**Κεφάλαιο 7**

**Αρχές και Μεθοδολογία Βιοτεχνολογίας**

# ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

* «Βιοτεχνολογία είναι η διαδικασία παραγωγής προϊόντων από ακατέργαστα υλικά με τη βοήθεια ζωντανών οργανισμών». (Kark Ereky 1919)
* Ευρύτερα, βιοτεχνολογία είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου.
* Η βιοτεχνολογία είναι συνδυασμός επιστήμης και τεχνολογίας
* Γνώση από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών
* Τεχνικές για παραγωγή χρήσιμων προϊόντων σε ευρεία κλίμακα
* Η βιοτεχνολογία βασίζεται σε δύο παραμέτρους:
* Εκτροφή των χρήσιμων οργανισμών:
* Κλασσικά: Γεωργία, Κτηνοτροφία
* Μοντέρνα: Καλλιέργεια και ανάπτυξη μικροοργανισμών
* Τροποποίηση (βελτίωση) των ιδιοτήτων των οργανισμών αυτών
* Κλασσικά: Επιλεκτικές διασταυρώσεις
* Μοντέρνα: Τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA

## ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

* Ζωντανοί οργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και χιλιάδες χρόνια για την παραγωγή προϊόντων όπως:
* Ψωμί
* Αλκοολούχα ποτά (μπύρα, κρασί)
* Γαλακτοκομικά προϊόντα (γιαούρτι, τυρί)
* Σήμερα, οι τεχνολογικές εξελίξεις επιτρέπουν την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα:
* τροφίμων, π.χ. αλκοόλη που παράγεται από ζύμωση
* φαρμάκων, π.χ. αντιβιοτικά, εμβόλια, ανθρώπινη ινσουλίνη από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια
* Η μοντέρνα βιοτεχνολογία συνεισφέρει σε ποικίλους τομείς:
* Ιατρική
* Βιομηχανία
* Κτηνοτροφία
* Γεωργία
* Προστασία του περιβάλλοντος

# ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

* Οι μικροοργανισμοί, όταν βρίσκονται σε κατάλληλες συνθήκες, πολλαπλασιάζονται:
* Αύξηση μεγέθους και διπλασιασμός του DNA
* Διαίρεση με σχηματισμό διαφράγματος ή περίσφιξη
* Τα θυγατρικά κύτταρα έχουν περίπου ίδιο μέγεθος με το αρχικό κύτταρο
* Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών εξαρτάται από το **χρόνο διπλασιασμού**, δηλαδή το χρόνο που μεσολαβεί μεταξύ δύο διαδοχικών διαιρέσεων.
* Ο χρόνος διπλασιασμού εξαρτάται από:
* Το είδος του μικροοργανισμού
* Τη διαθεσιμότητα θρεπτικών υλικών
* Το pH
* Το οξυγόνο
* Τη θερμοκρασία

## ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

* **Θρεπτικά συστατικά**
* Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, όπως όλων τον οργανισμών απαιτεί την διαθεσιμότητα:
* Άνθρακα
* Οι αυτότροφοι οργανισμοί χρησιμοποιούν το CO2 της ατμόσφαιρας
* Οι ετερότροφοι οργανισμοί χρησιμοποιούν διάφορες οργανικές ενώσεις
* Αζώτου
* Με τη μορφή αμμωνιακών (NH4+) ή νιτρικών (NO3-) ιόντων.
* Διάφορων μεταλλικών ιόντων (ιχνοστοιχεία)
* Απαραίτητα για την πραγματοποίηση ορισμένων αντιδράσεων
* Συστατικά διαφόρων μορίων
* Νερού
* **pH**
* Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε pH 6-9
* Ορισμένες εξαιρέσεις αναπτύσσονται σε πιο ακραία pH
* π.χ.: τα βακτήρια του γένους Lactobacillus αναπτύσσονται σε pH 4-5
* **Οξυγόνο**
* Υποχρεωτικά αερόβιοι: χρειάζονται υψηλή συγκέντρωση O2
* Προαιρετικά αερόβιοι: αναπτύσσονται ταχύτερα παρουσία O2
* Υποχρεωτικά αναερόβιοι: το O2 είναι τοξικό για αυτούς
* **Θερμοκρασία**
* Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε θερμοκρασία 20-45°C
* π.χ. το βακτήριο Escherichia coli αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασία 37°C
* Ορισμένοι ακρόφιλοι οργανισμοί αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες <20°C ή >45°C

# ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

* Η προσπάθεια καλλιέργεια μικροοργανισμών ξεκίνησε στα μέσα του 19ου αιώνα
* Ο Louis Pasteur ήταν ένας από τους πρωτοπόρους της προσπάθειας αυτής
* Η καλλιέργεια των μικροοργανισμών απαιτεί αρχικά την απομόνωσή τους
* Η καλλιέργεια μικροοργανισμών έγινε δυνατή με την ανάπτυξη:
* κατάλληλων θρεπτικών υλικών και
* μεθόδων διαμόρφωσης και διατήρησης κατάλληλων συνθηκών
* Σήμερα μικροοργανισμοί καλλιεργούνται:
* Στο εργαστήριο, για ερευνητικούς ή διαγνωστικούς σκοπούς
* Στη βιομηχανία, σε μεγάλη κλίμακα, για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων

## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

* Θρεπτικά υλικά:
* Περιέχουν πηγή άνθρακα, αζώτου και ιόντα και μπορεί να είναι:
* Υγρά: τα θρεπτικά συστατικά διαλύονται σε νερό
* Στερεά: ανάμιξη υγρού θρεπτικού με άγαρ (πολυσακχαρίτης από φύκη) που στερεοποιείται σε θερμοκρασίες κάτω από 45°C.
* Κατάλληλες συνθήκες:
* Παρουσία οξυγόνου, αν είναι απαραίτητο
* Αποστείρωση συσκευών και θρεπτικών για την αποφυγή επιμολύνσεων
* Διατήρηση θερμοκρασίας σε ειδικό κλίβανο
* Διαδικασία
* Εμβολιασμός: προσθήκη μικρής ποσότητας μικροοργανισμού στο θρεπτικό
* Ανάπτυξη σε κλίβανο για 12-76 ώρες οδηγεί σε μεγάλο αριθμό μικροοργανισμών
* Διατήρηση σε αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80°C) για μεγάλο διάστημα

## ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

* Χρήση κατά κύριο λόγο υγρών θρεπτικών υλικών
* Η διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό ονομάζεται **ζύμωση**. Ο όρος χρησιμοποιείται όχι μόνο για τις αναερόβιες διεργασίες (κλασσική έννοια), αλλά για κάθε υγρή καλλιέργεια, υπό οποιεσδήποτε συνθήκες (αερόβιες ή αναερόβιες).
* Χρήση φτηνών πηγών άνθρακα, π.χ. μελάσα (παραπροϊόν παραγωγής ζάχαρης)
* Αυστηρός έλεγχος και ρύθμιση συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O2)
* Η καλλιέργεια γίνεται σε ειδικές συσκευές που ονομάζονται ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες που επιτρέπουν τη διατήρηση των κατάλληλων συνθηκών.
* Διαδικασία:
* Αποστείρωση ζυμωτήρα και θρεπτικού. Η διατήρηση στείρων συνθηκών είναι απαραίτητη
* Εμβολιασμός θρεπτικού από εργαστηριακή καλλιέργεια.
* Πολλαπλασιασμός μικροοργανισμών
* Παραλαβή προϊόντων:
* Κύτταρα (βιομάζα) ή
* Προϊόντα κυττάρων (πρωτεΐνες, αντιβιοτικά)

## ΤΥΠΟΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

* Ανάλογα με το επιθυμητό προϊόν εφαρμόζεται και διαφορετικός τύπος καλλιέργειας.
* Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι τύποι καλλιεργειών είναι δύο:
* Συνεχής Καλλιέργεια
* Συνεχής τροφοδότηση με θρεπτικά υλικά
* Συνεχής απομάκρυνση άχρηστων προϊόντων
* Συνεχής παραλαβή κυττάρων ή άλλων προϊόντων
* Κλειστή καλλιέργεια
* Ορισμένη ποσότητα θρεπτικού υλικού προστίθεται εξ αρχής στο ζυμωτήρα
* Εμβολιασμός και καλλιέργεια.
* Τερματισμός της καλλιέργειας και παραλαβή των προϊόντων

## ΦΑΣΕΙΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΛΕΙΣΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Η διάρκεια κάθε φάσης εξαρτάται από το είδος του μικροβίου, αλλά η διαδοχή είναι πάντα:

* Λανθάνουσα Φάση
* Προσαρμογή μικροοργανισμών στο νέο τους περιβάλλον.
* Μέγεθος πληθυσμού σχεδόν σταθερό (πολύ αργή αύξηση)
* Εκθετική Φάση
* Οι άριστες συνθήκες οδηγούν σε διαιρέσεις με ταχύ ρυθμό
* Εκθετική αύξηση του μεγέθους του πληθυσμού
* Παραγωγή χρήσιμων προϊόντων
* Στατική Φάση
* Σταδιακή εξάντληση θρεπτικών και συσσώρευση τοξικών παραπροϊόντων
* Μειωμένη παραγωγή χρήσιμων προϊόντων
* Σταθερό μέγεθος πληθυσμού (διαιρέσεις=θάνατοι)
* Φάση Θανάτου
* Οι θάνατοι ξεπερνούν τις διαιρέσεις και ο πληθυσμός μειώνεται

## ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

* Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο αν είναι απόλυτα καθαρά (ελεύθερα προσμίξεων).
* Η τελική κατεργασία των προϊόντων της ζύμωσης είναι ο καθαρισμός τους
* Διαδικασία
* ***Διαχωρισμός*** υγρών από στερεά υλικά
* Γίνεται με διήθηση ή φυγοκέντρηση
* Το προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα υγρά ή στερεά
* Τα κύτταρα περιλαμβάνονται στα στερεά
* Παραλαβή της φάσης που περιέχει το προϊόν και περεταίρω ***καθαρισμός*** με διάφορες μεθόδους
* Παραλαβή καθαρού ***προϊόντος***