

# Zpracování škrobu


Kyselá hydrolýza (Kirchhoff, poč 19.stol)

nevýhody - vedlejší produkty

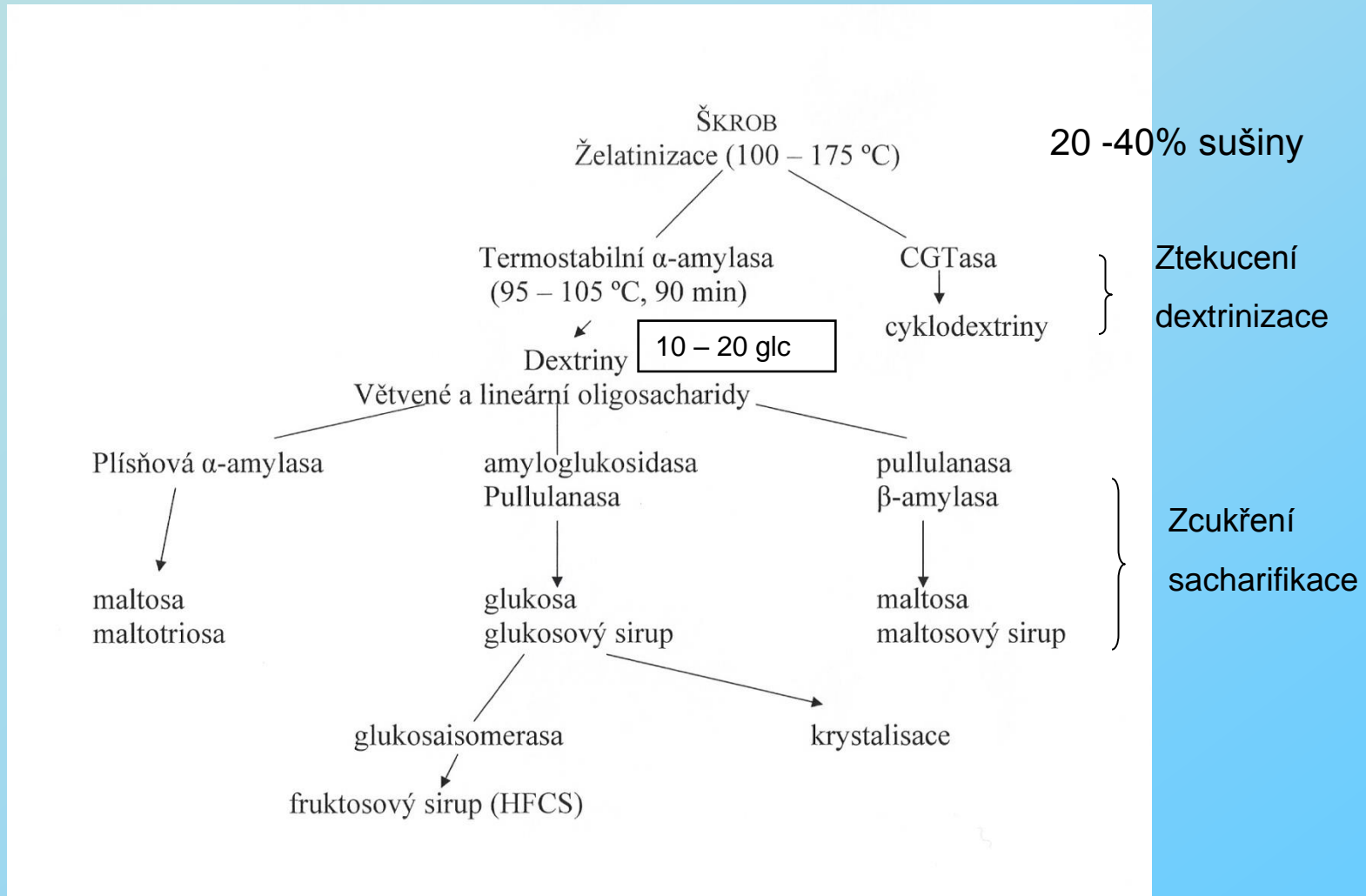
Ize ovlivnit jen stupeň hydrolysy, nikoli složení produktů

nákladné zařízení (konc. kys. sírová, teplota ~ 150 °C)

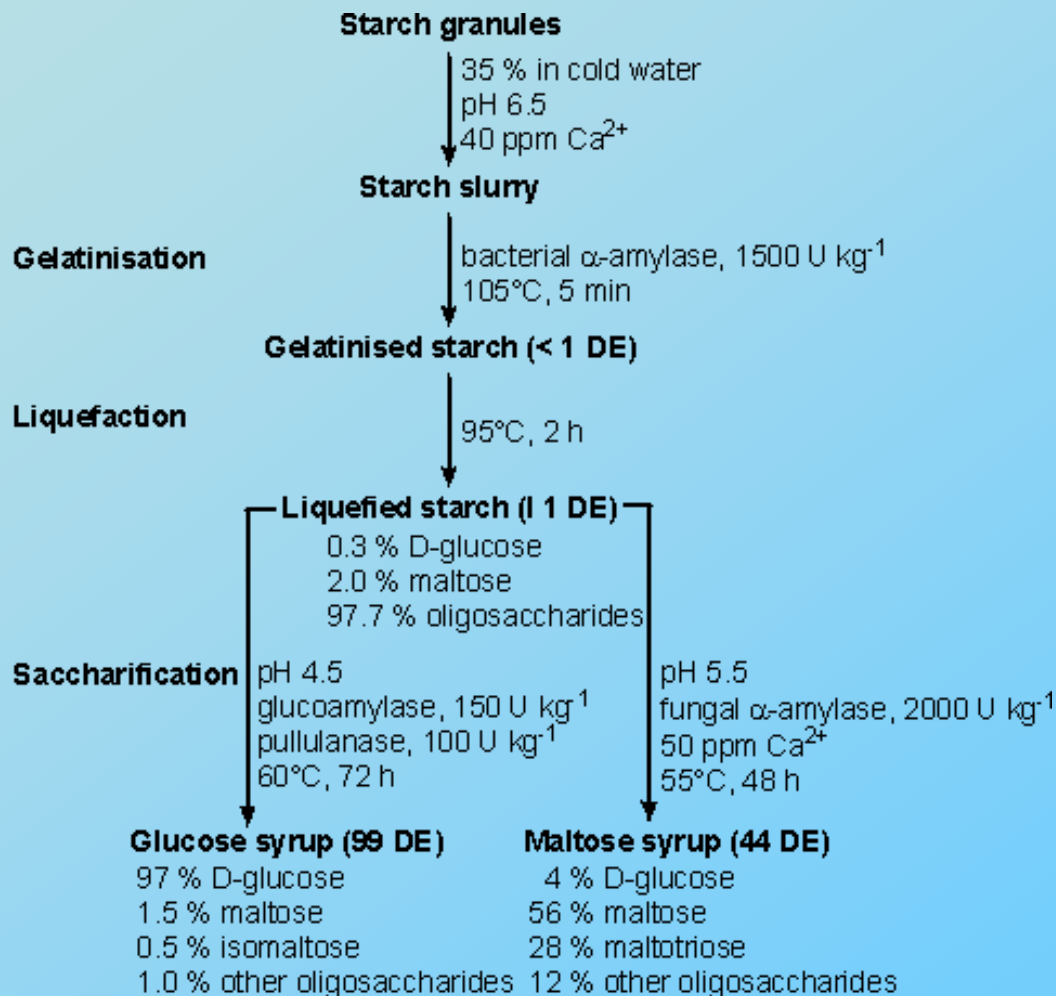
Enzymová hydrolysa -

 Enzymy se uplatňují již při separaci škrobu - e. degradující b.s. rostlin (pektinasy, xylanasy, celulasy + proteasy, lipasy)

# Zpracování škrobu



DE - dextrosový ekvivalent = (množství red.sacharidů vztaženo na glukosu/celkové množství polysacharidu)x100      DE škrobu = 0, DE glukosy = 100



## Specifita → složení produktů

	<i>Bakteriální <math>\alpha</math>-amylasa</i>	<i>Plísňová <math>\alpha</math>-amylasa</i>	<i>Sladová <math>\beta</math>-amylasa</i>	<i>amyloglukosidasa</i>
<b>Glukosa</b>	4	3	1	<b>83</b>
<b>Maltosa</b>	10	<b>50</b>	<b>60</b>	7
<b>Maltotriosa</b>	18	26	8	3
<b>dextriny</b>	<b>68</b>	21	31	7

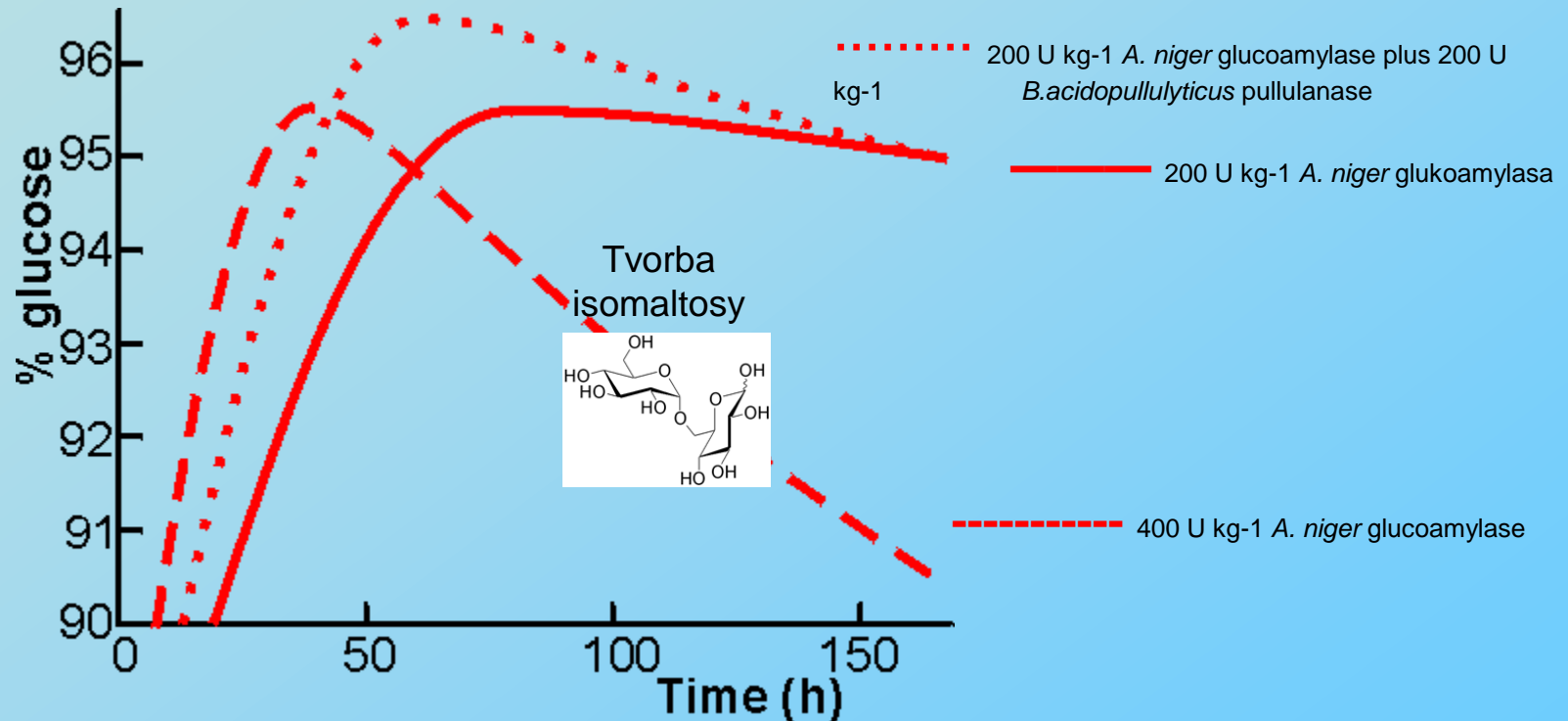
# Výroba glukosového sirupu:

-Ztekucený škrob DE 8 – 12, konc 30%

-pH 4 - 4,5, 60 °C

DE 96 – 98

DE 100 pouze ve zředěných roztocích

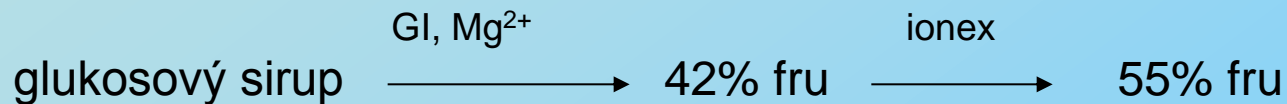


The % glucose formed from 30% (w/w) 12 DE maltodextrin, at 60°C and pH 4.3, using various enzyme solutions. The relative improvement on the addition of pullulanase is even greater at higher substrate concentrations.

# Výroba HFCS

Glukosaisomerasa, (D-xylosa ketolisomerasa, EC 5.3.1.5)

Tetramer, Mg, Mn, Co – teplotní stabilita



Sweetzyme, *Streptomyces murinus*, imobilizované buňky

Operační stabilita imob. GI - poločas 200 dní, využití jedné náplně po dobu 3 poločasů (12,5% původní aktivity)

## HFCS

- náhrada sacharosy
- levnější
- lépe rozpustný
- nižší tendence ke krystalizaci

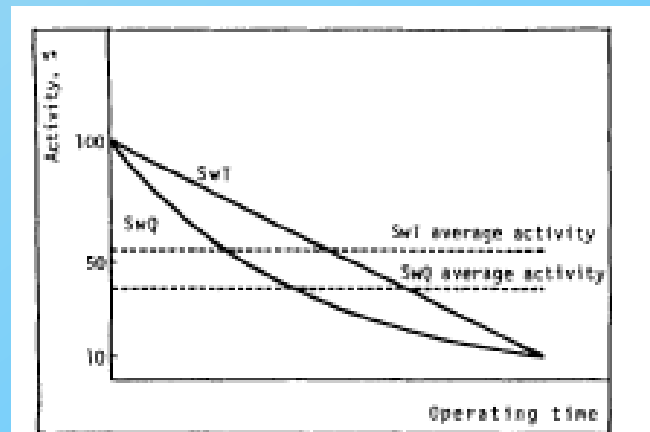


Figure 5. Activity decay modes for Sweetzyme Q<sup>#</sup> and T<sup>#</sup>.

# Použití produktů hydrolýzy škrobu

Potravinářství, textilní a papírenský průmysl

SHP (DE 5 - 8) - termoreversibilní gely, náhrada tuků, škrobu, stabilizátory

Maltodextriny (DE 3 - 20) - stabilizátory, zahušřovadla, plnidla

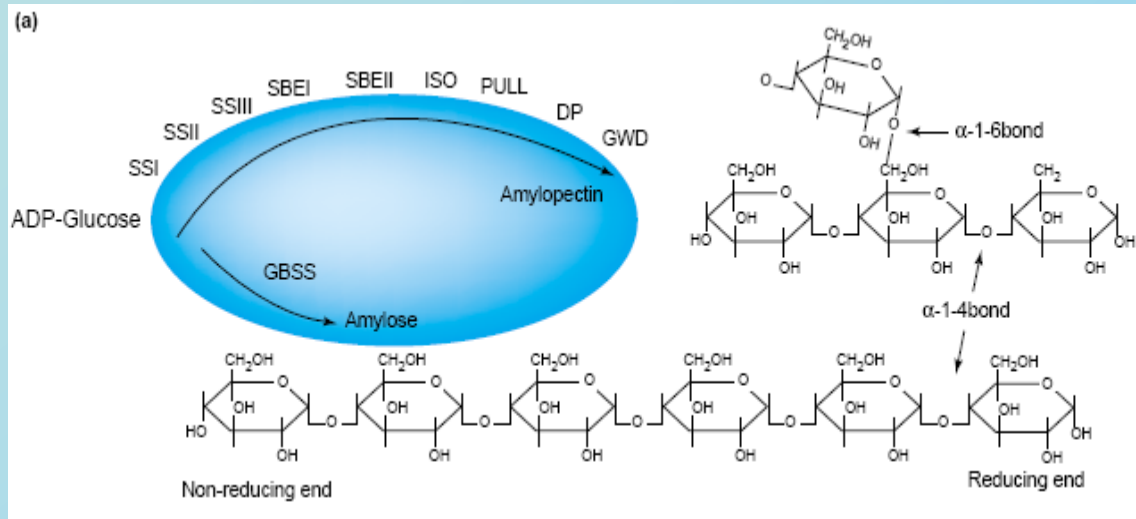
výživa pro rekonvalescenty

Maltosové a glukosové sirupy

Cyklodextriny - probráno dříve

# Produkce modifikovaných škrobů

Amylosa 20 - 30%



**Amylosa:** GBSS – granule bound starch synthase

**Waxy**

Lépe želatinizuje,  
konstantní viskozita,

- plnidlo a stabilizátor

## **Amylopektin:**

SS – starch synthase

SBE – odvětující

GWK – glucan water dikinase - fosforylace glukosových jednotek na C3 a C6 - příčina vysoké bobtnavosti škrobu, viskozity

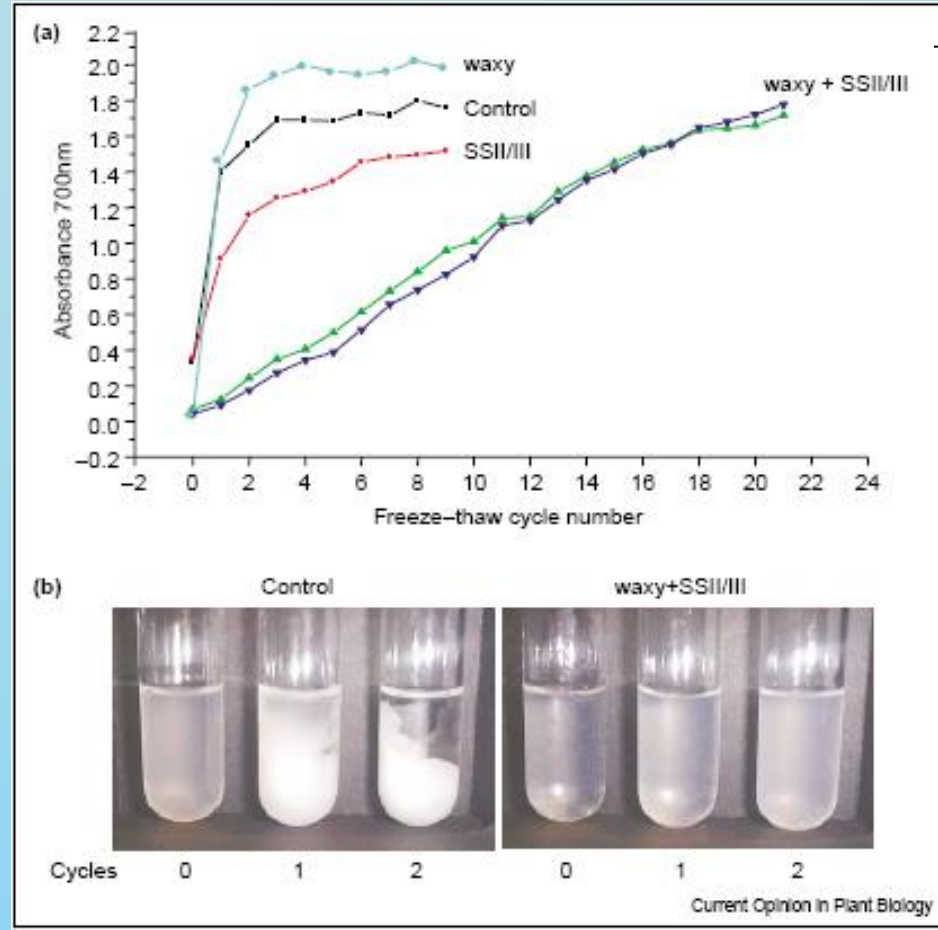


# Chemická úprava škrobu

- prokřížení polyglukanových řetězců - ↓ bobtnavost
- Vnesení nabitých skupin – stabilizace gelu

## Genové inženýrství:

Opakované zmrazování výrobků obsahujících škrob vede k agregaci



Amylopektin s krátkými postranními řetězci

**antisense SBEI a II** - 50 -90% amylosy - příprava povrchových filmů na smažených pokrmech apod.

**GWD mutanty** - řízení visozity - škrob pro papírenský průmysl

# Hydrolýza proteinů

**Cíl:**

- **Změna fyzikálně-chemických vlastností proteinů**
  - Rozpustnost → extrahovatelnost
  - Emulgační vlastnosti
  - Pěnivost
  - Schopnost vázat vodu
- **Změna nutričních a sensorických vlastností**
- **Změna textury surovin**
- **Snížení alergenicity**

# Hodnocení účinku proteas:

## 1. Stupeň hydrolysy:

$$DH(\%) = V_b \cdot N_b \cdot 1/\alpha \cdot 1/M \cdot 1/h_{\text{tot}} \cdot 100$$

$V_b$  = objem spotřebovaného louhu

$N_b$  = normalita louhu

$\alpha$  = stupeň disociace aminoskupin při daném pH

$h_{\text{tot}}$  = faktor vyjadřující celkový počet peptidových vazeb

## 2. Poměr AN/TN

**AN** = formolová titrace aminoskupin

**TN** = Kjeldalizace

Inaktivace proteas a stabilizace produktů:

↑ stupeň hydrolysy – změna pH a teploty

↓ stupeň hydrolysy - problém

Proteinové  
hydrolyzáty mají  
široké uplatnění:

Proteiny	Změny	Aplikace/Výhody
<b>Rostlinné</b>		
soja	rozpustnost	Zvýšení stravitelnosti, nutriční hodnoty, náhrada vaječného bílku
pšenice	senzorické vlastnosti hydratace/rheologie rozpustnost	Potravinářské přísady Pekárenství Zvýšení stravitelnosti, nutriční hodnoty
hrách	senzorické vlastnosti rozpustnost	Potravinářské přísady
kukřice	rozpustnost	Krmivářství (zatím nikoli komerčně)
<b>Živočišné</b>		
Maso (rybí + ostatní)	Textura Rozpustnost/senzorika rozpustnost	Zvýšení kvality potravin Potravinářské přísady Odstranění zbytků – výživa zvířat
mléko	Koagulace Rozpustnost	Výroba sýrů Zvýšení nutriční hodnoty Snížení alergenicity
krev	Rozpustnost/senzorika	Potravinářské přísady
kůže	textura	Činění kůží
<b>Mikrobiální</b>		
Kvasinky	Rozpustnost senzorika	Potraviny a krmivo vč. fermentačních medií Potravinářské přísady
bakterie	rozpustnost	Krmivářství
<b>Smíšené</b>		
Znečištěniny, odpad	rozpustnost	Převedení do odpadních vod

# Vznik hořkých peptidů

## Proteiny nejsou hořké

Hydrofobní AK mají hořkou chuť: Leu, Pro, Phe, Tyr, Ile, Trp

- leu, phe (15 – 20 mM)    leu-phe, leu-leu - 10 x nižší konc. – hořká chuť

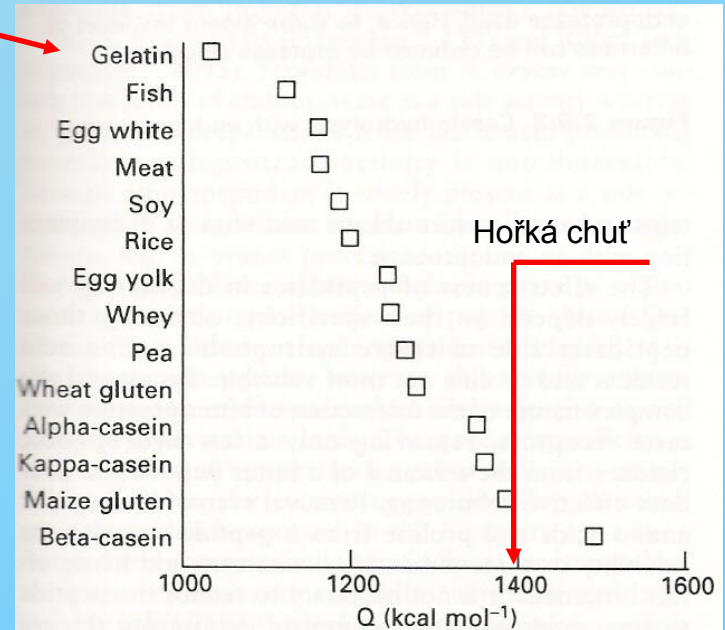
↑ s hydrofobicitou C konce, + pro, ↓ pro

kvantifikace hydrofobicity proteinů a peptidů:

**Q** = volná energie přenosu postranního řetězce Ak z ethanolu do vody

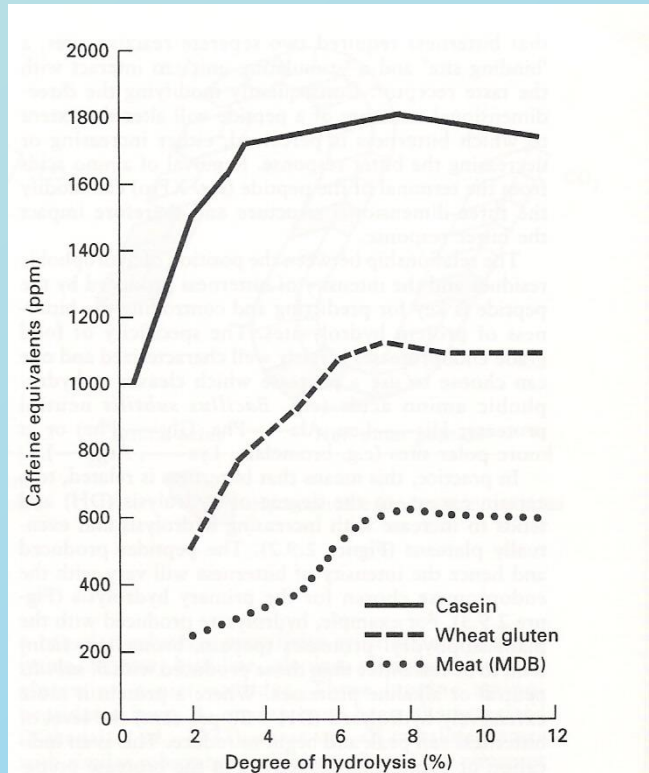
$Q > 1400 \text{ cal/mol}$   
peptidy  $< 6 \text{ kDa}$

75% hydrofobních AK

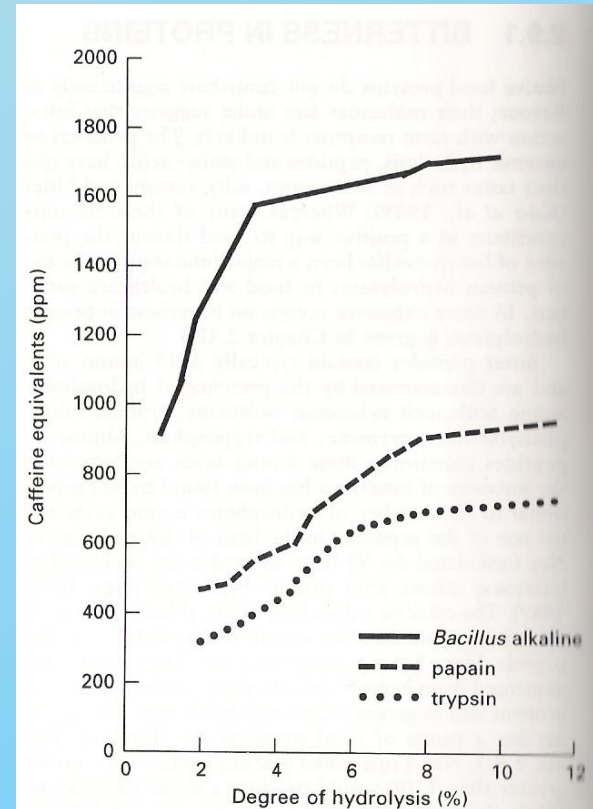


**Figure 2.9.1** Hydrophobicity of food proteins. The more hydrophobic food proteins (i.e. higher Q value) will have a greater tendency to produce bitter flavours on hydrolysis

# Vznik hořkých peptidů v hydrolyzátech závisí na výchozím proteinu a specifitě proteas



Intensity of bitterness is related to the protein substrate and degree of hydrolysis. Bitterness is monitored by a trained sensory panel with reference caffeine standards (200 ppm was the limit of detection). Hydrolysates were prepared using *Bacillus subtilis* neutral protease and evaluated as 1% suspensions



The bitter peptides produced during hydrolysis will depend on the specificity (cleavage site) of the endoprotease used. Hence, to some extent the level of bitterness can be reduced by protease selection

# Odstraňování hořkých peptidů

## Klasické:

- Adsorbce na aktivní uhlí
- Chromatograficky, extrakcí alkoholy
- Maskování hořké chuti (polyfosfáty, aspartát, glutamát, cyklodextriny)

## Enzymaticky:

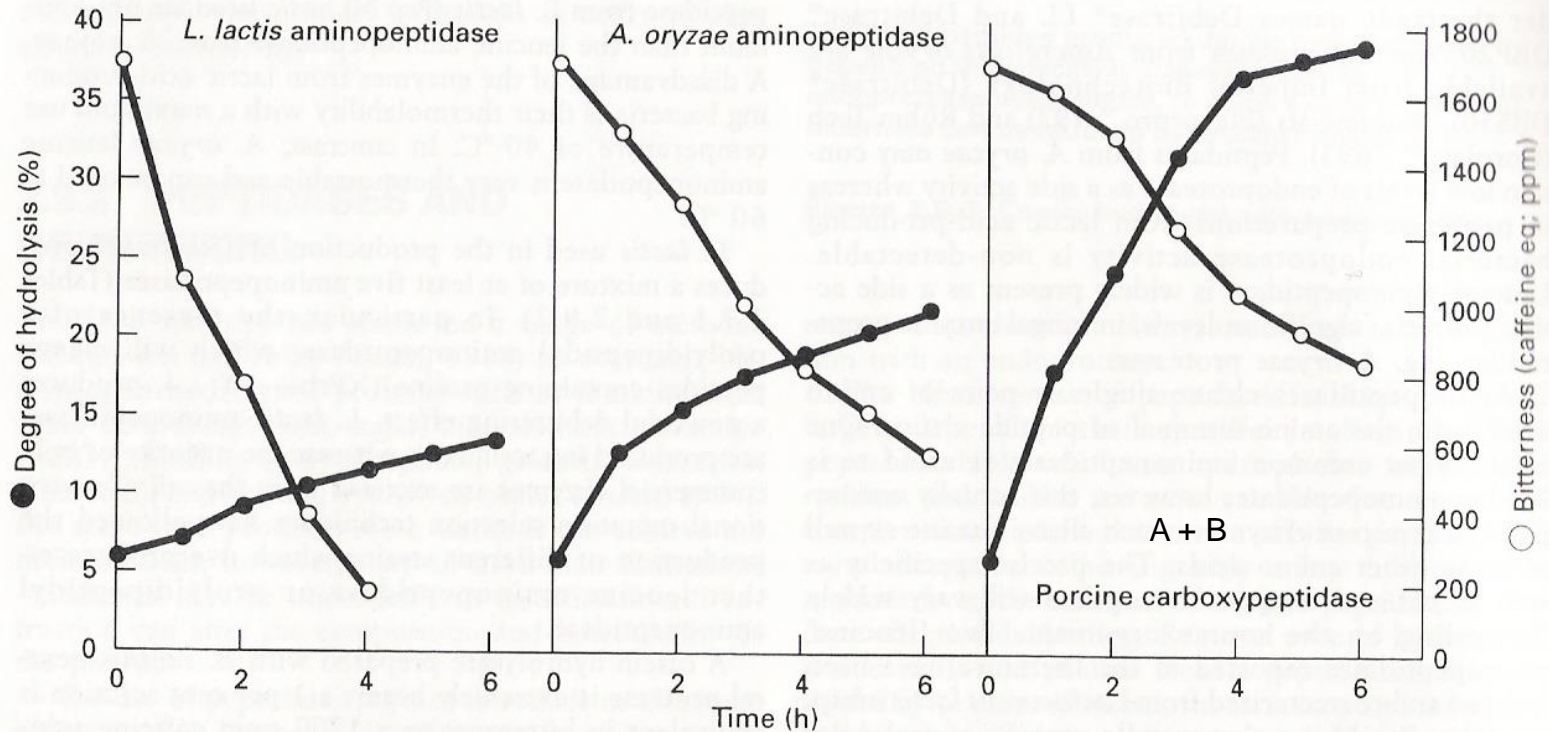
- Prokřížení proteinů - transglutaminasa (snížení rozpustnosti)
- Exopeptidasy, aminopeptidasy

X-Pro-Y

-Leu-

A: ↓-Leu (Ile,Phe)

B: ↓-basická AK

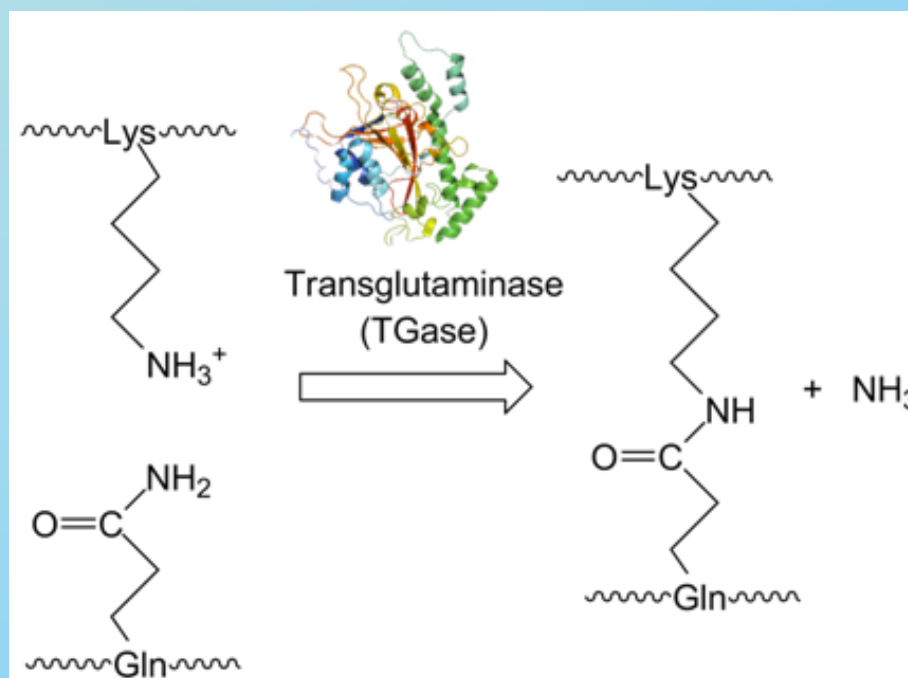


Debittering a casein hydrolysate with *L. lactis* aminopeptidase (Debitrase™ LL), *A. oryzae* aminopeptidase (Debitrase™ DBS50) and porcine carboxypeptidase A and B. Initial casein hydrolysate was 5 per cent DH and had a level of bitterness equivalent to 1720 caffeine equivalents as a 1 per cent solution. Limit of bitterness detection is 200 ppm



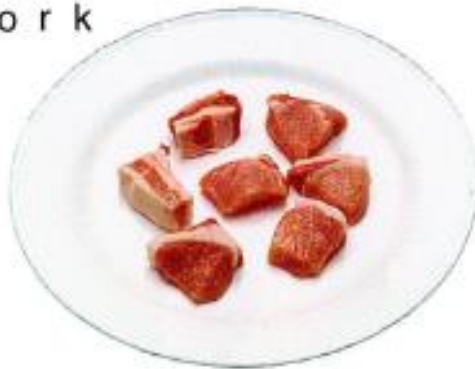
## Prokřížení proteinů – transglutaminasa – (protein-glutamine gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.13)

- „potravinářské lepidlo“
- změna textury proteinů
- tvorba gelů



Dobrou chuť

pork



T G  
→



scallop



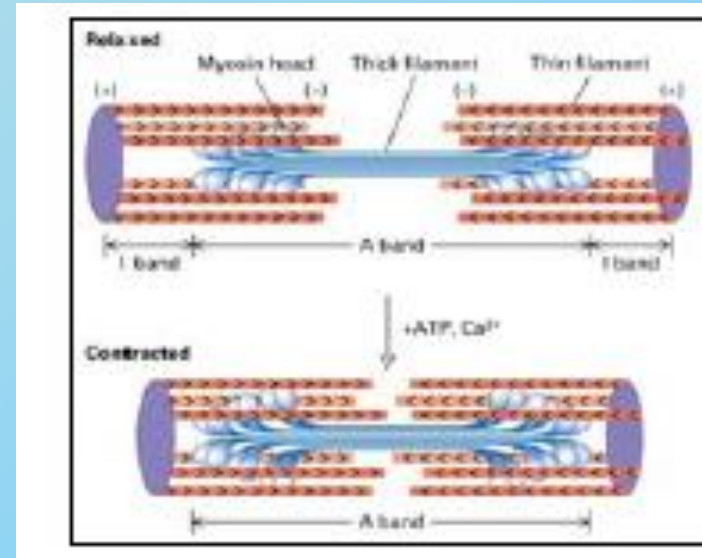
T G  
→



# Tenderizace (měknutí) masa

Kontraktilita svalů, rigor mortis

- Uvolnění proteas (kalpainy, kathepsiny) – štěpení filament – tenderizace
- Urychlení procesu – aplikace rostlinných proteas (papain, bromelain, ficin)



# Mlékárenství

## 1. Výroba sýra

- sýřenina
- zrání

## 2. Výroba delaktosovaného mléka

## 3. Zpracování syrovátky

## 4. Sterilizace mléka za chladu



## Složení mléka

Voda (87 – 90%)

Proteiny (2- 3%) – kaseiny (micelární, 75 – 85%)

- syrovátkové (laktoglobulin, laktalbumin, 15 – 22%)

- peptidy (2 – 4%)

Lipidy (1- 4%) – TAG, fosfolipidy, cholesterol

Laktosa (4,5 – 7%)

Vitaminy

## Zpracování mléka

<b>Proces</b>	<b>Produkt</b>
Tepelné ošetření	konzumní mléko,
odstředění	Standardizované mléko, smetana,
Koncentrace a sušení	Kondenzované a sušené mléko
Sladké (enzymové) srážení	Sýr zrající, sladká syrovátka
Kyselé srážení, fermentace	čerstvý sýr, jogurt, zákys syrovátka

# Výroba sýra

standardizace mléka



pasterizace (72 °C, 15 s)



ochlazení, 30 °C



starterové kultury



**koagulace,  
syřidla, Ca<sup>2+</sup>**



krájení



syrovátka



sýřenina



lisování, zrání

**$\alpha$ S1-casein:** (molecular weight 23,000; 199 residues, 17 proline residues)

Two hydrophobic regions, containing all the proline residues, separated by a polar region, which contains all but one of eight phosphate groups. It can be precipitated at very low levels of calcium.

**$\alpha$ S2-casein:** (molecular weight 25,000; 207 residues, 10 prolines)

Concentrated negative charges near N-terminus and positive charges near C-terminus. It can also be precipitated at very low levels of calcium.

**$\beta$ -casein:** (molecular weight 24,000; 209 residues, **35 prolines**)

Highly charged N-terminal region and a hydrophobic C-terminal region. Very amphiphilic protein acts like a detergent molecule. Self association is temperature dependant; will form a large polymer at 20° C but not at 4° C. Less sensitive to calcium precipitation.

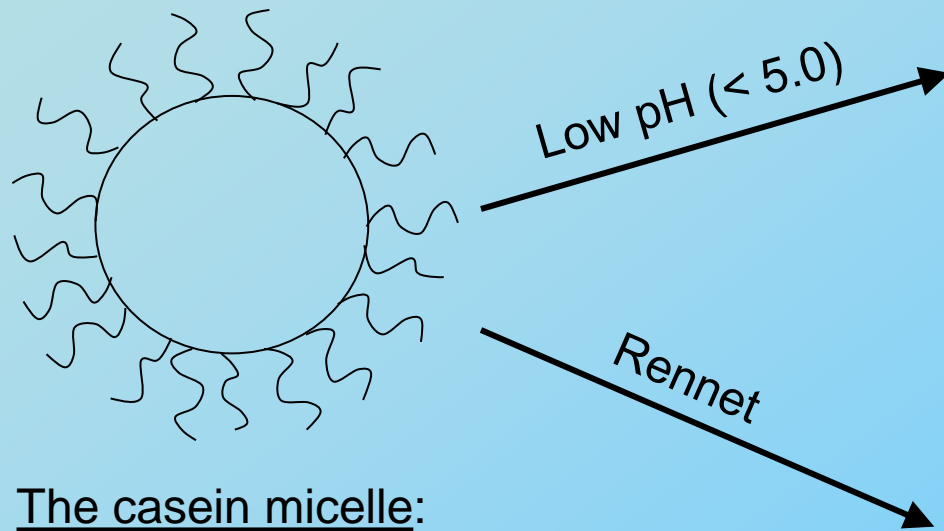
**$\kappa$ -casein:** (molecular weight 19,000; 169 residues, 20 prolines)

Very resistant to calcium precipitation, stabilizing other caseins. Rennet cleavage at the Phe105-Met106 bond eliminates the stabilizing ability, leaving a hydrophobic portion, para-kappa-casein, and a hydrophilic portion called kappa-casein glycomacropeptide (GMP), or more accurately, **caseinmacropeptide (CMP)**.

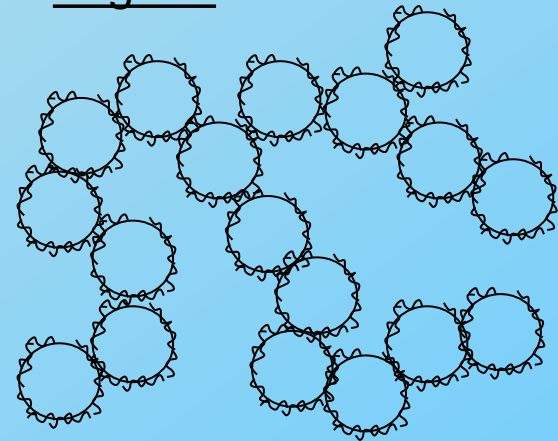


# Casein micelles

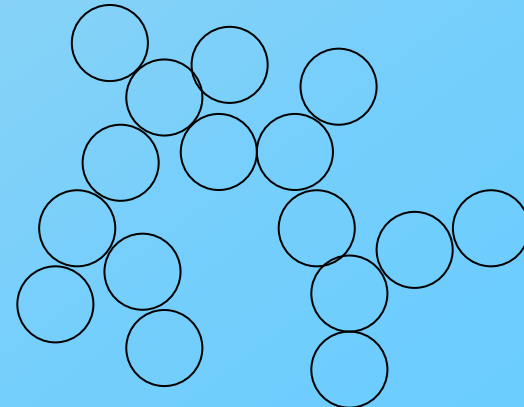
## - and their processing



Yoghurt



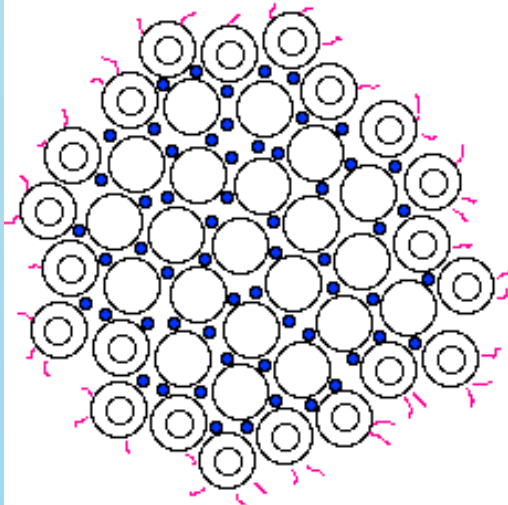
Cheese



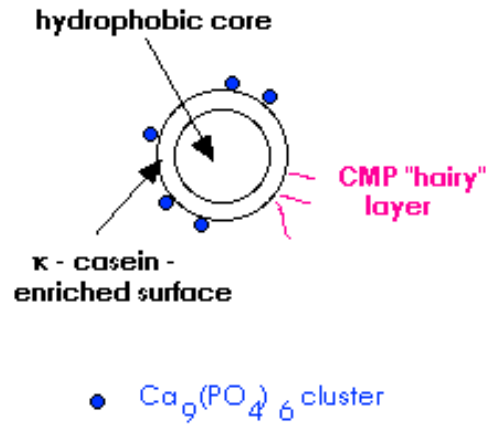
The casein micelle:

- Casein ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ )
- Micellar calcium phosphate
- $d = 100\text{-}300\text{ nm}$

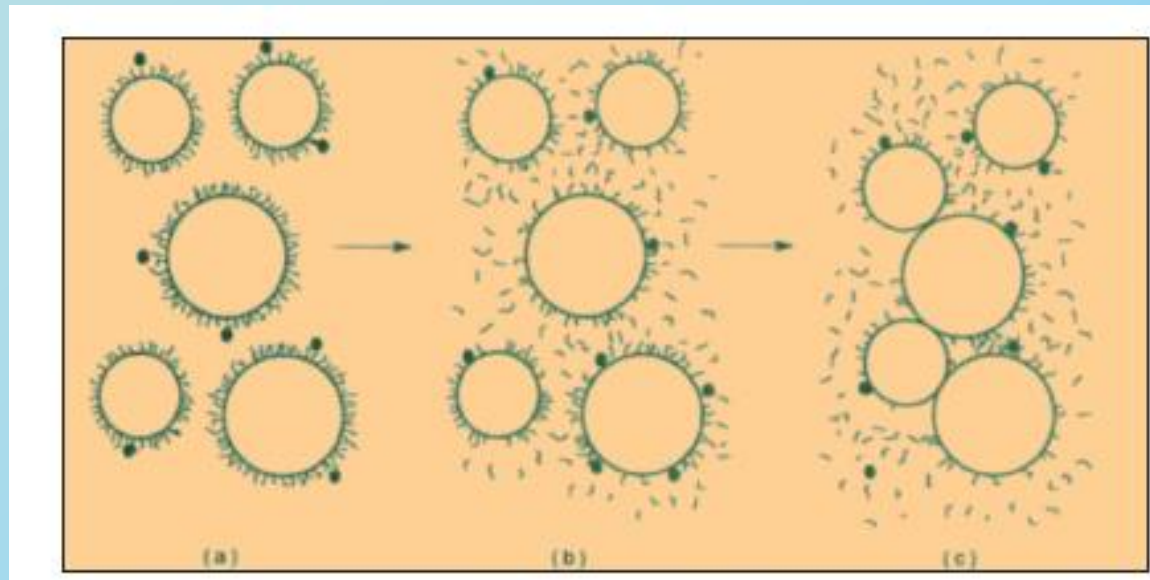
## Casein Micelle



## Casein Submicelle



## Koagulace kaseinových micel - 1.fáze sladkého srážení mléka



2.fáze – koagulace probíhá jen v přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$

3.fáze – postupující hydrolysa, nežádoucí

## POŽADAVKY NA VLASTNOSTI SYŘIDEL:

- ✓ omezení nežádoucího štěpení  $\beta$ -kaseinu
- ✓ specifita podobná chymosinu
- ✓ závislost průběhu koagulace na pH a koncentraci  $\text{Ca}^{2+}$
- ✓ závislost na teplotě koagulace, tepelná stabilita (regulace 3. fáze srážení)
- ✓ stabilita během skladování

Mikrobiální syřidla: vyšší poměr proteolytické a koagulační aktivity

vyšší termostabilita – hořké peptidy

nutná změna technologie (pH, teplota,  $\text{Ca}^{2+}$ )

Typ syřidla	zdroj	Komerční preparát	Poznámka
živočišné	Hovězí předžaludky	Stabo	100% pepsin
	Hovězí + telecí	Cabo	60 – 100% chymosin
	telecí		
	kůzlečí	Grandine	
Mikrobiální	Mucor pusillus	Emporase, Renzyme	
	Rhizomucor miehei	Fromase, Rennilase	
	Cryphonectria parasitica	Superen, Thermolase	Švýcarsko, Itálie
rekombinantní	A.niger	Chymogen, Chymostar	Nepovoleno ve všech zemích
	A.oryzae	Novoren	Využíván intenzivně od 1994
	E.coli	Chymax	Nepovoleno ve všech zemích
	Kluyveromyces marxianus	Maxiren	Nepovoleno ve všech zemích
Rostlinné	Ananas - bromelain		Příliš proteolytický
	Papajovník- papain		Příliš proteolytický
	Artyčok kardový	Cardoon	Serra de Estrela Portugalsko



Další enzymy v mlékárenství

### **Zrání sýrů - komplexní biochemické pochody**

- Syřidla (až 30% v sýřenině)
- endogenní enzymy – plasmin, xanthin oxidasa, kyselá fosfatasa, lipasy
- enzymy starterových kultur a sekundárních MO
- exogenní enzymy proteasy, lipasy u některých speciálních druhů sýra

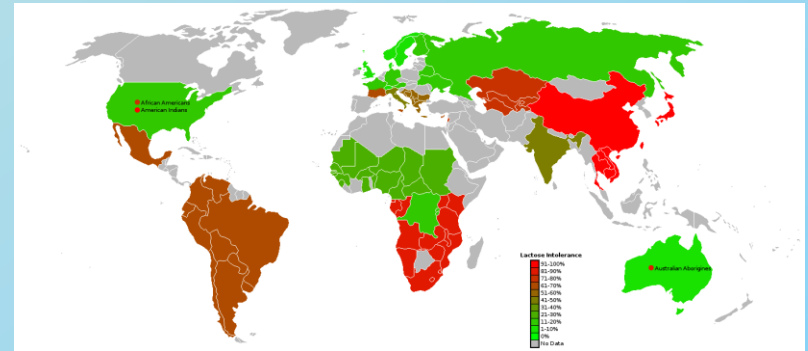
## $\beta$ -galaktosidasa

### 1. Štěpení laktosy v mléce

- bezlaktosové mléko
- úprava mléka pro výrobu kondenzovaného mléka, jogurtů, mražených krémů

### 2. Hydrolysa laktosy v syrovátce

- Volný enzym – vsádkově s ultrafiltrací
- Imobilizovaný enzym – nosič, permeabilisované buňky
  - Vsádkově (4 h, 37 °C resp. 24 h, 8 °C)
  - kontinuálně



## **MOŽNOSTI POUŽITÍ HYDROLYSOVANÉ SYROVÁTKY**

- 1. Sladidlo v mlékárenství, cukrářství, pekárenství a při výrobě nealkoholických nápojů**
- 2. Urychlení fermentace v jogurtech, tvarozích, pivu a vínech**
- 3. Řízené hnědnutí v pekárenství a cukrářství**
- 4. Náhrada mléka do zmrzlin**
- 5. Bezlaktosové výrobky**
- 6. Výroba alkoholu**
- 7. Krmivo pro domácí a hospodářská zvířata**



Sterilizace mléka za chladu  
(kontinuální systém)

Laktosa



$\beta$ -galaktosidasa

Glukosa



GOD

$H_2O_2$



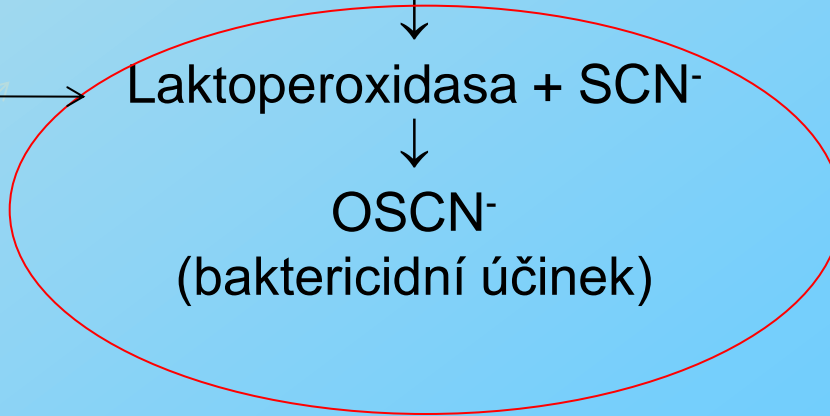
Laktoperoxidasa +  $SCN^-$



$OSCN^-$

(baktericidní účinek)

Obsažena v mléce,  
termostabilní



# Výroba nápojů

- Pivovarnictví
- Vinařství
- Zpracování ovoce a zeleniny (konzervářství)

## Pivovarnictví

Tradiční výroba - bez přídavku enzymů..... ale



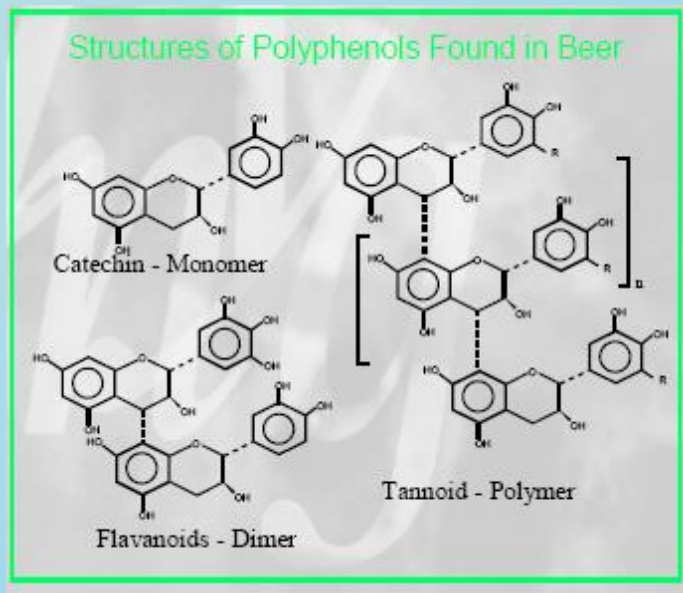
1. **Příprava sladiny** - náhrada sladu škrobem -  $\alpha$ -amylasa (BAN), proteasy - uvolnění  $\beta$ -amylasy
2. **Fermentace** - vyjímečně - při výrobě „lite“ zvýšení obsahu fermentovatelných sacharidů - pululanasa, amyloglukosidasa  
nízkalkoholická piva – snížení obsahu fermentovatelných sacharidů
1. **Filtrace** - štěpení polysacharidů b.s. -  $\beta$ -glukany
2. **Stabilizace piva** - odstranění zákalu
3. **maturace** -



Chladový zákal → permanentní zákal

Interakce koloidních částic

Vliv teplot, oxidace, kovových iontů, světla



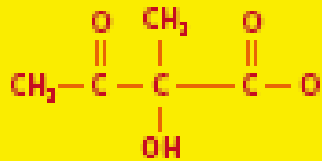
**Odstraňování zákalu**

..... papain

2 pyr

Acetolaktát  
synthasa

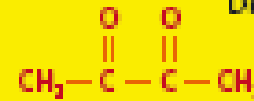
Alpha-acetolactate



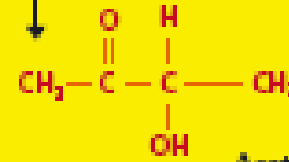
Spontaneous  
oxidative  
decarboxylation

(slow reaction)

Diacetyl



Yeast  
reductase



Acetoin

(fast reaction)

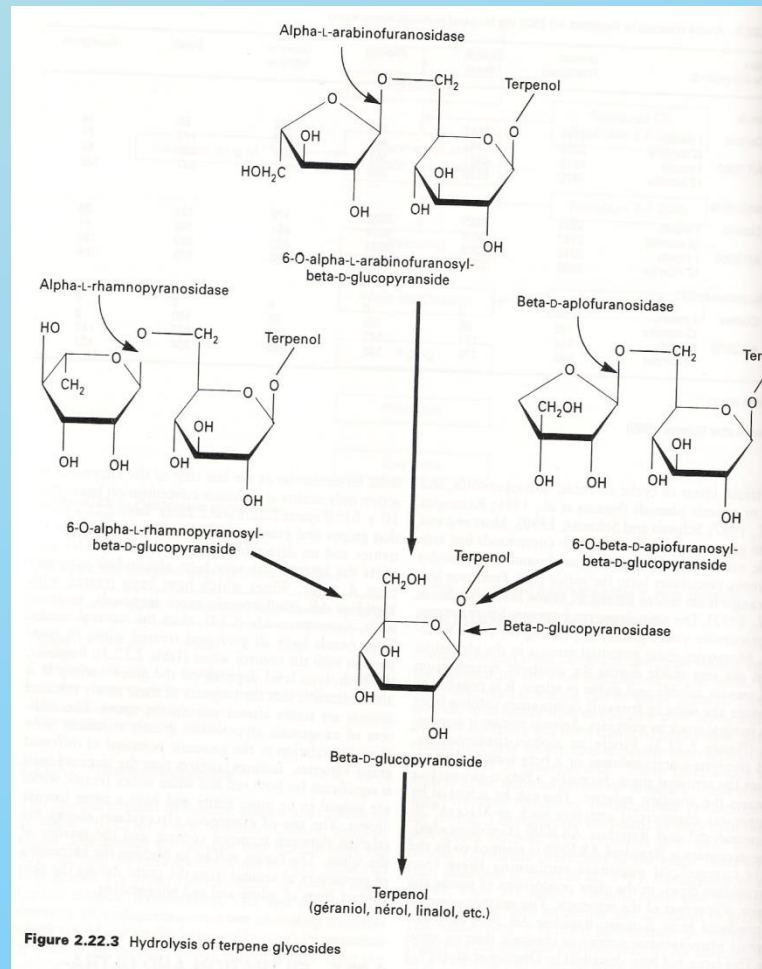
Alpha-acetolactate  
decarboxylase

EC 4.1.1.5

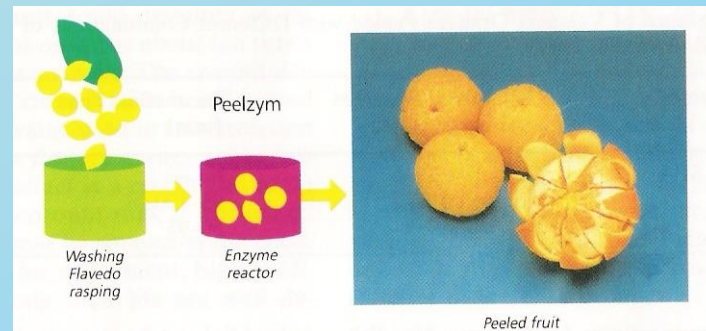
Maturex (B.brevis)

# Vinařství

1. Zlepšení extrakce moštu - pektolytické enzymy
2. Zlepšení vinného aromatu - terpenoly vázané na sacharidy



# Zpracování rostlinných surovin, výroba ovocných nápojů



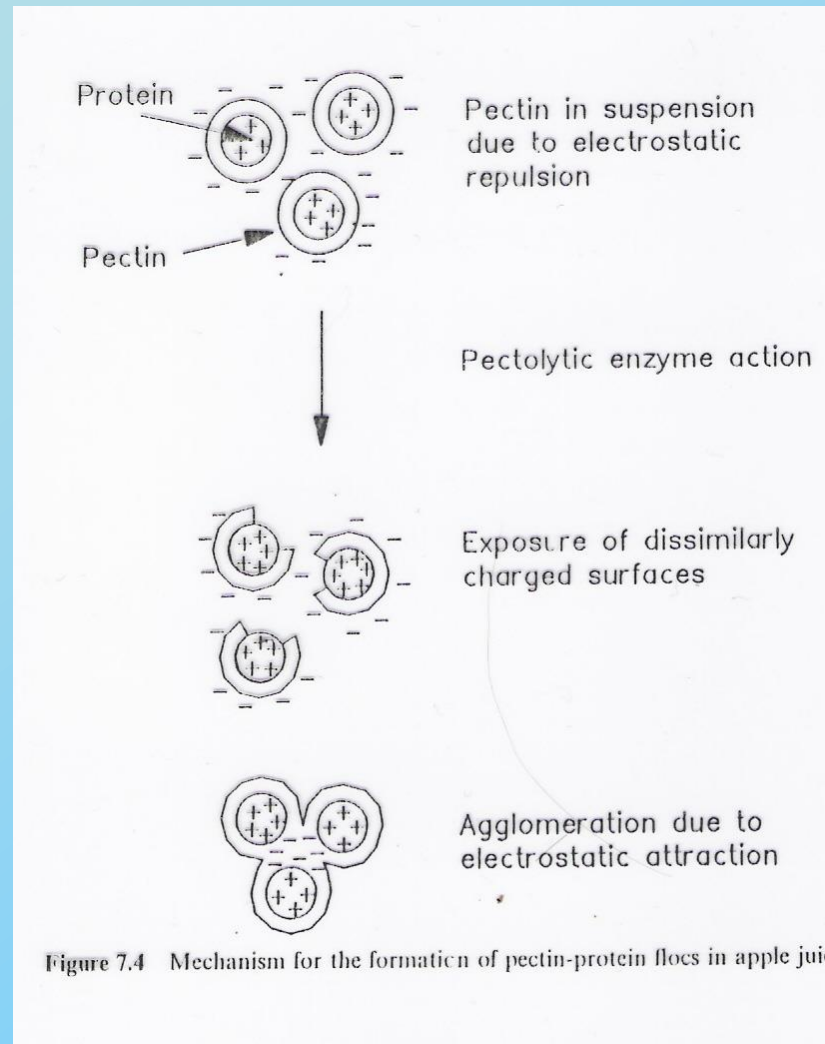
## 1. Fáze

- Loupání
- Macerace → buněčné suspenze
- Získání fermentovatelných sacharidů

## 2. Fáze - výroba nápojů

- Čiření ovocných šťáv
- Usnadnění filtrovatelnosti
- Úprava senzorických vlastností

# Tvorba zákalu v ovocných šťávách



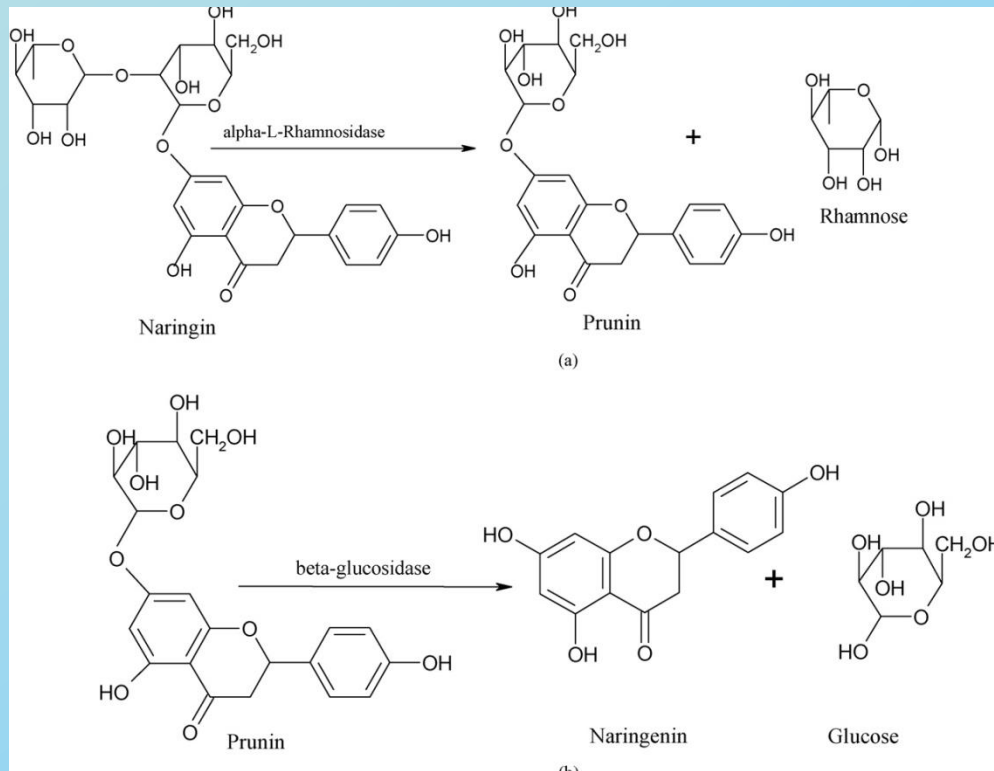
pH 3,5

Figure 7.4 Mechanism for the formation of pectin-protein flocs in apple juice



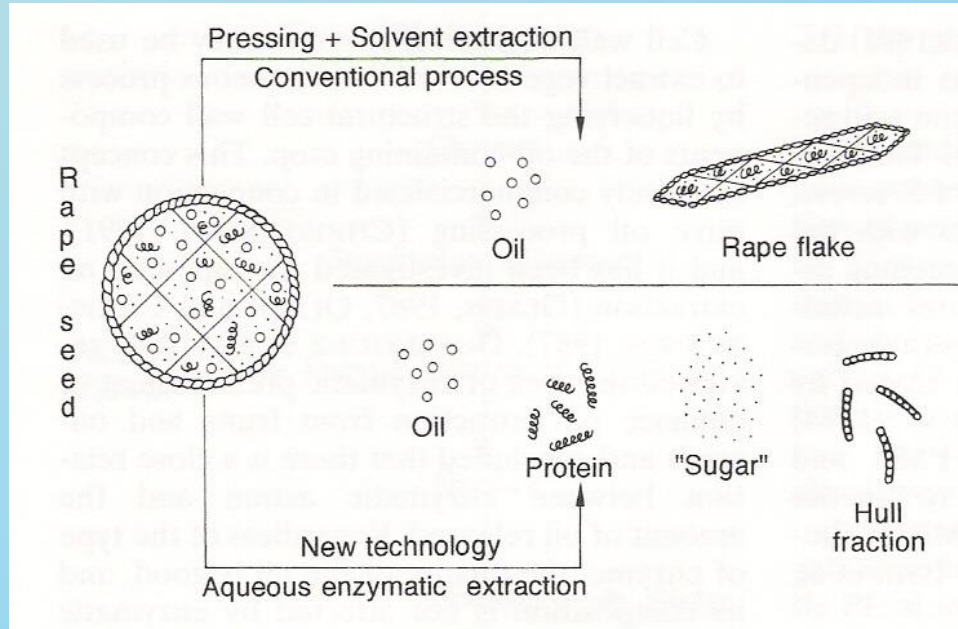
# Snižování hořkosti citrusových šťáv

Naringin - práh rozlišitelnosti 1,5 - 20 ppm (1-6 g na plod)



# Zpracování olejů:

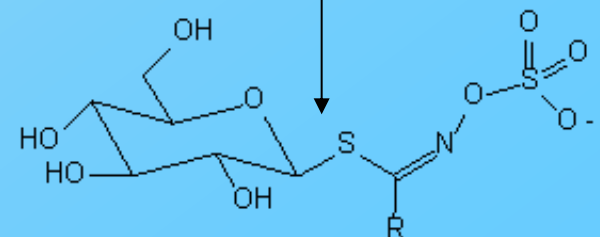
Řepkový olej: náhrada extrakce oleje organickými rozpouštědly



degradace glukosinolátů:

Myrosinasa (E.C. 3.2.1.147);

$\beta$ -D-thioglukosidasa

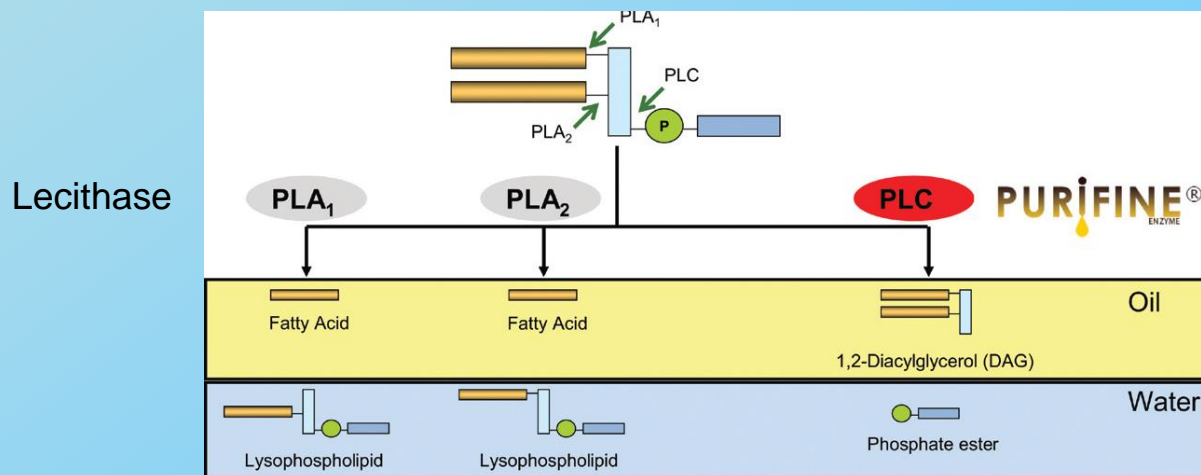


# Tukový průmysl

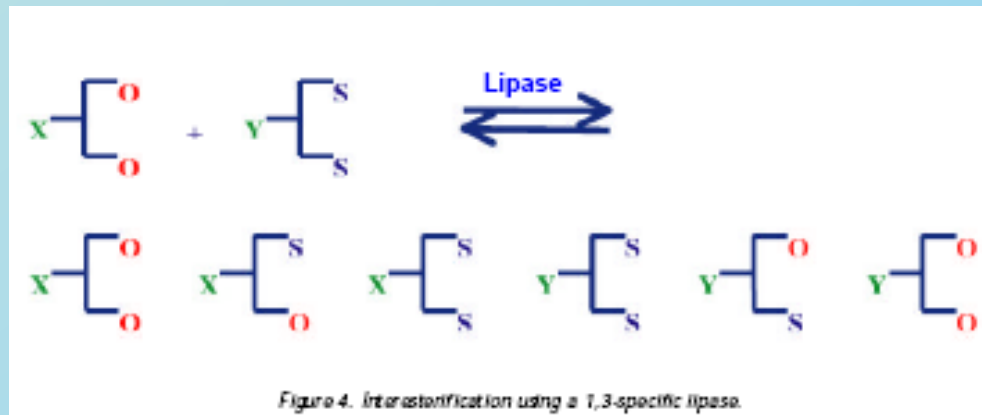
## Zpracování olivového oleje - Olivex

Odstranění nehydratovatelných složek oleje (degumming) – PA, FFA, kovové ionty, barviva, aromatické látky, slizotvorné látky

1. Chemická rafinace oleje - NaOH,
2. Prohánění vodní parou + kyselina
3. Enzymaticky - fosfolipasy A, C



## Transesterifikace -



- „zkvalitňování“ tuků (kakaové máslo, mléčný tuk)
- bionafta - alkylace
- Odstraňování trans MK - produkt parciální dehydrogenace (ztužování)

Zdravotní rizika - opačný efekt než cis MK

# Pekárenství

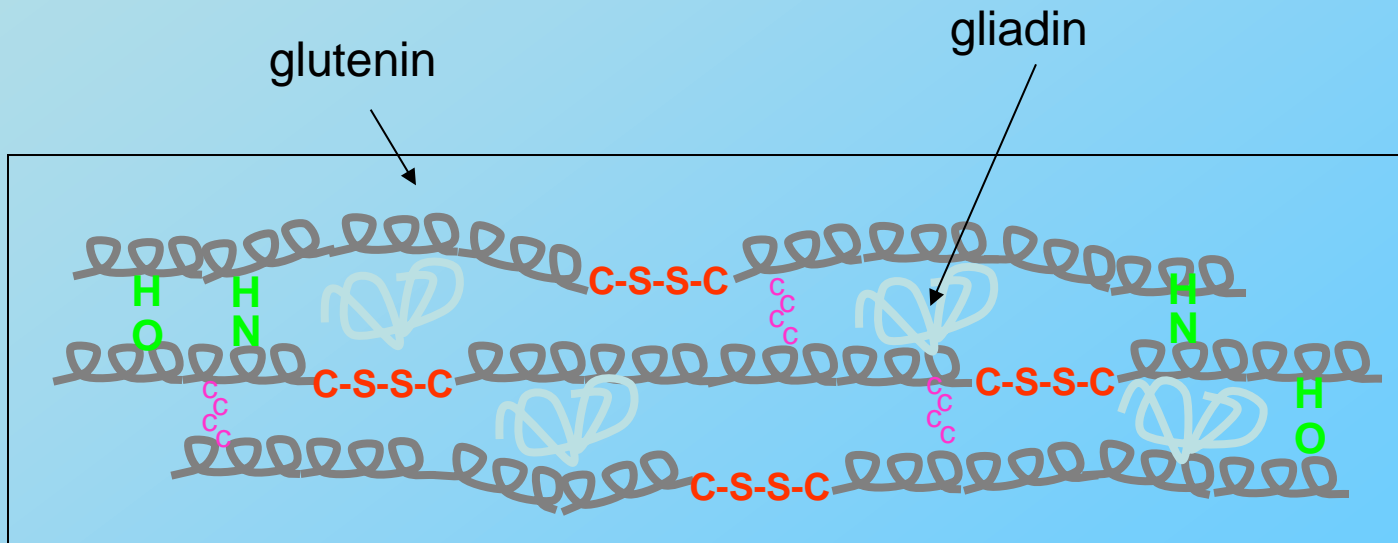
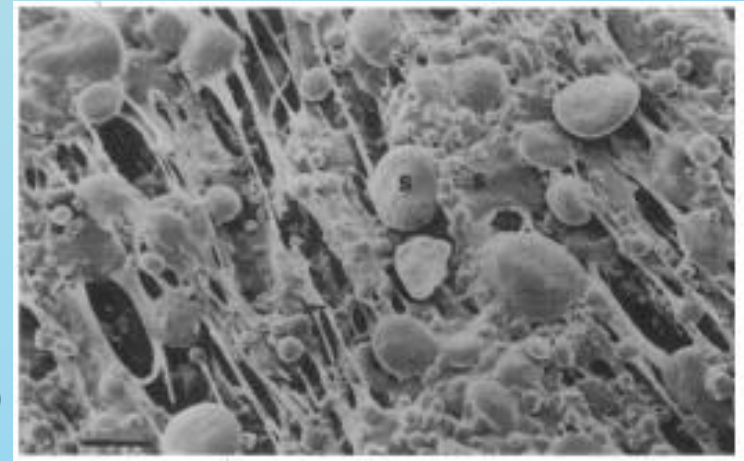
Standardizace mouk – Taka-amylasa

Výroba těsta, kvalita lepků

Proteasy (plísňové, rostlinné, transglutaminasa)

GOD/KAT - oxidace SH skupin glutenu

$\beta$ -glukanasy, pentosanasy



**Kynutí těsta** - produkce a zadržení CO<sub>2</sub>

α-amylasy (plísňové)

glukoamylasa

**Vzhled pečiva**

LOX - barva

Amylasy - struktura a vlastnosti kůrky

- okorávání

