

Unit 1

एन्ज़ाइमों की खोज

(Discovery of Enzymes)

एन्ज़ाइम जीवित कोशिकाओं में होने वाली सभी रासायनिक अभिक्रियाओं (metabolic reactions) के **जैविक उत्प्रेरक (biological catalysts)** हैं। परंतु यह समझ कि “कोशिकाओं में कोई विशेष पदार्थ अभिक्रियाओं को तेज करता है” एक लंबी वैज्ञानिक यात्रा का परिणाम है।

1. प्रारंभिक काल: रहस्यमय किण्वन (Fermentation as a Mystery)

प्राचीन काल

- मानव हजारों वर्षों से:
 - शराब (wine)
 - बीयर
 - दही
 - ब्रेडबनाता आ रहा था
- लेकिन यह नहीं जानता था कि यह प्रक्रिया कैसे होती है

□ इसे एक **जीवन-शक्ति (vital force)** का परिणाम माना जाता था

2. Vitalism Theory (जीवनवादी सिद्धांत)

मुख्य विचार

- रासायनिक अभिक्रियाएँ केवल **जीवित कोशिकाओं** में ही संभव हैं
- किसी निर्जीव पदार्थ से ये क्रियाएँ नहीं हो सकतीं

□ इस सिद्धांत ने लंबे समय तक एन्ज़ाइम की वास्तविक प्रकृति को समझने में बाधा डाली

3. लुई पाश्चर (Louis Pasteur) – 1857

योगदान

- यह सिद्ध किया कि:
 - किण्वन (fermentation) जीवित यीस्ट कोशिकाओं द्वारा होता है
- उन्होंने कहा:

“Fermentation is life without air”

- किण्वन = जीवित कोशिकाओं की क्रिया
- इससे **Vitalism** को बल मिला

□□ लेकिन पाश्चर यह नहीं बता सके कि कोशिका के अंदर कौन-सा घटक यह कार्य करता है

4. एडुआर्ड बुचनर (Eduard Buchner) – 1897

Enzyme Discovery का निर्णायक मोड़

प्रयोग

- उन्होंने यीस्ट कोशिकाओं को पीसकर:
 - **Cell-free extract** (कोशिका-मुक्त रस) बनाया
- पाया कि:
 - यह extract भी शर्करा को अल्कोहल में बदल देता है

खोज

- उन्होंने इस सक्रिय घटक को नाम दिया:

Zymase

महत्व

- पहली बार सिद्ध हुआ कि:
 - किण्वन के लिए जीवित कोशिका आवश्यक नहीं
- **Vitalism theory** का अंत
- एन्ज़ाइम की खोज का वास्तविक प्रारंभ

□ 1907 में बुचनर को नोबेल पुरस्कार मिला

5. “Enzyme” शब्द की उत्पत्ति

- ग्रीक शब्द “En zyme”
 - En = अंदर
 - Zyme = खमीर (Yeast)
 - अर्थ: “खमीर के अंदर मौजूद पदार्थ”
-

6. एन्जाइम की प्रकृति पर विवाद

(क्या एन्जाइम प्रोटीन हैं?)

प्रारंभिक भ्रम

- कुछ वैज्ञानिक मानते थे:
 - एन्जाइम प्रोटीन हैं
 - कुछ मानते थे:
 - ये किसी अन्य प्रकार के पदार्थ हैं
-

7. जेम्स बी. समनर (James B. Sumner) – 1926

एन्जाइम = प्रोटीन

प्रयोग

- उन्होंने एन्जाइम **Urease** को:
 - Jack bean से क्रिस्टलीकृत किया

निष्कर्ष

- एन्जाइम शुद्ध अवस्था में भी सक्रिय रहते हैं
- एन्जाइम **प्रोटीन** होते हैं

□ 1946 में नोबेल पुरस्कार

8. नॉर्थ्रॉप और स्टेनली (1930s)

योगदान

- Pepsin
- Trypsin

- Chymotrypsin को क्रिस्टलीकृत किया

□ Sumner की खोज की पुष्टि हुई

9. Ribozymes की खोज – 1980s

(एन्ज़ाइम हमेशा प्रोटीन नहीं)

वैज्ञानिक

- Thomas Cech
- Sidney Altman

खोज

- RNA भी catalytic हो सकता है
- ऐसे RNA को कहा गया:

Ribozyme

□ 1989 में नोबेल पुरस्कार

10. आधुनिक युग में एन्ज़ाइमों की खोज

Recombinant DNA Technology

- Gene cloning
- Overexpression in E. coli
- Industrial enzyme production

Metagenomics

- बिना culture किए नए एन्ज़ाइमों की खोज

Directed Evolution

- Lab में नए और बेहतर एन्ज़ाइम बनाना
-

11. एन्ज़ाइम खोज का वैज्ञानिक महत्व

- Metabolism की समझ
 - Disease diagnosis
 - Drug development
 - Industrial biotechnology
 - Environmental applications
-

12. एन्ज़ाइम खोज का कालक्रम (Timeline)

वर्ष	वैज्ञानिक	खोज
प्राचीन	—	किण्वन का उपयोग
1857	Louis Pasteur	जीवित कोशिकाएँ आवश्यक
1897	Eduard Buchner	Cell-free fermentation
1926	J.B. Sumner	एन्ज़ाइम = प्रोटीन
1982	Cech / Altman	Ribozymes

एन्ज़ाइमों का वर्गीकरण

(Classification of Enzymes)

एन्ज़ाइम जीवित कोशिकाओं में होने वाली रासायनिक अभिक्रियाओं को तेज करने वाले **जैविक उत्प्रेरक (biological catalysts)** हैं। क्योंकि हजारों प्रकार की अभिक्रियाएँ होती हैं, इसलिए एन्ज़ाइमों को उनकी **क्रिया (reaction type)** के आधार पर वर्गीकृत किया गया है।

एन्ज़ाइमों के 7 मुख्य वर्ग (Updated classification)

1. Oxidoreductases (ऑक्सीडोरिडक्टेज़)

कार्य

- ऑक्सीकरण-अपचयन (Redox) अभिक्रियाएँ

- इलेक्ट्रॉन / हाइड्रोजन का स्थानांतरण

सामान्य प्रतिक्रियाएँ

- Oxidation
- Reduction

उदाहरण

- Dehydrogenase
- Oxidase
- Catalase
- Peroxidase

उदाहरण अभिक्रिया



जैविक महत्व

- Cellular respiration
- Photosynthesis
- Detoxification

2. Transferases (ट्रांसफरेज़)

कार्य

- एक अणु से दूसरे अणु में **functional group** का स्थानांतरण

स्थानांतरित समूह

- $-\text{CH}_3$ (Methyl)
- $-\text{PO}_4$ (Phosphate)
- $-\text{NH}_2$ (Amino)

उदाहरण

- Kinase
- Transaminase
- Methyltransferase

उदाहरण अभिक्रिया



3. Hydrolases (हाइड्रोलाज़)

कार्य

- जल (H₂O) की उपस्थिति में बंध तोड़ना

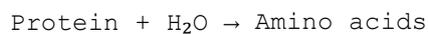
टूटने वाले बंध

- Peptide bond
- Glycosidic bond
- Ester bond

उदाहरण

- Protease (Trypsin, Pepsin)
- Amylase
- Lipase
- Nuclease

उदाहरण



4. Lyases (लायेज़)

कार्य

- बिना ATP या पानी के:
 - बंध तोड़ना
 - या double bond बनाना

विशेषता

- Hydrolysis या oxidation नहीं

उदाहरण

- Decarboxylase
- Aldolase
- Dehydratase

उदाहरण

Pyruvate \rightarrow Acetaldehyde + CO₂

5. Isomerases (आइसोमेरेज़)

कार्य

- अणु के भीतर **structural rearrangement**
- एक ही अणु के isomer बनाना

उदाहरण

- Glucose-6-phosphate isomerase
- Racemase
- Epimerase

उदाहरण

Glucose-6-phosphate \rightleftharpoons Fructose-6-phosphate

6. Ligases / Synthetases (लाइगेज़)

कार्य

- दो अणुओं को जोड़ना
- ऊर्जा के रूप में **ATP** का उपयोग

बनने वाले बंध

- C-C
- C-O
- C-N
- C-S

उदाहरण

- DNA ligase
- Aminoacyl-tRNA synthetase
- Glutamine synthetase

उदाहरण

DNA fragment A + B + ATP \rightarrow Joined DNA

7. Translocases (ट्रांसलोकेज़)

(नया वर्ग)

कार्य

- झिल्ली (membrane) के पार:
 - आयन
 - अणुको स्थानांतरित करना

ऊर्जा स्रोत

- ATP
- Ion gradient

उदाहरण

- Na⁺/K⁺-ATPase
- ABC transporters
- Proton pump

एन्ज़ाइम वर्गीकरण का सारांश तालिका

EC Class	नाम	कार्य
EC 1	Oxidoreductase	Redox
EC 2	Transferase	Group transfer
EC 3	Hydrolase	Hydrolysis
EC 4	Lyase	Non-hydrolytic cleavage
EC 5	Isomerase	Rearrangement
EC 6	Ligase	Bond formation (ATP)
EC 7	Translocase	Transport across membrane

अन्य आधारों पर वर्गीकरण (Additional Classifications)

1. संरचना के आधार पर

- Simple enzymes (केवल प्रोटीन)

- Conjugated enzymes (Holoenzyme = Apoenzyme + Cofactor)

2. Cofactor के आधार पर

- Metal ion enzymes (Zn^{2+} , Mg^{2+})
- Coenzyme-dependent (NAD^+ , FAD)

3. स्थान के आधार पर

- Intracellular enzymes
- Extracellular enzymes

परीक्षा के लिए महत्वपूर्ण बिंदु

- ✓ EC classification सबसे मान्य
- ✓ Ligase = ATP उपयोग
- ✓ Lyase \neq Hydrolase
- ✓ Translocase = नया वर्ग (EC 7)

एन्ज़ाइमों का नामकरण

(Nomenclature of Enzymes)

1. भूमिका (Introduction)

एन्ज़ाइमों की संख्या हजारों में है और हर एन्ज़ाइम:

- अलग **substrate**
- अलग **reaction**
- अलग **function**
को catalyze करता है।

□ इसलिए एन्ज़ाइमों को मानकीकृत (**standardized**) नाम देना आवश्यक हुआ।

इसी उद्देश्य से:

- **IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology)** ने एक वैज्ञानिक नामकरण प्रणाली विकसित की।
-

2. प्रारंभिक (Trivial) नामकरण

(A) Substrate के आधार पर

एन्जाइम का नाम:
substrate + ase

उदाहरण

- Urease → Urea पर कार्य करता है
- Amylase → Starch (amylose)
- Lipase → Lipid

✓ सरल

✗ लेकिन सटीक नहीं (एक substrate पर कई reactions संभव)

(B) खोजकर्ता / स्रोत के नाम पर

- Papain (Papaya से)
- Trypsin (Greek “trypsis” = digestion)

✗ वैज्ञानिक दृष्टि से अपर्याप्त

3. समस्या और वैज्ञानिक समाधान

समस्या:

- एक ही एन्जाइम के कई नाम
- एक जैसे नाम, अलग-अलग reactions

समाधान:

□ **Systematic Nomenclature + EC Number**

4. IUBMB द्वारा एन्ज़ाइम नामकरण

हर एन्ज़ाइम को दिया जाता है:

1. **Systematic name** (वैज्ञानिक नाम)
 2. **Recommended (Common) name**
 3. **EC Number** (अद्वितीय पहचान)
-

5. Systematic Name (व्यवस्थित नाम)

संरचना:

Donor : Acceptor + Reaction type

उदाहरण

Hexokinase

- Systematic name:

ATP : D-glucose 6-phosphotransferase

□ यह स्पष्ट बताता है:

- Donor = ATP
 - Acceptor = Glucose
 - Reaction = Phosphate transfer
-

6. Recommended (Common) Name

- छोटा और प्रचलित नाम
- प्रयोगशालाओं में उपयोगी

उदाहरण

Common Name	Systematic Name
Hexokinase	ATP:D-glucose phosphotransferase
Lactate dehydrogenase	L-lactate:NAD ⁺ oxidoreductase

7. EC Number (Enzyme Commission Number)

संरचना

EC a.b.c.d

क	अर्थ
	मुख्य वर्ग (Class)
	उपवर्ग
	उप-उपवर्ग
	विशिष्ट एन्ज़ाइम

उदाहरण: Lactate Dehydrogenase

EC 1.1.1.27

- 1 → Oxidoreductase
- 1 → CH-OH group पर कार्य
- 1 → NAD⁺/NADP⁺ acceptor
- 27 → विशिष्ट एन्ज़ाइम

□ यह संख्या पूरी दुनिया में एक-सी होती है।

8. "ase" प्रत्यय (Suffix) का महत्व

लगभग सभी एन्ज़ाइम:

- -ase पर समाप्त होते हैं

अपवाद

एन्ज़ाइम	कारण
Pepsin	ऐतिहासिक नाम
Trypsin	पारंपरिक

एन्जाइम कारण
Ren दूध जमाने
nin वाला

9. Isoenzymes और नामकरण

Isoenzymes

- समान reaction
- अलग संरचना / gene
- अलग tissue

उदाहरण

- LDH-1, LDH-2, LDH-3

□ नाम में:

- संख्या या tissue दर्शाया जाता है
-

10. Multifunctional Enzymes

- एक enzyme
- कई reactions

□ हर reaction को:

- अलग EC number
-

11. नए एन्जाइमों का नामकरण

आजकल:

- Gene sequence
 - Reaction mechanism
 - Substrate specificity
- के आधार पर नाम दिया जाता है।

उदाहरण:

- Protein kinase C
- RNA polymerase II

12. परीक्षा के लिए महत्वपूर्ण अंतर

Term	Meaning
Common name	सरल, प्रचलित
Systematic name	पूर्ण वैज्ञानिक
EC number	सार्वभौमिक पहचान

13. एन्ज़ाइम नामकरण का महत्व

- ✓ भ्रम समाप्त करता है
 - ✓ Research communication आसान
 - ✓ Database searching (KEGG, BRENDA)
 - ✓ Drug target पहचान
-

एन्ज़ाइमों का भौतिक-रासायनिक लक्षणन

(Physico-Chemical Characterization of Enzymes)

1. भूमिका (Introduction)

जब किसी एन्ज़ाइम को शुद्ध (purify) कर लिया जाता है, तब यह जानना आवश्यक होता है कि:

- वह भौतिक रूप से कैसा है (आकार, भार, संरचना)
 - वह रासायनिक रूप से कैसा व्यवहार करता है (pH, तापमान, आयन, cofactors)
- इन्हीं गुणों के वैज्ञानिक अध्ययन को **Physico-chemical characterization** कहते हैं।
-

2. Molecular Weight (आणविक भार) का निर्धारण

(A) SDS-PAGE

- Denatured अवस्था में
- केवल आकार के आधार पर पृथक्करण

महत्व:

- Subunit संख्या का अनुमान
 - Purity की जांच
-

(B) Gel Filtration Chromatography

- Native अवस्था में
- Shape + size पर निर्भर

तुलना:

SDS-PAGE \neq Native MW

इससे oligomeric nature पता चलता है

3. Isoelectric Point (pI)

परिभाषा

वह pH जिस पर एन्ज़ाइम का:

- कुल आवेश (net charge) = 0

तकनीक

- Isoelectric focusing
- Zeta potential analysis

महत्व

- Purification strategy
 - Solubility prediction
-

4. pH Optimum और pH Stability

pH Optimum

- वह pH जहाँ enzyme activity अधिकतम होती है

कारण

- Ionizable groups की अवस्था
- Active site charge

उदाहरण

Enzyme	pH
Pepsin	
Trypsin	

5. Temperature Optimum और Thermal Stability

Temperature Optimum

- अधिकतम catalytic activity का तापमान

Thermal Stability

- Denaturation के प्रति प्रतिरोध

उदाहरण

- Mesophilic enzymes → 37°C
 - Thermophilic enzymes → 70–100°C
-

6. Enzyme Kinetics Parameters

Michaelis–Menten Constants

Parameter	अर्थ
K _m	Substrate

Parameter	अर्थ
	affinity
V _{max}	अधिकतम दर
k _{cat}	Turnover number

□ यह रासायनिक और भौतिक दोनों गुण दर्शाते हैं

7. Substrate Specificity

प्रकार

- Absolute specificity
- Group specificity
- Bond specificity
- Stereo specificity

महत्व

- Reaction mechanism समझना
 - Drug design
-

8. Effect of Metal Ions और Cofactors

Metal Ions

- Mg²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺

अध्ययन

- Chelators (EDTA) से inhibition

Cofactors

- NAD⁺, FAD, TPP
-

9. Effect of Inhibitors

प्रकार

- Competitive
- Non-competitive
- Uncompetitive

अध्ययन से पता चलता है:

- Active site की प्रकृति
 - Binding forces
-

10. Structural Characterization

(A) Circular Dichroism (CD)

- Secondary structure (α -helix, β -sheet)
-

(B) Fluorescence Spectroscopy

- Folding/unfolding
 - Microenvironment of Trp
-

(C) X-ray Crystallography

- Atomic-level structure
-

(D) NMR Spectroscopy

- Solution structure
 - Dynamics
-

11. Hydrodynamic Properties

Sedimentation Coefficient

- Ultracentrifugation

Diffusion coefficient

- Shape and size estimation
-

12. Aggregation और Stability Studies

Techniques

- DLS (Dynamic Light Scattering)
 - Thermal shift assay (DSF)
-

13. Post-Translational Modifications (PTMs)

- Phosphorylation
 - Glycosylation
 - Acetylation
-

पहचान

- Mass spectrometry
-

14. Summary Table (Exam-Oriented)

Property	Technique
Molecular weight	SDS-PAGE, MS
pI	IEF
Secondary structure	CD
Stability	Thermal assay
Activity	Enzyme kinetics
Aggregation	DLS

15. महत्व (Importance)

- ✓ Enzyme purity और quality control
 - ✓ Industrial enzyme selection
 - ✓ Drug target validation
 - ✓ Structure-function relationship
-

एन्ज़ाइम काइनेटिक्स

(Enzyme Kinetics)

1. भूमिका (Introduction)

एन्ज़ाइम काइनेटिक्स वह विज्ञान है जो यह अध्ययन करता है कि:

- एन्ज़ाइम किस गति (**rate**) से अभिक्रिया कराता है
- यह गति किन-किन कारकों पर निर्भर करती है

□ सरल शब्दों में:

“एन्ज़ाइम कितनी तेज़ी से काम करता है और क्यों?”

2. मूल अवधारणा: Enzyme–Substrate Complex

अभिक्रिया क्रम



- E = Enzyme
- S = Substrate
- ES = Enzyme–substrate complex
- P = Product

□ अभिक्रिया की गति **ES complex** के बनने और टूटने पर निर्भर करती है।

3. Reaction Velocity (v)

- v = प्रति सेकंड बनने वाला product

- प्रारंभिक गति = **Initial velocity (v_0)**
(जब product वापस reaction को प्रभावित नहीं करता)
-

4. Michaelis–Menten सिद्धांत

मान्यताएँ (Assumptions)

1. Substrate की मात्रा enzyme से बहुत अधिक होती है
 2. ES complex की अवस्था **steady state** में होती है
 3. Product वापस reaction नहीं करता (initial phase)
-

Michaelis–Menten समीकरण

$$v = (V_{\max} [S]) / (K_m + [S])$$

5. Michaelis–Menten Constants

(A) V_{\max}

- अधिकतम अभिक्रिया गति
- तब प्राप्त होती है जब enzyme पूरी तरह substrate से saturated हो

(B) K_m (Michaelis constant)

- वह substrate concentration जिस पर:

$$v = V_{\max} / 2$$

K_m का अर्थ

- $K_m \downarrow \rightarrow$ substrate affinity \uparrow
 - $K_m \uparrow \rightarrow$ affinity \downarrow
-

6. Michaelis–Menten Curve

ग्राफ

- X-axis \rightarrow [S]
- Y-axis \rightarrow v

विशेषताएँ

- Hyperbolic curve
 - Saturation effect दर्शाता है
-

7. Lineweaver–Burk Plot (Double Reciprocal Plot)

समीकरण

$$1/v = (K_m/V_{max}) (1/[S]) + 1/V_{max}$$

ग्राफ

- Y-axis → $1/v$
- X-axis → $1/[S]$

लाभ

- K_m और V_{max} का सटीक निर्धारण
 - Inhibition analysis
-

8. Enzyme Efficiency

(A) k_{cat} (Turnover Number)

- प्रति सेकंड एक enzyme कितने substrate molecules को product में बदले

$$k_{cat} = V_{max} / [E]_{total}$$

(B) Catalytic Efficiency

$$k_{cat} / K_m$$

- यह enzyme की सबसे सटीक क्षमता दर्शाता है।
-

9. Enzyme Inhibition (अवरोध)

(A) Competitive Inhibition

- Inhibitor और substrate active site के लिए compete करते हैं

Parameter	प्रभाव
K_m	बढ़ता है
V_{max}	समान

(B) Non-Competitive Inhibition

- Inhibitor अलग site पर bind करता है

Parameter	प्रभाव
K_m	समान
V_{max}	घटता है

(C) Uncompetitive Inhibition

- केवल ES complex से bind

| K_m | घटता है |
 | V_{max} | घटता है |

10. Allosteric Enzymes

विशेषताएँ

- Multiple subunits
- Sigmoidal curve
- Michaelis–Menten का पालन नहीं करते

Model

- MWC (Concerted model)
 - KNF (Sequential model)
-

11. Factors Affecting Enzyme Kinetics

- (A) Substrate concentration
 - (B) Enzyme concentration
 - (C) pH
 - (D) Temperature
 - (E) Inhibitors
 - (F) Activators
-

12. Temperature और pH का प्रभाव

Temperature

- Activity ↑ (optimum तक)
- Denaturation पर activity ↓

pH

- Active site charge बदलता है
 - Bell-shaped curve
-

13. Multi-Substrate Reactions

प्रकार

- Sequential reactions
 - Ping-pong mechanism
-

14. Pre-Steady State और Steady State Kinetics

- Pre-steady state → fast initial events
 - Steady state → classical kinetics
-

15. Enzyme Kinetics का महत्व

- ✓ Drug design
- ✓ Disease diagnosis
- ✓ Industrial enzyme optimization
- ✓ Metabolic regulation की समझ

16. परीक्षा के लिए Quick Summary

Term	अर्थ
Km	Affinity
Vmax	Maximum rate
kcat	Turnover
Competitive inhibitor	Km↑, Vmax same
Non-competitive	Vmax↓

Enzyme Catalysis in Solution Kinetics

(घोल अवस्था में एन्जाइम उत्प्रेरण की काइनेटिक्स)

1. भूमिका (Introduction)

Solution kinetics का अर्थ है:

- एन्जाइम और substrate के बीच अभिक्रिया
- **जलीय घोल (aqueous solution)** में कैसे होती है
- और उसकी गति (rate) किन कारकों से नियंत्रित होती है

□ चूँकि जीवित कोशिकाओं में सभी एन्जाइम अभिक्रियाएँ **जल माध्यम** में होती हैं, इसलिए solution kinetics अत्यंत महत्वपूर्ण है।

2. बिना एन्जाइम अभिक्रिया बनाम एन्जाइम उत्प्रेरित अभिक्रिया

बिना एन्जाइम

- Activation energy (Ea) बहुत अधिक

- अभिक्रिया बहुत धीमी

एन्ज़ाइम के साथ

- E_a कम हो जाती है
- अभिक्रिया तेज़ हो जाती है

□□ ध्यान दें:

- ΔG (free energy change) नहीं बदलता
 - केवल reaction pathway बदलता है
-

3. Solution Kinetics का मूल समीकरण

सामान्य अभिक्रिया



Rate law (solution kinetics)

$$\text{Rate} = k [S]$$

जहाँ:

- k = rate constant
 - $[S]$ = substrate concentration
-

4. एन्ज़ाइम-सब्सट्रेट टकराव (Collision Theory in Solution)

घोल में:

- Enzyme और substrate **random motion** करते हैं
- टकराव की संख्या rate को नियंत्रित करती है

Rate निर्भर करता है:

- Substrate concentration
 - Diffusion rate
 - Orientation factor
-

5. Enzyme–Substrate Binding (Solution Perspective)

Binding Forces

- Hydrogen bonds
- Ionic interactions
- Hydrophobic forces
- Van der Waals forces

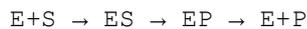
- ये सभी **non-covalent** हैं
 - इसलिए binding reversible होती है
-

6. Reaction Coordinate Diagram (ऊर्जा प्रोफाइल)

बिना एन्जाइम



एन्जाइम के साथ



- ES और EP intermediate अवस्थाएँ
 - Transition state (\ddagger) को enzyme stabilize करता है
-

7. Solution Kinetics में Catalytic Strategies

7.1 Acid–Base Catalysis

(A) General acid–base catalysis

- Proton donor/acceptor
- Enzyme side chains:
 - Histidine
 - Aspartate
 - Glutamate

उदाहरण

- Ribonuclease A
-

7.2 Covalent Catalysis

- Enzyme और substrate के बीच अस्थायी **covalent bond**
- Reaction दो चरणों में

उदाहरण

- Serine proteases (Trypsin, Chymotrypsin)
-

7.3 Metal Ion Catalysis

- Metal ions:
 - Zn^{2+}
 - Mg^{2+}
- Charge stabilization
- Substrate orientation

उदाहरण

- Carbonic anhydrase
-

7.4 Proximity and Orientation Effect

- Enzyme substrate को पास लाता है
 - सही orientation देता है
 - Effective molarity बढ़ती है
-

7.5 Transition State Stabilization

- Enzyme transition state से अधिक मजबूती से bind करता है
 - E_a कम हो जाती है
-

8. Diffusion-Controlled Reactions

परिभाषा

- Reaction की गति diffusion से सीमित

Maximum rate constant

$$k \approx 10^8 - 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

उदाहरण

- Superoxide dismutase
 - Acetylcholinesterase
-

9. Pre-Steady State और Steady State Kinetics

Pre-steady state

- बहुत प्रारंभिक घटनाएँ
- ES formation

Steady state

- ES constant
 - Michaelis–Menten लागू
-

10. Solvent (जल) की भूमिका

जल:

- Reactants को solvate करता है
- Hydrogen bonding network
- Dielectric constant उच्च

□ Enzyme active site अक्सर:

- पानी को बाहर निकालता है
 - ताकि reaction तेज़ हो
-

11. Viscosity Effect on Solution Kinetics

- Viscosity $\uparrow \rightarrow$ diffusion $\downarrow \rightarrow$ rate \downarrow
- Glycerol जैसे viscogens का प्रयोग

12. Isotope Effects in Solution Kinetics

- H₂O बनाम D₂O
- यदि rate बदलती है → proton transfer involved

13. Temperature Dependence (Arrhenius Equation)

$$k = A e^{(-E_a/RT)}$$

- Enzyme के साथ:
 - E_a कम
- High T → denaturation

14. Kinetic Isotope Effect (KIE)

- H → D substitution
- Rate difference → bond breaking step पहचान

15. Mathematical Model (Solution Kinetics)

Minimal kinetic scheme



Rate constants:

- k_1, k_{-1}, k_2

Michaelis constant:

$$K_m = (k_{-1} + k_2) / k_1$$

16. जैविक और औद्योगिक महत्व

- ✓ Metabolic pathway regulation
- ✓ Drug inhibition mechanism
- ✓ Industrial biocatalysis
- ✓ Artificial enzyme design

17. परीक्षा के लिए महत्वपूर्ण बिंदु

- Enzyme E_a घटाता है, ΔG नहीं
 - Solution kinetics diffusion पर निर्भर
 - Transition state stabilization सबसे महत्वपूर्ण
 - Diffusion limit = $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
-

Thermodynamic Analysis

(ऊष्मागतिकीय विश्लेषण)

1. भूमिका (Introduction)

Thermodynamics यह बताता है कि:

- कोई अभिक्रिया संभव है या नहीं
- अभिक्रिया किस दिशा में जाएगी
- लेकिन यह कितनी तेज़ होगी — यह नहीं बताता (वह kinetics का विषय है)

□ इसलिए:

- **Thermodynamics = feasibility**
 - **Kinetics = rate**
-

2. ऊष्मागतिकीय विश्लेषण का उद्देश्य

किसी जैव-रासायनिक अभिक्रिया के लिए यह समझना:

- ऊर्जा कहाँ से आती है?
 - ऊर्जा कहाँ खर्च होती है?
 - प्रणाली स्थिर (stable) क्यों होती है?
-

3. ऊष्मागतिकी का प्रथम नियम

(First Law of Thermodynamics)

ऊर्जा न तो उत्पन्न होती है और न नष्ट होती है, केवल रूप बदलती है

समीकरण

$$\Delta U = Q - W$$

- ΔU = आंतरिक ऊर्जा में परिवर्तन
- Q = ऊष्मा
- W = कार्य

जैविक महत्व

- ATP hydrolysis में ऊर्जा release
 - Muscle contraction
 - Active transport
-

4. ऊष्मागतिकी का द्वितीय नियम

(Second Law of Thermodynamics)

किसी स्वस्फूर्त प्रक्रिया में ब्रह्मांड की entropy बढ़ती है

$$\Delta S_{\text{universe}} = \Delta S_{\text{system}} + \Delta S_{\text{surroundings}} > 0$$

Entropy (S)

- अव्यवस्था (disorder) का माप
 - संभावनाओं की संख्या
-

5. Gibbs Free Energy (गिब्स मुक्त ऊर्जा)

सबसे महत्वपूर्ण अवधारणा

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

जहाँ:

- ΔG = Gibbs free energy change
- ΔH = Enthalpy (ऊष्मा परिवर्तन)
- T = तापमान (Kelvin)

- $\Delta S = \text{Entropy परिवर्तन}$

ΔG का अर्थ

ΔG मान	अर्थ
$\Delta G < 0$	अभिक्रिया स्वस्फूर्त
$\Delta G = 0$	संतुलन
$\Delta G > 0$	अभिक्रिया अस्वस्फूर्त

6. Standard Free Energy Change (ΔG°)

परिभाषा

- Standard अवस्था:
 - 1 M concentration
 - 1 atm pressure
 - pH 7 (biochemical standard $\rightarrow \Delta G^\circ$)

समीकरण

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

7. Equilibrium Constant और Thermodynamics

K_{eq}	ΔG°
> 1	Negative
$= 1$	0
< 1	Positive

□ यह दर्शाता है कि:

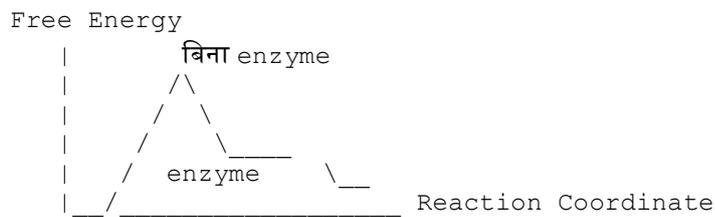
- अभिक्रिया किस ओर झुकी है

8. Thermodynamics बनाम Enzyme Catalysis

महत्वपूर्ण तथ्य

- Enzyme ΔG नहीं बदलता
 - Enzyme केवल **activation energy** (ΔG^\ddagger) कम करता है
-

Energy Diagram



9. Transition State (\ddagger) और ΔG^\ddagger

- ΔG^\ddagger = activation free energy
 - Enzyme transition state को stabilize करता है
 - Reaction तेज़ होती है
-

10. Enthalpy (ΔH) और Entropy (ΔS) का योगदान

Enthalpy-driven reactions

- Strong bonding
- ΔH negative

Entropy-driven reactions

- Disorder बढ़ता है
- ΔS positive

उदाहरण

- Protein folding $\rightarrow \Delta H \downarrow, \Delta S \downarrow$
-

11. Coupled Reactions (युग्मित अभिक्रियाएँ)

ATP coupling

Unfavorable reaction ($\Delta G > 0$)

+

ATP hydrolysis ($\Delta G < 0$)

Net $\Delta G < 0$

□ जीवन में यही आधार है

12. Thermodynamic Control बनाम Kinetic Control

Thermodynamic	Kinetic
ΔG पर निर्भर	ΔG^\ddagger पर निर्भर
Stable product	Fast product
High T, long time	Low T, short time

13. Temperature का प्रभाव

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

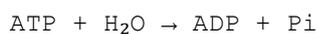
- T बढ़ाने पर:
 - Entropy-driven reactions favor होती हैं
-

14. Biological Thermodynamics के उदाहरण

(A) Glucose oxidation

- ΔG बहुत नकारात्मक
- अत्यधिक favorable

(B) ATP hydrolysis



$$\Delta G^\circ' \approx -30.5 \text{ kJ/mol}$$

15. Thermodynamic Parameters का प्रयोग

- Protein stability
- Ligand binding
- Drug–enzyme interaction

- Metabolic pathway direction
-

16. परीक्षा के लिए अत्यंत महत्वपूर्ण बिंदु

- ✓ ΔG feasibility बताता है, rate नहीं
 - ✓ Enzyme ΔG नहीं बदलता
 - ✓ ΔG° और K_{eq} आपस में जुड़े हैं
 - ✓ Coupling जीवन का आधार है
-

Effects of Organic Solvents on Enzyme Catalysis

(एन्जाइम उत्प्रेरण पर कार्बनिक विलायकों का प्रभाव)

1. भूमिका (Introduction)

जीवित कोशिकाओं में एन्जाइम सामान्यतः **जलीय माध्यम (aqueous medium)** में कार्य करते हैं।
लेकिन **औद्योगिक जैव-उत्प्रेरण (industrial biocatalysis)** में अक्सर:

- Hydrophobic substrates
- Esterification / transesterification
- Synthesis reactions

के लिए **organic solvents** का उपयोग किया जाता है।

□ इसलिए यह समझना ज़रूरी है कि:

कार्बनिक विलायक एन्जाइम की संरचना और क्रिया को कैसे प्रभावित करते हैं।

2. Organic Solvents क्यों प्रयोग किए जाते हैं?

1. Water-insoluble substrates को घोलने के लिए
2. Reaction equilibrium को synthesis की ओर मोड़ने के लिए
3. Side reactions कम करने के लिए
4. Microbial contamination रोकने के लिए
5. Product recovery आसान बनाने के लिए

3. Organic Solvent Systems के प्रकार

(A) Water-miscible solvents

(पानी में घुलने वाले)

- Methanol
- Ethanol
- Acetone
- DMSO

अधिकतर enzymes के लिए हानिकारक

(B) Water-immiscible solvents

(पानी में न घुलने वाले)

- Hexane
- Toluene
- Chloroform

अपेक्षाकृत कम हानिकारक

(C) Neat organic solvents

- लगभग बिना पानी
 - Low water activity (a_w)
-

4. Water Activity (a_w) – सबसे महत्वपूर्ण अवधारणा

परिभाषा

- Enzyme के चारों ओर उपलब्ध पानी की मात्रा

प्रभाव

- a_w कम \rightarrow enzyme rigid

- aw optimum → enzyme active
- aw बहुत अधिक → hydrolysis dominant

□ Enzyme को पानी चाहिए, पर घोल नहीं!

5. Organic Solvents एन्जाइम को कैसे प्रभावित करते हैं?

6. Structural Effects (संरचनात्मक प्रभाव)

(A) Protein Denaturation

- Polar solvents → H-bonds तोड़ते हैं
- Secondary और tertiary structure नष्ट

(B) Hydration Shell का हटना

- Solvent enzyme से पानी छीन लेता है
 - Active site collapse
-

7. Active Site पर प्रभाव

- Substrate binding बदल जाती है
 - Catalytic residues की ionization बदलती है
 - Transition state stabilization घटता है
-

8. Effect on Enzyme Kinetics

K_m पर प्रभाव

- अक्सर K_m बढ़ता है
- Substrate affinity घटती है

V_{max} पर प्रभाव

- V_{max} घट सकता है (denaturation)
- कुछ मामलों में बढ़ भी सकता है (rigidity effect)

9. Rigidity Hypothesis

सिद्धांत

- Organic solvent में enzyme:
 - अधिक rigid हो जाता है
 - Unfold नहीं होता

□ इससे:

- Stability बढ़ती है
 - लेकिन flexibility कम हो सकती है
-

10. Solvent Polarity और log P

log P

- Solvent की hydrophobicity का माप

log P का प्रभाव
ज्यादा denaturation
अधिक enzyme-friendly

□ $\log P > 2$ solvents आमतौर पर सुरक्षित

11. pH Memory Effect

- Enzyme जिस pH पर सूखा गया
 - Organic solvent में भी वही pH “याद” रखता है
-

12. Enantioselectivity पर प्रभाव

- Organic solvents:

- Stereoselectivity बदल सकते हैं
 - Drug synthesis में अत्यंत महत्वपूर्ण
-

13. Stabilization Strategies

(A) Enzyme Immobilization

- Support पर enzyme बाँधना

(B) Protein Engineering

- Solvent-tolerant enzymes

(C) Additives

- Polyols, salts, sugars
-

14. उदाहरण

Lipase

- Organic solvents में अत्यंत सक्रिय
- Esterification reactions

Subtilisin

- Detergent + solvents में स्थिर
-

15. औद्योगिक महत्व

- ✓ Biodiesel production
 - ✓ Pharmaceutical synthesis
 - ✓ Flavor & fragrance industry
 - ✓ Green chemistry
-

16. परीक्षा के लिए अत्यंत महत्वपूर्ण बिंदु

- ✓ Water activity enzyme activity नियंत्रित करता है
- ✓ Hydrophobic solvents ज़्यादा सुरक्षित
- ✓ $\log P > 2$ rule
- ✓ Lipases solvent-stable होते हैं

Structural Consequences

(संरचनात्मक परिणाम)

1. भूमिका (Introduction)

Structural consequences का मतलब है:

- किसी बाहरी या आंतरिक प्रभाव के कारण
- प्रोटीन/एन्ज़ाइम की संरचना में होने वाले परिवर्तन

यह परिवर्तन **protein function** और **stability** को प्रभावित करता है।

उदाहरण:

- तापमान वृद्धि → unfolding
- Organic solvent exposure → active site collapse
- Mutation → secondary structure disruption

2. Protein Structure Levels और Consequences

स्तर	संरचना	संभावित परिणाम (Consequence)
Primary	Amino acid sequence	Mutation → wrong folding
Secondary	α -helix, β -sheet	H-bond disruption → helix/strand loss
Tertiary	3D folding	Hydrophobic core collapse → enzyme inactivation
Quaternary	Subunit assembly	Subunit dissociation → oligomer destabilization

3. कारण (Causes)

(A) Physical Factors

- **Temperature** → heat denaturation
- **Pressure** → volume changes, unfolding
- **Mechanical stress** → shear-induced denaturation

(B) Chemical Factors

- **pH extremes** → ionization changes
- **Organic solvents** → hydration shell disruption
- **Detergents / Chaotropes** → disrupt non-covalent bonds

(C) Biological / Intrinsic Factors

- **Mutation / Post-translational modification**
 - **Proteolytic cleavage**
-

4. Structural Consequences के प्रकार

4.1 Denaturation

- Protein loses native structure
- Secondary & tertiary structure बिगड़ता है
- Activity खो जाती है

4.2 Aggregation

- Unfolded proteins आपस में जुड़ते हैं
- Insoluble aggregates बनते हैं

4.3 Partial Unfolding / Molten Globule

- Core structure बनी रहती है
- Flexible regions unfolded

4.4 Subunit Dissociation

- Quaternary structure टूटती है
 - Oligomeric enzymes inactivated
-

5. Molecular Mechanisms

- 1. Hydrogen Bond Disruption**
 - α -helix, β -sheet स्थिरता कम होती है
- 2. Hydrophobic Interaction Loss**
 - Core collapse \rightarrow aggregation
- 3. Electrostatic Interaction Changes**
 - Salt bridges टूटते हैं
 - pH sensitivity
- 4. Covalent Bond Breakage**
 - Disulfide bonds टूटने से tertiary structure टूटता है

6. Analytical Tools (Structural Consequences पता लगाने के लिए)

Technique	Observation
Circular Dichroism (CD)	Secondary structure changes
Fluorescence spectroscopy	Tertiary environment
FTIR spectroscopy	H-bond pattern
NMR	3D folding dynamics
X-ray crystallography	Atomic-level structure
DSC (Differential Scanning Calorimetry)	Thermal stability

7. Enzyme Function पर प्रभाव

- Active site deformation \rightarrow Catalysis कम
 - Substrate binding बदलती है \rightarrow K_m बढ़ सकता है
 - Enzyme stability घटती है \rightarrow Industrial application कठिन
-

8. Industrial और Biological महत्व

- 1. Enzyme Engineering**
 - Solvent/Temperature tolerant enzymes design
- 2. Drug Design**
 - Protein misfolding diseases समझना (Alzheimer, Prion)
- 3. Biocatalysis Optimization**
 - Structural integrity maintain करने के लिए additives/polyols

9. Protective Strategies

- **Immobilization** → aggregation रोकना
 - **Additives** → Polyols, sugars, salts
 - **Protein engineering** → Stability-enhancing mutations
 - **Optimal solvent selection** → Hydrophobic solvents
-

Kinetics of Enzyme Inhibition

(एन्जाइम अवरोध की गति)

1. भूमिका (Introduction)

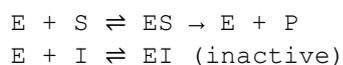
Enzyme inhibition वह प्रक्रिया है जिसमें कोई **अवरोधक (inhibitor)** एन्जाइम की क्रियाशीलता को **कम या बंद** कर देता है।

Kinetics of inhibition यह बताती है कि:

- अभिक्रिया गति कैसे घटती है
 - K_m और V_{max} पर inhibitor का प्रभाव
-

2. मूलभूत अवधारणा

Enzyme-Substrate-Inhibitor system



- E = Enzyme
- S = Substrate
- ES = Enzyme-substrate complex
- I = Inhibitor
- EI = Enzyme-Inhibitor complex

Observation:

- Substrate की उपस्थिति में भी inhibitor enzyme की activity घटाता है

3. प्रमुख प्रकार (Types of Enzyme Inhibition)

3.1 Competitive Inhibition (स्पर्धात्मक अवरोध)

- Inhibitor **active site** पर substrate से compete करता है
- Substrate का binding रोकता है

Characteristics

Parameter	Effect
K _m	बढ़ता है (affinity कम)
V _{max}	समान रहती है

Michaelis–Menten Equation

$$v = (V_{max} [S]) / (\alpha K_m + [S])$$

जहाँ:

$$\alpha = 1 + [I]/K_i$$

Graphical Representation

- Lineweaver–Burk: Lines intersect at **Y-axis**
- V_{max} same, slope बढ़ता है

3.2 Non-Competitive Inhibition (अस्पर्धात्मक अवरोध)

- Inhibitor **allosteric site** पर bind करता है
- Substrate binding प्रभावित नहीं होती

Characteristics

Parameter	Effect
K _m	समान
V _{max}	घट

Parameter	Effect
	ता है

Equation

$$v = (V_{max}/\alpha') [S] / (K_m + [S])$$

- $\alpha' = 1 + [I]/K_i$

Graphical Representation

- Lineweaver–Burk: Lines intersect at **X-axis**
- V_{max} घटता है, K_m समान

3.3 Uncompetitive Inhibition (अप्रत्यक्ष अवरोध)

- Inhibitor केवल **ES complex** से bind करता है

Characteristics

Parameter	Effect
K_m	घटता है
V_{max}	घटता है

Equation

$$v = V_{max} [S] / (K_m + \alpha' [S])$$

Graphical Representation

- Lineweaver–Burk: Lines **parallel** होती हैं

3.4 Mixed Inhibition (मिश्रित अवरोध)

- Inhibitor **E** और **ES** दोनों से bind कर सकता है

Characteristics

Parameter	Effect
K _m	बढ़ता या घटता है
V _{max}	घटता है

Graphical Representation

- Lines intersect **not on axis**
-

3.5 Irreversible Inhibition (अपरिवर्तनीय अवरोध)

- Inhibitor **covalent bond** बनाता है
- Enzyme permanently inactive हो जाता है
- Kinetics: $v \rightarrow 0$ over time

Examples:

- Penicillin (transpeptidase inhibitor)
 - Diisopropylfluorophosphate (DIPF) for serine proteases
-

4. Kinetic Analysis

1. **Lineweaver–Burk Plot**
 - Competitive → intersect Y-axis
 - Non-competitive → intersect X-axis
 - Uncompetitive → parallel
 2. **Dixon Plot**
 - $1/v$ vs $[I]$
 - K_i determination
 3. **Cornish-Bowden Plot**
 - $[S]/v$ vs $[I]$
-

5. Inhibitor Constant (K_i)

- K_i = inhibitor की **binding affinity**
- छोटे K_i → strong inhibitor

- Competitive inhibition में:

$$\alpha = 1 + [I]/K_i$$

6. Practical Applications

1. **Drug Design**
 - ACE inhibitors, HIV protease inhibitors
 2. **Metabolic Regulation**
 - Feedback inhibition (e.g., Threonine → Isoleucine)
 3. **Toxicology**
 - Organophosphate insecticides (acetylcholinesterase inhibitors)
 4. **Industrial Biocatalysis**
 - Solvent inhibitors, product inhibition
-

7. Factors Affecting Inhibition Kinetics

- Substrate concentration ([S])
 - Inhibitor concentration ([I])
 - Temperature
 - pH
 - Enzyme source / isoenzyme
-

8. Summary Table

Type	Binding Site	K _m	V _{max}	Graph (Lineweaver-Burk)
Competitive	Active site	↑	$\frac{S_a}{m_e}$	Intersect Y-axis
Non-competitive	Allosteric	$\frac{S}{a m_e}$	↓	Intersect X-axis
Uncompetitive	ES complex	↓	↓	Parallel
Mixed	E & ES	↓	↑/↓	Intersect not on axis
Irreversible	Covalent	—	↓ to 0	—

Unit 2

एंजाइम स्थिरीकरण (Immobilization of Enzymes) –

1. परिचय (Introduction):

एंजाइम स्थिरीकरण एक ऐसी तकनीक है जिसमें एंजाइम को किसी अघुलनशील समर्थन (solid support) या मैट्रिक्स के साथ जोड़ दिया जाता है ताकि वह प्रतिक्रिया में अपनी सक्रियता खोए बिना कई बार इस्तेमाल किया जा सके। इसका उद्देश्य एंजाइम की स्थिरता बढ़ाना, दोबारा उपयोग की सुविधा, और औद्योगिक प्रक्रियाओं में आर्थिक लाभ प्राप्त करना है।

2. एंजाइम स्थिरीकरण का महत्व (Importance of Immobilization):

- **पुनः उपयोग (Reuse):** स्थिरीकृत एंजाइम को बार-बार प्रयोग किया जा सकता है, जिससे लागत कम होती है।
 - **स्थिरता में वृद्धि (Increased Stability):** तापमान, pH और अन्य पर्यावरणीय कारकों के प्रति एंजाइम अधिक स्थिर होता है।
 - **प्रतिक्रिया नियंत्रण (Control of Reaction):** प्रतिक्रिया को नियंत्रित करना आसान होता है।
 - **उत्पाद शुद्धता (Purity of Product):** प्रतिक्रिया के बाद एंजाइम को आसानी से हटा लिया जाता है, जिससे उत्पाद शुद्ध रहता है।
 - **उच्च सांद्रता में प्रयोग (High enzyme concentration):** अधिक एंजाइम एक ही जगह सीमित किया जा सकता है।
-

3. एंजाइम स्थिरीकरण का सिद्धांत (Principle of Immobilization):

एंजाइम स्थिरीकरण की मूल अवधारणा यह है कि एंजाइम को किसी अघुलनशील माध्यम (support) पर इस प्रकार बांधा या फंसा दिया जाए कि उसकी क्रियाशील साइट खुली रहे और वह अपनी जैव रासायनिक क्रिया को सुचारू रूप से जारी रख सके। इसका लक्ष्य है:

- एंजाइम को ठोस मैट्रिक्स या सतह से स्थायी रूप से जोड़ना,
 - सक्रियता और प्रतिक्रिया क्षमता को बनाए रखना,
 - बाहरी परिस्थितियों के प्रभाव को कम करना।
-

4. एंजाइम स्थिरीकरण की यांत्रिक विधियाँ (Mechanisms of Enzyme Immobilization):

A. अवशोषण (Adsorption):

- एंजाइम को किसी ठोस सतह (जैसे activated charcoal, clay, alumina) पर कमजोर बलों (van der Waals, ionic, hydrogen bonding) के माध्यम से बांधा जाता है।
 - यह विधि सरल और सस्ती होती है।
 - कमजोर बलों के कारण स्थिरता कम होती है और परिस्थितियों से प्रभावित हो सकती है।
 - उदाहरण: एंजाइम को कोकोनट चारकोल पर बांधना।
-

B. सहसंयोजन (Covalent Bonding):

- एंजाइम के अमाइन, कार्बोक्सिल, हाइड्रॉक्सिल जैसे समूहों के साथ ठोस समर्थन के सक्रिय समूहों (जैसे ग्लूटारैल्डिहाइड) के बीच मजबूत रासायनिक बंधन बनाना।
 - यह बंधन बहुत स्थायी होता है, जिससे एंजाइम लम्बे समय तक सक्रिय रहता है।
 - परन्तु, कभी-कभी रासायनिक बंधन से एंजाइम की सक्रिय साइट प्रभावित हो सकती है।
 - उदाहरण: ग्लूटारैल्डिहाइड के साथ कोवैलेंट बंधन।
-

C. फंसाना (Entrapment):

- एंजाइम को पॉलिमर मैट्रिक्स (जैसे एल्लिजनेट, पॉलीएक्रिलामाइड जेल) के भीतर फंसा दिया जाता है।

- एंजाइम प्रतिक्रिया कर सकता है, पर सब्सट्रेट को मैट्रिक्स के भीतर आने में कुछ बाधा हो सकती है।
- बाहरी परत एंजाइम को वातावरण के हानिकारक प्रभाव से बचाती है।
- उदाहरण: एल्लिजनेट जेल में एंजाइम का फंसाना।

D. कैप्सुलेशन (Encapsulation):

- एंजाइम को एक अर्धपरगम्य झिल्ली (semipermeable membrane) या कैप्सूल में बंद कर देना।
- यह पूरी तरह से एंजाइम को बाहरी पर्यावरण से अलग कर देता है, परंतु सब्सट्रेट और उत्पाद आसानी से बाहर-भीतर हो सकते हैं।
- प्रक्रिया महंगी होती है।

E. क्रॉस-लिंकिंग (Cross-linking):

- एंजाइम के अणुओं को आपस में क्रॉस-लिंकिंग एजेंट (जैसे ग्लूटारएल्डिहाइड) की मदद से आपस में जोड़ना।
- इसमें समर्थन मैट्रिक्स की जरूरत नहीं होती।
- एंजाइम के समूह स्थायी रूप से जुड़े रहते हैं।
- इस विधि से स्थायित्व बढ़ता है।

5. एंजाइम स्थिरीकरण की तुलना (Comparison Table):

विधि	स्थिरता	लागत	एंजाइम सक्रियता	उपयोगिता	नुकसान
अवशोषण	कम	कम	उच्च	सरल, सस्ता	कमजोर बंधन, अस्थिर
सहसंयोजन	उच्च	मध्यम	मध्यम	स्थायी बंधन	सक्रिय साइट प्रभावित हो सकती है

विधि	स्थिरता	लागत	एंजाइम सक्रियता	उपयोगिता	नुकसान
फंसाना	मध्यम	मध्यम	मध्यम	एंजाइम संरक्षित	सब्सट्रेट पहुँच कम
कैप्सुलेशन	उच्च	उच्च	मध्यम	पूर्ण संरक्षण	महंगा, धीमी प्रतिक्रिया
क्रॉस-लिंकिंग	उच्च	मध्यम	मध्यम	मैट्रिक्स रहित	एंजाइम संरचना प्रभावित

एंजाइम क्रिया का तंत्र और प्रतिक्रिया प्रक्रिया तकनीकें (Mechanism of Enzyme Function and Reaction Process Techniques)

1. एंजाइम क्या है?

एंजाइम प्रोटीन अणु होते हैं जो जैव रासायनिक अभिक्रियाओं की गति को बढ़ाते हैं। वे जैव रासायनिक अभिक्रियाओं के लिए उत्प्रेरक (catalyst) की तरह काम करते हैं, जिससे प्रतिक्रियाएँ तीव्र होती हैं बिना स्वयं उपभोक्ता हुए।

2. एंजाइम क्रिया का तंत्र (Mechanism of Enzyme Function):

2.1. सब्सट्रेट और सक्रिय स्थल (Substrate and Active Site):

- एंजाइम की एक विशेष जगह होती है जिसे **सक्रिय स्थल (Active Site)** कहते हैं।
- सब्सट्रेट (substrate), जो कि प्रतिक्रिया के लिए पदार्थ होता है, सक्रिय स्थल में जुड़ता है।
- सक्रिय स्थल का आकार और रासायनिक प्रकृति सब्सट्रेट के लिए विशेष रूप से उपयुक्त होती है।

- सक्रिय स्थल और सब्सट्रेट की मिलन प्रक्रिया को 'Lock and Key' (ताला और चाबी) मॉडल या 'Induced Fit' (प्रेरित फिट) मॉडल द्वारा समझाया जाता है।
-

2.2. Lock and Key Model (ताला-चाबी मॉडल):

- इस मॉडल के अनुसार, एंजाइम का सक्रिय स्थल बिल्कुल उसी तरह होता है जैसे सब्सट्रेट की आकृति।
 - जैसे ताला में सही चाबी फिट होती है, वैसे ही सक्रिय स्थल में सब्सट्रेट फिट होता है।
 - यह मॉडल सरल है लेकिन कुछ सीमाएँ भी रखता है।
-

2.3. Induced Fit Model (प्रेरित फिट मॉडल):

- इस मॉडल में एंजाइम सक्रिय स्थल की आकृति को सब्सट्रेट के आने पर थोड़ा बदलता है ताकि सब्सट्रेट बेहतर फिट हो सके।
 - यह लचीला मॉडल अधिक व्यावहारिक है क्योंकि एंजाइम प्रतिक्रिया के दौरान सक्रिय स्थल को अनुकूलित करता है।
-

2.4. एंजाइम-सब्सट्रेट कॉम्प्लेक्स (Enzyme-Substrate Complex):

- जब सब्सट्रेट सक्रिय स्थल में जुड़ जाता है तो एंजाइम-सब्सट्रेट कॉम्प्लेक्स (ES complex) बनता है।
 - इस कॉम्प्लेक्स के बनने से प्रतिक्रिया की ऊर्जा बाधा (Activation Energy) कम हो जाती है।
-

2.5. कैसे एंजाइम प्रतिक्रिया को बढ़ाते हैं?

- **Activation Energy घटाते हैं:** एंजाइम प्रतिक्रिया के लिए आवश्यक ऊर्जा की सीमा को कम करते हैं, जिससे प्रतिक्रिया तेज़ होती है।

- रिएक्शन की दिशा निर्देशित करते हैं: एंजाइम प्रतिक्रिया को विशेष दिशा में नियंत्रित करते हैं।
 - ट्रांज़िशन स्टेट को स्थिर करते हैं: एंजाइम प्रतिक्रिया के दौरान अस्थायी अवस्था (transition state) को स्थिर करता है।
-

3. एंजाइम क्रिया की प्रक्रिया (Enzyme Reaction Process):

3.1. चरण 1: सब्सट्रेट बाइंडिंग (Substrate Binding):

सब्सट्रेट एंजाइम के सक्रिय स्थल से जुड़ता है।

3.2. चरण 2: कैटालिसिस (Catalysis):

एंजाइम सब्सट्रेट को प्रतिक्रिया में परिवर्तित करता है।
इस दौरान विभिन्न क्रियाएं होती हैं जैसे -

- सब्सट्रेट को तनाव में लाना,
- रासायनिक बंधन तोड़ना और बनाना,
- इलेक्ट्रॉन ट्रांसफर इत्यादि।

3.3. चरण 3: उत्पाद रिलीज़ (Product Release):

प्रतिक्रिया के बाद उत्पाद सक्रिय स्थल से निकल जाता है और एंजाइम पुनः मुक्त हो जाता है।

4. एंजाइम की प्रतिक्रिया प्रक्रिया तकनीकें (Reaction Process Techniques):

4.1. माइकलिस-मेंटेन समीकरण (Michaelis-Menten Equation):

- यह समीकरण एंजाइम की गति को समझने के लिए प्रयोग होता है।
- यह दर्शाता है कि प्रतिक्रिया की गति सब्सट्रेट सांद्रता पर निर्भर करती है।

- समीकरण:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

जहाँ,

(V) = प्रतिक्रिया की चाल,

(V_{\max}) = अधिकतम प्रतिक्रिया दर,

([S]) = सब्सट्रेट की सांद्रता,

(K_m) = माइकलिस स्थिरांक (substrate concentration at half (V_{\max}))।

4.2. इंहिबीशन (Inhibition):

एंजाइम प्रतिक्रिया को रोकने वाले अणु, जिन्हें इंहिबिटर कहा जाता है, सक्रिय स्थल पर या अन्य स्थानों पर बाइंड होकर एंजाइम की क्रिया को धीमा या बंद कर देते हैं।

- **प्रतिस्पर्धी इंहिबीशन (Competitive Inhibition):** इंहिबिटर सक्रिय स्थल पर सब्सट्रेट की जगह ले लेता है।
- **अप्रतिस्पर्धी इंहिबीशन (Non-competitive Inhibition):** इंहिबिटर अन्य स्थान पर बाइंड होता है और एंजाइम की संरचना बदल देता है।

4.3. कोफैक्टर और कोएंजाइम (Cofactors and Coenzymes):

- कई एंजाइमों को सक्रिय होने के लिए धातु आयन (जैसे Mg^{2+} , Zn^{2+}) या छोटे कार्बनिक अणु (जैसे NAD^+ , FAD) की आवश्यकता होती है। इन्हें कोफैक्टर और कोएंजाइम कहा जाता है।
- ये प्रतिक्रिया को सुचारू बनाने में मदद करते हैं।

4.4. एंजाइम स्थिरीकरण (Enzyme Immobilization):

- एंजाइम को किसी ठोस माध्यम पर स्थिर करके प्रतिक्रिया के लिए उपयोग किया जाता है।
 - इससे एंजाइम की पुनः उपयोगिता, स्थिरता और नियंत्रण बढ़ता है।
-

5. एंजाइम प्रतिक्रिया में अन्य तकनीकी पहलू (Other Technical Aspects):

- **pH और तापमान का प्रभाव:** प्रत्येक एंजाइम के लिए एक अनुकूल pH और तापमान होता है, जो उसकी क्रियाशीलता को प्रभावित करता है।
- **सब्सट्रेट की सांद्रता:** कम या अधिक सब्सट्रेट की मात्रा प्रतिक्रिया की गति को कम कर सकती है।
- **प्रतिक्रिया का नियंत्रित होना:** एंजाइम प्रतिक्रिया में 'फीडबैक इनहिबीशन' का महत्व होता है, जहाँ उत्पाद अपनी मात्रा बढ़ने पर एंजाइम को रोक सकता है।

एंजाइमेटिक बायोकन्वर्शन (Enzymatic Bioconversions) क्या है?

परिभाषा:

एंजाइमेटिक बायोकन्वर्शन वह प्रक्रिया है जिसमें एंजाइम की सहायता से किसी जैविक पदार्थ (substrate) को दूसरे उपयोगी पदार्थ (product) में बदला जाता है। यह प्रक्रिया जैवप्रौद्योगिकी (biotechnology) और औद्योगिक जैव रसायन में बहुत महत्वपूर्ण है।

स्टार्च से शुगर का परिवर्तन (Conversion of Starch to Sugar):

1. स्टार्च क्या है?

- स्टार्च एक बहुशर्करा (polysaccharide) है, जो पौधों में ऊर्जा संग्रह का मुख्य रूप है।
- यह ग्लूकोज (glucose) के अनेक अणुओं का जुड़ा हुआ जाल होता है।
- स्टार्च में दो प्रकार के अणु होते हैं:
 - एमाइलेज (Amylose):** सरल, सीधे जुड़े हुए ग्लूकोज के तंतु
 - एमाइलोपेक्टिन (Amylopectin):** शाखित संरचना वाला तंतु

2. स्टार्च से शुगर बनने की जरूरत:

- स्टार्च जैसे बड़े अणु शरीर द्वारा सीधे अवशोषित नहीं हो सकते।
- इसलिए स्टार्च को छोटे शर्करा अणुओं (जैसे ग्लूकोज, माल्टोज) में तोड़ना जरूरी होता है ताकि शरीर इसे ऊर्जा के रूप में उपयोग कर सके।
- उद्योगों में भी स्टार्च को शुगर में बदलकर खाद्य, पेय, और जैव ईंधन बनाने में उपयोग किया जाता है।

3. स्टार्च का शुगर में परिवर्तन (Enzymatic Conversion Process):

इस प्रक्रिया में मुख्य रूप से **एंजाइम** का उपयोग किया जाता है जो स्टार्च के अणुओं को छोटे-छोटे शुगर में विभाजित करते हैं।

मुख्य एंजाइम जो उपयोग होते हैं:

एंजाइम का नाम	कार्य
α -एमाइलेज (Alpha-amylase)	स्टार्च के लंबी श्रृंखलाओं को तोड़ता है, जिससे छोटे डेक्सट्रिन और माल्टोज बनते हैं।
β -एमाइलेज (Beta-amylase)	स्टार्च के अंत से दो-ग्लूकोज के यौगिक माल्टोज बनाता है।
ग्लूकोअमाइलेज (Glucoamylase)	डेक्सट्रिन और माल्टोज को ग्लूकोज में तोड़ता है।

एंजाइम का नाम	कार्य
पेक्टिनेज़ और अन्य सहायक एंजाइम	कुछ विशेष रूप से फलों या बीजों से स्टार्च निकालने के लिए।

प्रक्रिया के चरण:

1. स्टार्च का पेस्ट्रीकरण (Liquefaction):

- सबसे पहले, स्टार्च को पानी में मिलाकर पेस्ट बनाया जाता है।
- इसे उच्च तापमान (लगभग 95-105°C) पर गर्म किया जाता है ताकि स्टार्च के तंतु खुल जाएं (गैलाटिनाइजेशन)।
- फिर इसमें α -एमाइलेज मिलाकर इसे 80-90°C पर कुछ समय के लिए रखा जाता है।
- यह स्टार्च की लम्बी श्रृंखलाओं को तोड़कर शॉर्टर डेक्सट्रिन बनाता है।

2. सैक्रिफिकेशन (Saccharification):

- इसके बाद इस मिश्रण को ठंडा करके लगभग 55-60°C पर ग्लूकोअमाइलेज मिलाया जाता है।
- यह एंजाइम डेक्सट्रिन को छोटे-छोटे ग्लूकोज अणुओं में तोड़ देता है।
- परिणामस्वरूप मिश्रण में उच्च मात्रा में ग्लूकोज बन जाता है।

3. शुगर के उपयोग:

- प्राप्त ग्लूकोज का उपयोग खाद्य उद्योग में शर्करा के रूप में,
- फर्मेंटेशन में जैव इथेनॉल (bioethanol) या अन्य बायोप्रोडक्ट बनाने में,
- शराब और मदिरा निर्माण में किया जाता है।

4. प्रमुख तकनीकी बातें:

- एंजाइम की गतिविधि को बनाए रखने के लिए तापमान, pH, और समय का विशेष ध्यान रखा जाता है।
 - कभी-कभी एंजाइमों को स्थिर (immobilized) करके अधिक बार उपयोग के लिए तैयार किया जाता है।
 - प्रक्रम में स्टार्च की गुणवत्ता और शुद्धता भी महत्वपूर्ण होती है।
-

4. उदाहरण:

औद्योगिक स्तर पर कृषि आधारित स्टार्च (जैसे मक्का, आलू, चावल) से ग्लूकोज सिरप बनाना।

- मक्का के स्टार्च को α -एमाइलेज और ग्लूकोअमाइलेज की मदद से ग्लूकोज सिरप में बदला जाता है।
 - इस ग्लूकोज सिरप का उपयोग मिठाई, पेय पदार्थ, और जैव ईंधन बनाने में किया जाता है।
-

5. फायदे:

- प्राकृतिक और सुरक्षित: एंजाइम प्राकृतिक उत्प्रेरक हैं।
 - ऊर्जा की बचत: कम तापमान और कम ऊर्जा में प्रक्रिया होती है।
 - पर्यावरण अनुकूल: रासायनिक प्रक्रियाओं की तुलना में कम प्रदूषण।
 - उच्च शुद्धता: उत्पाद में कम अशुद्धि होती है।
-

बिल्कुल! यहाँ पर High Fructose Corn Syrup (HFCS) के बारे में हिंदी में गहराई से विस्तार से बताया गया है।

High Fructose Corn Syrup (HFCS) — उच्च फ्रक्टोज कॉर्न सिरप

परिचय:

High Fructose Corn Syrup (HFCS) एक मीठा, पानी जैसा सिरप होता है जो मुख्य रूप से मकई (कॉर्न) स्टार्च से बनाया जाता है। यह मुख्यतः ग्लूकोज और फ्रक्टोज (फलों की मिठास) का मिश्रण होता है, जिसमें फ्रक्टोज की मात्रा सामान्य चीनी से अधिक होती है। इसे खाद्य उद्योग में चीनी के विकल्प के रूप में व्यापक रूप से इस्तेमाल किया जाता है।

HFCS का इतिहास और विकास:

- HFCS का विकास 1960 और 1970 के दशक में हुआ।
- मकई की उपलब्धता और चीनी की कीमतों के कारण HFCS को मीठा करने वाले उत्पादों में लोकप्रिय विकल्प बनाया गया।
- आज यह मुख्य रूप से अमेरिका में सॉफ्ट ड्रिंक, जूस, बेकरी उत्पाद, और प्रोसेस्ड फूड में इस्तेमाल होता है।

HFCS कैसे बनता है? (निर्माण प्रक्रिया):

HFCS बनने की प्रक्रिया मकई स्टार्च के एंजाइमेटिक बायोकन्वर्शन पर आधारित होती है।

चरण 1: मकई स्टार्च का हाइड्रोलिसिस

- मकई स्टार्च को सबसे पहले α -एमाइलेज नामक एंजाइम की मदद से छोटे शर्करा अणुओं (डेक्सट्रिन) में तोड़ा जाता है।

- इसके बाद ग्लूकोअमाइलेज एंजाइम के द्वारा डेक्सट्रिन को पूरी तरह ग्लूकोज में परिवर्तित किया जाता है।
- इस प्रक्रिया को लिक्विफिकेशन और सैक्रिफिकेशन कहते हैं।

चरण 2: ग्लूकोज का फ्रक्टोज में रूपांतरण

- ग्लूकोज को ग्लूकोज आइसोमेरेज (Glucose Isomerase) नामक एंजाइम की मदद से फ्रक्टोज में बदला जाता है।
- यह एंजाइम ग्लूकोज के अणु को फ्रक्टोज में बदल देता है जिससे सिरप में मिठास बढ़ जाती है।

चरण 3: मिश्रण और अंतिम उत्पाद

- HFCS में फ्रक्टोज की मात्रा अलग-अलग होती है, सामान्यतः 42% या 55% फ्रक्टोज होता है।
- इसे विभिन्न अनुपातों में मिलाकर अलग-अलग HFCS के प्रकार बनाए जाते हैं, जैसे HFCS-42 और HFCS-55।

HFCS के प्रकार:

HFCS प्रकार	फ्रक्टोज की प्रतिशतता (%)	सामान्य उपयोग
HFCS-42	लगभग 42%	जूस, बेकरी उत्पाद, पैकड फूड
HFCS-55	लगभग 55%	सॉफ्ट ड्रिंक्स, सोडा, मीठे पेय
HFCS-90	लगभग 90%	HFCS-42 या HFCS-55 के साथ मिलाकर उपयोग

HFCS की विशेषताएं और फायदे:

- **मिठास:** HFCS चीनी (सुक्रोज) के लगभग समान या उससे अधिक मीठा होता है।
- **सस्ता:** मकई की उपलब्धता और उत्पादन प्रक्रिया के कारण यह चीनी की तुलना में सस्ता होता है।

- **पानी में घुलनशील:** इसे आसानी से तरल उत्पादों में मिलाया जा सकता है।
 - **प्रोसेसिंग में आसान:** इसे संभालना और पैक करना आसान है।
 - **लंबा शेल्फ-लाइफ:** यह उत्पादों को लंबे समय तक ताजा रखने में मदद करता है।
-

HFCS के उपयोग:

- सॉफ्ट ड्रिंक्स और सोडा में मीठास बढ़ाने के लिए
 - जूस और पैकड फलों के रस में
 - बेकरी उत्पादों में जैसे केक, कुकीज़, ब्रेड आदि
 - प्रोसेस्ड फूड जैसे सॉस, ड्रेसिंग, कैंडीज़
 - डेयरी उत्पाद जैसे आइसक्रीम, योगर्ट
-

HFCS के स्वास्थ्य प्रभाव:

स्वास्थ्य संबंधी चिंताएं:

- **मोटापा और मधुमेह:** HFCS के अधिक सेवन को मोटापा, टाइप 2 डायबिटीज, और मेटाबोलिक सिंड्रोम से जोड़ा गया है।
- **लीवर में फैट जमा होना:** फ्रक्टोज अधिक मात्रा में लेने पर लीवर में फैटी जमा हो सकता है जिससे फैटी लीवर रोग हो सकता है।
- **हार्मोनल असंतुलन:** फ्रक्टोज अधिक सेवन से शरीर में इंसुलिन प्रतिरोध बढ़ सकता है।
- **मधुमेह और हृदय रोग का खतरा:** लगातार HFCS के अधिक सेवन से हृदय रोग का खतरा बढ़ सकता है।

ध्यान दें कि स्वास्थ्य प्रभाव की चर्चा वैज्ञानिक अध्ययनों पर आधारित है और उचित मात्रा में सेवन करने पर आमतौर पर कोई गंभीर समस्या नहीं होती।

HFCS और साधारण चीनी में अंतर:

विशेषता	HFCS	साधारण चीनी (सुक्रोज)
स्रोत	मकई स्टार्च	गन्ना या चुकंदर से प्राप्त
संरचना	ग्लूकोज + फ्रक्टोज (स्वतंत्र)	ग्लूकोज + फ्रक्टोज (जुड़ा हुआ)
मीठास	अधिक मीठा (अलग-अलग अनुपात)	मध्यम मीठा
स्वरूप	तरल (सिरप)	ठोस (क्रिस्टल)
उत्पादन प्रक्रिया	एंजाइमेटिक प्रक्रिया	प्राकृतिक क्रिस्टलीकरण

Interestified Fat क्या है? —

परिचय:

Interestification एक रासायनिक या एंजाइमेटिक प्रक्रिया है, जिसमें वसा (fat) के ट्राइग्लिसराइड (triacylglycerol) अणुओं के फैटी एसिड (fatty acids) को पुनः व्यवस्थित किया जाता है। इस प्रक्रिया से वसा की भौतिक और रासायनिक गुणधर्मों (जैसे पिघलने का तापमान, स्थिरता, बनावट) में सुधार होता है।

Interestified fats वे वसा होती हैं जो इस प्रक्रिया से गुजर चुकी होती हैं।

Interestified Fat की आवश्यकता क्यों?

- वसा का पिघलने का तापमान और बनावट खाद्य उत्पादों के स्वाद, स्थिरता और उपयोगिता को प्रभावित करता है।
- प्राकृतिक वसा कभी-कभी खाद्य उद्योग की जरूरतों के लिए उपयुक्त नहीं होते, जैसे:
 - उचित पिघलने वाला तापमान चाहिए (माल्टिंग, बेकिंग में)।
 - बिना हाइड्रोजनीकरण के स्वास्थ्यवर्धक विकल्प चाहिए।
- Interestification से वसा को कस्टमाइज करके उसकी विशेषताएँ बदली जा सकती हैं।

Interestification प्रक्रिया क्या है?

1. ट्राइग्लिसराइड संरचना:

- ट्राइग्लिसराइड तीन फैटी एसिड से मिलकर बनता है, जो ग्लिसरॉल के तीन हाइड्रॉक्सिल समूहों से जुड़े होते हैं।
- Interestification में इन फैटी एसिडों को पुनः व्यवस्थित (rearranged) किया जाता है, ताकि उनकी स्थिति बदली जा सके।

2. प्रक्रिया के प्रकार:

प्रकार	विवरण
रासायनिक Interestification	सामान्यतः सोडियम मेथाक्साइड जैसे कैटेलिस्ट की मदद से फैटी एसिडों की स्थिति बदलना।
एंजाइमेटिक Interestification	Lipase एंजाइम की मदद से फैटी एसिडों को कट कर, फिर से जोड़ा जाता है, जिससे अधिक कंट्रोल होता है।

3. कैसे होता है Interestification?

- वसा को एक कैटेलिस्ट (रासायनिक या एंजाइम) के साथ मिलाकर एक नियंत्रित तापमान पर रखा जाता है।
- इसमें फैटी एसिड ग्लिसरॉल की अलग-अलग जगहों पर स्थानांतरित हो जाते हैं।
- इस पुनर्संयोजन से वसा का संरचनात्मक रूप बदल जाता है, लेकिन कुल फैटी एसिड का अनुपात नहीं बदलता।

Interestified Fat के लाभ:

1. बिना हाइड्रोजनीकरण के विकल्प:

- पारंपरिक हाइड्रोजनीकरण से trans-fat बनते हैं, जो स्वास्थ्य के लिए हानिकारक होते हैं।
 - Interestification trans-fat के बिना वसा की स्थिरता और बनावट सुधारने का तरीका है।
2. **अनुकूल पिघलने का तापमान:**
- Interestified fats का पिघलने का तापमान नियंत्रित किया जा सकता है, जो बटर, मार्जरीन और अन्य बेकिंग उत्पादों में उपयोगी होता है।
3. **बेहतर स्थिरता:**
- Shelf life बढ़ाने और ऑक्सीकरण (rancidity) को कम करने में मदद।
4. **फ्लेक्सिबिलिटी:**
- उत्पाद की जरूरत के हिसाब से वसा की बनावट, पिघलने की गति और कठोरता को बदलना संभव।

Interestified Fat के उपयोग:

- **मार्जरीन और बटर:** उपयुक्त बनावट और स्थिरता के लिए।
- **बेकरी उत्पाद:** जैसे कुकीज़, केक, पेस्ट्री में वसा की गुणवत्ता सुधारने के लिए।
- **स्प्रेड्स और टॉपिंग:** स्मूथ और क्रीमी बनावट के लिए।
- **कन्फेक्शनरी:** मिठाई और चॉकलेट जैसे उत्पादों में।
- **फ्रोजन फूड:** जैसे आइसक्रीम में बेहतर स्थिरता के लिए।

Interestified Fat और Trans-Fat में अंतर:

विशेषता	Interestified Fat	Trans-Fat
उत्पादन प्रक्रिया	रासायनिक/एंजाइमेटिक पुनर्संयोजन	हाइड्रोजनीकरण
स्वास्थ्य प्रभाव	ट्रांस फैट के बिना बेहतर विकल्प	हृदय रोग और अन्य समस्याओं से जुड़ा
पिघलने का तापमान नियंत्रित किया जा सकता है	पिघलने का तापमान बढ़ता है	
रासायनिक संरचना	फैटी एसिड पुनः व्यवस्थित	असंतृप्त फैटी एसिड में ट्रांस बंधन

Interestified Fat की सीमाएं और सावधानियां:

- Interestification से वसा के गुण बेहतर होते हैं, लेकिन इसे अधिक बार या अधिक तापमान पर करने से वसा की गुणवत्ता पर नकारात्मक प्रभाव पड़ सकता है।
- बाजार में “interestified fats” को अच्छे विकल्प के रूप में बढ़ावा दिया जा रहा है, लेकिन स्वास्थ्य पर इनके प्रभावों पर अधिक शोध जरूरी है।
- उपभोक्ता जागरूकता बढ़नी चाहिए ताकि सही उत्पाद का चुनाव किया जा सके।

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन (Hydrolyzed Protein) क्या है?

परिभाषा:

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन वह प्रोटीन होता है जिसे हाइड्रोलिसिस (Hydrolysis) की प्रक्रिया द्वारा छोटे छोटे पेप्टाइड्स (peptides) और अमीनो एसिड में तोड़ा गया हो। हाइड्रोलिसिस एक रासायनिक प्रक्रिया है जिसमें पानी के अणु की मदद से प्रोटीन के पेप्टाइड बंधन टूट जाते हैं।

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन बनने की प्रक्रिया:

1. प्रोटीन स्रोत:

- हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन किसी भी प्रकार के प्रोटीन से बनाया जा सकता है जैसे:
 - सोयाबीन प्रोटीन
 - दूध प्रोटीन (casein, whey)
 - मछली या मांस प्रोटीन
 - अनाज प्रोटीन

2. हाइड्रोलिसिस (Hydrolysis):

- हाइड्रोलिसिस प्रक्रिया के दौरान प्रोटीन को छोटे भागों में तोड़ा जाता है। यह प्रक्रिया निम्न तरीकों से हो सकती है:
 - **एंजाइमेटिक हाइड्रोलिसिस:** प्रोटीज़ (protease) नामक एंजाइमों की मदद से प्रोटीन के पेप्टाइड बंधन तोड़े जाते हैं। यह सबसे सामान्य और सुरक्षित तरीका है।
 - **एसिड या क्षार आधारित हाइड्रोलिसिस:** तेज और रासायनिक तरीका जिसमें एसिड (जैसे HCl) या बेस (जैसे NaOH) का उपयोग होता है।
-

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन के लाभ और विशेषताएं:

1. तेज पाचन और अवशोषण:

- चूंकि हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन पहले से ही छोटे पेप्टाइड्स और अमीनो एसिड में टूट चुका होता है, इसे शरीर आसानी से पचा और अवशोषित कर सकता है।
- यह उन लोगों के लिए उपयोगी होता है जिनका पाचन तंत्र कमजोर हो या जिन्हें एलर्जी हो।

2. एलर्जी कम होना:

- कुछ लोगों को पूर्ण प्रोटीन से एलर्जी होती है, लेकिन हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन के छोटे भाग एलर्जी की संभावना कम करते हैं।
- इसलिए यह शिशुओं के फॉर्मूला दूध और विशेष चिकित्सीय आहार में उपयोग होता है।

3. स्वाद और बनावट में सुधार:

- हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन का स्वाद आमतौर पर थोड़ा कड़वा होता है, इसलिए खाद्य उत्पादों में इसका संतुलित उपयोग जरूरी होता है।
- इसे स्वाद को बेहतर बनाने के लिए मिश्रित किया जा सकता है।

4. उद्योगों में उपयोग:

- **खाद्य उद्योग:**
 - बेबी फूड, एनर्जी बार, प्रोटीन सप्लीमेंट, स्पोर्ट्स ड्रिंक आदि में।

- **कॉस्मेटिक उद्योग:**
 - त्वचा और बालों के उत्पादों में नमी और पोषण बढ़ाने के लिए।
- **दवा उद्योग:**
 - पाचन संबंधी रोगों में उपचार के लिए।

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन का उपयोग क्यों किया जाता है?

कारण	विवरण
पाचन में आसानी	छोटे पेप्टाइड्स और अमीनो एसिड तेजी से पचते हैं।
एलर्जी को कम करना	एलर्जी प्रतिक्रिया कम होती है।
प्रोटीन की बायोउपलब्धता	शरीर द्वारा अधिक प्रभावी अवशोषण।
विशेष आहार	शिशु, बुजुर्ग और बीमार लोगों के लिए उपयुक्त।

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन और सामान्य प्रोटीन में अंतर:

विशेषता	हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन	सामान्य प्रोटीन
संरचना	छोटे पेप्टाइड्स और अमीनो एसिड में टूटे हुए लंबी पॉलिपेप्टाइड श्रृंखला	
पाचन क्षमता	अधिक आसान और तेज	धीमी और जटिल
एलर्जी संभावनाएं	कम	अधिक संभावित
स्वाद	कड़वा या तीखा हो सकता है	सामान्य स्वाद

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन का उत्पादन उदाहरण (सोया प्रोटीन):

- सोया प्रोटीन को पहले पानी में घोला जाता है।
- फिर इसे प्रोटीज एंजाइम के साथ नियंत्रित तापमान और pH में हाइड्रोलाइज किया जाता है।
- प्रक्रिया के बाद प्रोटीन छोटे पेप्टाइड्स में टूट जाता है।
- इसे सूखा कर पाउडर या तरल रूप में संग्रहित किया जाता है।

हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन का डाउनस्ट्रीम प्रोसेस (Downstream Process of Hydrolyzed Protein)

डाउनस्ट्रीम प्रोसेस के चरण:

1. सेल ब्रेकडाउन (Cell Disruption) / प्रोटीन स्रोत का तैयारी:

- यदि प्रोटीन कोशिका के अंदर होता है (जैसे सोया, दूध, मछली इत्यादि से), तो पहले कोशिकाओं को तोड़ना पड़ता है।
- इसके लिए भौतिक (उदाहरण: होमोजेनाइजेशन, अल्ट्रासोनिकेशन) या रासायनिक विधियाँ अपनाई जाती हैं।

2. हाइड्रोलिसिस (Hydrolysis):

- कच्चे प्रोटीन को एंजाइम (जैसे प्रोटीज) या रासायनिक एजेंट (जैसे HCl, NaOH) की मदद से छोटे पेप्टाइड्स और अमीनो एसिड में तोड़ा जाता है।
- यह प्रक्रिया नियंत्रित तापमान और pH पर की जाती है ताकि अधिकतम हाइड्रोलिसिस हो सके।

3. ठोस-तरल पृथक्करण (Solid-Liquid Separation):

- हाइड्रोलिसिस के बाद मिश्रण में ठोस अवशेष, अनघुलनशील पदार्थ और तरल होते हैं।
- सेंट्रिफ्यूगेशन (Centrifugation) या फिल्ट्रेशन (Filtration) द्वारा ठोस को हटाकर तरल भाग (जिसमें हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन होता है) अलग किया जाता है।

4. शुद्धिकरण (Purification):

- इस चरण में हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन को अन्य अशुद्धियों जैसे लिपिड्स, पॉलिसैकेराइड्स, अकार्बनिक लवणों आदि से अलग किया जाता है।
 - सामान्य शुद्धिकरण तकनीकें:
 - **सल्ट प्रिसिपिटेशन (Salt Precipitation):** अमोनियम सल्फेट का उपयोग।
 - **डायलिसिस (Dialysis):** छोटे आयनों को हटाने के लिए।
 - **क्रोमैटोग्राफी (Chromatography):** आयनिक विनिमय, गैल सेफिल्टेशन या अफिनिटी।
-

5. संकेन्द्रण (Concentration):

- शुद्ध हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन को अधिक सांद्रता में लाने के लिए तरल को कम किया जाता है।
 - इसके लिए **उल्ट्राफिल्ट्रेशन (Ultrafiltration)** या **वाष्पीकरण (Evaporation)** का उपयोग होता है।
-

6. सूखाना (Drying):

- अंतिम उत्पाद को पाउडर के रूप में संग्रहित करने के लिए सूखा जाता है।
 - इसके लिए **स्प्रे ड्रायर (Spray Dryer)** या **लियोफिलाइजेशन (Freeze Drying)** का उपयोग किया जाता है।
-

7. फार्मूलेशन (Formulation) और पैकेजिंग (Packaging):

- सूखे पाउडर में आवश्यकतानुसार एंटी-कैकरिंग एजेंट, फ्लेवर, और संरक्षक मिलाए जा सकते हैं।
 - इसे एयर-टाइट कंटेनर में पैक किया जाता है ताकि नमी और बैक्टीरिया से सुरक्षा हो।
-

8. गुणवत्ता नियंत्रण (Quality Control):

- अंतिम उत्पाद की शुद्धता, पाचन क्षमता, स्वाद, रंग, नमी, और संचित अमीनो एसिड की जांच की जाती है।
 - आवश्यक मानकों के अनुसार परीक्षण कर उत्पाद की प्रमाणिकता सुनिश्चित की जाती है।
-

डाउनस्ट्रीम प्रोसेस का महत्व:

- हाइड्रोलाइज्ड प्रोटीन को शुद्ध, स्थिर और उपयोगी बनाना।
 - उत्पाद की shelf-life बढ़ाना।
 - उपयोगकर्ता के स्वास्थ्य और सुरक्षा के मानकों को पूरा करना।
 - खाद्य या फार्मास्युटिकल उद्योग में उपयुक्त बनाना।
-

Baking by Amylases

(अमाइलेज के माध्यम से बेकिंग)

1. भूमिका (Introduction)

Amylases ऐसे एन्जाइम हैं जो **starch** (आटे में उपस्थित) को **glucose** और **maltose** जैसे छोटे sugars में तोड़ते हैं।

Baking में amylases का महत्व:

- Dough में sugar बनाना → yeast fermentation के लिए substrate
 - Crust और crumb का रंग (Maillard reaction)
 - Texture और softness बनाए रखना
 - Shelf-life बढ़ाना
-

2. प्रकार (Types of Amylases)

2.1 α -Amylase

- Endoenzyme (internal glycosidic bonds काटता है)
- Randomly starch को smaller dextrins में तोड़ता है
- Thermostable α -amylases: Industrial baking में उपयोग

2.2 β -Amylase

- Exoenzyme (non-reducing end से maltose release)
- Maltose syrup preparation में मददगार

2.3 Glucoamylase

- α -1,4 और α -1,6 glycosidic bonds को तोड़कर glucose बनाता है
- Dough sugar content increase करने में उपयोग

3. Mechanism in Baking

1. **Starch hydrolysis**
2. $\text{Starch} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Dextrins} + \text{Maltose} + \text{Glucose}$
3. **Yeast fermentation**
4. $\text{Glucose} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{Ethanol}$
5. **CO₂ production** \rightarrow dough rises (leavening)
6. **Sugar availability** \rightarrow crust color (Maillard reaction)

4. Dough Properties पर प्रभाव

Parameter	Effect of Amylase
Sugar content	बढ़ता है (fermentation substrate)
Dough viscosity	घटता है (softening)
Volume of bread	बढ़ता है (better leavening)
Crumb softness	बढ़ती है
Shelf-life	Retard staling (retrogradation of starch)

5. Industrial Baking में उपयोग

5.1 Bread Making

- α -Amylase: starch dextrinization → yeast feeding
- β -Amylase: maltose formation → flavor
- Glucoamylase: sugar increase → extended fermentation

5.2 Cake and Pastry

- Dough softening → better texture
- Moisture retention → shelf-life बढ़ाता है

5.3 Biscuit Industry

- Starch hydrolysis → sweetness adjustment
- Browning enhancement (Maillard reaction)

6. Enzyme Sources for Baking

- Microbial sources:
 - *Aspergillus oryzae*
 - *Bacillus subtilis*
- Plant sources:
 - Barley (β -amylase)
- Animal sources:
 - Pancreatic α -amylase (rare in industrial use)

7. Parameters Affecting Amylase Activity in Baking

1. **Temperature**
 - Optimal: 50–70°C for α -amylase
 - Too high → denaturation
2. **pH**
 - Dough: mildly acidic/neutral (pH 5.5–7)
3. **Water Activity**
 - Sufficient moisture required for starch hydrolysis
4. **Time**
 - Mixing and fermentation duration → sugar release

8. Baking Quality Improvements

1. **Volume increase** → better leavening
2. **Crust color** → Maillard reaction enhanced by reducing sugars

3. **Texture softening** → improved crumb
 4. **Shelf-life extension** → reduced staling
-

9. Advantages of Using Amylases in Baking

- Controlled fermentation
 - Consistent dough quality
 - Reduced need for chemical improvers
 - Better flavor and color
 - Extended freshness
-

10. Limitations / Considerations

- Over-dosage → sticky dough, excessive browning
 - Enzyme stability → temperature-sensitive
 - Cost factor → industrial enzyme procurement
-

11. Summary Table

Enzyme	Function in Baking
α -Amylase	Starch → dextrins → fermentation substrate
β -Amylase	Maltose formation → flavor, sweetness
Glucoamylase	Starch → glucose → yeast feed, Maillard reaction

Deoxygenation and Desugaring by Glucose Oxidase

(ग्लूकोज़ ऑक्सीडेज द्वारा ऑक्सीजन हटाना और शुगर कम करना)

1. भूमिका (Introduction)

Glucose Oxidase (GOx) एक flavoenzyme है जो मुख्यतः **D-glucose** को **D-glucono- δ -lactone** और **H₂O₂** में ऑक्सीकरण करता है।

- **Reaction:**
- β -D-Glucose + O₂ → D-Glucono- δ -lactone + H₂O₂

- D-Glucono- δ -lactone पानी में hydrolyze होकर **gluconic acid** बनाता है:
- $D\text{-Glucono-}\delta\text{-lactone} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Gluconic acid}$

Applications:

1. Food Industry – Juice stabilization
2. Baking – Dough conditioning
3. Glucose biosensors
4. Oxygen removal in beverages (Deoxygenation)

2. Deoxygenation (ऑक्सीजन हटाना)

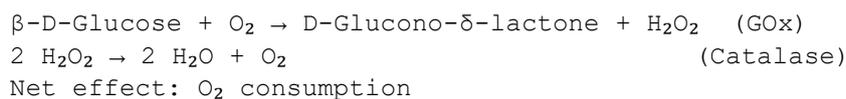
Mechanism:

- Glucose oxidase O_2 का उपयोग करके glucose को oxidize करता है
- इस प्रक्रिया में O_2 consume होता है
- H_2O_2 बनता है (जिसे catalase द्वारा H_2O और O_2 में convert किया जा सकता है)

Significance in Deoxygenation:

- Juices और beverages में dissolved oxygen घटाना \rightarrow shelf-life बढ़ता है
- Oxidation-mediated spoilage रोकता है
- Color और flavor stability बढ़ाता है

Equations:



3. Desugaring (शुगर कम करना)

Mechanism:

- Glucose oxidase **reduces glucose concentration**
- Glucose \rightarrow Gluconic acid (slightly acidic)
- Sweetness कम होती है (desugaring effect)

Applications:

- Sugar content reduction in beverages
- Controlled sweetness in food products

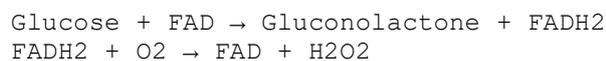
- Pre-treatment before fermentation

Example:

- Grape juice treatment → glucose partially converted → less sweet, improved fermentation

4. Reaction Mechanism (Tetrahydroflavin cycle)

1. Glucose oxidase के **FAD cofactor** में electron transfer
2. Glucose oxidized → FAD reduced
3. FADH₂ O₂ से electron transfer करता है → H₂O₂ बनता है
4. FAD regenerated → cycle repeat



5. Industrial Applications

5.1 Food and Beverages

- Juice stabilization (O₂ removal → shelf-life बढ़ाना)
- Soft drinks, wine, beer → flavor preservation

5.2 Baking

- Dough conditioning → improved volume and texture
- Oxygen removal → prevents oxidation of flour components

5.3 Biosensors

- Glucose oxidase electrode → glucose detection in blood (diabetes monitoring)

5.4 Biocatalysis

- Controlled desugaring → substrate modification in bioprocesses

6. Factors Affecting GOx Activity

Factor	Effect
pH	Optimum ~5.5–6.0

Factor	Effect
Temperature	Optimum ~35–40°C
Oxygen concentration	Required for activity
Glucose concentration	Substrate-dependent kinetics
Presence of catalase	Converts H ₂ O ₂ → reduces enzyme inhibition

7. Advantages of GOx-mediated Deoxygenation/Desugaring

- Mild conditions (no heat)
- Specific for glucose
- Improves food stability
- Reduces artificial additives requirement

8. Limitations / Considerations

- H₂O₂ accumulation → enzyme inactivation, needs catalase
- Limited by glucose concentration
- pH and temperature sensitivity

9. Summary Table

Process	Role of Glucose Oxidase	Outcome
Deoxygenation	Glucose + O ₂ → Gluconolactone + H ₂ O ₂	Dissolved O ₂ decreases, shelf-life ↑
Desugaring	Glucose → Gluconic acid	Sweetness decreases, controlled sugar content
Biosensor	Glucose oxidation → H ₂ O ₂	Glucose level detected electrochemically

Beer Mashing

(बीयर मेषिंग)

1. भूमिका (Introduction)

Mashing बीयर बनाने की प्रक्रिया का एक महत्वपूर्ण चरण है। इसमें **malts** (जौ या अन्य अनाज) को गर्म पानी में मिलाकर **starch** और **proteins** को **fermentable sugars** और **amino acids** में बदला जाता है।

- उद्देश्य:

1. Starch को fermentable sugars में बदलना → yeast के लिए substrate
2. Proteins को peptides और amino acids में बदलना → yeast nutrition
3. Flavor और mouthfeel बनाना

2. Raw Materials in Mashing

Component	Role
Malted Barley	Starch source + enzymes (α , β -amylase, proteases)
Water	Solvent, temperature control
Adjuncts (corn, rice)	Extra fermentable sugars
pH Adjusters	Optimal enzyme activity

3. Mashing का सिद्धांत (Principle)

1. **Starch gelatinization**
 - Malt में starch granules → heat और water presence में swell होते हैं
 - Enzymes के लिए substrate उपलब्ध
2. **Enzyme-mediated hydrolysis**
 - α -Amylase → starch → dextrins (random cleavage)
 - β -Amylase → maltose (disaccharide) formation
 - Proteases → proteins → peptides और amino acids
3. **Fermentable sugar production**
 - Glucose, maltose, maltotriose → yeast fermentation substrate
4. **pH and Temperature control**
 - Optimal conditions maintain enzymes' activity

4. Enzyme Role in Mashing

Enzyme	Function
α -Amylase	Endo-enzyme, randomly starch → dextrins → viscosity control
β -Amylase	Exo-enzyme, starch → maltose → fermentable sugar
Limit dextrinase / α -	α -1,6 linkages → fermentable sugars

Enzyme	Function
glucosidase	
Proteases	Proteins → peptides, amino acids → yeast nutrition
Lipases & Phytases	Lipid modification, mineral availability

5. Mashing Process Steps

1. **Mixing**
 - Crushed malt + hot water → “mash”
 - Water temperature: 45–70°C depending on enzyme
2. **Resting / Saccharification**
 - α -Amylase active: 65–70°C
 - β -Amylase active: 55–60°C
 - Time: 30–90 minutes
3. **Protein Rest**
 - 45–55°C → proteases active
 - Peptides formation → yeast nutrients
4. **Temperature Raising (Mash-out)**
 - ~75–78°C → enzymes inactivated
 - Viscosity reduce, preparation for lautering
5. **Lautering / Wort Separation**
 - Liquid fraction (wort) separated → fermentable sugars for fermentation

6. Temperature and pH Effects

Parameter	Optimal Range
α -Amylase	65–70°C
β -Amylase	55–60°C
Protease	45–55°C
pH	5.2–5.6
Water hardness	Moderate → enzyme activity maintained

7. Sugar Profile in Wort

Sugar	Fermentability
Glucose	High
Maltose	High
Maltotriose	Medium

Sugar	Fermentability
Dextrins	Low (residual → body, mouthfeel)

Wort composition determines **alcohol content, flavor, and body of beer.**

8. Industrial Significance

1. **Controlled fermentation**
 - Consistent alcohol %
 - Predictable yeast growth
 2. **Flavor and body**
 - Dextrin content → mouthfeel
 - Amino acids → Maillard reaction, flavor precursors
 3. **Efficiency**
 - Maximum sugar extraction
 - Reduced raw material loss
-

9. Advanced Mashing Techniques

- **Step Mashing**
 - Multiple temperature rests → different enzymes activated sequentially
 - **Infusion Mashing**
 - Single-temperature mash
 - **Decoction Mashing**
 - Part of mash boiled, enzymes denatured, flavor enhancement
-

Chill Proofing

(चिल प्रूफिंग)

1. भूमिका (Introduction)

Chill Proofing एक प्रक्रिया है जिसमें बीयर को ठंडे तापमान पर स्थिर और स्पष्ट बनाए रखने के लिए haze-forming proteins और polyphenols को हटाया जाता है।

- समस्या:

- ठंडा करने पर बीयर में धुंधलापन (cloudiness) या precipitation बन जाता है
 - इसे **chill haze** कहते हैं
 - उद्देश्य:
 - बीयर को ठंडे तापमान पर **स्वच्छ और stable** रखना
 - Shelf-life और consumer acceptability बढ़ाना
-

2. Chill Haze का कारण

- **Proteins (proline-rich, haze active)**
- **Polyphenols (tannins, catechins)**
- ठंडा होने पर ये molecules **hydrogen bonding और hydrophobic interactions** के माध्यम से **complex बनाते हैं** → visible haze

Key Factors

1. High protein content (especially barley malt)
 2. High polyphenol content (hops, malt)
 3. Low pH → complex stability बढ़ाता है
 4. Low temperature → solubility घटती है
-

3. Chill Proofing के लिए Enzymes

3.1 Proteolytic Enzymes (Proteases)

- Protein molecules को **smaller peptides** में तोड़ते हैं
- Haze-active proteins को eliminate करते हैं

3.2 Polyphenol-oxidizing Enzymes (Polyphenol Oxidases)

- Polyphenols को modify या precipitate करते हैं
- Protein-polyphenol interactions कम होती हैं

3.3 β -Glucanases

- Wort viscosity घटाते हैं → haze formation कम होती है
-

4. Chill Proofing Process

1. Cold Stabilization

- Beer को $\sim 0-4^{\circ}\text{C}$ पर 1-7 दिन रखें
- Proteins और polyphenols precipitate हो जाते हैं
- Precipitates filter करके हटाए जाते हैं

2. Enzyme Treatment

- Proteases + glucanases add करके cold haze-active molecules degrade करते हैं
- Process beer stability बढ़ाती है

3. Filtration / Centrifugation

- Precipitates remove करने के लिए
- Clarity सुनिश्चित करना

4. Additives (Optional)

- PVPP (polyvinylpolypyrrolidone) \rightarrow polyphenols bind
- Silica gel \rightarrow haze active proteins adsorb

5. Chemical Basis of Chill Haze

- **Hydrogen bonding & hydrophobic interactions** between proteins & polyphenols
- Haze formation reversible at cold temperatures
- Chill proofing \rightarrow remove/reduce these molecules \rightarrow **cold stability**

Equation (simplified):

Proteins + Polyphenols \rightarrow Chill haze (cold temp)

Enzymes / PVPP \rightarrow Proteins/Polyphenols removed \rightarrow Clear beer

6. Analytical Monitoring

Parameter	Method
Protein content	Biuret / Bradford assay
Polyphenol content	Folin-Ciocalteu assay
Chill haze test	Cold storage & optical density
Turbidity	Nephelometry

7. Industrial Significance

1. Consumer Acceptance

- Clear beer \rightarrow preferred quality

2. Shelf-life Improvement

- Cold-stable beer \rightarrow fewer haze problems during storage

3. Process Optimization

- Enzyme-assisted chill proofing → cost-effective
 - Reduces chemical additive use
4. **Product Differentiation**
- Premium clear lagers vs craft hazy beers
-

8. Advantages of Chill Proofing

- Improved clarity
 - Cold stability
 - Controlled protein-polyphenol interactions
 - Reduced haze-related complaints
-

9. Limitations / Considerations

- Over-treatment → flavor loss (proteins and polyphenols contribute to flavor)
 - Additional cost of enzymes and additives
 - Time-consuming (cold stabilization 1–7 days)
-

Cheese Making by Proteases

(प्रोटीज़ एन्ज़ाइम द्वारा पनीर बनाना)

1. भूमिका (Introduction)

Cheese Making एक दूध को ठोस (curd) में बदलने की प्रक्रिया है। इसमें **proteolytic enzymes (proteases)** की मदद से **milk proteins**, विशेषकर **casein**, को **coagulate** किया जाता है।

- Proteases milk proteins में **peptide bonds** को तोड़कर **curd formation** और **flavor development** में मदद करते हैं।
 - मुख्य उद्देश्य:
 1. दूध को **solid curd** में बदलना
 2. Whey (छाछ) अलग करना
 3. Ripening और flavor development के लिए substrate प्रदान करना
-

2. Milk Proteins

Protein	Role in Cheese Making
Casein (α , β , κ -casein)	Coagulation, curd formation
Whey proteins (β -lactoglobulin, α -lactalbumin)	Mostly remain in whey, minor role
Fat	Texture, flavor carrier
Minerals (Ca^{2+} , P)	Protein micelle stabilization

Key Point:

- κ -casein surface coat \rightarrow micelles stabilize \rightarrow Proteases specifically cleave κ -casein \rightarrow micelles destabilize \rightarrow curd formation

3. Role of Proteases

Proteases (Rennet / Microbial / Plant)

- Function: κ -casein \rightarrow cleavage \rightarrow curd formation
- Mechanism:
- κ -Casein (Phe105-Met106) cleavage \rightarrow Para- κ -casein + Glycomacropeptide
- Protease Types:
 1. **Rennet (Chymosin)**
 - Calf stomach enzyme
 - Optimal pH 6–6.5, 30–40°C
 - Highly specific to Phe105-Met106 bond
 2. **Microbial Proteases**
 - Mucor, Rhizomucor species
 - Used in vegetarian cheese
 - Slightly less specific \rightarrow flavor development
 3. **Plant Proteases**
 - Papain (papaya), Ficin (fig), Bromelain (pineapple)
 - Used in some specialty cheeses

4. Cheese Making Process by Proteases

Step 1: Milk Preparation

- Standardization of fat and protein
- Pasteurization (optional)
- Cooling to optimal enzyme temperature

Step 2: Starter Culture Addition

- Lactic acid bacteria (LAB)
- Produce lactic acid → pH drops → Protease activity enhanced

Step 3: Protease (Rennet) Addition

- Specific cleavage of κ -casein
- Milk micelles destabilized
- Curd formation initiated (~30–60 min)

Step 4: Curd Cutting

- Cutting curd → whey separation
- Small cubes → faster whey expulsion
- Texture depends on curd size

Step 5: Cooking / Stirring

- Moderate heating → whey expulsion ↑
- Protease continues slow hydrolysis

Step 6: Whey Drainage

- Whey separated
- Proteins, lactose, and minerals partially removed

Step 7: Pressing

- Curds compressed → shape formation
- Further whey removal

Step 8: Ripening / Aging

- Proteases and microbial enzymes → casein hydrolysis
- Flavor, texture, and aroma develop
- Time: weeks to months

5. Enzymatic Mechanism

1. **κ -casein cleavage**
 - Micelle destabilization → curd formation
2. **Proteolysis during ripening**
 - α -casein, β -casein → peptides → amino acids
 - Flavor compounds: amino acids, fatty acids, aromatic compounds

3. Glycomacropeptide

- Released in whey
- Functional food ingredient

6. Factors Affecting Protease Activity in Cheese Making

Factor	Optimal Range / Effect
pH	6.0–6.5 for rennet; lower pH increases coagulation rate
Temperature	30–40°C for rennet; higher temp → over-coagulation
Calcium content	Ca ²⁺ stabilizes casein micelles
Enzyme concentration	Excess → bitter peptides; insufficient → slow curd formation
Starter culture	LAB acidifies → enhances protease action

7. Types of Cheese Based on Protease Treatment

Cheese Type	Protease Use	Notes
Cheddar	Rennet	Long ripening, firm texture
Mozzarella	Rennet	High moisture, stretchable curd
Cottage / Paneer	Acid + optional protease	Quick curd, soft texture
Blue cheese	Rennet + microbial enzymes	Flavor development during ripening

8. Industrial Significance

1. **Curd Formation**
 - Essential for whey separation and cheese yield
2. **Flavor and Texture Development**
 - Proteolysis → peptides & amino acids → taste, aroma, mouthfeel
3. **Controlled Ripening**
 - Specific protease activity → desired cheese characteristics
4. **Alternative Proteases**
 - Microbial / Plant proteases → vegetarian / cost-effective cheeses

9. Advantages of Protease Use

- Rapid and controlled curd formation
- Consistent cheese yield

- Enhanced flavor and texture
- Industrial scalability

10. Limitations / Considerations

- Over-proteolysis → bitter taste
- Protease specificity critical for cheese type
- Temperature and pH must be strictly controlled

11. Summary Table

Step	Protease Role	Outcome
Milk coagulation	κ -casein cleavage	Curd formation
Curd cutting & whey drainage	Continued mild proteolysis	Texture control
Ripening	α/β -casein hydrolysis	Flavor, aroma, texture development

Various Enzyme Catalytic Actions in Food Processing

(भोजन प्रसंस्करण में विभिन्न एन्जाइम सक्रियताएँ)

Food processing में enzymes का उपयोग कच्चे पदार्थों के रूपांतरण, स्वाद, बनावट, shelf-life और पोषण सुधारने के लिए किया जाता है।

1. Carbohydrate-Modifying Enzymes

1.1 Amylases

- **α -Amylase, β -Amylase, Glucoamylase**
- **Catalytic Action:** Starch को dextrans, maltose और glucose में hydrolyze करना
- **Applications:**
 - Bread making → dough conditioning, sugar supply for yeast
 - Beer mashing → wort sugar production
 - High-fructose corn syrup production → starch → glucose → fructose

1.2 Pectinases

- **Catalytic Action:** Pectin (plant cell wall polysaccharides) को degrade करना
- **Applications:**
 - Fruit juice clarification
 - Increase juice yield
 - Wine and cider processing

1.3 Cellulases

- **Catalytic Action:** Cellulose → glucose/oligosaccharides
- **Applications:**
 - Fruit and vegetable processing → softening
 - Juice extraction
 - Coffee and tea fermentation

1.4 Lactases (β -Galactosidase)

- **Catalytic Action:** Lactose → glucose + galactose
 - **Applications:**
 - Lactose-free milk
 - Dairy fermentation (yogurt, cheese)
 - Sweetness improvement
-

2. Proteolytic Enzymes

2.1 Proteases / Peptidases

- **Catalytic Action:** Proteins → peptides + amino acids
- **Applications:**
 - Cheese making → milk coagulation (rennet)
 - Meat tenderization → collagen breakdown
 - Protein hydrolysates → flavor enhancers, bioactive peptides
 - Fish sauce and soy sauce fermentation

2.2 Bromelain / Papain (Plant Proteases)

- **Catalytic Action:** Collagen degradation in meat
 - **Applications:**
 - Meat tenderizers
 - Clarification of fruit juices
-

3. Lipid-Modifying Enzymes

3.1 Lipases

- **Catalytic Action:** Triglycerides → glycerol + free fatty acids
- **Applications:**
 - Cheese ripening → flavor development
 - Flavor ester synthesis → butter, margarine
 - Oil modification → interesterification

3.2 Phospholipases

- **Catalytic Action:** Phospholipids → lysophospholipids + fatty acids
 - **Applications:**
 - Emulsifier production
 - Chocolate processing
-

4. Oxidoreductases

4.1 Glucose Oxidase

- **Catalytic Action:** Glucose + O₂ → Glucono- δ -lactone + H₂O₂
- **Applications:**
 - Bread dough improvement
 - Juice deoxygenation → shelf-life extension

4.2 Polyphenol Oxidase

- **Catalytic Action:** Phenols → quinones → browning reactions
- **Applications:**
 - Controlled browning in tea, coffee, cocoa
 - Wine and fruit juice processing

4.3 Peroxidases

- **Catalytic Action:** H₂O₂-mediated oxidation of phenolic compounds
 - **Applications:**
 - Juice clarification
 - Preservation of color and flavor
-

5. Isomerases

5.1 Glucose Isomerase

- **Catalytic Action:** Glucose → Fructose
- **Applications:**
 - High-fructose corn syrup production
 - Sweetener industry

5.2 Epimerases

- **Catalytic Action:** Conversion of one sugar epimer → another (e.g., D-mannose ↔ D-glucose)
 - **Applications:**
 - Specialty sugar production
 - Functional food ingredients
-

6. Transglycosidases / Transferases

6.1 Transglucosidases

- **Catalytic Action:** Oligosaccharide synthesis → prebiotic production
- **Applications:**
 - Fructo-oligosaccharides (FOS)
 - Galacto-oligosaccharides (GOS)

6.2 Lipases (in non-aqueous medium)

- **Catalytic Action:** Ester synthesis → flavor esters
 - **Applications:**
 - Confectionery and bakery flavors
 - Dairy flavor enhancement
-

7. Miscellaneous Applications

Enzyme	Catalytic Action	Food Application
Xylanase	Hemicellulose → xylo-oligosaccharides	Bread softness, fiber extraction
Invertase	Sucrose → Glucose + Fructose	Confectionery, candy, fondant
β-Glucanase	β-Glucans → oligosaccharides	Beer filtration, viscosity reduction
Chitinase	Chitin → chitooligosaccharides	Seafood processing, functional foods

8. Factors Affecting Enzyme Catalysis in Food

1. **Temperature** → Optimal for each enzyme; too high → denaturation
 2. **pH** → Affects ionization of active site
 3. **Substrate concentration** → Michaelis-Menten kinetics
 4. **Water activity** → Especially in baking, confectionery
 5. **Presence of inhibitors / activators** → Metal ions, polyphenols
 6. **Processing time** → Adequate contact needed for reaction completion
-

9. Industrial Significance

- Improved **yield, quality, texture, flavor, shelf-life**
 - Reduced **chemical additives** → “clean label” products
 - Process **efficiency** → Lower energy and time requirement
 - Production of **functional foods** (prebiotics, lactose-free dairy, bioactive peptides)
-

Unit 3

जैव-प्रक्रिया प्रौद्योगिकी (Bioprocess Technology) के मूल सिद्धांत

Bioprocess Technology का उद्देश्य है जीवाणु, फफूंद, कोशिकाओं या एंजाइम्स का उपयोग करके मूल्यवान उत्पाद (जैसे दवाइयां, एंजाइम, शराब, बायोफ्यूल, आदि) बनाना।

1. जैव-प्रक्रिया (Bioprocess) क्या है?

- किसी जीवित जीव या उनके घटकों (cells, enzymes) का उपयोग करके उपयोगी उत्पाद बनाना।
 - उदाहरण:
 - दवा (Insulin) उत्पादन
 - एंजाइम्स (Amylase, Protease)
 - शराब और बायोगैस
-

2. Bioprocess के मुख्य घटक (Main Components of Bioprocess)

1. **सूक्ष्मजीव / कोशिकाएँ (Microorganisms / Cells)**
 - बैक्टीरिया, फफूंद, कवक, या ऊतक कोशिकाएँ

- उत्पादक क्षमता और वृद्धि महत्वपूर्ण
 - 2. **माध्यम (Medium)**
 - पोषक तत्व प्रदान करता है
 - मुख्य घटक: कार्बोहाइड्रेट, प्रोटीन/नाइट्रोजन, मिनरल्स, विटामिन्स
 - 3. **संपर्क और नियंत्रण (Process Control)**
 - तापमान, pH, dissolved oxygen, agitation
 - उत्पादकता और सेल वृद्धि के लिए महत्वपूर्ण
 - 4. **प्रक्रिया उपकरण (Bioreactor / Fermentor)**
 - जीवित कोशिकाओं के लिए उपयुक्त वातावरण
 - Agitation, aeration, temperature control, pH control
 - 5. **उत्पाद पृथक्करण और शुद्धीकरण (Downstream Processing)**
 - Fermentation के बाद उत्पाद को शुद्ध करना और अलग करना
 - Filtration, Centrifugation, Chromatography
-

3. Bioprocess Technology के मूल सिद्धांत (Basic Principles)

3.1 माइक्रोबियल ग्रोथ (Microbial Growth)

- **Growth Phases:**
 1. Lag phase – adaptation, कोई वृद्धि नहीं
 2. Log / Exponential phase – तीव्र वृद्धि, उत्पादकता अधिक
 3. Stationary phase – nutrient कम, growth स्थिर
 4. Death phase – cell decline
- **Specific growth rate (μ):** growth की दर मापता है

3.2 Mass Transfer (द्रव्यमान का हस्तांतरण)

- Nutrients और oxygen को cell तक पहुँचाना आवश्यक
- Oxygen transfer rate (OTR) → aerobic processes में महत्वपूर्ण

3.3 Heat Transfer (ताप हस्तांतरण)

- Metabolic reactions से heat उत्पन्न होती है
- Temperature control → optimal enzyme / microbial activity

3.4 Mixing (मिश्रण)

- Nutrient और dissolved oxygen uniform distribution
- Agitator / impeller द्वारा

3.5 pH Control

- Microbial growth और enzyme activity के लिए critical
- Acids / Bases के द्वारा नियंत्रित

3.6 Sterilization (कीटाणुशोधन)

- Medium, bioreactor और उपकरण को **contamination** से मुक्त करना
- Methods: Autoclaving, Filtration, Chemical sterilization

4. Bioprocess Types

1. **Batch Process**
 - एक बार में medium में culture
 - Product harvesting end of batch
 - आसान, लेकिन low productivity
2. **Fed-batch Process**
 - Nutrients समय-समय पर add किए जाते हैं
 - Growth और product yield बढ़ती है
3. **Continuous Process**
 - Medium continuously supply और harvest
 - High productivity, industrial scale

5. Bioprocess Parameters (महत्वपूर्ण पैरामीटर)

Parameter	Importance
Temperature	Optimal for microbial growth
pH	Enzyme activity और cell growth के लिए
Dissolved Oxygen	Aerobic process के लिए
Agitation	Mass transfer और nutrient distribution
Foam	Foam formation control necessary
Nutrient concentration	Growth और product yield

6. Downstream Processing Principles

- Bioprocess का अंतिम चरण, जिसमें **product purification** होता है।

- Steps:
 1. Cell separation (Centrifugation, Filtration)
 2. Product concentration (Evaporation, Ultrafiltration)
 3. Product purification (Chromatography, Crystallization)
 4. Product formulation (Tablet, Liquid, Powder)

7. Industrial Significance

- Pharmaceuticals (Insulin, Antibiotics)
 - Food & Beverage (Cheese, Beer, Yogurt)
 - Biofuels (Ethanol, Biogas)
 - Enzyme production (Amylase, Protease)
 - Environment (Wastewater treatment, Bioremediation)
-

□ मीडिया फॉर्मूलेशन (Media Formulation) क्या है?

मीडिया फॉर्मूलेशन का अर्थ है सूक्ष्म जीवों (Microorganisms), जैसे बैक्टीरिया (Bacteria) या कवक (Fungi), या कोशिका लाइनों (Cell Lines) को प्रयोगशाला में विकसित (Grow) करने और बनाए रखने के लिए आवश्यक पोषक तत्वों (Nutrients) और अन्य रसायनों को मिलाकर एक आदर्श वातावरण तैयार करना।

यह वह पोषक माध्यम (Nutrient Medium) है जो जीवों या कोशिकाओं के लिए भोजन, पानी और सही भौतिक-रासायनिक परिस्थितियाँ प्रदान करता है।

मुख्य उद्देश्य:

- **इष्टतम वृद्धि (Optimal Growth):** जीव या कोशिका को तेज़ी से और कुशलता से बढ़ने देना।
 - **उत्पाद निर्माण (Product Formation):** किण्वन (Fermentation) जैसी औद्योगिक प्रक्रियाओं में वांछित उत्पाद (जैसे एंटीबायोटिक, एंजाइम, या प्रोटीन) का अधिकतम उत्पादन सुनिश्चित करना।
 - **विशेष आवश्यकताएँ पूरी करना:** विशिष्ट जीवों की पोषण संबंधी ज़रूरतों (Specific Nutritional Requirements) को पूरा करना।
-

□ मीडिया के आवश्यक घटक (Essential Components of Media)

एक आदर्श मीडिया फॉर्मूलेशन में जीव या कोशिका की चयापचय (Metabolism) और वृद्धि के लिए निम्नलिखित घटक शामिल होते हैं:

घटक (Component)	हिंदी नाम	कार्य (Function)
Water	जल (आमतौर पर आसुत जल/Distilled Water)	माध्यम का आधार, परिवहन और विलायक (Solvent) का काम करता है।
Carbon Source	कार्बन स्रोत	ऊर्जा और कोशिका संरचना के निर्माण के लिए आवश्यक। (जैसे: ग्लूकोज, शर्करा, तेल)
Nitrogen Source	नाइट्रोजन स्रोत	प्रोटीन, न्यूक्लिक एसिड (Nucleic Acid) और अन्य नाइट्रोजन युक्त यौगिकों के संश्लेषण के लिए। (जैसे: अमीनो एसिड, प्रोटीन हाइड्रोलाइजेंट, यीस्ट एक्सट्रैक्ट)
Mineral Salts	खनिज लवण	एंजाइम फ़ंक्शन (Enzyme Function) और ऑस्मोटिक दबाव (Osmotic Pressure) को बनाए रखने के लिए। (जैसे: MgSO_4 , KH_2PO_4)
Growth Factors	वृद्धि कारक	वे कार्बनिक यौगिक जिनकी जीव स्वयं संश्लेषण (Synthesize) नहीं कर सकते। (जैसे: विटामिन, अमीनो एसिड)
Buffers	बफ़र	pH को स्थिर बनाए रखने के लिए, क्योंकि वृद्धि के दौरान चयापचय से एसिड या बेस उत्पन्न हो सकते हैं। (जैसे: फॉस्फेट बफ़र)
Solidifying Agent	जमावट एजेंट (केवल ठोस मीडिया के लिए)	मीडिया को ठोस रूप देने के लिए। (जैसे: अगर/Agar)

मीडिया फॉर्मूलेशन की प्रक्रिया (Process of Media Formulation)

मीडिया बनाने की प्रक्रिया में सटीकता और बाँझपन (Sterility) बहुत महत्वपूर्ण है।

1. आवश्यकता का निर्धारण (Determining Requirements):

- सबसे पहले, जिस जीव या कोशिका को विकसित करना है, उसकी पोषण संबंधी ज़रूरतों और लक्ष्य उत्पाद (Target Product) को समझा जाता है।
- उदाहरण के लिए, एक बैक्टीरिया के लिए आवश्यक pH , तापमान और O_2 की आवश्यकता को ध्यान में रखा जाता है।

2. घटकों का चुनाव (Selecting Components):

- उपरोक्त तालिका के अनुसार सभी आवश्यक कच्चे माल (Raw Materials) और रसायनों का चुनाव किया जाता है।

- **मात्रा का गणना (Stoichiometry Calculation):** कोशिकाओं के शुष्क भार (Dry Weight) के आधार पर प्रत्येक तत्व की न्यूनतम आवश्यक मात्रा की गणना की जाती है ताकि कोई भी तत्व कम न पड़े।

3. वजन और मिश्रण (Weighing and Mixing):

- चयनित घटकों को सटीक रूप से तौला जाता है और आसुत जल में घोला जाता है।

4. pH का समायोजन (pH Adjustment):

- घोल के pH की जाँच की जाती है और इसे बफ़र या HCl / NaOH जैसे एसिड/बेस की मदद से जीव के लिए उपयुक्त स्तर पर समायोजित किया जाता है।

5. निर्जर्मीकरण (Sterilization):

- मीडिया को संदूषण (Contamination) से बचाने के लिए ऑटोक्लेव (Autoclave) या फिल्ट्रेशन (Filtration) का उपयोग करके निर्जर्मीकृत किया जाता है। यह सबसे महत्वपूर्ण कदम है।

6. वितरण (Dispensing):

- निर्जर्मीकरण के बाद, मीडिया को बाँझ स्थितियों में पेट्री डिश (Petri Dishes) या कल्चर ट्यूब (Culture Tubes) में डाला जाता है।

❧ मीडिया फॉर्मूलेशन के प्रकार (Types of Media Formulation)

मीडिया को विभिन्न तरीकों से वर्गीकृत किया जा सकता है:

• 1. भौतिक स्थिति के आधार पर (Based on Physical State):

- **तरल माध्यम (Liquid/Broth Media):** इसमें जमावट एजेंट (जैसे अगर) नहीं होता। इसमें जीव वृद्धि के बाद घोल धुंधला हो जाता है।
- **ठोस माध्यम (Solid Media):** इसमें अगर या जिलेटिन होता है, जिससे यह प्लेट या स्लैंट पर जम जाता है। यह सूक्ष्म जीवों की कॉलोनियों (Colonies) को अलग करने के लिए उपयोगी है।
- **अर्ध-ठोस माध्यम (Semi-Solid Media):** इसकी सांद्रता (Concentration) कम होती है और यह मुख्य रूप से गतिशीलता (Motility) के अध्ययन के लिए उपयोग होता है।

• 2. रासायनिक संघटन के आधार पर (Based on Chemical Composition):

- **रासायनिक रूप से परिभाषित माध्यम (Chemically Defined/Synthetic Media):** इसमें प्रत्येक घटक की सटीक रासायनिक संरचना और मात्रा ज्ञात होती है। यह महंगे होते हैं।
- **अपरिभाषित/जटिल माध्यम (Complex/Undefined Media):** इसमें यीस्ट एक्सट्रैक्ट, पेप्टोन जैसे घटक होते हैं जिनकी रासायनिक संरचना अलग-अलग बैच में थोड़ी भिन्न हो सकती है। ये सस्ते और पोषण से भरपूर होते हैं।

□ निर्जर्मीकरण (Sterilization) क्या है?

निर्जर्मीकरण वह प्रक्रिया है जिसके द्वारा किसी वस्तु, माध्यम (Medium), या सतह से सभी प्रकार के सक्षम सूक्ष्मजीवों (Viable Microorganisms), जिनमें सबसे प्रतिरोधी (Most Resistant) जीवाणु बीजाणु (Bacterial Spores) भी शामिल हैं, को पूरी तरह से नष्ट या हटाया जाता है।

सरल शब्दों में, निर्जर्मीकरण का लक्ष्य 100% सूक्ष्मजीवों की मुक्ति (100% Microorganism Freedom) सुनिश्चित करना है।

□ निर्जर्मीकरण बनाम कीटाणुशोधन (Sterilization vs. Disinfection)

यह समझना महत्वपूर्ण है कि निर्जर्मीकरण, कीटाणुशोधन (Disinfection) से अलग है:

विशेषता	निर्जर्मीकरण (Sterilization)	कीटाणुशोधन (Disinfection)
लक्ष्य	सभी सूक्ष्मजीवों (बैक्टीरिया, वायरस, कवक, और बीजाणु) को नष्ट करना।	केवल रोगजनक (Pathogenic) सूक्ष्मजीवों को नष्ट करना, बीजाणु अक्सर बच जाते हैं।
उपयोग	सर्जिकल उपकरण, कल्चर मीडिया, इंजेक्शन, रोपण उपकरण।	सतहों को साफ करना (फर्श, बेंच, शौचालय)।
परिणाम	वस्तु पूरी तरह से बाँझ (Sterile) हो जाती है।	वस्तु कीटाणुरहित (Disinfected) हो जाती है, लेकिन बाँझ नहीं।

□□ निर्जर्मीकरण की प्रमुख विधियाँ (Major Methods of Sterilization)

निर्जर्मीकरण की विधियाँ मुख्यतः तीन श्रेणियों में विभाजित हैं:

I. भौतिक विधियाँ (Physical Methods)

ये सबसे आम और विश्वसनीय विधियाँ हैं।

1. ऊष्मा (Heat) - सबसे भरोसेमंद विधि

A. आर्द्र ऊष्मा (Moist Heat)

- सिद्धांत: यह सूक्ष्म जीवों के प्रोटीन को विकृत (Denature) और जमाव (Coagulate) करके उन्हें मारती है। भाप की उपस्थिति में यह अधिक प्रभावी होती है।
- मुख्य उपकरण: ऑटोक्लेव (Autoclave)
- परिस्थिति: 121°C पर 15 पाउंड प्रति वर्ग इंच (psi) के दबाव पर 15 से 20 मिनट के लिए।

- **उपयोग:** कल्चर मीडिया, पानी पर आधारित समाधान, सर्जिकल ड्रेसिंग, रबर सामग्री, और कांच के बर्तन जो उच्च तापमान सह सकते हैं।
- **अत्यंत उच्च तापमान (UHT):** दूध जैसे खाद्य उत्पादों के वाणिज्यिक निर्जर्मीकरण में उपयोग होता है (उदाहरण के लिए 135°C से 140°C कुछ सेकंड के लिए)।

B. शुष्क ऊष्मा (Dry Heat)

- **सिद्धांत:** यह सूक्ष्म जीवों को ऑक्सीकरण (Oxidation) और जलाने (DNA क्षति) के माध्यम से नष्ट करती है।
- **मुख्य उपकरण:** हॉट एयर ओवन (Hot Air Oven)
- **परिस्थिति:** 160°C पर 2 घंटे या 170°C पर 1 घंटे के लिए।
- **उपयोग:** कांच के बर्तन (पेट्री डिश, पिपेट), तेल, ग्रीस, और धातु के उपकरण जो नमी से खराब हो सकते हैं।
- **ज्वलन (Flaming/Incineration):** नाइक्रोम लूप (Nichrome Loop) को सीधे आग की लौ पर लाल होने तक गर्म करना या संक्रामक कचरे को भट्टी में जलाना।

2. निस्पंदन (Filtration)

- **सिद्धांत:** यह गर्मी के प्रति संवेदनशील (Heat-Sensitive) तरल पदार्थों (जैसे एंटीबायोटिक्स, सीरम, विटामिन समाधान) से सूक्ष्म जीवों को एक महीन छिद्र वाले फिल्टर (Membrane Filter) के माध्यम से भौतिक रूप से अलग करता है।
- **उपयोग:** उन समाधानों का निर्जर्मीकरण जिन्हें गर्म नहीं किया जा सकता है।

3. विकिरण (Radiation)

- **आयनीकरण विकिरण (Ionizing Radiation - Gamma Rays):**
- **सिद्धांत:** यह DNA को नष्ट करके सूक्ष्म जीवों को मारता है।
- **उपयोग:** प्लास्टिक सिरिंज, कैथेटर, दस्ताने जैसे डिस्पोजेबल चिकित्सा उत्पाद जो गर्मी सहन नहीं कर सकते।

II. रासायनिक विधियाँ (Chemical Methods)

ये आमतौर पर बड़े उपकरणों या उन वस्तुओं के लिए उपयोग की जाती हैं जिन्हें ऊष्मा या निस्पंदन द्वारा निर्जर्मीकृत नहीं किया जा सकता।

1. गैसीय निर्जर्मीकरण (Gaseous Sterilization)

- **एथिलीन ऑक्साइड (Ethylene Oxide - EtO):**
- **सिद्धांत:** यह एंजाइमों में प्रोटीन के साथ प्रतिक्रिया करके सूक्ष्म जीवों को निष्क्रिय करता है।
- **उपयोग:** प्लास्टिक, रबर के उत्पाद, संवेदनशील इलेक्ट्रॉनिक उपकरण। यह अत्यंत ज्वलनशील (Flammable) और विषाक्त (Toxic) होता है।
- **फॉर्मलाडेहाइड वाष्प (Formaldehyde Vapor):** प्रयोगशालाओं या ऑपरेशन थिएटरों का धूपन (Fumigation) करने के लिए।

2. तरल रसायन (Liquid Chemicals)

- ग्लूटाराल्डिहाइड (Glutaraldehyde):
 - उपयोग: एंडोस्कोप (Endoscopes) और अन्य संवेदनशील उपकरणों को बाँझ करने के लिए। इसे अक्सर रासायनिक निर्जर्मीकरण (Chemical Sterilant) माना जाता है।
-

□□ निर्जर्मीकरण का महत्व (Importance of Sterilization)

- संक्रमण नियंत्रण (Infection Control): अस्पताल और शल्य चिकित्सा (Surgery) में संक्रमण को रोकना।
- प्रयोगशाला कार्य (Laboratory Work): सूक्ष्म जीव विज्ञान और कोशिका संवर्धन में परिणाम की सटीकता के लिए कल्चर मीडिया और उपकरणों का बाँझ होना आवश्यक है।
- खाद्य सुरक्षा (Food Safety): दूध और डिब्बाबंद खाद्य पदार्थों को लंबे समय तक सुरक्षित रखना।
- फार्मास्यूटिकल्स (Pharmaceuticals): इंजेक्शन और चिकित्सा उपकरणों को रोगजनकों से मुक्त रखना।

निर्जर्मीकरण प्रक्रिया की सफलता को सुनिश्चित करने के लिए अक्सर **जैविक संकेतक (Biological Indicators - BI)**, जैसे कि प्रतिरोधी बीजाणुओं का उपयोग किया जाता है।

Thermal Death Kinetics (तापीय मृत्यु गतिकी)

Thermal Death Kinetics वह विज्ञान है जो यह बताता है कि उच्च तापमान पर माइक्रोऑर्गेनिज़्म (bacteria, spores) कितनी तेजी से मरते हैं।

1. परिचय (Introduction)

- भोजन और पेय पदार्थों की **sterilization या pasteurization** प्रक्रिया में thermal death kinetics अत्यंत महत्वपूर्ण है।
 - इसका उद्देश्य:
 1. **Pathogenic और spoilage microorganisms को मारना**
 2. **Food shelf-life बढ़ाना**
 3. **Safety सुनिश्चित करना**
 - Microbial death high temperature और exposure time पर निर्भर करती है।
-

2. Microbial Death का सिद्धांत

1. First-order Kinetics

- Microbial death अधिकांशतः **first-order reaction kinetics** का पालन करता है।

- Meaning: Microorganism की मृत्यु की दर उन्हीं की संख्या के **proportional** होती है।

Mathematical Expression:

$$\left[\frac{dN}{dt} = -kN \right]$$

जहाँ:

- (N) = जीवित cells की संख्या
- (k) = thermal death rate constant
- (t) = समय

2. Solution:

$$\left[N = N_0 e^{-kt} \right]$$

- (N₀) = initial microbial population
- (N) = समय (t) पर बची population

3. Decimal Reduction Time (D-value)

- D-value = समय (minutes) जिसमें **microorganisms** की संख्या **90%** घट जाती है (1 log reduction)

$$\left[D = \frac{1}{k} \ln 10 \right]$$

- Temperature बढ़ने पर D-value घटती है।

4. z-value

- z-value = तापमान में वह वृद्धि जिस से **D-value 10 गुना कम या अधिक** हो जाए।
- Indicator: Thermal resistance of microorganism

3. Thermal Death Curve (TDC)

- Microbial population (log N) vs time plot: **Straight line** for first-order death kinetics
- Interpretation:
 - Slope = (-1/D)
 - High slope → fast microbial death

Graphical representation:





- Linear decline in log survivors vs time

4. Factors Affecting Thermal Death Kinetics

Factor	Effect
Temperature	Higher temp → faster death → lower D-value
Microorganism type	Spores > vegetative cells in heat resistance
pH	Low pH → microbes less heat-resistant
Water activity	Low moisture → spores more resistant
Food composition	Fat, sugar, proteins → thermal protection
Heating method	Steam vs hot air → penetration differences

5. Applications in Food Industry

- Pasteurization**
 - Milk: 72°C for 15 sec (HTST)
 - Kill pathogenic bacteria (Salmonella, Mycobacterium)
- Canning / Sterilization**
 - Vegetables, meat, fruit: 121°C, 15–30 min
 - Spores of Clostridium botulinum killed
- Shelf-life extension**
 - Thermal death kinetics → optimum time-temperature combination
- Process optimization**
 - **D-value और z-value का उपयोग** → minimum heating → maximum quality

6. Thermal Death Kinetics का Industrial महत्व

- Food safety सुनिश्चित करना
- Nutritional और organoleptic properties बनाए रखना
- Energy-efficient sterilization process design
- Standardization और HACCP compliance

Sterilization Systems (स्टीरिलाइजेशन सिस्टम्स)

Sterilization का उद्देश्य:

- किसी भी खाने योग्य पदार्थ या औद्योगिक तरल पदार्थ से सभी माइक्रोऑर्गेनिज़्म (bacteria, spores, fungi) को हटाना।
- Food safety और shelf-life बढ़ाना।

Sterilization systems मुख्यतः दो प्रकार के होते हैं:

1. Batch Sterilization System (बैच स्टीरिलाइजेशन सिस्टम)

1.1 परिभाषा

- Batch sterilization** में एक निश्चित मात्रा (batch) के भोजन या तरल पदार्थ को एक साथ स्टरलाइज किया जाता है।
- प्रत्येक batch को अलग-अलग **time-temperature** पर heat treatment दिया जाता है।

1.2 प्रक्रिया (Process)

- Loading:**
 - Medium (milk, juice, broth) को autoclave या sterilizer में डालना
- Heating:**
 - Medium को target temperature तक heat किया जाता है
 - Heat distribution uniform होना चाहिए
- Holding (Retention Time):**
 - Target temperature पर निर्धारित समय तक रखना
 - Ensures complete microbial death
- Cooling:**
 - Product को धीरे-धीरे cooling कर sterile container में transfer किया जाता है
- Unloading:**
 - Sterile product storage या packaging के लिए निकालना

1.3 विशेषताएँ (Features)

Feature	Detail
Volume	Fixed per batch
Time	Relatively long

Feature	Detail
Equipment	Autoclave, batch retort
Advantages	Simple, easy to operate, reliable for small scale
Disadvantages	Low productivity, high labor, not energy-efficient

1.4 Applications

- Canning vegetables, fruits
- Pharmaceutical media sterilization
- Small-scale dairy sterilization

2. Continuous Sterilization System (सतत स्टीरिलाइजेशन सिस्टम)

2.1 परिभाषा

- **Continuous sterilization** में **medium लगातार flow** के दौरान heat treatment के माध्यम से sterilize किया जाता है।
- High-volume industrial production के लिए उपयुक्त।

2.2 प्रक्रिया (Process)

1. **Pre-heating:**
 - Medium को heat exchanger द्वारा preliminary temperature तक गर्म करना
2. **Holding / Sterilization:**
 - Medium को continuous **holding tube** में target sterilization temperature पर रखना
3. **Cooling:**
 - Heat exchanger द्वारा medium को तुरंत cooling कर दिया जाता है
4. **Filling / Packaging:**
 - Sterile product सीधे sterile packaging में डालना

2.3 विशेषताएँ (Features)

Feature	Detail
Volume	Continuous, unlimited
Time	Short retention time (seconds to minutes)
Equipment	Continuous flow sterilizer, plate heat exchanger
Advantages	High productivity, energy-efficient, consistent quality
Disadvantages	Complex design, high initial cost, maintenance needed

2.4 Applications

- Milk UHT sterilization
 - Fruit juices
 - Liquid foods (sauces, soups)
 - Pharmaceutical sterile solutions
-

3. Batch vs Continuous Sterilization

Feature	Batch	Continuous
Process type	Discrete batches	Continuous flow
Volume	Limited	High, unlimited
Retention time	Long (minutes to hours)	Short (seconds to minutes)
Equipment	Autoclave, retort	Tube/plate heat exchanger, UHT unit
Energy efficiency	Low	High
Productivity	Low	High
Control	Simple	Complex
Product uniformity	Less uniform	High uniformity
Initial cost	Low	High

4. Sterilization Kinetics Principles

- Both systems follow **thermal death kinetics**:
[
$$N = N_0 e^{-kt}$$

]
जहाँ (N) = survivors, (k) = rate constant, (t) = holding time
 - **D-value** और **z-value** को ध्यान में रखते हुए **temperature-time combination** design किया जाता है।
 - Continuous systems में **precise temperature control** और **flow rate** सुनिश्चित करना आवश्यक है।
-

5. Industrial Significance

- Food safety (pathogen-free products)
- Shelf-life extension

- High-volume processing → cost-effective production
- Standardization of food products
- Pharmaceutical and bioprocess applications

Primary and Secondary Metabolites (प्राथमिक और गौण उपोत्पाद)

Metabolites:

- Metabolites वे रासायनिक यौगिक हैं जो जीवित जीव (microorganisms, plants, animals) **metabolism** के दौरान बनाते हैं।
- Metabolites के दो मुख्य प्रकार हैं:
 1. **Primary Metabolites** (प्राथमिक उपोत्पाद)
 2. **Secondary Metabolites** (गौण उपोत्पाद)

1. Primary Metabolites (प्राथमिक उपोत्पाद)

1.1 परिभाषा

- Primary metabolites वे यौगिक हैं जो **growth और reproduction** के दौरान बनते हैं।
- ये सीधे **cell growth और energy metabolism** से जुड़े होते हैं।

1.2 विशेषताएँ (Characteristics)

Feature	Description
Production phase	Exponential (log) phase of growth
Function	Cell growth, division, reproduction
Required	Essential for microbial survival
Chemical nature	Amino acids, sugars, nucleotides, organic acids
Industrial relevance	High, for bulk production

1.3 Examples (उदाहरण)

Class	Example	Application
Alcohol	Ethanol	Fuel, beverage
Organic acids	Citric acid, Lactic acid	Food preservation, flavoring

Class	Example	Application
Amino acids	Glutamic acid, Lysine	Food additives, supplements
Enzymes	Amylase, Protease	Food, detergent industry
Polysaccharides	Dextran, Xanthan	Food thickener, stabilizer

1.4 Production Phase

- Primary metabolites **log phase (growth phase)** में बनते हैं।
- Growth और metabolite production **समानांतर** होते हैं।

2. Secondary Metabolites (गौण उपोत्पाद)

2.1 परिभाषा

- Secondary metabolites वे यौगिक हैं जो **growth** के लिए आवश्यक नहीं होते, लेकिन **survival, competition या defense** में सहायक होते हैं।
- अक्सर ये **stationary phase** में बनते हैं।

2.2 विशेषताएँ (Characteristics)

Feature	Description
Production phase	Stationary / late log phase
Function	Competition, defense, signaling
Required	Not essential for growth
Chemical nature	Antibiotics, pigments, toxins, alkaloids
Industrial relevance	High-value products (pharmaceuticals, agrochemicals)

2.3 Examples (उदाहरण)

Class	Example	Application
Antibiotics	Penicillin, Streptomycin	Medicine, infection control
Pigments	Carotenoids, Melanin	Food coloring, cosmetics
Alkaloids	Morphine, Caffeine	Pharmaceutical, stimulant
Toxins	Aflatoxin	Research, detection

Class	Example	Application
Immunosuppressants	Cyclosporin	Organ transplantation

2.4 Production Phase

- Secondary metabolites **stationary phase** में बनते हैं, जब **growth slow** या **stop** हो चुकी होती है।
- Environmental stress, nutrient limitation → production trigger करते हैं।

3. Primary vs Secondary Metabolites (तुलना)

Feature	Primary Metabolites	Secondary Metabolites
Growth dependency	Growth-dependent	Growth-independent
Production phase	Log/exponential phase	Stationary phase
Essentiality	Essential for cell survival	Not essential for survival
Function	Cell growth, energy, reproduction	Defense, competition, signaling
Examples	Ethanol, Lactic acid, Amino acids, Enzymes	Antibiotics, Alkaloids, Pigments
Industrial use	Bulk production	High-value, low-volume production

4. Industrial Importance

4.1 Primary Metabolites

- High volume production
- Food additives: Citric acid, Lactic acid
- Biofuels: Ethanol production
- Amino acids: Nutritional supplements
- Enzymes: Industrial catalysis

4.2 Secondary Metabolites

- Pharmaceuticals: Antibiotics, anticancer drugs
- Agrochemicals: Pesticides, herbicides
- Pigments & flavors: Food, cosmetic industry
- Specialty chemicals: Low volume, high value

5. Production Strategy

1. **Primary metabolites** → Optimize **growth conditions** (nutrients, temperature, pH)
 2. **Secondary metabolites** → Induce **stress or nutrient limitation**, slow growth, fermentation strategies:
 - Batch fermentation
 - Fed-batch fermentation
 - Specific precursor addition
-

Extracellular Enzymes (असाध्य एन्ज़ाइम्स / बाह्यकोशिकीय एन्ज़ाइम्स)

1. परिभाषा (Definition)

Extracellular Enzymes वे एन्ज़ाइम्स होते हैं जो कोशिका (cell) के बाहर स्रावित होते हैं और वहां अपने substrate पर क्रिया करते हैं।

- इन्हें **secreted enzymes** भी कहा जाता है।
- ये enzymes **food, environment या industrial substrates** को degrade करके उपयोगी पदार्थ बनाते हैं।

“Extracellular enzymes = cell के बाहर काम करने वाले enzymes, जो बड़े molecules को छोटे molecules में तोड़ते हैं ताकि cell उन्हें uptake कर सके।”

2. विशेषताएँ (Characteristics)

विशेषता	विवरण
स्थान	कोशिका के बाहर secretion
लक्ष्य	बड़े polymeric molecules (starch, protein, lipid)
स्थायित्व	कई बार extracellular environment में stable
आवश्यकताएँ	Optimal pH और temperature में maximum activity
Industrial importance	Food, textile, paper, detergent industries में उपयोगी

3. उत्पादन (Production)

- Produced by **bacteria, fungi, yeast**
- Common microbial sources:
 - **Bacteria:** Bacillus, Pseudomonas
 - **Fungi:** Aspergillus, Penicillium
 - **Yeast:** Saccharomyces
- Secreted outside because:
 1. Substrate बहुत बड़ा है (starch, cellulose, protein) → cannot enter cell
 2. Nutrient breakdown → smaller units absorbed

Production process (microbial fermentation):

1. Microbe growth in suitable medium
 2. Secretion of enzyme into medium
 3. Downstream processing: purification, concentration, stabilization
-

4. प्रकार (Types of Extracellular Enzymes)

4.1 Carbohydrate-degrading enzymes (कार्बोहाइड्रेट विघटन एन्जाइम्स)

- **Amylases** → starch → maltose/glucose
 - Food industry: bread, brewing, sweetener production
- **Cellulases** → cellulose → glucose
 - Paper, textile, juice extraction
- **Pectinases** → pectin → sugars
 - Fruit juice clarification, wine production

4.2 Protein-degrading enzymes (प्रोटीन विघटन एन्जाइम्स)

- **Proteases / Peptidases** → proteins → peptides + amino acids
 - Cheese making, meat tenderization, detergent industry
- **Collagenases / Elastases** → connective tissue degradation

4.3 Lipid-degrading enzymes (लिपिड विघटन एन्जाइम्स)

- **Lipases** → triglycerides → glycerol + fatty acids
 - Dairy, flavor synthesis, soap production

4.4 Other specialized enzymes

- **Laccases / Peroxidases** → phenolic compound oxidation → textile, paper, bioremediation

- **β -Glucosidase** → glycoside hydrolysis → bioactive compounds production

5. कार्य (Functions)

1. **Nutrient acquisition**
 - Polymers को छोटे molecules में तोड़ना ताकि microbes उन्हें absorb कर सकें
2. **Environmental adaptation**
 - Plant cell wall degrading enzymes → fungal pathogens soil/plant colonization
3. **Industrial application**
 - Food processing, textile, detergent, pharmaceutical, paper industry
4. **Bio-conversion**
 - Biomass → biofuels, bioactive compounds

6. Industrial Applications (औद्योगिक महत्व)

उद्योग	Enzyme type	उपयोग
Food & Beverage	Amylase, Protease, Pectinase	Bread, juice clarification, cheese
Textile	Cellulase, Laccase	Fabric softening, dye removal
Detergent	Protease, Lipase	Protein/lipid stains removal
Paper & Pulp	Xylanase, Cellulase	Pulp bleaching, paper softening
Biofuels	Cellulase, β -Glucosidase	Biomass → bioethanol

7. Extracellular vs Intracellular Enzymes

Feature	Extracellular	Intracellular
Location	Secreted outside the cell	Inside the cell
Substrate	Large polymers (starch, cellulose, protein)	Small molecules (sugars, amino acids)
Production	Medium secrete, easy extraction	Cell disruption required
Stability	Often stable in environment	Sensitive, labile
Industrial use	High	Moderate

Biotechnologically Important Intracellular Products (जैव-प्रौद्योगिक रूप से महत्वपूर्ण अंतःकोशिकीय उत्पाद)

1. परिभाषा (Definition)

Intracellular products वे यौगिक हैं जो कोशिका (cell) के भीतर बनते हैं और वहीं रहते हैं।

- इन products को पाने के लिए **cell disruption** (जैसे sonication, homogenization, chemical lysis) की आवश्यकता होती है।
- ये उत्पादन अक्सर **growth phase** या **stationary phase** में cells के अंदर accumulate होते हैं।

“Intracellular products = वे उत्पाद जो microbes या plant/animal cells के अंदर बनते हैं और बाहरी medium में नहीं स्रावित होते।”

2. विशेषताएँ (Characteristics)

Feature	Description
Location	Cell के भीतर (intracellular)
Extraction	Cell disruption के बाद
Production phase	Log phase या Stationary phase, product type पर निर्भर
Stability	Often sensitive to pH, temperature, enzymes
Industrial use	High-value, specialty products

3. प्रकार और उदाहरण (Types and Examples)

3.1 Enzymes (एंजाइम्स)

- Intracellular enzymes = cytoplasmic enzymes
- Extraction: Cell rupture → enzyme purification
- Examples:
 - **Glucose-6-phosphate dehydrogenase** → biochemical research
 - **β-Galactosidase (Lactase)** → dairy industry
- Industrial relevance: Biocatalysis, diagnostics, research

3.2 Microbial Biomass (सूक्ष्मजीव biomass)

- Whole cell biomass = protein-rich product
- Examples:

- **Single-cell protein (SCP)** → Spirulina, yeast biomass
- Industrial relevance: Human/animal nutrition, feed supplements

3.3 Storage Polymers (भंडारण पॉलिमर)

- Produced by microbes as **carbon/energy storage**
- Examples:
 1. **Polyhydroxyalkanoates (PHA / PHB)** → biodegradable plastics
 2. **Glycogen** → animal feed, research
 3. **Starch granules in plants** → food industry
- Industrial relevance: Bioplastics, food additives

3.4 Nucleic acids and nucleotides (न्यूक्लिक एसिड और न्यूक्लियोटाइड्स)

- RNA, DNA, nucleotide derivatives accumulate intracellularly
- Examples:
 - **rRNA, tRNA** → research and biotechnology applications
 - **Nucleotide supplements** → flavor enhancers in food (IMP, GMP)

3.5 Vitamins and cofactors (विटामिन और सहकारक)

- Many vitamins accumulate intracellularly before secretion or extraction
- Examples:
 - **Vitamin B12** → Propionibacterium, Pseudomonas
 - **Riboflavin (B2)** → Ashbya gossypii
- Industrial relevance: Nutraceuticals, pharmaceuticals

3.6 Pigments and Bioactive Compounds (रंगक और जैव-सक्रिय यौगिक)

- Accumulate inside cells as secondary metabolites
- Examples:
 - **β-Carotene** → Dunaliella salina (microalgae)
 - **Phycocyanin** → Spirulina
- Industrial relevance: Food coloring, cosmetics, nutraceuticals

3.7 Antibiotics (कुछ intracellular)

- कुछ antibiotics intracellularly accumulate, जैसे:
 - **Rifamycin** → Streptomyces species
- Requires cell disruption for extraction

4. उत्पादन और निष्कर्ष (Production & Recovery)

1. **Cell growth in suitable medium** → intracellular accumulation
2. **Cell disruption** → enzyme, polymer, pigment extraction
3. **Downstream processing** → purification, concentration, formulation

Extraction methods:

- Mechanical: Sonication, bead milling, high-pressure homogenization
- Chemical: Detergents, solvents, osmotic shock
- Enzymatic: Lysozyme treatment (for bacterial cells)

5. Industrial Importance (औद्योगिक महत्व)

Product type	Application
Enzymes	Biocatalysis, diagnostics, food industry
Storage polymers (PHA/PHB)	Bioplastics, biodegradable materials
Vitamins	Nutraceuticals, pharmaceuticals
Pigments	Food coloring, cosmetics
Nucleotides	Flavor enhancers, biotech research
Biomass (SCP)	Animal feed, human nutrition

बायोरिएक्टर (Bioreactor) – डिज़ाइन और प्रकार

1. बायोरिएक्टर क्या है?

बायोरिएक्टर एक विशेष रूप से डिज़ाइन किया गया बंद पात्र (vessel) होता है, जिसमें सूक्ष्मजीव (Microorganisms), पौधों या पशु कोशिकाओं का उपयोग करके उपयोगी उत्पाद (जैसे एंटीबायोटिक, एंजाइम, वैक्सीन, इंसुलिन, एल्कोहल आदि) तैयार किए जाते हैं।

□ सरल शब्दों में:

Bioreactor = Controlled वातावरण + जीवित कोशिकाएँ + उत्पादन

2. बायोरिएक्टर डिज़ाइन के उद्देश्य

एक अच्छा बायोरिएक्टर डिज़ाइन निम्नलिखित सुनिश्चित करता है:

- उचित तापमान (Temperature)
 - सही pH
 - पर्याप्त ऑक्सीजन सप्लाई
 - उचित मिक्सिंग (Mixing)
 - Sterility (संक्रमण से सुरक्षा)
 - अधिकतम उत्पादन (Yield)
-

3. बायोरिएक्टर के मुख्य भाग (Basic Components)

(i) Vessel (टैंक)

- स्टेनलेस स्टील या ग्लास से बना होता है
- बेलनाकार (Cylindrical) आकार
- नीचे गोल (Curved bottom) ताकि कोशिकाएँ जमा न हों

(ii) Agitator / Impeller

- मीडियम को हिलाने के लिए
- ऑक्सीजन और पोषक तत्वों का समान वितरण
- प्रकार: Rushton turbine, Marine impeller

(iii) Sparger

- हवा या ऑक्सीजन को अंदर डालता है
- प्रकार:
 - Porous sparger
 - Nozzle sparger

(iv) Sensors

- pH sensor
- Temperature sensor
- Dissolved Oxygen (DO) sensor

(v) Control System

- कंप्यूटर या ऑटोमैटिक कंट्रोल यूनिट
 - pH, तापमान, ऑक्सीजन को नियंत्रित करता है
-

4. बायोरिएक्टर डिज़ाइन के प्रकार (Types of Bioreactor Designs)

4.1 Stirred Tank Bioreactor (STR)

डिज़ाइन

- सबसे सामान्य और व्यापक रूप से उपयोग किया जाने वाला
- बेलनाकार टैंक
- अंदर impeller और sparger लगे होते हैं

कार्य प्रणाली

- Impeller मीडियम को हिलाता है
- Sparger से हवा दी जाती है
- Sensors द्वारा स्थिति नियंत्रित होती है

लाभ

- ✓ अच्छा Mixing
- ✓ pH और तापमान नियंत्रण आसान
- ✓ बड़े पैमाने पर उत्पादन संभव

हानियाँ

- ✗ उच्च ऊर्जा खपत
- ✗ Shear stress (कोशिकाओं को नुकसान)

उपयोग

- Antibiotics
- Enzymes

- Insulin
-

4.2 Airlift Bioreactor

डिज़ाइन

- कोई mechanical agitator नहीं
- दो भाग:
 - Riser
 - Downcomer

कार्य प्रणाली

- हवा देने से तरल ऊपर उठता है (Riser)
- नीचे वापस आता है (Downcomer)

लाभ

- ✓ कम ऊर्जा खपत
- ✓ कम shear stress
- ✓ पशु कोशिकाओं के लिए उपयुक्त

हानियाँ

- ✗ Mixing सीमित
- ✗ बड़े पैमाने पर कठिन

उपयोग

- Plant cell culture
 - Wastewater treatment
-

4.3 Bubble Column Bioreactor

डिज़ाइन

- साधारण बेलनाकार कॉलम
- केवल sparger लगा होता है

कार्य प्रणाली

- हवा के बुलबुले ऊपर उठते हैं
- Mixing होती है

लाभ

- ✓ सरल डिज़ाइन
- ✓ कम लागत
- ✓ रखरखाव आसान

हानियाँ

- ✗ pH और तापमान नियंत्रण कठिन
- ✗ कम Mixing efficiency

उपयोग

- Single-cell protein
- Fermentation processes

4.4 Packed Bed Bioreactor

डिज़ाइन

- ठोस सपोर्ट (beads, gel) से भरा हुआ
- कोशिकाएँ immobilized होती हैं

कार्य प्रणाली

- Nutrient solution नीचे से ऊपर बहता है
- कोशिकाएँ स्थिर रहती हैं

लाभ

- ✓ उच्च cell density
- ✓ निरंतर उत्पादन

हानियाँ

- ✗ Channeling की समस्या
- ✗ सफाई कठिन

उपयोग

- Enzyme production
- Waste treatment

4.5 Fluidized Bed Bioreactor

डिज़ाइन

- छोटे कण fluid में तैरते रहते हैं
- Packed bed का उन्नत रूप

लाभ

- ✓ बेहतर mass transfer
- ✓ कम clogging

हानियाँ

- ✗ जटिल डिज़ाइन
- ✗ महंगा

5. बायोरिएक्टर डिज़ाइन में ध्यान देने योग्य कारक

- Mass transfer
 - Heat transfer
 - Shear sensitivity
 - Scale-up problem
 - Sterilization method
-

किण्वन (Fermentation) और किण्वक (Fermenters)

1. किण्वन (Fermentation) क्या है?

किण्वन एक जैव रासायनिक प्रक्रिया है जिसमें सूक्ष्मजीव (बैक्टीरिया, यीस्ट, फफूंद) कार्बोहाइड्रेट जैसे सब्सट्रेट को तोड़कर ऊर्जा और उपयोगी उत्पाद बनाते हैं।

उत्पाद उदाहरण

- एल्कोहल (Ethanol)
 - लैक्टिक एसिड
 - एंटीबायोटिक्स
 - एंजाइम
 - ऑर्गेनिक एसिड
-

2. किण्वन के प्रकार (Types of Fermentation)

किण्वन को विभिन्न आधारों पर वर्गीकृत किया जाता है।

2.1 ऑक्सीजन की आवश्यकता के आधार पर

(A) एरोबिक किण्वन (Aerobic Fermentation)

परिभाषा

जिस किण्वन में ऑक्सीजन की आवश्यकता होती है, उसे एरोबिक किण्वन कहते हैं।

विशेषताएँ

- उच्च ऊर्जा उत्पादन
- तेज़ कोशिका वृद्धि
- Heat generation अधिक

उदाहरण

- एंटीबायोटिक उत्पादन (Penicillin)
- एसिटिक एसिड उत्पादन

सूक्ष्मजीव

- *Aspergillus*
 - *Acetobacter*
-

(B) एनएरोबिक किण्वन (Anaerobic Fermentation)

परिभाषा

जिस किण्वन में ऑक्सीजन की आवश्यकता नहीं होती, उसे एनएरोबिक किण्वन कहते हैं।

विशेषताएँ

- कम ऊर्जा उत्पादन
- धीमी वृद्धि

उदाहरण

- एल्कोहल किण्वन
- लैक्टिक एसिड किण्वन

सूक्ष्मजीव

- *Saccharomyces cerevisiae*

- *Lactobacillus*
-

2.2 उत्पाद के आधार पर किण्वन के प्रकार

(A) Alcoholic Fermentation

- शर्करा → Ethanol + CO₂
- उपयोग: शराब, बायोएथेनॉल

(B) Lactic Acid Fermentation

- शर्करा → Lactic acid
- उपयोग: दही, चीज़

(C) Acetic Acid Fermentation

- Ethanol → Acetic acid
- उपयोग: सिरका

(D) Butyric Acid Fermentation

- उपयोग: सॉल्वेंट, केमिकल इंडस्ट्री
-

2.3 सब्सट्रेट की अवस्था के आधार पर

(A) Submerged Fermentation (SmF)

परिभाषा

जिसमें सूक्ष्मजीव तरल माध्यम (Liquid medium) में उगाए जाते हैं।

विशेषताएँ

- अधिक नियंत्रण
- आसान स्केल-अप

उपयोग

- एंटीबायोटिक्स
 - एंजाइम
-

(B) Solid State Fermentation (SSF)

परिभाषा

जिसमें सूक्ष्मजीव ठोस सब्सट्रेट पर कम नमी में उगाए जाते हैं।

विशेषताएँ

- कम पानी की आवश्यकता
- सस्ता

उपयोग

- एंजाइम
 - पारंपरिक खाद्य पदार्थ
-

2.4 संचालन विधि के आधार पर

(A) Batch Fermentation

- एक बार सब कुछ डालकर प्रक्रिया
- समय के बाद उत्पाद निकाला जाता है

(B) Fed-Batch Fermentation

- धीरे-धीरे सब्सट्रेट जोड़ा जाता है
- अधिक उत्पादन

(C) Continuous Fermentation

- लगातार माध्यम डाला और निकाला जाता है
 - स्थिर उत्पादन
-
-

3. किण्वक / फर्मेंटर (Fermenters)

फर्मेंटर क्या है?

फर्मेंटर एक **बायोरिएक्टर** होता है जिसमें नियंत्रित परिस्थितियों में किण्वन कराया जाता है।

4. फर्मेंटर के प्रकार (Types of Fermenters)

4.1 Stirred Tank Fermenter (STF)

डिज़ाइन

- बेलनाकार टैंक
- Impeller, sparger, sensors लगे होते हैं

लाभ

- ✓ उत्कृष्ट Mixing
- ✓ तापमान और pH नियंत्रण

हानियाँ

✗ उच्च ऊर्जा खपत

उपयोग

- Antibiotics
- Enzymes

4.2 Airlift Fermenter

डिज़ाइन

- Mechanical agitator नहीं
- Riser और Downcomer

लाभ

- ✓ कम shear stress
- ✓ ऊर्जा बचत

उपयोग

- Animal cell culture
 - Plant cell culture
-

4.3 Bubble Column Fermenter

डिज़ाइन

- केवल sparger
- सरल संरचना

लाभ

- ✓ कम लागत

हानियाँ

- ✗ सीमित Mixing
-

4.4 Packed Bed Fermenter

डिज़ाइन

- Immobilized cells
- Solid support

उपयोग

- Enzyme production
-

4.5 Fluidized Bed Fermenter

डिज़ाइन

- कण fluid में तैरते हैं

लाभ

- ✓ बेहतर mass transfer
-

5. किण्वन और फर्मेंटर का संबंध

किण्वन का प्रकार	उपयुक्त फर्मेंटर
Aerobic	Stirred tank
Anaerobic	Batch fermenter
Continuou s	Chemostat
Solid state	Tray fermenter

किण्वन के मूल मोड (Basic Modes of Fermentation)

भूमिका (Introduction)

किण्वन (Fermentation) वह प्रक्रिया है जिसमें सूक्ष्मजीव नियंत्रित परिस्थितियों में सब्सट्रेट को उपयोगी उत्पादों में बदलते हैं।

Fermentation modes यह निर्धारित करते हैं कि:

- सब्सट्रेट कब और कैसे डाला जाए
- उत्पाद कब निकाला जाए
- उत्पादन की दक्षता कितनी होगी

1. बैच किण्वन (Batch Fermentation)

परिभाषा

बैच किण्वन वह प्रक्रिया है जिसमें:

- शुरुआत में पूरा माध्यम (medium), सूक्ष्मजीव और पोषक तत्व एक साथ फर्मेंटर में डाले जाते हैं
- प्रक्रिया के दौरान कुछ भी नहीं जोड़ा जाता
- अंत में पूरा उत्पाद निकाल लिया जाता है

□ **Closed system** कहलाता है।

प्रक्रिया के चरण

1. फर्मेंटर की सफाई और स्टेरिलाइज़ेशन
2. माध्यम (Media) डालना
3. Inoculation (सूक्ष्मजीव डालना)
4. Growth phase (Lag → Log → Stationary)
5. Fermentation complete
6. Harvesting (उत्पाद निकालना)

विशेषताएँ

- सरल और नियंत्रित प्रक्रिया
 - कम contamination जोखिम
 - सीमित उत्पादन क्षमता
-

लाभ

- ✓ डिज़ाइन और संचालन सरल
 - ✓ छोटे पैमाने के लिए उपयुक्त
 - ✓ रिसर्च और लैब स्तर पर आदर्श
-

हानियाँ

- ✗ समय की बर्बादी (हर बैच के बाद सफाई)
 - ✗ Nutrient depletion
 - ✗ Productivity कम
-

उपयोग

- Antibiotics (Penicillin)
 - Secondary metabolites
 - Lab-scale fermentation
-
-

2. फेड-बैच किण्वन (Fed-Batch Fermentation)

परिभाषा

फेड-बैच किण्वन वह प्रक्रिया है जिसमें:

- शुरुआत में सीमित माध्यम डाला जाता है
- किण्वन के दौरान धीरे-धीरे सब्सट्रेट जोड़ा जाता है

- अंत में पूरा उत्पाद निकाला जाता है

□ **Semi-closed system** कहलाता है।

क्यों ज़रूरी है Fed-Batch?

कुछ समस्याएँ बैच किण्वन में होती हैं:

- Substrate inhibition
- Catabolite repression
- Nutrient limitation

Fed-batch इन समस्याओं को नियंत्रित करता है।

फीडिंग के प्रकार

1. Constant feeding
 2. Exponential feeding
 3. Pulse feeding
-

विशेषताएँ

- उच्च cell density
 - बेहतर नियंत्रण
 - लंबा fermentation समय
-

लाभ

- ✓ उच्च उत्पाद yield
 - ✓ Substrate toxicity से बचाव
 - ✓ Industrial scale के लिए आदर्श
-

हानियाँ

✗ नियंत्रण जटिल

✗ कुशल monitoring की आवश्यकता

उपयोग

- इंसुलिन
 - वैक्सीन
 - Industrial enzymes
 - Amino acids
-
-

3. सतत किण्वन (Continuous Fermentation)

परिभाषा

Continuous fermentation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- ताज़ा माध्यम लगातार फर्मेंटर में डाला जाता है
- उसी दर से fermented broth बाहर निकाला जाता है
- सिस्टम स्थिर अवस्था (Steady state) में चलता है

□ Open system कहलाता है।

मुख्य प्रकार

(A) Chemostat

- Growth nutrient द्वारा नियंत्रित
- Dilution rate महत्वपूर्ण

(B) Turbidostat

- Cell density द्वारा नियंत्रित
 - Optical sensor का उपयोग
-

विशेषताएँ

- निरंतर उत्पादन
 - स्थिर cell growth
 - उच्च productivity
-

लाभ

- ✓ समय की बचत
 - ✓ अधिक उत्पादन
 - ✓ Cost effective (बड़े पैमाने पर)
-

हानियाँ

- ✗ Contamination का उच्च जोखिम
 - ✗ Mutation की संभावना
 - ✗ संचालन कठिन
-

उपयोग

- Single Cell Protein (SCP)
 - Ethanol production
 - Wastewater treatment
-
-

4. Batch, Fed-Batch और Continuous का तुलनात्मक अध्ययन

विशेषता	Batch	Fed-Batch	Continuous
सिस्टम प्रकार	Closed	Semi-closed	Open
Substrate जोड़ना	केवल शुरुआत में	धीरे-धीरे	लगातार
उत्पाद निकालना	अंत में	अंत में	लगातार
Productivity	कम	मध्यम-उच्च	बहुत उच्च
Contamination risk	कम	मध्यम	अधिक
Control complexity	सरल	मध्यम	जटिल

5. औद्योगिक चयन का आधार

कौन-सा मोड चुना जाएगा यह निर्भर करता है:

- उत्पाद का प्रकार
- सूक्ष्मजीव की प्रकृति
- आर्थिक लागत
- Contamination sensitivity

Conventional Fermentation v/s Biotransformation

भूमिका (Introduction)

औद्योगिक जैव-प्रौद्योगिकी में सूक्ष्मजीवों या उनके एंजाइमों का उपयोग करके उपयोगी उत्पाद बनाए जाते हैं। इसके लिए दो प्रमुख रणनीतियाँ अपनाई जाती हैं:

1. Conventional Fermentation (पारंपरिक किण्वन)
2. Biotransformation (जैव-परिवर्तन)

दोनों प्रक्रियाएँ अलग-अलग उद्देश्य और सिद्धांतों पर आधारित होती हैं।

1. Conventional Fermentation (पारंपरिक किण्वन)

परिभाषा

Conventional fermentation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- सूक्ष्मजीव पूरी metabolic machinery का उपयोग करते हैं
- सरल सब्सट्रेट (जैसे शर्करा) को
- जटिल और उपयोगी उत्पादों में बदलते हैं

□ उत्पाद सूक्ष्मजीव की प्राकृतिक चयापचय (metabolism) का परिणाम होते हैं।

मूल सिद्धांत

- Substrate → Microbial metabolism → Product
 - पूरी कोशिका (Whole cell) सक्रिय रहती है
 - Growth और product formation एक-दूसरे से जुड़े होते हैं
-

प्रक्रिया के चरण

1. Media preparation
 2. Sterilization
 3. Inoculation
 4. Microbial growth
 5. Product formation
 6. Downstream processing
-

विशेषताएँ

- Growth-associated या non-growth-associated उत्पाद
- बहु-चरणीय biochemical reactions
- लंबे fermentation समय

उदाहरण

- Ethanol – *Saccharomyces cerevisiae*
 - Lactic acid – *Lactobacillus*
 - Penicillin – *Penicillium chrysogenum*
 - Citric acid – *Aspergillus niger*
-

लाभ

- ✓ सरल और स्थापित तकनीक
 - ✓ सस्ते कच्चे पदार्थ
 - ✓ बड़े पैमाने पर उत्पादन संभव
-

हानियाँ

- ✗ By-products का निर्माण
 - ✗ Product yield सीमित
 - ✗ लंबा समय
-
-

2. Biotransformation (जैव-परिवर्तन)

परिभाषा

Biotransformation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- जीवित कोशिकाएँ या शुद्ध एंजाइम
- किसी विशिष्ट रासायनिक यौगिक को
- एक या कुछ नियंत्रित रासायनिक परिवर्तनों द्वारा
- अधिक उपयोगी या सक्रिय उत्पाद में बदलते हैं

□ यहाँ उद्देश्य growth नहीं, transformation होता है।

मूल सिद्धांत

- Specific enzyme + Specific substrate → Modified product
 - सीमित metabolic steps
 - High regio- और stereo-specificity
-

प्रक्रिया की विशेषताएँ

- Non-growth system भी हो सकता है
 - High selectivity
 - कम समय में प्रतिक्रिया पूरी
-

उदाहरण

- Steroid → Modified steroid (Hydroxylation)
 - Penicillin → 6-APA
 - Cortisone → Hydrocortisone
 - Acrylonitrile → Acrylamide
-

लाभ

- ✓ उच्च specificity
 - ✓ कम by-products
 - ✓ जटिल रसायनों का सरल रूपांतरण
-

हानियाँ

- ✗महँगा सब्सट्रेट
- ✗Enzyme instability
- ✗Scale-up कठिन

3. Conventional Fermentation और Biotransformation में मुख्य अंतर

आधार	Conventional Fermentation	Biotransformation
उद्देश्य	उत्पाद + कोशिका वृद्धि	केवल रासायनिक परिवर्तन
Substrate	सरल (शर्करा, कार्बन स्रोत)	जटिल यौगिक
Biological system	Whole cell metabolism	Whole cell या isolated enzyme
Reaction steps	बहु-चरणीय	सीमित चरण
Specificity	कम	बहुत अधिक
By-products	अधिक	बहुत कम
समय	लंबा	कम
उदाहरण	Ethanol, Antibiotics	Steroids, β -lactam drugs

4. औद्योगिक दृष्टिकोण से तुलना

Conventional Fermentation उपयुक्त है जब:

- उत्पाद सूक्ष्मजीव का प्राकृतिक metabolite हो
- कच्चा माल सस्ता हो
- Large-scale production चाहिए

Biotransformation उपयुक्त है जब:

- उच्च purity और specificity चाहिए
- Chemical synthesis कठिन हो
- Pharmaceutical intermediates बनाना हो

**किण्वन के प्रकार:

Solid Substrate, Surface एवं Submerged Fermentation**

भूमिका (Introduction)

किण्वन प्रक्रियाओं को माध्यम (substrate) की भौतिक अवस्था और सूक्ष्मजीवों की वृद्धि की स्थिति के आधार पर वर्गीकृत किया जाता है। औद्योगिक जैव-प्रौद्योगिकी में मुख्यतः तीन प्रकार महत्वपूर्ण हैं:

1. Solid Substrate Fermentation (SSF)
 2. Surface Fermentation
 3. Submerged Fermentation (SmF)
-

1. Solid Substrate Fermentation (SSF)

(ठोस सब्सट्रेट किण्वन)

परिभाषा

Solid substrate fermentation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- सूक्ष्मजीव ठोस सब्सट्रेट पर
- कम नमी (Low moisture) की स्थिति में
- बिना मुक्त जल (free-flowing water) के उगाए जाते हैं।

□ यह प्रक्रिया प्राकृतिक फफूंद वृद्धि जैसी होती है।

उपयोग होने वाले सब्सट्रेट

- गेहूँ की भूसी
- चावल की भूसी

- मक्का का चोकर
 - गन्ने की खोई
-

उपयुक्त सूक्ष्मजीव

- फफूंद (Fungi): *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*
 - कुछ बैक्टीरिया (*Bacillus*)
-

प्रक्रिया

1. ठोस सब्सट्रेट का चयन
 2. नमी समायोजन
 3. Sterilization
 4. Inoculation
 5. Incubation
 6. उत्पाद निष्कर्षण
-

लाभ

- ✓ सस्ता माध्यम
 - ✓ उच्च उत्पाद सांद्रता
 - ✓ कम अपशिष्ट जल
-

हानियाँ

- ✗ तापमान नियंत्रण कठिन
 - ✗ Scale-up जटिल
 - ✗ ऑटोमेशन सीमित
-

उपयोग

- एंजाइम (Amylase, Cellulase)
 - Organic acids
 - Traditional fermented foods
-
-

2. Surface Fermentation

(सतही किण्वन)

परिभाषा

Surface fermentation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- सूक्ष्मजीव तरल माध्यम की सतह पर उगते हैं
- हवा के सीधे संपर्क में रहते हैं।

□ यह प्रक्रिया एरोबिक किण्वन का प्रारंभिक औद्योगिक रूप है।

डिज़ाइन

- चौड़े और उथले ट्रे / टैंक
 - तरल माध्यम की पतली परत
-
-

उपयुक्त सूक्ष्मजीव

- फफूंद (*Aspergillus niger*)
 - कुछ बैक्टीरिया (*Acetobacter*)
-
-

विशेषताएँ

- Oxygen की आपूर्ति प्राकृतिक
 - कम agitation
-

लाभ

- ✓ सरल तकनीक
 - ✓ कम ऊर्जा खपत
-

हानियाँ

- ✗ कम उत्पादन
 - ✗ अधिक स्थान की आवश्यकता
 - ✗ Contamination जोखिम
-

उपयोग

- Citric acid (प्रारंभिक विधि)
 - Acetic acid (vinegar)
 - Traditional enzyme production
-
-

3. Submerged Fermentation (SmF)

(जलमग्न किण्वन)

परिभाषा

Submerged fermentation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- सूक्ष्मजीव तरल माध्यम में पूरी तरह डूबे रहते हैं
- Mixing और aeration नियंत्रित रूप से होती है।

□ यह आधुनिक औद्योगिक किण्वन की सबसे प्रमुख विधि है।

उपयुक्त सूक्ष्मजीव

- बैक्टीरिया (*E. coli*)
 - यीस्ट (*Saccharomyces*)
 - फफूंद (*Aspergillus*)
-

Fermenter प्रकार

- Stirred tank fermenter
 - Airlift fermenter
 - Bubble column fermenter
-

लाभ

- ✓ उत्कृष्ट नियंत्रण (pH, तापमान, O₂)
 - ✓ उच्च उत्पादन
 - ✓ आसान scale-up
-

हानियाँ

- × उच्च लागत
 - × अधिक ऊर्जा खपत
 - × Foam formation
-

उपयोग

- Antibiotics
- Alcohol
- Enzymes

- Vaccines

4. तीनों किण्वन प्रक्रियाओं का तुलनात्मक अध्ययन

विशेषता	SSF	Surface	Submerged
माध्यम की अवस्था	ठोस	तरल (सतह पर वृद्धि)	तरल (पूरी तरह डूबे)
नमी	कम	अधिक	अधिक
Oxygen supply	Diffusion	प्राकृतिक	नियंत्रित
उत्पादन	मध्यम-उच्च	कम	उच्च
नियंत्रण	सीमित	सीमित	उत्कृष्ट
लागत	कम	कम	अधिक
उपयोग	Enzymes, foods	Organic acids	Antibiotics, vaccines

5. औद्योगिक चयन का आधार

किण्वन का प्रकार निर्भर करता है:

- सूक्ष्मजीव की प्रकृति
- उत्पाद का प्रकार
- लागत
- नियंत्रण की आवश्यकता

Fermentation Economics (किण्वन का अर्थशास्त्र)

1. Fermentation Economics क्या है?

Fermentation economics वह अध्ययन है जिसमें यह आकलन किया जाता है कि किण्वन द्वारा किसी उत्पाद का औद्योगिक उत्पादन आर्थिक रूप से लाभकारी है या नहीं।

□ सरल शब्दों में:

कितनी लागत लगी + कितना उत्पाद बना + कितना लाभ हुआ = Fermentation economics

2. Fermentation Economics का उद्देश्य

किसी भी औद्योगिक किण्वन प्रक्रिया का लक्ष्य होता है:

- अधिकतम उत्पादन (Maximum yield)
 - न्यूनतम लागत (Minimum cost)
 - अधिक लाभ (Maximum profit)
-

3. Fermentation Economics के मुख्य घटक (Major Components)

Fermentation economics को मुख्यतः 4 भागों में समझा जाता है:

1. Raw material cost (कच्चे माल की लागत)
 2. Fermentation process cost (प्रक्रिया लागत)
 3. Downstream processing cost (उत्पाद निष्कर्षण लागत)
 4. Capital & operating cost (पूंजी और संचालन लागत)
-

4. Raw Material Cost (कच्चे माल की लागत)

(A) Substrate cost

- कार्बन स्रोत (Glucose, Molasses, Starch)
- नाइट्रोजन स्रोत (Ammonium salts, Urea)
- Minerals और Vitamins

□ यह कुल लागत का 30–60% तक हो सकता है।

सस्ता सब्सट्रेट क्यों ज़रूरी है?

- Fermentation आमतौर पर **bulk products** बनाता है
- यदि सब्सट्रेट महँगा होगा → उत्पाद महँगा → बाज़ार में असफल

उदाहरण

- Molasses → Ethanol (सस्ता)
 - Whey → Lactic acid
-

5. Fermentation Process Cost (प्रक्रिया लागत)

इसमें शामिल हैं:

(A) Energy cost

- Agitation
- Aeration
- Cooling
- Sterilization

□ Aerobic fermentation में ऊर्जा लागत अधिक होती है।

(B) Labor cost

- Skilled operators
 - Monitoring और maintenance
-

(C) Utilities

- पानी
 - Steam
 - Electricity
-

6. Capital Cost (पूंजी लागत)

Capital cost क्या है?

यह वह राशि है जो फैक्ट्री लगाने में एक बार खर्च होती है।

इसमें शामिल हैं

- Fermenters
- Sensors और control systems
- Sterilization units
- Buildings

High-tech fermenter → High capital cost

7. Operating Cost (संचालन लागत)

यह वह खर्च है जो हर बैच / हर दिन होता है।

इसमें शामिल

- Media preparation
 - Cleaning और sterilization
 - Fermentation run
 - Waste disposal
-

8. Downstream Processing Cost (DSP लागत)

सबसे महँगा चरण

Fermentation economics में DSP की भूमिका बहुत बड़ी है।

कुल लागत का 40–70% तक DSP में चला जाता है।

DSP में शामिल

- Cell separation
- Filtration

- Centrifugation
- Extraction
- Purification
- Drying

उदाहरण

- Antibiotics → बहुत महँगा DSP
 - Ethanol → सस्ता DSP
-

9. Yield, Productivity और Titer का आर्थिक महत्व

(A) Yield (उपज)

कितने सब्सट्रेट से कितना उत्पाद बना

- ✓ उच्च yield → कम कच्चा माल → कम लागत
-

(B) Productivity

प्रति समय कितना उत्पाद बना

- ✓ उच्च productivity → कम समय → कम ऊर्जा लागत
-

(C) Titer

फर्मेंटर में उत्पाद की सांद्रता

- ✓ उच्च titer → DSP आसान → कम लागत
-

10. Scale-up और Economics

Scale-up का अर्थ

- Lab → Pilot → Industrial scale

आर्थिक चुनौती

- Mixing
- Oxygen transfer
- Heat removal

✗ गलत scale-up → भारी आर्थिक नुकसान

11. Fermentation Mode का आर्थिक प्रभाव

Fermentation Mode	Economic impact
Batch	सरल लेकिन कम productivity
Fed-batch	सबसे अधिक आर्थिक रूप से सफल
Continuous	उच्च output, लेकिन जोखिम अधिक

□ Industrial biotech में Fed-batch सबसे अधिक उपयोग होता है।

12. Product Type और Economics

(A) Low-value products

- Ethanol
- Organic acids

□ सस्ता सब्सट्रेट + बड़ा पैमाना आवश्यक

(B) High-value products

- Antibiotics
- Enzymes
- Vaccines

□ महँगी प्रक्रिया भी स्वीकार्य

13. By-products और Waste का आर्थिक प्रभाव

- By-products → Purification कठिन
- Waste treatment → अतिरिक्त खर्च

✓ यदि by-product को उपयोगी बनाया जाए → profit बढ़ता है

14. Fermentation Economics को बेहतर बनाने के तरीके

1. सस्ते कच्चे माल का उपयोग
 2. Genetically improved strains
 3. High cell density fermentation
 4. Fed-batch strategy
 5. Efficient downstream processing
 6. Automation और process control
-

15. वास्तविक औद्योगिक उदाहरण

Ethanol Production

- Raw material सस्ता (molasses)
 - DSP सरल (distillation)
 - ✓ Economically highly viable
-

Penicillin Production

- Raw material मध्यम
 - DSP महँगा
 - ✓ फिर भी लाभदायक (High-value drug)
-

Fermentation Media (किण्वन माध्यम)

1. Fermentation Media क्या है?

Fermentation media वह पोषक माध्यम (nutrient mixture) होता है जो सूक्ष्मजीवों को:

- ऊर्जा
- वृद्धि
- उत्पाद निर्माण

के लिए आवश्यक सभी तत्व प्रदान करता है।

□ सरल शब्दों में:

Fermentation media = सूक्ष्मजीवों का भोजन

2. Fermentation Media का उद्देश्य

एक अच्छा fermentation media निम्नलिखित सुनिश्चित करता है:

- अधिकतम cell growth
- उच्च product yield
- कम by-products
- कम लागत

3. Fermentation Media के आवश्यक घटक (Essential Components)

3.1 Carbon Source (कार्बन स्रोत)

भूमिका

- ऊर्जा का मुख्य स्रोत

- कोशिका संरचना (biomass) के लिए आवश्यक

उदाहरण

- Glucose
- Sucrose
- Molasses
- Starch
- Cellulose (कुछ फफूंद के लिए)

□ कुल लागत का सबसे बड़ा भाग

3.2 Nitrogen Source (नाइट्रोजन स्रोत)

भूमिका

- प्रोटीन, न्यूक्लिक एसिड, एंजाइम निर्माण

प्रकार

(A) Inorganic

- Ammonium sulfate
- Ammonium nitrate

(B) Organic

- Peptone
- Yeast extract
- Corn steep liquor (CSL)

□ Organic स्रोत महँगे लेकिन growth बेहतर

3.3 Minerals (खनिज तत्व)

भूमिका

- Enzyme activation
- Osmotic balance

उदाहरण

- Phosphorus (KH_2PO_4)
 - Magnesium (MgSO_4)
 - Calcium
 - Iron
-

3.4 Trace Elements (सूक्ष्म तत्व)

भूमिका

- Cofactors के रूप में कार्य

उदाहरण

- Zinc
- Copper
- Manganese
- Cobalt
- Molybdenum

□ बहुत कम मात्रा में आवश्यक

3.5 Growth Factors (वृद्धि कारक)

भूमिका

- कुछ सूक्ष्मजीव स्वयं नहीं बना पाते

उदाहरण

- Vitamins (B-complex)
- Amino acids
- Purines, Pyrimidines

3.6 Water (जल)

भूमिका

- Solvent
- Heat transfer
- Transport medium

□ Water की quality अत्यंत महत्वपूर्ण

3.7 Buffers (बफर)

भूमिका

- pH को स्थिर रखना

उदाहरण

- Phosphate buffer
 - Calcium carbonate (CaCO_3)
-

3.8 Antifoaming Agents (झाग-रोधी पदार्थ)

भूमिका

- Foam formation को रोकना

उदाहरण

- Silicone oil
 - Vegetable oils
-

4. Fermentation Media के प्रकार (Types of Fermentation Media)

4.1 Simple Media

- केवल basic nutrients
- Lab scale उपयोग

4.2 Complex Media

- Natural extracts
 - सस्ता और industrial उपयोगी
- Composition पूर्णतः ज्ञात नहीं होता

4.3 Synthetic / Defined Media

- सभी घटक ज्ञात मात्रा में
- Research और controlled studies

4.4 Production Media

- Product-specific
- Growth से अधिक product formation पर ध्यान

4.5 Seed / Inoculum Media

- प्रारंभिक cell growth के लिए
- Highly nutritious

5. Media Formulation को प्रभावित करने वाले कारक

1. सूक्ष्मजीव का प्रकार

2. उत्पाद का प्रकार
 3. Fermentation mode (batch / fed-batch)
 4. लागत
 5. Downstream processing
-

6. Industrial Fermentation Media के उदाहरण

Penicillin Media

- Lactose (carbon source)
 - Corn steep liquor (nitrogen)
 - Minerals
-

Ethanol Media

- Molasses / Starch hydrolysate
 - Minimal nitrogen
-

Citric Acid Media

- High sugar
 - Limited nitrogen
-

7. Media Optimization का महत्व

Media optimization क्यों आवश्यक?

- Raw material cost घटाने
- Yield बढ़ाने
- By-product कम करने

Techniques

- One-factor-at-a-time
- Statistical optimization (RSM)

8. Fermentation Media और Economics का संबंध

- कुल fermentation लागत का 30–60% media में खर्च होता है
 - इसलिए सस्ता और प्रभावी media design अत्यंत आवश्यक है।
-

**Mechanically Agitated Fermenter

(यांत्रिक रूप से हिलाया जाने वाला फर्मेटर)**

1. परिचय (Introduction)

Mechanically agitated fermenter वह बायोरिएक्टर होता है जिसमें:

- **Mechanical agitator (impeller)** द्वारा
 - किण्वन माध्यम को निरंतर हिलाया जाता है
 - ताकि **mixing, oxygen transfer और heat removal** बेहतर हो सके।
- इसे सामान्यतः **Stirred Tank Fermenter (STF)** कहा जाता है।
-

2. Mechanically Agitated Fermenter की आवश्यकता

किण्वन प्रक्रिया में निम्न समस्याएँ होती हैं:

- Nutrient gradient
 - Oxygen limitation
 - Heat accumulation
- Mechanical agitation इन सभी को नियंत्रित करता है।
-

3. Mechanically Agitated Fermenter का मूल सिद्धांत

कार्य सिद्धांत

- Impeller घूमता है
- तरल माध्यम में turbulence पैदा करता है
- Sparger से दी गई हवा छोटे बुलबुलों में टूटती है
- Oxygen का mass transfer बढ़ता है

□ Agitation + Aeration = Efficient fermentation

4. Mechanically Agitated Fermenter की संरचना (Design Components)

4.1 Vessel (फर्मेंटर टैंक)

- सामान्यतः स्टेनलेस स्टील (SS-316)
- बेलनाकार आकार
- नीचे गोल (Dished bottom)

लाभ:

- Sterilization आसान
 - Cleaning-in-place (CIP)
-

4.2 Agitator System

(A) Impeller (इम्पेलर)

कार्य: Mixing और oxygen dispersion

प्रकार:

1. Rushton turbine (Radial flow)
2. Marine impeller (Axial flow)

3. Pitched blade turbine

- Aerobic fermentation में Rushton turbine सर्वाधिक उपयोगी
-

(B) Shaft (शाफ्ट)

- Impeller को मोटर से जोड़ता है
 - मजबूत और संतुलित होना आवश्यक
-

(C) Motor और Gear System

- Impeller की गति नियंत्रित करता है
 - Variable speed drive (VSD) उपयोग होता है
-

4.3 Baffles (बैफल्स)

संख्या: सामान्यतः 4

कार्य:

- Vortex formation रोकना
 - Mixing efficiency बढ़ाना
-

4.4 Aeration System

Sparger

- हवा या ऑक्सीजन प्रविष्ट कराता है

प्रकार:

- Porous sparger

- Ring sparger
- Nozzle sparger

□ छोटे बुलबुले → अधिक oxygen transfer

4.5 Heat Transfer System

- Cooling jacket
- Internal coils

उद्देश्य: Fermentation से उत्पन्न ऊष्मा हटाना

4.6 Sensors और Control System

Sensor	कार्य
pH sensor	pH नियंत्रण
Temperature sensor	तापमान नियंत्रण
DO sensor	ऑक्सीजन नियंत्रण
Foam sensor	झाग नियंत्रण

4.7 Antifoam System

- Foam breaker
 - Chemical antifoam addition
-

4.8 Inlet और Outlet Ports

- Media inlet
 - Inoculation port
 - Sampling port
 - Harvest outlet
-

5. Mechanically Agitated Fermenter का संचालन (Operation)

1. Media filling
 2. Sterilization (Steam-in-place)
 3. Inoculation
 4. Agitation और aeration शुरू
 5. Parameter monitoring
 6. Harvesting
-

6. Design Parameters (डिज़ाइन मापदंड)

6.1 Agitation Speed

- बहुत कम → Poor mixing
 - बहुत अधिक → Cell damage
-

6.2 Aeration Rate

- पर्याप्त O₂ supply
 - Excess → Foaming
-

6.3 Power Input

- Energy cost से जुड़ा
 - Aerobic fermentation में अधिक
-

6.4 Oxygen Transfer Coefficient (kLa)

- Fermenter efficiency का प्रमुख सूचक
-

7. लाभ (Advantages)

- ✓ उत्कृष्ट mixing
- ✓ बेहतर oxygen transfer
- ✓ सटीक नियंत्रण
- ✓ Large-scale industrial उपयोग

8. हानियाँ (Disadvantages)

- ✗ High capital cost
- ✗ High energy consumption
- ✗ Shear-sensitive कोशिकाओं को नुकसान

9. उपयोग (Applications)

- Antibiotics (Penicillin)
- Enzymes
- Organic acids
- Recombinant proteins

10. Mechanically Agitated vs Non-Agitated Fermenter

बिंदु	Mechanically agitated	Airlift / Bubble column
Mixing	बहुत अच्छा	सीमित
Energy cost	अधिक	कम
Control	उत्कृष्ट	सीमित
Cell damage	संभव	कम

11. औद्योगिक उदाहरण

- Penicillin production में mechanically agitated fermenter का व्यापक उपयोग होता है।
-

Pneumatic एवं Hydrodynamic Fermenters

1. भूमिका (Introduction)

फर्मेंटर को mixing और aeration के तरीके के आधार पर दो बड़े वर्गों में बाँटा जाता है:

1. Mechanically agitated fermenters
2. Non-mechanically agitated fermenters

□ Pneumatic और Hydrodynamic fermenters, non-mechanically agitated fermenters की श्रेणी में आते हैं।

इनमें कोई mechanical impeller नहीं होता, बल्कि तरल की गति हवा (air) या तरल प्रवाह (fluid flow) से उत्पन्न की जाती है।

2. Pneumatic Fermenter (न्यूमैटिक फर्मेंटर)

2.1 परिभाषा

Pneumatic fermenter वह फर्मेंटर होता है जिसमें:

- Compressed air / gas को माध्यम में प्रविष्ट कराया जाता है
- हवा के बुलबुलों की गति से
- Mixing और oxygen transfer होता है

□ इसमें mechanical agitator नहीं होता।

2.2 Pneumatic Fermenter का सिद्धांत

- Sparger से हवा नीचे से प्रविष्ट होती है

- हवा के बुलबुले ऊपर उठते हैं
- तरल को साथ खींचते हैं
- जिससे circulation और mixing होती है

□ Air flow = Mixing + Aeration

2.3 Pneumatic Fermenter के प्रकार

(A) Bubble Column Fermenter

डिज़ाइन

- लंबा बेलनाकार कॉलम
- नीचे sparger
- कोई baffle या impeller नहीं

कार्य

- बुलबुले ऊपर उठते हैं
- Turbulence उत्पन्न करते हैं

लाभ

- ✓ सरल डिज़ाइन
- ✓ कम लागत
- ✓ कम shear stress

हानियाँ

- ✗ Mixing सीमित
- ✗ बड़े पैमाने पर नियंत्रण कठिन

उपयोग

- Single Cell Protein

- Wastewater treatment
-

(B) Airlift Fermenter

डिजाइन

- दो ज़ोन होते हैं:
 - Riser (हवा वाला भाग)
 - Downcomer (हवा रहित भाग)

प्रकार

1. Internal loop airlift fermenter
2. External loop airlift fermenter

कार्य

- Riser में हवा → तरल ऊपर जाता है
- Downcomer से नीचे लौटता है

लाभ

- ✓ बेहतर circulation
- ✓ कम energy consumption
- ✓ Shear-sensitive cells के लिए उपयुक्त

हानियाँ

- ✗ डिजाइन जटिल
- ✗ Gas-liquid mass transfer सीमित

उपयोग

- Plant cell culture
- Animal cell culture

2.4 Pneumatic Fermenter के लाभ

- Mechanical damage नहीं
 - Maintenance कम
 - Contamination risk कम
 - Energy efficient
-

2.5 Pneumatic Fermenter की सीमाएँ

- Oxygen transfer rate सीमित
 - Highly viscous media के लिए अनुपयुक्त
 - Large-scale aeration चुनौतीपूर्ण
-

3. Hydrodynamic Fermenter (हाइड्रोडायनामिक फर्मेंटर)

3.1 परिभाषा

Hydrodynamic fermenter वह फर्मेंटर होता है जिसमें:

- Mixing तरल प्रवाह (liquid flow) के कारण होती है
- यह प्रवाह pressure difference या jet flow से उत्पन्न होता है

□ इसमें impeller नहीं होता, परंतु तरल की उच्च गति से turbulence उत्पन्न होती है।

3.2 कार्य सिद्धांत

- Medium को pump द्वारा उच्च वेग से प्रवाहित किया जाता है
- Liquid jet वापस फर्मेंटर में प्रवेश करता है
- Turbulence और mixing होती है

□ **Liquid motion = Mixing + Mass transfer**

3.3 Hydrodynamic Fermenter के प्रकार

(A) Jet Loop Fermenter

डिज़ाइन

- Nozzle या jet system
- External pump लगा होता है

कार्य

- तरल तेज़ गति से jet के रूप में प्रवेश करता है
- Mixing और aeration होती है

लाभ

- ✓ उच्च oxygen transfer
- ✓ अच्छा mixing

हानियाँ

- ✗ Pump energy cost अधिक
 - ✗ Shear stress संभव
-

(B) Circulating Loop Fermenter

- External loop द्वारा तरल का पुनःसंचरण
 - High flow rate
-

3.4 Hydrodynamic Fermenter के लाभ

- Mixing impeller के बिना
- High mass transfer
- Viscous medium के लिए बेहतर

3.5 Hydrodynamic Fermenter की सीमाएँ

- Energy requirement अधिक
- Pump failure का जोखिम
- डिज़ाइन और संचालन जटिल

4. Pneumatic बनाम Hydrodynamic Fermenter (तुलना)

आधार	Pneumatic Fermenter	Hydrodynamic Fermenter
Mixing source	Air bubbles	Liquid flow
Mechanical parts	नहीं	Pump
Energy cost	कम	अधिक
Shear stress	बहुत कम	मध्यम-अधिक
Oxygen transfer	सीमित	अधिक
Suitable for	Shear-sensitive cells	Viscous media
Maintenance	कम	अधिक

5. Mechanically Agitated बनाम Pneumatic/Hydrodynamic

बिंदु	Mechanical	Pneumatic / Hydrodynamic
Impeller	होता है	नहीं
Energy use	अधिक	कम-मध्यम
Control	उत्कृष्ट	सीमित
Cell damage	संभव	कम

6. औद्योगिक उपयोग (Industrial Applications)

- **Pneumatic fermenters**
 - SCP production
 - Wastewater treatment
 - Algal culture
 - **Hydrodynamic fermenters**
 - Enzyme production
 - High viscosity fermentation
-

1. Large Scale Animal Cell Cultivation

(बड़े पैमाने पर पशु कोशिका संवर्धन)

1.1 परिचय

पशु कोशिका संवर्धन वह तकनीक है जिसमें जीवित पशुओं से ली गई कोशिकाओं को प्रयोगशाला या उद्योग में नियंत्रित परिस्थितियों में उगाया जाता है। जब यही प्रक्रिया औद्योगिक स्तर (large scale) पर की जाती है, तो इसे Large Scale Animal Cell Culture कहते हैं।

1.2 आवश्यकता (Why needed?)

पशु कोशिकाओं से बनने वाले उत्पाद:

- टीके (Vaccines) – पोलियो, हेपेटाइटिस
- हार्मोन – इंसुलिन, ग्रोथ हार्मोन
- एंजाइम
- मोनोक्लोनल एंटीबॉडी (कैंसर उपचार में)
- वायरल प्रोटीन

1.3 पशु कोशिकाओं की विशेषताएँ

- ये बहुत नाजुक (fragile) होती हैं

- तापमान: लगभग 37°C
- pH: 7.2 – 7.4
- इन्हें स्टरल (निष्फल) वातावरण चाहिए
- इन्हें ऑक्सीजन और पोषक तत्व निरंतर चाहिए

1.4 Large Scale Cultivation के चरण

(A) Cell Line का चयन

- Vero cells
- CHO (Chinese Hamster Ovary) cells
- Hybridoma cells

(B) Culture Medium

कोशिकाओं के लिए “भोजन”:

- अमीनो एसिड
- विटामिन
- ग्लूकोज़
- मिनेरल
- ग्रोथ फैक्टर

(C) Bioreactor (जैव अभिक्रियक)

बड़े पैमाने पर कोशिकाएँ Bioreactor में उगाई जाती हैं।

Bioreactor के कार्य:

- तापमान नियंत्रण
- pH नियंत्रण
- ऑक्सीजन आपूर्ति
- कोशिकाओं का मिश्रण (mixing)

(D) प्रकार

- Stirred tank bioreactor

- Air lift bioreactor
- Hollow fiber bioreactor

(E) Harvesting

उत्पाद (जैसे प्रोटीन या वैक्सीन) को कोशिकाओं से अलग किया जाता है।

2. Large Scale Plant Cell Cultivation

(बड़े पैमाने पर पादप कोशिका संवर्धन)

2.1 परिचय

पादप कोशिका संवर्धन में पौधों की कोशिकाओं, ऊतकों या अंगों को कृत्रिम माध्यम में उगाया जाता है।

2.2 महत्व

- औषधीय रसायन (Alkaloids, Glycosides)
- सुगंधित तेल
- रंग (Natural pigments)
- दुर्लभ पौधों का संरक्षण

2.3 पादप कोशिकाओं की विशेषताएँ

- ये टोटिपोटेंट (Totipotent) होती हैं
- सही हार्मोन मिलने पर पूरा पौधा बना सकती हैं

2.4 Culture Medium

आम तौर पर MS Medium (Murashige and Skoog) प्रयोग किया जाता है, जिसमें:

- नाइट्रोजन
- फॉस्फोरस
- पोटैशियम

- ऑक्सिन और साइटोकिनिन (Plant hormones)

2.5 Large Scale Cultivation की विधियाँ

(A) Suspension Culture

- कोशिकाएँ तरल माध्यम में तैरती हैं
- Bioreactor में की जाती हैं

(B) Callus Culture

- कोशिकाओं का अव्यवस्थित समूह (callus)

(C) Bioreactor

- Stirred tank
- Air lift
- Bubble column

2.6 उपयोग

- Taxol (कैंसर दवा)
 - Artemisinin (मलेरिया की दवा)
-

3. Air Sterilization

(वायु निष्फलीकरण)

3.1 परिभाषा

Air Sterilization वह प्रक्रिया है जिसमें हवा से सूक्ष्मजीवों (बैक्टीरिया, फंगस, वायरस) को हटाया या नष्ट किया जाता है।

3.2 आवश्यकता

- Cell culture laboratories

- Pharmaceutical industries
- Operation theatres
- Bioreactor rooms

3.3 Air Sterilization के तरीके

(A) HEPA Filter

High Efficiency Particulate Air Filter

कार्य

- 0.3 माइक्रोन से बड़े कणों को 99.97% तक रोकता है

उपयोग

- Laminar air flow
 - Tissue culture lab
-

(B) Laminar Air Flow

सिद्धांत

- एक दिशा में साफ हवा का प्रवाह
- दूषित हवा अंदर नहीं जा पाती

प्रकार

- Horizontal
 - Vertical
-

(C) UV Radiation

सिद्धांत

- UV किरणें DNA को नष्ट कर देती हैं

उपयोग

- रात में प्रयोगशाला की हवा को निष्फल करना
-

(D) Chemical Fumigation

रसायन

- Formaldehyde
- Hydrogen peroxide vapor

उपयोग

- बड़े कमरे और bioreactor halls
-

(E) Positive Air Pressure

- अंदर का दबाव बाहर से अधिक
 - बाहर की गंदी हवा अंदर नहीं आती
-

4. Large Scale Cell Culture में Air Sterilization का महत्व

यदि हवा निष्फल न हो:

- Contamination हो जाएगा
- पूरी culture नष्ट हो सकती है
- आर्थिक नुकसान

इसलिए:

- HEPA filters
- Sterile air supply

- Clean room technology का प्रयोग किया जाता है।
-

Upstream Processing: Media Formulation

(अपस्ट्रीम प्रोसेसिंग: मीडिया फॉर्मूलेशन)

1. Upstream Processing क्या है?

Upstream Processing जैव-प्रौद्योगिकी (Biotechnology) और औद्योगिक सूक्ष्मजीव विज्ञान (Industrial Microbiology) का वह चरण है जिसमें:

- जीव (microorganism / plant cell / animal cell) को
- उपयुक्त **मीडिया (Medium)** में
- नियंत्रित परिस्थितियों में
- बड़े पैमाने पर उगाया जाता है

□ **Media formulation upstream processing का सबसे महत्वपूर्ण भाग है**, क्योंकि जीव का विकास, उत्पाद की मात्रा और गुणवत्ता सीधे मीडिया पर निर्भर करती है।

2. Media Formulation की परिभाषा

Media formulation वह वैज्ञानिक प्रक्रिया है जिसमें:

- जीव की पोषण आवश्यकताओं को ध्यान में रखते हुए
 - उपयुक्त पोषक तत्वों को
 - सही अनुपात में मिलाकर
 - एक प्रभावी कल्चर मीडिया तैयार किया जाता है।
-

3. Media Formulation का उद्देश्य

1. अधिकतम कोशिका वृद्धि (Cell growth)
 2. अधिकतम उत्पाद निर्माण (Product formation)
 3. लागत कम रखना
 4. Contamination से बचाव
 5. Downstream processing को आसान बनाना
-

4. Media Formulation में ध्यान देने योग्य कारक

4.1 Microorganism / Cell का प्रकार

- Bacteria
- Fungi
- Yeast
- Plant cells
- Animal cells

हर जीव की पोषण आवश्यकता अलग होती है।

4.2 Media का प्रकार

(A) Simple Media

- केवल मूल पोषक तत्व
- उदाहरण: Nutrient broth

(B) Complex Media

- Yeast extract, peptone
- संरचना पूरी तरह ज्ञात नहीं

(C) Synthetic (Defined) Media

- सभी घटक ज्ञात मात्रा में
- शोध कार्यों में उपयोगी

(D) Production Media

- औद्योगिक स्तर पर उत्पाद बनाने हेतु
-

5. Media के मुख्य घटक (Components of Media)

5.1 Carbon Source (कार्बन स्रोत)

कार्य:

- ऊर्जा प्रदान करता है
- कोशिका संरचना बनाने में सहायक

उदाहरण:

- ग्लूकोज़
- सुक्रोज
- लैक्टोज
- स्टार्च
- मोलासेस (सबसे सस्ता)

□□ अधिक ग्लूकोज़ से:

- Catabolite repression हो सकता है
 - उत्पाद कम बनता है
-

5.2 Nitrogen Source (नाइट्रोजन स्रोत)

कार्य:

- प्रोटीन, न्यूक्लिक एसिड निर्माण

प्रकार:

(A) Inorganic

- Ammonium sulfate
- Ammonium nitrate

(B) Organic

- Peptone
 - Yeast extract
 - Corn steep liquor
-

5.3 Minerals (खनिज तत्व)

आवश्यक खनिज:

- फॉस्फोरस (P)
- पोटैशियम (K)
- मैग्नीशियम (Mg)
- आयरन (Fe)

कार्य:

- एंजाइम activation
 - ऊर्जा चक्र (ATP synthesis)
-

5.4 Vitamins (विटामिन)

कार्य:

- Coenzymes के रूप में
- Metabolic reactions में सहायक

उदाहरण:

- Biotin
- Thiamine
- Riboflavin

कुछ सूक्ष्मजीव विटामिन स्वयं बना लेते हैं, कुछ नहीं।

5.5 Growth Factors (विकास कारक)

- Amino acids
- Purines & Pyrimidines
- Fatty acids

विशेषकर **animal cell culture** में अनिवार्य।

5.6 Water (जल)

- Media का सबसे बड़ा भाग
 - Distilled या deionized water प्रयोग किया जाता है
-

5.7 Buffers (pH नियंत्रक)

उद्देश्य:

- pH स्थिर रखना

उदाहरण:

- Phosphate buffer
 - Carbonate buffer
-

5.8 Antifoaming Agents (झाग नियंत्रण)

समस्या:

- Bioreactor में झाग बनता है

समाधान:

- Silicone oil
 - Vegetable oil
-

6. Media Optimization (मीडिया का अनुकूलन)

6.1 One Factor At a Time (OFAT)

- एक समय में एक घटक बदला जाता है
- सरल लेकिन समय-साध्य

6.2 Statistical Methods

- Response Surface Methodology (RSM)
- Plackett–Burman design

□ औद्योगिक स्तर पर **statistical optimization** अधिक उपयोगी।

7. Media Formulation: Microbial vs Animal Cell

विशेषता	Microbial Media	Animal Cell Media
Sterility	आवश्यक	अत्यंत आवश्यक
Complexity	कम	बहुत अधिक
Serum	नहीं	अक्सर आवश्यक
Cost	कम	बहुत अधिक

8. Media Sterilization

मीडिया को निष्फल करना अनिवार्य है।

विधियाँ:

- Autoclaving
- Filtration (heat sensitive components)

- UV (सीमित उपयोग)
-

9. Media Formulation में समस्याएँ

- Contamination
 - गलत C:N ratio
 - Nutrient inhibition
 - By-product formation
-

10. औद्योगिक उदाहरण

- **Penicillin production** → Corn steep liquor
 - **Citric acid** → Molasses + minerals
 - **Insulin** → Defined media
-

Bioprocess में Sterilization, Aeration एवं Agitation

(जैव-प्रक्रिया में निष्फलीकरण, वातन और मंथन)

1. Sterilization

(निष्फलीकरण)

1.1 Sterilization की परिभाषा

Sterilization वह प्रक्रिया है जिसमें:

- सभी प्रकार के **सूक्ष्मजीव**
- जैसे बैक्टीरिया, फंगस, वायरस और उनके spores
- को **पूरी तरह नष्ट** कर दिया जाता है।

□ Bioprocess में Sterilization का मुख्य उद्देश्य contamination से बचाव है।

1.2 Sterilization की आवश्यकता (Importance)

यदि Sterilization न हो:

- अनचाहे सूक्ष्मजीव बढ़ जाएंगे
 - उत्पाद की मात्रा और गुणवत्ता घटेगी
 - पूरी fermentation batch खराब हो सकती है
 - आर्थिक नुकसान होगा
-

1.3 Bioprocess में Sterilization के क्षेत्र

1. Culture media
 2. Bioreactor vessel
 3. Air supply
 4. Pipelines और valves
 5. Inoculum
-

1.4 Sterilization की विधियाँ

(A) Heat Sterilization (ऊष्मा द्वारा)

(i) Moist Heat – Autoclaving

- तापमान: 121°C
- दबाव: 15 psi
- समय: 15–30 मिनट

उपयोग:

- Culture media
- Glassware

(ii) Dry Heat

- 160–170°C (2 घंटे)

उपयोग:

- Glassware
 - Metal उपकरण
-

(B) Filtration Sterilization

- 0.22 μm membrane filter

उपयोग:

- Heat-sensitive media
 - Vitamins, antibiotics
-

(C) Chemical Sterilization

रसायन:

- Formaldehyde
- Hydrogen peroxide
- Ethylene oxide

उपयोग:

- Bioreactor room
 - Pipelines
-

(D) Radiation Sterilization

- UV radiation
- Gamma rays

उपयोग:

- Air
 - Disposable items
-

2. Aeration

(वातन / ऑक्सीजन आपूर्ति)

2.1 Aeration की परिभाषा

Aeration वह प्रक्रिया है जिसमें:

- Culture medium में
- **ऑक्सीजन (O₂)** की आपूर्ति की जाती है।

□ यह **aerobic microorganisms** के लिए अनिवार्य है।

2.2 Aeration का महत्व

- Cell respiration
 - Energy (ATP) उत्पादन
 - Biomass वृद्धि
 - Secondary metabolite निर्माण
-

2.3 Aeration के तरीके

(A) Surface Aeration

- Medium की सतह से O₂ प्रवेश

कम प्रभावी, छोटे पैमाने पर।

(B) Submerged Aeration

- Air को sparger द्वारा medium में छोड़ा जाता है

सबसे अधिक उपयोगी तरीका

2.4 Sparger के प्रकार

- Porous sparger
 - Orifice sparger
 - Nozzle sparger
-

2.5 Aeration को प्रभावित करने वाले कारक

1. Air flow rate
 2. Bubble size
 3. Solubility of oxygen
 4. Temperature
 5. Agitation speed
-

3. Agitation

(मंथन / हिलाना)

3.1 Agitation की परिभाषा

Agitation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- Culture medium को
 - यांत्रिक रूप से हिलाया जाता है।
-

3.2 Agitation के उद्देश्य

1. Oxygen का समान वितरण
 2. Nutrients का uniform mixing
 3. Temperature uniformity
 4. Cells का sedimentation रोकना
-

3.3 Agitation के तरीके

(A) Mechanical Agitation

उपकरण:

- Impellers (Rushton turbine, marine impeller)

उपयोग:

- Stirred tank bioreactor
-

(B) Pneumatic Agitation

- Air lift bioreactor
- Bubble column bioreactor

यहाँ agitation **air flow** से होता है।

3.4 Agitation को प्रभावित करने वाले कारक

- Impeller design
- Speed (RPM)
- Viscosity of medium
- Cell sensitivity

अधिक agitation से:

- Shear stress बढ़ता है
- Animal cells को नुकसान हो सकता है

4. Aeration और Agitation का आपसी संबंध

- Agitation → O₂ का बेहतर वितरण
- Aeration → O₂ की आपूर्ति
- दोनों मिलकर oxygen transfer rate (OTR) बढ़ाते हैं

□ Bioprocess की सफलता DO (Dissolved Oxygen) पर निर्भर करती है।

5. Industrial Example

- **Penicillin fermentation** → High aeration & controlled agitation
 - **Citric acid production** → Limited aeration
 - **Animal cell culture** → Low agitation, high oxygen efficiency
-

6. Sterilization, Aeration और Agitation में समस्याएँ

समस्या	कारण
Contamination	खराब sterilization
Foam formation	अधिक aeration
Cell damage	अधिक agitation
Low yield	खराब O ₂ transfer

Measurement and Control of Bioprocess Parameters

(जैव-प्रक्रिया माप एवं नियंत्रण)

1. परिचय (Introduction)

Bioprocess वह प्रक्रिया है जिसमें जीवित कोशिकाओं (microorganisms, plant या animal cells) की सहायता से:

- उपयोगी उत्पाद (एंजाइम, एंटीबायोटिक, वैक्सीन, हार्मोन आदि) बनाए जाते हैं।

□ **Measurement और Control** का अर्थ है:

- प्रक्रिया के महत्वपूर्ण भौतिक, रासायनिक और जैविक मानकों को
- लगातार मापना (monitoring)
- और आवश्यकता अनुसार नियंत्रित करना (regulation)

2. Measurement और Control की आवश्यकता

यदि सही नियंत्रण न हो:

- Cell growth रुक सकती है
- Product yield कम हो जाती है
- Contamination का खतरा
- पूरी fermentation असफल हो सकती है

इसलिए औद्योगिक bioprocess में **automatic control systems** उपयोग किए जाते हैं।

3. Bioprocess के प्रमुख Parameters

Bioprocess parameters को 3 श्रेणियों में बाँटा जा सकता है:

1. **Physical parameters**
2. **Chemical parameters**
3. **Biological parameters**

4. Physical Parameters का मापन एवं नियंत्रण

4.1 तापमान (Temperature)

महत्व:

- एंजाइम activity और cell metabolism तापमान पर निर्भर करता है।

आदर्श सीमा:

- Bacteria: 30–37°C
- Fungi: 25–30°C
- Animal cells: 37°C

मापन:

- Thermocouple
- Resistance Temperature Detector (RTD)

नियंत्रण:

- Heating jacket
 - Cooling coils
 - Automatic temperature controller
-

4.2 Agitation (मंथन)

महत्व:

- Nutrients और oxygen का समान वितरण

मापन:

- Impeller speed (RPM)

नियंत्रण:

- Variable speed motor
- Feedback control system

4.3 Aeration (वातन)

महत्व:

- Aerobic respiration के लिए O₂ आवश्यक

मापन:

- Air flow meter
- Dissolved Oxygen (DO) sensor

नियंत्रण:

- Air flow rate adjustment
 - Oxygen enrichment
-

5. Chemical Parameters का मापन एवं नियंत्रण

5.1 pH

महत्व:

- Enzyme stability
- Cell growth

आदर्श pH:

- Bacteria: 6.5–7.5
- Fungi: 4.0–6.0
- Animal cells: 7.2–7.4

मापन:

- pH electrode (glass electrode)

नियंत्रण:

- Acid (HCl) या Base (NaOH) का automatic addition
-

5.2 Dissolved Oxygen (DO)

महत्व:

- ऊर्जा उत्पादन (ATP synthesis)

मापन:

- Polarographic DO probe
- Optical DO sensor

नियंत्रण:

- Aeration rate
 - Agitation speed
 - Pure oxygen supply
-

5.3 Nutrient Concentration

महत्व:

- Cell growth और product synthesis

मापन:

- Spectrophotometer
- Biosensors

नियंत्रण:

- Fed-batch feeding
 - Continuous feeding
-

6. Biological Parameters का मापन एवं नियंत्रण

6.1 Biomass Concentration

महत्व:

- Cell growth rate जानने के लिए

मापन:

- Optical density (OD)
 - Dry cell weight
 - Cell counter
-

6.2 Product Concentration

मापन:

- HPLC
- GC
- ELISA

नियंत्रण:

- Harvest time optimization
 - Feedback control
-

6.3 Contamination Monitoring

मापन:

- Microscopic observation
- Selective media plating

नियंत्रण:

- Sterilization
- Aseptic operation

7. Control Systems in Bioprocess

7.1 Open Loop Control

- कोई feedback नहीं
 - सरल लेकिन कम सटीक
-

7.2 Closed Loop Control (Feedback Control)

- Sensor → Controller → Actuator
 - अत्यंत सटीक और औद्योगिक स्तर पर उपयोगी
-

7.3 Advanced Control Systems

- PID controller
 - Computer-based control
 - Artificial intelligence based control
-

8. On-line, In-line और Off-line Measurement

प्रकार	विशेषता
On-line	लगातार real-time data
In-line	Bioreactor के अंदर sensor
Off-line	Sample लेकर analysis

9. औद्योगिक उदाहरण (Industrial Examples)

- **Penicillin fermentation** → pH, DO और temperature control
 - **Insulin production** → Strict nutrient और oxygen control
 - **Animal cell culture** → Gentle agitation और precise pH control
-

10. Measurement और Control में समस्याएँ

- Sensor drift
 - Time delay
 - Foam formation
 - Shear stress
-

Scale-up और Scale-down Process

(पैमाना बढ़ाने और घटाने की प्रक्रिया)

1. परिचय (Introduction)

Bioprocess सामान्यतः तीन स्तरों पर किया जाता है:

1. Laboratory scale (प्रयोगशाला स्तर)
2. Pilot scale (पायलट स्तर)
3. Industrial scale (औद्योगिक स्तर)

□ इन स्तरों के बीच प्रक्रिया को सफलतापूर्वक स्थानांतरित करना ही Scale-up और Scale-down कहलाता है।

2. Scale-up Process

(पैमाना बढ़ाने की प्रक्रिया)

2.1 Scale-up की परिभाषा

Scale-up वह प्रक्रिया है जिसमें:

- प्रयोगशाला या पायलट स्तर पर विकसित जैव-प्रक्रिया को
- बिना उत्पाद की गुणवत्ता बदले
- बड़े औद्योगिक बायोरिएक्टर में लागू किया जाता है।

उदाहरण:

5 L → 500 L → 50,000 L bioreactor

2.2 Scale-up का उद्देश्य

1. बड़े पैमाने पर उत्पादन
 2. लागत कम करना
 3. व्यावसायिक स्तर पर उत्पाद उपलब्ध कराना
 4. प्रक्रिया की reproducibility बनाए रखना
-

2.3 Scale-up के मुख्य मानदंड (Scale-up Criteria)

2.3.1 Geometric Similarity

- छोटे और बड़े bioreactor की आकृति समान
- Impeller का आकार और स्थान समान अनुपात में

लाभ: Mixing behavior समान रहता है

2.3.2 Power Input per Unit Volume (P/V)

- ऊर्जा इनपुट प्रति आयतन स्थिर रखा जाता है

महत्व:

- Mixing और oxygen transfer पर सीधा प्रभाव
-

2.3.3 Oxygen Transfer Rate (OTR)

- Aerobic processes में सबसे महत्वपूर्ण

पैरामीटर:

- $k_L a$ (volumetric mass transfer coefficient)
-

2.3.4 Mixing Time

- Nutrients और oxygen का समान वितरण
-

2.3.5 Shear Stress

- Animal और plant cells के लिए महत्वपूर्ण
-

2.4 Scale-up में आने वाली समस्याएँ

1. Oxygen limitation
 2. Heat removal कठिन
 3. pH gradient
 4. Foam formation
 5. Cell damage (shear stress)
-

2.5 Scale-up के तरीके

(A) Constant Tip Speed Method

- Impeller की tip speed स्थिर

उपयोग:

- Shear-sensitive cells
-

(B) Constant Power per Volume

- Industrial fermentation में अधिक प्रचलित
-

(C) Constant kLa

- Oxygen-limited processes
-
-

3. Scale-down Process

(पैमाना घटाने की प्रक्रिया)

3.1 Scale-down की परिभाषा

Scale-down वह प्रक्रिया है जिसमें:

- औद्योगिक bioreactor की परिस्थितियों को
 - छोटे प्रयोगशाला स्तर पर
 - कृत्रिम रूप से पुनः निर्मित किया जाता है।
-

3.2 Scale-down का उद्देश्य

1. Scale-up से पहले समस्याओं का अध्ययन
 2. प्रक्रिया का optimization
 3. जोखिम और लागत कम करना
 4. Process control strategy विकसित करना
-

3.3 Scale-down Models

3.3.1 Single-Compartment Model

- पूरा bioreactor एक समान माना जाता है
-

3.3.2 Multi-Compartment Model

- Reactor को अलग-अलग zones में बाँटा जाता है
 - Oxygen-rich और oxygen-poor zones
-

3.3.3 Two-Compartment Model

- सबसे अधिक उपयोगी
 - Real industrial gradients का simulation
-

3.4 Scale-down में अध्ययन किए जाने वाले कारक

- DO fluctuation
 - pH variation
 - Nutrient gradient
 - Mixing time
 - Stress response of cells
-

4. Scale-up और Scale-down का आपसी संबंध

Scale-up	Scale-down
Production के लिए	Research के लिए
जोखिम अधिक	जोखिम कम
लागत अधिक	लागत कम
Validation आवश्यक	Optimization आसान

5. औद्योगिक उदाहरण (Industrial Examples)

- **Antibiotic production** → Pilot scale → Industrial scale
 - **Insulin production** → Scale-down द्वारा oxygen stress अध्ययन
 - **Monoclonal antibodies** → Gentle scale-up आवश्यक
-

6. Scale-up / Scale-down में सफल होने के लिए रणनीति

1. Robust lab-scale data
 2. सही scale-up criteria चयन
 3. Advanced sensors और automation
 4. Proper scale-down validation
-

Unit 5

1. Enzyme Isolation

(एंजाइम का पृथक्करण)

1.1 Enzyme Isolation क्या है?

Enzyme isolation वह प्रक्रिया है जिसमें:

- कोशिकाओं (microbial / plant / animal) से

- वांछित एंजाइम को
 - सुरक्षित और सक्रिय अवस्था में
 - अलग किया जाता है।
-

1.2 Enzyme Isolation के चरण

(A) Source का चयन

- Microorganisms (सबसे सामान्य)
 - Plant tissues
 - Animal tissues
-

(B) Cell Disruption (कोशिका विघटन)

यदि एंजाइम intracellular है तो कोशिका तोड़नी पड़ती है।

तकनीकें:

1. **Mechanical methods**
 - Homogenizer
 - Sonication
 - Bead mill
 2. **Non-mechanical methods**
 - Enzymatic lysis (lysozyme)
 - Osmotic shock
 - Detergents
-

(C) Removal of Cell Debris

- Centrifugation
 - Filtration
-

2. Enzyme Purification

(एंजाइम का शुद्धिकरण)

2.1 Purification का उद्देश्य

- अवांछित प्रोटीन हटाना
 - Specific activity बढ़ाना
 - Stability बनाए रखना
-

2.2 Enzyme Purification की तकनीकें

2.2.1 Precipitation Methods

(A) Salt Precipitation

- Ammonium sulfate precipitation
- “Salting out” सिद्धांत

(B) Organic Solvent Precipitation

- Ethanol, acetone
-

2.2.2 Dialysis

- छोटे अणु बाहर
 - बड़े प्रोटीन अंदर रहते हैं
-

2.2.3 Chromatography Techniques

(A) Ion Exchange Chromatography

- Charge आधारित separation

(B) Gel Filtration (Size Exclusion)

- Size आधारित separation

(C) Affinity Chromatography

- Enzyme-substrate specificity पर आधारित
 - सबसे प्रभावी और शुद्ध विधि
-

2.2.4 Electrophoresis

- SDS-PAGE
 - Purity check के लिए
-

3. Enzyme Assay

(एंजाइम परीक्षण)

3.1 Enzyme Assay की परिभाषा

Enzyme assay वह प्रक्रिया है जिसमें:

- एंजाइम की गतिविधि (activity)
 - मापी जाती है।
-

3.2 Enzyme Activity क्या है?

□ प्रति इकाई समय में:

- कितनी मात्रा में substrate
- product में परिवर्तित हुआ।

Unit:

1 IU = 1 μ mol substrate/min

3.3 Enzyme Assay के प्रकार

3.3.1 End-Point Assay

- निश्चित समय बाद मापन
-

3.3.2 Continuous Assay

- Reaction को लगातार मॉनिटर किया जाता है
-

3.4 Enzyme Assay की तकनीकें

(A) Spectrophotometric Assay

- Absorbance change मापा जाता है
-

(B) Colorimetric Assay

- रंग परिवर्तन पर आधारित
-

(C) Fluorometric Assay

- Fluorescence मापन
 - अत्यंत संवेदनशील
-

(D) Radiometric Assay

- Radioactive substrate का उपयोग

4. Enzyme Immobilization

(एंजाइम का स्थिरीकरण)

4.1 Enzyme Immobilization क्या है?

Enzyme immobilization वह तकनीक है जिसमें:

- एंजाइम को
 - किसी ठोस या अर्ध-ठोस matrix पर
 - स्थिर (immobile) किया जाता है।
-

4.2 Immobilization के लाभ

- Enzyme reuse
 - Stability बढ़ती है
 - Continuous process संभव
 - Product purification आसान
-

4.3 Enzyme Immobilization की तकनीकें

4.3.1 Adsorption

- Weak forces द्वारा binding
 - सरल लेकिन enzyme leakage संभव
-

4.3.2 Covalent Binding

- मजबूत covalent bonds
- Leakage नहीं

4.3.3 Entrapment

- Gel matrix में enzyme फँसा दिया जाता है

उदाहरण:

- Calcium alginate beads
-

4.3.4 Encapsulation

- Semi-permeable membrane में बंद
-

4.3.5 Cross-linking

- Enzyme-enzyme linkage
 - Carrier की आवश्यकता नहीं
-

4.4 Immobilization के लिए प्रयुक्त Materials

- Agarose
 - Alginate
 - Polyacrylamide
 - Silica gel
-

5. Immobilized Enzymes के औद्योगिक उपयोग

- Glucose isomerase → HFCS
 - Lactase → Lactose-free milk
 - Penicillin acylase → Antibiotic production
-

Applications of Immobilized Enzymes in Biotechnology

(जैव-प्रौद्योगिकी में स्थिरीकृत एंजाइमों के अनुप्रयोग)

1. परिचय (Introduction)

Immobilized enzyme वह एंजाइम होता है जिसे:

- किसी ठोस या अर्ध-ठोस आधार (matrix/carrier) पर
- स्थायी रूप से बाँध दिया जाता है
- ताकि वह बार-बार प्रयोग किया जा सके।

□ Immobilized enzymes आधुनिक biotechnology की रीढ़ माने जाते हैं क्योंकि ये सस्ते, स्थिर और औद्योगिक स्तर पर उपयोगी होते हैं।

2. Immobilized Enzymes के मुख्य लाभ (संक्षेप में)

- Enzyme को पुनः उपयोग (reuse)
- अधिक तापमान और pH पर स्थिरता
- Product को आसानी से अलग किया जा सकता है
- Continuous bioprocess संभव
- Contamination का खतरा कम

इन्हीं लाभों के कारण इनके अनेक अनुप्रयोग विकसित हुए हैं।

3. Biotechnology में Immobilized Enzymes के प्रमुख अनुप्रयोग

3.1 खाद्य एवं डेयरी उद्योग (Food & Dairy Biotechnology)

(A) Lactose-Free Milk का उत्पादन

एंजाइम: Lactase (β -galactosidase)

कार्य:

- Lactose \rightarrow Glucose + Galactose

Lactose-intolerant लोगों के लिए दूध उपयोगी बनता है।

Immobilization का लाभ:

- Lactase बार-बार उपयोग
 - लागत कम
 - Continuous milk processing
-

(B) High Fructose Corn Syrup (HFCS)

एंजाइम: Glucose isomerase

कार्य:

- Glucose \rightarrow Fructose

Soft drinks और bakery उद्योग में व्यापक उपयोग।

(C) Juice Clarification

एंजाइम:

- Pectinase
- Cellulase

जूस अधिक साफ, चमकीला और लंबे समय तक टिकाऊ बनता है।

3.2 औषधीय एवं फार्मास्यूटिकल Biotechnology

(A) Antibiotic Production

एंजाइम: Penicillin acylase

कार्य:

- Penicillin G → 6-APA (semi-synthetic antibiotics का आधार)

Immobilized enzyme से:

- शुद्धता अधिक
- लागत कम
- बड़े पैमाने पर उत्पादन

(B) Therapeutic Drugs का निर्माण

- Steroid modification
- Vitamin synthesis

Immobilized enzymes से **side reactions** कम होती हैं।

3.3 Clinical एवं Diagnostic Biotechnology

(A) Biosensors

उदाहरण:

- Glucose biosensor (diabetes test)

Immobilized enzyme: Glucose oxidase

- Blood glucose का त्वरित और सटीक मापन
- Home-based diagnostics संभव

(B) Clinical Assays

- Urea estimation (Urease)
 - Cholesterol estimation (Cholesterol oxidase)
-

3.4 पर्यावरणीय Biotechnology (Environmental Applications)

(A) Wastewater Treatment

एंजाइम:

- Oxidoreductases
- Laccase

□

- Phenols
 - Dyes
 - Toxic compounds का अपघटन
-

(B) Pollution Control

- Pesticide degradation
- Oil spill cleanup

□ Immobilized enzymes अधिक स्थिर होते हैं और लंबे समय तक कार्य करते हैं।

3.5 Industrial Biotechnology

(A) Continuous Bioreactors

Immobilized enzymes का उपयोग:

- Packed bed reactor

- Fluidized bed reactor

□

- Continuous production
 - High productivity
-

(B) Textile Industry

एंजाइम:

- Amylase
- Cellulase

□

- Fabric finishing
 - Bio-polishing
-

3.6 कृषि जैव-प्रौद्योगिकी (Agricultural Biotechnology)

- Soil detoxification
- Controlled pesticide degradation
- Fertilizer efficiency बढ़ाना

□ Immobilized enzymes soil में लंबे समय तक सक्रिय रहते हैं।

3.7 Research एवं Analytical Biotechnology

- Enzyme kinetics अध्ययन
- Protein-protein interaction
- Metabolic pathway analysis

□ Controlled और reproducible results मिलते हैं।

4. प्रमुख Immobilized Enzymes और उनके अनुप्रयोग (तालिका)

Immobilized Enzyme	अनुप्रयोग
Lactase	Lactose-free milk
Glucose isomerase	HFCS production
Penicillin acylase	Antibiotics
Glucose oxidase	Biosensors
Urease	Clinical diagnostics
Laccase	Waste treatment

5. Immobilized Enzymes की सीमाएँ (Limitations)

- प्रारंभिक लागत अधिक
- Enzyme activity कुछ हद तक कम हो सकती है
- Mass transfer limitation

फिर भी इनके लाभ सीमाओं से कहीं अधिक हैं।

Bioprocess Control and Monitoring Variables

(जैव-प्रक्रिया में नियंत्रण एवं निगरानी मानक)

1. परिचय

Bioprocess में सूक्ष्मजीवों/कोशिकाओं से उपयोगी उत्पाद (एंजाइम, एंटीबायोटिक, अम्ल, अल्कोहल, वैक्सीन आदि) बनाए जाते हैं।

□ Control & Monitoring का उद्देश्य है—प्रक्रिया को स्थिर, सुरक्षित और उच्च उत्पादक बनाए रखना।

2. प्रमुख नियंत्रण एवं निगरानी मानक

2.1 Temperature (तापमान)

महत्व

- एंजाइम गतिविधि और metabolic rate तापमान पर निर्भर
- अधिक तापमान → एंजाइम denaturation
- कम तापमान → growth धीमी

आदर्श सीमा

- Bacteria: 30–37°C
- Fungi: 25–30°C
- Yeast: ~30°C

मापन

- Thermocouple
- RTD (Resistance Temperature Detector)

नियंत्रण

- Heating jacket
 - Cooling coils
 - Automatic temperature controller
-

2.2 Agitation (मंथन)

महत्व

- Oxygen, nutrients और cells का समान वितरण

- Temperature uniformity

मापन

- Impeller speed (RPM)

नियंत्रण

- Variable speed motor
- Feedback control

□□ अधिक agitation → shear stress → cell damage (विशेषकर animal cells)

2.3 Pressure (दबाव)

महत्व

- Sterility बनाए रखने में सहायक
- Gas solubility (O₂) को प्रभावित करता है

मापन

- Pressure gauges

नियंत्रण

- Safety valves
 - Pressure regulators
-

2.4 pH

महत्व

- Enzyme stability
- Nutrient availability
- Product formation

आदर्श pH

- Bacteria: 6.5–7.5
- Fungi: 4.0–6.0

मापन

- pH electrode

नियंत्रण

- Acid (HCl) / Base (NaOH) का automatic addition
-

2.5 Dissolved Oxygen (DO)

महत्व

- Aerobic respiration
- ATP उत्पादन

मापन

- Polarographic DO sensor
- Optical DO sensor

नियंत्रण

- Aeration rate
 - Agitation speed
 - Oxygen enrichment
-

3. Control Systems

- **Open loop control** – बिना feedback
 - **Closed loop (feedback) control** – sensor → controller → actuator
 - **Advanced control** – PID, computer-based, AI-based
-

भाग-B

Microbial Processes

(सूक्ष्मजीवी प्रक्रियाएँ)

4. Microbial Production

(सूक्ष्मजीवों द्वारा उत्पादन)

4.1 Microbial Production क्या है?

सूक्ष्मजीवों (bacteria, fungi, yeast) का उपयोग कर:

- Antibiotics
 - Enzymes
 - Organic acids
 - Alcohol
 - Vitamins
- का औद्योगिक उत्पादन।
-

4.2 Production के चरण

1. Microorganism का चयन
 2. Inoculum preparation
 3. Fermentation
 4. Product recovery (downstream processing)
-

उदाहरण

- **Penicillin** → *Penicillium chrysogenum*
 - **Citric acid** → *Aspergillus niger*
 - **Ethanol** → *Saccharomyces cerevisiae*
-

5. Screening of Microorganisms

(सूक्ष्मजीवों की छंटाई)

5.1 Screening क्या है?

ऐसे सूक्ष्मजीवों की पहचान जो:

- अधिक मात्रा में
 - वांछित उत्पाद बना सकें।
-

5.2 Screening के प्रकार

(A) Primary Screening

- Large population से संभावित उत्पादक strain पहचान
- सरल, qualitative

उदाहरण:

- Antibiotic inhibition zone test
-

(B) Secondary Screening

- Selected strains का quantitative परीक्षण
 - Yield, stability और growth rate मापा जाता है
-

6. Optimization of Microbial Process

(प्रक्रिया का अनुकूलन)

6.1 Optimization का उद्देश्य

- अधिकतम product yield
 - कम लागत
 - Stable process
-

6.2 Optimization के कारक

- Carbon source
 - Nitrogen source
 - pH
 - Temperature
 - Aeration & agitation
-

6.3 Optimization की विधियाँ

(A) OFAT (One Factor At a Time)

- सरल लेकिन समय-साध्य
-

(B) Statistical Methods

- Response Surface Methodology (RSM)
- Plackett-Burman design

Industrial स्तर पर अधिक उपयोगी

7. Strain Improvement

(सूक्ष्मजीव जाति सुधार)

7.1 Strain Improvement क्या है?

सूक्ष्मजीवों में आनुवंशिक परिवर्तन कर:

- अधिक उत्पादन
 - बेहतर stability
 - कम by-products प्राप्त करना।
-

7.2 Strain Improvement की तकनीकें

(A) Mutation

- Physical mutagens: UV, X-ray
 - Chemical mutagens: NTG, EMS
-

(B) Selection

- High-producing mutants का चयन
-

(C) Genetic Recombination

- Conjugation
 - Transformation
 - Transduction
-

(D) Recombinant DNA Technology

- Desired gene को insert करना
 - Insulin, enzymes, vaccines उत्पादन
-

8. Production + Control + Optimization + Strain Improvement

(समन्वित दृष्टिकोण)

- सफल औद्योगिक जैव-प्रक्रिया के लिए:

- सही strain
 - सही control parameters
 - सही optimization strategy
 - आवश्यक हैं।
-

भाग-A

Downstream Processing और Recovery को प्रभावित करने वाले कारक

(डाउनस्ट्रीम प्रोसेसिंग एवं उत्पाद पुनर्प्राप्ति को प्रभावित करने वाले कारक)

1. Downstream Processing क्या है?

Downstream Processing वह चरण है जिसमें:

- Fermentation के बाद प्राप्त broth से
- वांछित उत्पाद को
- अलग, शुद्ध और उपयोग-योग्य रूप में
- प्राप्त किया जाता है।

□ कुल उत्पादन लागत का 40–60% downstream processing में खर्च होता है।

2. Downstream Processing के मुख्य चरण

1. Removal of cells (कोशिकाओं को हटाना)
 2. Product isolation
 3. Product purification
 4. Product polishing (final formulation)
-

3. Downstream Processing और Recovery को प्रभावित करने वाले कारक

3.1 उत्पाद का स्थान (Location of Product)

प्रकार	उदाहरण
Extracellular	Ethanol, organic acids
Intracellular	Antibiotics, enzymes

□ Intracellular उत्पाद में cell disruption आवश्यक होता है।

3.2 उत्पाद की रासायनिक प्रकृति

- Volatile (उड़नशील) → Ethanol
 - Non-volatile → Organic acids
 - Complex molecules → Antibiotics
-

3.3 उत्पाद की सांद्रता (Concentration)

- Low concentration → अधिक purification steps
 - High concentration → आसान recovery
-

3.4 उत्पाद की स्थिरता (Stability)

- तापमान
- pH
- Oxygen sensitivity

□ अस्थिर उत्पादों के लिए gentle techniques आवश्यक।

3.5 Broth की संरचना

- Cell density
 - Viscosity
 - Impurities
-

3.6 आवश्यक शुद्धता स्तर (Purity Requirement)

- Fuel ethanol → कम शुद्धता
 - Pharmaceuticals → अत्यधिक शुद्धता
-

3.7 लागत (Economics)

- सस्ती विधियाँ प्राथमिक
 - Energy और solvent consumption
-

भाग-B

Representative Examples of Downstream Processing

(Ethanol, Organic Acids और Antibiotics)

4. Ethanol का Downstream Processing

4.1 स्रोत

- *Saccharomyces cerevisiae* द्वारा fermentation
-

4.2 Ethanol की विशेषताएँ

- Extracellular product
 - Volatile liquid
 - Water में घुलनशील
-

4.3 Recovery Steps

1. **Cell separation**
 - Filtration / centrifugation
 2. **Distillation**
 - मुख्य recovery तकनीक
 - Ethanol का boiling point कम (78.3°C)
 3. **Rectification**
 - शुद्धता बढ़ाने हेतु
 4. **Dehydration**
 - Molecular sieves / azeotropic distillation
-

4.4 प्रमुख तकनीक

- **Distillation** सबसे महत्वपूर्ण
-

5. Organic Acids का Downstream Processing

(उदाहरण: Citric Acid)

5.1 स्रोत

- *Aspergillus niger*
-

5.2 Organic Acids की विशेषताएँ

- Extracellular
 - Non-volatile
 - High acidity
-

5.3 Recovery Steps

1. **Cell removal**
 - Filtration
 2. **Precipitation**
 - Calcium hydroxide से calcium citrate बनाना
 3. **Acidification**
 - Sulfuric acid से citric acid मुक्त करना
 4. **Crystallization**
 - शुद्ध crystals प्राप्त
 5. **Drying**
-

5.4 प्रमुख तकनीक

- **Precipitation + Crystallization**
-

6. Antibiotics का Downstream Processing

(उदाहरण: Penicillin)

6.1 स्रोत

- *Penicillium chrysogenum*
-

6.2 Antibiotics की विशेषताएँ

- अक्सर intracellular या loosely bound
- Heat sensitive

- Complex structure

6.3 Recovery Steps

1. **Cell separation**
 - Filtration
2. **Solvent extraction**
 - Organic solvents (butyl acetate)
3. **Back extraction**
 - pH adjustment द्वारा aqueous phase में वापस
4. **Purification**
 - Chromatography
5. **Crystallization / Drying**

6.4 प्रमुख तकनीक

- Solvent extraction + chromatography

7. तुलनात्मक सारणी (Comparison Table)

पैरामीटर	Ethanol	Organic Acids	Antibiotics
Location	Extracellular	Extracellular	Mostly intracellular
Nature	Volatile	Non-volatile	Complex
Main technique	Distillation	Precipitation	Solvent extraction
Purity need	Medium	High	Very high
Cost	Low	Medium	High

8. Downstream Processing में समस्याएँ

- Product loss
- High energy consumption
- Solvent toxicity
- Product degradation
