

**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ
ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΛΑΚΤΟΖΗΣ ΕΠΙΣΗΜΑΣΜΕΝΩΝ ΜΕ ^{14}C**



ΛΥΣΤΡΙΔΗΣ ΧΡΙΣΤΟΦΟΡΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2012

Στους γονείς μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ πολύ τον υπεύθυνο της πτυχιακής μου κ. Φαρμάκη Λάμπρο που μου εμπιστεύτηκε το θέμα αυτό και που η βοήθεια και καθοδήγησή του υπήρξε καταλυτική στην ολοκλήρωση της συγκεκριμένης εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους γονείς μου για την ηθική και οικονομική συμβολή και στήριξή τους στην ολοκλήρωση των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή.....	σελ.6
---------------	-------

Κεφάλαιο 1

1.1. Εισαγωγή.....	σελ.7
1.2. Τύποι ζυμώσεων.....	σελ.7
1.2.1. Η αλκοολική.....	σελ.7
1.2.2. Η γαλακτική.....	σελ.8
1.2.3. Η προπιονική.....	σελ.8
1.2.4. Η μυρμηκική.....	σελ.9
1.2.5. Η βουτυλο-βουτυρική.....	σελ.10
1.2.6. Η οξική.....	σελ.10
1.3. Ιστορία.....	σελ.11
1.4. Ζυμώσεις και τρόφιμα.....	σελ.12
1.4.1. Ζυμώσεις στα φυτικά προϊόντα.....	σελ.16

Κεφάλαιο 2

2.1. Η γαλακτική ζύμωση.....	σελ.18
2.1.1. Γενικά.....	σελ.18
2.1.2. Γαλακτική ζύμωση.....	σελ.20
2.1.3. Βακτήρια του γαλακτικού οξέος – η χρήση τους στα τρόφιμα.....	σελ.22
2.1.3.1. Γιαούρτι.....	σελ.24
2.1.3.2. Τυρί.....	σελ.24
2.2. Η αλκοολική ζύμωση.....	σελ.25
2.2.1. Γενικά.....	σελ.25
2.2.2. Αλκοολική ζύμωση.....	σελ.25
2.2.3. Αλκοολική ζύμωση στην αρτοποιεία.....	σελ.27
2.2.4. Αλκοολική ζύμωση στην οινοποιία.....	σελ.28
2.2.4.1. Παράγοντες που επιδρούν στην αλκοολική ζύμωση κατά την	

οινοποίηση.....σελ.29	
2.2.5. Σακχαρομύκητες.....σελ.32	

Κεφάλαιο 3

3.1. Εισαγωγή.....σελ.35	
3.2. Ιστορία.....σελ.36	
3.3. Εφαρμογές.....σελ.37	
3.3.1. Ραδιοχρονολόγηση.....σελ.41	
3.3.2. Ραδιοάνθρακας.....σελ.43	
3.3.3. Ισοτοπική ιχνηθέτηση.....σελ.44	
3.4. Ραδιενεργές Διασπάσεις.....σελ.45	
3.4.1. Διάσπαση με εκπομπή σωματιδίων α.....σελ.45	
3.4.2. Εκπομπή ακτίνων β (β^- ή β^+).....σελ.46	
3.4.3. Σειρές Διάσπασης.....σελ.48	
3.4.4. Ραδιενεργά Ορυκτά.....σελ.49	
3.4.5. Εκπομπή ακτίνων γ.....σελ.50	
3.4.6. Εξίσωση απλής ραδιενεργού διάσπασης.....σελ.53	

Κεφάλαιο 4

4.1. Περίληψη.....σελ.55	
4.2. Εισαγωγή.....σελ.55	
4.3. Μεθοδολογία.....σελ.57	
4.3.1. Συντήρηση και πολλαπλασιασμός κυττάρων <i>Saccharomyces cerevisiae</i>σελ.57	
4.4. Αποτελέσματα.....σελ.58	
4.5. Συμπεράσματα.....σελ.61	

Κεφάλαιο 5

5.1. Περίληψη.....σελ.63	
5.2. Εισαγωγή.....σελ.64	
5.3. Μεθοδολογία.....σελ.65	
5.3.1. Συντήρηση και πολλαπλασιασμός	

κυττάρων kefir.....	σελ.65
5.3.2. Παρασκευή απολιγνινοποιημένων κυτταρινούχων υλικών και ακινητοποίηση του kefir σε αυτά.....	σελ.66
5.3.3. Προσδιορισμός επισημασμένης λακτόζης.....	σελ.66
5.3.4. Προσδιορισμός αζύμωντων σακχάρων.....	σελ.67
5.3.5. Προσδιορισμός βιομάζας.....	σελ.67
5.4. Αποτελέσματα και Συζήτηση.....	σελ.67
5.4.1. Εισαγωγή.....	σελ.67
5.4.2. Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στο ρυθμό πρόσληψης της λακτόζης από το kefir.....	σελ.70
5.5. Συμπεράσματα.....	σελ.74
Κεφάλαιο 6	
Συμπεράσματα.....	σελ.76
Βιβλιογραφία.....	σελ.78

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην παρούσα εργασία γίνεται αναφορά στις ζυμώσεις και ειδικότερα στην αλκοολική και στη γαλακτική, καθώς επίσης και στα είδη των μικροοργανισμών που συμμετέχουν σε αυτές, δηλαδή στις ζύμες (μύκητες) και στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Στη συνέχεια, μελετάται ο ρυθμός πρόσληψης της γλυκόζης από μύκητες του είδους *Saccharomyces cerevisiae* χρησιμοποιώντας γλυκόζη επισημασμένη με ^{14}C .

Η ιχνηθέτηση είναι μια πολύ βολική μέθοδος αφού τόσο τα επισημασμένα όσο και τα μη επισημασμένα μόρια συμμετέχουν στις ίδιες μεταβολικές διεργασίες. Παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση της γλυκόζης αυξήθηκε μέσω προσθήκης στερεών ουσιών, γνωστών ως προωθητών (γ-αλουμίνα, κυτταρίνη, kissiris) της ζύμωσης.

Επίσης, παρουσιάζεται η σχέση ανάμεσα στην ικανότητα ζύμωσης του kefir (μίγμα διαφόρων ειδών βακτηρίων και μυκήτων) και στον ρυθμό πρόσληψης λακτόζης επισημασμένης με ^{14}C .

Το kefir είναι ένα μίγμα διαφόρων ειδών μυκήτων (*Kluyveromyces*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Pichia*) και βακτηρίων γαλακτικού οξέος του γένους *Lactobacillus*. Οι μύκητες και τα βακτήρια αυτά συμβιώνουν και είναι υπεύθυνα για τη ζύμωση που πραγματοποιείται στο γάλα και τον ορό (ορός είναι το υγρό παραπροϊόν της παρασκευής τυριού το οποίο περιέχει πρωτεΐνες, λιπαρά και υδατάνθρακες (λακτόζη μέχρι 5%).

Για να μελετηθεί η επίδραση του pH στο ρυθμό πρόσληψης της λακτόζης από τα κύτταρα kefir ακινητοποιημένα σε υλικό κυτταρίνης χρησιμοποιήθηκε επισημασμένη λακτόζη με ^{14}C .

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι, με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα να γίνουν προτάσεις για την πιθανή αλλαγή παραμέτρων της ζύμωσης ώστε να αυξηθεί η ταχύτητα αυτής αλλά και να βελτιωθεί η παραγωγή χρήσιμων τελικών προϊόντων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΖΥΜΩΣΕΙΣ

1.1. Εισαγωγή

Με τον όρο **ζύμωση** στη Χημεία εννοείται η διαδικασία παραγωγής ενέργειας κατά τη μετατροπή μιας ή περισσοτέρων οργανικών ενώσεων, όπως είναι οι υδατάνθρακες, σε ένα οξύ ή μια αλκοόλη. Ειδικότερα, ο όρος **ζύμωση** είναι πιθανό να αναφέρεται στη χρήση μιας ειδικής κατηγορίας μυκήτων (τους λεγόμενους "ζυμομύκητες") για τη μετατροπή ενός σακχάρου (είδος υδατάνθρακα) σε αλκοόλη ή στη χρήση βακτηρίων για την παραγωγή γαλακτικού οξέος σε μερικά τρόφιμα.

Κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες, η ζύμωση πραγματοποιείται αυθόρμητα σε πολλές τροφές. Πρόκειται για μια διαδικασία που εδώ και χιλιάδες χρόνια οι άνθρωποι εκμεταλλεύτηκαν, ευνοώντας την πραγματοποίησή της. Η παρασκευή, για παράδειγμα, άρτου και αλκοολούχων ποτών, όπως το κρασί και η μύρα, γίνεται με ζύμωση^[1].

1.2. Τύποι ζυμώσεων

Η αλκοολική ζύμωση μελετήθηκε πρώτη από το σύνολο των ζυμώσεων και κατέχει τη σπουδαιότερη θέση μεταξύ των διάφορων τύπων ζυμώσεων. Με την πρόοδο όμως της επιστήμης και ειδικά των κλάδων της μικροβιολογίας, της βιοχημείας και της φυσιολογίας, διαπιστώθηκε ότι η αλκοολική ζύμωση ήταν μία από τις εξής κύριες ζυμώσεις, που πραγματοποιούνται με τη βοήθεια μικροοργανισμών^[2].

1.2.1. Η αλκοολική

Σε αυτή τα απλά σάκχαρα μετατρέπονται σε αιθυλική αλκοόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Εκτός από τα βασικά προϊόντα, λαμβάνονται και άλλα, όπως η γλυκερίνη (3%), διάφορες πεντανόλες, καθώς και ηλεκτρικό οξύ.

Η αλκοολική ζύμωση προκαλείται από ειδικούς μικροοργανισμούς, τους σακχαρομύκητες ή ζυμομύκητες, με τη βοήθεια ενός ενζύμου, της ζυμάσης. Ο

Παστέρ ανακάλυψε ότι η ζύμωση αποτελεί έναν ιδιαίτερο τρόπο αναπνοής των μικροοργανισμών αυτών. Οι ζυμομύκητες που προκαλούν τη ζύμωση αναπνέουν στον αέρα, όπως και οι άλλοι οργανισμοί, και χρησιμοποιούν το οξυγόνο της ατμόσφαιρας για την πλήρωση των ζωτικών βιοτικών αναγκών (καταβολισμός). Όταν όμως τους τοποθετήσουμε μέσα σε μία φιάλη γεμάτη από διάλυση σακχάρου, τότε, επειδή δεν υπάρχει οξυγόνο, χρησιμοποιούν άλλη πηγή ενέργειας για τις βιοτικές τους ανάγκες και για το λόγο αυτό διασπούν το σάκχαρο σε αλκοόλη και CO_2 . Το φαινόμενο αυτό ο Παστέρ το ονόμασε μεσομόρια ή ενδοκυττάρια αναπνοή ή αναεροβίωση.

1.2.2. Η γαλακτική

Τα σάκχαρα μετατρέπονται είτε σε γαλακτικό οξύ καθαρό είτε σε μείγμα γαλακτικού οξέος, αλκοόλης και οξικού οξέος.

Βασικά οι τυπικοί εκπρόσωποι του μικροβιακού κόσμου, που σχηματίζουν γαλακτικό οξύ από τα σάκχαρα, είναι οι γαλακτοβάκκιοι. Αυτοί διαιρούνται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τα προϊόντα που σχηματίζουν τελικά από τη διάσπαση των σακχάρων. α) στα ομοζυγωτικά γαλακτοβακτηρίδια, που μετατρέπουν ποσοτικά το σάκχαρο σε γαλακτικό οξύ (80-90%) και σε ελάχιστα ποσά άλλα προϊόντα και β) στα ετεροζυγωτικά γαλακτοβακτηρίδια, που μετατρέπουν το μισό σάκχαρο σε γαλακτικό οξύ, και το άλλο μισό σε CO_2 , αλκοόλη και οξικό οξύ (CH_3COOH).

1.2.3. Η προπιονική

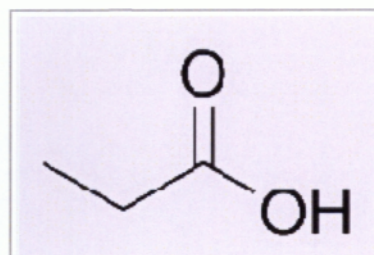
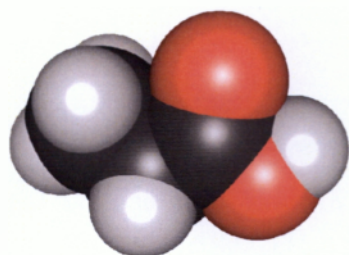
Τα απλά σάκχαρα ή και το γαλακτικό οξύ μετατρέπονται σε προπιονικό οξύ, οξικό οξύ και CO_2 .

Η ζύμωση προκαλείται από τα προπιονοβακτήρια, που κατατάσσονται βέβαια στους γαλακτοβάκκλους, διαφέρουν όμως από τους τυπικούς γαλακτοβάκκλους ως προς το ένζυμο καταλάση.

Η προπιονική ζύμωση έχει βιομηχανικό ενδιαφέρον, γιατί χρησιμοποιείται για την παρασκευή ορισμένων ειδών τυριών. Στην περίπτωση αυτή το βασικό υπόστρωμα είναι το γαλακτικό οξύ, που μετατρέπεται σε προπιονικό κατά την αντίδραση:



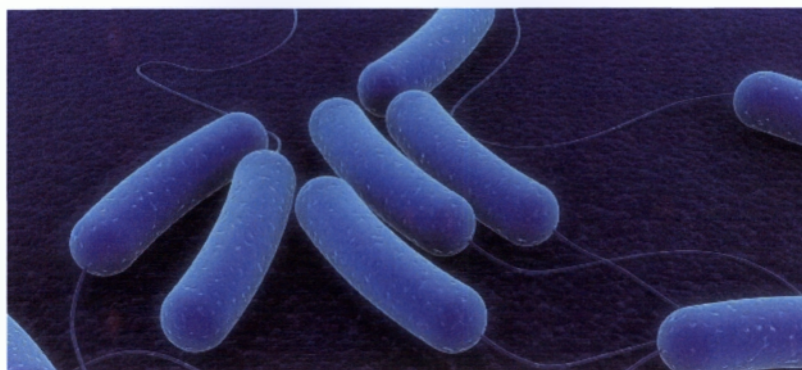
Τελευταία αποδείχτηκε ότι το προπιονικό οξύ στους ζωικούς ιστούς οξειδώνεται σε ηλεκτρικό. Τέλος, αργότερα αποδείχτηκε ότι το πυροσταφυλικό οξύ, πριν μετατραπεί σε προπιονικό, σχηματίζει ενδιάμεσα το ηλεκτρικό οξύ.



Εικόνα 1.1: Προπιονικό ή προπανικό οξύ^[3].

1.2.4. Η μυρμηκική

Λαμβάνονται από τα σάκχαρα διάφορα προϊόντα, σπουδαιότερο από τα οποία είναι το μυρμηκικό οξύ. Η ποσότητα του σχηματιζόμενου μυρμηκικού οξέος εξαρτάται από το pH της ζύμωσης. Σε αλκαλικό pH (7,8) παράγονται σημαντικές ποσότητες HCOOH , ενώ όταν είναι ελαφρά όξινο (6,8) παράγεται μόνο σε ίχνη. Τα βακτήρια που προκαλούν τη ζύμωση αυτή ανήκουν στην οικογένεια των εντεροβακτηριδίων.



Εικόνα 1.2: Εντεροβακτηρίδια^[3].

1.2.5. Η βουτυλο-βουτυρική

Τα σάκχαρα μετατρέπονται σε ενώσεις με 4 άτομα άνθρακα, δηλ. τη βουτανόλη, το βουτυρικό οξύ, το ακετοξικό οξύ, σε μείγμα με αλκοόλη, οξικό οξύ, ακετόνη κ.λ.π.

Η διάσπαση γίνεται με μικρόβια του γένους *Clostridium* (κλωστηρίδια). Βασικά υπάρχουν τρεις τύποι βουτυρικής ζύμωσης, ανάλογα με το βακτήριο που προκαλεί τη διάσπαση του σακχάρου και ανάλογα με το κύριο προϊόν που σχηματίζεται. Έτσι έχουμε:

- α) Τη ζύμωση που προκαλείται από το *Clostridium butyricum* και οδηγεί στο σχηματισμό του βουτυρικού οξέος
- β) Τη ζύμωση που προκαλείται από το βακτήριο *Clostridium ametoebutylicum* και σχηματίζεται ακετόνη και βουτανόλη και
- γ) Εκείνη που προκαλείται από το βακτήριο *Clostridium butilicum* και σχηματίζει ισοπροπανόλη. Ο τύπος αυτός είναι όμοιος με τον προηγούμενο και διαφέρει μόνο στο θέμα της αναγωγής της ακετόνης σε ισοπροπανόλη.

Από τους τρεις τύπους οικονομικό και βιομηχανικό ενδιαφέρον παρουσιάζει βασικά η δεύτερη περίπτωση, γιατί τα προϊόντα που παράγονται έχουν βιομηχανική χρήση, κυρίως ως διαλύτες. Σε μία κανονική βουτυρική ζύμωση της γλυκόζης σχηματίζονται βουτανόλη, ακετόνη και αιθυλική αλκοόλη σε αναλογία 6:3:1.

1.2.6. Η οξική

Τα σάκχαρα ή τα προϊόντα από τη διάσπασή τους (αλκοόλες) μετατρέπονται σε οξικό οξύ, καθώς και σε άλλα οξειδωμένα παράγωγα σε μικρότερη αναλογία.

Γίνεται παρουσία οξυγόνου με την προσθήκη ορισμένων μυκήτων. Το μείγμα αλκοόλης-μυκήτων αφήνεται για μεγάλο διάστημα σε θερμό χώρο για να οξειδωθεί (μέθοδος Ορλεάνης). Πολύ πιο γρήγορα πετυχαίνεται η οξείδωση, όταν διαβιβάσουμε αραιά αλκοολούχα διαλύματα 6-10%, τα οποία περιέχουν και τα κατάλληλα θρεπτικά υλικά μέσα σε βαρέλια, που είναι γεμάτα ροκανίδια. Από το κάτω μέρος διοχετεύεται

αέρας και λόγω της μεγάλης επιφάνειας που παρουσιάζει το διάλυμα διαμοιρασμένο σε μικρά σταγονίδια λόγω των ροκανιδιών, η οξειδωση γίνεται σε πάρα πολύ μικρό διάστημα.

Οι ζυμώσεις των σακχάρων διαφέρουν μεταξύ τους ως προς:

- 1) το σχήμα με το οποίο διασπώνται τα απλά σάκχαρα. Το σχήμα (μορφή) αυτό καθορίζεται βασικά από τα ένζυμα που παίρνουν μέρος στη διάσπαση και επομένως τον υπεύθυνο σε κάθε περίπτωση μικροοργανισμό.
- 2) Τα τελικά προϊόντα, που είναι σε κάθε περίπτωση διαφορετικά.
- 3) Τη σημασία κάθε ζύμωσης για την οικονομία της φύσης και ειδικότερα για τον άνθρωπο.

Από την άποψη αυτή η αλκοολική ζύμωση είναι η σπουδαιότερη από όσες αναφέραμε παραπάνω και για την οικονομία της φύσης και περισσότερο για τον άνθρωπο.

1.3. Ιστορία

Η εξήγηση του φαινομένου της ζύμωσης παρέμεινε άγνωστη για αιώνες, παρότι ήταν σε κοινή χρήση όχι μόνο για τη μετατροπή του γλεύκους, αλλά και άλλων αμυλούχων και σακχαρούχων ουσιών. Με τη βοήθεια της ζύμωσης παραγόταν στην αρχαιότητα το υδρόμελι (μείγμα νερού και ζυμωμένου μελιού), το κρασί φοίνικα (από χουρμάδες), ο μηλίτης οίνος (κρασί από μήλα) και αρκετά ακόμη προϊόντα.

Μόνο κατά το δεύτερο μισό του 17ου αιώνα ο χημικός Λαβουαζιέ διατύπωσε μια χημική εξήγηση του φαινομένου της ζύμωσης. Αργότερα ο Γκέι - Λουσσάκ καθόρισε τον τύπο της αλκοολικής ζύμωσης (βλέπε παρακάτω). Κατά το 1836 ο Κανιάρ ντε λα Τουρ διαπίστωσε ότι το φαινόμενο της ζύμωσης οφείλεται σ' ένα μικροσκοπικό οργανισμό και τον επόμενο χρόνο ο Σβαν μίλησε για το μύκητα του σακχάρου, που καθόριζε την ελευθέρωση του αερίου. Αλλά η ανακάλυψη της ειδικής δραστηριότητας των ζυμώσεων οφείλεται στο Γάλλο χημικό Λουί Παστέρ, ο οποίος ήταν ο πρώτος που συνέδεσε τη ζύμωση με τη δράση μυκήτων το 1857, ενώ

παράλληλα προσδιόρισε και άλλα συστατικά του κρασιού. Αργότερα, ο Γερμανός Έντουαρντ Μπούχνερ απέδειξε ότι η ζύμωση προκαλείται από ειδικές ύλες, που λέγονται ένζυμα ή φυράματα και παράγονται από τους ίδιους τους ζυμομύκητες. Ο Μπούχνερ βραβεύτηκε για τις εργασίες του το 1907 με το Βραβείο Νόμπελ Χημείας.



Εικόνα 1.3: Λουί Παστέρ^[3]

Κατά τα τέλη του 18ου αιώνα γεννιέται και αναπτύσσεται η οινολογία, η εφαρμοσμένη επιστήμη που μελετά τα φυσικά, χημικά και βιολογικά φαινόμενα της μετατροπής των σταφυλιών και τις μεθόδους επεξεργασίας, διατήρησης και παλαίωσης των κρασιών. Η οινολογία προσπαθεί να ελέγξει και να τροποποιήσει τη ζύμωση, ώστε να επιτευχθούν καλύτερα αποτελέσματα, να προφυλαχτεί το κρασί από αλλοιώσεις και ασθένειες, ώστε να μειωθεί το κόστος της παραγωγής^[3].

1.4. Ζυμώσεις και τρόφιμα

Το εύρος των τροφίμων που οφείλουν τις χαρακτηριστικές τους ιδιότητες στους μικροοργανισμούς είναι πολύ μεγάλο. Πολλά από αυτά τα τρόφιμα, όπως τα τυριά, τα τουρσιά και τα αλλαντικά οφείλουν την ικανότητα συντήρησής τους για μεγάλο χρονικό διάστημα στο ότι οι πρώτες ύλες από τις οποίες είναι παρασκευασμένα έχουν υποστεί επεξεργασία από μικροοργανισμούς.

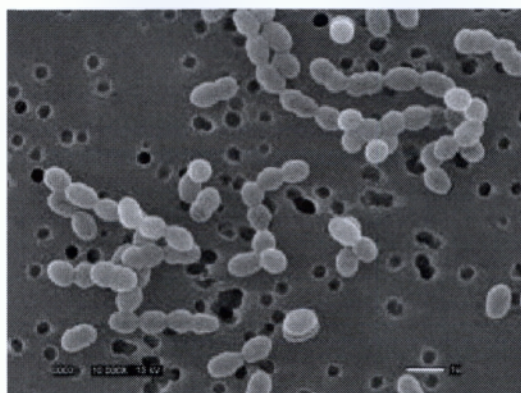
Οι ζυμώσεις, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της δράσης ζυμών, μυκήτων, βακτηρίων ή ακόμα και συνδυασμού αυτών των μικροοργανισμών. Όσον αφορά τρόφιμα όπως είναι η μύρα, το κρασί, το ψωμί και άλλα, η ζύμωση από ζύμες παίζει πολύ σημαντικό ρόλο.

Ζύμες και βακτήρια συμπεριλαμβάνονται στην παρασκευή του ξυδιού από ανθεκτικά στη ζάχαρη υλικά και τα βακτήρια πρωτοστατούν στην παρασκευή ζυμωμένων γαλακτομικών. Οι μύκητες έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην παρασκευή ορισμένων τυριών και παραδοσιακών εδεσμάτων, όπως για παράδειγμα με βάση τη σόγια, που συνηθίζονται στους λαούς της νότιας και ανατολικής ασίας.

Μερικά παραδείγματα είναι :

- Ψωμί: οι μικροοργανισμοί είναι χρήσιμοι στην παρασκευή ψωμιού με δύο τρόπους: 1) μπορούν να παράγουν αέρια τα οποία μαλακώνουν ή ανυψώνουν τη μαγιά δίνοντας στο ψωμί αυτή τη χαλαρή και πορώδη υφή που είναι επιθυμητή 2) μπορεί να παράγουν διάφορες ουσίες που εμπλουτίζουν τη γεύση του τελικού προϊόντος.

- Κρασί: το κρασί παρουσιάζει ελαττώματα που είναι αποτέλεσμα μη μικροβιακών αιτιών και αλλοιώσεις που προκαλούνται από μικροοργανισμούς. Οι μικροοργανισμοί που προκαλούν αυτές τις αλλοιώσεις είναι κυρίως ζύμες, μύκητες και βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* και μερικές φορές *Micrococcus* και *Pediococcus*^[4].



Εικόνα 1.4: Βακτήρια του γένους *Leuconostoc*^[3].

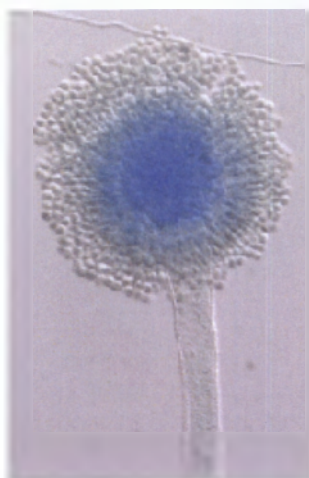
Η μικροβιακή χλωρίδα αυτών των τροφίμων και η οικολογία των ζυμώσεών τους έχει μελετηθεί αρκετά τα τελευταία χρόνια. Η δράση και η επιβίωση των μικροοργανισμών που παίρνουν μέρος εξαρτάται από διάφορους εξωγενείς και

ενδογενείς παράγοντες, για παράδειγμα όταν η πρώτη ύλη που θα υποστεί τη ζύμωση περιέχει ελεύθερα σάκχαρα και είναι όξινη τότε θα αναπτυχθούν ζύμες οι οποίες παράγουν αλκοόλη με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών. Αντίθετα, αν η οξύτητα είναι σε τέτοιο επίπεδο που να επιτρέπει τη βακτηριακή ανάπτυξη τότε αναπτύσσονται τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Η παρουσία μάλιστα NaCl μικρής συγκέντρωσης θα δημιουργήσει εκλεκτικό περιβάλλον για την ανάπτυξη τους σε αντίθεση με τις ζύμες^[3].

Τα φυσικά προϊόντα που περιέχουν πολυσακχαρίτες κυρίως και όχι ελεύθερα σάκχαρα δεν είναι εύκολο να ζυμωθούν από ζύμες και βακτήρια του γαλακτικού οξέος γιατί αυτά δεν περιέχουν το αντίστοιχο ένζυμο που απαιτείται και έτσι για το σκοπό αυτό προστίθενται εξωγενή ένζυμα. Τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η χρήση της βύνης του κριθαριού στη βιομηχανία παραγωγής μύρας. Πιο συγκεκριμένα, τα ένζυμα που διασπούν το άμυλο προέρχονται από τους βλαστημένους πόρους κριθαριού και στη συνέχεια η ζύμωση γίνεται από τις ζύμες.

Οι μικροοργανισμοί που παίρνουν μέρος στις ζυμώσεις προστίθενται ως καθαρές ή μικτές καλλιέργειες ή μερικές φορές δεν χρειάζεται να προστεθούν γιατί εμπεριέχονται σε ικανή ποσότητα στην πρώτη ύλη που θα υποστεί τη ζύμωση. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί που παίρνουν μέρος στις ζυμώσεις τροφίμων ανήκουν στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και στις ζύμες. Βακτήρια άλλα εκτός από αυτά του γαλακτικού οξέος τα οποία παίρνουν μέρος στις ζυμώσεις των τροφίμων ανήκουν στο γένος *Propionibacterium* (τυριά ελβετίας), στο γένος *Brevibacterium* (τυριά που έχουν υποστεί ωρίμανση) και στα γένη *Gluconobacter* και *Acetobacter* για την παραγωγή ξυδιού.

Οι περισσότερες ζύμες που έχουν βιομηχανικό ενδιαφέρον και παίρνουν μέρος στη παραγωγή τροφίμων και τροφών ανήκουν στο γένος *Saccharomyces*. Οι πιο γνωστοί μυκηλιακοί μύκητες που παίρνουν μέρος στην επεξεργασία τροφίμων ανήκουν στο γένος *Penicillium* και στο γένος *Aspergillus*.



Εικόνα 1.5: *Aspergillus flavus*^[31].

Η επιλογή των μικροβιακών στελεχών για τις ζυμώσεις τροφίμων ή γενικότερα για την επεξεργασία των τροφίμων βασίζεται στην ικανότητά τους να παράγουν με σταθερό τρόπο συγκεκριμένα προϊόντα μέσα από τη μικροβιακή αύξηση, ή να διατηρούν σταθερή την ικανότητά τους να προκαλούν κάποια ενζυμική μεταβολή. Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να προέρχονται από ταυτοποιημένες καλλιέργειες άλλων εργαστηρίων ή να επιλέγονται μέσα από έλεγχο πολλών στελεχών. Ένας από τους βασικούς παράγοντες που ελέγχονται είναι η σταθερότητά τους ενώ στη συνέχεια γίνεται προσπάθεια βελτίωσης των χαρακτηριστικών τους, ιδιαίτερα αν πρόκειται για νέα στελέχη που έχουν απομονωθεί από το περιβάλλον είτε μέσω συνεχών διασταυρώσεων είτε μέσω μεταλλαξογένεσης.

Τις τελευταίες δεκαετίες μετά την ανάπτυξη των μεθόδων της γενετικής μηχανικής και της μοριακής βιολογίας μελετήθηκαν τα συστήματα αναφοράς γενετικού υλικού στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και έτσι πλέον είναι δυνατή η βελτίωση μικροβιακών στελεχών που παρουσιάζουν βιομηχανικό ενδιαφέρον μέσω αυτών των μεθόδων. Η διατήρηση αυτών των ιδιοτήτων των στελεχών που επιλέγονται στα μικροβιολογικά εργαστήρια γίνονται με περιοδικές μεταφορές του μικροοργανισμού σε φρέσκο θρεπτικό υλικό μέχρι η καλλιέργεια να φτάσει στη φάση στασιμότητας και στη συνέχεια μεταφέρεται σε χαμηλή θερμοκρασία η οποία δεν επιτρέπει περαιτέρω αύξηση. Όμως η πολύ συχνή μεταφορά των μικροοργανισμών μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αλλοίωση κάποιων χαρακτηριστικών τους. Για το λόγο αυτό προετοιμάζονται πάντα καλλιέργειες που αποθηκεύονται σε ειδικές συνθήκες για μεγάλο χρονικό διάστημα (stock cultures).

Συνεχής έλεγχος πρέπει να γίνεται για την καθαρότητα της καλλιέργειας και την αποφυγή μολύνσεων.

Η προετοιμασία της αρχικής καλλιέργειας γίνεται συνήθως σε καθημερινή βάση, με εμβολιασμό από την προηγούμενη καλλιέργεια η οποία προέρχεται από την αποθηκευμένη καλλιέργεια. Στη συνέχεια η καλλιέργεια αυτή (η αρχική) χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό μεγαλύτερων ποσοτήτων θρεπτικού υλικού ώστε να δημιουργηθεί το εμβόλιο για τη ζύμωση ενώ σε ζυμώσεις μεγαλύτερης κλίμακας δημιουργούνται ενδιάμεσες καλλιέργειες με αυξανόμενο μέγεθος μέχρι τον τελικό εμβολιασμό.

Το τελικό εμβόλιο θα πρέπει να περιέχει μόνο τους μικροοργανισμούς που θα προκαλέσουν τη ζύμωση, να έχει σταθερό μικροβιακό φορτίο και σταθερές αναλογίες μικροβιακών στελεχών στις μικτές καλλιέργειες, να μπορεί να παράγει συγκεκριμένα προϊόντα κατά τη ζύμωση και να παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε ακραίες συνθήκες αν χρειαστεί (π.χ. αύξηση της θερμοκρασίας). Το φυσιολογικό στάδιο του εμβολίου που θα χρησιμοποιηθεί εξαρτάται από τον στόχο για παράδειγμα, εάν χρειάζεται γρήγορη και μεγάλη αύξηση τότε το εμβόλιο θα πρέπει να βρίσκεται στη λογαριθμική φάση ενώ αν απαιτείται ανθεκτικότητα σε δυσμενείς συνθήκες τότε θα πρέπει το εμβόλιο μόλις να έχει εισέλθει στη φάση στασιμότητας^[5].

1.4.1. Ζυμώσεις στα φυτικά προϊόντα

Η επεξεργασία με ζύμωση των λαχανικών με σκοπό την διατήρησή τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα είναι πολύ παλιά μέθοδος και στις μέρες μας υπάρχει μια συνεχώς αναπτυσσόμενη αγορά ζυμωμένων προϊόντων όπως είναι τα γιαούρτια, τα λαχανικά, τα αλλαντικά κ.α. και ιδιαίτερα στην Ευρώπη. Είναι αξιοσημείωτο πως η απαίτηση των καταναλωτών για φυσικά και ζυμωμένα προϊόντα παρουσιάζει μια σταθερή αύξηση τα τελευταία χρόνια και αυτό σχετίζεται με την αναγνώριση πως ζυμώσεις οι οποίες πραγματοποιούνται στα τρόφιμα παίζουν ένα ευεργετικό ρόλο στη ανθρώπινη διατροφή και υγεία καθώς επίσης και στην ασφάλεια των τροφίμων.

Πραγματικά έχει υπολογιστεί πως τουλάχιστον το 25% της διαίτας που ακολουθούν οι ευρωπαίοι και το 60 % της διαίτας που ακολουθούν πολίτες αναπτυσσόμενων χωρών αποτελείται από ζυμωμένα τρόφιμα. Αν και ένας από τους βασικούς λόγους για τους οποίους τα συγκεκριμένα προϊόντα θεωρούνται ασφαλή είναι το χαμηλό pH που γίνονται οι ζυμώσεις, κάποιοι παθογόνοι μικροοργανισμοί

καταφέρνουν να επιζούν. Αυτό αποκτά ιδιαίτερη σημασία στην περίπτωση του *Escherichia coli* που είναι ένα παθογόνο βακτήριο το οποίο είναι υπεύθυνο για την πρόκληση αιμορραγικής κολίτιδας και αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου και το οποίο εμφανίζει αντοχή σε όξινο περιβάλλον και έχει μελετηθεί σε περιπτώσεις ζυμωμένων τροφίμων από κρέας ή από λαχανικά καθώς και από άλλα όξινα τρόφιμα, ενώ έχει απομονωθεί και σε ωμά λαχανικά και φρούτα.

Η ανάπτυξη των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος κατά τη διάρκεια των ζυμώσεων των φυτικών προϊόντων έχει ως αποτέλεσμα να μην επιτρέπεται η ανάπτυξη άλλων ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και να καθυστερείται ή να αποφεύγεται η εμφάνιση των συνήθων αλλοιώσεων. Επίσης εμφανίζονται ιδιαίτερες γεύσεις και οσμές που παράγονται και οδηγούν σε ένα τελικό χαρακτηριστικό προϊόν^[6].

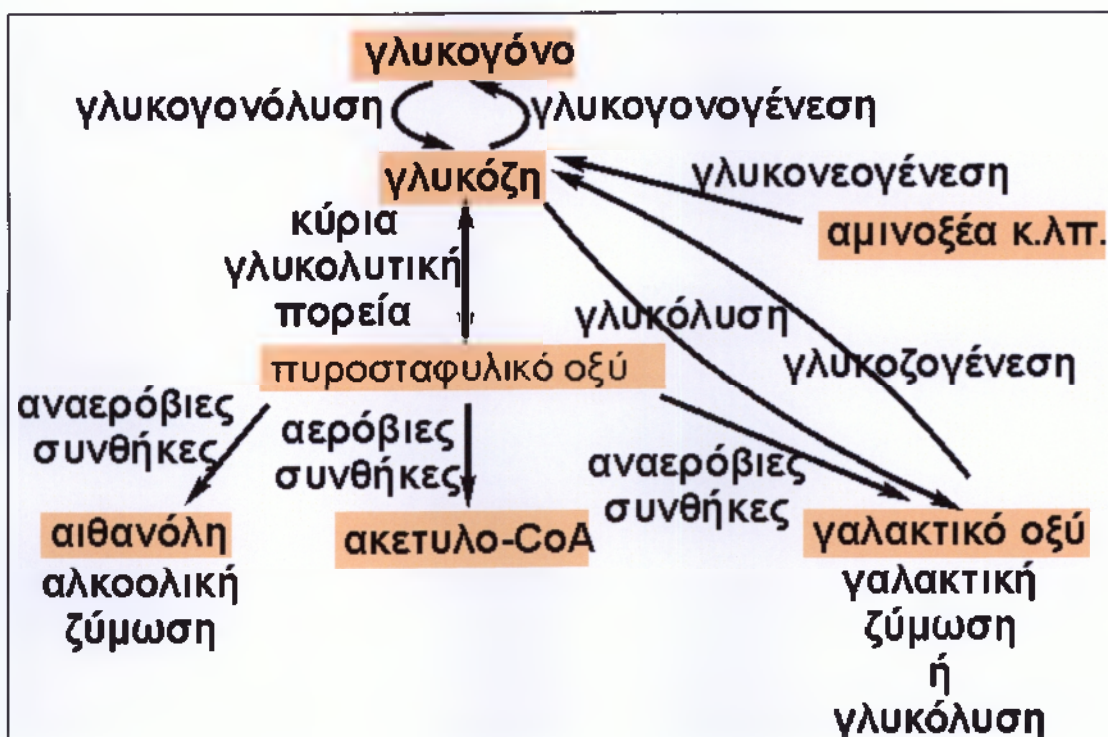
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ-ΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

2.1. Η γαλακτική ζύμωση

2.1.1. Γενικά

Η γλυκόζη είναι ο κύριος υδατάνθρακας που χρησιμοποιείται από τους ζώντες οργανισμούς για την κάλυψη των ενεργειακών τους αναγκών. Αποικοδομείται προς πυροσταφυλικό οξύ και από εκεί σε αερόβιες συνθήκες μπορεί να μετατραπεί σε ακετυλο -CoA και στη συνέχεια σε CO_2 και H_2O , ενώ σε αναερόβιες συνθήκες να μετατραπεί σε αιθανόλη (αλκοολική ζύμωση) και σε γαλακτικό οξύ (γαλακτική ζύμωση). Η πορεία της γλυκόζης προς γαλακτικό οξύ (γαλακτική ζύμωση) είναι γνωστή και ως γλυκόλυση ή πορεία Embden-Meyerhof" ή Embden-Meyerhof-Parnas από τα ονόματα των ερευνητών που τη μελέτησαν.



Εικόνα 2.1: Η πορεία της γλυκόζης υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες^[7].

Η γαλακτική ζύμωση στην απλούστερη μορφή μπορεί να εκφραστεί με την παρακάτω εξίσωση:



η οποία είναι το τελικό αποτέλεσμα έντεκα αντιδράσεων. Η εξίσωση αυτή χαρακτηρίζει την ομογαλακτική ζύμωση, όταν δηλ. τα σάκχαρα μετατρέπονται βασικά σε γαλακτικό οξύ. Η βασική διαφορά ανάμεσα στις ζύμες και στους ομοζυγωτικούς γαλακτοβάκιλους αφορά το ένζυμο καρβοξυλάση. Το ένζυμο αυτό, ενώ υπάρχει στο κύτταρο πολλών ζυμών, δεν ανευρίσκεται ή τουλάχιστον δε λειτουργεί στην περίπτωση των ομοζυγωτικών γαλακτοβακτηριδίων. Αποτέλεσμα αυτού του πράγματος είναι ότι ως δέκτης των ιόντων του υδρογόνου δρα το πυροσταφυλικό οξύ και η ακεταλδεΐδη. Η αναγωγή του πυροσταφυλικού οξέος γίνεται με την ενέργεια του ενζύμου "αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος". Οι γαλακτοβάκιλοι σχηματίζουν γαλακτικό οξύ σε βάρος της γλυκόζης, της φρουκτόζης και του δισακχαρίτη της λακτόζης. Η λακτόζη πρέπει πρώτα να υδρολυθεί με την ενέργεια του ενζύμου "λακτάση" σε ένα μόριο γλυκόζης και ένα λακτόζη. Η τελευταία μετατρέπεται σε γλυκόζη με ένα ένζυμο, τη γαλακτοβαντινάση. Η διάσπαση της λακτόζης και η μετατροπή της σε γαλακτικό οξύ έχει μεγάλο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία γάλατος, όπου η γαλακτική ζύμωση αποτελεί τη βάση για να ωριμάσει η κρέμα και τα διάφορων τύπων τυριά, καθώς και στην παρασκευή του γιαουρτιού, του ξινόγαλου κ.ά. Η γαλακτική ζύμωση γίνεται σε pH, το οποίο διατηρείται σταθερό προσθέτοντας βαθμηδόν αιώρημα CaCO_3 , το οποίο δεσμεύει το σχηματιζόμενο γαλακτικό οξύ. Κατά κανόνα η ζύμωση διαρκεί από 42 ώρες μέχρι 6 ημέρες, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν. Συνήθως προσθέτουμε ριβοφλαβίνη και άλλα θρεπτικά υλικά, καθώς και ανόργανα άλατα για τη γρήγορη ανάπτυξη των βακτηριδίων. Η θερμοκρασία κυμαίνεται από 30-50 °C αναλόγως των γαλακτοβακίλων. Τα σάκχαρα αραιώνονται σε συγκέντρωση 5-20%, ανάλογα με την περίπτωση, ενώ ταυτόχρονα εξασφαλίζονται αναερόβιες ή μικροαερόφιλες συνθήκες για να επιτευχθούν καλύτερα αποτελέσματα. Η μετατροπή σε γαλακτικό οξύ φτάνει καμιά φορά και το 90% του βάρους του σακχάρου.

Σε αντίθεση με τους ομοζυγωτικούς, οι ετεροζυγωτικοί γαλακτοβάκιλοι σχηματίζουν μαζί με το γαλακτικό οξύ και αιθανόλη, οξικό οξύ και CO_2 . Η διάσπαση

των σακχάρων από τους ετεροζυγωτικούς γαλακτοβάκιλλους γίνεται με την ακόλουθη σειρά: α) πρώτα οξειδώνεται το πρώτο άτομο άνθρακα της εξόζης,

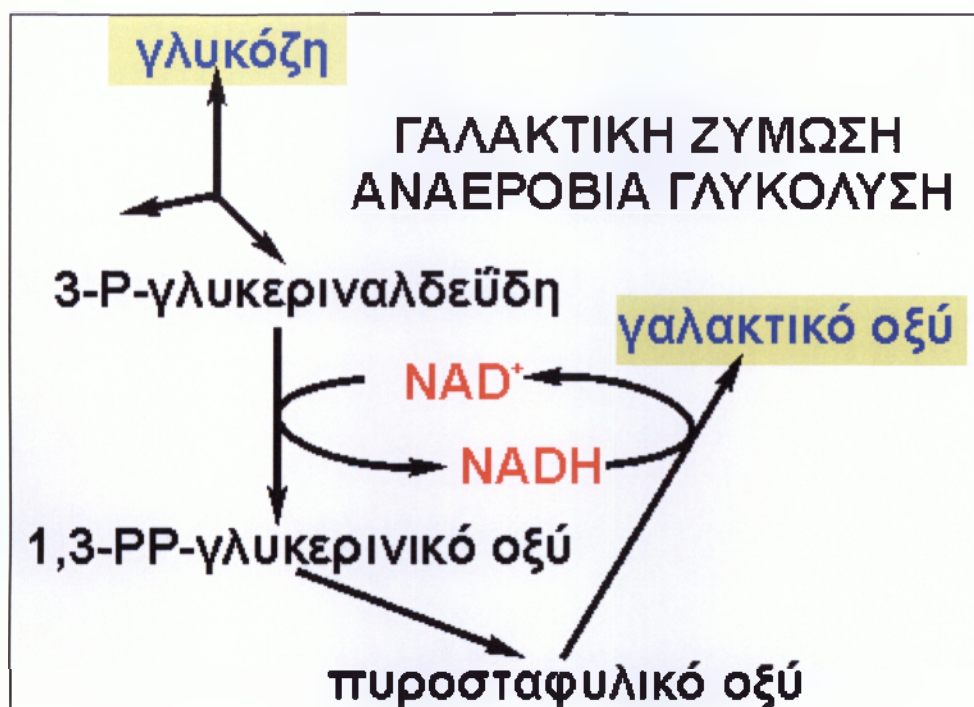
β) μετά αποσπάται CO_2 και τέλος

γ) γίνεται διάσπαση της σχηματιζόμενης πεντόζης σε φωσφορογλυκεριναλδεύδη και αιθανόλη μαζί με οξικό οξύ.

Τελικά η φωσφορογλυκεριναλδεύδη, αν και αυτό δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ με ιδιαίτερες ενδιάμεσες αντιδράσεις της ομογαλακτικής ζύμωσης^[7].

2.1.2. Γαλακτική ζύμωση (Αναγωγή πυροσταφυλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ - αναερόβια γλυκόλυση, κατά τον ενδιάμεσο μεταβολισμό των υδατανθράκων).

Ο καταβολισμός της γλυκόζης σε γαλακτικό οξύ αποτελεί τη γαλακτική ζύμωση που γίνεται στους λακτοβάκιλλους. Γαλακτική ζύμωση, συνήθως, λέγεται η πορεία μόνο όταν γίνεται στους λακτοβάκιλλους, όπου το πυροσταφυλικό οξύ προέρχεται κυρίως από την αποικοδόμηση του δισακχαρίτη λακτόζη. Αναερόβια γλυκόλυση λέγεται η πορεία όταν γίνεται στους μύες. Σύμφωνα με την πορεία αυτή το πυροσταφυλικό οξύ παρουσία του ενζύμου αφυδρογονάση του γαλακτικού ανάγεται προς γαλακτικό οξύ με σύγχρονη επανοξείδωση του NADH . Η αντίδραση αυτή είναι αμφίδρομη, δεν έχει άλλο σκοπό εκτός από την επανοξείδωση του NADH σε αναερόβιες συνθήκες ή σε περιπτώσεις που δεν επαρκεί το οξυγόνο (παρατεταμένη μυϊκή λειτουργία). Η επανοξείδωση του NADH είναι απαραίτητη για να προχωρήσει η γλυκόλυση που απαιτεί NAD^+ .



Εικόνα 2.2: Η γαλακτική ζύμωση^[7].

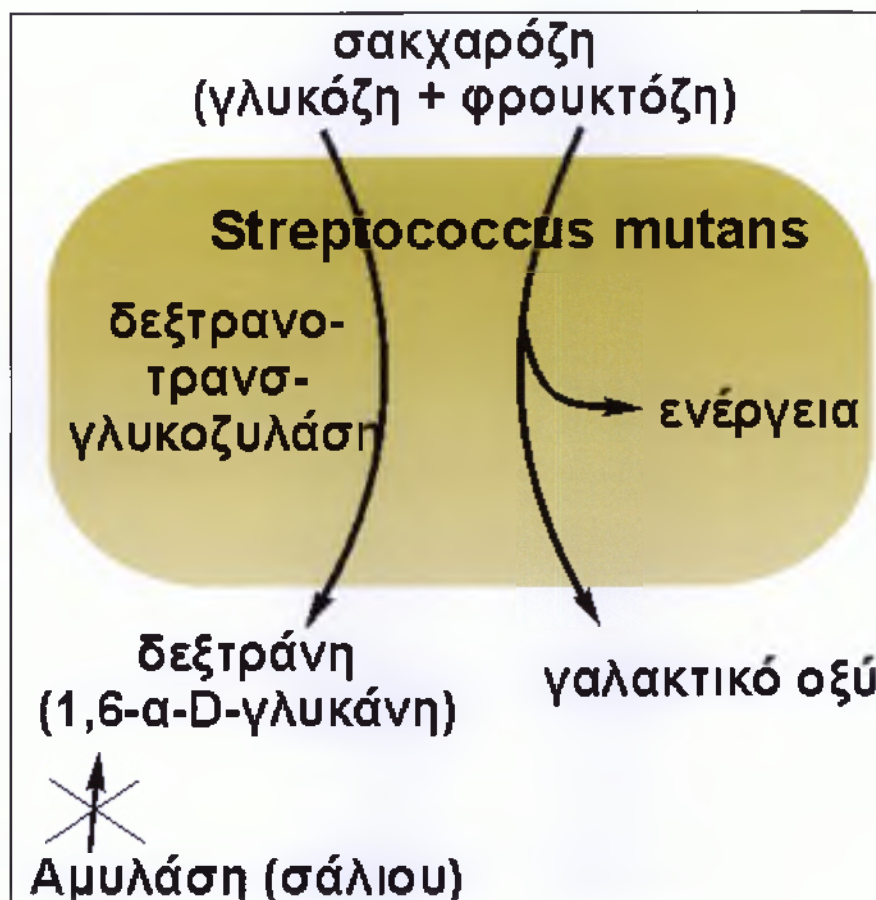
Η αναερόβια επανοξείδωση του NADH στους διάφορους μικροοργανισμούς γίνεται με διάφορους τρόπους και οι μεταβολικές αυτές διεργασίες ονομάζονται ζυμώσεις.

Εκτός από την αλκοολική και γαλακτική ζύμωση που έχουν κύριο σκοπό την επανοξείδωση του NADH κατά την αναερόβια καύση της γλυκόζης, υπάρχουν και άλλα είδη ζυμώσεων που γίνονται σε διάφορα φυτά και μικροοργανισμούς. Το γαλακτικό οξύ στους ζωικούς οργανισμούς (σε περιπτώσεις που δεν επαρκεί το οξυγόνο όπως στην περίπτωση παρατεταμένης μυϊκής λειτουργίας) είτε αποβάλλεται είτε μετατρέπεται πάλι σε γλυκόζη (μέσω πυροσταφυλικού και οξαλοξικού οξέος) και από εκεί σε γλυκογόνο.

Η παραγωγή ενέργειας αναερόβια είναι μεν αντισοικονομική (μικρότερη απόδοση σε ATP) αλλά πολύ χρήσιμη, γιατί μπορεί να διατίθεται γρήγορα (μέχρι και 100 φορές πιο γρήγορα η παραγωγή ATP σε σχέση με εκείνη σε αερόβιες συνθήκες) και μάλιστα σε μορφή θερμότητας^[8].

Γαλακτική ζύμωση γίνεται και στην περίπτωση της τερηδόνας. Τα βακτήρια του τύπου *Streptococcus mutans*, ανήκουν στη φυσιολογική μικροχλωρίδα του στόματος. Διαθέτουν το ένζυμο δεξτρανοτρανσγλυκοζυλάση (σουκράση της δεξτράνης) το οποίο πολυμερίζει τα μόρια της γλυκόζης από τη σακχαρόζη και από

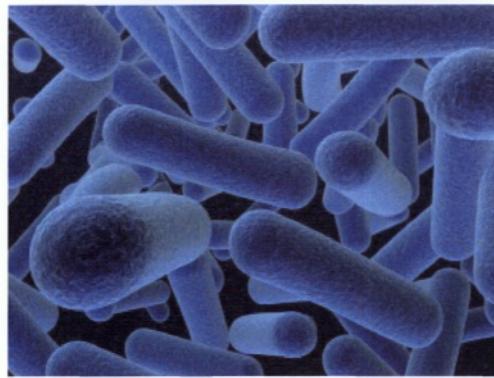
τη σακχαρόζη προκύπτει δεξτράνη (1,6-α-D-γλυκάνη), η οποία λόγω του 1-6 γλυκοζιτικού δεσμού δεν μπορεί να υδρολυθεί από την αμυλάση του σάλιου.



Εικόνα 2.3: Γαλακτική ζύμωση και τερηδόνα^[7].

2.1.3. Βακτήρια του γαλακτικού οξέος – η χρήση τους στα τρόφιμα

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος (ή οξυγαλακτικά βακτήρια) χρησιμοποιούνται για τη ζύμωση ή την καλλιέργεια τροφίμων εδώ και τουλάχιστον 4000 χρόνια. Χρησιμοποιούνται συγκεκριμένα στα προϊόντα ζύμωσης του γάλακτος σε όλο τον κόσμο, όπως στο γιαούρτι, το τυρί, το βούτυρο, το βουτυρόγαλα, το κεφίρ και το κουμίζ.



Εικόνα 2.4: Οξυγαλακτικά βακτήρια^[3].

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος αναφέρονται σε μια μεγάλη ομάδα ωφέλιμων βακτηρίων, τα οποία έχουν παρόμοιες ιδιότητες και παράγουν γαλακτικό οξύ ως το τελικό προϊόν της ζύμωσης. Είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση, ενώ βρίσκονται και στο πεπτικό μας σύστημα. Παρόλο που είναι γνωστά κυρίως για τον ρόλο τους στην παρασκευή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, χρησιμοποιούνται επίσης στην παρασκευή πίκλας λαχανικών, κρασιού, στο ψήσιμο και στην αλιπάσωση του ψαριού, του κρέατος και των λουκάνικων.

Τα γαλακτικά βακτήρια διακρίνονται σε βακτήρια ομοζύμωσης, τα οποία διασπούν τους μονοσακχαρίτες με αποτέλεσμα να σχηματίζονται δύο μόρια γαλακτικού οξέος $[C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH(OH)COOH]$, και σε βακτήρια ετεροζύμωσης, τα οποία κατά τη ζύμωση σχηματίζουν γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, αιθυλική αλκοόλη, διοξείδιο του άνθρακα και μικρές ποσότητες αρωματικών ουσιών, διακετυλικών και εστέρων. Στη γαλακτική ζύμωση στηρίζεται εκτός από την παρασκευή πολυάριθμων γαλακτικών προϊόντων (βούτυρο, τυρί, γιαούρτι κ.ά.), η συντήρηση πολλών φυτικών τροφίμων (τουρσιών, λάχανων, αγγουριών κ.ά.) και η βιομηχανική παραγωγή γαλακτικού οξέος από σακχαρωμένο άμυλο.

Συνεπώς, τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος είναι εξαιρετικοί πρεσβευτές για ένα συχνά κακόφημο μικροβιακό κόσμο. Δεν είναι μόνο καίριας οικονομικής σημασίας, αλλά και εξαιρετικής αξίας για τη διατήρηση και προαγωγή της υγείας του ανθρώπου^[6].

2.1.3.1. Γιαούρτι

Το γιαούρτι είναι προϊόν ζύμωσης του γάλακτος. Για την παρασκευή του μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφοροι τύποι γάλακτος όπως το πλήρες, το ημιαποβουτυρωμένο κτλ. Το γάλα που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή γιαουρτιού αρχικά παστεριώνεται (στους 72°C για 15 λεπτά), για να καταστραφούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που περιέχονται σε αυτό. Στη συνέχεια προστίθεται καλλιέργεια μικροοργανισμών, όπως του γένους *Lactobacillus* και *Streptococcus*, που μετατρέπουν τη λακτόζη (δισακχαρίτης) του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ, μειώνοντας το pH του γάλακτος σε 5,5 και προσδίδουν στο γιαούρτι τη χαρακτηριστική κρεμώδη υφή. Οι μικροοργανισμοί αυτοί παράγουν επίσης αιθανάλη (ακεταλδεΐδη), που προσδίδει χαρακτηριστικό άρωμα στο γιαούρτι. Για την πραγματοποίηση των παραπάνω αντιδράσεων το γάλα επωάζεται για 12 ώρες στους 32°C.

Για το γιαούρτι και άλλα ζυμωμένα γάλατα υπάρχει σημαντική δυνατότητα να αξιοποιηθούν τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ως προβιοτικές καλλιέργειες. Αυτές συμπληρώνουν και βοηθούν τα φυσιολογικά βακτήρια του εντέρου μας να λειτουργήσουν πιο αποτελεσματικά. Η παγκόσμια αγορά για τα προϊόντα αυτά συνεχίζει να επεκτείνεται σε απόκριση των απαιτήσεων ενός κοινού με συνεχώς αυξανόμενη συνείδηση για την υγεία.

Εκτός από τη θρεπτική αξία του, το γιαούρτι προσφέρει τη δυνατότητα αξιοποίησης των πλεονασμάτων γάλακτος, αφού είναι ένα προϊόν με υψηλή θρεπτική αξία, που μπορεί να διατηρηθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από ότι το γάλα^[10].

2.1.3.2. Τυρί

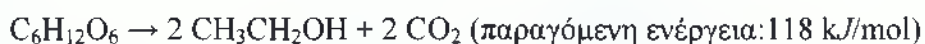
Η παραδοσιακή παραγωγή τυριών περιελάμβανε τη χρήση μικροοργανισμών, που μετέτρεπαν τη λακτόζη και τα υπόλοιπα σάκχαρα του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ με επακόλουθη μείωση του pH, καθώς και την προσθήκη πυτιάς, που περιέχει ένα ένζυμο, τη ρεννίνη, από το στομάχι μόσχου. Η ρεννίνη υδρολύει την καζεΐνη (πρωτεΐνη του γάλακτος). Με αυτό τον τρόπο σχηματίζονται «συσσωματώματα» πλούσια σε πρωτεΐνη και λίπος (τυρόπηγμα). Στις σύγχρονες τυροκομικές μονάδες χρησιμοποιείται παστεριωμένο γάλα, στο οποίο προστίθεται καλλιέργεια βακτηρίων γαλακτικού οξέος και ρεννίνη, που έχει παραχθεί από βακτήρια. Η παρασκευή των

διάφορων ειδών τυριού οφείλεται στη χρησιμοποίηση διαφορετικών μικροοργανισμών^[6].

2.2. Η αλκοολική ζύμωση

2.2.1. Γενικά

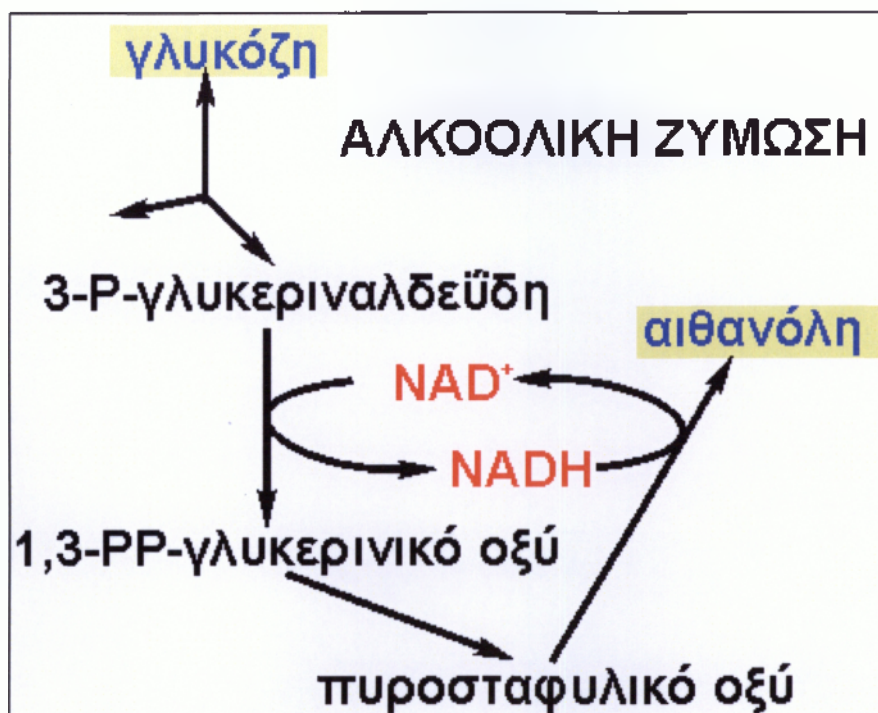
Η χημική εξίσωση που περιγράφει την αλκοολική ζύμωση της γλυκόζης είναι η εξής:



όπου $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ η γλυκόζη, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ η αιθανόλη και CO_2 το διοξείδιο του άνθρακα)

2.2.2. Αλκοολική ζύμωση (Μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος σε αιθανόλη - αναερόβιος μεταβολισμός)

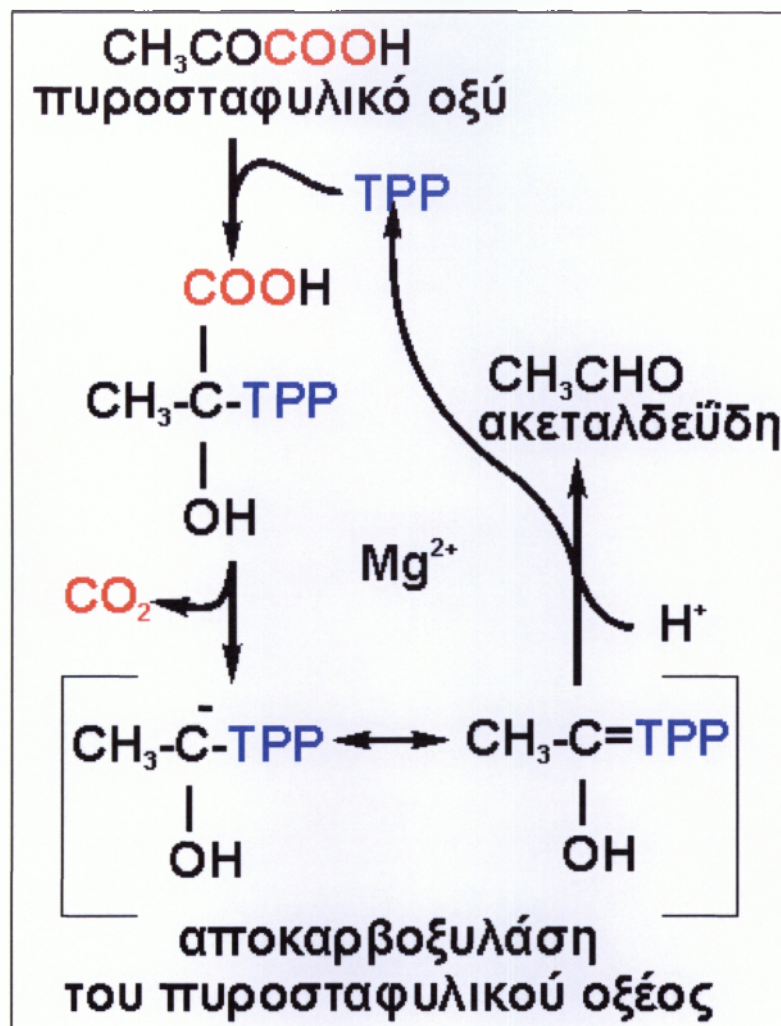
Και εδώ λόγω των αναερόβιων συνθηκών η απόδοση σε ATP είναι μικρότερη, αλλά με την πορεία αυτή αναγεννάται το NAD^+ , απαραίτητη προϋπόθεση για να συνεχισθεί η γλυκολυτική πορεία. Η αλκοολική ζύμωση γίνεται στους ζυμομύκητες και σε μερικούς άλλους μικροοργανισμούς, όχι όμως στους ζωικούς ή σε άλλους οργανισμούς που κάνουν γαλακτική ζύμωση.



Εικόνα 2.5: Η αλκοολική ζύμωση^[7].

Η αιθανόλη προκύπτει από το πυροσταφυλικό οξύ με τις παρακάτω αντιδράσεις:

- Το πυροσταφυλικό μετατρέπεται σε ακεταλδεΐδη, με μια αντίδραση που μοιάζει με οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση με τη διαφορά όμως ότι η «ενεργός αλδεΐδη» δεν οξειδώνεται αλλά ελευθερώνεται σαν ακεταλδεΐδη. Το ένζυμο που συμμετέχει είναι η αποκαρβοξυλάση του πυροσταφυλικού και το συνένζυμο είναι η πυροφωσφορική θειαμίνη (TPP). Επίσης χρειάζεται και η παρουσία ιόντων Mg^{+2} .
- Με την επόμενη αντίδραση, η ακεταλδεΐδη μετατρέπεται σε αλκοόλη, παρουσία του ενζύμου αφυδρογονάση των αλκοολών και με σύγχρονη επανοξείδωση του NADH. Η αντίδραση είναι αμφίδρομη^[7].



Εικόνα 2.6: Οι δυο κυριότερες αντιδράσεις της αλκοολικής ζύμωσης^[7].

Η ζύμωση γίνεται με ζυμομύκητες που είναι μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, οι οποίοι ζουν και σε αερόβιες αλλά και σε αναερόβιες συνθήκες. Ζυμομύκητες χρησιμοποιούνται και στη ζυθοποιία καθώς επίσης και στην αρτοποιία όπου με τη δράση τους παράγεται αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα και καθώς εξέρχονται από τη ζύμη αυτή φουσκώνει.

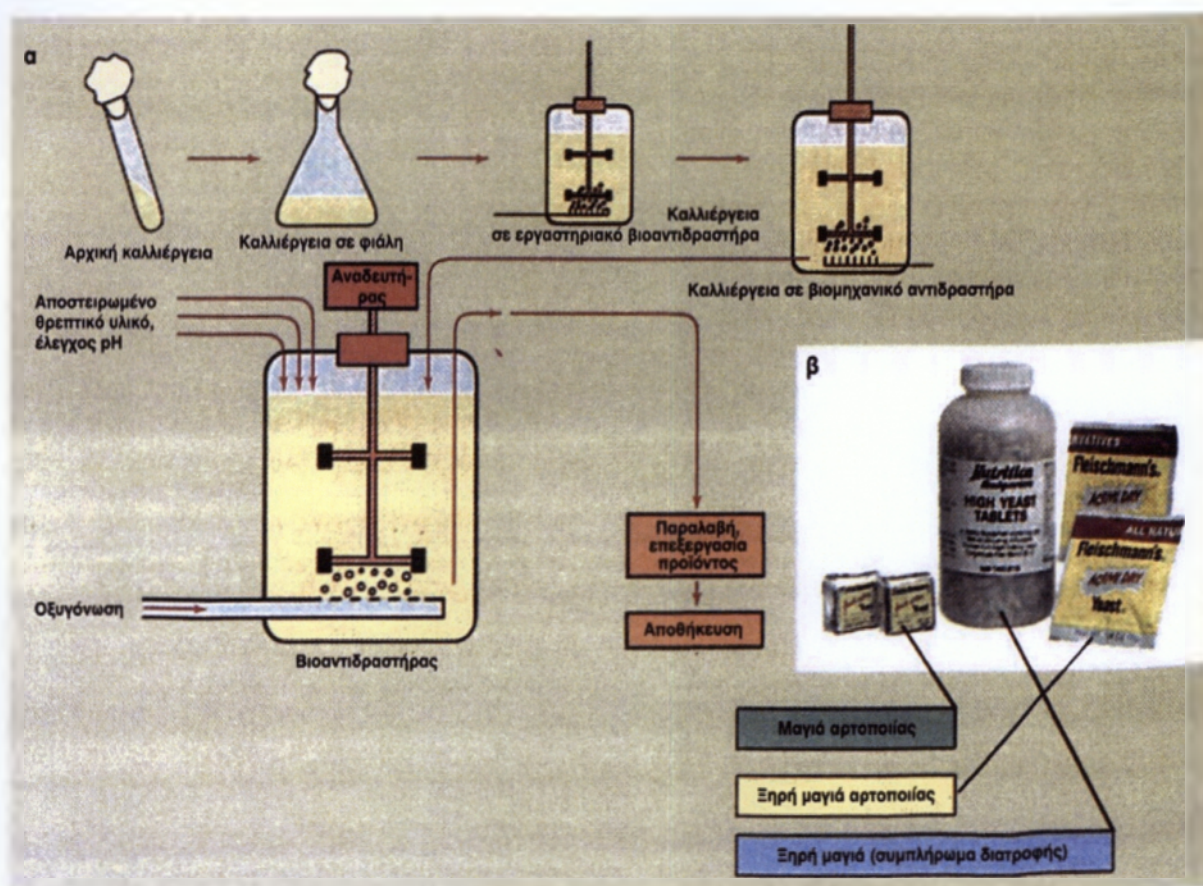
Τα κρασιά παρασκευάζονται με άλλα είδη ζυμομυκήτων που σε κάποιο ποσοστό ζουν επάνω στα σταφύλια.

2.2.3. Αλκοολική ζύμωση στην αρτοποιεία

Η πρώτη ύλη για την παρασκευή ψωμιού είναι το αλεύρι, που περιέχει σε μεγάλες ποσότητες άμυλο. Στους κόκκους του σιταριού περιέχονται ένζυμα, τα οποία διασπούν το άμυλο σε μαλτόζη (δισακχαρίτης) και γλυκόζη. Στη συνέχεια προστίθενται μύκητες, οι οποίοι όπως αναφέραμε και προηγουμένως, διασπούν

αναερόβια τη γλυκόζη σε αιθανόλη και απελευθερώνουν CO_2 . Το παραγόμενο CO_2 διογκώνει τη ζύμη, η οποία φουσκώνει. Η αιθανόλη που παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση εξατμίζεται στο ψήσιμο του ψωμιού. Για τη διάσπαση της γλυκόζης χρησιμοποιούνται κυρίως μύκητες του είδους *Saccharomyces cerevisiae*, επειδή παράγουν μεγάλες ποσότητες CO_2 ^[11].

Η ζύμη αρτοποιίας παράγεται ύστερα από ανάπτυξη αρχικής καλλιέργειας μυκήτων σε βιοαντιδραστήρες και χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή του ψωμιού (Εικόνα 2.7).



Εικόνα 2.7: α. Στάδια παραγωγής ζύμης. β. Φωτογραφία προϊόντων ζύμης: μαγιά αρτοποιίας, συμπλήρωμα διατροφής, ξηρή μαγιά^[9].

2.2.4. Αλκοολική ζύμωση στην οινοποιία

Τα κυριότερα είδη σακχαρομυκήτων που συναντώνται κατά την παρασκευή του οίνου είναι: (α) Σακχαρομύκης ο ελλειψοειδής, ο σπουδαιότερος για την αλκοολική ζύμωση και ανθεκτικότερος στην αλκοόλη καθώς λειτουργεί ακόμα και σε παραπάνω από 15 αλκοολικούς βαθμούς, (β) Σακχαρομύκης ο βραχύχαιμος, λιγότερο

ανθεκτικός, καθώς στους 4-5 βαθμούς αλκοόλης παύει να αναπτύσσεται και καθιζάνει με την οινολάσπη και (γ) Σακχαρομύκης ο παστεριανός, ανθεκτικότερος από τον βραχύαιχμο, δεν μπορεί όμως ούτε αυτός να συμπληρώσει την ζύμωση του γλεύκους, ενώ λειτουργεί αρκετά πιο αργά από τον ελλειψοειδή. Οι σακχαρομύκητες απαντούν πάνω στα σταφύλια, οπότε και μεταφέρονται στο γλεύκος κατά την έκθλιψη τους. Μετά την αλκοολική ζύμωση παραμένουν στην οινολάσπη οπότε και το μεγαλύτερο μέρος τους απομακρύνεται με τις μεταγγίσεις. Κατά την εποχή της ωρίμανσης του καρπού, οι σακχαρομύκητες βρίσκονται στα σταφύλια σε μεγάλη ποσότητα. Επειδή βρίσκονται στην εξωτερική επιφάνεια του φλοιού, σε περίπτωση δυνατής βροχής παρασύρονται από αυτή. Σε τέτοια περίπτωση νέοι μύκητες θα βρίσκονται πάνω στα σταφύλια μετά την πάροδο 2-3 ημερών^[10].

2.2.4.1. Παράγοντες που επιδρούν στην αλκοολική ζύμωση κατά την οينوποίηση^[11]

A. Θερμοκρασία

Ιδιαίτερη σημασία στην πορεία της αλκοολικής ζύμωσης έχει η θερμοκρασία του γλεύκους: σε χαμηλή θερμοκρασία οι σακχαρομύκητες λειτουργούν πολύ αργά ενώ σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 38 °C δεν μπορούν να δράσουν καθόλου. Στην πράξη, ευνοϊκότερη θερμοκρασία για την σωστή οينوποίηση είναι μεταξύ 20 και 30 °C. Σε χαμηλές θερμοκρασίες (λιγότερο από 10°C) η ζύμωση είναι δυνατό να διακοπεί. Οι μικροοργανισμοί της ζύμωσης όμως δεν νεκρώνονται και είναι δυνατό να ξαναρχίσουν την διαδικασία της ζύμωσης όταν η θερμοκρασία επανέλθει σε κανονικά επίπεδα. Το ίδιο μπορεί να συμβεί και στην περίπτωση που η θερμοκρασία υπερβεί τους 35°C, με τη διαφορά όμως ότι σε τέτοια περίπτωση ευνοείται η ανάπτυξη βακτηρίων που είναι δυνατό να προκαλέσουν ποικίλες αλλοιώσεις στον χαρακτήρα του οίνου. Έτσι είναι δυνατό να έχουμε έναρξη οξικής ζύμωσης (ξίδισμα), μιας από τις πλέον επικίνδυνες ασθένειες του οίνου. Σε μια τέτοια περίπτωση ακόμα και αν επανέλθουμε σε κανονική θερμοκρασία ζύμωσης αυτή δεν θα συνεχισθεί εύκολα, εξαιτίας της δραστηριότητας των οξικών βακτηρίων.

B. Οξυγόνο

Οι σακχαρομύκητες μπορούν να ζουν τόσο παρουσία όσο και απουσία οξυγόνου. Στην περίπτωση που το γλεύκος αερίζεται πολύ (αερόβια ζύμωση), έχουμε

εντονότερο πολλαπλασιασμό των κυττάρων της ζύμης και μικρότερη παραγωγή οиноπνεύματος. Αντίθετα, σε γλεύκος που δεν αερίζεται, το αποτέλεσμα είναι δυσκολότερη αναπαραγωγή της ζύμης, αλλά και μεγαλύτερη παραγωγή αλκοόλης. Γι' αυτό λοιπόν, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης φροντίζουμε το γλεύκος να βρίσκεται σε δοχείο με στενό στόμιο ώστε, εξαιτίας του παραγόμενου διοξειδίου του άνθρακα, να μην έρχεται σε συνεχή επαφή με αέρα, ενώ είναι καλό να το αερίζουμε περιοδικά (με μεταγγίσεις ή αερισμό μικρής ποσότητας) προκειμένου να διευκολύνουμε τον σχηματισμό περισσότερων κυττάρων ζύμης ως αποτέλεσμα της έκθεσης ποσότητας γλεύκους στο οξυγόνο.

Γ. Περιεκτικότητα σε σάκχαρα

Όταν τα σάκχαρα βρίσκονται σε υψηλή περιεκτικότητα στο γλεύκος είναι δυνατό να δράσουν ανασταλτικά απέναντι στη λειτουργία των σακχαρομυκητών. Έτσι τα συμπυκνωμένα γλεύκη στα οποία η περιεκτικότητα σε σάκχαρα είναι ανώτερη του 50% παραμένουν αζύμωτα διότι η υψηλή σακχαροπεριεκτικότητα προκαλεί αφυδάτωση των κυττάρων των ζυμών (πλάσμολυση). Δεν απαντάται πρόβλημα, συνήθως, στη ζύμωση γλευκών χαμηλής ποσοστιαίας περιεκτικότητας σακχάρων. Προβλήματα όμως μπορούν να προκύψουν στον παραγόμενο οίνο λόγο χαμηλής αλκοολοπεριεκτικότητας αυτού και άρα χαμηλής ανθεκτικότητας έναντι παθογόνων για το κρασί μικροοργανισμών.

Δ. Περιεκτικότητα σε αιθυλική αλκοόλη

Η συγκέντρωση σε οινόπνευμα στο φρέσκο γλεύκος είναι μηδενική. Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης αυξάνεται ενώ αντίστοιχα η ποσότητα των σακχάρων ελαττώνεται. Έως να φτάσει η περιεκτικότητα του γλεύκους σε περίπου 10% κατ' όγκο οινόπνευμα η ζύμωση είναι έντονη και ζωνρή, καθώς όμως η περιεκτικότητά της αλκοόλης αυξάνεται πέρα από αυτές τις τιμές, οι σακχαρομύκητες καθίστανται λιγότερο ενεργοί.

Σε αλκοολοπεριεκτικότητα ανώτερη από 15% η ζύμωση είναι δυνατό να διακοπεί αν και δεν είναι σπάνιο να συνεχισθεί έως και περιεκτικότητας οиноπνεύματος 18% κατ' όγκο. Η ανασταλτική δράση της υψηλής αλκοολοπεριεκτικότητας απέναντι στην αλκοολική ζύμωση χρησιμοποιείται για την παραγωγή γλυκών οίνων. Έτσι, προσθήκη καθαρού οиноπνεύματος πριν ή κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης η οποία καθιστά τη συγκέντρωση της αλκοόλης

υψηλότερη του 15%, προκαλεί διακοπή της λειτουργίας των ζυμών αφήνοντας ποσότητα σακχάρων αζύμωτη και το αποτέλεσμα είναι η γνωστή γλυκιά γεύση των κρασιών της κατηγορίας αυτής.

Ε. Οξύτητα

Η οξύτητα δεν έχει άμεση σχέση με την κανονική λειτουργία των σακχαρομυκητών, έχει μεγάλη σημασία όμως σε σχέση με την λειτουργία ανεπιθύμητων μικροοργανισμών οι οποίοι σε χαμηλές οξύτητες μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα τόσο στην πορεία της αλκοολικής ζύμωσης όσο και στην ποιότητα του τελικού προϊόντος αυτής. Έτσι, σε γλεύκος με οξύτητα 3,5 - 4,5 (εκφρασμένη σε γραμμάρια θειικού οξέως ανά λίτρο γλεύκους), οι ζύμες δρουν κανονικά ενώ παρεμποδίζεται η δράση επιβλαβών βακτηρίων όπως για παράδειγμα αυτών του όξους.

Μεγάλη, βέβαια, σημασία έχει και το είδος των οξέων που συμμετέχουν στη διαμόρφωση της οξύτητας. Οξέα τα οποία απαντούν κανονικά στο γλεύκος όπως το τρυγικό και το μηλικό επιτρέπουν στις ζύμες να δρουν κανονικά ενώ πτητικά οξέα όπως το οξικό (που είναι αποτέλεσμα της οξικής ζύμωσης) ή το μυρμηκικό επιδρούν ανασταλτικά στην ομαλή πορεία της αλκοολικής ζύμωσης.

Στ. Ανόργανα άλατα

Ανόργανα άλατα όπως αυτά του φωσφόρου ή του καλίου είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των ζυμομυκήτων. Γενικά το γλεύκος περιέχει τις απαραίτητες ουσίες για τους μικροοργανισμούς αυτούς, συνηθίζεται πάντως να προστίθεται ποσότητα φωσφορικού αμμωνίου προκειμένου να ενταθεί η ζύμωση. Είναι αναγκαίο πάντως να έχει προηγηθεί ανάλυση του γλεύκους γιατί σε περίπτωση που έχει προσβληθεί από επιβλαβείς μικροοργανισμούς, η προσθήκη τέτοιων αλάτων θα διευκολύνει την ανάπτυξή τους.

Ζ. Διοξείδιο του θείου

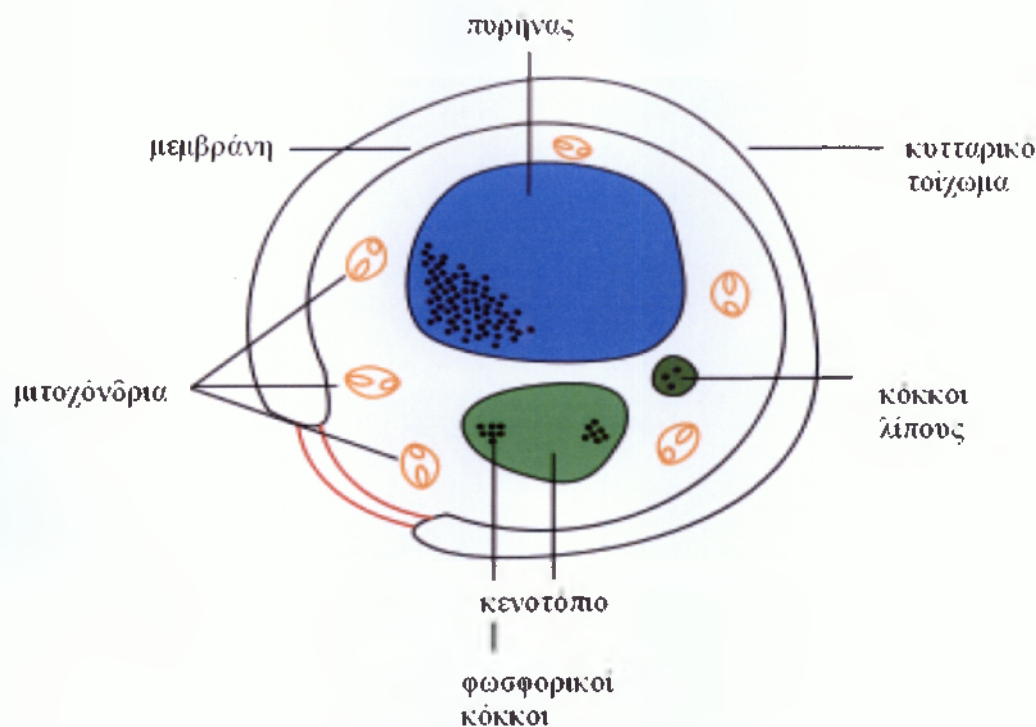
Το διοξείδιο του θείου (SO_2), χρησιμοποιείται ως αναστολέας της δράσης επιβλαβών μικροοργανισμών. Στην περίπτωση των σακχαρομυκητών, εάν χρησιμοποιηθεί πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης ή κατά το πρώτο χρονικό διάστημα όπου το γλεύκος ζυμώνεται έντονα είναι δυνατό είτε να τους ναρκώσει, προσωρινά, είτε να μην επιδράσει καθόλου στη λειτουργία τους. Αν όμως

χρησιμοποιηθεί κατά τα τελευταία στάδια της ζύμωσης όπου εξαιτίας της αυξημένης συγκέντρωσης οινοπνεύματος οι μύκητες έχουν εξασθενήσει, είναι δυνατό να προκαλέσει διακοπή της λειτουργίας τους για απροσδιόριστο χρονικό διάστημα.

Εκτός από την **αλκοολική ζύμωση**, κατά τη διάρκεια της οινοποίησης μπορεί να εκδηλωθεί μια δεύτερη, η μηλογαλακτική. Ονομάζεται μεν ζύμωση, αν και προκαλείται από βακτήρια (σε αντίθεση με την αλκοολική ζύμωση που πραγματοποιείται από ζυμομύκητες). Είναι εξαιρετικά σημαντική για την εξέλιξη των ερυθρών κρασιών, ώστε αν δεν εκδηλωθεί από μόνη της, ο οινοποιός προσπαθεί συνήθως να την προκαλέσει. Κατά τη διάρκειά της το μηλικό οξύ μετατρέπεται σε γαλακτικό, μια αλλαγή που «μαλακώνει» το κρασί, μειώνει δηλαδή τον «άγουρο» και χορτώδη χαρακτήρα του και βοηθά στην ωρίμασή του.

2.2.5. Σακχαρομύκητες

Ημιασκομύκητες της οικογένειας των σακχαρομυκητιδών, της τάξης των ενδομυκητιωδών. Πρόκειται για μονοκύτταρους μύκητες, οι οποίοι πολλαπλασιάζονται αγενώς με εκβλάστηση ή με σχάση και εγγενώς με ασκοσπόρια, χωρίς ωστόσο να σχηματίζουν ασκοκάρπια. Η οικογένεια περιλαμβάνει περισσότερα από 150 είδη, πολλά από τα οποία είναι γνωστά με την κοινή ονομασία ζυμομύκητες ή ζύμες. Το κύτταρο τους έχει σφαιρικό ή ωοειδές σχήμα, φέρει έναν πυρήνα και ένα ή περισσότερα χυμοτόπια και περιβάλλεται από λεπτό κυτταρικό τοίχωμα. Συνήθως είναι άχρωμο, αποκτά όμως μερικές φορές κιτρινωπές ή ωχροκόκκινες αποχρώσεις.



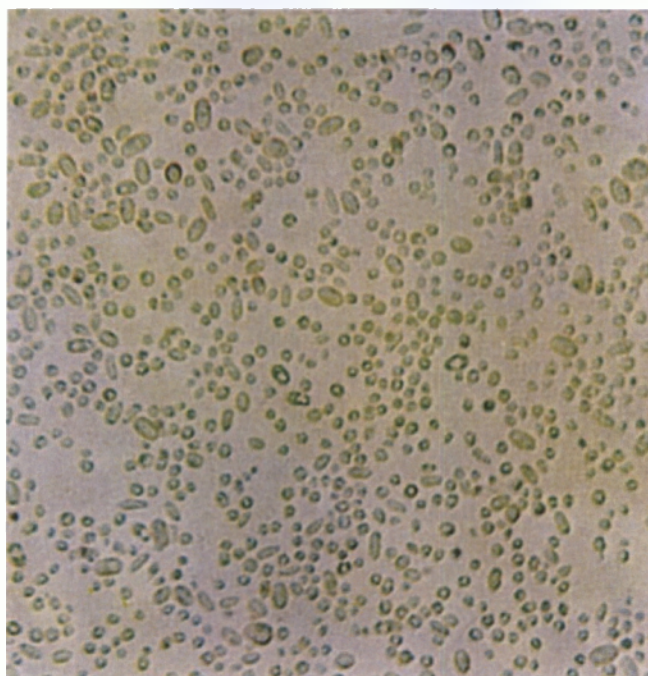
Εικόνα 2.8: Δομή κυττάρου σακχαρομύκητα^[12].

Τα κύτταρα τους μπορεί να είναι μονήρη ή να σχηματίζουν περισσότερο ή λιγότερο διακλαδιζόμενες αλυσίδες. Οι μύκητες αυτοί αναπαράγονται μονογονικά, είτε με εκβλάστηση είτε με σχάση. Στην πρώτη περίπτωση, που παρατηρείται στο είδος *Saccharomyces cerevisiae*, δημιουργείται μια μικρή προεξοχή σε προκαθορισμένα σημεία στην επιφάνεια ενός μητρικού κυττάρου, η οποία σιγά-σιγά διογκώνεται, αποκτά τη μορφή του μητρικού κυττάρου και τελικά αποσπάται για να επαναλάβει την ίδια διαδικασία.

Στη δεύτερη περίπτωση, η οποία παρατηρείται στο γένος *Schizosaccharomyces*, το μητρικό κύτταρο χωρίζεται σε δύο θυγατρικά με εγκάρσια διαίρεση· αρχικά διαιρείται ο πυρήνας και στη συνέχεια δημιουργείται το κυτταρικό τοίχωμα μεταξύ των δύο πυρήνων. Η εγγενής αναπαραγωγή τους γίνεται με σύζευξη δύο σωματικών κυττάρων, δύο ασκοσπορίων ή ενός ασκοσπορίου με ένα σωματικό κύτταρο. Από τη σύζευξη σχηματίζεται το ζυγωτό και από αυτό ο ασκός, δηλαδή το ασκοειδές σποριάγγειο μέσα στο οποίο περιέχονται τα ασκοσπόρια, συνήθως 3, 4 ή 8, τα οποία προορίζονται να βλαστήσουν και να παράγουν τους νέους μύκητες. Η κοινή ονομασία «ζύμες» προέρχεται από την ικανότητα πολλών σακχαρομυκήτων να προκαλούν την αναερόβια διάσπαση (ζύμωση) των σακχάρων, μετατρέποντάς τα σε

οινόπνευμα (αιθυλική αλκοόλη) και διοξείδιο του άνθρακα (CO_2), τα οποία χρησιμοποιούνται στην ποτοποιία και στην αρτοποιία, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως. Το πιο γνωστό είδος ζύμης είναι ο *Saccharomyces cerevisiae*, ο οποίος βρίσκει μεγάλη εφαρμογή στη βιομηχανία, ιδιαίτερα στην οينوποιία και στη ζυθοποιία, λόγω της δυνατότητάς του να προκαλεί ζυμώσεις, παράγοντας αιθυλική αλκοόλη.

Επιπλέον, το είδος αυτό αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για τους επιστήμονες, λόγω της ευκολίας που παρέχει στον χειρισμό του κατά τις γενετικές τροποποιήσεις. Μάλιστα, τα τελευταία χρόνια έχει ολοκληρωθεί η αποκωδικοποίηση του γονιδιώματός του, το οποίο αποτελείται από περίπου 6.000 γονίδια, αποτελώντας πλέον πρότυπο σύστημα μελέτης. Πρέπει να σημειωθεί ότι στους σακχαρομύκητες περιλαμβάνονται μόνο οι ζύμες που εμφανίζουν και εγγενή αναπαραγωγή με ασκοσπόρια (ασκοσπορογόνες ζύμες)^[6, 9].



Εικόνα 2.9: Οι σακχαρομύκητες είναι μονοκύτταροι ασκομύκητες με μεγάλη οικονομική σημασία· στη φωτογραφία, σακχαρομύκητες όπως φαίνονται στο οπτικό μικροσκόπιο^[6].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

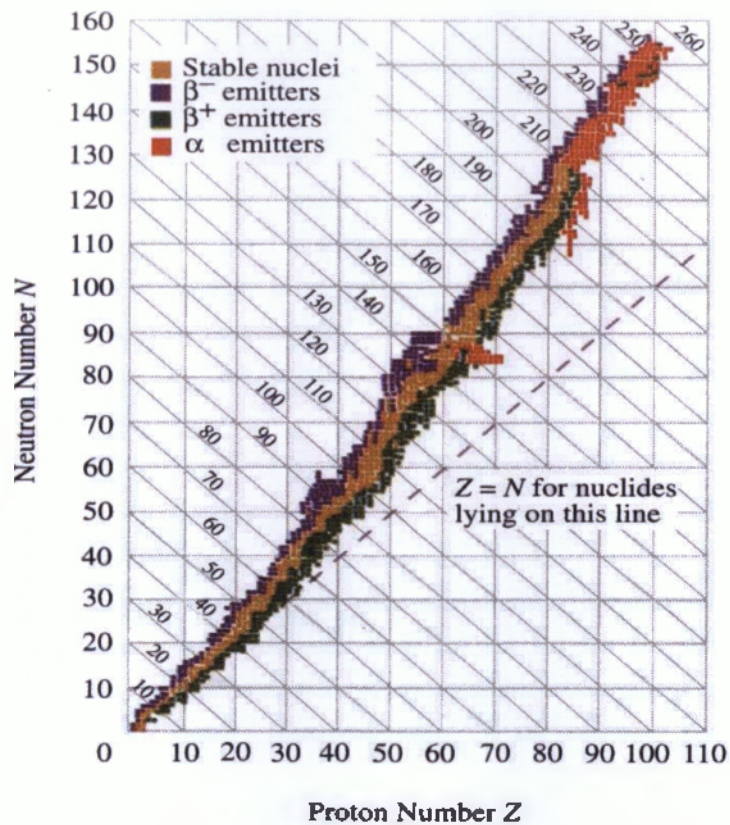
ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ

3.1. Εισαγωγή

Τα άτομα, ως γνωστό, αποτελούνται από πρωτόνια, νετρόνια και ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια έχουν αρνητικό φορτίο ενώ τα πρωτόνια θετικό φορτίο. Επειδή το νετρόνιο αποτελεί στην πράξη συνδυασμό ενός θετικού και ενός αρνητικού φορτίου, εμφανίζεται χωρίς φορτίο. Τα πρωτόνια και τα νετρόνια βρίσκονται στον πυρήνα ενώ τα ηλεκτρόνια σε καθορισμένες τροχιές γύρω από αυτόν.

Πρακτικά, όλη η μάζα ενός ατόμου (~99,9%) βρίσκεται στον πυρήνα του δείχνοντας έτσι ότι τα ηλεκτρόνια του δεν έχουν μάζα. Η μάζα ενός πρωτονίου ή ενός νετρονίου είναι ελαφρώς μεγαλύτερη από μια μονάδα ατομικής μάζας ενώ η μάζα του ηλεκτρονίου είναι μόλις το 1/2000 της ίδιας μονάδας. Η συμμετοχή του ηλεκτρονίου στη μάζα του ατόμου είναι σχεδόν μηδαμινή. Εξαιτίας αυτού ως μαζικός αριθμός ενός ατόμου θεωρείται το άθροισμα των πρωτονίων και των νετρονίων του και ως ατομικός (ο αριθμός-ταυτότητα ενός ατόμου) ο αριθμός των πρωτονίων του. Συχνά, άτομα του ίδιου στοιχείου εμφανίζονται με διαφορετικούς αριθμούς νετρονίων στον πυρήνα τους. Τα άτομα αυτά ονομάζονται *ισότοπα* του στοιχείου, έχουν διαφορετικούς μαζικούς αριθμούς αλλά τον ίδιο ατομικό αριθμό. Ως παράδειγμα αναφέρεται ο άνθρακας ο οποίος έχει δυο αρκετά γνωστά ισότοπα, ένα με μαζικό αριθμό 12 (^{12}C) και ένα με μαζικό αριθμό 14 (^{14}C). Όλα τα άτομα άνθρακα έχουν έξι πρωτόνια (ατομικός αριθμός 6). Συνεπώς ο άνθρακας ^{12}C έχει έξι νετρόνια, ενώ ο άνθρακας ^{14}C οχτώ νετρόνια.

Πυρήνες με μεγάλο ατομικό αριθμό διασπώνται (αυθόρμητα ή εξαιτίας εξωτερικής διέγερσης) σε άλλους με διαφορετικό, υπό ταυτόχρονη έκλυση ακτινοβολίας. Το φαινόμενο ονομάζεται ραδιενεργός διάσπαση. Η μετάπτωση των αρχικών πυρήνων σε πυρήνες άλλων στοιχείων λέγεται μεταστοιχείωση. Οι αρχικοί πυρήνες ονομάζονται μητρικοί ενώ οι παραγόμενοι πυρήνες ονομάζονται θυγατρικοί. Η ενέργεια που απελευθερώνεται κατά τη ραδιενεργό διάσπαση, είτε με τη μορφή κινητικής ενέργειας των σωματίων είτε με τη μορφή H/M ακτινοβολίας (ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας) προέρχεται από μετατροπή μέρους της μάζας του αρχικού πυρήνα σε ενέργεια.



Σχήμα 3.1: Οι πυρήνες μεταστοιχειώνονται αυθόρμητα για να πέσουν σε μια ευνοϊκότερη ενεργειακή κατάσταση.

Παραδείγματα ασταθών πυρήνων, σημαντικών στις γεωλογικές επιστήμες, είναι τα ^{40}K , ^{87}Rb , ^{232}Th , ^{235}U και ^{238}U . Κατά τη διάσπαση των ασταθών πυρήνων εκπέμπονται πυρηνικά σωματίδια, όπως σωματίδια α και β , ενώ συνήθως εκπέμπεται και ακτινοβολία γ ^[13].

3.2. Ιστορία

Το φαινόμενο της Ραδιενέργειας παρατηρήθηκε για πρώτη φορά από τον γάλλο φυσικό Ανρί Μπεκερέλ το 1896, όταν πρόσεξε πως το θειϊκό κάλιο-ουρανίλιο εκπέμπει συνεχώς ακτινοβολία που μοιάζει με τις ακτίνες X και προσβάλλει τη φωτογραφική πλάκα. Τις ίδιες ακτίνες, που αρχικά ονομάστηκαν "ακτίνες Μπεκερέλ" ή "ακτίνες ουρανίου", εκπέμπουν και άλλες ενώσεις του ουρανίου. Το φαινόμενο αυτό της αυθόρμητης εκπομπής ενέργειας χωρίς εξωτερικό αίτιο ήρθε και τάραξε τις τότε κρατούσες αντιλήψεις στη Φυσική, διότι φαινομενικά ερχόταν σε αντίθεση με το θεμελιώδες αξίωμα της διατήρησης της ενέργειας. Αργότερα όμως, με τη συστηματική μελέτη του φαινομένου διαπιστώθηκε πως δεν συνέβαινε κάτι τέτοιο.

Το 1898 το ζεύγος Κιουρί (Πιέρ Κιουρί και Μαρία Σκλοντόφσκα) απομόνωσαν το χημικό στοιχείο *ράδιο* -που είναι ραδιενεργό σε μεγαλύτερο βαθμό από το ουράνιο- καθώς και άλλες ουσίες εκμεταλλευόμενοι την ιδιότητα των εκπεμπόμενων ακτινών να καθιστούν αγωγίμο τον αέρα. Έτσι δια μετρήσεως της ραδιενέργειας κατάφεραν να καταδείξουν πως ο πισσουρανίτης και κάποια άλλα ορυκτά παρουσιάζουν περισσότερη ραδιενέργεια από το καθαρό μέταλλο ουράνιο, που λαμβάνεται μετά από κατεργασία αυτού του ορυκτού. Έτσι, το ζεύγος Κιουρί κατάφερε να απομονώσει το στοιχείο πολώνιο, (όνομα που δόθηκε από τη Μαρία Κιουρί προς τιμή της πατρίδας της), και που χημικά συγγενεύει με το Βισμούθιο.

Στη συνέχεια το ζεύγος με τη συνεργασία του Μπεμόντ πέτυχε την απομόνωση μετά από συστηματικές ανακρυσταλλώσεις μιας δεύτερης ουσίας λίαν εντόνως ραδιενεργού του ραδίου, η οποία συγγενεύει προς το Βάριο και που απομονώθηκε υπό μορφή χλωριούχου και βρωμιούχου άλατος. Αργότερα ο Ντεμπιέρν απομόνωσε από τον πισσουρανίτη και τρίτη ραδιενεργή ουσία που την ονόμασε ακτίνιο και που συγγενεύει με το Θόριο. Τις ακτινοβολίες εκ των ενώσεων του θορίου μελέτησε επισταμένα ο βαρόνος Έρνεστ Ράδερφορντ.

Το 1902 οι Ράδερφορντ και Σόντνυ αντελήφθησαν τελικά ότι η πηγή της εκπεμπόμενης ενέργειας είναι η μερική διάσπαση των ατόμων, κατά την οποία και εκσφενδονίζεται τεμάχιο του πυρήνα τους με μεγάλη ταχύτητα, μεταστοιχειούμενο σε άλλο άτομο.

Σήμερα, εκτός των ραδιενεργών ουσιών που απαντώνται στη Φύση, κατορθώθηκε και η τεχνητή παρασκευή ραδιενεργών στοιχείων με συνέπεια να διακρίνουμε τη ραδιενέργεια σε φυσική και σε τεχνητή^[3].

3.3. Εφαρμογές

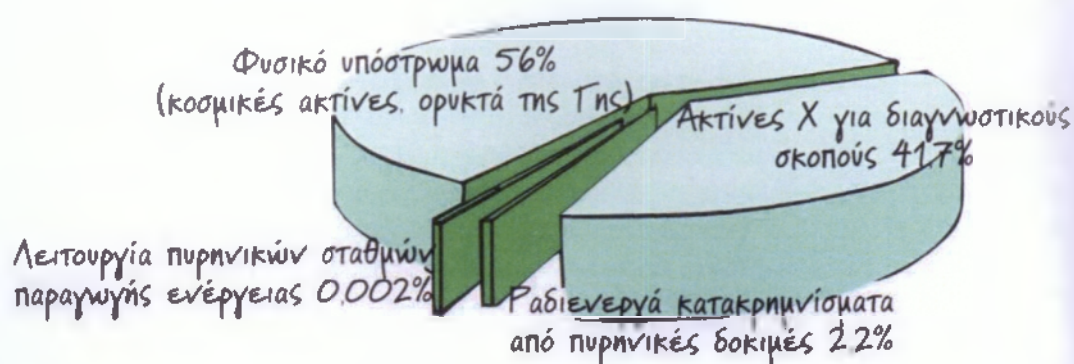
Η ραδιενέργεια σήμερα χρησιμοποιείται στην ιατρική για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς, στη βιομηχανία, κυρίως για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας μέσω των πυρηνικών αντιδραστήρων, στην παλαιοντολογία και την αρχαιολογία για τον προσδιορισμό της ηλικίας ευρημάτων, ορυκτών και πετρωμάτων μέσω της ραδιοχρονολόγησης. Χρησιμοποιείται, επίσης, σε περιβαλλοντολογικές μελέτες, όπου μέσω των λεγόμενων ραδιοϊσοτοπικών δεικτών εξετάζεται η ρύπανση του νερού των ποταμών και των λιμνών, καθώς και η ρύπανση της ατμόσφαιρας από τα βιομηχανικά αερία (βιομηχανικά καυσαέρια). Τέλος, ραδιενεργές ακτινοβολίες χρησιμοποιούνται για την πρόκληση μεταλλάξεων στα φυτά με σκοπό την ανάπτυξη

ανθεκτικότερων ειδών, καθώς και για την αποστείρωση ή συντήρηση ορισμένων τροφίμων, χάρη στη μικροβιοκτόνο δράση που έχουν.

Οι συνηθέστερες διαδικασίες εκπομπής ραδιενεργού ακτινοβολίας είναι η διάσπαση άλφα (α) (εκπομπή πυρήνων ηλίου), η διάσπαση βήτα (β) (εκπομπή ηλεκτρονίων ή ποζιτρονίων) και η αποδιέγερση γάμμα (γ) (εκπομπή φωτονίων ακτινοβολίας γ). Σπανιότερες ραδιενεργές διαδικασίες είναι:

- η πυρηνική σχάση, κατά την οποία ένας πυρήνας χωρίζεται σε δύο τμήματα ίσης περίπου μάζας που θα αποτελέσουν δύο άλλους πυρήνες, με ταυτόχρονη εκπομπή νετρονίων και απελευθέρωση τεράστιων ποσών άλλων μορφών ενέργειας (θερμότητα, ωστικό κύμα κ.λπ.).
- η εκπομπή πρωτονίων, που ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1970 και παρατηρείται σε ορισμένους ασταθείς ατομικούς πυρήνες, των οποίων ο αριθμός πρωτονίων είναι σημαντικά αυξημένος σε σχέση με αυτόν των νετρονίων.
- η εκπομπή βαρέων ιόντων, που αποτελεί μια ενδιάμεση διαδικασία ανάμεσα στην πυρηνική σχάση και τη διάσπαση α . Προβλέφθηκε θεωρητικά το 1980 και επιβεβαιώθηκε πειραματικά το 1984 ως εκπομπή πυρήνων άνθρακα-14 κατά τη ραδιενεργό διάσπαση του ραδίου-233^[13].

Μονάδα της βιολογικής επίδρασης της ραδιενεργού ακτινοβολίας στον ανθρώπινο οργανισμό είναι από το 1986 το σίβερτ (sievert, sv) και τα υποπολλαπλάσια του, σε αντικατάσταση της παλιότερης μονάδας, του ρεμ (rem). Το σίβερτ αντιστοιχεί σε ένα τζάουλ ανά χιλιόγραμμα (1 J/kg) και είναι ίσο με 100 ρεμ. Ο ανθρώπινος οργανισμός είναι εκτεθειμένος σε διάφορες πηγές φυσικής και τεχνητής ραδιενέργειας, ενώ η ακτινοβολία που δέχεται σε ετήσια βάση δεν πρέπει να ξεπερνά τα 2,5 μιλισίβερτ (msv). Το μεγαλύτερο μέρος της ετήσιας έκθεσης του ανθρώπου στη ραδιενέργεια προέρχεται από φυσικές πηγές όπως είναι το διάστημα, η ίδια η γη, ο αέρας και οι τροφές. Σύμφωνα με μελέτη της Ευρωπαϊκής Κοινότητας (σημ. Ευρωπαϊκή Ένωση) του 1991, η ετήσια δόση ραδιενεργού ακτινοβολίας προέρχεται από τους εξής παράγοντες: ραδόνιο 50%, έδαφος 14%, ιατρικές εφαρμογές 12%, τρόφιμα 12%, κοσμική ακτινοβολία 10% και 2% από άλλες πηγές.



Σχήμα 3.2: Προέλευση ακτινοβολίας που δέχεται ο μέσος κάτοικος των ΗΠΑ^[3]

Έδαφος και κτίρια: Ολόκληρη η γη περιέχει πολυάριθμα φυσικά ραδιενεργά ισότοπα, όπως π.χ. το ουράνιο-238, το θόριο-232 και το κάλιο-40, με αποτέλεσμα ο άνθρωπος να δέχεται ραδιενέργεια απευθείας από το έδαφος αλλά και από τα φυσικά υλικά κατασκευής των κατοικιών. Ιδιαίτερα προβληματικό εμφανίζεται το ραδόνιο, ένα αδρανές ραδιενεργό αέριο που εκπέμπεται από πολλά πετρώματα, κυρίως από το γρανίτη και τον μπεντονίτη, και έχει την τάση να συσσωρεύεται στους εσωτερικούς χώρους σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από εκείνες του εξωτερικού περιβάλλοντος, εκτός εάν οι χώροι αυτοί αερίζονται καλά. Κατεξοχήν εκτεθειμένοι είναι οι εργαζόμενοι σε κτίρια που κλιματίζονται όλο το 24ωρο και κατά συνέπεια δεν αερίζονται επαρκώς. Το πρόβλημα του ραδονίου απασχολεί έντονα την Ευρωπαϊκή Ένωση, γιατί όπως αναφέρθηκε καλύπτει το 50% της δόσης φυσικής ακτινοβολίας που δέχονται ετησίως οι Ευρωπαίοι, και διεξάγονται έρευνες για την αντιμετώπισή του.

Ιατρικές εφαρμογές: Όπως είναι φυσικό, οι διάφορες χρήσεις της ραδιενέργειας στην ιατρική επιβαρύνουν κατά ποσοστά που ποικίλλουν τον ανθρώπινο οργανισμό. Οι συνηθέστερες ιατρικές χρήσεις είναι οι διαγνωστικές ακτίνες X στην ακτινογραφία και τα ραδιοφάρμακα για τον εντοπισμό των όγκων. Ακόμη μεγαλύτερες δόσεις δέχονται οι ασθενείς κατά τη θεραπεία του καρκίνου, αν και η ραδιενεργός ακτινοβολία κατευθύνεται προσεκτικά προς το καρκίνωμα, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η επίδρασή της στους γύρω ιστούς. Ένα μέρος της ακτινοβολίας περνάει αναπόφευκτα στους γιατρούς, τις νοσοκόμες, τους ραδιολόγους, το προσωπικό που ασχολείται με την απομάκρυνση των ραδιενεργών απορριμμάτων, καθώς και στους τεχνικούς που χειρίζονται τα μηχανήματα.

Τρόφιμα: Τα ραδιενεργά ισότοπα του φλοιού της Γης περνούν στο νερό και μέσω της τροφικής αλυσίδας στα φυτά και τα ζώα και τέλος στον άνθρωπο. Υπάρχουν ορισμένες τροφές με αυξημένη ραδιενέργεια, όπως το τσάι, ο καφές και το ψωμί. Σε κάθε περίπτωση, όμως, οι δόσεις που περιέχουν εξακολουθούν να είναι απειροελάχιστες, ενώ ο οργανισμός διαθέτει μηχανισμούς απορύθμισης των δόσεων των φυσικών ισωτόπων και αποβάλλει τα πλεονάζοντα.

Η κοσμική ακτινοβολία αυξάνεται με την απομάκρυνση από την επιφάνεια της Γης. Τόποι, επομένως, με μεγάλο υψόμετρο δέχονται μεγαλύτερες δόσεις από ό,τι τα παραθαλάσσια και τα πεδινά μέρη. Αυξημένες δόσεις ραδιενέργειας λόγω της κοσμικής ακτινοβολίας δέχονται, επίσης, όσοι πραγματοποιούν συχνά αεροπορικά ταξίδια, και φυσικά τα πληρώματα των αεροσκαφών.

Άλλες πηγές: Οι δοκιμές πυρηνικών όπλων στη δεκαετία του 1950 και στις αρχές της δεκαετίας του 1960 στην ατμόσφαιρα προκάλεσαν τη διασπορά ραδιενεργών ισωτόπων που στη συνέχεια εναποτέθηκαν στο έδαφος και τους ωκεανούς. Η απαγόρευση των ανοιχτών πυρηνικών δοκιμών και η διεξαγωγή μόνο υπογείων βελτίωσε αρκετά την κατάσταση, με αποτέλεσμα η ραδιενεργός ακτινοβολία που προέρχεται από τα κατάλοιπα των πυρηνικών δοκιμών να έχει μειωθεί το 1996 στο ένα εκατοστό περίπου της περιόδου 1963-64. Η ραδιενέργεια από τη λειτουργία των πυρηνικών αντιδραστήρων κινείται γενικά σε ανεκτά επίπεδα, με εξαίρεση πυρηνικά ατυχήματα όπως αυτό τον Τσερνομπίλ, όπου ειδικότερα οι κάτοικοι σε ακτίνα 30 χλμ. από το εργοστάσιο δέχτηκαν εκατονταπλάσιες δόσεις από τις επιτρεπόμενες. Μικρές δόσεις ραδιενέργειας δέχεται, τέλος, ο άνθρωπος από τις έγχρωμες τηλεοράσεις, τις οθόνες των υπολογιστών και από άλλα αντικείμενα, όπως είναι π.χ. οι ανιχνευτές καπνού. Παλιότερα οι φωσφορίζουσες πλάκες των ρολογιών κατασκευάζονταν από ράδιο-226 που έχει αυξημένη ακτινοβολία, αλλά σήμερα έχει αντικατασταθεί από ένα ραδιενεργό ισότοπο του υδρογόνου, το τρίτιο.

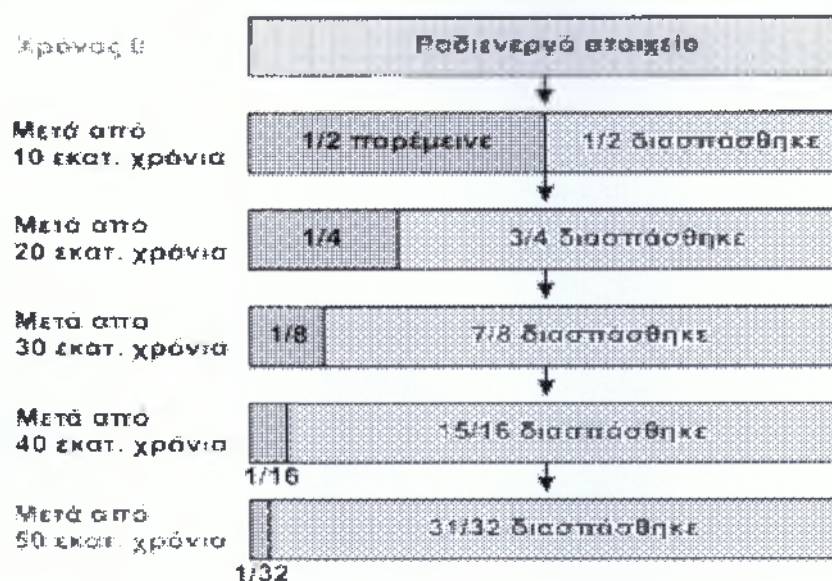


Εικόνα 3.1: Ατομική βόμβα^[3]

3.3.1. Ραδιοχρονολόγηση

Η ανακάλυψη της ραδιενέργειας υπήρξε ένα από τα μεγαλύτερα επιτεύγματα των φυσικών επιστημών. Μεταξύ των πλέον σημαντικών αποτελεσμάτων της ανακάλυψης της ραδιενέργειας είναι η ραδιοχρονολόγηση, η εύρεση δηλαδή της ηλικίας ορυκτών και πετρωμάτων. Η ραδιοχρονολόγηση αποτελεί μια αξιόπιστη μέθοδο στη γεωλογία γιατί ο ρυθμός με τον οποίο διασπώνται τα ραδιενεργά ισότοπα είναι σταθερός και δεν επηρεάζεται από κανένα χημικό ή φυσικό παράγοντα. Εάν θεωρήσουμε ότι αρχίζει η διάσπαση ενός ραδιενεργού υλικού βάρους ενός κιλού, η διάσπαση του μισού κιλού θα συντελεστή σε μία ημιπερίοδο ζωής, το μισό του υπολοίπου υλικού, δηλαδή το ένα τέταρτο, θα διασπαστεί σε μία άλλη ημιπερίοδο ζωής, το μισό του υπολοίπου, δηλαδή το ένα όγδοο, σε μία άλλη, κ.ο.κ.

Η αρχή της ραδιοχρονολόγησης μπορεί να εκφραστεί με το παρακάτω σχήμα όπου χρησιμοποιείται ένα υποθετικό ραδιενεργό μητρικό υλικό, με ημιπερίοδο ζωής 10 εκ. χρόνων, το οποίο διασπάται κατευθείαν στο σταθερό θυγατρικό προϊόν.



Σχήμα 3.3: Διάσπαση ενός υποθετικού ραδιενεργού ισότοπου με ημιπερίοδο ζωής 10 εκατομμύρια χρόνια.

Υπολογίζοντας τα ποσοστά του ραδιενεργού μητρικού και του σταθερού θυγατρικού μπορούμε να προσδιορίσουμε την ηλικία του δείγματος. Στο παράδειγμα του σχήματος, όταν οι ποσότητες του μητρικού και του θυγατρικού είναι ίσες (αναλογία 1:1), γνωρίζουμε ότι έχει παρέλθει μία ημιπερίοδος ζωής και ότι η ηλικία του δείγματος είναι 10 εκ. χρόνια. Όταν η αναλογία είναι 1:3 σημαίνει ότι έχουν παρέλθει δύο ημιπερίοδοι ζωής και η ηλικία του δείγματος είναι 20 εκ. χρόνια ενώ όταν η αναλογία είναι 1:32 η ηλικία του δείγματος είναι 50 εκ. χρόνια. Από τα διάφορα ραδιενεργά ισότοπα τα οποία βρίσκονται στη φύση, πέντε έχουν αποδειχθεί σημαντικά για την αξιόπιστη ραδιοχρονολόγηση των πετρωμάτων. Τα ισότοπα αυτά με τα αντίστοιχα σταθερά θυγατρικά τους και τις ημιπεριόδους ζωής τους απεικονίζονται στον πίνακα που ακολουθεί^[13].

Πίνακας 1: Ημιπερίοδοι ζωής σημαντικών ραδιενεργών ισότόπων

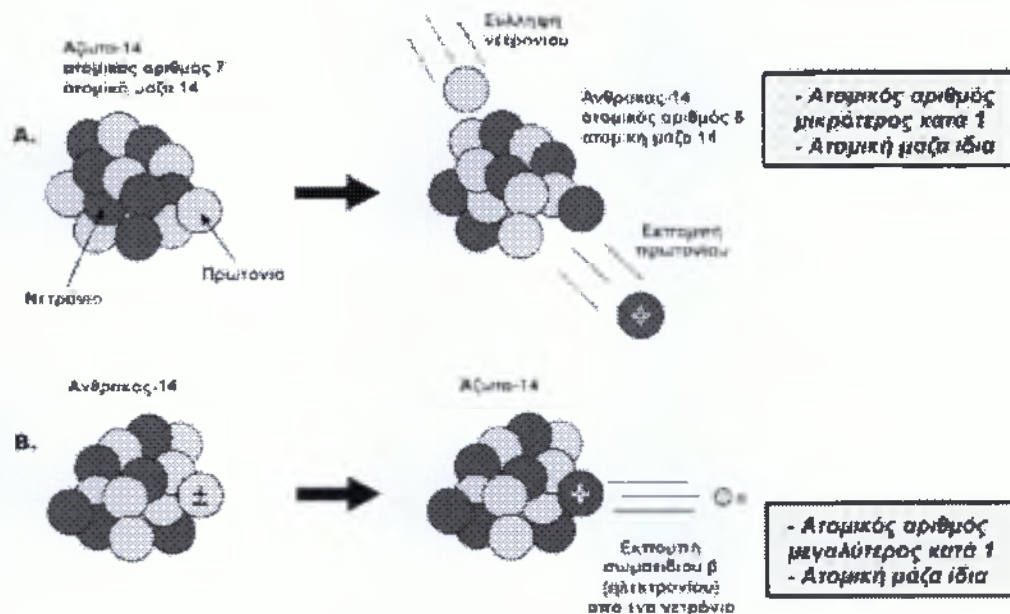
Ουράνιο-238	²³⁸ U	Μόλυβδος-206	²⁰⁶ Pb	4,5 δισεκατ. έτη
Ουράνιο-235	²³⁵ U	Μόλυβδος-207	²⁰⁷ Pb	713 εκατ. έτη
Θόριο-232	²³² Th	Μόλυβδος-208	²⁰⁸ Pb	14,1 δισεκατ. έτη
Ρουβίδιο-87	⁸⁷ Rb	Στρόντιο-87	⁸⁷ Sr	47 δισεκατ. έτη
Κάλιο-40	⁴⁰ K	Αργό-40	⁴⁰ Ar	1,3 δισεκατ. έτη

3.3.2. Ραδιοάνθρακας

Για χρονολόγηση πρόσφατων γεγονότων χρησιμοποιείται το ραδιενεργό ισότοπο του άνθρακα ^{14}C γνωστός και ως ραδιοάνθρακας. Επειδή η ημιπερίοδος ζωής του είναι μόλις 5730 χρόνια, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη χρονολόγηση γεγονότων από τους ιστορικούς χρόνους αλλά και για γεγονότα της πρόσφατης γεωλογικής ιστορίας, μέχρι και 75.000 χρόνων.

Ο ραδιοάνθρακας σχηματίζεται συνεχώς στην ανώτερη ατμόσφαιρα ως αποτέλεσμα βομβαρδισμού κοσμικής ακτινοβολίας, κατά τον οποίο κοσμική ακτινοβολία (πυρηνικά σωματίδια υψηλής ενέργειας) διασπά τους πυρήνες αερίων και απελευθερώνει νετρόνια. Τα νετρόνια στη συνέχεια απορροφούνται από άζωτο (N , ατομικός αριθμός 7, μαζικός αριθμός 14) αναγκάζοντας τον πυρήνα του να εκπέμπει ένα πρωτόνιο. Έτσι, ο ατομικός αριθμός του αζώτου μειώνεται κατά ένα - γίνεται 6 - με συνέπεια τη δημιουργία ενός νέου στοιχείου του ^{14}C (σχήμα 3.4). Το ισότοπο αυτό του άνθρακα ενώνεται με οξυγόνο προς σχηματισμό διοξειδίου του άνθρακα, κυκλοφορεί στην ατμόσφαιρα και απορροφάται από τους ζώντες οργανισμούς. Ως αποτέλεσμα αυτού όλοι οι οργανισμοί περιέχουν ένα μικρό ποσοστό ραδιοάνθρακα.

Όσο ο οργανισμός είναι ζωντανός, ο διασπώμενος ραδιοάνθρακας αντικαθίσταται συνεχώς και έτσι η αναλογία του ^{14}C προς το πιο κοινό ισότοπο του άνθρακα, τον ^{12}C παραμένει σταθερή. Όταν όμως ο οργανισμός πεθάνει, παύει να απορροφά διοξείδιο του άνθρακα και συνεπώς δεν παίρνει ραδιοάνθρακα για να αντικαταστήσει τον διασπώμενο. Αντίθετα, το ποσοστό του ραδιοάνθρακα εντός του νεκρού οργανισμού μειώνεται βαθμιαία καθώς αυτός διασπάται προς σχηματισμό ^{14}N με εκπομπή β-σωματιδίων (σχήμα 3.4)^[13].



Σχήμα 3.4: A) σχηματισμός και B) διάσπαση του άνθρακα.

Συγκρίνοντας λοιπόν τις αναλογίες του ^{14}C και του ^{12}C σε ένα δείγμα, μπορούμε να προσδιορίσουμε την ηλικία του. Αν και ο ραδιοάνθρακας είναι χρήσιμος μόνο για τη χρονολόγηση του τελευταίου μικρού κλάσματος του γεωλογικού χρόνου, έχει καταστεί ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για τους ανθρωπολόγους, τους αρχαιολόγους, καθώς και για τους γεωλόγους οι οποίοι μελετούν την πολύ πρόσφατη ιστορία της γης.

3.3.3. Ισοτοπική ιχνηθέτηση

Οι φυσικές και χημικές ιδιότητες των διαφόρων ισοτόπων ενός στοιχείου (ραδιενεργών και μη) διαφέρουν, αλλά ελάχιστα. Εάν επομένως στο στοιχείο προστεθεί μικρή ποσότητα ραδιενεργού ισοτόπου του, το ισότοπο θα ακολουθεί το στοιχείο σε όλες τις χημικές, φυσικές ή βιολογικές μεταβολές. Παρακολουθώντας επομένως την πορεία του ραδιοϊσοτόπου με μέτρηση της ραδιενέργειας, λαμβάνουμε πληροφορίες για την πορεία του στοιχείου κατά τις μεταβολές αυτές.

Έστω για παράδειγμα ότι επιδιώκεται η μέτρηση της ταχύτητας με την οποία τα άτομα μόλυβδου κινούνται μέσα σε ένα τεμάχιο μόλυβδου. Η μελέτη αυτή δεν είναι δυνατό να γίνει με τις συνήθεις φυσικές ή χημικές μεθόδους. Αυτό οφείλεται

στο ότι με τις μεθόδους αυτές δεν είναι δυνατόν να διαφοροποιηθούν πειραματικά ορισμένα από τα άτομα μολύβδου και να μελετηθεί η κίνησή τους διαμέσου των υπολοίπων πανομοιότυπων ατόμων του υπό μελέτη τεμαχίου. Αυτό καθίσταται δυνατό με τη χρήση ενός εκ των ραδιοϊσοτόπων του μολύβδου. Έτσι, εάν επί της επιφάνειας φύλλου μολύβδου τοποθετηθεί ραδιενεργός μόλυβδος, καθίσταται δυνατή η μελέτη της ταχύτητας με την οποία αυτός εισχωρεί εντός του φύλλου^[13].

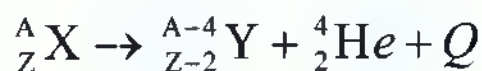
3.4. Ραδιενεργές Διασπάσεις

3.4.1. Διάσπαση με εκπομπή σωματιδίων α



Σχήμα 3.5: Εκπομπή σωματιδίων α^[18]

Ένα σωματίδιο α αποτελείται από δυο πρωτόνια και δυο νετρόνια, ισχυρά συνδεδεμένα μεταξύ τους. Τα σωματίδια α, τα οποία είναι όμοια με τον πυρήνα του ${}^4\text{He}$, εκπέμπονται από τους ασταθείς πυρήνες κατά την α-διάσπαση. Σε αυτό το είδος διάσπασης ο ατομικός αριθμός του ατόμου μειώνεται κατά δυο εξαιτίας της απομάκρυνσης δυο πρωτονίων, ενώ ο μαζικός αριθμός κατά 4.

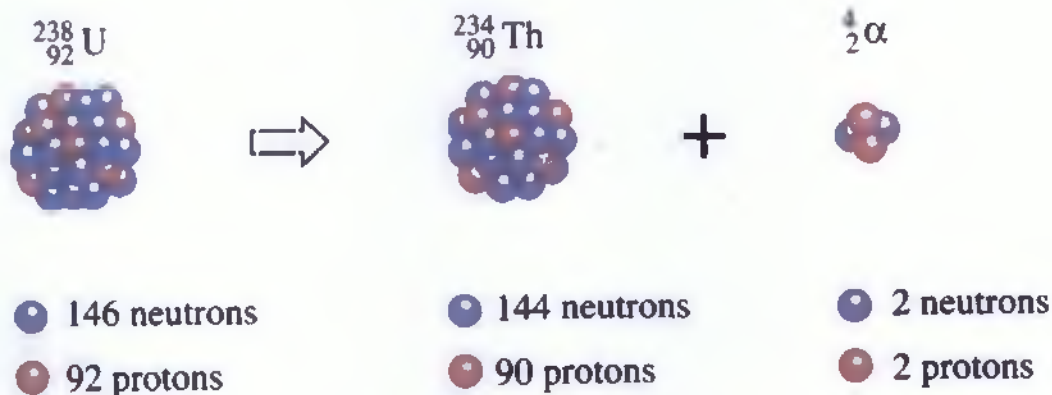
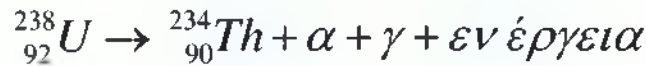


όπου Q η διευθέτηση καθαρής μάζας $Q = (m_X - m_Y - m_\alpha) c^2$

$Q > 0$ Αυθόρμητη διάσπαση

$Q < 0$ Μη Αυθόρμητη διάσπαση

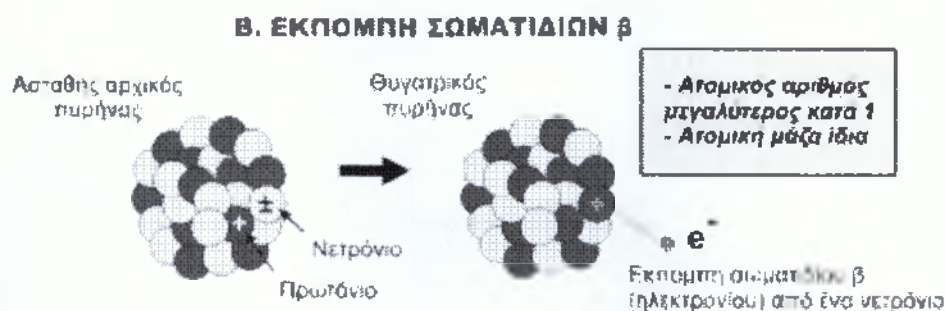
Για παράδειγμα :



Σχήμα 3.6: Απεικόνιση της ραδιενεργού διάσπασης του ουρανίου.

Η ακτινοβολία-α απορροφάται εύκολα από την ύλη. Ανακόπτεται με απλό φύλλο χαρτί. Το σωματίο α, κατά τη διαδρομή του στον αέρα, συγκρούεται με τα μόρια του αέρα και η ενέργεια του μειώνεται διαδοχικά μέχρι μηδενισμού μέσα σε λίγα cm. Το ενεργειακό φάσμα των σωματιών α είναι γραμμικό, δηλ. κατά την έξοδό τους από τον πυρήνα έχουν καθορισμένες τιμές ενέργειας, που οφείλεται στην κβάντωση των ενεργειακών σταθμών του πυρήνα^[13].

3.4.2. Εκπομπή ακτίνων β (β⁻ ή β⁺)



Σχήμα 3.7: Εκπομπή σωματιδίων β^[3]

Ασταθείς πυρήνες, οι οποίοι έχουν σε σχέση με τους αντίστοιχους σταθερούς περίσσεια νετρονίων, τείνουν να μετατραπούν σε σταθερούς με αύξηση του αριθμού των πρωτονίων. Αυτό επιτυγχάνεται με εκπομπή από τον πυρήνα ενός αρνητικά φορτισμένου σωματιδίου, οπότε αυξάνεται αντίστοιχα το θετικό φορτίο. Κατά την

απομάκρυνση από τον πυρήνα ενός αρνητικού φορτίου είναι σαν ένα νετρόνιο να μετατρέπεται σε πρωτόνιο (β^- διάσπαση) :



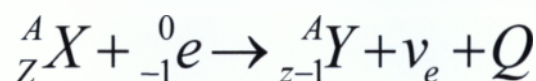
όπου : n το νετρόνιο, β^- το εκπεμπόμενο ηλεκτρόνιο και το αντινεutrino ουδέτερο σωματίδιο, αμελητέας μάζας (διάνυσμα στροφορμής αντιπαράλληλο με διάνυσμα γραμμικής ορμής), δηλαδή :



Πρέπει να σημειωθεί ότι το ελεύθερο (εκτός πυρήνος) νετρόνιο είναι ασταθές και διασπάται άμεσα σε ένα ηλεκτρόνιο και ένα αντινεutrino. Όταν συνδέεται όμως με τα άλλα νουκλεόνια εντός του πυρήνα είναι δυνατό να αποτραπεί η διάσπαση, εκτός εάν υπάρχουν στον πυρήνα περισσότερα του δέοντος νετρόνια. Σημειώνεται μάλιστα ότι εκ των 80 και πλέον στοιχειωδών σωματιδίων μόνο το πρωτόνιο και το ηλεκτρόνιο φαίνεται να είναι σε ελεύθερη κατάσταση σταθερά έναντι διασπάσεως σε άλλα ελαφρότερα σωματίδια.

Σε πυρήνες στους οποίους υπάρχει περίσσεια πρωτονίων, υπάρχει τάση ελαττώσεως του αριθμού τους ως ακολούθως :

- Με σύλληψη ενός από τα περιφερόμενα ηλεκτρόνια από την πρώτη στιβάδα (K), οπότε ένα πρωτόνιο του πυρήνα μετατρέπεται σε νετρόνιο, δηλαδή :

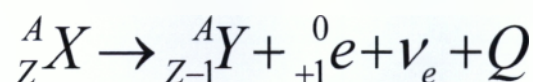


Το συλλαμβανόμενο ηλεκτρόνιο αντικαθίσταται αμέσως δια μεταπτώσεως από την εξωτερική στιβάδα με ταυτόχρονη εκπομπή ακτινών X.

- Με εκπομπή από τον πυρήνα ενός ποζιτρονίου (β^+ διάσπαση)

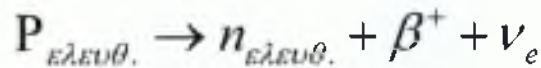


όπου n το νετρόνιο, β^+ το ποζιτρόνιο, το οποίο έχει μάζα ηλεκτρονίου αλλά φορτίο θετικό και το νεutrino έχει διάνυσμα στροφορμής παράλληλο με διάνυσμα γραμμικής ορμής, δηλαδή :



Το εκπεμπόμενο ποζιτρόνιο συναντά ταχέως κινούμενα ηλεκτρόνια με τα οποία αντιδρά και έτσι εξαυλώνεται υπό σύγχρονη εκπομπή ακτίνων γ .

Εκτός πυρήνα το ελεύθερο πρωτόνιο δε μετατρέπεται σε νετρόνιο και ποζιτρόνιο. Εξάλλου η μάζα του πρωτονίου είναι $\sim 1,0078$, ενώ το άθροισμα των μαζών ενός ελεύθερου νετρονίου και ενός ποζιτρονίου είναι $\sim 1,0087$, δηλαδή η εκτός του πυρήνα μετατροπή :



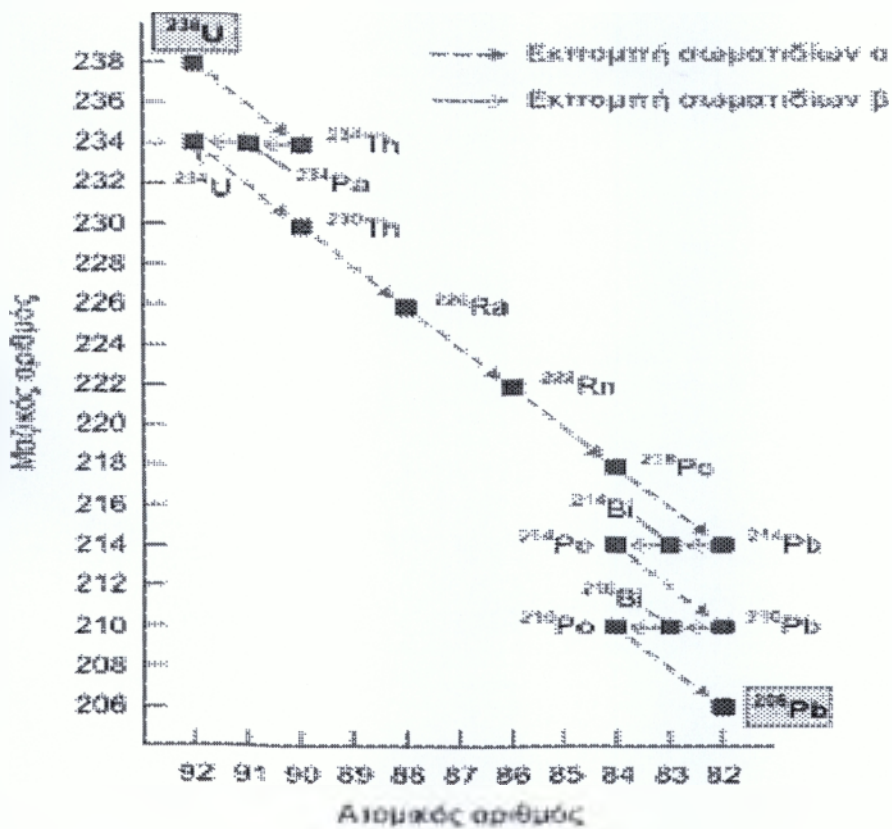
απαιτεί ενέργεια, ως εκ τούτου δε γίνεται αυθόρμητα.

Η εμβέλεια των σωματίων β είναι πολύ μεγαλύτερη από εκείνη των σωματίων α και μπορεί να έχει μήκος αρκετά μέτρα. Ανακόπτεται εύκολα με λεπτό φύλλο αλουμινίου^[8].

3.4.3. Σειρές Διάσπασης

Στις σειρές διασπάσεως $^{238}\text{U} \Rightarrow ^{206}\text{Pb}$, $^{235}\text{U} \Rightarrow ^{207}\text{Pb}$ και $^{232}\text{Th} \Rightarrow ^{208}\text{Pb}$ που αποτελούν τη βάση για τρεις διαφορετικές και ανεξάρτητες μεθόδους προσδιορισμού της ηλικίας γεωλογικών σχηματισμών, παράγονται και εκπέμπονται αρκετά σωματίδια α και β , σε μία ακολουθία ενδιάμεσων ραδιενεργών προϊόντων. Ένα τέτοιο παράδειγμα δίνεται στο σχήμα που ακολουθεί, όπου κανείς μπορεί να δει ότι όταν το μητρικό ραδιενεργό ^{238}U (ατομικός αριθμός 92, μαζικός αριθμός 238) διασπάται, εκπέμπει 8 σωματίδια α και 6 σωματίδια β πριν καταστεί το σταθερό θυγατρικό ^{206}Pb (ατομικός αριθμός 82, μαζικός αριθμός 206). Αυτό φυσικά γίνεται με τις διαδοχικές μετατροπές σε διάφορα στοιχεία. Εκπομπή 8 σωματιδίων α σημαίνει εκπομπή 8 πρωτονίων και 8 νετρονίων, δηλαδή μείωση του μαζικού αριθμού του μητρικού ισотоπου κατά 32 και του ατομικού του αριθμού κατά 16.

Ομοίως, εκπομπή 6 σωματιδίων β σημαίνει εκπομπή 6 ηλεκτρονίων από τον πυρήνα του, που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ατομικού αριθμού κατά 6 χωρίς να μεταβάλλεται ο μαζικός αριθμός. Έχουμε δηλαδή συνολικά μείωση του μαζικού αριθμού κατά 32 ($238 \Rightarrow 206$) και του ατομικού αριθμού κατά 10 ($-16 \pm 6 = 10$, $92 \Rightarrow 82$).



Σχήμα 3.8: Σειρές διασπάσεως $^{238}\text{U} \Rightarrow ^{206}\text{Pb}$, $^{235}\text{U} \Rightarrow ^{207}\text{Pb}$ και $^{232}\text{Th} \Rightarrow ^{208}\text{Pb}$ [8]

3.4.4 Ραδιενεργά ορυκτά

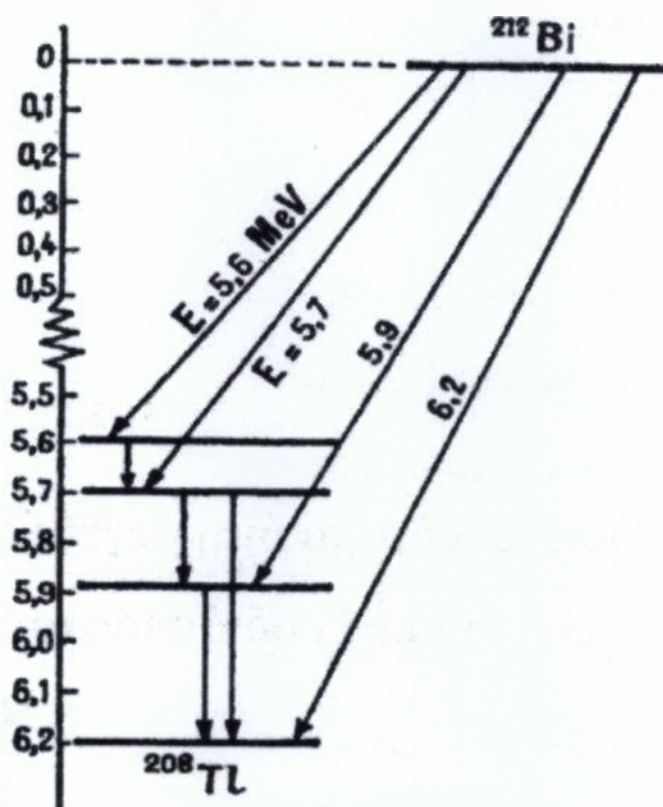
Σε ορυκτά με σημαντικά ποσοστά U και Th, το είδος αυτό ακτινοβολίας μπορεί να μετρηθεί εύκολα και ως εκ τούτου αποτελεί μία διαγνωστική ιδιότητα στο χαρακτηρισμό ραδιενεργών ορυκτών. Μεταξύ των ραδιενεργών ορυκτών γνωστά παραδείγματα αποτελούν ο ουρανινίτης (UO_2), ο θοριανίτης (ThO_2), ο θορίτης (ThSiO_4), ο ουρανιοθορίτης $(\text{Th,U})\text{SiO}_4$, ο ωτουνίτης $\text{Ca}(\text{UO}_2)_2(\text{PO}_4)_2 \cdot 10-12\text{H}_2\text{O}$, ο μοναζίτης $(\text{Ce, La, Y})\text{PO}_4$ και το ζιρκόνιο (ZrSiO_4) κ.ά.

Η ακτινοβολία μπορεί εύκολα να μετρηθεί, τόσο στο εργαστήριο όσο και στο ύπαιθρο με ένα μετρητή Geiger ή με συσκευή σπινθηρισμού (scintillation). Η παρουσία επίσης της ακτινοβολίας αυτής μπορεί να δειχθεί με την έκθεση σε αυτήν ενός μη εμφανισθέντος φιλμ, το οποίο περιβάλλεται από αδιαφανές περιτύλιγμα. Η ακτινοβολία θα επηρεάσει το φιλμ και θα το εμφανίσει. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως αυτοραδιογραφία.

Η παραγωγή ενεργητικών σωματιδίων α και β και ακτινοβολίας γ , καθώς και οι μεταβολές στα ιοντικά μεγέθη, που συμβαίνουν κατά τη μετάβαση από τα μητρικά στα θυγατρικά στοιχεία, έχει ως αποτέλεσμα τη μεταβολή της κρυσταλλικής δομής στην οποία συμβαίνουν οι διαδικασίες αυτές. Για το λόγο αυτό τα περισσότερα ουρανιούχα και θοριούχα ορυκτά υφίστανται μερική ή ολική καταστροφή των δομών τους, γνωστή ως μετάμειξη^[13].

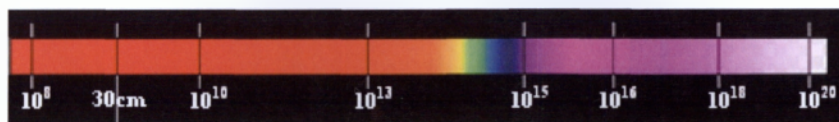
3.4.5. Εκπομπή ακτινών γ

Σε αντίθεση με τις ακτίνες α και β , οι οποίες αποτελούνται από φορτισμένα σωματίδια, οι ακτίνες γ είναι ηλεκτρομαγνητικής φύσεως.



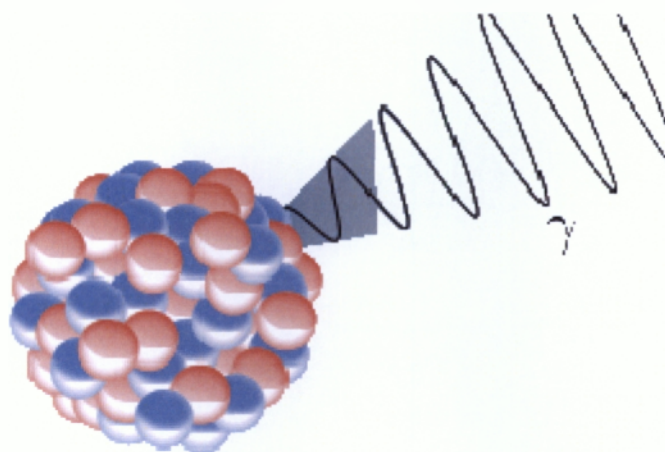
Σχήμα 3.9: Μεταστοιχείωση Βισμούθιου: ^{212}Bi σε ^{208}Tl (Θάλλιο)^[13]

Η μεταστοιχείωση δεν γίνεται συνήθως στη θεμελιώδη στάθμη του θυγατρικού πυρήνα. Μεταπίπτει σε αυτήν με εκπομπή φωτονίου γ . Το φάσμα της ακτινοβολίας γ είναι γραμμικό. Το μήκος κύματος αρχίζει από την περιοχή ακτινών- X και φθάνει σε πολύ μικρές τιμές, με αποτέλεσμα τη μεγάλη διεισδυτικότητα των ακτινών γ .



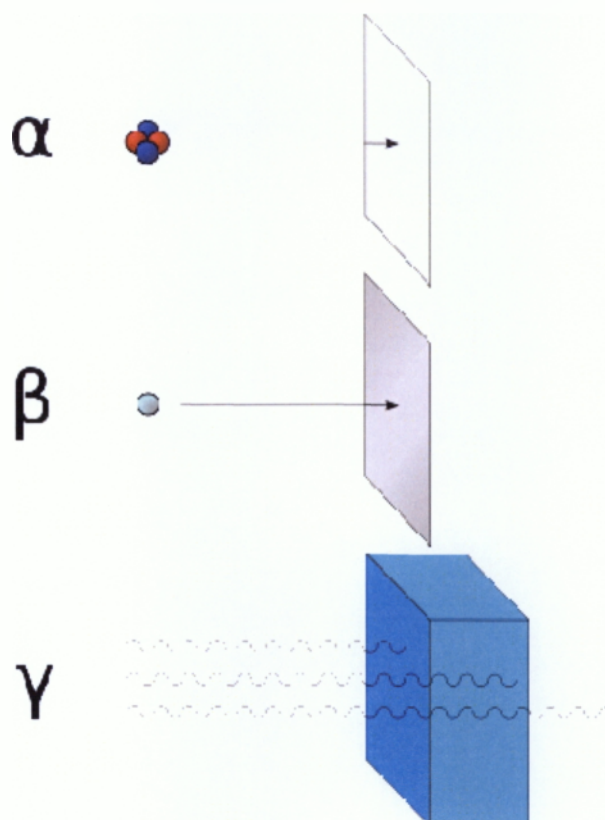
Εικόνα 3.2: Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα.^[3]

Εκπομπή εκ του πυρήνα ακτινών γ δε συνεπάγεται μεταβολή του φορτίου του. Ο αριθμός των πρωτονίων και των νετρονίων του παραμένει ίδιος. Εκείνο το οποίο συμβαίνει κατά την εκπομπή των ακτινών γ , είναι ότι ο πυρήνας βρίσκεται σε διέγερση, έχει δηλαδή επιπλέον ενέργεια, την οποία εκπέμπει υπό μορφή ακτινών γ .



Εικόνα 3.3: Εκπομπή ακτινών γ ^[3]

Τα ισότοπα τα οποία εκπέμπουν ακτίνες γ δεν ανήκουν κατ'ανάγκη στα βαρύτερα μόνο στοιχεία.



Σχήμα 8: Απεικόνιση της διαπερατότητας ραδιενεργών ακτίνων α , β , γ : τα σωματίδια α δε διαπερνούν πέτασμα από χαρτί, τα σωματίδια β δε διαπερνούν πέτασμα από αλουμίνιο, οι ακτίνες γ δε διαπερνούν πέτασμα από μόλυβδο πάνω από ορισμένο πάχος μέτρων^[3].

Η ακτινοβολία γ ανακόπτεται πολύ δύσκολα και από υλικά με μεγάλο μαζικό αριθμό.



Σχήμα 3.10: Απεικόνιση της απορρόφησης ραδιενεργών ακτίνων γ που προσπίπτουν σε φύλλο πάχους dx με αρχική ένταση J και τελική ένταση $J-dJ$ ^[3].

Η σχέση που δίνει το ποσοστό της εντάσεως της ακτινοβολίας γ που απορροφάται από υλικό στη μονάδα πάχους dx είναι:

$$dJ = -\mu J dx \Leftrightarrow \mu = -\frac{dJ}{J} \frac{1}{dx}$$

όπου μ (σταθερά) συντελεστής απορρόφησης που εξαρτάται από το υλικό που απορροφά και το μήκος της ακτινοβολίας (cm^{-1} ή mm^{-1})^[13]

3.4.6. Εξίσωση απλής ραδιενεργού διάσπασης.

Η εξίσωση η οποία παριστάνει την απλή ραδιενεργό αποσύνθεση είναι:

$$N = N_0 e^{-\lambda t}$$

όπου,

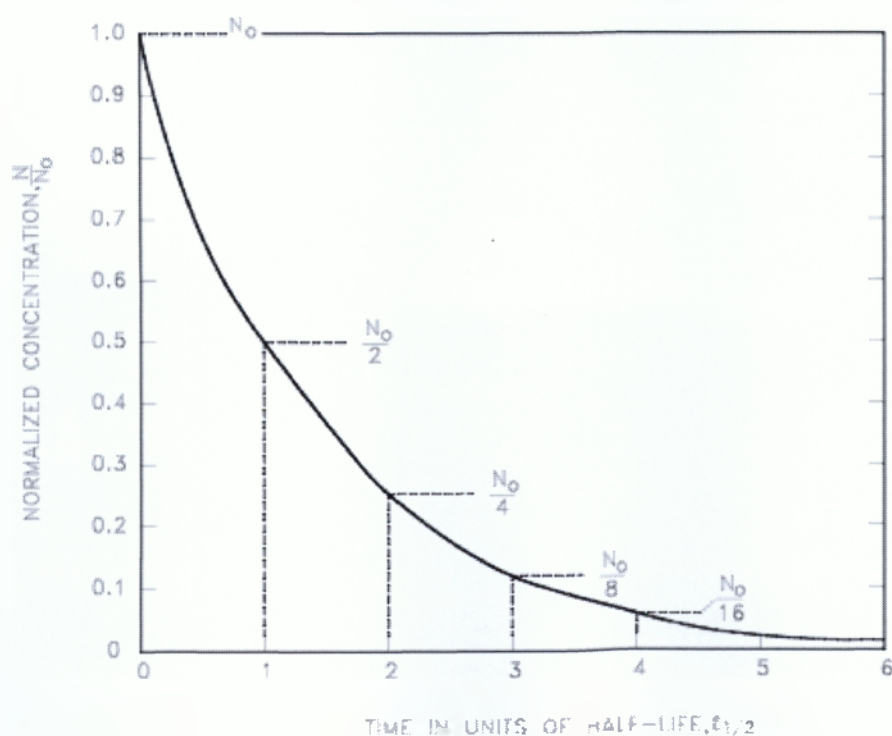
t : ο χρόνος

N : ο αριθμός των ατόμων των οποίων ο πυρήνας δεν έχει ακόμη αποσυντεθεί σε χρόνο t

N_0 : ο αριθμός των ατόμων σε χρόνο $t=0$

e : η βάση των νεπέρων (φυσικών) λογαρίθμων και

λ : μια σταθερά, χαρακτηριστική για κάθε ραδιοϊσότοπο^[13].



Σχήμα 3.11: Γραφική απεικόνιση του νόμου της ραδιενεργού διάσπασης^[8].

Η παραπάνω εξίσωση είναι το ολοκλήρωμα της διαφορικής εξίσωσης $\frac{dN}{dt} = -\lambda N$ η οποία εκφράζει αντίδραση πρώτης τάξης και δείχνει ότι η ταχύτητα της απλής ραδιενεργού αποσυνθέσεως είναι σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή ανάλογη προς τον αριθμό των ραδιενεργών πυρήνων που υπάρχουν εκείνη τη χρονική στιγμή. Η ταχύτητα της ραδιενεργού αποσύνθεσης είναι γενικώς πρακτικώς ανεξάρτητη της φυσικής και της χημικής καταστάσεως της ραδιενεργού ουσίας. Η ημιπερίοδος ζωής ενός ραδιοϊσοτόπου ορίζεται ως ο χρόνος υποδιπλασιασμού του αριθμού των ραδιενεργών πυρήνων και συμβολίζεται με $t_{1/2}$.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0.69315}{\lambda}$$

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι χρόνοι υποδιπλασιασμού κάποιων ραδιενεργών στοιχείων.

Πίνακας 2: χρόνοι υποδιπλασιασμού ορισμένων ραδιενεργών στοιχείων.

Πυρήνας	$t_{1/2}$	
^{238}U	$4,51 \times 10^9$ χρόνια	Έκλυση μικρής ποσότητας ραδιενέργειας σε δεδομένο χρόνο.
^{226}Ra	1620 χρόνια	Εκλύει σημαντικά ποσά ραδιενέργειας και για μεγάλο χρονικό διάστημα.
^{131}Th	8,0 ημέρες	Ισχυρά ραδιενεργός αλλά η ραδιενέργεια σύντομα φτάνει να γίνεται αμελητέα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΡΥΘΜΟΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΑΠΟ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΠΡΟΩΘΗΤΩΝ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΕΠΙΣΗΜΑΣΜΕΝΗΣ ΜΕ ^{14}C .

4.1. Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετάται ο ρυθμός πρόσληψης της γλυκόζης από μύκητες του είδους *Saccharomyces cerevisiae*, για τον οποίο παρατηρήθηκε ότι είναι μεγαλύτερος παρουσία προωθητών της ζύμωσης όπως είναι η γ -αλουμίνα και το kissiris από ότι απουσία αυτών. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε επισημασμένη γλυκόζη με ^{14}C επειδή τα ιχνηθετημένα μόρια της γλυκόζης παίρνουν μέρος στις ίδιες χημικές αντιδράσεις με τα μη ιχνηθετημένα^[14].



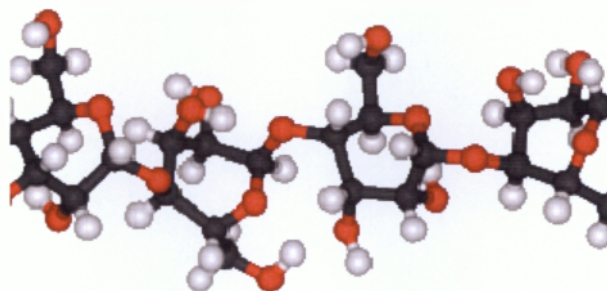
Εικόνα 4.1: Μύκητες *Saccharomyces cerevisiae*^[3]

4.2. Εισαγωγή

Στην αλκοολική ζύμωση, τόσο η κατανάλωση της γλυκόζης όσο και ο ρυθμός παραγωγής της αιθανόλης αυξάνονται μέσω χρήσης γ -αλουμίνας ($\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$) ή ενός

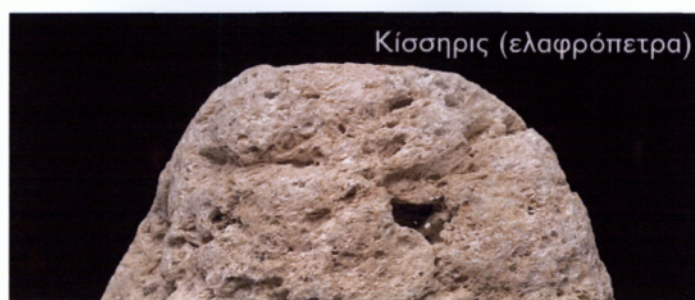
ηφαιστειογενούς πετρώματος γνωστό ως kissiris ή με την προσθήκη κυτταρίνης στο υπόστρωμα της ζύμωσης.

Η κυτταρίνη είναι ένας από τους πολυσακχαρίτες. Αποτελείται από περισσότερα από 10.000 μόρια γλυκόζης, που ενώνονται και σχηματίζουν ευθείες αλυσίδες.



Εικόνα 4.2: Τρισδιάστατη απεικόνιση μορίου κυτταρίνης

Η ελαφρόπετρα kissiris είναι χημικά αδρανές πορώδες ηφαιστειογενές ορυκτό, το οποίο χρησιμοποιείται στις κατασκευές (παραγωγή ελαφροβαρών δομικών στοιχείων, ελαφροσκυροδέματος), σε γεωτεχνικά έργα (εξυγίανση χαλαρών εδαφών, κατασκευή λιμένων κ.α.), στις καλλιέργειες (υπόστρωμα υδροπονικών καλλιεργειών, βελτιωτικό εδαφών κ.α) και σε αρκετές βιομηχανικές εφαρμογές.



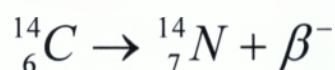
Εικόνα 4.3: Ελαφρόπετρα kissiris.

Η γ-αλουμίνα χρησιμοποιείται ως προσροφητικό υλικό στην χρωματογραφία, ως φορέας καταλυτών και ως λειαντικό μέσο.

Επιπλέον, τα στερεά αυτά λειτουργώντας ως προωθητές επιδρούν ευνοϊκά και στην ικανότητα ζύμωσης των μυκητών του γένους *Saccharomyces cerevisiae* και *Zymomonas mobilis*. Αυτό οφείλεται στο ότι οι προωθητές ενισχύουν την ικανότητα

κατάλυσης των ενζύμων που συμμετέχουν στη διαδικασία της ζύμωσης. Βέβαια κάτι τέτοιο δεν έχει αποδειχθεί πειραματικά.

Λόγω της εξάρτησης της ταχύτητας της ζύμωσης από τον ρυθμό πρόσληψης της γλυκόζης, ο σκοπός αυτής της εργασίας είναι να ερευνηθεί η επίδραση των προωθητών στον ρυθμό πρόσληψης της γλυκόζης από ελεύθερα κύτταρα χρησιμοποιώντας γλυκόζη επισημασμένη με ^{14}C . Ως γνωστόν, οι φυσικές και οι χημικές ιδιότητες των διαφόρων ισοτόπων ενός στοιχείου, ραδιενεργών και μη, διαφέρουν ελάχιστα. Επομένως, αν η γλυκόζη επισημανθεί με ^{14}C , το ισότοπο αυτό θα την ακολουθεί σε όλες τις χημικές, φυσικές ή χημικές μεταβολές, στις οποίες αυτή παίρνει μέρος. Ο ^{14}C αποσυντίθεται με εκπομπή ακτίνων β^- :



Παρακολουθώντας συνεπώς την πορεία του ραδιοϊσοτόπου με μέτρηση της ραδιενέργειας, λαμβάνουμε πληροφορίες για την πορεία της γλυκόζης κατά τις μεταβολές αυτές^[15, 16, 17].

4.3. Μεθοδολογία

4.3.1. Συντήρηση και πολλαπλασιασμός κυττάρων *Saccharomyces cerevisiae*

Οι μύκητες *Saccharomyces cerevisiae* αναπτύχθηκαν στους 30 °C και σε pH=5,3 μέσα σε 1L δοχείου, το οποίο περιείχε 500 mL αποστειρωμένης καλλιέργειας (1g $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{L}$, 1g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/\text{L}$, 5g $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}/\text{L}$, 2g εκχύλισμα ζυμομυκήτων και γλυκόζη σε συγκεντρώσεις: 150, 200, 250 ή 300 g/L) καθώς επίσης και κύτταρα ξηρού βάρους 6g/L. Στην καλλιέργεια προστέθηκαν και 200g γ-αλουμίνας. Στην αρχή κάθε πειραματικού γύρου προστίθενται 40 μL γλυκόζης (^{14}C). Η κινητική της ζύμωσης παρατηρήθηκε μετρώντας το ειδικό βάρος σε βαθμούς Baume ($^\circ\text{Be}$). Τα μόρια της επισημασμένης γλυκόζης υπέστησαν ζύμωση όπως και τα μη επισημασμένα. Δείγματα των 2 mL, διηθήθηκαν και ο ^{14}C προσδιορίστηκε μέσω υγρού σπινθηρισμού. Η ποσότητα της επισημασμένης γλυκόζης που καταναλώθηκε

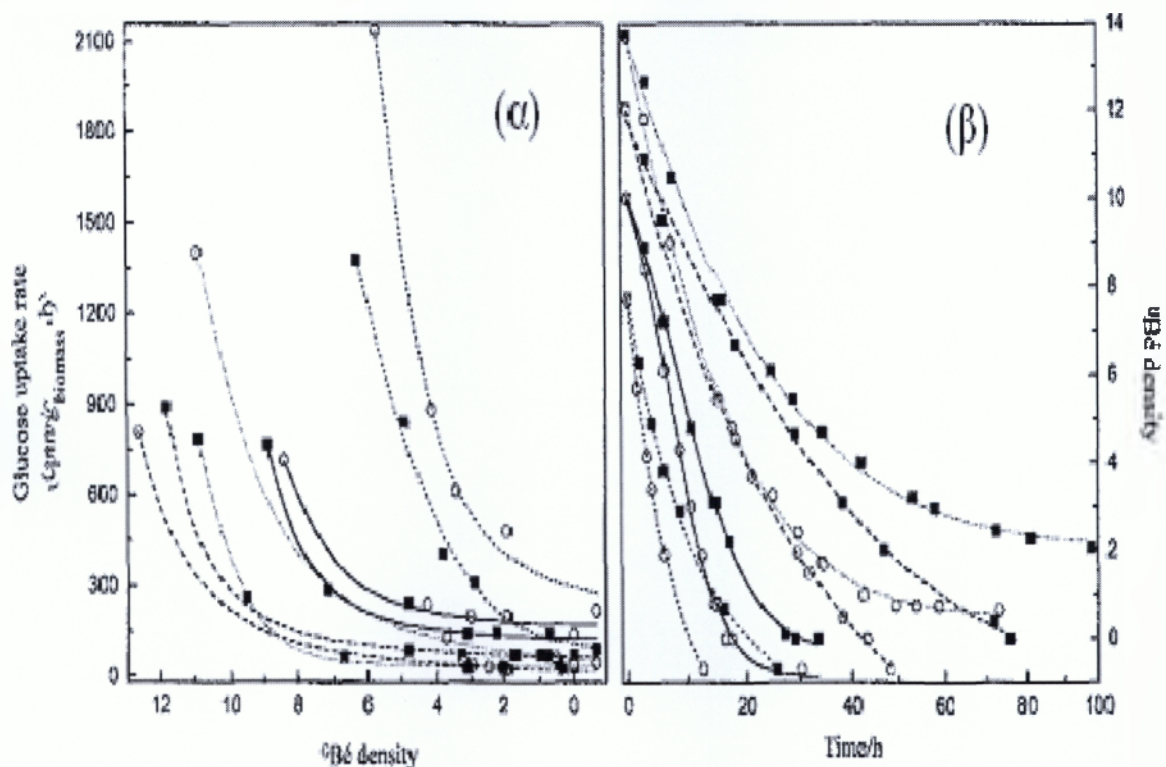
από κάποια ποσότητα κυττάρων *Saccharomyces cerevisiae* εκφράστηκε ως cpm γλυκόζης ανά g βιομάζας την ώρα.

Κατά το δεύτερο μέρος του πειράματος, οι ζύμες *Saccharomyces cerevisiae* αναπτύχθηκαν στους 30 °C και σε pH= 4,7 μέσα σε 1L δοχείου, το οποίο περιείχε 500 mL αποστειρωμένου διαλύματος μολάσσας (0,5g KH_2PO_4 /L και μολάσσα σε συγκεντρώσεις: 12, 14, 15,5 και 17 ^{10}Be) καθώς επίσης και κύτταρα ξηρού βάρους 6g/L. Το pH ρυθμίστηκε με διάλυμα H_2SO_4 18,38M. Το μέσο καλλιέργειας επίσης περιείχε 200 g γ-αλουμίνας.

Σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκε παρουσία 400 g kissiris/L. Στην αρχή κάθε γύρου 70 μL (^{14}C) γλυκόζης (1,23mCi/g) προστέθηκαν. Ο ρυθμός πρόσληψης γλυκόζης υπολογίστηκε όπως και προηγουμένως^[18].

4.4. Αποτελέσματα

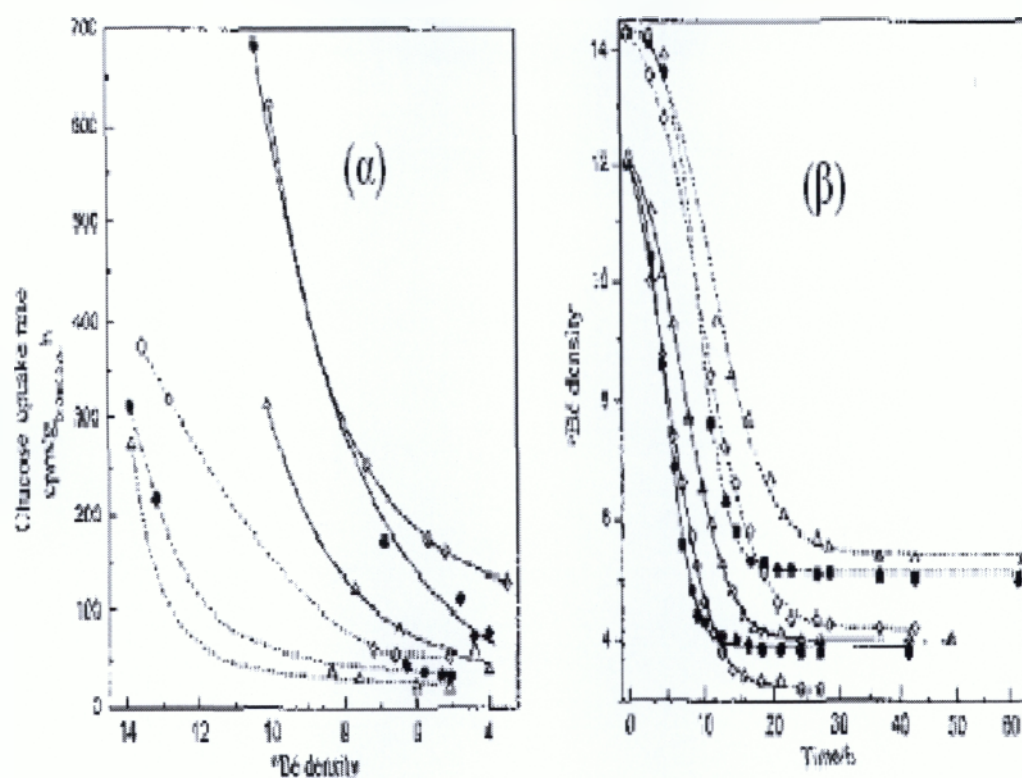
Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων στα οποία χρησιμοποιήθηκε μέσο αποτελούμενο από γλυκόζη επισημασμένη με ^{14}C και μελάσσες παρουσία των προωθητών γ-αλουμίνα και kissiris.



Σχήμα 4.1: (α) Ρυθμός πρόσληψης γλυκόζης (β) κινητική της ζύμωσης για αρχικές συγκεντρώσεις γλυκόζης ($C_{\text{γλυκόζης}}$) απουσία (■) γ -αλουμίνας και παρουσία (○) αυτής: $C_{\text{γλυκόζης}}$ των (...) 150 g/L, (—) 200 g/L, (---) 250 g/L και (— · — · —) 300 g/L^[23].

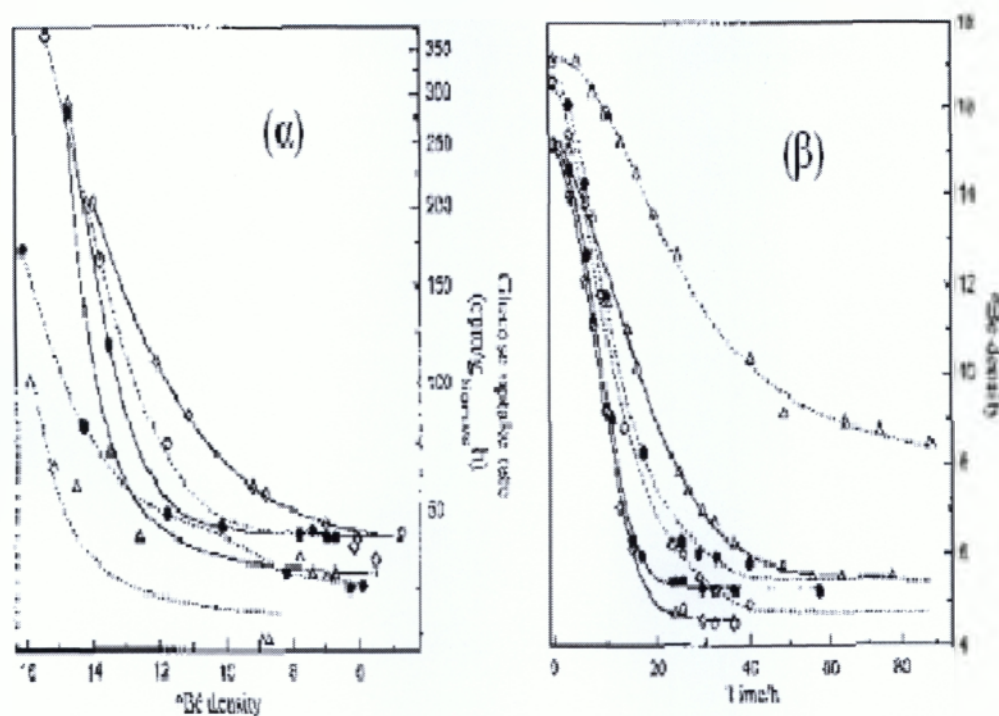
Στα σχήματα 1α, 2α και 3α παρουσιάζονται τα γραφήματα του ρυθμού πρόσληψης της γλυκόζης από ελεύθερα κύτταρα έναντι της πυκνότητας ^0Be , ενώ στα σχήματα 1β, 2β και 3β παρουσιάζεται η κινητική ζύμωσης του συνθετικού μέσου (γλυκόζη, μολάσες).

Είναι εμφανές ότι απουσία γ -αλουμίνας, ο ρυθμός πρόσληψης γλυκόζης ήταν πολύ χαμηλότερος σε σχέση με τον αντίστοιχο ρυθμό παρουσία αυτής (σχήμα 1α). Παρατηρώντας το σχήμα β, γίνεται επίσης φανερό ότι η παρουσία της γ -αλουμίνας όχι μόνο συντέλεσε στην αύξηση του ρυθμού πρόσληψης της ιχνηθετημένης γλυκόζης αλλά αύξησε και την ταχύτητα της ζύμωσης^[18].



Σχήμα 4.2: (α) Ρυθμός πρόσληψης γλυκόζης, (β) κινητική της ζύμωσης της γλυκόζης για διάφορες αρχικές τιμές ^{9}Be διαλύματος μελάσσας απουσία (Δ) προωθητή, παρουσία ($\bullet$) kissiris και παρουσία ($\circ$) γ -αλουμίνας: (—) ^{12}Be και (.....) ^{14}Be ^[18].

Παρόμοια συμπεράσματα προέκυψαν και κατά την παρατήρηση των διαγραμμάτων του δεύτερου σχήματος. Στην περίπτωση αυτή, ως προωθητής χρησιμοποιήθηκε εκτός της αλουμίνας και το ηφαιστειογενές υλικό kissiris. Παρουσία αυτού ο ρυθμός πρόσληψης της γλυκόζης, όπως και η ταχύτητα της ζύμωσης, ήταν σαφώς μεγαλύτερος από ότι απουσία κάποιου προωθητή.



Σχήμα 4.3 : (α) Ρυθμός πρόσληψης γλυκόζης, (β) κινητική της ζύμωσης της γλυκόζης για διάφορες αρχικές τιμές ⁹Be διαλύματος μελάσσας απουσία (Δ) προωθητή, παρουσία (●) kissiris και παρουσία (○) γ-αλουμίνας : (—) 15.5 ⁹Be και (.....) 17 ⁹Be^[18].

Τα διαγράμματα του τελευταίου σχήματος επιβεβαιώνουν και αυτά τις προηγούμενες παρατηρήσεις.

4.5. Συμπεράσματα

Τα πειραματικά αποτελέσματα επιβεβαίωσαν προηγούμενα παλαιότερων ερευνών, στα οποία είχε βρεθεί ότι η ικανότητα ζύμωσης στα ελεύθερα κύτταρα αυξήθηκε παρουσία της γ-αλουμίνας και του kissiris και επιπλέον ότι τα δυο αυτά υλικά αυξάνουν και την ταχύτητα της ζύμωσης.

Η ικανότητά τους αυτή πιθανόν να οφείλεται στην αύξηση του ρυθμού πρόσληψης γλυκόζης από τις ζύμες του γένους *Saccharomyces cerevisiae* παρουσία γ-αλουμίνας (όπως φαίνεται στα σχήματα 1α, 2α και 3α).

Παρόλο που η ικανότητα της γ-αλουμίνας και του kissiris να αυξάνουν την ταχύτητα της ζύμωσης είναι αυξημένη σε χαμηλές αρχικές τιμές πυκνότητας ^0Be , η επίδρασή των στερεών αυτών στο ρυθμό πρόσληψης γλυκόζης από ελεύθερα κύτταρα, δεν αυξάνεται με ανάλογο τρόπο. Αυτό σημαίνει ότι ένας από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ικανότητα των στερεών αυτών υλικών ως προωθητών, είναι και η αύξηση του ρυθμού πρόσληψης της γλυκόζης^[15, 16, 17, 18].

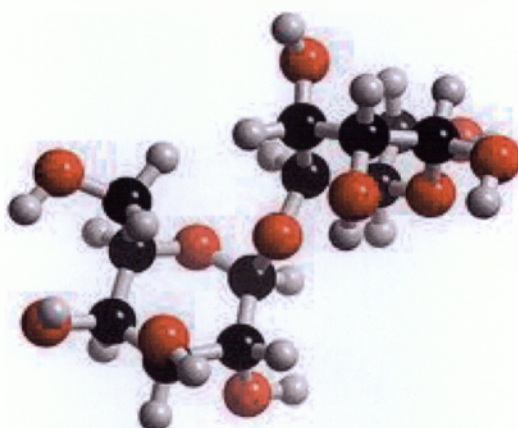
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΕΠΙΣΗΜΑΣΜΕΝΗΣ ΜΕ ^{14}C ΛΑΚΤΟΖΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΚΕΦΙΡ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΥΜΩΣΗΣ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

5.1. Περίληψη

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η σχέση ανάμεσα στην ικανότητα ζύμωσης του kefir (μίγμα διαφόρων ειδών βακτηρίων και μυκήτων) και στον ρυθμό πρόσληψης ενός υδατάνθρακα, συγκεκριμένα της λακτόζης. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε σύστημα το οποίο περιείχε kefir και λακτόζη, ώστε να μελετηθεί η προκαλούμενη από βακτήρια και μύκητες ζύμωση. Ο ρυθμός πρόσληψης της λακτόζης μετρήθηκε χρησιμοποιώντας λακτόζη επισημασμένη με ^{14}C .

Μελετήθηκε η επίδραση της λακτόζης, του pH και της κυτταρικής συγκέντρωσης στην ζύμωση της λακτόζης. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση του ρυθμού πρόσληψης της λακτόζης σε μικρότερες κυτταρικές συγκεντρώσεις και συγκεκριμένα οι μέγιστες τιμές ρυθμού πρόσληψης παρατηρήθηκαν σε θερμοκρασία $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5,5$ και αρχικές συγκεντρώσεις λακτόζης και κυττάρων 10% w/v και 16g/L αντίστοιχα^[20, 21].



Εικόνα 5.1: Μοριακό μοντέλο λακτόζης^[9].

Η αύξηση της ταχύτητας ζύμωσης από ακινητοποιημένα κύτταρα, μπορεί να αποδοθεί, εκτός άλλων παραγόντων, σε χαμηλή κυτταρική συγκέντρωση στην επιφάνεια του υλικού στήριξης ή του προωθητή. Επίσης, φαίνεται ότι η επίδραση της τιμής του pH στις βιοχημικές αντιδράσεις, οι οποίες πραγματοποιούνται από ενδοκυτταρικά ένζυμα, οφείλεται, εκτός από την επίδραση του pH στην ενζυμική ικανότητα και στην επίδραση του στο ρυθμό πρόσληψης υδατάνθρακα.

5.2. Εισαγωγή

Το kefir είναι μια σύνθετη καλλιέργεια αποτελούμενη από μίγμα ζυμομυκήτων και γαλακτικών βακτηρίων. Ζύμες και μύκητες συνυπάρχουν σε μια συμβιωτική σχέση και είναι υπεύθυνα για τη ζύμωση της λακτόζης του γάλακτος και του τυρογάλακτος^[21, 22].



Εικόνα 5.2: Kefir^[31].

Στην Ελλάδα κατά την τελευταία τριαντακοταετία έχει αυξηθεί σημαντικά η ποσότητα του παραγόμενου τυρογάλακτος εξαιτίας της μεγάλης ανάπτυξης της τυροκομίας. Υπολογίζεται ότι στην πατρίδα μας παράγεται ως παραπροϊόν της τυροκομίας, 700.000 τόνοι τυρογάλακτος ετησίως, εκ των οποίων η μισή περίπου ποσότητα μένει αναξιοποίητη και απορρίπτεται σε ποτάμια, λίμνες και άλλους υδάτινους αποδέκτες^[22,23]. Το απορριπτόμενο τυρόγαλα είναι σημαντικός ρυπαντής του περιβάλλοντος λόγω των υψηλών τιμών:

1. Βιοχημικά Απαιτούμενου Οξυγόνου (BOD) που ανέρχεται σε 40-70 g/L κατά τις πέντε πρώτες μέρες και
2. Χημικά απαιτούμενου Οξυγόνου (COD) που ανέρχεται σε και 60-80 g/L.

Την τελευταία δεκαετία έχει μελετηθεί διεξοδικά η δυνατότητα αξιοποίησης του τυρογάλακτος με χρήση ελεύθερων ή ακινητοποιημένων κυττάρων kefir σε κατάλληλους φορείς. Η κινητική ζύμωσης της λακτόζης του τυρογάλακτος από το kefir παρακολουθείται έμμεσα, προσδιορίζοντας τη μεταβολή της συγκέντρωσης των προϊόντων σε διάφορες συνθήκες.

Όμως στην παρούσα εργασία, με χρήση λακτόζης επισημασμένης με άνθρακα 14, μελετήθηκε η επίδραση του pH στο ρυθμό πρόσληψης της λακτόζης από ελεύθερα και ακινητοποιημένα κύτταρα kefir κατά τη ζύμωση του τυρογάλακτος, μετρώντας άμεσα την ποσότητα ραδιενέργειας των κυττάρων kefir. Η αρχή της μεθόδου αυτής έγκειται στο γεγονός ότι η ραδιενεργός λακτόζη ακολουθεί μέσα στη βιομάζα τις ίδιες μεταβολικές οδούς με τη μη ραδιενεργό.

Τελικός σκοπός της έρευνας αυτής ήταν να εντοπισθούν οι καταλληλότερες συνθήκες για να επιτευχθεί η μέγιστη ταχύτητα πρόσληψης λακτόζης του τυρογάλακτος είτε από ελεύθερα είτε από ακινητοποιημένα κύτταρα kefir. Κατά συνέπεια, να βρεθούν και οι συνθήκες ολοκλήρωσης της ζύμωσης σε λιγότερο χρόνο καθώς και για επίτευξη πλήρους απορρόπησης του τυρογάλακτος. Στη συνέχεια, με βάση τα αποτελέσματα αυτά είναι δυνατόν να γίνουν προτάσεις για την πιθανή αλλαγή παραμέτρων της ζύμωσης (όπως είναι η συγκέντρωση της λακτόζης, η τιμή του pH, η θερμοκρασία και η συγκέντρωση της βιομάζας του kefir) με σκοπό την αύξηση της ταχύτητας αυτής και τη βελτίωση της παραγωγής χρησιμων τελικών προϊόντων, όπως αιθανόλης και γαλακτικού οξέος^[20].

5.3. Μεθοδολογία

5.3.1. Συντήρηση και πολλαπλασιασμός κυττάρων kefir

Το kefir που χρησιμοποιήθηκε, είναι εμπορικό προϊόν που διατίθεται με τη μορφή κόκκων ή συσσωματωμάτων (kefir grains). Η συντήρησή του γινόταν σε φρέσκο παστεριωμένο γάλα στους 2 °C - 4 °C, που ανανεωνόταν κάθε επτά μέρες. Ο

πολλαπλασιασμός των κυττάρων kefir γινόταν με διαδοχικές ανακαλλιέργειες σε αποστειρωμένο θρεπτικό μέσο το οποίο περιείχε λακτόζη 2%, εκχύλισμα ζυμομυκήτων 0,4%, KH_2PO_4 0,1%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1% και $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5% στους 30°C και σε pH 5,5. Η παραγόμενη υγρή βιομάζα kefir παραλαμβάνονταν με φυγοκέντρηση και γινόταν χρήση αυτής απευθείας στις επιμέρους ζυμώσεις^[20, 21].

5.3.2. Παρασκευή απολιγνινοποιημένων κυτταρινούχων υλικών και ακινητοποίηση του kefir σε αυτά

Το υλικό κυτταρίνης παρασκευάστηκε από πριονίδια τα οποία επεξεργάστηκαν με NaOH 1% w/v για 3h στο σημείο βρασμού, ώστε να απομακρυνθεί η λιγνίνη (μείγμα οργανικών ενώσεων φαινολικού χαρακτήρα, το οποίο λαμβάνεται κατά τη θερμική επεξεργασία ξύλου με διαλύματα αλκαλίων). Τώρα, για να επιτευχθεί η ακινητοποίησή τους, 170g κυτταρίνης προστέθηκαν σε 800 mL καλλιέργειας που περιείχε 12% λακτόζη και 16g υγρού βάρους καλλιέργειας kefir. Στη συνέχεια, αφέθηκαν 12h για ζύμωση. Χρησιμοποιώντας 122g υγρού βάρους βιοκαταλύτη πραγματοποιήθηκε μια σειρά ζυμώσεων σε 250 mL ορού.

Στην αρχή κάθε γύρου προστίθεται μια μικρή ποσότητα ιχνηθετημένης με ^{14}C λακτόζης. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε διάφορες τιμές pH (4, 5, 5,5, 6, 6,5) στους 30°C . Για στατιστικούς λόγους κάθε ζύμωση γινόταν ταυτόχρονα τρεις φορές και το τελικό αποτέλεσμα ήταν ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων^[20, 21].

5.3.3. Προσδιορισμός επισημασμένης λακτόζης

Η επισημασμένη λακτόζη ζυμώνεται με τον ίδιο τρόπο που ζυμώνεται και η μη-επισημασμένη. Για τον προσδιορισμό της ταχύτητας πρόσληψης της λακτόζης από την καλλιέργεια του kefir, σε τακτά χρονικά διαστήματα, 2mL από το μίγμα της ζύμωσης διηθούνταν σε φίλτρο κυτταρίνης (0,45 μm). Το φίλτρο με το δείγμα των κυττάρων τοποθετούνταν σε γυάλινο φιαλίδιο μαζί με 5 mL σπινθηριστικού μίγματος Opti Fluor (Perkin Elmer). Η μέτρηση του ^{14}C της επισημασμένης λακτόζης των κυττάρων γινόταν σε υγρό απαριθμητή σπινθηρισμών (PACARD 3255) συνδεδεμένο με έναν APPLE-2 PC και το τελικό αποτέλεσμα εκφράσθηκε σε κρούσεις ανά γραμμάριο βιομάζας και ανά ώρα [$\text{cpm}/(\text{g}_{\text{kefir}} \cdot \text{h})$]^[20, 21].

5.3.4. Προσδιορισμός αζύμων σακχάρων

Η κινητική της ζύμωσης μελετήθηκε επίσης, προσδιορίζοντας την ποσότητα της λακτόζης που δεν υπέστη ζύμωση, με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης (HPLC). Η ποσότητα της καταναλισκόμενης επισημασμένης λακτόζης σε cpm λακτόζης /g βιομάζας την ώρα, προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του υγρού σπινθηρισμού (liquid scintillation) και κατά τη διάρκεια συγκεκριμένων χρονικών διαστημάτων της ζύμωσης^[20, 21].

5.3.5. Προσδιορισμός βιομάζας

Για τον προσδιορισμό της παραγόμενης ποσότητας βιομάζας kefir, σε τακτά χρονικά διαστήματα αφαιρούνταν 5 mL από το υγρό της ζύμωσης, γίνονταν φυγοκέντρηση, απόχυση του υπερκείμενου υγρού και ζύγιση της βιομάζας^[20, 21].

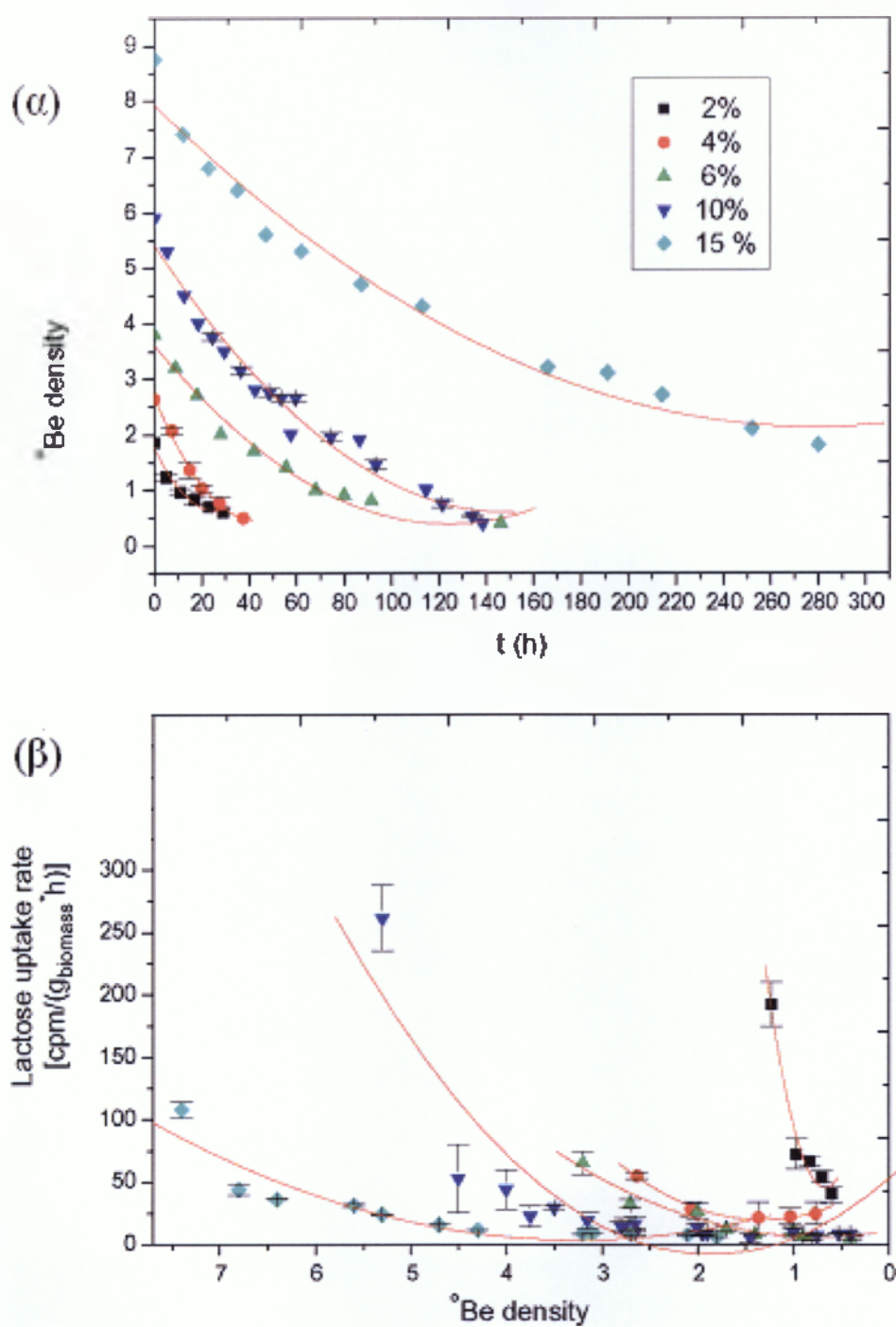
5.4. Αποτελέσματα και συζήτηση

5.4.1. Εισαγωγή

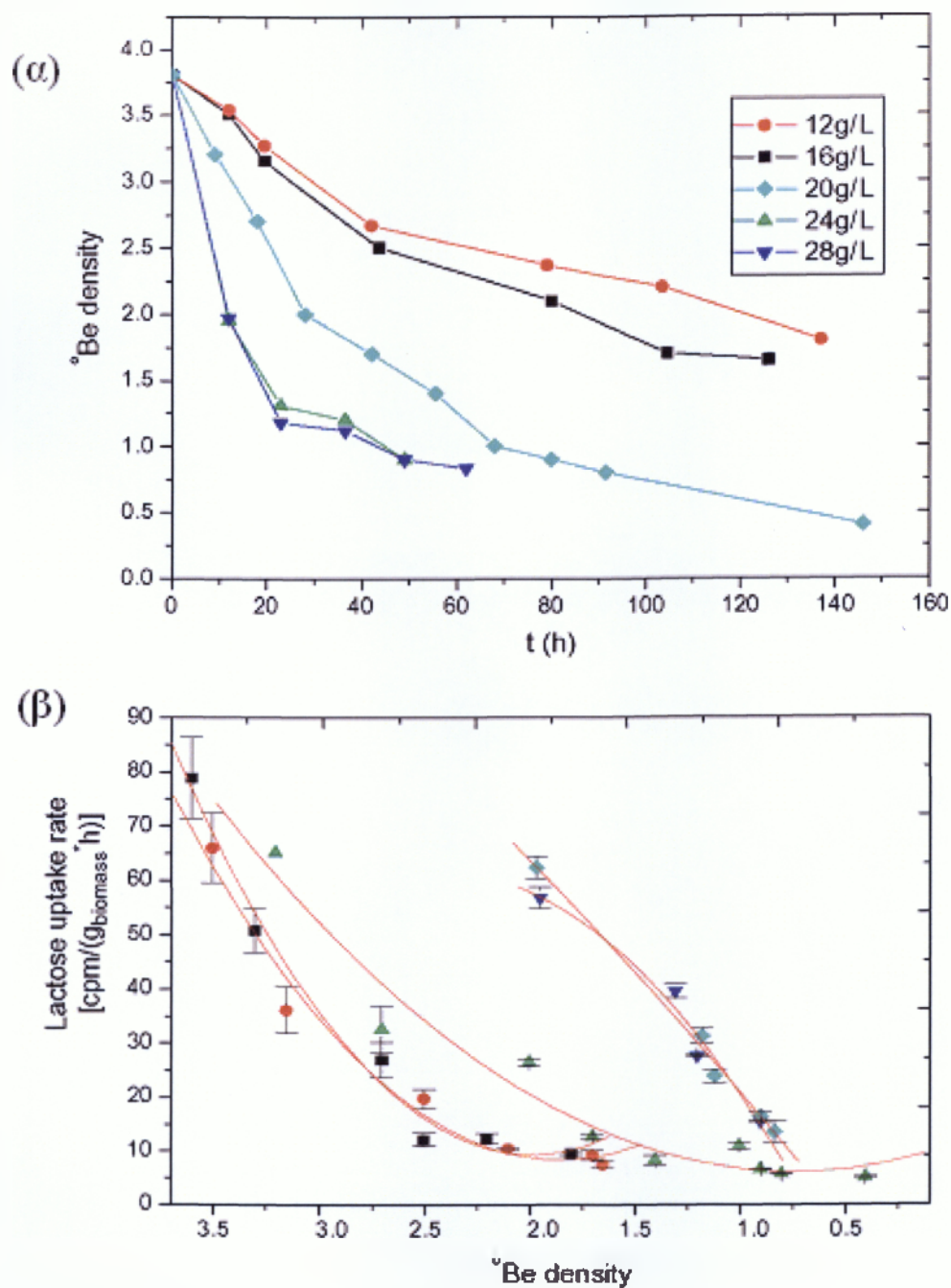
Στα σχήματα 1α και 1β παρουσιάζονται η κινητική των ζυμώσεων και ο ρυθμός πρόσληψης λακτόζης από τα κύτταρα kefir για συνθετικά μέσα με συγκεντρώσεις λακτόζης 2, 4, 6, 10, 15 % αντίστοιχα.

Σε γενικές γραμμές η ταχύτητα πρόσληψης της λακτόζης ήταν μεγαλύτερη σε συγκέντρωση 2% παρά σε συγκέντρωση 4 και 6 % λόγω αυξημένης ωσμωτικής πίεσης που παρατηρείται σε τέτοιες συγκεντρώσεις. Ωστόσο, ο μέγιστος ρυθμός πρόσληψης λακτόζης παρατηρήθηκε όταν η συγκέντρωση λακτόζης ήταν 10% w/v Σε αυτή τη συγκέντρωση, παρά την αυξημένη ωσμωτική πίεση, η ταχύτητα πρόσληψης αυξήθηκε, μετά από μια περίοδο προσαρμογής. Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης της λακτόζης οδήγησε ξανά σε μείωση του ρυθμού πρόσληψης των κυττάρων λόγω αυξημένης πίεσης στα κύτταρα.

Στα σχήματα 2α και 2β παρουσιάζεται η επίδραση της συγκέντρωσης της βιομάζας του kefir στην κινητική της ζύμωσης και στον ρυθμό πρόσληψης της λακτόζης από τα κύτταρα kefir αντίστοιχα.



Σχήμα 5.1: (α) Κινητική ζύμωσης της λακτόζης, (β) ρυθμός πρόσληψης της λακτόζης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις λακτόζης^[20]



Σχήμα 5.2: (α) Κινητική ζύμωσης της λακτόζης, (β) ρυθμός πρόσληψης της λακτόζης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις βιομάζας kefir^[20].

Η μεγαλύτερη συγκέντρωση βιομάζας οδήγησε στον μεγαλύτερο βαθμό ζύμωσης και στον μικρότερο ρυθμό πρόσληψης λακτόζης. Λόγω της αυξημένης διασποράς του υποστρώματος της λακτόζης παρουσία μεγαλύτερης ποσότητας kefir, ο ρυθμός πρόσληψης από μεμονωμένα κύτταρα kefir μειώθηκε. Έτσι, κρατώντας σταθερή τη συγκέντρωση του υποστρώματος και αυξάνοντας τη συγκέντρωση της

βιομάζας οδηγηθήκαμε σε χαμηλότερο βαθμό πρόσληψης λακτόζης. Συνεπώς μικρές συγκεντρώσεις kefir είναι περισσότερο ενεργές και έχουν την ικανότητα να καταναλώνουν περισσότερη λακτόζη την ώρα.

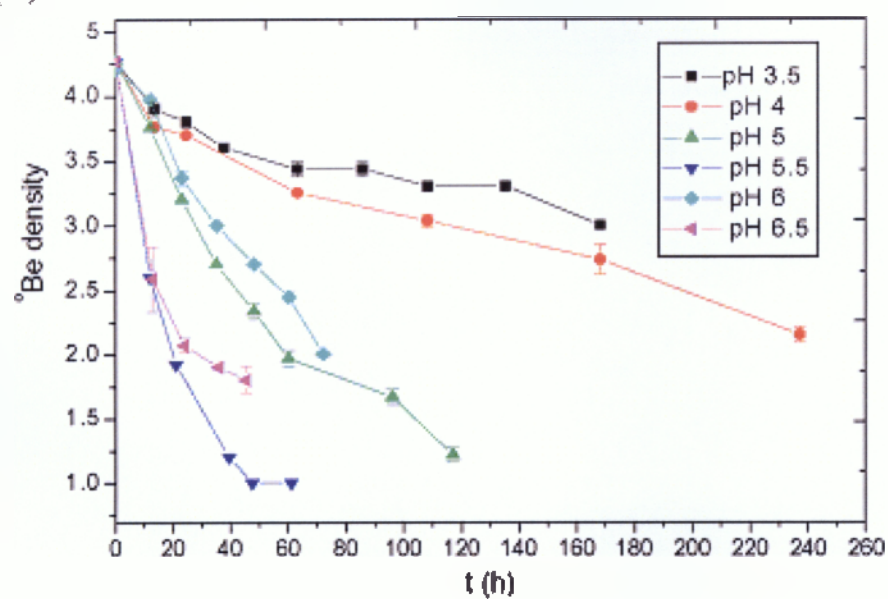
Η ικανότητα αυτή συναγωνίζεται την αύξηση του ρυθμού ζύμωσης που επιτεύχθηκε λόγω αυξημένων κυτταρικών συγκεντρώσεων και κατά συνέπεια λόγω αυξημένων ενζυμικών συγκεντρώσεων.

5.4.2. Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στον ρυθμό πρόσληψης της λακτόζης από το kefir.

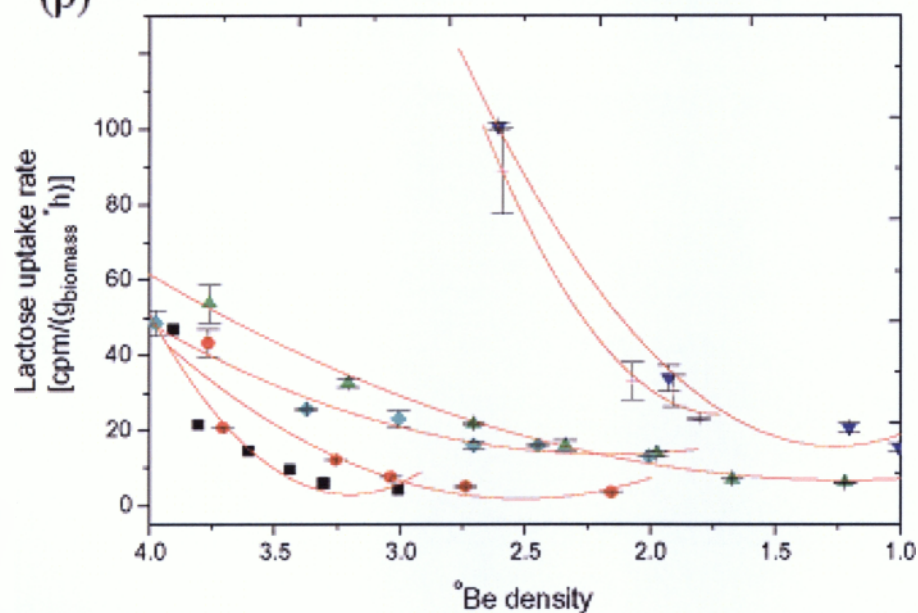
Τα σχήματα 3α και 3β παρουσιάζουν την επίδραση του pH στην κινητική της ζύμωσης και στο ρυθμό πρόσληψης λακτόζης από τα κύτταρα kefir αντίστοιχα.

Σε τιμή pH ίση με 5,5 παρατηρήθηκε ο μεγαλύτερος ρυθμός πρόσληψης λακτόζης. Σε pH ίσο με 6 παρουσιάστηκε μείωση του ρυθμού πρόσληψης και στη συνέχεια ξανά αύξηση. Κάτι τέτοιο μπορεί να οφείλεται είτε σε υδρόλυση της λακτόζης λόγω επίδρασης του pH στην ενζυμική ενεργότητα της λακτάσης ή στη μειωμένη αντίσταση που παρουσιάζουν σε χαμηλές τιμές pH τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος που περιέχονται στο kefir.

(α)



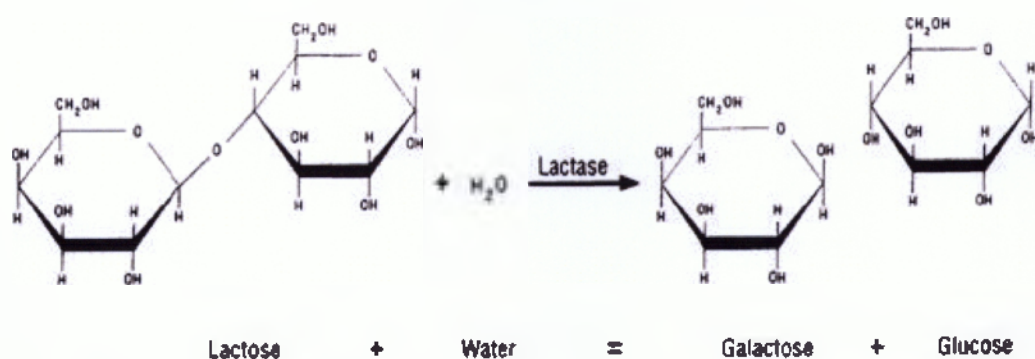
(β)



Σχήμα 5.3: (α) Κινητική ζύμωσης της λακτόζης

(β) ρυθμός πρόσληψης της λακτόζης σε διαφορετικές τιμές $pH^{[20]}$.

A)



B)



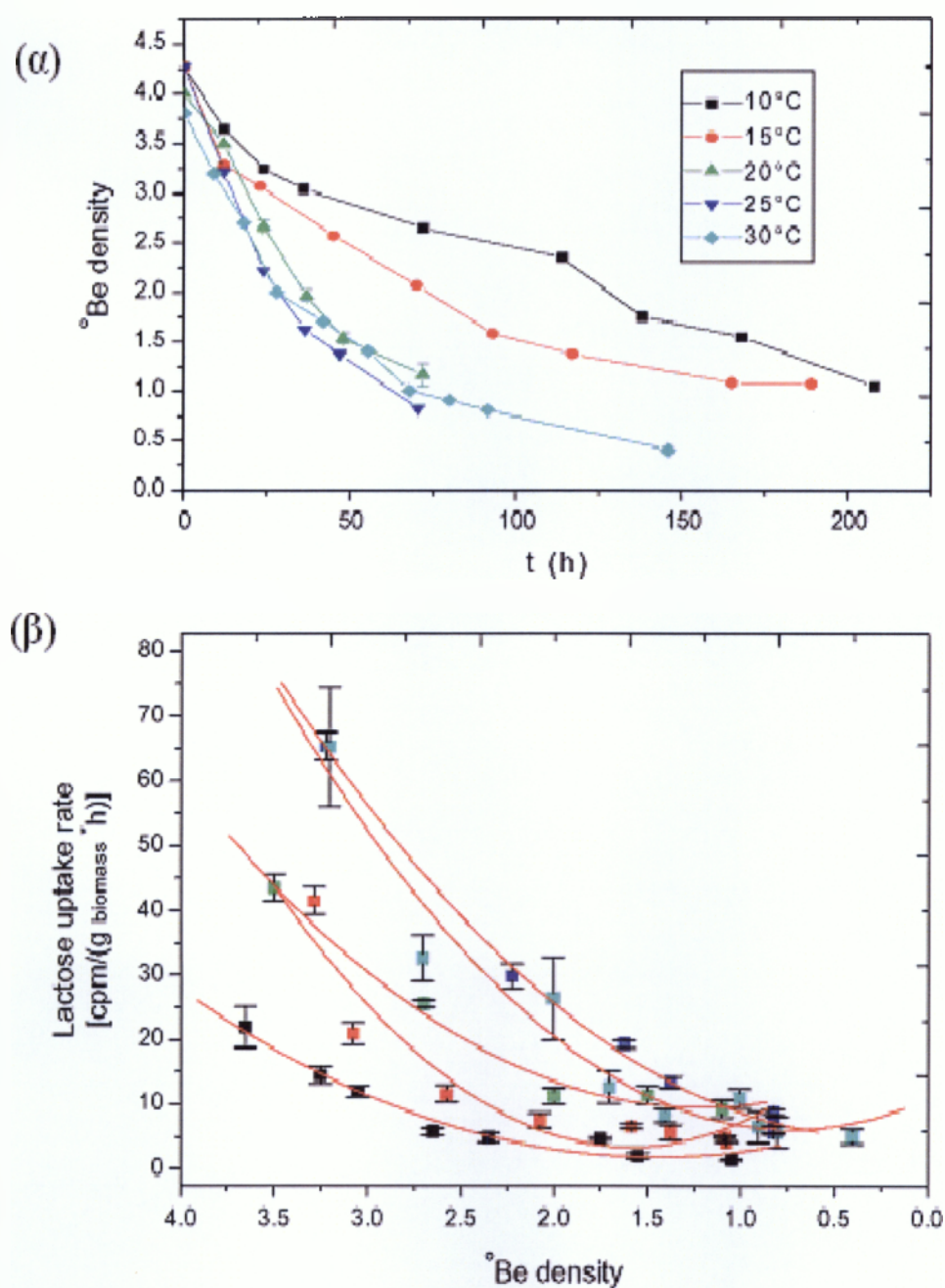
Σχήμα 5.4: A) Υδρόλυση της λακτόζης^[3]

B) Η ενζυμική δράση της λακτάσης^[3]

Οι παρατηρούμενες, μεγάλες διαφορές στον ρυθμό πρόσληψης της λακτόζης που παρουσιάζονται σε τιμές pH από 3,5 έως 6,5 πιθανώς να οφείλονται στον διαφορετικό τρόπο με τον οποίο το κυτταρικό τοίχωμα, ανάλογα με το pH, προσλαμβάνει τα μεταλλικά ιόντα του θρεπτικού υποστρώματος της ζύμωσης. Η αύξηση του ρυθμού πρόσληψης ιόντων από το κυτταρικό τοίχωμα μείωσε το ρυθμό

πρόσληψης λακτόζης διότι τα ιόντα εμποδίζουν τη διάχυσή της μέσα στο κύτταρο. Αυτό επηρέασε και την ταχύτητα με την οποία γίνεται η ζύμωση.

Επιπλέον στα σχήματα 5α και 5β παρουσιάζεται η κινητική της ζύμωσης και ο ρυθμός πρόσληψης λακτόζης από τα κύτταρα σε διάφορες θερμοκρασίες. Ο μεγαλύτερος ρυθμός πρόσληψης παρατηρήθηκε σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 25°C.



Σχήμα 5.5: (α) Κινητική ζύμωσης της λακτόζης
(β) ρυθμός πρόσληψης της λακτόζης σε διάφορες θερμοκρασίες^[20].

Με αύξηση της θερμοκρασίας παρατηρήθηκε τόσο αύξηση του ρυθμού πρόσληψης της λακτόζης όσο και της ταχύτητας ζύμωσης. Κάτι τέτοιο εξηγείται αν σκεφτεί κανείς ότι το 83%-90% του μικροβιακού φορτίου του kefir αποτελείται από βακτήρια γαλακτικού οξέος, η πλειοψηφία των οποίων είναι μεσόφιλα. Αυτά τα μεσόφιλα είδη όπως είναι για παράδειγμα το *S. Lactis* παρουσιάζουν μέγιστη ανάπτυξη στους 30°C. Εξάλλου και τα είδη των μυκήτων που επίσης περιέχονται στο kefir ήταν ικανά να ζυμώνουν σε αυτές τις θερμοκρασίες.

Η αύξηση της ταχύτητας ζύμωσης με αύξηση της θερμοκρασίας αποδίδεται σε αύξηση της ενζυμικής δραστηριότητας σε αυτές τις θερμοκρασίες. Ωστόσο, η αύξηση του ρυθμού πρόσληψης, αυξανομένης της θερμοκρασίας, συνδέεται επίσης με την αύξηση της ταχύτητας ζύμωσης. Από την άλλη, η αύξηση του ρυθμού πρόσληψης λακτόζης, αυξανομένης της θερμοκρασίας, αποδίδεται στην πίεση των κυττάρων σε χαμηλές θερμοκρασίες^[20, 21, 24].

5.5. Συμπεράσματα

Η απότομη αύξηση του ρυθμού πρόσληψης λακτόζης σε χαμηλές κυτταρικές συγκεντρώσεις kefir συνδέεται με τις αυξημένες ταχύτητες ζύμωσης σε ακινητοποιημένα κύτταρα μικρών συγκεντρώσεων (τα οποία έδωσαν μεγαλύτερες ταχύτητες ζύμωσης από ότι τα ελεύθερα κύτταρα παρόμοιων συγκεντρώσεων).

Έτσι, ανοίγει ο δρόμος για τη μελέτη του ρυθμού πρόσληψης υδατάνθρακα από ακινητοποιημένα κύτταρα. Παρομοίως, θα ήταν χρήσιμο να βρεθούν τρόποι αύξησης της ταχύτητας πρόσληψης υδατάνθρακα, ώστε να οδηγηθούμε σε αύξηση της απόδοσης των διαφόρων βιοδιεργασιών.

Ο ρυθμός πρόσληψης λακτόζης συνδέεται με την ταχύτητα ζύμωσης. Συγκεκριμένα :

- Ο ρυθμός πρόσληψης μειώθηκε σε υψηλές συγκεντρώσεις λακτόζης όπως επίσης μειώθηκε και η θερμοκρασία λόγω πίεσης στα κύτταρα kefir. Βέλτιστα αποτελέσματα σχετικά με την πρόσληψη λακτόζης είχαμε για τιμή pH ίση με 5,5.

- Παράλληλα μικρές κυτταρικές συγκεντρώσεις οδήγησαν σε αύξηση του ρυθμού πρόσληψης της λακτόζης από ότι μεγαλύτερες κυτταρικές συγκεντρώσεις kefir.

Ως γενικό συμπέρασμα μπορεί να αναφερθεί ότι το kefir είναι κατάλληλο για τη ζύμωση της λακτόζης του τυρογάλακτος και ότι το pH ασκεί ισχυρή επίδραση στην κινητική των ζυμώσεων.

Επίσης, με τη ζύμωση αυτή επιτυγχάνεται αφενός μεν σημαντική μείωση του ρυπαντικού φορτίου τυρογάλακτος αφού το 80% του BOD₅ αυτού οφείλεται στη λακτόζη και αφετέρου χρόνος αποδεκτός από τις βιομηχανίες αφού η ζύμωση ολοκληρώνεται σε 7,2 ώρες^[20, 21].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε αφενός μεν ο ρυθμός πρόσληψης της γλυκόζης κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης παρουσία προωθητών (γ-αλουμίνα, κυτταρίνη, kissiris), αφετέρου δε η επίδραση του pH, της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης κυττάρων kefir (μίγμα διαφόρων ειδών μυκήτων όπως *Kluyeveromyces*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Pichia* αλλά και βακτηρίων του γαλακτικού οξέος) στην ταχύτητα πρόσληψης λακτόζης και στην ταχύτητα ζύμωσης ορού λακτόζης. Τόσο η λακτόζη, όσο και η γλυκόζη που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν επισημασμένες με ^{14}C . Σκοπός, να βρεθούν οι βέλτιστες τιμές των προαναφερθέντων παραμέτρων.

Από τα αποτελέσματα γίνεται σαφές πως ο κυριότερος παράγοντας που επηρεάζει την ταχύτητα ζύμωσης είναι ο ρυθμός πρόσληψης λακτόζης, εν αντιθέσει με την δραστηριότητα των ενζύμων τα οποία παίρνουν μέρος. Παρατηρήθηκε πως τα ιόντα ασβεστίου (Ca^{+2}) τα οποία περιέχονται στον ορό λακτόζης, είναι υπεύθυνα για την μειωμένη ταχύτητα ζύμωσης, συνεπώς προκειμένου να αυξηθεί η ταχύτητα ζύμωσης είναι απαραίτητη η απομάκρυνσή τους από τον ορό λακτόζης.

Ο ρυθμός πρόσληψης λακτόζης συνδέεται με την ταχύτητα ζύμωσης. Τιμή pH ίση με 5,5, σε μικρές κυτταρικές συγκεντρώσεις kefir, οδήγησαν σε αύξηση του ρυθμού πρόσληψης της λακτόζης από ότι μεγαλύτερες κυτταρικές συγκεντρώσεις. Ως γενικό συμπέρασμα μπορεί να αναφερθεί ότι το kefir είναι κατάλληλο για τη ζύμωση της λακτόζης του τυρογάλακτος και ότι το pH ασκεί ισχυρή επίδραση στην κινητική των ζυμώσεων. Επίσης, με τη ζύμωση αυτή επιτυγχάνεται σημαντική μείωση του ρυπαντικού φορτίου τυρογάλακτος.

Η ταχύτητα πρόσληψης λακτόζης συνδέεται ισχυρά με την ταχύτητα ζύμωσης και αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της ζύμωσης του ορού λακτόζης από κύτταρα kefir, αυξανόμενη της θερμοκρασίας στους $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Κατά τη μελέτη του ρυθμού πρόσληψης γλυκόζης από μύκητες του είδους *Saccharomyces cerevisiae*, παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση της γλυκόζης αυξήθηκε μέσω προσθήκης στερεών ουσιών, γνωστών ως προωθητών της ζύμωσης.

Επιπλέον ότι τα παραπάνω υλικά αυξάνουν και την ταχύτητα της ζύμωσης.

Μάλιστα, βρέθηκε ότι ένας από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ικανότητα των στερεών αυτών υλικών ως προωθητών, είναι η αύξηση του ρυθμού πρόσληψης της γλυκόζης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Βουδούρη Ε.Κ., «Τεχνολογία τροφίμων», Τόμος Α, Αθήνα, 1976.
2. Βουδούρη Ε.Κ., Κοντομηνά Μ.Γ., «Εισαγωγή στη χημεία τροφίμων», Αθήνα 1998.
3. [http:// www.wikipedia.gr](http://www.wikipedia.gr).
4. Γαλανός Δ.Σ., «Χημεία τροφίμων και ευφραντικών», Τόμος 1-5, Αθήνα, 1948.
5. Γαλανός Δ.Σ., «Θέματα χημείας τροφίμων», Αθήνα, 1998.
6. Μπαλατσούρας Γ., «Μικροβιολογία τροφίμων», Αθήνα, 2006.
7. Διαμαντίδης Γ., «Εισαγωγή στη βιοχημεία», 2^η έκδοση, Θεσσαλονίκη, 1994
8. Καπούλας Β.Μ., «Θέματα Βιοχημείας», Τεύχος 1^{ον}, Αθήνα 1972.
9. [http:// www.chem.uoa.gr](http://www.chem.uoa.gr).
10. Could R.F. (edit.), «Chemistry of Winemaking», Amer. Chem. Soc., Library of Congress, Advances in Chemistry Series, No 137, U.S.A., 1976.
11. Σταυρακάκη Μ.Ν., «Μαθήματα γενικής και ειδικής αμπελουργίας», Αθήνα 1990.
12. Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J., «Βιολογία των μικροοργανισμών», Ηράκλειο, 2010.
13. Κατάκη Δ., «Μαθήματα ανοργάνου χημείας», Αθήνα, 1972.
14. Salle A.J., «Fundamental Principles of Bacteriology», Mc Graw-Hill Book Co, 6th ed., 1967.
15. M.J., «Modern Food Microbiology», Van Nostrand Reinhold Co., 1970.
16. Kosilowski F.V., «Cheese and Fermented Milk Foods», Edward Bros. Publ. Inc., Ann Arbor, Mich., 1966.
17. Pocedicova K., Germain B., Krausova J., Curda L., «Preparation of galactooligosaccharides using crude cell extract from lactic acid bacteria», Journal of Biotechnology, 150, 2010, p.334.
18. Soupioni M., Polichroniadou E., Tokatlidou M., Kanellaki M. and Koutinas A. A., «Glucose uptake rate by *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of promoters of alcoholic fermentation using ¹⁴C-labelled glucose», Biotechnology Letters, Vol 20, No 5, May 1998, pp. 495-497.
19. Salle A.J., «Fundamental Principles of Bacteriology», Mc Graw-Hill Book Co, 6th ed., 1967.

20. Golfinopoulos A., Kopsahelis N., Tsaousi K., Koutinas A. A., Soupioni M., «Research perspectives and role of lactose uptake rate revealed by its study using ^{14}C -labelled lactose in whey fermentation», *Bioresource Technology* 102, 2011, p.4204-4209.
21. Golfinopoulos A., Papaioannou L., Soupioni M., Koutinas A. A., «Lactose uptake rate by kefir yeast using ^{14}C -labelled lactose to explain kinetic aspects in its fermentation», *Bioresource Technology* 100, 2009, p. 5210-5213.