmrzlina)

