

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7ο: ΑΡΧΕΣ & ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



Συνδυασμός ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ

BIO TECHNOLOGY

Προσφέρει τη δυνατότητα
χρησιμοποίησης των ζωντανών
οργανισμών για την παραγωγή
χρήσιμων προϊόντων



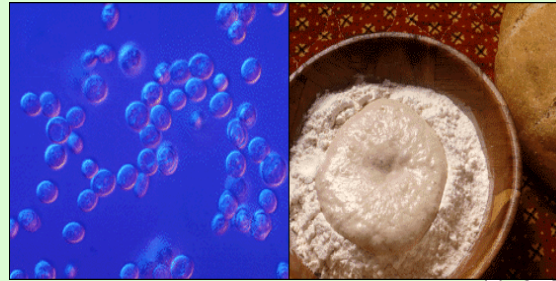
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

© Οι ζωντανοί οργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και χιλιάδες χρόνια για την παραγωγή προϊόντων

➤ Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν κυρίως για την παραγωγή ψωμιού, μπίρας και κρασιού

➤ Σήμερα οι εξελίξεις στην Επιστήμη και στην Τεχνολογία δίνουν τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή ευρείας κλίμακας προϊόντων όπως τροφίμων, αντιβιοτικών και εμβολίων

✚ Ο όρος Βιοτεχνολογία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον **Kark Ereky** το 1919 για να περιγράψει τη «διαδικασία παραγωγής προϊόντων από ακατέργαστα υλικά με τη βοήθεια ζωντανών οργανισμών»



ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

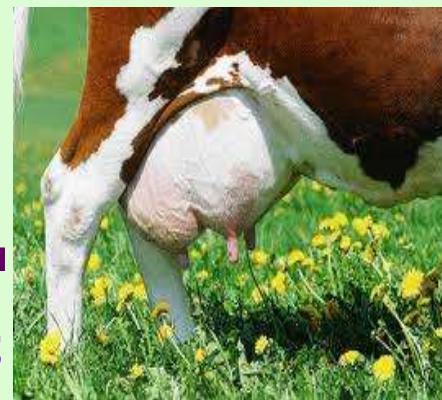
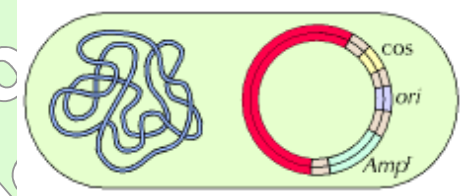
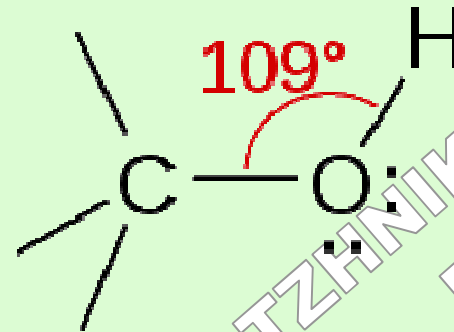
© Σήμερα η Βιοτεχνολογία αποτελεί συνδυασμό Επιστήμης & Τεχνολογίας

➤ Με στόχο την εφαρμογή των γνώσεων που έχουν αποκτηθεί από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων

➤ Τέτοια προϊόντα είναι η αλκοόλη που παράγεται με τη ζύμωση και η ανθρώπινη ινσουλίνη που παράγεται από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια

➤ Η βιοτεχνολογία συνεισφέρει σε διάφορους τομείς όπως η ιατρική, η γεωργία, η κτηνοτροφία, η βιομηχανία και η προστασία του περιβάλλοντος

➤ Βιοτεχνολογία με την ευρεία έννοια είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου

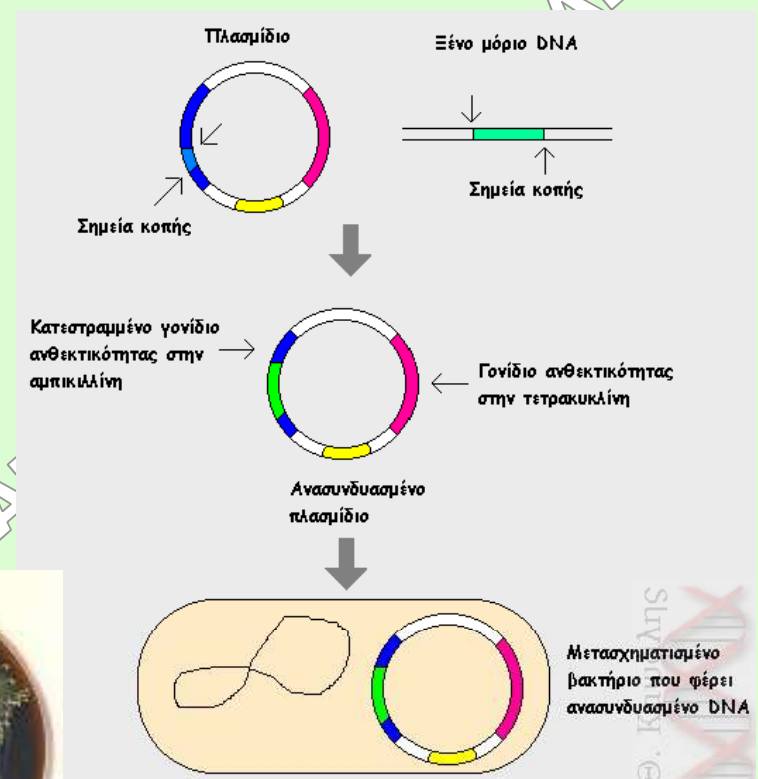


ΠΟΥ ΣΤΗΡΙΖΕΤΑΙ Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

© Στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές καλλιέργειας & ανάπτυξης μικροοργανισμών και σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA

➤ Οι τελευταίες βρίσκουν άμεση εφαρμογή στη Βιοτεχνολογία, επειδή παρέχουν την δυνατότητα εισαγωγής νέων επιθυμητών ιδιοτήτων στους ζωντανούς οργανισμούς σε μικρότερο χρόνο και με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι στο παρελθόν

➤ Το νέο στη Βιοτεχνολογία είναι όχι οι ιδέες, εφόσον και στο παρελθόν είχαν γίνει προσπάθειες τροποποίησης των οργανισμών, αλλά οι τεχνικές για την υλοποίησή τους



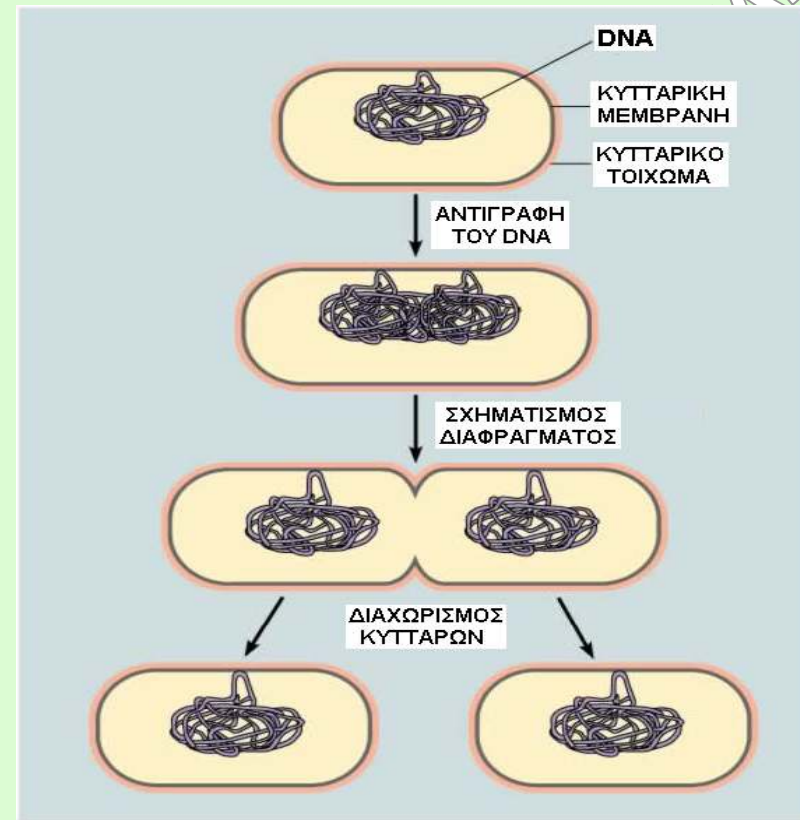
ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Οι μικροοργανισμοί όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες, αυξάνονται σε μέγεθος και διαιρούνται με αποτέλεσμα την αύξηση τους

Τα κύτταρα που προκύπτουν μετά από κάθε διαίρεση έχουν πρακτικά το ίδιο μέγεθος με το αρχικό κύτταρο

Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών, δηλαδή ο ρυθμός με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρα του, καθορίζεται από το χρόνο διπλασιασμού

Κάθε είδος μικροοργανισμού έχει χαρακτηριστικό χρόνο διπλασιασμού



ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

© Η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών

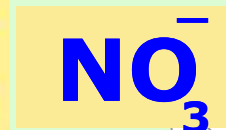
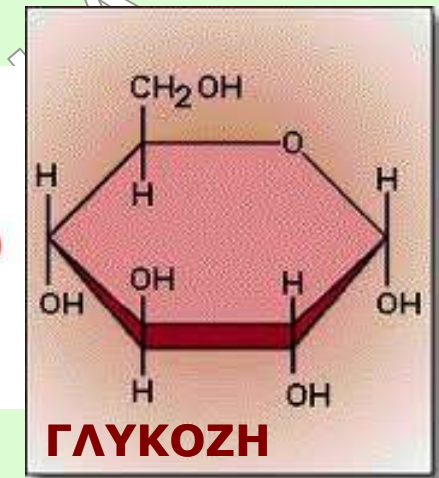
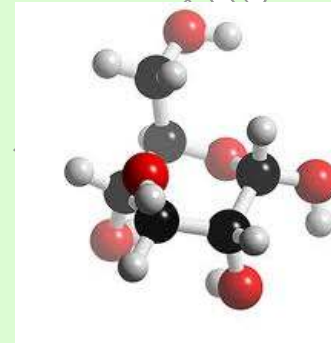
➤ Για να αναπτυχθεί ένας μικροοργανισμός είναι απαραίτητο να μπορεί να προμηθευτεί από το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται μια σειρά θρεπτικών συστατικών:

➤ Σε αυτά περιλαμβάνονται ο άνθρακας, το άζωτο, διάφορα μεταλλικά ιόντα και νερό

➤ Η πηγή άνθρακα για τους αυτότροφους μικροοργανισμούς είναι το διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας ενώ για τους ετερότροφους είναι διάφορες οργανικές ενώσεις όπως οι υδατάνθρακες

➤ Η πηγή αζώτου για τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι τα αμμωνιακά ή τα νιτρικά ιόντα

➤ Τα μεταλλικά ιόντα είναι απαραίτητα για την πραγματοποίηση χημικών αντιδράσεων ως συστατικά διάφορων μορίων



ΜΕΤΤΑΛΙΚΑ ΙΟΝΤΑ



ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

@ Το pH

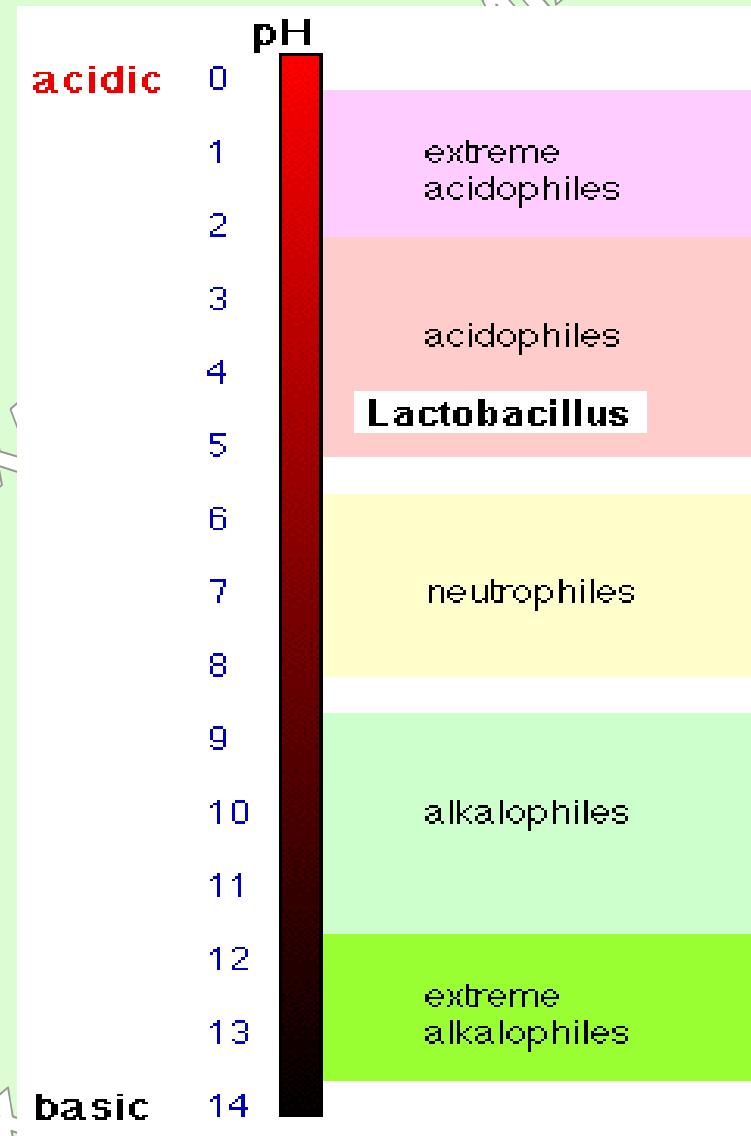
↗ Το pH επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών

➤ Οι περισσότεροι αναπτύσσονται σε pH=6-9

➤ Υπάρχουν όμως μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε διαφορετικό pH, όπως είναι τα βακτήρια του γένους **Lactobacillus** που αναπτύσσονται σε pH=4-5



μετρητής pH



ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

@ Το οξυγόνο

➤ Η παρουσία ή απουσία οξυγόνου μπορεί να βοηθήσει ή να αναστείλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών

➤ Υπάρχουν μικροοργανισμοί που για την ανάπτυξη τους απαιτούν υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου (υποχρεωτικά αερόβιοι)

➤ Όπως τα **βακτήρια** του γένους **Mycobacterium**

➤ Άλλοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται παρουσία οξυγόνου με ταχύτερο ρυθμό από ότι απουσία του (προαιρετικά αερόβιοι)

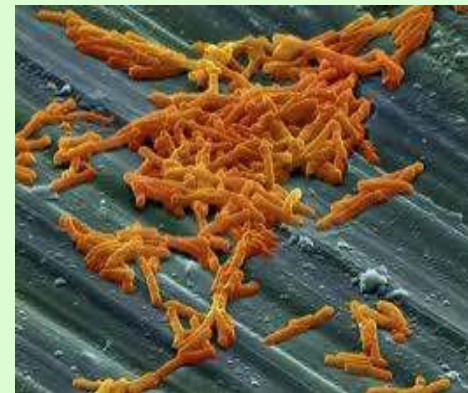
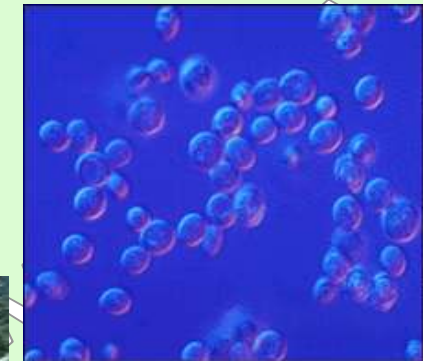
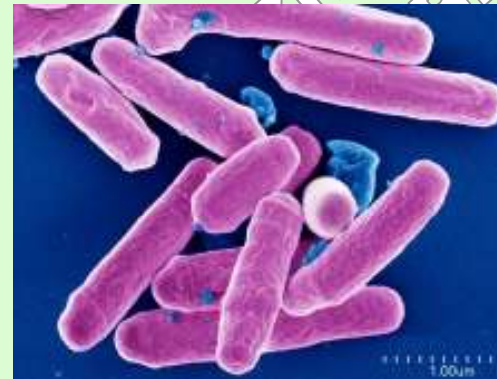
➤ Όπως οι **μύκητες** που χρησιμοποιούνται στην αρτοποιηχανία

➤ Τέλος υπάρχουν μικροοργανισμοί που το οξυγόνο είναι **τοξικό** (υποχρεωτικά αναερόβιοι)

➤ Όπως τα **βακτήρια** του γένους **Clostridium**



οξυγονόμετρο



ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

@ θερμοκρασία

➤ Είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών

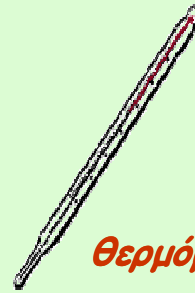
➤ Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται άριστα σε θερμοκρασία 20-45°C

✚ Για παράδειγμα, η *Escherichia coli*, που χρησιμοποιείται σε πειράματα Μοριακής Βιολογίας, αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασία 37°C

➤ Υπάρχουν όμως ορισμένοι που για την ανάπτυξη τους απαιτούν θερμοκρασία μεγαλύτερη από 45°C

✚ Όπως αυτοί που αναπτύσσονται κοντά σε θερμοπηγές

➤ και άλλοι αναπτύσσονται σε θερμοκρασία μικρότερη των 20°C



Θερμόμετρο



ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΑΙ ΣΕ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

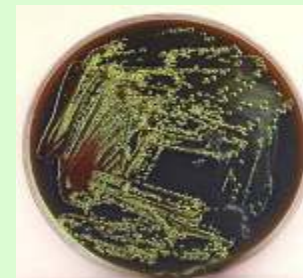
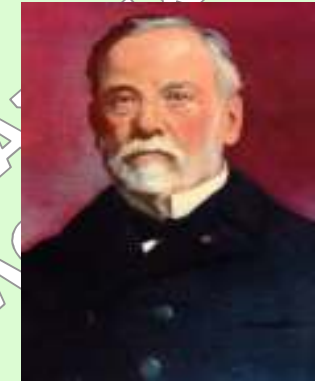
© Οι επιστήμονες είχαν ήδη αρχίσει από τα μέσα του 19ου αιώνα τις προσπάθειες για την καλλιέργεια βακτηρίων & μυκήτων

➤ Ο **Louis Pasteur** στο Παρίσι υπήρξε από τους πρωτόπορους αυτής της προσπάθειας

➤ Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη:

- Η απομόνωση των διάφορων ειδών βακτηρίων ή μυκήτων
- Η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών
- Η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης

➤ Σήμερα, οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων, όπως **αντιβιοτικά ή ένζυμα**, μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης



ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

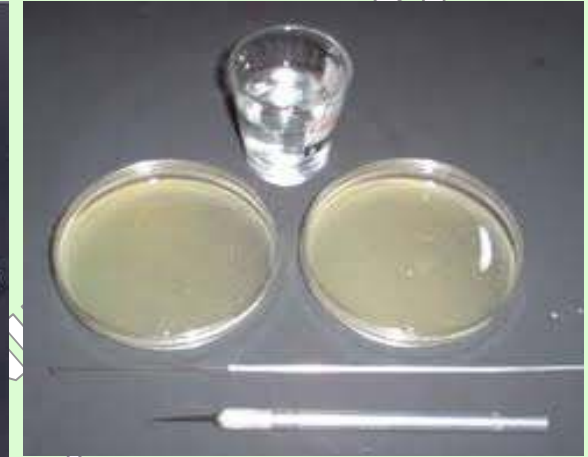
© Για την ανάπτυξη τους χρησιμοποιούνται τεχνητά θρεπτικά υλικά που πρέπει να περιέχουν πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα (σε περίπτωση αερόβιων μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου)

➤ Τα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη μικροβίων στο εργαστήριο μπορεί να είναι υγρά ή στερεά

➤ Τα υγρά θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά διαλυμένα σε νερό

➤ Τα στερεά θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται με ανάμιξη του υγρού θρεπτικού υλικού με έναν πολυσακχαρίτη που προέρχεται από τα φύκη, το άγαρ

➤ Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45° C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες



AGAR AGAR
GELIFIANT
E406



ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

© Μια καλλιέργεια ξεκινά με την προσθήκη μικρής ποσότητας κυττάρων στο θρεπτικό υλικό που ονομάζεται εμβολιασμός

➤ Μετά τον εμβολιασμό οι μικροοργανισμοί παραμένουν σε ένα κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία κατάλληλη για την ανάπτυξη τους

- Με αυτό τον τρόπο σε μικρό χρονικό διάστημα, 12-76 ωρών, παράγεται μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών
- Οι καλλιέργειες αυτές μπορούν να διατηρηθούν σε αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80°C) για αρκετό μεγάλο χρονικό διάστημα
- Για την αποφυγή ανάπτυξης άλλων μικροοργανισμών, εκτός εκείνων που πρόκειται να καλλιεργηθούν, τα θρεπτικά υλικά και οι συσκευές αποστειρώνονται πριν την έναρξη της καλλιέργειας



ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

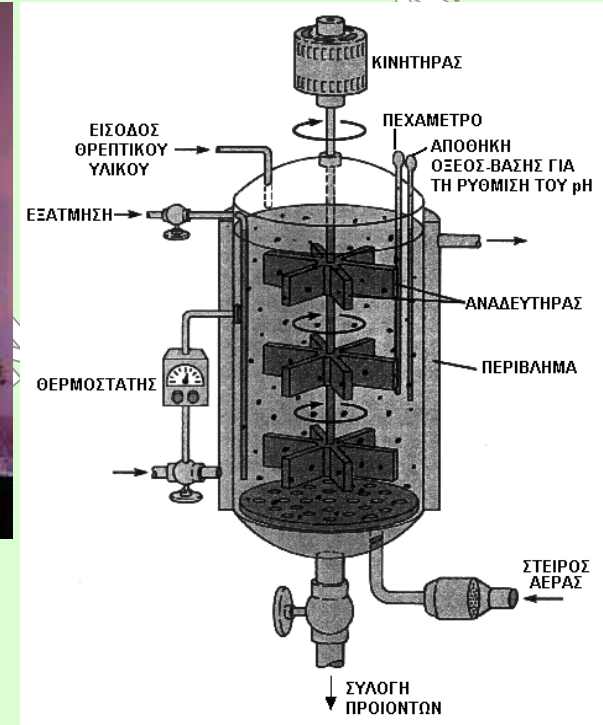
• Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (Βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες

• Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών που αφορούν την καλλιέργεια όπως:

• Τη θερμοκρασία, το pH και τη συγκέντρωση οξυγόνου

• Στο θρεπτικό υλικό, που προστίθεται στους βιοαντιδραστήρες, χρησιμοποιούνται φθηνές πηγές άνθρακα:

• Όπως η μελάσα που αποτελεί παραπροϊόν της επεξεργασίας του ζαχαροκάλαμου ή ζαχαρότευτλων



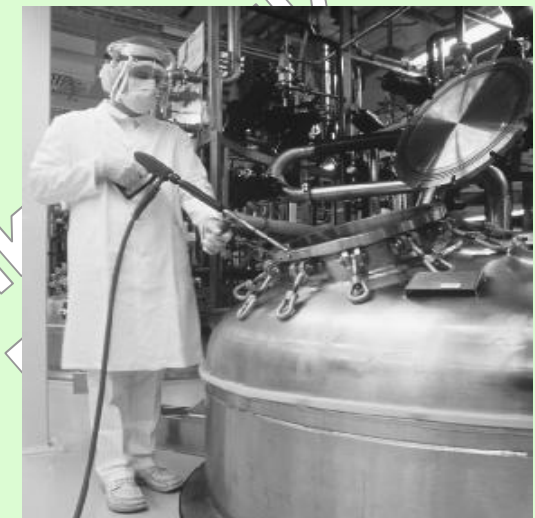
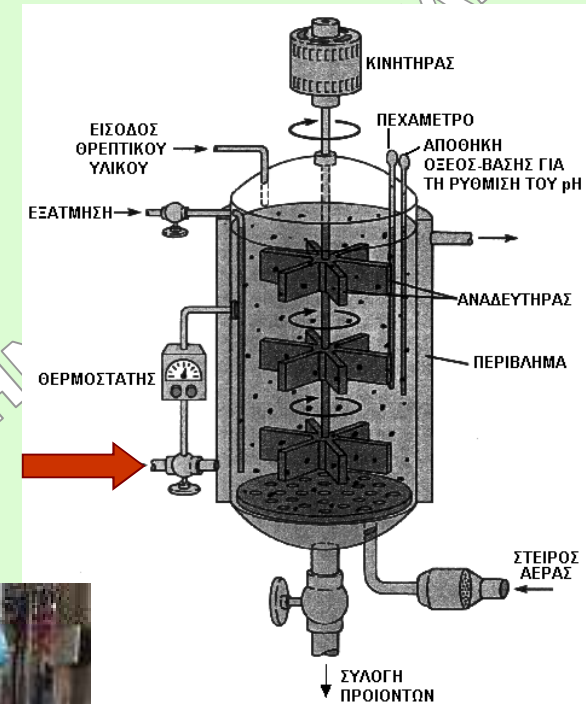
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

• Η καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα ξεκινά με τον εμβολιασμό από μια αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών που είχε γίνει στο εργαστήριο

• Μέσα στο βιοαντιδραστήρα οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται χρησιμοποιώντας τα συστατικά του θρεπτικού υλικού

• Όλες οι διεργασίες πρέπει γίνονται κάτω από στείρες συνθήκες για να μην γίνει μόλυνση της καλλιέργειας

• Ο ίδιος ο βιοαντιδραστήρας και θρεπτικό υλικό αποστειρώνονται πριν από τη χρήση



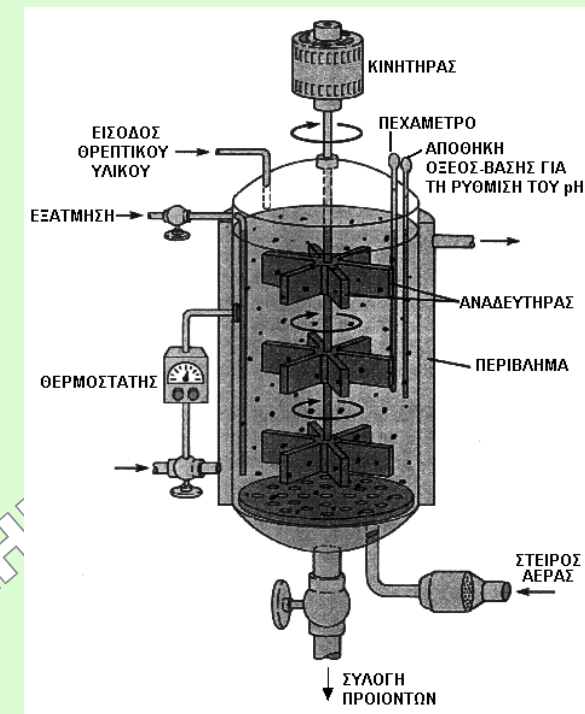
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

@ Ζύμωση

➤ Με τον όρο ζύμωση εννοούμε τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από οποιαδήποτε συνθήκες

➤ Ο όρος ζύμωση παλαιότερα χρησιμοποιείται μόνο για αναερόβιες διεργασίες αλλά σήμερα χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες, αερόβιες και αναερόβιες

✚ Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται βιομάζα είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά



ΤΥΠΟΙ ΖΥΜΩΣΕΩΝ

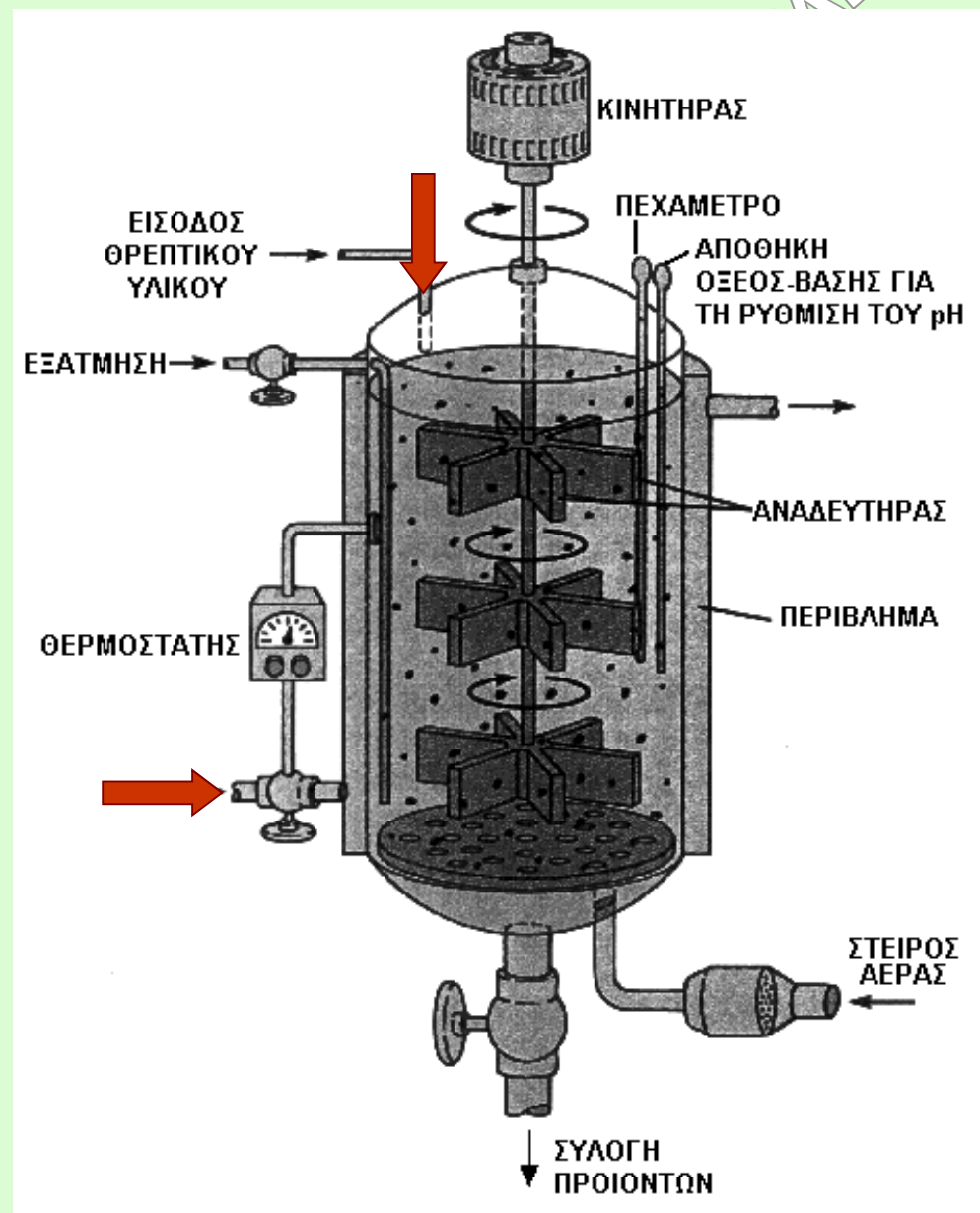
@ Κλειστή καλλιέργεια

➤ Σε αυτόν το τύπο ζύμωσης τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, η οποία εμβολιάζεται με αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών

➤ Η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος

➤ Στη κλειστή καλλιέργεια οι φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι:

- Η λανθάνουσα φάση
- Η εκθετική φάση
- Η στατική φάση
- Η φάση θανάτου



ΤΥΠΟΙ ΖΥΜΩΣΕΩΝ

@ Φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε κλειστή καλλιέργεια

↗ **Λανθάνουσα φάση (0-t1)**

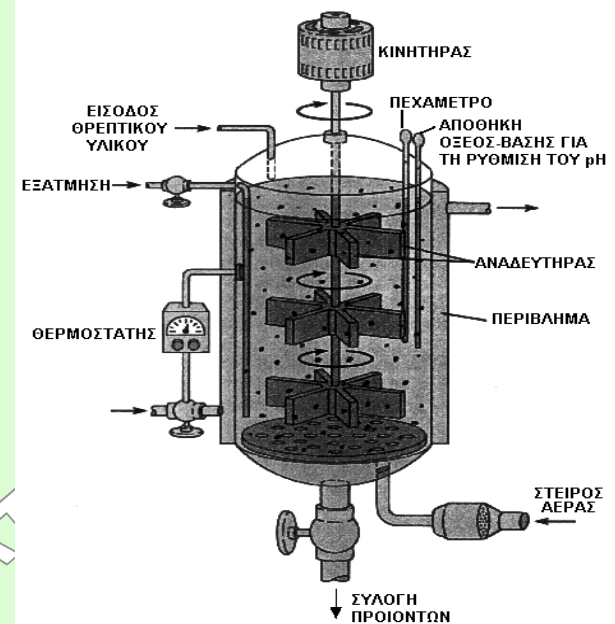
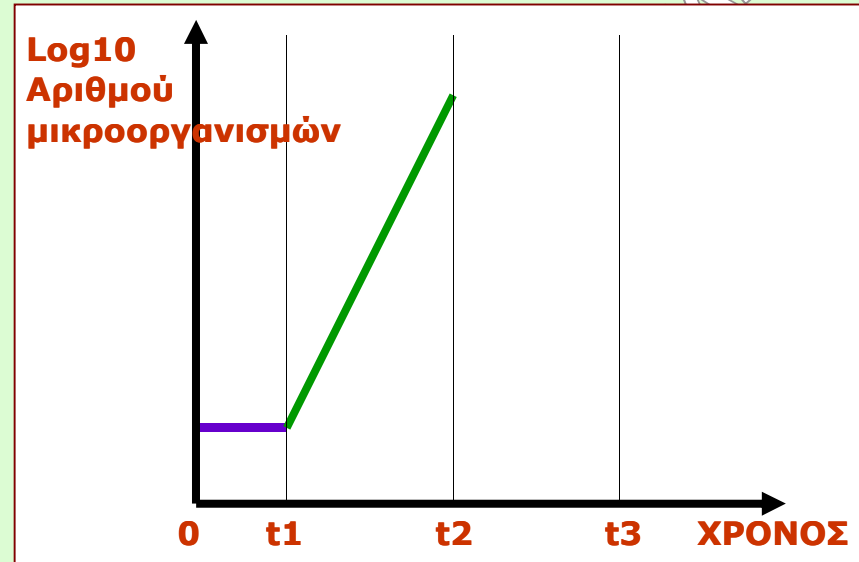
➤ Ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια παραμένει σχεδόν σταθερός

⚡ Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα για να προσαρμοστούν στις καινούριες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται

↗ **Εκθετική φάση (t1-t2)**

➤ Στη συνέχεια οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό

⚡ Επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης οξυγόνου και στο υλικό καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά



ΤΥΠΟΙ ΖΥΜΩΣΕΩΝ

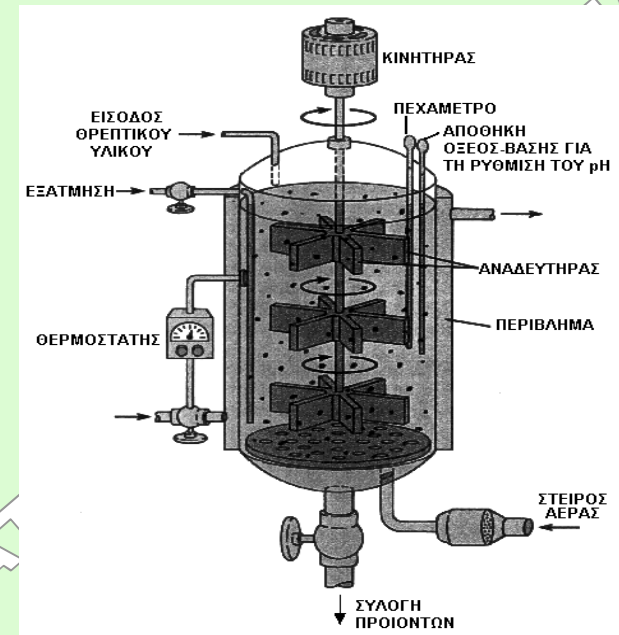
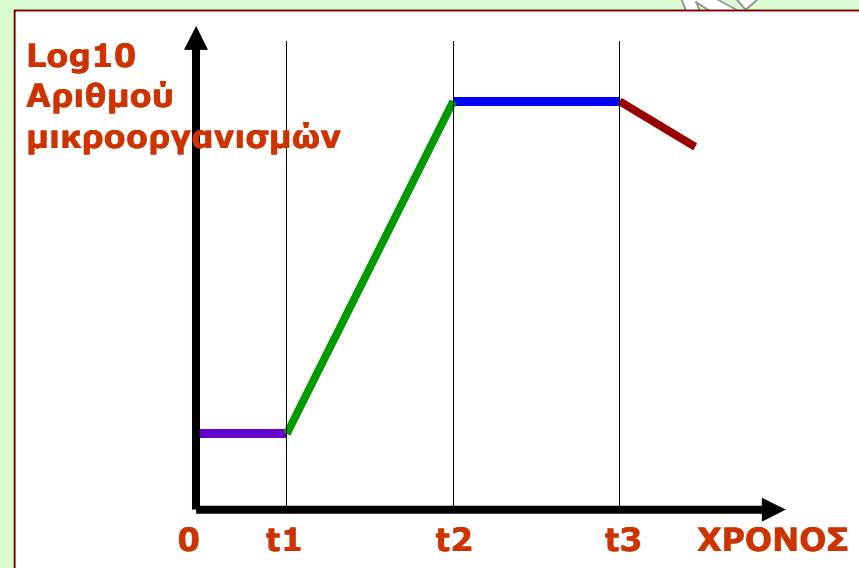
@ Φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε κλειστή καλλιέργεια

➤ Στατική φάση (t_2-t_3)

- Ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών

➤ Φάση θανάτου ($t_3-...$)

- Ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται
- Η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών
- Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξης τους

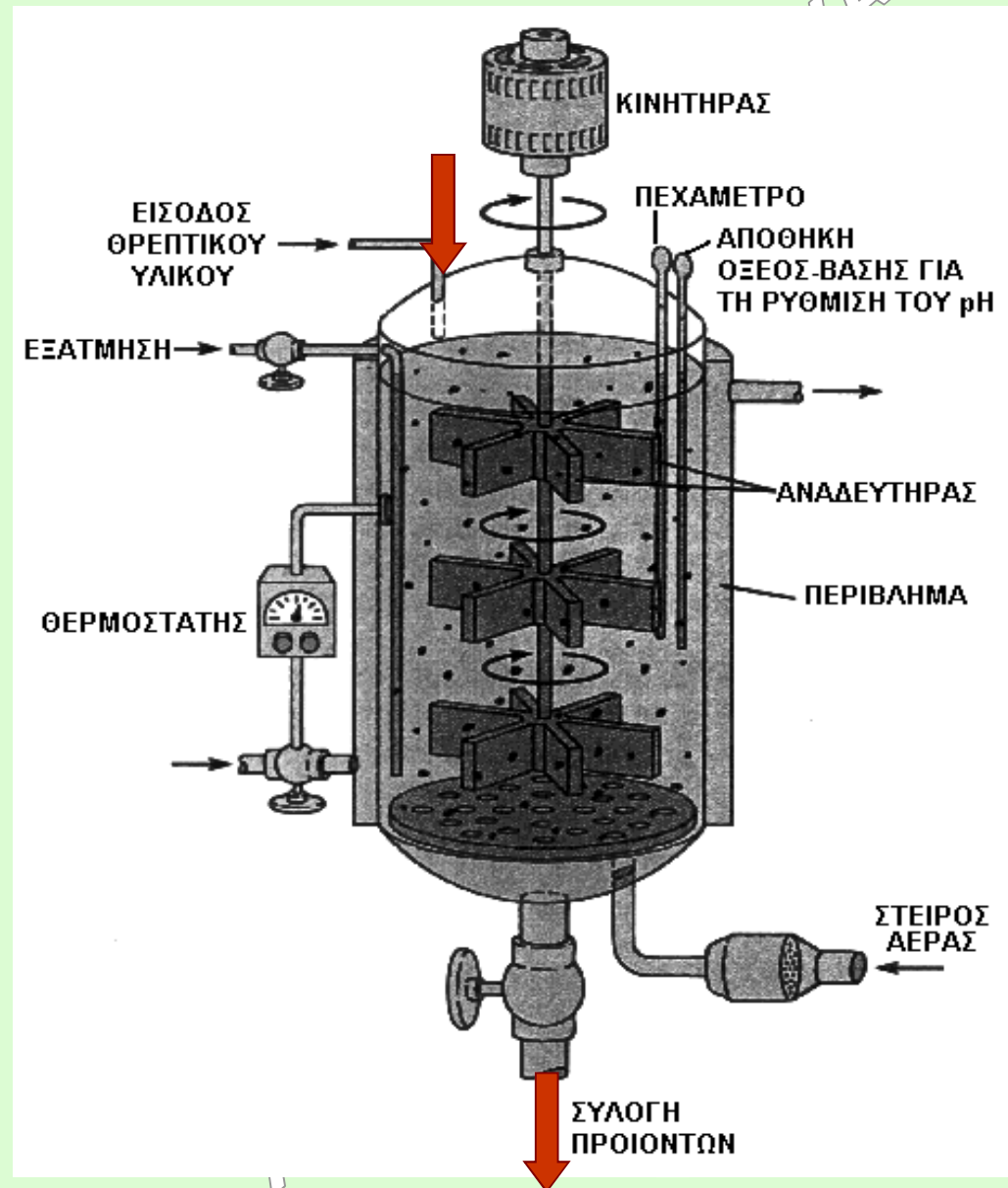


ΤΥΠΟΙ ΖΥΜΩΣΕΩΝ

© Συνεχής καλλιέργεια

➤ Σε αυτόν το τύπο καλλιέργειας οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά

➤ Ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα



ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΤΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ

© Τελική κατεργασία

➤ Είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα

➤ Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα

➤ Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή φυγοκέντρηση

➤ Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή στα υγρά συστατικά, από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων

➤ Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν προσμείξεις

