



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Βιοτεχνολογία (ENE_610)

Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

Υπεύθυνη διδάσκουσα:

Δρ Παναγιώτα Σταθοπούλου, Βιολόγος

Επίκουρη Καθηγήτρια

panstath@upatras.gr, panayotastathopoulou@gmail.com

Τηλ: 2641074152



Γαλακτοκομικά (γιαούρτι, ξυνόγαλα, κεφίρ κλπ), Αλλαντικά (σαλάμι αέρος, παστοურμάς κλπ), Λαχανικά (Ελιές, τουρσί κλπ), Φρούτα/χυμοί (Κρασί, ξύδι κλπ), Σιτηρά (μπύρα κλπ)

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Δύο είδη Ζυμώνσεων

Φυσική Ζύμωση

Οι μικροοργανισμοί ζύμωσης είναι ήδη μέρος της φυσικής μικροχλωρίδας που προϋπάρχει στο τρόφιμο και δεν χρειάζεται να προστεθούν στο τρόφιμο.

Προσφέρουμε μόνο τις κατάλληλες συνθήκες



Ελεγχόμενη ζύμωση με καλλιέργεια εκκίνησης

Η πρώτη ύλη συνήθως αποστειρώνεται

Προσφέρουμε κατάλληλο εμβόλιο με υψηλό πληθυσμό από τους επιθυμητούς μικροοργανισμούς της ζύμωσης

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Μερικά παραδείγματα Ζυμούμενων Τροφίμων

Προϊόν	Υπόστρωμα	Μικροοργανισμοί	Καλλιέργεια εκκίνησης	Ζύμωση
Γιαούρτι, τυριά, ξινόγαλα κλπ	Γάλα	Οξυγαλακτικά βακτήρια	Ναι	Γαλακτική (Αναερόβια)
Αλλαντικά	Κρέας	Οξυγαλακτικά βακτήρια & Μικρόκοκκοι, Σταφυλόκοκκοι	Όχι απαραίτητα	Γαλακτική, προπιονική (Αναερόβια)
Τουρσί, ελιές	Λαχανικά	Οξυγαλακτικά βακτήρια	Όχι απαραίτητα	Γαλακτική (Αναερόβια)
Ξύδι	Κρασί, Μηλίτης οίνος	Οξικά βακτήρια	Όχι απαραίτητα	Οξική (Αερόβια)
Μπύρα, Οίνοι και αποσταγματα οίνων Ψωμί	Βύνη, Σταφύλια, φρούτα, Μελάσσα, Σιτηρά, Ρύζι, Ζυμάρι	Ζύμες <i>Saccharomyces</i>	Ναι	Αλκοολική (Αναερόβια)
Προζύμι, ψωμί με προζύμι	Ζυμάρι	Ζύμες και οξυγαλακτικά βακτήρια	Όχι απαραίτητα	Γαλακτική, Αλκοολική παραγωγή CO ₂ (Αναερόβια)

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Ποιοι παράγοντες καθορίζουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των ζυμούμενων τροφίμων;

Πρώτη ύλη (ποιότητα, φορτίο)

Θερμοκρασία

pH

Συντηρητικά

Αναερόβιες συνθήκες

Επεξεργασία Πρώτης ύλης

Ενεργότητα νερού
(NaCl)

Ποιότητα σακχάρων

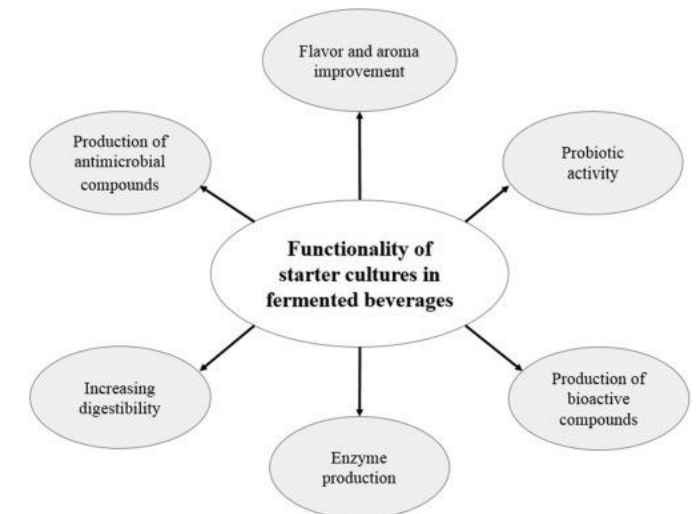
Καλλιέργεια
εκκίνησης

Καλλιέργεια εκκίνησης

Λυοφυλιωμένη μορφή

Κατεψυγμένη μορφή

Νωπή-Υγρή μορφή



Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

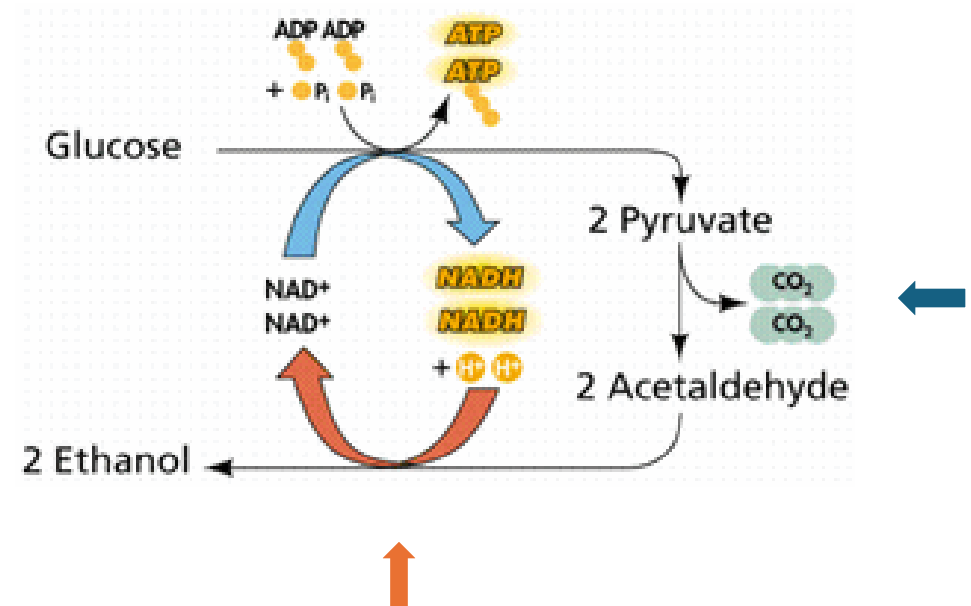
Οινοπνευματώδη ποτά

Η αλκοολική ζύμωση είναι ίσως ο αρχαιότερος βιοτεχνολογικός μετασχηματισμός στην ανθρώπινη ιστορία.

Η ζύμωση πραγματοποιείται όταν το πυροσταφυλικό που παράγεται από το μεταβολισμό της γλυκόζης διασπάται σε **αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα**

Η αλκοολική ζύμωση περιέχει δύο ένζυμα

- ➡ **την πυροσταφυλική αποκαρβοξυλάση:** (συνένζυμο η πυροφωσφορική θειαμίνη) αποκαρβοξυλιώνει το πυροσταφυλικό παράγοντας ακεταλδεΐδη
- ➡ **την αλκοολική αφυδρογονάση:** (το ενεργό της κέντρο περιέχει Zn^{2+} – συνένζυμο το NADH) ανάγει την ακεταλδεΐδη σε αιθανόλη



Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Ζυθοποίηση – Παραγωγή Μπύρας

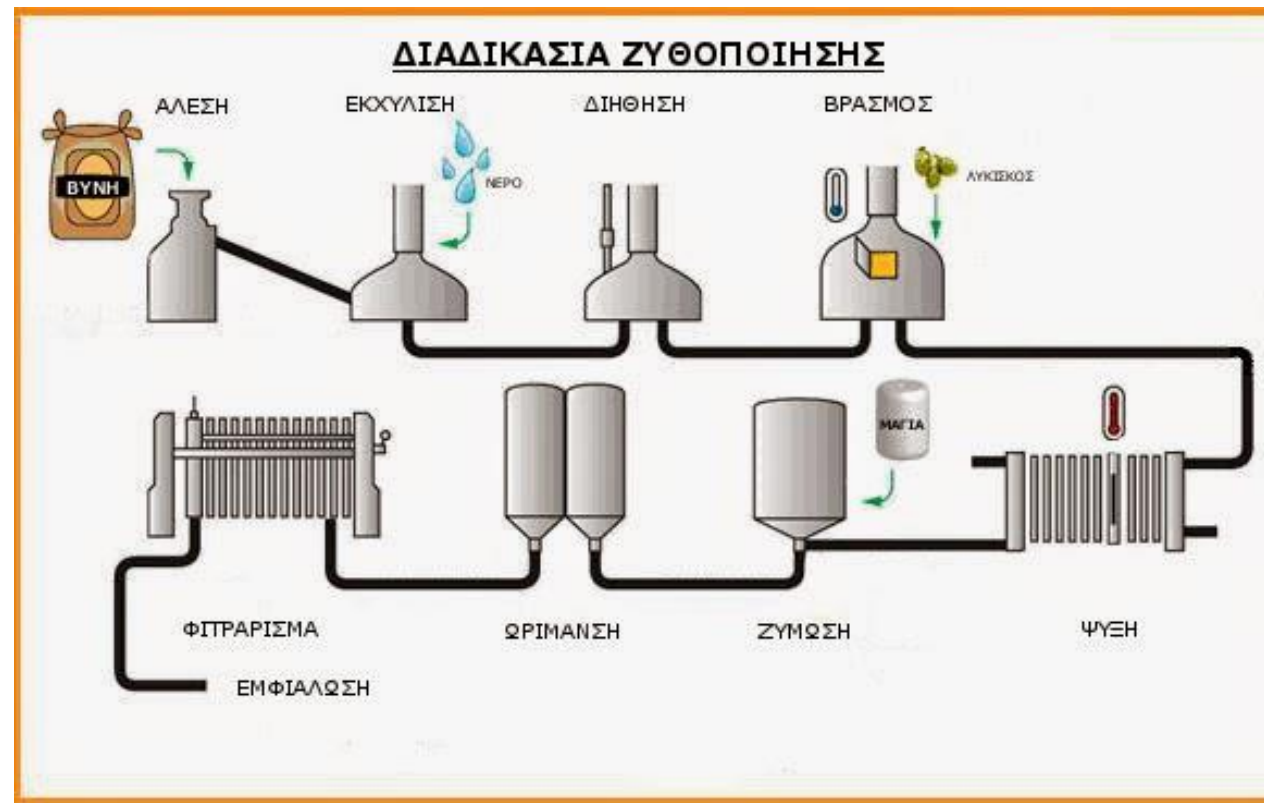
Η μπίρα είναι το πιο καταναλωτικό αλκοολούχο ποτό παγκοσμίως.

Παρασκευή από τέσσερα βασικά συστατικά:

- βυνοποιημένα δημητριακά (κριθάρι ή άλλα)
- νερό
- λυκίσκος και
- ζύμη.

Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, τα κύτταρα ζύμης μετατρέπουν τα σάκχαρα που προέρχονται από δημητριακά σε αιθανόλη και CO_2 .

Ταυτόχρονα, παράγονται εκατοντάδες δευτερογενείς μεταβολίτες που επηρεάζουν το άρωμα και τη γεύση της μπίρας.



Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Ζυθοποίηση – Παραγωγή Μπύρας



Στάδια	Διεργασίες
Βυνοποίηση κριθαριού	Διαβροχή, Βλάστηση, Φρύξη κριθαριού (7 ημέρες) - ανάπτυξη ενζύμων, τα οποία είναι απαραίτητα στο μετέπειτα στάδιο - την αποικοδόμηση των φυσικών τοιχωμάτων του αμύλου του κόκκου, ώστε αυτό να είναι πιο εύληπτο στο μετέπειτα στάδιο
Ζυθοποίηση	Άλεση, Ανάμειξη με ζεστό νερό (σακχαροποίηση), Διήθηση γλεύκους, Βρασμός με την προσθήκη λυκίσκου
Ζύμωση	Η μαγιά μετατρέπει τα σάκχαρα σε αλκοόλ και διοξείδιο του άνθρακα
Σίτευση ωρίμανση	Δευτερογενής ζύμωση για βελτίωση γεύσης
Φιλτράρισμα	Απομακρύνεται η μαγιά και άλλες ουσίες που θα μπορούσαν να προξενήσουν θόλωμα αργότερα κατά την αποθήκευση.
Συσκευασία εμφιάλωση	Εχθρός της μπύρας είναι το οξυγόνο, γι' αυτό η εμφιάλωση γίνεται παρουσία ανθρακικού.

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Οινοποίηση



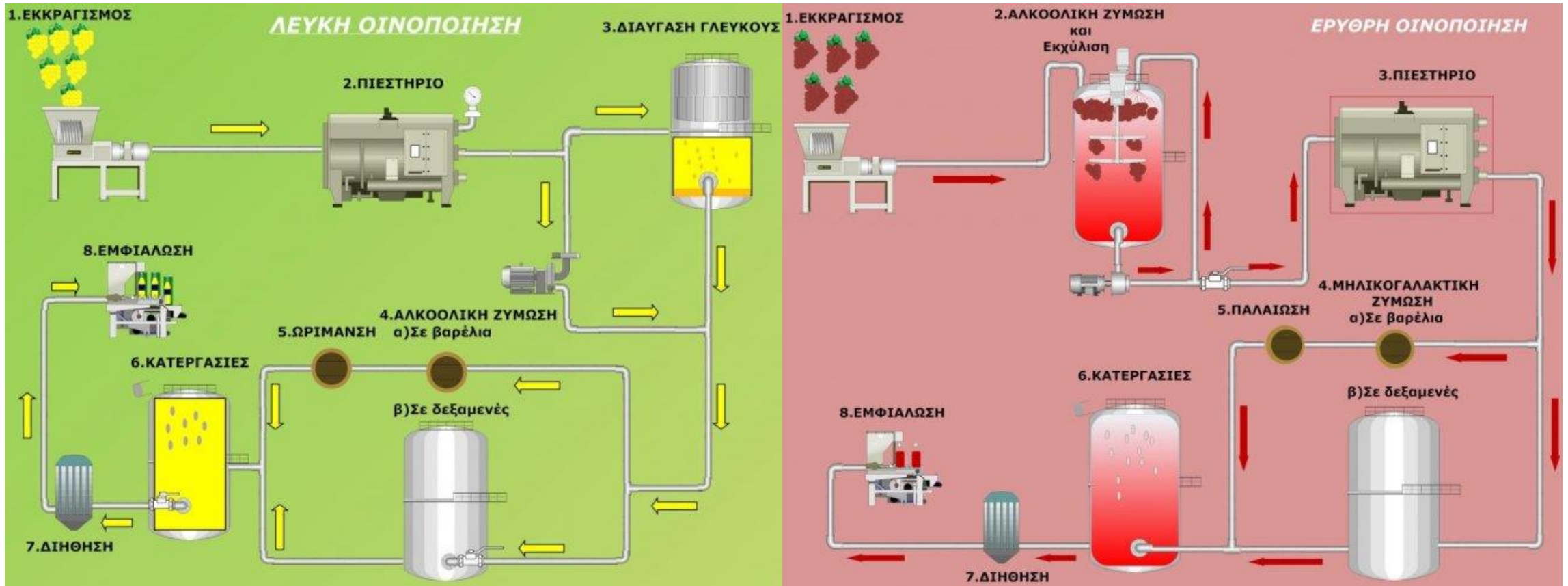
Στη ζύμωση οίνου, χρειάζονται στελέχη - παραγωγοί υψηλών επιπέδων αιθανόλης (11–13% v/v)

- Η κυρίαρχη μικροχλωρίδα ζύμης στα υγιή σταφύλια κατά τη συγκομιδή αποτελείται από είδη που δεν επιβιώνουν τις πρώτες ώρες της ζύμωσης
- Ο μικροβιολογικός έλεγχος της διεργασίας ανατέθηκε στο διοξείδιο του θείου σε συγκεντρώσεις που αναστέλλουν την ανάπτυξη των περισσότερων βακτηρίων και των ζυμομυκήτων που δεν είναι *Saccharomyces*.

Στάδια	Διεργασία
Συγκομιδή -Τρύγος	Τα σταφύλια είναι τα μόνα φρούτα που έχουν τα απαραίτητα οξέα, εστέρες και τανίνες για να κάνουν φυσικό και σταθερό κρασί.
Σύνθλιψη και πίεση	Οι μηχανικές πρέσες σπάζουν ή τρυγούν τα σταφύλια και παράγουν αυτό που ονομάζουμε μούστο.
Ζύμωση	Η ζύμωση συνεχίζεται μέχρις ότου όλα τα σάκχαρα μετατραπούν σε αλκοόλη και έτσι παράγεται ξηρός οίνος.
Διαύγαση	Αφαιρούνται στερεά όπως νεκρά κύτταρα ζυμομυκήτων, τανίνες και πρωτεΐνες.
Ωρίμανση	Άμεση εμφιάλωση ή παλαίωση. Περαιτέρω παλαίωση μπορεί να γίνει σε φιάλες, δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα ή δρύινα βαρέλια.
Εμφιάλωση	

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Οινοποίηση



Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Αρτοποιία

Η μαγιά αρτοποιίας είναι ένας ζυμομύκητας που ανήκει στο είδος *Saccharomyces cerevisiae*

Τα προζύμια αποτελούνται κυρίως από οξυγαλακτικά βακτήρια ενώ είναι επιστημονικά αποδεδειγμένο ότι τα αυθόρμητα προζύμια περιέχουν ζυμομύκητες... δηλαδή περιέχουν μαγιά!

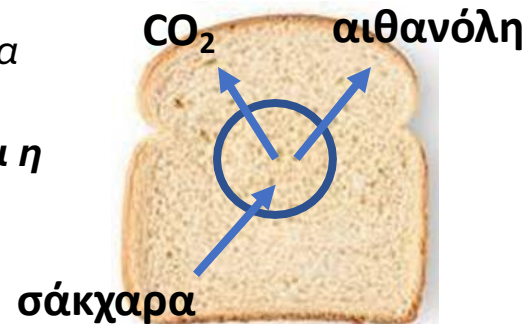
Τα βακτήρια και η μαγιά δρουν σε απόλυτη συνέργεια για να διαμορφώσουν το μοναδικό φαινόμενο της ζύμωσης στο ψωμί.

Τρία είναι τα βασικά στάδια αρτοποιίας:

- **Ανάμιξη**
- **Ωρίμανση-ζύμωση**

η μαγιά, η οποία έχοντας κάποια μικρή ποσότητα οξυγόνου διαθέσιμη στην αρχή χρησιμοποιεί τα συστατικά του ζυμαριού για την ανάπτυξη της (δημιουργία νέων κυττάρων) και λιγότερο για την παραγωγή αερίου. Σύντομα, το λίγο οξυγόνο εξαντλείται και ο ζυμομύκητας ακολουθεί μια διαφορετική βιοχημική πορεία, που χαρακτηρίζεται σαν αναερόβια ζύμωση και τα κύρια προϊόντα της είναι το **διοξείδιο του άνθρακα** και η **αιθανόλη**.

- **Ψήσιμο**



Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Γαλακτοκομικά Προϊόντα

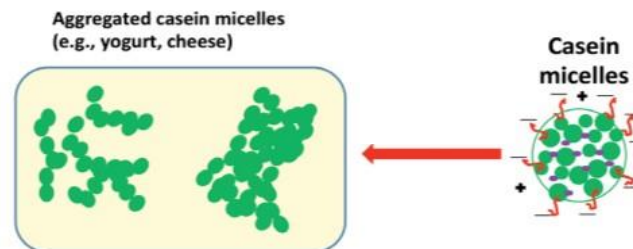
Γαλακτική ζύμωση: η ζύμωση της λακτόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic acid Bacteria)

Κύριο προϊόν: γαλακτικό οξύ

Γαλακτοβιομηχανία – τα οξυγαλακτικά βακτήρια μεταβολίζουν την λακτόζη σε γαλακτικό οξύ, μειώνουν το pH του γάλακτος, αποσταθεροποιούν τα μικκύλια καζεΐνης (κύρια πρωτεΐνη) με αποτέλεσμα το πήξιμο του γάλακτος. Επίσης παράγουν αρωματικές ενώσεις.

Όταν το γάλα πήζει, διαχωρίζεται σε δύο διαφορετικές φάσεις: την στερεή, ή αλλιώς τυρόπηγμα, και την υγρή, ή αλλιώς τυρόγαλα.

Η καζεΐνη βρίσκεται στο τυρόπηγμα ενώ η πρωτεΐνη ορού γάλακτος βρίσκεται στο τυρόγαλα.

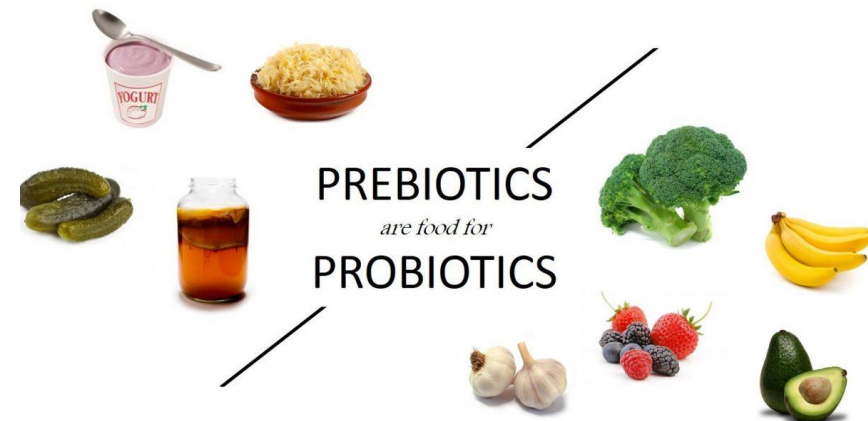
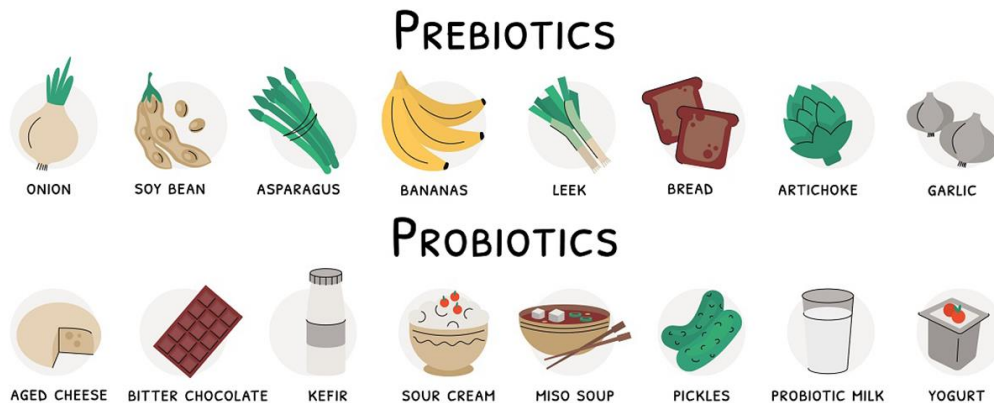


Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Γαλακτοκομικά Προϊόντα

Βιολειτουργικά Τρόφιμα: Τρόφιμα που περιέχουν ζωντανές καλλιέργειες μικροοργανισμών (ζυμομύκητες, Lactobacilli, Bifidobacteria) με **προβιοτική δράση**

Τα **πρεβιοτικά** είναι μη αφομοιώσιμα προϊόντα τροφής για τα προβιοτικά.



Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Ανασυνδυασμένα βακτήρια και ζυμομύκητες

- ❖ Παραγωγή ενζύμων με βελτιωμένα λειτουργικά χαρακτηριστικά (καλύτερη αποικοδόμηση πρωτεϊνών, σακχάρων, αποικοδόμηση μεγαλύτερου εύρους υποστρωμάτων)
- ❖ Παραγωγή ενζύμων που εμποδίζουν τη σύνθεση ανεπιθύμητων προϊόντων κατά τις ζυμώσεις (δυσάρεστη οσμή) ή απομακρύνουν καρκινογόνες ουσίες
- ❖ Παραγωγή προϊόντων για εμπλουτισμό των γαλακτοκομικών προϊόντων (βιταμίνες, ένζυμα, αμινοξέα, αντιοξειδωτικές ενώσεις, αρωματικές ενώσεις κ.α.)
- ❖ Ανασυνδυασμένοι ζυμομύκητες που σχηματίζουν συσσωματώματα για ευκολότερη απομάκρυνσή τους μετά τη ζύμωση της μπίρας
- ❖ Ανασυνδυασμένοι προβιοτικοί οργανισμοί για βελτιωμένη δραστηριότητα (γαλακτοκομικά)
- ❖ Παραγωγή βελτιωμένων στελεχών για εκκινητήριες καλλιέργειες (ανθεκτικών σε μολύνσεις φάγων)

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

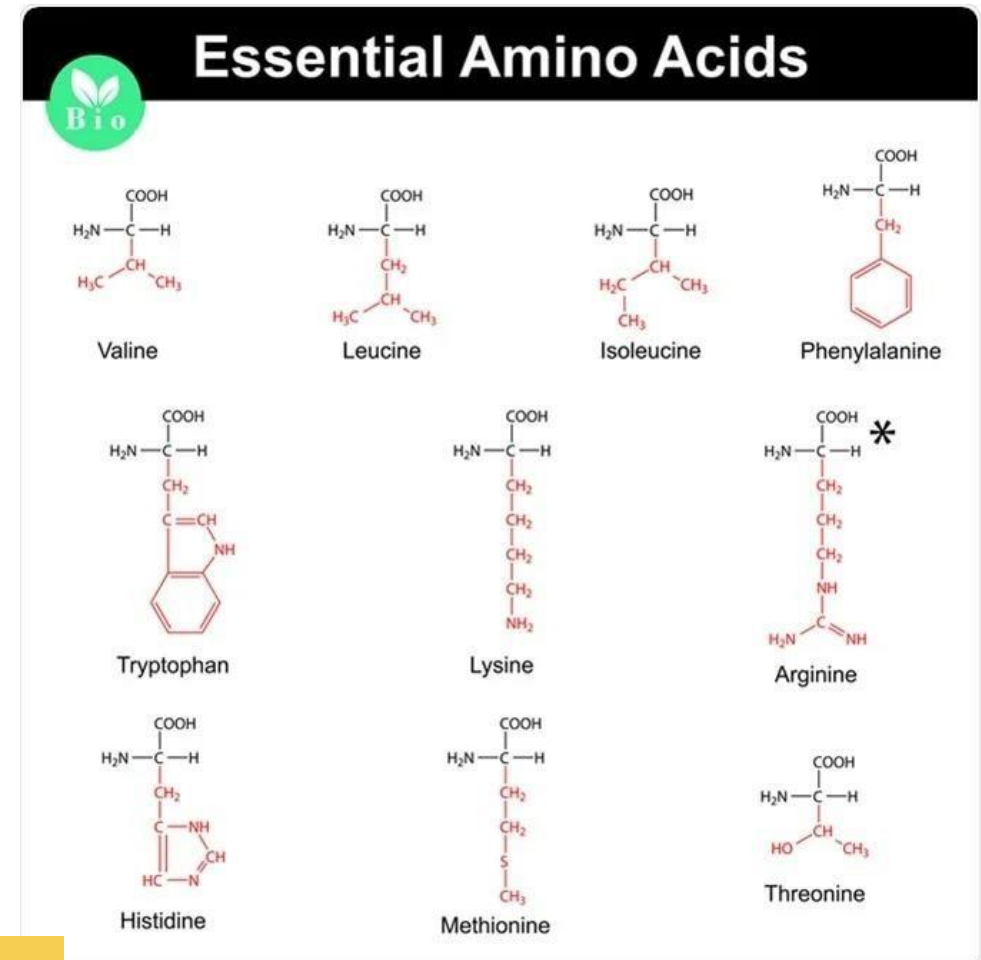
Παραγωγή χρήσιμων προϊόντων

Παραγωγή αμινοξέων για χρήση ως:

- Ενισχυτές γεύσης (γλουταμικό οξύ)
- συμπληρώματα διατροφής (λυσίνη και μεθειονίνη στις ζωοτροφές)
- γλυκαντικές ουσίες (ασπαρτάμη – από ασπαρτικό και φαινυλαλανίνη)
- βιομηχανικές εφαρμογές (απορρυπαντικά)
- ιατρική / φαρμακευτική χρήση (χορήγηση θρεπτικών ενδοφλεβίως, L-προλίνη, L-αργινίνη, β-αλανίνη)



Πρόβλημα: οι μικροοργανισμοί δεν παράγουν σε μεγάλες ποσότητες αμινοξέα
Γενετική τροποποίηση για παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων



Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Παραγωγή χρήσιμων προϊόντων

Πολυσακχαρίτες: Χρησιμοποιούνται κυρίως για την δημιουργία πηκτωμάτων (gel) π.χ. το κόμμι ξανθάνη (*Xanthomonas campestris*), κόμμι πουλλουλάνη (*Aerobasidium pullulans*), η τζελάνη (*Pseudomonas elodea*), το αλγινικό (φαιοφύκη, π.χ. *Macrocystis pyrifera*) και η δεξτράνη (βακτήρια)



Κιτρικό οξύ: για αύξηση οξύτητας τροφίμων και ποτών. Δίνει ξινή γεύση με το ασκορβικό και χρησιμοποιείται ως αντιοξειδωτικό

Βιταμίνες: εμπλουτισμός τροφίμων με βιταμίνες που παράγονται μικροβιακά

Ασπαρτάμη: γλυκαντική ουσία προϊόντα χαμηλών θερμίδων. Ασπαρτικό + φαινυλαλανίνη. Αμινοξέα που παράγονται από βακτήρια

Βόεια αυξητική ορμόνη (rBGH): παράγεται σε ανασυνδυασμένη *E. coli*. Αυξάνει την παραγωγή γάλακτος σε αγελάδες

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Παραγωγή μικροβιακών ενζύμων

Τα ένζυμα απαιτούνται για σύνθεση, υδρόλυση (διάσπαση), αναδιάταξη δεσμών (π.χ. ισομεράση της γλυκόζης, μετατρέπει την γλυκόζη σε φρουκτόζη)

Ένζυμο	Χρήση	Μικροοργανισμός που παράγει το ένζυμο
α-αμυλάση	Επεξεργ. αμύλου	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>
β-αμυλάση	Ζυθοποιία	<i>Bacillus subtilis</i>
γλυκοαμυλάση	Επεξεργ. αμύλου	<i>Aspergillus niger</i>
ισομεράση της γλυκόζης	Παραγωγή φρουκτόζης	<i>Streptomyces</i> sp.
ινβερτάση	Παραγωγή ζαχαροειδών	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
πουλουλανάση	Επεξεργ. αμύλου	<i>Klebsiella</i>
πηκτινάση	Επεξεργ. χυμών	<i>Aspergillus oryzae</i>
χυμοσίνη	Παραγωγή τυριού	<i>Kluuyveromyces</i> sp.
ρεννίνη	Παραγωγή τυριού	<i>Mucor miehei</i>
β-γλουκανάση	Ζυθοποιία	<i>Aspergillus niger</i>
λιπάση	Παραγωγή τυριού	<i>Rhizopus oryzae</i>
λακτάση	Παραγωγή γαλακτοκομικών	<i>Aspergillus niger</i>

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Παραγωγή μικροβιακών ενζύμων

Αμυλάσες (διασπούν άμυλο σε απλά σάκχαρα)

- Χρησιμοποιούνται στη ζυθοποιία, αρτοποιία, παραγωγή κρασιού και χυμών φρούτων, στη βιομηχανία ζάχαρης
- Επιδρούν στη δομή του αμύλου (π.χ. διατηρούν μαλακό το ψωμί)

Πηκτινάσες – Κυτταρινάσες (σάκχαρα)

- Διάσπαση πηκτίνης και κυτταρίνης (δομικών πολυσακχαριτών του κυτταρικού τοιχώματος φυτών)
- Παραγωγή χυμών. Βελτίωση της ποιότητας των χυμών (χαμηλό ιξώδες, θόλωμα)
- Πιο τρυφερά φρούτα

Λακτάσες (σάκχαρα)

- Υδρολύουν τη λακτόζη του γάλακτος σε γλυκόζη και γαλακτόζη
- Παραγωγή υποκατάστατων σκόνης γάλακτος. Χρησιμοποιείται σαν γλυκαντική ύλη π.χ. στα παγωτά

Λιπάσες (διασπούν λιπίδια σε λιπαρά οξέα)

- Ζύμωση γαλακτοκομικών, γιαουρτιού και τυριών
- Παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων για βελτίωση αρώματος του βουτύρου
- Απορρυπαντικά, βιοκαταλύτες

Πρωτεάσες (διασπούν πρωτεΐνες σε αμινοξέα)

- Στην τυροκομία για πήξη του γάλακτος
- Στη ζυθοποιία αποδόμηση πρωτεϊνών κριθαριού, στην αρτοποιία κατά την υδρόλυση της ζύμης
- Στη βιομηχανία κρέατος για να γίνει πιο τρυφερό το κρέας

Μικροβιακή Βιοτεχνολογία

Νομοθεσία για τους Γενετικά Τροποποιημένους Μικροοργανισμούς και τα Προϊόντα τους

Η αξιολόγηση του κινδύνου των ΓΤΜ (γενετικά τροποποιημένοι μικροοργανισμοί) περιλαμβάνει:

- τη φύση της γενετικής τροποποίησης
- την παρουσία τους (συμπεριλαμβανομένου του DNA τους) και των προϊόντων τους στο τελικό προϊόν

Οι ΓΤΜ διακρίνονται σε τρεις ομάδες σύμφωνα με την EFSA (European Food Safety Authority)

- **Ομάδα 1:** Ενώσεις ή μίγματα ενώσεων από ΓΤΜ (αμινοξέα, βιταμίνες)
- **Ομάδα 2:** Σύνθετα προϊόντα που δεν περιέχουν βιώσιμους ΓΤΜ, ούτε κλωνοποιημένο DNA (εκχυλίσματα κυττάρων, ένζυμα ζωοτροφών)
- **Ομάδα 3:** Προϊόντα που περιέχουν βιώσιμους ΓΤΜ ή άθικτο κλωνοποιημένο DNA (ζωντανές εκκινητήριες καλλιέργειες, προβιοτικές καλλιέργειες)

Για τα ένζυμα, υπάρχει νομοθετικό πλαίσιο που απαιτεί την ανιχνευσιμότητα και την επισήμανση στη συσκευασία.

Τα ένζυμα θεωρούνται:

- βοηθήματα επεξεργασίας (τα τρόφιμα που παράγονται με γενετικά τροποποιημένα ένζυμα δεν αναγράφονται στη συσκευασία)
- πρόσθετα τροφίμων (επισημαίνονται στη συσκευασία)