

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Ανάπτυξη της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* σε διαφορετικές πηγές άνθρακα και διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός του εργαστηρίου είναι η ανάπτυξη της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* σε διαφορετικές πηγές άνθρακα και διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας. Ποιο συγκεκριμένα στην πρώτη εργαστηριακή μέρα θα γίνει παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων, ενεργοποίηση ζύμης και εμβολιασμός.

ΘΕΩΡΙΑ

Ο *Saccharomyces cerevisiae* (S.C.) είναι ένα είδος σακχαρομύκητα γνωστό για την αξιοποίησή του στην παρασκευή ψωμιού, κρασιού και μπύρας. Πιστεύεται ότι είχε αρχικά απομονωθεί από τη φλούδα των σταφυλιών. Είναι ένας από τους πιο εντατικά μελετημένους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και χρησιμοποιείται ως οργανισμός μοντέλο στη μοριακή και κυτταρική βιολογία επειδή μπορεί να καλλιεργηθεί εύκολα και φθηνά. Προκαλεί πολλούς κοινούς τύπους ζύμωσης. Τα κύτταρα *S. cerevisiae* είναι στρογγυλά έως ωοειδή, με διάμετρο 5–10 μm. Αναπαράγεται με εκβλάστηση. Ο S.C. μπορεί να αναπτυχθεί αερόβια και αναερόβια. Η ικανότητά του να χρησιμοποιεί διαφορετικά σάκχαρα εξαρτάται από τον τρόπο που αναπτύσσεται (αερόβια ή αναερόβια).

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 1) Κωνικές φιάλες των 250ml
- 2) Βαμβάκι
- 3) Ποτήρια ζέσεως
- 4) Σιφώνια και πουάρ
- 5) Ογκομετρικός κύλινδρος
- 6) Κλίβανος
- 7) Πεχάμετρο
- 8) Ζυγός

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ

Θα παρασκευαστούν θρεπτικά υποστρώματα με 4 διαφορετικές πηγές άνθρακα (Γλυκόζη, Σακχαρόζη, Λακτόζη, Σακχαρόζη/Γλυκόζη). Η ενδεδειγμένη σύσταση w/v ενός υγρού υποστρώματος για την ανάπτυξη του *Saccharomyces cerevisiae* είναι η εξής:

- 100g/L ΣΑΚΧΑΡΟ (πηγή άνθρακα)
- 2g/L (NH₄)₂SO₄ (πηγή αζώτου)
- 2g/L Εκχύλισμα ζύμης (πηγή βιταμινών και αζώτου)
- 1g/L KH₂PO₄ (πηγή καλίου και φωσφόρου)

- 1g/L K₂HPO₄ (πηγή καλίου και φωσφόρου)
- 0,2g/L MgSO₄ (πηγή μαγνησίου)
- 0,2g/L ZnSO₄ (πηγή ψευδαργύρου)

Οι παραπάνω ποσότητες (σε g) από κάθε συστατικό αναφέρονται για διάλυμα 1L (1.000ml). Στο εργαστήριο θα παρασκευάσουμε θρεπτικό υπόστρωμα για καλλιέργεια των 50ml.

***Υπολογίστε τις ποσότητες που θα χρειαστούμε από τον κάθε θρεπτικό παράγοντα για την προετοιμασία καλλιέργειας 50ml.**

Αφού ζυγιστούν τα απαραίτητα υλικά, τοποθετούνται σε κωνικές φιάλες των 250mL και προστίθεται η κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού ως τελικό όγκο 50ml.

Το διάλυμα που προκύπτει είναι διαυγές και ελέγχεται το pH του. Ο ζαχαρομύκητας *S. cerevisiae* δεν αναπτύσσεται σε ακραία όξινες ή βασικές συνθήκες (προτεινόμενη τιμή pH=4,5).

Κάθε ομάδα θα παρασκευάσει δύο ίδια θρεπτικά υποστρώματα που θα περιέχει ένα είδος σακχάρου, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας.

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΖΥΜΗΣ

Θα χρησιμοποιηθεί ζύμη αρτοποιίας σε λυοφιλιωμένη μορφή (σκόνη).

1. Θερμαίνουμε 60ml απιονισμένου νερού περίπου 40°C .
2. Προσθέτουμε περίπου μισό κουταλάκι ζάχαρης
3. Προσθέτουμε περίπου μισό κουταλάκι ζύμης
4. Το διάλυμα που προκύπτει αφήνεται έως ότου παρατηρηθεί αφρισμός στην επιφάνεια.

ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ

Για 50mL θρεπτικού υποστρώματος, ως εμβόλιο θεωρείται το 10% του όγκου του. Όλες οι κωνικές φιάλες με τα θρεπτικά υλικά εμβολιάζονται με 5mL του παραπάνω διαλύματος των ενεργοποιημένων ζυμών, με την χρήση σιφωνίου και πουάρ.

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΖΥΜΗΣ

Η ανάπτυξη του *S.cerevisiae* θα πραγματοποιηθεί τόσο σε επωαστικό κλίβανο στους 30°C όσο και σε συνθήκες περιβάλλοντος.

Κάθε ομάδα τοποθετεί μία κωνική φιάλη σε κλίβανο (σταθερή θερμοκρασία 30°C) και μία κωνική φιάλη σε θερμοκρασία περιβάλλοντος

Οι φιάλες θα επωαστούν για 7 ημέρες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Salari R., Salari R. Investigation of the Best Saccharomyces cerevisiae Growth Condition. Electron. Physician. 2017;9:3592–3597. doi: 10.19082/3592.