

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ
ΚΕΦ. 7^ο
ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

→ **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

- ♦ Ο άνθρωπος εδώ και χιλιάδες χρόνια χρησιμοποιούσε τους μικροοργανισμούς για την παραγωγή βασικών προϊόντων, όπως για παράδειγμα ψωμί, τυρί μπύρα κρασιά κ.α. όλα αυτά αποτελούσαν μια πρωτόγονη βιοτεχνολογία. Σήμερα η **Βιοτεχνολογία** αποτελεί συνδυασμό της επιστήμης και της Τεχνολογίας με στόχο την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων με βάση τις γνώσεις μας από τους ζωντανούς οργανισμούς, π.χ. τρόφιμα, εμβόλια, αντιβιοτικά κ.ά. Η Βιοτεχνολογία προσφέρει σε διάφορους τομείς όπως η Ιατρική, η Γεωργία, Η Κτηνοτροφία, η Βιομηχανία και η προστασία του περιβάλλοντος.
- ♦ Με την ευρεία έννοια η Βιοτεχνολογία είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου. Η Βιοτεχνολογία στηρίζεται σήμερα σε τεχνικές **καλλιέργειας** και **ανάπτυξης** των **μικροοργανισμών** και σε τεχνικές **ανασυνδυασμένου DNA**.

→ **ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

- ❖ Οι μικροοργανισμοί όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες διαιρούνται και έτσι αυξάνει ο αριθμός τους. Ο ρυθμός αύξησης του πληθυσμού τους εξαρτάται από το ρυθμό με τον οποίο διαιρούνται (**χρόνος διπλασιασμού**), ο οποίος είναι **χαρακτηριστικός για κάθε είδος μικροοργανισμού**.
- ❖ Οι παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι: η **διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων**, το **pH**, το **O₂**, και η **θερμοκρασία**.
- ❖ Στα θρεπτικά στοιχεία περιλαμβάνονται το **νερό**, ο **άνθρακας**, το **άζωτο** και **μεταλλικά ιόντα**. **Πηγή άνθρακα** για τους **αυτότροφους** μικροοργανισμούς είναι το **CO₂** της ατμόσφαιρας, ενώ για τους **ετερότροφους** διάφορες **οργανικές** ενώσεις. **Πηγή N** για τους περισσότερους οργανισμούς είναι τα αμμωνιακά και τα νιτρικά ιόντα.
- ❖ Οι περισσότεροι οργανισμοί αναπτύσσονται σε pH 6-9. Ανάλογα με το αν το O₂ είναι απαραίτητο για την ανάπτυξή τους ή όχι διακρίνονται σε **αερόβιους** (υποχρεωτικά ή προαιρετικά) και σε **αναερόβιους** (υποχρεωτικά ή προαιρετικά). Οι άριστες θερμοκρασίες για τους περισσότερους οργανισμούς είναι 20-25° C.

→ ΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΑΝΑΠΤΥΧΘΟΥΝ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΤΡΟΠΟΥΣ

- Ο Louis Pasteur είναι από τους πρώτους που επιχείρησαν να καλλιεργήσουν μικροοργανισμούς στο εργαστήριο. Σήμερα αυτό συμβαίνει σε ευρεία κλίμακα. Τα θρεπτικά συστατικά που χρησιμοποιούνται μπορεί να είναι υγρά ή στερεά (**υγρή-στερεή καλλιέργεια**). Για τη στερεή καλλιέργεια χώρια από τα θρεπτικά στοιχεία που προαναφέρθηκαν χρησιμοποιείται και **το άγαρ** (ένας πολυσακχαρίτης που προέρχεται από φύκια των περιοχών του Ειρηνικού. Μια καλλιέργεια ξεκινάει με προσθήκη κυττάρων ή μικροοργανισμών στο θρεπτικό υλικό και η διαδικασία αυτή ονομάζεται **εμβολιασμός**. Μετά τον εμβολιασμό η καλλιέργεια τοποθετείται σε κλίβανο (μηχάνημα με συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας, CO₂ κ.α.) και με την πάροδο 12-76 ωρών έχει αναπτυχθεί καλλιέργεια και αυτή μπορεί να διατηρηθεί σ' αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80°C). Επιβάλλεται πριν την έναρξη της καλλιέργειας η **αποστείρωση** των θρεπτικών υλικών και των συσκευών. Όταν πραγματοποιούνται καλλιέργειες σε μεγάλη κλίμακα χρησιμοποιούνται οι **ζυμωτήρες** ή **βιοαντιδραστήρες**. Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τη ρύθμιση και τον έλεγχο των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O₂) που αφορούν την καλλιέργεια. Σε θρεπτικό υλικό από φτηνές πηγές άνθρακα (π.χ. μελάσα) γίνεται εμβολιασμός από μια αρχική καλλιέργεια οπότε αρχίζει η **ζύμωση**. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα, που ονομάζονται **βιομάζα**, είτε τα **προϊόντα** τους όπως **πρωτεΐνες, αντιβιοτικά**.

Οι βασικοί τύποι καλλιέργειας είναι:

→ **Κλειστή καλλιέργεια:** Η ποσότητα του θρεπτικού υλικού είναι ορισμένη και δεν ανανεώνεται, ούτε απομακρύνονται τα προϊόντα μεταβολισμού της καλλιέργειας. Οι φάσεις που διακρίνουμε σ' αυτό τον τύπο ζύμωσης είναι η **λανθάνουσα**, που είναι η φάση προσαρμογής, η **εκθετική** όπου ο πληθυσμός αυξάνει, η **στατική**, όπου ο πληθυσμός σταθεροποιείται και τέλος η φάση **θανάτου**, λόγω εξάντλησης θρεπτικών συστατικών και συγκέντρωσης τοξικών ουσιών (προϊόντα μεταβολισμού).

→ **Συνεχής καλλιέργεια:** Οι μικροοργανισμοί συνεχώς τροφοδοτούνται με θρεπτικά συστατικά και βρίσκονται διαρκώς σε **εκθετική** φάση ανάπτυξης.

Για την παραλαβή των προϊόντων της ζύμωσης χρησιμοποιούνται μια σειρά από τεχνικές καθαρισμού. **Διαχωρισμός** των υγρών από τα στερεά συστατικά με **διήθηση** ή με **φυγοκέντρωση**. Για να είναι απόλυτα καθαρά χρησιμοποιούνται μετά το διαχωρισμό η **χρωματογραφία**, η **εκχύλιση** και η **απόσταξη**.

Η πενικιλίνη είναι το πρώτο αντιβιοτικό (Fleming 1928) και η παραγωγή της αποτελεί την πρώτη εφαρμογή μεθόδων Βιοτεχνολογίας. Στελέχη που έχουν επιλεγεί για την υψηλή απόδοσή τους καλλιεργούνται αρχικά στο εργαστήριο και στη συνέχεια προστίθενται στο θρεπτικό υλικό (εμβολιασμός). Ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιείται η γλυκόζη, αζώτου πρωτεΐνες από αλεύρι σόγιας και πηγή ιόντων, άλατα φωσφορικά και ασβεστίου. Η λανθάνουσα και η εκθετική φάση διαρκούν 30-40 ώρες, στη συνέχεια προστίθεται γλυκόζη σε χαμηλή συγκέντρωση, σταματάει η ανάπτυξη του μύκητα και (στατική φάση) και