

# Η ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΥΞΗΣΗ ΚΑΙ Η ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ

## Βασικές έννοιες και αρχές

Μελέτες σε καθαρές καλλιέργειες έδειξαν ότι η βασική μακρομοριακή σύνθεση ενός οργανισμού εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από το ρυθμό με τον οποίο αυξάνεται ο οργανισμός και από τη φύση των συνθηκών αύξησης, όπως π.χ. η επίδραση των συγκεντρώσεων (περιοριστικών ή μη) των υποστρωμάτων. Έχει αποδειχθεί ότι **στον ίδιο οργανισμό μπορεί να υπάρχουν περισσότερες από μία μεταβολικές πορείες ικανές να εκτελέσουν την ίδια μεταβολική λειτουργία.** Ποιος μηχανισμός θα λειτουργήσει κάθε φορά εξαρτάται από το περιβάλλον στο οποίο αυξάνεται ο μικροοργανισμός. **Τα κλειστά συστήματα αύξησης** αντιπροσωπεύουν την παραδοσιακή μέθοδο καλλιέργειας μικροοργανισμών, όπου αρχικά υπάρχει περίσσεια όλων των απαιτήτων για την αύξηση θρεπτικών. **Στα ανοικτά ή συνεχή συστήματα αύξησης, γίνονται είτε συνεχείς, είτε ασυνεχείς**

προσθήκες και αφαιρέσεις. Οι πληθυσμοί μπορούν να αυξάνονται με ρυθμούς μικρότερους του μέγιστου κάτω από περιοριστικές συνθήκες υποστρώματος.

**Αυτό αποτελεί προσομοίωση των συνθηκών που επικρατούν στο φυσικό περιβάλλον.**

Ως αύξηση ενός μικροβιακού πληθυσμού θεωρείται η αύξηση του αριθμού των μικροβιακών κυττάρων του πληθυσμού, η οποία στη συνέχεια ορίζεται ως αύξηση της **μικροβιακής μάζας ή βιομάζας** .

Ως **ρυθμός αύξησης** ορίζεται η **μεταβολή της βιομάζας στη μονάδα του χρόνου**.

Το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί για την παραγωγή δύο κυττάρων από ένα, καλείται **χρόνος μιας γενιάς ή απλώς μια γενιά**.

**Μικροβιακή Αύξηση σε Κλειστό Περιβάλλον**

**Αύξηση σε μη περιοριστικές συνθήκες περιβάλλοντος-Βασικές εξισώσεις αύξησης.**

Ας θεωρήσουμε την αύξηση ενός μονοκύτταρου οργανισμού σ' ένα περιβάλλον που περιέχει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά σε ποσότητες μη περιοριστικές και στο οποίο διατηρούνται σταθερές όλες οι φυσικοχημικές συνθήκες. Ο μικροοργανισμός χρησιμοποιεί τα θρεπτικά υλικά για αύξηση παράγοντας **βιομάζα**. Ο οργανισμός στη συνέχεια αυξάνεται σε μέγεθος και μετά από μία χρονική περίοδο κατά την οποία η βιομάζα διπλασιάζεται, ακολουθεί κυτταρική διαίρεση και ο πληθυσμός περιέχει δύο άτομα.

Κάθε νέος οργανισμός επαναλαμβάνει την ίδια πορεία. Μετά την ολοκλήρωση της δεύτερης γενιάς ο πληθυσμός αυξάνει σε μέγεθος και περιέχει 4 άτομα. Για τους μονοκύτταρους οργανισμούς η αύξηση είναι μια πορεία που συντελεί στην αύξηση του αριθμού των ατόμων και της βιομάζας.

### **α) Πρώτος τρόπος προσέγγισης:**

$x$  είναι ο αριθμός των ατόμων του οργανισμού που εμβολιάζουμε σ' ένα κλειστό περιβάλλον. Ο ρυθμός αύξησης της βιομάζας και του αριθμού κυττάρων του πληθυσμού επιταχύνεται με το χρόνο. Ο ρυθμός αυτής της μεταβολής εξαρτάται από τη φυσικοχημική κατάσταση του περιβάλλοντος και την ικανότητα των μικροοργανισμών να συνθέτουν νέα βιομάζα στο συγκεκριμένο ρυθμό αύξησης.

Κάτω από σταθερές συνθήκες περιβάλλοντος ο χρόνος που χρειάζεται για να συμπληρωθεί μια γενεά και να διπλασιαστεί το μέγεθος του πληθυσμού, είναι σταθερός. Αυτή η χαρακτηριστική περίοδος είναι γνωστή ως **χρόνος διπλασιασμού της καλλιέργειας  $t_d$**  (μονάδες χρόνου: συνήθως ώρες), αν και μερικές φορές αναφέρεται ως ο

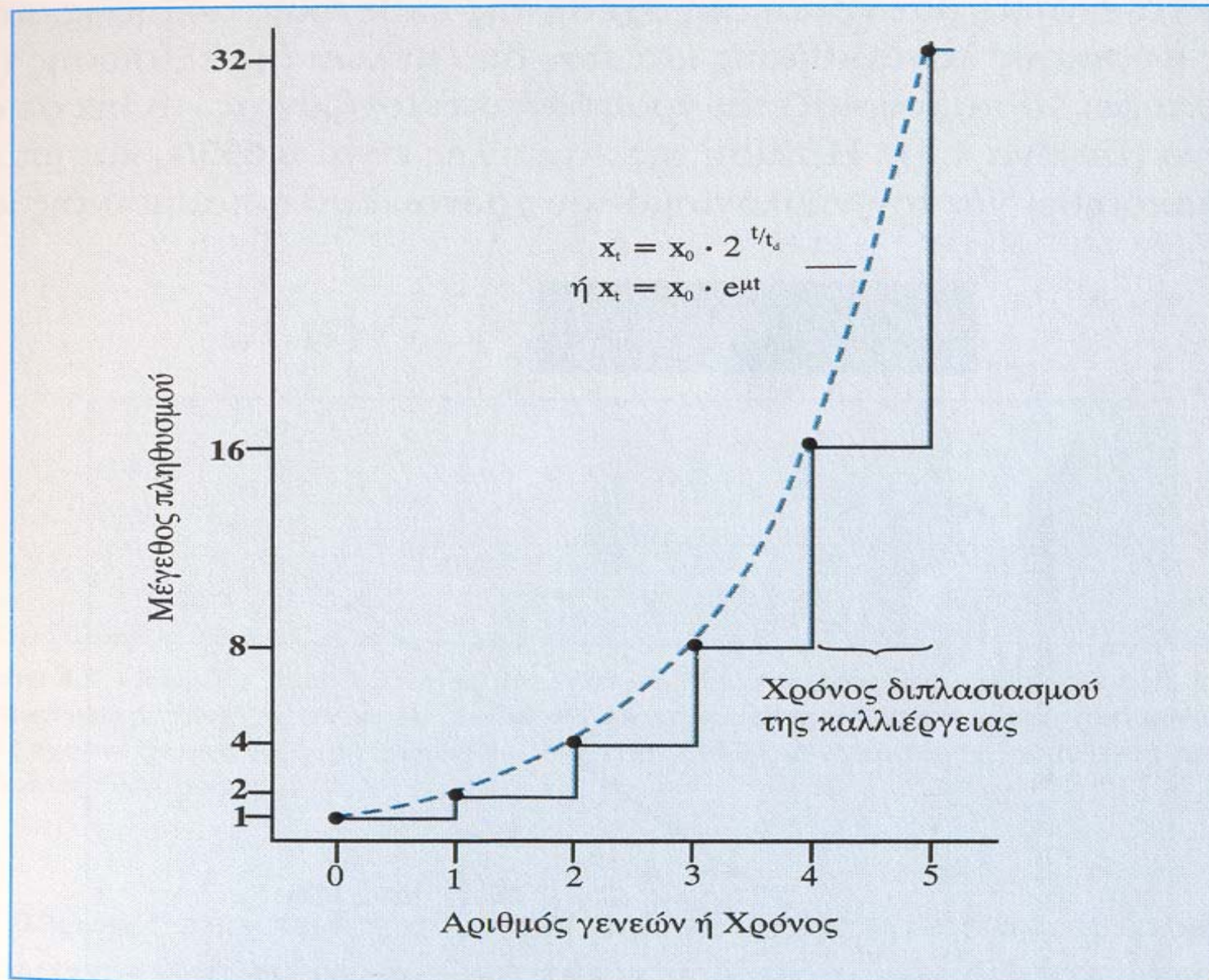
μέσος χρόνος ζωής μιας γενεάς. Το μέγεθος του πληθυσμού μετά από μια περίοδο αύξησης,  $x_0$  και το χρόνο αύξησης  $t$ , και μπορεί να εκφραστεί από τη μαθηματική σχέση:

$$x_1 = x_0 \cdot 2^{t/t_d} \quad (1)$$

Η εξίσωση (1) περιγράφει μια εκθετική συνάρτηση που χαρακτηρίζει τη λειτουργική συμπεριφορά ενός μικροβιακού πληθυσμού σ'ένα ιδανικό περιβάλλον αύξησης. Είναι συνήθως πιο εύχρηστο να έχουμε μια γραμμική σχέση της εκθετικής αύξησης, παίρνοντας τους φυσικούς λογάριθμους και των δύο μελών της εξίσωσης (1). Η κλίση της καμπύλης είναι  $0.693/t_d$  και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό του χρόνου διπλασιασμού της καλλιέργειας.

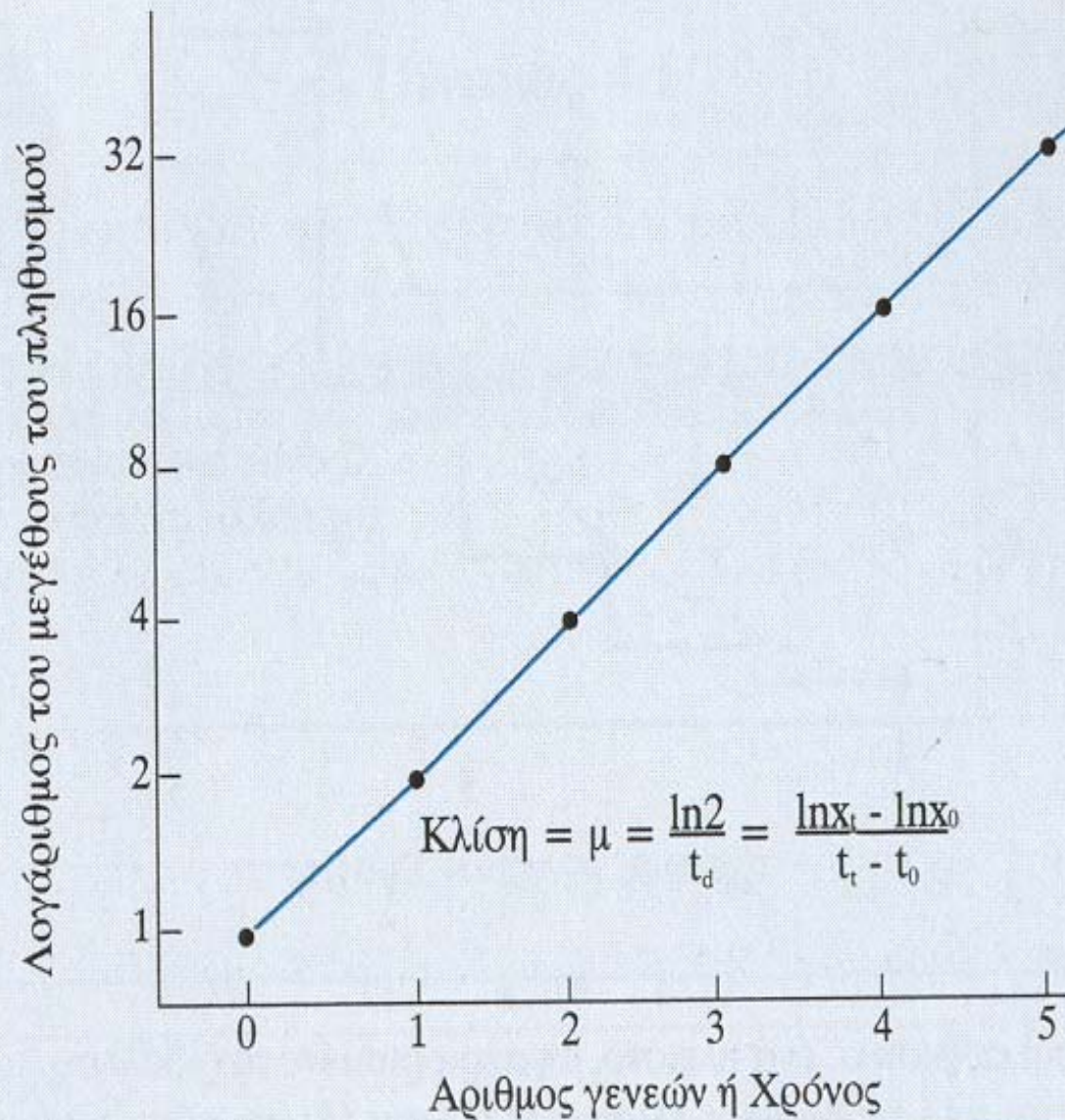
$$\ln x_1 = \ln x_0 + \ln 2 \frac{t}{t_d} \quad (2)$$





**Εικόνα 4.3** Εκθετική αύξηση σ' ένα κλειστό, μη περιορισμένο περιβάλλον (αριθμητική έκφραση). Η καμπύλη περιγράφεται από τις βασικές εξισώσεις (1) και (4) και είναι η μορφή της αύξησης ενός μεγάλου σε μέγεθος πληθυσμού. Η κλιμακοειδής γραμμή αφορά πληθυσμό συγχρονισμένο στις φάσεις αύξησης και το μέγεθος του πληθυσμού μετράται σε μονάδες αριθμού κυττάρων.





*Εικόνα 4.4* Εκθετική αύξηση σε κλειστό μη περιορισμένο περιβάλλον (λογαριθμική έκφραση). Αποτελεί τη γραμμική απεικόνιση της εκθετικής αύξησης όπως προκύπτει από τις εξισώσεις (2) και (5).



## β) Δεύτερος τρόπος προσέγγισης.

Έστω ένα αρχικό μέγεθος πληθυσμού,  $x_0$ , σε κάποιο χρόνο,  $t_0 = 0$ . Μετά από ένα μικρό χρονικό διάστημα  $dt$ , μια μικρή ομάδα των οργανισμών του αρχικού πληθυσμού  $x_0$  συμπληρώνει τον ατομικό κύκλο των κυττάρων και διαιρείται. Έτσι αυξάνεται το μέγεθος του πληθυσμού κατά  $dx$ . Σε μερικές περιπτώσεις μπορεί ο πληθυσμός να περιέχει άτομα που να είναι όλα στο ίδιο στάδιο του κυτταρικού κύκλου, δηλαδή στην ίδια φάση της κυτταρικής διαίρεσης. Αυτές οι καλλιέργειες είναι γνωστές ως **συγχρονισμένες καλλιέργειες** και οι πληθυσμοί ως **συγχρονισμένοι πληθυσμοί**. Οι συγχρονισμένοι πληθυσμοί είναι σπάνιο φαινόμενο στη φύση, διότι η φυσική ποικιλότητα στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου καθιστά ακανόνιστους τους χρόνους των κυτταρικών διαιρέσεων. Το μέγεθος του  $dx$  (υποθέτοντας ότι το  $dx$  παραμένει σταθερό) εξαρτάται από

το μέγεθος του  $x_0$  και έτσι ο ρυθμός αλλαγής του πληθυσμού (ή ο ρυθμός αύξησης) είναι ευθέως ανάλογος του αρχικού μεγέθους του πληθυσμού. Άρα :

$$\frac{dx}{dt} \propto x_0 \text{ και } \frac{dx}{dt} = \mu \cdot x_0 \quad (3)$$

Όπου  $\mu$  είναι μια σταθερά αναλογίας που ονομάζεται **ειδικός ρυθμός αύξησης**. Με την απόλυτη έννοια, η παράμετρος  $\mu$  είναι μονάδες  $g$  νέας βιομάζας,  $(g \text{ υπάρχουσας βιομάζας})^{-1} \cdot h^{-1}$ . Αυτό συχνά απλοποιείται σε μονάδες αντιστρόφου χρόνου δηλαδή  $h^{-1}$ . Σ' ένα άριστο περιβάλλον με όλα τα απαραίτητα για την αύξηση συστατικά σε περίσσεια, ο ρυθμός αύξησης του πληθυσμού είναι μέγιστος και έτσι το  $\mu$  γίνεται ο **μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης**,  $\mu_{\max}$ .

$\mu t$

$$X_t = X_0 \cdot e^{\mu t} \quad (4)$$

$$\ln X_t = \ln X_0 + \mu \cdot t \quad (5)$$

Είναι προφανές ότι:

$$\mu = \frac{\ln 2}{t_d} = \frac{0.693}{t_d} \quad (6)$$

και άρα ο ειδικός ρυθμός αύξησης είναι αντίστροφα ανάλογος του χρόνου διπλασιασμού της καλλιέργειας.

#### 4.2.2 Αύξηση σε περιοριστικές συνθήκες περιβάλλοντος

Έστω ένας μικροοργανισμός με χρόνο διπλασιασμού 0,33 ώρες που αυξήθηκε εκθετικά για 48 ώρες, ο τελικός πληθυσμός θα περιέχει

$$2^{48/0,33} \quad 43$$

$2^{144}$  ή  $2,23 \times 10^{43}$  άτομα. Εάν υποθεθεί ότι κάθε άτομο έχει ξηρό βάρος  $10^{-12}$

$10^{-12}$  g, τότε το συνολικό βάρος του τελικού πληθυσμού θα είναι  $2,2 \times 10^{32}$

$10^{10}$  kg: μια μάζα η οποία είναι περίπου 400 φορές μεγαλύτερη από τη μάζα της γης. Η αύξηση σ' ένα κλειστό περιβάλλον είναι για πολλού

λόγους μια αυτοπεριοριζόμενη πορεία, λόγω της εξάντλησης ενός από τα βασικά θρεπτικά υλικά, τα απαραίτητα για την αύξηση ή λόγω της συσσώρευσης των άχρηστων προϊόντων του μεταβολισμού, τα οποία αναστέλλουν την αύξηση. Συνήθως η αρχική φάση στην κλειστή καλλιέργεια του κύκλου αύξησης δεν δείχνει μετρήσιμη αύξηση του μεγέθους του πληθυσμού και έτσι ο ειδικός ρυθμός αύξησης είναι μηδέν.

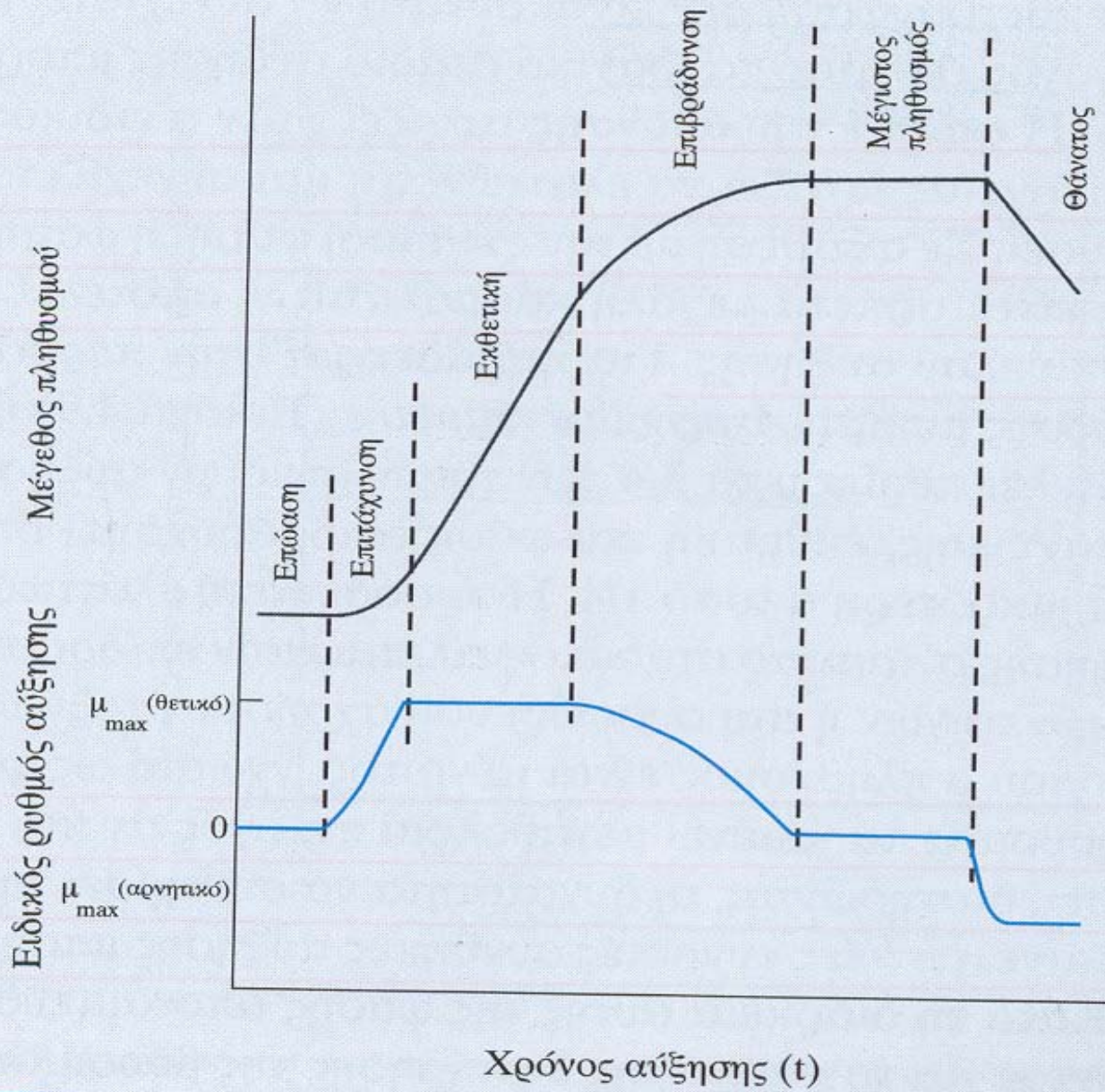
Η **λανθάνουσα φάση** αύξησης οφείλεται σε διάφορους λόγους, όπως η ανάγκη του πληθυσμού να προσαρμοστεί στις νέες συνθήκες αύξησης. Στην διάρκεια αυτής της φάσης πιθανόν να γίνεται η σύνθεση ενός ειδικού ενζύμου που απαιτείται για τον μεταβολισμό της πηγής άνθρακα και της πηγής ενέργειας, ή η επεξεργασία μιας ολοκληρωμένης βιοσυνθετικής πορείας που απαιτείται για τη σύνθεση ενός μεταβολίτη που δεν παρέχεται από το περιβάλλον. Η **φάση επιτάχυνσης** δείχνει την αρχή της ανάπτυξης του οργανισμού και τη σταδιακή αύξηση του ειδικού ρυθμού αύξησης του πληθυσμού.



Η φάση επιτάχυνσης τελειώνει όταν ο ρυθμός αύξησης φθάνει τη μέγιστη τιμή η οποία είναι χαρακτηριστική της εκθετικής φάσης. Η εκθετική φάση είναι το μόνο τμήμα του κύκλου αύξησης το οποίο μπορεί να περιγραφεί με τις βασικές εξισώσεις αύξησης. Συχνά η αύξηση στη φάση αυτή αναφέρεται ως ισορροπημένη αύξηση, επειδή όλες οι βιολογικές πορείες που επηρεάζουν την παραγωγή της βιομάζας αυξάνονται με τον ίδιο ρυθμό.

Η φάση επιβράδυνσης αρχίζει όταν ο ειδικός ρυθμός αύξησης της καλλιέργειας αρχίζει να ελαττώνεται και συνεχίζεται μέχρις ότου η αύξηση παύσει. Σε αντίθεση με την εκθετική φάση, η φάση επιβράδυνσης μπορεί να είναι αρκετά μεγάλη και μάλιστα ν' αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του κύκλου αύξησης.

Στη φάση όπου ο πληθυσμός είναι μέγιστος, γνωστή ως φάση στασιμότητας, ο πληθυσμός παραμένει μεταβολικά ενεργός αν και η ενεργή αύξηση έχει παύσει, διατηρώντας τη δυνατότητα να συνεχίσει την αύξηση η οποία θα συνέβαινε, αν νέες ευνοϊκές συνθήκες αύξησης μπορούσαν να δημιουργηθούν.



Εικόνα 4.8 Κλειστός κύκλος αύξησης και μεταβολή του ειδικού ρυθμού αύξησης.

.Η ικανότητα επιβίωσης κάτω απ' αυτές τις συνθήκες περιορίζεται σταδιακά και έχει ως αποτέλεσμα το θάνατο των κυττάρων και τη λύση τους.

Στη διάρκεια της **φάσης θανάτου** η βιωσιμότητα ελαττώνεται.

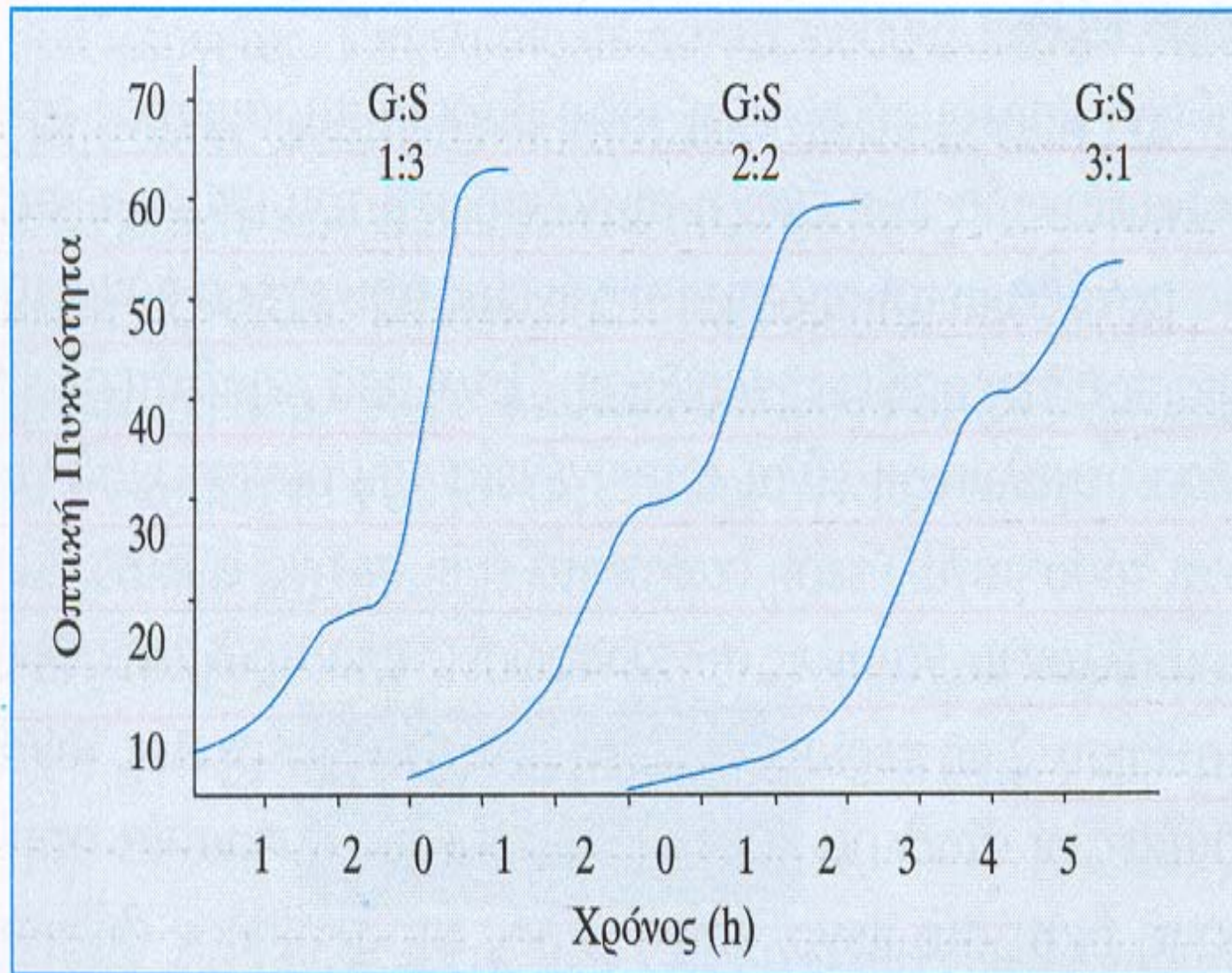
Ο θάνατος του μικροβιακού πληθυσμού όπως και η αύξησή του ακολουθεί το εκθετικό πρότυπο, δηλαδή συγκεκριμένη ποσότητα κυττάρων πεθαίνει κάθε ώρα.

Ο μοναδικός τρόπος ελέγχου της βιωσιμότητας ενός κυττάρου είναι η επώασή του σε νέο θρεπτικό υλικό και η παρατήρηση της παραγωγής ή όχι νέου πληθυσμού.

### **Φαινόμενο διαύξεσης (diauxie)**

Σε μια αξενική καλλιέργεια μικροοργανισμού είναι δυνατόν να εμφανιστεί καμπύλη δύο φάσεων ή το φαινόμενο διπλού κύκλου αύξεσης όταν το θρεπτικό υπόστρωμα περιέχει μίγμα πηγών άνθρακα. Για παράδειγμα σ' ένα μίγμα γλυκόζης και σορβιτόλης το βακτήριο E. Coli θα χρησιμοποιήσει πρώτα τη γλυκόζη. Η γλυκόζη θα επάγει τη σύνθεση του ενζύμου που απαιτείται για τη χρησιμοποίησή της και συγχρόνως θα αναστείλλει την σύνθεση των ενζύμων που απαιτούνται για τη χρησιμοποίηση της σορβιτόλης. Τα ένζυμα αυτά θα παραχθούν όταν όλη η γλυκόζη θα έχει μεταβολισθεί.





**Εικόνα 4.10** Διφασική αύξηση (διαύξηση) της *E. coli* σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε γλυκόζη και σορβιτόλη στις αναλογίες που φαίνονται στην εικόνα.



## Επίδραση της συγκέντρωσης του υποστρώματος στον ειδικό ρυθμό αύξησης κάτω από περιοριστικές συνθήκες περιβάλλοντος

Ο ρυθμός αύξησης περιορίζεται από την συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση. Επιπλέον ο Monod απέδειξε ότι η μορφή της σχέσης αυτής ήταν όμοια με την επίδραση της συγκέντρωσης του υποστρώματος στο ρυθμό της αντίδρασης, που καταλύεται από ένα ένζυμο. Πράγματι, η σχέση περιγράφεται επαρκώς από μία εξίσωση ανάλογη με την εξίσωση της

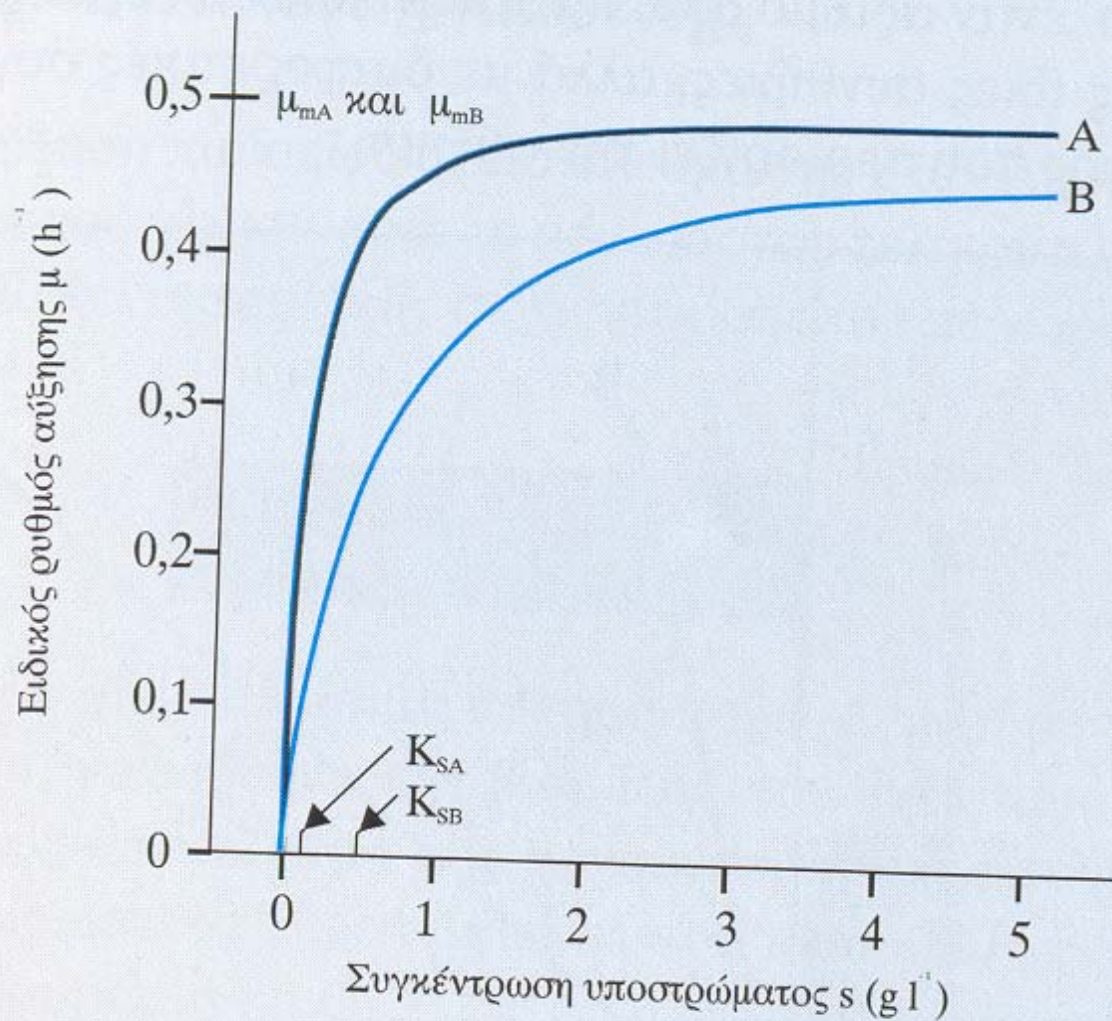
κινητικής των ενζύμων κατά Michaelis-Menten, ήτοι:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{s}{(K_s + s)} \quad (7)$$

όπου  $s$  είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση,  $\mu$  είναι ο ειδικός ρυθμός αύξησης και  $\mu_{\max}$  είναι ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης, τιμή που παρέχεται εξαιτίας της απουσίας μιάς οποιασδήποτε περιοριστικής συγκέντρωσης του υποστρώματος.  $K_s$  είναι μία σταθερά γνωστή ως **σταθερά κορεσμού** και καθορίζεται ως εκείνη η συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση και η οποία επιτρέπει στον οργανισμό να αυξάνεται με το μισό του μέγιστου ρυθμού αύξησης. Η σταθερά κορεσμού είναι η τρίτη βασική παράμετρος αύξησης και έχει την ίδια μονάδα που έχει η συγκέντρωση του υποστρώματος. Είναι επίσης μία μονάδα μέτρησης της συγγένειας που έχει ο οργανισμός με το υπό-

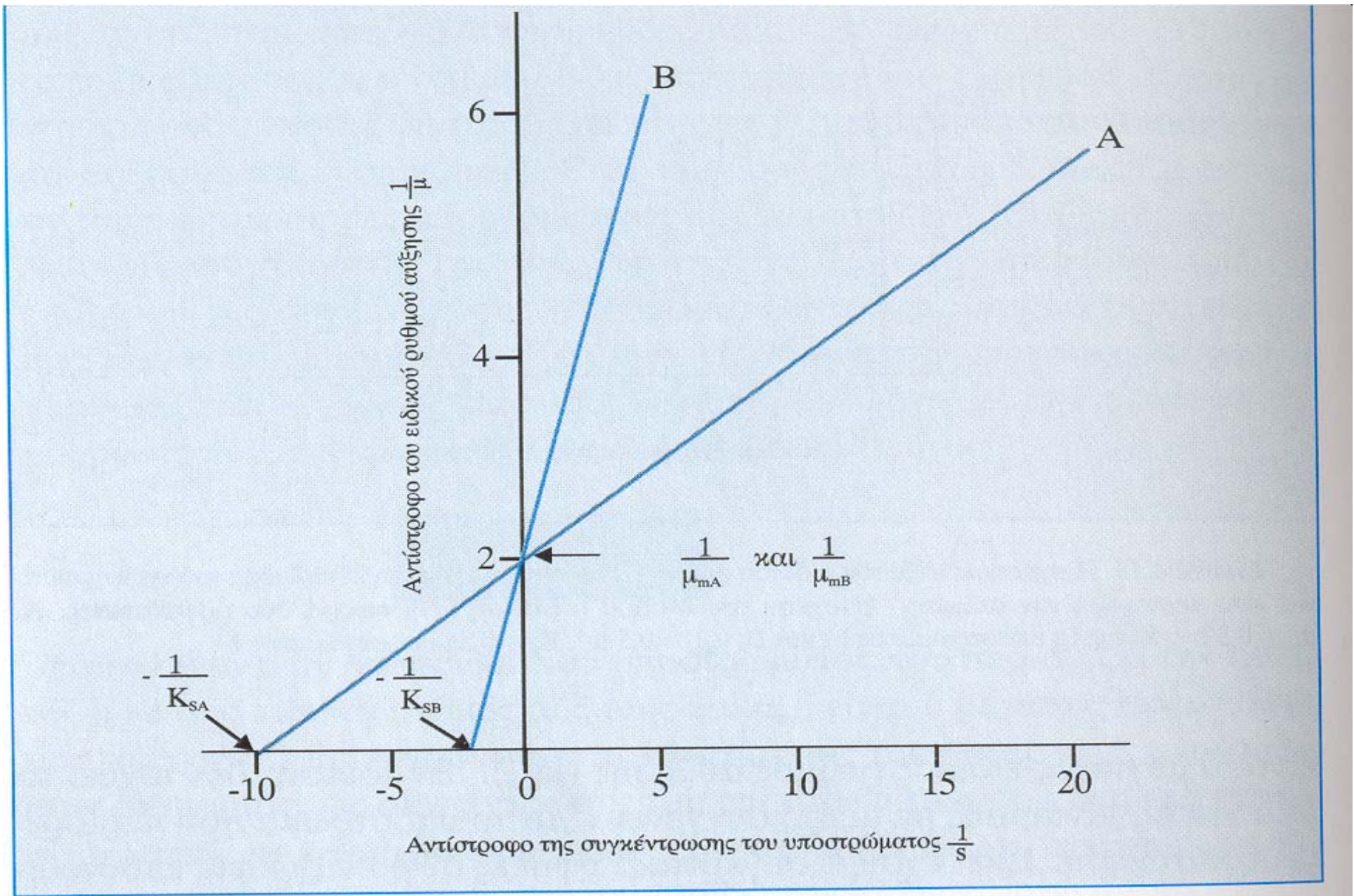
στρώμα που περιορίζει την αύξηση. Έτσι όσο χαμηλότερη είναι η τιμή του  $K_s$  τόσο μεγαλύτερη είναι η συγγένεια του οργανισμού για το υπόστρωμα και τόσο μεγαλύτερη ικανότητα έχει στο να αυξάνεται γρήγορα, σ' ένα περιβάλλον με χαμηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος που περιορίζουν την αύξηση. Η εξίσωση (7) περιγράφει μία υπερβολή με το  $\mu$  να προσεγγίζει το  $\mu_{\max}$  ασυμπτωτικά καθώς το  $s$  αυξάνεται. Είναι δυνατόν μετατρέποντας την εξίσωση να δώσουμε μια γραμμική σχέση:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{s} \cdot \frac{K_s}{\mu_{\max}} + \frac{1}{\mu_{\max}} \quad (8)$$



**Εικόνα 4.11** Η σχέση μεταξύ του ειδικού ρυθμού αύξησης και της συγκέντρωσης του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση. Η σχέση του Monod [εξίσωση (7)], αφορά δύο οργανισμούς: A,  $\mu_{\text{max}} = 0,5 \text{ h}^{-1}$ ,  $K_{\text{s}} = 0,1 \text{ g υποστρώματος l}^{-1}$  και B,  $\mu_{\text{max}} = 0,5 \text{ h}^{-1}$ ,  $K_{\text{s}} = 0,5 \text{ g υποστρώματος l}^{-1}$





**Εικόνα 4.12** Η γραμμική σχέση της εξίσωσης (8) του Monod για τους ίδιους οργανισμούς όπως στην Εικόνα 4.11.

## **Περιορισμός της αύξησης εξ' αιτίας της εξάντλησης του υποστρώματος- Συντελεστής Απόδοσης**

Εάν η αύξηση παύσει, ως αποτέλεσμα της εξάντλησης ενός συγκεκριμένου θρεπτικού υλικού, τότε το μέγεθος του τελικού πληθυσμού θα είναι ευθέως ανάλογο της αρχικής συγκέντρωσης του περιοριστικού θρεπτικού υλικού:

$$X_f = Y \cdot S_R \quad (9)$$

όπου  $Y$  είναι η προσδιορίσιμη αύξηση παραγωγής ή συντελεστής απόδοσης και είναι η ποσότητα της βιομάζας που έχει παραχθεί στη μονάδα του χρόνου ως αποτέλεσμα της χρησιμοποίησης στοιχειώδους ποσότητας του περιοριστικού θρεπτικού υλικού στον ίδιο χρόνο. Ο συντελεστής απόδοσης εξαρτάται από τις λειτουργικές μεταβολικές πορείες και είναι μια μεταβλητή η οποία εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ:

(α) της περιοριστικής συγκέντρωσης του υποστρώματος που είναι

διαθέσιμη για να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή νέας βιομάζας, και (β) της συγκέντρωσης του υποστρώματος που καταναλώθηκε για την ενέργεια που χρειάζονται οι βιοσυνθετικές αντιδράσεις κατά την διάρκεια της αύξησης των κυττάρων. Όσο μεγαλύτερη είναι η αποτελεσματικότητα των κυττάρων για αναγέννηση της ενέργειας ή όσο λιγότερη ενέργεια απαιτείται για την παραγωγή βιομάζας, τόσο λιγότερο υπόστρωμα πρέπει να δαπανηθεί γι' αυτό τον σκοπό και άρα περισσότερο υπόστρωμα είναι διαθέσιμο για την παραγωγή βιομάζας. Αυτό μπορεί ευκρινώς να αποδειχθεί για ένα δυνητικά αναερόβιο οργανισμό, το *Streptococcus faecalis*, ο οποίος αυξάνεται αερόβια (υψηλή παραγωγή ενέργειας από μια ποσοστιαία μονάδα καταναλωθέντος υποστρώματος) και αναερόβια (παραγωγή χαμηλής ενέργειας από μια ποσοστιαία μονάδα καταναλωθέντος υποστρώματος). Το *S. faecalis* το οποίο αυξάνεται αερόβια στη γλυκόζη έχει μια τιμή  $Y$  ίση με 0,32 g βιομάζας (g γλυκόζης που χρησιμοποιήθη-



κε)<sup>-1</sup> όπου αναερόβια η τιμή του  $Y$  είναι 0,12 g βιομάζας (g γλυκόζης που χρησιμοποιήθηκε)<sup>-1</sup>. Κάτω από αναερόβιες συνθήκες πρέπει να χρησιμοποιηθεί μεγαλύτερη ποσότητα γλυκόζης για να παραχθεί η ίδια ποσότητα ATP για τη βιοσύνθεση και αυτό επηρεάζει τον συντελεστή απόδοσης. Αποκλειστικά ετερότροφοι μικροοργανισμοί έχουν τιμές παραγωγής περίπου 0,5 g βιομάζας (g υποστρώματος)<sup>-1</sup>, το οποίο δείχνει ότι 50% του χρησιμοποιηθέντος υποστρώματος έχει μεταβολιστεί για σκοπούς άλλους εκτός της παραγωγής της βιομάζας, κύρια για αναγέννηση της απαιτούμενης ενέργειας. Σ' ένα μικρό χρονικό διάστημα  $dt$ , το μέγεθος του πληθυσμού αυξάνεται κατά ένα μικρό ποσό,  $dx$ , χρησιμοποιώντας ένα μικρό ποσό του θρεπτικού υλικού που περιορίζει την αύξηση  $ds$ , έτσι:

$$- \frac{dx}{ds} = Y \quad \frac{dx}{dt} = \mu \cdot x_0 \quad (10)$$



$$- \frac{ds}{dt} = \frac{\mu}{Y} \cdot x \quad (11)$$

το αρνητικό σημείο δείχνει, ότι η συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση ελαττώνεται με το χρόνο. Κάτω από συνθήκες, όπου ο ειδικός ρυθμός αύξησης του πληθυσμού παραμένει σταθερός, το  $\mu/Y$  μπορεί να αντικατασταθεί από μια άλλη σταθερά,  $g$ , γνωστή ως ο **ειδικός ρυθμός μεταβολισμού ή μεταβολικός δείκτης**. Αυτός ο όρος δηλώνει το ρυθμό χρησιμοποίησης του υποστρώματος ανά μονάδα ποσού βιομάζας η οποία παράγεται με ένα γνωστό ρυθμό και κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες περιβάλλοντος [μονάδες:  $g \text{ υπόστρωμα } (g \text{ βιομάζα})^{-1} h^{-1}$ ].

Εάν το  $\mu$  θεωρηθεί μεταβλητή ενώ το  $Y$  σταθερά και το  $\mu$  αντικατασταθεί στην εξίσωση (11) από την σχέση (7) του Monod, καταλήγουμε στην εξίσωση (12) η οποία συνδυάζει τις τρεις βασικές

παραμέτρους αύξησης ( $\mu_{\max}$ ,  $K_s$ , και  $Y$ ):

$$-\frac{ds}{dt} = \mu_{\max} \cdot \frac{s}{(K_s+S)} \cdot \frac{x}{Y} \quad (12)$$

### Απόκλιση του συντελεστή απόδοσης – Ενέργεια συντήρησης

Ο συντελεστής απόδοσης ( $Y$ ) είναι πολύπλοκη παράμετρος σύμφωνα με δύο βασικές κυτταρικές διαδικασίες:

- (α) μια ποσότητα υποστρώματος χρησιμοποιείται κατευθείαν για παραγωγή ενέργειας συνεπεία των βιοσυνθετικών αντιδράσεων, και
- (β) μια ποσότητα υποστρώματος χρησιμοποιείται για παραγωγή ενέργειας, η οποία εξυπηρετεί τη συντήρηση κύριων μεταβολικών πορειών, οι οποίες δεν συνεισφέρουν κατευθείαν στην παραγωγή βιομάζας. Αυτές οι πορείες περιέχουν ενέργεια η οποία απαιτείται

για τη συντήρηση υδατικών διαλυμάτων, τη διατήρηση του ενδοκυτταρικού pH, ανακύκλωση των μακρομορίων κ.λ.π. Συνολικά, η ενέργεια που απαιτείται γι' αυτούς τους σκοπούς είναι γνωστή ως ενέργεια συντήρησης. Ο συντελεστής της ενέργειας συντήρησης,  $m$ , καθορίζεται από την ποσότητα του υποστρώματος που χρησιμοποιείται για την ενέργεια συντήρησης ανά μονάδα ποσού παραγόμενης βιομάζας στην μονάδα του χρόνου. Έτσι η ολική ποσότητα χρησιμοποίησης του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση εκφράζεται:

$$\begin{array}{l} \text{Ο ρυθμός του ολικού} \\ \text{χρησιμοποιηθέντος} \\ \text{υποστρώματος} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Ο ρυθμός του υποστρώματος} \\ \text{που χρησιμοποιείται} \\ \text{για την παραγωγή βιομάζας} \end{array} + \begin{array}{l} \text{Ο ρυθμός του υποστρώματος} \\ \text{που χρησιμοποιείται για συντήρηση} \\ \text{του κυττάρου} \end{array}$$

Οι τιμές  $Y_G$  είναι πάντα μικρότερες των τιμών του  $Y$ . Γενικά οι τιμές του  $m$  κυμαίνονται από 10-100 mg υποστρώματος άνθρακα που χρησιμοποιήθηκε  $(g \text{ βιομάζας})^{-1} \cdot h^{-1}$ . Αυτή η ανάλυση στηρίζεται στο ότι το  $m$  είναι σταθερό αλλά και εδώ είναι φανερό ότι οι τιμές

του συντελεστή  $m$  ποικίλουν με τις συνθήκες και το ρυθμό της αύξησης.

### **Αποκλίσεις των παραμέτρων κατά την αύξηση των μικροοργανισμών κάτω από περιοριστικές συνθήκες**

Είναι προφανές το πρόβλημα υποθετικών απλοποιήσεων που πρέπει να γίνουν για τη δημιουργία της μαθηματικής περιγραφής της αύξησης, η οποία θα πρέπει να περιέχει σταθερές με βιολογική έννοια. Είναι πιθανόν να αγνοούμε πολλές παραμέτρους οι οποίες μπορεί να επηρεάζουν τον ειδικό ρυθμό αύξησης και οι οποίες να ποικίλλουν με πολύπλοκο τρόπο κατά τη διάρκεια της αύξησης.

### **Μικροβιακή Αύξηση σε Ανοικτό Περιβάλλον- Συνεχής Καλλιέργεια**

#### **Κινητική του συστήματος συνεχούς καλλιέργειας**

Ας θεωρήσουμε ένα δοχείο καλλιέργειας που περιέχει ένα σταθερό

όγκο καλλιέργειας  $V$ , η οποία αναδύεται συνεχώς για την παροχή ομοιογενούς κυτταρικού εναιωρήματος και την αποφυγή κάθε συγκέντρωσης ιζημάτων. Ένα γνωστό θρεπτικό μέσο, φτιαγμένο έτσι ώστε να περιέχει ένα μόνο υπόστρωμα που περιορίζει την αύξηση σε μια αρχική συγκέντρωση,  $S_R$ , αντλείται με ακρίβεια στο δοχείο καλλιέργειας με ένα σταθερό ρυθμό ροής  $F$ . Μέσα στο δοχείο καλλιέργειας, το εισερχόμενο θρεπτικό υλικό αναμιγνύεται αμέσως με την καλλιέργεια και μέρος αυτού χρησιμοποιείται για την παραγωγή βιομάζας που έχει συγκέντρωση  $x$ . Ως αποτέλεσμα της αύξησης, η συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση, ελαττώνεται σε  $s$ . Με σκοπό τη διατήρηση ενός σταθερού όγκου καλλιέργειας μέρος της αυξανόμενης βιομάζας απομακρύνεται από το δοχείο αύξησης ακριβώς με τον ίδιο ρυθμό με τον οποίο καινούργιο θρεπτικό υλικό μπαίνει μέσα στο δοχείο καλλιέργειας. Σε μια συνε-



χή καλλιέργεια η συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση εξαρτάται και από το ρυθμό με τον οποίο γίνεται εφοδιασμός καινούργιου υποστρώματος και από τον παράγοντα «αραίωση» καθώς το νέο υπόστρωμα αναμιγνύεται με την καλλιέργεια. Δηλαδή, η συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση εξαρτάται από το ρυθμό ροής  $F$  και τον όγκο της καλλιέργειας  $V$ , και ειδικότερα από τη σχέση των δύο αυτών παραμέτρων που είναι γνωστή ως **ρυθμός αραίωσης  $D$** .

$$D = \frac{F}{V} \quad (16)$$

Ο ρυθμός αραίωσης έχει μονάδες αντιστρόφου του χρόνου (συνήθως  $h^{-1}$ ). Δηλαδή ένας ρυθμός αραίωσης ίσος με  $1,0 \text{ h}^{-1}$ , σημαίνει ότι γίνεται αλλαγή ενός όγκου καλλιέργειας κάθε μία ώρα. Το αντί-

στροφο του ρυθμού αραίωσης είναι ο **μέσος χρόνος διαμονής**: αυτή η παράμετρος δίνει το μέσο χρόνο κατά τον οποίο ένας οργανισμός παραμένει μέσα στο δοχείο καλλιέργειας. Μέσα στο δοχείο καλλιέργειας όπου παρατηρείται αύξηση, η συγκέντρωση της βιομάζας αυξάνεται, αλλά στον ίδιο χρόνο χάνεται βιομάζα από το δοχείο καλλιέργειας εξαιτίας του απορρέοντος συστήματος. Έτσι, μέσα στο δοχείο καλλιέργειας υπάρχει μια ισορροπία που εκφράζεται ως εξής:

Ο ρυθμός αλλαγής της συγκέντρωσης της βιομάζας στο δοχείο καλλιέργειας = Ο ρυθμός παραγωγής της βιομάζας (αύξηση) - Ο ρυθμός απομάκρυνσης της βιομάζας (έκπλυση)

α) Εάν  $\mu > D$ , τότε  $dx/dt$  είναι θετικό και η συγκέντρωση της βιομάζας στο δοχείο καλλιέργειας αυξάνεται, αφού ο ρυθμός παραγωγής της βιομάζας υπερβαίνει το ρυθμό έκπλυσης της βιομάζας.

β) Εάν  $\mu < D$ , τότε  $dx/dt$  είναι αρνητικό και η συγκέντρωση της

βιομάζας ελαττώνεται, αφού ο ρυθμός έκπλυσης της καλλιέργειας είναι μεγαλύτερος από τη σύνθεση της βιομάζας.

γ) Εάν  $\mu = D$  τότε  $dx/dt=0$  και η συγκέντρωση της βιομάζας παραμένει σταθερή. Τότε λέμε ότι η καλλιέργεια βρίσκεται σε **δυναμική ισορροπία**.

Ο ρυθμός αλλαγής της συγκέντρωσης του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση στο δοχείο καλλιέργειας	=	Ο ρυθμός εισόδου νέου υποστρώματος- στο δοχείο καλλιέργειας	-	Ο ρυθμός απομάκρυνσης του υποστρώματος από το δοχείο καλλιέργειας. (έκπλυση)	-	Ο ρυθμός χρησιμοποίησης του υποστρώματος από τον οργανισμό (παραγωγή)
--	---	---	---	--	---	---

**Σε συνθήκες δυναμικής ισορροπίας ισχύει,  $\mu=D$  ,  $dx/dt=0$  και  $ds/dt=0$**

$$\bar{s} = D \cdot \frac{K_s}{(\mu_{max} - D)}$$

(15)

$$\bar{x} = Y \cdot (S_R - \bar{s})$$

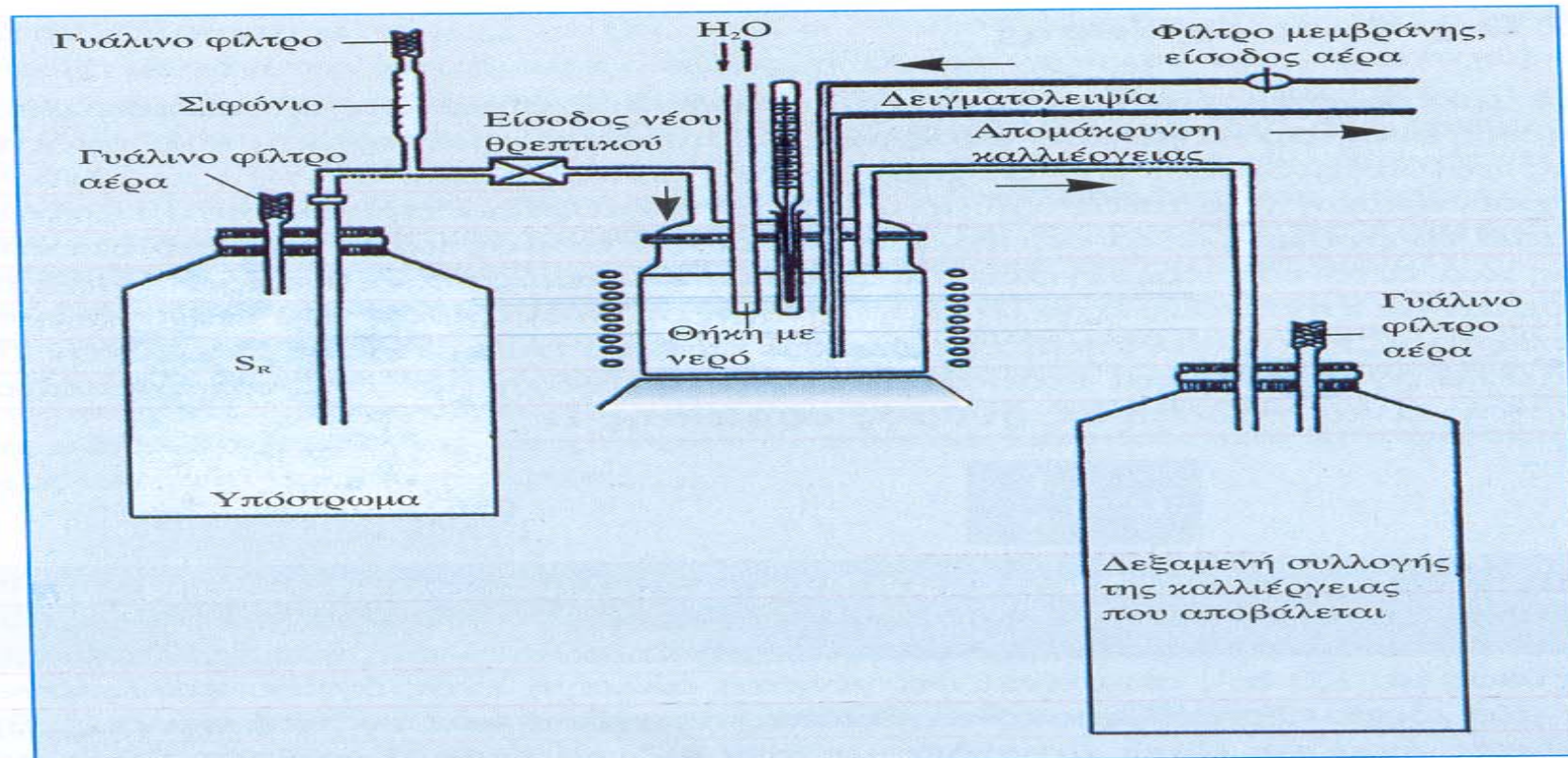
(16)

$s$  και  $X$  είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος και η συγκέντρωση της βιομάζας αντίστοιχα σε συνθήκες δυναμικής ισορροπίας.

Η εξίσωση (15) δείχνει ότι η συγκέντρωση του υποστρώματος που περιορίζει την αύξηση σε συνθήκες δυναμικής ισορροπίας για ένα συγκεκριμένο μικροοργανισμό για τον οποίο το  $\mu_{\max}$  και το  $K_s$  είναι σταθερά για τις συγκεκριμένες συνθήκες, εξαρτάται μόνο από τη δεδομένη τιμή του ρυθμού αραίωσης και είναι ανεξάρτητο της αρχικής συγκέντρωσης του υποστρώματος, **SR**.

Η εξίσωση (16) δείχνει ότι η συγκέντρωση της βιομάζας στη δυναμική ισορροπία δεν εξαρτάται μόνο από την τιμή του  $s$  (και τις παραμέτρους που σχετίζονται με αυτό αλλά επίσης από τον συντελεστή απόδοσης ( $Y$ ) και την αρχική συγκέντρωση του υποστρώματος.





α



β

Εικόνα 4.15 (α) Σχηματική παράσταση συστήματος συνεχών καλλιεργειών. (β) Βιοαντιδραστήρας συνδεδεμένος με Η/Υ για τη συνεχή καταγραφή των αποτελεσμάτων.



## Μέθοδοι Ανάπτυξης Μικροοργανισμών σε βιομηχανική κλίμακα

Τα κύτταρα αναπτύσσονται σε κωνική φιάλη από την αρχική καλλιέργεια και στη συνέχεια εμβολιάζονται σε δοχείο με αποστειρωμένο θρεπτικό υγρό. Στο δοχείο διαβιβάζεται οξυγόνο και γίνεται ανάδευση μέχρι να αναπτυχθούν τα κύτταρα στο επιθυμητό επίπεδο, οπότε και προσθέτονται σε μεγαλύτερο δοχείο καλλιέργειας.

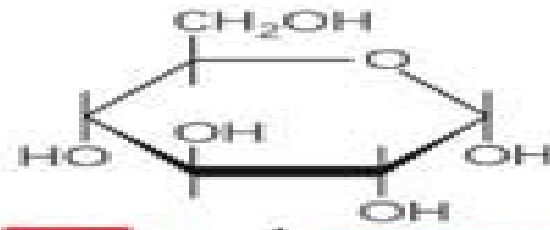
Συνεχής ανάδευση, παροχή οξυγόνου και έλεγχος του pH και της θερμοκρασίας γίνονται στις διάφορες φάσεις της καλλιέργειας.

Για την καλύτερη απόδοση παραγωγής βιομάζας ή ενζύμων από τα εκχυλίσματα κυττάρων απαραίτητο είναι να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας του μικροοργανισμού.

## **Μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών**

Ένα μεγάλο μέρος της Βιοτεχνολογίας επικεντρώνεται γύρω από την καλλιέργεια των μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (500.000 λίτρα) για παραγωγή των κυττάρων αυτών καθαυτών π.χ. βιομάζα, ή για την παραγωγή μεταβολιτών ή πρωτεϊνών. Τέτοιου είδους μεγάλες καλλιέργειες αναφέρονται ως βιομηχανικές ζυμώσεις. Ζύμωση είναι η βιολογική διεργασία που γίνεται απουσία αέρα (οξυγόνου). Ο όρος «βιομηχανική ζύμωση» εφαρμόζεται σήμερα σε όλες της μεγάλης κλίμακας καλλιέργειες μικροοργανισμών αν και οι περισσότερες απ' αυτές είναι αερόβιες. Η πρώτη μεγάλης κλίμακας διεργασία με μικροοργανισμούς ήταν η παραγωγή αιθανόλης. Η αιθανόλη παρασκευάζεται από την ζύμη αναγεννώντας οξειδωμένα νικοτιναμιδο-συνένζυμα απουσία οξυγόνου.

one molecule of glucose



ATP

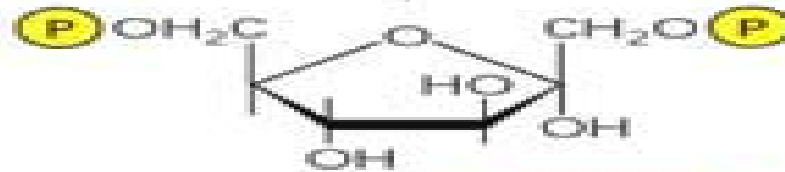
STEP 1

STEP 2

ATP

STEP 3

fructose 1,6-bisphosphate



STEP 4

two molecules of glyceraldehyde 3-phosphate



STEP 5

NADH

STEP 6

NADH

ATP

STEP 7

ATP

STEP 8

STEP 9

STEP 10

ATP

ATP



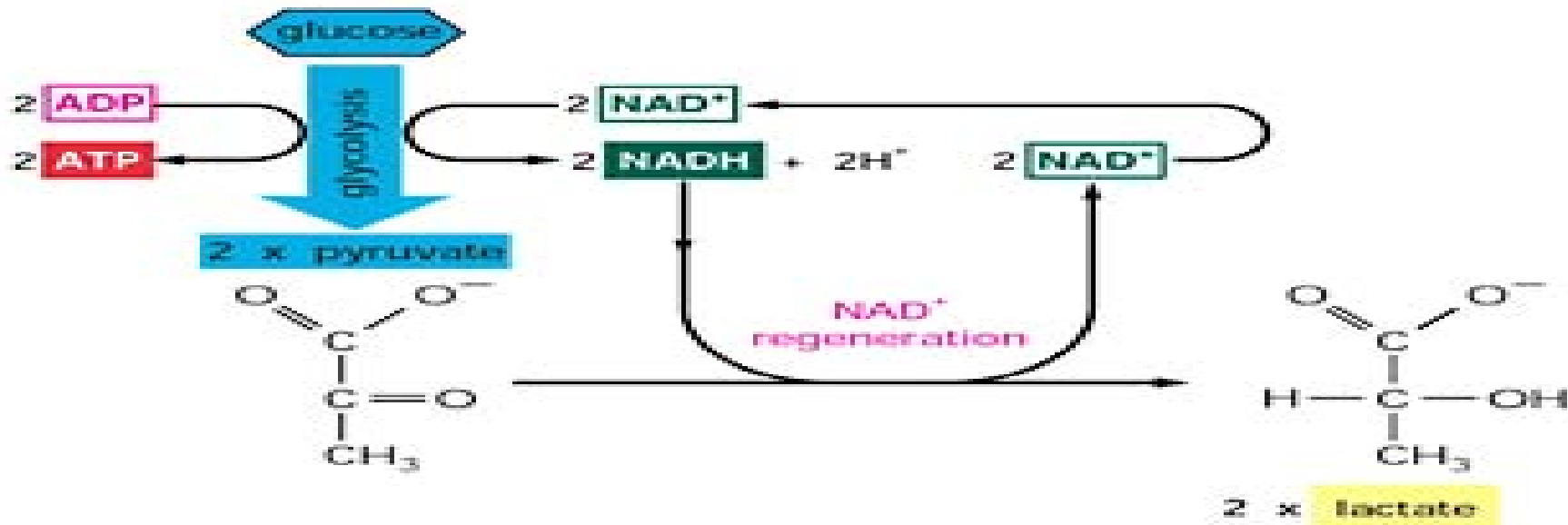
two molecules of pyruvate

energy investment to be recouped later

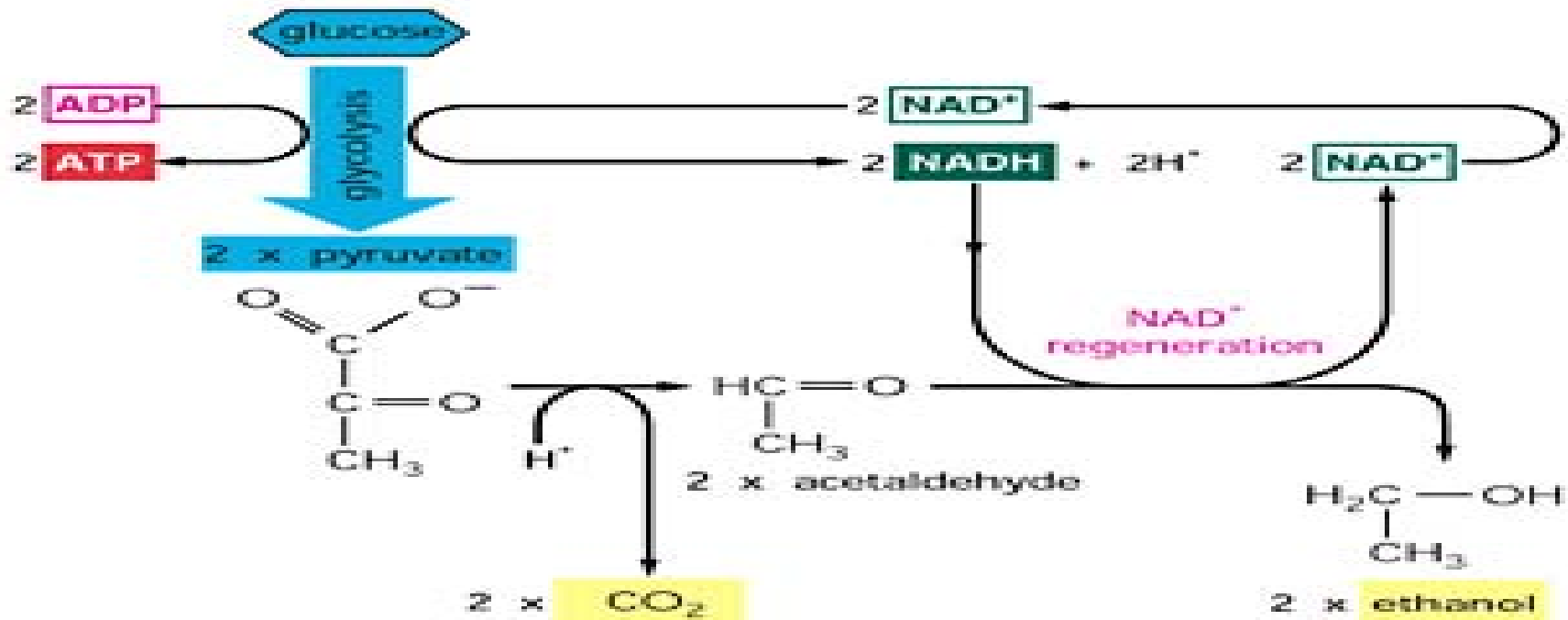
cleavage of six-carbon sugar to two three-carbon sugars

energy generation

(A) FERMENTATION LEADING TO EXCRETION OF LACTATE



(B) FERMENTATION LEADING TO EXCRETION OF ALCOHOL AND CO<sub>2</sub>



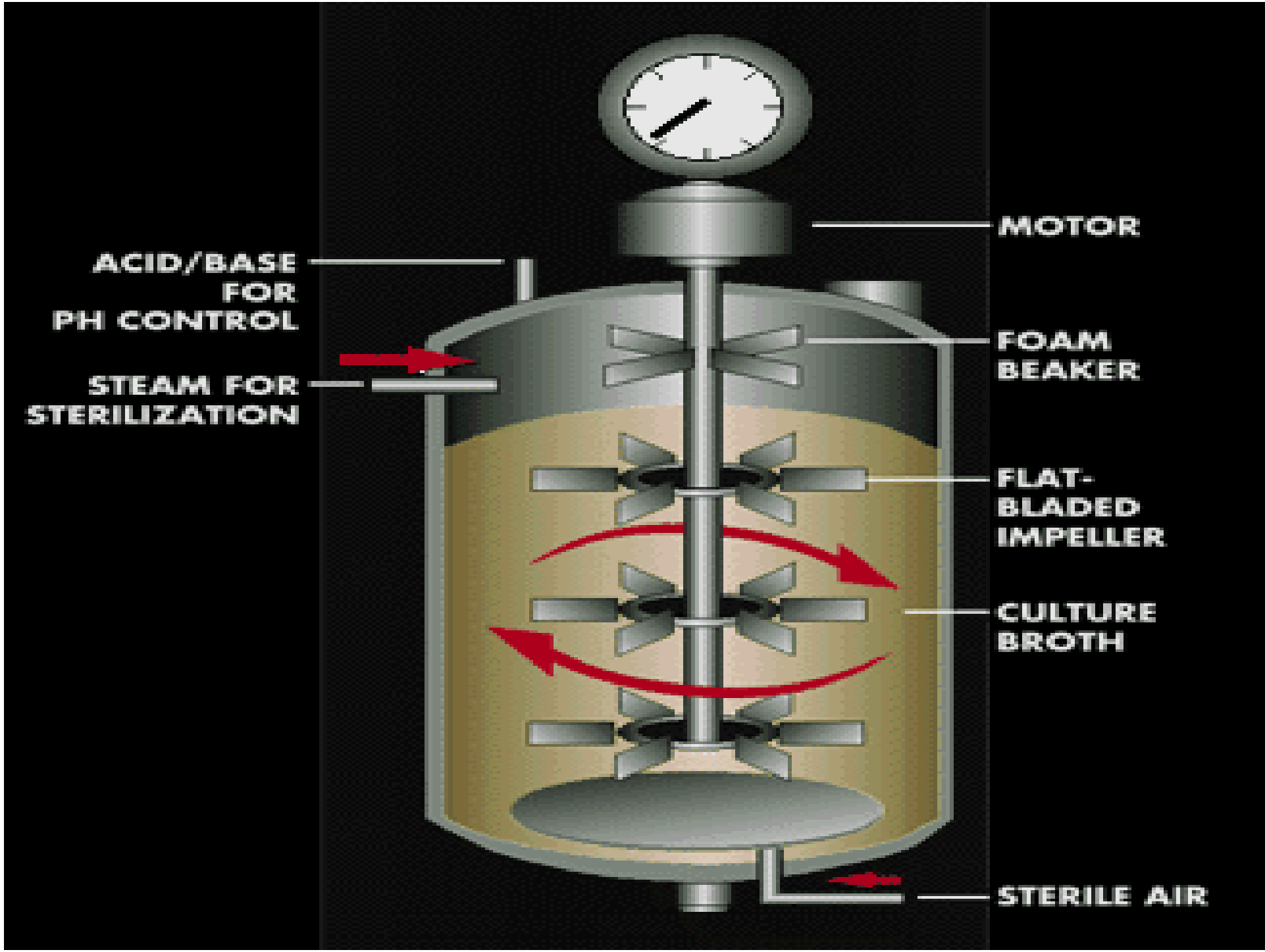


Μια ταχέως αυξανόμενη καλλιέργεια έχει πολύ μεγάλη απαίτηση για διαλυμένο οξυγόνο. **Το αέριο οξυγόνο θα πρέπει να διαλύεται στο υγρό καλλιέργειας έτσι ώστε να αλληλεπιδρά με το μεμβρανικό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων και να επηρεάζει την οξείδωση των ανηγμένων συνενζύμων .**

Το πρωταρχικό πρόβλημα για την παροχή του οξυγόνου είναι ότι το οξυγόνο είναι πολύ αδιάλυτο σε υδατικά συστήματα καθώς επίσης ότι , καθώς η θερμοκρασία αυξάνει, η διαλυτότητα του οξυγόνου ελαττώνεται. Η διαλυτότητα του οξυγόνου στο υγρό καλλιέργειας μπορεί να αυξηθεί, αυξάνοντας την πίεσή του στην αέριο φάση.

### **Βασικός σχεδιασμός ζυμωτήρα**

Ο βασικός σχεδιασμός ενός βιοαντιδραστήρα απαιτεί ένα μεγάλο κλειστό δοχείο με κατάλληλο σύστημα παροχής οξυγόνου και σύστημα ανάδευσης με προσθήκη σωλήνων για τη δημιουργία φυσαλίδων στα τοιχώματα του ζυμωτήρα. Είναι αναγκαίος ο έλεγχος ανταφρισμού δεδομένου ότι σε υψηλές κυτταρικές αποδόσεις παρατηρείται έντονος αφρισμός της καλλιέργειας.



**MOTOR**

**ACID/BASE  
FOR  
PH CONTROL**

**FOAM  
BEAKER**

**STEAM FOR  
STERILIZATION**

**FLAT-  
BLADED  
IMPELLER**

**CULTURE  
BROTH**

**STERILE AIR**

## **Έλεγχος του pH.**

Ο μεταβολισμός των περισσότερων μικροοργανισμών οδηγεί στην αλλαγή του pH της καλλιέργειας με ανάλογη αλλαγή της φυσιολογίας του μικροοργανισμού. Κατά συνέπεια πρέπει να γίνεται συνεχώς ρύθμιση του pH.

## **Έλεγχος της θερμοκρασίας.**

Οι μικροοργανισμοί παράγουν θερμότητα καθώς μεταβολίζουν τα διάφορα υποστρώματα. Για να διατηρηθεί η θερμοκρασία σταθερή τοποθετούνται εναλλάκτες θερμότητας με κρύο νερό γύρω από τον ζυμωτήρα.

## **Κριτήρια βιοτεχνολογικών διεργασιών**

Επιλογή της καλλιέργειας. Επιλογή του καταλληλότερου μικροοργανισμού.

Μαζική καλλιέργεια. Ο μικροοργανισμός που θα επιλεγεί πρέπει να πολλαπλασιάζεται γρήγορα και σε μεγάλες ποσότητες ώστε η βιομάζα να είναι σε μεγάλες ποσότητες .

Ανταπόκριση των κυττάρων κάτω από ειδικές συνθήκες.

Σε πολλές περιπτώσεις συγκεκριμένα προϊόντα λαμβάνονται μόνο κάτω από ειδικές συνθήκες Ελέγχος και επαναληψιμότητα όλων των σταδίων.

Απόδοση της παραγωγής του προϊόντος. Κάθε παραγωγική διεργασία θεωρείται επιτυχής αν η απόδοση σε προϊόν είναι συμφέρουσα.

### **Βελτίωση βιομηχανικών μικροοργανισμών**

Όταν απομονωθεί ένας μικροοργανισμός ο οποίος παράγει χρήσιμα προϊόντα, αρχίζει η προσπάθεια βελτίωσης του στελέχους αυτού με απώτερο σκοπό την καλύτερη απόδοση του αναμενόμενου προϊόντος.

Αυτό γίνεται με την αλλαγή των συνθηκών ανάπτυξης του μικροοργανισμού ή με γενετικούς χειρισμούς.

### **Απομόνωση των μεταλλαγμένων στελεχών**

Χρησιμοποιούνται συνήθως μηχανισμοί επιλογής μεταλλαγμένων στελεχών που βασίζονται :

**είτε στην απαίτηση των μεταλλαγμένων στελεχών για συγκεκριμένες ουσίες του θρεπτικού υλικού καλλιέργειας, είτε στην ανθεκτικότητά τους σε συγκεκριμένες ενώσεις,**



είτε στην ευαισθησία τους σε διάφορες θερμοκρασίες.

Τα μεταλλαγμένα κύτταρα που είναι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά έχουν μεγάλο βιομηχανικό ενδιαφέρον, γιατί η παρουσία ενός αντιβιοτικού στον βιοαντιδραστήρα ελαττώνει την πιθανότητα μόλυνσης της καλλιέργειας από άλλους μικροοργανισμούς.

## **ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ**

Περισσότερα από 6000 αντιβιοτικά είναι γνωστά εκ των οποίων περισσότερα από 100 παρασκευάζονται εμπορικά από μικροοργανισμούς σε βιοαντιδραστήρες. Οι μέθοδοι παρασκευής αντιβιοτικών σε μεγάλη κλίμακα άρχισαν μετά το 1940.

## ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ

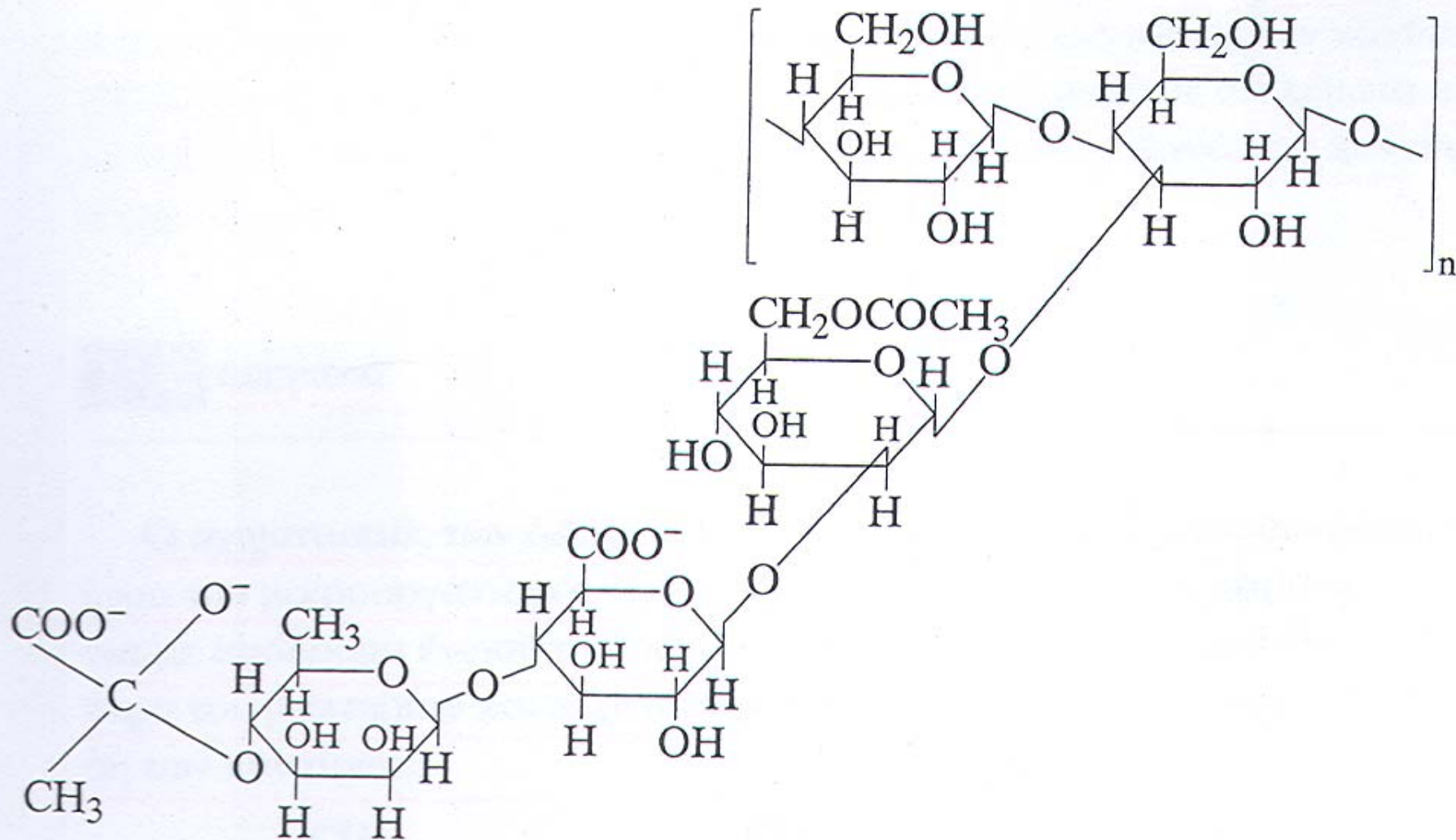
Οι μικροβιακοί πολυσακχαρίτες διακρίνονται σε:

α) *ετεροπολυσακχαρίτες* που είναι τα πολυμερή που παράγονται από βακτήρια με υπόστρωμα την γλυκόζη. Ο πλέον γνωστός ετεροπολυσακχαρίτης της κατηγορίας αυτής είναι η ξανθάνη .

Η ξανθάνη είναι ένα πολυμερές που παράγεται από την *Xanthomonas campestris* σε περιβάλλον ζύμωσης που περιέχει γλυκόζη και κατάλληλα ιχνοστοιχεία.

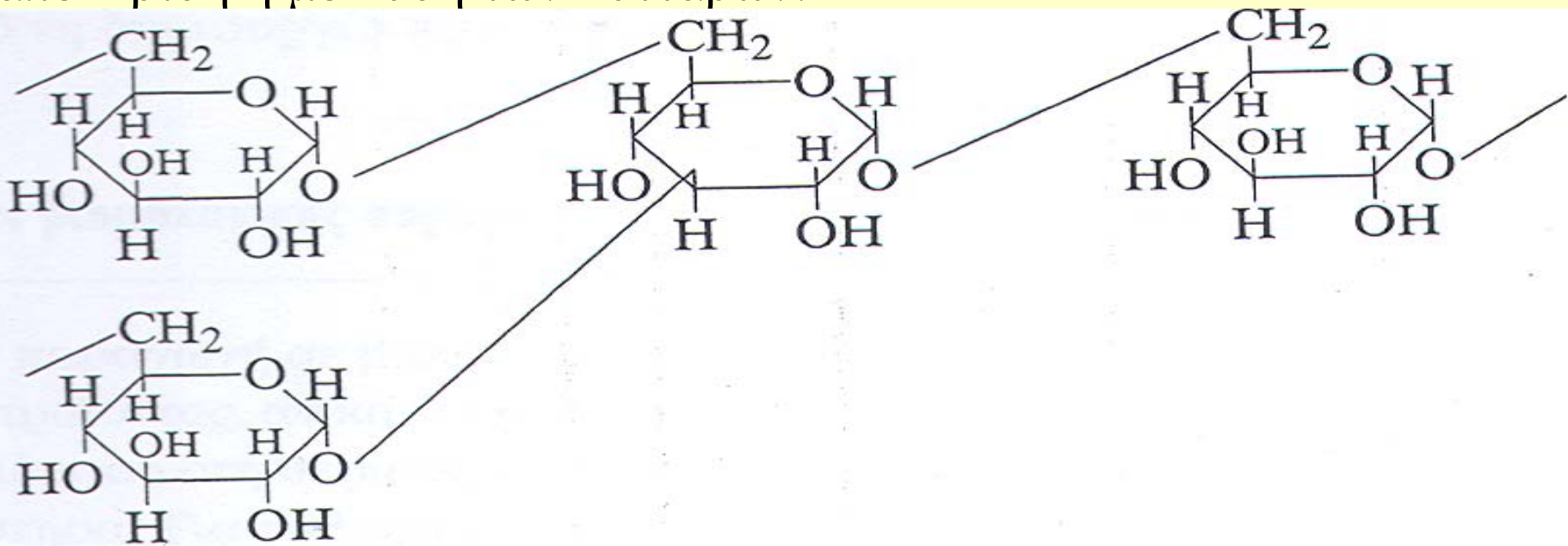
. Ο πολυσακχαρίτης κατακρημνίζεται με την προσθήκη αιθανόλης, καθαρίζεται με ανακρυστάλλωση και στη συνέχεια ξηραίνεται.

Η ξανθάνη περιέχει **D-γλυκόζη, D-μαννόζη και D-γλυκουρονικό οξύ σε αναλογία 3:3:1** . Το πολυμερές εμφανίζεται άκαμπτο, με τους γλυκοσιδικούς δεσμούς σε β-θέση. Δεν υπάρχουν τοξικές επιδράσεις όταν προστίθεται στα τρόφιμα σε ποσοστό που δεν ξεπερνά το **1%**. Οι ξανθάνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως σκόνη σε παγωτά, διάφορες σάλτσες κλπ. με σκοπό την αύξηση του ιζώδους.



**Δομή Ξανθάνης: D-γλυκόζη ( β 1-4) κύρια αλυσίδα, 6-ακετυλομαννόζη ( α 1-3) , D-γλυκουρονικό οξύ ( β 1-2), 4, πυροσταφιλική – D-μαννόζη ( β 1-4), μοριακού βάρους 10 6-10 7.**

β) ομοπολυσακχαρίτες είναι τα πολυμερή που παράγονται με υπόστρωμα τη σουκρόζη από μία ποικιλία βακτηρίων. Οι πλέον γνωστοί ομοπολυσακχαρίτες είναι τα δεξτράνια. Ο σχηματισμός των δεξτρανίων στηρίζεται στη δεξτρανοσουκράση, ένα ένζυμο του μικροοργανισμού *Leuconostoc mesenteroides* που παράγει τα δεξτράνια με πρόδρομο ένωση τη σουκρόζη. Το ένζυμο είναι ενεργό έξω από τα κύτταρα του βακτηρίου και περνά στην καλλιέργεια, με απέκκριση ή με λύση των κυττάρων.



Δομή Δεξτρανίου :D-γλυκοπυρανόζη (α 1-6) κύρια αλυσίδα και ( α 1-3) διακλαδούμενη αλυσίδα , μοριακού βάρους 10 5-10 7.



## **Εφαρμογές των δεξτρανίων :**

**Στην Ιατρική (τα μερικώς υδρολυμένα δεξτράνια ως υποκατάστατο του πλάσματος ).**

**Σε είδη αρτοποίησης.**

**Σε γλυκίσματα**

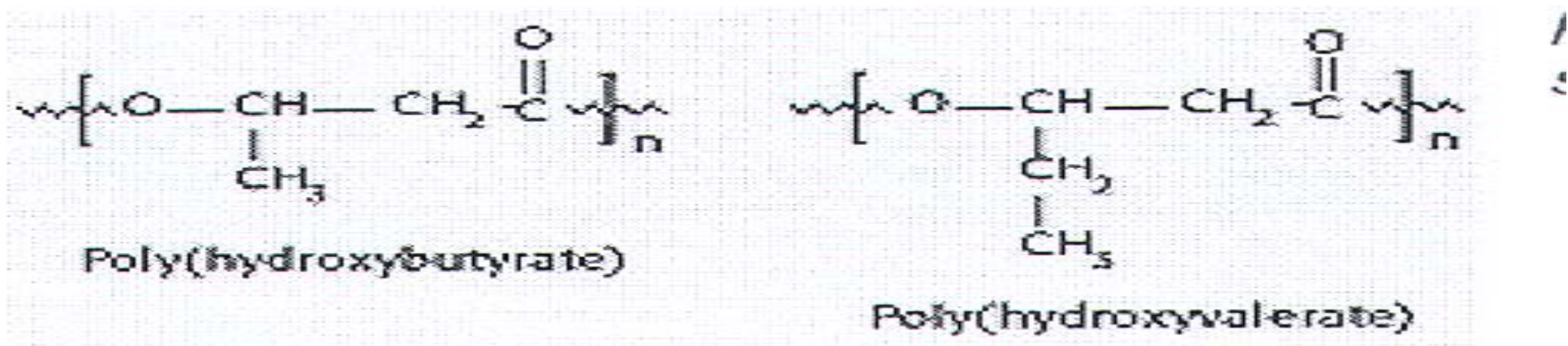
**Ως συντηρητικά (συντηρεί τα τρόφιμα από την ξήρανση κατά την αποθήκευσή τους)**

**Ως σταθεροποιητές (παγωτά).**

Για την κατακρήμνιση των εξωπολυσακχαριτών συνήθως χρησιμοποιούνται, ισοπροπανόλη, αιθανόλη, μεθανόλη και ακετόνη. Μετά την κατακρήμνιση το στερεό προϊόν απαλλάσσεται του νερού και ξηραίνεται. Οι πολυσακχαρίτες μπορούν τέλος να τροποποιηθούν φυσικά ή χημικά με αποτέλεσμα την αλλαγή πολλών ιδιοτήτων τους, όπως καθαρότητα, ιξώδες κλπ.

Τα ΡΗΑ μπορούν να διαιρεθούν με βάση το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας του μονομερούς στις παρακάτω κατηγορίες:

**α) ΡΗΑ με μικρού μήκους αλυσίδα.** Αυτή η ομάδα περιλαμβάνει τα πολυμερή που τα μονομερή τους έχουν ανθρακική αλυσίδα μήκους 4 με 5 ατόμων άνθρακα, όπως π.χ. το πολύ-(3-υδροξυβουτυρικό) (PHB) και το πολύ-(3-υδροξυβαλερικό) (PHV), με  $R=CH_3$  και  $R=C_2H_5$  αντίστοιχα, .



καθώς και το συμπολυμερές τους P(HB-co-HV) το οποίο παράγεται σε βιομηχανική κλίμακα ( Biopol) από τα βακτήρια *Alkaligenes eutrophus*, με πρώτη ύλη γλυκόζη και προπιονικό, και δύναται να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή φιαλών με ένα κόστος όμως παραγωγής σαφώς υψηλότερου από εκείνου του προπυλενίου.

**β) ΡΗΑ μέσου μήκους αλυσίδας (6-12 άτομα άνθρακα).**

**γ) ΡΗΑ με μεγάλη μήκους αλυσίδα. Αυτή η ομάδα περιλαμβάνει πολυμερή ΡΗΑ που συνίστανται από μονομερή με περισσότερα από 12 άτομα άνθρακα.**

Για την παραγωγή πολυμερών έχουν χρησιμοποιηθεί ως πηγή άνθρακα, με διάφορους τύπους βακτηρίων, οι εξής κατηγορίες ενώσεων:

**I) Λιπαρά οξέα.**

**II) Άλατα κορεσμένων μονοκαρβονικών οξέων (αλκανοϊκών οξέων), καθώς και μίγματα αυτών σε συγκεκριμένη αναλογία για την παραγωγή συμπολυμερών.**

**III) Αλκένια.**

Ο πολυμερισμός είναι στερεοειδικός.

Η βιοαποικοδόμηση του πολυμερούς μπορεί να είναι δύο τύπων:

1. η ενδοκυττάρια αποικοδόμηση, που γίνεται από τις βακτηριακές αποπολυμεράσες και επιτρέπει στο βακτήριο να χρησιμοποιήσει ένα πολυμερές που υπάρχει στο περιβάλλον του ως πηγή άνθρακα.
2. η εξωκυττάρια αποικοδόμησή τους, που πραγματοποιείται από εξωκυττάρια αποπολυμεράσες οι οποίες εκκρίνονται από πολλά βακτήρια για τον καταβολισμό του πολυμερούς μετά την λύση των βακτηρίων, σε περιβάλλον μονοβακτηριακής ή πολυβακτηριακής σύστασης (έδαφος, νερό θαλασσών ή ποταμών κλπ.).

Έχουν περιγραφεί πολλοί οργανισμοί προκαρυωτικοί και ευκαρυωτικοί ικανοί να αποικοδομήσουν τα ΡΗΑ σε αερόβιο περιβάλλον. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι βακτηριακές αποπολυμεράσες παρουσιάζουν την ιδιότητα να μπορούν να δεχτούν στο ενεργό τους κέντρο μόνον τα υποστρώματα R διαμόρφωσης. Έτσι μπορεί να εξηγηθεί η δυνατότητα βιοαποικοδόμησης των βακτηριακών ΡΗΑ και η μη βιοαποικοδομησιμότητα των πολυμερών που συντίθενται με χημικά μέσα διότι αυτά τα πολυμερή είναι μίγματα διαμόρφωσης.

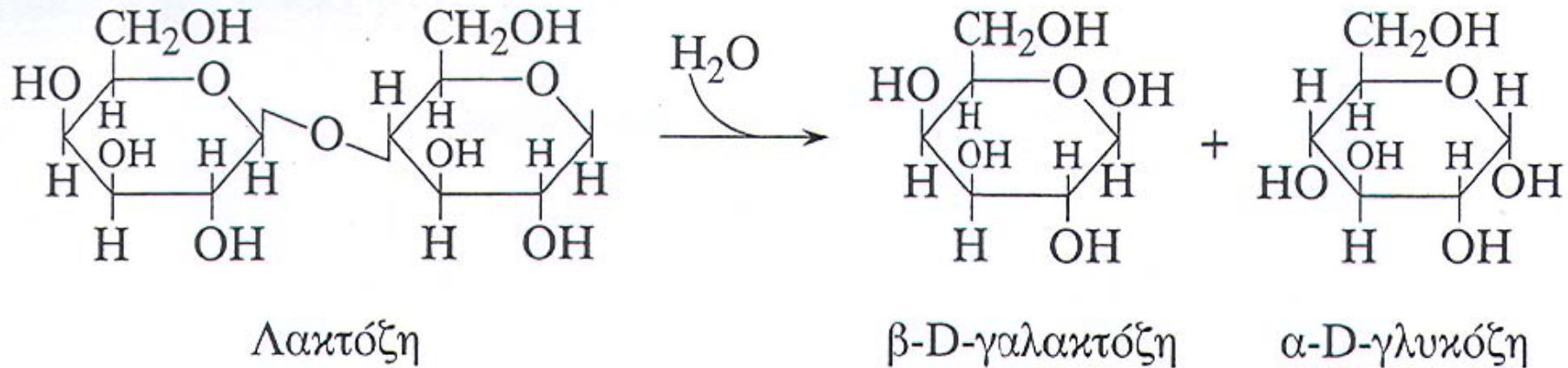
**Τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή παρουσιάζουν τις εξής βιομηχανικές εφαρμογές:**

- 1) *στο περιβάλλον, χρήση των πολυμερών σαν πρόσθετα καλλιεργειών καθώς η χρήση τους υπό μορφής καψυλλίων για την παρατεταμένη απελευθέρωση του περιεχομένου τους ( πχ μυκητοκτόνα).*
- 2) *στον τομέα της υγείας π.χ ως βιοαποικοδομήσιμα ράμματα εγχειρήσεων.*

**Πρέπει να τονισθεί ότι τα προϊόντα της αποικοδόμησης αυτών των πολυμερών είναι προϊόντα φυσικής αποικοδόμησης λιπαρών οξέων και κατά συνέπεια δεν θα παρουσιάζουν κάποια τοξικότητα για στον οργανισμό .**



## Η β-γαλακτοσιδάση υδρολύει τη λακτόζη του γάλακτος στους μονοσακχαρίτες γλυκόζη και γαλακτόζη



Η δυσανεξία της λακτόζης σε ενήλικες Αφρικανικής καταγωγής οφείλεται στην έλλειψη της β-γαλακτοσιδάσης του εντέρου. Η αδυναμία διάσπασης της λακτόζης του γάλακτος έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία απορρόφησής της και πρόκληση εντερικών διαταραχών. Η υδρόλυση της λακτόζης, πριν το γάλα δοθεί στην κατανάλωση, κάνει δυνατή την αξιοποίησή της ως τροφή και από τα άτομα που πάσχουν από τη δυσανεξία του γάλακτος. Η λακτόζη είναι σχετικά αδιάλυτο (20% της διαλυτότητας της σουκρόζης) και άγλυκο

σάκχαρο (40% σχετική γλυκύτητα σε σύγκριση με τη σουκρόζη) ,  
**ενώ το ισομοριακό μίγμα γλυκόζης / γαλακτόζης που είναι  
αποτέλεσμα της υδρόλυσης της λακτόζης, είναι τρεις φορές πιο  
διαλυτό και δύο φορές πιο γλυκό.**

Η λακτόζη στο τυρόγαλα αποτελεί το 70-80% του συνολικού βάρους.  
Λόγω της μικρής γλυκαντικής αξίας και διαλυτότητας της  
λακτόζης, το μεγαλύτερο ποσό του τυρογάλακτος που παράγεται  
από τυροκομικές βιομηχανίες όχι μόνον δεν αξιοποιείται αλλά  
ρυπαίνει το περιβάλλον.

Η λακτόζη η οποία προέρχεται από το τυρόγαλα μπορεί μετά την  
υδρόλυσή της να χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή παγωτών,  
γιαουρτιού, στην κονσερβοποιία φρούτων , σε φρουτοχυμούς και στη  
ζαχαροπλαστική .Η υδρόλυση της λακτόζης γίνεται ενζυμικά σε pH 4-8  
και θερμοκρασία 50-60 οC. Ως πηγές του ενζύμου β- γλυκοσιδάσης  
χρησιμοποιούνται κυρίως οι μύκητες *Aspergillus niger* και  
*Aspergillus oryzae* και ο ζυμομύκητας *Saccharomyces lactis*.

## Πρωτεάσες

Οι πρωτεάσες σήμερα κατέχουν την πρώτη θέση στα ένζυμα που παρασκευάζονται για βιοτεχνολογικούς σκοπούς. Η ετήσια παραγωγή ξεπερνά τους 500 τόνους. Οι περισσότερες πρωτεάσες χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες απορρυπαντικών.

Αλκαλικές πρωτεάσες βοηθούν την υδρολυτική διάσπαση πρωτεϊνών που προκαλούν λεκέδες και είναι δύσκολο να απομακρυνθούν. Η πλέον χρησιμοποιούμενη είναι η αλκαλική πρωτεάση σερίνης του ***B.***

***Picheniformis*** γνωστή και ως ***subtilisin***. Υδρολύει πολλούς πεπτιδικούς δεσμούς και συνεπώς εύκολα διαλυτοποιεί πρωτεΐνες (λεκέδες).