

ΕΙΔΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΑΛΕΞΗ 11

ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΣΗ

ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ, ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ

ΔΙΔΑΣΚΟΥΣΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ

Βιομηχανική Μικροβιολογία - Βιοκατάλυση

□ Ορισμοί

- **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
- Αξιοποίηση των μικροβιακών διεργασιών με στόχο:
 - Την παραγωγή φαρμάκων (π.χ. αντιβιοτικών)
 - Ουσιών που προστίθενται στα τρόφιμα (π.χ. αμινοξέα)
 - Ενζύμων και χημικών ενώσεων (π.χ. βουτανόλη και κιτρικό οξύ)
- **Βιοκατάλυση** είναι η χρήση των μικροοργανισμών για την εκτέλεση συγκεκριμένου χημικού μετασχηματισμού

Βιομηχανικοί μικροοργανισμοί και προϊόντα

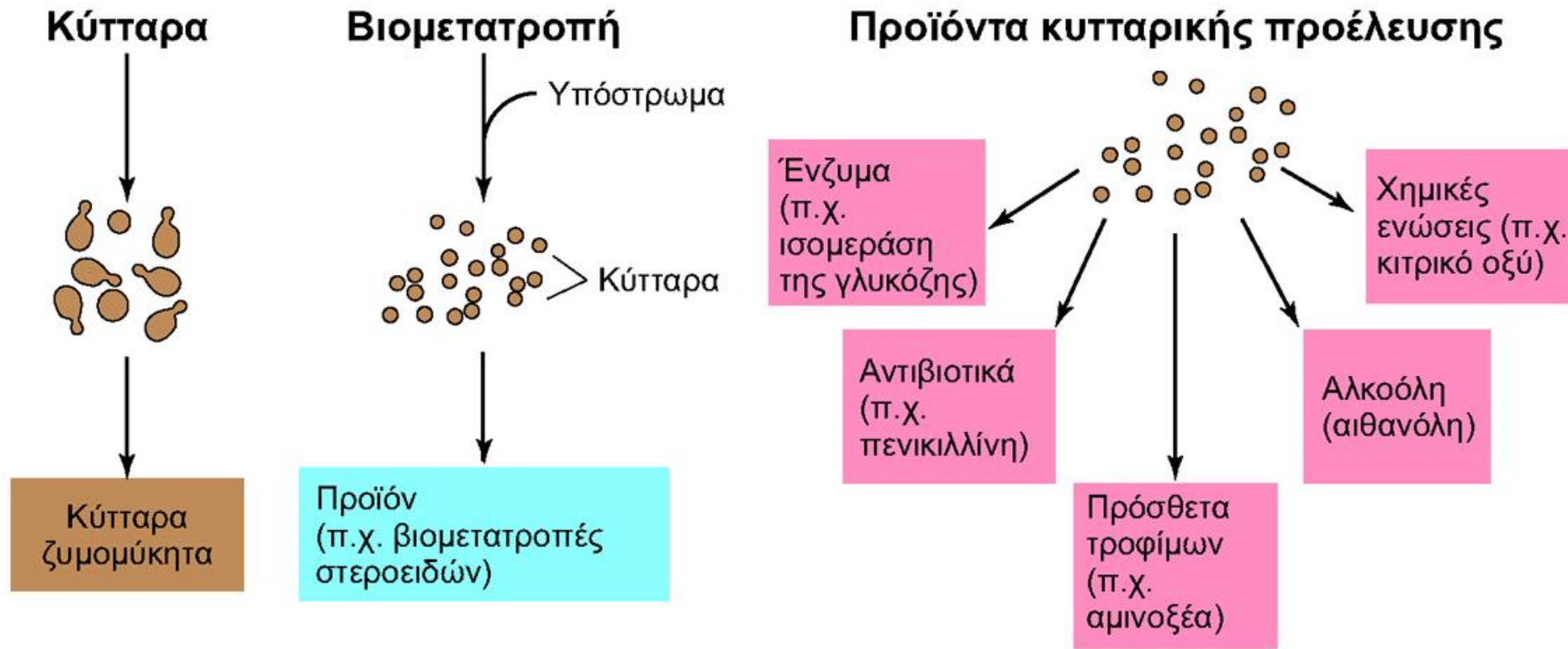
- ❑ Στις βιοκαταλυτικές διεργασίες χρησιμοποιούνται στελέχη που προέρχονται από τη φύση που ωστόσο διαφέρουν σημαντικά από τον «άγριο (φυσικό) τύπο» από τον οποίο απομονώθηκαν
 - Μύκητες
 - Ορισμένοι προκαρυωτικοί κυρίως μέλη του γένους *Streptomyces*
- ❑ Σε ορισμένες περιπτώσεις οι βιομηχανικοί μικροοργανισμοί παρουσιάζουν μεταβολική εξειδίκευση και επιδέχονται τροποποίηση σε μεγάλης κλίμακας καλλιέργειες ώστε να παράγουν τα προϊόντα ενδιαφέροντος – γενετική τροποποίηση για αύξηση της απόδοσης
- ❑ Μετά την ανάπτυξη τους οι βιομηχανικά εκμεταλεύσιμοι μικροοργανισμοί διατηρούνται σε:
 - Μικροβιολογικά εργαστήρια εταιρειών
 - Μεγάλες εθνικής κλίμακας συλλογές μικροβιακών καλλιεργειών

Βιομηχανικοί μικροοργανισμοί και προϊόντα

❑ Ιδιότητες των βιομηχανικά επωφελών μικροοργανισμών

- ❑ Χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την καταλληλότητα των μικροοργανισμών για βιομηχανική χρήση :
 - Παραγωγή προϊόντος βιομηχανικής μικροβιολογίας/βιοκατάλυσης
 - Ανάπτυξη και παραγωγή του προϊόντος σε μεγάλης κλίμακας καλλιέργειες
 - Εύκολος εμβολιασμός σε βιοαντιδραστήρες
 - Ταχύτητα αύξησης και παραγωγής του προϊόντος ενδιαφέροντος
 - Εύκολη και οικονομική συντήρηση του πληθυσμού
 - Μη παθογόνος
 - Γενετικά τροποποιήσιμος

Παραδείγματα βιομηχανικών προϊόντων

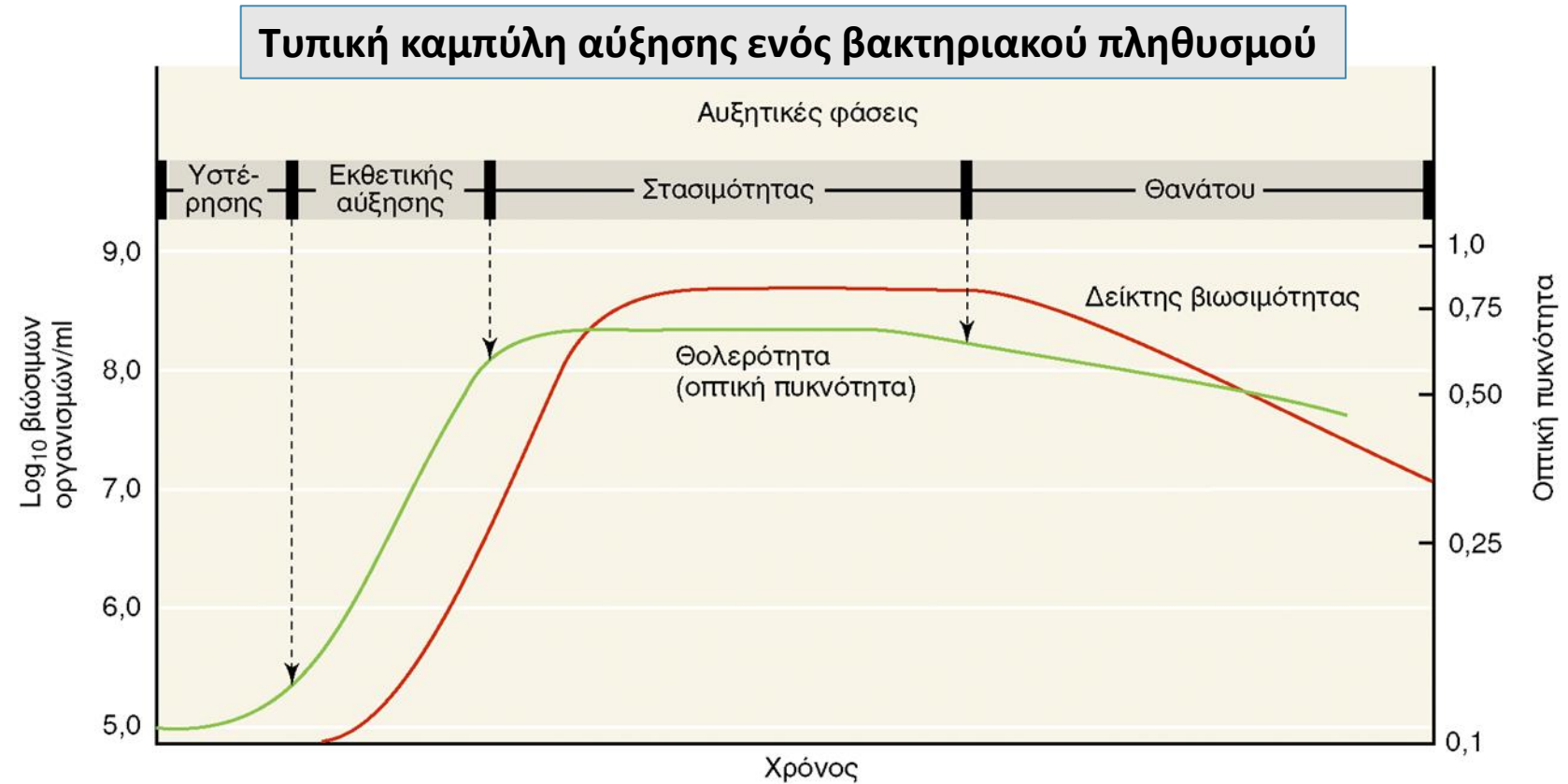


Εικόνα 30.1 Προϊόντα βιομηχανικής μικροβιολογίας/βιοκατάλυσης. Τα προϊόντα μπορεί να είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα είτε προϊόντα κυτταρικής προέλευσης. Στη βιομετατροπή, τα κύτταρα χρησιμοποιούνται για τη χημική μετατροπή δεδομένης ουσίας από μία μορφή της σε μια άλλη.

Αύξηση και παραγωγή προϊόντων στη βιοκατάλυση

□ Ο κύκλος της αύξησης

- Φάση υστέρησης
- Φάση εκθετικής αύξησης
- Στάσιμη φάση
- Φάση θανάτου



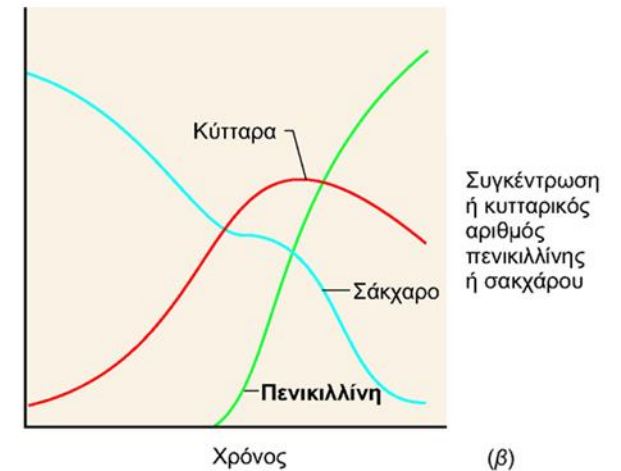
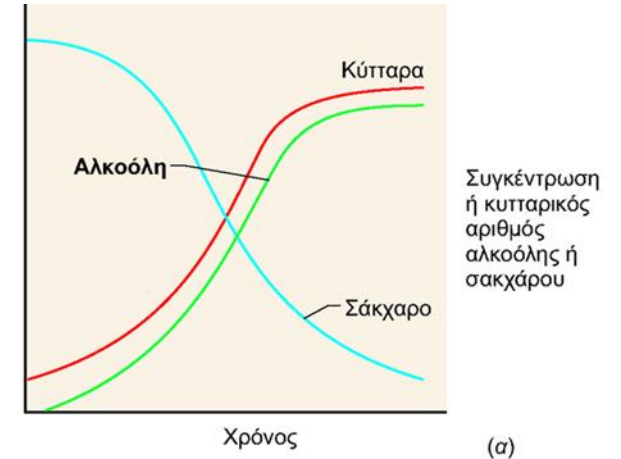
Σε ποια αυξητική φάση παράγεται ο βιομηχανικά αξιοποιήσιμος μεταβολίτης;



Αύξηση και παραγωγή προϊόντων στη βιοκατάλυση

□ Πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολίτες

- Πρωτογενείς μεταβολίτες: Συντίθενται κατά τη διάρκεια της αυξητικής φάσης των μικροοργανισμών
 - Αλκοολική (αιθανολική) ζύμωση και παραγωγή αιθανόλης
- Δευτερογενείς μεταβολίτες: Συντίθενται στο τέλος της αυξητικής φάσης – αρχή της στάσιμης φάσης
 - Παραγωγή πενικιλίνης από το μύκητα *Penicillium chrysogenum*



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).

Αύξηση και παραγωγή προϊόντων στη βιοκατάλυση

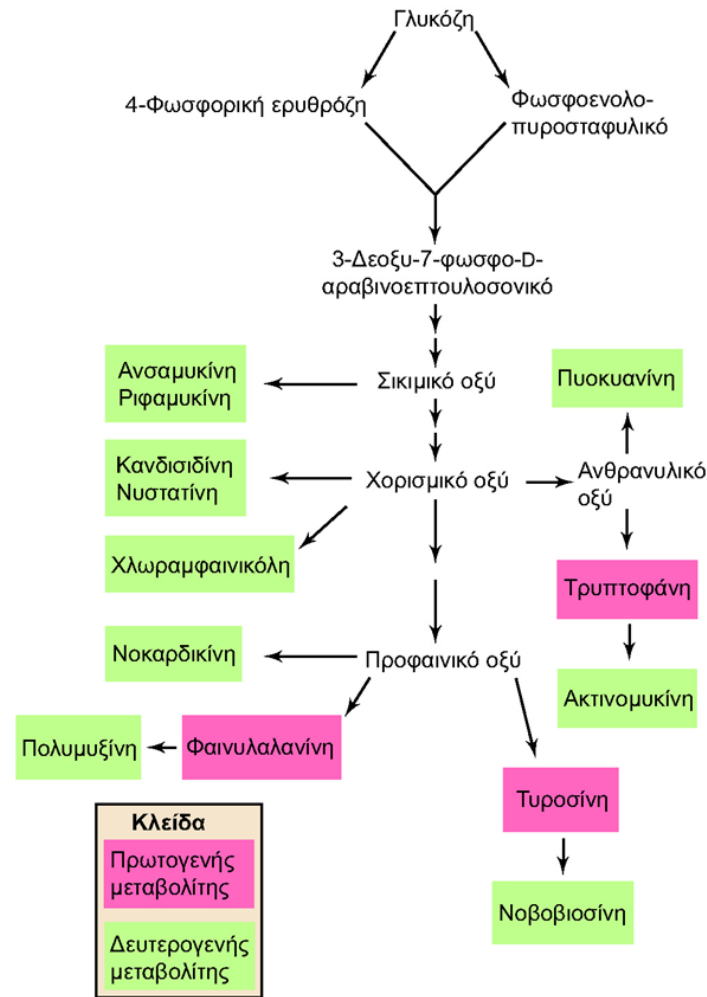
❑ Χαρακτηριστικά δευτερογενών μεταβολιτών

- ❑ Δεν έχουν ζωτική σημασία για την αύξηση και την αναπαραγωγή
- ❑ Η σύνθεση τους εξαρτάται από τη συνθήκες της αύξησης και τη σύσταση του θρεπτικού μέσου
- ❑ Αποτελούν μέλη μιας ομάδας στενά συγγενικών δομών
- ❑ Δυνατότητα επέμβασης στα επίπεδα παραγωγής σε αντίθεση με τους πρωτογενείς μεταβολίτες

Σχέση μεταξύ πρωτογενούς και δευτερογενούς μεταβολισμού

□ Δευτερογενείς μεταβολίτες = σύνθετα οργανικά μόρια που για την σύνθεση τους απαιτείται μεγάλος αριθμός ειδικών ενζυμικών αντιδράσεων

□ Τα βιοσυνθετικά μονοπάτια των δευτερογενών μεταβολιτών συνδέονται με τον πρωτογενή μεταβολισμό



- Η σχέση της πρωτογενούς μεταβολικής οδού βιοσύνθεσης αρωματικών αμινοξέων και η σύνθεση μιας ποικιλίας αντιβιοτικών που είναι δευτερογενείς μεταβολίτες με αρωματικούς δακτυλίους
- Σύνθετος μηχανισμός διεργασιών που απαντά σε μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών
- Κανένας μικροοργανισμός δεν παράγει όλους αυτούς τους δευτερογενείς μεταβολίτες, ενώ μεταξύ αμινοξέος και αντιβιοτικού παρεμβάλλονται πάντα πολλά αυτοτελή στάδια

Βιομηχανική μικροβιολογία και ζύμωση

- ❑ **Ζύμωση:** Κάθε μικροβιακή διεργασία μεγάλης κλίμακας που επιτελείται αερόβια ή αναερόβια
- ❑ **Ζυμωτήρας:** Η δεξαμενή στην οποία εκτελείται βιομηχανική ζύμωση
- ❑ **Ζυμωτές:** Οι μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στη ζύμωση

Χαρακτηριστικά των ζυμώνσεων μαζικής κλίμακας

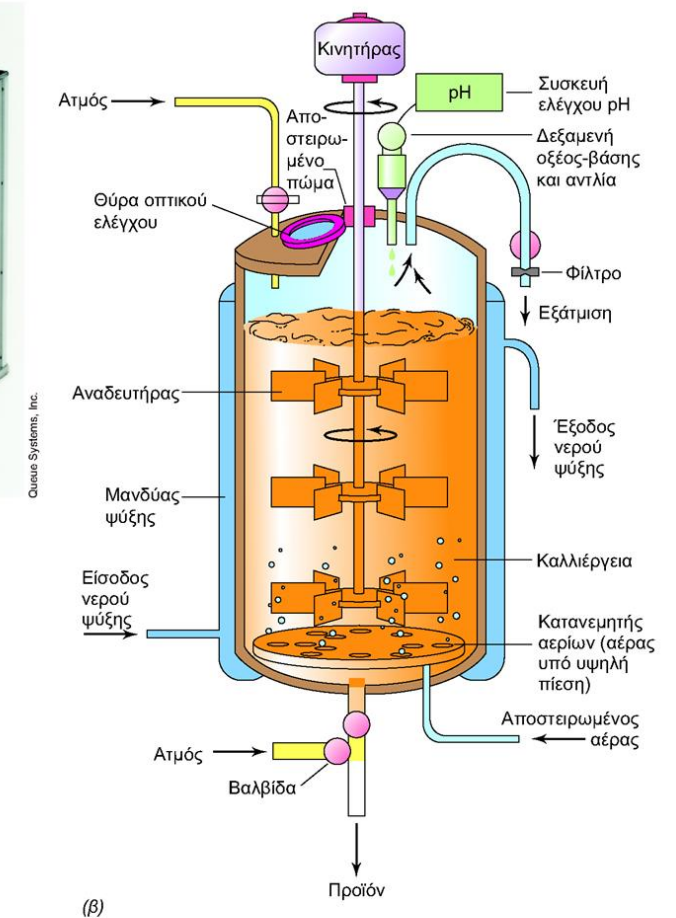
- ❑ **Ζυμωτήρες:** εργαστηριακής κλίμακας (5-10 L) – βιομηχανικής κλίμακας (500.000 L)
- ❑ Αερόβιοι βιομηχανικοί ζυμωτήρες - απαιτούν ειδικό εξοπλισμό για επαρκή ανάμειξη και αερισμό των υλικών
- ❑ Αναερόβιοι βιομηχανικοί ζυμωτήρες – ελάχιστο ειδικό εξοπλισμό για την απαγωγή της θερμότητας που παράγεται κατά τη ζύμωση



(α)



(γ)



(β)

Εικόνα 30.4 Ζυμωτήρες. (α) Μικρός ερευνητικός ζυμωτήρας, με όγκο 5 λίτρα. (β) Σχηματικό διάγραμμα ζυμωτήρα. Φαίνονται η διάταξη 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.

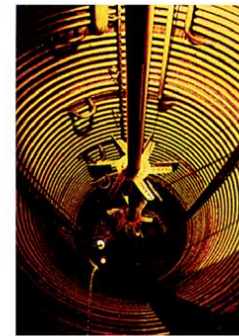
Χαρακτηριστικά των ζυμώνσεων μαζικής κλίμακας

❑ Κατασκευή αερόβιου ζυμωτήρα

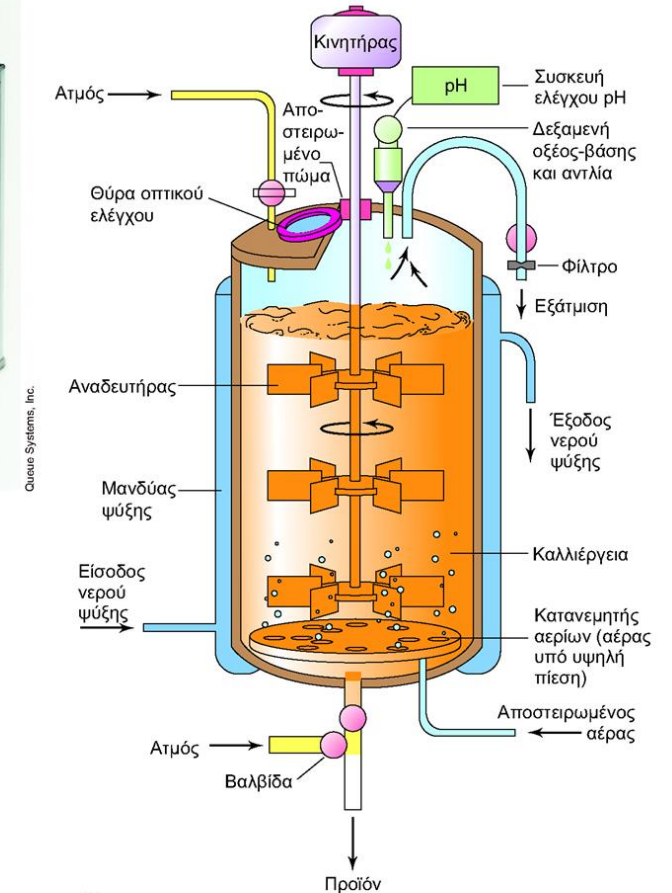
- ❑ Ανοξείδωτος χάλυβας
- ❑ Για την επιτυχή λειτουργία απαιτείται αποστείρωση θρεπτικού μέσου και απαγωγή θερμότητας => Μανδύας ψύξης για την απομάκρυνση υδατμών ή νερού ψύξης
- ❑ Εσωτερικές σπείρες για τη διοχέτευση υδατμών ή νερού ψύξης (σε μεγάλους ζυμωτήρες)
- ❑ Σύστημα αερισμού
 - Κατανεμητής αερίων και διοχέτευση αέρα υπό πίεση
 - Αναδευτήρας για την ανάμειξη των φυσαλίδων του αέρα και του μικροοργανισμού με το υγρό



(α)



(γ)



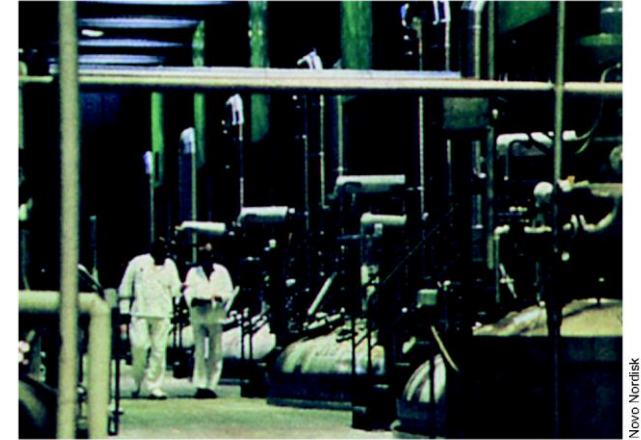
(β)

Εικόνα 30.4 Ζυμωτήρες. (α) Μικρός ερευνητικός ζυμωτήρας, με όγκο 5 λίτρα. (β) Σχηματικό διάγραμμα ζυμωτήρα. Φαίνονται η διάταξη 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.

Χαρακτηριστικά των ζυμώνσεων μαζικής κλίμακας

❑ Έλεγχος και παρακολούθηση των ζυμώνσεων

- ❑ Συνεχής παρακολούθηση
- ❑ Μέτρηση της αύξησης του μικροοργανισμού
- ❑ Σύνθεση προϊόντος
- ❑ Εξέλιξη διεργασίας με ρυθμιστική μεταβολή περιβαλλοντικών παραγόντων όπως θερμοκρασία, συγκέντρωση οξυγόνου, pH, κυτταρική μάζα, συγκέντρωση του προϊόντος
- ❑ Ηλεκτρονικοί υπολογιστές για την παρακολούθηση των διεργασιών και την τυποποίηση της ζυμωτικής διαδικασίας



(α)

Novo Nordisk



(β)

Novo Nordisk

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.

Χαρακτηριστικά των ζυμώσεων μαζικής κλίμακας

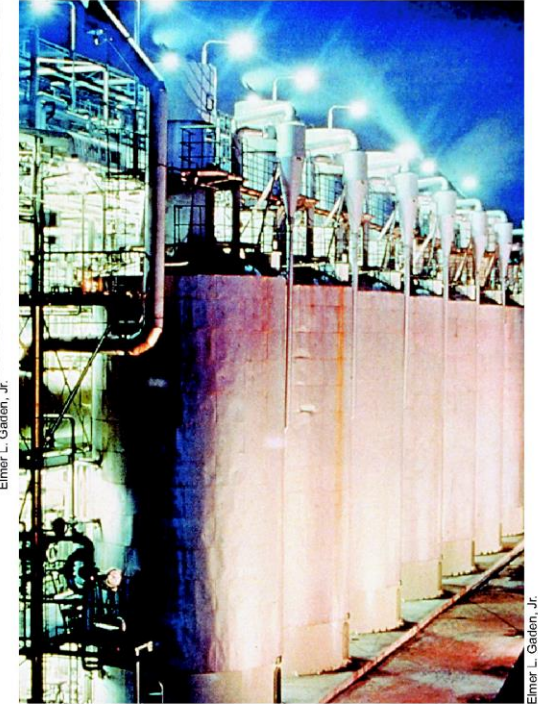
❑ Μεγέθυνση της κλίμακας μιας ζύμωσης

- ❑ Είναι η διαδικασία της βαθμιαίας προσαρμογής μιας ζύμωσης βιομηχανικού ενδιαφέροντος από το επίπεδο του εργαστηρίου στο επίπεδο της παραγωγής
- ❑ Καθοριστικό παράγοντα αποτελεί ο αερισμός
- ❑ Ενδιάμεσα στάδια της μεγέθυνσης κλίμακας:
 - Εργαστηριακή φιάλη
 - Εργαστηριακός Ζυμωτήρας (1-10 L)
 - Πιλοτικό εργαστηριακό επίπεδο (300 – 3.000 L)
 - Βιομηχανικός ζυμωτήρας (10.000 – 500.000 L)



(α)

Εικόνα 30.6 (α) Ομάδα μικρών ερευνητικών ζυμωτήρων 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 υπερχειλίσσης. (β) Ομάδα υπαιθριων ζυμωτήρων βιομηχανικής κλίμακας (240 m³), στην Ιαπωνία, για την εμπορική παραγωγή αλκοόλης. Λόγω της τεράστιας διαφοράς μεγέθους, η ίδια μικροβιακή ζύμωση πιθανότατα θα λειτουργούσε εδώ πολύ διαφορετικά.



(β)

Σημαντικά προϊόντα της βιομηχανικής μικροβιολογίας

- Αντιβιοτικά
- Βιταμίνες
- Αμινοξέα
- Στεροειδή
- Ένζυμα
- Ξύδι
- Κιτρικό οξύ και άλλες οργανικές ενώσεις
- Αλκοόλη και αλκοολούχα ποτά

Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

- ❑ Τα αντιβιοτικά είναι τυπικοί δευτερογενείς μεταβολίτες
- ❑ Τα εμπορικής σημασίας αντιβιοτικά παράγονται από νηματοειδείς μύκητες και από βακτήρια της ομάδας των Ακτινομυκήτων
- ❑ Ακτινομύκητες
 - Μεγάλη ομάδα νηματοειδών θετικών κατά Gram βακτηρίων, που σχηματίζουν διακλαδιζόμενα νημάτια – σχηματισμός μυκηλίου από δίκτυο νηματίων
 - Οι περισσότεροι σχηματίζουν σπόρια



(α)

Peter Hirsch



(β)

Hubert and Mary P. Lechevallier

Εικόνα 12.73 Μικροφωτογραφίες διαφόρων δομών των ακτινομυκήτων, που φέρουν σπόρια. (α) *Streptomyces*, τύπος μυκηλίου με έναν σπόνδυλο. (β) *Streptomyces*, σπειροειδής τύπος. Και στις δύο περιπτώσεις τα νημάτια έχουν πλάτος 0,8 μm περίπου.

Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

□ Ακτινομύκητες

□ *Streptomyces*

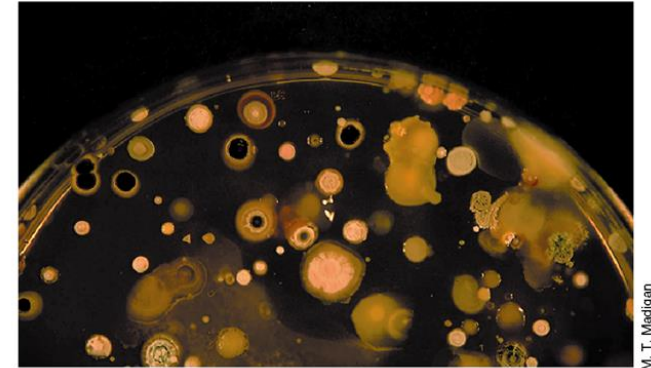
- Με το γηρασμό της αποικίας σχηματίζουν εναέρια νημάτια (σποριοφόρα) από τα οποία προκύπτουν τα σπόρια (κονίδια)
- Απαντώνται σε υδάτινα, αλλά κυρίως σε εδαφικά ενδιαιτήματα με τα αλκαλικά και ουδέτερα εδάφη και καλά στραγγιζόμενα εδάφη να είναι καταλληλότερα για την ανάπτυξη τους
- Παράγουν σειρά μεταβολιτών τις γεωσμίνες, τερπενοειδή C₁₅
- Εύκολη απομόνωση από το έδαφος : επίστρωση εναιωρήματος εδάφους σε αποστειρωμένο νερό σε εκλεκτικό στερεό θρεπτικό μέσο και επώαση στους 25°C για 5-7 ημέρες σε αερόβιες συνθήκες
- Τροφική ευελιξία – χρησιμοποιούν εύρος σακχάρων, αλκοολών, οργανικών οξέων, αμινοξέων και ορισμένων αρωματικών ενώσεων, χωρίς ιδιαίτερες απαιτήσεις σε παράγοντες αύξησης

Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

□ Ακτινομύκητες

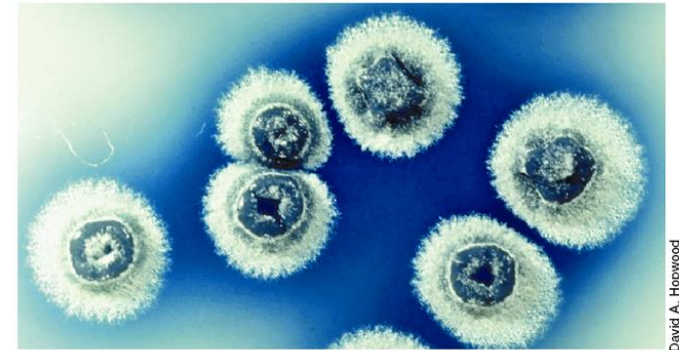
□ Αντιβιοτικά των *Streptomyces*

- Ευρύτατη δυνατότητα παραγωγής αντιβιοτικών - >500 συγκεκριμένες αντιβιοτικές ουσίες παράγονται από στρεπτομύκητες και > 60 έχουν βρει πρακτική εφαρμογή στην ιατρική, την κτηνιατρική και τη γεωργία και τη βιομηχανία
- Ορισμένα είδη παράγουν περισσότερα του ενός αντιβιοτικά χωρίς να εμφανίζουν απαραίτητα χημική συγγένεια μεταξύ τους
- Ζώνες αναστολής αποικιών άλλων βακτηρίων σε τρυβλία που χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση τους



M. T. Madigan

(α)



David A. Hopwood

(β)

Εικόνα 12.76 *Streptomyces*. (α) Αποικίες *Streptomyces* και άλλων βακτηρίων του εδάφους ύστερα από την επίσρωση εναιωρήματος εδάφους σε τρυβλίο με άγαρ καζέϊνης και αμύλου. Οι αποικίες των *Streptomyces* έχουν διάφορα χρώματα (σε πρώτο πλάνο παρατηρούνται αρκετές μαύρες αποικίες *Streptomyces*), αλλά ταυτοποιούνται εύκολα λόγω της αδιαφανούς, ανώμαλης, και συμπαγούς μορφολογίας τους. (β) Φωτογραφία σε κοντό πλάνο αποικιών του *Streptomyces coelicolor*.

Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

□ Ακτινομύκητες

□ Αντιβιοτικά των *Streptomyces*

- Από πλευράς οικολογίας η αιτία που προκαλεί την παραγωγή των αντιβιοτικών δεν είναι σαφής
- Υπόθεση: η παραγωγή αντιβιοτικών σχετίζεται με τη σπορίωση που με τη σειρά της προκαλείται λόγω έλλειψης θρεπτικών στοιχείων => ανταγωνισμός με άλλους οργανισμούς για τα περιορισμένα θρεπτικά στοιχεία



(α)



(β)

Εικόνα 12.77 Αντιβιοτικό από *Streptomyces*. (α) Αντιβιοτική δράση οργανισμών του εδάφους σε τρυβλίο με μεγάλο αριθμό αποικιών. Οι μικρότερες αποικίες που περικλείονται από ζώνες αναστολής είναι στρεπτομύκητες. Οι μεγαλύτερες, επεκτεινόμενες αποικίες είναι είδη *Bacillus*. (β) Η ερυθρού χρώματος αντιβιοτική ουσία ανδεκυλπροδιγιουσίνη απεκκρίνεται από αποικίες του *Streptomyces coelicolor*.

Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

❑ Έρευνα για νέα αντιβιοτικά

- ❑ Ο παραδοσιακός τρόπος εντοπισμού νέων αντιβιοτικών ουσιών είναι **διαλογή**
- ❑ Απομόνωση από τη φύση – σε καθαρή καλλιέργεια – ενός μεγάλου αριθμού μικροοργανισμών που ενδέχεται να παράγουν αντιβιοτικά
- ❑ Έλεγχος παραγωγής από τα απομονωμένα στελέχη ουσιών που διαχέονται και προκαλούν αναστολή της αύξησης κάποιου βακτηρίου δείκτη = αντιπροσωπευτικό ή συγγενή παθογόνων
- ❑ Διερεύνηση της παραγωγής νέων αντιβιοτικών ουσιών
- ❑ Προσδιορισμός των οργανισμών που τις παράγουν
- ❑ Ανάλυση της δομής των ουσιών
- ❑ Δοκιμές τοξικότητας και θεραπευτικής δράσης
- ❑ Κλινικές δοκιμές

Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

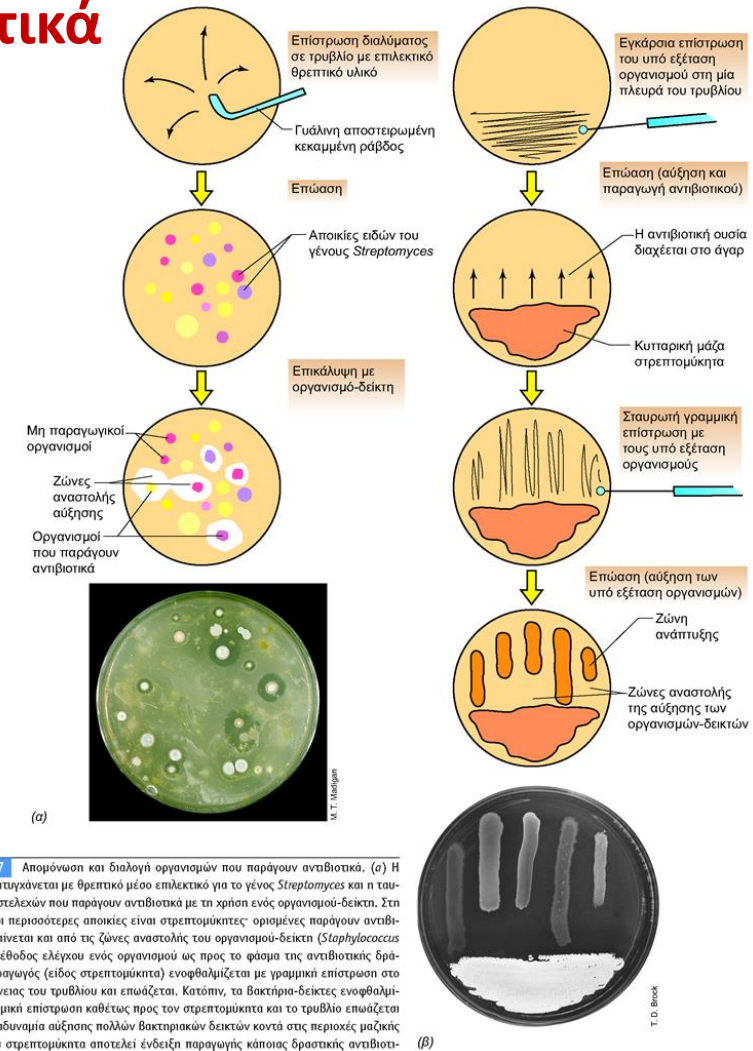
□ Απομόνωση και διαλογή οργανισμών που παράγουν αντιβιοτικά

□ Απομόνωση

- Απομόνωση με επιλεκτικό θρεπτικό μέσο
- Ταυτοποίηση με τη χρήση οργανισμού δείκτη
- Παραγωγή αντιβιοτικών => ζώνες αναστολής του οργανισμού δείκτη

□ Έλεγχος του οργανισμού ως προς το φάσμα της αντιβιοτικής δράσης του

- Γραμμική επίστρωση παραγωγού σε τρυβλίο με ειδικό θρεπτικό μέσο (επίστρωση στο 1/3 του τρυβλίου) και επώαση => αύξηση και παραγωγή αντιβιοτικού
- Σταυρωτή γραμμική επίστρωση του οργανισμού δείκτη και επώαση
- Αδυναμία αύξησης των οργανισμών δεικτών – ζώνες αναστολής αύξησης



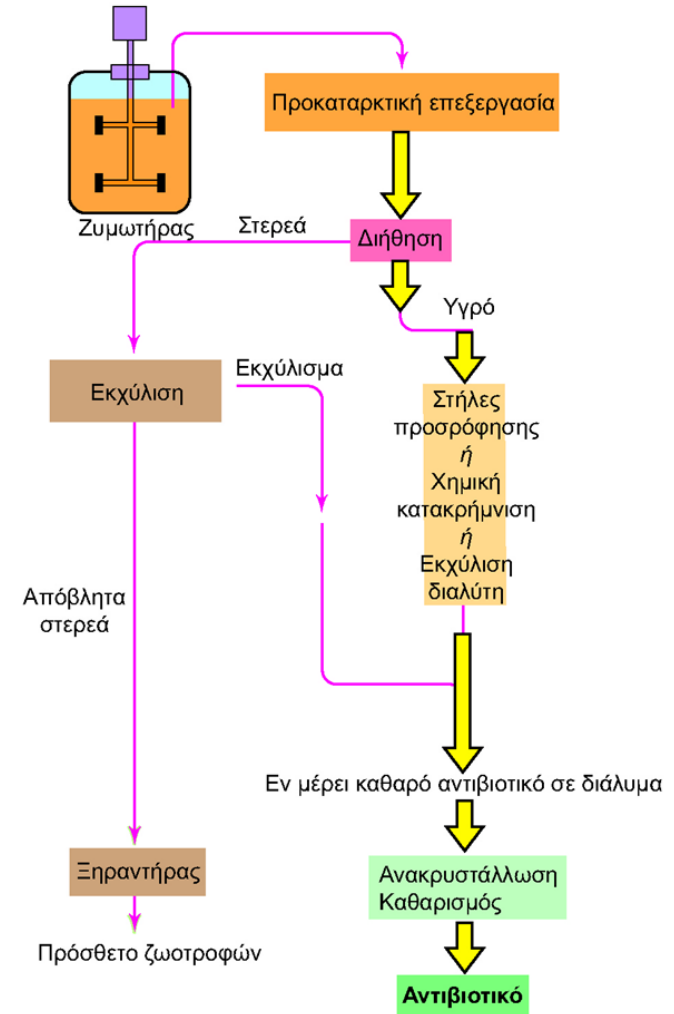
Εικόνα 30.7 Απομόνωση και διαλογή οργανισμών που παράγουν αντιβιοτικά. (α) Η απομόνωση επιτελείται με θρεπτικό μέσο επιλεκτικό για το γένος *Streptomyces* και η ταυτοποίηση των στελεχών που παράγουν αντιβιοτικά με τη χρήση ενός οργανισμού-δείκτη. Στη φωτογραφία, οι περισσότερες αποικίες είναι στρεπτομύκητες· 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*.

Αντιβιοτικά: Απομόνωση και χαρακτηρισμός

❑ Καθαρισμός και αυξημένη απόδοση

- ❑ Εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες
- ❑ Παραλαβή μέσω προσρόφησης, ανταλλαγής ιόντων ή χημικής κατακρήμνισης
- ❑ Λήψη κρυσταλλικού προϊόντος υψηλής καθαρότητας
- ❑ Απομόνωση στελεχών υψηλής απόδοσης
- ❑ Ενίσχυση της απόδοσης μέσω γενετικής μηχανικής
 - Ενίσχυση γονιδίου
 - Μετατροπές ρυθμιστικών διαδικασιών

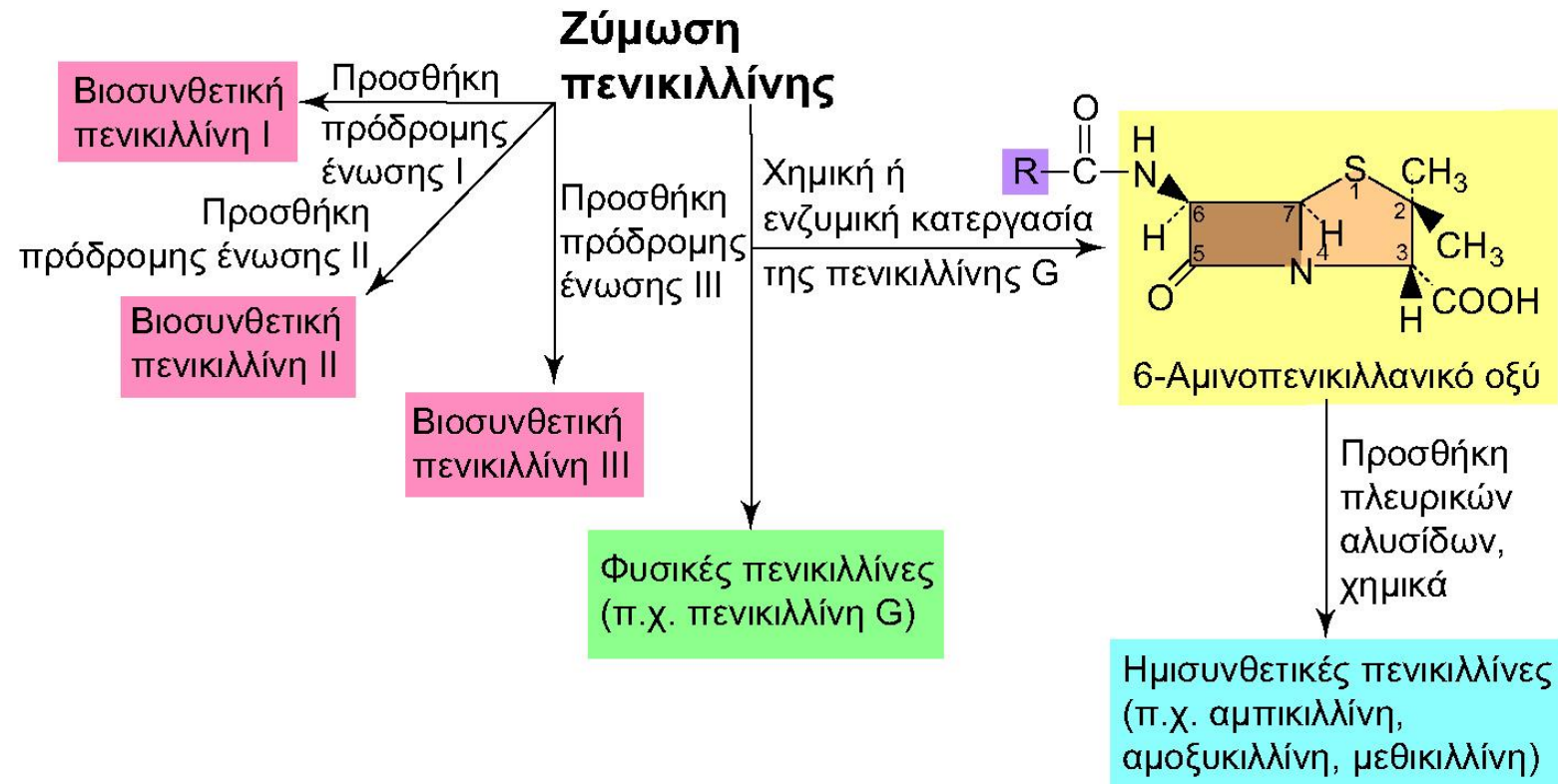
➤ Στόχος μέγιστη δυνατή απόδοση στον συντομότερο δυνατό χρόνο



Βιομηχανική παραγωγή πενικιλίνης - τετρακυκλίνης

❑ Αντιβιοτικά β-λακτάμης: Πενικιλίνη και συγγενικές ενώσεις

- ❑ Κλινικά χρησιμοποιούμενες πενικιλίνες = αποτέλεσμα βιοκαταλυτικών αντιδράσεων τις οποίες συμπληρώνουν χημικές τροποποιήσεις



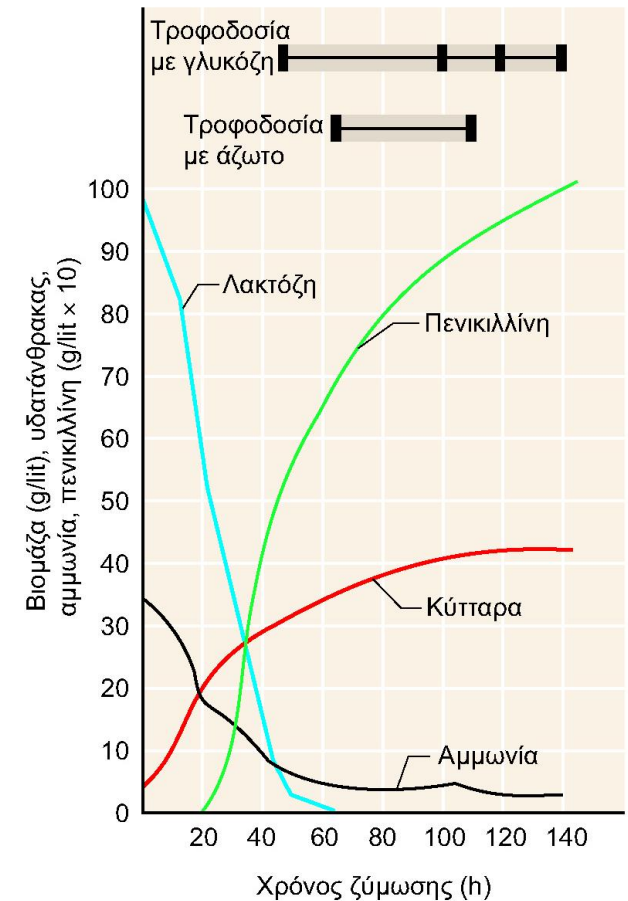
Βιοσυνθετικά αντιβιοτικά:
παραγωγή ενός αντιβιοτικού μέσω τροφοδοσίας του παραγωγού μικροοργανισμού με ειδικά πρόδρομα μόρια

Ημισυνθετικά αντιβιοτικά:
Αντιβιοτικό που παράγεται με την αξιοποίηση συστατικών που προέρχονται από διεργασίες τόσο μικροβιακής ζύμωσης όσο και χημικής σύνθεσης

Βιομηχανική παραγωγή πενικιλίνης - τετρακυκλίνης

❑ Μέθοδοι παραγωγής αντιβιοτικών β-λακτάμης

- ❑ Αερόβια διαδικασία
- ❑ Δευτερογενής μεταβολίτης => κατά την αυξητική φάση παράγεται ελάχιστη πενικιλίνη – εξάντληση πηγής άνθρακα και φάση παραγωγής
- ❑ Προσθήκη συστατικών του θρεπτικού μέσου
 - Αμυλοσιρόπι αραβόσιτου = πηγή αζώτου κ.α. παράγοντες αύξησης
 - Λακτόζη = πηγή άνθρακα
- ❑ Διήθηση των κυττάρων – μείωση pH – εκχύλιση με οργανικό διαλύτη – συγκέντρωση στο διαλύτη και επανεκχυλίζεται σε αλκαλικό υδατικό μέσο => παρασκευή πενικιλίνης υψηλής καθαρότητας

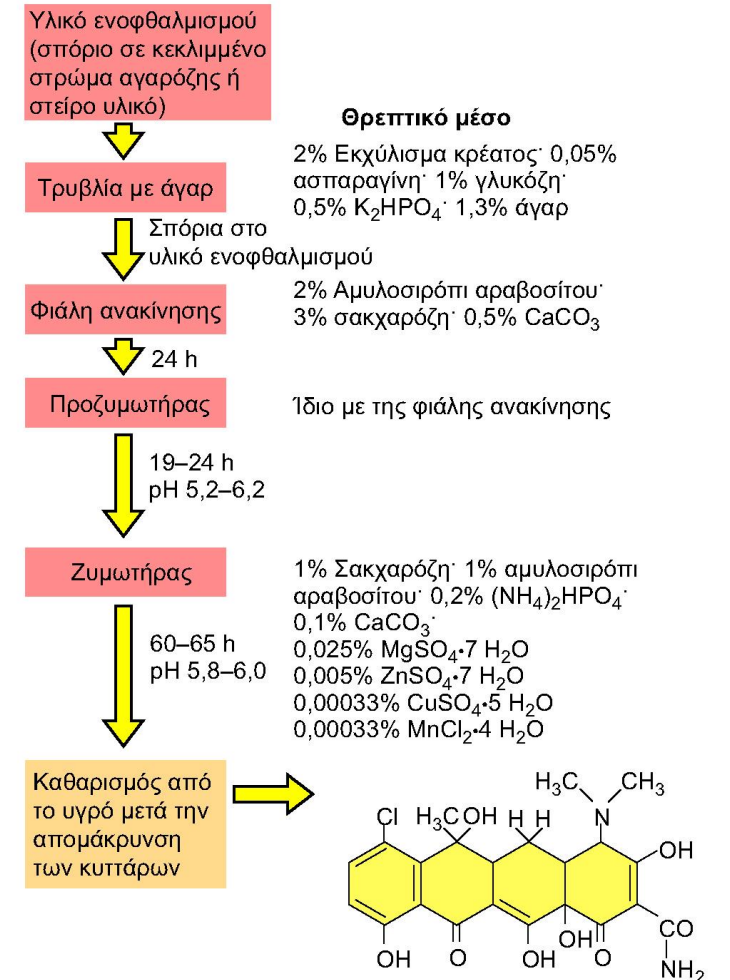


Εικόνα 30.10 Κινητική της ζύμωσης της πενικιλίνης με *Penicillium chrysogenum*. Προσέξτε ότι η παραγωγή πενικιλίνης εμφανίζεται με την είσοδο των κυττάρων στη στάσιμη φάση, όταν το μεγαλύτερο τμήμα του άνθρακα και του αζώτου έχει ήδη εξαντληθεί. Η προσθήκη θρεπτικών ουσιών διατηρεί την παραγωγή πενικιλίνης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

Βιομηχανική παραγωγή πενικιλίνης - τετρακυκλίνης

❑ Παραγωγή τετρακυκλινών

- ❑ Περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό ενζυμικών αντιδράσεων
- ❑ Περίπτωση χλωροτετρακυκλίνης έως 72 ενδιάμεσα προϊόντα
- ❑ Στη βιοσύνθεση χλωροτετρακυκλίνης από τον *Streptomyces aureofaciens* συμμετέχουν περισσότερα από 300 γονίδια!!!
- ❑ Συστατικά θρεπτικού μέσου
 - Αμυλοσιρόπι αραβόσιτου = πηγή αζώτου
 - Σακχαρόζη = πηγή άνθρακα
 - Απουσία γλυκόζης ή φωσφορικών

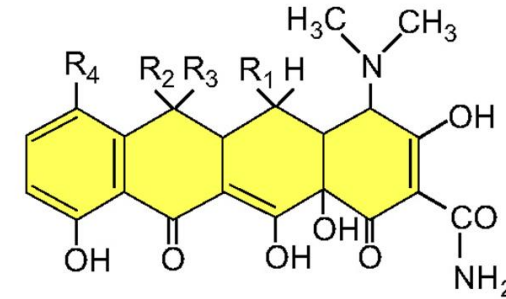


Εικόνα 30.11 Πρωτόκολλο παραγωγής χλωροτετρακυκλίνης από τον *Streptomyces aureofaciens*. Η δομή της χλωροτετρακυκλίνης φαίνεται κάτω δεξιά. Θερμοκρασία αύξησης του οργανισμού: 28°C, συνεχώς.

Νέα ανάλογα υπαρκτών αντιμικροβιακών ουσιών

❑ Παρασκευή νέων αναλόγων από ήδη υπάρχουσες αντιμικροβιακές ουσίες

- ❑ Εισαγωγή μικρών τροποποιήσεων στη χημική δομή συγκεκριμένου φαρμάκου και μεταβολή φυσικοχημικών ιδιοτήτων αποσκοπώντας σε βελτιωμένη δραστηριότητα – παράδειγμα τετρακυκλίνης
- ❑ Χρήση αυτοματοποιημένων ρομποτικών μεθόδων χημείας – συνδιαστική χημεία => μείωση του απαιτούμενου χρόνου και αύξηση του αριθμού των υποψήφιων ουσιών
- ❑ Για την παραγωγή ενός φαρμάκου με κλινική χρησιμότητα απαιτείται διαλογή 7.000.000 υποψήφιων ενώσεων

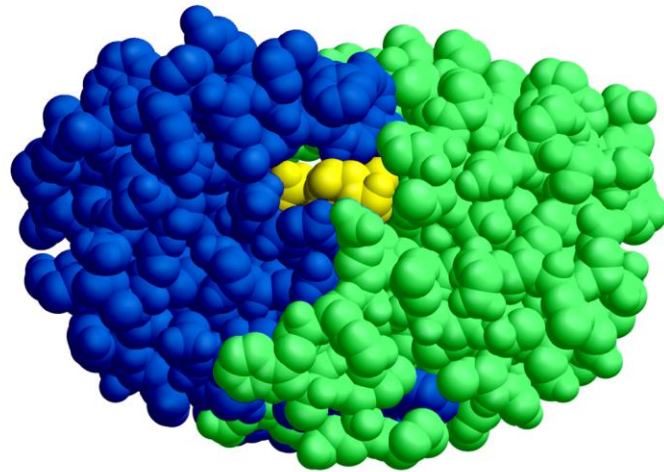


| Ανάλογο τετρακυκλίνης | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ |
|--------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| Τετρακυκλίνη | H | OH | CH ₃ | H |
| 7-Χλωροτετρακυκλίνη (χρυσομυκίνη) | H | OH | CH ₃ | Cl |
| 5-Οξυτετρακυκλίνη (τερραμυκίνη) | OH | OH | CH ₃ | H |

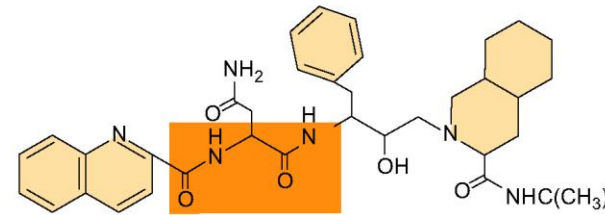
Εικόνα 20.22 Δομή της τετρακυκλίνης και ορισμένα σημαντικά ημισυνθετικά ανάλογα.

Σχεδιασμός φαρμάκων στον ηλεκτρονικό υπολογιστή

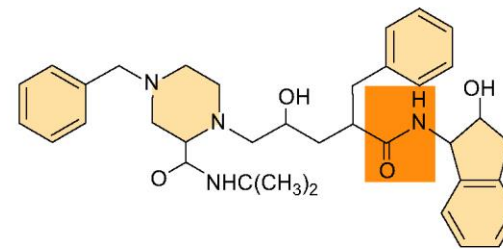
□ *In silico* ανακάλυψη νέων φαρμάκων σε υπολογιστικό περιβάλλον – παράδειγμα σακίναβιρης



(α)



Σακίναβιρη



Ινδιναβίρη

(β)

Εικόνα 20.27 Αντικατάφρακα που έχουν σχεδιαστεί στον ηλεκτρονικό υπολογιστή. (α) Το ομοδιμερές της πρωτεάσης του HIV. Οι μεμονωμένες πολυπεπτιδικές αλυσίδες συμβολίζονται με πράσινο και κυανό. Ένα τρίτο πεπτιδίον (κίτρινο) συνδέεται με το καταλυτικό κέντρο. Η συγκεκριμένη πρωτεάση διασπά μια πρόδρομη πρωτεΐνη του HIV, στάδιο απαραίτητο στον ιικό πολλαπλασιασμό (👁️ Τμήμα 16.14). Η δέσμευση του καταλυτικού κέντρου της πρωτεάσης από το «κίτρινο» πεπτιδίον αναστέλλει την επεξεργασία πρόδρομων ενώσεων και, κατ'επέκταση, την ωρίμανση του HIV. Η συγκεκριμένη ένωση έχει προέλθει από δεδομένα της Βάσης Πρωτεϊνικών Δεδομένων [βλ. Παράρτημα 3, Σ.τ.Ε.Ε. 4]. (β) Αυτά τα φάρμακα χρησιμοποιούνται εναντίον του HIV. Είναι ανάλογα πεπτιδίων που σχεδιάστηκαν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, με στόχο την αναστολή του ενεργού κέντρου της πρωτεάσης. Οι περιοχές που υποδεικνύονται με πορτοκαλί χρώμα είναι οι θέσεις που αναλογούν σε πεπτιδικούς δεσμούς. Η δέσμευση των ενώσεων αυτών στο ενεργό κέντρο της πρωτεάσης παρεμποδίζει τη σύνθεση πρόδρομων ουσιών του HIV και αναστέλλει την ωρίμανση του ιού. Πρόκειται για ενώσεις αντιπροσωπευτικές μιας κατηγορίας φαρμάκων που ονομάζονται αναστολείς πρωτεασών. Η συγκέντρωση των συγκεκριμένων ουσιών σε κύτταρα μολυσμένα με τον HIV, σε συνδυασμό με την ισχυρή τους συγγένεια προς την πρωτεάση του HIV, τα καθιστά πανίσχυρους ανταγωνιστικούς αναστολείς όσον αφορά το ενεργό κέντρο της πρωτεάσης και εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό του ιού. Οι συγκεκριμένοι αναστολείς πρωτεάσης χρησιμοποιούνται ευρέως για την αντιμετώπιση της μόλυνσης από τον HIV (βλ. Πίνακα 20.5· 👁️ Τμήμα 26.14).

Βιταμίνες και αμινοξέα

❑ Βιταμίνες

- ❑ Συμπλήρωμα διατροφής ανθρώπων και ζώων
- ❑ Η πλειοψηφία τους παράγεται μέσω χημικής σύνθεσης
- ❑ Ορισμένες περιλαμβάνουν περίπλοκο τρόπο βιοσύνθεσης => υψηλό κόστος σύνθεσης => σύνθεση με βιοκατάλυση (π.χ. βιταμίνη B12, ριβοφλαβίνη)

❑ Βιταμίνη B12

- Στη φύση συντίθεται αποκλειστικά από μικροοργανισμούς
- Για τη βιομηχανική παραγωγή της χρησιμοποιούνται ειδικά επιλεγμένα μικροβιακά στελέχη μέλη των βακτηριακών γενών *Propionibacterium* και *Pseudomonas* και προστίθεται κοβάλτιο στο καλλιεργητικό μέσο

❑ Ριβοφλαβίνη

- ❑ Συντίθεται σε πολλούς μικροοργανισμούς – βακτήρια, μύκητες και ζυμομύκητες
- ❑ Ο μύκητας *Ashbya gossypii* παράγει έως και 7g L^{-1} υπό φυσιολογικές συνθήκες

Βιταμίνες και αμινοξέα

□ Αμινοξέα

- Χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων (ως διατροφικά συμπληρώματα), στην ιατρική και ως πρώτες ύλες στη χημική βιομηχανία
- **Γλουταμικό οξύ** ως ενισχυτής γεύσης
- **Ασπαρτικό οξύ και φαινυλαλανίνη:** συστατικά της τεχνητής γλυκαντικής ουσίας **ασπαρτάμη**
- **Λυσίνη:** παράγεται εμπορικά από το βακτήριο *Brevibacterium flavum* και χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων
- Οι μεγάλες αποδόσεις στην παραγωγή των διαφόρων αμινοξέων επιτυγχάνονται μέσω τροποποίησης των ρυθμιστικών σημάτων που ελέγχουν τη βιοσύνθεση ενός συγκεκριμένου αμινοξέος έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η υπερπαραγωγή του – παράκαμψη του φαινομένου της αναδραστικής (ή ανατροφοδοτικής) αναστολής



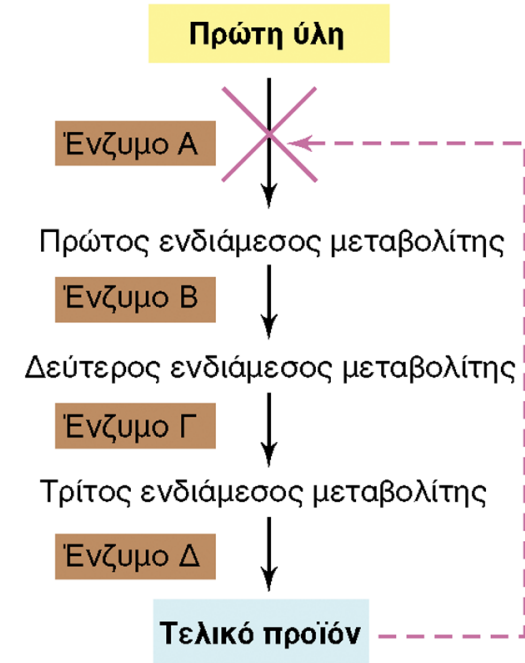
Βιταμίνες και αμινοξέα

□ Αναδραστική (ανατροφοδοτική) αναστολή

- Μηχανισμός ελέγχου της ενζυμικής ενεργότητας κατά τη ρύθμιση του βιοσυνθετικού μονοπατιού ουσιών όπως αμινοξέα
- Ανάλογα βιοσυνθετικά μονοπάτια περιλαμβάνουν πλήθος διαδοχικών ενζυμικών σταδίων και το τελικό προϊόν το οποίο είναι δυνατόν να αναστείλει μέσω ανάδρασης την πρώτη αντίδραση του βιοσυνθετικού μονοπατιού – την ενεργότητα του πρώτου ενζύμου του μονοπατιού- και να ρυθμίσει την βιοσύνθεση του

⇒ Καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του τελικού προϊόντος στο κύτταρο αναστέλλεται η περαιτέρω σύνθεση του και όταν αυτό καταναλωθεί η σύνθεση του ξεκινά εκ νέου

⇒ **Αλλοστερισμός**



Εικόνα 8.2 Αναδραστική αναστολή της ενζυμικής ενεργότητας. Η ενεργότητα του πρώτου ενζύμου της βιοσυνθετικής οδού αναστέλλεται από το τελικό προϊόν και έτσι ελέγχεται η παραγωγή του τελικού προϊόντος.

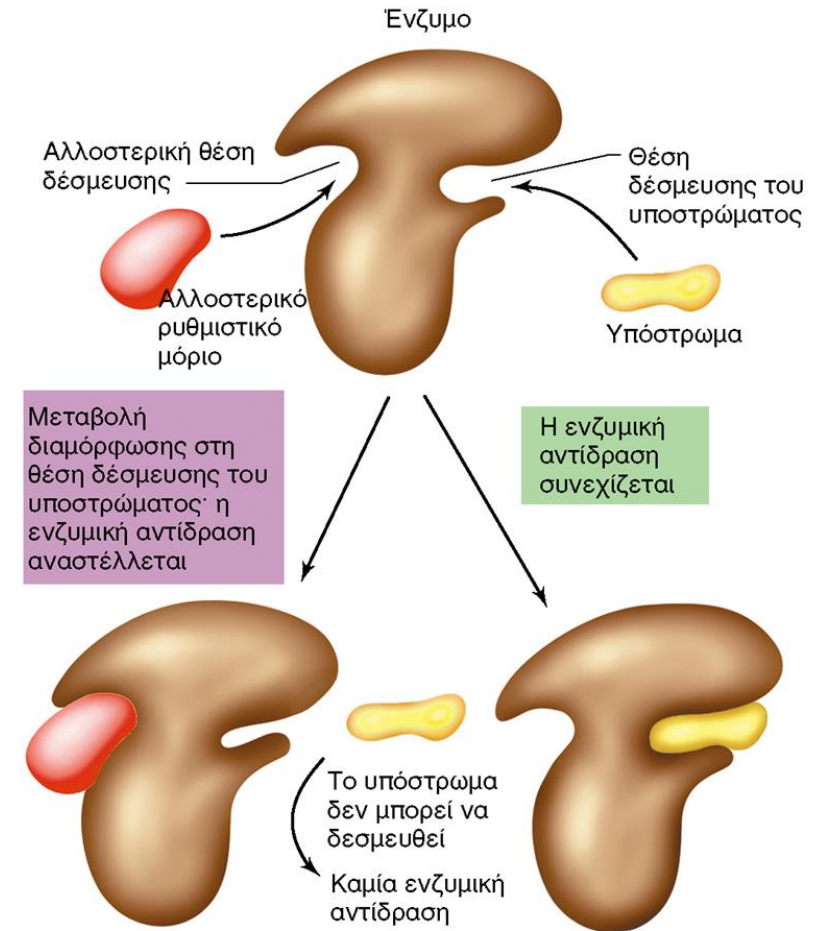


Βιταμίνες και αμινοξέα

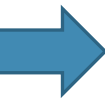
❑ Αναδραστική (ανατροφοδοτική) αναστολή

⇒ Αλλοστερισμός

- ❑ Ένα αλλοστερικό ένζυμο διαθέτει δύο σημαντικές θέσεις δέσμευσης:
- ❑ Το ενεργό κέντρο για τη δέσμευση του υποστρώματος του
- ❑ Αλλοστερική θέση για την αντιστρεπτή δέσμευση του αναστολέα
- ❑ Δέσμευση του αναστολέα στην αλλοστερική θέση οδηγεί σε μεταβολή της διαμόρφωσης του ενζύμου με αποτέλεσμα να μη μπορεί το υπόστρωμα να δεσμευτεί αποτελεσματικά στο ενεργό κέντρο
- ❑ Το ένζυμο επανέρχεται στην καταλυτικά ενεργή διαμόρφωση του όταν η συγκέντρωση του αναστολέα μειωθεί

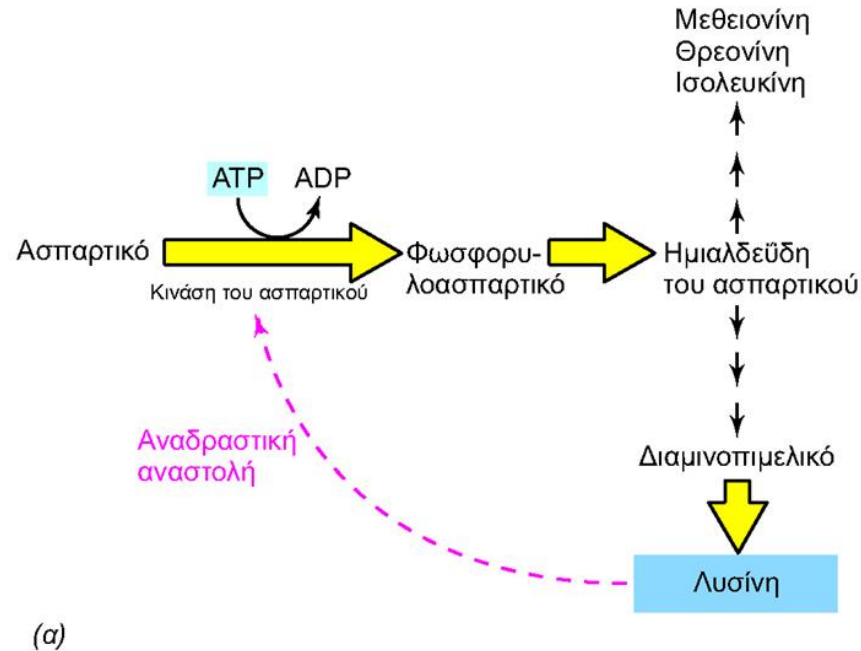


Εικόνα 8.3 Μηχανισμός ενζυμικής αναστολής από ένα αλλοστερικό ρυθμιστικό μόριο. Όταν το μόριο αυτό ενώνεται με την αλλοστερική θέση, μεταβάλλεται η διαμόρφωση του ενζύμου και το υπόστρωμα δεν μπορεί πλέον να δεσμευθεί.

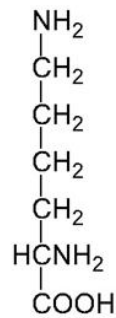


Βιταμίνες και αμινοξέα

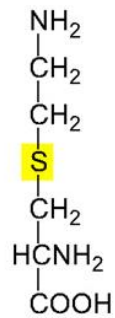
□ Αμινοξέα



(α)



Λυσίνη



S-Αμινοαιθυλοκυστεΐνη

(β)

- Περίσσεια της λυσίνης αναστέλλει την ενεργότητα του ενζύμου κινάση του ασπαρτικού
- Υπερπαραγωγή λυσίνης με απομόνωση μεταλλαγμάτων του *B. flavum* ανθεκτικών στο ανάλογο της λυσίνης S-αμινοαιθυλοκυστεΐνη όπου η τροποποιημένη κινάση του ασπαρτικού που δεν υπόκειται σε αναδραστική αναστολή – φέρει αλλοστερικό κέντρο που δεν αναγνωρίζεται από τη λυσίνη και το ανάλογο της

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.

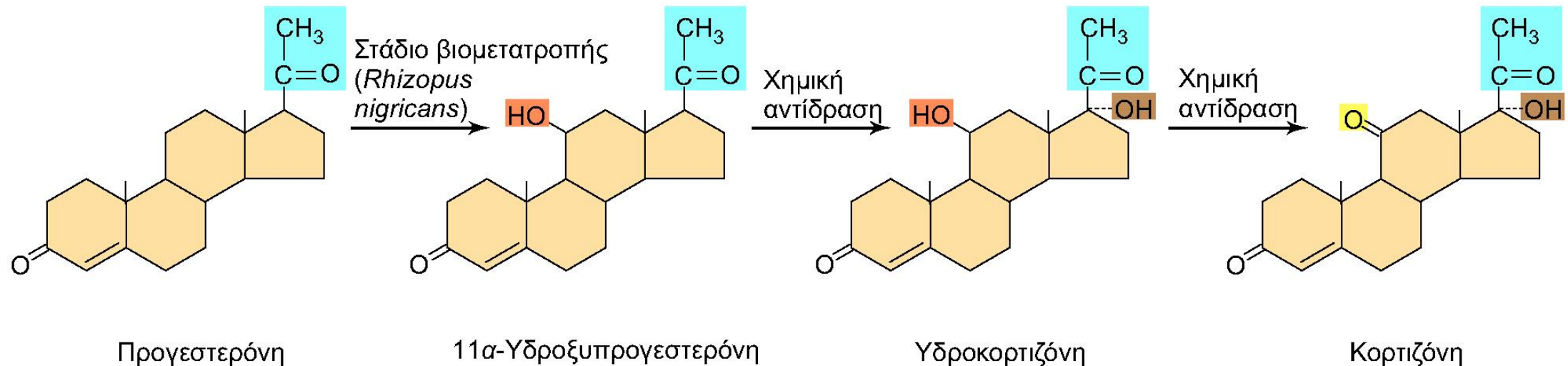
Μικροβιακή βιομετατροπή

- ❑ **Βιομετατροπή ή βιοσχηματισμός** είναι η χρήση των μικροοργανισμών για την εκτέλεση μιας χημικής αντίδρασης που θα ήταν πιο δαπανηρή ή αδύνατη με μη βιολογικά μέσα
- ❑ Περιλαμβάνει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε μεγάλους ζυμωτήρες και ακόλουθη προσθήκη σε κατάλληλο χρόνο της προς μετατροπή χημικής ουσίας, ενώ στη συνέχεια ακολουθεί επώαση, εκχύλιση του υγρού της ζύμωσης και καθαρισμός του παραγόμενου προϊόντος
- ❑ Κύρια χρήση της για την παραγωγή στεροειδών ορμονών – η χημική τους σύνθεση πολύπλοκη και δαπανηρή

Μικροβιακή βιομετατροπή

□ Κορτιζόνη και υδροκορτιζόνη

- Κατά την παραγωγή της υδροκορτιζόνης και της κορτιζόνης ο μύκητας *Rhizopus nigricans* συμμετέχει στη στεροειδή υδροξυλίωση μιας πρόδρομης ένωσης της κορτιζόνης



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 οξείδωση, 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.

Ένζυμα

- ❑ Εξωκυτταρικά ένζυμα παράγονται από μικροοργανισμούς σε μεγάλες ποσότητες και μπορούν να πέπτουν αδιάλυτα πολυμερή (π.χ. κυτταρίνη, πρωτεΐνες και άμυλο) με τα παραγόμενα προϊόντα να μεταφέρονται στο εσωτερικό του κυττάρου όπου χρησιμοποιούνται ως θρεπτικές αυξητικές ουσίες
- ❑ Αποτελούν ιδιαίτερα χρήσιμους βιοκαταλύτες
- ❑ Παράγονται εμπορικά από μύκητες και βακτήρια

Ένζυμα

- ❑ Πρωτεάσες, αμυλάσες και σιρόπι υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη
- ❑ Απορρυπαντικά πλυντηρίων και βακτηριακές πρωτεάσες, αμυλάσες, λιπάσες, αναγωγάσες κ.α.
- ❑ Αμυλάσες και γλυκοαμυλάσες αξιοποιούνται στην παραγωγή γλυκόζης και άμυλου
- ❑ Γλυκόζη και επίδραση ισομεράσης της γλυκόζης => παραγωγή σιροπιού υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη, από άμυλο καλαμποκιού ή σιταριού ή πατάτας = επικερδής διεργασία στην παραγωγή αλοολούχων ποτών

Ένζυμα

- ❑ **Ακραία ένζυμα: Ένζυμα προκαρυωτών που ζουν σε ακραία περιβάλλοντα**
- ❑ **Ακραία ένζυμα (extremozymes):** ένζυμα που παραμένουν λειτουργικά σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες ή ένζυμα που λειτουργούν άριστα υπό οποιεσδήποτε περιβαλλοντικές συνθήκες όπως ψύχος, υψηλή αλατότητα, ακραίες τιμές pH
- ❑ Οι οργανισμοί που παράγουν ακραία ένζυμα λέγονται ακραιόφιλοι π.χ. υπερθερμόφιλοι
- ❑ Υπερθερμόφιλά ένζυμα = χρήσιμοι βιοκαταλύτες σε βιομηχανικές και ερευνητικές εφαρμογές
- DNA πολυμεράσες, θερμοσταθερές πρωτεάσες, αμυλάσες, κυτταρινάσες, ξυλανάσες υπερθερμόφιλων οργανισμών

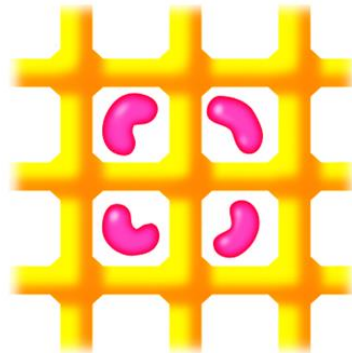
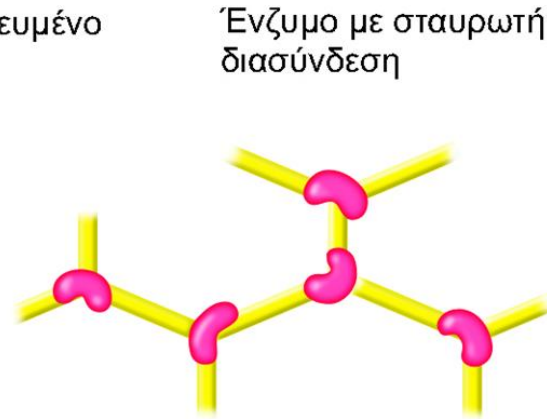
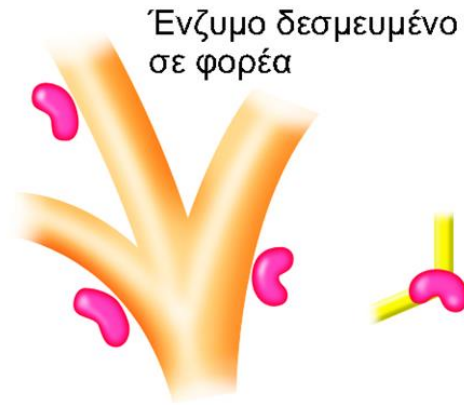
Ένζυμα

❑ Ακίνητοποιημένα ένζυμα

- ❑ Ακίνητοποίηση ενζύμων για τη διευκόλυνση της ενζυμικής αντίδρασης υπό συνθήκες συνεχούς ροής και μεγάλης κλίμακας και για την προστασία τους από μετουσίωση
- ❑ Προσεγγίσεις για την ακίνητοποίηση των ενζύμων:
 - **Δέσμευση του ενζύμου σε ένα φορέα** με προσρόφηση, ιοντικό ή ομοιοπολικό δεσμό. Ως φορείς χρησιμοποιούνται τροποποιημένες κυτταρίνες, ενεργοποιημένος άνθρακας, ορυκτά της αργίλου κ.α.
 - **Σταυρωτή διασύνδεση (πολυμερισμός)** των ενζυμικών μορίων μέσω χημικής αντίδρασης με κάποιο σχετικό αντιδραστήριο όπως η γλουταραλδεΐδη με τέτοιο τρόπο ώστε να διατηρείται η ενεργότητα του ενζύμου
 - **Εγκλεισμός του ενζύμου** σε ημιπερατή μεμβράνη (μικροκάψες, πήγματα, ινώδη πολυμερή)

Ένζυμα

□ Διεργασίες ακινητοποίησης ενζύμου



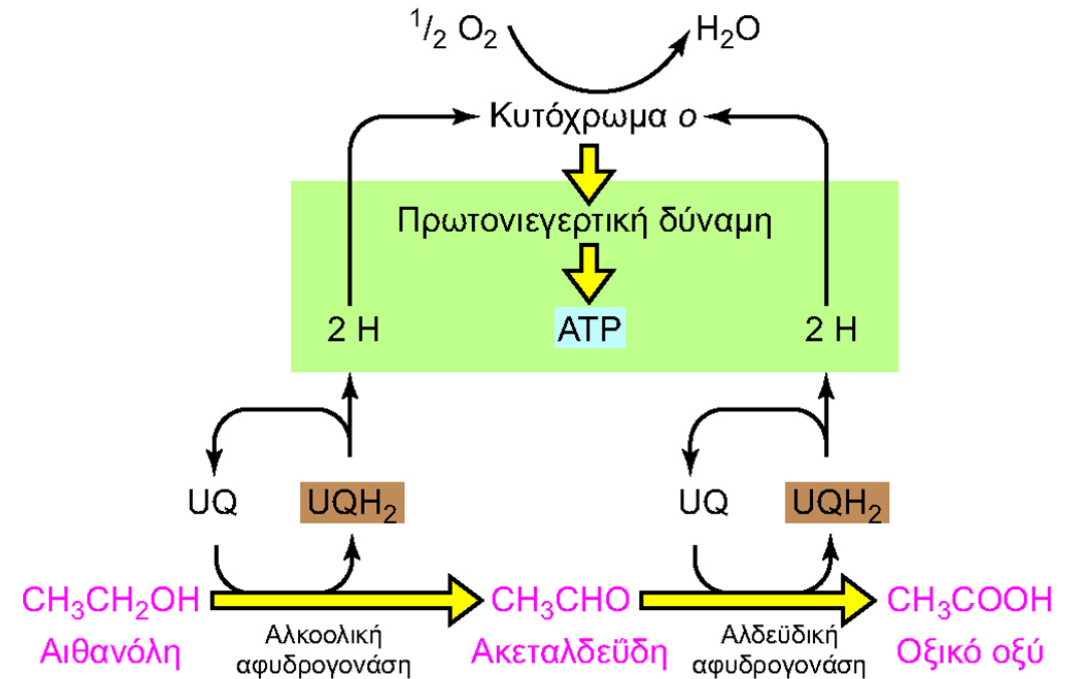
Εγκλεισμός ενζύμου
σε ινώδη πολυμερή



Εγκλεισμός ενζύμου
σε μικροκάψες

❑ Παραγωγή ξυδιού

- ❑ Το ξυδί 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*
- ❑ Πρώτη ύλη για την παραγωγή ξυδιού αποτελεί οποιαδήποτε ουσία περιέχει αιθανόλη, συνήθως μπίρα ή μηλίτης
- ❑ Τα βακτήρια του οξικού οξέος είναι αυστηρά αερόβια – απαραίτητη η διασφάλιση επαρκούς αερισμού του θρεπτικού μέσου
- ❑ Ορισμένα όπως αυτά που ανήκουν στο γένος *Gluconobacter* δεν οξειδώνουν πλήρως τις οργανικές ουσίες που χρησιμοποιούν ως δότες e^- προς CO_2 και νερό => οξειδώνουν την αιθυλική αλκοόλη προς οξικό οξύ
- ❑ Το ξύδι μπορεί να παραχθεί εύκολα και με χημικές διεργασίες ωστόσο οι ιδιαίτερες ιδιότητες που αφορούν στη γεύση στηρίζονται σε ουσίες που παράγονται κατά τις μικροβιακές διεργασίες



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

❑ Παραγωγή ξυδιού

❑ Περιλαμβάνει 3 διαφορετικές διεργασίες:

❑ Διαδικασία ανοιχτής δεξαμενής (ανοιχτού κάδου) ή μέθοδος της Ορλεάνης

- Το αλκοολούχο υγρό υπόστρωμα τοποθετείται σε ανοιχτούς κάδους ώστε να επιτευχθεί επαρκής έκθεση σε ατμοσφαιρικό αέρα και τα βακτήρια του οξικού οξέος αναπτύσσονται στην επιφάνεια του υγρού - Μη αποδοτική

❑ Μέθοδος στάγδην οξοποίησης (ή ταχείας οξοποίησης)

- Στηρίζεται στη στάγδην διέλευση του αλκοολούχου υποστρώματος σε κάδους ειδικά κατασκευασμένους ή υπό μορφή στήλης με παράλληλη διοχέτευση ρεύματος αέρα με αντιροή (γεννήτριες ξυδιού)– ανάπτυξη βακτηρίων στην επιφάνεια του υλικού των κάδων – καλύτερη απόδοση

❑ Μέθοδος των φυσαλίδων

- Υψηλή απόδοση

Κιτρικό οξύ και άλλες οργανικές ενώσεις

- ❑ Κιτρικό οξύ – τρόφιμα και ποτά
- ❑ Ιτακονικό οξύ – ακρυλικές ρητίνες
- ❑ Γλυκονικό οξύ – ιατρική και βιομηχανία

Παράγονται από μύκητες

- ❑ Σορβόζη – παραγωγή ασκορβικού γαλακτικού οξέος – βιομηχανία τροφίμων

και

Παράγονται από οξυγαλακτικά βακτήρια

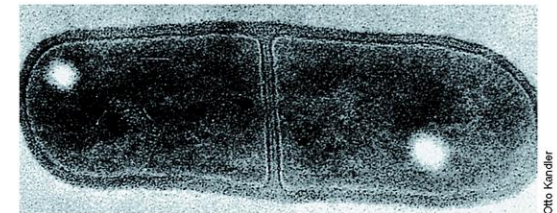
Κιτρικό οξύ και άλλες οργανικές ενώσεις

❑ Οξυγαλακτικά βακτήρια ή βακτήρια του γαλακτικού οξέος

- ❑ Θετικοί κατά Gram, αερανεκτικά αναερόβιοι, βάκιλλοι ή κόκκοι που παράγουν γαλακτικό οξύ ως κύριο ή μοναδικό προϊόν ζύμωσης
- ❑ **Streptococcus** (παραγωγή βούτυρου, ζωοτροφών και άλλων προϊόντων ζύμωσης), **Enterococcus**, **Lactococcus** (γαλακτοβιομηχανία), **Leuconostoc**, **Pediococcus**, **Lactobacillus** (γαλακτοβιομηχανία)
- ❑ Αντλούν ενέργεια από το μεταβολισμό των σακχάρων – σύνθετες διατροφικές απαιτήσεις σε αμινοξέα, βιταμίνες και βάσεις αζώτου (πουρίνες, πυριμιδίνες)
- ❑ Κατάταξη σε ομάδες με βάση τη φύση των προϊόντων που παράγουν κατά τη ζύμωση
 - **Ομοζυμωτική ομάδα** -> μοναδικό προϊόν ζύμωσης το γαλακτικό οξύ
 - **Ετεροζυμωτική ομάδα** -> εκτός από το γαλακτικό οξύ παραγωγή και άλλων προϊόντων όπως αιθανόλη, CO₂



(α)



(β)



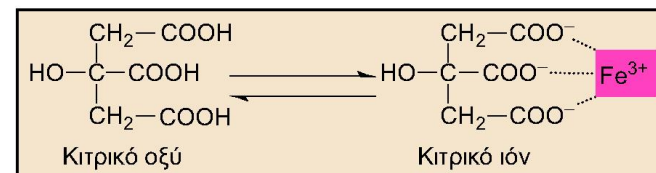
(γ)

Εικόνα 12.55 Μικρογραφήματα αντίθεσης φάσεων και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου ειδών *Lactobacillus*. (α) *Lactobacillus acidophilus*. Τα κύτταρα έχουν πλάτος 0,75 μm περίπου. (β) *Lactobacillus brevis*, σε μικρογράφημα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης. Τα κύτταρα έχουν μέγεθος 0,8 × 2 μm περίπου. (γ) *Lactobacillus delbrueckii*, σε μικρογράφημα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης. Τα κύτταρα έχουν διάμετρο 0,7 μm περίπου. Γνωρίζουμε τόσο ετεροζυμωτικά όσο και ομοζυμωτικά είδη *Lactobacillus* (βλ. Εικόνα 12.53).

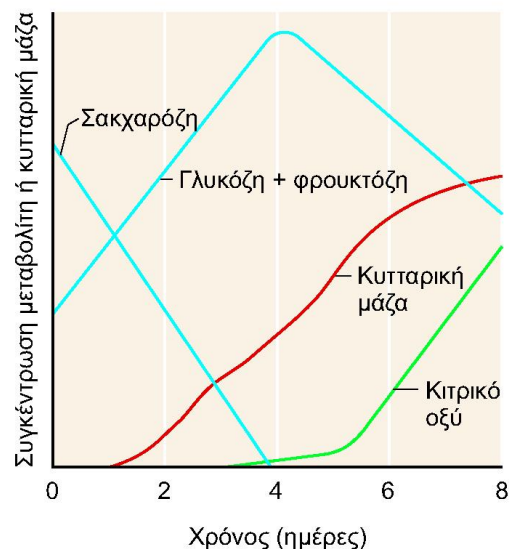
Κιτρικό οξύ και άλλες οργανικές ενώσεις

❑ Κιτρικό οξύ

- ❑ Παράγεται με τη συμμετοχή του μύκητα *Aspergillus niger* μέσω αερόβιας ζύμωσης – σημαντικός ο επαρκής αερισμός
- ❑ Προϋπόθεση αποτελεί η ανεπάρκεια σιδήρου στο θρεπτικό μέσο
- ❑ Πρώτες ύλες: άμυλο από πατάτα, προϊόντα υδρόλυσης αμύλου, σακχαρόζη, σιρόπι ζαχαροκάλαμου, μελάσσα
- ❑ Καταβολισμός σακχάρων μέσω γλυκόλυσης και είσοδος στον κύκλο του κιτρικού οξέος
- ❑ Ιστορικά αποτέλεσε την πρώτη αερόβια βιομηχανική ζύμωση



(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 τριθενούς σιδήρου (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.

Ζυμομύκητας: παράγοντας ζύμωσης και διατροφικό συμπλήρωμα

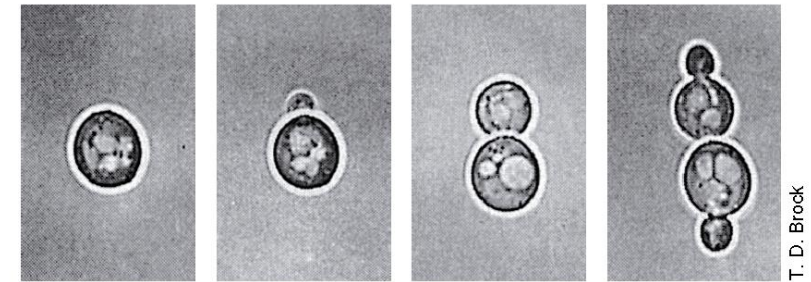
❑ Ζυμομύκητες

- ❑ Μονοκύτταροι μύκητες – Ασκομύκητες
- ❑ Σφαιρικά, ωοειδή ή κυλινδρικά κύτταρα, μεγαλύτερα σε μέγεθος από αυτά των βακτηρίων
- ❑ Αναπαραγωγή με εκβλάστηση ή σύζευξη και συγχώνευση δύο κυττάρων
- ❑ Ορισμένοι μπορούν να σχηματίσουν νημάτια
- ❑ Ευδοκιμούν σε ενδισαιτήματα με σάκχαρα
- ❑ *Saccharomyces cerevisiae* ως πρότυπος ευκαρυωτικός οργανισμός



J. Forsdyke

Εικόνα 14.21 Ηλεκτρονικό μικρογράφημα σάρωσης του κοινού ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*. Παρατηρήστε το εκβλάστημα, καθώς και τα σημάδια από παλιά εκβλαστήματα. Διάμετρος κυττάρου: περί τα 8 μm .



T. D. Brock

Εικόνα 14.22 Ανάπτυξη με εκβλάστηση στον *Saccharomyces cerevisiae*. Παρατηρήστε τον ευδιάκριτο πυρήνα. Μικροφωτογραφία αντίθεσης φάσεων. Διάμετρος κυττάρου: περί τα 8 μm .

Ζυμομύκητας: παράγοντας ζύμωσης και διατροφικό συμπλήρωμα

❑ Βιομηχανικές χρήσεις του ζυμομύκητα και των προϊόντων του

- ❑ Παραγωγή κυττάρων ζυμομύκητα – αερόβια διεργασία
- ❑ Προϊόντα ζυμομύκητα
- ❑ Προϊόντα ζύμωσης του ζυμομύκητα
- ❑ Παραγωγή αλκοόλης ποτών – αναερόβια διαδικασία
- ❑ Αποσταγμένα ποτά
- ❑ *Saccharomyces cerevisiae* ή παραπλήσια είδη



Εικόνα 1. Συνήθη προϊόντα για την παρασκευή των οποίων η δράση του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* είναι ιδιαίτερα σημαντική.

Ζυμομύκητας: παράγοντας ζύμωσης και διατροφικό συμπλήρωμα

❑ Παραγωγή κυττάρων ζυμομύκητα

❑ Αρτοποιία και διατροφικό συμπλήρωμα

- Καλλιέργεια σε μεγάλους αεριζόμενους ζυμωτήρες σε θρεπτικό μέσο με μελάσσες => υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα = πηγή άνθρακα και ενέργειας, αλλά και ιχνοστοιχείων, βιταμινών και αμινοξέων για το ζυμομύκητα
- Προσθήκη πηγής φωσφόρου και αζώτου
- Στο τέλος της αυξητικής φάσης τα κύτταρα του ζυμομύκητα ανακτώνται από το θρεπτικό μέσο με φυγοκέντριση
- Ζύμες αρτοποιίας στο εμπόριο ως πεπιεσμένη πάστα ή υπό μορφή ξηρής σκόνης
- Διατροφικός ζυμομύκητας αδρανοποιημένος με θέρμανση

Ζυμομύκτηας: παράγοντας ζύμωσης και διατροφικό συμπλήρωμα

Αλκοόλη και αλκοολούχα ποτά – Στάδια οινοποίησης

- Τρύγος σταφυλών
- Εκκροή χυμού σταφυλιών = γλεύκος ή μούστος
- Ζύμωση
- Αποθήκευση
- Παλαίωση – διαύγαση
- Εμφιάλωση
- Παλαίωση

Ζυμομύκητας: παράγοντας ζύμωσης και διατροφικό συμπλήρωμα

❑ Αλκοόλη και αλκοολούχα ποτά

- ❑ Τα αλκοολούχα ποτά παράγονται από ζυμομύκητες μέσω της ζύμωσης των σακχάρων προς αιθυλική αλκοόλη και CO₂
- ❑ Οινοποίηση
- ❑ Φυσικοί ζυμομύκητες: μικρότερη αντοχή στην αλκοόλη – παραγωγή ανεπιθύμητων παραπροϊόντων που αλλοιώνουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος- έπεξεργασία με διοξείδιο του θείου
- ❑ Καλλιεργούμενοι ζυμομύκητες – *Saccharomyces ellipsoideus* – ανθεκτικός στο διοξείδιο του θείου - καλλιέργεια εκκίνησης

Ζυμομύκητας: παράγοντας ζύμωσης και διατροφικό συμπλήρωμα

❑ **Αλκοόλη και αλκοολούχα ποτά**

- ❑ **Ζυθοποίηση** (παρασκευή αλκοολούχων ποτών από βύνη δημητριακών)
- ❑ Ο ζυμομύκητας δεν μπορεί να υδρολύσει το άμυλο – φυσικά ένζυμα που περιέχονται στη βύνη προκαλούν κατά τη διάρκεια θέρμανσης υδρόλυση του αμύλου και απελευθερώνουν σάκχαρα που υφίστανται ζύμωση από το ζυμομύκητα ενώ απελευθερώνονται πρωτεΐνες και αμινοξέα καθώς και άλλα απαραίτητα για την αύξηση του ζυμομύκητα θρεπτικά → προκύπτει υδαρές εκχύλισμα = βυνογλεύκος
- ❑ Δύο κύρια στελέχη ζυθοποίησης
- ❑ **Ζυμομύκητες επιφανείας:** *Saccharomyces cerevisiae* - ομοιόμορφη κατανομή στο υπό ζύμωση βυνογλεύκος και μεταφορά στην επιφάνεια από το αέριο CO₂ που παράγεται κατά τη ζύμωση (μπύρα τύπου ale)
- ❑ **Ζυμομύκητες βυθού:** *Saccharomyces carlsbergensis* - καθιζάνουν στον πυθμένα (μπύρα τύπου λάγκερ)

Ζυμομύκητας: παράγοντας ζύμωσης και διατροφικό συμπλήρωμα

❑ Αποσταγμένα αλκοολούχα ποτά

- ❑ Παρασκευάζονται με θέρμανση του υγρού που έχει υποστεί ζύμωση σε υψηλή θερμοκρασία ώστε να εξαερωθεί το μεγαλύτερο μέρος της περιεχόμενης αλκοόλης και ακόλουθη συμπύκνωση της αλκόλης

❑ Αιθανόλη εμπορίου

- ❑ Βιοκαταλυτική διεργασία μαζικής κλίμακας – κύριως μέσω ζύμωσης αμύλου από αραβόσιτο
- ❑ Χρησιμοποιούνται ζυμομύκητες όπως αυτοί των γενών *Saccharomyces*, *Kluuyveromyces* και *Candida*
- ❑ Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο της βενζίνης και ως βιομηχανικός διαλύτης

Μανιτάρια ως πηγή διατροφής

- ❑ Τα μανιτάρια είναι ομάδα νηματοειδών μυκήτων που σχηματίζουν μεγάλες εδώδιμες δομές, τα καρποσώματα
- ❑ Καρπόσωμα -> σύνδεση μεγάλου αριθμού μεμονωμένων υφών που διαμορφώνουν μυκήλιο – εδώδιμο τμήμα μανιταριού
- ❑ Ζουν το μεγαλύτερο μέρος της ζωής τους υπό τη μορφή απλού μυκηλίου, στο έδαφος, στα φύλλα ή σε κορμούς δέντρων σε αποσύνθεση
- ❑ Εμπορικά καλλιεργούμενα μανιτάρια
 - *Agaricus bisporus*
 - *Lentinus edulus* (σιτάκε)

Μανιτάρια ως πηγή διατροφής

☐ *Agaricus bisporus*

- Καλλιεργείται σε ειδικές κλίνες σε εγκαταστάσεις με αυστηρά ρυθμιζόμενη θερμοκρασία και υγρασία

☐ *Lentinus edulus*

- Υδρολύει την κυτταρίνη, ευδοκιμεί σε δέντρα και καλλιεργείται σε τμήματα του κορμού δέντρων – εμφάνιση κορμών σε νερό για ενυδάτωση και εμβολιασμός με μυκήλια
- ☐ Η εμφάνιση μανιταριών στην επιφάνεια της κλίνης λέγεται άνθιση



(β)



(α)

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