

# BROCK

## ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

ΤΟΜΟΣ ΙΙ

Michael T. Madigan

John M. Martinko

Jack Parker

Απόδοση στα ελληνικά

Βασιλική Βακάκη

Θόδωρος Κοκκορόγιαννης

Στάθης Φριλίγγος

Γιάννης Χατζηδάκης

Στάθης Χατζηλουκάς

Ιορδάνης Χατζηπαυλίδης

Επιστημονική επιμέλεια

Τάσος Οικονόμου



**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 26****ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΝΟΣΟΙ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΑΝΘΡΩΠΟ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΟ**

1001

I	ΑΕΡΟΓΕΝΗΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ	1002
26.1	Αερογενή παθογόνα	1003
26.2	Ασθένειες που οφείλονται σε στρεπτοκόκκους	1004
26.3	<i>Corynebacterium</i> και διφθερίτιδα	1007
26.4	<i>Bordetella</i> και κοκκύτης	1008
26.5	<i>Mycobacterium</i> και φυματίωση	1009
26.6	<i>Neisseria meningitidis</i> , μηνιγγίτιδα και μηνιγγοκοκκαϊμία	1013
26.7	Ιοί και λοιμώξεις του αναπνευστικού	1015
26.8	Κρυολογήματα και γρίπη	1017
II	ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΜΕ ΑΜΕΣΗ ΕΠΑΦΗ	1021
26.9	<i>Staphylococcus</i>	1021
26.10	<i>Helicobacter pylori</i> και γαστρικά έλκη	1023
26.11	Ιοί της ηπατίτιδας	1024
III	ΣΞΕΟΥΑΛΙΚΩΣ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	1027
26.12	Γονόρροια και σύφιλη	1027
26.13	Χλαμύδια, έρπης και λοιμώξη από τριχομονάδες	1031
26.14	Σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας: AIDS και HIV	1034

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 27****ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΝΟΣΟΙ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΑ ΖΩΑ, ΤΑ ΑΡΘΡΟΠΟΔΑ ΚΑΙ ΤΟ ΕΔΑΦΟΣ**

1045

I	ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΑ ΖΩΑ	1046
27.1	Λύσσα	1046
27.2	Πνευμονικό σύνδρομο προκαλούμενο από τον ιό Hanta (HPS)	1048
II	ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΑ ΑΡΘΡΟΠΟΔΑ	1050
27.3	Ρικετσιώσεις	1050
27.4	Νόσος του Lyme	1053
27.5	Ελονοσία	1057
27.6	Πανώλη	1060
III	ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΕΔΑΦΟΣ	1063
27.7	Παθογόνοι μύκητες	1063
27.8	Τέτανος	1065

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 28****ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ, ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ΥΔΑΤΟΓΕΝΕΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΝΟΣΟΙ**

1069

I	ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ	1070
---	--	------

28.1	Δημόσια υγεία και ποιότητα νερού	1070
28.2	Επεξεργασία υγρών αποβλήτων και λυμάτων	1072
28.3	Καθαρισμός πόσιμου νερού	1077
II	ΥΔΑΤΟΓΕΝΕΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑΣ	1078
28.4	Πηγές υδατογενών λοιμώξεων	1078
28.5	Χολέρα	1079
28.6	Λαμβλίαση (γιαρδίαση) και κρυπτοσποριδίαση	1081
28.7	Νόσος των λεγεωναρίων	1082
28.8	Τυφοειδής πυρετός και άλλες υδατογενείς ασθένειες	1084

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 29****ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΤΡΟΦΟΓΕΝΕΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ****ΝΟΣΟΙ**

1087

I	ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ	1088
29.1	Ανάπτυξη μικροβίων και αλλοίωση τροφίμων	1088
29.2	Συντήρηση τροφίμων	1090
II	ΤΡΟΦΟΓΕΝΕΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ	1093
29.3	Τροφογενείς ασθένειες και μικροβιακή δειγματοληψία	1093
29.4	Τροφικές δηλητηριάσεις από σταφυλοκόκκους	1094
29.5	Τροφικές δηλητηριάσεις από <i>Clostridium</i>	1095
29.6	Σαλμονέλλωση	1097
29.7	Παθογόνα στελέχη της <i>Escherichia coli</i>	1099
29.8	Καμπυλοβακτήρια	1100
29.9	Λιστερίωση	1101
29.10	Άλλες τροφογενείς λοιμώδεις ασθένειες	1102

**ΕΝΟΤΗΤΑ VI ΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΩΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΕΡΓΑΛΕΙΑ****ΚΕΦΑΛΑΙΟ 30****ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ/ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΣΗ**

1105

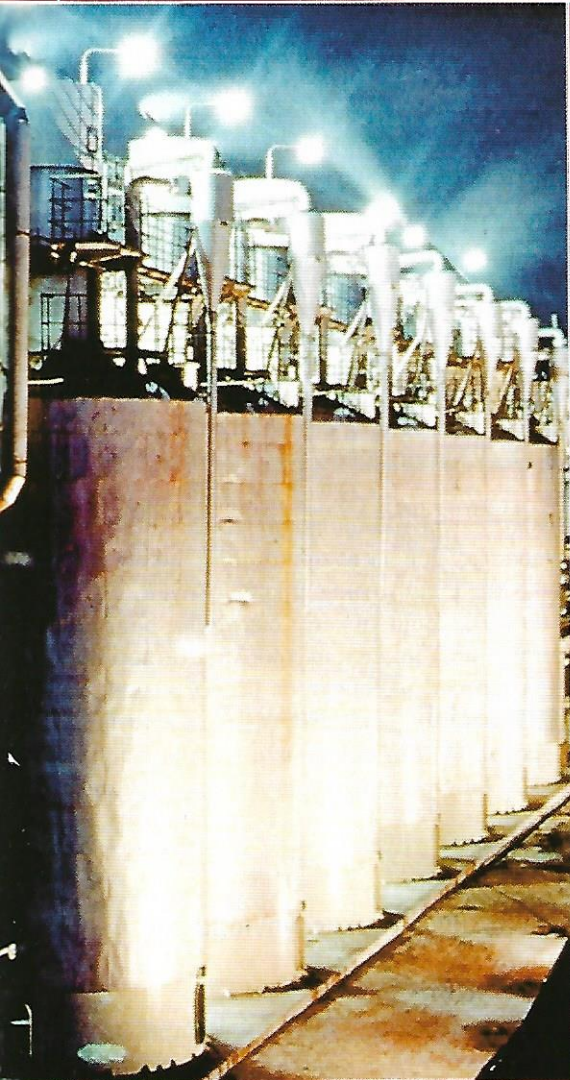
I	ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ, ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ	1106
30.1	Βιομηχανικοί μικροοργανισμοί και προϊόντα	1106
30.2	Αύξηση και παραγωγή προϊόντων στη βιοκατάλυση	1108

30.3	Χαρακτηριστικά των ζυμώνσεων μαζικής κλίμακας	1109		
30.4	Μεγέθυνση της κλίμακας μιας ζύμωσης	1112		
II	<b>ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ</b>	1113		
30.5	Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός	1113		
30.6	Βιομηχανική παραγωγή πενικιλίνης και τετρακυκλίνης	1116		
30.7	Βιταμίνες και αμινοξέα	1118		
30.8	Μικροβιακή βιομετατροπή	1121		
30.9	Ένζυμα	1121		
30.10	Όξος (ξίδι)	1124		
30.11	Κιτρικό οξύ και άλλες οργανικές ενώσεις	1125		
30.12	Ο ζυμομύκητας ως παράγοντας ζύμωσης και ως διατροφικό συμπλήρωμα	1126		
30.13	Αλκοόλη και αλκοολούχα ποτά	1128		
30.14	Τα μανιτάρια ως πηγή διατροφής	1134		
	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 31</b>			
	<b>ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ</b>	<b>1137</b>		
I	<b>ΟΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ</b>	1138		
31.1	Ανασκόπηση των βασικών αρχών της γενετικής μηχανικής	1138		
31.2	Ξενοστές φορέων κλωνοποίησης	1140		
31.3	Εύρεση του σωστού κλώνου	1142		
31.4	Εξειδικευμένοι φορείς	1145		
31.5	Έκφραση γονιδίων θηλαστικών σε βακτήρια	1148		
II	<b>ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ</b>	1153		
31.6	Παραγωγή προϊόντων θηλαστικών και εμβολίων από γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς	1153		
31.7	Γενετική μηχανική στις φυτικές καλλιέργειες	1159		
31.8	Γενετική μηχανική στη γενετική των ζώων και του ανθρώπου	1162		
	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1</b>			
	Ενεργειακοί υπολογισμοί στη βιοενεργητική των μικροβίων			Π-1
	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2</b>			
	<i>Εγχειρίδιο Συστηματικής Βακτηριολογίας του Bergey, 2η έκδοση</i>			Π-7
	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3</b>			
	Σημειώσεις του Επιστημονικού Επιμελητή (Σ.τ.Ε.Ε.)			Π-16
	<i>Γλωσσάριο</i>			Γ-1
	<i>Αγγλοελληνικό γλωσσάριο</i>			Γ-27
	<i>Ευρετήριο</i>			Ε-1

**Σ**το πλαίσιο της βιομηχανικής μικροβιολογίας, η παραγωγή προϊόντων είναι οικονομικά αποδοτική μόνον όταν λαμβάνει χώρα σε πολύ μεγάλη κλίμακα. Για να παραχθούν μέσω μικροβιακών ζυμώσεων προϊόντα σε ανταγωνιστικές τιμές, πρέπει το μεν θρεπτικό μέσο να είναι φθινό, τα δε δοχεία ζύμωσης εξαιρετικά μεγάλα. Εδώ βλέπουμε μεγάλους υψαιθριούς λέβητες ζύμωσης, που χρησιμοποιούνται στην Ισπανία για τον πολλαπλασιασμό του ζυμομύκητα και την παραγωγή αλκοόλης. Αντίθετα με πολλά προϊόντα βιοκατάλυσης, όπως τα αντιβιοτικά, η αιθανόλη αποτελεί μια χημική ουσία που διατίθεται μαζικά στο εμπόριο, διακινούμενη σε μεγάλες ποσότητες και σχετικά χαμηλές τιμές. Συνεπώς, για να παράγεται το προϊόν σε ποσότητες που να επιτρέπουν τη επικερδή διάθεσή του στο εμπόριο, η μικροβιακή παραγωγική διαδικασία πρέπει να είναι άρτια οργανωμένη και να φθάνει στη μέγιστη αποδοτικότητά της σε συνθήκες μαζικής παραγωγής.

# 30

## ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ/ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΣΗ



I	ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ, ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ	1106
30.1	Βιομηχανικοί μικροοργανισμοί και προϊόντα	1106
30.2	Αύξηση και παραγωγή προϊόντων στη βιοκατάλυση	1108
30.3	Χαρακτηριστικά των ζυμώσεων μαζικής κλίμακας	1109
30.4	Μεγέθυνση της κλίμακας μιας ζύμωσης	1112
II	ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ	1113
30.5	Αντιβιοτικά: Απόμόνωση και χαρακτηρισμός	1113
30.6	Βιομηχανική παραγωγή πενικιλίνης και τετρακυκλίνης	1116
30.7	Βιταμίνες και αμινοξέα	1118
30.8	Μικροβιακή βιομετατροπή	1121
30.9	Ενζυμα	1121
30.10	Όξος (ξίδι)	1124
30.11	Κιτρικό οξύ και άλλες οργανικές ενώσεις	1125
30.12	Ο ζυμομύκητας ως παράγοντας ζύμωσης και ως διατροφικό συμπλήρωμα	1126
30.13	Αλκοόλη και αλκοολούχα ποτά	1128
30.14	Τα μανιτάρια ως πηγή διατροφής	1134

## Γλωσσάριο εργασίας

**ακίνητοποιημένο ένζυμο (immobilized enzyme)** παρασκευασμα ενζύμου προσδεδεμένο σε στερεό υλικό, διά μέσου του οποίου διέρχεται το υπόστρωμά του και μετατρέπεται σε προϊόν

**ακραίο ένζυμο (extremozyme)** ένζυμο που διατηρεί τη λειτουργικότητά του παρουσία ενός ή περισσότερων ακραίων χημικών ή φυσικών παραμέτρων, π.χ. υψηλή θερμοκρασία ή χαμηλό pH

**αλκοολική ζύμωση (brewing)** παρασκευή αλκοολούχων ποτών, π.χ. μπίρας, με τη ζύμωση της βύνης

**αμινογλυκοζίδες (aminoglycosides)** ομάδα αντιβιοτικών (συμπεριλαμβάνεται η στρεπτομικίνη) που περιέχουν αμινοσάκχαρα με εσωτερικούς γλυκοζιτικούς δεσμούς

**αντιβιοτικά Β-λακτάμης (β-lactam antibiotics)** ομάδα αντιβιοτικών (συμπεριλαμβάνεται η πενικιλίνη) που περιέχουν τον τετραμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο της β-λακτάμης

**αποσταγμένο ποτό (distilled beverage)** ποτό που περιέχει αλκοόλη της οποίας η συγκέντρωση έχει αυξηθεί με απόσταξη

**βιοκατάλυση (biocatalysis)** η χρήση μικροοργα-

νισμών για την εκτέλεση συγκεκριμένου χημικού μετασχηματισμού

**βιομετατροπή (bioconversion)** η χρήση μικροοργανισμών για την εκτέλεση μιας χημικής αντίδρασης που θα ήταν πιο δαπανηρή, ή αδύνατη, με μη βιολογικά μέσα

**βιοσυνθετική πενικιλίνη (biosynthetic penicillin)** παραγωγή μιας πενικιλίνης ειδικής μορφής, μέσω τροφοδοσίας του παραγωγικού μικροοργανισμού με ειδικά πρόδρομα μόρια πλευρικής αλυσίδας

**δευτεροβάθμια επεξεργασία (secondary treatment)** στην επεξεργασία λυμάτων, η αερόβια ή ανοξική αποσύνθεσή τους, η οποία έπεται της απομάκρυνσης των μη διασώμενων αντικειμένων (πρωτοβάθμια επεξεργασία)

**δευτερογενής μεταβολίτης (secondary metabolite)** μεταβολίτης που εκκρίνεται στο τέλος της αυξητικής και κατά τη διάρκεια της στάσιμης φάσης

**ζύμωση (fermentation)** στο πλαίσιο της βιομηχανικής διαδικασίας, κάθε μικροβιακή διεργασία μεγάλης κλίμακας, που επιτελείται είτε αερόβια είτε αναερόβια

**ζυμωτήρας (fermentor)** δεξαμενή στην οποία εκτελείται βιομηχανική ζύμωση

**ημισυνθετική πενικιλίνη (semisynthetic penicillin)** πενικιλίνη η οποία παράγεται με την αξιοποίηση συστατικών που προέρχονται από διεργασίες τόσο μικροβιακής ζύμωσης όσο και χημικής σύνθεσης

**μεγέθυνση κλίμακας (scale-up)** προσαρμογή μιας εργαστηριακής μεθόδου παρασκευής, που παρουσιάζει εμπορικό ενδιαφέρον, στη βιομηχανική κλίμακα παραγωγής

**πρωτεάση (protease)** ένζυμο ικανό να αποικοδομεί πρωτεΐνες μέσω υδρόλυσης

**πρωτογενής μεταβολίτης (primary metabolite)** μεταβολίτης που εκκρίνεται κατά την αυξητική φάση

**τετρακυκλίνες (tetracyclines)** κατηγορία αντιβιοτικών που περιέχουν τον τετραμελή ναφθακενικό δακτύλιο

**χημικές ουσίες του εμπορίου (commodity chemicals)** χημικές ενώσεις με χαμηλή εμπορική τιμή, όπως η αιθανόλη, που για τον λόγο αυτό πωλούνται συνήθως σε μεγάλες ποσότητες

## I ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ, ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ

Βιομηχανική μικροβιολογία είναι το επιστημονικό πεδίο στο οποίο χρησιμοποιούνται μικροοργανισμοί, συνήθως καλλιεργούμενοι μαζικά, για την παραγωγή προϊόντων αυξημένης εμπορικής σημασίας ή την εκτέλεση σημαντικών χημικών μετασχηματισμών. Η βιομηχανική μικροβιολογία έχει τις ρίζες της στις διαδικασίες αλκοολικής ζύμωσης, π.χ. σε εκείνες που χρησιμεύουν στην παραγωγή κρασιών και μπίρας. Στη συνέχεια, οι μικροβιακές διεργασίες εξελίχθηκαν έχοντας ως κύριους στόχους την παραγωγή φαρμάκων (π.χ. αντιβιοτικών), ουσιών που προστίθενται σε τρόφιμα (π.χ. αμινοξέων), ενζύμων και χημικών ενώσεων (π.χ. βουτανόλης και κιτρικού οξέος). Όλες αυτές οι βιομηχανικής κλίμακας μικροβιολογικές διεργασίες επιτυγχάνουν απλώς την ενίσχυση μεταβολικών αντιδράσεων που οι μικροοργανισμοί είναι ήδη σε θέση να υλοποιούν, με σκοπό την αυξημένη παραγωγή ενός προϊόντος εμπορικής σημασίας. Ωστόσο σήμερα, πέραν της παραδοσιακής βιομηχανικής μικροβιολογίας, έχει αρχίσει να αναπτύσσεται ένας νέος κλάδος, η *μικροβιακή βιοτεχνολογία*. Στο πεδίο της βιοτεχνολογίας, οι διάφορες μέ-

θοδοί χειρισμού των γονιδίων επέτρεψαν τη δημιουργία νέων μικροβιακών προϊόντων, τα περισσότερα από τα οποία δεν παράγονται από τους μικροοργανισμούς στη φύση (Κεφάλαιο 31).

Ο όρος *βιοκατάλυση* χρησιμοποιήθηκε για να περιγραφούν οι αντιδράσεις που εκτελούνται από μικροοργανισμούς στο πεδίο της βιομηχανικής μικροβιολογίας. Στο κεφάλαιο αυτό θα εξετάσουμε αρκετές διεργασίες βιομηχανικής βιοκατάλυσης, μαζί με κάποια προβλήματα που συνοδεύουν την καλλιέργεια μικροβίων σε μαζική κλίμακα και τις αντίστοιχες λύσεις που εξεργάστηκαν οι επιστήμονες όλα αυτά τα χρόνια. Θα αρχίσουμε με μια επισκόπηση των μικροοργανισμών βιομηχανικής σημασίας και των προϊόντων τους.

### 30.1

#### Βιομηχανικοί μικροοργανισμοί και προϊόντα

Σημαντικότεροι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται σε βιοκαταλυτικές διεργασίες είναι οι μύκητες (ζύμες και μούχλες) και ορισμένοι προκαρυώτες, κυρίως μέλη του γένους *Streptomyces*. Σε πολλές περιπτώσεις, οι βιομηχανικοί μικροοργανισμοί παρουσιάζουν μεταβολική εξειδίκευση και επιδέχονται χειραγώγηση σε μεγάλης κλίμακας καλλιέργειες, ώστε

να παράγουν ένα ή περισσότερα προϊόντα σε μεγάλες ποσότητες. Συχνά, για να επιτευχθεί αυτή η υψηλή μεταβολική εξειδίκευση, διάφορα στελέχη βιομηχανικών μικροοργανισμών τροποποιούνται γενετικά μέσω μετάλλαξης και ανασυνδυασμού, με κύριο γνώμονα την αύξηση της απόδοσης του συγκεκριμένου προϊόντος, που παράγεται από συγκεκριμένο στέλεχος.

Όλα τα στελέχη μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται στις βιοκαταλυτικές διεργασίες προέρχονται τελικά από τη φύση. Ωστόσο, τα στελέχη βιομηχανικού ενδιαφέροντος συνήθως διαφέρουν σημαντικά από τον «άγριο (φυσικό) τύπο» από τον οποίο απομονώθηκαν αρχικά. Όταν τελικά αναπτυχθούν βιομηχανικά εκμεταλλεύσιμοι μικροοργανισμοί, αυτοί διατηρούνται τόσο στα μικροβιολογικά εργαστήρια των διαφόρων εταιρειών όσο και σε μεγάλες εθνικής κλίμακας συλλογές μικροβιακών καλλιέργειών, όπως είναι η Συλλογή Πρότυπων Καλλιεργειών (American Type Culture Collection, ATCC) στις Ηνωμένες Πολιτείες ή η Συλλογή Μικροοργανισμών και Κυτταροκαλλιεργειών (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, DSMZ) στη Γερμανία. Οι συλλογές αυτές προμηθεύουν καλλιέργειες μικροοργανισμών για εκπαιδευτικούς, ερευνητικούς και βιομηχανικούς σκοπούς. Όταν κατοχυρωθεί μια νέα βιοκαταλυτική διεργασία, τότε σε μία από τις συλλογές αυτές πρέπει να κατατεθεί ένα στέλεχος ικανό να πραγματοποιεί την εν λόγω διεργασία. Εν τούτοις, για διάφορους λόγους, οι κυριότεροι από τους οποίους αφορούν δικαιώματα χρήσης, τα στελέχη που κατατίθενται δεν είναι εκείνα που εμφανίζουν στην πράξη υψηλές αποδόσεις, αλλά κάποιο στέλεχος (ή στελέχη) που υλοποιούν τη βιοκαταλυτική διαδικασία με πολύ μικρότερη απόδοση.

### Ιδιότητες των Βιομηχανικά επωφελών μικροοργανισμών

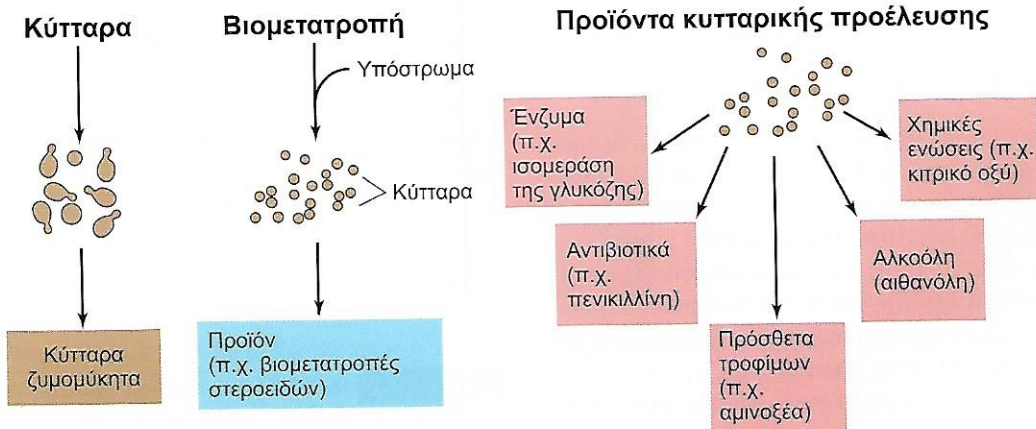
Ένας μικροοργανισμός, για να είναι κατάλληλος για βιομηχανική χρήση, δεν πρέπει μόνο να παράγει την ουσία που μας ενδιαφέρει, αλλά και να έχει πρόσθετες ιδιότητες. Ο οργανισμός πρέπει να μπορεί να αναπτύσσεται και να παράγει το προϊόν σε μεγάλης κλίμακας καλλιέργειες. Επιπλέον, ο

οργανισμός θα είναι προτιμότερο να παράγει σπόρια ή αναπαραγωγικά κύτταρα άλλου τύπου, ώστε να ενοφθαλμίζεται εύκολα σε μεγάλους ζυμωτήρες.

Άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό ενός βιομηχανικού οργανισμού είναι η ικανότητα να αυξάνεται ταχέως και να παράγει το επιθυμητό προϊόν σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα. Ο οργανισμός πρέπει επίσης να μπορεί να αναπτύσσεται σε σχετικά φθινό υγρό θρεπτικό μέσο καλλιέργειας, διαθέσιμο σε μεγάλες ποσότητες. Σε πολλές βιομηχανικές μικροβιολογικές διεργασίες, ως κύρια ή συμπληρωματική πηγή άνθρακα στο θρεπτικό μέσο των καλλιεργειών μεγάλης κλίμακας χρησιμοποιούνται κατάλοιπα άλλων βιομηχανιών. Τέτοιου είδους κατάλοιπα είναι το *αμυλοσιρόπι αραβοσίτου* (προϊόν της βιομηχανίας υγρής άλεσης του καλαμποκιού, πλούσιο σε άζωτο και αυξητικούς παράγοντες), το *τυρόγαλο* (υγρό κατάλοιπο της γαλακτοκομίας, που περιέχει λακτόζη και ιχνοστοιχεία) και άλλα βιομηχανικά απόβλητα με μεγάλη περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα. Επιπλέον, ο βιομηχανικός μικροοργανισμός δεν πρέπει να είναι παθογόνος, ιδιαίτερα για τον άνθρωπο, αλλά και για ζώα ή φυτά οικονομικής σημασίας. Αυτό συμβαίνει διότι τα μεγέθη των μικροβιακών πληθυσμών σε έναν βιομηχανικό ζυμωτήρα είναι τεράστια, οπότε είναι πρακτικά αδύνατον να αποφευχθεί κάποια μόλυνση του περιβάλλοντος γύρω από τον ζυμωτήρα. Συνεπώς, η χρήση κάποιου παθογόνου θα μπορούσε να δημιουργήσει τεράστια προβλήματα. Τέλος, ο βιομηχανικός μικροοργανισμός πρέπει να είναι γενετικά χειραγωγήσιμος. Σε πολλές περιπτώσεις, οι υψηλές αποδόσεις επιτεύχθηκαν στη βιομηχανική μικροβιολογία με γενετικές μεθόδους, μέσω μετάλλαξης και επιλογής. Επομένως, το να έχουμε στη διάθεσή μας έναν σταθερό και γενετικά εύκολα χειραγωγήσιμο οργανισμό αποτελεί σαφώς πλεονέκτημα.

### Παραδείγματα Βιομηχανικών προϊόντων

Υπάρχουν διάφοροι σημαντικοί τύποι μικροβιακών προϊόντων βιομηχανικού ενδιαφέροντος (Εικόνα 30.1). Σε αυτούς ανήκουν τόσο μικροβιακά κύτταρα καθαυτά, όπως π.χ. ο ζυ-



**Εικόνα 30.1** Προϊόντα βιομηχανικής μικροβιολογίας/βιοκατάλυσης. Τα προϊόντα μπορεί να είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα είτε προϊόντα κυτταρικής προέλευσης. Στη βιομετατροπή, τα κύτταρα χρησιμοποιούνται για τη χημική μετατροπή δεδομένης ουσίας από μία μορφή της σε μια άλλη.

μομύκτηας που καλλιεργείται για να χρησιμοποιηθεί στα τρόφιμα, στην αρτοποιία ή τη ζυθοποιία (βλ. εικόνα 30.20), όσο και ουσίες που παράγονται από κύτταρα. Παραδείγματα τέτοιων ουσιών αποτελούν ένζυμα όπως η ισομεράση της γλυκόζης, αντιδραστήρια με φαρμακευτική δραστηριότητα όπως αντιβιοτικά, στεροειδή και αλκαλοειδή, ειδικές χημικές ενώσεις και πρόσθετα τροφίμων, όπως η ασπαρτάμη, μια «δημοφιλής» στις μέρες μας γλυκαντική ουσία για τρόφιμα και ποτά, καθώς και χημικές ενώσεις του εμπορίου, όπως η αιθανόλη. Στην εικόνα 30.1 βλέπουμε μια σύνοψη κάποιων σημαντικών βιομηχανικών προϊόντων, πολλά από τα οποία θα εξετασθούν λεπτομερέστερα στη συνέχεια.

### ✓ 30.1 Έλεγχος εννοιών

Ο βιομηχανικός μικροοργανισμός οφείλει να είναι ικανός να παράγει τα επιθυμητά προϊόντα με υψηλή απόδοση, να αυξάνεται ταχύτητα σε χαμηλού κόστους θρεπτικό μέσο διαθέσιμο σε μεγάλες ποσότητες, να επιδέχεται γενετική χειραγώγηση και να μην είναι παθογόνος, εφόσον κάτι τέτοιο είναι δυνατόν. Τα βιομηχανικά προϊόντα είναι πολλά και ποικίλα και περιλαμβάνουν τόσο άθικτα κύτταρα όσο και ουσίες κυτταρικής προέλευσης.

- ✓ Γιατί πρέπει οι μικροοργανισμοί βιομηχανικού ενδιαφέροντος να επιδέχονται γενετική χειραγώγηση;
- ✓ Αναφέρετε τρία σημαντικά προϊόντα βιομηχανικής βιοκατάλυσης.

## 30.2

### Αύξηση και παραγωγή προϊόντων στη βιοκατάλυση

Στο Τμήμα 6.1 εξετάσαμε τη διαδικασία της μικροβιακής αύξησης και περιγράψαμε τις διάφορες φάσεις της: *υστέρησης*, *εκθετικής αύξησης* και *στάσιμη*. Εδώ θα προσεγγίσουμε τη μικροβιακή αύξηση και την παραγωγή προϊόντος στο πλαίσιο της βιομηχανικής παραγωγής και θα θέσουμε το ερώτημα: «Σε ποια αυξητική φάση παράγεται ο βιομηχανικά αξιοποιήσιμος μεταβολίτης;»

#### Πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολίτες

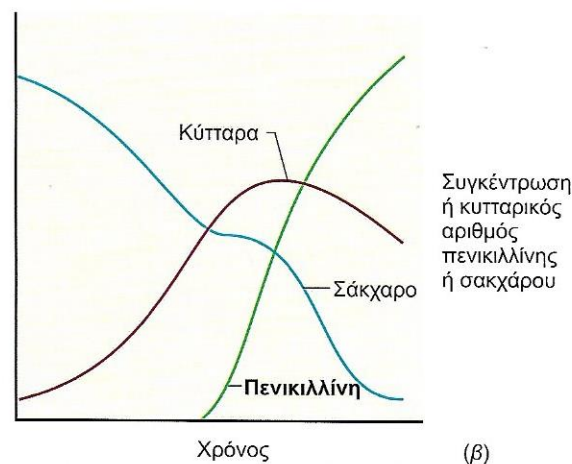
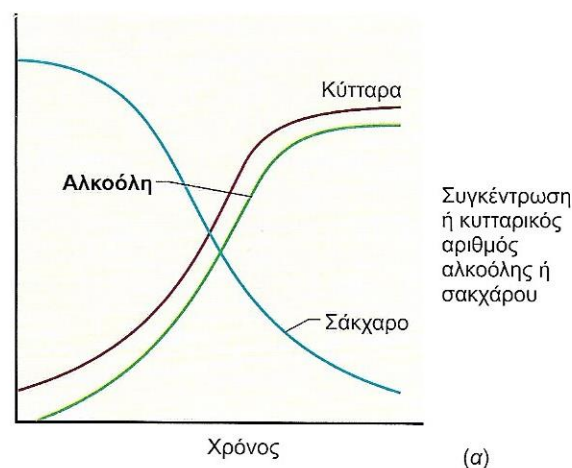
Υπάρχουν δύο κύρια είδη μικροβιακών μεταβολιτών: οι πρωτογενείς και οι δευτερογενείς. *Πρωτογενείς* είναι οι μεταβολίτες που συντίθενται κατά τη διάρκεια της αυξητικής φάσης του μικροοργανισμού, ενώ *δευτερογενείς* είναι οι μεταβολίτες που συντίθενται προς το τέλος της αυξητικής φάσης, συνήθως όταν πλησιάζει ή έχει αρχίσει η στάσιμη φάση. Οι διαφορές ανάμεσα σε έναν πρωτογενή και έναν δευτερογενή μεταβολίτη παρουσιάζονται στην Εικόνα 30.2.

Τυπική μικροβιακή διαδικασία παραγωγής στην οποία το προϊόν συντίθεται κατά την πρωτογενή αυξητική φάση είναι η *αλκοολική (αιθανολική) ζύμωση*\*: Η αιθανόλη είναι προϊόν αναερόβιας ζύμωσης του ζυμομύκητα και συ-

γκεκριμένων βακτηρίων (🦠 Τμήμα 5.10) και συντίθεται στο πλαίσιο του ενεργειακού μεταβολισμού. Επειδή αύξηση μπορεί να λάβει χώρα μόνον όταν παράγεται ενέργεια, η παραγωγή αιθανόλης συντελείται παράλληλα με την αύξηση (Εικόνα 30.2α).

Αντίθετα με την παραγωγή αιθανόλης μέσω του ζυμομύκητα, σε ορισμένες βιοκαταλυτικές διεργασίες το επιθυμητό προϊόν δεν παράγεται κατά τη διάρκεια της ενεργούς αυξητικής φάσης, αλλά κατά την διάρκεια της *στάσιμης* φάσης. Οι μεταβολίτες που παράγονται κατά τη στάσιμη φά-

\* Στη βιομηχανική μικροβιολογία, ο όρος ζύμωση αναφέρεται σε κάθε είδους μικροβιακές διεργασίες μεγάλης κλίμακας, ανεξαρτήτως του εάν η ζύμωση αυτή είναι βιοχημική ή όχι. Στην πραγματικότητα, οι περισσότερες βιομηχανικές ζυμώσεις είναι αερόβιες. Η *δεξαμενή* όπου εκτελείται η βιομηχανική ζύμωση ονομάζεται *ζυμοτήρας* και ο μικροοργανισμός που συμμετέχει σ' αυτήν ονομάζεται *ζυμοτής*.



**Εικόνα 30.2** Διαφορές στην παραγωγή πρωτογενών και δευτερογενών μεταβολιτών. (α) Σύνθεση αλκοόλης από ζυμομύκητα – παράδειγμα *πρωτογενούς* μεταβολίτη. (β) Παραγωγή πενικιλίνης από τη μούχλα *Penicillium chrysogenum* – παράδειγμα *δευτερογενούς* μεταβολίτη. Προσέξτε ότι πριν το μέσο της εκθετικής φάσης δεν παράγεται πενικιλίνη (🦠 Εικόνα 6.8).

ση ονομάζονται **δευτερογενείς μεταβολίτες**: ορισμένοι από αυτούς είναι από τους πιο συνηθισμένους και σημαντικούς μεταβολίτες βιομηχανικού ενδιαφέροντος (Εικόνα 30.2β). Όσον αφορά τους δευτερογενείς μεταβολίτες, έχουν αναγνωριστεί τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

1. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες δεν έχουν ζωτική σημασία ούτε για την αύξηση ούτε για την αναπαραγωγή.
2. Η σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών εξαρτάται απόλυτα από τις συνθήκες της αύξησης, ιδιαίτερα από τη σύσταση του θρεπτικού μέσου. Η καταστολή της σύνθεσης δευτερογενών μεταβολιτών είναι συχνό φαινόμενο.
3. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες συντίθενται συχνά ως μέλη μιας ομάδας στενά συγγενικών δομών. Επί παραδείγματι, ένα και μόνο στέλεχος κάποιου είδους *Streptomyces* διαπιστώθηκε ότι παράγει τουλάχιστον 30 συγγενείς αλλά διακριτές ανθρακυκλικές αντιβιοτικές ουσίες.
4. Μπορούμε συχνά να επιτύχουμε δραστικά *αυξημένη παραγωγή* δευτερογενών μεταβολιτών, ενώ η παραγωγή πρωτογενών μεταβολιτών, όντας συνδεδεμένη με τον πρωτογενή μεταβολισμό, είναι αδύνατον να αυξηθεί τόσο θεαματικά (Εικόνα 30.2).

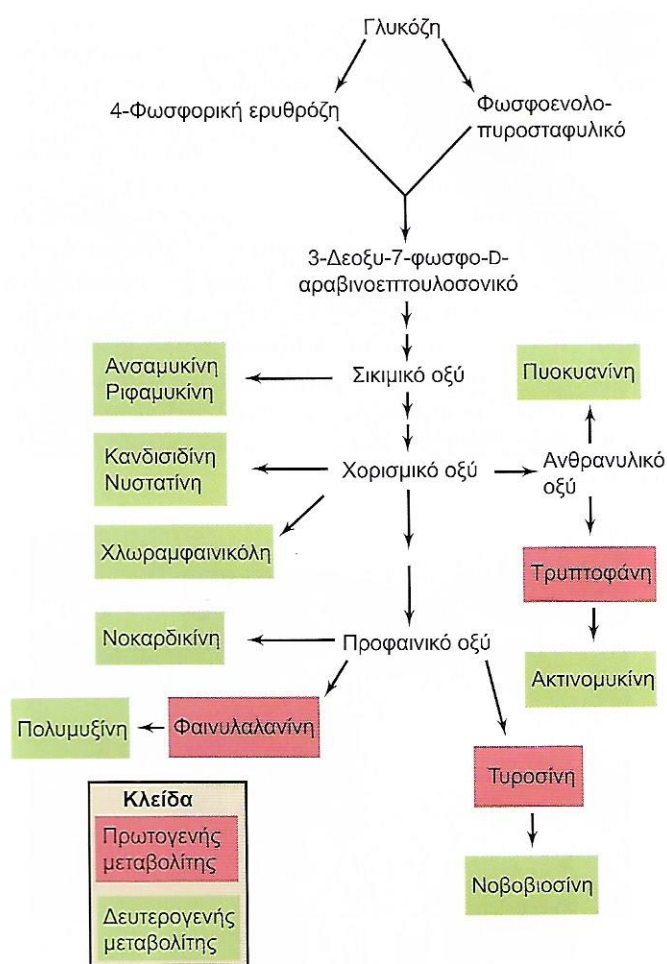
### Σχέση μεταξύ πρωτογενούς και δευτερογενούς μεταβολισμού

Οι περισσότεροι δευτερογενείς μεταβολίτες είναι περίπλοκα οργανικά μόρια, που για τη σύνθεσή τους χρειάζονται μεγάλο αριθμό ειδικών ενζυμικών αντιδράσεων. Για παράδειγμα, γνωρίζουμε ότι στη σύνθεση του αντιβιοτικού *τετρακυκλίνη* εμπλέκονται τουλάχιστον 72 διαφορετικές ενζυμικές αντιδράσεις (βλ. Τμήμα 30.6), ενώ για τη σύνθεση της *ερυθρομυκίνης* απαιτούνται τουλάχιστον 25 αντιδράσεις, από τις οποίες καμιά δεν εκτελείται στη διάρκεια του πρωτογενούς μεταβολισμού. Εν τούτοις, οι μεταβολικές οδοί αυτών των δευτερογενών μεταβολιτών προκύπτουν από τον πρωτογενή μεταβολισμό, επειδή τα αρχικά υλικά του δευτερογενούς μεταβολισμού προέρχονται από τις μείζονες βιοσυνθετικές οδούς. Η κατάσταση αυτή περιγράφεται συνοπτικά στην Εικόνα 30.3, όπου φαίνεται η διασύνδεση της κύριας πρωτογενούς μεταβολικής οδού βιοσύνθεσης αρωματικών αμινοξέων με τις δευτερογενείς μεταβολικές οδούς πολλών αντιβιοτικών. Όπως βλέπουμε, πολλοί δομικά περίπλοκοι δευτερογενείς μεταβολίτες προέρχονται από δομικώς συγγενή πρόδρομα μόρια (Εικόνα 30.3).

#### ✓ 30.2 Έλεγχος εννοιών

Οι πρωτογενείς και οι δευτερογενείς μεταβολίτες παράγονται κατά τη διάρκεια της ενεργού αύξησης του κυττάρου και κοντά στην έναρξη της στάσιμης φάσης, αντίστοιχα. Πολλά μικροβιακά προϊόντα οικονομικού ενδιαφέροντος είναι δευτερογενείς μεταβολίτες.

- ✓ Η πενικιλίνη είναι *πρωτογενής* ή *δευτερογενής* μεταβολίτης, και γιατί;



**Εικόνα 30.3** Η σχέση της πρωτογενούς μεταβολικής οδού βιοσύνθεσης αρωματικών αμινοξέων (Τμήμα 5.15) και η σύνθεση μιας ποικιλίας αντιβιοτικών που είναι δευτερογενείς μεταβολίτες με αρωματικούς δακτυλίους. Πρόκειται για έναν σύνθετο μηχανισμό διεργασιών που απαντά σε μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών: Κανένας μικροοργανισμός δεν παράγει όλους αυτούς τους δευτερογενείς μεταβολίτες, ενώ μεταξύ αμινοξέος και αντιβιοτικού παρεμβάλλονται πάντοτε πολλά αυτοτελή στάδια.

- ✓ Ποιος τύπος μεταβολίτη μπορεί να παραχθεί ευκολότερα σε δραστικά αυξημένες ποσότητες, ο πρωτογενής ή ο δευτερογενής, και γιατί;

### 30.3

#### Χαρακτηριστικά των ζυμώσεων μαζικής κλίμακας

Το δοχείο όπου λαμβάνει χώρα μια βιομηχανική διεργασία ονομάζεται *ζυμωτήρας*. Οι ζυμωτήρες ποικίλλουν ως προς το μέγεθος: υπάρχουν μικροί, εργαστηριακής κλίμακας, με όγκο από 5 έως 10 λίτρα (Εικόνα 30.4α), αλλά και γιγαντιαίοι, βιομηχανικής κλίμακας που φθάνουν τις 500.000 λίτρα. Το μέγεθος του χρησιμοποιούμενου ζυμωτήρα εξαρτάται



από τη συγκεκριμένη διεργασία και τον τρόπο λειτουργίας του. Στον Πίνακα 30.1 παρουσιάζονται συνοπτικά τα μεγέθη των ζυμωτήρων που χρησιμοποιούνται σε ορισμένες κοινές μικροβιακές ζυμώσεις.

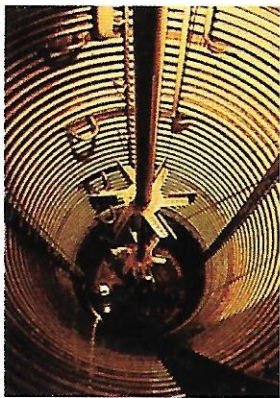
Οι βιομηχανικοί ζυμωτήρες υποδιαιρούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: εκείνους που χρησιμεύουν σε *αναερόβιες* διεργασίες και εκείνους που χρησιμεύουν σε *αερόβιες* διεργασίες. Οι αναερόβιοι ζυμωτήρες χρειάζονται ελάχιστο ειδικό εξοπλισμό, πέραν του αναγκαίου για την απαγωγή της θερμότητας που δημιουργείται κατά τη ζύμωση. Οι αερόβιοι ζυμωτήρες, αντίθετα, απαιτούν πιο περίπλοκο εξοπλισμό, που διασφαλίζει επαρκή ανάμειξη και αερισμό των υλικών. Επειδή οι περισσότερες βιομηχανικές ζυμώσεις είναι αερόβιες, εδώ θα ασχοληθούμε μόνο με τους ζυμωτήρες αυτούς.

### Κατασκευή ενός αερόβιου ζυμωτήρα

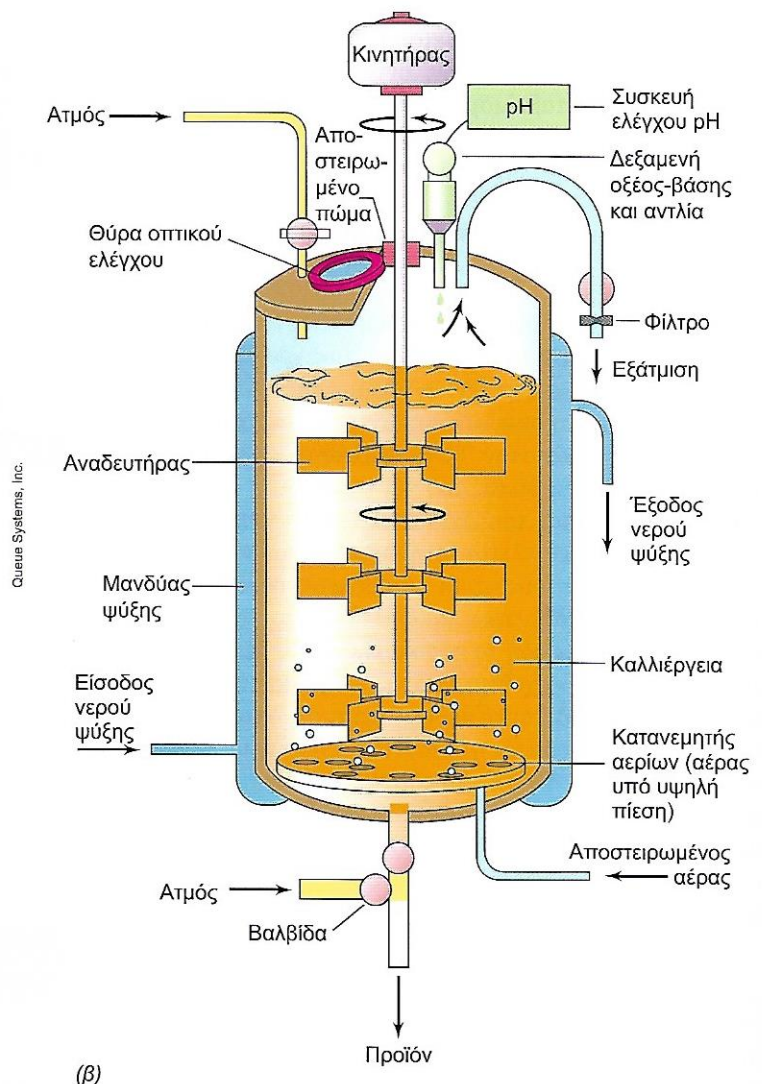
Οι βιομηχανικοί ζυμωτήρες μεγάλης κλίμακας κατασκευάζονται σχεδόν πάντοτε από ανοξείδωτο χάλυβα. Ένας τέτοιος ζυμωτήρας είναι ουσιαστικά ένας μεγάλος κύλινδρος, με φραγμένη βάση και οροφή, στον οποίο έχουν προσαρμοστεί διάφοροι σωλήνες και βαλβίδες (Εικόνα 30.4β). Επειδή για την επιτυχή λειτουργία του είναι απαραίτητη η αποστείρωση του θρεπτικού μέσου και η απαγωγή της θερμότητας, οι ζυμωτήρες συνήθως περιβάλλονται εξωτερικά από έναν *μανδύα ψύξης*, μέσω του οποίου απομακρύνονται υδατμοί ή νερό ψύξης. Σε πολύ μεγάλους ζυμωτήρες, η μεταφορά θερμότητας μέσω του μανδύα δεν επαρκεί, οπότε πρέπει να τοποθετούνται *εσωτερικές σπείρες*, απ' όπου διοχετεύονται υδατμοί ή νερό ψύξης.



(α)



(γ)



(β)

**Εικόνα 30.4** Ζυμωτήρες. (α) Μικρός ερευνητικός ζυμωτήρας, με όγκο 5 λίτρα. (β) Σχηματικό διάγραμμα ζυμωτήρα. Φαίνεται η διάταξή του και οι συσκευές για τον έλεγχο του αερισμού και της όλης διεργασίας. (γ) Το εσωτερικό ενός βιομηχανικού ζυμωτήρα. Διακρίνονται ο αναδευτήρας και οι σπείρες θέρμανσης και ψύξης. Σε μια τυπική βιομηχανική ζύμωση, ο αερισμός και η ψύξη αποτελούν τις σημαντικότερες διεργασίες που πρέπει να ελέγχονται και να ρυθμίζονται σε πραγματικό χρόνο. Τα επίπεδα των θρεπτικών συστατικών και το pH επίσης ελέγχονται και ρυθμίζονται τακτικά, όταν κρίνεται απαραίτητο.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 30.1** Μεγέθη ζυμωτήρων για διάφορες βιομηχανικές διεργασίες

Μέγεθος ζυμωτήρα (λίτρα)	Προϊόν
1 – 20.000	Διαγνωστικά ένζυμα, αντιδραστήρια μοριακής βιολογίας
40 – 80.000	Ορισμένα ένζυμα, αντιβιοτικά
100 – 150.000	Πενικιλίνη, αμινογλυκοζιδικά αντιβιοτικά, πρωτεάσες, αμυλάσες, μετασχηματισμοί στεροειδών, αμινοξέα, κρασί, μπίρα
200.000 – 500.000	Αμινοξέα (γλουταμικό οξύ), κρασί, μπίρα

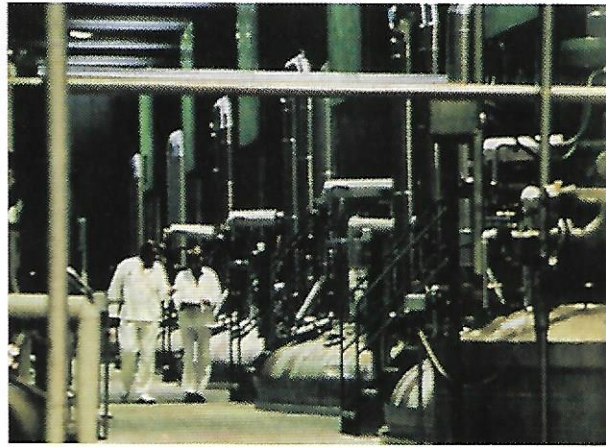
Αποφασιστική σημασία για τον ζυμωτήρα έχει το *σύστημα αερισμού*. Στις συσκευές μεγάλης κλίμακας παίζει καθοριστικό ρόλο η μετάβαση του οξυγόνου από την αέρια στην υγρή φάση και για τον λόγο αυτό πρέπει να λαμβάνονται όλα τα απαραίτητα μέτρα για την επίτευξη του κατάλληλου αερισμού. Το οξυγόνο διαλύεται ελάχιστα στο νερό και, σε έναν ζυμωτήρα με μεγάλη πυκνότητα μικροβιακού πληθυσμού, η καλλιέργεια χρειάζεται τεράστιες ποσότητες οξυγόνου. Για τη διασφάλιση επαρκούς αερισμού χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικές εγκαταστάσεις: μια συσκευή αερισμού, που ονομάζεται *κατανεμητής αερίων* (ή απλά *κατανεμητής*), και μια συσκευή ανάδευσης, που ονομάζεται *αναδευτήρας* (Εικόνα 30.4β). Ο κατανεμητής είναι μια συσκευή, συνήθως ένας δακτύλιος ή ένα ακροφύσιο που φέρει πολλαπλές οπές, μέσω της οποίας διοχετεύεται στον ζυμωτήρα αέρας υπό πίεση που έχει αποστειρωθεί με τη χρήση ηθμών. Ο αέρας εισέρχεται στον ζυμωτήρα υπό τη μορφή αλληλουχίας μικροσκοπικών φυσαλλίδων, απ' όπου το οξυγόνο περνάει με διάχυση στο υγρό.

Στους μικρούς ζυμωτήρες, η χρήση μόνο κατανεμητή είναι συχνά επαρκής για την επίτευξη ικανού αερισμού, αλλά στους βιομηχανικούς ζυμωτήρες η *ανάδευση* με αναδευτήρα έχει ουσιαστική σημασία (Εικόνα 30.4γ). Με την ανάδευση επιτυγχάνονται αφ' ενός η ανάμειξη των φυσαλλίδων του αέρα με το υγρό και αφ' ετέρου η ανάμειξη του οργανισμού με το υγρό, οπότε διασφαλίζεται η ομοιόμορφη πρόσβαση των μικροβιακών κυττάρων στα θρεπτικά συστατικά.

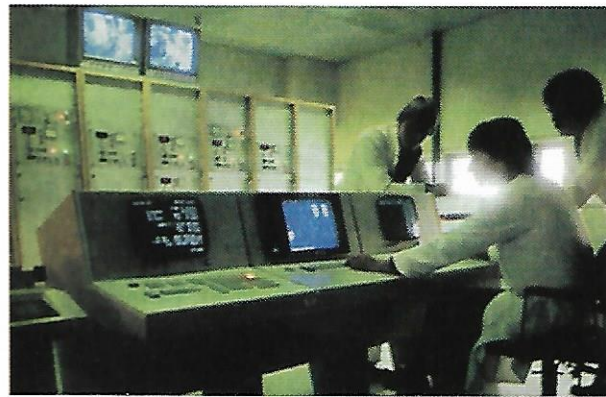
Στην Εικόνα 30.5 βλέπουμε έναν τυπικό ζυμωτήρα μεγάλης κλίμακας.

### Έλεγχος και παρακολούθηση των ζυμώσεων

Όλες οι μικροβιακές ζυμώσεις πρέπει να βρίσκονται υπό συνεχή παρακολούθηση, ώστε να διασφαλίζεται η ορθή πρόοδος της διεργασίας, αλλά και επειδή η λειτουργία των βιομηχανικών ζυμωτήρων συνεπάγεται μεγάλο οικονομικό κόστος. Στις περισσότερες περιπτώσεις είναι απαραίτητο όχι μόνο να μετράται η αύξηση του μικροοργανισμού και η σύνθεση του προϊόντος, αλλά και να *ελέγχεται* η εξέλιξη της διεργασίας με τη ρυθμιστική μεταβολή περιβαλλοντικών παραγόντων. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που ελέγχονται είναι συνήθως



(α)



(β)

**Εικόνα 30.5** (α) Μεγάλη μονάδα βιομηχανικής ζύμωσης. Διακρίνονται μόνον οι κορυφές των ζυμωτήρων, που μπορεί να έχουν ύψος αρκετών ορόφων. (β) Χώρος ηλεκτρονικού ελέγχου της παραγωγικής διαδικασίας σε μεγάλο εργοστάσιο ζύμωσης.

η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του οξυγόνου, το pH, η κυτταρική μάζα και η συγκέντρωση του προϊόντος.

Για να διεξαχθεί σωστά μια ζύμωση μεγάλης κλίμακας, έχει ζωτική σημασία να παρακολουθούνται σε πραγματικό χρόνο τα δεδομένα των διαδικασιών αύξησης του μικροοργανισμού και σύνθεσης του προϊόντος. Επί παραδείγματι, μπορεί κατά την εξέλιξη μιας ζύμωσης να είναι σκόπιμη η μεταβολή κάποιας περιβαλλοντικής παραμέτρου ή η προσθήκη ενός θρεπτικού συστατικού με ρυθμό που διατηρεί την αύξηση σταθερή. Οι ηλεκτρονικοί υπολογιστές επεξεργάζονται σε πραγματικό χρόνο τέτοιου είδους δεδομένα και αντιδρούν κατάλληλα, ρυθμίζοντας τη ροή θρεπτικών συστατικών, ώστε να αποτραπεί το ενδεχόμενο απόκλισης από την επιθυμητή συνθετική οδό και παραγωγής ανεπιθύμητων προϊόντων.

Οι ηλεκτρονικοί υπολογιστές χρησιμοποιούνται επίσης για την *τυποποίηση* της ζυμωτικής διαδικασίας. Με διάφορα μαθηματικά μοντέλα ελέγχεται γρήγορα και διαδραστικά η επίδραση ποικίλων παραμέτρων στην αύξηση και την από-

δοση και κατόπιν αυτές οι παράμετροι τροποποιούνται για να διαπιστωθεί πώς επηρεάζει η καθεμιά την όλη διαδικασία. Με τον τρόπο αυτό, πολλές παραλλαγές της ζύμωσης μπορούν να μελετηθούν ανέξοδα σε μια οθόνη, αντί να διερευνηθούν πιλοτικά—με υψηλό κόστος—σε εργοστασιακό επίπεδο ή σε κάποια βιομηχανική εγκατάσταση (βλ. παρακάτω).

### ✓ 30.3 Έλεγχος εννοιών

Οι βιομηχανικοί ζυμοτήρες μεγάλης κλίμακας εμφανίζουν διάφορα μηχανολογικά προβλήματα. Οι αερόβιες διεργασίες καθιστούν απαραίτητη την εγκατάσταση μηχανισμών ανάδευσης και αερισμού. Η μικροβιακή διεργασία πρέπει να παρακολουθείται συνεχώς, ώστε να διασφαλίζεται η παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος με ικανοποιητική απόδοση.

- ✓ Τι είδους συσκευές χρησιμοποιούνται για τη διασφάλιση του σωστού αερισμού σε έναν μεγάλο ζυμοτήρα;
- ✓ Ποιες παράμετροι μιας βιομηχανικής ζύμωσης πρέπει να παρακολουθούνται και τι είδους ρυθμίσεις χρειάζεται να γίνονται σε πραγματικό χρόνο με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή;

## 30.4 Μεγέθυνση της κλίμακας μιας ζύμωσης

Μία από τις σημαντικότερες πλευρές της βιομηχανικής μικροβιολογίας είναι η προσαρμογή μιας διεργασίας από τον εργαστηριακό εξοπλισμό μικρής κλίμακας στον βιομηχανικό εξοπλισμό μεγάλης κλίμακας, διαδικασία που ονομάζεται

**μεγέθυνση κλίμακας.** Η κατανόηση των προβλημάτων της μεγέθυνσης κλίμακας είναι εξαιρετικά σημαντική, διότι οι βιοκαταλυτικές διεργασίες σπανίως συμπεριφέρονται με τον ίδιο τρόπο σε μεγάλης κλίμακας ζυμοτήρες και σε μικρής κλίμακας εργαστηριακό εξοπλισμό (Εικόνα 30.6).

Σε τι οφείλεται η διαφοροποίηση μιας μικροβιολογικής διεργασίας μεταξύ μικρής και μεγάλης κλίμακας; Κατ' αρχάς, η ανάδευση και ο αερισμός επιτυγχάνονται πολύ ευκολότερα σε μια μικρή εργαστηριακή φιάλη απ' ό,τι σε έναν μεγάλο βιομηχανικό ζυμοτήρα. Η μεταφορά οξυγόνου, ιδιαίτερα, επιτυγχάνεται πολύ δυσκολότερα σε έναν μεγάλο ζυμοτήρα και, επειδή οι περισσότερες βιομηχανικές ζυμώσεις είναι αερόβιες, η αποτελεσματική μεταφορά του οξυγόνου είναι ζωτική. Στις βιομηχανικές διεργασίες χρησιμοποιούνται μέσα καλλιέργειας πλούσια σε θρεπτικά συστατικά, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη μεγάλης ποσότητας βιομάζας, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένες απαιτήσεις σε οξυγόνο. Αν η παροχή αέρα μειωθεί, έστω και πρόσκαιρα, μπορεί να επικρατήσουν στην καλλιέργεια παροδικά συνθήκες ανοξίας, με πολύ σοβαρές επιπτώσεις όσον αφορά την απόδοση σε προϊόν. Η μεγέθυνση της κλίμακας μιας βιομηχανικής διεργασίας αποτελεί ευθύνη του *βιοχημικού μηχανικού*, επιστήμονα ειδικευμένου στην ανάλυση της μεταφοράς αερίων, την υδροδυναμική, την ανάδευση και τη θερμοδυναμική.

### Η διαδικασία μεγέθυνσης της κλίμακας

Η μεταφορά μιας βιομηχανικής διεργασίας από τον εργαστηριακό στον βιομηχανικό ζυμοτήρα περιλαμβάνει πολ-



(α)

**Εικόνα 30.6** (α) Ομάδα μικρών ερευνητικών ζυμοτήρων που χρησιμοποιούνται κατά την ανάπτυξη μιας ζυμωτικής διεργασίας. Πρόκειται για γυάλινα δοχεία με σκέπασμα από ανοξείδωτο χάλυβα. Τα μικρά πλαστικά δοχεία χρησιμεύουν για τη συλλογή των υγρών υπερχειλίσης. (β) Ομάδα υπαίθριων ζυμοτήρων βιομηχανικής κλίμακας (240 m<sup>3</sup>), στην Ιαπωνία, για την εμπορική παραγωγή αλκοόλης. Λόγω της τεράστιας διαφοράς μεγέθους, η ίδια μικροβιακή ζύμωση πιθανότατα θα λειτουργούσε εδώ πολύ διαφορετικά.



(β)

λά ενδιάμεσα στάδια. (1) Εκτελούνται πειράματα στην εργαστηριακή φιάλη, τα οποία παρέχουν τις πρώτες ενδείξεις ότι μια διεργασία είναι κατ' αρχήν εμπορικά εκμεταλλεύσιμη. (2) Στον εργαστηριακό ζυμωτήρα, συνήθως γυάλινο και μεγέθους 1-10 λίτρων, υλοποιούνται οι πρώτες προσπάθειες μεγέθυνσης της κλίμακας (Εικόνες 30.4α και 30.6α). Στον εργαστηριακό ζυμωτήρα είναι δυνατή η ανέξοδη δοκιμή διαφόρων μεταβολών στο θρεπτικό μέσο, στη θερμοκρασία, στο pH κ.λπ., διότι στο επίπεδο αυτό το κόστος του εξοπλισμού ή του θρεπτικού μέσου είναι πολύ μικρό. (3) Εφόσον οι δοκιμές στον εργαστηριακό ζυμωτήρα στεφθούν με επιτυχία, η διεργασία μεταφέρεται σε πιλοτικό εργοστασιακό επίπεδο, όπου οι ζυμώσεις εκτελούνται συνήθως σε δεξαμενές μεγέθους 300-3.000 λίτρων. Αν και στο επίπεδο αυτό οι συνθήκες προσεγγίζουν ουσιαστικά εκείνες της εμπορικής κλίμακας, εν τούτοις το κόστος δεν συνιστά ακόμη σημαντικό παράγοντα. (4) Τελικά, η διαδικασία μεταφέρεται στον βιομηχανικό ζυμωτήρα, ο οποίος έχει γενικά μέγεθος 10.000-500.000 λίτρα (Εικόνες 30.5α και 30.6β). Σε όλα τα στάδια που αναφέρθηκαν, ο αερισμός παρακολουθείται στενά. Σε κάθε στάδιο της διαδικασίας μεγέθυνσης της κλίμακας από την εργαστηριακή φιάλη στον βιομηχανικό ζυμωτήρα, η δυναμική των μεταβολών του οξυγόνου μετράται προσεκτικά, ώστε να καθοριστεί με ακρίβεια πώς η αύξηση του όγκου επηρεάζει τις ανάγκες της ζύμωσης σε οξυγόνο.

Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι η μεγέθυνση της κλίμακας μιας βιοκαταλυτικής διεργασίας ενδέχεται να αποδειχθεί εξαιρετικά περίπλοκη και προϋποθέτει το να γνωρίζουμε όχι μόνο τη βιολογία του χρησιμοποιούμενου μικροοργανισμού, αλλά και τις φυσικές αρχές που διέπουν τον σχεδιασμό και τη λειτουργία του ζυμωτήρα.

### ✓ 30.4 Έλεγχος εννοιών

Μεγέθυνση κλίμακας είναι η διαδικασία της βαθμιαίας προσαρμογής μιας ζύμωσης βιομηχανικού ενδιαφέροντος από το επίπεδο του εργαστηρίου στο επίπεδο της παραγωγής. Ο αερισμός συνιστά έναν καθοριστικό παράγοντα που η παρακολούθησή του είναι απαραίτητη καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας αυτής.

- ✓ Τι διαφορές μεγέθους υπάρχουν ανάμεσα σε έναν τυπικό εργαστηριακό ζυμωτήρα, έναν πιλοτικό εργοστασιακό ζυμωτήρα και έναν βιομηχανικό ζυμωτήρα;

## II ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Θα εξετάσουμε τώρα τη βιομηχανική παραγωγή μικροβιακών προϊόντων, αρχίζοντας από τα αντιβιοτικά. Η παραγωγή αντιβιοτικών είναι μια τεράστια βιομηχανική δραστηριότητα, σε παγκόσμιο επίπεδο, στο πλαίσιο της οποίας αναπτύχθηκαν για πρώτη φορά πολλές σημαντικές αρχές της καλλιέργειας μικροβίων σε μεγάλη κλίμακα.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 30.2** Ορισμένα αντιβιοτικά εμπορικής σημασίας

Αντιβιοτικό	Μικροοργανισμός που το παράγει <sup>a</sup>
Βακτρακίνη	<i>Bacillus licheniformis</i> (EB)
Γρισοφουλβίνη	<i>Penicillium griseofulvin</i> (M)
Ερυθρομικίνη	<i>Streptomyces erythreus</i> (A)
Καναμικίνη	<i>Streptomyces kanamyceticus</i> (A)
Κεφαλοσπορίνη	<i>Cephalosporium</i> sp. (M)
Κυκλοεξιμίδιο	<i>Streptomyces griseus</i> (A)
Κυκλοσερίνη	<i>Streptomyces orchidaceus</i> (A)
Λιγομικίνη	<i>Streptomyces lincolnensis</i> (A)
Νεομικίνη	<i>Streptomyces fradiae</i> (A)
Νυστατίνη	<i>Streptomyces noursei</i> (A)
Πενικιλίνη	<i>Penicillium chrysogenum</i> (M)
Πολυμυξίνη Β	<i>Bacillus polymyxa</i> (EB)
Στρεπτομικίνη	<i>Streptomyces griseus</i> (A)
Τετρακυκλίνη	<i>Streptomyces rimosus</i> (A)
Χλωραμφαινικόλη	Συντίθεται χημικά [παλιά παράγονταν από τον <i>Streptomyces venezuelae</i> (A)]

<sup>a</sup> EB, ενδοσποριογόνικο βακτήριο· M, μύκητας· A, ακτινομύκητας.

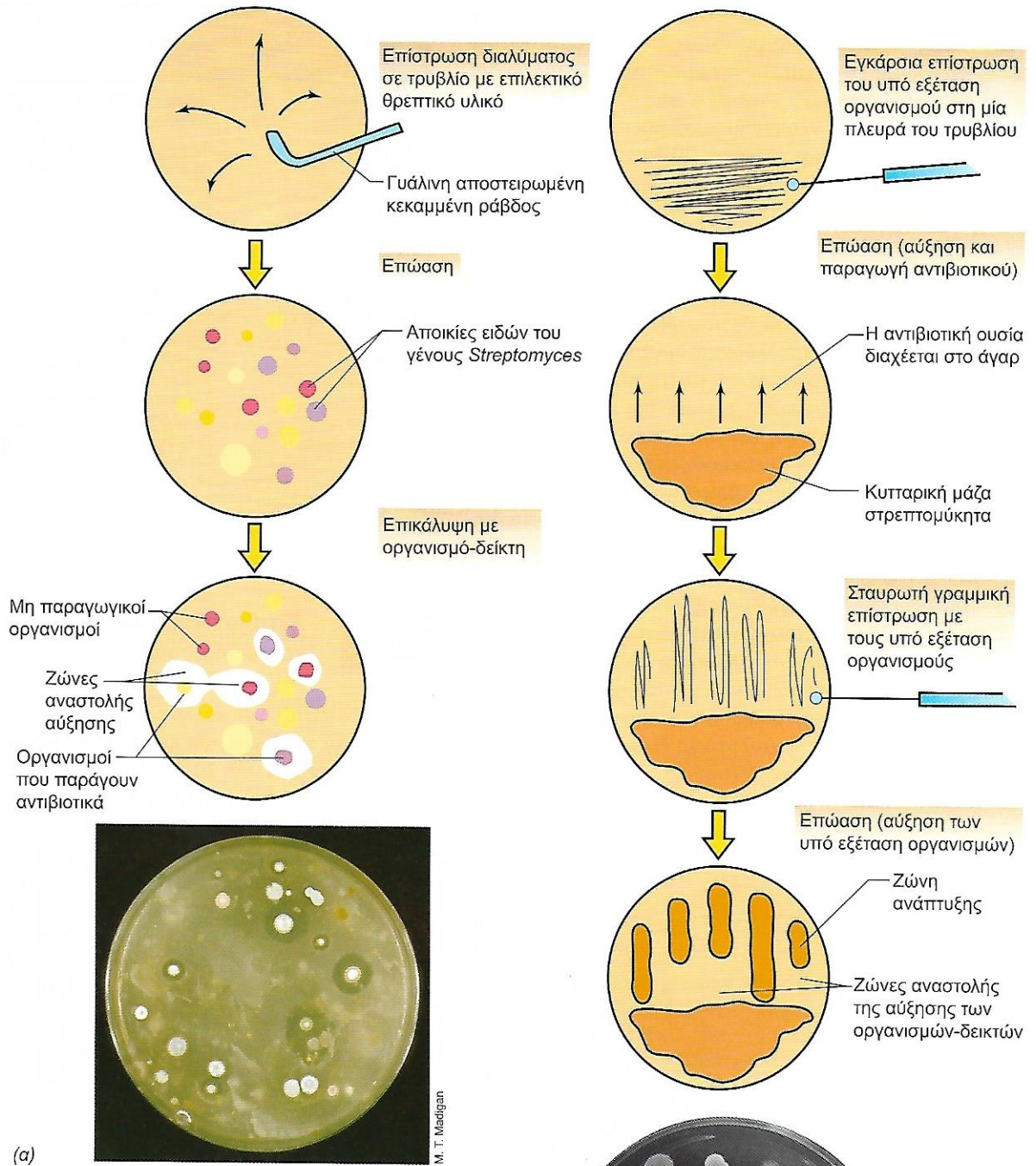
### 30.5

#### Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

Τα αντιβιοτικά είναι μάλλον τα σημαντικότερα από όλα τα μικροβιακά προϊόντα που παράγονται εμπορικά. Όπως εξετάσαμε στο Κεφάλαιο 20, τα αντιβιοτικά είναι χημικές ουσίες παραγόμενες από μικροοργανισμούς, οι οποίες φονεύουν άλλους μικροοργανισμούς ή αναστέλλουν την αύξησή τους. Η ανάπτυξη των αντιβιοτικών ως αντιδραστηρίων για τη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών πιθανότατα έφερε στην ιατρική μεγαλύτερες αλλαγές από οποιαδήποτε άλλη εξέλιξη ιατρικής σημασίας. Τα αντιβιοτικά είναι τυπικοί δευτερογενείς μεταβολίτες (βλ. Τμήμα 30.2). Τα αντιβιοτικά εμπορικής σημασίας παράγονται κατά κύριο λόγο από νηματοειδείς μύκητες και από βακτήρια της ομάδας των αντινομυκήτων (Τμήμα 12.24). Ο Πίνακας 30.2 περιλαμβάνει κατάλογο των σπουδαιότερων αντιβιοτικών που παράγονται με βιομηχανική ζύμωση μεγάλης κλίμακας.

#### Έρευνα για νέα αντιβιοτικά

Αν και σήμερα οι φαρμακευτικές εταιρείες χρησιμοποιούν υπολογιστικά μοντέλα για την ανακάλυψη φαρμάκων (Τμήμα 20.13), παραδοσιακός τρόπος εντοπισμού νέων αντιβιοτικών ουσιών είναι η *διαλογή*. Η προσέγγιση της διαλογής συνίσταται στην απομόνωση από τη φύση –σε καθαρή καλλιέργεια– ενός μεγάλου αριθμού μικροοργανισμών που ενδέχεται να παράγουν αντιβιοτικά (Εικόνα 30.7α) κατόπιν εξετάζεται αν τα απομονωμένα στελέχη παράγουν πράγματι αντιβιοτικά, με κριτήριο το εάν παράγουν ουσίες που διαχέονται και προκαλούν αναστολή της αύξησης κάποιου βακτηριακού δείκτη. Τα βακτήρια-δείκτες επιλέγονται από μεγάλο αριθμό βακτηριακών τύπων έτσι ώστε να αντιπροσω-



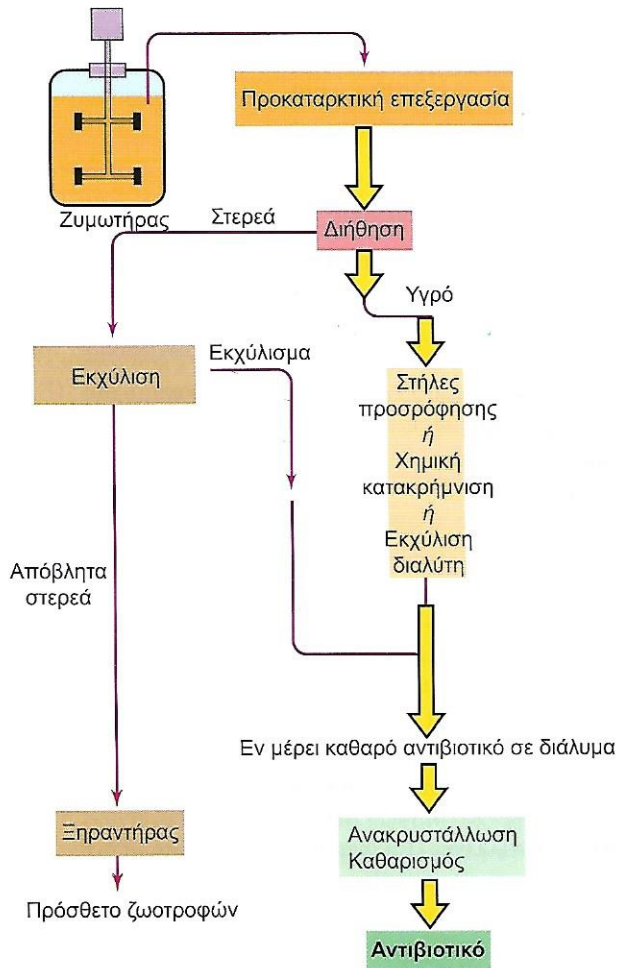
**Εικόνα 30.7** Απομόνωση και διαλογή οργανισμών που παράγουν αντιβιοτικά. (α) Η απομόνωση επιτυγχάνεται με θρεπτικό μέσο επιλεκτικό για το γένος *Streptomyces* και η ταυτοποίηση των στελεχών που παράγουν αντιβιοτικά με τη χρήση ενός οργανισμού-δείκτη. Στη φωτογραφία, οι περισσότερες αποικίες είναι στρεπτομύκητες· ορισμένες παράγουν αντιβιοτικά, όπως φαίνεται και από τις ζώνες αναστολής του οργανισμού-δείκτη (*Staphylococcus aureus*). (β) Μέθοδος ελέγχου ενός οργανισμού ως προς το φάσμα της αντιβιοτικής δράσης του. Ο παραγωγός (είδος στρεπτομύκητα) ενοφθαλμίζεται με γραμμική επίστρωση στο 1/3 της επιφάνειας του τρυβλίου και επωάζεται. Κατόπιν, τα βακτήρια-δείκτες ενοφθαλμίζονται με γραμμική επίστρωση καθέτως προς τον στρεπτομύκητα και το τρυβλίο επωάζεται περαιτέρω. Η αδυναμία αύξησης πολλών βακτηριακών δεικτών κοντά στις περιοχές μαζικής ανάπτυξης του στρεπτομύκητα αποτελεί ένδειξη παραγωγής κάποιας δραστικής αντιβιοτικής ουσίας. Οργανισμοί-δείκτες (αριστερά προς τα δεξιά): *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*.

πεύουν τα παθογόνα βακτήρια, ή να είναι συγγενή προς αυτά. Καθιερωμένη διαδικασία εξέτασης νέων απομονωμένων μικροβιακών στελεχών ως προς την ικανότητα παραγωγής αντιβιοτικών είναι η μέθοδος της σταυρωτής γραμμικής επίστρωσης, η οποία χρησιμοποιήθηκε από τον Φλέμινγκ στις πρωτοποριακές μελέτες του για την πενικιλίνη (ένθετο *Μικροβιολογία και «μαγικές σφαίρες»*, Κεφάλαιο 20· βλ. Εικόνα 30.7β). Σε όσα απομονωμένα στελέχη παρατηρούνται ενδείξεις παραγωγής αντιβιοτικών ουσιών, γίνονται περαιτέρω έρευνες για να διαπιστωθεί αν αυτά παράγουν νέου είδους αντιβιοτικά. Στις περισσότερες περιπτώσεις παράγονται ήδη γνωστά αντιβιοτικά· ο βιομηχανικός μικροβιολόγος πρέπει να προσδιορίζει γρήγορα τους οργανισμούς αυτούς, ώστε να μη γίνεται σπατάλη χρόνου και πόρων για τη μελέτη τους. Όταν ανακαλυφθεί ένας οργανισμός που δίνει κάποιο νέο αντιβιοτικό, η αντιβιοτική ουσία παράγεται σε επαρκείς ποσότητες για να αναλυθεί η δομή της και, κατόπιν, για να δοκιμαστεί η τοξικότητα και η θεραπευτική δράση της σε μολυσμένα πειραματόζωα. Δυστυχώς, τα περισσότερα νέα

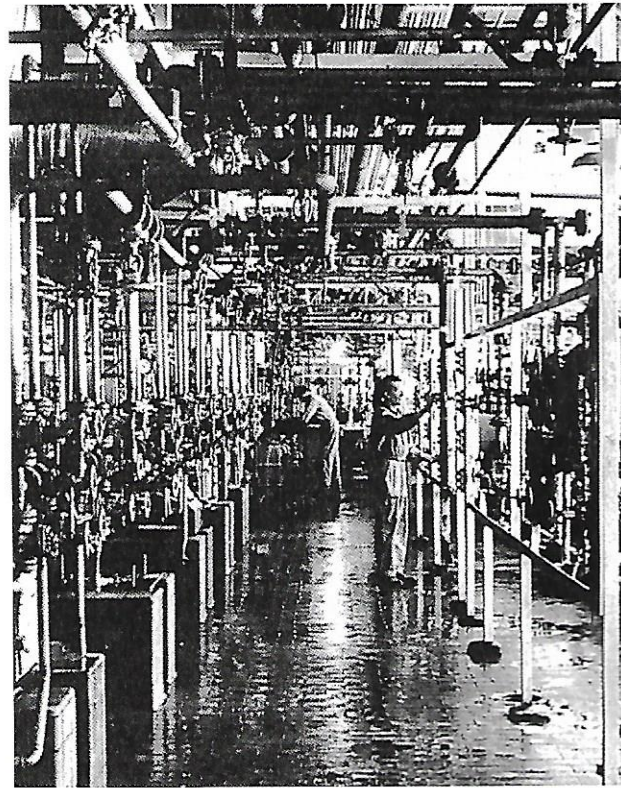
αντιβιοτικά αποτυγχάνουν στις δοκιμές με τα πειραματόζωα, ορισμένα όμως αποδεικνύεται ότι έχουν κάποια ιατρική χρησιμότητα και παράγονται εμπορικά. Εν τούτοις, αν λάβουμε υπ' όψιν μας ότι ο αριθμός διαφορετικών αντιβιοτικών ουσιών που παράγονται μόνον από τα είδη του γένους *Streptomyces* υπερβαίνει τις 100.000, η έρευνα για την ανακάλυψη νέων αντιβιοτικών διενεργείται σε μόνιμη βάση.

### Καθαρισμός και αυξημένη απόδοση

Ένα αντιβιοτικό που πρόκειται να παραχθεί εμπορικά πρέπει προηγουμένως να έχει παραχθεί με επιτυχία σε βιομηχανικούς ζυμωτήρες μεγάλης κλίμακας. Τα ιδιαίτερα προβλήματα της μεγέθυνσης κλίμακας αναλύθηκαν στο Τμήμα 30.4. Η επόμενη πρόκληση που τίθεται είναι η ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων καθαρισμού. Οι ποσότητες του αντιβιοτικού στο υγρό της ζύμωσης είναι σχετικά μικρές, γι' αυτό απαιτείται η εφαρμογή σύνθετων μεθόδων εκχύλισης και καθαρισμού του αντιβιοτικής ουσίας (Εικόνα 30.8). Αν το αντι-



(α)



(β)

**Εικόνα 30.8** Καθαρισμός αντιβιοτικού. (α) Η συνολική διαδικασία εκχύλισης και καθαρισμού. (β) Εγκατάσταση εκχύλισης αντιβιοτικού από υγρό ζύμωσης, με την βοήθεια διαλύτη. Για την επιτυχή παραγωγή του αντιβιοτικού, η καλή μηχανολογική οργάνωση είναι εξίσου σημαντική με τους μικροβιολογικούς παράγοντες.

βιοτικό είναι ευδιάλυτο σε οργανικό διαλύτη, τότε ο καθαρισμός του μέσω εκχύλισης σε μικρό όγκο διαλύτη μπορεί να είναι απλός. Αν το αντιβιοτικό δεν είναι διαλυτό σε κάποιον διαλύτη, τότε απαιτείται απομάκρυνσή του από το υγρό της ζύμωσης μέσω προσρόφησης, ανταλλαγής ιόντων ή χημικής κατακρήμνισης (Εικόνα 30.8). Σε κάθε περίπτωση, τελικός στόχος είναι η λήψη κρυσταλλικού προϊόντος υψηλής καθαρότητας.

Τα στελέχη που μόλις απομονώθηκαν από τη φύση σπανίως παράγουν το επιθυμητό αντιβιοτικό σε συγκεντρώσεις τέτοιες που να επιτρέπουν την άμεση έναρξη της εμπορικής παραγωγής του. Επομένως, ένα από τα σημαντικότερα καθήκοντα του βιομηχανικού μικροβιολόγου είναι η απομόνωση στελεχών υψηλής απόδοσης. Η επιλογή στελεχών μπορεί να συμπεριλαμβάνει μεταλλαξιγένεση της αρχικής καλλιέργειας, μεταφορά των μεταλλαγμένων τύπων σε τρυβλία και εξέταση των μεταλλαγμάτων ως προς την παραγωγή αντιβιοτικών. Βεβαίως, η γενετική μηχανική βελτίωσε θεαματικά αυτή τη διαδικασία. Επί παραδείγματι, η τεχνική της *ενίσχυσης γονιδίου*, επέτρεψε την ένθεση πρόσθετων αντιγράφων του επιθυμητού γονιδίου σε ένα κύτταρο, χρησιμοποιώντας κάποιον φορέα, π.χ. ένα πλασμίδιο (Κεφάλαιο 31). Οι μετατροπές ρυθμιστικών διαδικασιών μπορεί επίσης να οδηγήσουν σε αύξηση της απόδοσης. Εντούτοις, μια εγγενής δυσκολία όσον αφορά τη χρήση μεθόδων γενετικής μηχανικής για την αύξηση της απόδοσης κάποιου αντιβιοτικού είναι το ότι οι οδοί βιοσύνθεσης των περισσότερων αντιβιοτικών ουσιών έχουν μεγάλο αριθμό ενδιάμεσων σταδίων, που εμπλέκουν πολλά γονίδια, και σε πολλές περιπτώσεις δεν είναι σαφές ποια γονίδια πρέπει να τροποποιηθούν ή να πολλαπλασιαστούν, ώστε να αυξηθεί η απόδοση. Επομένως, έχει αποφασιστική σημασία ο προσδιορισμός του περιοριστικού σταδίου της ταχύτητας, με τη βοήθεια της βασικής έρευνας.

Η τελική απόδοση αποτελεί κρίσιμη παράμετρο ουσιαστικά για κάθε φαρμακευτικό προϊόν. Ακόμη κι όταν έχει ξεκινήσει η εμπορική παραγωγή κάποιου αντιβιοτικού, ή άλλου προϊόντος, συχνά συνεχίζεται η έρευνα με στόχο είτε την ταυτοποίηση ή παραγωγή ενός στελέχους υψηλότερης απόδοσης είτε την τροποποίηση της διαδικασίας κατά τρόπο που να αυξάνει την απόδοση. Μολονότι τα φαρμακευτικά προϊόντα παράγονται σε μικρές ποσότητες, σε σύγκριση με τις χημικές ενώσεις που διακινούνται χονδρικά ή με τα αγροτικά προϊόντα, εν τούτοις πάντοτε υφίστανται σοβαροί οικονομικοί λόγοι όσον αφορά την επιδίωξη της μέγιστης δυνατής απόδοσης στον συντομότερο δυνατό χρόνο.

### ✓ 30.5 Έλεγχος εννοιών

Η βιομηχανική παραγωγή αντιβιοτικών αρχίζει με διαδικασίες διαιολογής οργανισμών που ενδέχεται να παράγουν αντιβιοτικές ουσίες. Μόλις ταυτοποιηθούν οι νέοι παραγωγοί αντιβιοτικών, λαμβάνει χώρα ο καθαρισμός και η χημική ανάλυση του αντιμικροβιακού αντιδραστήριου. Εάν το νέο αντιβιοτικό είναι βιολογικά δραστικό *in vivo*, ο βιομηχανικός μικροβιολόγος μπορεί να τροποποιήσει γε-

νετικά το παραγωγικό στέλεχος, ώστε να αυξηθεί η απόδοση σε επίπεδα αποδεκτά για εμπορική ανάπτυξη.

- ✓ Ποιο είναι το φυσικό ενδιαίτημα των περισσότερων μικροοργανισμών που παράγουν αντιβιοτικά;
- ✓ Τι σημαίνει η λέξη *διαλογή* στο πλαίσιο της ανεύρεσης νέων αντιβιοτικών;

## 30.6

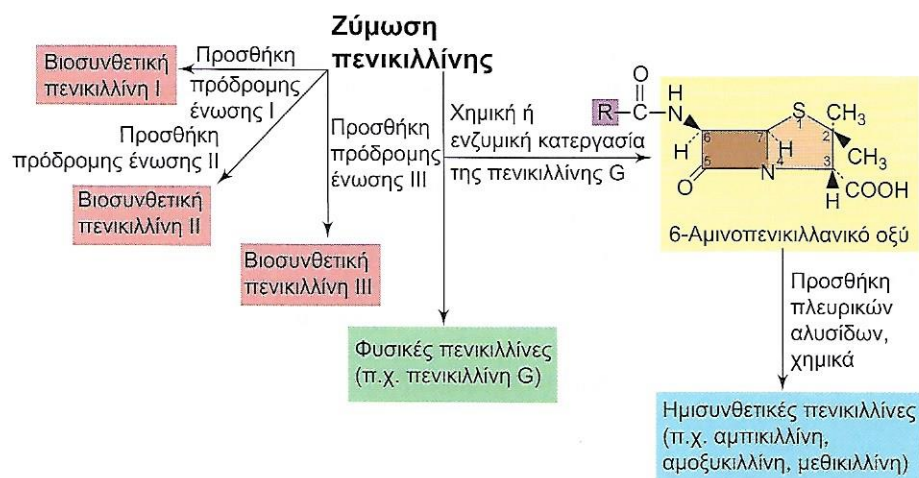
### Βιομηχανική παραγωγή πενικιλίνης και τετρακυκλίνης

Όταν ένα αντιβιοτικό χαρακτηριστεί δομικά, αποδειχθεί με δοκιμές σε πειραματόζωα ότι είναι ιατρικά αποτελεσματικό, με σχετικά χαμηλή τοξικότητα, και ολοκληρώσει τις απαραίτητες κλινικές δοκιμές (στην πράξη, η όλη διαδικασία μπορεί να κρατήσει χρόνια), τότε είναι έτοιμο να παραχθεί εμπορικά και να αρχίσει η διάθεσή του στην αγορά. Για αντιβιοτικά όπως η πενικιλίνη και η τετρακυκλίνη, τα εμπόδια αυτά αποτελούν εδώ και πολλά χρόνια παρελθόν. Σήμερα παρασκευάζονται κυριολεκτικά τόνοι των αντιβιοτικών αυτών για ιατρική και κτηνιατρική χρήση. Θα εξετάσουμε, λοιπόν, την παραγωγή των συγκεκριμένων αντιβιοτικών ως παράδειγμα βιομηχανικής παραγωγής αντιβιοτικών κάθε είδους.

#### Αντιβιοτικά β-λακτάμης: Πενικιλίνη και οι συγγενικές της ενώσεις

Όπως είδαμε στο Τμήμα 20.8, οι πενικιλίνες είναι μια κατηγορία αντιβιοτικών που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη του *δακτύλιου της β-λακτάμης* και παράγονται από πάρα πολλές μούχλες (ευκαρυώτες) των γενών *Penicillium* και *Aspergillus*, καθώς και από ορισμένους προκαρυώτες (Εικόνα 30.9). Γνωρίζουμε ποικίλες μορφές κλινικά χρήσιμων πενικιλινών: τα συγκεκριμένα παράγωγα μπορεί να είναι αποτέλεσμα βιοκαταλυτικών αντιδράσεων τις οποίες συμπληρώνουν χημικές τροποποιήσεις από οργανικούς χημικούς, με στόχο την παραγωγή μιας πενικιλίνης με ιδιαίτερες κλινικές ιδιότητες.

Θεμελιώδης δομή όλων των πενικιλινών είναι το *6-αμινοπενικιλανικό οξύ* (6-ΑΠΟ), το οποίο συνίσταται από έναν δακτύλιο θειαζολιδίνης συμπτυκνωμένο με έναν β-λακταμικό δακτύλιο (Εικόνα 30.9). Το 6-ΑΠΟ μπορεί να φέρει στη θέση 6 διάφορες πλευρικές αλυσίδες. Όταν η ζύμωση της πενικιλίνης πραγματοποιείται απουσία πρόδρομων ενώσεων των πλευρικών αλυσίδων, τότε παράγονται οι **φυσικές πενικιλίνες** (Εικόνα 30.9). Η ζύμωση μπορεί να οδηγηθεί προς τη μία κατεύθυνση, με την προσθήκη *πρόδρομων ενώσεων των πλευρικών αλυσίδων* στο θρεπτικό μέσο, ούτως ώστε να παράγεται μία μόνον –η επιθυμητή– μορφή πενικιλίνης. Το προϊόν που συντίθεται υπ' αυτές τις συνθήκες ονομάζεται **βιοσυνθετική πενικιλίνη** (Εικόνα 30.9). Εν τούτοις, για να παραχθούν οι πλέον χρήσιμες πενικιλίνες, δηλαδή εκείνες που δρουν κατά των *αρνητικών κατά Gram βακτηρίων*, χρησιμοποιείται ένας συνδυασμός ζύμωσης και χη-



**Εικόνα 30.9** Βιομηχανική παραγωγή πενικιλινών. Ο δακτύλιος της β-λακτάμης υποδεικνύεται με βαθύ καστανό χρώμα. Η κανονική ζύμωση οδηγεί σε φυσικές πενικιλίνες. Αν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης προστεθούν ειδικές πρόδρομες ενώσεις, τότε συντίθενται διάφορες βιοσυνθετικές πενικιλίνες. Οι ημισυνθετικές πενικιλίνες παράγονται με χημικά μέσα, μέσω της προσθήκης μιας ειδικής πλευρικής αλυσίδας στον κεντρικό πυρήνα (το 6-αμινοπενικιλανικό οξύ) στη θέση «R», που υποδεικνύεται με ιώδες χρώμα. Οι ημισυνθετικές πενικιλίνες έχουν τεράστια κλινική χρησιμότητα, διότι είναι συνήθως δραστικές έναντι των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων και μπορούν να χορηγηθούν από το στόμα.

μικής προσέγγισης, που καταλήγει στην παραγωγή **ημισυνθετικής πενικιλίνης** (Εικόνα 30.9). Στην περίπτωση αυτή, φυσική πενικιλίνη που έχει παραχθεί με μικροβιακή ζύμωση διασπάται (χημικά ή ενζυμικά) και δίνει 6-ΑΠΟ, που κατόπιν τροποποιείται χημικά με την προσθήκη μιας πλευρικής αλυσίδας (Εικόνα 30.9). Οι ημισυνθετικές πενικιλίνες διαθέτουν πολλά σημαντικά κλινικά πλεονεκτήματα, τόσο ως προς το φάσμα δράσης τους όσο και διότι πολλές από αυτές, π.χ. η αμπικιλίνη, δεν είναι απαραίτητως ενέσιμες, αλλά μπορούν να ληφθούν και από το στόμα. Για όλους αυτούς τους λόγους, οι ημισυνθετικές πενικιλίνες συνιστούν σήμερα τον κύριο όγκο της αγοράς πενικιλινών.

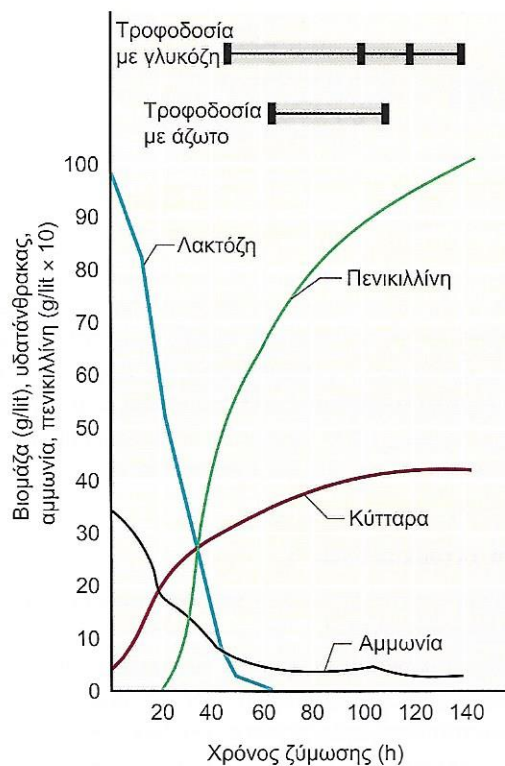
### Μέθοδοι παραγωγής των αντιβιοτικών β-λακτάμης

Η πενικιλίνη G παράγεται σε ζυμωτήρες μεγέθους 40.000 έως 200.000 λίτρων. Η παραγωγή πενικιλίνης αποτελεί διαδικασία εν πολλοίς αερόβια, άρα χρειάζεται απαραίτητως αποτελεσματικός αερισμός. Η πενικιλίνη είναι ένας τυπικός δευτερογενής μεταβολίτης. Κατά την αυξητική φάση παράγεται ελάχιστη πενικιλίνη, με την εξάντληση όμως της πηγής άνθρακα αρχίζει η φάση παραγωγής της πενικιλίνης (Εικόνα 30.10). Η φάση αυτή μπορεί να διαρκέσει πολλές ημέρες, με την προσθήκη διαφόρων συστατικών του θρεπτικού μέσου (Εικόνα 30.10).

Καθοριστικής σημασίας συστατικό των περισσότερων θρεπτικών μέσων που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή πενικιλίνης είναι το **αμυλοσιρόπι αραβοσίτου**. Η ουσία αυτή περιέχει τόσο την απαιτούμενη πηγή αζώτου όσο και άλλους παράγοντες αύξησης. Ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιείται συνήθως **λακτόζη** (Εικόνα 30.10). Η πενικιλίνη εκκρίνεται στο περιβάλλον μέσο και, αφού απομακρυνθούν τα κύτταρα με διήθηση και μειωθεί το pH του μέσου, η αντιβιοτική ουσία εκχυλίζεται με κάποιον οργανικό διαλύτη. Μετά τη συγκέντρωσή του στον διαλύτη, το αντιβιοτικό επανεκχυλίζεται σε αλκαλικό υδατικό μέσο, υφίσταται περαιτέρω συγκέντρωση και κρυσταλλώνεται. Με τον τρόπο αυτό παρασκευάζεται εύκολα πενικιλίνη υψηλού βαθμού καθαρότητας.

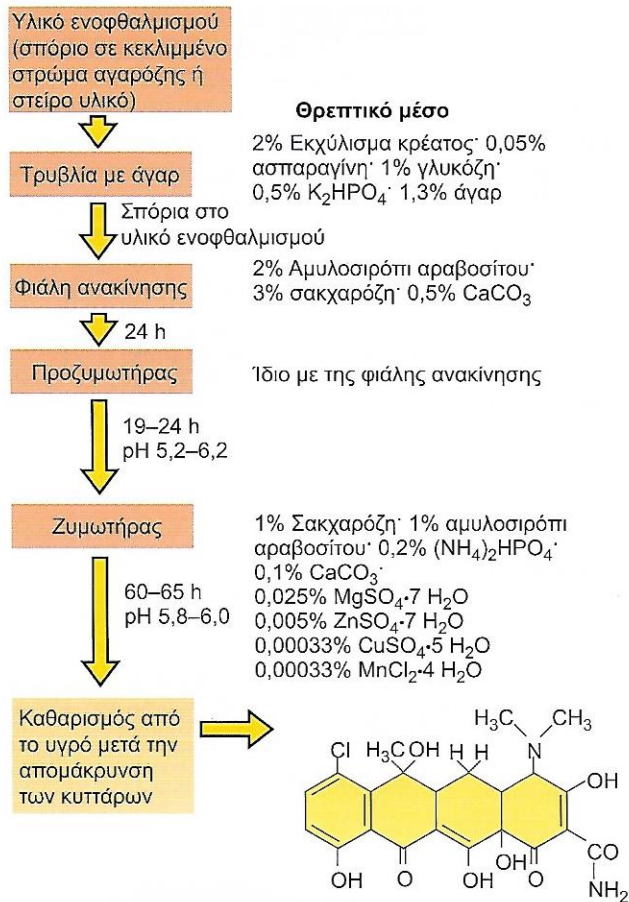
### Άλλα αντιβιοτικά β-λακτάμης

Υπάρχει μεγάλος αριθμός άλλων αντιβιοτικών β-λακτάμης. Οι **κεφαλοσπορίνες** είναι αντιβιοτικά β-λακτάμης που περιέχουν έναν δακτύλιο διυδροθειοαζίνης αντί του θειαζολιδινικού συστήματος (Τμήμα 20.8 και Εικόνα 20.12). Οι κεφαλοσπορίνες ανακαλύφθηκαν αρχικά ως προϊόντα του μύκητα *Cephalosporium acremonium*, αλλά υπάρχουν αρκετοί



**Εικόνα 30.10** Κινητική της ζύμωσης της πενικιλίνης με *Penicillium chrysogenum*. Προσέξτε ότι η παραγωγή πενικιλίνης εμφανίζεται με την είσοδο των κυττάρων στη στάσιμη φάση, όταν το μεγαλύτερο τμήμα του άνθρακα και του αζώτου έχει ήδη εξαντληθεί. Η προσθήκη θρεπτικών ουσιών διατηρεί την παραγωγή πενικιλίνης σε υψηλά επίπεδα.





**Εικόνα 30.11** Πρωτόκολλο παραγωγής κλωροτετρακυκλίνης από τον *Streptomyces aureofaciens*. Η δομή της κλωροτετρακυκλίνης φαίνεται κάτω δεξιά. Θερμοκρασία αύξησης του οργανισμού: 28°C, συνεχώς.

άλλοι μύκητες και προκαρυώτες που επίσης παράγουν αντιβιοτικά με αυτό το σύστημα δακτυλίων. Επιπλέον παράγονται και ορισμένες ημισυνθετικές κεφαλοσπορίνες. Οι κεφαλοσπορίνες έχουν μεγάλη κλινική αξία, όχι μόνον επειδή εμφανίζουν χαμηλή τοξικότητα, αλλά και διότι είναι αντιβιοτικά *ευρέος φάσματος* (🔍 Τμήμα 20.8), ιδιαιτέρως χρήσιμα εναντίον μεγάλης ποικιλίας παθογόνων βακτηρίων.

### Παραγωγή τετρακυκλινών

Η παραγωγή μιας τετρακυκλίνης περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό ενζυμικών αντιδράσεων. Στην περίπτωση της κλωροτετρακυκλίνης (Εικόνα 30.11) μπορεί να συμμετέχουν έως και 72 ενδιάμεσα προϊόντα, πολλά από τα οποία δεν είναι επακριβώς γνωστά. Γενετικές μελέτες του *Streptomyces aureofaciens*, του οργανισμού που παράγει τη κλωροτετρακυκλίνη, έδειξαν ότι στη βιοσύνθεσή της συμμετέχουν πάνω από 300 γονίδια! Είναι προφανές ότι η ρύθμιση ενός τόσο μεγάλου αριθμού γονιδίων συνιστά ιδιαιτέρως σύνθετη διαδικασία. Ωστόσο, γνωρίζουμε ορισμένα ρυθμιστικά σήματα και ο παραγωγικός μηχανισμός έχει αποσαφηνιστεί με επάρκεια.

Για παράδειγμα, είναι γνωστό ότι η προσθήκη γλυκόζης ή φωσφορικών καταστέλλει τη σύνθεση κλωροτετρακυκλίνης. Η καταστολή από τα φωσφορικά είναι ιδιαίτερα σημαντική, συνεπώς το θρεπτικό μέσο που χρησιμοποιείται στην εμπορική παραγωγή είναι φτωχό σε φωσφορικά. Στην Εικόνα 30.11 παρουσιάζεται ένα πρωτόκολλο παραγωγής κλωροτετρακυκλίνης. Όπως συμβαίνει και κατά την παραγωγή πενικιλίνης, στην παραγωγή κλωροτετρακυκλίνης σε μεγάλη κλίμακα χρησιμοποιείται αμυλοσιρόπι αραβοσίτου, αλλά εδώ τυπική πηγή άνθρακα είναι η σακχαρόζη (όχι η λακτόζη). Η χρήση γλυκόζης αποφεύγεται, διότι προκαλεί καταβολική καταστολή (🔍 Τμήμα 8.7) της παραγωγής αντιβιοτικού.

### ✓ 30.6 Έλεγχος εννοιών

Στα αντιβιοτικά μείζονος κλινικής σημασίας συγκαταλέγονται η πενικιλίνη, η κεφαλοσπορίνη και οι τετρακυκλίνες, ενώσεις που περιέχουν δακτύλιο β-λακτάμης. Όλα αυτά τα αντιβιοτικά είναι τυπικοί δευτερογενείς μεταβολίτες και η βιομηχανική τους παραγωγή είναι οργανωμένη καλά, παρ' ότι η βιοχημεία και η γενετική της βιοσύνθεσής τους είναι εν μέρει μόνο κατανοητές.

- ✓ Ποια χημική δομή είναι κοινή στην πενικιλίνη και την κεφαλοσπορίνη;
- ✓ Ως προς την παραγωγή πενικιλίνης, τι εννοούμε με τον όρο *ημισυνθετικός*; Και τι με τον όρο *βιοσυνθετικός*;

### 30.7

### Βιταμίνες και αμινοξέα

Οι βιταμίνες και τα αμινοξέα είναι αυξητικοί παράγοντες που συχνά χρησιμεύουν ως φαρμακευτικά σκευάσματα ή πρόσθετα τροφίμων. Πολλές σημαντικές βιταμίνες και αμινοξέα παράγονται για εμπορικούς λόγους με βιοκαταλυτικές διεργασίες.

#### Βιταμίνες

Οι βιταμίνες χρησιμοποιούνται ως συμπληρώματα της ανθρώπινης διατροφής και των ζωοτροφών από άποψη συνολικών πωλήσεων, οι βιταμίνες έρχονται δεύτερες μετά τα αντιβιοτικά, στον φαρμακευτικό κλάδο. Οι περισσότερες παρασκευάζονται για το εμπόριο μέσω χημικής σύνθεσης. Ωστόσο, μερικές από αυτές είναι υπερβολικά περίπλοκες για να συντεθούν χωρίς υψηλό κόστος, μπορούν όμως να παρασκευαστούν με βιοκατάλυση. Η βιταμίνη  $B_{12}$  και η ριβοφλαβίνη είναι οι σημαντικότερες βιταμίνες αυτής της κατηγορίας.

Η **βιταμίνη  $B_{12}$**  (Εικόνα 30.12α) συντίθεται στη φύση αποκλειστικά από μικροοργανισμούς. Ως συνένζυμο, η βιταμίνη  $B_{12}$  διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη βιοχημεία των ζώων, σε διάφορες ενδομοριακές ανακατατάξεις, κατά τις οποίες ένα άτομο υδρογόνου συνδεδεμένο με άτομο άνθρακα εναλλάσσει θέσεις με έναν υποκαταστάτη σε γειτονικό

άτομο άνθρακα. Σημαντική έλλειψη βιταμίνης B<sub>12</sub> από τον ανθρώπινο οργανισμό οδηγεί σε μια σοβαρή κατάσταση που ονομάζεται *κακοήθης αναιμία* και χαρακτηρίζεται από χαμηλή παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων και διαταραχές του νευρικού συστήματος. Στα ζώα, οι απαιτήσεις σε βιταμίνη B<sub>12</sub> ικανοποιούνται μέσω της προσλαμβανόμενης τροφής ή μέσω απορρόφησης της βιταμίνης που παράγεται από εντερικούς μικροοργανισμούς στο έντερο των ζώων. Τα φυτά δεν παράγουν και δεν χρησιμοποιούν βιταμίνη B<sub>12</sub>.

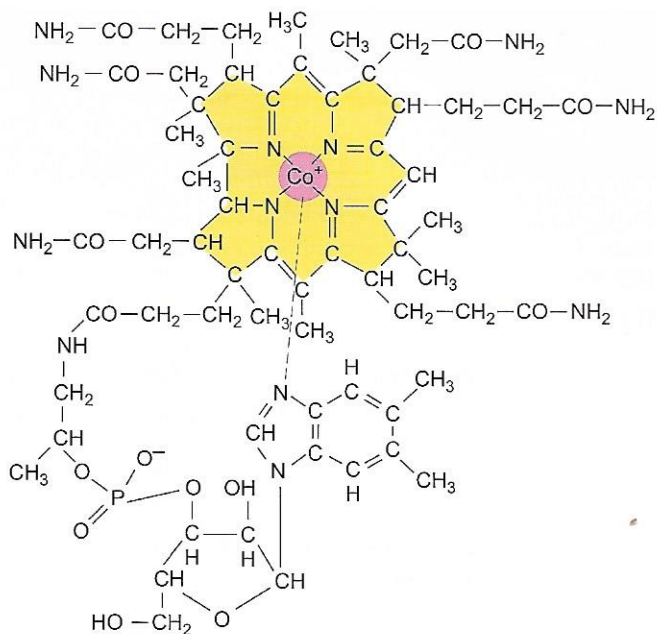
Για τη βιομηχανική παραγωγή της βιταμίνης B<sub>12</sub> χρησιμοποιούνται ειδικά επιλεγμένα μικροβιακά στελέχη, λόγω της υψηλής απόδοσής τους στη βιταμίνη. Οι σημαντικότεροι παραγωγικοί μικροοργανισμοί εμπορικού ενδιαφέροντος είναι μέλη των βακτηριακών γενών *Propionibacterium* και *Pseudomonas*. Το κοβάλτιο αποτελεί σημαντικό συστατικό της δομής της βιταμίνης B<sub>12</sub> (Εικόνα 30.12α), η απόδοση στη βιταμίνη αυτή αυξάνεται σημαντικά όταν προστίθεται κοβάλτιο στο καλλιεργητικό μέσο.

Η **ριβοφλαβίνη** (Εικόνα 30.12β) είναι η μητρική ένωση των φλαβινών FAD και FMN, συνενζύμων που παίζουν σημαντικό ρόλο σε ένζυμα εμπλεκόμενα σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, ουσιαστικά σε όλους τους οργανισμούς (Τμήμα 5.11). Η ριβοφλαβίνη συντίθεται σε πολλούς μικροοργανισμούς, μεταξύ των οποίων σε βακτήρια, μύκητες και ζυμομύκητες. Ο μύκητας *Ashbya gossypii* παράγει υπό φυσιολογικές συνθήκες τεράστιες ποσότητες της βιταμίνης αυτής (έως και 7 g/lit), συνεπώς χρησιμοποιείται στις περισσότερες διαδικασίες μικροβιακής παραγωγής ριβοφλαβίνης. Παρά την εξαιρετική απόδοση, υφίσταται μεγάλος οικονομικός ανταγωνισμός ανάμεσα σ' αυτή τη μικροβιολογική διαδικασία παραγωγής και σε εκείνη της αποκλειστικά χημικής σύνθεσης.

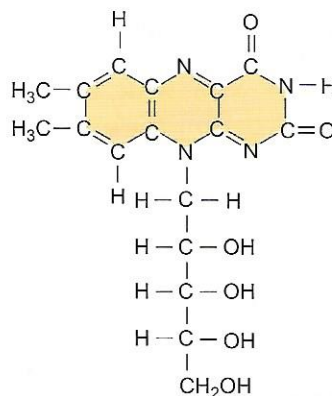
## Αμινοξέα

Τα αμινοξέα χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων (ως διατροφικά συμπληρώματα), στην ιατρική και ως πρώτες ύλες στη χημική βιομηχανία (Πίνακας 30.3). Σημαντικότερο από όλα τα αμινοξέα είναι το **γλουταμικό οξύ**, που χρησιμεύει ως ενισχυτής γεύσης [όξινο γλουταμικό νάτριο (ΟΓΝ)]. Δύο άλλα σημαντικά αμινοξέα είναι το **ασπαρτικό οξύ** και η **φαινυλαλανίνη**, συστατικά της τεχνητής γλυκαντικής ουσίας **ασπαρτάμη**, που αποτελεί σημαντικό συστατικό των διαιτητικών αναψυκτικών και άλλων τροφίμων που διαφημίζονται ως «χωρίς ζάχαρη». Η **λυσίνη** είναι ένα αμινοξύ απαραίτητο για τον άνθρωπο και ορισμένα κτηνοτροφικά ζώα παράγεται εμπορικά από το βακτήριο *Brevibacterium flavum* και χρησιμεύει ως πρόσθετο τροφίμων. Ας εστιάσουμε την προσοχή μας στον τρόπο παραγωγής της.

Επειδή τα αμινοξέα χρησιμοποιούνται από τους μικροοργανισμούς ως δομικά υλικά των πρωτεϊνών, η παραγωγή τους συνήθως υπόκειται σε αυστηρό κυτταρικό έλεγχο (Κεφάλαιο 8). Βεβαίως, για τη βιομηχανική παραγωγή ενός αμινοξέος απαιτείται η παράκαμψη αυτών των ρυθμιστικών μηχανισμών, ώστε να ληφθεί ένα *υπερπαραγωγικό στέλεχος*



(α)



(β)

**Εικόνα 30.12** Βιταμίνες που παράγονται από μικροοργανισμούς σε βιομηχανική κλίμακα. (α) Βιταμίνη B<sub>12</sub>. Βλέπουμε τη δομή της κυανοκοβαλαμίνης προσέξτε το κεντρικό άτομο του κοβαλτίου. Η συνενζυμική μορφή της βιταμίνης B<sub>12</sub> περιέχει μια δεοξυαδενοσυλική ομάδα συνδεδεμένη με το κοβάλτιο στο επίπεδο πάνω από τον δακτύλιο. (β) Η ριβοφλαβίνη (βιταμίνη B<sub>2</sub>). Τμήμα 5.11 και Εικόνα 5.15).

ικανό να παράγει το αμινοξύ με απόδοση οικονομικά συμφέρουσα. Η παραγωγή λυσίνης στο *Brevibacterium flavum* ελέγχεται βιοχημικά στο επίπεδο του ενζύμου κινάση του ασπαρτικού, υπό την έννοια ότι η περίσσεια λυσίνης αναστέλλει την ενεργότητα του συγκεκριμένου ενζύμου (Εικόνα 30.13α) (το γενικό φαινόμενο της αναδραστικής αναστολής περιγράφεται στο Τμήμα 8.2). Εν τούτοις, η υπερπαραγωγή λυσίνης επιτυγχάνεται με την απομόνωση μεταλλαγμάτων του *B. flavum*, στα οποία η κινάση του ασπαρτικού δεν υπόκειται πλέον σε αναδραστική αναστολή. Αυτό γίνεται με την απομόνωση μεταλλαγμάτων ανθεκτικών στο ανάλο-

**ΠΙΝΑΚΑΣ 30.3** Αμινοξέα που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων<sup>a</sup>

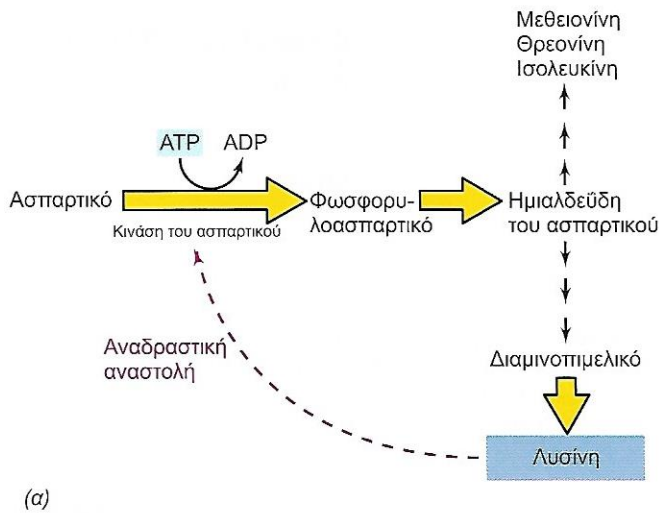
Αμινοξύ <sup>b</sup>	Παγκόσμια παραγωγή ετησίως (μετρικοί τόνοι)	Χρήσεις	Σκοπός χρήσης
L-Γλουταμικό (όξινο γλουταμικό νάτριο, ΟΓΝ)	370.000	Διάφορα τρόφιμα	Ενισχυτικό γεύσης· καθιστά το κρέας τρυφερό
L-Ασπαρτικό και αλανίνη	5.000	Χυμοί φρούτων	Ομογενοποιητής γεύσης
Γλυκίνη	6.000	Γλυκαντικό τροφίμων	Βελτιωτής γεύσης· πρώτη ύλη για οργανικές συνθέσεις
L-Κυστεΐνη	700	Ψωμί	Βελτίωση ποιότητας
L-Τρυπτοφάνη + L-ιστιδίνη	400	Χυμοί φρούτων	Αντιοξειδωτικό
Ασπαρτάμη (από L-φαινυλαλανίνη + L-ασπαρτικό οξύ)	7.000	Διάφορα ποτά, γάλα σε σκόνη	Αντιοξειδωτικό, παρεμποδίζει το τάγγισμα, διατροφικό συμπλήρωμα
L-Λυσίνη	70.000	Μη αλκοολούχα ποτά	Γλυκαντική ουσία χαμηλής περιεκτικότητας σε θερμίδες
DL-Μεθειονίνη	70.000	Ψωμί (Ιαπωνία), διατροφικό συμπλήρωμα	Συμπλήρωμα ζωοτροφών
		Προϊόντα σόγιας, διατροφικό συμπλήρωμα	Συμπλήρωμα ζωοτροφών

<sup>a</sup> Πηγή στοιχείων: Glazer, A. N., & H. Mikaido. 1995. *Microbial Biotechnology*, W. H. Freeman, New York.

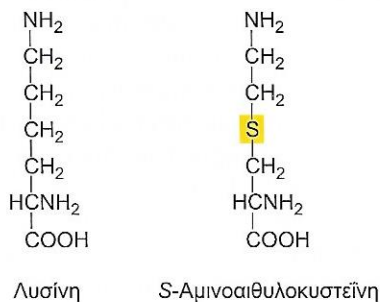
<sup>b</sup> Οι δομές αυτών των αμινοξέων παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.12.

γο της λυσίνης, την S-αμινοαιθυλοκυστεΐνη (AAK), η οποία δεσμεύεται στο αλλοστερικό κέντρο της κινάσης του ασπαρτικού και αναστέλλει την ενεργότητα του ενζύμου. Μεταλλαγμένα στελέχη ανθεκτικά σε AAK, τα οποία απομονώνονται ευχερώς με θετική επιλογή, παράγουν μια τροποποιημέ-

νη μορφή της κινάσης του ασπαρτικού, που φέρει ένα αλλοστερικό κέντρο το οποίο δεν αναγνωρίζεται πλέον ούτε από την AAK ούτε από τη λυσίνη, άρα μειώνεται σημαντικά η αναδραστική αναστολή από τη λυσίνη. Τέτοια μεταλλαγμένα στελέχη του *B. flavum* μπορούν να παράγουν σε βιομηχανικούς ζυμωτήρες άνω των 60 γραμμαρίων λυσίνης ανά λίτρο, συγκέντρωση επαρκώς υψηλή ώστε να καθίσταται η διαδικασία εμπορικά βιώσιμη.



(α)



(β)

### ✓ 30.7 Έλεγχος εννοιών

Η βιταμίνη B<sub>12</sub> και η ριβοφλαβίνη συγκαταλέγονται στις βιταμίνες που λαμβάνονται από μικρόβια, ενώ τα πλέον σημαντικά αμινοξέα που παράγονται εμπορικά είναι το γλουταμικό οξύ, το ασπαρτικό οξύ, η φαινυλαλανίνη και η λυσίνη. Οι μεγάλες αποδόσεις στην παραγωγή των διαφόρων αμινοξέων επιτυγχάνονται μέσω τροποποίησης των ρυθμιστικών σημάτων που ελέγχουν τη βιοσύνθεση ενός συγκεκριμένου αμινοξέος, ούτως ώστε να επιτυγχάνεται η υπερπαραγωγή του.

- ✓ Ποιο αμινοξύ παράγεται εμπορικά σε μεγαλύτερη ποσότητα;
- ✓ Πώς μπορεί η παράκαμψη της αναδραστικής αναστολής να βελτιώσει την απόδοση στην παραγωγή ενός αμινοξέος;

**Εικόνα 30.13** Βιομηχανική παραγωγή λυσίνης με την αξιοποίηση του *Brevibacterium flavum*.

(α) Η βιοχημική οδός που οδηγεί από το ασπαρτικό στη λυσίνη· προσέξτε ότι η λυσίνη μπορεί να αναστείλει με ανάδραση την ενεργότητα του ενζύμου κινάση του ασπαρτικού (🔗 Τμήμα 8.2) και να διακόψει την παραγωγή της. (β) Δομή της λυσίνης και του αναλόγου της, της S-αμινοαιθυλοκυστεΐνης (AAK). Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η AAK αναστέλλει την αύξηση, αλλά τα ανθεκτικά στην AAK μεταλλάγματα του *B. flavum* διαθέτουν μια κινάση του ασπαρτικού με τροποποιημένο αλλοστερικό κέντρο και αυξάνονται υπερπαραγωγώντας λυσίνη, διότι δεν λαμβάνει πλέον χώρα αναδραστική αναστολή.

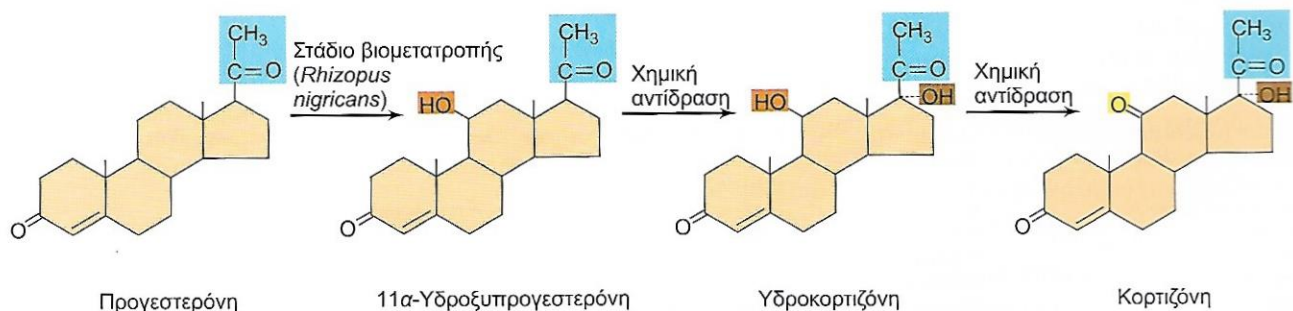
## 30.8 Μικροβιακή Βιομετατροπή

Οι μικροοργανισμοί μπορούν να αξιοποιηθούν στη βιοκατάλυση εξειδικευμένων χημικών αντιδράσεων, που υπερβαίνουν τις δυνατότητες της οργανικής χημείας. Η χρήση μικροοργανισμών για τον σκοπό αυτό ονομάζεται **βιομετατροπή** ή **βιομετασχηματισμός** και περιλαμβάνει την ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε μεγάλους ζυμωτήρες, την οποία ακολουθεί η προσθήκη, στον κατάλληλο χρόνο, της προς μετατροπή χημικής ουσίας. Έπεται περαιτέρω επώαση (κατά την οποία ο οργανισμός ασκεί την επίδρασή του στη χημική ουσία), εκχύλιση του υγρού της ζύμωσης και καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος. Μολονότι η βιομετατροπή μπορεί κατ' αρχήν να χρησιμοποιηθεί σε μεγάλη ποικιλία διαδικασιών, κύρια βιομηχανική της εφαρμογή είναι η παρασκευή ορισμένων στεροειδών ορμονών (Εικόνα 30.14).

Ο ρόλος των στεροειδών στις ευκαρυωτικές μεμβράνες αναλύθηκε στο Τμήμα 4.5. Τα στεροειδή, που είναι παράγωγα των στερολών, ανήκουν στις σημαντικές ορμόνες των ζώων, όπου ρυθμίζουν διάφορες μεταβολικές διεργασίες. Ορισμένα στεροειδή χρησιμοποιούνται επίσης ως φάρμακα στην ιατρική του ανθρώπου. Τα μέλη μιας ομάδας, των *αδρενοκορτικοστεροειδών*, περιορίζουν τις φλεγμονές, επομένως είναι αποτελεσματικά για τον έλεγχο των συμπτωμάτων της αρθρίτιδας και της αλλεργίας. Τα μέλη μιας άλλης ομάδας, των *οιστρογόνων* και των *ανδρογόνων* στεροειδών, συνδέονται με τη γονιμότητα του ανθρώπου και ορισμένες από αυτές μπορούν να αξιοποιηθούν στον έλεγχο της ανθρώπινης γονιμότητας. Τα στεροειδή μπορούν να παραχθούν και μόνο με χημική σύνθεση, αλλά η διαδικασία αυτή είναι περίπλοκη και δαπανηρή· ορισμένα κρίσιμα στάδια της χημικής σύνθεσης εκτελούνται αποτελεσματικότερα από μικροοργανισμούς. Η εμπορική παραγωγή στεροειδών, λοιπόν, περιλαμβάνει συνήθως τουλάχιστον ένα μικροβιακό στάδιο.

### Κορτιζόνη και υδροκορτιζόνη

Κατά την παρασκευή υδροκορτιζόνης και κορτιζόνης, στεροειδών που χρησιμεύουν στον περιορισμό του οιδήματος



**Εικόνα 30.14** Παραγωγή κορτιζόνης με τη χρήση μικροοργανισμού. Η πρώτη αντίδραση, ο σχηματισμός 11α-υδροξυπρογεστερόνης από προγεστερόνη, είναι μια τυπική μικροβιακή βιομετατροπή. Αυτή η άκρως εξειδικευμένη οξειδωση, που εκτελείται από τον μύκητα *Rhizopus nigricans*, παρακάμπτει μια δύσκολη αντίδραση χημικής σύνθεσης. Όλα τα άλλα στάδια που οδηγούν από την προγεστερόνη στη στεροειδή ορμόνη κορτιζόνη εκτελούνται χημικά.

και του κνησμού σε δερματικούς ερεθισμούς ελαφράς μορφής, ο μύκητας *Rhizopus nigricans* είναι υπεύθυνος για μια κρίσιμη βιομετατροπή, συγκεκριμένα για τη στεροειδική υδροξυλίωση μιας πρόδρομης ένωσης της κορτιζόνης (Εικόνα 30.14). Οι περισσότερες βιομετατροπές στεροειδών είναι υδροξυλίωσεις αυτού του τύπου· σε επίπεδο βιομηχανικής παραγωγής, χρησιμοποιείται μεγάλη ποικιλία μυκήτων για να διεκπεραιωθούν οι διάφορες ειδικές υδροξυλίωσεις. Η παραγωγή στεροειδών αποτελεί σήμερα σημαντικό κλάδο της μεταποίησης, δεδομένου ότι οι ετήσιες πωλήσεις των τεσσάρων σημαντικότερων στεροειδών (υδροκορτιζόνης, κορτιζόνης, πρεδνιζόνης, πρεδνιζολόνης) υπερβαίνουν τους 800 τόνους, σε παγκόσμιο επίπεδο.


### ✓ 30.8 Έλεγχος εννοιών

Στη μικροβιακή βιομετατροπή αξιοποιούνται μικροοργανισμοί για τη βιοκατάλυση ενός ή περισσότερων ειδικών σταδίων στο πλαίσιο μιας κατά τα άλλα αποκλειστικά χημικής σύνθεσης.


- ✓ Δώστε ένα παράδειγμα μικροβιακής βιομετατροπής. Γιατί είναι απαραίτητη η συγκεκριμένη βιομετατροπή;
- ✓ Περιγράψτε δύο παραμέτρους οι οποίες διαφοροποιούν μια βιομετατροπή από μια τυπική ζύμωση, όπως είναι η παραγωγή αντιβιοτικών.

## 30.9 Ένζυμα

Κάθε οργανισμός παράγει μεγάλη ποικιλία ενζύμων, τα περισσότερα από τα οποία συντίθενται σε μικρές μόνο ποσότητες και συμμετέχουν σε κυτταρικές διεργασίες (Τμήμα 5.5). Ορισμένοι οργανισμοί, όμως, παράγουν συγκεκριμένα ένζυμα σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες, που δεν συγκρατούνται στο εσωτερικό του κυττάρου, αλλά εκκρίνονται στο περιβάλλον μέσο. Αυτά τα *εξωκυτταρικά ένζυμα* (ή *εξωένζυμα*) είναι ικανά να πέπτουν αδιάλυτα πολυμερή, π.χ. κυτταρίνη, πρωτεΐνες και άμυλο, και τα προϊόντα της πέψης μεταφέρονται κατόπιν στο εσωτερικό του κυττάρου, όπου χρησιμεύουν ως θρεπτικές αυξητικές ουσίες. Ορισμένα εξωέν-

ζυμα χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, τη γαλακτοκομία, τη φαρμακευτική βιομηχανία και την κλωστοϋφαντουργία και για τον λόγο αυτό παράγονται σε μεγάλες ποσότητες, μέσω μικροβιακής σύνθεσης (Πίνακας 30.4). Τα ένζυμα αποτελούν ιδιαίτερα χρήσιμους βιοκαταλύτες, διότι συχνά δρουν σε μία και μόνο χημική ομάδα, μπορούν εύκολα να ξεχωρίσουν παραπλήσιες λειτουργικές ομάδες στο ίδιο μόριο και, σε πολλές περιπτώσεις, καταλύουν αντιδράσεις με στερεοειδικό τρόπο, παράγοντας το ένα μόνο από τα δύο πιθανά εναντιομερή (π.χ. ένα D-σάκχαρο ή ένα L-αμινοξύ·  Τμήμα 3.6).


### Πρωτεάσες, αμυλάσες και σιρόπι υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη

Τα ένζυμα παράγονται εμπορικά τόσο από μύκητες όσο και από βακτήρια. Τα μικροβιακά ένζυμα που παράγονται βιομηχανικά σε μεγαλύτερες ποσότητες είναι οι βακτηριακές πρωτεάσες, που χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα στα απορρυπαντικά πλυντηρίων. Σήμερα, τα περισσότερα απορρυπαντικά πλυντηρίων περιέχουν ένζυμα, κυρίως πρωτεάσες, αλλά και αμυλάσες, λιπάσες, αναγωγάσες και άλλα. Πολλά από τα ένζυμα αυτά απομονώνονται από αλκαλοφιλά βακτήρια ( Τμήμα 6.11), κυρίως από είδη του γένους *Bacillus*, όπως π.χ. το *Bacillus licheniformis* (Πίνακας 30.4). Αυτά τα ένζυμα, των οποίων οι βέλτιστες τιμές pH κυμαίνονται μεταξύ 9 και 10, παραμένουν δραστικά στο αλκαλικό pH των διαλυμάτων των απορρυπαντικών.


Αλλά ένζυμα ιδιαίτερης εμπορικής σημασίας είναι οι αμυλάσες και οι γλυκοαμυλάσες, που αξιοποιούνται στην

παραγωγή γλυκόζης από άμυλο. Η γλυκόζη που παράγεται με τον τρόπο αυτό μπορεί κατόπιν, με τη βοήθεια του ενζύμου ισομεράση της γλυκόζης, να οδηγήσει στην παραγωγή φρουκτόζης (η οποία είναι γλυκύτερη της γλυκόζης και της σακχαρόζης), με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή μιας γλυκαντικής ουσίας υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη, από άμυλο καλαμποκιού ή σιταριού ή πατάτας. Η χρήση της διεργασίας αυτής στη βιομηχανία τροφίμων είναι ιδιαίτερα επικερδής, ιδίως στην παραγωγή μη αλκοολούχων ποτών.

### Ακραία ένζυμα: Ένζυμα προκαρυωτών που ζουν σε ακραία περιβάλλοντα

Στα Κεφάλαια 2 και 6 εξετάσαμε διάφορες πλευρές της μικροβιακής αύξησης σε υψηλές θερμοκρασίες και ανακαλύψαμε ότι ορισμένοι προκαρυώτες, που ονομάζονται *υπερθερμόφιλοι*, αναπτύσσονται βέλτιστα σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες, ενίοτε υψηλότερες και από τη θερμοκρασία βρασμού του νερού. Οι υπερθερμόφιλοι μπορούν να αναπτύσσονται σε τόσο υψηλές θερμοκρασίες διότι παράγουν θερμοσταθερά μακρομόρια ( Τμήμα 6.10), μεταξύ των οποίων και ένζυμα –όπως κάποια από εκείνα του Πίνακα 30.4– που είναι λειτουργικά σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες (Εικόνα 30.15β). Ο όρος **ακραίο ένζυμο** (extremozyme) χρησιμοποιείται όταν αναφερόμαστε σε ένζυμα που παραμένουν λειτουργικά σε εξαιρετικά υψηλές θερμοκρασίες [ή σε ένζυμα που λειτουργούν άριστα υπό *οιεσδήποτε* ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, π.χ. ψύχος, πολύ υψηλή αλατότητα, πολύ όξινο (Εικόνα 30.15α) ή αλκαλικό pH]. Οι οργανισμοί που

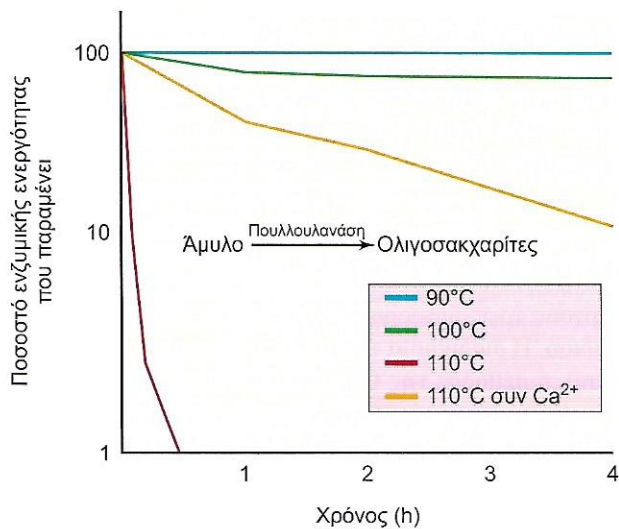
**ΠΙΝΑΚΑΣ 30.4** Μικροβιακά ένζυμα και οι εφαρμογές τους

Ένζυμο	Πηγή	Εφαρμογή	Κλάδος
Αμυλάση (υδρόλυση αμύλου)	Μύκητες	Ψωμί	Αρτοποιία
	Βακτήρια	Επικάλυψη αμύλου	Χαρτοποιία
	Μύκητες	Παρασκευή σιροπών και γλυκόζης	Τροφίμων
	Βακτήρια	Διόγκωση εν ψυχρώ, κόλλα κολλαρίσματος	Αμύλου
	Μύκητες	Υποβοήθηση πέψης	Φαρμάκων
	Βακτήρια	Απομάκρυνση επικάλυψης	Κλωστοϋφαντουργία
Πρωτεάση (υδρόλυση πρωτεϊνών)	Βακτήρια	Απομάκρυνση κηλίδων· απορρυπαντικά	Απορρύπανση
	Μύκητες	Ψωμί	Αρτοποιία
	Βακτήρια	Απομάκρυνση κηλίδων	Στεγνό καθάρισμα
	Βακτήρια	Κατεργασία κρέατος	Κρέατος
	Βακτήρια	Καθαρισμός πληγών	Ιατρική
	Βακτήρια	Απομάκρυνση κόλλας ρούχων	Κλωστοϋφαντουργία
Ινβερτάση (υδρόλυση σακχαρόζης) Οξειδάση της γλυκόζης	Βακτήρια	Οικακά απορρυπαντικά	Απορρύπανση
	Ζυμομύκτας	Ζαχαρωτά με μαλακό εσωτερικό	Ζαχαροπλαστική
	Μύκητες	Απομάκρυνση γλυκόζης, απομάκρυνση οξυγόνου	Τροφίμων
Ισομεράση της γλυκόζης	Βακτήρια	Χαρτί ελέγχου του διαβήτη	Φαρμάκων
	Μύκητες	Σιρόπι αραβοσίτου υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη	Ποτοποιία
Πηκνίνωση	Μύκητες	Συμπίεση, διαύγαση	Οινοποιία, φρουτοχυμών
Ρεννίνη	Μύκητες	Πήξη του γάλακτος	Τυροκομία
Κυτταρινάση	Βακτήρια	Κατεργασία υφασμάτων· απορρυπαντικά	Απορρύπανση
Λιπάση	Μύκητες	Διάσπαση λιπών	Γαλακτοκομία, απορρύπανση
Λακτάση	Μύκητες	Διάσπαση λακτόζης προς γλυκόζη και γαλακτόζη	Γαλακτοκομία, υγιεινή διατροφή
DNA πολυμεράση	Βακτήρια <i>Αρχαία</i>	Αναγραφή του DNA με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR·  Τμήμα 10.17)	Βιολογική έρευνα· ιατροδικαστική



Finnfeeds International

(α)



(β)

**Εικόνα 30.15** Παραδείγματα ακραίων ενζύμων, δηλ. ενζύμων που λειτουργούν σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες. (α) Οξυανθεκτικά ένζυμα. Μείγμα ενζύμων που χρησιμοποιείται ως διατροφικό συμπλήρωμα πτηνοτροφών. Τα ένζυμα δρουν στο στομάχι των πτηνών, αποικοδομώντας ινώδη συστατικά της τροφής, αυξάνοντας τη θρεπτική της αξία και προάγοντας την ταχύτερη αύξησή τους. (β) Θερμοσταθερά ένζυμα. Η θερμική σταθερότητα του ενζύμου πουλλουάνωση, η οποία παράγεται από τον *Pyrococcus woesei*, έναν υπερθερμόφιλο οργανισμό με άριστη ανάπτυξη στους 100°C (🦠 Τμήμα 13.9). Το ασβέστιο βελτιώνει τη θερμική σταθερότητα του εν λόγω ενζύμου.

παράγουν ακραία ένζυμα ονομάζονται **ακραίοφιλοι** (🦠 Πίνακας 2.1), ώστε να γίνεται φανερό ότι πρόκειται για οργανισμούς που αναπτύσσονται άριστα υπό συνθήκες ακατάλληλες για τους περισσότερους μικροοργανισμούς.

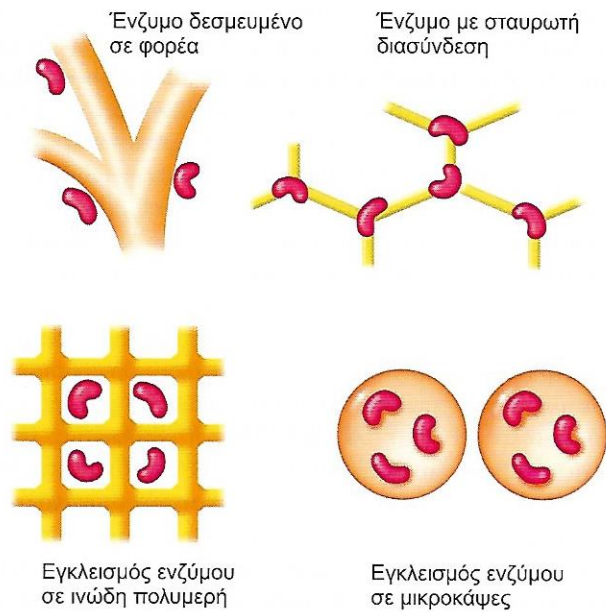
Επειδή πολλές βιομηχανικές διεργασίες λειτουργούν άριστα σε υψηλές θερμοκρασίες, τα ακραία ένζυμα των υπερ-

θερμόφιλων οργανισμών γίνονται ολοένα και πιο χρήσιμα ως βιοκαταλύτες, τόσο στις βιομηχανικές εφαρμογές που παρατίθενται στον Πίνακα 30.4 όσο και σε πολλές ερευνητικές εφαρμογές που απαιτούν τη χρήση ενζύμων. Εκτός από τις DNA πολυμεράσες *Taq* και *Pfu*, που χρησιμοποιούνται στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR· περιγράφηκε στο Τμήμα 10.17), έχουν ακόμη απομονωθεί και χαρακτηριστεί ακραία θερμοσταθερές πρωτεάσες, αμυλάσες, κυτταρινάσες, πουλλουανάσες (Εικόνα 30.15β) και ξυλανάσες διαφόρων υπερθερμόφιλων οργανισμών. Τέτοιοι θερμοανθεκτικοί βιοκαταλύτες, αλλά και ακραία ένζυμα που παραμένουν δραστικά στο ψύχος (προέρχονται από ψυχρόφιλους οργανισμούς), σε υψηλή συγκέντρωση αλάτων (από αλόφιλους) ή σε υψηλό ή χαμηλό pH (από αλκαλεόφιλους ή οξεόφιλους, αντίστοιχα), θα βρουν αναμφίβολα στο μέλλον πολύ περισσότερες βιομηχανικές εφαρμογές που θα απαιτούν βιοκατάλυση υπό ακραίες συνθήκες. Πράγματι, η μεγάλη εξειδίκευση των ενζύμων και η ικανότητά τους να διακρίνουν μεταξύ τους τα χειρομορφικά (χειραλικά) ισομερή καθιστούν όσα λειτουργούν και σε ακραίες συνθήκες ιδιαίτερος σημαντικά για τη χημική βιομηχανία.

### Ακίνητοποιημένα ένζυμα

Σε μερικές βιοκαταλυτικές διεργασίες επιδιώκεται η μετατροπή ευδιάλυτων ενζύμων σε κάποια ακίνητοποιημένη μορφή. Η ακίνητοποίηση δεν διευκολύνει μόνο την εκτέλεση της ενζυμικής αντίδρασης υπό συνθήκες συνεχούς ροής και μεγάλης κλίμακας, αλλά προστατεύει επίσης το ένζυμο από τη μετουσίωση. Η ακίνητοποίηση των ενζύμων επιτυγχάνεται με τρεις διαφορετικές βασικές προσεγγίσεις (Εικόνα 30.16):

1. **Δέσμευση** του ενζύμου σε έναν φορέα. Η δέσμευση μπορεί να επιτευχθεί με προσρόφηση, ιοντικό ή ομοιοπολικό δεσμό. Οι φορείς που χρησιμοποιούνται είναι μεταξύ άλλων τροποποιημένες κυτταρίνες, ενεργοποιημένος άνθρακας, αργιλικά ορυκτά, οξείδιο του αργιλίου και υαλοτρίμματα (Εικόνα 30.16).
2. **Σταυρωτή διασύνδεση (πολυμερισμός)** των ενζυμικών μορίων. Η αμοιβαία σύνδεση των ενζυμικών μορίων επιτυγχάνεται συνήθως μέσω χημικής αντίδρασης με κάποιο σχετικό αντιδραστήριο, όπως τη γλουταραλδεΐδη. Για τη σταυρωτή διασύνδεση των ενζύμων πρέπει να αντιδράσουν χημικά οι αμινομάδες της πρωτεΐνης του ενζύμου με τη γλουταραλδεΐδη. Αν η αντίδραση γίνει σωστά, τα μόρια του ενζύμου μπορούν να συνδεθούν αμοιβαία κατά τρόπο που να διατηρεί το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας του ενζύμου.
3. **Εγκλεισμός του ενζύμου**, κατά τον οποίο το ένζυμο ενσωματώνεται σε μια **ημιπερατή μεμβράνη**. Τα ένζυμα είναι δυνατόν να εγκλειστούν σε μικροκάψες, πήγματα, ημιπερατές μεμβράνες πολυμερών ή ινώδη πολυμερή, όπως η οξική κυτταρίνη (Εικόνα 30.16).



**Εικόνα 30.16** Διεργασίες ακινητοποίησης ενζύμων. Σε όλες τις περιπτώσεις, τα ενζυμικά μόρια υποδεικνύονται με κόκκινο χρώμα.

Κάθε μια από τις μεθόδους αυτές έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Η επιλογή κάθε διεργασίας εξαρτάται από το ένζυμο και το είδος της βιομηχανικής εφαρμογής.

### ✓ 30.9 Έλεγχος εννοιών

Οι μικροοργανισμοί συνιστούν ιδεώδες υλικό για την παραγωγή ενζύμων σε μαζική κλίμακα. Πολλά ένζυμα αξιοποιούνται στη βιομηχανία απορύπανσης για την απομάκρυνση λεκέδων από τα ρούχα, άρα τα θερμοσταθερά και τα αλκαλοεσταθερά ένζυμα εμφανίζουν πολλά πλεονεκτήματα για τον συγκεκριμένο κλάδο. Στις βιοκαταλυτικές διεργασίες υπό ακραίες συνθήκες προτιμούνται ένζυμα προερχόμενα από ακραιόφιλους οργανισμούς. Όταν ένα ένζυμο χρησιμοποιείται σε κάποια διεργασία μεγάλης κλίμακας, μπορεί να είναι σκόπιμη η ακινητοποίησή του μέσω δέσμευσης σε κάποιο αδρανές υλικό.

- ✓ Με ποιον τρόπο χρησιμεύουν τα ένζυμα στη βιομηχανία απορύπανσης;
- ✓ Αναφέρετε συνοπτικά τα ενζυμικά στάδια που οδηγούν στην παρασκευή του σιροπιού υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη που υπάρχει στα μη αλκοολούχα ποτά.
- ✓ Τι είναι ένα ακραίο ένζυμο;

### 30.10 Όξος (ξίδι)

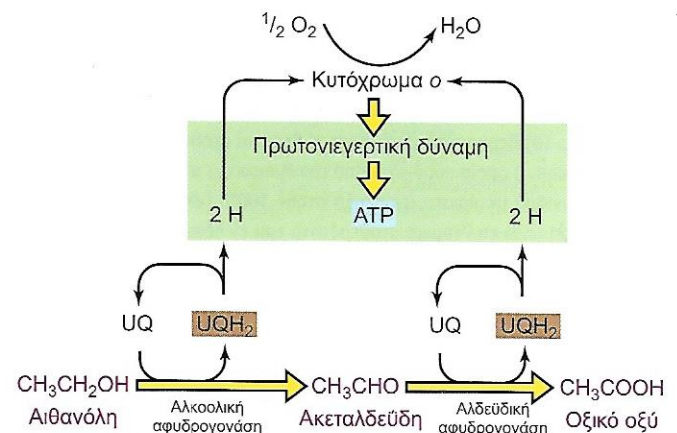
Όξος, το κοινό ξίδι, είναι το προϊόν που παράγεται από τη μετατροπή της αιθυλικής αλκοόλης σε οξικό οξύ με τη δράση των βακτηρίων του οξικού οξέος, που ανήκουν στα γένη *Acetobacter* και *Gluconobacter*. Ξίδι μπορεί να παραχθεί

από οιαδήποτε ουσία περιέχει αιθανόλη, μολονότι ως πρώτη ύλη χρησιμοποιούνται συνήθως το κρασί, η μπίρα ή αλκοολούχος χυμός μήλων (μηλογλεύκος, μηλίτης). Το ξίδι μπορεί επίσης να παραχθεί από μείγμα καθαρής αλκοόλης σε νερό, οπότε ονομάζεται *αποσταγμένο ξίδι*, όπου ο όρος *αποσταγμένο* αναφέρεται στην αλκοόλη από την οποία έχει παραχθεί το προϊόν και όχι στο ίδιο το ξίδι. Το ξίδι χρησιμεύει ως καρύκευμα σε σαλάτες και άλλες τροφές και, λόγω της οξύτητάς του, χρησιμοποιείται επίσης στην παρασκευή τουρσιών. Κρέας και λαχανικά που έχουν υποστεί σωστή επεξεργασία με ξίδι μπορούν να διατηρηθούν για χρόνια, χωρίς ψύξη.

Τα βακτήρια του οξικού οξέος αποτελούν μια ενδιαφέρουσα ομάδα προκαρυωτών (Τμήμα 12.8). Πρόκειται για αυστηρά αερόβιους οργανισμούς, οι οποίοι διαφέρουν από τα περισσότερα άλλα αερόβια βακτήρια ως προς το ότι ορισμένα από αυτά, π.χ. ορισμένα είδη του γένους *Gluconobacter*, δεν οξειδώνουν πλήρως τους οργανικούς ηλεκτρονιοδότες τους προς  $\text{CO}_2$  και νερό (Εικόνα 30.17). Συνεπώς, όταν διοχετευθεί σε αυτούς αιθυλική αλκοόλη ως δότης ηλεκτρονίων, την οξειδώνουν μέσω κινονών προς οξικό οξύ και μόνον, το οποίο συσσωρεύεται στο περιβάλλον μέσο. Τα βακτήρια του οξικού οξέος είναι αρκετά ανθεκτικά στην παρουσία οξέων και δεν θανατώνονται από την οξύτητα που τα ίδια παράγουν. Κατά την αύξησή τους χρειάζονται αυξημένες ποσότητες οξυγόνου, συνεπώς το κύριο πρόβλημα στην παραγωγή ξιδιού είναι η διασφάλιση επαρκούς αερισμού του θρεπτικού μέσου.

### Παραγωγή όξους (ξιδιού)

Υπάρχουν τρεις διαφορετικές διαδικασίες για την παραγωγή ξιδιού. Η διαδικασία της **ανοικτής δεξαμενής (ανοικτού κάδου)**, ή **μέθοδος της Ορλεάνης**, είναι η παραδοσιακή διαδικασία, η οποία χρησιμοποιείται ακόμη και σήμερα στη Γαλλία, όπου και αναπτύχθηκε. Το κρασί τοποθετείται σε ρηχούς κάδους, που επιτρέπουν σημαντικό βαθμό έκθεσης στον ατμοσφαιρικό αέρα, και τα βακτήρια του οξικού οξέος αναπτύσσονται υπό τη μορφή γλοιώδους στρώματος στην

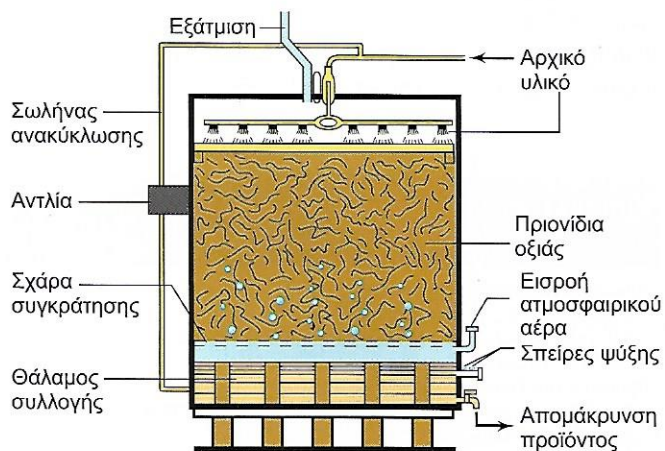


**Εικόνα 30.17** Οξείδωση της αιθανόλης προς οξικό οξύ, η κρίσιμη χημική αντίδραση στη διαδικασία παραγωγής όξους (ξιδιού). UQ, ουβικινόνη.

επιφάνεια του υγρού. Η διαδικασία αυτή δεν είναι ιδιαίτερα αποδοτική, διότι το μόνο μέρος όπου μπορούν τα βακτήρια να έλθουν ταυτόχρονα σε επαφή με τον αέρα και το υπόστρωμα είναι η επιφάνεια. Η δεύτερη διαδικασία ονομάζεται **μέθοδος στάγδην οξοποίησης** (ή **ταχείας οξοποίησης**). Σε αυτήν, η επαφή των βακτηρίων με τον ατμοσφαιρικό αέρα και το υπόστρωμα αυξάνεται με τη στάγδην διέλευση του αλκοολούχου υγρού μέσα από κλαδιά ή πριονίδια οξιάς, χαλαρά συσκευασμένων σε κάδο, ή υπό μορφή στήλης, ενώ διοχετεύεται ρεύμα αέρα από τη βάση προς την κορυφή. Τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται στην επιφάνεια των τεμαχιδίων του ξύλου και έτσι η ταυτόχρονη έκθεσή τους στον ατμοσφαιρικό αέρα και στο υγρό μεγιστοποιείται. Ο κάδος ονομάζεται **γεννήτρια οξους** (Εικόνα 30.18) και η όλη διαδικασία διενεργείται υπό συνεχή λειτουργία. Ο χρόνος ζωής του πριονιδίου σε μια γεννήτρια οξους είναι μεγάλος, από 5 έως 30 χρόνια, και εξαρτάται από το είδος του αλκοολούχου υγρού που χρησιμοποιείται.

Η τρίτη διαδικασία παραγωγής ξιδιού ονομάζεται **μέθοδος των φυσαλλιδών**. Ουσιαστικά πρόκειται για διαδικασία υποβρύχιας ζύμωσης, όπως εκείνη που περιγράψαμε για την παραγωγή αντιβιοτικών. Με σωστό αερισμό, η απόδοση της μεθόδου των φυσαλλιδών είναι υψηλή: το 90-98% της αλκοόλης μετατρέπεται σε οξύ.

Μολονότι το οξικό οξύ παράγεται εύκολα από αλκοόλη, με χημικά μέσα, το μικροβιακό προϊόν, το **ξίδι**, αποτελεί μια ξεχωριστή ουσία, λόγω της γεύσης της, η οποία εν μέρει οφείλεται σε άλλες ουσίες που είτε ενυπάρχουν στην πρώτη ύλη είτε παράγονται κατά τη ζύμωση. Για τον λόγο αυτό, η μικροβιακή διαδικασία, ιδίως η χρήση γεννήτριας οξους, δεν έχει αντικατασταθεί από κάποια χημική διαδικασία.



**Εικόνα 30.18** Σχεδιάγραμμα γεννήτριας οξους. Ο αλκοολούχος χυμός δι-οχετεύεται στάγδην μέσα από πριονίδια, από τη βάση των οποίων διέρχεται αέρας προς τα πάνω. Τα βακτήρια του οξικού οξέος πολλαπλασιάζονται στην επιφάνεια των πριονιδίων και μετατρέπουν την αλκοόλη σε οξικό οξύ. Το διάλυμα του οξικού οξέος συσσωρεύεται στον θάλαμο συλλογής και ανα-κυκλώνεται διά μέσου της γεννήτριας, έως ότου η περιεκτικότητά σε οξικό οξύ ανέλθει τουλάχιστον στο 4%, που είναι η ελάχιστη συγκέντρωση για να μπορεί ένα προϊόν να χαρακτηριστεί ως «ξίδι».

### ✓ 30.10 Έλεγχος εννοιών

Δραστικό συστατικό του οξους (ξιδιού) είναι το οξικό οξύ, το οποίο παράγεται από κάποιο βακτήριο του οξικού οξέος που οξειδώνει έναν αλκοολούχο χυμό φρούτων. Ο επαρκής αερισμός είναι η σημαντικότερη παράμετρος όσον αφορά μια εγγυημένα επιτυχή οξοποίηση.

- ✓ Γιατί είναι απαραίτητο το  $O_2$  για την παραγωγή ξιδιού;
- ✓ Γιατί έχει ιδιαίτερη γεύση το ξίδι που παράγεται με τη μέθοδο της στάγδην οξοποίησης, σε σύγκριση με εκείνο που είναι προϊόν της μεθόδου των φυσαλλιδών;

## 30.11

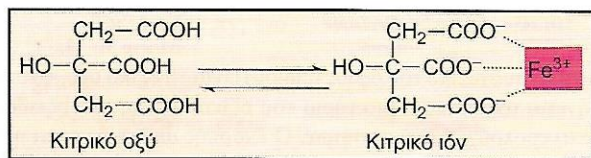
### Κιτρικό οξύ και άλλες οργανικές ενώσεις

Πολλοί μικροοργανισμοί παράγουν οργανικές ενώσεις με ικανοποιητικές αποδόσεις, ώστε να είναι δυνατή η εμπορική παραγωγή τους με ζύμωση. Επί παραδείγματι, το **κιτρικό οξύ**, που χρησιμοποιείται ευρέως σε τρόφιμα και ποτά, το **ιτακονικό οξύ**, που χρησιμοποιείται στην παρασκευή ακρυλικών ρητινών, και το **γλυκονικό οξύ**, που χρησιμοποιείται υπό μορφή γλυκονικού ασβεστίου στη θεραπεία της ανεπάρκειας ασβεστίου στον άνθρωπο και στη βιομηχανία ως αντιδραστήριο πλύσης και αποσκλήρυνσης του νερού, παράγονται από μύκητες. Επιπλέον η **σορβόζη**, που προκύπτει με την οξειδωση της σορβιτόλης από το *Acetobacter*, παράγεται από οξυγαλακτικά βακτήρια (☞ Τμήμα 12.19). Η σορβόζη χρησιμεύει στην παραγωγή **ασκορβικού οξέος** (βιταμίνης C) και **γαλακτικού οξέος**, το οποίο χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων για την οξίνιση τροφίμων και ποτών. Εδώ θα ασχοληθούμε με την παραγωγή του κιτρικού οξέος.

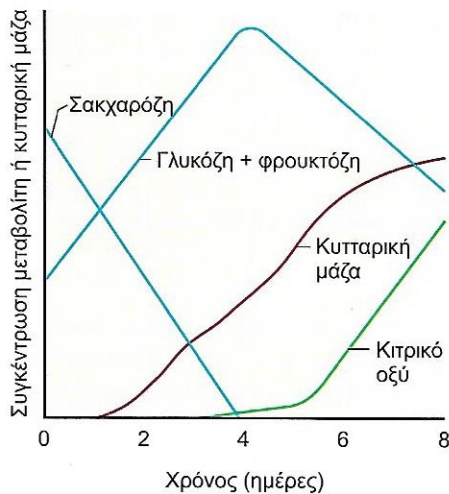
### Κιτρικό οξύ

Το κιτρικό οξύ παράγεται μικροβιολογικά μέσω ζύμωσης, στην οποία συμμετέχει η μούχλα *Aspergillus niger*. Μολονότι το κιτρικό οξύ αναφέρεται συνήθως στο πλαίσιο του κύκλου του κιτρικού οξέος (☞ το Τμήμα 5.13), σε ορισμένους οργανισμούς, όπως στον *A. niger*, μπορεί να προκληθεί έκκριση μεγάλων ποσοτήτων του οξέος αυτού. Η ζύμωση λαμβάνει χώρα αερόβια, σε μεγάλους ζυμωτήρες, ενώ η **ανεπάρκεια σιδήρου** στο θρεπτικό μέσο συνιστά θεμελιώδη προϋπόθεση για την επίτευξη υψηλής απόδοσης, διότι ο μύκητας υπερπαράγει κιτρικό οξύ ως χηλικό παράγοντα για τη δέσμευση σιδήρου (Εικόνα 30.19α). Για τον λόγο αυτό, το χρησιμοποιούμενο μέσο υφίσταται προηγουμένως κατεργασία, ώστε να απομακρυνθεί το μεγαλύτερο μέρος του σιδήρου, αλλά και οι ίδιοι οι ζυμωτήρες είναι κατασκευασμένοι από ανοξείδωτο χάλυβα, ώστε να αποφεύγεται ενδεχόμενη διαρροή ιόντων σιδήρου από τα τοιχώματά τους, λόγω των χαμηλών τιμών pH που προκαλεί η συσσώρευση του οξέος. Τα μέσα που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή κιτρικού οξέος μπορεί να περιέχουν ως πρώτη ύλη μεγάλη ποι-





(α)



(β)

**Εικόνα 30.19** Ζύμωση του κιτρικού οξέος. (α) Δομή του κιτρικού οξέος. Προσέξτε ότι η ιοντισμένη μορφή, το κιτρικό ιόν, περιέχει τρεις καρβοξυλομάδες, οι οποίες μπορούν να σχηματίσουν χειλικό σύμπλοκο με τα ιόντα τρισθενούς σιδήρου ( $\text{Fe}^{3+}$ ). (β) Κινητική της ζύμωσης του κιτρικού οξέος. Η σακχαρόζη διασπάται από το ένζυμο *σακχαράση* προς γλυκόζη και φρουκτόζη. Βλ. κείμενο για περισσότερες λεπτομέρειες.

κιλία ουσιών, όπως άμυλο από πατάτα, προϊόντα υδρόλυσης του αμύλου, σιρόπι γλυκόζης από υδρόλυση αμύλου, σακχαρόζη (Εικόνα 30.19β), σιρόπι ζαχαροκαλάμου, μελάσσα από ζαχαροκάλαμο και από ζαχαρότευτλα. Όταν χρησιμοποιείται άμυλο, αυτό υδrolύεται προς σάκχαρα από την αμυλάση (Πίνακας 30.4), η οποία είτε συντίθεται από τον παραγωγό μύκητα είτε προστίθεται εξωγενώς στο θρεπτικό υλικό της ζύμωσης. Τα σάκχαρα καταβολίζονται μέσω της οδού της γλυκόλυσης (🦋 Τμήμα 5.10) και εισέρχονται στον κύκλο του κιτρικού οξέος, όπου και λαμβάνει χώρα η παραγωγή του οξέος.

Το περισσότερο κιτρικό οξύ παράγεται σήμερα με υποβρύχιες διεργασίες, σε μεγάλους ζυμωτήρες. Επειδή ο *A. niger* είναι αυστηρά αερόβιος οργανισμός, ο καλός αερισμός της καλλιέργειας έχει ιδιαίτερη σημασία για τη συγκεκριμένη ζύμωση. Ο συγκεκριμένος τρόπος παραγωγής του κιτρικού οξέος είναι τυπικός για δευτερογενή μεταβολίτη. Κατά την εκθετική φάση, η σακχαρόζη διασπάται σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Μόλις η καλλιέργεια φθάσει στη στάσιμη φάση, έχουν ήδη συσσωρευθεί πολύ μεγάλες ποσότητες αυτών των δύο εξοζών, οι οποίες μετατρέπονται σε κιτρικό οξύ ώστε να αντιμετωπισθεί η έλλειψη σιδήρου (Εικόνα 30.19).

Από ιστορική άποψη, η ανάπτυξη της υποβρύχιας διαδικασίας παραγωγής κιτρικού οξέος είχε πολύ μεγάλη σημασία, επειδή ήταν η πρώτη *αερόβια* βιομηχανική ζύμωση. Η τεχνολογία κατασκευής αερόβιων ζυμωτήρων τελειοποιήθηκε με βάση τη διαδικασία παραγωγής κιτρικού οξέος. Η τεχνολογία αυτή εφαρμόστηκε κατόπιν στις ζυμώσεις της πενικιλίνης και άλλων σημαντικών αντιβιοτικών ουσιών. Επομένως, ένα μέρος τουλάχιστον της μεγάλης αποτελεσματικότητας των σύγχρονων ζυμώσεων μεγάλης κλίμακας για την παραγωγή αντιβιοτικών οφείλεται στην πρωτοποριακή έρευνα που διεξήχθη σχετικά με τη ζύμωση του κιτρικού οξέος.

### ✓ 30.11 Έλεγχος εννοιών

Ορισμένες οργανικές χημικές ενώσεις παράγονται εμπορικά με τη χρήση μικροοργανισμών. Από τις ενώσεις αυτές, τη μεγαλύτερη οικονομική σημασία έχει το κιτρικό οξύ, το οποίο παράγεται από συγκεκριμένους μύκητες.

- ✓ Γιατί θεωρείται δευτερογενής μεταβολίτη το κιτρικό οξύ που παράγεται από τον *Aspergillus niger* (βλ. Εικόνα 30.19β);
- ✓ Ποια σχέση υπάρχει μεταξύ σιδήρου και κιτρικού οξέος που παράγεται από τον *A. niger*;

## 30.12

### Ο ζυμομύκητας ως παράγοντας ζύμωσης και ως διατροφικό συμπλήρωμα

Οι ζυμομύκητες (ζύμες) ανήκουν στους μικροοργανισμούς με τις περισσότερες βιομηχανικές χρήσεις. Καλλιεργούνται για τα ίδια τα κύτταρά τους, για τα κυτταρικά τους συστατικά, αλλά και για τα τελικά προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης (Εικόνα 30.1 και Πίνακας 30.5). Τα κύτταρα του ζυμομύκητα χρησιμοποιούνται μεταξύ άλλων στην αρτοποιία,

### ΠΙΝΑΚΑΣ 30.5 Βιομηχανικές χρήσεις του ζυμομύκητα και των προϊόντων του<sup>a</sup>

#### Παραγωγή κυττάρων ζυμομύκητα

- Ζύμη αρτοποιίας, για την παρασκευή ψωμιού
- Ζύμη αφυδατωμένων τροφών, ως θρεπτικό συμπλήρωμα
- Ζύμη αφυδατωμένων ζωοτροφών, ως ζωοτροφή

#### Προϊόντα του ζυμομύκητα

- Εκχύλισμα ζυμομύκητα, ως θρεπτικό μέσο μικροβιακών καλλιέργειών
- Βιταμίνες Β, Βιταμίνη D
- Ένζυμα για τη βιομηχανία τροφίμων: ινβερτάση (σακχαράση), γαλακτοζιτάση
- Αντιδραστήρια βιοχημικής έρευνας: ATP, NAD<sup>+</sup>, RNA

#### Προϊόντα ζύμωσης του ζυμομύκητα

- Αιθανόλη, ως βιομηχανική αλκοόλη και ως συμπλήρωμα της βενζίνης
- Γλυκερόλη

#### Αλκοόλη ποτών

- Μπίρα, κρασί

#### Αποσταγμένα ποτά

- Ουίσκι, μπράντυ, βότκα, ρούμι

<sup>a</sup> 🦋 ένθετο Τα προϊόντα καλλιέργειας των ζυμομυκήτων, Κεφάλαιο 5.

αλλά και ως πηγή τροφίμων, βιταμινών και άλλων αυξητικών παραγόντων. Αν και η βιομηχανική παραγωγή αλκοόλης επιτυγχάνεται με τη μεγάλης κλίμακας ζύμωση του ζυμομύκητα, εν τούτοις ο μικροοργανισμός αυτός είναι πιο γνωστός για τον ρόλο που παίζει στην παρασκευή αλκοολούχων ποτών: μπίρας, κρασιού κ.λπ. (ένθετο Τα προϊόντα καλλιέργειας των ζυμομυκήτων, Κεφάλαιο 5).

Η παραγωγή κυττάρων ζυμομύκητα και η παραγωγή αλκοόλης μέσω της ζύμωσής του είναι, από βιομηχανική άποψη, δύο εντελώς διαφορετικές διαδικασίες, υπό την έννοια ότι η πρώτη προϋποθέτει την παρουσία οξυγόνου για τη βέλτιστη παραγωγή κυτταρικού υλικού, ενώ η αλκοολική ζύμωση είναι αναερόβια διαδικασία. Ωστόσο, σχεδόν σε όλες αυτές τις βιομηχανικές διαδικασίες χρησιμοποιείται το ίδιο, ή παραπλήσια είδη ζυμομυκήτων, όλα παράγωγα του *Saccharomyces cerevisiae*.

**Παραγωγή κυττάρων ζυμομύκητα**

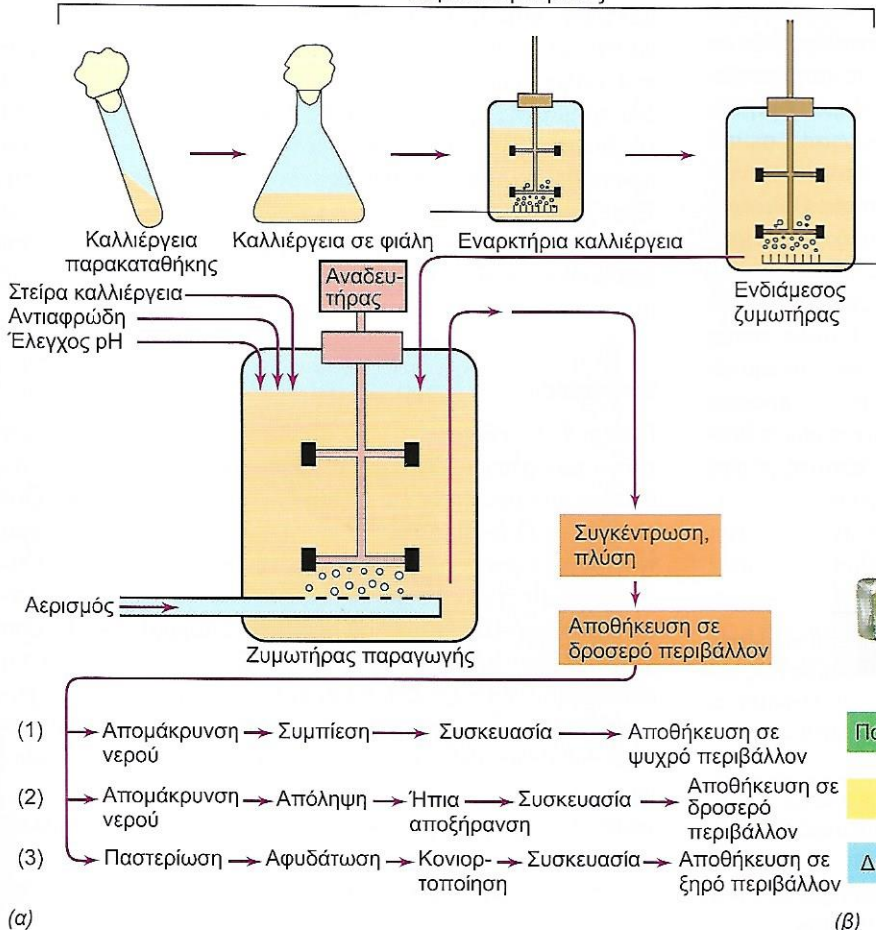
Οι αρτοποιοί χρησιμοποιούν τον ζυμομύκητα ως αντιδραστήριο διόγκωσης του ζυμαριού πριν το ψήσιμο. Μια δευτερεύουσα συνεισφορά του ζυμομύκητα στην παρασκευή του ψωμιού είναι ότι του προσδίδει άρωμα. Κατά τη διαδικασία διόγκωσης, ο ζυμομύκητας αναμειγνύεται με υγρό ζυ-

μάρι παρουσία και μικρής ποσότητας ζάχαρης. Ο ζυμομύκητας μετατρέπει τη ζάχαρη σε αλκοόλη και CO<sub>2</sub>, το οποίο διαστέλλεται προκαλώντας διόγκωση του ζυμαριού. Όταν το ψωμί ψηθεί, η θερμότητα απομακρύνει το CO<sub>2</sub> και την αλκοόλη, δημιουργώντας κοιλότητες μέσα στο ψωμί και προσδίδοντάς του χαρακτηριστική υφή.

Ο ζυμομύκητας, είτε προορίζεται για την αρτοποιία είτε για διατροφικούς σκοπούς, καλλιεργείται σε μεγάλους αερισόμενους ζυμωτήρες, σε θρεπτικό μέσο που έχει ως κύριο συστατικό μελάσσες. Οι μελάσσες περιέχουν μεγάλες ποσότητες ζάχαρης, η οποία αφ' ενός λειτουργεί ως πηγή άνθρακα και ενέργειας και αφ' ετέρου περιέχει ιχνοστοιχεία, βιταμίνες και αμινοξέα, που χρησιμοποιούνται από τον ζυμομύκητα. Για την παρασκευή ενός πλήρους θρεπτικού υλικού αύξησης του ζυμομύκητα απαιτείται η προσθήκη φωσφορικού οξέος (πηγής φωσφόρου) και θειικού αμμωνίου (πηγής αζώτου και θείου).

Οι ζυμωτήρες που παράγουν ζυμομύκητες κυμαίνονται σε όγκο από 40.000 ως 200.000 λίτρα. Έως ότου παρασκευαστεί, με αφετηρία μια καθαρή καλλιέργεια, υλικό σε επαρκή ποσότητα για τον ενοφθαλμισμό του τελικού σταδίου ζύμωσης, απαιτούνται πολλά ενδιάμεσα στάδια (Εικόνα 30.20α). Η προσθήκη όλης της μελάσσας στον ζυμωτήρα διαμιάς δεν είναι σκόπιμη, επειδή αυτό θα κατάλυγε σε περισ-

Μεγέθυνση κλίμακας



**Εικόνα 30.20** Βιομηχανική παραγωγή κυττάρων ζυμομύκητα. (α) Στάδια παραγωγής. Στον ζυμωτήρα προστίθενται αντιφρώδη αντιδραστήρια, ώστε να παρεμποδιστεί ο σχηματισμός υπερβολικού αφρού στην επιφάνεια του μέσου κατά τον αερισμό και την ανάδευσή του. (β) Κοινά προϊόντα ζυμομύκητα του εμπόριου: πάστα ζύμης, φακελάκια με ενεργή ξηρά ζύμη, συσκευασμένοι διατροφικοί ζυμομύκητας σε δισκία.



Barton Spear

σεια ζάχαρης, και ο ζυμομύκητας θα ζύμωνε ένα τμήμα αυτής της ζάχαρης προς αλκοόλη και CO<sub>2</sub> αντί να το χρησιμοποιήσει για την παραγωγή κυττάρων. Συνεπώς, αρχικά προστίθεται μικρή ποσότητα μελάσσας και κατόπιν, καθώς η καλλιέργεια του ζυμομύκητα αναπτύσσεται και καταναλώνει τα σάκχαρα, προστίθεται επιπλέον μελάσσα.

Στο τέλος της αυξητικής φάσης, τα κύτταρα του ζυμομύκητα ανακτώνται από το θρεπτικό μέσο με φυγοκέντριση. Τα κύτταρα υποβάλλονται σε έκπλυση μέσω αιώρησης σε νερό και φυγοκεντρίζονται έως ότου γίνουν ανοικτόχρωμα. Οι ζύμες της αρτοποιίας κυκλοφορούν στο εμπόριο με δύο τρόπους, είτε ως πεπιεσμένη πάστα είτε υπό μορφή ξηρής σκόνης. Η πάστα *πεπιεσμένης ζύμης* (Εικόνα 30.20β) παρασκευάζεται όταν αναμειξουμε φυγοκεντρισμένα κύτταρα ζυμομύκητα με γαλακτοματοποιητικά αντιδραστήρια, άμυλο και άλλα πρόσθετα που της προσδίδουν την κατάλληλη υφή και επιτρέπουν εύλογο χρόνο αποθήκευσης. Κατόπιν, το προϊόν μορφοποιείται σε κύβους ή ταμπλέτες ποικίλου μεγέθους για οικιακή ή εμπορική χρήση. Η πάστα πεπιεσμένης ζύμης περιέχει υγρασία σε ποσοστό 70% περίπου, συνεπώς πρέπει να φυλάσσεται σε ψυγείο, ώστε να διατηρείται η ενεργότητα του μύκητα. Ο ζυμομύκητας που πωλείται υπό τη μορφή ξηρής σκόνης για την παρασκευή γλυκισμάτων ονομάζεται συνήθως *ενεργή ξηρά ζύμη* (Εικόνα 30.20β). Ο ζυμομύκητας που προκύπτει από τη φυγοκέντριση αναμειγνύεται με πρόσθετα και ξηραίνεται σε κενό αέρος έως ότου η υγρασία του μειωθεί στο 8% περίπου. Κατόπιν, συσκευάζεται σε αεροστεγή δοχεία, όπως χαρτόνια ή σάκους με πολλαπλά τοιχώματα, ενίοτε σε ατμόσφαιρα αζώτου ώστε να επιμηκυνθεί ο χρόνος ασφαλούς αποθήκευσης. Η ενεργή ξηρά ζύμη δεν είναι εξίσου δραστική ως αντιδραστήριο διόγκωσης, σε σύγκριση με την πεπιεσμένη νωπή ζύμη, αλλά μπορεί να αποθηκευτεί για πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Ο *διατροφικός ζυμομύκητας*, που πωλείται ως διατροφικό συμπλήρωμα (Εικόνα 30.20β), είναι αδρανοποιημένος με θέρμανση, και συνήθως αφυδατωμένος. Τα κύτταρα του ζυμομύκητα είναι πλούσια σε βιταμίνες του συμπλέγματος Β, αλλά και σε πρωτεΐνες, εκτός από εκείνα που αποτελούνται από αμινοξέα που περιέχουν θείο. Ο ζυμομύκητας μπορεί να προστεθεί σε αλεύρι σίτου ή αραβοσίτου, ώστε να αυξηθεί η θρεπτική αξία αυτών των τροφών, ενώ πωλείται και υπό μορφή δισκίων ως υγιεινή τροφή (Εικόνα 30.20β).

### ✓ 30.12 Έλεγχος εννοιών

Κύτταρα του ζυμομύκητα καλλιεργούνται για να χρησιμοποιηθούν στην αρτοποιία και τη βιομηχανία τροφίμων. Ο ζυμομύκητας παράγεται εμπορικά σε μεγάλης κλίμακας αεριζόμενους ζυμοτήρες, στους οποίους χρησιμοποιείται μελάσσα ως κύρια πηγή άνθρακα και ενέργειας.

- ✓ Συντάξτε μια χημικά ισορροπημένη αντίδραση που να αναπαριστά τη δράση του ζυμομύκητα κατά την παρασκευή ψωμιού.
- ✓ Γιατί είναι σημαντικό να τηρούνται στον ζυμοτήρα αερόβιες συνθήκες κατά την παραγωγή *κυττάρων* ζυμομύκητα;

## 30.13

### Αλκοόλη και αλκοολούχα ποτά

Η χρήση του ζυμομύκητα στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών είναι μια πανάρχαια διαδικασία. Οι περισσότεροι χυμοί φρούτων υφίστανται κάποια διαδικασία φυσικής ζύμωσης, προκαλούμενη από φυσικές (άγριες) ζύμες που απαντούν στα φρούτα. Από τέτοιες φυσικές ζυμώσεις έχουν επιλεγεί ζυμομύκητες για χρήση σε συνθήκες ελεγχόμενης παραγωγής και σήμερα οι βιομηχανίες παραγωγής αλκοολούχων ποτών συγκροτούν έναν μεγάλο κλάδο της παγκόσμιας μεταποίησης. Σημαντικότερα οινοπνευματώδη ποτά είναι: τα *κρασιά*, τα οποία παράγονται με τη ζύμωση χυμού φρούτων· οι *μπύρες*, που παράγονται με τη ζύμωση βυογλεύκου δημητριακών· και τα *αποσταγμένα ποτά*, που παρασκευάζονται από αλκοόλη προερχόμενη από ζύμωση, μέσω συμπόκνωσης της με απόσταξη. Η βιοχημεία της αλκοολικής ζύμωσης αναλύθηκε στο Τμήμα 5.10.

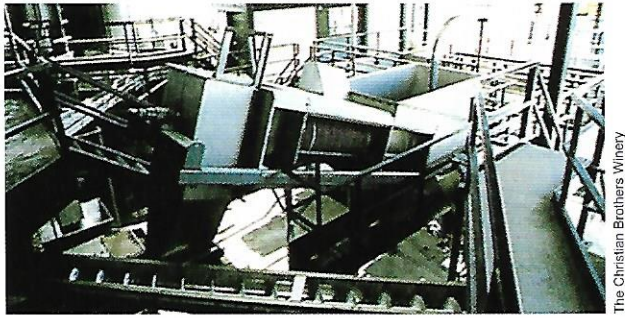
#### Ποικιλίες κρασιών

Τα περισσότερα κρασιά παράγονται από σταφύλια, επομένως η οινοποιία γνωρίζει ανάπτυξη στις περιοχές του πλανήτη όπου η αμπελοργία διενεργείται με οικονομικά ανταγωνιστικούς όρους (Εικόνα 30.21). Υπάρχει μεγάλος αριθμός διαφορετικών κρασιών, των οποίων η ποιότητα και ο χαρακτήρας ποικίλλουν ευρύτατα. Τα *ξηρά κρασιά* είναι εκείνα στα οποία η ζάχαρη του φρουτοχυμού έχει υποστεί πρακτικά ολική ζύμωση· αντίθετα, στα *γλυκά κρασιά* παραμένει ένα τμήμα της αρχικής ζάχαρης ή προστίθεται ζάχαρη μετά τη ζύμωση. Ένα *ενισχυμένο κρασί* είναι εκείνο στο οποίο έχει προστεθεί κονιάκ ή άλλο αλκοολούχο ποτό μετά τη ζύμωση. Ένας *αφρώδης οίνος*, όπως ο καμπανίτης (σαμπάνια), είναι ένα κρασί που περιέχει σημαντικές ποσότητες διοξειδίου του άνθρακα το οποίο προέρχεται από μια τελική φάση ζύμωσης μέσα στη σφραγισμένη φιάλη.

#### Οινοποίηση

Η παραγωγή κρασιού ξεκινά στις αρχές φθινοπώρου με τον τρύγο των σταφυλιών. Ειδικά μηχανήματα προκαλούν σύνθλιψη των σταφυλιών και εκροή του χυμού, που ονομάζεται *γλεύκος* (μούστος). Ανάλογα με το είδος των σταφυλιών και τον τρόπο παρασκευής του γλεύκου μπορεί να παραχθεί είτε άσπρο είτε κόκκινο κρασί (Εικόνα 30.22). Το άσπρο κρασί παράγεται είτε από άσπρα σταφύλια είτε από κόκκινα που έχουν ξεφλουδιστεί, διότι το υλικό που δίνει την κόκκινη απόχρωση βρίσκεται στη φλούδα του σταφυλιού. Όταν παράγεται κόκκινο κρασί, τα *τάμπουρα* (φλούδες και κουκούτσια των σταφυλιών, τμήματα από τα κοτσάνια) δεν απομακρύνονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Πέραν της διαφοράς του χρώματος, τα κόκκινα κρασιά έχουν εντονότερη γεύση από τα άσπρα, λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς τους σε *ταννίνες*, χημικές ουσίες οι οποίες εκχυλίζονται από τα φλούδια στον χυμό κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.

Οι ζυμομύκητες που χρησιμοποιούνται στη ζύμωση του κρασιού είναι δύο ειδών: οι αποκαλούμενοι φυσικοί (άγριοι) ζυμομύκητες, που υπάρχουν στα σταφύλια του κλίματος και μεταφέρονται στον μούστο, και ο καλλιιεργούμενος ζυμομύκητας οиноποίησης *Saccharomyces ellipsoideus*, ο οποίος προστίθεται στον χυμό για να αρχίσει η ζύμωση. Οι φυσικοί ζυμομύκητες έχουν μικρότερη αντοχή στην



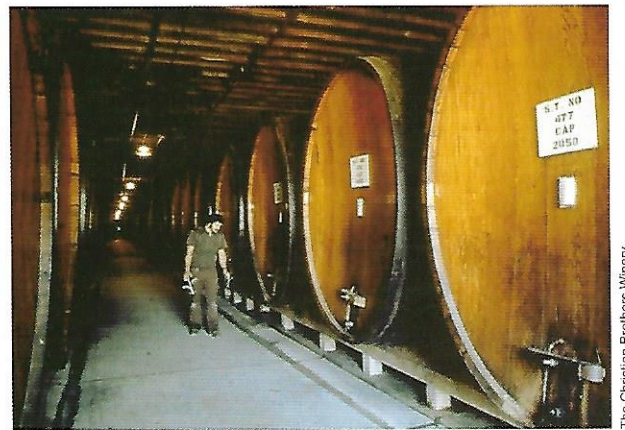
The Christian Brothers Winery

(α)



The Christian Brothers Winery

(β)



The Christian Brothers Winery

(γ)

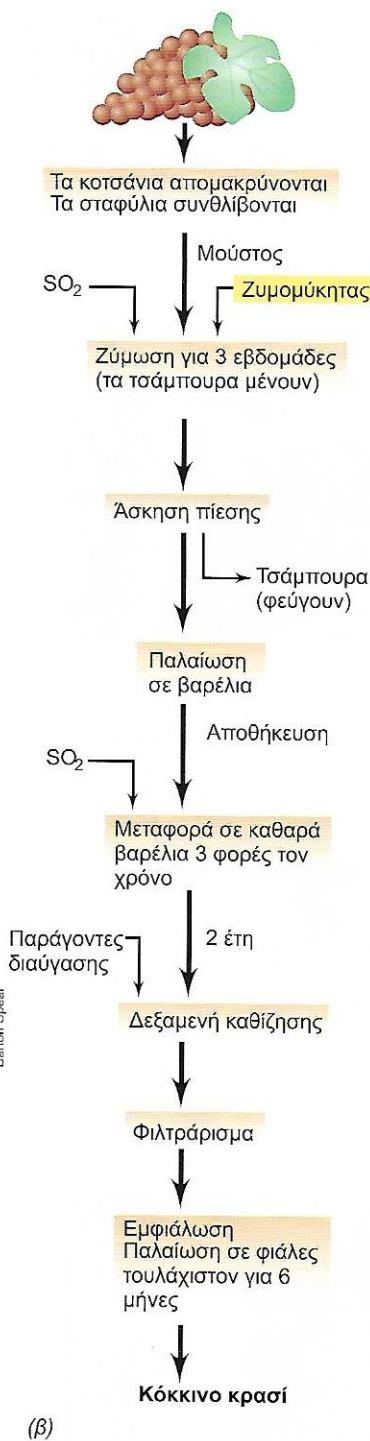
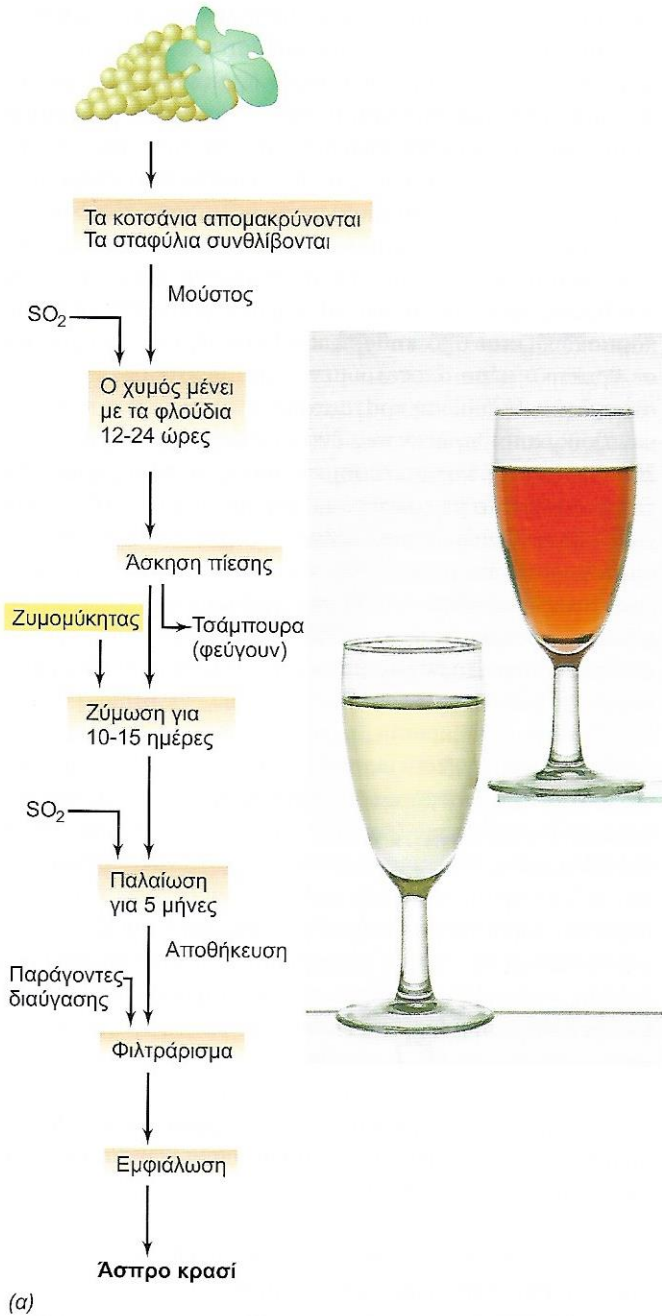
**Εικόνα 30.21** Μονάδα οиноποίησης στην Καλιφόρνια (ΗΠΑ). (α) Εξοπλισμός για τη μεταφορά σταφυλιών στο οινόπνευμα, για σύνθλιψη. (β) Μεγάλες δεξαμενές όπου λαμβάνει χώρα η κυρία οινόπνευματική ζύμωση. (γ) Βαρέλια όπου γίνεται η παλαίωση.

αλκοόλη, σε σύγκριση με τους ζυμομύκητες του εμπορίου, ενώ συχνά παράγουν επίσης ανεπιθύμητες ενώσεις που επηρεάζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Για τον λόγο αυτό, στα περισσότερα οινόπνευμα οι φυσικοί ζυμομύκητες του γλεύκου θανατώνονται με την προσθήκη διοξειδίου του θείου (πρόκειται για τα «θειώδη» που αναγράφονται στις φιάλες του κρασιού) σε συγκέντρωση περίπου 100 ppm (μέρη ανά εκατομμύριο). Ο *Saccharomyces ellipsoideus*, που αντέχει τέτοια επίπεδα συγκέντρωσης διοξειδίου του θείου, προστίθεται ως καλλιέργεια εκκίνησης, η οποία παρασκευάζεται από καθαρή καλλιέργεια του ζυμομύκητα σε θρεπτικό μέσο αποτελούμενο από αποστειρωμένο χυμό σταφυλιών. Η ζύμωση πραγματοποιείται σε δοχεία ποικίλου μεγέθους, από βαρέλια των 200 λίτρων έως δεξαμενές των 200.000 λίτρων, κατασκευασμένα από ξύλο οξιάς, τσιμέντο, πέτρα ή μέταλλο με εσωτερική επίστρωση υάλου (βλ. Εικόνα 30.21β). Ο ζυμοτήρας πρέπει να είναι έτσι κατασκευασμένος, ώστε να μπορούν να απομακρύνονται οι μεγάλες ποσότητες διοξειδίου του άνθρακα που παράγονται κατά τη ζύμωση, χωρίς να εισέρχεται αέρας, κάτι που επιτυγχάνεται αν εξοπλίσουμε το δοχείο με ειδικό εναλλακτήρα (βαλβίδα) μονής κατεύθυνσης.

Στα κόκκινα κρασιά, μετά από 3-5 ημέρες ζύμωσης έχουν εκχυλιστεί επαρκείς ποσότητες ταννινών και χρώματος από τα τσάμπουρα και το κρασί μεταφέρεται σε νέα δεξαμενή για περαιτέρω ζύμωση, που συνήθως διαρκεί μία ή δύο εβδομάδες. Το επόμενο στάδιο ονομάζεται *αποθήκευση*: σε αυτό, το κρασί χωρίζεται από το ίζημα, που περιέχει κύτταρα του ζυμομύκητα και ουσίες που έχουν καθιζάνει, και αποθηκεύεται σε χαμηλή θερμοκρασία ώστε να υποστεί παλαίωση, περαιτέρω διαύγαση και να διαμορφωθεί η γεύση του. Η διαύγαση μπορεί να επισπευσθεί είτε με την προσθήκη των αποκαλούμενων *αντιδραστηρίων «ραφινάρισματος»*, όπως είναι η καζεΐνη, οι ταννίνες ή ο μπεντονίτης, είτε με το φιλτράρισμά του με γη διατόμων ή μεμβρανικούς ηθμούς. Κατόπιν, το κρασί εμφιαλώνεται και αποθηκεύεται εκ νέου, για περαιτέρω παλαίωση, ή διατίθεται προς πώληση. Το κόκκινο κρασί παλαιώνεται συνήθως για χρόνια, ενδεχομένως πολλά (Εικόνα 30.21γ), ενώ το άσπρο συνήθως διοχετεύεται στο εμπόριο χωρίς ιδιαίτερη παλαίωση. Κατά την παλαίωση λαμβάνουν χώρα περίπλοκες χημικές μεταβολές, συμπεριλαμβανομένης της αναγωγής διαφόρων πικρών ενώσεων, κάτι που καταλήγει στη βελτίωση της γεύσης και του αρώματος, τα οποία συλλογικά ονομάζονται *μπουκέτο*. Η τελική περιεκτικότητα ενός κρασιού σε αλκοόλη κυμαίνεται από 6% ως 14%· αυτό εξαρτάται από την περιεκτικότητα των σταφυλιών σε σάκχαρα, τη διάρκεια της ζύμωσης και το στέλεχος του ζυμομύκητα οινόπνευμα που χρησιμοποιήθηκε.

### Ζυθοποίηση

Η παρασκευή αλκοολούχων ποτών από βύνη δημητριακών ονομάζεται γενικά αλκοολική ζύμωση και ειδικότερα *ζυθοποίηση*. Τα τυπικά είδη ζύθου είναι: η κοινή μπίρα, η μπίρα τύπου *έιλ* (ale), η μπίρα τύπου *πόρτερ* (porter) και η μπίρα



**Εικόνα 30.22** Παραγωγή κρασιού. (α) Άσπρο κρασί. Τα άσπρα κρασιά μπορεί να ποικίλουν ως προς το χρώμα από σχεδόν άχρωμα έως αχυρόχρωμα, ανάλογα με το είδος των σταφυλιών που χρησιμοποιήθηκαν. (β) Κόκκινο κρασί. Το χρώμα στα κόκκινα κρασιά μπορεί να ποικίλλει από ανοικτό ερυθρό ως το βαθύ κόκκινο του ρουμπινιού. Στη φωτογραφία βλέπουμε ένα ποτήρι με τυπικό άσπρο κρασί (αριστερά) και ένα ποτήρι με ανοικτό κόκκινο κρασί (ροζέ, δεξιά).

τύπου *στάουτ* (stout). Η *βύνη* παρασκευάζεται από σπόρους κριθαριού που έχουν βλαστήσει και περιέχει φυσικά ένζυμα τα οποία υδρολύουν το άμυλο των σπόρων αυτών και το μετατρέπουν σε σάκχαρα. Η διαδικασία παρασκευής της βύνης έχει ζωτική σημασία για τη δημιουργία υλικού από σπόρους δημητριακών που επιδέχεται ζύμωση, διότι ο ζυμομύκητας δεν μπορεί να υδρολύσει το άμυλο (Εικόνα 3.6β).

Το ζυμώσιμο υγρό από το οποίο παρασκευάζονται οι μπίρες παράγεται μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται χυ-

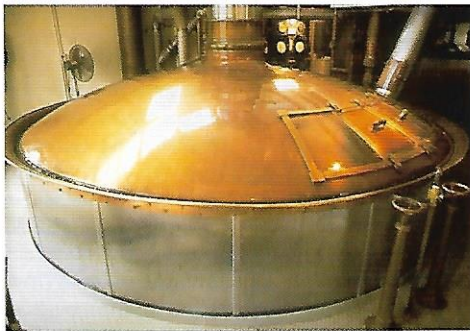
λοποίηση (mashing). Ο χυλός (mash) μπορεί να απαρτίζεται μόνον από κόκκους κριθαριού ή να περιέχει και κόκκους άλλων δημητριακών (αραβοσίτου, ρυζιού ή σιταριού). Το μείγμα των συστατικών του χυλού θερμαίνεται σε μεγάλες δεξαμενές και αφήνεται να επωαστεί σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες. Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, τα ένζυμα που περιέχονται στον χυλό προκαλούν υδρόλυση του αμύλου και απελευθερώνουν σάκχαρα, τα οποία θα υποστούν ζύμωση από τον ζυμομύκητα. Επίσης, απελευθερώνονται στο υγρό

πρωτεΐνες και αμινοξέα, καθώς και άλλα θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για την αύξηση του ζυμομύκητα.

Μετά τη θέρμανση, το υδαρές εκχύλισμα που ονομάζεται *βυνογλεύκος* (*wort*) διαχωρίζεται από τους φλοιούς και τα λοιπά κατάλοιπα των κόκκων της βύνης. Στο στάδιο αυτό προστίθεται ο *λυκίσκος* (*hop*), που προέρχεται από τα θηλυκά άνθη του ομώνυμου φυτού. Ο λυκίσκος αποτελεί αρωματικό συστατικό της μπίρας, αλλά ταυτόχρονα έχει και αντιμικροβιακές ιδιότητες, οι οποίες πιθανότατα υποβοηθούν την αποφυγή επιμολύνσεων κατά τη ζύμωση που επακολουθεί. Το βυνογλεύκος υποβάλλεται επί πολλές ώρες σε βρασμό, συνήθως σε χάλκινα δοχεία (Εικόνα 30.23α, β). Με τον βρασμό εκχυλίζονται από τον λυκίσκο τα επιθυμητά συστατικά για τη μπίρα, μετουσιώνονται και απομακρύνονται οι πρωτεΐνες του βυνογλεύκου, οι οποίες δεν ευνοούν τη σταθερότητα του παρασκευαζόμενου ποτού, και το βυνογλεύκος αποστειρώνεται. Τέλος, το βυνογλεύκος διηθείται εκ νέου, ψύχεται και μεταφέρεται στο δοχείο ζύμωσης.

Υπάρχουν δύο κύρια στελέχη ζυμομυκήτων ζυθοποιίας: οι ζυμομύκητες επιφανείας και οι ζυμομύκητες βυθού. Σημαντικότερη διάκριση μεταξύ τους είναι ότι οι **ζυμομύκητες επιφανείας** κατανέμονται ομοιόμορφα στο υπό ζύμωση βυνογλεύκος και μεταφέρονται στην επιφάνεια από το αέριο

CO<sub>2</sub> που παράγεται κατά τη ζύμωση, ενώ οι **ζυμομύκητες βυθού** καθιζάνουν στον πυθμένα. Οι ζυμομύκητες επιφανείας χρησιμοποιούνται στην παρασκευή μπίρας τύπου *έιλ*: οι ζυμομύκητες βυθού χρησιμεύουν στην παρασκευή μπίρας τύπου *λάγκερ*. Οι ζυμομύκητες βυθού αναφέρονται συνήθως με τη συστηματική ονομασία *Saccharomyces carlsbergensis*, ενώ οι ζυμομύκητες επιφανείας με τη συστηματική ονομασία *Saccharomyces cerevisiae*. Η ζύμωση από ζυμομύκητες επιφανείας λαμβάνει συνήθως χώρα σε υψηλότερες θερμοκρασίες (14-23°C) από εκείνη των ζυμομυκήτων βυθού (6-12°C), και ολοκληρώνεται σε βραχύτερο χρόνο (5-7 ημέρες, έναντι 8-14 ημερών για τους ζυμομύκητες βυθού). Μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης της μπίρας τύπου *λάγκερ* από τους ζυμομύκητες βυθού, το αλκοολούχο ποτό αποθηκεύεται σε μεγάλες δεξαμενές, σε χαμηλή θερμοκρασία (περίπου -1°C), επί πολλές εβδομάδες (Εικόνα 30.23γ). Μετά τη διαδικασία ζυθοποίησης γίνεται διήθηση και μεταφορά της μπίρας σε δεξαμενές αποθήκευσης, απ' όπου αντλείται για την εμφιάλωσή της. Η μπίρα τύπου *έιλ* που έχει ζυμωθεί από ζυμομύκητες επιφανείας μπορεί να αποθηκευτεί για σύντομο χρονικό διάστημα μόνο, σε υψηλότερες θερμοκρασίες (4-8°C), οι οποίες υποβοηθούν την ανάπτυξη του χαρακτηριστικού αρώματος αυτού του τύπου μπίρας.



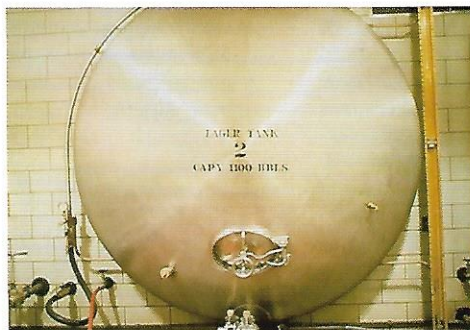
(α)

Busch Creative Services, Anheuser-Busch Company



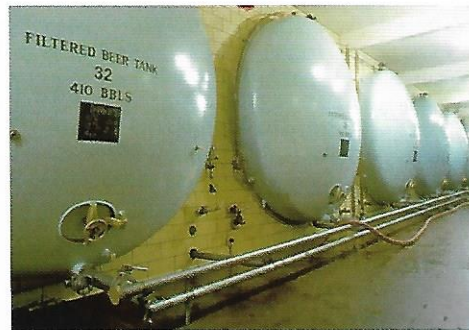
(β)

Busch Creative Services, Anheuser-Busch Company



(γ)

Busch Creative Services, Anheuser-Busch Company



(δ)

Busch Creative Services, Anheuser-Busch Company

**Εικόνα 30.23** Παραγωγή μπίρας σε μονάδα ζυθοποιίας. (α, β) Το βυνογλεύκος αναμειγνύεται με λυκίσκο σε χάλκινα καζάνια ζυθοποίησης και κατόπιν υποβάλλεται σε βρασμό. Το υγρό μεταφέρεται από το καζάνι σε μεγάλους ζυμωτήρες, όπου ο ζυμομύκητας εκτελεί τη ζύμωση της γλυκόζης προς αιθανόλη και CO<sub>2</sub>. (γ) Για την παρασκευή μπίρας τύπου *λάγκερ* απαιτείται η αποθήκευση επί πολλές εβδομάδες σε δεξαμενές, και σε χαμηλή θερμοκρασία, όπου καθιζάνουν τα σωματιδιακά υλικά του υγρού, συμπεριλαμβανομένων των κυττάρων του ζυμομύκητα. (δ) Στη συνέχεια, η μπίρα διηθείται και διοχετεύεται σε δεξαμενές αποθήκευσης, απ' όπου συσκευάζεται σε βαρελάκια, φιάλες ή κιάτια.

Περισσότερες πληροφορίες για τη διαδικασία ζυθοποίησης υπάρχουν παρακάτω, στο ένθετο *Ζυθοποίηση κατ' οίκον*.

### Αποσταγμένα αλκοολούχα ποτά

Τα αποσταγμένα αλκοολούχα ποτά παρασκευάζονται όταν θερμάνουμε ένα υγρό (που έχει ήδη υποστεί ζύμωση) σε τόσο υψηλή θερμοκρασία, ώστε να εξαερωθεί το μεγαλύτερο μέρος της περιεχόμενης αλκοόλης. Κατόπιν, η αλκοόλη συμπυκνώνεται και συλλέγεται, διαδικασία γνωστή ως *απόσταξη*. Μέσω της διαδικασίας αυτής είναι δυνατή η παρασκευή ενός προϊόντος με πολύ υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλη απ' ό,τι είναι εφικτό μέσω άμεσης ζύμωσης. Ουσιαστικά κάθε αλκοολούχο ποτό επιδέχεται απόσταξης, δίνοντας ένα διαφορετικό χαρακτηριστικό αλκοολούχο ποτό. Η απόσταξη βυνογλεύκους δίνει το *ουϊσκι*, η απόσταξη κρασιού δίνει το

*μπράντυ*, η απόσταξη ζυμωμένης μελάσσας δίνει το *ρούμι*, η απόσταξη ζυμωμένων δημητριακών ή πατάτας δίνει τη *βότκα* και η απόσταξη δημητριακών και κυπαρισσόμηλων δίνει το *τζίν* (Εικόνα 30.24).

Το απόσταγμα, εκτός από την αλκοόλη περιέχει και άλλα πτητικά προϊόντα, που προκύπτουν είτε από τη ζύμωση με τον ζυμομύκητα είτε από τα ίδια τα συστατικά του αρχικού ποτού. Ορισμένα από τα προϊόντα αυτά είναι επιθυμητά, διότι προσδίδουν άρωμα, ενώ άλλα είναι ανεπιθύμητα. Για να απομονωθούν τα τελευταία, το προϊόν της απόσταξης υποβάλλεται σχεδόν πάντοτε σε παλαίωση, κατά κανόνα σε ξύλινα βαρέλια. Κατά την παλαίωση απομακρύνονται τα ανεπιθύμητα προϊόντα και αναπτύσσονται νέα αρωματικά συστατικά. Το άρτι παρασκευασμένο απόσταγμα είναι συνήθως άχρωμο, ενώ το παλαιωμένο προϊόν έχει συχνά καστανό ή κίτρινο χρώμα (Εικόνα 30.24). Ο χαρακτήρας του τε-

## Τεχνικές & εφαρμογές...

## Ζυθοποίηση κατ' οίκον<sup>1</sup>

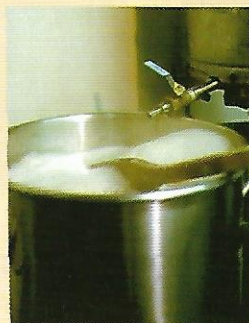
Ο ερασιτέχνης ζυθοποιός μπορεί να παρασκευάσει πολλά είδη μπίρας, από την «αγγλική πικρή» και την «ωχρή έιλ της Ινδίας» ως τη «μαύρη γερμανική μποκ» και τη «ρωσική αυτοκρατορική στάουτ». Είναι εύκολο να προμηθευτεί κανείς τον απαραίτητο εξοπλισμό και τις πρώτες ύλες, συμπεριλαμβανομένου του ζυμομύκητα, από κάποιο τοπικό ζυθοποιείο ή οιοποιήσιο.

Η διαδικασία της ζυθοποίησης μπορεί να διαχωριστεί σε τρία βασικά στάδια: την παρασκευή του βυνογλεύκους, την εκτέλεση της ζύμωσης, την εμφιάλωση και ωρίμανση. Ο χαρακτήρας κάθε τύπου μπίρας εξαρτάται από πολλούς παράγοντες: τις σχετικές αναλογίες ανάμεσα στη βύνη, στα σάκχαρα, στον λυκίσκο και στα δημητριακά· το είδος του ζυμομύκητα· τη θερμοκρασία και τη διάρκεια ζύμωσης· και τον τρόπο αποθήκευσης. Ζυμωτήρας είναι είτε ένα υάλινο δοχείο 20 λίτρων είτε μια νταμιτζάνα στην οποία προσαρμόζεται καλά κάποιο πώμα. Για την παρασκευή καλής μπίρας, έχει ζωτική σημασία να είναι αποστειρωμένο *οτιδήποτε* έρχεται σε επαφή με το βυνογλεύκο, όπως π.χ. ο ζυμωτήρας, οι σωληνώσεις, το εργαλείο ανάδευσης και οι φιάλες. Καλύτερος τρόπος αποστείρωσης είναι η χρήση ενός διαλύματος 50-60 ml υγρής χλωρίνης σε 20 λίτρα νερού. Τα αντικείμενα εμβαπτίζονται στο διάλυμα επί 15 λεπτά της ώρας και κατόπιν ξεπλένονται με θερμό νερό ή στεγνώνονται με αέρα.

- 1. Παρασκευή του βυνογλεύκους** (βλ. Εικόνα 1). Στις βιομηχανίες ζυθοποιίας, το βυνογλεύκο παρασκευάζεται με εκκύλιση των ζυμώσιμων σακκάρων και των θρεπτικών για τον ζυμομύκητα ουσιών από τη βύνη και ανάμειξή τους με ζάχαρη και λυκίσκο. Η διαδικασία είναι περίπλοκη και σχετικά δύσκολο να υλοποιηθεί ικανοποιητικά. Πολλοί ερασιτέχνες ζυθοποιοί παρασκευάζουν δικό τους βυνογλεύκο από βύνη, αλλά ικανοποιητικής ποιότητας μπίρας μπορεί να παραχθεί και από έτοιμο εκκύλισμα βύνης αρωματισμένο με λυκίσκο, που διατίθεται στο εμπόριο. Τα εκκύλισματα βύνης προσφέρονται σε διάφορες γεύσεις και αποχρώσεις, ενώ το είδος της μπίρας που παίρνουμε εξαρτάται από το συγκεκριμένο εκκύλισμα βύνης που θα χρησιμοποιηθεί. Σε μια απλή συνταγή παρασκευής βυνογλεύκους χρησιμοποιούνται 2,25-2,75 κιλά εκκύλισματος βύνης αρωματισμένου με λυκίσκο σε 20 λίτρα νερού. Το εκκύλισμα μαζί με 5-6 λίτρα νερού υποβάλλονται σε βρασμό επί 15 λεπτά, σε δοχείο εμαγιέ

ή από ανοξείδωτο χάλυβα (οι βραστήρες από αλουμίνιο πρέπει να αποφεύγονται, λόγω της ανασταλτικής δράσης των ιόντων του μετάλλου που διαρρέουν από τα τοιχώματά τους· βλ. Εικόνα 1). Το θερμό βυνογλεύκο μεταγγίζεται κατόπιν σε 14-15 λίτρα καθαρού, κρύου νερού που βρίσκεται ήδη στον ζυμωτήρα. Όταν η θερμοκρασία πέσει κάτω από τους 30°C, προστίθεται ο ζυμομύκητας ώστε να αρχίσει η ζύμωση.

- 2. Εκτέλεση της ζύμωσης** (βλ. Εικόνα 2). Προσθέστε δύο συσκευασίες φρέσκου ζυμομύκητα ζυθοποίησης στο βυνογλεύκο που έχει κρυώσει και καλύψτε τον ζυμωτήρα με ελαστικό πώμα, από το οποίο περνά πλαστικός σωλήνας. Το άκρο του σωλήνα πρέπει να καταλήγει σε κάδο με νερό. Κατά τις 2-3 πρώτες ημέρες της ζύμωσης παράγονται μεγάλες ποσότητες CO<sub>2</sub>, οι οποίες απομακρύνονται μέσω του σωλήνα. Το νερό λειτουργεί ως παγίδα, η οποία εμποδίζει φυσικούς ζυμομύκητες ή βακτήρια που υπάρχουν στον αέρα να διεισδύσουν στον ζυμωτήρα. Ύστερα από 3 περίπου



Bryon Burch

Εικόνα 1



Bryon Burch

Εικόνα 2

<sup>1</sup> **Κύρια Βιβλιογραφική πηγή:** Burch B. 1992. *Brewing Quality Beers – The Home Brewer's Essential Guidebook*, 2η έκδοση. Joby Books, Fulton, CA.

λικού προϊόντος εξαρτάται εν μέρει από τον τρόπο και τον χρόνο παλαίωσης (χρόνοι παλαίωσης 10 ετών και άνω δεν είναι σπάνιοι για ορισμένα τέτοιου είδους ποτά). Η όλη διαδικασία παρασκευής αποσταγμένων αλκοολούχων ποτών είναι εξαιρετικά περίπλοκη και σε μεγάλο βαθμό υλοποιείται με παραδοσιακές μεθόδους που διαπιστωμένα οδηγούν σε συγκεκριμένο προϊόν, και όχι με μεθόδους που είναι προϊόν επιστημονικής έρευνας.

### Αιθανόλη του εμπορίου

Η παραγωγή αιθανόλης ως χημικής ένωσης που κυκλοφορεί στο εμπόριο σε μεγάλες ποσότητες συνιστά μια βιοκαταλυτική διεργασία μαζικής κλίμακας. Στις Ηνωμένες Πολιτείες παράγονται κάθε χρόνο πάνω από 3,8 δισεκατομμύρια λίτρα αλκοόλης, κυρίως μέσω της ζύμωσης αμύλου από



Barton Spear

**Εικόνα 30.24** Αποχρώσεις διαφόρων αποσταγμένων αλκοολούχων ποτών. Το τζιν και η βότκα (δεν υπάρχουν στη φωτογραφία) είναι άχρωμα. Ωστόσο, η παλαίωση σε ξύλινα βαρέλια προσδίδει σε ορισμένα αποστάγματα ένα ιδιαίτερο κεχριμπαρένιο ή κτρινωπό χρώμα. Από αριστερά προς τα δεξιά: μαύρο ρούμι, μπράντυ, ούισκι.

ημέρες η διεργασία αυτή αναστέλλεται, καθώς οι διαθέσιμες ποσότητες σακχάρων εξαντλούνται. Στο στάδιο αυτό, το ελαστικό πώμα και ο σωλήνας εξόδου αντικαθίστανται με χαμηλού κόστους πώμα ζύμωσης. Το πώμα αυτό, το οποίο μπορεί κανείς να βρει σε καταστήματα ειδών οικιακής ζυθοποιίας, εμποδίζει την επιμόλυνση αλλά επιτρέπει να διαφεύγουν οι μικρές ποσότητες αερίου που παράγονται ακόμη. Αφήστε τη μπίρα να υποστεί ζύμωση επί 7-10 ημέρες στους 10-15°C, ή και σε ακόμα υψηλότερη θερμοκρασία.

- 3. Εμφιάλωση και ωρίμανση** (βλ. Εικόνα 3). Η μπίρα θα πρέπει να μείνει για ζύμωση επί 7-10 πλήρη εικοσιτετράωρα, ακόμη κι αν η έντονη ζυμωτική δράση έχει σταματήσει νωρίτερα. Με την παρέλευση αυτού του χρονικού διαστήματος, ο κύριος όγκος του ζυμομύκητα πρέπει να έχει καθιζήσει στον πυθμένα του ζυμωτήρα. Τότε πρέπει να απομακρύνουμε προσεκτικά τη μπίρα με ένα σιφόνιο από το στρώμα του ζυμομύκητα, μεταγγίζοντάς την σε ασηπτικά καθαρές γυάλινες φιάλες. Προσέξτε μη διαταράξετε το στρώμα του ζυμομύκητα και ανακατευτεί με την υπερκείμενη μπίρα.



Byron Burch

Εικόνα 3

Οι χρησιμοποιούμενες φιάλες πρέπει να σφραγίζονται με κατάλληλα πώματα, που θα είναι καινούργια και καθαρά. Πριν τον πωματισμό, προσθέστε σε κάθε φιάλη χωρητικότητας 350-465 ml  $\frac{3}{4}$  ενός κουταλιού του γλυκού (αλλά όχι παραπάνω) σιρόπι αραβοσίτου. Μόλις οι φιάλες σφραγιστούν, αναστρέψτε τις άπαξ ώστε να αναμειχθούν η μπίρα με το σιρόπι και αφήστε τα να ωριμάσουν σε θερμοκρασία δωματίου επί τουλάχιστον 7-10 ημέρες. Στη συνέχεια, η μπίρα πρέπει να αποθηκευτεί σε χαμηλότερη θερμοκρασία.

Σε όλες τις οικιακές προέλευσης μπίρες υπάρχει στον πυθμένα της φιάλης ένα φυσικό ίζημα από ζυμομύκητα. Η ποιότητα της μπίρας βελτιώνεται, αν την αφήσουμε να ωριμάσει για αρκετές εβδομάδες. Η ωρίμανση τείνει να κάνει την μπίρα πιο απαλή. Με τον ίδιο βασικό εξοπλισμό μπορούμε να παρασκευάσουμε πολλούς διαφορετικούς τύπους μπίρας, κάθε έναν με ιδιαίτερη γεύση και ιδιαίτερο χαρακτήρα (το βιβλίο της υποσημείωσης περιέχει διάφορες συνταγές παρασκευής μπίρας). Οι μαύρες μπίρες, που κατά κανόνα περιέχουν περισσότερη αλκοόλη από τις ξανθιές, χρειάζονται περισσότερη βύνη για την παραγωγή τους. Μάλιστα, παρασκευάζονται συνήθως από συνδυασμό διαφόρων τύπων βύνης, όπως είναι αυτές οι οποίες προέρχονται από δημητριακά που έχουν σκούρο χρώμα ή έχουν ψηθεί ώστε να αραμελοποιηθούν τα σάκκάρ τους και να αποκτήσουν πιο σκούρο χρώμα. Μια τυπική αμερικανική ξανθιά μπίρα τύπου *λάγκερ* (βλ. Εικόνα 4, αριστερά) περιέχει περίπου 3,5% αλκοόλη (κατ' όγκο), ενώ μια μαύρη μπίρα του Μονάχου (Εικόνα 4, δεξιά) περιέχει

4,25% και οι μπίρες τύπου *μποκ* περιέχουν γύρω στο 5% αλκοόλη.

Η τάση για αυξημένη «ιδιαιτερότητα» στη μπίρα εκδηλώνεται όχι μόνο με την αύξηση του αριθμού των ερασιτεχνών ζυθοποιών, αλλά και από το ότι οι μεγάλες αμερικανικές ζυθοποιίες υφίστανται ολοένα και οξύτερο ανταγωνισμό από ζυθοποιίες συνήθως πολύ μικρές, οι οποίες ονομάζονται *μικροζυθοποιίες*. Μολονότι ο συνολικός όγκος παραγωγής μιας μικροζυθοποιίας ωχρία μοροστά σε εκείνη μιας μεγάλης βιομηχανίας, τα ίδια τα προϊόντα της συχνά έχουν ιδιαίτερο χαρακτήρα και προσελκύουν ειδικές κατηγορίες καταναλωτών ή είναι δημοφιλή σε τοπικό επίπεδο. Οι διαφορές αυτές ενδεχομένως συνδέονται, τουλάχιστον εν μέρει, με τη μικρότερη κλίμακα της ζυθοποίησης, οπωσδήποτε όμως έχουν σχέση με τη διαφοροποίηση στις πηγές προέλευσης των χρησιμοποιούμενων συστατικών και του νερού, στα στελέχη του ζυμομύκητα και στους χρόνους ζυθοποίησης. ■



Barton Spear

Εικόνα 4



αραβόσιτο. Η αιθανόλη αυτή χρησιμοποιείται ως βιομηχανικός διαλύτης, αλλά και για την παραγωγή της βενζινόλης (gasohol), τύπου αμόλυβδης βενζίνης που περιέχει αιθανόλη σε ποσοστό 10%. Η ανάφλεξη της βενζινόλης παράγει μικρότερες ποσότητες μονοξειδίου του άνθρακα και οξειδίων του αζώτου σε σύγκριση με την καθαρή βενζίνη. Κατά συνέπεια, η βενζινόλη κυκλοφορεί στο εμπόριο ως καθαρότερο καύσιμο, ενώ η χρήση της ενθαρρύνεται στις μεγάλες πόλεις, όπου η κυκλοφοριακή ρύπανση είναι υψηλή. Στην παραγωγή αιθανόλης του εμπορίου χρησιμοποιούνται διάφοροι ζυμομύκητες, μεταξύ των οποίων και τα γένη *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* και *Candida*. Στις ΗΠΑ, η περισσότερη αιθανόλη παράγεται από είδη του γένους *Saccharomyces*.

### ✓ 30.13 Έλεγχος εννοιών

Τα αλκοολούχα ποτά παράγονται από ζυμομύκητες μέσω της ζύμωσης σακχάρων προς αιθυλική αλκοόλη και CO<sub>2</sub>. Το κρασί παράγεται από χυμό σταφυλιών, η μπίρα από βύνη δημητριακών και τα αποσταγμένα οινοπνευματώδη ποτά από την απόσταξη διαλυμάτων που έχουν υποστεί ζύμωση. Η αλκοόλη του εμπορίου χρησιμοποιείται ως πρόσθετο της βενζίνης και ως βιομηχανικός διαλύτης.

- ✓ Ποια η διαφορά ανάμεσα στα κρασιά και στις μπίρες, όσον αφορά την περιεχόμενη αλκοόλη;
- ✓ Ποιες είναι οι κύριες διαφορές ανάμεσα σε μια κοινή μπίρα και μια μπίρα τύπου έιλ;

## 30.14 Τα μανιτάρια ως πηγή διατροφής

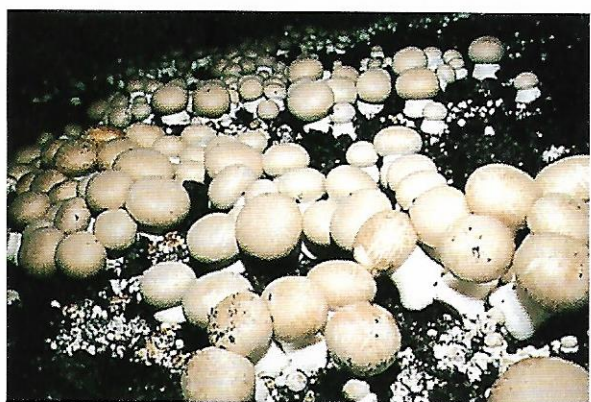
Υπάρχουν πολλά είδη *μυκήτων* που αποτελούν τροφή για τον άνθρωπο· από αυτά, σημαντικότερα είναι τα μανιτάρια. Τα μανιτάρια είναι μια ομάδα νηματοειδών μυκήτων, τα μέλη της οποίας σχηματίζουν μεγάλες εδωδιμες δομές που ονομάζονται **καρποσώματα** (Εικόνα 30.25). Το καρπόσωμα, που αποκαλείται κοινά *μανιτάρι*, σχηματίζεται από τη σύν-

δεση μεγάλου αριθμού μεμονωμένων υφών, οι οποίες τελικά διαμορφώνουν το μυκήλιο. Η θεμελιώδης βιολογία των μανιταριών εξετάστηκε στο Τμήμα 14.10.

### Εμπορική καλλιέργεια των μανιταριών

Στα περισσότερα μέρη του κόσμου, το μανιτάρι που καλλιεργείται εμπορικά (κατά κανόνα σε φάρμες μανιταριών) είναι το *Agaricus bisporus*. Ο μικροοργανισμός αυτός καλλιεργείται σε ειδικές κλίνες, συνήθως σε κτήρια με αυστηρά ρυθμιζόμενη θερμοκρασία και υγρασία (Εικόνα 30.25α). Οι κλίνες δημιουργούνται μέσω της ανάμειξης εδάφους με υλικό ιδιαίτερα πλούσιο σε οργανική ύλη, π.χ. κοπριά αλόγου, και κατόπιν εμβολιάζονται με *μυκήλιο* του μύκητα. Το μυκήλιο είναι μια καθαρή καλλιέργεια του μύκητα του μανιταριού, το οποίο έχει πολλαπλασιαστεί σε φιάλες με θρεπτικό μέσο πλούσιο σε οργανική ύλη. Μέσα στις κλίνες, το μυκήλιο αναπτύσσεται και εξαπλώνεται προς το υπόστρωμα, και μετά από μερικές εβδομάδες είναι έτοιμο για το επόμενο στάδιο, τον σχηματισμό του μανιταριού. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη στην επιφάνεια της κλίνης ενός λεπτού στρώματος εδάφους, το οποίο ονομάζεται *έδαφος συσκευασίας*. Η εμφάνιση μανιταριών στην επιφάνεια της κλίνης ονομάζεται *άνθιση* (Εικόνα 30.25α) και, όταν λάβει χώρα, τα μανιτάρια πρέπει να συλλεχθούν άμεσα, όσο είναι ακόμη φρέσκα. Μετά τη συλλογή τους συσκευάζονται και φυλάσσονται σε δροσερή θερμοκρασία έως ότου διοχετευθούν στην αγορά.

Ένα άλλο είδος καλλιεργούμενου μανιταριού είναι το είδος *Lentinus edulus*, κοινώς αποκαλούμενο **σιτάκε**. Πρόκειται για το ευρύτερα καλλιεργούμενο μανιτάρι στην Άπω Ανατολή, η ζήτηση του οποίου αυξάνεται συνεχώς στη Βόρεια Αμερική. Το σιτάκε είναι ένας μύκητας που υδρολύει κυτταρίνη, ευδοκμεί σε δένδρα και καλλιεργείται σε τμήματα κορμού δένδρων (Εικόνα 30.25β). Οι κορμοί εμβαπτίζονται σε νερό για να ενυδατωθούν και κατόπιν εμβολιάζονται με την τοποθέτηση τμημάτων μυκηλίου σε οπές που διανοίγονται στους κορμούς. Ο μύκητας αναπτύσσεται στο εσωτε-



(β)



(α)

Εικόνα 30.25 Εμπορική παραγωγή μανιταριών. (α) Άνθιση μανιταριών, σε κοντινό πλάνο. (β) Μανιτάρι σιτάκε, σε κοντινό πλάνο.

ρικό του ξύλου και ύστερα από έναν χρόνο περίπου λαμβάνει χώρα η άνθιση των καρποσωμάτων (Εικόνα 30.25β). Τα μανιτάρια σιτάκε θεωρούνται γενικά πιο εύγευστα από τον *Agaricus bisporus* και για τον λόγο αυτό πωλούνται σε σημαντικά υψηλότερες τιμές.

### ✓ 30.14 Έλεγχος εννοιών

Σημαντικότερο είδος τροφής που παράγεται από μικροοργανισμό είναι το μανιτάρι, το οποίο δεν καλλιεργείται για τις πρωτεΐνες, αλλά για τη γεύση του.

- ✓ Γιατί θεωρούνται τα μανιτάρια μικροοργανισμοί;
- ✓ Τι είναι μια άνθιση μανιταριών;

## Ερωτήσεις επανάληψης

1. Σε τι διαφέρουν οι βιομηχανικοί από τους συμβατικούς μικροοργανισμούς; Σε τι μοιάζουν;
2. Περιγράψτε ορισμένες τεχνικές με τις οποίες μπορούμε να βελτιώσουμε στελέχη βιομηχανικών μικροοργανισμών.
3. Αναφέρετε τρεις τύπους σημαντικών βιομηχανικών προϊόντων που μπορούν να παραχθούν με μικροοργανισμούς και δώστε δύο παραδείγματα από κάθε τύπο.
4. Δώστε ένα παράδειγμα χημικής ένωσης του εμπορίου που παράγεται από μικροοργανισμό και περιγράψτε συνοπτικά τη διαδικασία παραγωγής της συγκεκριμένης ένωσης.
5. Συγκρίνετε τους πρωτογενείς και τους δευτερογενείς μεταβολίτες μεταξύ τους. Δώστε από ένα παράδειγμα. Αναφέρετε τουλάχιστον δύο μοριακές ερμηνείες γιατί ορισμένοι μεταβολίτες είναι δευτερογενείς μάλλον παρά πρωτογενείς.
6. Σε τι διαφέρει ένας βιομηχανικός ζυμωτήρας από ένα εργαστηριακό δοχείο καλλιέργειας; Σε τι διαφέρει ένας ζυμωτήρας από έναν ζυμώτη;
7. Αναλύστε τα προβλήματα της μεγέθυνσης κλίμακας όσον αφορά τον αερισμό, την αποστείρωση και τη διαδικασία ελέγχου. Γιατί έχει τόσο μεγάλη σημασία η ασηψία σε έναν βιομηχανικό ζυμωτήρα;
8. Δώστε τρία τουλάχιστον παραδείγματα αντιβιοτικών που είναι σημαντικά για τη βιομηχανία. Για κάθε ένα από αυτά, αναφέρετε τον παραγωγικό μικροοργανισμό, τη γενική χημική δομή και τον μηχανισμό δράσης.
9. Συγκρίνετε μεταξύ τους τις διαδικασίες παραγωγής φυσικών, βιοσυνθετικών και ημισυνθετικών αντιβιοτικών β-λακτάμης.
10. Ποιο μέταλλο μπορούμε να προσθέσουμε στο θρεπτικό

μέσο του ζυμωτήρα ώστε να αυξηθεί σημαντικά η παραγωγή βιταμίνης B<sub>12</sub>;

11. Ποια ασυνήθιστα χαρακτηριστικά πρέπει να έχει ένας οργανισμός προκειμένου να υπερπαραγάγει και να εκκρίνει ένα αμινοξύ όπως η λυσίνη;
12. Δώστε έναν ορισμό της μικροβιακής βιομετατροπής, μαζί με ένα παράδειγμα. Εξηγήστε γιατί οι χημικές αντιδράσεις που συμμετέχουν στις μικροβιακές βιομετατροπές εκτελούνται κατά προτίμηση μικροβιακά, και όχι χημικά.
13. Υποδείξτε τρία διαφορετικά είδη ενζύμων που παράγονται και διατίθενται εμπορικά. Αναφέρετε τον οργανισμό που χρησιμοποιείται για την εμπορική παραγωγή κάθε ενζύμου, τη δράση κάθε ενζύμου και το πώς χρησιμοποιείται στο εμπόριο.
14. Τι είναι το σιρόπι υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη, πώς παράγεται και για ποιον λόγο χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων;
15. Τι είναι τα ακραία ένζυμα; Ποιες οι βιομηχανικές χρήσεις τους;
16. Αναφέρετε δύο λόγους για τους οποίους χρησιμοποιούνται ζυμωτήρες από ανοξείδωτο χάλυβα κατά την εμπορική παραγωγή κιτρικού οξέος.
17. Γιατί έχουν οι ζυμομύκητες τόσο μεγάλη βιομηχανική σημασία;
18. Σε τι μοιάζουν οι διαδικασίες παραγωγής κρασιού και μπίρας; Σε τι διαφέρουν; Σε τι διαφέρει η παρασκευή αποσταγμένων αλκοολούχων ποτών από εκείνη του κρασιού και της μπίρας;
19. Ποιο τμήμα του μανιταριού είναι εκείνο που χρησιμοποιείται στην ανθρώπινη διατροφή; Τι εμπεριέχεται στη συγκεκριμένη δομή;

## Ερωτήσεις εφαρμογής

1. Είστε ερευνητής σε φαρμακευτική εταιρεία και σας αναθέτουν να βρείτε μια αντιβιοτική ουσία και να παρασκευάσετε ένα αντιβιοτικό φάρμακο που θα καταπολεμά ένα νέο βακτηριακό παθογόνο. Σκιαγραφήστε το πλάνο εργασίας που θα ακολουθήσετε, αρχίζοντας από την απομόνωση του χαμηλής απόδοσης παραγωγικού μικροοργανισμού έως την υψηλής απόδοσης βιομηχανική παραγωγή του νέου αντιβιοτικού.
2. Έχετε μια φιάλη με «οργανικό» κρασί (χωρίς συντηρητικά), της οποίας το περιεχόμενο καταναλώθηκε μόνον εν μέρει· την κλείνετε πάλι με το πόμα της και την αποθηκεύετε στο ψυγείο επί 2 μήνες. Όταν την ξανανοίγετε, το κρασί έχει μια ευδιάκριτη πικράδα που δεν επιτρέπει την κατανάλωσή του. Με βάση τις πληροφορίες που υπάρχουν στο κεφάλαιο αυτό και στο Τμήμα 12.8, περιγράψτε (α) ποια μικροβιακή διεργασία έλαβε χώρα στο κρασί και (β) έναν πολύ απλό τρόπο με τον οποίο θα μπορούσε να αποτραπεί η διεργασία αυτή.
3. Θέλετε να παράγετε σε υψηλές αποδόσεις το αμινοξύ φαινυλαλανίνη για να το χρησιμοποιήσετε στην παρασκευή της γλυκαντικής ουσίας *ασπαρτάμη*. Ο υπερπαραγωγικός μικροοργανισμός που θα θέλατε να χρησιμοποιήσετε δεν υπόκειται σε αναδραστική αναστολή από τη φαινυλαλανίνη, αλλά σε τυπική καταστολή των ενζύμων βιοσύνθεσής της παρουσία περίσσειας φαινυλαλανίνης. Εφαρμόζοντας τις αρχές της ενζυμικής ρύθμισης που εξετάσαμε στο Κεφάλαιο 8 και τη μικροβιακή γενετική του Κεφαλαίου 10, περιγράψτε δύο κατηγορίες απομονώσιμων μεταλλαγμάτων που θα επέτρεπαν να ξεπεράσετε το συγκεκριμένο πρόβλημα και αναφέρετε λεπτομερώς τις γενετικές αλλαγές που θα επέφερε το καθένα.