

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΖΥΜΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΥΨΗΛΗΣ ΠΡΟΣΤΙΘΕΜΕΝΗΣ ΑΞΙΑΣ

A. Μοσχονά¹, A. Τσιρίγκα^{1,2}, E. Θεοδοσίου³, A. Ανδρεαδέλλη³, A.I. Καράμπελας¹, A.M. Μακρής³, Σ.Ι. Πάτσιος^{1,*}

¹ Ινστιτούτο Χημικών Διεργασιών και Ενεργειακών Πόρων (ΙΔΕΠ), Εθνικό Κέντρο Έρευνας & Τεχνολογικής Ανάπτυξης, Θέρμη, Ελλάδα

² Τμήμα Χημικών Μηχανικών, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

³ Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών (ΙΝΕΒ), Εθνικό Κέντρο Έρευνας & Τεχνολογικής Ανάπτυξης, Θέρμη, Ελλάδα

(*patsios@certh.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η συνεχής πρόοδος των εργαλείων μεταβολικής και γενετικής μηχανικής έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη γενετικά ανασυνδυασμένων στελεχών μικροοργανισμών, με στόχο την παραγωγή χημικών ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας, όπως ένζυμα (π.χ. λιπάσες) και δευτερογενείς μεταβολίτες^[1,2]. Η βιοτεχνολογική παραγωγή αυτών των χημικών ενώσεων σε μικροβιακά συστήματα αποτελεί μία εναλλακτική και βιώσιμη διεργασία με πληθώρα εφαρμογών, όπως η παραγωγή βιοκαυσίμων, βιοχημικών, βιοδραστικών ενώσεων, κτλ.^[3,4]. Σε αυτή τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τροποποιημένα στελέχη των ζυμών *Yarrowia lipolytica* και *Saccharomyces cerevisiae*, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να παράγουν χημικές ενώσεις υψηλής προστιθέμενης αξίας χρησιμοποιώντας αγροτοβιομηχανικά παραπροϊόντα ως υποστρώματα χαμηλού κόστους, όπως η ακατέργαστη γλυκερόλη ή η μελάσα, αντίστοιχα. Η καλλιέργεια των τροποποιημένων στελεχών πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακό βιοαντιδραστήρα 3L, σε συνθετικά θρεπτικά με στόχο τη βελτιστοποίηση κρίσιμων λειτουργικών παραμέτρων, όπως η τιμή του pH και ο ρυθμός αερισμού, για τη μεγιστοποίηση της παραγωγής βιομάζας, ενζύμων και τερπενίων. Στις βέλτιστες λειτουργικές συνθήκες, καλλιεργήθηκε τροποποιημένο στέλεχος *Y. lipolytica* που φέρει αγκιστρωμένη τη λιπάση LIP2 στην κυτταρική επιφάνεια (whole cell biocatalyst – WCB) και παρήχθησαν περίπου 32 g/L ξηρής βιομάζας WCB, μετά από 48 h καλλιέργειας. Επίσης, στις βέλτιστες λειτουργικές συνθήκες για την καλλιέργεια τροποποιημένου στελέχους *S. cerevisiae* που παράγει σκλαρεόλη (C₂₀H₃₆O₂), παρήχθησαν περίπου 580 mg/L σκλαρεόλης, μετά από 96 h καλλιέργειας. Στη συνέχεια, βιομάζα του τροποποιημένου στελέχους *Y. lipolytica* χρησιμοποιήθηκε ως βιοκαταλύτης ολόκληρου κυττάρου (WCB) για την παραγωγή βιοντίζελ. Η μετεστεροποίηση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση χαμηλής ποιότητας και υψηλής οξύτητας ελαίων, ενώ μελετήθηκε η επίδραση της ποσότητας της βιομάζας (25 και 50% w/w ως προς την ποσότητα του ελαίου) και του νερού (2, 16 και 32% w/w ως προς την ποσότητα του ελαίου) στην απόδοση παραγωγής μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (Fatty acid methyl esters – FAME). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η μετεστεροποίηση με χρήση βιομάζας WCB οδήγησε στην παραγωγή μιας ελαιώδους φάσης με συγκέντρωση 50% w/w σε FAME. Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση της επαναχρησιμοποίησης του βιοκαταλύτη στην απόδοση μετεστεροποίησης, πραγματοποιώντας έως και τρεις επαναλαμβανόμενους κύκλους ενζυμικής μετεστεροποίησης όξινων ελαίων, με στόχο τη μείωση του συνολικού κόστους της διεργασίας.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Βιοαντιδραστήρας, τερπένια, βιοκαταλύτης ολόκληρου κυττάρου, μετεστεροποίηση, βιοντίζελ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Lin B, Tao Y. (2017). *Microb. Cell Factories.*, 16, 1-12.
- [2] Rahmat E, Kang Y. (2020). *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 104, 4659-4674.
- [3] Gavrilescu M, Chisti Y. (2005). *Biotechnol. Adv.*, 23(7-8), 471-499.
- [4] Ignea M, Raadam MH, Motawia MS, Makris AM, Vickers CE, Kampranis SC. (2019). *Nat. Commun.*, 10(1), 3799.