



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Φωτοσύνθεση (ΒΙΟΛ-440)

9^η Ενότητα

Φωτοσύνθεση- Βιοτεχνολογικές εφαρμογές

Κοτσαμπάσης Κυριάκος

Καθηγητής

Τμήμα Βιολογίας

Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Κρήτης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημείωμα αδειοδότησης

- Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση, Όχι Παράγωγο Έργο 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

- Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:
 - που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
 - που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
 - που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφήμιση) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο
- Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

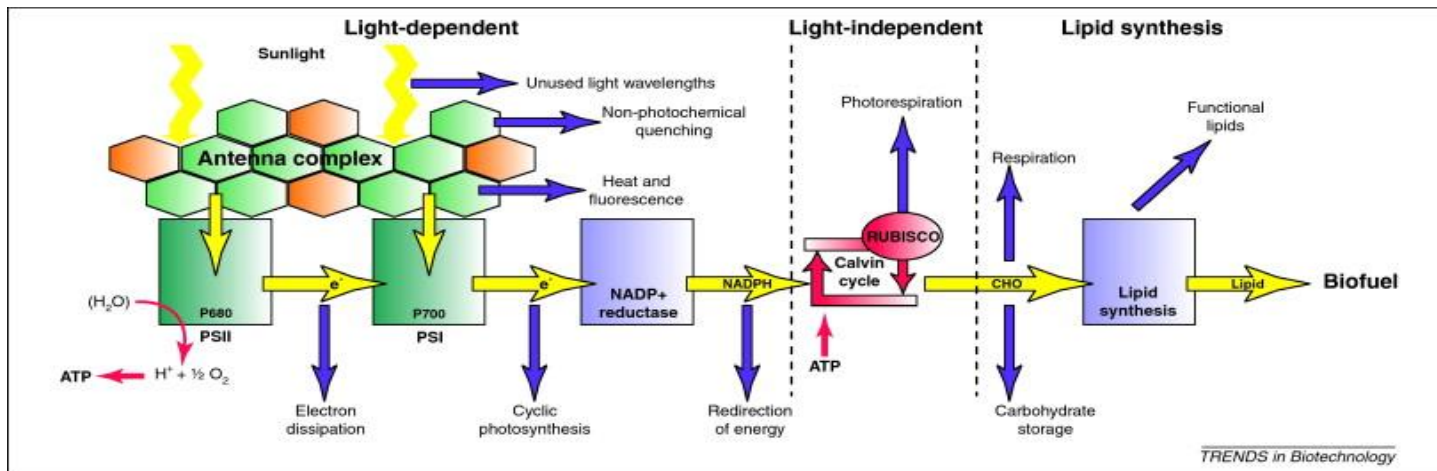
ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗ - ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

➤ Βιοαντιδραστήρες μικροφυκών για τη δέσμευση CO₂ και την παραγωγή βιοκαυσίμων

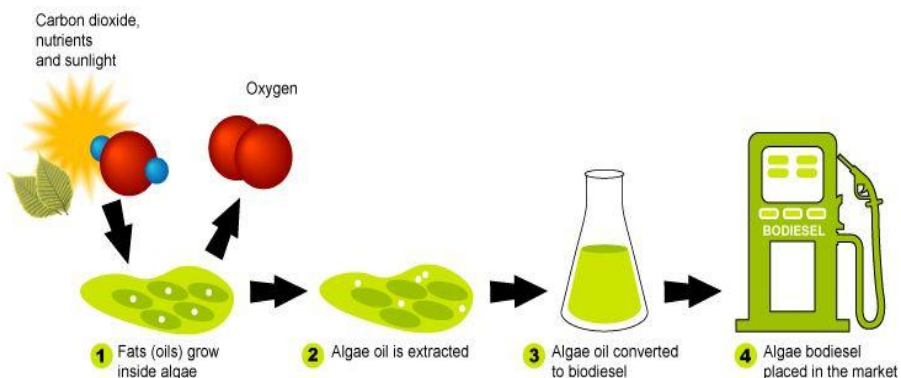
Τα μονοκύτταρα χλωροφύκη (π.χ. *Chlorella minutissima*, *Scenedesmus obliquus*), όταν εκτεθούν σε ακραίες συγκεντρώσεις διοξειδίου του άνθρακα (5-40%) σε μεσογειακές συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας, αυξάνουν έντονα τη βιομάζα τους μέσω συγκεκριμένων φωτοχημικών και μη-φωτοχημικών αλλαγών στη φωτοσυνθετική διαδικασία (για λόγους σύγκρισης, είναι γνωστό ότι συγκεντρώσεις CO₂ υψηλότερες του 1% είναι τοξικές στα ανώτερα φυτά). Ειδικά, οι συγκεντρώσεις CO₂ μέχρι 10% αυξάνουν την πυκνότητα των ενεργών κέντρων αντίδρασης (RC/CS₀), μειώνουν το μέγεθος της φωτοσυλλεκτικής κεραίας ανά ενεργό κέντρο αντίδρασης (ABS/RC), μειώνουν την ενέργεια διάχυσης (DIO/RC) και ενισχύουν την κβαντική παραγωγή της πρωτογενούς φωτοχημείας (Fv/Fm). Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις CO₂ (20-25%) οι προαναφερθείσες φωτοχημικές αλλαγές συνδυάζονται με την ενισχυμένη μη-φωτοχημική απόσβεση της περίσσειας ενέργειας (NPQ), που οδηγεί σε ένα αυξημένο επίπεδο "ανοικτών" (οξειδωμένων) κέντρων αντίδρασης του PSII (q_p), με ελάχιστη πίεση διέγερσης του PSII ($1 - q_p$) κάτω από τις πολύ υψηλές εντάσεις φωτισμού ($\sim 1700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), αποφεύγοντας τη φωτοαναστολή (photoinhibition) του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Όλα αυτά, ιδιαίτερα στις μεσογειακές συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού, οδηγούν σε τεράστια αύξηση βιομάζας υψηλής ποιότητας ($\sim 2500\%$ υψηλότερες τιμές βιομάζας από τις αντίστοιχες της καλλιέργειας του μάρτυρα) [Parazi et al. 2008 - <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.2007.01015.x/pdf>].



Συμπερασματικά, αυτές οι ακραίες συγκεντρώσεις CO₂ (περίπου 1000 φορές υψηλότερες από τις φυσικές τιμές) μπορούν εύκολα να μεταβολισθούν από τα μονοκύτταρα χλωροφύκη σε βιομάζα υψηλής ποιότητας. Με αυτά τα δεδομένα γίνεται σαφές ότι τα εν λόγω μικροφύκη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη μεγάλης κλίμακας «φωτοβιοαντιδραστήρων μικροφυκών» για την εξουδετέρωση εργοστασιακών εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα και η βιομάζα τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παραγωγή βιοκαυσίμων.

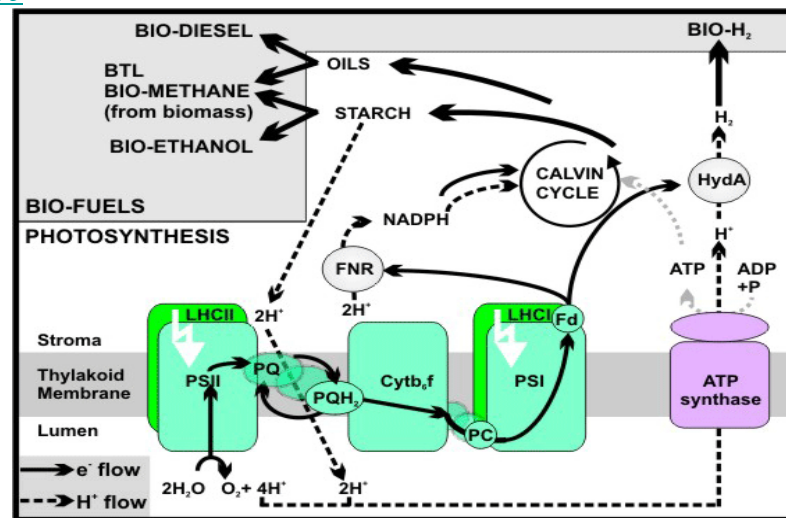


<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016777991100>



<http://www.youtube.com/watch?v=oQqlsk3cuWY>

<https://lawofalgae.wiki.zoho.com/Chapter-1---Introduction-to-Algae-Biofuels.html>

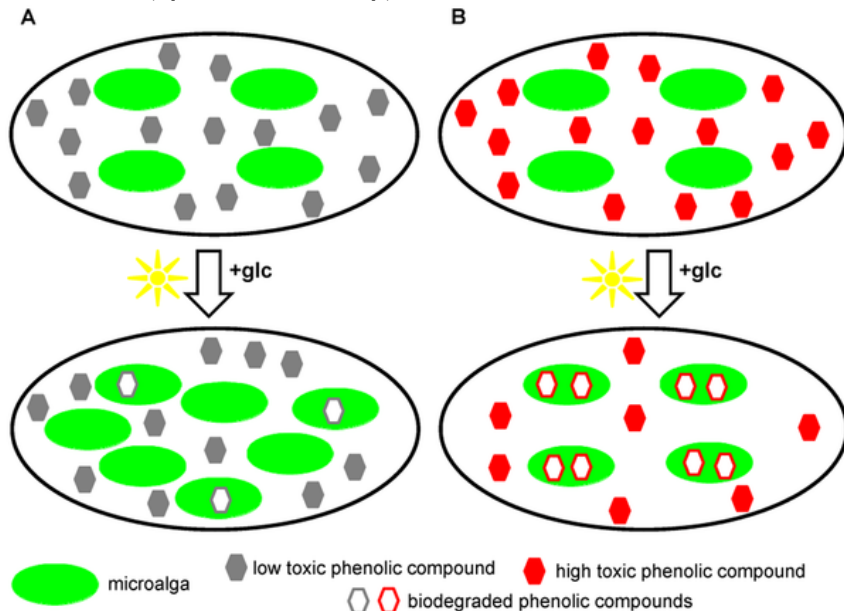


<http://solarbiofuels.org/consortium.php>

Video – Biofuels from algae: <http://www.youtube.com/watch?v=nb6Nt9XN5Ak>

➤ Βιοενεργητική στρατηγική βιοαποικοδόμησης τοξικών ενώσεων από μικροφύκη

Η βιοενεργητική στρατηγική βιοαποικοδόμησης φαινολικών ενώσεων από το μονοκύτταρο χλωροφύκος *Scenedesmus obliquus* έδειξε ότι πρόκειται για μια ξεκάθαρα θερμοδυναμικά φωτοελεγχόμενη διαδικασία. Η επιλογή του καταλληλότερου μονοπατιού βιοαποικοδόμησης γίνεται με βάση το ενεργειακό ισοζύγιο του χλωροφύκου. Αυτό το ενεργειακό ισοζύγιο καθορίζεται από πληθώρα βιοτικών και αβιοτικών παραμέτρων. Η θέση (ortho, meta ή para) και ο αριθμός των υποκαταστατών στο φαινολικό δακτύλιο, τα φαινόμενα του συντονισμού και της επαγωγής, που ελέγχουν τη συμπεριφορά του υποκαταστάτη ως δότη ή δέκτη ηλεκτρονίων, καθορίζουν τις ενεργειακές απαιτήσεις για τη βιοδιάσπαση των φαινολικών ενώσεων, ενώ η εξωγενής πηγή του άνθρακα (ανόργανου ή/και οργανικού) και η ένταση της φωτονιακής ακτινοβολίας είναι οι σημαντικότεροι από τους παράγοντες που ελέγχουν [μέσω μη κυκλικής και κυκλικής φωτοφωσφορύλωσης στο χλωροπλάστη, αναπνευστικής αλυσίδας δια του κυτοχρωμικού (COX) ή/και του εναλλακτικού (AOX) μονοπατιού στο μιτοχόνδριο και της χλωροαναπνοής (PTOX) στο χλωροπλάστη] τα ενεργειακά αποθέματα του χλωροφύκου που θα επενδυθούν για τη βιοαποικοδόμηση φαινολικών ενώσεων διαφορετικής τοξικότητας και δυσκολίας βιοδιάσπασης.

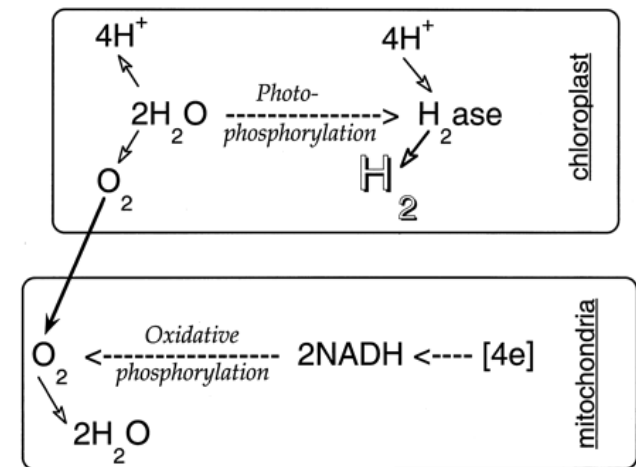
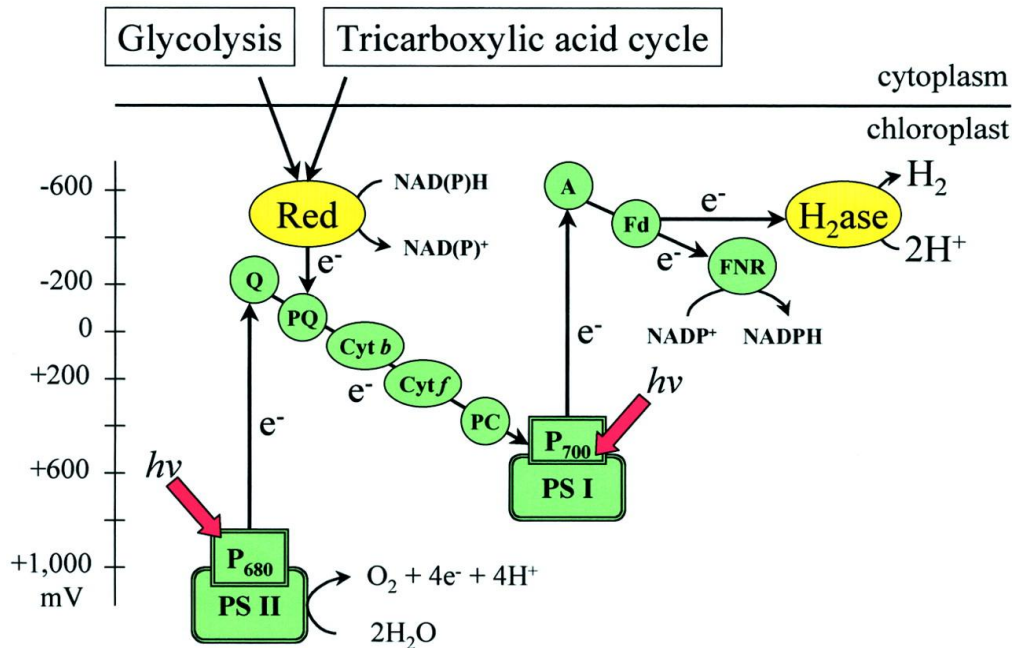


Τα μικροφύκη παρουσιάζουν μία κεντρική στρατηγική βιοαποικοδόμησης. Όταν μικροφύκη εκτεθούν σε μόρια χαμηλής τοξικότητας, τότε επενδύουν όλα τα ενεργειακά τους αποθέματα στην ανάπτυξη και όχι στη βιοαποικοδόμηση με αποτέλεσμα μετά από κάποιο χρονικό διάστημα να μειωθεί ουσιαστικά η ποσότητα της τοξικής ουσίας ανά κύτταρο και να αντιμετωπιστεί με το λιγότερο δυνατό ενεργειακό κόστος. Αντίθετα, όταν τα μικροφύκη εκτεθούν σε μόρια υψηλής τοξικότητας, επενδύουν όλα τα ενεργειακά αποθέματα τους στην βιοαποικοδόμηση σταματώντας την ανάπτυξη.

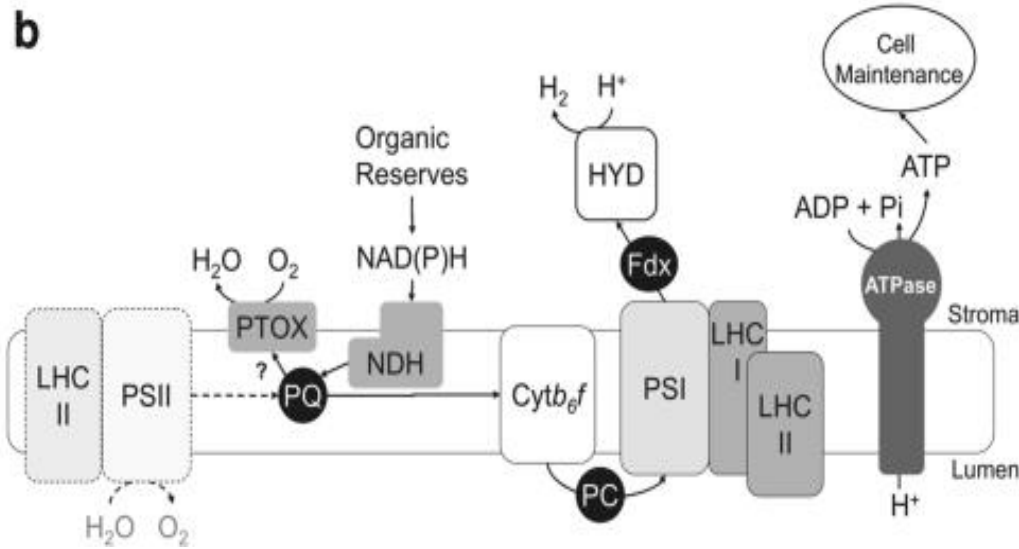
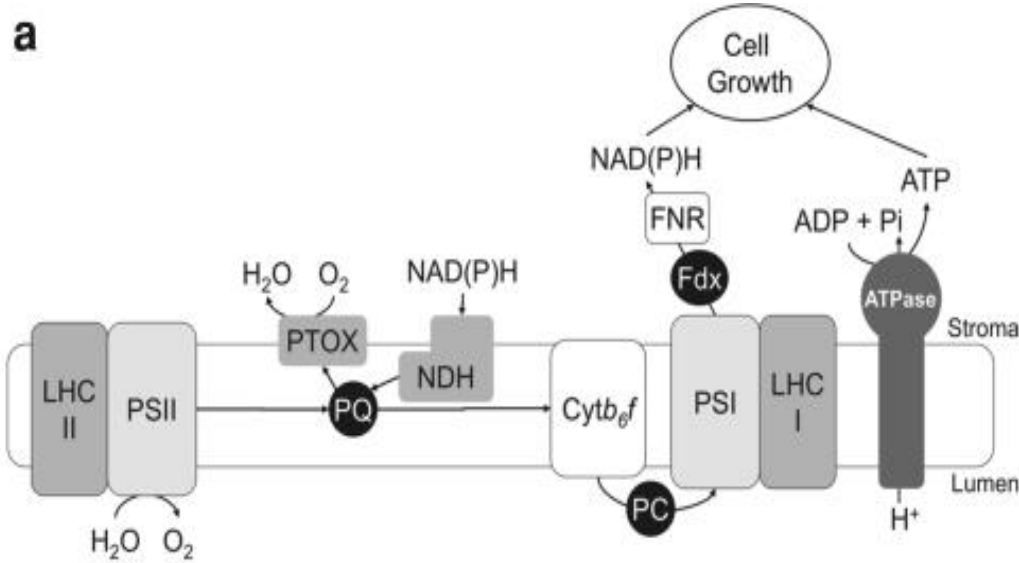
➤ Φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου (H₂) από χλωροφύκη

Τα χλωροφύκη έχουν τη δυνατότητα να παράγουν αέριο υδρογόνο σε ανοξικές συνθήκες μέσω του φωτοσυνθετικού μηχανισμού τους (Gaffron and Rubin, 1942). Κάτω από αναερόβιες συνθήκες τα κύτταρα ενεργοποιούν μια Fe-υδρογενάση (Harpe and Naber, 1993), που καταλύει την αντίστροφη αναγωγή των πρωτονίων σε μοριακό υδρογόνο (H₂). Στα χλωροφύκη, η υδρογενάση εδράζει στο χλωροπλάστη (Harpe et al., 1994) και λαμβάνει ηλεκτρόνια κατευθείαν από την ανηγμένη φερρεδοξίνη για τη δημιουργία υδρογόνου (Florin et al., 2001).

Η φωτοσυνθετική παραγωγή του υδρογόνου μπορεί να είναι το αποτέλεσμα δύο διαφορετικών μονοπατιών αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Το πρώτο είναι εξαρτώμενο από το PSII και εμπλέκει τη φωτόλυση του νερού ως τη μοναδική πηγή ηλεκτρονίων για το PSI, τη φερρεδοξίνη και τη Fe-υδρογενάση. Το δεύτερο είναι ανεξάρτητο του PSII και χρησιμοποιεί τον καταβολισμό των ενδογενών οργανικών υποστρωμάτων ως αναγωγική πηγή ενέργειας (Melis and Harpe, 2001). Ο καταβολισμός εξασφαλίζει ηλεκτρόνια για τη φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στο επίπεδο της πλαστοκινόνης, κυρίως από το μονοπάτι της χλωροαναπνοής (Melis et al., 2000; Hemschemeier et al., 2009).



Σχηματική απεικόνιση της φωτοσυνθετικής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στο μονοκύτταρο χλωροφύκος *Chlamydomonas reinhardtii* σε συνθήκες a) φυσιολογικής φωτοσύνθεσης και b) σε συνθήκες παραγωγής υδρογόνου [υποβάλλοντας το μικροφύκος σε θρεπτικά από τα οποία απουσιάζει το θείο (S)]. Η έλλειψη θείου προκαλεί δραματική μείωση της ενεργότητας του PSII (διακεκομμένη γραμμή). Επιπλέον η κεραία του LHCII μεταφέρεται μερικώς στο PSI (state 2). Η μείωση της παραγωγής οξυγόνου στο PSII έχει ως αποτέλεσμα την εγκαθίδρυση ανοξικών συνθηκών, που ενεργοποιούν την υδρογενάση. Εκτός από τη μειωμένη ενεργότητα του PSII, η οξειδωτική αποικοδόμηση οργανικών υποστρωμάτων, όπως το άμυλο, είναι σημαντική πηγή ηλεκτρονίων για την παραγωγή του υδρογόνου. Τα ηλεκτρόνια που παράγονται από την τελευταία διαδικασία πιθανόν να μεταφέρονται στη φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων από μια πλαστιδιακή NAD(P)H-αφυδρογενάση (NDH). Η τροποποιημένη φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (ελλείψει του θείου) επιτρέπει στη μεταφορά των ηλεκτρονίων να συνεχίζεται όσο τα κύτταρα παράγουν ATP από τη φωσφορυλίωση (Hemschemeier et al., 2009).



http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2777220/pdf/11120_2009_Article_9415.pdf

➤ Φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου μέσω βιοαποικοδόμησης φαινολικών ενώσεων σε μονοκύτταρα χλωροφύκη

Η συνδυαστική δράση βιοαποικοδόμησης συγκεκριμένων φαινολικών ενώσεων και φωτοσυνθετικής σύνθεσης υδρογόνου άνοιξε νέες βιοτεχνολογικές προοπτικές.

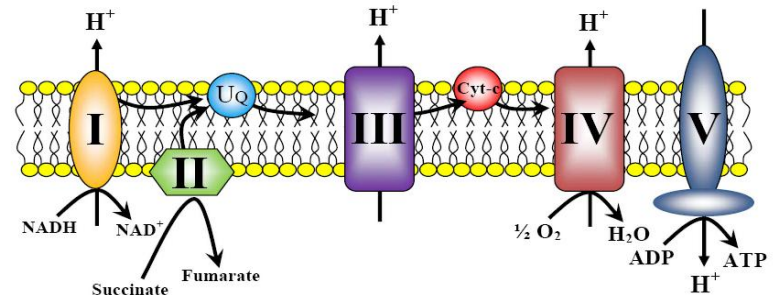
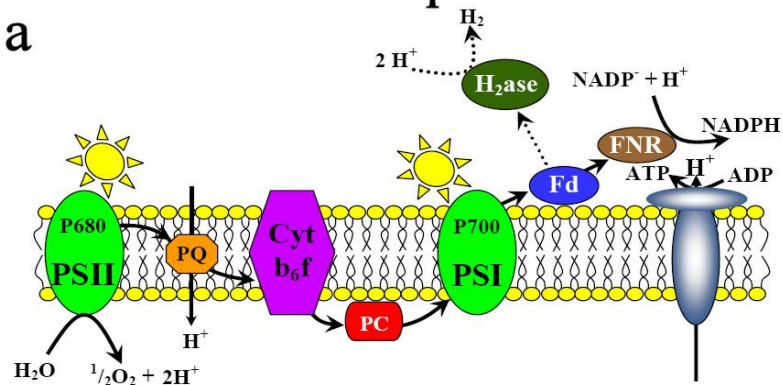
Το πρώτο βήμα της βιοαποικοδόμησης των διχλωροφαινολών είναι η αναγωγή τους. Η ανηγμένη μορφή των 2,3-, 2,5- και 3,4-διχλωροφαινολών, βάσει του οξειδοαναγωγικού τους δυναμικού, μπορεί να ενσωματωθεί στην αναπνευστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στη θέση της ουμπικινόνης, επάγοντας μεγάλη αναπνευστική δραστηριότητα (επαγωγή κυτοχρωμικού και εναλλακτικού μονοπατιού των μιτοχονδρίων – καθώς και της χλωροαναπνοής που εδράζει στο χλωροπλάστη) και κατ' επέκταση συνθήκες ανοξίας μέσα σε διάστημα λιγότερο από 24 ώρες. Παράλληλα η ανηγμένη μορφή των συγκεκριμένων διχλωροφαινολών ενσωματώνεται και στη φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων πριν από τη δεξαμενή της πλαστοκινόνης (PQ), τροφοδοτώντας με ηλεκτρόνια - ως δότης ηλεκτρονίων - το PSI, παρεμποδίζοντας ολοκληρωτικά την ενεργότητα του PSII και κατ' επέκταση την παραγωγή O₂. Η μοναδική συγκυρία της συνδυαστικής δράσης ανοξίας και αποκλειστικής ενεργοποίησης του PSI, επάγει την υδρογενάση και την παραγωγή τεράστιων σε σύγκριση με τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα H₂. Συνδυαστικά οι εν λόγω διχλωροφαινόλες μπορούν να μεταφέρουν ηλεκτρόνια και απευθείας σε πρωτόνια, σχηματίζοντας επιπλέον μοριακό υδρογόνο (H₂) σύμφωνα με την αντίδραση: $2H^+ + D_{red} \rightarrow H_2 + D_{ox}$, δικαιολογώντας τις ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις του παραγόμενου υδρογόνου σε σύγκριση με τον ανοξικό μάρτυρα (έως και 125 φορές υψηλότερες) [Parazi, et al. 2013 - <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049037>].

Πρόκειται για μία βιοενεργητική στρατηγική του χλωροφύκους για τη βιοαποικοδόμηση των εν λόγω διχλωροφαινολών που δημιουργεί τις μοναδικές εκείνες συνθήκες που επιτρέπουν μία «πράσινη» βιοαποικοδόμηση τοξικών ενώσεων με την ταυτόχρονη παραγωγή υψηλών συγκεντρώσεων βιο-υδρογόνου (H₂) για περαιτέρω βιοτεχνολογική εκμετάλλευση.

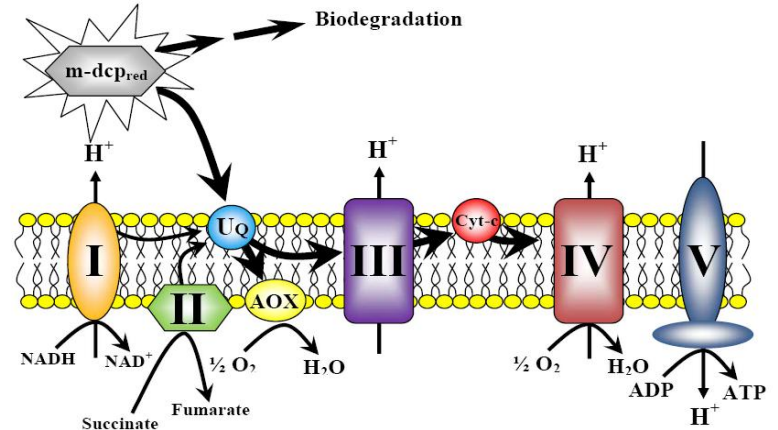
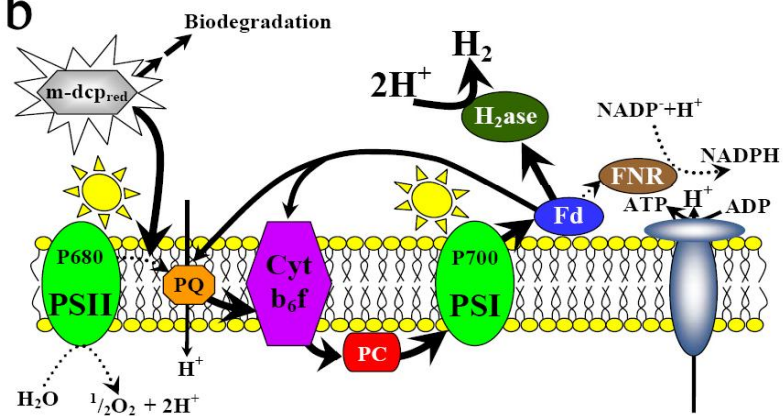
Chloroplasts

Mitochondria

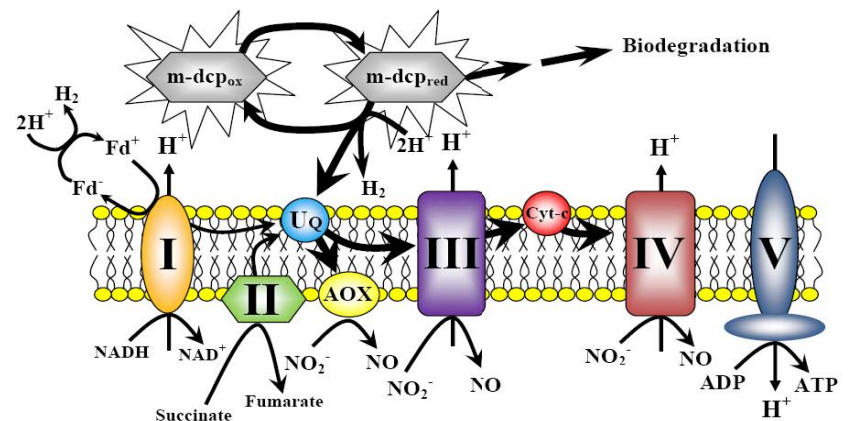
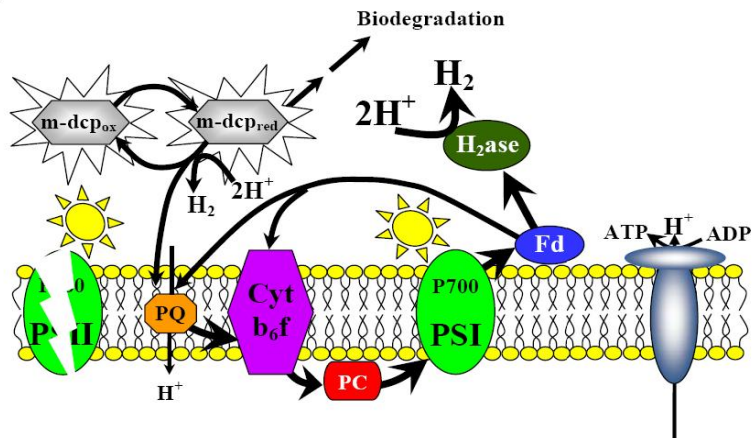
a



b



c



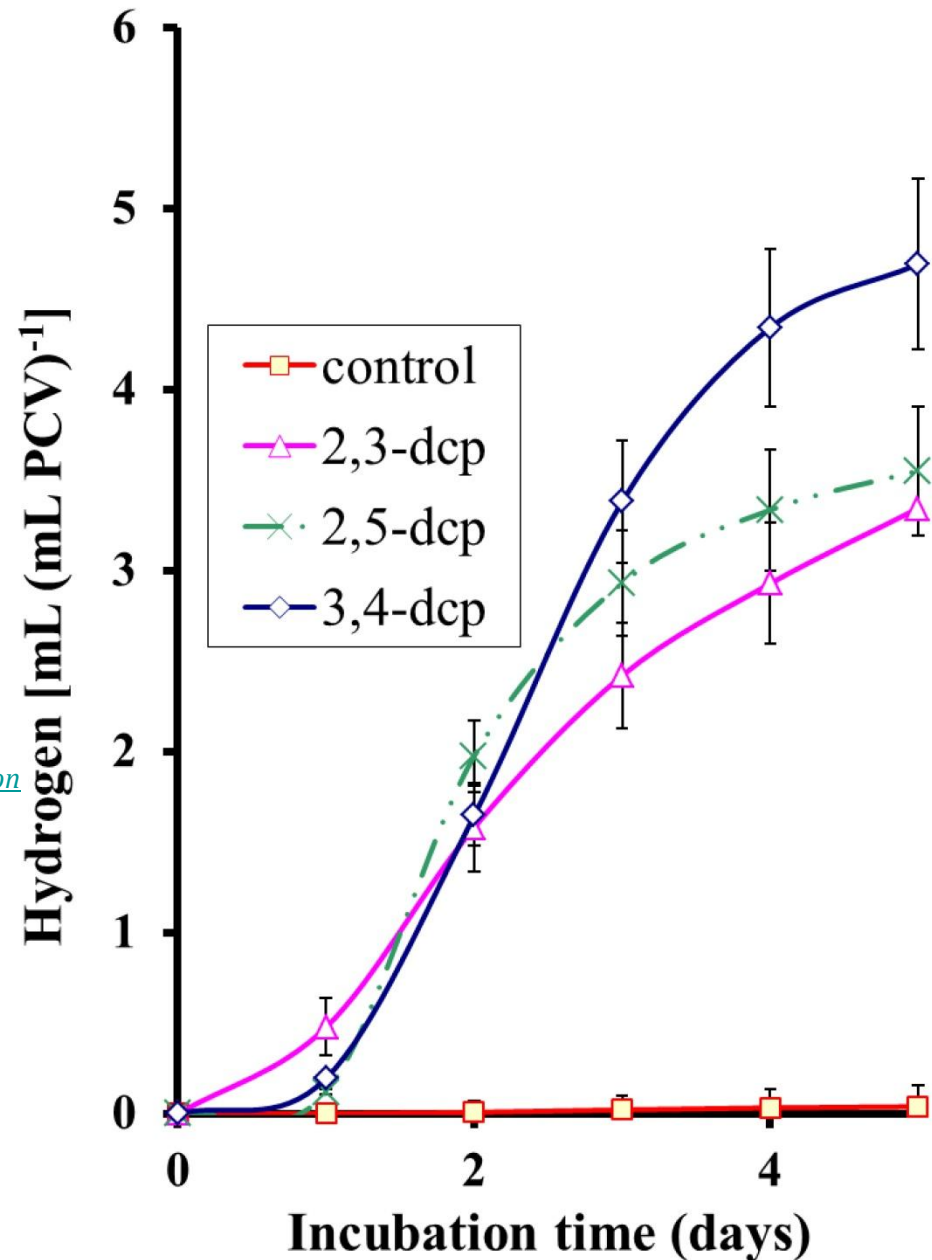
✓ 75 χρόνια μετά την πρώτη αναφορά στην παραγωγή υδρογόνου από μονοκύτταρα χλωροφύκη, το 2012 παρουσιάζεται ένα συνδυαστικό βιολογικό σύστημα που αποτελείται από τρεις μηχανισμούς [βιοαποικοδόμησης διχλωροφαινολών (m-dcps) - φωτοσυνθετικής μεταφοράς ηλεκτρονίων - κυτταρικής αναπνοής], όπου η διαδικασία της βιοαποικοδόμησης τοξικών διχλωροφαινολών αποτελεί το βασικό στοιχείο για τη διατήρηση μιας συνεχούς και σε υψηλό ρυθμό παραγωγής υδρογόνου (> 100 φορές υψηλότερη από ότι ο μάρτυρας).

Papazi et al. (2012) <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049037>

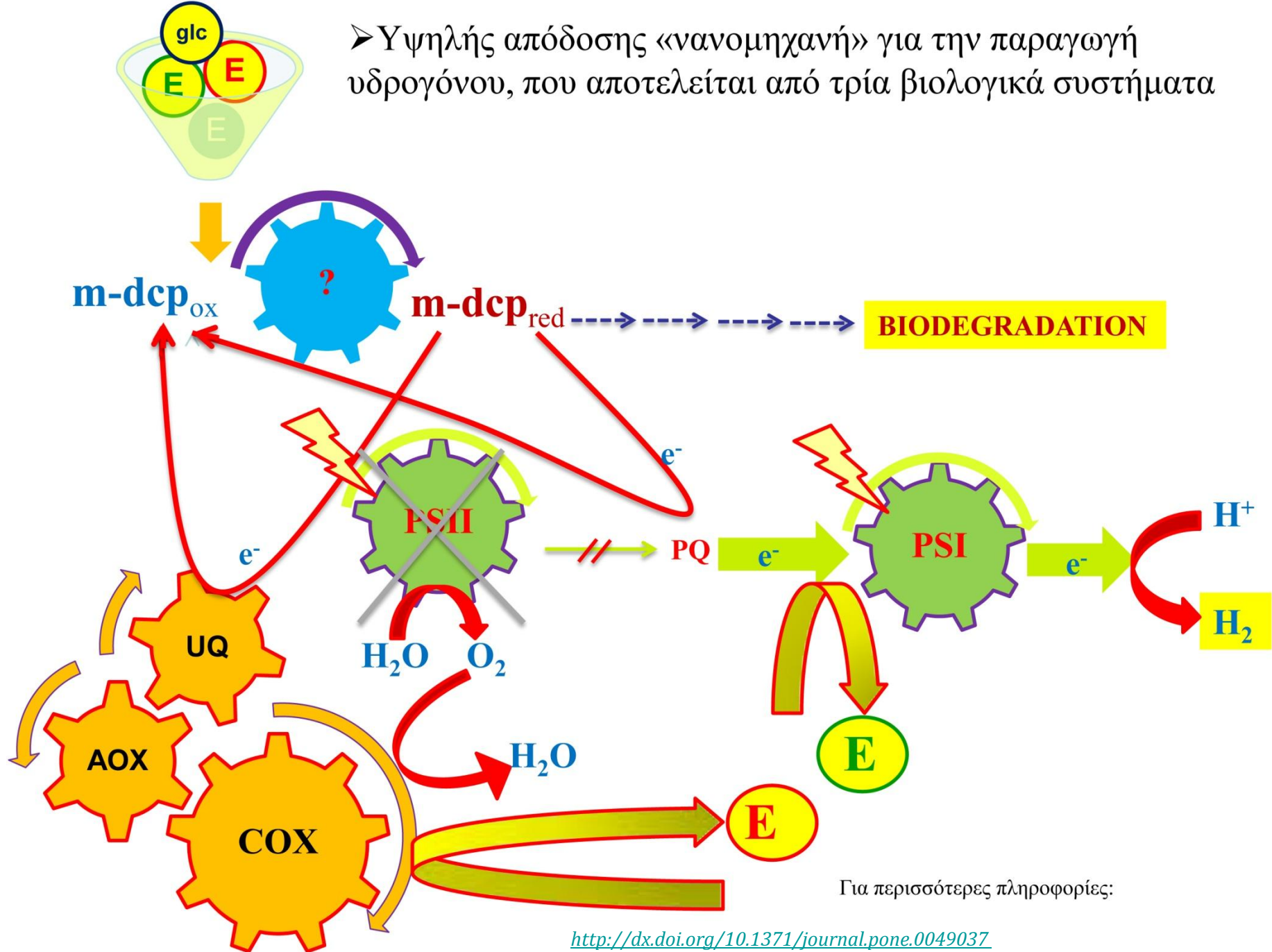
Papazi & Kotzabasis (2013)

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0061682>

✓ Το «καύσιμο» για αυτή τη «νανομηχανή» υδρογόνου είναι το φως του ήλιου, τοξικές διχλωροφαινόλες και γλυκόζη, κάτι που σημαίνει πολύ χαμηλό λειτουργικό κόστος και ανοίγει το δρόμο για μια αποτελεσματική εφαρμογή της και σε βιομηχανική κλίμακα.



➤ Υψηλής απόδοσης «νανομηχανή» για την παραγωγή υδρογόνου, που αποτελείται από τρία βιολογικά συστήματα



Για περισσότερες πληροφορίες:

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049037>

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0061682>



✓ ΤΕΛΟΣ