



Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής
Πανεπιστήμιο Αιγαίου (Λήμνος)

Βιοχημεία Τροφίμων

Μέρος ΙΙΙ: Εφαρμοσμένη Βιοτεχνολογία & Βιομηχανικές Ζυμώσεις

Ακαδημαϊκό Έτος 2014 - 2015

Ενότητα 12^η
Τεχνολογία Ζυμώσεων



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Δημήτρης Π. Μακρής *PhD DIC*
Επικουρος Καθηγητής

Άδειες Χρήσης

Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό διατίθεται με τους όρους χρήσης Creative Commons (CC) - Αναφορά Δημιουργού - Μη Εμπορική Χρήση - Όχι Παράγωγα Έργα.

Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, διαγράμματα, κείμενα, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.

Το έργο «Ανοιχτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αιγαίου» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.

Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Μέσο ζύμωσης

Το μέσο ορίζεται ως η ουσία που περιβάλλει τα κύτταρα και επιτρέπει στους μικροοργανισμούς ν' αυξάνονται και να παράγουν προϊόντα. Ενώ τα διάφορα συστατικά του μέσου αποτελούν το υπόστρωμα, γενικά ως υπόστρωμα ορίζεται η πηγή άνθρακα ενός μέσου (π.χ. γλυκόζη).

Η παρασκευή ενός κατάλληλου μέσου είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία μιας ζυμωτικής διεργασίας. Ένα μέσο το οποίο χρησιμοποιείται για βιομηχανικές ζυμώσεις θα πρέπει να βασίζεται στα παρακάτω κριτήρια:

1. Μέγιστη απόδοση και συγκέντρωση προϊόντος ή βιομάζας ανά μονάδα μάζας υποστρώματος.
2. Ελάχιστη παραγωγή ανεπιθύμητων μεταβολιτών.
3. Σταθερή ποιότητα προϊόντος.
4. Ελάχιστα προβλήματα κατά την αποστείρωση και τη ζύμωση.

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Ένα μέσο που χρησιμοποιείται για ζύμωση μπορεί να οριστεί ως «καθορισμένο», «πολύπλοκο» ή «τεχνικό».

Το «καθορισμένο μέσο» αποτελείται μόνο από υποστρώματα, χημικά επακριβώς καθορισμένα. Σε εργαστηριακό ή πιλοτικό επίπεδο, όπου είναι αναγκαίο να τυποποιηθούν φυσικές, χημικές και φυσιολογικές παράμετροι, μόνο καθορισμένα μέσα μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

Το «πολύπλοκο μέσο» αποτελείται από υποστρώματα απροσδιόριστης σύστασης, όπως για παράδειγμα εκχυλίσματα ή υδρολύματα από απόβλητα, τα οποία είναι φθηνά υποστρώματα και χρησιμοποιούνται στη βιομηχανική παραγωγή.

Τα «τεχνικά μέσα» χρησιμοποιούνται σε βιομηχανική κλίμακα και είναι φθηνότερα. Συνήθως, αλλά όχι απαραίτητα, το κύριο συστατικό είναι ένα πολύπλοκο υπόστρωμα.

Οι πηγές των υποστρωμάτων μπορεί να είναι βιομηχανικά απόβλητα, τα οποία είναι συνήθως μίγματα με μεγάλο ποσοστό ανεπιθύμητων ουσιών και απαιτείται προεπεξεργασία πριν τη χρήση τους σε ζυμωτικές διεργασίες.

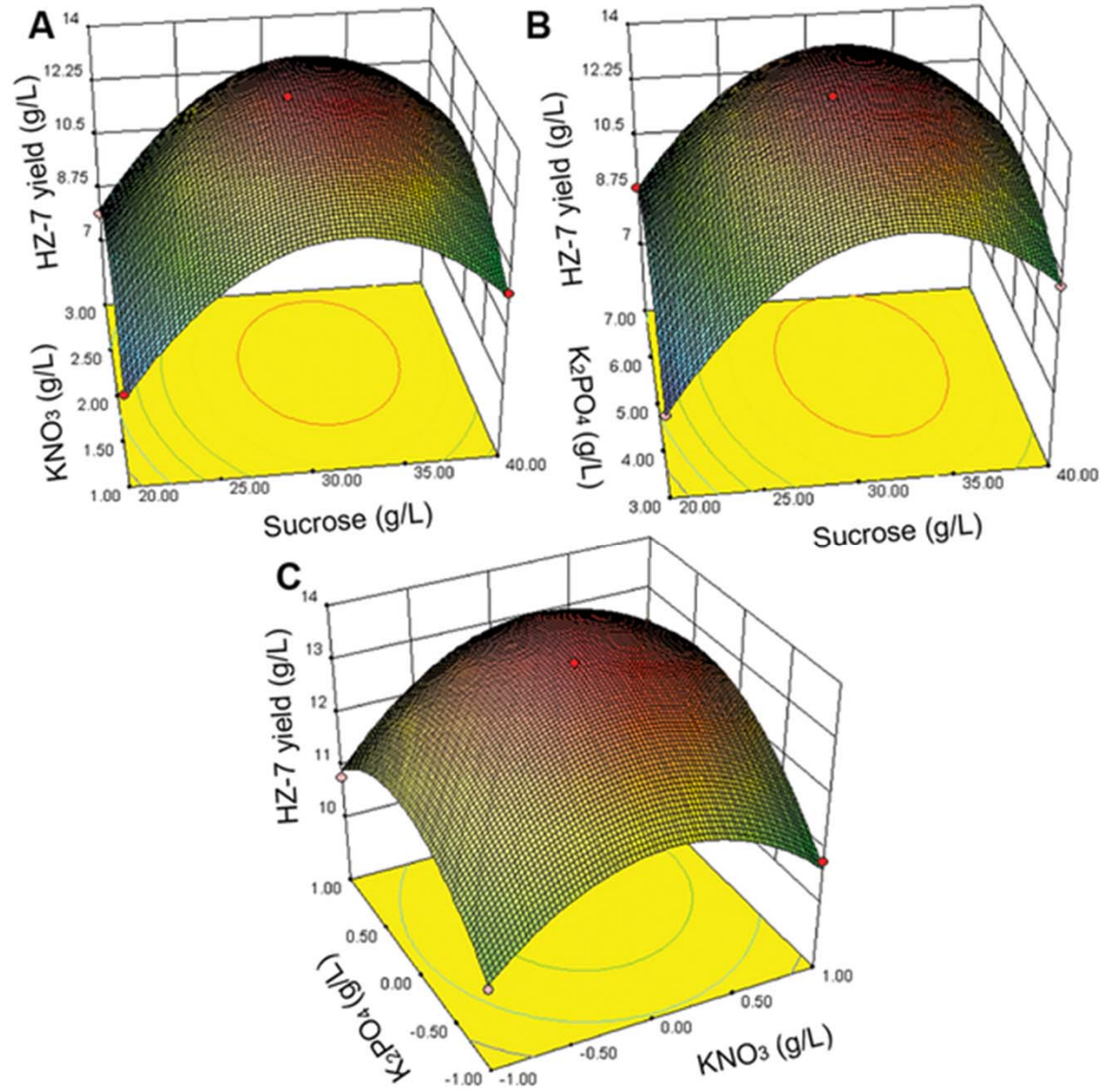
Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Βελτιστοποίηση μέσου ζύμωσης: Η βελτιστοποίηση πραγματοποιείται μέσω χρήσης πειραματικού σχεδιασμού, λαμβάνοντας υπόψη μεταβλητές (κυρίως συστατικά του μέσου) που μπορούν να έχουν σημαντική επιρροή στη διεργασία ζύμωσης.

Ο πειραματικός σχεδιασμός αποσκοπεί στον προσδιορισμό της βέλτιστης σύστασης του μέσου, ενώ ταυτόχρονα διασαφηνίζονται οι βέλτιστες παράμετροι της διεργασίας.

Ο πειραματικός σχεδιασμός γίνεται έτσι ώστε να ληφθούν αξιόπιστα πειραματικά δεδομένα με περιορισμένο κόστος, αριθμό πειραμάτων και χρόνο. Ένας σωστός πειραματικός σχεδιασμός είναι πιο σημαντικός από μια λεπτομερή στατιστική ανάλυση.

Ο περιορισμός της μελέτης μιας παραμέτρου τη φορά μπορεί να ξεπεραστεί λαμβάνοντας υπόψη όλες τις σημαντικές παραμέτρους συγκεντρωτικά, με εφαρμογή μεθοδολογίας αποκριτικής επιφάνειας (response surface methodology - RSM), έτσι ώστε να εκτιμηθεί η σχετική σημαντικότητα των μεταβλητών.



Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Συστατικά μέσου βιομηχανικής ζύμωσης: Στις βιομηχανικές διεργασίες, χρησιμοποιούνται τα φθηνότερα υποστρώματα, έτσι ώστε να παραμένει χαμηλό το κόστος παραγωγής.

Στα φθηνότερα υποστρώματα συμπεριλαμβάνονται:

- το κριθάρι
- η βύνη κριθαριού
- μελάσες σακχαροκάλαμου
- υπολείμματα επεξεργασίας αραβόσιτου (corn meal) και βάμβακος (cotton seed meal)
- αποξηραμένα υπολείμματα απόσταξης (dried distillers' solubles)
- υπολείμματα επεξεργασίας ιχθυρών (fish meal, solubles)
- υπολείμματα επεξεργασίας κρέατος και οστών (meat and bone meal)
- αλεύρι βρώμης
- πίτουρο και άλευρο ρυζιού
- υπολείμματα επεξεργασίας σόγιας και σίτου (soybean and wheat meal)
- σκόνη ορού γάλακτος (τυρόγαλου)

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Η σύσταση του μέσου θα πρέπει ν' αντικατοπτρίζει τις ανάγκες που είναι απαραίτητες για την κυτταρική ανάπτυξη και την παραγωγή προϊόντος. Ο λόγος άνθρακας-προς-άζωτο είναι γενικά ένας καλός δείκτης για τη μελέτη των βέλτιστων απαιτήσεων για κυτταρική ανάπτυξη και δημιουργία προϊόντος.

Γενικά, τα μέσα είναι υδατικά διαλύματα που περιέχουν θρεπτικά άλατα και διαλυμένο O_2 .

Το οικονομικό υπόβαθρο μια διεργασίας ζύμωσης παίζει σημαντικό ρόλο στο να καταστεί αυτή η διεργασία επιτυχημένη, γι' αυτό και η επαρκής μετατροπή του υποστρώματος σε προϊόν είναι το πιο κρίσιμο σημείο.

Στο παρόν στάδιο της προηγμένης βιοτεχνολογικής ανάπτυξης, αυτό εμπεριέχει τη γενετική μηχανική του μικροβιακού στελέχους, καθώς και μια πρακτική, εστιασμένη προσέγγιση στη βέλτιστη χρησιμοποίηση του υποστρώματος με τη βοήθεια μεταβολικής μηχανικής (metabolic engineering).

Nutritional sources used in fermentation media (91)

Carbon Source	Nitrogen Source		Inorganic Elements	Vitamins	Medium Additives
	Organic	Inorganic			
Carbohydrates, Alcohols, Carboxylic acids, Fats, Hydrocarbons,	Urea, Aminoacids, Purines, Pyrimidines, Complex	Nitrates, Nitrites, Ammonia, Molecular Nitrogen.	Phosphorus, Sulphur, Magnesium, Potassium, Calcium, Chlorine, Cobalt, Copper, Iron, Manganese, Molybdenum, Zinc.	Thiamine, Riboflavin, Pyridoxin, Biotin, Pantothenic acid, Niacin, Inositol, Choline.	Growth factors, Precursors, Detergents, Antifoaming agents, Anti-microbial agents.
Gaseous substrates.	sources such as CSL, dried yeast, protein hydrolysates.				

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Αποστείρωση: Η αποστείρωση είναι η διεργασία κατά την οποία μικροοργανισμοί είτε θανατώνονται είτε αποβάλλονται από υλικά ή εξοπλισμό. Η αποστείρωση είναι απαραίτητη για να εξασφαλιστεί:

- ότι μόνο ο επιθυμητός μικροοργανισμός θα διεξάγει τη ζύμωση
- ότι τα προϊόντα θα έχουν την προβλεπόμενη ποιότητα
- ότι το περιβάλλον είναι προστατευμένο από ανεπιθύμητη επιμόλυνση
- ότι θα προληφθεί η μικροβιακή αλλοίωση των προϊόντων

Οι τεχνικές αποστείρωσης που εφαρμόζονται σε μέσα ζύμωσης περιλαμβάνουν:

- αποστείρωση με υψηλή θερμοκρασία, με άμεση ή έμμεση θέρμανση με ατμό ή ηλεκτρικό μέσο. Είναι η πιο δημοφιλής και επαρκής τεχνική
- ακτινοβολήση με μικροκύματα, η οποία χρησιμοποιείται στις βιομηχανίες τροφίμων. Προκαλεί κυτταρικό θάνατο
- νέες τεχνικές, όπως π.χ. παλμοί υψηλής τάσης

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Αποστείρωση με θερμότητα

Η αποστείρωση ενός μέσου σ' ένα ζυμωτήρα μπορεί να γίνει με διαλείποντα τρόπο, περνώντας ατμό μέσα από την περιοχή μεταφοράς θερμότητας (π.χ. μανδύας) ή μέσω απευθείας ψεκασμού με ατμό ή με ηλεκτρικούς θερμαντήρες.

Η υψηλότερη θερμοκρασία που μπορεί να χρησιμοποιηθεί με διαλείποντα τρόπο για την αποστείρωση ενός μέσου είναι 121 °C. Η διαλείπουσα θερμική αποστείρωση περιγράφεται από κινητική 1^{ης} τάξεως:

$$N_t/N_0 = e^{-kt}$$

Όπου N_t είναι ο αριθμός των επιβιωσάντων μικροοργανισμών σε χρόνο t , N_0 ο αρχικός αριθμός των μικροοργανισμών, k είναι η ειδική ταχύτητα θανάτου και t ο χρόνος.

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Η παραπάνω εξίσωση μπορεί να διασκευαστεί ως εξής:

$$\ln(N_0/N_t) = kt$$

Η ταχύτητα αποστείρωσης (ταχύτητα αντίδρασης) αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας, εξαιτίας της αύξησης της ειδικής ταχύτητας θανάτου (σταθερά ταχύτητας της αντίδρασης), k . Η σχέση μεταξύ θερμοκρασίας (T) και της k μπορεί να εκφραστεί ως εξής:

$$k = Ae^{-E/RT}$$

Όπου A είναι η σταθερά Arrhenius, E η ενέργεια ενεργοποίησης, R η σταθερά των αερίων και T η απόλυτη θερμοκρασία. Ο συνδυασμός των δύο παραπάνω εξισώσεων δίνει:

$$\ln(N_0/N_t) = Ae^{-E/RT} t$$

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Ο όρος « $\ln(N_0/N_t)$ » ως ένα σχεδιαστικό κριτήριο για αποστείρωση και ονομάζεται παράγοντας Del (∇). Αυτός ο παράγοντας είναι ένα μέτρο της κλασματικής μείωσης ζώντων κυττάρων σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και χρόνο. Ισχύει δηλαδή:

$$\nabla = Ae^{-E/RT} t$$

Όπου t , ο χρόνος που απαιτείται για να επιτευχθεί μια συγκεκριμένη τιμή ∇ . Η παραπάνω εξίσωση μπορεί να διασκευαστεί ως εξής:

$$\ln(t) = E/RT + \ln(\nabla/A)$$

Από το διάγραμμα $\ln(t)$ vs $1/T$, μπορούν να προσδιοριστούν τα χαρακτηριστικά θερμικού θανάτου, δηλαδή η ενέργεια ενεργοποίησης (E) και η σταθερά Arrhenius (A).

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Ένας κύκλος διαλείπουσας αποστείρωσης αποτελείται από τους κύκλους θέρμανσης (heating), διεξαγωγής (holding) και ψύξης (cooling). Ο συνολικός παράγοντας D_{el} για την καταστροφή των κυττάρων κατά τη διάρκεια της αποστείρωσης έχει ως εξής:

$$\nabla_{\text{overall}} = \nabla_{\text{heating}} + \nabla_{\text{holding}} + \nabla_{\text{cooling}}$$

Λαμβάνοντας υπόψη τον παράγοντα D_{el} κατά τη διάρκεια των κύκλων θέρμανσης και ψύξης στο σχεδιασμό μιας διεργασίας αποστείρωσης, μπορεί να προσδιοριστεί ο ελάχιστος χρόνος διεξαγωγής.

Τα πλεονεκτήματα της διαλείπουσας αποστείρωσης είναι το χαμηλό κόστος εξοπλισμού, ο μικρός κίνδυνος επιμόλυνσης, εύκολος χειρονακτικός χειρισμός και καταλληλότητα για μέσα που περιέχουν υψηλό ποσοστό στερεών.

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 1. Ανιούσα Επεξεργασία (Upstream Processing)

Εμβολιασμός (*inoculation*): Η διεργασία του εμβολιασμού είναι η μεταφορά εμβολίου μέσα στο ζυμωτήρα. Σε βιομηχανική κλίμακα αυτό γίνεται με εφαρμογή θετικής πίεσης στον ζυμωτήρα που περιέχει το εμβόλιο και συνδέεται ασηπτικά με το ζυμωτήρα παραγωγής.

Η απόδοση μιας διεργασίας ζύμωσης εξαρτάται κατά πολύ από την φυσιολογική κατάσταση του εμβολίου. Είναι απαραίτητο να προσδιοριστεί πειραματικά σε εργαστηριακή κλίμακα ο χρόνος μεταφοράς του εμβολίου και να καθοριστούν οι συνθήκες ανάπτυξής του.

Η μεταφορά εμβολίου γίνεται συνήθως με κύτταρα που αναπτύσσονται βλαστικά. Έχει επίσης σημασία και η ηλικία της καλλιέργειας (π.χ. φάση λογαριθμικής ανάπτυξης, φάση μείωσης κτλ.).

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 2. Ζύμωση (Fermentation)

Διαλείπουσα ζύμωση (batch fermentation): Οι διεργασίες αυτού του τύπου ζύμωσης συμπεριλαμβάνουν μια αλληλουχία εργασιών, όπως η ανάπτυξη εμβολίου από εργαστηριακή καλλιέργεια, μέχρι τον εμβολιασμό του ζυμωτήρα παραγωγής.

Το εμβόλιο και ο ζυμωτήρας παραγωγής είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες στην ανάπτυξη μιας διεργασίας ζύμωσης. Η ανάπτυξη εμβολίου μπορεί να περιλαμβάνει πολλά στάδια, αλλά η παραγωγή λαμβάνει μέρος μόνο σ' έναν ζυμωτήρα.

Ο χρόνος που απαιτείται για μια διαλείπουσα ζύμωση κυμαίνεται από μερικές ώρες σε μερικές εβδομάδες, ανάλογα με το είδος της βιομετατροπής και τις συνθήκες που χρησιμοποιούνται. Ο ρυθμός μικροβιακής ανάπτυξης σε μια διαλείπουσα ζύμωση είναι μη-ελεγχόμενος και είναι υψηλότερος στην αρχή.

Η **παραγωγικότητα** μιας διαλείπουσας ζύμωσης υπολογίζεται από την τελική συγκέντρωση βιομάζας ή παραγόμενου προϊόντος, διαιρεμένη με το συνολικό χρόνο της διεργασίας, που περιλαμβάνει το χρόνο ζύμωσης και το χρόνο αλλαγής (εκκένωση, καθαρισμός, αποστείρωση, επαναπλήρωση).

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 2. Ζύμωση (Fermentation)

Συνεχής ζύμωση (*continuous fermentation*): Η συνεχής ζύμωση είναι ένα ανοιχτό σύστημα που διατηρεί τα κύτταρα σε μια κατάσταση ισορροπημένης ανάπτυξης, με συνεχή προσθήκη φρέσκου μέσου και συνεχή αφαίρεση ζυμωθέντος μέσου, με ακριβώς την ίδια ταχύτητα.

Ουσιαστικά, τα δύο λειτουργικά συστήματα συνεχούς ζύμωσης είναι τα chemostats και τα auxostats. Τα auxostats που χρησιμοποιούνται κοινώς είναι τα turbidostats, το pHauxostat και το nutristat.

Chemostat: Είναι η πλέον διαδεδομένη συσκευή για την μελέτη μικροοργανισμών υπό σταθερές περιβαλλοντικές συνθήκες. Είναι μια διεργασία συνεχούς ζύμωσης, η οποία πραγματοποιείται σε αντιδραστήρα συνεχούς έργου πλήρους ανάμιξης (Continuous Stirred Tank Reactor - CSTR).

Ο CSTR λειτουργεί με το να διατηρεί μια ταχύτητα ανάπτυξης, μέσω συνεχούς τροφοδοσίας ενός θρεπτικού συστατικού που καθορίζει την ανάπτυξη (growth limiting nutrient) και συνεχούς αφαίρεσης μέρους του μέσου με τον ίδιο ρυθμό, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται μια σταθερή κατάσταση (steady state).

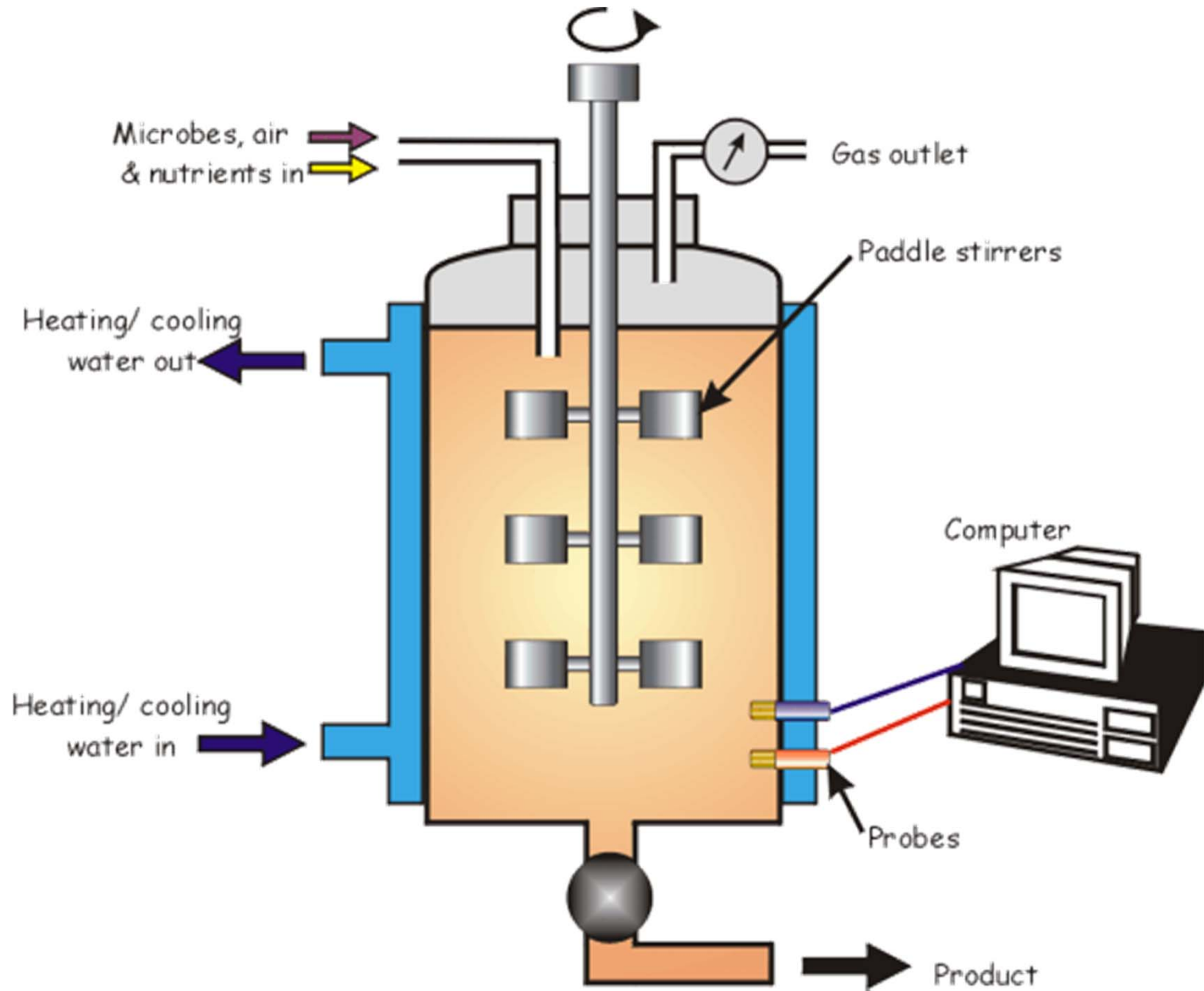
Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 2. Ζύμωση (Fermentation)

Το θρεπτικό συστατικό που καθορίζει την ανάπτυξη μπορεί να είναι ο άνθρακας, το άζωτο, ο φώσφορος ή οποιοδήποτε άλλο απαραίτητο θρεπτικό που επηρεάζει την ειδική ταχύτητα ανάπτυξης (specific growth rate).

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα του chemostat σε σχέση με τον ζυμωτήρα διαλείποντος έργου είναι ότι αλλάζοντας το ρυθμό τροφοδοσίας του θρεπτικού που καθορίζει την ανάπτυξη, μπορεί ν' αλλάξει η ταχύτητα ανάπτυξης.

Αυxostat: Είναι μια τεχνική συνεχούς καλλιέργειας, όπου ο ρυθμός αραίωσης ρυθμίζεται βάσει ενδείξεων της μεταβολικής δραστηριότητας της καλλιέργειας. Εν αντιθέσει με το chemostat που χρησιμοποιείται για χαμηλούς ή μέτριους ρυθμούς αραίωσης, το auxostat χρησιμοποιείται για υψηλούς ρυθμούς. Αυτό έχει σαν συνέπεια την καλλιέργεια μικροοργανισμών που αναπτύσσονται γρήγορα.

Στο pHauxostat, ο ρυθμός τροφοδοσίας καθορίζεται από μετρήσεις και έλεγχο του pH του μέσου ζύμωσης. Αυτό είναι εφαρμόσιμο μόνο αν υπάρχει αλλαγή στο pH ως αποτέλεσμα της κυτταρικής ανάπτυξης.



Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 2. Ζύμωση (Fermentation)

Παραγωγικότητα συνεχούς ζύμωσης: Σε μια διεργασία συνεχούς ζύμωσης δεν υπάρχει εκκένωση, καθαρισμός, αποστείρωση και επαναπλήρωση. Η παραγωγικότητα ενός συνεχούς ζυμωτήρα υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας την ταχύτητα αραιώσης (D) με τη συγκέντρωση της βιομάζας (X) ή του προϊόντος (P) στην έξοδο:

$$\text{Cell productivity} = DX \text{ (kg cells/m}^3\text{/h)}$$

$$\text{Product productivity} = DP \text{ (kg product/m}^3\text{/h)}$$

Οι πιο κοινές εμπορικές εφαρμογές συνεχούς καλλιέργειας περιλαμβάνουν την παραγωγή ζυμών αρτοποιίας, παραγωγή όξους, και συστήματα παραγωγής αιθανόλης με ζυμομόκητες.

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 2. Ζύμωση (Fermentation)

Ημι-διαλείπουσα ζύμωση (*fed batch fermentation*): Είναι μια τεχνική ενδιάμεση της διαλείπουσας και της συνεχούς ζύμωσης. Είναι νεότερη βιομηχανική τεχνική και αναπτύχθηκε για την παραγωγή προϊόντων που δεν σχετίζονται με τη μικροβιακή ανάπτυξη.

Αμφότερες η διαλείπουσα και η συνεχής ζύμωση δεν είναι κατάλληλες για την παραγωγή τέτοιου είδους προϊόντων. Για να επιτευχθεί αυτό χρειάζεται η ανάπτυξη υψηλού αριθμού μικροοργανισμών στην διαλείπουσα φάση (batch phase or growth phase).

Κατόπιν μεταβάλλεται ο μεταβολισμός έτσι ώστε να σταματήσει η κυτταρική ανάπτυξη, μέσω τροφοδοσίας με πρόδρομες ουσίες του προϊόντος, άνθρακα και οξυγόνο, σε ταχύτητα που επαρκεί για τις απαιτήσεις διατήρησης και σύνθεσης του προϊόντος.

Ουσιαστικά η ημι-διαλείπουσα ζύμωση αποτελείται από δύο φάσεις: τη φάση ανάπτυξης και τη φάση παραγωγής. Μετά την αρχική φάση ανάπτυξης, προστίθενται θρεπτικά συστατικά στον ζυμωτήρα, ενώ τα κύτταρα και το προϊόν παραμένουν μέσα στο ζυμωτήρα.

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 2. Ζύμωση (Fermentation)

Η ημι-διαλείπουσα ζύμωση είναι κατάλληλη για την παραγωγή ουσιών κατά τη διάρκεια αργής κυτταρικής ανάπτυξης. Πιο συγκεκριμένα, η ημι-διαλείπουσα ζύμωση είναι κατάλληλη όταν:

1. Το υπόστρωμα δρα ανασταλτικά και υπάρχει η ανάγκη διατήρησης χαμηλής συγκέντρωσης υποστρώματος για αποφυγή αναστολής της παραγωγής προϊόντος (κιτρικό οξύ, αμυλάση).
2. Η απόδοση σε προϊόν ή βιομάζα σε χαμηλή συγκέντρωση υποστρώματος είναι υψηλή (ζύμη αρτοποιίας, παραγωγή αντιβιοτικών).

Υπάρχουν δύο μεθοδολογικές προσεγγίσεις της ημι-διαλείπουσας ζύμωσης: η καθορισμένου όγκου και η κυμαινόμενου όγκου. Στην καθορισμένου όγκου, γίνεται τροφοδοσία του ζυμωτήρα με πυκνό διάλυμα θρεπτικών, έτσι ώστε η μεταβολή του όγκου να θεωρείται αμελητέα. Στην κυμαινόμενου όγκου, υπάρχει σημαντική αύξηση του όγκου του μέσου.

Στάδια Ζυμωτικής Διεργασίας 3. Κατιούσα Επεξεργασία (Downstream Processing)

Τα προϊόντα ζύμωσης συνήθως βρίσκονται σε πολύπλοκα μίγματα αραιών διαλυμάτων και πρέπει να συμπυκνωθούν και να καθαριστούν. Ο διαχωρισμός του προϊόντος από το μέσο ζύμωσης εξαρτάται από τη συσσώρευση του προϊόντος, η οποία μπορεί να είναι ενδοκυτταρική ή έξωκυτταρική.

Οι τυπικές κατιούσες δράσεις και τα επί μέρους στάδια που εμπλέκονται στην επεξεργασία του ζυμωμένου μέσου είναι:

1. Διαχωρισμός κυττάρων (καθίζηση, φυγοκέντρωση, διήθηση)
2. Κυτταρική διάρρηξη (ομογενοποίηση υψηλής πίεσης, ξηρή άλεση, λύση)
3. Διαύγαση του εκχυλίσματος (φυγοκέντρωση, εκχύλιση, διήθηση)
4. Εμπλουτισμός (καταβύθιση, προσρόφηση, υπερδιήθηση, κατανομή)
5. Τεχνικές υψηλής διαχωριστικής ικανότητας (χρωματογραφία, ηλεκτροφόρηση)
6. Συμπύκνωση (διήθηση, υπερδιήθηση, λυοφιλίωση, καταβύθιση)

Συστήματα Ζύμωσης στην Πράξη

Μικροβιακή καλλιέργεια

Οι μικροβιακοί πρωτογενείς μεταβολίτες που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων συμπεριλαμβάνουν:

1. Αλκοόλες (αιθανόλη)
2. Αμινοξέα (γλουταμινικό, λυσίνη θρεονίνη, φαινυλαλανίνη, τρυπτοφάνη)
3. Οργανικά οξέα (οξικό, προπιονικό, ηλεκτρικό, φουμαρικό, γαλακτικό)
4. Πολυόλες (γλυκερόλη, μαννιτόλη, ξυλιτόλη)
5. Πολυσακχαρίτες (ξανθάνη)
6. Σάκχαρα (φρουκτόζη, ριβόζη, σορβόζη)
7. Βιταμίνες (ριβοφλαβίνη, κυανοκοβαλαμίνη, βιοτίνη)

Μεγέθυνση Κλίμακας Ζυμωτικής Διεργασίας (Scale Up)

Η μεγέθυνση κλίμακας είναι κρίσιμη για την επιτυχή ανάπτυξη μιας ζυμωτικής διεργασίας. Πολλές ζυμώσεις μεγάλης κλίμακας παρουσιάζουν μειωμένη απόδοση εν συγκρίσει με τα εργαστηριακά αποτελέσματα.

Οι παραδοσιακές μέθοδοι μεγέθυνσης βασίζονται σε εμπειρικά κριτήρια (π.χ. σταθερός συντελεστής μεταφοράς μάζας, σταθερός χρόνος ανάδευσης κτλ.), αλλά τα εμπειρικά κριτήρια παρουσιάζουν χάσματα όταν αλλάζει το καθεστώς ελέγχου μιας διεργασίας.

Η μεγέθυνση κλίμακας μέσω της αύξησης του αριθμού των αντιδραστήρων αντί του μεγέθους είναι άλλη μια προσέγγιση, αλλά το κόστος επένδυσης και το εργατικό κόστος αυξάνουν γραμμικά.

Η λειτουργία πολλαπλών μικρών βιοαντιδραστήρων αντί ενός μεγαλύτερου μπορεί να πλεονεκτεί σε σχέση με την ευελιξία της διεργασίας, την ευκολία εκκίνησης, την ετοιμασία εμβολίου, τον καθαρισμό και την αποστείρωση.

Ασηψία Ζυμωτικής Διεργασίας (Asepsis)

Ασηψία στη βιοτεχνολογία σημαίνει απουσία ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Εντούτοις, υπάρχουν πολλές βιομηχανικές ζυμώσεις (αιθανόλη, ζύμη αρτοποιίας, όξος), όπου η ασηψία δεν αποτελεί πρόβλημα.

Οικονομικές μελέτες δείχνουν ότι μια πιθανότητα επιμόλυνσης 1 στις 100 είναι αποδεκτή για διαλείπουσες ζυμώσεις, λαμβάνοντας υπόψη ότι μια πιθανότητα στις 1000 συμπεριλαμβάνεται στους υπολογισμούς σχεδιασμού μιας διεργασίας αποστείρωσης.

Ζυμώσεις που αποσκοπούν στην παραγωγή βιομάζας είναι επιρρεπείς σε μικροβιακές επιμολύνσεις εξαιτίας της μεγαλύτερης διάρκειας της διεργασίας και του αργού ρυθμού ανάπτυξης.

Οι πηγές επιμόλυνσης σε μια ζυμωτική διεργασία μπορεί να είναι το εμβόλιο, το θρεπτικό μέσο, το σύστημα του βιοαντιδραστήρα, η μεταφορά υγρού / αέρα και οι μεταλλάξεις.

Ασηψία Ζυμωτικής Διεργασίας (Asepsis)

Οι ασηπτικές διαδικασίες που είναι απαραίτητες για την επίτευξη μιας ασηπτικής ζυμωτικής διεργασίας περιλαμβάνουν:

1. Ένα ευαίσθητο πρωτόκολλο αξιολόγησης των ασηπτικών συνθηκών.
2. Ανάπτυξη ενός πιστοποιημένου εργαστηριακού εμβολίου.
3. Επαρκής αποστείρωση του βιοαντιδραστήρα, του μέσου και του αέρα.
4. Ασηπτικές συνθήκες κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.
5. Περιορισμός του αφρισμού.
6. Τακτική και προληπτική συντήρηση βιοαντιδραστήρα.

Βιβλιογραφία

Raj A. E., Karanth N. G. (2006) Fermentation technology and bioreactor design. In "*Food Biotechnology*", 2nd edition, Shetty K., Paliyath G., Pometto A., Levin R.E. ed., CRC Taylor & Francis.