Κεφάλαιο 7: Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας

Ασκήσεις και λύσεις

Μεθοδολογία, 24 ερωτήσεις κλειστού τύπου, 22 επαναληπτικές ερωτήσεις θεωρίας, 7 ασκήσεις και ένα διαγώνισμα αυτοαξιολόγησης, όλα με αναλυτικές απαντήσεις.

1 Μεθοδολογία
2 Ερωτήσεις κλειστού τύπου
3 Ερωτήσεις θεωρίας
4 Ασκήσεις
5 Διαγώνισμα
6 Λύσεις

1 Μεθοδολογία

Στις ασκήσεις με καμπύλες ανάπτυξης αναγνώρισε πρώτα τη φάση κάθε τμήματος και μετά ψάξε τι άλλαξε στις συνθήκες. Στις ασκήσεις με αριθμούς φέρε πρώτα όλους τους χρόνους στην ίδια μονάδα.

Καμπύλες ανάπτυξης: τι δείχνει κάθε τμήμα

Τι βλέπω	Συμπέρασμα	Εξήγηση
Οριζόντιο τμήμα στην αρχή	**Λανθάνουσα φάση**	Οι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται στις νέες συνθήκες.
Απότομη άνοδος	**Εκθετική φάση**	Άριστες συνθήκες και άφθονα θρεπτικά συστατικά.
Οριζόντιο τμήμα μετά από άνοδο	**Στατική φάση**	Εξάντληση θρεπτικού συστατικού ή συσσώρευση τοξικών προϊόντων.
Σταδιακή πτώση στο τέλος	**Φάση θανάτου**	Ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται.
Απότομη πτώση στη μέση	**Αλλαγή συνθηκών**	Πολύ υψηλή θερμοκρασία, ακατάλληλο pH ή O_2 σε αναερόβιο μικροοργανισμό.
Νέα άνοδος μετά από πτώση	**Αποκατάσταση**	Όσα κύτταρα επέζησαν διαιρούνται ξανά, αν υπάρχουν θρεπτικά συστατικά.

Οξυγόνο: σε ποια κατηγορία ανήκει ο μικροοργανισμός

Τι βλέπω	Κατηγορία	Παράδειγμα
Αναπτύσσεται μόνο όταν υπάρχει O_2	**Υποχρεωτικά αερόβιος**	*Mycobacterium*
Αναπτύσσεται και χωρίς O_2, ταχύτερα με O_2	**Προαιρετικά αερόβιος**	Μύκητες της αρτοβιομηχανίας
Αναπτύσσεται μόνο χωρίς O_2 και μειώνεται όταν εισέλθει αέρας	**Υποχρεωτικά αναερόβιος**	*Clostridium*

Υπολογισμοί με τον χρόνο διπλασιασμού

1. Γράψε όλους τους χρόνους στην ίδια μονάδα, συνήθως σε λεπτά.
2. Αν δίνεται λανθάνουσα φάση, αφαίρεσε τη διάρκειά της από τον συνολικό χρόνο. Ο πληθυσμός σε αυτήν δεν αυξάνεται.
3. Βρες τον αριθμό των διπλασιασμών: $n = t / T$, όπου t ο χρόνος στην εκθετική φάση και T ο χρόνος διπλασιασμού.
4. Υπολόγισε τον τελικό πληθυσμό: $N = N_0 \times 2^n$.

Δυνάμεις του 2 που χρειάζονται συχνά: $2^1 = 2$, $2^2 = 4$, $2^3 = 8$, $2^4 = 16$, $2^5 = 32$, $2^6 = 64$, $2^7 = 128$, $2^8 = 256$.

2 Ερωτήσεις κλειστού τύπου

Σε κάθε ερώτηση πολλαπλής επιλογής σωστή είναι μόνο μία απάντηση. Οι απαντήσεις είναι στο τέλος.

Πολλαπλής επιλογής

1. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις είναι σωστή;

α) Στη στατική φάση ο πληθυσμός παραμένει σταθερός, επειδή οι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται στις νέες συνθήκες.
β) Η βιομάζα είναι το σύνολο των κυττάρων που υπάρχουν στον βιοαντιδραστήρα.
γ) Στη συνεχή καλλιέργεια οι μικροοργανισμοί περνούν και από τις τέσσερις φάσεις ανάπτυξης.
δ) Οι αυτότροφοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν υδατάνθρακες ως πηγή άνθρακα.

2. Δίνονται οι μικροοργανισμοί I. *Lactobacillus*, II. *Mycobacterium*, III. *Clostridium* και οι ιδιότητες 1. ανάπτυξη σε pH 4–5, 2. υποχρεωτικά αερόβιος, 3. υποχρεωτικά αναερόβιος, 4. προαιρετικά αερόβιος. Ποια αντιστοίχιση είναι σωστή;

α) I-2, II-4, III-1
β) I-1, II-3, III-2
γ) I-1, II-2, III-3
δ) I-4, II-2, III-3

3. Στη στατική φάση μιας κλειστής καλλιέργειας ο αριθμός των μικροοργανισμών:

α) αυξάνεται με ταχύ ρυθμό.
β) μειώνεται, επειδή η θερμοκρασία δεν είναι η άριστη.
γ) παραμένει σταθερός, επειδή εξαντλείται κάποιο θρεπτικό συστατικό ή συσσωρεύονται τοξικά προϊόντα.
δ) παραμένει σταθερός, επειδή οι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται στο νέο περιβάλλον.

4. Για το άγαρ δίνονται οι προτάσεις: 1. Προέρχεται από φύκη. 2. Είναι ρευστό σε θερμοκρασίες κάτω από 45 °C. 3. Χρησιμοποιείται για την παρασκευή στερεών θρεπτικών υλικών. Σωστές είναι:

α) μόνο η 1.
β) η 1 και η 2.
γ) η 2 και η 3.
δ) η 1 και η 3.

5. Οι μύκητες που χρησιμοποιούνται στην αρτοβιομηχανία είναι:

α) υποχρεωτικά αερόβιοι.
β) προαιρετικά αερόβιοι.
γ) υποχρεωτικά αναερόβιοι.
δ) αυτότροφοι.

6. **Ο εμβολιασμός είναι:**

α) η καταστροφή των μικροοργανισμών που υπάρχουν σε ένα θρεπτικό υλικό.
β) η είσοδος παθογόνων μικροοργανισμών σε ένα περιβάλλον.
γ) ο διαχωρισμός των κυττάρων από το υγρό θρεπτικό υλικό.
δ) η τεχνητή προσθήκη μικροοργανισμών σε ένα νέο περιβάλλον.

7. **Ο διαχωρισμός των στερεών από τα υγρά συστατικά του βιοαντιδραστήρα γίνεται με:**

α) διήθηση ή φυγοκέντρηση.
β) αποστείρωση.
γ) εμβολιασμό.
δ) επώαση σε κλίβανο.

8. **Σε μια συνεχή καλλιέργεια οι μικροοργανισμοί βρίσκονται διαρκώς σε:**

α) λανθάνουσα φάση.
β) στατική φάση.
γ) εκθετική φάση.
δ) φάση θανάτου.

9. **Ποια από τις παρακάτω προτάσεις είναι λανθασμένη;**

α) Ο όρος ζύμωση περιλαμβάνει και αερόβιες διεργασίες.
β) Τα βακτήρια του γένους *Mycobacterium* είναι προαιρετικά αερόβια.
γ) Η μελάσα χρησιμοποιείται ως πηγή άνθρακα στις βιομηχανικές καλλιέργειες.
δ) Η Βιοτεχνολογία, με την ευρεία έννοια, δεν είναι καινούργια επιστήμη.

10. **Ένα βακτήριο έχει χρόνο διπλασιασμού 30 λεπτά. Αν ξεκινήσουμε με 200 κύτταρα σε εκθετική φάση, μετά από 2 ώρες θα υπάρχουν:**

α) 800 κύτταρα.
β) 1.600 κύτταρα.
γ) 3.200 κύτταρα.
δ) 6.400 κύτταρα.

Σωστό ή Λάθος

1. Η Βιοτεχνολογία, με την ευρεία έννοια, είναι επιστήμη που εμφανίστηκε τον 20ό αιώνα.

2. Ο όρος ζύμωση αφορά την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό, ανεξάρτητα από το αν υπάρχει οξυγόνο.

3. Στις συνεχείς καλλιέργειες ο αριθμός των μικροοργανισμών παραμένει αμετάβλητος σε όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας.

4. Κατά τη λανθάνουσα φάση ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται.

5. Τα βακτήρια του γένους *Clostridium* αναπτύσσονται μόνο όταν δεν υπάρχει οξυγόνο.

6. Το άγαρ αποτελεί πηγή άνθρακα για τους μικροοργανισμούς της καλλιέργειας.

7. Οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν υδατάνθρακες ως πηγή άνθρακα.

8. Κάθε αποικία που αναπτύσσεται σε στερεό θρεπτικό υλικό προέρχεται από ένα αρχικό κύτταρο.

9. Τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* αναπτύσσονται σε pH 6–9.

10. Η βιομάζα είναι ένα από τα προϊόντα της ζύμωσης.

11. Στην κλειστή καλλιέργεια απομακρύνονται συνεχώς τα τοξικά προϊόντα του μεταβολισμού.

12. Ένα προϊόν που συντίθεται στη στατική φάση μπορεί να παραχθεί με συνεχή καλλιέργεια.

13. Οι αυτότροφοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν το CO_2 ως πηγή άνθρακα.

14. Η αποστείρωση των θρεπτικών υλικών γίνεται μετά τον εμβολιασμό.

Αντιστοίχιση

1. Να αντιστοιχίσετε κάθε φάση της στήλης I με μία περιγραφή της στήλης II. Μία περιγραφή περισσεύει.

1. Λανθάνουσα φάση	**Α.** Ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται.
2. Εκθετική φάση	**Β.** Οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό.
3. Στατική φάση	**Γ.** Οι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται στις νέες συνθήκες.
4. Φάση θανάτου	**Δ.** Έχει εξαντληθεί κάποιο θρεπτικό συστατικό ή έχουν συσσωρευτεί τοξικά προϊόντα.
	Ε. Προστίθεται συνεχώς νέο θρεπτικό υλικό.

Συμπλήρωση κενών

1. Το _____ είναι πολυσακχαρίτης που προέρχεται από φύκη και στερεοποιείται σε θερμοκρασίες κάτω από _____ °C.

2. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε pH _____ και σε θερμοκρασία _____ °C.

3. Η καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα γίνεται σε συσκευές που ονομάζονται _____.

4. Ως πηγή αζώτου οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν _____ ή _____ ιόντα.

5. Τα στερεά χωρίζονται από τα υγρά συστατικά του βιοαντιδραστήρα με _____ ή _____.

6. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι η _____ και τα προϊόντα των κυττάρων, όπως οι _____ και τα αντιβιοτικά.

7. Οι μικροοργανισμοί για τους οποίους το οξυγόνο είναι τοξικό ονομάζονται _____ _____.

---

3 Επαναληπτικές ερωτήσεις θεωρίας

Οι απαντήσεις είναι στο τέλος.

1. Πώς ορίζεται η Βιοτεχνολογία; Γιατί λέμε ότι, με την ευρεία έννοια, δεν είναι καινούργια επιστήμη;

2. Τι ονομάζουμε χρόνο διπλασιασμού ενός πληθυσμού μικροοργανισμών; Ποιοι παράγοντες τον επηρεάζουν (ονομαστικά);

3. Ποια θρεπτικά συστατικά χρειάζεται ένας μικροοργανισμός για να αναπτυχθεί; Ποια είναι η πηγή του καθενός;

4. Ποια είναι η διαφορά αυτότροφων και ετερότροφων μικροοργανισμών ως προς την πηγή άνθρακα;

5. Πώς επηρεάζει το pH την ανάπτυξη των μικροοργανισμών; Να αναφέρετε ένα παράδειγμα μικροοργανισμού που αναπτύσσεται σε όξινο περιβάλλον.

6. Σε ποιες κατηγορίες χωρίζονται οι μικροοργανισμοί ανάλογα με την ανάγκη τους για οξυγόνο; Να δώσετε ένα παράδειγμα για κάθε κατηγορία.

7. Πώς επηρεάζει η θερμοκρασία την ανάπτυξη των μικροοργανισμών;

8. Να γράψετε ένα χαρακτηριστικό για καθέναν από τους παρακάτω: *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *E. coli*, μύκητες της αρτοβιομηχανίας.

9. Να περιγράψετε πώς καλλιεργούνται οι μικροοργανισμοί σε στερεό θρεπτικό υλικό στο εργαστήριο.

10. Τι είναι το άγαρ; Ποια ιδιότητά του το κάνει κατάλληλο για την παρασκευή στερεών θρεπτικών υλικών;

11. Τι είναι ο εμβολιασμός και τι η αποστείρωση; Ποια από τις δύο διαδικασίες προηγείται και γιατί;

12. Να αναφέρετε με τη σειρά τα βήματα που ακολουθούνται για την παραγωγή ενός προϊόντος με βιομηχανική καλλιέργεια.

13. Τι εννοούμε σήμερα με τον όρο ζύμωση; Ποια είναι τα προϊόντα της;

14. Τι είναι η βιομάζα;

15. Τι είναι η κλειστή καλλιέργεια; Ποιες φάσεις ανάπτυξης εμφανίζει και τι συμβαίνει σε καθεμία;

16. Τι είναι η συνεχής καλλιέργεια; Γιατί τα κύτταρά της παραμένουν διαρκώς σε εκθετική φάση;

17. Να αναφέρετε τρεις διαφορές ανάμεσα στην κλειστή και στη συνεχή καλλιέργεια.

18. Ποια είναι η ομοιότητα και ποια η διαφορά ανάμεσα στη λανθάνουσα και στη στατική φάση;

19. Τι είναι η τελική κατεργασία; Με ποιους τρόπους χωρίζονται τα στερεά από τα υγρά συστατικά του βιοαντιδραστήρα;

20. Σε ποιες φάσεις μιας κλειστής καλλιέργειας παράγονται συνήθως τα χρήσιμα προϊόντα;

21. Γιατί οι μικροοργανισμοί διατηρούνται στους −80 °C πριν χρησιμοποιηθούν στη βιομηχανική καλλιέργεια;

22. Τι είναι ο βιοαντιδραστήρας και ποιες συνθήκες ρυθμίζονται σε αυτόν;

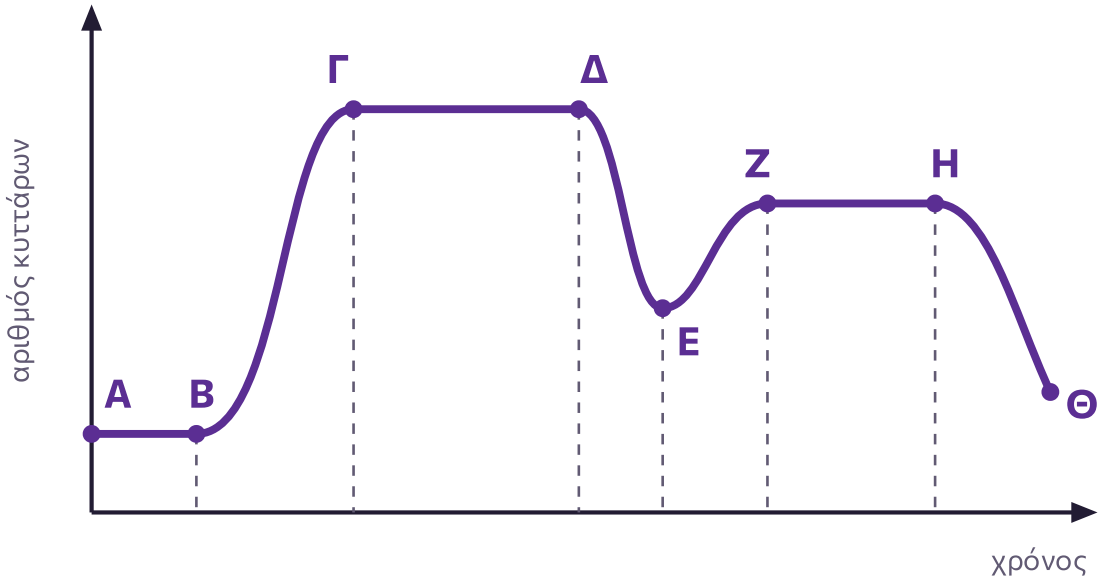
---

4 Ασκήσεις

Οι ασκήσεις 1 και 2 αφορούν καμπύλες ανάπτυξης, οι 3 και 4 υπολογισμούς με τον χρόνο διπλασιασμού

και οι 5 έως 7 τη βιομηχανική και την εργαστηριακή καλλιέργεια. Οι λύσεις είναι στο τέλος.

1. Η καμπύλη δείχνει πώς μεταβάλλεται ο αριθμός των κυττάρων του βακτηρίου *Escherichia coli* σε μια κλειστή καλλιέργεια που γίνεται στους 37 °C.



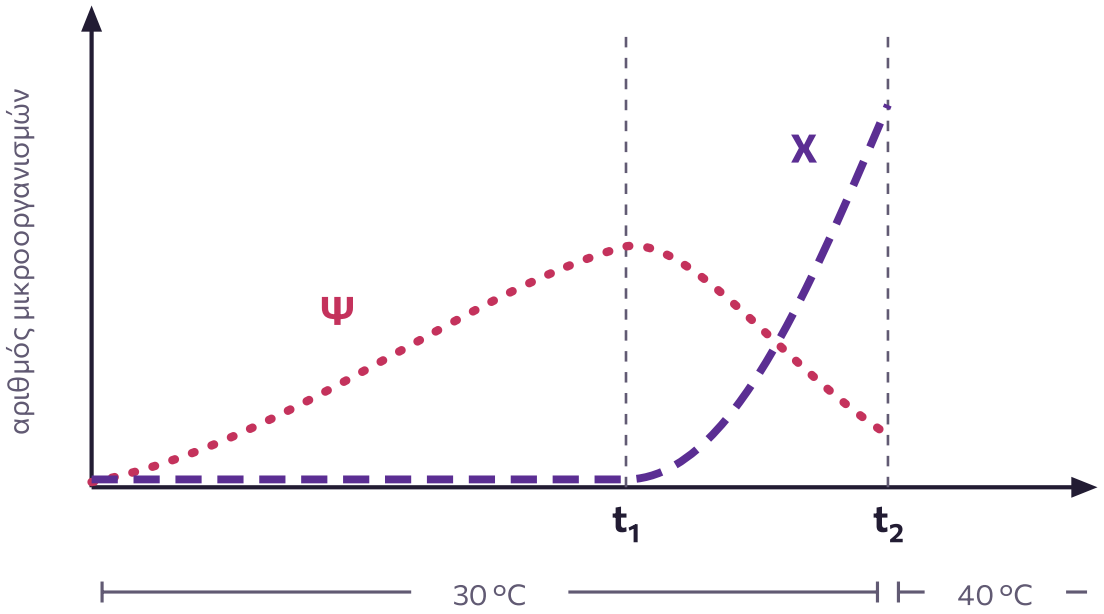
α) Πώς ονομάζεται καθεμία από τις φάσεις ΑΒ, ΒΓ και ΓΔ; Τι συμβαίνει στον πληθυσμό σε καθεμία και γιατί;

β) Τη χρονική στιγμή που αντιστοιχεί στο σημείο Δ, μια βλάβη στο σύστημα ψύξης ανεβάζει για λίγο τη θερμοκρασία του βιοαντιδραστήρα στους 75 °C. Η βλάβη διορθώνεται γρήγορα και η θερμοκρασία επιστρέφει στους 37 °C. Να εξηγήσετε τη μορφή της καμπύλης στα τμήματα ΔΕ, ΕΖ, ΖΗ και ΗΘ.

γ) Γιατί ο πληθυσμός στο τμήμα ΖΗ είναι μικρότερος από τον πληθυσμό στο τμήμα ΓΔ;

δ) Θα μπορούσε η καμπύλη αυτή να αφορά συνεχή καλλιέργεια;

2. Σε αποστειρωμένο θάλαμο με θερμοκρασία 30 °C τοποθετούνται δύο φιάλες με υγρό θρεπτικό υλικό, από τις οποίες έχει αφαιρεθεί ο αέρας. Η πρώτη εμβολιάζεται με τον μικροοργανισμό Χ, που έχει άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 30 °C. Η δεύτερη εμβολιάζεται με τον μικροοργανισμό Ψ, που έχει άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 40 °C. Τη χρονική στιγμή t_1 τα πώματα των φιαλών αφαιρούνται και οι καλλιέργειες έρχονται σε επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα.



Με διακεκομμένη γραμμή ο μικροοργανισμός Χ, με στικτή ο Ψ.

α) Πώς μεταβάλλεται ο πληθυσμός κάθε μικροοργανισμού πριν και μετά τη χρονική στιγμή t_1;

β) Σε ποια κατηγορία ανήκει κάθε μικροοργανισμός ως προς την ανάγκη του για οξυγόνο;

γ) Γιατί ο πληθυσμός του Ψ αυξάνεται με αργό ρυθμό πριν από τη χρονική στιγμή t_1;

δ) Τη χρονική στιγμή t_2 η θερμοκρασία του θαλάμου ρυθμίζεται στους 40 °C, ενώ οι φιάλες μένουν ανοιχτές. Τι αναμένεται να συμβεί στον πληθυσμό του Χ και τι στον πληθυσμό του Ψ;

3. Μια καλλιέργεια E. coli βρίσκεται σε εκθετική φάση και περιέχει 1.500 κύτταρα. Ο χρόνος διπλασιασμού στις συνθήκες της καλλιέργειας είναι 20 λεπτά.

α) Πόσα κύτταρα θα υπάρχουν μετά από 1 ώρα και 40 λεπτά;

β) Σε πόσο χρόνο από την αρχή ο πληθυσμός θα φτάσει τα 96.000 κύτταρα;

γ) Αν η καλλιέργεια είναι κλειστή, γιατί ο πληθυσμός δεν μπορεί να συνεχίσει να διπλασιάζεται επ' αόριστον;

4. Ένα υγρό θρεπτικό υλικό εμβολιάζεται με 400 βακτήρια. Η λανθάνουσα φάση διαρκεί 40 λεπτά και στη συνέχεια τα βακτήρια διπλασιάζονται κάθε 25 λεπτά.

α) Πόσα βακτήρια υπάρχουν 2 ώρες και 20 λεπτά μετά τον εμβολιασμό;

β) Πόσα θα υπήρχαν την ίδια στιγμή, αν η θερμοκρασία δεν ήταν η άριστη και ο χρόνος διπλασιασμού ήταν 50 λεπτά;

5. Μια εταιρεία θέλει να παραγάγει δύο προϊόντα με τη βοήθεια μικροοργανισμών. Το προϊόν Π_1 είναι ένα αντιβιοτικό που συντίθεται κυρίως στη στατική φάση. Το προϊόν Π_2 είναι μια πρωτεΐνη που συντίθεται στην εκθετική φάση.

   α) Ποιον τύπο καλλιέργειας θα προτείνατε για κάθε προϊόν και γιατί;

   β) Το Π_2 εκκρίνεται από τα κύτταρα στο θρεπτικό υλικό. Σε ποια συστατικά του βιοαντιδραστήρα θα αναζητηθεί και πώς γίνεται ο διαχωρισμός τους;

6. Τρεις βιοαντιδραστήρες λειτουργούν στους 37 °C. Στον βιοαντιδραστήρα 1 το pH είναι 7 και υπάρχει συνεχής παροχή αέρα. Στον βιοαντιδραστήρα 2 το pH είναι 7 και δεν υπάρχει οξυγόνο. Στον βιοαντιδραστήρα 3 το pH είναι 4,5 και δεν υπάρχει οξυγόνο. Σε καθέναν αναπτύσσεται ένας από τους μικροοργανισμούς *Lactobacillus*, *Mycobacterium* και *Clostridium*.

   α) Ποιος μικροοργανισμός αναπτύσσεται σε κάθε βιοαντιδραστήρα;

   β) Τι θα συμβεί στον πληθυσμό του βιοαντιδραστήρα 2, αν από διαρροή εισέλθει αέρας;

7. Ποσότητα 0,1 mL από ένα αραιό διάλυμα βακτηρίων απλώνεται σε τρυβλίο Petri με θρεπτικό άγαρ. Μετά από επώαση 24 ωρών σε κλίβανο μετρώνται 85 αποικίες.

   α) Πόσα βακτήρια υπήρχαν στα 0,1 mL που απλώθηκαν; Πόσα αντιστοιχούν σε 1 mL του διαλύματος;

   β) Γιατί τα βακτήρια δεν ήταν ορατά αμέσως μετά το άπλωμα, ενώ οι αποικίες είναι;

   γ) Γιατί το θρεπτικό υλικό και το τρυβλίο πρέπει να έχουν αποστειρωθεί πριν από το πείραμα;

---

5 Διαγώνισμα αυτοαξιολόγησης

Σύνολο 40 μονάδες. Προτεινόμενος χρόνος: 45 λεπτά. Οι απαντήσεις είναι στο τέλος.

1. **5 μονάδες** Να χαρακτηρίσετε τις παρακάτω προτάσεις ως σωστές (Σ) ή λανθασμένες (Λ):
   i. Η πενικιλίνη παράγεται από μύκητα.
   ii. Στην εκθετική φάση οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό.
   iii. Το υγρό θρεπτικό υλικό περιέχει άγαρ.
   iv. Η μελάσα χρησιμοποιείται ως πηγή αζώτου.
   v. Στη συνεχή καλλιέργεια απομακρύνονται διαρκώς νεκρά κύτταρα και άχρηστα προϊόντα.

2. 4 μονάδες Να αντιστοιχίσετε κάθε μικροοργανισμό της στήλης Ι με ένα χαρακτηριστικό της στήλης ΙΙ. Ένα στοιχείο της στήλης ΙΙ περισσεύει.

1. *E. coli*	**Α.** Υποχρεωτικά αερόβιο
2. *Lactobacillus*	**Β.** Ανάπτυξη σε pH 4–5
3. *Clostridium*	**Γ.** Άριστη θερμοκρασία πάνω από 45 °C
4. *Mycobacterium*	**Δ.** Άριστη θερμοκρασία 37 °C
	Ε. Υποχρεωτικά αναερόβιο

3. 6 μονάδες Ποια θρεπτικά συστατικά περιέχει ένα θρεπτικό υλικό; Γιατί το θρεπτικό υλικό αποστειρώνεται πριν από τον εμβολιασμό;

4. 6 μονάδες Να γράψετε τρεις διαφορές ανάμεσα στην κλειστή και στη συνεχή καλλιέργεια.

5. 7 μονάδες Ένα υγρό θρεπτικό υλικό εμβολιάζεται με 250 βακτήρια. Η λανθάνουσα φάση διαρκεί 1 ώρα και ο χρόνος διπλασιασμού στην εκθετική φάση είναι 30 λεπτά. Πόσα βακτήρια υπάρχουν 3 ώρες και 30 λεπτά μετά τον εμβολιασμό;

6. 12 μονάδες Ένας μύκητας καλλιεργείται σε υγρό θρεπτικό υλικό χωρίς οξυγόνο και ο πληθυσμός του διπλασιάζεται κάθε 90 λεπτά. Όταν στην καλλιέργεια διοχετευθεί αέρας, ο χρόνος διπλασιασμού γίνεται 45 λεπτά.

α) Σε ποια κατηγορία ανήκει ο μύκητας ως προς την ανάγκη του για οξυγόνο; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

β) Αν ξεκινήσουμε με 1.000 κύτταρα σε εκθετική φάση, πόσα θα υπάρχουν μετά από 3 ώρες χωρίς οξυγόνο και πόσα μετά από 3 ώρες με οξυγόνο;

γ) Τι θα συνέβαινε αν στη θέση του μύκητα υπήρχε βακτήριο του γένους *Clostridium* και διοχετευόταν αέρας;

6 Λύσεις

Ερωτήσεις κλειστού τύπου

Πολλαπλής επιλογής

1. **β)** Η προσαρμογή αφορά τη λανθάνουσα φάση, η συνεχής καλλιέργεια μένει στην εκθετική και οι αυτότροφοι χρησιμοποιούν CO_2.
2. **γ)** Προαιρετικά αερόβιοι (ιδιότητα 4) είναι οι μύκητες της αρτοβιομηχανίας, που δεν υπάρχουν στη λίστα.
3. **γ)** Η τελευταία επιλογή περιγράφει τη λανθάνουσα φάση.
4. **δ)** Το άγαρ είναι ρευστό πάνω από τους 45 °C και στερεοποιείται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες.
5. **β)** Αναπτύσσονται και χωρίς O_2, αλλά ταχύτερα όταν υπάρχει.
6. **δ)** Η πρώτη επιλογή είναι η αποστείρωση και η δεύτερη η μόλυνση.
7. **α)** Είναι το πρώτο βήμα της τελικής κατεργασίας.
8. **γ)** Τα θρεπτικά συστατικά ανανεώνονται συνεχώς και τα άχρηστα προϊόντα απομακρύνονται.
9. **β)** Τα βακτήρια του γένους Mycobacterium είναι υποχρεωτικά αερόβια.
10. **γ)** 120 / 30 = 4 διπλασιασμοί, άρα 200 × 2^4 = 3.200 κύτταρα.

Σωστό ή Λάθος

1. **Λ** Ο άνθρωπος χρησιμοποιεί μικροοργανισμούς εδώ και χιλιάδες χρόνια.
2. **Σ** Παλαιότερα αφορούσε μόνο τις αναερόβιες διεργασίες.
3. **Λ** Οι μικροοργανισμοί βρίσκονται διαρκώς σε εκθετική φάση.
4. **Λ** Παραμένει σχεδόν σταθερός, επειδή οι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται.
5. **Σ** Είναι υποχρεωτικά αναερόβια.
6. **Λ** Χρησιμεύει μόνο για τη στερεοποίηση του θρεπτικού υλικού.
7. **Σ** Οι αυτότροφοι χρησιμοποιούν CO_2.
8. **Σ** Γι’ αυτό το στερεό θρεπτικό υλικό χρησιμεύει στην απομόνωση μικροοργανισμών.
9. **Λ** Αναπτύσσονται σε pH 4–5.
10. **Σ** Το άλλο είναι τα προϊόντα των κυττάρων, π.χ. πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.
11. **Λ** Αυτό συμβαίνει στη συνεχή καλλιέργεια.
12. **Λ** Στη συνεχή καλλιέργεια τα κύτταρα δεν φτάνουν ποτέ στη στατική φάση.
13. **Σ** Οι ετερότροφοι χρησιμοποιούν υδατάνθρακες.
14. **Λ** Γίνεται πριν, αλλιώς θα καταστρεφόταν και ο μικροοργανισμός που καλλιεργούμε.

Αντιστοίχιση

1 – Γ · 2 – Β · 3 – Δ · 4 – Α. Περισσεύει το Ε, που περιγράφει τη συνεχή καλλιέργεια.

Συμπλήρωση κενών

1. άγαρ, 45
2. 6–9, 20–45
3. βιοαντιδραστήρες (ζυμωτήρες)
4. αμμωνιακά, νιτρικά
5. διήθηση, φυγοκέντρηση
6. βιομάζα, πρωτεΐνες
7. υποχρεωτικά αναερόβιοι

Ερωτήσεις θεωρίας

1. Είναι η **χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου**. Συνδυάζει επιστήμη και τεχνολογία, με στόχο την εφαρμογή των γνώσεων που έχουν αποκτηθεί από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών.

   Δεν είναι καινούργια, γιατί ο άνθρωπος χρησιμοποιεί μικροοργανισμούς εδώ και χιλιάδες χρόνια για να παρασκευάζει ψωμί, κρασί, μπίρα, γιαούρτι και τυρί.

2. Είναι ο χρόνος που χρειάζεται για να **διπλασιαστεί ο αριθμός των κυττάρων** του πληθυσμού.

   Εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το pH, το οξυγόνο και τη θερμοκρασία.

3. - **Άνθρακας:** CO_2 για τους αυτότροφους, υδατάνθρακες για τους ετερότροφους.
   - **Άζωτο:** αμμωνιακά ή νιτρικά ιόντα.
   - **Μεταλλικά ιόντα:** απαραίτητα για τις χημικές αντιδράσεις του κυττάρου και ως συστατικά διάφορων μορίων.
   - **Νερό.**

4. Οι **αυτότροφοι** χρησιμοποιούν το CO_2, ενώ οι **ετερότροφοι** οργανικές ενώσεις, κυρίως υδατάνθρακες.

5. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε **pH 6–9**.

   Τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* αναπτύσσονται σε pH 4–5.

6. - **Υποχρεωτικά αερόβιοι:** χρειάζονται υψηλή συγκέντρωση O_2, π.χ. *Mycobacterium*.
   - **Προαιρετικά αερόβιοι:** αναπτύσσονται και χωρίς O_2, αλλά ταχύτερα παρουσία του, π.χ. οι μύκητες της αρτοβιομηχανίας.
   - **Υποχρεωτικά αναερόβιοι:** το O_2 είναι τοξικό γι' αυτούς, π.χ. *Clostridium*.

7. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται άριστα στους **20–45 °C**. Η *E. coli*, για παράδειγμα, στους 37 °C.

   Υπάρχουν όμως και είδη με άριστη θερμοκρασία πάνω από 45 °C, όπως τα βακτήρια των θερμών πηγών, ή κάτω από 20 °C.

8. - *Clostridium*: υποχρεωτικά αναερόβιο.
   - *Lactobacillus*: αναπτύσσεται σε pH 4–5.
   - *Mycobacterium*: υποχρεωτικά αερόβιο.
   - *E. coli*: άριστη θερμοκρασία 37 °C, χρόνος διπλασιασμού περίπου 20 λεπτά.
   - Μύκητες της αρτοβιομηχανίας: προαιρετικά αερόβιοι.

9. Το θρεπτικό υλικό, που περιέχει άγαρ, και το τρυβλίο αποστειρώνονται. Διάλυμα με τα κύτταρα απλώνεται στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού (εμβολιασμός). Το τρυβλίο επωάζεται σε κλίβανο για 12 έως 76 ώρες.

   Κάθε κύτταρο διαιρείται επί τόπου και σχηματίζει μια **αποικία**, ορατή με γυμνό οφθαλμό.

10. Είναι **πολυσακχαρίτης που προέρχεται από φύκη**.

    Είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45 °C και στερεοποιείται σε χαμηλότερες. Έτσι αναμειγνύεται ζεστό με το υγρό θρεπτικό υλικό και το στερεοποιεί καθώς κρυώνει.

11. **Εμβολιασμός** είναι η τεχνητή προσθήκη μικροοργανισμών σε ένα νέο περιβάλλον. **Αποστείρωση** είναι η καταστροφή όλων των μικροοργανισμών που υπάρχουν στα θρεπτικά υλικά και στις συσκευές.

    Προηγείται η αποστείρωση, ώστε στο θρεπτικό υλικό να αναπτυχθεί μόνο ο μικροοργανισμός με τον οποίο θα εμβολιαστεί.

12. 1. Αποστείρωση των υλικών.
    2. Επιλογή και απομόνωση του κατάλληλου μικροοργανισμού.
    3. Εμβολιασμός σε θρεπτικό υλικό (εργαστηριακή καλλιέργεια).
    4. Επώαση σε κλίβανο για 12 έως 76 ώρες.
    5. Αδρανοποίηση σε κατάψυξη, στους −80 °C.
    6. Εμβολιασμός στο υγρό θρεπτικό υλικό του βιοαντιδραστήρα και κλειστή ή συνεχής καλλιέργεια.
    7. Διαχωρισμός στερεών και υγρών συστατικών με διήθηση ή φυγοκέντρηση.
    8. Απομόνωση και καθαρισμός του προϊόντος.
    9. Συσκευασία, αποθήκευση και διανομή.

13. Τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε **υγρό θρεπτικό υλικό**, κάτω από οποιεσδήποτε συνθήκες.

    Προϊόντα της είναι τα ίδια τα κύτταρα (βιομάζα) και τα προϊόντα των κυττάρων, π.χ. πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.

14. Τα κύτταρα, π.χ. βακτήρια, που υπάρχουν μέσα στον βιοαντιδραστήρα.

15. Είναι τύπος ζύμωσης κατά τον οποίο στον βιοαντιδραστήρα τοποθετείται ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, που εμβολιάζεται με αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών.
    - **Λανθάνουσα:** ο πληθυσμός μένει σχεδόν σταθερός, γιατί οι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται.
    - **Εκθετική:** διαιρούνται με ταχύ ρυθμό.
    - **Στατική:** ο πληθυσμός δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης θρεπτικού συστατικού ή συσσώρευσης τοξικών προϊόντων.
    - **Θανάτου:** ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται.

16. Είναι τύπος ζύμωσης κατά τον οποίο οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά, ενώ ταυτόχρονα απομακρύνονται κύτταρα και άχρηστα προϊόντα.

    Επειδή τα θρεπτικά συστατικά δεν εξαντλούνται και τα τοξικά προϊόντα δεν συσσωρεύονται, δεν υπάρχει λόγος να σταματήσει η ανάπτυξη.

17. - Η κλειστή έχει τέσσερις φάσεις, η συνεχής μόνο λανθάνουσα και εκθετική.
    - Στην κλειστή δεν επεμβαίνουμε μετά τον εμβολιασμό, ενώ στη συνεχή προσθέτουμε συνεχώς θρεπτικό υλικό.

- Στην κλειστή τα τοξικά προϊόντα δεν απομακρύνονται, ενώ στη συνεχή απομακρύνονται διαρκώς.

18. **Ομοιότητα:** και στις δύο ο πληθυσμός παραμένει σχεδόν σταθερός.

    Διαφορά: στη λανθάνουσα οι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται στις νέες συνθήκες, ενώ στη στατική έχει εξαντληθεί κάποιο θρεπτικό συστατικό ή έχουν συσσωρευτεί τοξικά προϊόντα.

19. Είναι οι διαδικασίες με τις οποίες, μετά τη ζύμωση, το προϊόν διαχωρίζεται, απομονώνεται και καθαρίζεται.

    Τα στερεά χωρίζονται από τα υγρά συστατικά με **διήθηση** ή **φυγοκέντρηση**.

20. Στην **εκθετική** και στη **στατική** φάση.

21. Στη θερμοκρασία αυτή αδρανοποιούνται και διατηρούνται αναλλοίωτοι για μεγάλο χρονικό διάστημα. Έτσι υπάρχει πάντα διαθέσιμη αρχική καλλιέργεια για τον εμβολιασμό του βιοαντιδραστήρα.

22. Είναι συσκευή μέσα στην οποία γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα.

    Ρυθμίζονται η θερμοκρασία, το pH και η συγκέντρωση του O_2.

Ασκήσεις

1. **α) ΑΒ: λανθάνουσα φάση.** Ο πληθυσμός παραμένει σχεδόν σταθερός, γιατί τα βακτήρια προσαρμόζονται στις νέες συνθήκες. **ΒΓ: εκθετική φάση.** Τα βακτήρια διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, γιατί οι συνθήκες είναι άριστες και τα θρεπτικά συστατικά άφθονα. **ΓΔ: στατική φάση.** Ο πληθυσμός δεν αυξάνεται, γιατί έχει εξαντληθεί κάποιο θρεπτικό συστατικό ή έχουν συσσωρευτεί τοξικά προϊόντα.

   β) ΔΕ: οι 75 °C απέχουν πολύ από την άριστη θερμοκρασία της E. coli (37 °C), οπότε μεγάλο μέρος των κυττάρων πεθαίνει. **ΕΖ:** η θερμοκρασία έχει επανέλθει. Τα κύτταρα που επέζησαν είναι λίγα, οπότε τα θρεπτικά συστατικά που έχουν απομείνει επαρκούν γι' αυτά και ο πληθυσμός αυξάνεται ξανά. **ΖΗ:** νέα στατική φάση. **ΗΘ:** φάση θανάτου.

   γ) Όταν ξεκινά η δεύτερη αύξηση, ένα μέρος των θρεπτικών συστατικών έχει ήδη καταναλωθεί και στο θρεπτικό υλικό υπάρχουν ήδη τοξικά προϊόντα. Το υλικό μπορεί επομένως να συντηρήσει μικρότερο πληθυσμό από ό,τι την πρώτη φορά.

   δ) Όχι. Στη συνεχή καλλιέργεια τα κύτταρα παραμένουν σε εκθετική φάση. Δεν εμφανίζονται στατική φάση και φάση θανάτου.

2. **α)** Πριν από τη στιγμή t_1 ο πληθυσμός του Ψ αυξάνεται αργά, ενώ ο Χ δεν αναπτύσσεται. Μετά τη στιγμή t_1 ο πληθυσμός του Ψ μειώνεται, ενώ του Χ αυξάνεται γρήγορα.

   β) Ο Χ είναι **υποχρεωτικά αερόβιος**: δεν αναπτύσσεται όσο λείπει το οξυγόνο και αρχίζει να αναπτύσσεται μόλις έρθει σε επαφή με τον αέρα. Ο Ψ είναι **υποχρεωτικά αναερόβιος**: αναπτύσσεται χωρίς οξυγόνο και ο πληθυσμός του μειώνεται μόλις εισέλθει αέρας, γιατί το οξυγόνο είναι τοξικό γι' αυτόν.

   γ) Η θερμοκρασία του θαλάμου (30 °C) διαφέρει από την άριστη θερμοκρασία του Ψ (40 °C), άρα ο χρόνος διπλασιασμού του είναι μεγαλύτερος.

   δ) Ο Χ απομακρύνεται από την άριστη θερμοκρασία του, οπότε ο ρυθμός ανάπτυξής του αναμένεται να μειωθεί. Ο Ψ βρίσκεται πλέον στην άριστη θερμοκρασία του, όμως το οξυγόνο εξακολουθεί να

υπάρχει και να είναι τοξικό γι' αυτόν, άρα ο πληθυσμός του θα συνεχίσει να μειώνεται.

3. **α)** 1 ώρα και 40 λεπτά = 100 λεπτά, άρα n = 100 / 20 = 5 διπλασιασμοί. N = 1.500 × 2^5 = 1.500 × 32 = **48.000 κύτταρα**.

   β) 96.000 / 1.500 = 64 = 2^6, άρα χρειάζονται 6 διπλασιασμοί, δηλαδή 6 × 20 = **120 λεπτά**.

   γ) Στην κλειστή καλλιέργεια δεν προστίθενται νέα θρεπτικά συστατικά και δεν απομακρύνονται τα τοξικά προϊόντα. Κάποια στιγμή η καλλιέργεια περνά στη στατική φάση και μετά στη φάση θανάτου.

4. **α)** 2 ώρες και 20 λεπτά = 140 λεπτά. Αφαιρούμε τη λανθάνουσα φάση: 140 − 40 = 100 λεπτά εκθετικής φάσης. n = 100 / 25 = 4 διπλασιασμοί. N = 400 × 2^4 = **6.400 βακτήρια**.

   β) n = 100 / 50 = 2 διπλασιασμοί. N = 400 × 2^2 = **1.600 βακτήρια**.

5. **α)** Για το Π_1 **κλειστή καλλιέργεια**, γιατί μόνο σε αυτήν τα κύτταρα φτάνουν στη στατική φάση. Για το Π_2 **συνεχή καλλιέργεια**, γιατί εκεί τα κύτταρα παραμένουν διαρκώς σε εκθετική φάση.

   β) Στα **υγρά συστατικά**. Ο διαχωρισμός των στερεών από τα υγρά συστατικά γίνεται με διήθηση ή φυγοκέντρηση.

6. **α)** Βιοαντιδραστήρας 1: *Mycobacterium*, γιατί είναι υποχρεωτικά αερόβιο. Βιοαντιδραστήρας 2: *Clostridium*, γιατί είναι υποχρεωτικά αναερόβιο και το pH 7 βρίσκεται στα όρια 6–9. Βιοαντιδραστήρας 3: *Lactobacillus*, γιατί αναπτύσσεται σε pH 4–5.

   β) Ο πληθυσμός του *Clostridium* θα μειωθεί, γιατί το οξυγόνο είναι τοξικό γι' αυτό.

7. **α)** Κάθε αποικία προέρχεται από ένα αρχικό κύτταρο, άρα στα 0,1 mL υπήρχαν **85 βακτήρια**. Σε 1 mL αντιστοιχούν 85 × 10 = **850 βακτήρια**.

   β) Τα μεμονωμένα κύτταρα έχουν μικροσκοπικό μέγεθος. Κάθε αποικία αποτελείται από πολύ μεγάλο αριθμό κυττάρων, γι' αυτό φαίνεται με γυμνό οφθαλμό.

   γ) Για να μην υπάρχουν άλλοι μικροοργανισμοί. Αν υπήρχαν, θα σχημάτιζαν και αυτοί αποικίες και η μέτρηση θα ήταν λανθασμένη.

Διαγώνισμα

1. i. Σ (*Penicillium*) · ii. Σ · iii. Λ, άγαρ περιέχει το στερεό · iv. Λ, είναι πηγή άνθρακα · v. Σ.
2. 1 – Δ · 2 – Β · 3 – Ε · 4 – Α. Περισσεύει το Γ.
3. Πηγή άνθρακα (CO_2 ή υδατάνθρακες), πηγή αζώτου (αμμωνιακά ή νιτρικά ιόντα), μεταλλικά ιόντα και νερό.

   Αποστειρώνεται για να καταστραφούν όλοι οι μικροοργανισμοί που περιέχει, ώστε να αναπτυχθεί μόνο εκείνος με τον οποίο θα εμβολιαστεί.

4. - Φάσεις: τέσσερις στην κλειστή, μόνο λανθάνουσα και εκθετική στη συνεχή.
   - Θρεπτικό υλικό: προστίθεται μία φορά στην κλειστή, συνεχώς στη συνεχή.
   - Τοξικά προϊόντα: δεν απομακρύνονται στην κλειστή, απομακρύνονται διαρκώς στη συνεχή.

   Δεκτή και η διαφορά στις φάσεις όπου παράγονται τα χρήσιμα προϊόντα.

5. Συνολικός χρόνος 210 λεπτά. Εκθετική φάση: 210 − 60 = 150 λεπτά. n = 150 / 30 = 5 διπλασιασμοί.

   N = 250 × 2^5 = 250 × 32 = **8.000 βακτήρια**.

6. **α)** Είναι **προαιρετικά αερόβιος**: αναπτύσσεται και χωρίς οξυγόνο, αλλά με ταχύτερο ρυθμό όταν υπάρχει.

   β) Χωρίς οξυγόνο: n = 180 / 90 = 2, άρα N = 1.000 × 2^2 = **4.000 κύτταρα**. Με οξυγόνο: n = 180 / 45 = 4, άρα N = 1.000 × 2^4 = **16.000 κύτταρα**.

   γ) Ο πληθυσμός θα μειωνόταν, γιατί το *Clostridium* είναι υποχρεωτικά αναερόβιο και το οξυγόνο είναι τοξικό γι' αυτό.