

MIKROBIOLOŠKA BIOTEHNOLOGIJA (skripta)

Prof. dr Mirjana Bojanić Rašović

Biotehnički fakultet, Podgorica

Široka rasprostranjenost mikroorganizama ukazuje na njihovu veoma značajnu ulogu u prirodi. Oni vrše razlaganje različitih organskih materija u zemljištu i vodi, kruženje materije i energije u prirodi, stvaranje plodnog zemljišta, kamenog uglja, nafte i mnogih drugih rudnih bogatstava. Mikroorganizme karakteriše kratko generacijsko vrijeme i veliki broj metaboličkih procesa i puteva, zbog čega imaju veliki potencijal za primjenu u poljoprivredi, prehrambenoj, hemijskoj, farmaceutskoj industriji. Pod biotehnologijom se podrazumijeva upotreba živih organizama za dobijanje ili razgradnju određenih proizvoda. *Mikrobiološka biotehnologija* koristi mikroorganizme za dobijanje različitih korisnih proizvoda. Zahvaljujući molekularnoj biotehnologiji, moguće je od mikroorganizama, kao i biljnih i životinjskih ćelija napraviti "biološke fabrike" koje proizvode veliku količinu ekonomski vrijednih jedinjenja kao što su proteini, aminokiseline, antibiotici, vitamini i dr. Pored uloge u kruženju materije u prirodi, plijesni se koriste za proizvodnju antibiotika (*Penicillium*), limunske kiseline (*Aspergillus*), proizvodnji specijalnih vrsta sira (*Penicillium*), proizvodnji vina i piva (kvasci, *Saccharomyces*). Kvasci razlaganjem šećera stvaraju alkohol. Industrijska upotreba mikroorganizama je započela 1912. godine, kada je upotrijebljena bakterija *Clostridium acetobutylicum* za fermentaciju skroba do butanola i acetona. Sljedeći značajan proizvod - penicilin koga sintetiše plijesan *Penicillium notatum* je otkriven 1929. godine od strane Aleksandra Fleminga. Prvi rekombinantni organizam stvoren u cilju industrijske proizvodnje je bila *Escherichia coli*, radi proizvodnje insulina. Danas se genetički modifikovani mikroorganizmi, koji imaju poboljšana svojstva za proizvodnju određenog proizvoda široko upotrebljavaju. Genetičkim inženjeringom se može povećati proizvodnja u samom tom organizmu ili je moguće prebaciti gene za biosintezu tog proizvoda u neki drugi organizam, koji se onda zove transgeni organizam. Genetički inženjering omogućio je nastanak visokoproduktivnih mikroorganizama koji sintetišu bjelančevine, enzime, vitamine, antibiotike, stimulare rasta i druge proizvode neophodne za animalnu i biljnu proizvodnju. Genetički modifikovani mikroorganizmi se koriste u poljoprivredi, industriji i medicini. Značaj molekularne biotehnologije u proizvodnji hrane, energije i industrijskih sirovina je utoliko veći jer se kao polazna sirovina koriste obnovljivi resursi - biomasa i industrijski otpad, otpad iz stočarstva i dr., koji zagađuju životnu sredinu. Upotrebom ovih sirovina za rast mikroorganizama se postiže dvostruka korist - dobijanje korisnih proizvoda i rješavanje ekoloških problema. Mikroorganizmi se samim tim mogu koristiti i za prečišćavanje otpadnih voda i razgradnju otpada. Ciljevi koji se ostvaruju primjenom biotehnologije su, očuvanje i unapredjenje životne sredine, poboljšanje zdravstvene bezbjednosti hrane, unapredjenje postupaka konzervisanja i poboljšanje nutritivne vrijednosti hrane, proizvodnja proteina, vitamina, aminokiselina, organskih kiselina, proizvodnja kvalitetne i zdravstveno i ekološki bezbjedne ambalaže. Biotehnologija se primjenjuje za proizvodnju velikog broja proizvoda prehrambene, hemijske i farmaceutske industrije, kao što su pekarski i stočni kvasac, pivo, hleb, vino, sir, jogurt, sokovi, konzervisano voće i povrće, proizvodi od mesa, alkohol, organske kiseline, rastvarači, vitamini, enzimi, aminokiseline, polisaharidi,

površinski aktivne materije, biopesticidi, biogoriva, antibiotici, probiotici, vakcine, lijekovi i razna druga farmaceutska i dijagnostička sredstva. Neki od humanih proteina koji su dobijeni uz pomoć molekularne biotehnologije, odnosno transgenih mikroorganizama su insulin, hormon rasta, interferoni, interleukini, serum albumin itd. Mikroorganizmi koji se koriste u biotehnološkim procesima su mikroalge, plijesni, kvasci, bakterije. Mikroalge i cijanobakterije se veoma brzo razmnožavaju i mogu da rastu u prilično jednostavnim uslovima u prisustvu sunčeve svjetlosti. Zato predstavljaju moćan mehanizam za proizvodnju organske materije i značajne su u biotehnologiji. Neki biohemijski putevi kojima mikroorganizmi stvaraju korisne metaboličke proizvode su jednostavni (npr. stvaranje sirćetne kiseline), a neki složeni - (npr. proizvodnja antibiotika). Mikroorganizmi mogu da stvaraju primarne i sekundarne proizvode metabolizma. Primarni metaboliti su oni koje mikroorganizmi proizvode tokom svoje eksponencijalne faze rasta i koriste im za rast. Sekundarni metaboliti su oni koje mikroorganizmi proizvode u stacionarnoj fazi rasta – tj. kada je njihov rast skoro zaustavljen i oni nemaju značaja za rast mikroorganizama. Jedan od proizvoda primarnog metabolizma je etanol koji nastaje razgradnjom šećera od strane kvasaca i nekih bakterija. Etanol predstavlja izvor energije koja je ovim mikroorganizmima potrebna za rast – dakle primarni metaboliti se stvaraju tokom faze rasta mikroorganizama. Sekundarni metaboliti nisu neophodni za rast i razmnožavanje mikroorganizama i njihovo stvaranje značajno zavisi od uslova u kojima mikroorganizam raste (sastav podloge za kultivaciju i dr.). Neadekvatni uslovi mogu da podstaknu, ali mogu i da inhibiraju stvaranje sekundarnih metabolita. Sekundarne metabolite mikroorganizmi mogu da proizvode u većim količinama, za razliku od primarnih - čija je proizvodnja direktno zavisna od potrebe mikroorganizama za energijom. Osim u stacionarnoj fazi, sekundarni metaboliti mogu da se stvaraju i tokom procesa sporulacije plijesni i bakterija. Tipični produkti sekundarnog metabolizma su antibiotici. Industrijski procesi se odvijaju u bioreaktorima - fermentorima. U cilju utvrđivanja optimalnih uslova, proizvodnja nekog mikrobiološkog proizvoda se prvo vrši u laboratorijskim bioreaktorima ili Erlenmajerovim bocama - u manjim količinama, a zatim u industrijskim uslovima. Uslovi za rast mikroorganizama koji se prate su sastav podloge za kultivaciju, temperatura, prisustvo vazduha, pH, osmotski pritisak, aktivnost vode i dr. Biokonverzija nedeficitnih obnovljivih biljnih sirovina. Mikroorganizmi mogu da vrše biokonverziju – tj. transformaciju biljnih ostataka u hranu i energiju. Ovim se postiže i sprečavanje zagađenja životne sredine organskim otpadom. Tako na primjer, mikroorganizmi mogu da vrše biokonverziju celuloze u etanol, koji može da se koristi kao izvor energije (biogorivo).

Mikrobiološke transformacije organskih jedinjenja

Biotransformacija - mikrobiološka transformacija predstavlja transformaciju određenih jedinjenja u strukturno srodne proizvode od strane mikroorganizama. Pri ovim procesima ne dolazi do potpunog razlaganja supstrata, već do manjih njegovih promjena, koje često dovode do stvaranja proizvoda koji ima korisno svojstvo. Postoji mnogo procesa biotransformacija, kao što su hidrosiliranje, hidroliza, metilovanje, kondenzacija, oksidacija, dekarboksilacija, esterifikacija, demetilacija, cijepanje C-C veze, hidriranje, aciliranje, dehidriranje, fosforilacija, redukcija, deaminacija, epimerizacija, halogenizacija i dr. Još uvijek nije jasno koji je smisao biotransformacija. Materija koja se transformiše može da pređe iz manje toksične u toksičniju supstancu. Na primjer, to je slučaj kod transformacije fenolnih jedinjenja u hinone, metilovanja

elementarne žive, stvaranja epoksida iz alkena i dr. Neki od industrijskih proizvoda biotransformacije su L-fenilalanin koji nastaje biotransformacijom D fenilalanina, L glutaminska kiselina koja nastaje iz D, L-piroglutaminske kiseline, 2-ketoglukonska kiselina koja nastaje iz glukoze, fumarna kiselina koja nastaje iz jabučne kiseline, fruktoza koja nastaje iz sorbita, glukonska kiselina koja nastaje iz glukoze, propionska kiselina koja nastaje iz propanola, sirćetna kiselina koja nastaje iz etanola, dihidroksiaceton koji nastaje iz glicerina, D-fruktoza koja nastaje iz manita, aceton koji nastaje iz 2,3 butandiola, L-sorboza koja nastaje iz D-sorbita, acetilmetilkarbinol koji nastaje iz 2,3 butilenglikola, 11 α -hidroksiprogesteron iz kojeg nastaje progesteron. Metode biotransformacije se primjenjuju i u proizvodnji steroidnih hormona, polusintetičkih antibiotika i dr. Biotransformacije su značajne i u modifikaciji organskih materija koje zagađuju životnu sredinu, kao što su hlorirani pesticidi, piridinska jedinjenja i dr. Modifikacijama se može postići detoksikacija ovih jedinjenja. Oko 50% ugljenmonoksida (CO) se uklanja mikrobiološkom oksidacijom u ugljendioksid (CO₂). Bakterije koje se koriste za ekstrakciju metala su hemolitotrofi - *Thiobacillus ferrooxidans* se najčešće koristi u te svrhe. Mikroorganizmi vrše i apsorpciju metala iz otpadnih voda i tako ih izdvajaju i nakupljaju u svojim ćelijama. To je vrlo značajno za prečišćavanje otpadnih voda. Apsorpciju i nakupljanje (akumulaciju) metala iz otpadnih voda mikroorganizmi postižu na nekoliko načina: adsorpcijom metalnih jona za površinu svoje ćelije, apsorpcijom unutar ćelije (intracelularnom apsorpcijom) i biotransformacijom metala. *Saccharomyces cerevisiae* i *Rhizopus arrhizus* imaju sposobnost da adsorbuju na površini svojih ćelija uran iz otpadnih voda, dok *Pseudomonas aeruginosa* vrši apsorpciju urana unutar svoje ćelije. Genetičkim inženjeringom mogu da se stvore sojevi koji imaju bolju sposobnost akumulacije metala. Na tome su bazirane mnoge metode za prečišćavanje otpadnih voda od toksičnih metala i radioaktivnih materija.

Proizvodnja biomase mikroorganizama

U zavisnosti od namjene, mogu se proizvoditi dva tipa biomase mikroorganizama: biomasa kao izvor bjelančevina i enzimski aktivna biomasa. Biomasa kao izvor bjelančevina se sastoji od osušenih i inaktivisanih ćelija algi, kvasaca ili plijesni, a namijenjena je ishrani životinja, ali i ishrani ljudi (*single cell protein* – SCP). Suvu masu biomase čini 45-65% proteina. Ovako proizvedenu biomasu karakteriše hranljivost, jestivost, dobra svarljivost i ekonomičnost. Važan faktor ekonomičnosti je sposobnost mikroorganizama da koriste jeftine sirovine. Oni mogu koristiti sve ugljenohidratane otpatke iz industrije i poljoprivrede. Najjeftinija sirovina je komina grožđa, dok je najskuplja metanol. Mogu koristiti isupstrate kao što su melasa, melasna komina, surutka, skrob, drvni hidrolizati, celuloza, sulfitna tečnost i dr. Melasa je sporedni proizvod proizvodnje šećera iz šećerne repe i šećerne trske. Sulfitna tečnost predstavlja otpad iz industrije celuloze i papira. Celuloza je glavni sastojak industrijskog otpada drvne industrije i poljoprivrede. Celuloza je polimer glukoze, koji je teško rastvorljiv u vodi. Nemaju svi mikroorganizmi sposobnost da razlažu celulozu do fermentabilnih ugljenih hidrata, jer nemaju enzim celulazu. Najveću sposobnost sinteze celulaza imaju plijesni roda *Trichoderma*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium moniliforme*, *Verticillium spp.*, termofilne celulozne bakterije (*Bacillus spp.*, *Brevibacillus spp.*), aktinomicete (rodovi *Actinomucor*, *Streptomyces* i dr.), bakterije roda *Sporocytophaga*, *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Cellovibrio*. Metan je najjeftinija sirovina za

proizvodnju mikrobne biomase. On je najvažniji sastavni dio prirodnog gasa i nafte. Osim metana, metanotrofne bakterije mogu da koriste metanol, formamid, formaldehid, ugljenmonoksid, dimetililetar, dimetilamin, trimetilamin. Obligatne metanotrofne bakterije su *Methylobacter*, *Methylococcus*, *Methylomonas* i dr. Pored njih, metan mogu da koriste i bakterije iz rodova *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*. Metanol mogu da iskorišćavaju i kvasci rodova *Candida*, *Hansenula*, *Torulopsis*, plijesni iz rodova *Trichoderma*, *Penicillium* i dr. Etanol je dobar supstrat za gajenje kvasaca iz rodova *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Mycoderma*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* i bakterije iz rodova *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Hyphomicrobium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*. Ugljendioksid je izvor ugljenika za proizvodnju biomase algi. Neke alge imaju visok sadržaj bjelančevina i odavno se koriste kao hrana. Na industrijski način najviše se kultivisu zelene mikroalge roda *Chlorella* i cijanobakterije iz roda *Spirulina*. *Spirulina* nije toksična, ima prijatnu aromu, sadrži do 70% proteina, dosta mikroelemenata i vitamina B12. Surutka je dobar supstrat za mliječne kvasce *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces lactis* i *Torula cremoris*, jer razlažu laktozu. Kvasci se koriste u dijetetske svrhe, kao dodatak povrću i sosevima, hrani za sportiste. Pri izboru mikroorganizama vodi se računa o prinosu biomase, gustini ćelija, odnosa sa supstratom, stabilnosti mikroorganizma, otpornosti na infekciju. Morfologija ćelija mikroorganizama utiče na proces odvajanja biomase od fermentisane podloge. Biomasa mikroorganizama je bogata lizinom, ali joj nedostaju aminokiseline koje sadrže sumpor – po tome je slična bjelančevinama soje. Najviše se koriste kvasci, jer imaju veliku brzinu rasta i otporni su na kiselu sredinu, a životinje ih dobro usvajaju kao izvor bjelančevina i vitamina. Najviše se koriste kvasci iz rodova *Candida* i *Saccharomyces*. Kvasci se sakupljaju, centrifuguju, ispiraju i suše. S druge strane, bakterije su metabolički sposobnije, jer mogu da koriste metan i molekularni kiseonik i manje su zahtjevne u odnosu na faktore rasta, a njihova biomasa sadrži više aminokiselina sa sumporom. Zato se bakterije koriste za proizvodnju biomase ako se kao supstrat koristi metanol. Najviši prinos biomase se ostvaruje pri gotovo maksimalnoj brzini rasta. Brzina rasta mikroorganizama pri kontinualnoj fermentaciji u hemostatima se može kontrolisati.

Proizvodnja enzimski aktivne biomase mikroorganizama

Enzimski aktivna biomasa se najčešće proizvodi od živih ćelija pekarskog kvasca koji se koristi za fermentaciju tijesta, od kvržičnih bakterija koje se koriste za podizanje nivoa azotifikacije u zemljištu, od bakterija koje se koriste kao bioinsekticidi i dr.

Proizvodnja enzima

Enzimi se dobijaju iz mikroorganizama, biljaka, životinjskih organa. Više od polovine proizvodnje enzima se zasniva na primjeni mikroorganizama. Zbog upotrebe jeftinih supstrata i visokog potencijala mikroorganizama za rast, njihovom primjenom proizvodnja enzima je ekonomičnija. Enzimi mikroorganizama se koriste za sintezu ili razlaganje različitih jedinjenja. Mikroorganizmi sintetišu neke enzime koje ne mogu da sintetišu drugi organizmi, kao što su tanaza, celulaza, keratinaza i dr. Neki mikroorganizmi mogu da rastu na 87 °C pa čak na 350 °C. Ovi mikroorganizmi stvaraju termostabilne enzime koji imaju značajnu primjenu u biotehnologiji. U

biotehnologiji se uglavnom primjenjuju ekstracelularni enzimi mikroorganizama – enzimi koje mikroorganizmi izlučuju van ćelije. U industriji se najviše koriste hidrolitički enzimi koji razlažu škrob, celulozu, bjelančevine i dr. Enzimi koji razlažu škrob – amilolizni enzimi (*amilaze*) dijele se na α -1,4-glukanaze i α -1,6 glukanaze. α - amilaze razlažu škrob do redukujućih šećera. Ovi enzimi cijepaju molecule amiloze i amilopektina u oligomere koji se sastoje od 7-10 glukočnih ostataka. U sljedećoj fazi koja se još naziva i faza saharifikacije, aminoglukozidaza razlaže oligomere do čiste glukoze. Amilaze stvaraju bakterije iz rodova *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* (*Pseudomonas saccharophila*), plijesni *Aspergillus oryzae* i dr. Za industrijsku proizvodnju α -amilaze najviše se koristi *Bacillus subtilis*. α -amilaze ovog mikroorganizma, kao i *Bacillus stearothermophilus* su termostabilne. *Aminoglukozidaza* (*glukoamilaza*) je jedan od najvažnijih industrijskih enzima. Najviše ga imaju plijesni koje razlažu škrob, kao što su *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Endomyces*, zatim bakterije kao što su *Aerobacter* i *Clostridium*. Za industrijsku proizvodnju se primjenjuje *Aspergillus niger*. Amilaze se primjenjuju u pivarstvu za proizvodnju slada, u pekarstvu za poboljšanje strukture, boje, mirisa, ukusa hleba i dr. Uz primjenu tri mikrobiološka enzima α -amilaze, glukoamilaze I glukoizoizomeraze iz skroba se može proizvesti glukozo-fruktozni sirup. Slatkoća glukoze je 70, a fruktoze 115-130, pa se u cilju proizvodnje ovog sirupa dio glukoze (dobijene razlaganjem skroba) uz pomoć enzima glukoizoizomeraze transformiše u fruktozu. *Glukoamilaza* se najviše koristi u proizvodnji biljnog mlijeka, alkohola, likera, pirinčanog vina, antibiotika i dr. *Celulaze* se danas najviše koriste za poboljšanje konzistencije i ukusa povrća slabijeg kvaliteta i obradu organskog i komunalnog otpada. *Pektinaze* se primjenjuju u proizvodnji sokova u cilju bolje ekstrakcije sokova iz jagoda i drugog voća. *Invertaza* se primjenjuje u proizvodnji čokolade punjene mekim filom. Tokom čuvanja čokolade, invertaza cijepa saharozu na glukozu i fruktozu i fil u čokoladi postaje tečan kao sirup. *Laktaza* se koristi za dobijanje dijetetskog mlijeka bez laktoze. *Proteinaze* predstavljaju glavni dio ukupne proizvodnje enzima. *Bakterijske proteaze* se više koriste u proizvodnji deterdženata, a *proteaze plijesni* u prehrambenoj industriji. Bakterijske proteaze se dodaju deterdžentima kako bi se uz pomoć njih uklonile bjelančevinske materije porijeklom od krvi, mlijeka, jaja i dr. Mikrobne proteaze takođe hidrolizuju bjelančevine mesa na aminokiseline i peptide. Tako se može povećati svarljivost i pristupačnost mesa digestivnim enzimima. *Proteaze plijesni* se dijele na pepsinske i reninske. Za proizvodnju sira posebno su značajne reninske proteaze. Pomoću enzima *glukoooksidaze* može se ukloniti preostali kiseonik iz piva, vina, voćnih sokova, majoneza. *Dekstranaza* učestvuje u razlaganju dekstrana i tako sprečava pojavu karijesa. Od svih pomenutih enzima, najveću primjenu imaju *glukoizoizomeraza* za dobijanje glukozo-fruktoznog sirupa, *proteaza* za proizvodnju deterdženata I *reninska proteaza* za proizvodnju sira. Takođe su značajni enzimi koji ulaze u sastav preparata koji se dodaju hrani za životinje. U njihov sastav ulaze amilaze, proteaze, pektinaze, celulaza, koje povećavaju iskoristivost hrane. *Mutanaza* je enzim koji razlaže ekstracelularni polisaharid mutan - koji je sastavni dio zubnog plaka. Zato je ovaj enzim našao primjenu u proizvodnji pasta za zube. Potrebe za proizvodnjom enzima se stalno povećavaju. Za dobijanje enzimskih preparata mikroorganizmi mogu da se kultiviraju na dva načina: površinski - uz primjenu čvrstih podloga i submerzno (u dubinu tečnih podloga). Ekstrakcija enzima iz čvrste podloge se vrši uz pomoć vode. Voda može sadržati pufer, soli i druge materije koje imaju ulogu da olakšaju rastvaranje enzima i povećaju njihovu stabilnost u rastvoru. Submerzna kultivacija se vrši u tečnim podlogama. Njoj se dodaju hemijske materije i flokulanti koji će olakšati taloženje enzima. Rastvor u kojem se nalaze enzimi se zatim koncentriše pod

vakuomom ili se izdvaja postupkom ultrafiltracije. Ukoliko je potrebno, vrši se prečišćavanje enzima od prisustva bjelančevina taloženjem uz pomoć soli, kao što su amonijum sulfat, natrijum sulfat ili organskim rastvaračima kao što su etanol i aceton. Organski rastvarači koji se koriste u ove svrhe se izdvajaju destilacijom i mogu ponovo da se koriste. Da bi mogli da se koriste više puta I da bi bili stabilniji, proizvedeni enzimi mogu da se imobilizuju. Enzimi mogu da se imobilizuju adsorpcijom na nerastvorljivom nosaču (hidroksili metala), vezivanjem za nerastvorljive vodopropusne polimere (skrob, kolagen, silikagel), unošenjem u polupropustljivu membranu (npr. u šuplja vlakna celuloznog acetata). Tako se na primjer proizvodi imobilizovana fumaraza koja se koristi za dobijanje jabučne kiseline iz fumarne. Najvažniji industrijski enzimi i mikroorganizmi koji ih proizvode su prikazani u tabeli 1:

Tabela 1: Najvažniji industrijski enzimi i mikroorganizmi koji ih proizvode (Norris, Richmond, 1981, Djukić, Jemcev, 2004):

Enzim	Djelovanje	Mikroorganizam koji ga stvara
α -amilaza	Razlaže skrob do oligomera	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>
β -glukanaza	Razlaže beta glukane (polisaharide koji se sastoje od nekoliko glukoznih jedinica)	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Glukoizomeraza	Transformiše D glukozu u D fruktozu	<i>Bacillus coagulans</i> , <i>Arthrobacter spp.</i> , <i>Actinoplanes missouriensis</i> , <i>Streptomyces spp.</i>
Glukoooksidaza	Oksidiše glukozu u glukonsku kiselinu	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i>
Celulaza	Cijepa β -1-4 glikozidne veze u celulozi	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichoderma reesei</i> , (<i>T. viridae</i>), <i>Ruminococcus albus</i> , <i>Cellulomonas</i> , <i>Aeromonas</i> , termofilni anaerobi <i>Clostridium thermocellum</i> , <i>Thermoanaerobacter brockii</i> , aktinomicete <i>Streptomyces thermodiasticus</i> , <i>Thermonospora curvata</i> , <i>Thermonospora fusca</i>
Dekstranaza	Razlaže dekstran – razgranati glukan	<i>Penicillium spp.</i> <i>Streptomyces spp.</i>

Glukoamilaza (amiloglukozidaza)	Hidrolizuje skrob do glukoze	<i>Aspergillus niger, Endomyces fibuliger, Rhizopus spp.</i>
Invertaza (saharaza, β fruktozidaza)	Razlaže saharozu sa desnim okretanjem u glukožu i fruktozu sa lijevim okretanjem – zato se zove invertaza	<i>Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces carlsbergensis</i>
Laktaza (β) galaktozidaza	Cijepa mliječni šećer laktozu na galaktozu i glukožu	<i>Aspergillus niger, Kluyveromyces fragilis, Kluyveromyces lactis, Saccharomyces fragilis, Zygosaccharomyces lactis, Candida pseudotropicalis</i>
Lipaza	Razlaže masti	<i>Aspergillus spp., Candida cylindraceae, Mucor miehei, Mucor spp., Rhizopus spp., Geotrichum candidum</i>
Mutanaza	Razlaže ekstracelularni polisaharid mutan - koji je sastavni dio zubnog plaka	<i>Trichoderma harzianum</i>
Pektinaza	Razlažu pektin	<i>Aspergillus spp., Rhizopus spp., Sclerotinia libertiana, Caniiothirium diplodiella</i>
Neutralna proteaza	Ekstracelularni enzimi	<i>Aspergillus spp., Aspergillus oryzae, Bacillus amyloliquefaciens, Rhizopus spp.</i>
Ksilanaza	Razlaže hemicelulozu (polisaharid koji se sastoji od ksiloze, galaktoze, manoze, glukoze I arabinoze)	<i>Aspergillus niger, Fusarium avenaceum</i>
Ligninaza	Razlaže lignin (fenolni polimer sa ugljenim hidratima)	<i>Plijesni aspergillus, Fusarium, bakterije Bacillus, Pseudomonas, Streptomyces</i>

Alkalna proteaza		<i>Bacillus licheniformis, B. thermoproteolyticus, aklatofilne vrste Bacillus</i>
Reninske protease	Razgrađuju protein mlijeka	<i>Endothia parasitica, Mucor miehei, Mucor pussilus, Trametes sanguinea</i>
Pepsinske protease (proteinaze)	Razlažu proteine	<i>Aspergillus, Penicillium, Rhizopus</i>

Proizvodnja aminokiselina

Od 20 poznatih aminokiselina, za čovjeka su nezamjenjive i najznačajnije: izoleucin, leucin, lizin, metionin, treonin, triptofan, valin i fenilalanin. Ove aminokiseline su našle primjenu u prehrambenoj industriji kao dodaci hrani. Kao hranljivi dodaci najčešće se unose lizin i metionin, a za poboljšanje ukusa natrijum-glutamat i glicin. Unošenjem u stočnu hranu deficitarnih aminokiselina potrebno je unositi manje proteina životinjskog porijekla, jer se ostvaruje isti efekat na rast. Od aminokiselina koje imaju najveći značaj kao dodatak stočnoj hrani ima L-metionin. Dodaje se najčešće sojinom brašnu koje je deficitarno metioninom. Od aminokiselina se priprema vještački zaslađivač aspartam koji je 150 puta slađi od glukoze. Aminokiseline su našle primjenu i u medicini, za liječenje bolesti jetre (arginin, aspartat, glutamat). Takođe se koriste i u kozmetici. U cilju održavanja zdravlja kože i dlake dodaju se kremama i šamponima. Aminokiseline se mogu dobiti hidrolizom sirovina kao što su keratin, pileće bjelancevine, krv, prehrambeni kvasci, biljni materijal. Mikrobiološki načini podrazumijevaju dobijanje aminokiselina fermentacijom ili sintezom iz prekursora. Fermentacijom se najviše dobija glutaminska kiselina i lizin. U industriji se najčešće koriste korinebakterije, kao što je *Corynebacterium glutamicum*, brevibakterije kao što je *Brevibacterium flavum*, kao i sojevi *E. coli* napravljeni genetičkim inženjeringom. Nakon završetka fermentacije kultivaciona tečnost se isušuje, a za dobijanje visokoprečišćenih preparata aminokiseline se ekstrahuju iz podloge za fermentaciju, prečišćavaju pomoću jonoizmjenjivačkih smola i nakon toga se kristalizuju. Nakon metionina, lizin je druga po važnosti aminokiselina u proizvodnji stočne hrane. Prokarioti sintetišu lizin iz L –aspartata, preko L-diaminopimelata. L-serin mogu da sintetišu bakterije koje razlažu metanol. Dobar proizvođač L-serina je obligatni metilotrof *Hyphomicrobium spp.* koji može da sintetiše 25g/dm³ serina. Iz biosintetičkih prekursora se industrijski proizvode L-histidin, L-izoleucin, L-metionin, L-fenilalanin, L-serin, L-treonin, L-triptofan.

Proizvodnja saharoze i njenih zamjena – zaslađivača

Kaloričnost hrane se može smanjiti upotrebom slađih šećera umjesto saharoze, kao što je fruktoza ili upotrebom zamjena za šećer - vještačkih zaslađivača kao što je saharin. Fruktoza se može dobiti hidrolizom saharoze (na primjer limunskom kiselinom) ili fermentacijom I inverzijom pomoću enzima invertaze koja je porijeklom iz kvasca. Jedan od zaslađivača je aspartam čiji je molekul

građen od dvije aminokiseline – fenilalanina I asparaginske kiseline. Ove kiseline se mogu mikrobiološki sintetisati, a zatim povezati enzimom. Zasladiivači se mogu praviti i na bazi fruktoze i mogu zamijeniti saharozu. Proizvode ih mikroorganizmi koji imaju enzim fruktoziltransferazu (*Aspergillus, Fusarium, Aureobasidium*).

Primjena korisnih mikroorganizama u poljoprivredi

U biljnoj proizvodnji mikroorganizmi se najviše koriste za proizvodnju mikrobioloških đubriva i biopesticida. U stočarskoj proizvodnji se koriste u proizvodnji silaže i sjenaže, kao proteinski dodatak stočnoj hrani (kvasci i alge), kao zamjena za neke komponente stočne hrane, kao probiotici. Proizvodnjom biomase mikroorganizama se može nadoknaditi nedostatak bjelančevina u hrani, a enzimskom aktivnošću biomase moguće je smanjiti stepen zagađenosti životne sredine.

Proizvodnja mikrobioloških đubriva - biofertilizatora

Zbog sadržaja toksičnih materija, vještačka đubriva ispoljavaju štetan efekat na zdravlje ljudi i životnu sredinu. Zbog toga se proizvode biofertilizatori – mikrobiološka đubriva. Biofertilizatori su napravljeni od bakterija koje imaju koristan uticaj na rast biljaka. Čiste kulture mikroorganizma primjenjuju se za proizvodnju mikrobioloških đubriva, stimulatora rasta biljaka i preparata za zaštitu od bolesti i štetočina. Njihova primjena je ekonomski i ekološki opravdana. Oni se jednostavno nanose na površinu biljke, sjemena ili zemljišta. Svoje pozitivno dejstvo ispoljavaju na osnovu sposobnosti fiksacije atmosferskog azota, pretvaranja jedinjenja fosfora u oblike koji su pristupačni za biljku, sposobnosti razlaganja organske materije, izlučivanja antibiotskih i fungistatičkih supstanci, sposobnosti proizvodnje hormona i drugih supstanci koji su neophodne za razvoj biljaka. Sposobnost biološke fiksacije azota je utvrđena samo kod prokariota. Hormoni koje proizvode bakterije, kao što su auksini, citokinini, giberelini imaju analogno dejstvo kao biljni hormoni. Biofertilizatori mogu da poprave fizička svojstva zemljišta i njegovu plodnost. Njihovom upotrebom se smanjuje upotreba hemikalija u poljoprivrednoj proizvodnji. Proizvodnja mikrobiološkog đubriva se bazira na proizvodnji biomase sa velikim brojem aktivnih ćelija, koje su sposobne da se razmnožavaju i fiksiraju azot na sjemenu, korijenu i u zemljištu. Primjena mikrobioloških đubriva se bazira na selekciji i razmnožavanju najdjelotvornijih vrsta i sojeva mikroorganizama u laboratorijskim uslovima i njihovom vraćanju u prirodnu sredinu, tj. zemljište. Ovi mikroorganizmi u zemljištu vrše određene mikrobiološke procese i na taj način čine hraniva pristupačnim za biljku. Mikrobiološka đubriva treba da sadrže veliki broj aktivnih ćelija mikroorganizama, oko 10^9 cfu/ml. Za fiksaciju azota od strane mikroorganizama je odgovoran enzim nitrogenaza. Stvaranje i aktivnost ovog enzima inhibira prisustvo kiseonika. Nitrogenaza je utvrđena kod 25 rodova cijanobakterija – većine zelenih i svih purpurnih, kao i kod kvržičnih bakterija roda *Rhizobium*, rodova bakterija *Azotobacter*, *Azospirillum*, kod aktinomiceta. U proizvodnji bakterijskih preparata za azotofiksaciju najviše se koriste bakterije iz roda *Rhizobium*, zato što su najaktivniji azotofiksatori. Za potrebe proizvodnje mikrobiološkog đubriva bakterije roda *Rhizobium* se razmnožavaju u , dok se ne postigne broj od 10^9 ćelija/ml. Ove bakterije je prvi put izolovao naučnik Bejerink 1883.godine. To su gram negativne štapićaste bakterije. Bakterije roda *Azotobacter* osim što fiksiraju azot, stvaraju i hormonsku supstancu heteroauksin koja podstiče rast biljaka, vitamine B grupe i fungicidne supstance.

Proizvodnja bioinsekticida

Bioinsekticidi – mikrobnii insekticidi sadrže spore, vegetativne ćelije ili proizvode mikroorganizama koji imaju patogeno djelovanje na insekte. Insekti nanose velike štete u poljoprivredi i šumarstvu. Veliki broj plijesni i bakterija imaju smrtonosno dejstvo na štetne insekte i krpelje. Bioinsekticidi se prave od mikroorganizama koji se izoluju iz bolesnih insekata. Ovi preparati nemaju štetno dejstvo na čovjeka, životinje, korisne insekte i biljke. Do sada nije utvrđena rezistencija štetnih insekata na bioinsekticide. Najveći značaj u proizvodnji insekticida ima bakterija *Bacillus thuringiensis*, koja stvara toksine kao što je turingizin i dr. Ovaj mikroorganizam je patogen u prvom redu za insekte iz reda *Lepidoptera* (leptiri i moljci). Takođe se koristi *Bacillus sphaericus*, koji ima toksično dejstvo na larve velikog broja komaraca. Preparati se pripremaju od vegetativnih ćelija ovog mikroorganizma. Za ubijanje insekata se prave i preparati od entomopatogenih gljiva. Za razliku od bakterija gljive inficiraju insekte ne samo preko hrane, nego i preko kutikule, jer mogu da je razlože enzimima kao što su lipaze, proteaze, hitinaze. Nakon što prodru u organizam insekta, entomopatogene gljive stvaraju i toksine. Plijesni koje ne stvaraju jake toksine, izazivaju smrt insekata tako što ispune njegovo tijelo micelijumom. Deuteromiceta *Beauveria bassiana* napada preko 70 vrsta štetnih insekata. Preparat se pravi od konidiospora ove gljive. Virusni insekticidi se pripremaju od virusa izolovanih iz oboljelih i uginulih insekata. Virusi čine 1/3 do 1/2 svih patogenih mikroorganizama za insekte.

Primjena mikroorganizama u proizvodnji silaže i sjenaze

Proizvodnja silaže se bazira na metaboličkoj aktivnosti bakterija mliječne kiseline, koja dovodi do ukiseljavanja zelene biljne mase i sprečavanja razmnožavanja truležnih bakterija. Na taj način dolazi do konzervacije silaže. Proces siliranja se odvija u nekoliko faza. Mehaničkim pritiskom na biljnu masu se oslobađa tečnost iz biljnih tkiva, koja omogućava razvoj određenih mikroorganizama, od kojih neki stvaraju sirćetnu kiselinu. Ova kisela sredina je pogodna za razmnožavanje bakterija mliječne kiseline i drugih bakterija koje stvaraju mliječnu kiselinu. To dovodi do nakupljanja značajne količine mliječne kiseline, koja dostiže 1–1,5% sadržaja mase, a pH silaže pada na 4,2. Kisela sredina sprečava rast štetnih, truležnih mikroorganizama. Dobro silirana hrana može dugo da se čuva. U slučaju nepravilnog siliranja, bakterije buterne kiseline mogu da se razmnožavaju i razlažu preostale ugljene hidrate i mliječnu kiselinu. Takođe dovode do dezaminacije aminokiselina, što dovodi do stvaranja masnih kiselina, amonijaka i amina. Dodatkom kultura bakterija mliječne kiseline poboljšava se mikrobiološki sastav silaže, stvara se više mliječne kiseline, manje buterne, sirćetne kiseline i amonijaka, manji su gubici hranljivih materija i silaža je ukusnija. Njihovom primjenom smanjuje se stepen dezaminacije aminokiselina u silaži i razlaganje bjelančevina i tako se smanjuje gubitak suve materije. Najbolje se pokazala kultura homofermentativnih laktobacila - *Lactobacillus plantarum*. Pri razvoju homofermentativnih bakterija, u silaži se stvara značajno manja količina sirćetne kiseline nego pri rastu heterofermentativnih. Heterofermentativne bakterije mliječne kiseline nemaju povoljan uticaj na kvalitet silaže. Proizvodnjom sirćetne kiseline se gubi mnogo više suve materije

oslobađanjem ugljendioksida. Kulture bakterija mliječne kiseline imaju najveći efekat pri siliranju biljne mase koja se teško silira, divljih biljaka i biljaka koje su bogate proteinima. Odabrane kulture bakterija mliječne kiseline takođe poboljšavaju i kvalitet silaže napravljene od biljaka koje se lako siliraju (kukuruz i dr.). Usmjeravanje procesa siliranja hrane u pravcu homofermentativne mliječne fermentacije ima ključni značaj za dobijanje visokokvalitetne silaže. Obogaćivanjem biljne mase odabranim kulturama homofermentativnih bakterija mliječne kiseline one postaju dominantne grupe mikroorganizama u silaži i tako spriječavaju razmnožavanje štetnih mikroorganizama. Ove bakterije dovode do brzog nakupljanja mliječne kiseline i stvaranja manje količine isparljivih kiselina. Silaža ima visoku hranljivu vrijednost, jer su u njoj očuvane gotovo sve hranljive materije i vitamini. Ona utiče na bolje varenje hrane kod životinja, njihovu bolju produktivnost, kao i na bolji ukus silaže. Glavni zadatak tehnologije proizvodnje silaže je stvaranje uslova koji su neophodni za život bakterija mliječne kiseline i suzbijanje rasta štetnih mikroorganizama. Poznavanje dinamike rasta pojedinih vrsta mikroorganizama tokom siliranja, kao i faktora koji utiču na njihov rast je od ključnog značaja za uspjeh tehnologije proizvodnje silaže. Tok mikrobioloških procesa tokom siliranja određuje mnogo faktora, kao što su sastav biljne mase, sadržaj vode, vazduha, oksidoredukcioni potencijal, temperatura i dr. Od bakterija mliječne kiseline u prvim danima dominiraju koke (pediokoke, laktokoke, enterokoke, leukonostok) koje su porijeklom sa biljaka, a ubrzo počinje da raste i broj laktobacila (*Lactobacillus plantarum*, *L.casei*, *L. brevis*, *L. fermenti*). Laktobacili su prvih dva dana siliranja potisnuti kokoidnim oblicima bakterija mliječne kiseline, bez obzira koji je bio njihov početni broj u biljnoj masi. Laktokoke imaju veliki značaj u početnoj fazi siliranja, jer ne dozvoljavaju rast gram negativnih bakterija. U tom periodu se mogu razmnožavati i anaerobne bakterije iz roda *Clostridium* (*Clostridium butyricum*, *Cl. paraputrificum*, *Cl. sporogenes*, *Cl. bifermentans*) i drugi anaerobi. Ove bakterije imaju negativno dejstvo na proizvodnju silaže. Njihov rast inhibira nakupljanje mliječne kiseline i smanjenje količine vode u biljnom materijalu. Smatra se da se pri temperaturi od 25 °C dobija najveći prinos mliječne kiseline, a najmanji sirćetne. Međutim, silaža je boljeg kvaliteta ako se proizvodi na temperaturi 20 °C, nego na 24 °C i 32 °C, jer se na toj temperaturi suzbija rast bakterija buterne kiseline. Mliječna kiselina ima glavnu ulogu u konzervaciji silaže. Smatra se da važnu bakteriocidnu ulogu ima i nedisosovani dio mliječne kiseline. Treba uzeti u obzir i sposobnost bakterija mliječne kiseline da stvaraju bakteriocine. Silaža koja ima pH 4-4,2 je stabilna, a sa pH iznad 4,2 je nestabilna. Biljke treba da sadrže potrebnu količinu šećera da bi se odvijao proces stvaranja mliječne kiseline u količini koja će sniziti pH na 4-4,2. Dodavanjem melase za siliranje lucerke i drugih biljaka koje se teško siliraju pospješuje se rast bakterija mliječne kiseline. Vlažnost silaže od 70-75% je najbolja za rast bakterija mliječne kiseline. Nakon završetka anerobne fermentacije, u silažnom soku se nalazi oko 1% mliječne kiseline i 0,5% sirćetne kiseline, što znači da se odvijala i homo i heterofermentativna mliječna fermentacija. Da bi se spriječio rast aerobnih mikroorganizama, neophodno je zelenu masu jako sabiti u silotrenčevima ili silotornjevima, kako bi se uklonio vazduh. To povoljno djeluje na rast homofermentativnih mliječnokisleih bakterija i sprečavanje rasta drugih mikroorganizama, što se

dešava kako pri proizvodnji silaže, tako i pri proizvodnji sjenaže. **Sjenaža** se dobija fermentacijom biljne mase - prethodno usitnjene i prosušene do vlažnosti 55-65%. Konzervišuće materije u sjenaži su mliječna kiselina i ugljendioksid koji se stvara tokom disanja zelene mase, tako da se samo 15-30% biljne mase transformiše u mliječnu kiselinu. Prema tome, hranljiva vrijednost sjenaže je veća od hranljive vrijednosti silaže, jer 80% šećera ostaje nefermentisano.

Primjena mikroorganizama u zaštiti životne sredine

U zaštiti životne sredine mikroorganizmi se koriste za razlaganje tečnog i čvrstog otpada (proizvodnja komposta i biogasa), kao i u bioremedijaciji, tj. prečišćavanju - detoksikaciji zemljišta i vode.

Prečišćavanje otpadnih voda

Veoma značajan dio biotehnologije jeste prečišćavanje otpadnih voda i svih drugih vrsta otpada koji nastaju kao nus proizvodni poljoprivredne proizvodnje, industrije, domaćinstava i dr. Otpadne vode se ne smiju ispuštati u vodotokove bez prethodnog prečišćavanja. Metode za prečišćavanje vode se baziraju na primjeni zajednica mikroorganizama koje se jednim imenom zovu aktivni mulj. Ovi postupci prečišćavanja mogu da se odvijaju u aerobnim i anaerobnim uslovima. *Aerobni procesi* imaju veći značaj u prečišćavanju otpadnih voda. Prije djelovanja aktivnog mulja, iz otpadne vode se taloženjem, a zatim filtracijom odstranjuju krupne čestice i pijesak. Tokom prečišćavanja, voda je u kontaktu s vazduhom i aktivnim muljem oko 4-24h – što zavisi od vrste otpadnih voda, stepena njenog zagađenja i dr. Aktivni mulj se sastoji od zajednica flokuliranih (slijepljenih) bakterija i protozoa. U aktivnom mulju su utvrđene bakterije rodova *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Spirillum*, *Arthrobacter*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Sphaerotilus* i dr. One prije svega imaju sposobnost oksidacije i nitrifikacije. Nitrifikacione bakterije iz rodova *Nitrosomonas* i *Nitrobacter* vrše transformaciju amonijačnog azota u nitrite i nitrate. Protozoe se hrane bakterijama i dovode do smanjenja zamućenosti otpadne vode koja se prečišćava. Od oko 200 vrsta identifikovanih protozoa u mulju, najveći značaj imaju infuzorije (cilijate) rodova *Vorticella* i *Opercularia*. *Anaerobni procesi* prečišćavanja otpadnih voda se takođe koriste i imaju nekoliko prednosti u odnosu na aerobne. U toku anaerobnih procesa stvara se manje mulja - što smanjuje troškove njegove prerade, ne troši se energija koja je potrebna za miješanje u cilju aeracije otpadne vode i stvara se metan - koji može da se koristi kao gorivo. Međutim, anaerobni procesi nisu dovoljno proučeni, manje su stabilni i pouzdani, pa se rjeđe koriste u odnosu na aerobne. Osnovni nedostatak anaerobnih sistema je sporije odvijanje reakcije u odnosu na aerobne procese. Anaerobno prečišćavanje se vrši u metanskim fermentorima. Bakterije koje učestvuju u ovom procesu se dijele u tri grupe. Prva grupa su hidrolizne bakterije, tzv. acidogene (rodovi *Clostridium*, *Acetobacterium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* i dr.). One vrše početnu hidrolizu složenih supstrata do niskomolekulskih organskih kiselina i drugih malih molekula. Druga grupa su heteroacetogene bakterije (*Synthrobacter wolinii*, *Synthrophomonas wolfi*) koje stvaraju sirćetnu kiselinu i vodonik. Treća grupa su metanogene bakterije koje proizvode metan. Ovoj grupi pripadaju bakterije koje koriste vodonik (litotrofi), kao što su rodovi *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanococcus* i bakterije koje koriste sirćetnu kiselinu

(acetotrofi), kao što su bakterije koje pripadaju rodovima *Methanosarcina*, *Methanotrix* i dr. Aktivnošću pomenutih grupa mikroorganizama u metanskom fermentoru dolazi do smanjenja sadržaja organske materije u otpadnim vodama - uz istovremeno stvaranje biogasa. Biogas čine metan i ugljendioksid. Kao i kod aerobnih procesa, sadržaj toksičnih materija u otpadnoj vodi ne smije biti iznad određenih vrijednosti, kako bi mikroorganizmi mogli da se razmnožavaju. U metanskoj fermentaciji značajnu ulogu ima temperatura. Mezofilni mikroorganizmi rastu na 30-35 °C, a termofilni na 50-60 °C. Proces se brže odvija pri ovim većim temperaturama. Metanski fermentor mora da ima uređaje za izdvajanje biogasa i za zaštitu od požara. Primjenom metanogeneze u prečišćavanju organskog otpada (mulj, otpadne vode, otpad sa farmi i dr.) se, dakle, rešavaju ekološki problem, kao i problem nedostatka energije.

Prečišćavanje čvrstog otpada

Kada je u pitanju čvrsti otpad, najveći izazov za prečišćavanje su mulj koji nastaje nakon prečišćavanja otpadnih voda i komunalni otpad. Količina čvrstog otpada koja nastaje godišnje tokom prerade otpadnih voda se kreće od 10.000 do 4.500.000 tona. Mulj je izvor jona teških metala i patogenih mikroorganizama I zato je neophodno njegovo prečišćavanje. Prije prečišćavanja se vrši dehidratacija mulja, što se postiže postupcima taloženja i filtracije. Postupak prečišćavanja se vrši *aerobnim* ili *anaerobnim* postupkom. Nakon prerade mulj se najčešće spaljuje i odlaže na deponije. Fermentisani mulj je bogat azotom, fosforom, kalijumom i po tome ne zaostaje za stajnjakom. Zbog toga bi dao dobre rezultate kao organsko đubrivo. Međutim, ograničenje za njegovu primjenu u ove svrhe je opasnost od zagađenja zemljišta I biljaka jonima teških metala I patogenim mikroorganizmima. Ostali čvrsti otpad, koji neće biti prerađen se takođe odlaže na deponije. Na deponiju se, dakle, odlažu svi čvrsti ostaci otpada nakon njegove prerade, kao i neprerađeni otpad. Određene vrste otpada često nije ekonomski opravdano prerađivati i zato se odlaže neprerađen na deponijama. Prije skladištenja u kade deponije, poželjno je otpad usitniti i samljeti. U kadama deponije se otpad sabija specijalnim valjcima, kako bi se istisnuo vazduh. U početku, dok još ima kiseonika, u otpadu se razvijaju aerobni procesi pri kojima se razgrađuju složeni organski molekuli i raste temperatura do 80 °C. Ova temperatura ubija patogene mikroorganizme. Potrošnja kiseonika u procesima oksidacije i povećanje koncentracije ugljendioksida dovodi do stvaranja uslova za razvoj mikroaerofilnih, a zatim anaerobnih mikroorganizama. Proces hidrolize i fermentacije dovode do razlaganja bjelančevina, polisaharida, masti, nukleinskih kiselina, stvaranja vodonika i ugljendioksida, etanola, mliječne, ćilibarne i sirćetne kiseline. Nakon toga počinje metanogeneza, proces u kojem metanogene bakterije iz ugljendioksida i vodonika, sirćetne kiseline i trietilamina stvaraju metan. Karakteristični proizvodi razlaganja čvrstog otpada su voda i gas koji se odvođe cijevima iz tijela deponije. Izdvojena voda se odvodi i prečišćava u aerisanim bazenima. U ovim bazenima se za nekoliko mjeseci biološka potrošnja kiseonika može smanjiti za 70% i značajno smanjiti sadržaj amonijaka. Za ubrzanje aerobne razgradnje, koriste se i vodene biljke koje obogaćuju vodu u bazenima kiseonikom. Za prečišćavanje se mogu dodatno koristiti biofiltri I aktivni mulj. Stvoreni biogas se takođe odvodi sistemom kanala i može da se koristi kao izvor energije. Sastav čvrstog otpada utiče na sastav gasa i brzinu kojom se stvara. Predtretman otpada značajno utiče na brzinu stvaranja gasa. Na primjer, smanjenjem čestica otpada sa 250 na 10 mm dolazi do povećanja brzine stvaranja gasa za četiri puta. Povećanjem sadržaja vode sa 10 na 65% se utiče na povećanje brzine

procesa hidrolize i metanogeneze. Veća količina gasa (za 70%) se dobija prilikom povećanja temperature sa 22 na 33 °C. Gas se odvodi vertikalnim i vodoravnim perforiranim polietilenskim cijevima, pri čemu se mogu koristiti i pumpe. Metan se, osim za dobijanje energije, može koristiti i za proizvodnju metanola i drugih hemijskih proizvoda.

Proizvodnja komposta

Kompostiranje je process biološke oksidacije tokom kojeg dolazi do aerobnog razlaganja organskih materija od strane mikrororganizama, u uslovima povećane vlažnosti i temperature. U toku ovog procesa organska materija je izložena fizičkim i hemijskim transformacijama pri čemu se dobija humifikovani proizvod. Ovaj proizvod je koristan za poljoprivredu jer predstavlja organsko đubrivo i poboljšava strukturu zemljišta. Razmnožavanjem u organskom otpadu, koristeći ga kao izvor hranljivih materija, mikroorganizmi stvaraju ugljendioksid, vodu, organska jedinjenja i energiju. U kompostiranju učestvuje preko 2000 vrsta bakterija i preko 50 vrsta gljiva. Psihrofilima odgovara temperatura niža od 20 °C, mezofilima od 20 do 40°C, a termofilima preko 40 °C. U poslednjoj fazi kompostiranja dominiraju mezofilni mikroorganizmi. Broj bakterija u kompostu je vrlo veliki i kreće se od 10^8 - 10^9 ćelija/g. Tokom kompostiranja se postižu temperature od 55-60 °C koje ubijaju patogene mikroorganizme i parazite. Gljive imaju veoma važnu ulogu u razlaganju celuloze, ali i njih ubija temperatura veća od 55 °C. Organski otpad predstavlja smješu šećera, bjelančevina, masti, celuloze, hemiceluloze, lignina i neorganskih soli. Za process kompostiranja materijal se slaže u vidu dugačkih gomila, koje na presjeku imaju oblik trougla. Preporučuje se da njihova visina ne bude veća od 1,5 m, a širina 2,5 m, kako bi bila dobra aeracija. Radi aeracije, materijal u gomilama se tokom kompostiranja prevrće. Kompostiranje može da traje 4-20 dana, a najčešće osam dana. Tokom kompostiranja se gubi 30-40% organske materije u obliku CO₂ i H₂O. Prilikom unošenja u zemljište, kompost se razlaže –mineralizuje, pri čemu se oslobađaju hranljive materije za biljke (azot, fosfor, kalijum, mikroelementi). Za razliku od vještačkih đubriva, hranljive materije iz komposta se sporije razlažu, zbog čega kompost može da djeluje i tokom nekoliko godina.

Proizvodnja biogasa

Kao što sam naziv govori, biogas nastaje u biološkom procesu aktivnošću mikroorganizama. Biogas predstavlja mješavinu gasova koja se sastoji najviše od metana (50–75 vol%) i ugljendioksida (25–50 vol%). Osim toga, u biogasu se nalaze i male količine vodonika, vodonik-sulfida, amonijaka i drugih gasova. Ovaj proces – anaerobna fermentacija je široko rasprostranjen u prirodi i odvija se u močvarama, na dnu mora i okeana, u jamama za skladištenje tečnog stajnjaka, u buragu preživara. Pri tom procesu se organska masa pomoću velikog broja mikroorganizama gotovo u potpunosti konvertuje u biogas. Pored biogasa u tom procesu nastaje i određena količina toplote i nove biomase. Na sastav biogasa utiče sastav korišćenih supstrata, postupak fermentacije i dr. Tokom metanske fermentacije od strane metanogenih arheja (*Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanococcus* i dr.) se u biogas transformiše 30-50% organske materije. Proces proizvodnje biogasa se odvija u anaerobnim digestorima - fermentorima. Ukoliko se metanska fermentacija odvija na temperaturama 55-57 °C, postiže se i dezinfekcija supstrata. Temperatura 54-56 °C se smatra optimalnom za metanogenezu. Proizvodnjom biogasa se postižu

tri cilja: dobijanje biogasa koji predstavlja izvor energije, dobijanje organskog đubriva i zaštita životne sredine. Biogas može da se koristi za proizvodnju toplotne i električne energije. Za proizvodnju biogasa mogu da se koriste različiti organski supstrati, kao što su tečni i čvrsti stajnjak, organski otpad biljnog i životinjskog porijekla iz poljoprivredne proizvodnje, prehrambene industrije, organski dio komunalnog otpada i otpada iz ugostiteljstva itd.

Bioremedijacija životne sredine

Bioremedijacija je postupak primjene živih organizama u cilju detoksikacije životne sredine od teških metala, organskih jedinjenja (ugljovodonici nafte i dr.), radionuklida, eksploziva, pesticida, plastike i dr. Neki organizmi imaju sposobnost da razlažu i koriste ove materije kao izvor hranljivih materija i energije. Procesi bioremedijacije se i normalno svakodnevno odvijaju u prirodi i obuhvataju mikrobiološku detoksikaciju zemljišta, površinskih i podzemnih voda, vazduha, čvrstog, tečnog i gasovitog otpada od različitih toksičnih materija. U procesu bioremedijacije se razgrađuju i transformišu toksične materije u manje toksične ili neotrovne materije. Bioremedijaciju vrše kvasci iz rodova *Candida*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, plijesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, bakterije iz rodova *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter* i druge. Bioremedijacijom se postiže potpuna mineralizacija organskog zagađenja. Genetičkim inženjeringom se mogu stvoriti posebni organizmi za proces bioremedijacije. Upotreba autohtonih mikroorganizama je mnogo bezbjednija od upotrebe genetički modifikovanih mikroorganizama. Bioaugmentacija je postupak unošenja živih mikroorganizama u zemljište u cilju njegovog prečišćavanja. Pošto djelimičnom razgradnjom zagađujućih materija mogu nastati još toksičniji međuproizvodi, tome treba posvetiti veliku pažnju. Osnovni procesi bioremedijacije su oksidacija i redukcija i mogu se odvijati u aerobnim i anaerobnim uslovima. Kompostiranje je takođe vrsta bioremedijacije. Poseban problem predstavlja prečišćavanje zemljišta od organskih zagađujućih materija koje su nerastvorljive u vodi i koje imaju veliku gustinu. Glinovita zemljišta su slabo propusna za vodu i vazduh, lepljiva su i u prisustvu male količine vode i zato nisu pogodna za bioremedijaciju. Osim upotrebe mikroorganizama, za detoksikaciju zagađivača prisutnih u zemljištu se mogu primijeniti i biljke (fitoremedijacija). Naročiti problem za detoksikaciju predstavljaju ksenobiotici – štetne vještačke materije koje ne mogu da se uključe u ciklus ugljenika, azota, sumpora i vodonika. Oni se nakupljaju u životnoj sredini iz otpada i ostataka pesticida. Ksenobiotici dovode do pojave štetnih efekata na biljni i životinjski svijet. Biološka sudbina ksenobiotika može biti njegovo djelimično ili potpuno razlaganje (djelimična ili potpuna mineralizacija), nakupljanje ili polimerizacija. Jedinjenja koja ne može da transformiše nijedan mikroorganizam su sintetički polimeri i neki aromatični ugljovodonici. Neki od mikroorganizama u zemljištu koji vrše degradaciju nekih fungicida su iz rodova *Nocardia*, *Arthrobacter* i *Mycobacterium*. Nafta i njeni proizvodi su značajni zagađivači životne sredine. Prirodni način samoprečišćavanja zemljišta i voda je process koji može da traje i do nekoliko decenija. U biotransformaciji ugljovodonika nafte značajnu ulogu imaju mikroorganizmi koji mogu te materije da koriste kao jedine izvore ugljenika. Jedan od mikrobioloških preparata koji se dodaje zemljištu u cilju razgradnje, tj. oksidacije ugljovodonika nafte su bakterije roda *Pseudomonas*.

Primjena mikroorganizama u prehrambenoj industriji

U prehrambenoj industriji mikroorganizmi se koriste u proizvodnji alkoholnih pića, vina, piva, sokova, organskih kiselina, proteina, enzima, egzopolisaharida, proizvoda od mlijeka – sira, jogurta, kefira (starter kulture), proizvoda od mesa, konzerviranju voća i povrća, pekarstvu, proizvodnji probiotika.

Proizvodnja probiotika

Probiotici predstavljaju žive kulture mikroorganizama koji, kao dodatak hrani u crijevima podstiču metaboličke procese koji poboljšavaju svarljivost i resorpciju hrane. To su u prvom redu bakterije mliječne kiseline koje stvaraju mliječnu kiselinu, inhibiraju patogene bakterije, kao što su *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Yersinia*, *Brucella*, *Clostridium* i dr., sprečavaju pojavu infekcija i jačaju imuni sistem. Bakterije mliječne kiseline se vežu za receptore na ćelijama sluzokože crijeva i na taj način sprečavaju naseljavanje koliformnih bakterija, prije svega patogenih *E. coli*. Kako bi živi dospjeli do crijeva, probiotski mikroorganizmi treba da su otporni na djelovanje želudačne kiseline i žučnih kiselina. Probiotici se često dodaju hrani zajedno sa prebioticima, zbog njihovog sinergističkog djelovanja. Prebiotici su nesvarljivi sastojci hrane koji u digestivnom traktu stimuliraju rast i aktivnost poželjnih bakterija. Neki od prebiotika su manani i inulin. Manani predstavljaju polimere šećera manoze, koji, vezujući se sa patogenim bakterijama iste onemogućavaju da se vežu za sluzokožu crijeva. Korisni su i zbog toga što mogu biti hrana korisnim bakterijama. Prebiotici se vare tek kad dospiju u debelo crijevo gdje podliježu razgradnji od strane poželjnih bakterija. U dobijanju fermentisanih proizvoda od mlijeka bakterije mliječne kiseline imaju veoma važnu ulogu.

Proizvodnja fermentisanih proizvoda od mlijeka

Proizvodnja fermentisanih proizvoda od mlijeka (jogurt, kisjelo mlijeko, pavlaka, maslac, kajmak, sir) zasniva se na biohemijskoj aktivnosti bakterija mliječne kiseline. Ovi mikroorganizmi utiču na formiranje specifičnog ukusa i mirisa, boje, izgleda, konzistencije, svarljivost, rok upotrebe prehrambenih proizvoda itd. Pored mliječne kiseline za ukus i aromu mliječnih proizvoda važnu ulogu imaju i lako isparljivi proizvodi razgradnje citrata kao što su diacetil, acetaldehid, etanol, acetat, CO₂ i dr. Pored razgradnje mliječnog šećera, od velikog značaja je razlaganje bjelančevina u različita jedinjenja, koja proizvodima od mlijeka daju nove osobine. Takođe je važna razgradnja masti (djelimična, ili do slobodnih masnih kiselina i glicerola). Neke vrste bakterija mliječne kiseline imaju probiotska i terapijska svojstva. Ove bakterije se kao starter kulture dodaju pri proizvodnji proizvoda od mlijeka da pokrenu fermentaciju mlijeka. Postoje starter kulture za proizvodnju: kisjelog mlijeka i jogurta, kefira, kumisa i drugih fermentisanih napitaka, pavlake, maslaca, sireva. Svaka od ovih starter kultura sadrži jedan ili više sojeva jedne vrste mikroorganizama, zatim mješavinu dva ili više sojeva različitih vrsta. Starter kultura za proizvodnju kisjelog mlijeka i jogurta se sastoji od dvije vrste bakterija: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Proces fermentacije se kontroliše mjerenjem pH.

Nakon postizanja potrebne pH vrijednosti proizvoda, fermentacija se prekida naglim hlađenjem. Starter za proizvodnju kefira se sastoji od mješavine više vrsta mikroorganizama: *Lactobacillus caucasicus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Torulospora delbrueckii*, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Klyveromyces*. Njihove ćelije su slijepnjene u želatinoznu masu, koja ima izgled nabubrelih zrnaca (zato se ova starter kultura često naziva "kefirna zrna"). Starter za kisjelu pavlaku i maslac čine mezofilne bakterije mliječne kiseline: *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Lactococcus lactis ssp. cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*. Vrijednost pH fermentisane pavlake je oko 4,5. Kultura za proizvodnju kisjele pavlake se dodaje u količini od 2-4%. Starter kultura za proizvodnju acidofilnog mlijeka je *Lactobacillus acidophilus*. Za izradu tvrdih sireva tipa ementalškog sira upotrebljava se starter u kome se nalazi mješavina dvije vrste bakterija mliječne kiseline: *Lactobacillus helveticus* i *Streptococcus thermophilus*. Za druge vrste tvrdih i polutvrdih sireva, kod kojih se zagrijavanje gruša vrši na nižoj temperaturi, upotrebljavaju se kao starter čiste kulture: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus citrovorus*. Dodaje se 1-2% kulture na količinu mlijeka. Neke vrste plijesni iz roda *Penicillium* utiču na proces zrenja sireva i pojavu jedinjenja koja poboljšavaju ukus i miris sira. To su: *P. camemberti* - plava plijesan, koja se koristi za proizvodnju sira kamember i bri, *P. candidum* - bijela plijesan, koja se koristi za proizvodnju sira kamember, *P. roqueforti* - plavozelena plijesan, koristi se za proizvodnju plavih sireva - rokfor, stilton, gorgonzola i dr. Bakterije mliječne kiseline su korisne i u dobijanju konzervisane stočne hrane (silaža, sjenaža). Svako klimatsko podneblje ima i svoju specifičnu mikrofloru koja ima specifične metaboličke osobine. Zahvaljujući toj specifičnosti, u različitim klimatskim područjima se proizvode i različiti prehrambeni proizvodi (jogurt, sir, kobasice, kajmak i dr.).

Proizvodnja fermentisanih proizvoda od voća i povrća

Procesom fermentacije voća i povrća se postiže njihovo čuvanje – konzervacija. Procesom fermentacije najčešće se vrši konzervacija kupusa, krastavaca, maslina u rastvorima kuhinjske soli. Krajnja koncentracija soli u rastvoru fermentisanih krastavaca je 2%, a u rastvoru fermentisanih maslina 18%. U toku procesa fermentacije, dominantno rastu aerobne bakterije koje su bile prisutne na voću i povrću prije stavljanja u slani rastvor. Ubrzo počinju da se razmnožavaju bakterije mliječne kiseline i neki kvasci (*Saccharomyces* i *Torulopsis*), koji u procesu fermentacije stvaraju mliječnu i sirćetnu kiselinu. Zatim uslovi postaju sve povoljniji za kvasce, koji postaju dominantni. Na površini rasola (slanog rastvora) se u vidu navlake razmnožavaju kvasci rodova *Pichia*, *Debaromyces* i *Candida*. U cilju bolje kontrole procesa fermentacije, dodaju se odabrane kulture bakterija mliječne kiseline. U procesu fermentacije masline značajne su i dominantne bakterije roda *Lactobacillus* (*Lactobacillus mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*). Očuvanje namirnica procesom fermentacije se široko koristi. Njom se obezbjeđuje ne samo duži rok trajanja i mikrobiološka bezbjednost namirnice, već i njihova bolja svarljivost. Bakterije mliječne kiseline su zbog svojih jedinstvenih metaboličkih

karakteristika uključene u mnoge procese fermentacije mlijeka, mesa, žitarica i povrća. Upotreba starter kulture napravljene od *Lactobacillus pentosus*, *Levilactobacillus brevis* i *Lentilactobacillus buchneri* dovode do mikrobne stabilnosti kiselih krastavaca.

Proizvodnja fermentisanih proizvoda od mesa

Proizvodnja suvih fermentisanih kobasica najčešće se zasniva na tradicionalnim načinima proizvodnje. Međutim, u posljednje vrijeme se ove kobasice sve više proizvode i na industrijski način, što zahtijeva standardizaciju – ujednačenost kvaliteta proizvoda i smanjeni stepen zdravstvenih rizika njihove proizvodnje. Iz tih razloga se u proizvodnji fermentisanih kobasica koriste odabrane starter kulture. Bakterije koje se koriste kao starter kulture prisutne su u mesu i proizvodima od mesa i kao prirodna, autohtona mikroflora. Sremska kobasica je tipični predstavnik fermentisanih kobasica. Najčešće izolovani autohtoni sojevi bakterija mliječne kiseline iz sremske kobasice su: *Lactobacillus delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Leuconostoc mesenteroides ssp. mesenteroides*. U sastav starter kultura za ove proizvode ulaze bakterije mliječne kiseline iz rodova *Lactobacillus* (*Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactici*), kao i iz rodova *Micrococcus* (*Micrococcus varians*), *Staphylococcus* (*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*). Laktobacili i mikrokoke su najdjelotvornije starter kulture za proizvodnju fermentisanih kobasica. Ovi mikroorganizmi imaju specifične metaboličke osobine, koje imaju značajnu ulogu u sprečavanju rasta patogenih bakterija kao što su *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* i dr., kao i u stvaranju specifičnih organoleptičkih osobina fermentisanih kobasica. Bakterije mliječne kiseline proizvode antimikrobne supstance, aromatična jedinjenja i vitamine i mogu imati i probiotska svojstva. Ove osobine bakterija mliječne kiseline su od velikog značaja pri proizvodnji fermentisanih proizvoda. Djelovanjem ovih mikroorganizama se razlažu ugljeni hidrati prvenstveno do mliječne kiseline, što dovodi do spuštanja pH vrijednosti do 4,9 (najviše do 5,2). Mikrobiološka bezbjednost tradicionalnih fermentisanih kobasica u prvom redu zavisi od niske aw vrijednosti i niske pH vrijednosti. Utvrđeno je da je pH vrijednost niža u fermentisanim kobasicama šireg dijametra. Ovo se objašnjava sporijim spuštanjem aw vrijednosti u ovim kobasicama, što odgovara rastu bakterija mliječne kiseline. Osim starter kultura, fermentisanim proizvodima od mesa se uspješno dodaju i probiotske kulture, budući da se ovi proizvodi termički ne obrađuju.

Proizvodnja vina

Pretvaranje soka od grožđa - tzv. šire u vino je složen biohemijski proces koji obuhvata alkoholnu fermentaciju i proizvodnju velikog broja različitih metabolita. Tokom razmnožavanja, kvasci koriste šećere i druge komponente soka od grožđa za rast, pretvarajući ih u etanol, ugljendioksid i druge metabolite koji utiču na hemijski sastav i senzorna svojstva vina. Površina zrna grožđa je naseljena velikim brojem različitih vrsta kvasaca. U grožđu i vinu identifikovano je preko sto vrsta kvasaca čiji je uticaj na vinifikaciju različit. Ranije se vino proizvodilo spontanom

fermentacijom od strane ove prirodne mikroflore, koja se nalazi na površini zrna grožđa. Međutim, da bi se dobilo vino dobrog i ujednačenog kvaliteta i spriječio razvoj divljih kvasaca, za proizvodnju vina se koriste odabrane kulture vinskih kvasaca. Glavni vinski kvasci koji proizvode najviše vinskog alkohola i pri tome su tolerantne na njega su vrste iz roda *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus*). Iz roda *Saccharomyces* značajne su i vrste *S. oviformis*, *S. chevalieri* i dr. Veliki broj divljih kvasaca koji učestvuju u prvoj fazi fermentacije biva ubijen djelovanjem etanola, koga najviše stvara kvasac *S. cerevisiae*. Optimalna temperatura za fermentaciju je 7-14 °C. Nakon završetka procesa fermentacije, vino se filtrira i razliva u boce. Dobar vinski kvasac treba da se brzo razmnožava, da ima dobru sposobnost fermentacije, da je otporan na niske i visoke temperature i na prisustvo većeg sadržaja sumpordioksida, da stvaraju veći procenat alkohola u vinu, da stvaraju što više glicerina, a što manje isparljivih kiselina, da se brzo talože po završetku vrenja itd. Posljednjih godina se rade istraživanja fermentacije sa miješanim inokulumima kvasaca da bi se poboljšale organoleptičke osobine vina i da bi se proizvela vina sa nižim sadržajem alkohola. Miješane kulture se obično prave od *S. cerevisiae* i drugih vrsta kvasaca koji su takođe izolovani iz grožđa i vina, a koji pripadaju rodovima *Candida*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Torulaspora* i dr.

Proizvodnja piva

Za proizvodnju piva se koristi pivski kvasac koji pivu daje željeni ukus, boju i sadržaj alkohola. Pivski kvasci se dijele na dvije glavne grupe, pivski kvasci gornjeg vrenja i kvasci donjeg vrenja (lager sojevi). Za fermentaciju kvascima donjeg vrenja se koristi niža temperatura, 8-12 °C i zato ta fermentacija traje duže (oko 2 sedmice), dok se fermentacija gornjeg vrenja odvija na višim temperaturama 18-22 °C i traje (4-6 dana). Kvasci donjeg vrenja se tokom fermentacije talože na dno fermentora, dok se kvasci gornjeg vrenja ne talože. Kvasci i gornjeg i donjeg vrenja pripadaju rodu *Saccharomyces* (vrsta kvasca donjeg vrenja je psihrotrofni kvasac *Saccharomyces pasterianus* (sinonim *Saccharomyces carlsbergensis*), a gornjeg vrenja *Saccharomyces cerevisiae*). *S. eubayanus* je takođe značajna vrsta, psihrotolerantna, otkrivena je u Argentini 2011.g. i ima 99% genetske sličnosti sa *S. pastorianus*. Isparljiva aromatična jedinjenja, posebno viši alkoholi i estri, direktno utiču na kvalitet piva. Ova jedinjenja koje proizvode kvasci tokom fermentacije daju karakteristike voćne i cvjetne arome piva. Aromatičnost alkoholnih pića proizvedenih spontanom fermentacijom pripisuje se prisustvu različitih vrsta kvasca. Ti kvasci pripadaju rodovima *Saccharomyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Issatchenkia*, *Kazachstania*, *Lachancea*, *Pichia*, *Schizosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Torulaspora*, *Kluyveromyces*, *Wickerhamomyces*, *Williopsis* i *Zygosaccharomyces*. *Kluyveromyces marxianus*, na primjer, proizvodi ukus nalik ruži. Kvasac *Torulaspora delbrueckii* koji je izolovan i iz radne sredine za proizvodnju piva, proizvodi voćna aromatična jedinjenja. Najuspješniji ne-*Saccharomyces* kvasci uključeni u fermentaciju piva su *Brettanomyces/Dekkera* vrste (koriste se oba naziva). Ovi kvasci, posebno *Brettanomyces bruxellensis* i *Brettanomyces anomala*, neophodni su u proizvodnji lambic piva (belgijsko, pšenično pivo sa dodatkom trešnje i maline), kojem daju ukuse koje ne mogu dati kvasci roda *Saccharomyces*. Kvasci roda *Brettanomyces* mogu da vrše hidrolizu celobioze, što im

omogućava da prežive duži period u hrastovim bačvama za fermentaciju lambic piva. Upotrebom kvasaca koji nisu iz roda *Saccharomyces* je način da se proizvedu raznolika piva za tržište, za kojima postoji sve veće interesovanje. Lager pivo je vrsta piva koja se proizvodi fermentacijom slada ječma na niskim temperaturama. Pivo se najvećim dijelom proizvodi od ječma, a rjeđe i od drugih žitarica. Zrna ječma se prvo sladuju, odnosno kratko vrijeme naklijavaju. Cilj sladovanja je da se aktiviraju enzimi zrna ječma koji katalizuju razlaganje skroba. Sladovani ječam se zatim usitnjava i miješa sa vodom temperature oko 67 °C. Za nekoliko sati enzimi dovode do razgradnje skroba do manjih molekula. Takođe dolazi i do razgradnje bjelančevina. Dobijeni vodeni ekstrakt –sladovina se odvaja od ostatka zrna, zatim se kuva uz dodatak hmelja, koji pivu daje karakterističan gorak ukus. Temperaturom kuvanja se zaustavlja dalja aktivnost enzima. Sladovina se zatim hladi i fermentiše dodatkom *S. cerevisiae* do etanola i ugljendioksida. Ostali proizvodi metabolizma kvasaca se stvaraju u manjim količinama, ali i oni značajno utiču na ukus piva. To su viši alkoholi – feniletalni, amilni, izoamilni, kao i organske kiseline –sićetna, buterna i njihovi estri. Na kraju fermentacije kvasci se uklanjaju, a pivo ostavlja određeno vrijeme da zri. Nakon toga se vrši njegova filtracija, pasterizacija i razlivanje u ambalažu.

Proizvodnja pirinčanog vina

Proizvodnja pirinčanog vina „sake“ je slična proizvodnji piva. Skrob iz pirinča se uz pomoć plijesni *Aspergillus oryzae* razlaže do fermentabilnih šećera. Pirinač se prvo termički obradi, a zatim mu se dodaju spore *Aspergillus oryzae*. Nakon inkubacije u trajanju 5-6 dana pri temperaturi 35 °C dobija se proizvod koji se zove „kodži“. Njemu se dodaju kvasci *Saccharomyces cerevisiae* i jedan dio termički obrađenog pirinča. Nakon tri nedelje fermentacije dobija se proizvod koji se zove sake i koji sadrži 20% etanola.

Proizvodnja sokova

Proizvodnja sokova od voća i povrća se zasniva na primjeni enzima, od kojih su najznačajniji pektinaze. Ove enzime stvaraju plijesni *Aspergillus niger*, kao i bakterije *Erwinia carotovora*, *Clostridium spp.* Pektinaze katalizuju hidrolizu pektinskih materija biljnih ćelija, što dovodi do oslobađanja soka iz ovih ćelija.

Proizvodnja fermentisanih proizvoda od meda

Proizvodnja medovine – vina od meda

Prerodom meda se mogu dobiti fermentisani prehrambeni proizvodi kao što je medovina, tj. vino od meda. Medovina je alkoholno piće koje sadrži 8-18 % alkohola, a nastaje fermentacijom razblaženog vodenog rastvora meda primjenom kvasaca. Proizvodnja medovine predstavlja jedno od nastarijih fermentisanih pića. Ona ima nutritivni i terapijski efekat - koji se ispoljava pozitivnim uticajem na metabolizam čovjeka, naročito na proces varenja i smanjenim rizikom od razvoja hroničnih bolesti. Process dobijanja medovine je dosta sličan procesu proizvodnje vina. Rastvor meda sa vodom od kojeg se pravi medovina ima nisku pH vrijednost - zato što sadrži

različite kiseline koje su porijeklom iz meda. Zbog velikog sadržaja šećera, proces fermentacije je spor i za njegovo odvijanje su potrebni odgovarajuća pH vrijednost, temperatura i vrsta kvasca. Optimalna pH vrijednost za aktivnost kvasaca je 3,7 do 4. Divlji kvasci koji potiču iz vazduha nisu pogodni za proizvodnju kvalitetne medovine jer dovode do pojave nepoželjnog ukusa i inhibira ih etanol i CO₂ koji nastaju u procesu fermentacije. Zato se proizvodnja medovine bazira na primjeni odabranih kultura kvasaca - najčešće *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dobro podnosi prisustvo sumpor dioksida, etanola i visoki osmotski pritisak. Ova vrsta kvasaca se koristi i u proizvodnji vina i piva. Pored vrste *Saccharomyces cerevisiae* mogu se koristiti i druge vrste kvasaca roda *Saccharomyces*, kao što su *Saccharomyces pastorianus* ili kombinacije kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus*. Kvasac *Hansenula anomala* takođe daje dobre rezultate u proizvodnji medovine. U toku fermentacije kvasci razlažu proste šećere do alkohola i ugljendioksida. Pored ovih proizvoda, stvaraju se i neki sporedni proizvodi koji imaju uticaj na miris i ukus, kao i stabilnost i fizički izgled medovine. Optimalna temperatura za fermentaciju uz pomoć kvasca *Saccharomyces cerevisiae* je između 20 i 30 °C. Temperature ispod 15 °C i iznad 30 °C usporavaju i produžavaju vrijeme fermentacije. Fermentacija medovine može trajati i nekoliko mjeseci, na što utiče vrsta kvasaca, sastav rastvora za fermentaciju, uslovi u kojima se fermentacija odvija (temperatura, sadržaj šećera, osmotski pritisak, pH i dr.). Osobine kvasaca mogu različito da utiču na brzinu i tok fermentacije, proizvodnju manje ili veće količine etanola i stvaranje aromatičnih jedinjenja u medovini.

Proizvodnja perge

Perga – pčelinji hleb je proizvod koji nastaje fermentacijom polena u saću, aktivnošću bakterija mliječne kiseline i kvasaca prisutnih u životnoj sredini. Ovaj proizvod je bogat izvor hranljivih materija kao što su proteini, polifenoli i vitamini. Proizvod se može dobiti i upotrebom odabranih sojeva fruktozofilnih bakterija mliječne kiseline *Lactobacillus kunkeei* i vrste kvasaca *Starmerella magnoliae* i *Zygosaccharomyces siamensis* koji su izolovani iz ovog pčelinjeg proizvoda i na taj način se dobija perga boljeg i standardizovanog kvaliteta. Ovaj proizvod je hranljiv, lako svarljiv. Primjenom starter kultura se povećava sadržaj fenilalanina, alanina i leucina kao esencijalnih aminokiselina u odnosu na spontano fermentisanu pergu. Primijećeno je da različiti kvasci dominiraju u različitim fazama fermentacije perge.

Proizvodnja sirćeta

Sirće je vodeni rastvor sirćetne kiseline i drugih sastojaka koji se konzumira širom svijeta kao začini i konzervansi hrane. Ovaj proizvod je rezultat dvostepene fermentacije. Prvi korak je anaerobna fermentacija - alkoholna fermentacija šećera u etanol pomoću kvasca, a drugi korak je aerobna fermentacija - oksidacija etanola u sirćetnu kiselinu pomoću bakterija sirćetne kiseline. Da bi došlo do sirćetne fermentacije, šećer iz podloge mora biti transformisan u etanol, tako da sirćetnoj fermentaciji prethodi alkoholna. Ovu osobinu bakterija sirćetne kiseline ljudi koriste za proizvodnju raznih vrsta sirćeta (vinskog, jabukovog, alkoholnog, pirinčanog, sladnog i dr.). Osnovni supstrat za proizvodnju sirćeta su šećeri voća i povrća. Prilikom pokretanja ovog

biohemijskog procesa, bioreaktor se prvo napuni odgovarajućim medijumom za rast bakterija sirćetne kiseline i autoklavira. Medijum za kultivaciju se zatim inokulira starter kulturom bakterija sirćetne kiseline i pusti da se proces odvija u optimalnim uslovima za rast bakterijske kulture (temperatura i količina rastvorenog kiseonika). Usljed rasta bakterija i stvaranja proizvoda njihovog metabolizma, u medijumu za njihovu kultivaciju se mijenja sadržaj ugljenika, azota, biomase, metabolita itd.). Tokom procesa odvijaju se karakteristične faze rasta: lag faza, logaritamska faza, stacionarna faza i faza umiranja. *Bakterije sirćetne kiseline* su široko rasprostranjene u prirodi i imaju značajnu ulogu u proizvodnji hrane (sirće, kombuha i dr.). Zbog sposobnosti da oksidišu etanol u sirćetnu kiselinu mogu da se razmnožavaju u različitim pićima kao što su vino, jabukovača, pivo, funkcionalni napici, sokovi, pri čemu mogu dovesti do pojave nepoželjnog kiselog ukusa. *Bakterije sirćetne kiseline* su svrstane u familiju *Acetobacteraceae*, koja obuhvata devetnaest rodova. To su gram negativne bakterije, okruglastog ili štapićastog oblika. Za proizvodnju sirćeta najznačajniji su rodovi *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter* i *Komagataeibacter*, jer imaju snažnu sposobnost oksidacije etanola u sirćetnu kiselinu i visoku otpornost na sirćetnu kiselinu - koju stvaraju tokom aerobne fermentacije. Vrste roda *Acetobacter* koje se najčešće koriste u proizvodnji sirćeta su *Acetobacter aceti*, *Acetobacter cerevisiae*, *Acetobacter malorum*, *Acetobacter oeni*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter pomorum*, *Gluconacetobacter entanii*, *Gluconacetobacter liquefaciens*, *Gluconobacter oxydans*, *Komagataeibacter europaeus*, *Komagataeibacter hansenii*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter liquefaciens*, *Gluconobacter oxydans*, *Komagataeibacter europaeus*, *Komagataeibacter hansenii*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter medellinensis*, *Komagataeibacter obogaedinensis*. Submerzne postupke za proizvodnju sirćeta odlikuje velika brzina toka sirćetnog vrenja koje se odvija u posudama koje se zovu acetatori. Kod ovih postupaka nema potrebe da se povećava oksidaciona površina i u njima se mogu proizvoditi sve vrste sirćeta. U ovom postupku, sirćetne bakterije ne koriste kiseonik iz vazduha, već se kroz alkoholni rastvor provodi raspršeni vazduh, pri čemu dolazi do rastvaranja kiseonika. *Bakterije* su vrlo osjetljive na nedostatak kiseonika, pa se mora voditi računa da ne dodje do prekida njegovog dotoka. Za neke druge postupke je karakteristično da se oksidacija odvija na površini alkoholne tečnosti i efekat proizvodnje sirćeta zavisi od veličine te površine. S obzirom da se sa povećanjem oksidacione površine, ubrzava, odnosno povećava proizvodnja sirćeta, shodno tome se vrši prelivanje tečnosti, čime se povećava površina za oksidaciju. Osim za proizvodnju sirćetne kiseline, ove bakterije se koriste za proizvodnju i drugih proizvoda, kao što su glukonska kiselina, L-sorboza (iz D-sorbitola), bakterijska celuloza, koji se koriste u prehrambenoj industriji i biomedicini. Takođe mogu da se koriste za dobijanje dihidroksiacetona iz glicerola i dr. Značajne su za proizvodnju kombuhe - napitka koji se dobija fermentacijom zašećerenog čaja uz pomoć simbiotske kulture acidofilnih kvasaca i bakterija sirćetne kiseline ugrađene u sloj mikrobne celuloze. Radna kultura kombuha fermentacije (tzv. čajna gljiva) je simbiotska zajednica bakterija sirćetnog vrenja (rodovi *Acetobacter* (*Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*), *Gluconobacter* (*Gluconobacter oxydans*), *Komagataeibacter* (*Komagataeibacter xylinus*) i autohtonih vrsta kvasaca (rodovi *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Torulaspora* i dr.). Kvasci iz ove zajednice enzimom

invertazom (saharaza, β fruktozidaza) hidrolizuju saharozu i tako je čine dostupnom bakterijama sirćetne kiseline. Kvasci razlažu šećer do ugljendioksida i etanola, a bakterije oksiduju etanol do sirćetne kiseline. Celulozna masa koju tokom kultivacije stvaraju bakterije sirćetne kiseline se može uočiti kako pliva po površini fermentisane tečnosti. .

Proizvodnja glukonske kiseline

Glukonska kiselina se prirodno nalazi u voću, biljkama, hrani kao što su vino, sirće, med. Ova kiselina poboljšava senzorna svojstva prehrambenih proizvoda, dajući im gorak ali osvježavajući ukus i koristi se kao aditiv i konzervans u prehrambenoj industriji. Glukonska kiselina se može dobiti hemijskim i biotehnološkim metodama. Bakterije sirćetne kiseline mogu da oksiduju D-glukozu u glukonsku kiselinu. Pored njih i bakterije drugih rodova kao što su *Pseudomonas* i *Zymomonas* imaju ovu sposobnost i mogu se koristiti u ove svrhe. Glukonska kiselina se takođe koristi u farmaceutskoj industriji za proizvodnju glukonata dvovalentnih metala, kao što su Ca^{2+} , Mg^{2+} i Fe^{2+} , koji se daju kao mineralni dodaci za liječenje hipokalcemije, hipomagnezijemije i anemije.

Proizvodnja L- sorboze

Bakterije sirćetne kiseline, naročito vrste iz roda *Gluconobacter* koje imaju veliki oksidativni kapacitet, mogu se koristiti za oksidativnu konverziju D-sorbitola u L-sorbozu, koja je važan međuprodukt u industrijskoj proizvodnji L-askorbinske kiseline (vitamin C).

Proizvodnja D fruktoze i L askorbinske kiseline

Bakterije sirćetne kiseline mogu da oksiduju mnoge alkohole, na primjer, D-manitol u D-fruktozu i dr. Takođe mogu da sintetišu L askorbinsku kiselinu iz D- glukoze. L-askorbinska kiselina ima važnu ulogu u ishrani ljudi i životinja i može se koristiti kao antioksidans u prehrambenoj industriji.

Proizvodnja ekstracelularnih polisaharida

Mnoge bakterije imaju sposobnost da izlučuju van ćelije stvorene polisaharide, koji se nazivaju ekstracelularni polisaharidi – egzopolisaharidi. Bakterije koje proizvode ekstracelularne polisaharide su sposobne da stvaraju biofilm. Biofilm omogućava bakterijama da se pričvrste za određenu površinu i uz to, biofilm ih štiti od isušivanja. Zahvaljujući biofilmu, one mogu da se pričvrste za žive ćelije (na primjer epitelne) ili za neke površine, kao što su medicinski implantati itd. uz pomoć kovalentnih, jonskih ili hidrofobnih veza. Biofilmovi se mogu razviti i na površini vina gdje je tzv. šešir napravljen od bakterija sirćetne kiseline. Glavna komponenta bakterijskih ekstracelularnih polisaharida su ugljeni hidrati, u kojima kao monomeri dominiraju glukoza, galaktoza i manoza. Različiti bakterijski ekstracelularni polisaharidi imaju svoje specifične karakteristike u pogledu hemijskog sastava. Na sastav i strukturu bakterijskih ekstracelularnih polisaharida utiče i sastav podloge i drugi uslovi u kojima se bakterije razmnožavaju. Bakterije sirćetne kiseline imaju sposobnost da proizvode i ekstracelularne polimere, kao što je *bakterijska*

celuloza, koju uglavnom sintetišu vrste rodova *Gluconacetobacter* i *Komagataeibacter*. Bakterijska celuloza je linearni homopolimer β -(1 \rightarrow 4)-D-glukočnih jedinica. Sintetišu ga mnogi organizmi, biljke, alge i neke bakterije. U tečnom medijumu, bakterijska celuloza pomaže ovim aerobnim bakterijama da dobiju potrebnu količinu kiseonika, tako što im omogućava da one lebde blizu površine tečnosti. Pored toga, bakterijska celuloza štiti ove bakterije od oštećenja UV zracima i pomaže zadržavanje vlage - kako ne bi došlo do isušivanja supstrata na kojima bakterije rastu. Mikrobiološka proizvodnja celuloze je privukla pažnju posljednjih godina, zbog neobičnih svojstava. Za razliku od celuloze biljke, koja je pomiješana sa ligninom, hemicelulozom i pektinom, bakterijska celuloza je veoma čista. Ovaj polimer ima veoma dobra svojstva, kao što su visok kapacitet zadržavanja vode, finu mrežastu strukturu, biokompatibilnost, zbog čega se koristi za proizvodnju zavoja za rane, vještačke kože, kao funkcionalni aditiv hrani, kao emulgator u prehrambenoj industriji, u proizvodnji tableta i dr. Koristi se kao sredstvo za želiranje, stabilizaciju i zgušnjavanje u hrani, za proizvodnju proteza, srčanih zalistaka i vještačkih krvnih sudova. *Komagataeibacter xylinus* je najčešće korištena vrsta u biosintezi bakterijske celuloze, jer može da proizvede veliku količinu bakterijske celuloze primjenjive u industriji. Iako je celuloza najčešći egzopolisaharid kojeg proizvode bakterije sirćetne kiseline, one mogu da proizvedu i druge važne polisaharide, kao što je *levan*. *Levan* je razgranati homopolimer d-fruktofuranozilnih ostataka koji sadrži β -(2 \rightarrow 6) veze u lancu jezgra i β -(2 \rightarrow 1) veze na tačkama grananja. Proizvodi se ekstracelularno od saharoze od strane bakterija kao što su *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Komagataeibacter*, *Kozakia* i *Neoasaia*. *Levan* daje značajna biomedicinska i funkcionalna svojstva hrani, zbog svojih osobina kao što su biorazgradivost, biokompatibilnost i sposobnost formiranja nanočestica i filmova. *Levan* ima i blagotvorno dejstvo na mikroorganizme u crijevima životinja. Koristi se za proizvodnju folija za pakovanje, kao i za zacjeljivanje rana i opekotina. U prehrambenoj industriji *levan* se koristi kao emulgator, kao sredstvo za bojenje i aromu i kao zamjena za masti. Ima veoma dobro antioksidativno i protivzapaljensko dejstvo. Bakterije sirćetne kiseline mogu da proizvedu i druge egzopolisaharide, kao što su dekstran, acetan, manan i glukonacetan. Egzopolisaharidi i razni enzimi koje proizvode neke vrste bakterija roda *Pseudomonas* se takođe koriste u proizvodnji hrane, tekstila, farmaceutskih proizvoda.

Proizvodnja lipaza i biosurfaktanata

Termostabilne lipaze se mogu proizvoditi uz pomoć bakterije *Pseudomonas fluorescens* I koriste se u prehrambenoj i kožnoj industriji. Biosurfaktanti koje proizvode neke vrste *Pseudomonas* se koriste za emulgovanje i stabilizaciju emulzija.

Proizvodnja prehrambenih kiselina

Prehrambene kiseline su limunska, mliječna, sirćetna, vinska, jabučna i glutaminska.

Proizvodnja limunske kiseline

Limunska kiselina se u prirodi nalazi u nezrelim plodovima limuna, ananasa, kruške, smokve i dr. Za proizvodnju ove kiseline se koriste plijesni kao što su *Aspergillus clavatus*, *Penicillium luteum*, *Penicillium citricum*, *Mucor piriformis*, *Ustina vulgaris* i dr., ali je najpogodniji i najviše se koristi *Aspergillus niger*. Ovi mikroorganizmi mogu da fermentišu i transformišu mnoge organske materije do limunske kiseline, ali se najveća količina dobija iz saharoze i fruktoze. Za proizvodnju limunske kiseline kao supstrat se najviše koristi melasa. Limunska kiselina se koristi u kulinarstvu, za pripremu bezalkoholnih napitaka, marmelade, nekih vrsta kobasica, sireva, u vinarstvu, za proizvodnju rafiniranih ulja, kondenzovanog mlijeka i dr. Uz pomoć limunske kiseline se mogu održati prirodni ukus i aroma mesa tokom njegovog čuvanja u zamrznutom stanju. U umjerenoj količini povoljno djeluje na rad pankreasa i podstiče apetit.

Proizvodnja mliječne kiseline

U prirodi je mliječna kiselina prisutna u kiselom mlijeku. Bakterije mliječne kiseline u mliječnu kiselinu transformišu različite ugljene hidrate, kao što su glukoza, maltoza, saharoza, laktoza i dr. Za fermentaciju glukoze, maltoze, saharifikovanog skroba najviše se koristi *Lactobacillus delbrueckii ssp. delbrueckii* i *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Kao supstrat za razmnožavanje ovih bakterija najviše se koristi melasa. Mliječna kiselina se koristi za pripremanje konditorskih i bezalkoholnih pića, proizvodnji vitamina i dr.

Proizvodnja vinske kiseline

Ova kiselina se u prirodi nalazi slobodna ili u obliku soli i ulazi u sastav plodova voća i povrća. Tokom proizvodnje vina se izdvaja u obliku kalcijumovih soli. Može se dobiti pomoću mikroorganizama. Našla je primjenu u prehrambenoj industriji, kožarskoj i tekstilnoj industriji, medicini.

Proizvodnja jabučne kiseline

Koristi se u medicini i industriji. Prirodno se nalazi u voću. Zbog velike potrebe za ovom kiselinom, razrađeni su postupci njenog dobijanja pomoću mikrobiološke sinteze.

Primjena mikroorganizama u farmaceutskoj industriji

Proizvodnja antibiotika

Antibiotici su proizvodi metabolizma mikroorganizama male molekulske mase, koji u malim koncentracijama sprečavaju rast drugih mikroorganizama. Do danas je otkriveno oko 6000 prirodnih antibiotika. Od njih se industrijski proizvode oko 100. Najčešće se proizvodi pet grupa antibiotika: penicilini, tetraciklini, cefalosporini, eritromicin i streptomycin. Otpornost nekih mikroorganizama na antibiotike se objašnjava slabom propustljivošću njihovih ćelija za

antibiotike, aktivnošću enzima koji inhibiraju djelovanje antibiotika I odsustvom ciljanog molekula za djelovanje antibiotika. Gram pozitivne bakterije su osjetljivije na antibiotike od gram negativnih bakterija, zato što u ćelijskom zidu imaju zaštitni spoljašnji lipopolisaharidni sloj. Osnovne osobine nekih antibiotika su date u tabeli 2:

Tabela 2: Osnovne karakteristike nekih antibiotika

Klase	Predstavni	Hemijski naziv	Sinteza	Proizvođači	Mehanizam dejstvs	Osjetljivi mikroorganizmi
β laktamski	Penicillin G	6-aminopenicilinska kiselina	Polimerizacija aminokiselina	<i>Penicillium spp.</i>	Sprečavaju sintezu peptidoglikana	Gram pozitivne I gram negativne bakterije
	Cefalosporin C	4-člani prsten β laktama				
Aminoglikozidne	Streptomici	Ciklični aminoalkoholi povezani sa ostacima šećera	Iz glukoze	<i>Streptomyces</i> , <i>Micromonospora</i> , <i>Bacillus</i>	Ireverzibilno suzbijaju sintezu bjelančevina u ribozomima	Gram negativne bakterije
Tetraciklini	Tetracilin Hlortetraciklin Oksitetraciklin	4 kondenzovana prstena	Ciklizacija lanca nastalog pri kondenzaciji acetatnih I malonatnih jedinica	<i>Streptomyces spp.</i>	Reverzibilno suzbijanje sinteze bjelančevina na ribozomima	Gram pozitivne I gram negativne bakterije

Makrolidi a) Antibakterijski	Eritromicini A	Laktonski prsten koji sadrži 12-16 atoma ugljenika kojima su pripojeni najmanje dva ostatka šećera	Kondenzacija acetatnih I propionatnih jedinica	<i>Streptomyces</i>	Reverzibilno suzbijaju sintezu bjelančevina na ribozomima	Gram pozitivne bakterije
Makrolidi b) antigljivični	Amfotericin B	Polieni: laktonski prsten koji sadrži 26-38 atoma ugljenika sa oksisupstituentima I sistem povezanih dvogubih veza	Kondenzacija acetatnih i propionatnih jedinica	<i>Streptomyces</i>	Remete cjelovitost ćelijske membrane djelujući na sterine	Djeluju na eukariotske i organizme i bakterije koje sadrže sterine u citoplazmatskoj membrani
Anzamicini a) koji sadrže naftalinski prsten	Rifamicini	Rifampin – Laktami – ciklična struktura slična sa strukturom makrolida ali je prsten spojen amidnom grupom	Sličan put sintezi makrolidnih antibiotika	aktinomicete	Suzbijaju aktivnost RNK-polimeraze	Gram pozitivne bakterije, mikobakterije
Anzamicini b) koji sadrže	Majtazin			Biljke	Potencijalni antitumorski	Gram pozitivne bakterije,

benzolski prsten					ki preparati	mikobakterije
Polipeptidni	Gramicidin	Hemijski heterogena grupa: često sadrži D aminokiseline, heterociklične prstenove povezane u prsten	Sinteza se odvija drugačije nego pri polimerizaciji aminokiselina prilikom sinteze bjelančevina	Različiti mikroorganizmi	Višestruko djeluju: remete strukturu citoplazmatične membrane, suzbija sintezu bjelančevina, cijepaju molekule DNK	Gram negativne bakterije
Depsipeptidni	Valinomycin	Polimerni lanci od aminokiselina i oksikiselina			Jonoforni antibiotici, transport K ⁺ u ćeliji	

Oko 70% do sada poznatih antibiotika su proizvodi aktinomiceta, 7% proizvodi bacila, 1,3% pseudomonasa, a 1,7% drugih bakterija. Antibiotike sintetisaju i plijesni i njihova struktura je manje raznolika u odnosu na antibiotike aktinomiceta. Jedan isti antibiotik mogu da stvaraju više različitih mikroorganizama, ali i više različitih antibiotika može da stvara jedna ista vrsta. Najveći proizvođači antibiotika su saprofitske bakterije koje žive u zemljištu, koje su aerobne i heterotrofne, vjerovatno zato što je među njima najveća konkurencija za hranljive materije. Pošto proizvodi njihovog metabolizma nisu toksični i ne nakupljaju se (CO₂ i H₂O), oni za svoju borbu sa drugim mikroorganizmima proizvode antibiotike. Antibiotici su sekundarni metaboliti mikroorganizama, kao i toksini. Za razliku od primarnih metabolita, kao što su aminokiseline, nukleotidi, vitamini, organske kiseline, njih sintetisaju samo neke vrste mikroorganizama i nemaju funkciju tokom njihovog rasta, već se stvaraju nakon prestanka njihovog rasta. Antibiotici mogu da nastanu modifikacijom primarnog metabolita, modifikacijom i kondenzacijom dva ili više primarnih metabolita, polimerizacijom više primarnih metabolita, a zatim modifikacijom tog polimera. Na primjer, kondenzacijom aminokiselina nastaju polipeptidni antibiotici, penicilini i cefalosporini. Antibiotici se stvaraju uz pomoć enzima čija je aktivnost inhibirana u fazi brzog rasta - logaritamskoj fazi. Tako se na primjer, mikroorganizmi stvaraju antibiotike u podlozi sa

laktozom koju slabo koriste, a ne u podlozi sa glukozom koju nesmetano koriste za svoj metabolizam. U industrijskoj proizvodnji mikroorganizmi proizvođači antibiotika se razmnožavaju u procesu diskontinualne fermentacije uz dodavanje podloge. Mutacijama mikroorganizama proizvodnja antibiotika se može povećati za 100-1000 puta.

Proizvodnja vitamina

Vitamini su organske materije male molekulske mase, koje u vrlo malim koncentracijama imaju jako i različito biološko djelovanje. Unose se hranom ili u vidu lijekova. Najvažniji prirodni izvori vitamina su biljke i mikroorganizmi. Menahinome I kobalamine mogu da sintetišu samo mikroorganizmi. Vitamini se više proizvode hemijskim putem, ali i mikrobiološka sinteza ima takođe veliki značaj. Mikrobiološkom sintezom se najviše proizvode ergosterin i vitamin B12. Takođe se koriste prilikom dobijanja askorbinske kiseline kao oksidansi sorbita u sorbozu, kao I za proizvodnju vitamina B12 i karotinoida. Iz jednog molekula β karotina hidrolizom se stvaraju dva molekula vitamina A1, što se prirodno odvija i u crijevima čovjeka. Mikroorganizmi se takođe koriste za dobijanje biotina (vitamin B7, vitamin H) koji se dodaje stočnoj hrani. Osnovne karakteristike vitamina koji se proizvode industrijski uz pomoć mikroorganizama su prikazane u tabeli 3:

Tabela 3: Osnovne karakteristike vitamina koji se proizvode industrijski uz pomoć mikroorganizama

Vitamin	Dejstvo na organizam	Način proizvodnje	Mikroorganizam proizvođač
Karotinoidi (njihovom hidrolizom se dobija vitamin A)	Za imunitet, očuvanje vida	Hidrolizom karotinoida - prirodnih pigmenata koje stvaraju mikroorganizmi	Više biljke, alge, fototrofne bakterije, hemotrofne bakterije micelarne gljive kvasci, pigmentisani mikroorganizmi rodova: <i>Aleuria</i> , <i>Blakeslea</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Flexibacter</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Halobacterium</i> , <i>Phycomyces</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Sarcina</i> , <i>Sporobolomyces</i>

Ergosterin - provitamin vitamina D	Antirahitično dejstvo	Vitamin D se dobija iz ergosterina pod uticajem UV zraka	Kvasci, micelarne gljive <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i>
Riboflavin (vitamin B2)	Koenzim flavoproteina koji ulazi u sastav oksidoreduktaza FMN i FAD	Kao izvori se koriste glukoza ili saharoza	Bakterije, kvasci, micelarne gljive, <i>Ashbyii gossypii</i> , <i>Eremothecium ashbyii</i> , <i>Candida guilliermondii</i>
Askorbinska kiselina (vitamin C)	Antiskorbutni vitamin, kao antioksidans našao primjenu u zaštiti zdravlja i proizvodnji hrane	Sinteza sorboze koja je poluproizvod askorbinske kiseline	<i>Gluconobacter oxidans</i>
Cijanokobalamin (vitamin B12)	Antianemični faktor	Dobija se samo mikrobiološkom sintezom pomoću rezorcina i fenola	Bakterije, prije svega propionske, mutirani sojevi <i>Pseudomonas freudenreichii</i> var. <i>Shermanii</i>

Proizvodnja pigmentata

Prirodne pigmente stvaraju insekti, biljke i mikroorganizmi. Oni su našli primjenu u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji i potisnuli su upotrebu vještačkih pigmentata - zbog ekoloških i zdravstvenih razloga. Zbog brzog razmnožavanja, mikroorganizmi su pogodni za proizvodnju velike količine pigmentata. Najčešći pigmenti koje proizvode mikroorganizmi su žuti i crveni - kao što su karotenoidi (stvaraju ih bakterije *Micrococcus roseus*, *Brevibacterium linens*), monacolini (stvara ih gljiva *Monascus spp.*), ksantomonadini (bakterija *Xanthomonas campestris*). Najpoznatiji plavi pigment koji proizvode bakterije je violacein. Proizvode ga bakterije *Chromobacterium violaceum* i *Janthinobacterium lividum*. Violacein se koristi u tekstilnoj, ali i farmaceutskoj industriji - zbog citotoksičnog dejstva na ćelije raka debelog crijeva, kao i zbog antivirusne, antibakterijske, antigljivične i antiparazitske aktivnosti. Bakterijske ćelije proizvode ovaj pigment iz triptofana.

Dobijanje nafte i uglja

S druge strane, mikroorganizmi učestvuju u procesima nastanka nafte, a isto tako i olakšavaju crpljenje nafte iz naftnih bušotina i povećavaju količinu iscrpljene nafte. U tom cilju vrši se stimulacija bakterija koje se već nalaze u bušotinama ili se dodaju odabrane kulture mikroorganizama. Cilj je da se uz pomoć mikroorganizama poveća viskoznost nafte, kako bi se mogla iscrpiti uz utrošak manje količine energije. Za stimulaciju aerobnih mikroorganizama se upumpava vazduh, a za stimulaciju anaerobnih se dodaje fermentabilna podloga, na primjer melasa. Proces metanogeneze – stvaranja metana od strane metanogenih bakterija smanjuje viskozitet nafte, povećava se podzemni pritisak što olakšava crpljenje nafte. Bakterije koje oksiduju metan – metanotrofne bakterije su značajne za uklanjanje metana iz rudnika uglja.

Zaštita materijala od mikrobiološkog oštećenja

Mikroorganizmi mogu da izazovu oštećenja različitih materijala, što dovodi do velikih šteta. Najznačajniji mikroorganizmi koji izazivaju oštećenja materijala su plijesni i bakterije. Najznačajniji rodovi plijesni koji oštećuju materijale su: *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Stachybotrys*, *Paecilomyces* kvasci roda *Candida* i dr. Najznačajniji rodovi bakterija koji dovode do oštećenja materijala su *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Sorangium*, *Zooglea*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Desulfovibrio*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Thiobacillus*, nitrifikacione bakterije, cijanobakterije, *Gallionella*, *Leptothrix*, *Sphaerotilus*. Ovo je zbog toga što mogu da koriste različite materijale i da u toku svog metabolizma stvaraju organske i neorganske kiseline, amonijak, vodonik sulfid koji imaju korozivno dejstvo. Nafta i proizvodi od nafte, papir, tkanina, koža, plastična masa, boje, optika, metali i drugi materijali su izloženi mikrobiološkom kvarenju i neophodno ih je zaštititi. Pored toga, mikroorganizmi koji rastu na ovim materijalima i oštećuju ih mogu biti opasni za zdravlje ljudi i dovesti do pojave alergija i drugih oboljenja. Razgrađujući celulozu koja ulazi u sastav pamučnih i lanenih tkanina i hartije, celulolizni mikroorganizmi dovode do oštećenja ovih materijala. U oštećenju vune i svile značajnu ulogu imaju bakterije iz roda *Bacillus*, jer one imaju sposobnost razgradnje bjelančevina koje su osnovni sastojak ovih materijala. U sastav plastičnih masa ulaze visokomolekulski polimeri (polietilen), kao i različiti punjači – plastifikatori, stabilizatori i dr. Sve ove komponente mogu da razlažu mikroorganizmi, a naročito plastifikatore. Plastifikatori su po sastavu etri fosforne ili etri organskih kiselina. Prema kamenu i betonu najaktivnije su nitrifikacione i sumporne bakterije - jer stvaraju jake kiseline, azotnu i sumpornu. Ove kiseline oštećuju opnu od kalcijum karbonata na površini betona. Sumporna kiselina koju stvaraju sumporne bakterije može da dovede i do oštećenja predmeta od čelika, kao što su čelični zavrtnji, čelične vodovodne cijevi, slavine i dr. Sulfatoredukujuće bakterije dovode do oštećenja podzemnih cjevovoda, instalacija u naftnoj industriji i dr. I tako što učestvuju u elektrohemijskim reakcijama koje se odvijaju na površini metala i legura. Vlažnost i temperatura su ključni faktori koji utiču na razvoj mikroorganizama koji dovode do oštećenja materijala. Što je veća vlažnost materijala, to je veća vjerovatnoća da dođe do njegovog oštećenja. Veoma je važna sposobnost mikroorganizama da se adsorbuju za materijal koji oštećuju. Utvrđeno je da se mikroorganizmi koji razlažu celulozu za nju trajno pričvršćuju. Smanjenjem vlažnosti materijala ispod 8-10% i

temperature ispod 17 °C (+3°C), relativne vlažnosti vazduha ispod 55% sprečava se rast gljiva i velikog broja bakterija koje izazivaju oštećenja materijala. Ove uslove nije uvijek moguće postići. Zato postoje sredstva koja se zovu biocidi koji se dodaju samim materijalima, ili se njima tretiraju površine materijala. Pri tome treba voditi računa da ova sredstva ne smiju biti škodljiva za zdravlje ljudi.