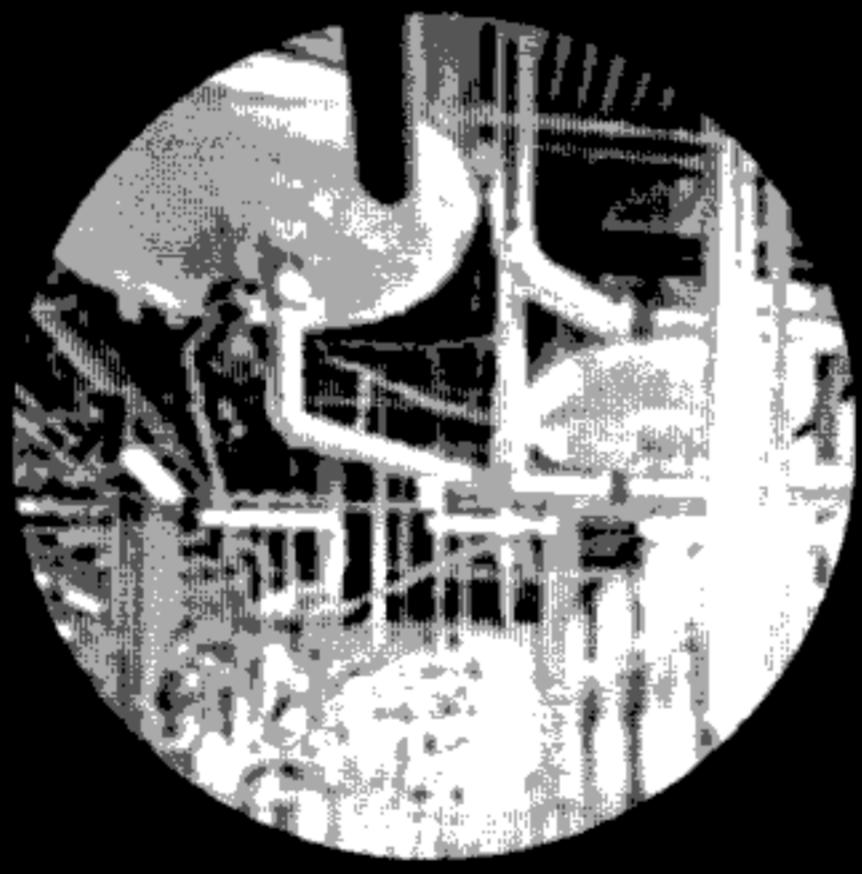
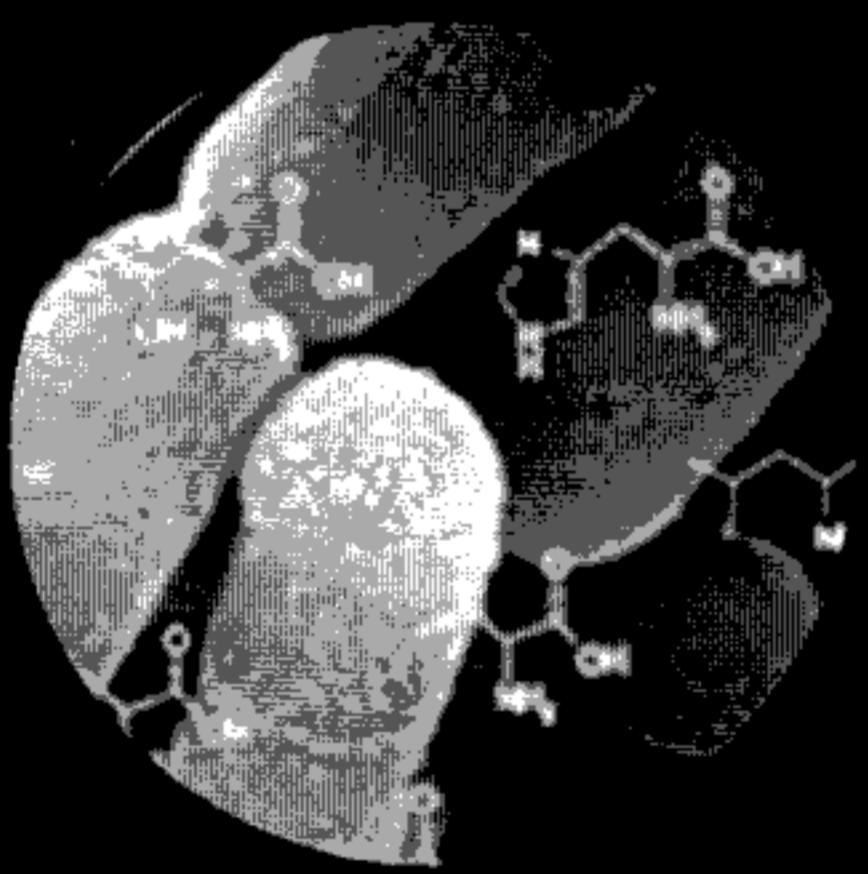


Δρ. Βασίλης Σπηλιώτης

# Βιομηχανική Μικροβιολογία



# Βιομηχανική Μικροβιολογία

ΣΥΔΟΞΟΣ

664.001 579  
ΣΤΗ

# Βιομηχανική Μικροβιολογία

Τ.Ε.Ι. ΑΘΗΝΑΣ  
ΕΠΙΧΑΛΩΣΙΚΗ  
Αρ. εισ. 86665

Δρ. ΒΑΣΙΛΗΣ ΣΠΗΛΙΩΤΗΣ  
Καθηγητής

**ΔΙΣΙΓΜΑ**  
**ΕΚΔΟΣΕΙΣ**

## **Ευχαριστίες:**

**Ευχαριστούμε θερμά την κα Α. Παναγή για την πολύτιμη συμβολή της στην επεξεργασία και μορφοποίηση αυτού του κειμένου.**

**τίτλος:**

**ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ**

**συγγραφέας:**

**Δρ. Βασίλης Σπηλιώτης**

**© 2014 Εκδόσεις Δίσιγμα**

**Για την ελληνική γλώσσα σε όλον τον κόσμο.**

**ISBN: 978-960-9495-34-9**

Το παρόν έργο πνευματικής ιδιοκτησίας προστατεύεται βάσει του Νόμου 2121/93 που ισχύει έως σήμερα καθώς και κατά τη Διεθνή Σύμβαση της Βέρνης (που έχει κυρωθεί με το Νόμο 100/1975). ΑΠΑΓΟΡΕΥΕΤΑΙ η αναδημοσίευση, φωτοανατύπωση και εν γένει αναπαραγωγή του παρόντος έργου, με οποιονδήποτε τρόπο ή μορφή, τμηματικά ή περιληπτικά, στο πρωτότυπο ή σε μετάφραση ή άλλη διασκευή, χωρίς γραπτή άδεια του εκδότη.

**[www.disigma.gr](http://www.disigma.gr) / e-mail: [info@disigma.gr](mailto:info@disigma.gr)**

---

**Find us on:**



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## **ΕΝΟΤΗΤΑ Ι Μικροβιακή Ανάπτυξη**

---

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Ρόλος και προετοιμασία μικροβιακών καλλιεργειών .....</b>	<b>3</b>
1.1 Εισαγωγή .....	3
1.2 Τρόποι απομόνωσης και επιλογής στελεχών .....	4
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Μικροβιακή Κινητική και λειτουργία Βιοαντιδραστήρων.....</b>	<b>11</b>
2.1 Μέθοδοι εκτίμησης ενός μικροβιακού πληθυσμού .....	11
2.2 Μικροβιακή κινητική.....	14
2.3 Κατηγορίες Ζυμώσεων .....	23
2.4 Συντελεστής μετατροπής και παραγωγικότητα .....	25
2.5 Βιοαντιδραστήρες.....	27
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Βιοχημικό προφίλ Μικροοργανισμών (Σύστημα API) .....</b>	<b>35</b>
3.1 Εισαγωγή .....	35
3.2 Το σύστημα ταυτοποίησης Api .....	35
3.3 Μικροβιακή εκτίμηση επικινδυνότητας (Microbial Risk Assessment, MRA) .....	38

---

## **ΕΝΟΤΗΤΑ II Μικροβιακή Βιοχημεία**

---

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Μικροβιακή Βιοχημεία .....</b>	<b>45</b>
4.1 Μεταβολισμός.....	46
4.2 Δέκτης ηλεκτρονίων και τύποι αναπνευστικών αλυσίδων .....	49
4.3 Αποικοδόμηση των υδατανθράκων .....	53
4.4 Αποικοδόμηση διαφόρων οργανικών ενώσεων .....	67

**ΕΝΟΤΗΤΑ III Μικροβιακά Προϊόντα**

---

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 Παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγή μικροβιακών μεταβολιτών στις μικροβιακές ζυμώσεις .....</b>	<b>75</b>
5.1 Αλκοολική ζύμωση: Η ζύμωση της αρτομάζας .....	75
5.2 Βιοχημεία του άρτου .....	76
5.3 Ρόλος των ζυμών στη ζύμωση της αρτομάζας .....	78
5.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την μικροβιακή αύξηση και την παραγωγή μικροβιακών μεταβολιτών .....	79
5.5 Παράγοντες που επηρεάζουν τη ζύμωση της αρτομάζας .....	90
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Εφαρμογές της Τεχνολογίας Ακινητοποιημένων μικροοργανισμών στην μικροβιακή παραγωγή αλκοόλης .....</b>	<b>93</b>
6.1 Στάδια Αλκοολικής ζύμωσης .....	94
6.2 Ακινητοποίηση κυττάρων .....	96
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 Μικροβιακή παραγωγή φυσικών αρωματικών ενώσεων. Παραγωγή γ-δεκαλακτόνης .....</b>	<b>103</b>
7.1 Αρωματικές ενώσεις και μικροοργανισμοί .....	103
7.2 Μηχανισμός παραγωγής γ - δεκαλακτόνης .....	105
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 Ζυμώμενα τρόφιμα .....</b>	<b>109</b>
8.1 Γαλακτική ζύμωση: Η ζύμωση του ελαιοκάρπου .....	109
8.2 Γαλακτική ζύμωση: Η ζύμωση των λαχανικών .....	116
8.3 Οξική Ζύμωση: Η παραγωγή του ξυδιού .....	122
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 Βιολειτουργικά τρόφιμα .....</b>	<b>127</b>
9.1 Εισαγωγή .....	127
9.2 Τι είναι τα βιολειτουργικά τρόφιμα; .....	127
9.3 Σημασία των βιολειτουργικών τροφίμων .....	128
9.4 Τύποι τροφίμων με βιολειτουργική δράση .....	129
9.5 Bifidobacteria.....	134

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10 Μικροβιακή Πρωτεΐνη..... 139**

10.1 Χρησιμοποίηση μικροοργανισμών σαν τροφή:	
Παραγωγή μικροβιακής πρωτεΐνης .....	139
10.2 Παραγωγή κυττάρων.....	144
10.3 Διατροφική αξία και ασφάλεια μονοκυτταρικής πρωτεΐνης.....	161
10.4 Μελλοντικές προοπτικές.....	166

**ΕΝΟΤΗΤΑ IV Ταχείες μέθοδοι ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού των μικροοργανισμών με εφαρμογή στην Βιομηχανική Μικροβιολογία****ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11 Ταχείες μέθοδοι προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου ..... 171**

11.1 Εισαγωγή .....	171
11.2 Μικροβιολογικός έλεγχος αέρα παραγωγικών χώρων .....	177
11.4 Μέθοδος μέτρησης μικροβιακού φορτίου με βιοφωταύγεια (μέθοδος ATP) .....	178

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12 Προσδιορισμός του μικροβιακού φορτίου με την μέθοδο της αγωγιμομετρίας..... 187**

12.1 Εισαγωγή .....	187
12.2 Η μέθοδος μέτρησης της εμπέδησης .....	188

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13 Ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών με ανοσοδοκιμασία..... 197**

13.1 Διαγνωστικές μέθοδοι με βάση την αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος .....	197
13.2 Δομή και ρόλος αντισωμάτων.....	198
13.3 Αντιγόνα και σχηματισμός συμπλόκου αντιγόνου-αντισώματος .....	199

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14 Εφαρμογές Κυτταρομετρίας ροής στην Βιομηχανική Μικροβιολογία ..... 203**

14.1 Σημασία της κυτταρομετρίας ροής στην βιομηχανική μικροβιολογία .....	203
---	-----

14.2 Αρχή της μεθόδου .....	204
14.3 Χρώση κυττάρων.....	206
14.4 Εφαρμογές και πλεονεκτήματα κυτταρομετρίας ροής .....	208
<b>ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ .....</b>	<b>211</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>257</b>
<b>ΑΝΑΦΟΡΕΣ .....</b>	<b>259</b>

## ΕΝΟΤΗΤΑ |

# ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1:

Ρόλος και προετοιμασία μικροβιακών καλλιεργειών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2:

Μικροβιακή κινητική και λειτουργία Βιοαντιδραστήρων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3:

Βιοχημικό προφίλ Μικροοργανισμών (Σύστημα API)

# Ρόλος και προετοιμασία μικροβιακών καλλιεργειών

## 1.1 Εισαγωγή

Είναι γνωστό ότι οι μικροοργανισμοί είναι ικανοί να πραγματοποιούν ένα μεγάλο αριθμό βιοχημικών αντιδράσεων. Το γεγονός αυτό εκφράζεται είτε με την παραγωγή βιομάζας, είτε με την παραγωγή ή βιομετατροπή οργανικών ουσιών.

Η ιδιότητα αυτή των μικροοργανισμών χρησιμοποιείται σήμερα σε μεγάλο βαθμό και ένας σημαντικός αριθμός ενώσεων, όπως ένζυμα, οργανικά οξέα, αμινοξέα, αντιβιοτικά, αυξητικοί παράγοντες κ.λπ., παράγονται βιομηχανικά απ' αυτούς.

Είναι λοιπόν φανερό, πως το κλειδί της επιτυχίας ή της αποτυχίας για μια βιοτεχνολογική παραγωγή ενός προϊόντος, είναι ο μικροοργανισμός που χρησιμοποιείται. Αυτός υπήρξε ένα από τα σπουδαιότερα προβλήματα από την αρχή που ο άνθρωπος παρασκεύαζε διάφορα τρόφιμα και ποτά με ζύμωση.

Συνήθως το εμβολίασμα που χρησιμοποιούσε για το ξεκίνημα μιας ζύμωσης ήταν η φυσική χλωρίδα του ίδιου του προϊόντος, όπως στην περίπτωση παρασκευής του άρτου. Τα τελευταία όμως χρόνια, και με την ανάπτυξη της βιομηχανικής μικροβιολογίας απαιτούνται διαδικασίες τέτοιες ώστε τα διάφορα μεταβολικά προϊόντα που μας ενδιαφέρουν να λαμβάνονται κατά τρόπο συνεχή και σε υψηλές αποδόσεις. Χρειάστηκε λοιπόν να μελετήσουμε τα μέσα και τις τεχνικές για την απομόνωση την διατήρηση, καθώς και την βελτίωση των ιδιότητων των μικροβιακών στελεχών, με τελικό σκοπό την αύξηση του δυναμικού τους για παραγωγή μεταβολιτών (πρωτογενών και δευτερογενών) ή βιομάζας.

Τα επιθυμητά χαρακτηριστικά που θα μας οδηγήσουν στην χρησιμοποίηση των μικροοργανισμών στην βιομηχανία είναι:

1. Η ικανότητα τους να αναπτύσσονται γρήγορα και εύκολα πάνω σε ένα υπόστρωμα χαμηλού σχετικά κόστους.
2. Τα μικροβιακά στελέχη πρέπει να είναι γενετικώς σταθερά, να παρουσιάζουν δηλ. ένα μικρό μόνο αριθμό μεταλλακτικών στελεχών.
3. Να παράγουν το επιθυμητό προϊόν σε μικρό χρόνο.
4. Να μη παράγουν ταυτόχρονα με το προϊόν, τοξικές ουσίες.
5. Να μπορούν να υπόκεινται σε γενετική τροποποίηση των ιδιοτήτων τους.
6. Να παρουσιάζουν σταθερή παραγωγικότητα μέσα στο χρόνο.

Οι μικροοργανισμοί με τα παραπάνω επιθυμητά χαρακτηριστικά μπορούν να παραληφθούν με δύο τρόπους:

1. Να απομονωθούν από την φύση (δηλ. από τον αέρα, το νερό, το χώμα κ.λπ.)
2. Να παραληφθούν από τις ονομαζόμενες “Τράπεζες Μικροοργανισμών”.

## 1.2 Τρόποι απομόνωσης και επιλογής στελεχών

### 1.2.1 Από την φύση

Όλες οι τεχνικές που εφαρμόζονται για την εύρεση νέων μικροοργανισμών με βιομηχανικό ενδιαφέρον αναπτύχθηκαν κυρίως κατά την διάρκεια της έρευνας παραγωγής νέων αντιβιοτικών. Όμως, ανεξάρτητα από την χρησιμοποιούμενη τεχνική, σκοπός είναι η απομόνωση και επιλογή ενός μικροοργανισμού που θα είναι προκισμένος με μια ή περισσότερες ιδιότητες. Η διαδικασία απομόνωσης μικροβιακών στελεχών συνιστά μια μακρόχρονη διαδικασία.

Η μέθοδος του screening εφαρμόζεται σήμερα ευρέως για ένα μεγάλο σύνολο μικροβιακών αντιδράσεων. Σύμφωνα με την μέθοδο αυτή, η απομόνωση και επιλογή γίνεται σε 3 φάσεις:

1. Στην πρώτη φάση απομονώνονται από διάφορες φυσικές πηγές, όπως το χώμα, ο αέρας, τα τρόφιμα, τα απόβλητα κ.λπ., ένα σύνολο μικροβίων με ορισμένες γενικές ιδιότητες.

2. Στην δεύτερη φάση, και από τους παραπάνω μικροοργανισμούς, απομονώνονται εκείνοι που έχουν την μεγαλύτερη δυνατότητα απόδοσης για το συγκεκριμένο βιομηχανικό προϊόν που μελετάται.
3. Στην τρίτη φάση τέλος, και σε εργαστηριακό επίπεδο, γίνεται η αριστοποίηση της παραγωγής για το στέλεχος της φάσης 2 που παρουσίασε την μεγαλύτερη απόδοση.

Για παράδειγμα, αν θέλουμε να απομονώσουμε ένα στέλεχος του γένους *Corynebacterium* που έχει την ικανότητα να παράγει το αμινοξύ Λυσίνη από σόγια, ακολουθείται η εξής διαδικασία:

Εμβολιάζεται αποστειρωμένο σογιάλευρο με χώμα, νερό αποβλήτων ή με κάποιο άλλο υλικό που περιέχει μεγάλο αριθμό μικροοργανισμών. Στην συνέχεια οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε αερόβιες συνθήκες και στην άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης των *Corynebacterium*, π.χ. 26°C.

Η διαδικασία αυτή εφαρμόζεται σε μεγάλο αριθμό φιαλών που εμβολιάζονται με διαφορετικό αρχικό δείγμα η κάθε μία. Από τις φιάλες εκείνες που θα παρουσιάσουν ταχεία ανάπτυξη, εμβολιάζονται νέες και στη συνέχεια απομονώνονται οι μικροοργανισμοί σε τρυβλία, στα οποία έχει ενσωματωθεί σόγια.

Κάθε καθαρή καλλιέργεια που απομονώνεται, ελέγχεται ως προς την ικανότητά της να παράγει λυσίνη σε μικρούς ζυμωτές, όπου η σόγια θα αποτελεί το βασικό συστατικό του θρεπτικού υποστρώματος. Θα ακολουθήσει η σύγκριση των διαφόρων στελεχών. Η αριστοποίηση της παραγωγής θα γίνει με το στέλεχος εκείνο που παρουσίασε την μεγαλύτερη απόδοση.

## 1.2.2 Τράπεζες μικροβιακών στελεχών

Ταυτόχρονα με την ανάπτυξη της Βιομηχανικής Μικροβιολογίας άρχισε και η δημιουργία τραπεζών μικροοργανισμών σε πολλές χώρες. Οι τράπεζες αυτές διαφέρουν ως προς το μέγεθος των συλλογών και μερικές είναι αρκετά εξειδικευμένες ως προς το είδος των μικροοργανισμών που περιλαμβάνουν. Για παράδειγμα, τα βακτήρια και τα πρωτόζωα δεν υπάρχουν συνήθως στην ίδια συλλογή. Οι τράπεζες μικροοργανισμών αποτελούν έτσι, αυθεντικές πηγές καλλιεργειών για την έρευνα και παραγωγή προϊόντων με βιοτεχνολογική μεθοδολογία.

Οι τράπεζες μικροοργανισμών στέλνουν στους ενδιαφερόμενους καθαρές καλλιέργειες έναντι κάποιας αμοιβής για την ενίσχυση και λειτουργία της συλ-

## **6 Ενότητα I: Μικροβιακή Ανάπτυξη**

λογής καθώς και για το κόστος μεταφοράς. Για την παραγγελία κάποιου συγκεκριμένου στελέχους ενός μικροοργανισμού είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε και τον κωδικό του αριθμό, που λαμβάνεται από τους καταλόγους των τραπεζών. Ο κωδικός αυτός, χαρακτηρίζει συνήθως διαφορετικές φυσιολογικές καταστάσεις μέσα στο ίδιο είδος. Για παράδειγμα, ο μικροοργανισμός *Aspergillus niger* ATCC 10864 χαρακτηρίζεται, μεταξύ άλλων από την ικανότητά του να παράγει αιμολυτικά ένζυμα, ενώ ο μικροοργανισμός *Aspergillus niger* ATCC 13794 από την ικανότητά του να παράγει κιτρικό οξύ.

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 1.1), αναφέρονται οι κυριότερες συλλογές μικροοργανισμών σ' όλο τον κόσμο.

### **ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1**

<b>ΟΝΟΜΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ</b>	<b>ΧΩΡΑ</b>	<b>ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ</b>
American Type Culture Collection (ATCC)	Η.Π.Α	Βακτήρια, Μύκητες Άλγη, Φάγοι
Central Bureau voor Schimmelcultur (CBS)	Ολλανδία	Μύκητες και Ακτινομύκητες
Commonwealh Mycol. Institute (CMI)	Αγγλία	Μύκητες
Agiculure Res. Serv. CuL. Collection (NRRL)	Η.Π.Α	Βακτήρια, Μύκητες Ακτινομύκητες
National Coll. of Ind. Bacteria (NCIB)	Σκωτία	Βακτήρια
Institute Pasteur	Γαλλία	Βακτήρια, Μύκητες
National Coll. of Type CuLure (NCTC)	Αγγλία	Βακτήρια, Μύκητες Ακτινομύκητες
CuLure Collection	Αγγλία	Άλγη και Πρωτόζωα
Chr. Hansens Labor.	Δανία	Βακτήρια, Μύκητες

### **1.2.3 Τρόποι συντήρησης μικροβιακών στελεχών**

Η διατήρηση της σταθερής απόδοσης κατά την παραγωγή ενός προϊόντος αποτελεί μια απαραίτητη προϋπόθεση της βιοτεχνολογίας. Τα μικροβιακά στελέχη

πρέπει λοιπόν να διατηρούνται σε αυστηρά καθορισμένες συνθήκες. Πράγματι, κατά την διάρκεια της αποθήκευσής τους οι μικροοργανισμοί χάνουν μερικές από τις μεταβολικές τους λειτουργίες. Για παράδειγμα, αναφέρθηκε ότι κάποιο στέλεχος του μικροοργανισμού *Streptomyces griseus* που παράγει στρεπτομυκίνη, έχασε αυτή την ικανότητά του έπειτα από 58 συνεχείς ανακαλλιέργειες σε κάποιο συγκεκριμένο στερεό θρεπτικό υλικό.

Οι τεχνικές που επιτρέπουν την διατήρηση των μεταβολικών ιδιοτήτων των μικροοργανισμών είναι πολλές. Η βασική αρχή αυτών των τεχνικών είναι η διατήρηση των μικροοργανισμών σε συνθήκες όπου η μεταβολική τους δραστηριότητα να είναι ελάχιστη. Σε ένα τέτοιο σύστημα, η πιθανότητα μεταλλάξεων λόγω έντονου πολλαπλασιασμού είναι σχετικά περιορισμένη.

Οι σπουδαιότερες από τις τεχνικές αυτές είναι οι εξής:

### 1. Συνεχής ανακαλλιέργεια:

Η μέθοδος αυτή συνίσταται στη διαδοχική μεταφορά μιας ήδη αναπτυγμένης καλλιέργειας από βλαστητικές μορφές, σπόρια ή μυκήλιο σε φρέσκο θρεπτικό υλικό, σε τακτά χρονικά διαστήματα.

Ο χρόνος της κάθε μεταφοράς εξαρτάται από τη φύση του στελέχους και ποικίλλει από μερικές μέρες σε μερικούς μήνες ή ακόμη και χρόνια. Οι καλλιέργειες μπορεί να μεταφέρονται σε κεκλιμένο ágar, τρυβλία πετρί, ή θρεπτικό ζωμό.

Η φύλαξη γίνεται συνήθως στους 4°C έως 8°C. Για την αποφυγή αφυδάτωσης είναι σκόπιμο να καλύπτονται οι καλλιέργειες με αποστειρωμένο παραφινέλαιο ή να κλείνονται καλά με ελαστικά πώματα, φελλούς ή με βαμβάκι.

Με τη ψύξη ελαττώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών, ελαχιστοποιούνται οι αλλαγές στο pH και στο οξειδοαναγωγικό δυναμικό (REDOX).

Επίσης ελαττώνεται η πιθανότητα να υποστούν μεταλλάξεις τα κύτταρα. Παρ' όλα αυτά η μέθοδος αυτή δεν εξασφαλίζει γενετική σταθερότητα και σε ορισμένο χρόνο μπορεί να χαθούν ή να αλλοιωθούν σημαντικά βιοχημικά χαρακτηριστικά. Για παράδειγμα, ένας μικροοργανισμός που έχει επιλεγεί να παράγει υψηλές ποσότητες ενός αμινοξέος μπορεί με τις συνεχείς μεταφορές να χάσει σταδιακά την ικανότητά του να παράγει το αμινοξύ παρ' όλο που συνεχίζεται η πολλαπλασιαστική του ικανότητα. Μπορεί μάλιστα και η πολλαπλασιαστική του ικανότητα να αυξηθεί την ίδια στιγμή που χάνει την ικανότητα του για παραγωγή αυτού του αμινοξέος.

Άλλο μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι απαιτεί μεγάλο αριθμό θρεπτικών υλικών για τις ανακαλλιέργειες ιδίως για μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται δύσκολα.

## 2. Λυοφιλίωση (Freeze - Drying):

Η ανάπτυξη της λυοφιλίωσης τα τελευταία χρόνια υπήρξε ένα σημαντικό βήμα για τη διατήρηση των καλλιεργειών. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, μικροβιακά κύτταρα, σπόρια ή μερικές φορές τμήματα μυκηλίων αιωρούνται σ' ένα προστατευτικό κολλοειδές όπως αποβούτυρωμένο γάλα ή ορό αίματος και ψύχονται γρήγορα με τη βοήθεια ξηρού πάγου και αλκοόλης.

Στην συνέχεια, η καλλιέργεια αφυδατώνεται με εξάχνωση υπό κενό. Το παρασκεύασμα, σ' αυτή τη μορφή του, σφραγίζεται αεροστεγώς και φυλάσσεται σε θερμοκρασία από 5 ως 10°C. Σ' αυτές τις θερμοκρασίες ικανότητα ανάπτυξης παρατείνεται για ακόμα μεγαλύτερα διαστήματα. Έχει αποδειχθεί ότι λυοφιλιωμένες καλλιέργειες που διατηρήθηκαν επί 11 μήνες στους 4°C έχασαν την ικανότητα ανάπτυξής τους κατά 50% περίπου, ενώ αυτές που διατηρήθηκαν στους 22°C έχασαν αυτή την ικανότητα κατά 99%.

Στις συνθήκες λυοφιλίωσης οι μικροοργανισμοί αποκτούν μερικά από τα χαρακτηριστικά των βακτηριακών σπορίων, δηλαδή γίνονται περισσότερο ανθεκτικοί σε ακραία όρια θερμοκρασίας και ενεργότητας νερού ( $a_w$ ) καθώς και στην επίδραση ακτινοβολιών.

Ενώ με την μέθοδο της λυοφιλίωσης διατηρούνται πολλά από τα φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των μικροοργανισμών, δεν ισχύει το ίδιο και για την βιωσιμότητα τους: Το μεγαλύτερο μέρος των κυττάρων, μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, χάνει την ικανότητά τους για διπλασιασμό.

Για τη βελτίωση της τεχνικής της λυοφιλίωσης έχει πραγματοποιηθεί ένας μεγάλος αριθμός ερευνητικών εργασιών με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

## 3. Διατήρηση με ψύξη:

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, οι καλλιέργειες διατηρούνται σε ψυγεία που μπορούν να κατεβάσουν τη θερμοκρασία μέχρι και  $-75^{\circ}\text{C}$ . Μια μέθοδος ψύξης που εφαρμόζεται και έχει ορισμένα πλεονεκτήματα σε σχέση με τη λυοφιλίωση είναι η διατήρηση με ψύξη και αποθήκευση σε υγρό άζωτο ( $-165^{\circ}$  μέχρι  $-196^{\circ}\text{C}$ ). Η μέθοδος είναι άριστη για τη διατήρηση των περισσότερων μικροοργανισμών καθώς και μικροφυκών, πρωτόζωων ή και ιστών θηλαστικών.

Έχει αναφερθεί πως ορισμένοι τύποι μικροοργανισμών που δεν επιζούν με τη μέθοδο της λυοφιλίωσης, διατηρούν τη βιωσιμότητά τους για μεγάλο χρονικό διάστημα με ψύξη σε υγρό άζωτο. Για παράδειγμα, καλλιέργειες μυκήτων διατηρούνται στη ζωή και χωρίς καμιά αλλαγή τουλάχιστον για 5 χρόνια, σε υγρό άζωτο.

Οι καλλιέργειες στην περίπτωση του υγρού αζώτου όπως και στη λυοφιλίωση, κλείνονται ερμητικά σε γυάλινα μπουκαλάκια ή αμπούλες και έτσι προστατεύονται από επιμολύνσεις και άλλες αλλαγές από το περιβάλλον μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι στη περίπτωση μεταφοράς των καλλιεργειών χρειάζονται ειδικά μεταφορικά μέσα που θα εξασφαλίζουν συνεχείς και χαμηλές θερμοκρασίες, έτσι ώστε να αποφευχθούν οι ζημιές και οι αλλοιώσεις.

**Ο Βασίλης Σπηλιώτης** γεννήθηκε στον Πειραιά στις 25 Ιανουαρίου του 1956. Απεφοίτησε από την Ιωννίδιο Πρότυπο Σχολή το 1974. Την ίδια χρονιά πέρασε με πανελλήνιες εξετάσεις στο Βιολογικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Αθηνών και πήρε το πτυχίο του το 1979. Συνέχισε τις σπουδές του στο Παρίσι και το 1980 πήρε το μεταπτυχιακό δίπλωμα D.E.A στην Βιομηχανική Βιοχημεία Τροφίμων από το Πανεπιστήμιο Paris XI. Το 1983 υποστήριξε τη Διδακτορική του Διατριβή στο αντικείμενο Επιστήμες Τροφίμων και έλαβε τον τίτλο του Διδάκτορα από το Πανεπιστήμιο Paris VII με τον βαθμό αριστα.

Στην συνέχεια γύρισε στην Ελλάδα και υπηρέτησε την στρατιωτική του θητεία. Τα επόμενα 4 χρόνια εργάστηκε στην Βιομηχανία. Στην πολυεθνική Εταιρεία παραγωγής φαρμάκων SANDOZ HELLAS ένα χρόνο, σαν προϊστάμενος του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου. Στην ΕΘΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ δύο χρόνια, σαν προϊστάμενος του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου. Τέλος, ένα χρόνο στο ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ PASTEUR, σαν Διευθυντής Ποιοτικού Ελέγχου της Μονάδας Παραγωγής Εμβολίων.

Το 1989 εκλέχτηκε καθηγητής Εφαρμογών στο Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Αθήνας στην ειδικότητα Βιοτεχνολογία και Τεχνολογία Τροφίμων. Το 1991 εξελέγη επίκουρος Καθηγητής και από το 1993 είναι τακτικός Καθηγητής πρώτης βαθμίδας. Διετέλεσε για τρία χρόνια Προϊστάμενος του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, δέκα χρόνια Υπεύθυνος του Τομέα Τεχνολογικών μαθημάτων και είκοσι περίπου χρόνια Υπεύθυνος του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας.

Έχει συμμετάσχει σε 15 χρηματοδοτούμενα Ερευνητικά έργα από Εθνική Συμμετοχή, σε 2 Ευρωπαϊκά καθώς και σε 6 χρηματοδοτούμενες μελέτες του Ιδιωτικού Τομέα. Έχει δημοσιεύσει 17 επιστημονικά άρθρα σε έγκριτα Διεθνή Περιοδικά και το επιστημονικό του έργο έχει 127 αναφορές. Έχει συγγράψει 5 Βοηθητικά Εγχειρίδια για τους σπουδαστές του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Αθήνας και έχει επιμεληθεί την μετάφραση ενός βιβλίου Μικροβιολογίας Τροφίμων.

**ΔΙΣΙΓΜΑ  
ΕΚΔΟΣΕΙΣ**

email: [info@disigma.gr](mailto:info@disigma.gr) - [www.disigma.gr](http://www.disigma.gr)

Find us on:     

ISBN 978-960-9495-34-9

