

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΟΛΥΟΛΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΖΥΜΗΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΓΛΥΚΕΡΟΛΗΣ ΚΑΙ pH

Ε. Βασταρούχα¹, Σ. Παπανικολάου¹

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια μεταπτυχιακής μελέτης έγινε διερεύνηση της ικανότητας της ζύμης *Yarrowia lipolytica* να αναπτύσσεται σε υδρόφιλο υπόστρωμα χαμηλού κόστους και συγκεκριμένα σε γλυκερόλη, η οποία είναι παραπροϊόν της βιομηχανικής παραγωγής βιοκαυσίμου (biodiesel). Ειδικότερα, η ικανότητα της ζύμης να μεταβολίζει την γλυκερόλη προς παραγωγή πολυολών (π.χ. μαννιτόλη, αραβιτόλη, ερυθριτόλη), βιομάζας και δευτερογενών μεταβολιτών όπως μικροβιακό λίπος και ενδοπολυσακχαρίτες, προϊόντα με ισχυρές αντιοξειδωτικές ικανότητες, κατάλληλα για χρήση τόσο στη φαρμακοβιομηχανία όσο και στη βιομηχανία τροφίμων. Απώτερος σκοπός είναι η μέγιστη παραγωγή πολυολών. Οι καλλιέργειες διενεργήθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις υποστρώματος, pH και σε σταθερές συνθήκες ανάδευσης (180rpm) και θερμοκρασίας (30°C). Η γλυκερόλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν διαχωρισμένη και καθαρότητας 88% κατά βάρος. Στην πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν τα στελέχη του γένους *Yarrowia lipolytica* LMBF Y-46 και LMBF Y-47. Πραγματοποιήθηκαν υγρές καλλιέργειες, ασυνεχούς τύπου, σε αναδευόμενες φιάλες Erlenmeyer των 250mL, χρησιμοποιώντας ως πηγή άνθρακα γλυκερόλη, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (60 g L⁻¹, 80 g L⁻¹ και 120 g L⁻¹) με περιοριστικό παράγοντα αύξησης το άζωτο και σε διαφορετικές τιμές pH (3.0, 4.0, 5.0, 6.0 και 7.0). Προσδιορίστηκε το ξηρό βάρος βιομάζας, πραγματοποιήθηκε μέτρηση της βιομάζας με ξήρανση και στη συνέχεια εκχύλιση των λιπιδίων για τον ποσοτικό προσδιορισμό τους (Papanikolaou *et al.*, 2003)^[1]. Διαπιστώθηκε επίσης, η παραγωγή ενδοπολυσακχαριτών, ο προσδιορισμός των οποίων έγινε με DNS. Η παραγωγή μαννιτόλης, η κατανάλωση των σακχάρων αλλά και ο ποιοτικός προσδιορισμός των παραγόμενων ενδοπολυσακχαριτών προσδιορίστηκε μέσω υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).

Στο πρώτο σετ πειραμάτων τα δυο στελέχη εξετάστηκαν ως προς τις διαφορετικές τιμές pH σε υπόστρωμα βιομηχανικής γλυκερόλης, συγκέντρωσης 40 g L⁻¹. Η συγκριτική τους αξιολόγηση βασίστηκε στην ικανότητα τους να καταναλώνουν την γλυκερόλη και να την μετατρέπουν σε βιομάζα, ενδοπολυσακχαρίτες και δευτερογενείς μεταβολίτες. Αναλυτικά, οι μετρήσεις έδειξαν ότι τα δυο στελέχη της ζύμης *Yarrowia lipolytica* δίνουν μέγιστες τιμές ενδοπολυσακχαριτών σε συνθήκες υψηλού pH (6.0). Επιπλέον τα δυο στελέχη μελετήθηκαν και ως προς την παραγωγή τους σε μικροβιακό λίπος, τα υψηλότερα ποσοστά παρατηρήθηκαν σε pH 3.0. Αξιοσημείωτη είναι η παραγωγή πολυολών και ειδικά της μαννιτόλης που έφτασε τα 19.64 g L⁻¹ σε pH 3.0 για το στέλεχος LMBF Y – 46 μέσα στις πρώτες 48 ώρες της ζύμωσης, σε αντίθεση με το στέλεχος LMBF Y – 47 που στις ίδιες ώρες ζύμωσης είχε παράξει 10.13 g L⁻¹ μαννιτόλης.

Στο δεύτερο σετ πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος LMBF Y – 46 – σε σταθερές συνθήκες ανάδευσης (180rpm), θερμοκρασίας (30°C) και pH (3.5), με σκοπό την αξιολόγηση της συμπεριφοράς του σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αρχικού υποστρώματος (60 g L⁻¹, 80 g L⁻¹ και 120 g L⁻¹). Από τις μετρήσεις συμπεραίνεται ότι για μικρές αρχικές συγκεντρώσεις υποστρώματος (60 g L⁻¹) αυξάνεται ο συντελεστής πολυολών (89%), ενώ για μεγάλες αρχικές συγκεντρώσεις αυξάνονται οι συγκεντρώσεις των πολυολών ξεχωριστά, καθώς επίσης και ο συντελεστής απόδοσης της μαννιτόλης ως προς το καταναλωθέν υπόστρωμα μικραίνει όσο αυξάνεται η αρχική συγκέντρωση υποστρώματος. Επιπροσθέτως στις μεγάλες συγκεντρώσεις αρχικού υποστρώματος παρατηρείται το φαινόμενο της αυτόλυσης, καθώς υπάρχει πτώση της βιομάζας μετά τις 96 ώρες που παρατηρείται η μέγιστη τιμή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Papanikolaou S, Muniglia L, Chevalot I, Aggelis G, Marc I, Accumulation of cocoa-butter-like lipid by *Yarrowia lipolytica* cultivated on agro-industrial residues. *Curr Microbiol*, 2013, 46:124-130.