

7^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ Βιοτεχνολογία

Εισαγωγή

- *Τι είναι η Βιοτεχνολογία;*

Η Βιοτεχνολογία αποτελεί συνδυασμό επιστήμης και τεχνολογίας. Ειδικότερα εφαρμόζει τις γνώσεις που έχουν αποκτηθεί για τις βιολογικές λειτουργίες των οργανισμών με σκοπό τη χρησιμοποίηση τους για τη βιομηχανική παραγωγή διάφορων προϊόντων (τρόφιμα, αντιβιοτικά, ένζυμα, εμβόλια κ.ά.).

Με την ευρεία έννοια Βιοτεχνολογία είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου.

- *Πού στηρίζεται η μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας;*

Η Βιοτεχνολογία στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές:

1) καλλιέργειας και ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων.

2) ανασυνδυασμένου DNA. Παρέχουν τη δυνατότητα εισαγωγής νέων επιθυμητών ιδιοτήτων στους ζωντανούς οργανισμούς.

- *Ποιό είναι το βασικότερο χαρακτηριστικό των καλλιιεργειών μικροοργανισμών;*

Οι μικροοργανισμοί, όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες, αυξάνονται σε μέγεθος, αντιγράφουν το γενετικό υλικό τους και διαιρούνται, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κυττάρων που έχουν το ίδιο μέγεθος με το αρχικό.

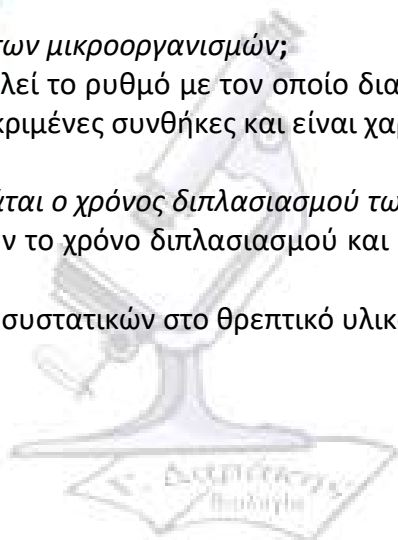
- *Τι είναι χρόνος διπλασιασμού των μικροοργανισμών;*

Ο χρόνος διπλασιασμού αποτελεί το ρυθμό με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρα ενός πληθυσμού μικροοργανισμών σε συγκεκριμένες συνθήκες και είναι χαρακτηριστικός για κάθε είδος.

- *Από ποιούς παράγοντες εξαρτάται ο χρόνος διπλασιασμού των μικροοργανισμών;*

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι:

- α) η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών στο θρεπτικό υλικό,
- β) το pH,
- γ) το O₂ και
- δ) η θερμοκρασία.



- Πώς οι διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών;

Διάθεση θρεπτικών συστατικών	H ₂ O	Είναι απαραίτητο για όλους τους οργανισμούς
	Πηγές άνθρακα	Αυτότροφοι: CO ₂ της ατμόσφαιρας
		Ετερότροφοι: συνήθως πολυσακχαρίτες
	Πηγές αζώτου	Αμμωνιακά ιόντα: NH ₄ ⁺¹ Νιτρικά ιόντα: NO ₃ ⁻¹
	Διάφορα μεταλλικά ιόντα	Είναι απαραίτητα: 1) για τις χημικές αντιδράσεις του κυττάρου 2) ως συστατικά διαφόρων μορίων.
pH	Οι περισσότεροι αναπτύσσονται σε pH 6-9.	<u>Εξαιρέση</u> : βακτήρια του γένους <i>Lactobacillus</i> , που αναπτύσσονται σε pH 4-5
O ₂	Η παρουσία ή η απουσία O ₂ μπορεί να βοηθήσει ή να αναστείλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.	<u>Υποχρεωτικά αερόβιοι</u> : μικροοργανισμοί που για την ανάπτυξή τους απαιτούν υψηλή συγκέντρωση O ₂ όπως τα βακτήρια του γένους <i>Mycobacterium</i> .
		<u>Προαιρετικά αερόβιοι</u> : μικροοργανισμοί, όπως οι μύκητες που χρησιμοποιούνται στην αρτοποιία, αναπτύσσονται παρουσία O ₂ με ταχύτερο ρυθμό απ' ό,τι απουσία
		<u>Υποχρεωτικά αναερόβιοι</u> : μικροοργανισμοί, όπως βακτήρια του γένους <i>Clostridium</i> για τους οποίους το O ₂ είναι τοξικό.
Θερμοκρασία	Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται άριστα σε θερμοκρασία 20-45°C.	Η <i>Escherichia coli</i> , που χρησιμοποιείται σε πειράματα Μοριακής Βιολογίας, αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασία 37°C.
		Κάποιοι όμως, αναπτύσσονται σε θερμοκρασία >45°C, (κοντά σε θερμοπηγές).
		Και άλλοι αναπτύσσονται σε θερμοκρασία <20°C.

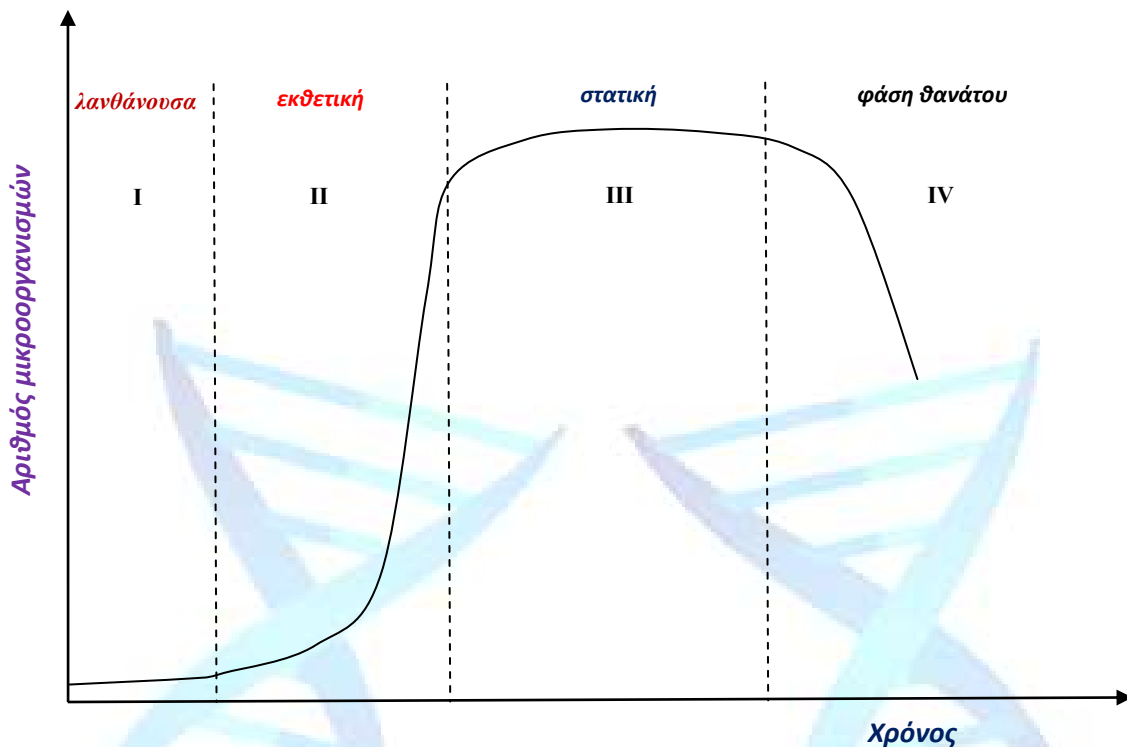
- Τι είναι οι καλλιέργειες μικροοργανισμών;
Καλλιέργεια είναι η διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών με διάφορους τεχνητούς τρόπους στο εργαστήριο ή σε βιομηχανικό επίπεδο. Με τη δημιουργία καλλιεργειών δίνεται η δυνατότητα ευκολότερης μελέτης των μικροοργανισμών, ενώ είναι δυνατή και η παραγωγή χρήσιμων προϊόντων από αυτούς.
- Τι είναι το θρεπτικό υλικό;
Η ανάπτυξη ενός μικροοργανισμού προϋποθέτει την παρασκευή και τη χρησιμοποίηση τεχνητού θρεπτικού υλικού, το οποίο είναι ένα μείγμα που αποτελείται από νερό στο οποίο έχουν προστεθεί κατάλληλα θρεπτικά συστατικά.

- *Ποιά είναι τα είδη του θρεπτικού υλικού και τι είναι το καθένα;*
Ανάλογα με τη φάση στην οποία βρίσκονται τα θρεπτικά υλικά διακρίνονται σε δύο είδη:
1) Τα υγρά: Περιέχουν όλα τα αναγκαία για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών θρεπτικά συστατικά (πηγή άνθρακα, αζώτου και ιόντα διαλυμένα σε νερό). Η διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό είναι δυνατό να επιτελείται κάτω από αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες.
2) Τα στερεά: Παρασκευάζονται με την ανάμειξη υγρού θρεπτικού υλικού με άγαρ.
Το άγαρ είναι ένας πολυσακχαρίτης που προέρχεται από φύκη. Στερεοποιείται σε θερμοκρασίες κάτω 45°C.
- *Τι είναι ζύμωση;*
Η διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό ονομάζεται ζύμωση και είναι δυνατό να επιτελείται κάτω από αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες.
- *Ποιά είναι η απαραίτητη προεργασία πριν από την παρασκευή του θρεπτικού υλικού;*
Πριν από την έναρξη οποιασδήποτε καλλιέργειας τα θρεπτικά υλικά και οι συσκευές αποστειρώνονται ώστε να απαλλαγθούν από διάφορους μικροοργανισμούς που βρίσκονται σε αυτά. Έτσι μελετώνται ή παράγονται προϊόντα μόνο από τους επιθυμητούς μικροοργανισμούς, που προέρχονται από τον εμβολιασμό.
- *Τι είναι εμβολιασμός;*
Εμβολιασμός ονομάζεται η διαδικασία κατά την οποία προστίθεται μικρή ποσότητα κυττάρων στο θρεπτικό υλικό. Με αυτόν τον τρόπο ξεκινά μια καλλιέργεια.
- *Ποιά είναι τα προϊόντα της ζύμωσης;*
1) είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται «Βιομάζα»
2) είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.
- *Ποιά είναι τα στάδια καλλιέργειας μικροοργανισμών σε μικρή κλίμακα στο εργαστήριο;*
1) Απομόνωση μικροοργανισμών.
2) Παρασκευή κατάλληλου θρεπτικού υλικού (υγρού ή στερεού) και αποστείρωσή του.
3) Διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης (pH, O₂)
4) Εμβολιασμός. Χρησιμοποίηση αποστειρωμένων σκευών (τριβλίων).
5) Οι μικροοργανισμοί εισάγονται σε κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία κατάλληλη για την ανάπτυξη τους,
6) Έπειτα από 12-76 ώρες παράγεται μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών.
7) Οι μικροοργανισμοί είναι δυνατό να απομονωθούν και να μελετηθούν.
8) Οι καλλιέργειες αυτές είναι δυνατό να διατηρηθούν σε αδρανοποιημένη μορφή στην κατάψυξη (-80°C) για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα.
- *Τι είναι ο βιοαντιδραστήρας (ή ζυμωτήρας);*
Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες. Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O₂) που αφορούν την καλλιέργεια.

- Ποιά είναι τα στάδια καλλιέργειας μικροοργανισμών σε μεγάλη (βιομηχανική) κλίμακα;
Η διαδικασία μιας τέτοιας καλλιέργειας έχει ως εξής:
 - 1) Απομόνωση μικροοργανισμών και δημιουργία καλλιέργειας στο εργαστήριο.
 - 2) Εμβολιασμός του βιοαντιδραστήρα με την αρχική καλλιέργεια μετά από αποστείρωσή του.
 - 3) Το θρεπτικό υλικό στον βιοαντιδραστήρα είναι πάντα υγρό και σε αυτό χρησιμοποιούνται φθηνές πηγές άνθρακα, όπως είναι η μελάσα που αποτελεί παραπροϊόν της επεξεργασίας ζαχαροκάλαμου ή σακχαρότευτλων. Το θρεπτικό υλικό αποστειρώνεται και αυτό πριν χρησιμοποιηθεί.
 - 4) Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται σε ιδανικές συνθήκες, καθώς χρησιμοποιούν τα συστατικά του θρεπτικού υλικού.
 - 5) Τα προϊόντα της ζύμωσης, που είναι η βιομάζα, παραλαμβάνονται μετά από τον καθαρισμό του προϊόντος που προκύπτει από τον βιοαντιδραστήρα.
- Πώς γίνεται η τελική παραλαβή των προϊόντων ζύμωσης;
Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα.
 - 1) Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται με διήθηση ή φυγοκέντρηση.
 - 2) Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά, από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων.
- Ποιοί είναι οι τύποι ζύμωσης;
Υπάρχουν δύο τύποι ζυμώσεων οι οποίοι χρησιμοποιούνται ευρέως ανάλογα με το επιθυμητό προϊόν.
 - 1) η κλειστή καλλιέργεια και η
 - 2) συνεχής καλλιέργεια.
- Ποιά είναι τα χαρακτηριστικά της κλειστής καλλιέργειας;
Στην κλειστή καλλιέργεια παρατηρούνται 4 διακριτές φάσεις ¹ ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Αυτές οι φάσεις ανάπτυξης είναι:
 - I) η λανθάνουσα,
 - II) η εκθετική,
 - III) η στατική και
 - IV) η φάση θανάτου.



¹. Η διαδοχή των φάσεων σε μια κλειστή καλλιέργεια είναι η ίδια ανεξάρτητα από το είδος του καλλιεργούμενου μικροοργανισμού. Αντίθετα η χρονική διάρκεια κάθε φάσης εξαρτάται από είδος του μικροοργανισμού αλλά και από τις συνθήκες καλλιέργειας (είδος θρεπτικού υλικού, pH, O₂ και θερμοκρασία).



Εικόνα 1. Καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμού σε κλειστή καλλιέργεια.

- Τι συμβαίνει κατά την διάρκεια κάθε φάσης της κλειστής καλλιέργειας;
 - α) Λανθάνουσα φάση: Ο αρχικός πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει σχεδόν σταθερός λόγω του ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα για να προσαρμοστούν στις καινούργιες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται.
 - β) Εκθετική φάση: Λόγω των άριστων συνθηκών που επικρατούν, οι μικροοργανισμοί αρχίζουν να αναπτύσσονται: διαιρούνται με ταχύ ρυθμό και ο αριθμός τους αυξάνεται εκθετικά.
 - γ) Στατική φάση: Ο πληθυσμός των μικροοργανισμών δεν αυξάνεται λόγω:
 - i) Εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού.
 - ii) Συσσωρεύσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό τους.
 - δ) Φάση θανάτου: Ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται λόγω δυσμενών συνθηκών γι' αυτούς στον βιοαντιδραστήρα.²
- Τι συμβαίνει κατά την διάρκεια της συνεχούς καλλιέργειας;

Οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά, ενώ ταυτόχρονα απομακρύνονται κύτταρα και άχρηστα προϊόντα. Με αυτόν τον τρόπο οι μικροοργανισμοί βρίσκονται διαρκώς σε ανάπτυξη.

² Οι φάσεις κατά τις οποίες παράγονται χρήσιμα προϊόντα από τους μικροοργανισμούς είναι η εκθετική και η στατική. Για το ποια φάση θα αξιοποιηθεί εξαρτάται από το είδος του προϊόντος και το είδος του μικροοργανισμού.