



Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος
Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής & Περιβαλλοντικής
Βιοτεχνολογίας
Καθηγητής Νικόλαος Καλογεράκης

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΚΡΗΤΗΣ

ΤΕΧΝΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ

3. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

Lab of Biochemical Engineering



& Environmental Biotechnology

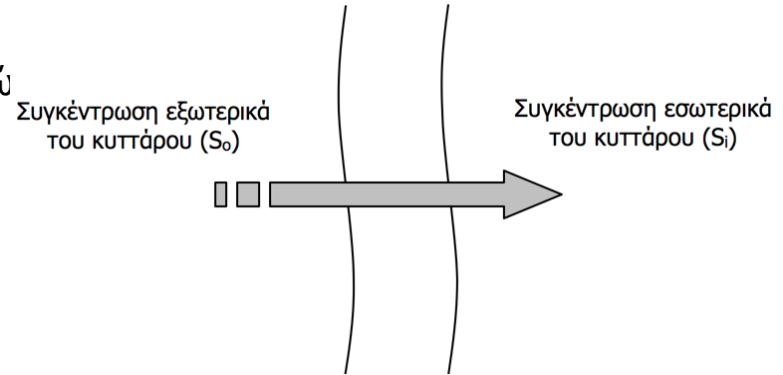
Μεταφορά Ουσιών Μέσω Μεμβρανών

Ο Μεταβολισμός εξαρτάται από την μεταφορά θρεπτικών ουσιών από το εξωτερικό του κυττάρου μέσω μεμβρανών στο εσωτερικό του κυττάρου.

Υπάρχουν τρεις διαφορετικοί μηχανισμοί συστατικώ

1. Παθητική Διάχυση (passive diffusion):

Είναι η συνηθισμένη διάχυση που προκαλείται από την διαφορά συγκεντρώσεων εκτός και εντός του κυττάρου. Επομένως έχουμε μεταφορά μόνον όταν $S_o > S_i$.



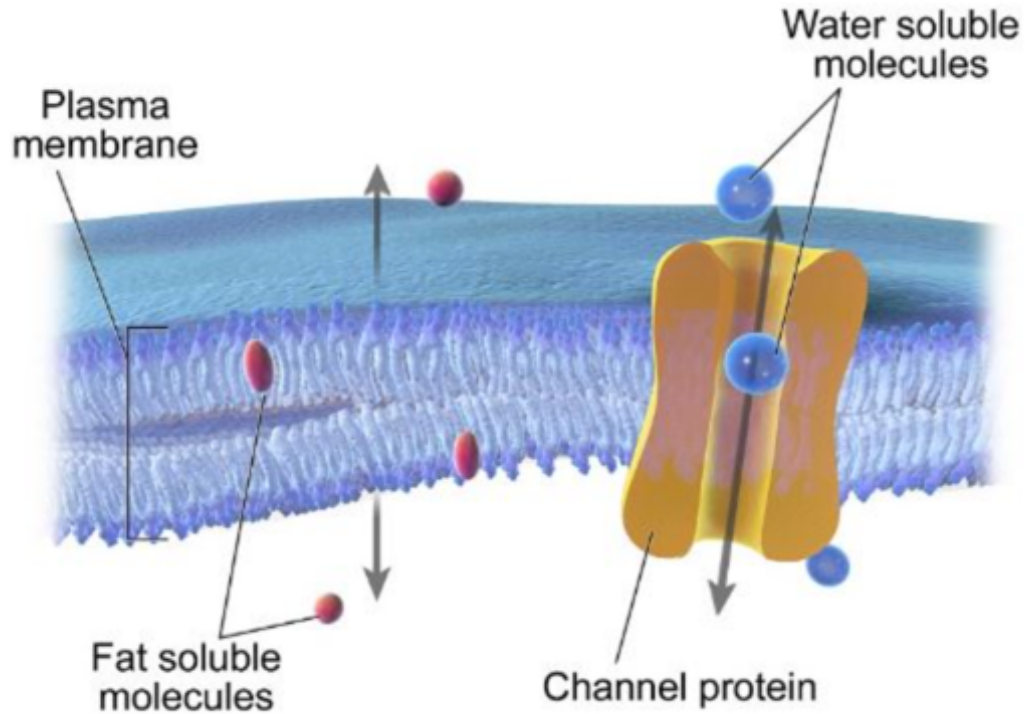
Η διαφορά ελεύθερης ενέργειας είναι αρνητική: $\Delta G = RT \ln(S_i/S_o)$

Ο ρυθμός μεταφοράς μάζας δίνεται από τον σχέση: $N_s = k_s(S_o - S_i)$ (mol/cm²s)

όπου k_s είναι ο συντελεστής διαπερατότητας (permeability coefficient, cm/s).

Παθητική διάχυση χρησιμοποιείται για την πρόσληψη ύδατος και οξυγόνου. Λιπίδια και άλλες υδρόφοβες ενώσεις έχουν σχετικά υψηλό συντελεστή διάχυσης διαμέσου μεμβρανών ($\sim 10^{-8}$ cm²/sec) που συνεπάγεται ότι η παθητική διάχυση μπορεί να επιτύχει σημαντική μεταφορά θρεπτικών ουσιών.

Passive transport



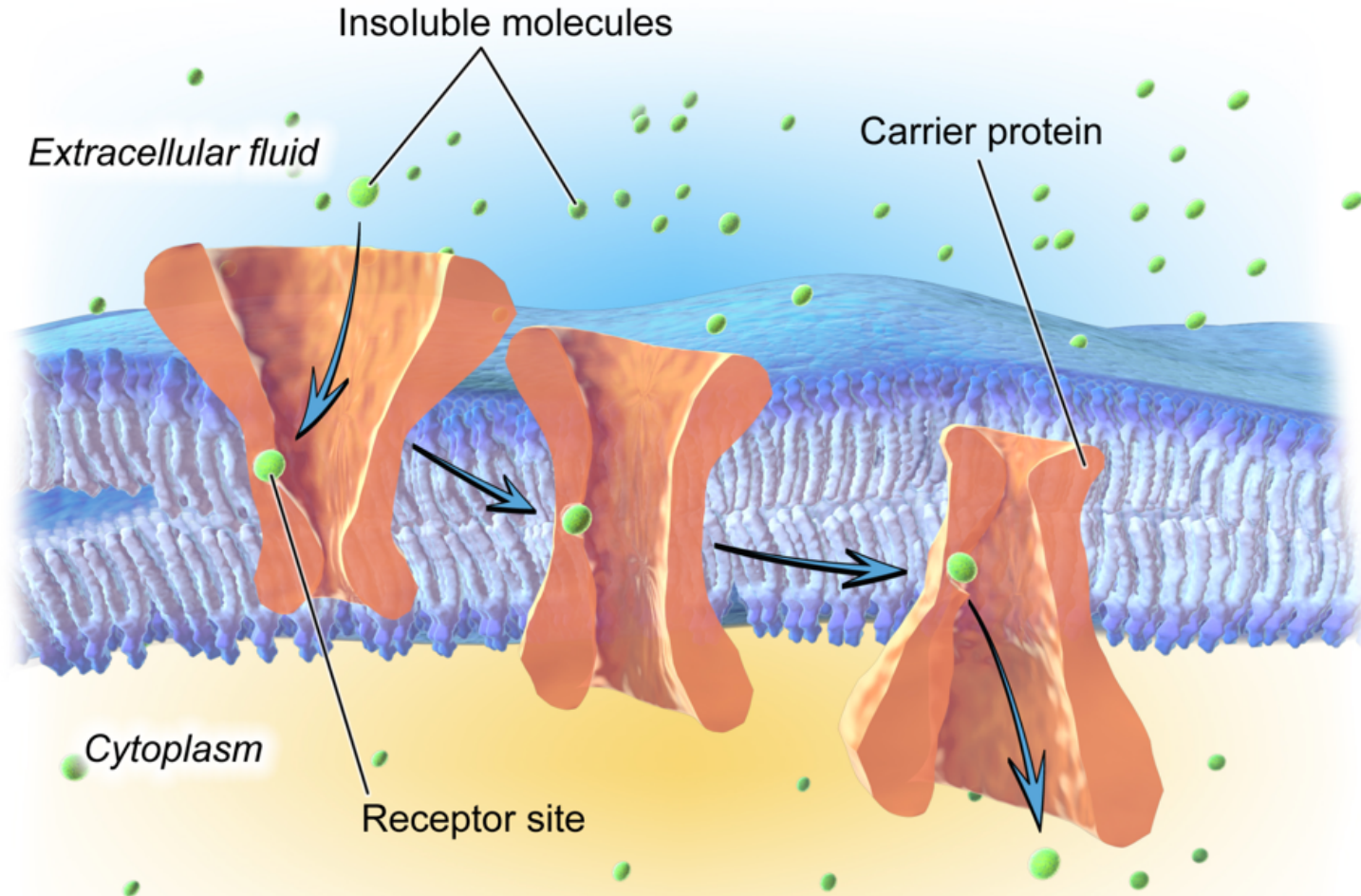
2. Διάχυση με Διευκόλυνση (facilitated diffusion)

Όταν έχουμε την μεταφορά ηλεκτρικά φορτισμένων μορίων και πολικών ουσιών που δεν είναι λιποδιαλυτές, τότε απαιτείται η χρήση ειδικών ενώσεων (μεταφορείς) που βοηθούν στην μεταφορά μέσω της μεμβράνης με την δημιουργία συμπλόκου. Οι μεταφορείς είναι ένζυμα και ονομάζονται **περμιάσες**. Η συσχέτιση του ρυθμού μεταφοράς και τις συγκεντρώσεις εντός και εκτός του κυττάρου είναι της μορφής:

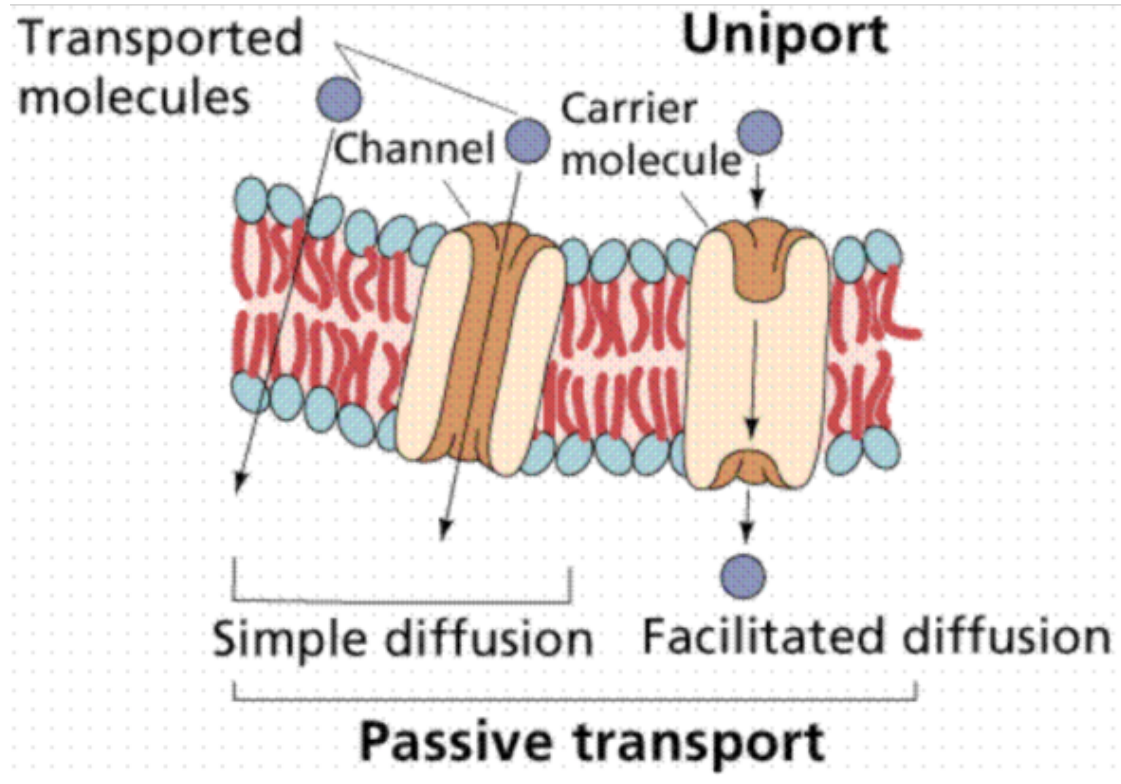
$$N_S = N_{S,\max} \left[\frac{S_o}{K_{ST} + S_o} - \frac{S_i}{K_{ST} + S_i} \right]$$

Η μεταφορά των ουσιών γίνεται από την ψηλή συγκέντρωση προς την χαμηλή και επομένως είναι **θερμοδυναμικά ευνοούμενη**. Διάχυση με διευκόλυνση παρατηρείται συχνά στην **μεταφορά σακχάρων και άλλων οργανικών ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους** (κυρίως σε ευκαρυωτικά κύτταρα). Κλασσικό παράδειγμα διάχυσης με διευκόλυνση σε προκαρυωτικά κύτταρα είναι η μεταφορά της γλυκερόλης (glycerol) σε εντερικά βακτήρια (E. coli).

Facilitated Diffusion



Τρόποι παθητικής μεταφοράς



3. Ενεργός Μεταφορά (active transport)

Σε πολλές περιπτώσεις απαιτείται η πρόσληψη ουσιών από το κύτταρο ακόμα και όταν η συγκέντρωση της ουσίας στο εσωτερικό του κυττάρου είναι πολλές φορές μεγαλύτερη της εξωτερικής (> 100 φορές). **Η μεταφορά αυτή μπορεί να γίνει εάν καταναλωθεί ενέργεια από το κύτταρο μεγαλύτερη της θερμοδυναμικά απαιτούμενης $\Delta G = RT \ln(S_i/S_o)$.**

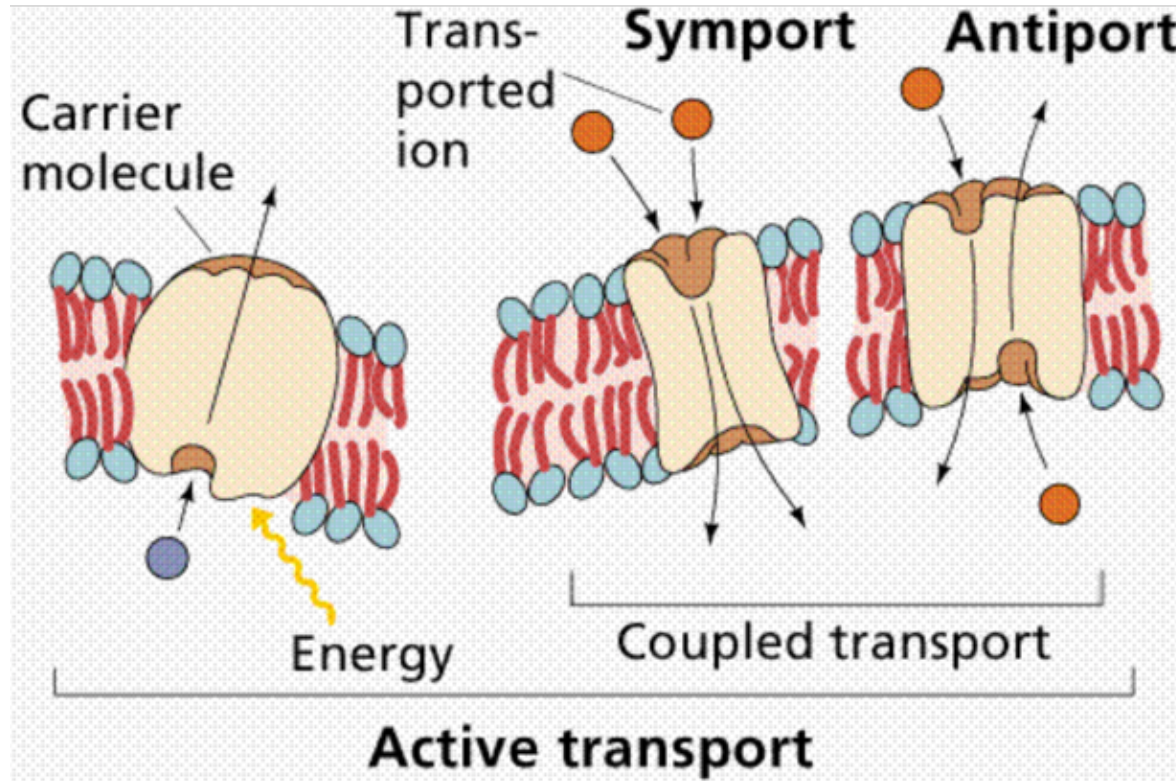
Όταν τα μόρια είναι φορτισμένα, τότε απαιτείται επιπλέον ενέργεια ($+zF\Delta\Psi$). Η ενεργός μεταφορά είναι πού σημαντική για την μεταφορά των ιόντων νατρίου και καλτίου (Na^+ , K^+).

Η ενεργός μεταφορά μοιάζει με την διάχυση με διευκόλυνση ως προς την **απαιτούμενη παρουσία πρωτεϊνών** που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη αλλά διαφέρει διότι γίνεται ενάντια στην ψηλή συγκέντρωση.

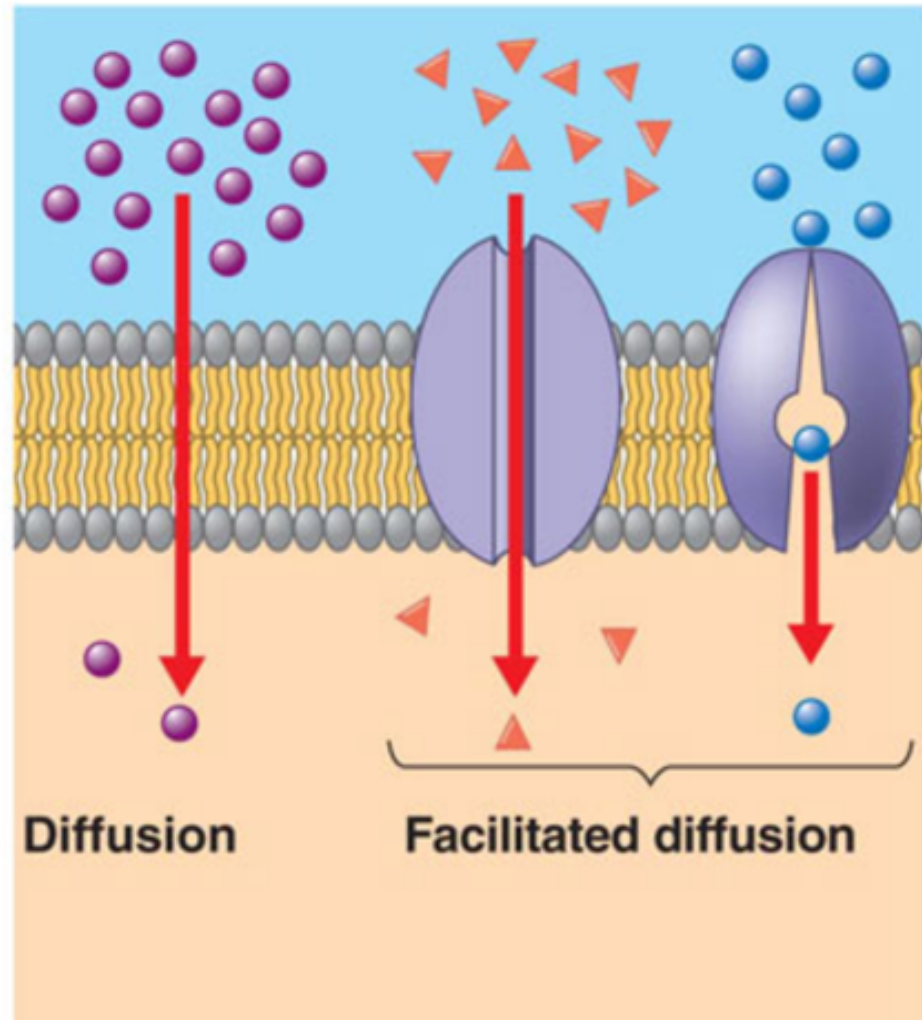
Ο ρυθμός δίνεται από την σχέση:

$$N_S = N_{S,\max} \frac{S_o}{K_{ST} + S_o}$$

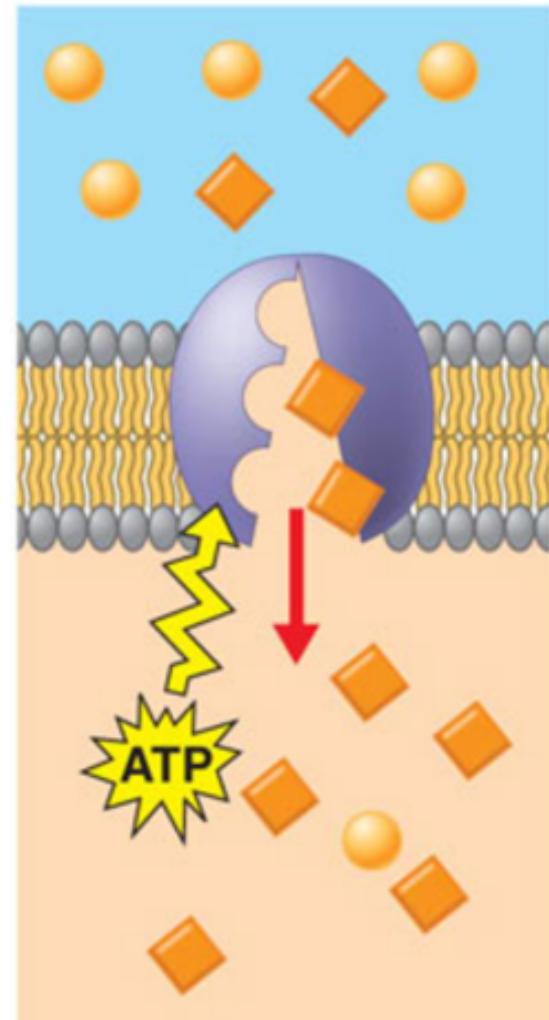
Διαφορετικοί τρόποι ενεργούς μεταφοράς



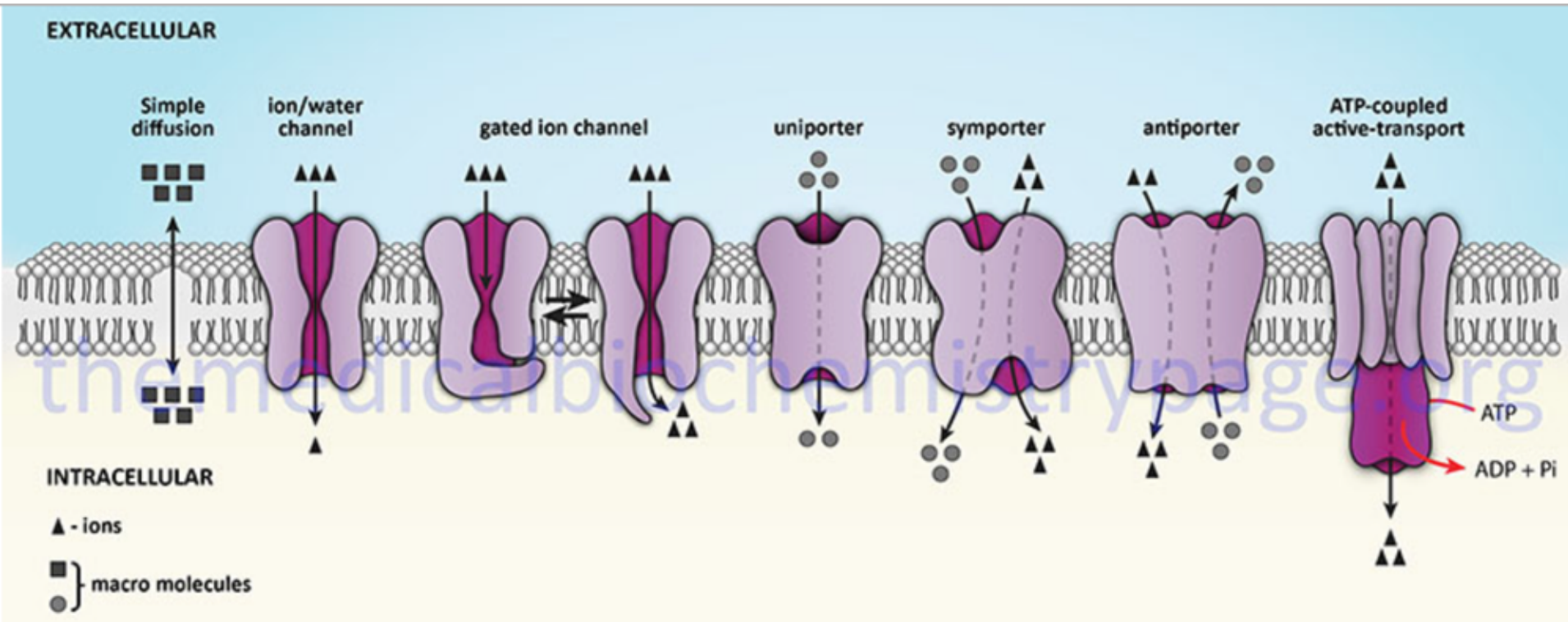
Passive transport

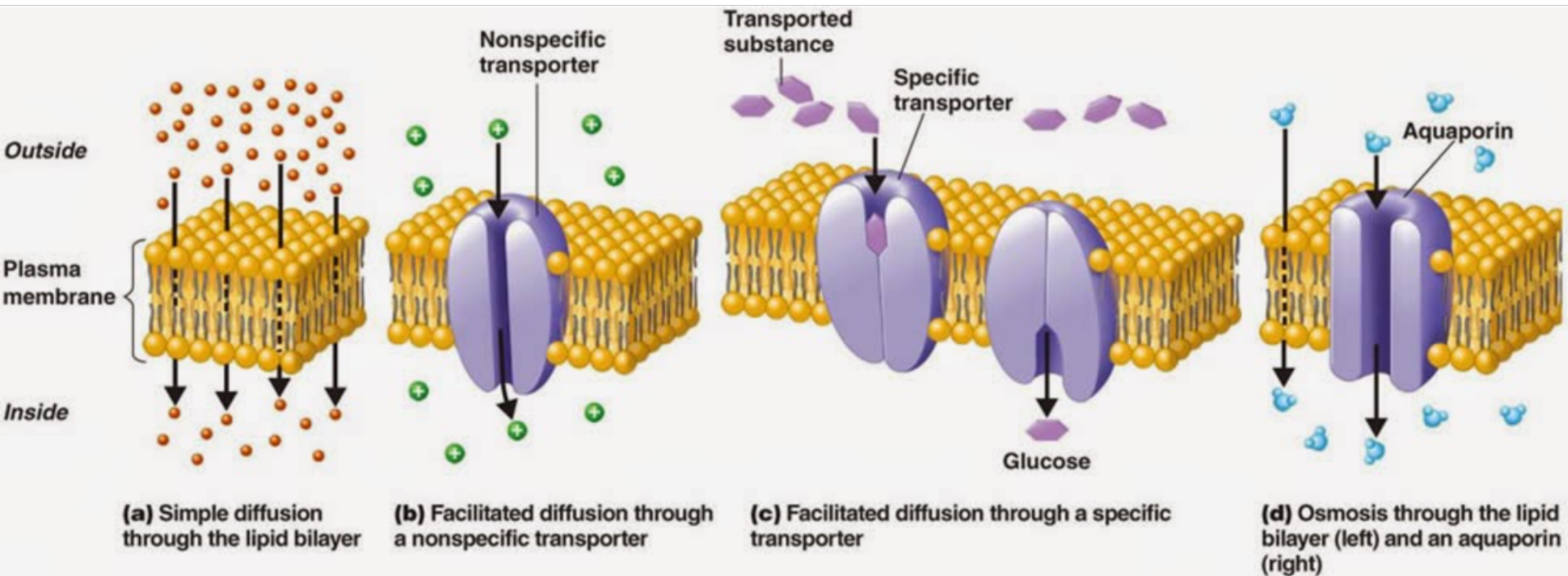


Active transport



Τρόποι μεταφοράς ουσιών μέσω μεμβρανών

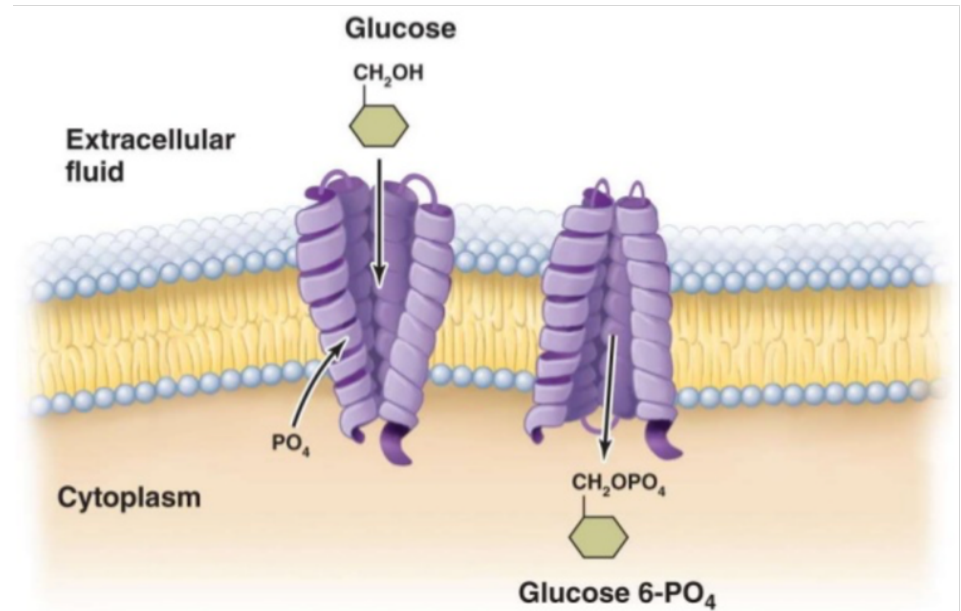




4. Μεταφορά με Χημική Μετατροπή (group translocation)

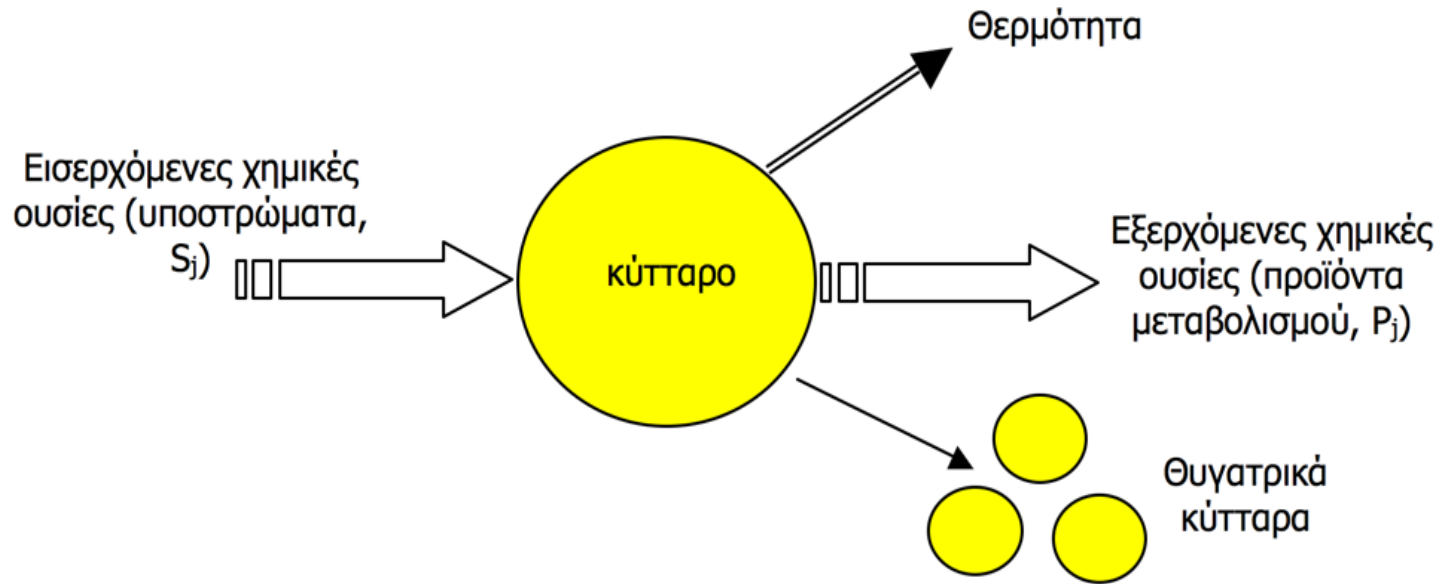
- Ο τρόπος αυτός είναι σημαντικός για την μεταφορά πολλών σακχάρων σε βακτήρια. Αντί να χρησιμοποιείται πολύ ενέργεια για την μεταφορά ανέπαφου του συστατικού, συνδυάζεται η μεταφορά με χημική μετατροπή (που θα γινόταν ούτως η άλλως εντός του κυττάρου για τον καταβολισμό του εισερχόμενου συστατικού).

Κλασικό παράδειγμα είναι το σύστημα μεταφοράς σακχάρων με την σύγχρονη φωσφορυλίωση του σακχάρου (phosphotransferase system).



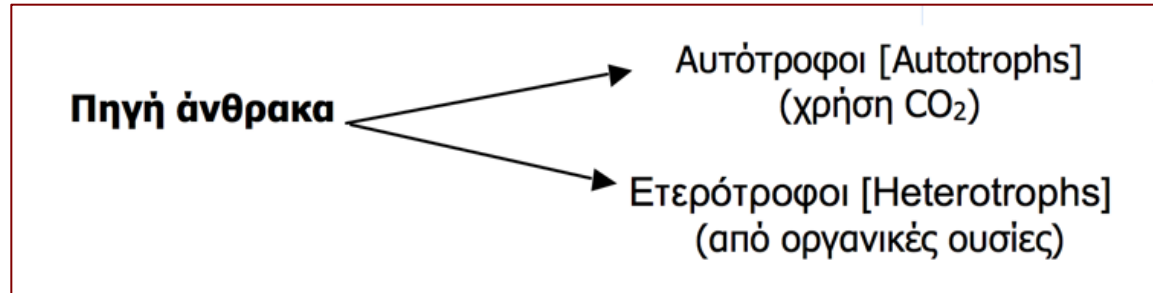
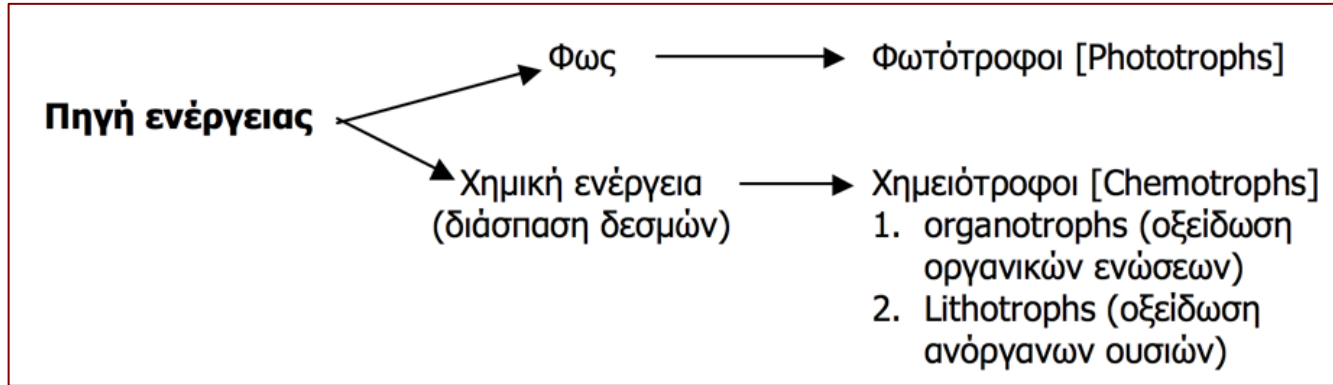
ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Κάθε μικροοργανισμός μπορεί να θεωρηθεί σαν ένα ανοικτό σύστημα όπου χημικές ενώσεις εισέρχονται και εξέρχονται από το κύτταρο συνοδευόμενες από έκλυση θερμότητας ($\pm$). Το κύτταρο μπορεί να θεωρηθεί ότι αυξάνει στο μέγεθος μέχρι να διαχωριστούν τα θυγατρικά κύτταρα.



Κατάταξη μικροοργανισμών

Οι μικροοργανισμοί ανάλογα με την πηγή ενέργειας ή τα θρεπτικά συστατικά που χρησιμοποιούν διαχωρίζονται ως εξής:



Συντελεστές απόδοσης (yield coefficients)

Ο συνήθης τρόπος αντιμετώπισης της στοιχειομετρίας στην κυτταρική ανάπτυξη είναι με την χρησιμοποίηση «**συντελεστών απόδοσης**» που είναι ο λόγος της ποσότητας του παραχθέντος προϊόντος ή βιομάζας ως προς την ποσότητα του υποστρώματος που καταναλώθηκε.

Ο περισσότερο γνωστός συντελεστής απόδοσης είναι ο $Y_{x/s}$

$$Y_{x/s} = \frac{g - \text{δημιουργηθείσας βιομάζας}}{g - \text{καταναλωθέντος υποστρώματος}} = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{\Delta X / \Delta t}{\Delta S / \Delta t} = \frac{r_X}{r_S} \Rightarrow r_S = \frac{r_X}{Y_{x/s}}$$

Ο συντελεστής αυτός **δεν παραμένει σταθερός** αλλά αλλάζει όταν αλλάζουν οι συνθήκες ανάπτυξης. Ο κύριος λόγος είναι ότι μέρος του υποστρώματος χρησιμοποιείται για συντήρηση των μικροοργανισμών, μέρος για βιοσύνθεση νέων κυττάρων και εκλυόμενων κυτταρικών προϊόντων και μέρος για την παραγωγή ενέργειας (ATP). Δηλαδή, **το υπόστρωμα καταναλίσκεται ως εξής:**

$$\Delta S = \Delta S_{\text{biomass}} + \Delta S_{\text{biosynthesis}} + \Delta S_{\text{growth_energy}} + \Delta S_{\text{maintenace_energy}}$$

Άλλοι συντελεστές απόδοσης (yield coefficients)

$$Y_{P/S} = \frac{\text{g – δημιουργηθέντος προϊόντος}}{\text{g – καταναλωθέντος υποστρώματος}} = \frac{\Delta P}{\Delta S} = \frac{\Delta P / \Delta t}{\Delta S / \Delta t} = \frac{r_P}{r_S} \quad (\rightarrow r_P = r_S Y_{P/S})$$

$$Y_{X/O} = \frac{\text{g – δημιουργηθείσας βιομάζας}}{\text{g – καταναλωθέντος } O_2} = \frac{\Delta X}{\Delta M_{O_2}} = \frac{\Delta X / \Delta t}{\Delta M_{O_2} / \Delta t} = \frac{r_X}{r_{O_2}} \quad (\rightarrow r_{O_2} = \frac{r_X}{Y_{X/O}})$$

$$Y_{ATP} = Y_{X/ATP} = \frac{\text{g – δημιουργηθείσας βιομάζας}}{\text{mol – καταναλωθέντος ATP}} = \frac{\Delta X}{\Delta [ATP]} = \frac{r_X}{r_{ATP}}$$

Για αερόβιους μικροοργανισμούς το μέρος του άνθρακα που καταναλίσκεται για την παραγωγή ενέργειας μπορεί να είναι αρκετά μεγάλο. Το τυπικό διάστημα τιμών του Y_{ATP} για αερόβιους οργανισμούς είναι 8,3 έως 12,6 [g-cells/mol-ATP] με μέση τιμή του $Y_{ATP}=10.7$ [g-cells/mol-ATP].

Κινητική μικροβιακής ανάπτυξης (growth kinetics)

Ένα κινητικό μοντέλο που αποβλέπει σε λεπτομερή περιγραφή των αναπτυσσόμενων κυττάρων (μικροοργανισμών) θα πρέπει να είναι:

1. Δομημένο (structured model) λαμβάνοντας υπόψη την δομημένη δομή του κυττάρου (π.χ., ένα χημικά δομημένο μοντέλο χωρίζει την κυτταρική μάζα σε διαφορετικές ουσίες, οι οποίες μπορούν να αλλάζουν σχετική συγκέντρωση σαν απόκριση του μοντέλου σε αλλαγές στις περιβαλλοντικές συνθήκες).
2. Διαχωρητικό (segregated model) λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι τα κύτταρα δεν είναι ίδια μεταξύ τους (π.χ., διαφορετική ηλικία των κυττάρων – έχει ιδιαίτερη σημασία στην ανάπτυξη κυττάρων που περιέχουν πλασμίδια).

Ένα μη δομημένο μοντέλο (unstructured model) θεωρεί ότι η χημική σύσταση του κυττάρου παραμένει σταθερή. Η παραδοχή αυτή οδηγεί στην παραδοχή της «εξισορροπημένης ανάπτυξης» (balanced growth), όπου τα συστατικά του κυττάρου αλλάζουν με ανάλογους ρυθμούς. Η παραδοχή αυτή μπορεί να γίνει όταν οι αλλαγές στις περιβαλλοντικές συνθήκες είναι μικρές και αργές (σε σχέση με την δυναμική απόκριση του κυττάρου).

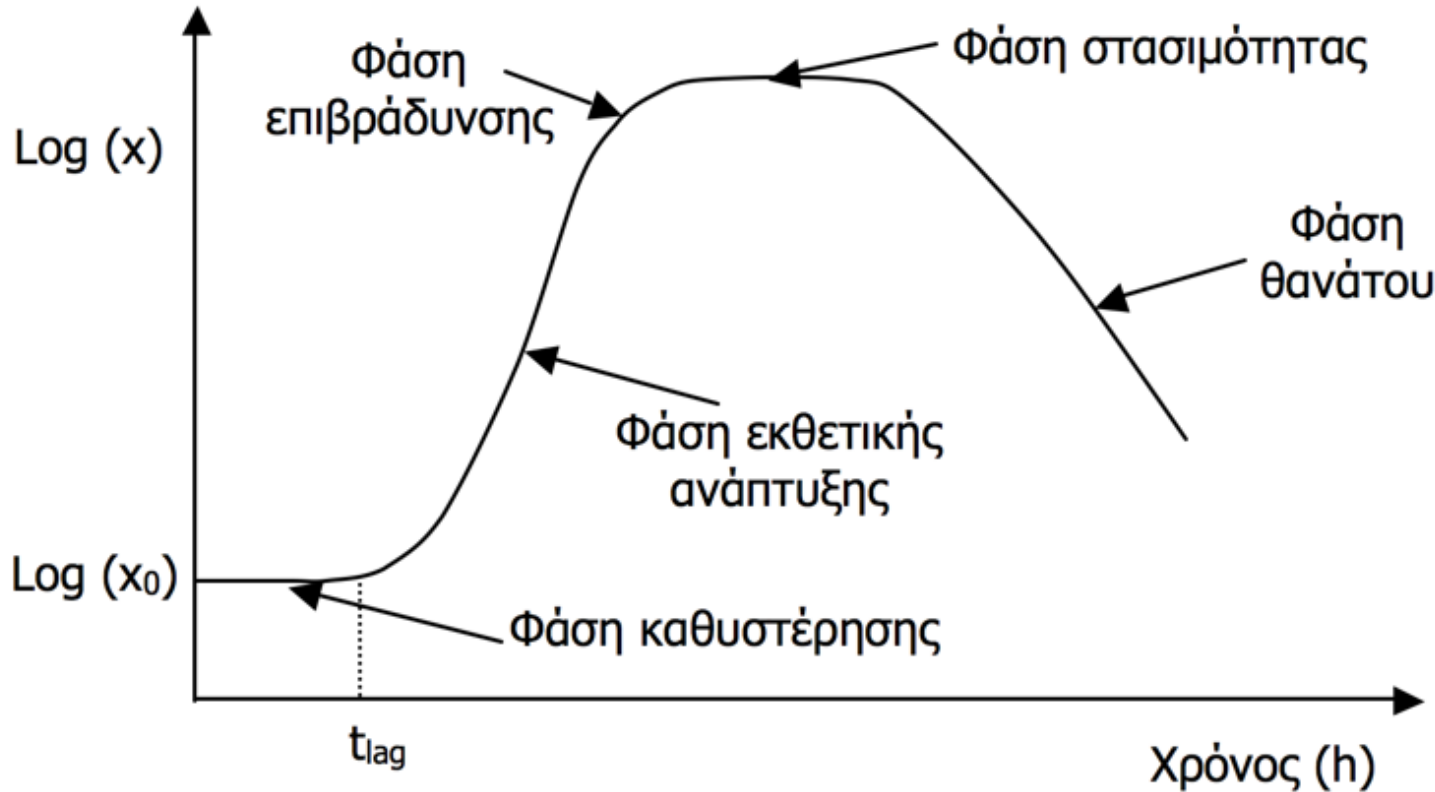
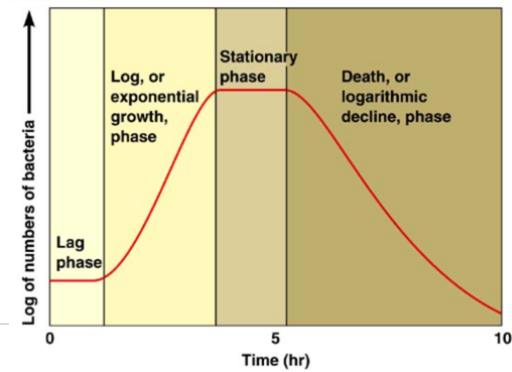
Στις περισσότερες περιβαλλοντικές εφαρμογές η χρήση «μη δομημένων και μη διαχωρητικών» μοντέλων είναι ικανοποιητική. Τα μοντέλα αυτά είναι τα πιο απλά και επομένως τα πιο εύκολα στην χρήση τους.

Φάσεις μικροβιακής ανάπτυξης

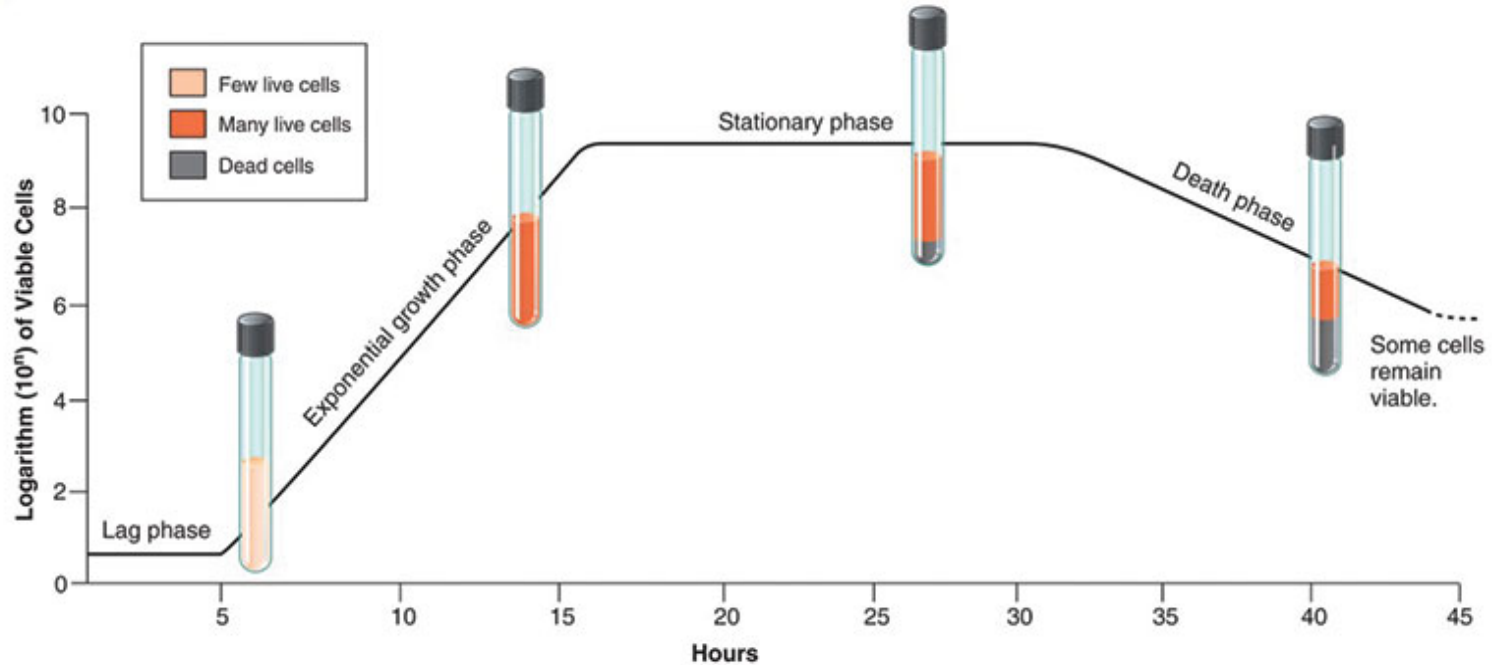
Κατά την διάρκεια καλλιέργειας μικροοργανισμών σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου μπορούμε να παρατηρήσουμε τις εξής πέντε φάσεις:

- i Φάση καθυστέρησης (lag phase) όπου οι μικροοργανισμοί «εγκλιματίζονται» στις υπάρχουσες συνθήκες ανάπτυξης. Συνήθως η φάση της καθυστέρησης εμφανίζεται όταν οι μικροοργανισμοί μεταφέρονται σε μεγαλύτερο αντιδραστήρα όπου υπάρχουν «φρέσκα» θρεπτικά μείγματα ανάπτυξης.
- ii Φάση εκθετικής ανάπτυξης (exponential phase) όπου η ανάπτυξη γίνεται στο μέγιστο δυνατό ρυθμό και η παραδοχή της «ισορροπημένης ανάπτυξης» ισχύει.
- iii Φάση της επιβράδυνσης (declining growth phase / deceleration phase) όπου το υπόστρωμα λιγοστεύει σημαντικά ή έχουμε την παρουσία υψηλής συγκέντρωσης κάποιου αναστολέα / παρεμποδιστή (συνήθως κάποιο «τοξικό» παραπροϊόν της αντίδρασης).
- iv Φάση στασιμότητας (stationary phase) όπου δεν έχουμε ανάπτυξη ή ακριβέστερα ο ρυθμός ανάπτυξης είναι ίσος με τον ρυθμό νέκρωσης. Σε αυτή την φάση τα κύτταρα είναι ακόμα μεταβολικά ενεργά και παράγουν δευτερογενή προϊόντα (που δεν είναι συνδεδεμένα με τον ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων).
- v Φάση θανάτου (death phase) όπου έχουμε λύση των μικροοργανισμών που οδηγεί στην μείωση της βιομάζας και ακολουθεί συνήθως κινητική πρώτης τάξης ($r_d = -k_d x$).

Φάσεις μικροβιακής ανάπτυξης



Φάσεις μικροβιακής ανάπτυξης



Total cells in population, live and dead, at each phase.

Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (specific growth rate)

Η παραγωγή θυγατρικών κυττάρων γίνεται κυρίως κατά την φάση της εκθετικής ανάπτυξης όπου η παραδοχή της «ισορροπημένης ανάπτυξης» ισχύει. Γενικά τα κύτταρα αναπτύσσονται σαν μία γεωμετρική πρόοδος: $2^0, 2^1, 2^2, 2^3, 2^4, \dots, 2^m$, μετά από m διχοτομήσεις. Δηλαδή, αν ξεκινώντας είχαμε N_0 κύτταρα, μετά από m γενεές θα έχουμε $2^m \cdot N_0$ κύτταρα.

Γι' αυτό το λόγο σε βιολογικά συστήματα χρησιμοποιούμε πολύ συχνά τους ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης κυττάρων ή παραγωγής προϊόντων κτλ.

Εάν r_x είναι ο ρυθμός ανάπτυξης βιομάζας [g-biomass/(L·h)] και x είναι η συγκέντρωση της βιομάζας στον αντιδραστήρα [g-biomass/L], τότε ορίζουμε τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (specific growth rate), μ , ως

$$\mu = \frac{r_x}{x} \Rightarrow \frac{dx}{dt} = r_x \Rightarrow \frac{dx}{dt} = \mu x \quad \text{με αρχική συνθήκη: } x(t_{\text{lag}}) = x_0$$

Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης «μ»

Εάν υποθέσουμε ότι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης είναι σταθερός ($\mu = \text{const.}$), ολοκλήρωση της παραπάνω διαφορικής εξίσωσης μας δίνει,

$$x(t) = x_0 e^{\mu(t-t_{\text{lag}})} \quad \text{ή} \quad x(t) = x_0 e^{\mu t}$$

εάν μετράμε τον χρόνο από το τέλος της φάσης της καθυστέρησης.

Η εξίσωση προφανώς προβλέπει συνεχή αύξηση της βιομάζας δεδομένου ότι δεν λαμβάνει υπόψη την κατανάλωση του υποστρώματος. Η εξίσωση αυτή μπορεί να μας δώσει τον χρόνο διπλασιασμού (*doubling time*) της καλλιέργειας, t_d .

$$x(t_d) = 2x_0 = x_0 e^{\mu t_d}$$

$$2 = e^{\mu t_d}$$

$\Rightarrow$

$\Rightarrow$

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Λογιστική καμπύλη ανάπτυξης (logistic equation)

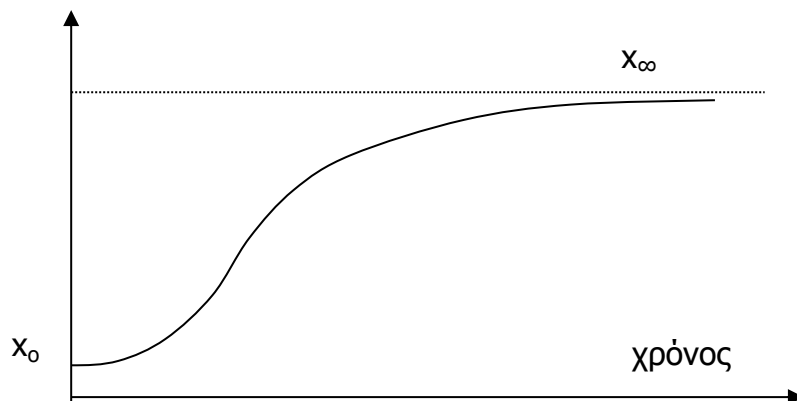
Δεδομένου ότι η καμπύλη μικροβιακής ανάπτυξης είναι σιγμοειδής (sigmoidal growth curve) η ανάγκη δημιουργίας απλών μοντέλων που παρουσιάζουν αυτήν την συμπεριφορά οδήγησαν στην χρησιμοποίηση της έννοιας της «φέρουσας ικανότητας» (carrying capacity). Με άλλα λόγια, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης είναι ανάλογος του υπολειπόμενης φέρουσας ικανότητας, δηλ.,

$$\mu = k \left(1 - \frac{x}{x_{\infty}} \right)$$

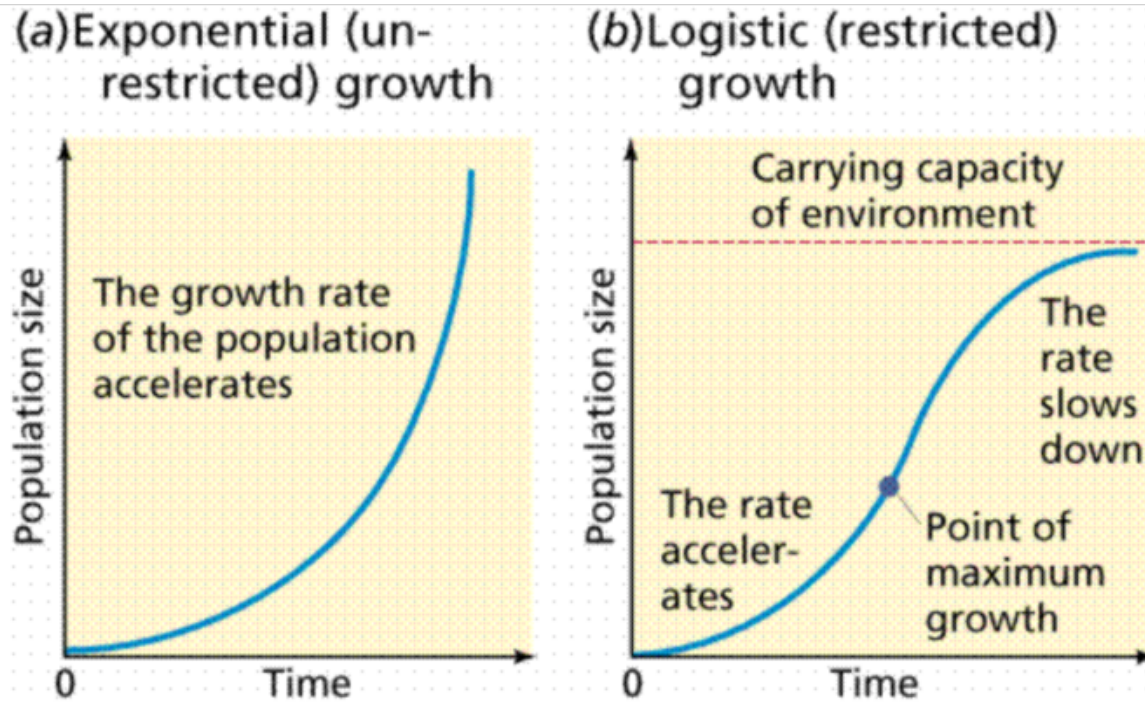
και επομένως το ισοζύγιο μάζας σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου γίνεται,

$$\frac{dx}{dt} = kx \left(1 - \frac{x}{x_{\infty}} \right) \Rightarrow$$

$$x(t) = \frac{x_0 e^{kt}}{1 - \frac{x_0}{x_{\infty}} (1 - e^{kt})}$$



Εκθετική vs. Λογιστική ανάπτυξη



Σχέση μέγιστης χωρητικότητας, x_{∞} , και υποστρώματος, S

Η μέγιστη χωρητικότητα, x_{∞} , πρέπει να προσδιοριστεί για τις συγκεκριμένες συνθήκες που γίνεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Συχνά, χρησιμοποιείται η προσέγγιση της μέγιστης χωρητικότητας σαν τρόπος περιγραφής της επίδρασης τοξικών ουσιών...

Είναι προφανές ότι η μέγιστη ικανότητα, x_{∞} , μπορεί να συσχετιστεί με την μέγιστη συγκέντρωση υποστρώματος (που είναι η αρχική, S_0) με βάση την σχέση

$$\Delta x / \Delta S = Y_{x/s} \rightarrow$$

$$(x - x_0) = Y_{x/s} (S_0 - S) \rightarrow$$

$$(x_{\infty} - x_0) = Y_{x/s} (S_0 - 0) \rightarrow$$

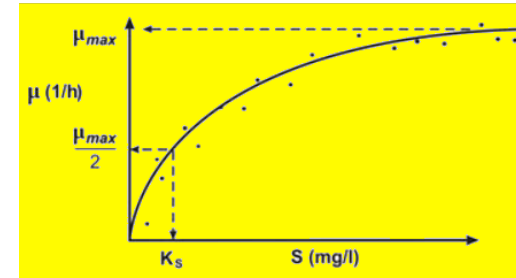
$$x_{\infty} = x_0 + Y_{x/s} S_0$$

Η παραπάνω σχέση υποθέτει ότι η μικροβιακή αύξηση συνεχίζεται μέχρι την εξάντληση του περιοριστικού υποστρώματος, S .

Μικροβιακή ανάπτυξη με περιορισμό υποστρώματος (substrate-limited growth)

Με βάση πειραματικά δεδομένα έχει διαπιστωθεί ότι ο ρυθμός μικροβιακής ανάπτυξης είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης του υποστρώματος κατά παρόμοιο τρόπο με τις ενζυμικές αντιδράσεις. Η λεγόμενη κινητική έκφραση του Monod είναι:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} [S]}{K_s + [S]}$$



όπου η σταθερά κορεσμού K_s αντιστοιχεί στην συγκέντρωση υποστρώματος που ο ρυθμός ανάπτυξης είναι στο μισό του μεγίστου.

Η κινητική Monod θεωρεί ότι οι επί μέρους βιοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν μέρος στην ανάπτυξη ενός κυττάρου είναι ενζυμικές και μία από αυτές θα είναι εκείνη που ελέγχει τον ρυθμό ανάπτυξης.

Για τον υπολογισμό των **παραμέτρων** ($\mu_{\max}$, K_s) μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε όλες τις μεθόδους που αναφέραμε νωρίτερα.

Άλλες σχέσεις ανάπτυξης μικροοργανισμών

Εξίσωση Tessier:

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - e^{-\frac{[S]}{K_s}} \right)$$

Εξίσωση Moser:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} [S]^n}{K_s + [S]^n}$$

Εξίσωση Contois:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} [S]}{K_s^c x + [S]}$$

έχουμε K_s που είναι συνάρτηση του x .

Εξίσωση Konak:

$$\frac{d\mu}{dS} = k (\mu_{\max} - \mu)^p$$

Konak πρότεινε μια διαφορική εξίσωση που συνδέει τον ρυθμό ανάπτυξης με την συγκέντρωση του υποστρώματος, Όταν $p=1$ η λύση καταλήγει στην εξίσωση του Tessier και για $p=2$ καταλήγουμε στην έκφραση του Monod .

Λογιστική καμπύλη ανάπτυξης (logistic equation)

Συσχέτιση ειδικού ρυθμού ανάπτυξης με την κατανάλωση υποστρώματος:

$$\Delta x / \Delta S = Y_{x/s} \rightarrow$$

$$(x - x_0) = Y_{x/s} (S_0 - S) \rightarrow$$

$$x = x_0 + Y_{x/s} (S_0 - S) \rightarrow$$

Αντικαθιστώντας στην εξίσωση

$$\mu = k \left(1 - \frac{x}{x_\infty} \right)$$

προκύπτει η σχέση

$$\mu = k \left(1 - \frac{x_0 + Y_{x/s} (S_0 - S)}{x_0 + Y_{x/s} S_0} \right) \Rightarrow$$

$$\mu = \left(\frac{k Y_{x/s}}{x_0 + Y_{x/s} S_0} \right) S$$

$\Rightarrow$

$$\mu = k_x S$$

Άρα η λογιστική καμπύλη ανάπτυξης ουσιαστικά ισοδυναμεί με κινητική 1^{ης} τάξης ως προς το υπόστρωμα. Η παραδοχή αυτή είναι σωστή μόνον όταν η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι μικρή (π.χ., όταν $S < K_s/2$, υποθέτοντας κινητική Monod).

Μικροβιακή Ανάπτυξη με Πολλαπλά Υποστρώματα

Το μοντέλο του Monod ισχύει όταν έχουμε μόνο ένα υπόστρωμα που ελέγχει την κινητική μικροβιακής ανάπτυξης "περιοριστικό υπόστρωμα" (single limiting substrate). Υπάρχουν όμως πολλές περιπτώσεις όπου διαφορετικά υποστρώματα ελέγχουν ταυτόχρονα τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης.

(α) Μοντέλα Ταυτόχρονης χρήσης (multiplicative)

$$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{S_1}{K_{S1} + S_1} \right) \left(\frac{S_2}{K_{S2} + S_2} \right)$$

ή γενικότερα

$$\mu = \mu_{\max} \prod_{i=1}^n \frac{S_i}{K_{Si} + S_i}$$

(β) Διαδοχικής χρήσης (additive kinetics): Μπορεί να περιγράψει την διαυξητική ανάπτυξη (diauxic growth) δηλ. όταν καταναλίσκεται διαδοχικά η κάθε πηγή άνθρακα.

$$\mu = \frac{\mu_{\max 1} S_1}{K_{S1} + S_1} + \frac{\mu_{\max 2} S_2}{K_{S2} + S_2}$$

ή γενικότερα

$$\mu = \sum_{i=1}^n \frac{\mu_{\max i} S_i}{K_{Si} + S_i}$$

Το γενικευμένο μοντέλο είναι

$$\mu = \left(\mu_{\max 0} + \sum_j \frac{k_j S_j}{K_{Sj} + S_j} \right) \left(\prod_i \frac{S_i}{K_{Si} + S_i} \right)$$

υποστρώματα ενίσχυσης

αναγκαία υποστρώματα

ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Παρεμπόδιση Υποστρώματος:

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης μικροοργανισμών μπορεί να μειωθεί όταν η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι υψηλή. Η εξίσωση του Andrews είναι η πλέον διαδεδομένη,

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + \frac{K_s}{[S]} + \frac{[S]}{K_I}} \Rightarrow \mu = \frac{\mu_{\max}[S]}{K_s + [S] + \frac{[S]^2}{K_I}}$$

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης αυξάνει μέχρι μία μέγιστη τιμή και μετά μειώνεται. Η συγκέντρωση του υποστρώματος (S^*) που αντιστοιχεί στο μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης βρίσκεται από την σχέση:

$$\frac{d\mu}{dS} = 0 \Rightarrow S^* = \sqrt{K_s K_I}$$

και η μέγιστη τιμή μ είναι:

$$\mu^* = \frac{\mu_{\max}}{2\sqrt{\frac{K_s}{K_I}} + 1}$$

Παρεμπόδιση Αναστολέα:

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης μπορεί να μειωθεί όταν αυξηθεί η συγκέντρωση ενός παραπροϊόντος («τοξίνης») που δρα ανασταλτικά ή έχουμε προσθήκη κάποιου αναστολέα που βρίσκεται στην τροφοδοσία στον βιοαντιδραστήρα.

Οι εκφράσεις που χρησιμοποιούνται είναι της μορφής (μείωση μόνο του $\mu_{\max}$):

$$\mu_{\max} = \mu_{\max 0} (1 - K_I [I]) \quad \text{ή} \quad \mu_{\max} = \frac{\mu_{\max 0}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} \quad \text{ή} \quad \mu_{\max} = \mu_{\max 0} e^{-K_I [I]}$$

Παρεμπόδιση Προϊόντος:

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης μπορεί επίσης να μειωθεί όταν αυξάνεται η συγκέντρωση του προϊόντος και φτάνει σε μέγιστη συγκέντρωση ($P_{j,\max}$) που αναστέλλει παντελώς τον ρυθμό μικροβιακής ανάπτυξης ($\mu=0$).

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P_j}{P_{j,\max}}\right) \left(\frac{S}{K_S + S}\right)$$

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P_j}{P_{j,\max}}\right)^\beta \left(\frac{S}{K_S + S}\right)$$

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \left(\frac{P_j}{P_{j,\max}}\right)^\gamma\right) \left(\frac{S}{K_S + S}\right)$$

Ειδικός Ρυθμός Κατανάλωσης Υποστρώματος (substrate uptake rate)

Ο ειδικός ρυθμός κατανάλωσης του υποστρώματος S συμβολίζεται με το q_s και ισούται με το άθροισμα του ρυθμού κατανάλωσης που χρησιμοποιείται για

- (ι) κυτταρική ανάπτυξη ($S \rightarrow X$),
- (ii) παραγωγή προϊόντων ($S \rightarrow P_j$), και
- (iii) συντήρηση ($S \rightarrow$ ενέργεια συντήρησης):

$$q_s = \frac{(-r_s)}{x} = \frac{\mu}{Y_{X/S}} + m + \sum_j \frac{r_{Pj}}{xY_{Pj/S}} \quad \Rightarrow \text{και θεωρώντας } q_{Pj} = \frac{r_{Pj}}{x} \text{ έχουμε}$$

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{X/S}} + m + \sum_j \frac{q_{Pj}}{Y_{Pj/S}}$$

Η μεταβλητή q_s έχει μονάδες [g-S/(h·g-drycells)]. Εάν ο ρυθμός παραγωγής εξωκυτταρικών προϊόντων είναι χαμηλός, η παραπάνω σχέση απλοποιείται ως εξής (Pirt):

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{X/S}} + m$$

Φαινομενικός συντελεστής απόδοσης

Η εξάρτηση του q_s από το S είναι παρόμοια (τύπου-Monod) του μ από το S . Επίσης παρατηρούμε ότι ακόμα και όταν ο ρυθμός μικροβιακής ανάπτυξης είναι μηδενικός ($\mu=0$), υπάρχει κατανάλωση υποστρώματος για συντήρηση.

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{X/S}} + m$$

Ορίσουμε τον **φαινομενικό συντελεστή απόδοσης** (apparent yield coefficient,) ως

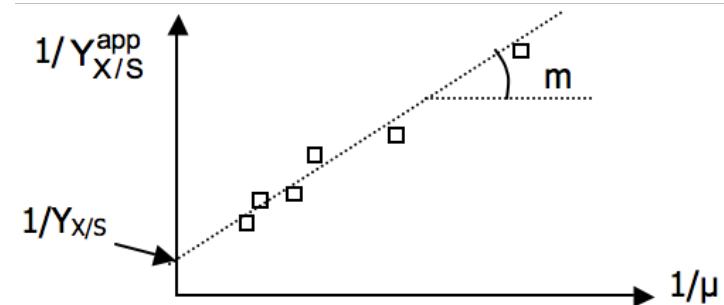
$$q_s = \frac{\mu}{Y_{X/S}^{app}}$$

Και καταλήγουμε στην σχέση

$$\frac{1}{Y_{X/S}^{app}} = \frac{1}{Y_{X/S}} + \frac{m}{\mu}$$

Ο φαινομενικός συντελεστής απόδοσης υπολογίζεται εύκολα από πειραματικά δεδομένα του υποστρώματος (S) και της βιομάζας (x) εκ των οποίων υπολογίζουμε το q_s και μ . Δηλ.,

$$\mu = \frac{1}{x} \frac{dx}{dt} \approx \frac{1}{x} \frac{\Delta x}{\Delta t}, \quad q_s = \frac{1}{x} \frac{dS}{dt} \approx \frac{1}{x} \frac{\Delta S}{\Delta t} \Rightarrow Y_{X/S}^{app} = \frac{\mu}{q_s} \approx \frac{\Delta x}{\Delta S}$$



ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

I. Growth Associated:

Για προϊόντα πρωτογενούς μεταβολισμού που συσχετίζονται με την κυτταρική ανάπτυξη, ο ρυθμός παραγωγής τους είναι ανάλογος του ρυθμού ανάπτυξης (growth associated product formation),

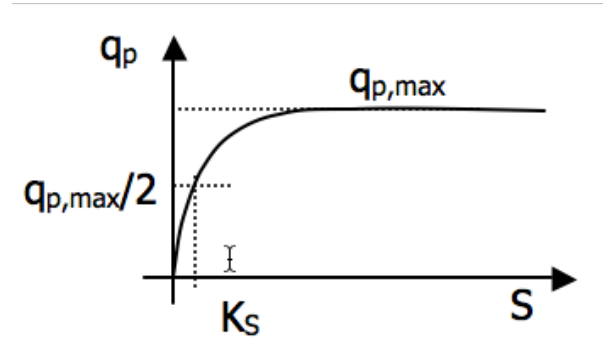
$$r_p = \lambda_1 r_x$$

εκ του οποίου προκύπτει ότι ο ειδικός ρυθμός παραγωγής προϊόντος είναι

$$q_p = \frac{r_p}{x} = \lambda_1 \frac{r_x}{x} \Rightarrow q_p = \lambda_1 \mu$$

Εάν θεωρήσουμε ότι έχουμε κινητική Monod $\rightarrow$

$$q_p = \frac{\lambda_1 \mu_{\max} S}{K_s + S} = \frac{q_{p,\max} S}{K_s + S}$$



II. Non-Growth Associated:

Πολλά προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού δεν συσχετίζονται με την κυτταρική ανάπτυξη, ο ρυθμός παραγωγής τους είναι ανάλογος της συγκέντρωσης βιομάζας μόνον (non-growth associated product formation), $r_p = \lambda_2 x$

εκ του οποίου προκύπτει ότι ο ειδικός ρυθμός παραγωγής προϊόντος είναι σταθερός

$$q_P = \frac{r_P}{x} = \lambda_2 \frac{x}{x} \quad \Rightarrow \quad q_P = \lambda_2$$

III. Partially-Growth Associated:

Τέλος πολλά προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού έχουν βρεθεί ότι συσχετίζονται με τον ρυθμό κυτταρικής ανάπτυξης και με την συγκέντρωση βιομάζας (partially-growth associated product formation), $r_p = \lambda_1 r_x + \lambda_2 x$

εκ του οποίου προκύπτει ότι ο ειδικός ρυθμός παραγωγής προϊόντος είναι

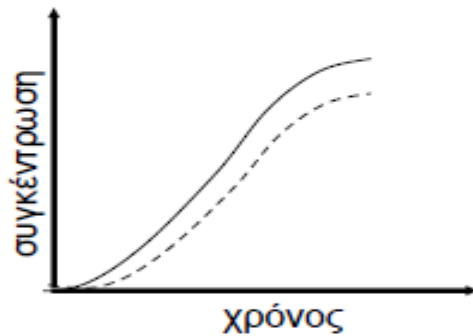
$$q_P = \frac{r_P}{x} = \lambda_1 \frac{r_x}{x} + \lambda_2 \frac{x}{x} \quad \Rightarrow \quad q_P = \lambda_1 \mu + \lambda_2$$

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

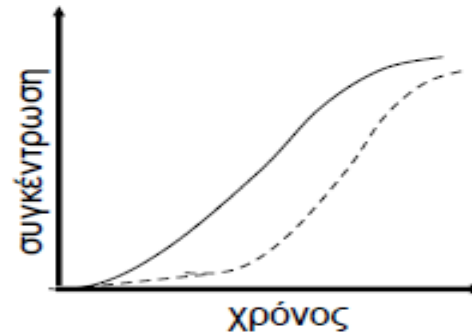
Πρωτογενείς
μεταβολίτες

Δευτερογενείς
μεταβολίτες

Σχετιζόμενο με την
κυτταρική ανάπτυξη



Μικτό μοντέλο



Μη σχετιζόμενο με την
κυτταρική ανάπτυξη

