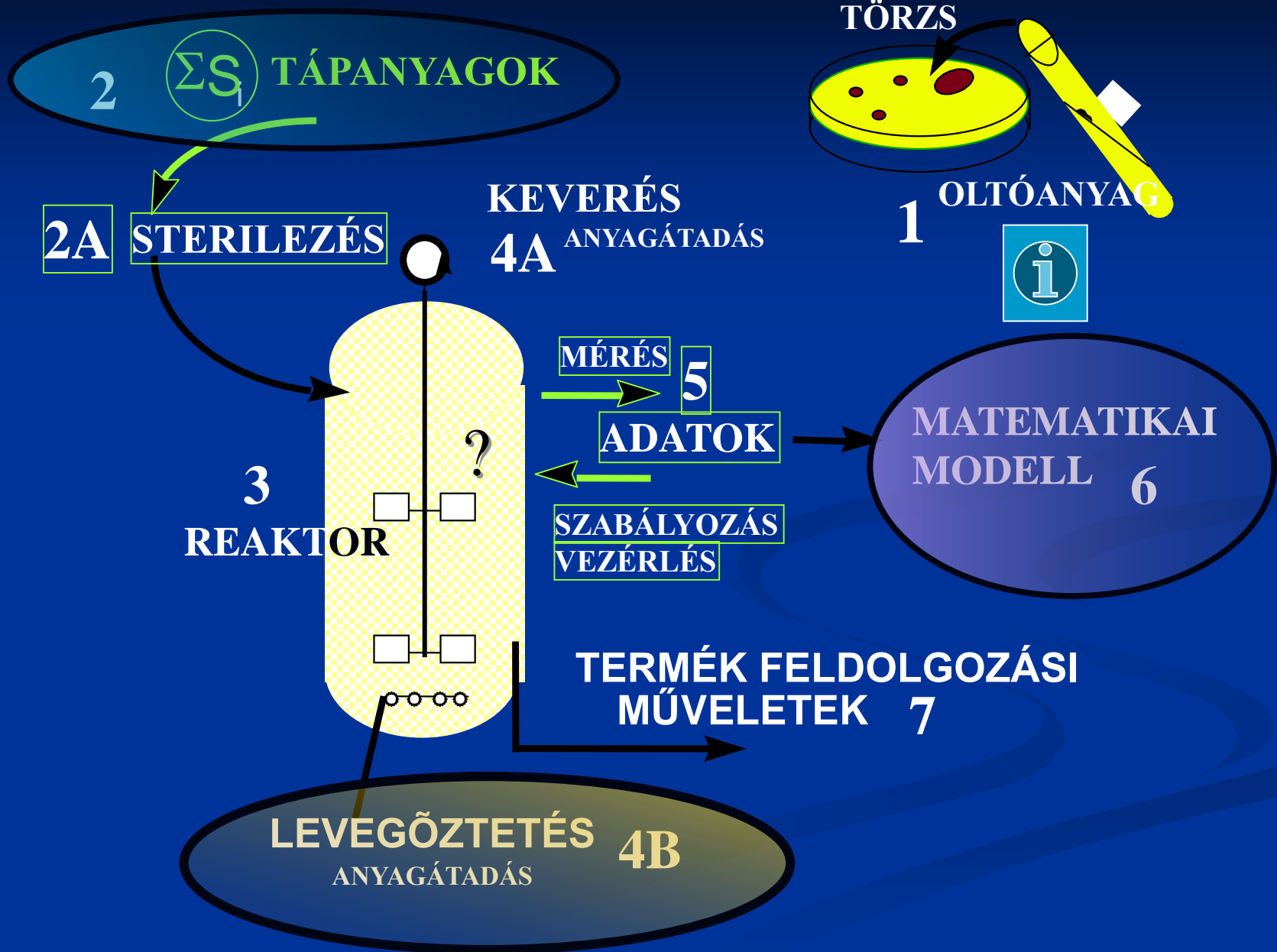
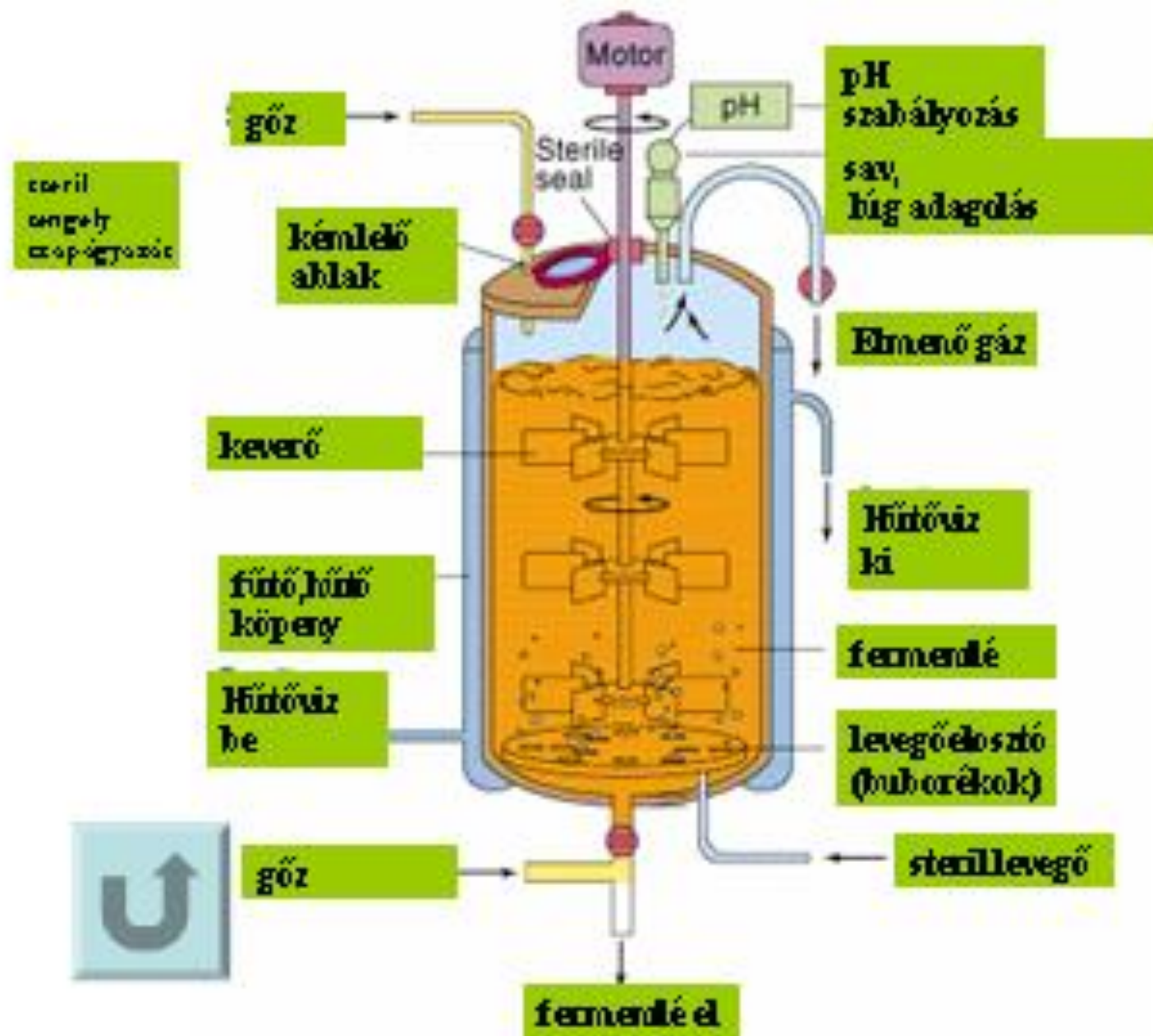
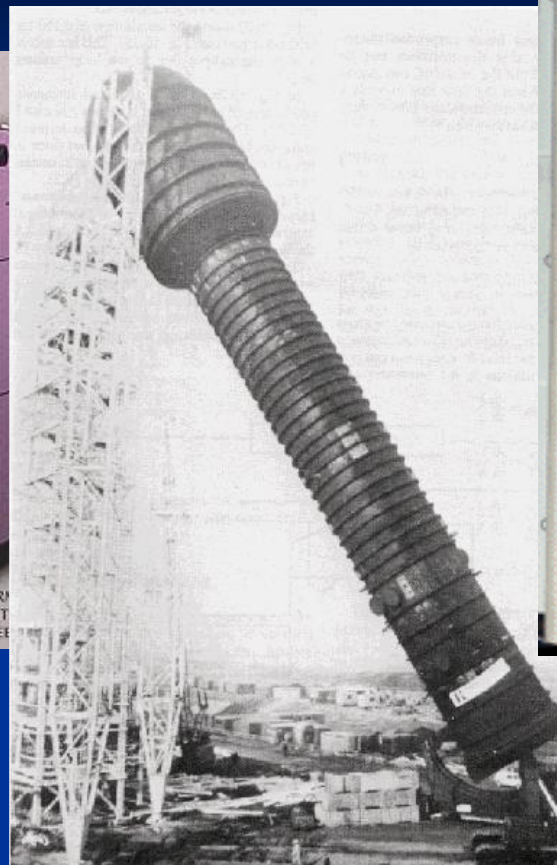


FERMENTÁCIÓS FOLYAMATOK ÉS MŰVELETEK

Mi kell egy termelő fermentációs folyamathoz?



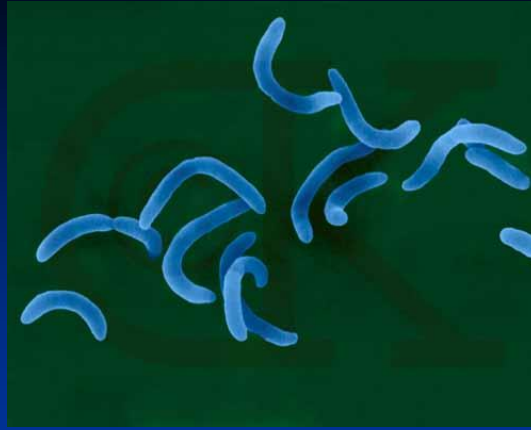




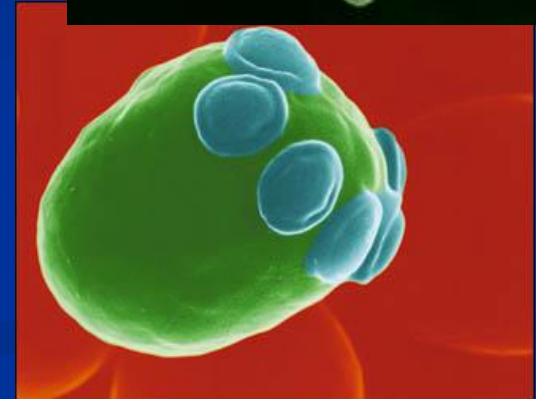
Saccharomyces cerevisiae



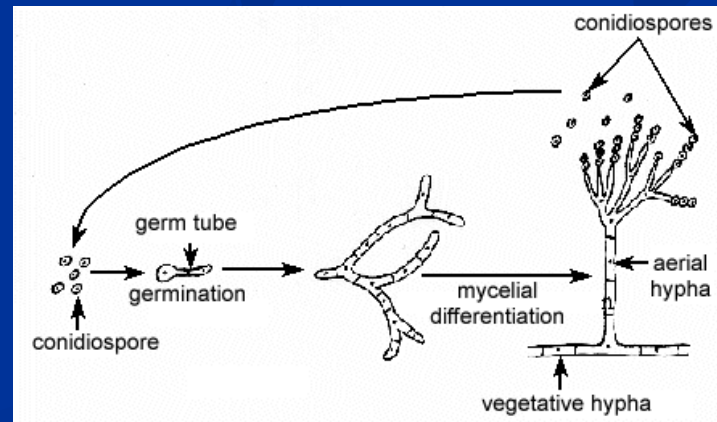
E.coli



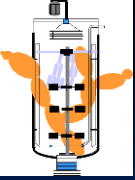
Vibrio cholerae



Mucor circinelloides

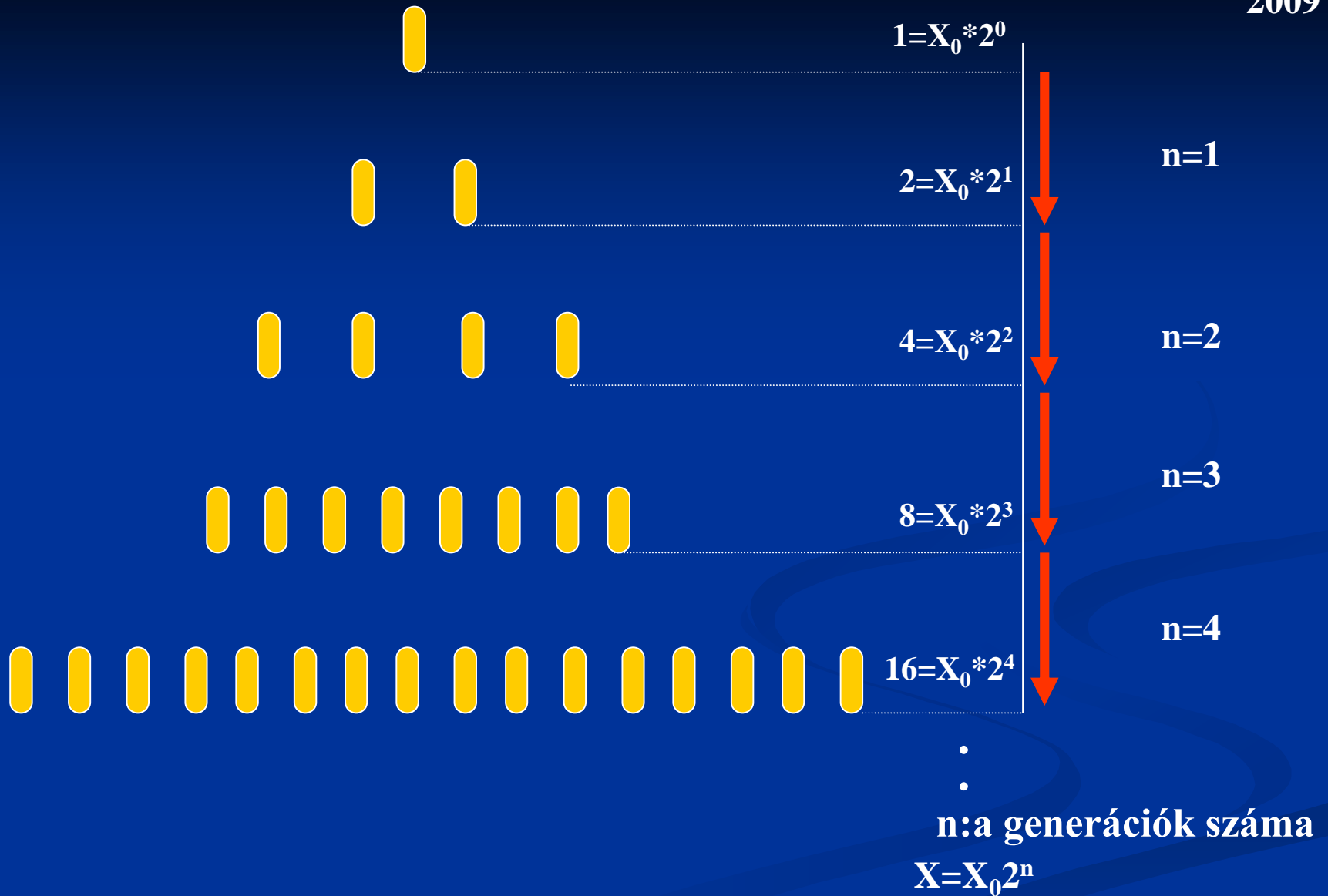


Aszexuális gombanövekedés

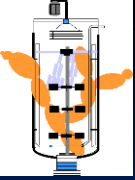


A mikroba szaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009



BINÁRISAN OSZTÓDÓ MIKROORGANIZMUS



$$n = \frac{t}{t_g}$$

a generációk száma

Generációs idő - doubling time
generation time

Sejtszám db/ml

N, x

Sejttömeg: sz.a.
mg/ml, g/l, kg/m³

$$X = X_0 2^{\frac{t}{t_g}} = X_0 2^n$$

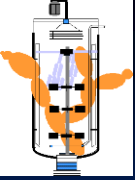
MONOD, 1942

μ : fajlagos növekedési sebesség

Autonom = autokatalitikus folyamat:

a folyamat sebessége a magától a foly.-tól függ

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot X$$

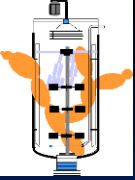


$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot X$$

FAJLAGOS NÖVEKEDÉSI SEBESSÉG

$$\mu \equiv \frac{1}{X} \frac{dx}{dt}$$

$$h^{-1}$$



Jacques Monod

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x$$



$$x = x_0 e^{\mu t}$$

$$x = x_0 2^{\frac{t}{t_g}} = x_0 2^n$$

μ és a generációs idő kapcsolata:

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

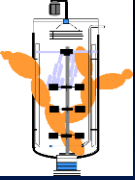
$$\frac{dN}{dt} = v \cdot N$$



$$N = N_0 e^{vt}$$

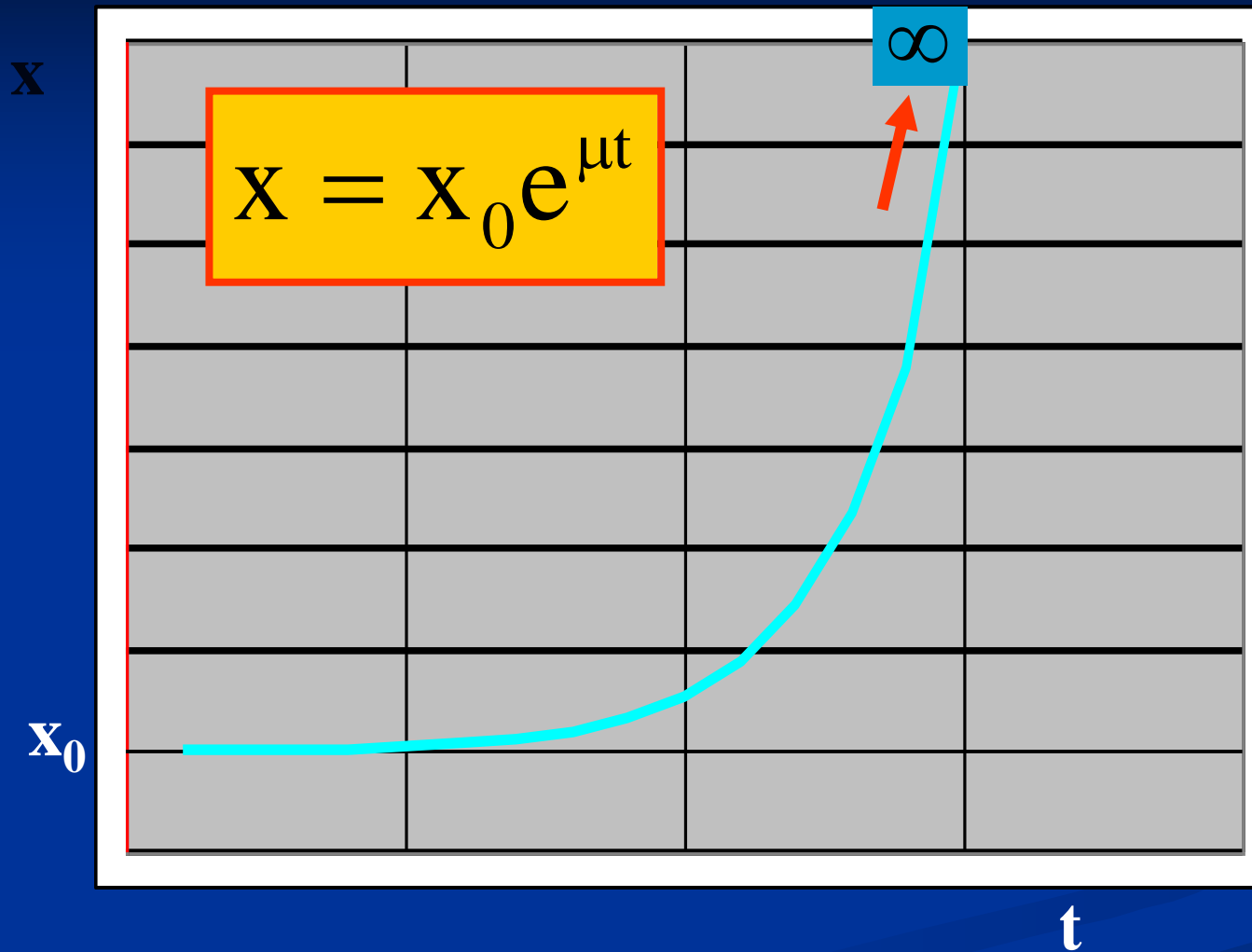


v : fajlagos szaporodási sebesség



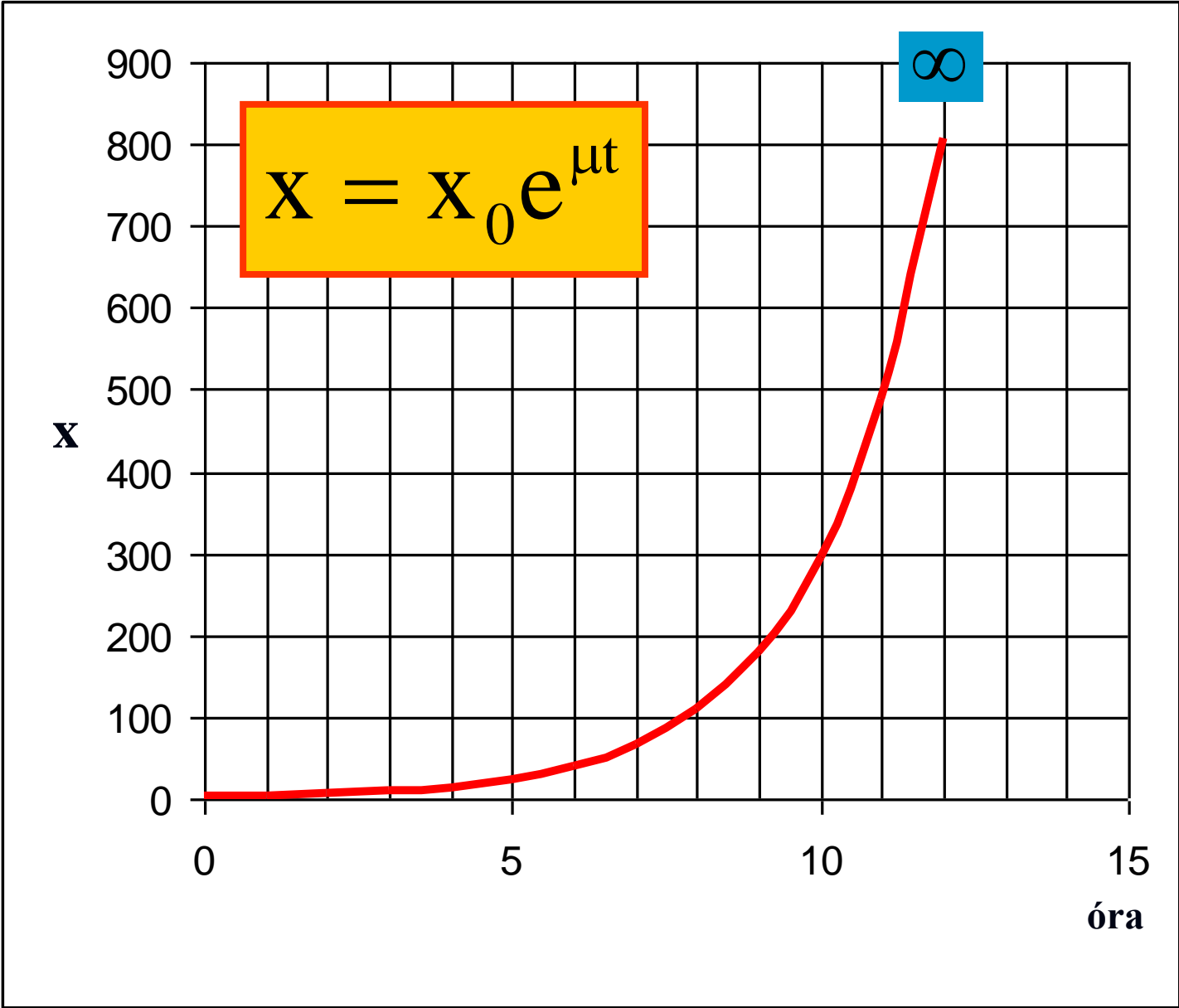
A mikroba szaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009

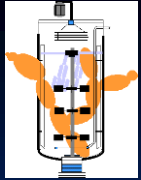


VALÓSÁG

VALÓSÁG

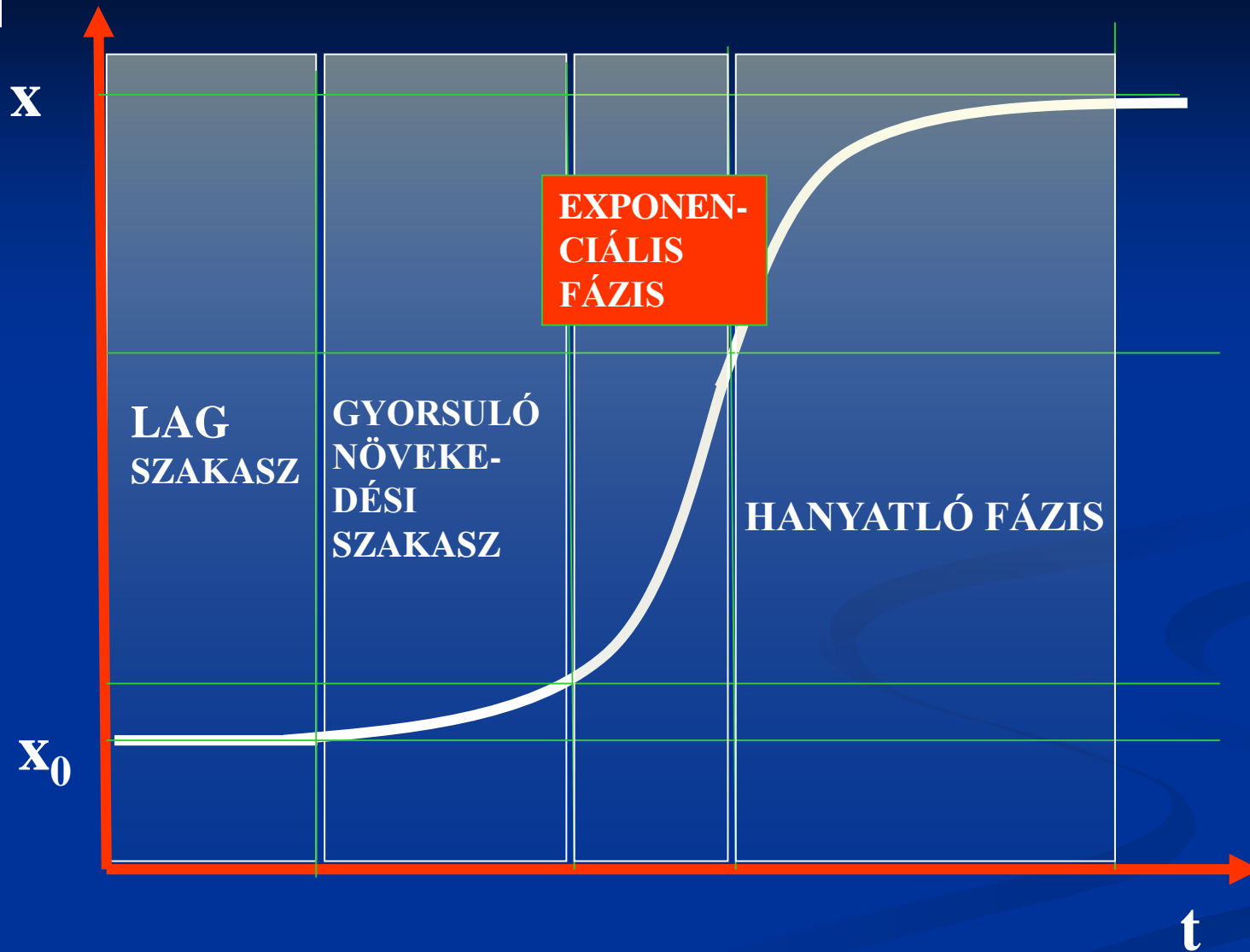


Exponenciális növekedés $X_0=2$ és $\mu=0,5$

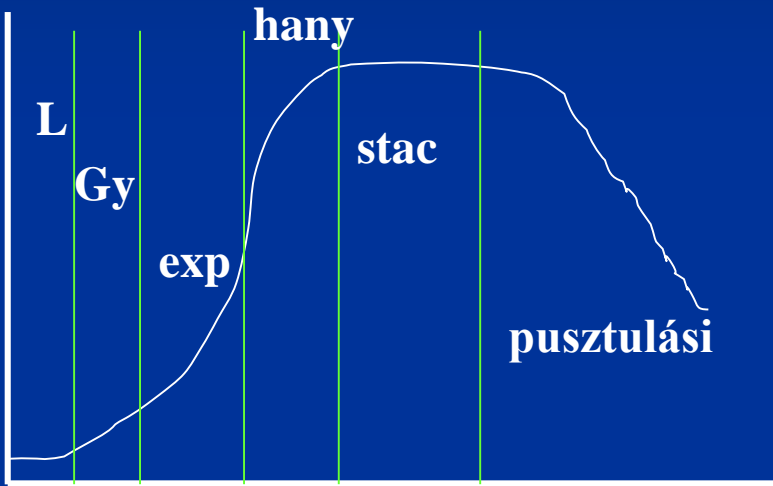


A mikroba szaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009

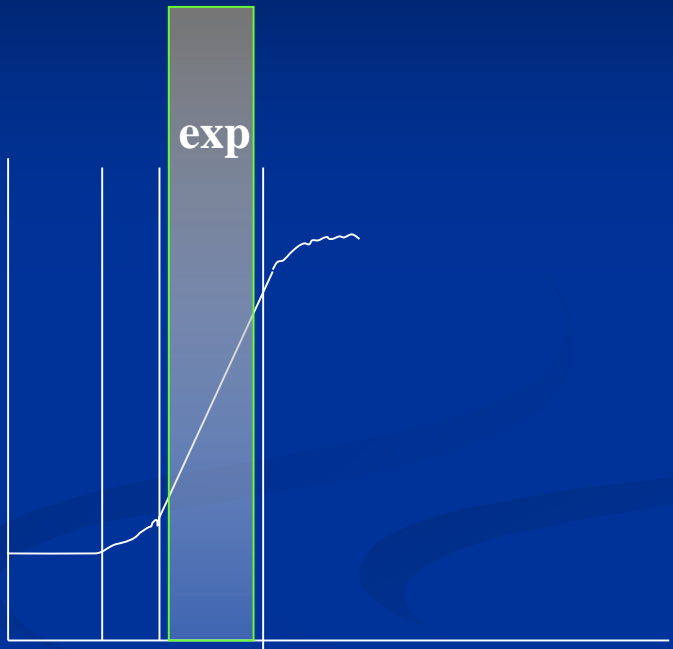


Élő sejtszám



idő

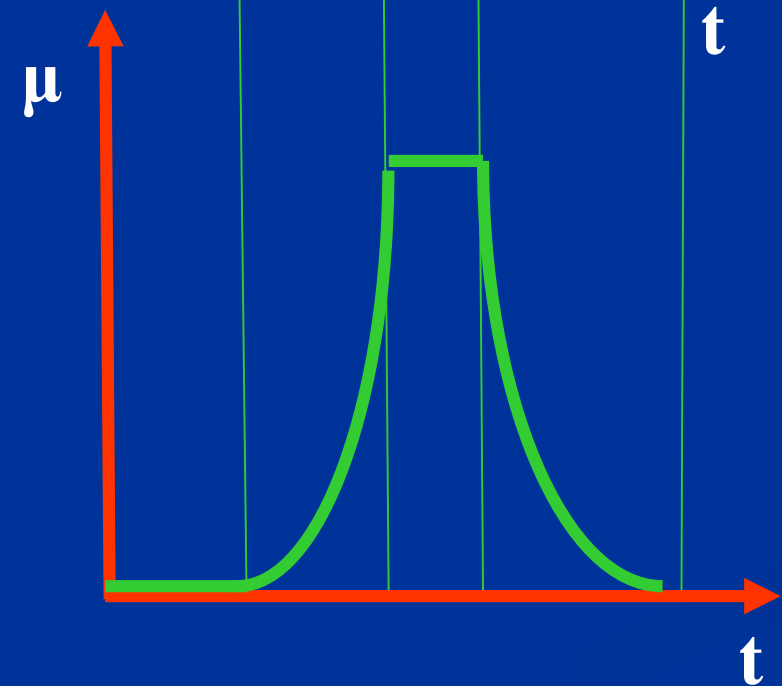
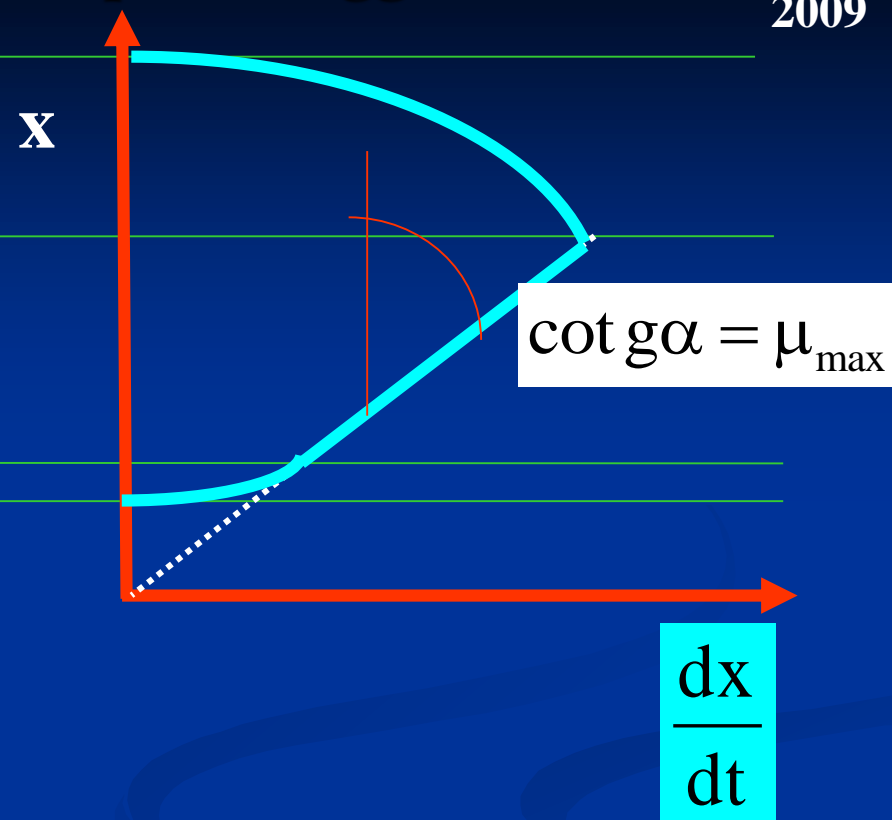
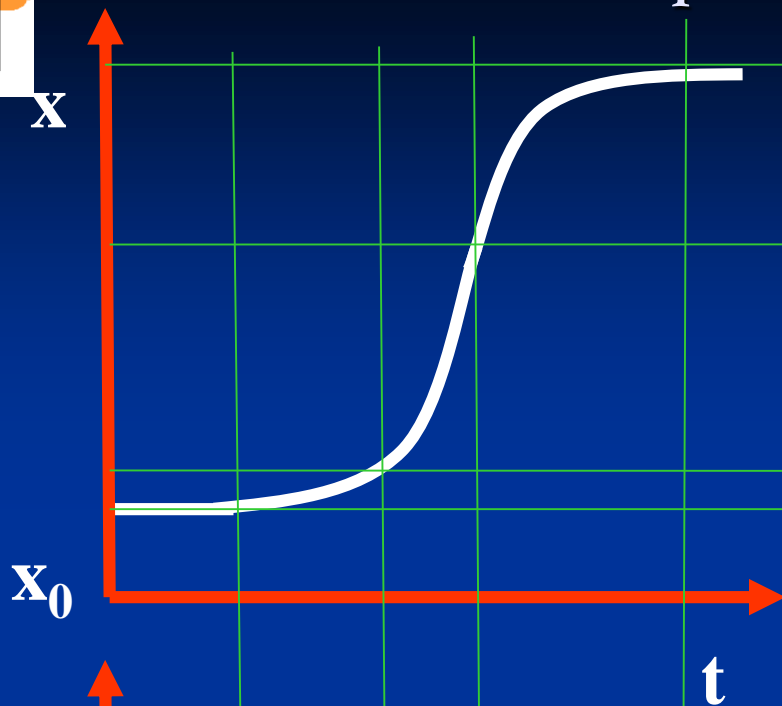
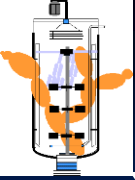
lg x



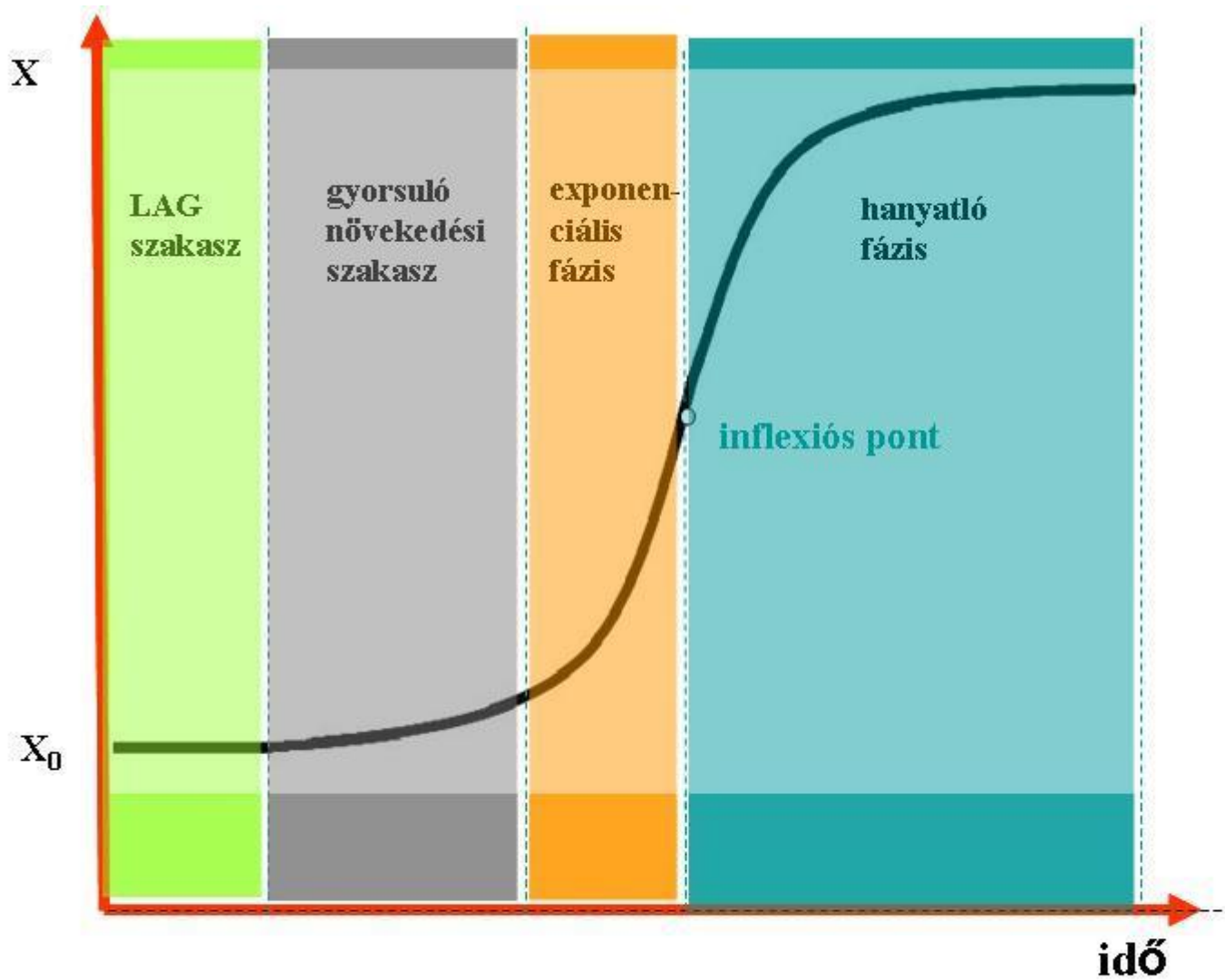
idő

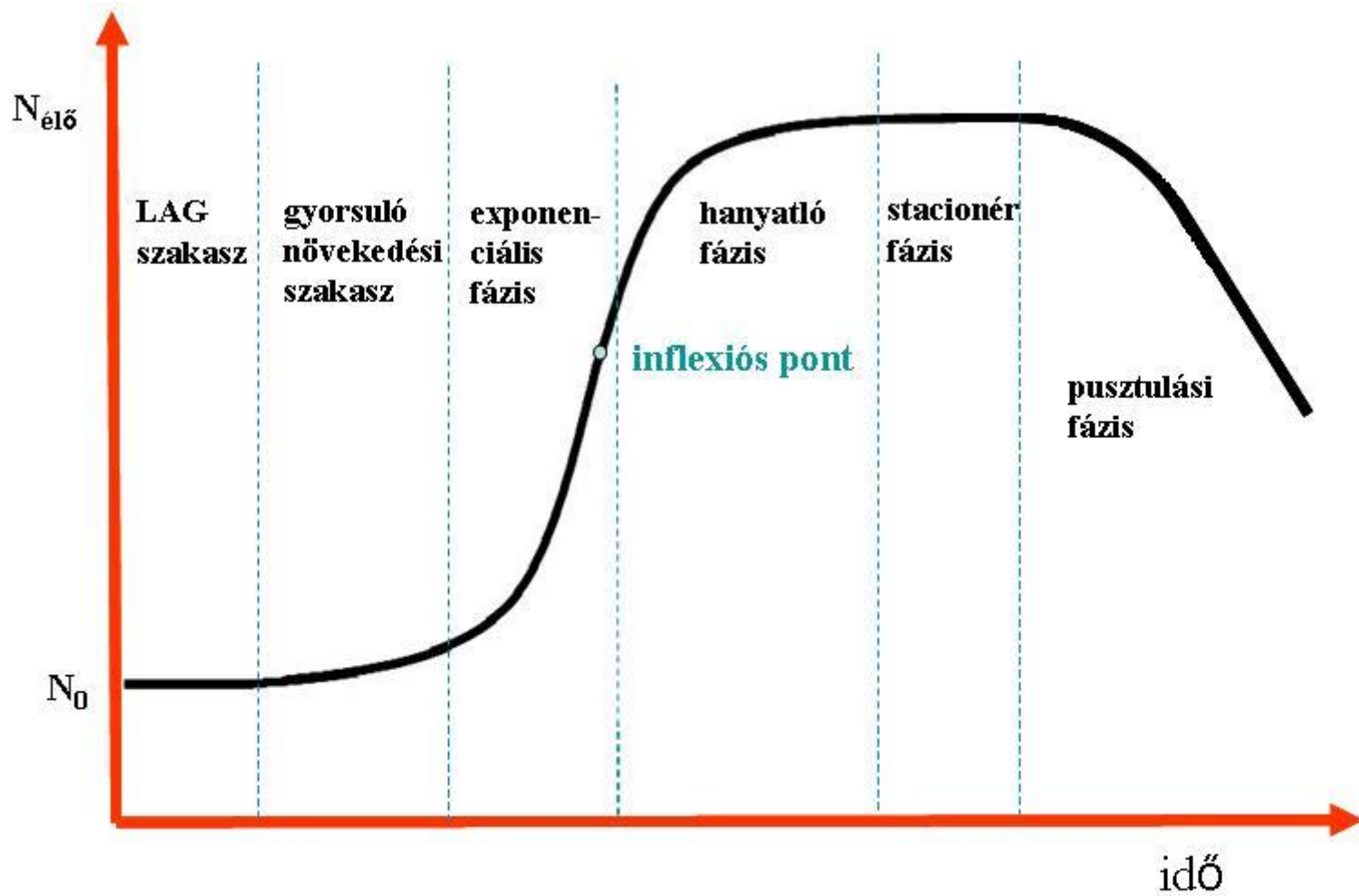
A mikroba szaporodás alapösszefüggései

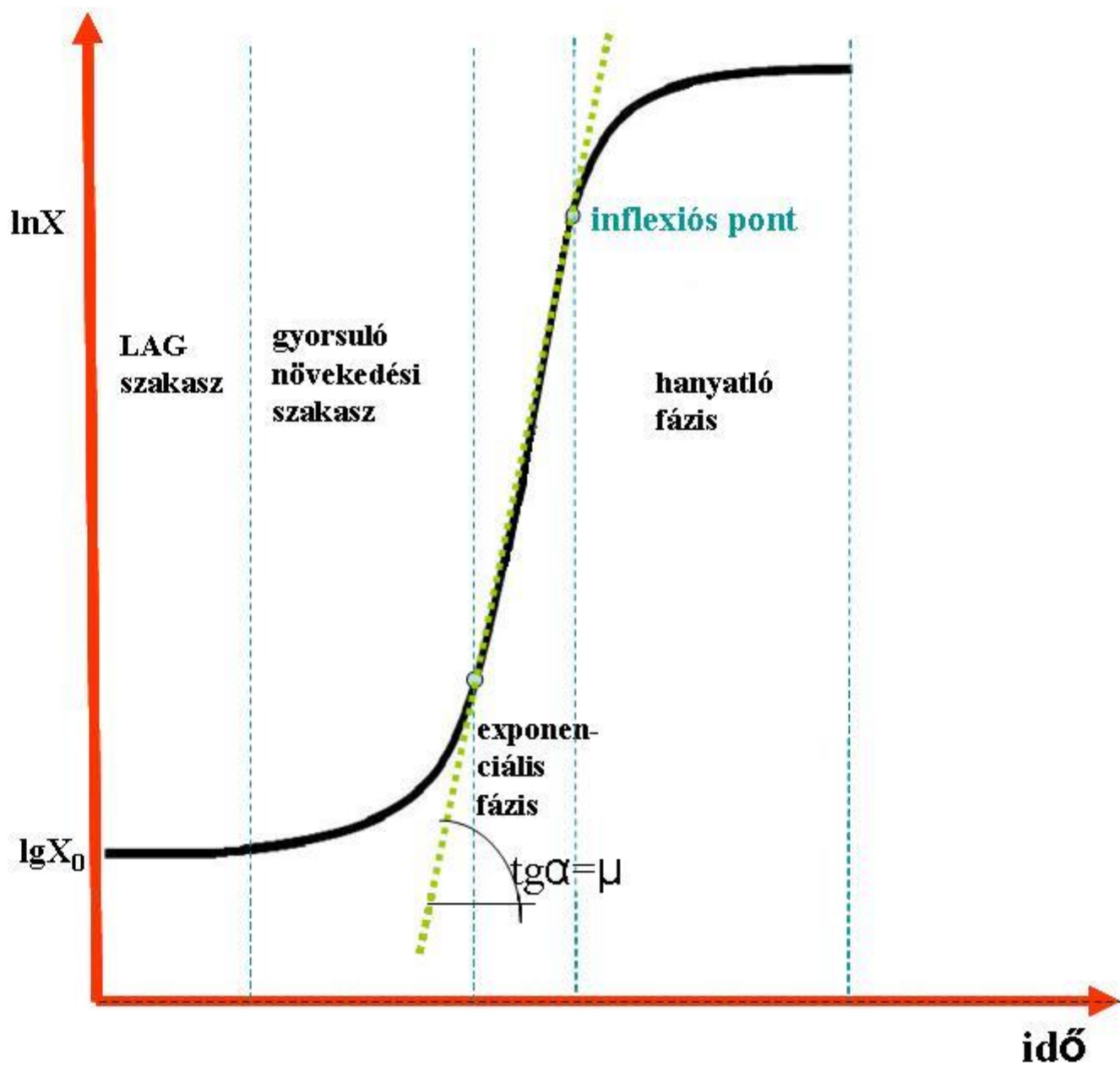
BIM-BSc
2009

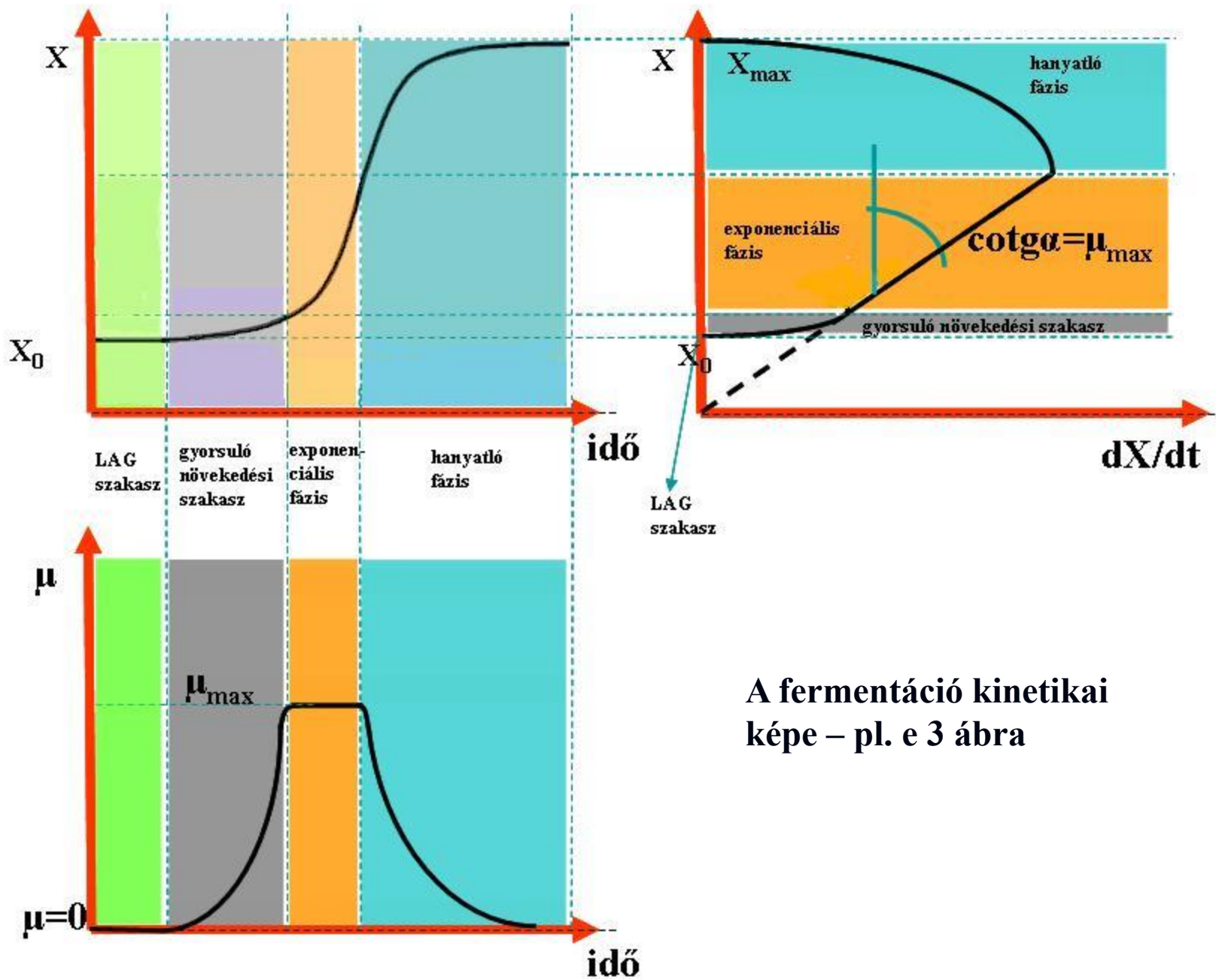


Összefoglalva és a jegyzetbeli ábrák alapján:

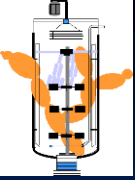








A fermentáció kinetikai képe – pl. e 3 ábra



MI AZ OKA A HANYATLÓ FÁZISNAK?

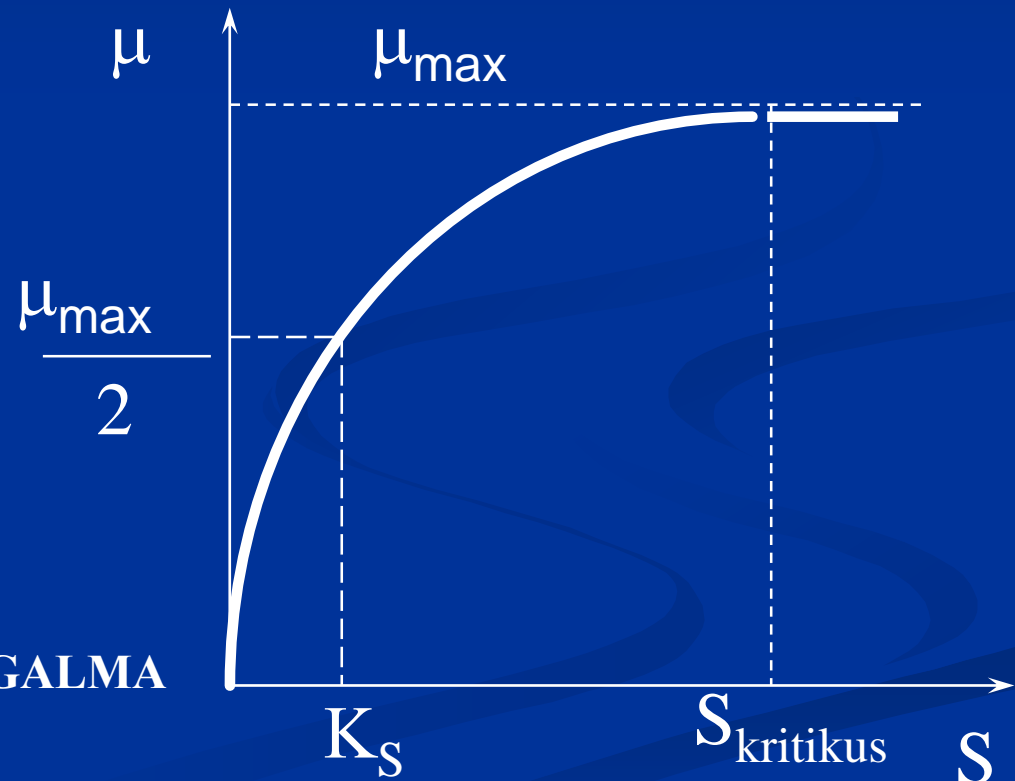
1. TÁPANYAG LIMITÁCIÓ
2. TOXIKUS METABOLIT TERMÉK(EK)
3. HELYHIÁNY

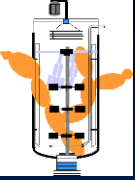
MONOD- modell

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S}$$

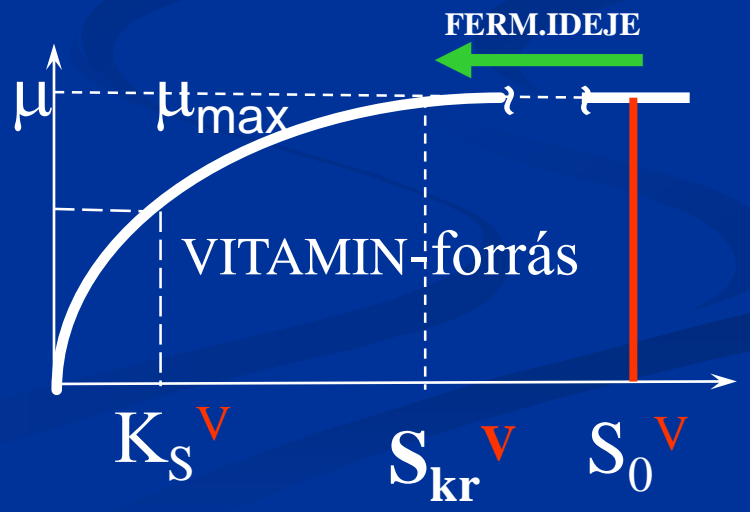
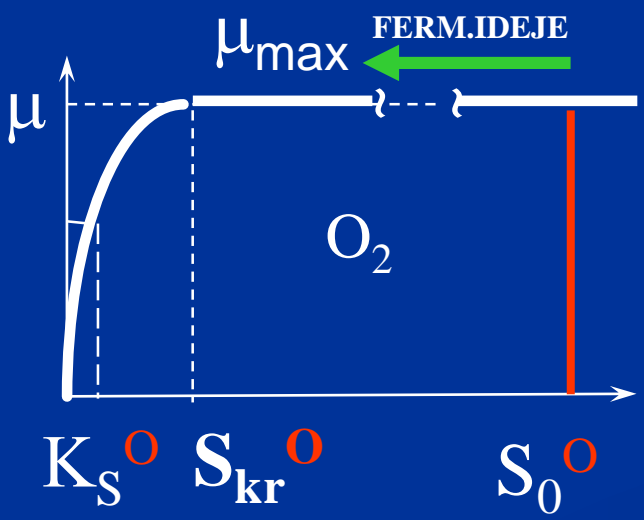
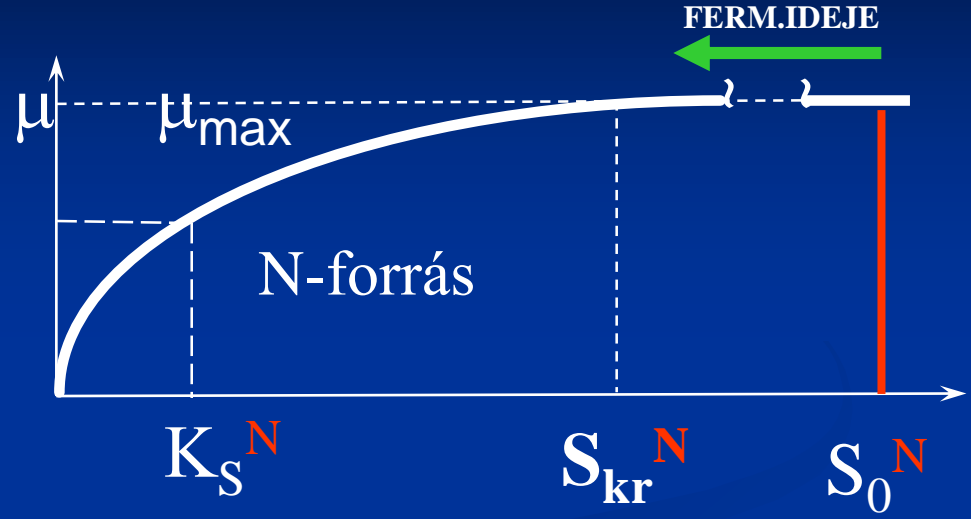
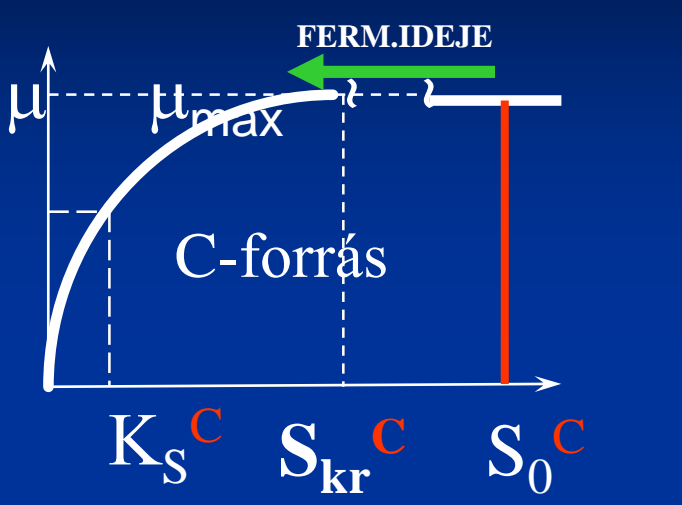
KRITIKUS KONCENTRÁCIÓ FOGALMA

LIMITÁLÓ SZUBSZTRÁT

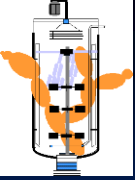




MELYIK **S** LESZ **LIMITÁLÓ S** ???

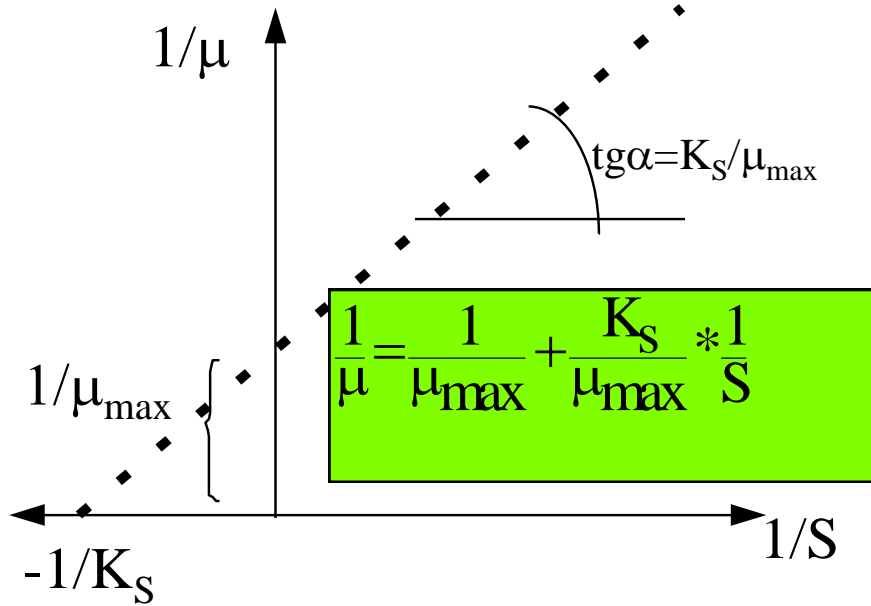


LIMITÁLÓ SZUBSZTRÁT FOGALMA

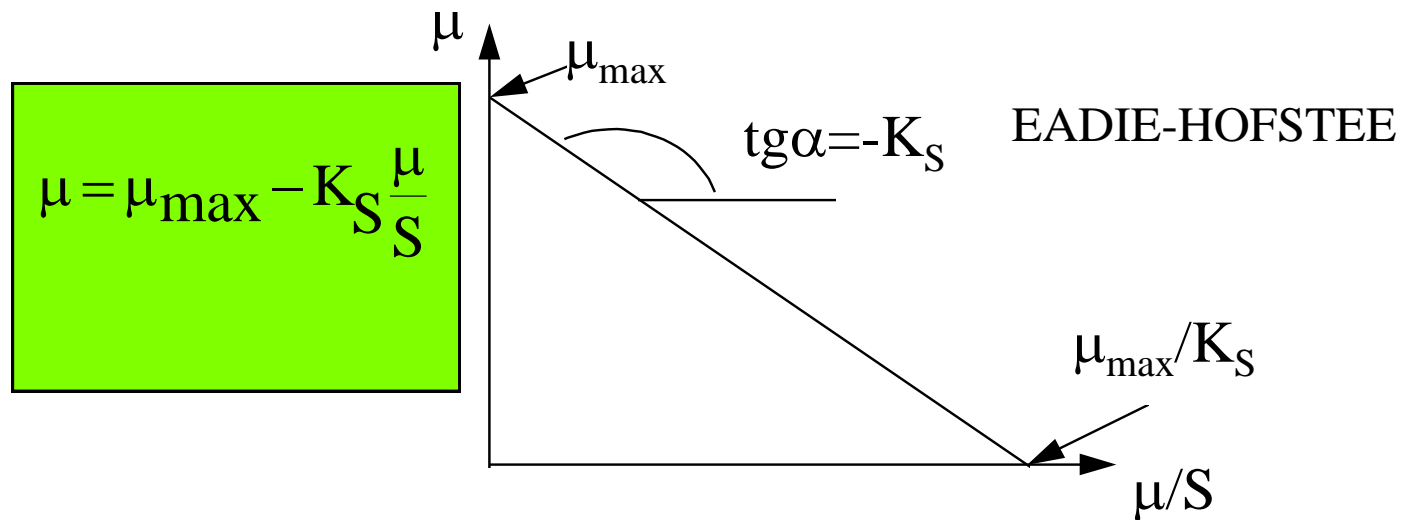
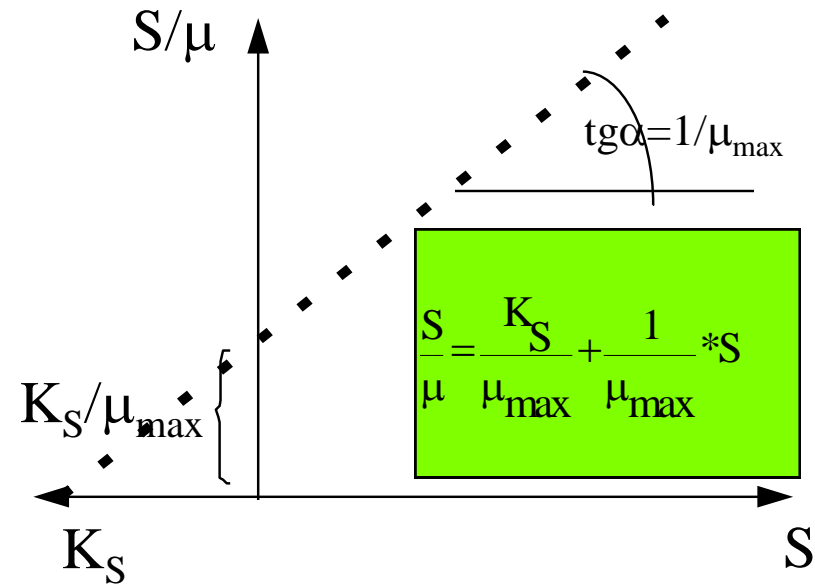


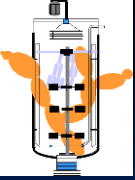
A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

LINEWEAVER-BURK



HANES v. LANGMUIR





LIMITÁLÓ SZUBSZTRÁTRA

HOZAM:

$$\frac{dx}{dS} = -Y_{x/s} = \frac{\Delta x}{\Delta S} = \frac{\frac{1}{x} \frac{dx}{dt}}{\frac{1}{S} \frac{dS}{dt}}$$

KITERJESZTÉS

$$\frac{dx}{dS_i} = -Y_{x/s_i} \quad \text{vagy} \quad = -Y_i$$

MINDÍG IGAZ:
(~természeti tv.)

$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu x$$

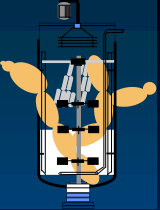
Exponenciális és
Hanyatló fázisban:

$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu m \frac{S}{K_S + S} x$$

$$r_S = \frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/S}} \mu m \frac{S}{K_S + S} x$$

megoldható
diffegy.rendszer
(ld. Jegyzet,
de nem kell tudni)

MONOD-modell egyenletei



Több limitáló szubsztrát

interaktív vagy multiplikatív leírás:

$$\mu_x = \mu_{x\max} \frac{S_1}{K_{s1} + S_1} \frac{S_2}{K_{s2} + S_2} \dots \frac{S_n}{K_{sn} + S_n}$$

$$\mu_x = \mu_{x\max} \prod_{i=1}^n \frac{S_i}{K_{si} + S_i}$$

additív leírás

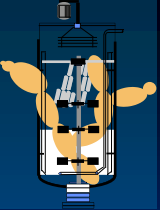
$$\mu_x = \mu_{x\max} \cdot \left(w_1 \frac{S_1}{K_{s1} + S_1} + w_2 \frac{S_2}{K_{s2} + S_2} \dots + w_n \frac{S}{K_{sn} + S_n} \right)$$

$$w_j = \frac{\frac{K_j}{S_j}}{\sum_{i=1}^n \frac{K_i}{S_i}}$$

súlyfüggvények

nem interaktív leírás

$$\mu = \mu(S_1) \text{ vagy } \mu = \mu(S_2) \text{ vagy } \dots \mu = \mu(S_n)$$



KÉT LIMITÁLÓ S SPECIÁLIS ESETE

Erre majd
visszatérünk
az Oxigénnél!

C-forrás, oxigén

$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu_{x \max} \frac{S_1 S_2}{(K_{S1} + S_1)(K_{S2} + S_2)} x$$

$$r_{S1} = \frac{dS_1}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S1}} r_x$$

$$r_{S2} = \frac{dS_2}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S2}} r_x$$

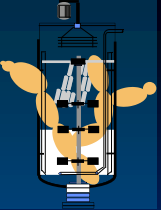
$$r_{S1} = \frac{dS_1}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S1}} \mu_{x \max} \frac{S_1 S_2}{(K_{S1} + S_1)(K_{S2} + S_2)} x + K_L a (S_1^* - S_1)$$

$$\frac{dS_1}{dt} = 0$$

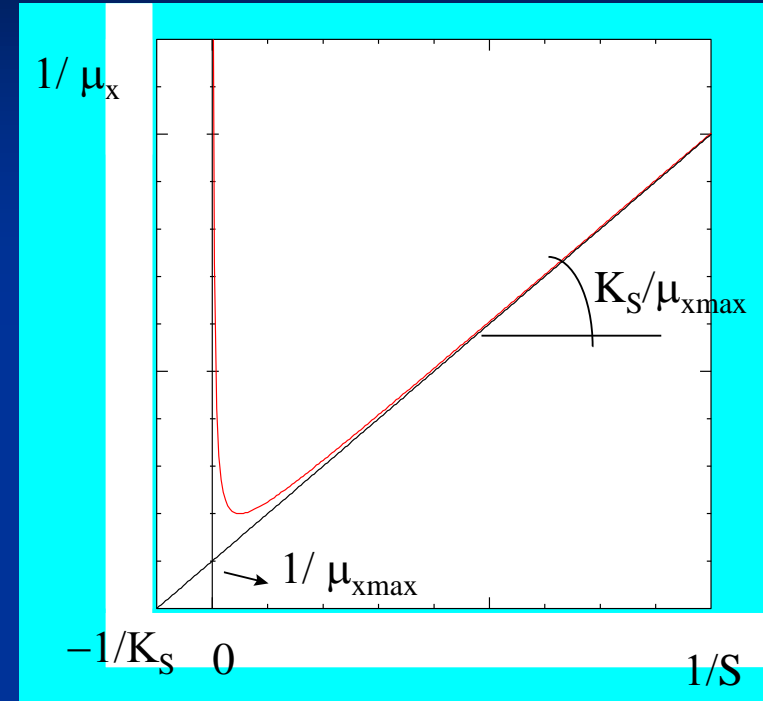
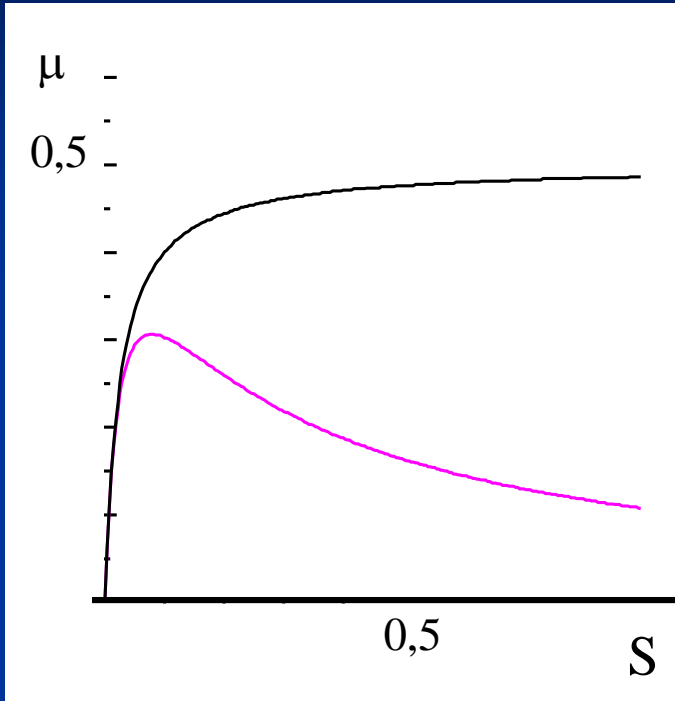


$$r_x = \frac{dx}{dt} \cong Y_{X/S} K_L a S_1^*$$

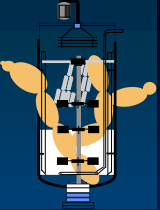
Lineáris növekedés



SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ



$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu_{x \max} \frac{S}{aS + \frac{S^2}{K_i} + K_S} x$$



Monod-modell „javításai”

Teissier egyenlet

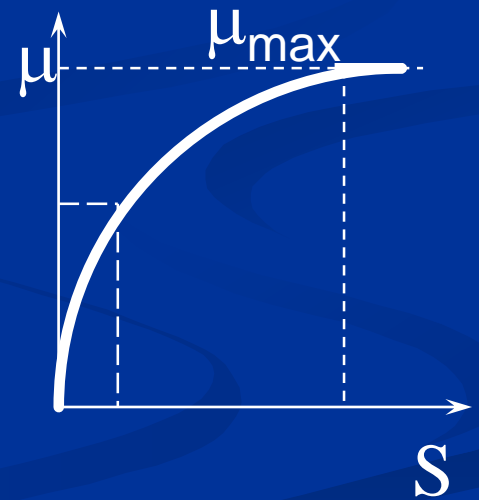
$$\mu = \mu_{x \max} \left(1 - e^{-KS} \right)$$

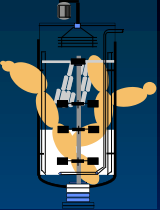
Moser egyenlet

$$\mu = \mu_{x \max} \frac{S^n}{K_s + S^n} = \mu_{x \max} \left(1 + K_s S^{-n} \right)^{-1}$$

Contois egyenlet

$$\mu = \mu_{x \max} \frac{S}{K_{sx} X + S}$$





$$\frac{dv}{dS} = K v^a (1 - v)^b$$

$$\text{ahol } v = \mu_x / \mu_{x \max}$$

	a	b	K
Monod	0	2	1/Ks
Teissier	0	1	1/K
Moser	1-1/n	1+1/n	n/Ks ^{1/n}
Contois	0	2	1/Ksx

+ S-inhibíció

+ P-képződés

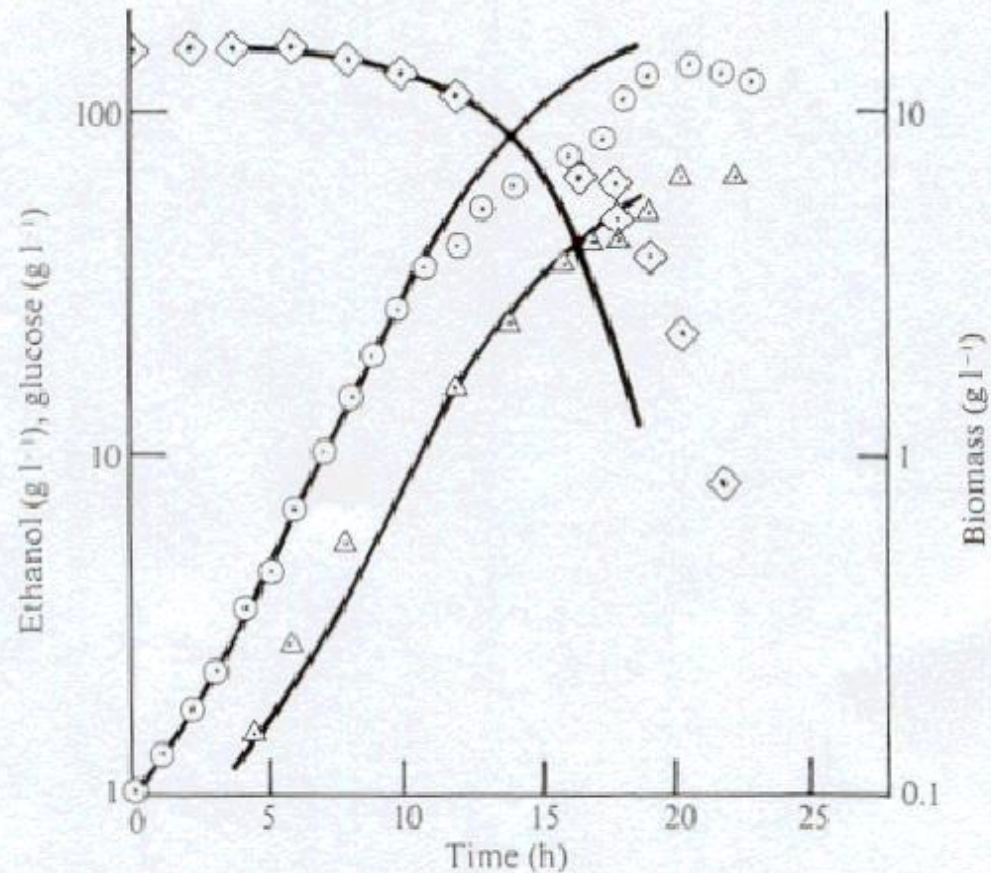
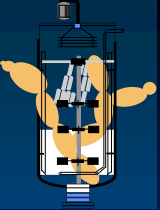


Fig. 6.59. Batch ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Observed values; \odot , biomass; \triangle , ethanol; \diamond , glucose (Aiba et al., 1968).

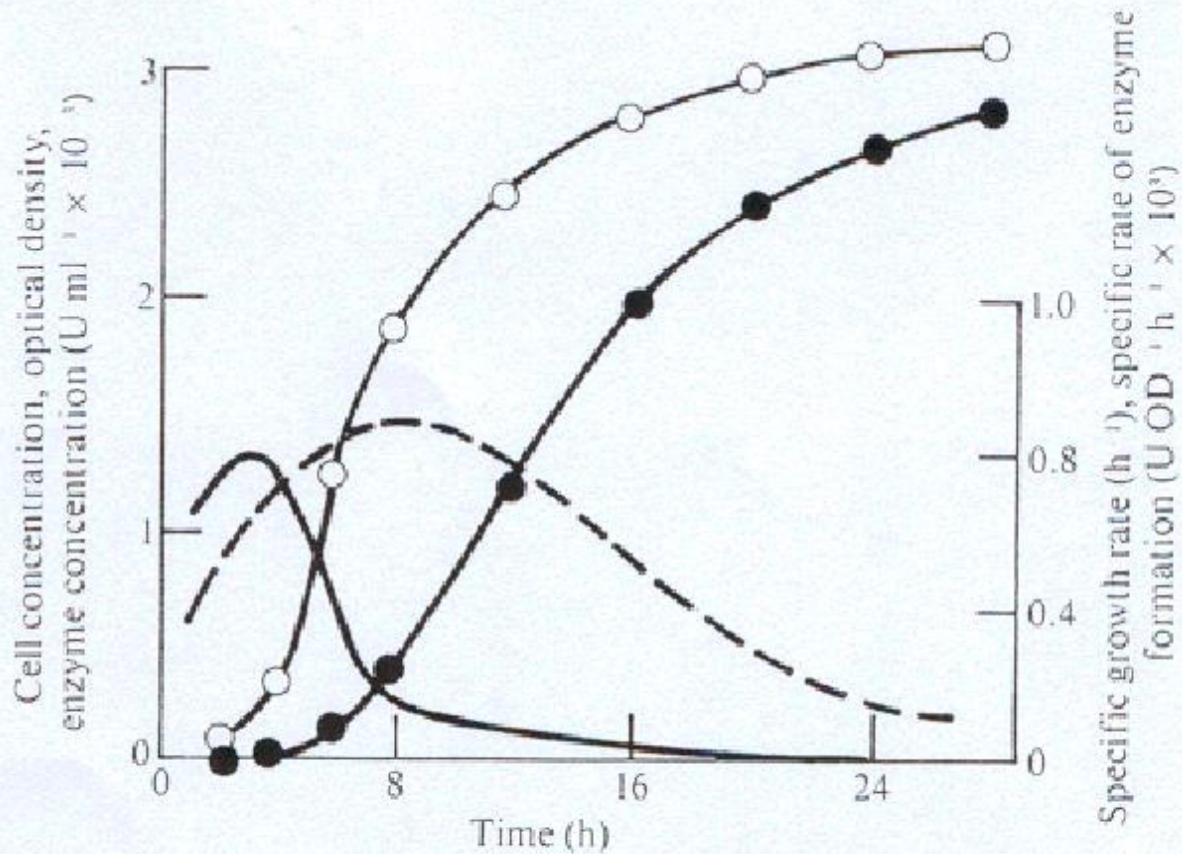
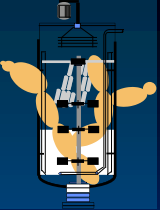


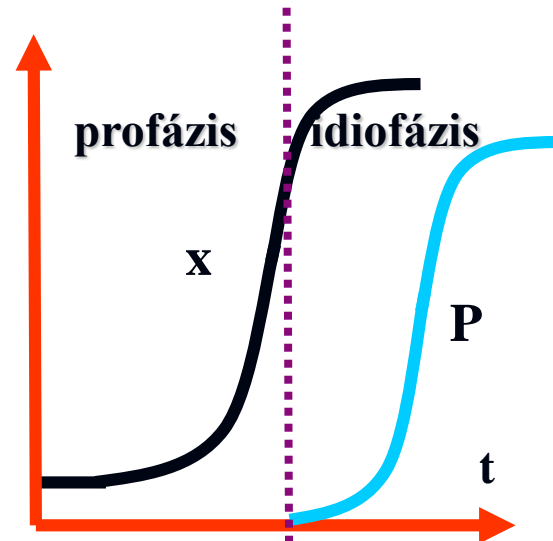
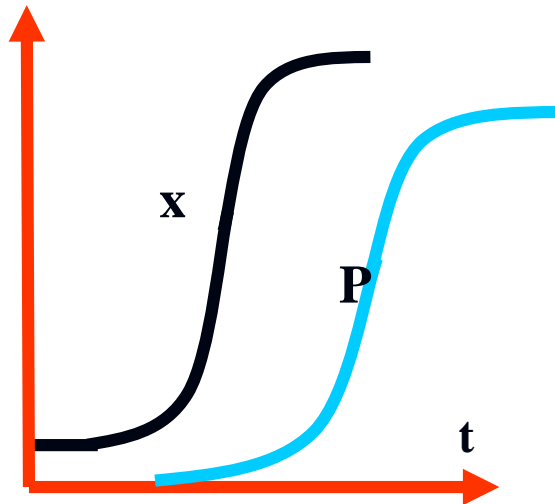
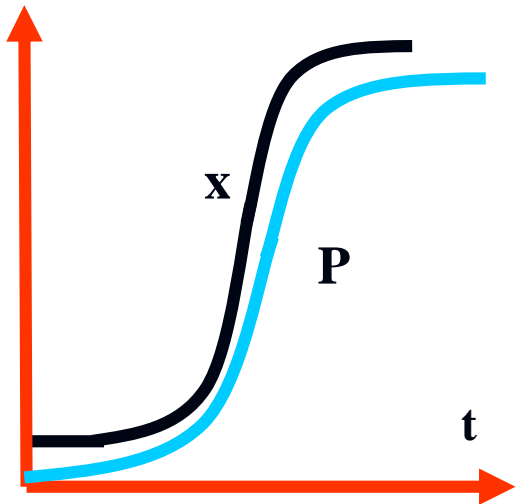
Fig. 6.53. Time course of α -amylase formation by *Bacillus amyloliquefaciens*. —, specific growth rate (μ); , specific rate of enzyme formation (ϵ); —○—, cell concentration (x); —●—, enzyme concentration (E).

MONOD modell-család

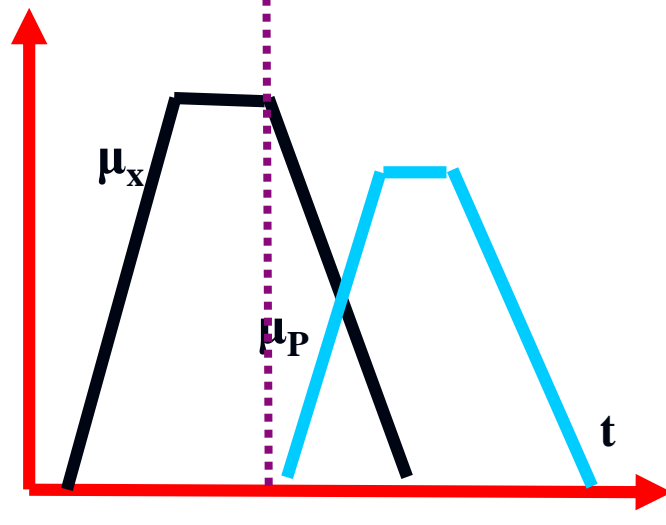
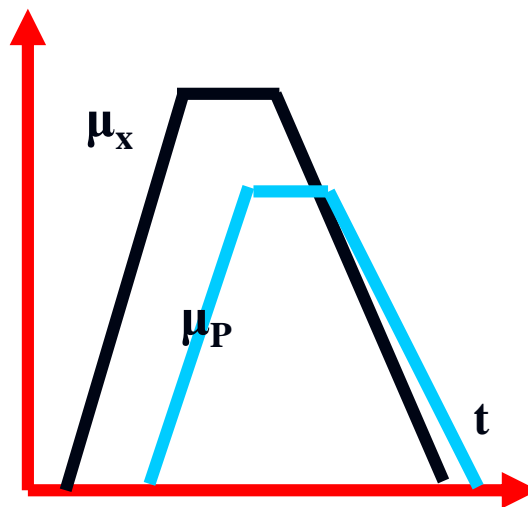
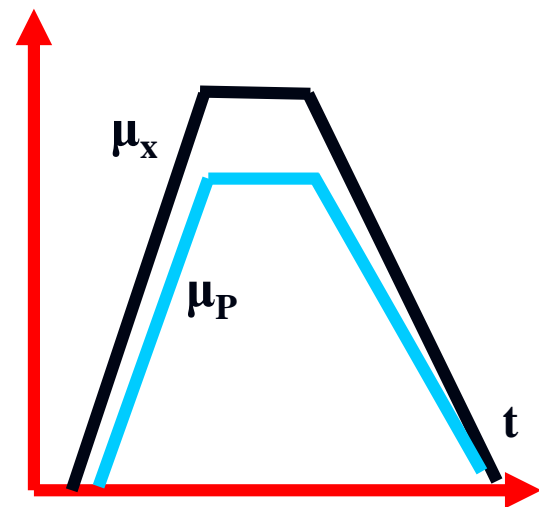
.....

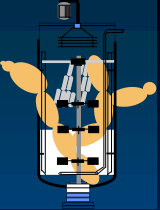
Primer
anyagcsere termék

Szekunder anyagcsere
termék



GAEDEN-féle termékképződési típusok



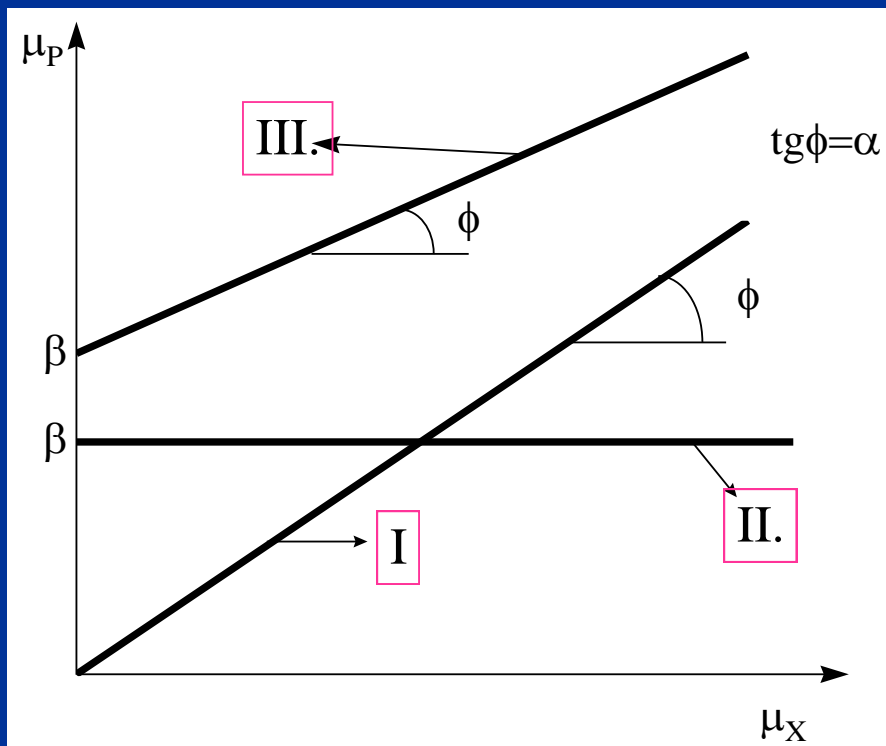


TERMÉKKÉPZŐDÉS KINETIKAI LEÍRÁSA

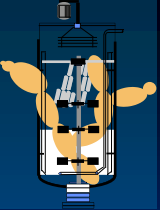
LUEDEKING – PIRET MODELL

$$r_P = \frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X$$

$$\frac{1}{X} \frac{dP}{dt} = \mu_P = \alpha \mu_X + \beta$$



- I:** $\alpha > 0$ és $\beta = 0$ növekedéshez kötött termékképződés
- II:** $\alpha = 0$ és $\beta > 0$ növekedéshez nem kötött termékképződés
- III:** $\alpha > 0$ és $\beta > 0$ vegyes típusú fermentáció.



toxikus metabolit termékek hatása: sok termék: **EtOH**, tejsav...
TERMÉK INHIBÍCIÓK:

HINSHELWOOD – modell
(P inhib növekedést)

$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu_{x \max} (1 - \alpha P)$$
$$r_P = \frac{dP}{dt} = \beta x$$

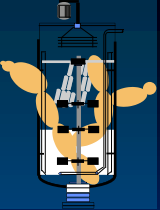
FRIEDMAN és GADEN modellje
Lactobacillus delbrückii
Tejsayfermentációjára
(P inhib. Termékképzést)

$$\mu_P = \alpha \mu_x + \beta - \gamma P'$$

$P' = P$ vagy I

Aiba és munkatársai modellje
(P= EtOH)
(P inhib. Növekedést)

$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu_{x \max} \frac{S}{K_S + S} e^{-k_i P} \cdot x$$



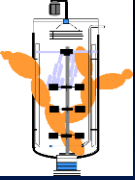
Kompetitív termék inhibíció

$$\mu_x = \mu_{x\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{P}{K_p} \right) + S}$$

Nemkompetitív termék inhibíció

EtOH ha >5%

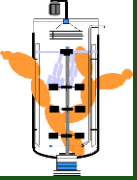
$$\mu_x = \mu_{x\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{K_s}{S} \right) \left(1 + \frac{P}{K_p} \right)}$$



TÁPOLDATOK, TÁPTALAJOK

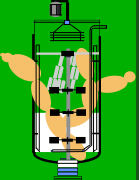
HOZAMKIFEJEZÉS ÁLTALÁNOSÍTÁSA

$$\frac{dx}{dS_i} = \frac{\Delta x}{\Delta S} = \frac{\frac{dx}{dt}}{\frac{dS}{dt}} = \frac{\mu_x}{\mu_s} = \frac{\mu_x}{Q_s} - Y_{x/s_i} \quad \text{vagy} \quad = -Y_i$$



A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

TÁPOLDATOK, TÁPTALAJOK



MIKROORGANIZMUSOK TÁPANYAG IGÉNYE

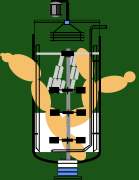
TERMELŐKÉPESSÉG ← KÖRNYEZET ← GENOM

Néhány mikroba összetétel

összetétel a sejt szárazanyag százalékában

Mikroorganizmus

	C	H	O	N	S
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45	6,8	30,6	9,0	
<i>Methylomonas methanolica</i>	45,9	7,2		14,0	2,6
<i>Penicillium chrysogenum</i>	43	6,9	35,0	8,0	



C-forrás + N-forrás + O₂ + ásványi sók +
+speciális tápanyagok (pl. vitamin) →

→ új sejttömeg (ΔX) + termék(ek) + CO₂ + H₂O
(extracelluláris)

Tápanyag igény

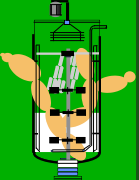
$$\frac{dx}{dS_i} = \frac{\Delta x}{\Delta S} = \frac{\frac{dx}{dt}}{\frac{dS}{dt}} = \frac{\mu_x}{\mu_s} = \frac{\mu_x}{Q_s} = Y_{x/s_i}$$

HOZAMKIFEJEZÉS ÁLTALÁNOSÍTÁSA

Tápoldatok

szintetikus
félszintetikus
természetes alapú





Alapvető nutritív igények

VÍZ 70-90 %-a a M-nak víz!
Csapvíz, desztvíz, ionmentes víz, pirogénmentes víz
Tárolás sterilezés nélkül befertőződik!
műanyagedény: lágyítók! ~tápa.

USA: rigorózus előírások Type I

Type II $18 \text{ M}\Omega \leftrightarrow \text{mS}$

C- és energiaforrások

ENERGIAFORRÁS

KÉMIAI

FÉNY

SZÉNFORRÁS

SZERVES

HETEROTRÓFOK

KEMO-ORGANOTRÓF

Legtöbb baktérium, gomba...
magasabbrendű állatok

SZERVES

...glükóz...

FOTO-ORGANOTRÓF

Bíbor (nem kén-)baktérium.
Néhány eukarióta alga

SZERVES

...glükóz...

ELEKTRONDONOR

SZÉN-DIOXID

AUTOTRÓFOK

KEMO-LITOTRÓF

H-, S-, Fe-baktériumok
Denitrifikáló baktériumok

SZERVETLEN en.forrás

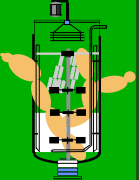
H_2S , S, $S_2O_3^{2-}$, H_2 , Fe(II),
 NH_3^+ , NO_2^- ,

FOTO-LITOTRÓF

Zöld növények,
Eukarióta algák (fényben)
Kék/zöld algák
Cianobaktériumok
Fotoszintetizáló baktériumok

SZERVETLEN

H_2O , H_2S , S... ELEKTRONDONOR



HIDROGÉN

->víz, szerves vegy., kivéve:

ARCHAEA H₂ el. donor higrogénbakt O₂
Methanobacter fény

OXIGÉN

Külön téma!!!!

Aerob/anaerob

NITROGÉN

N-fixálás

Azotobacter
Rhizobium

nitrogenáz

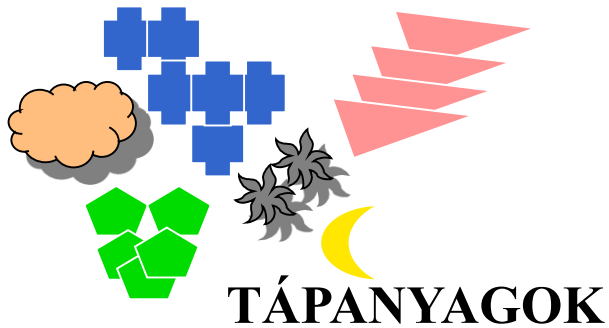
Általában: NH₄⁺, NO₃⁻, v. szerves N

MINOR

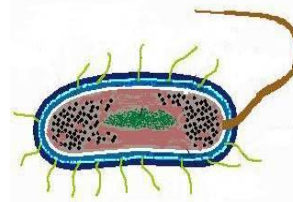
MIKRO

Ásványi elemek

BIOSZANYAGOK: vitaminok, aminosavak, Pu, Pir., lipidek.....

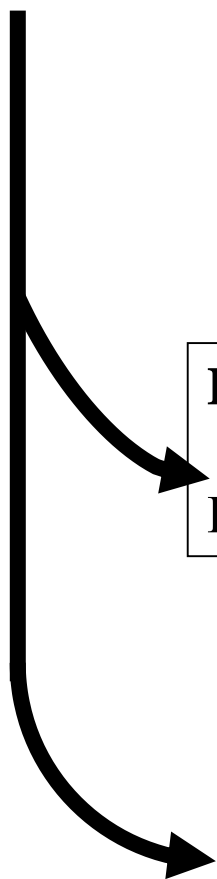


TÁPANYAGOK



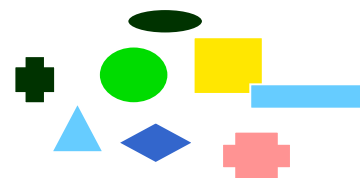
SEJTALKOTÓRÉSZEK, SEJT

K
A
T
A
B
O
L
I
Z
M
U
S



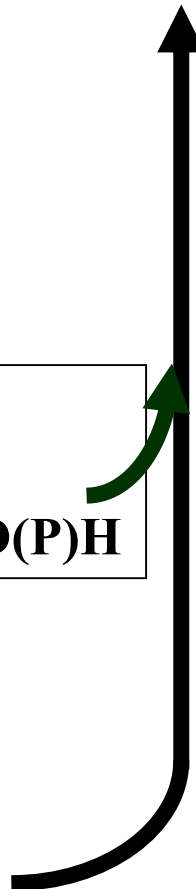
ENERGIA: ATP

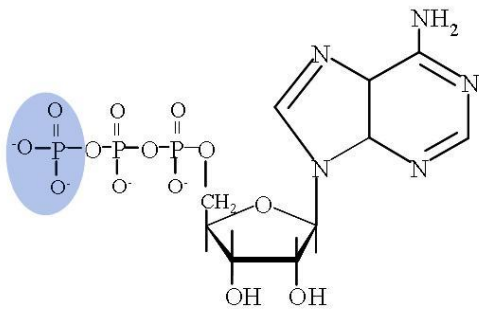
Redukáló erő: NAD(P)H



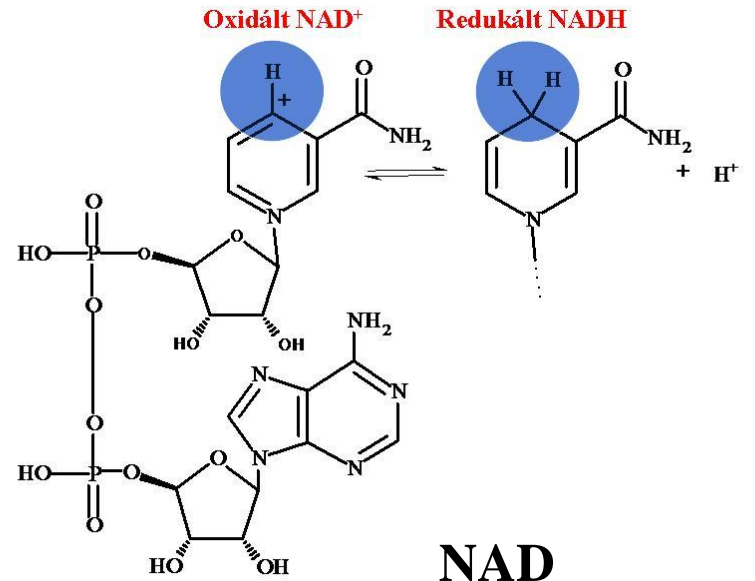
ÉPÍTŐKÖVEK

A
N
A
B
O
L
I
Z
M
U
S

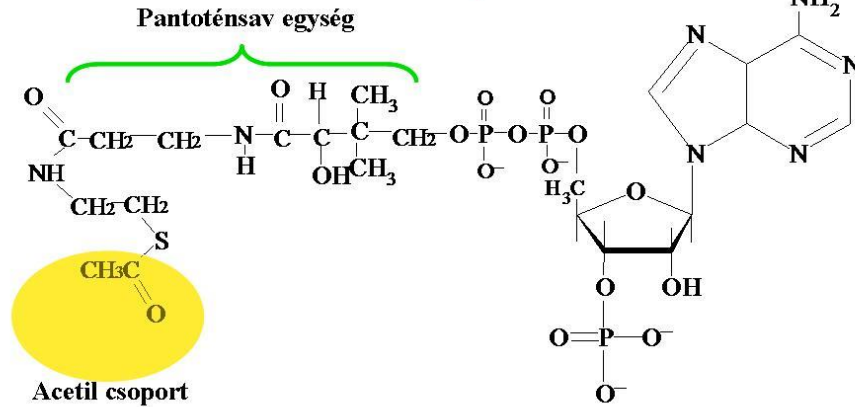




ATP



Foszforilált ribózt
tartalmazó ADP

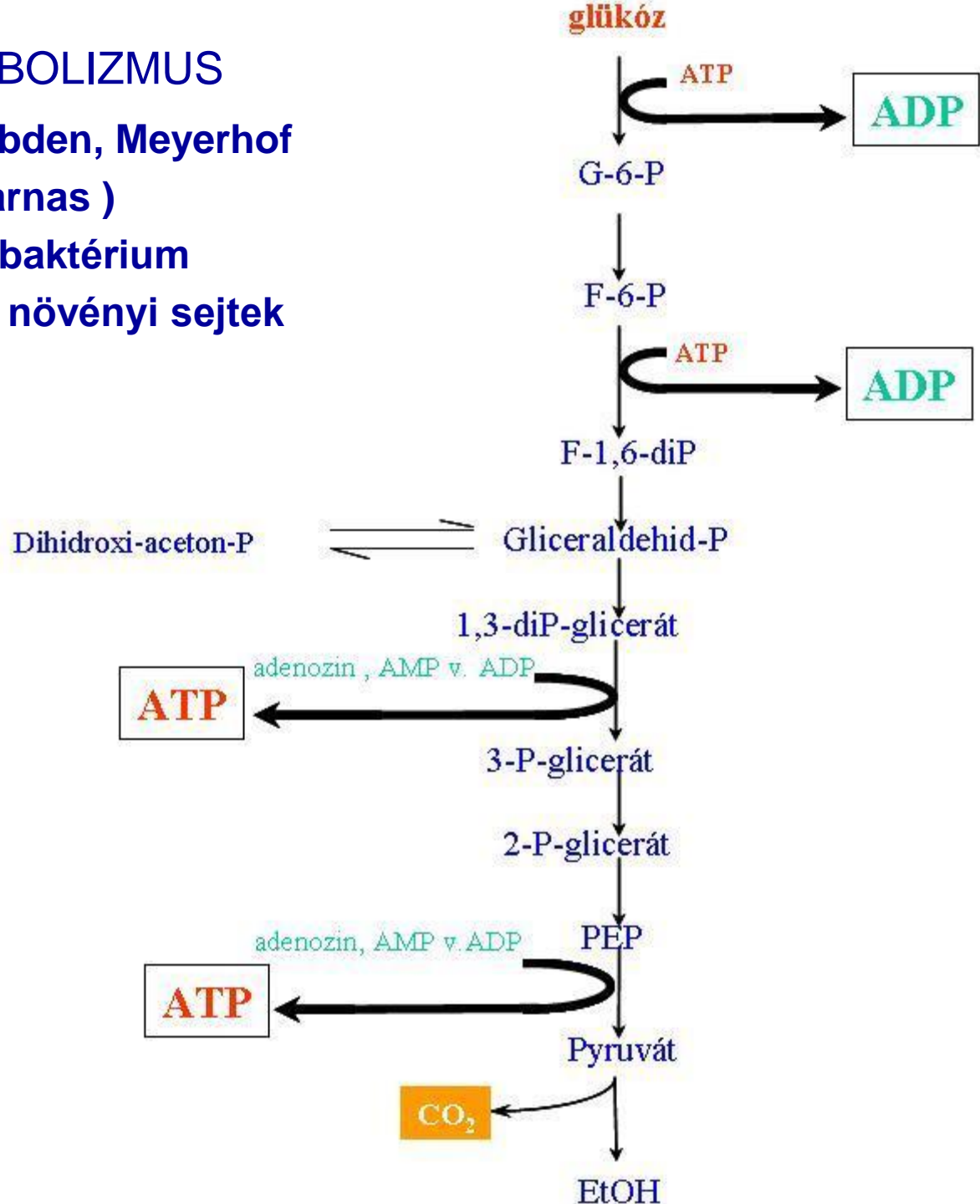


Acetil-CoA

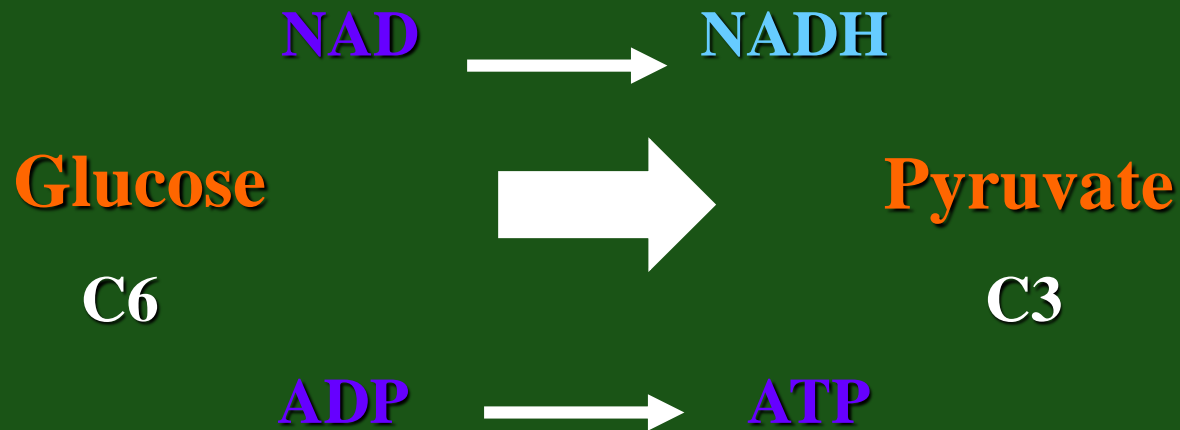
CUKOR KATABOLIZMUS

Glikolízis (Embden, Meyerhof Parnas)

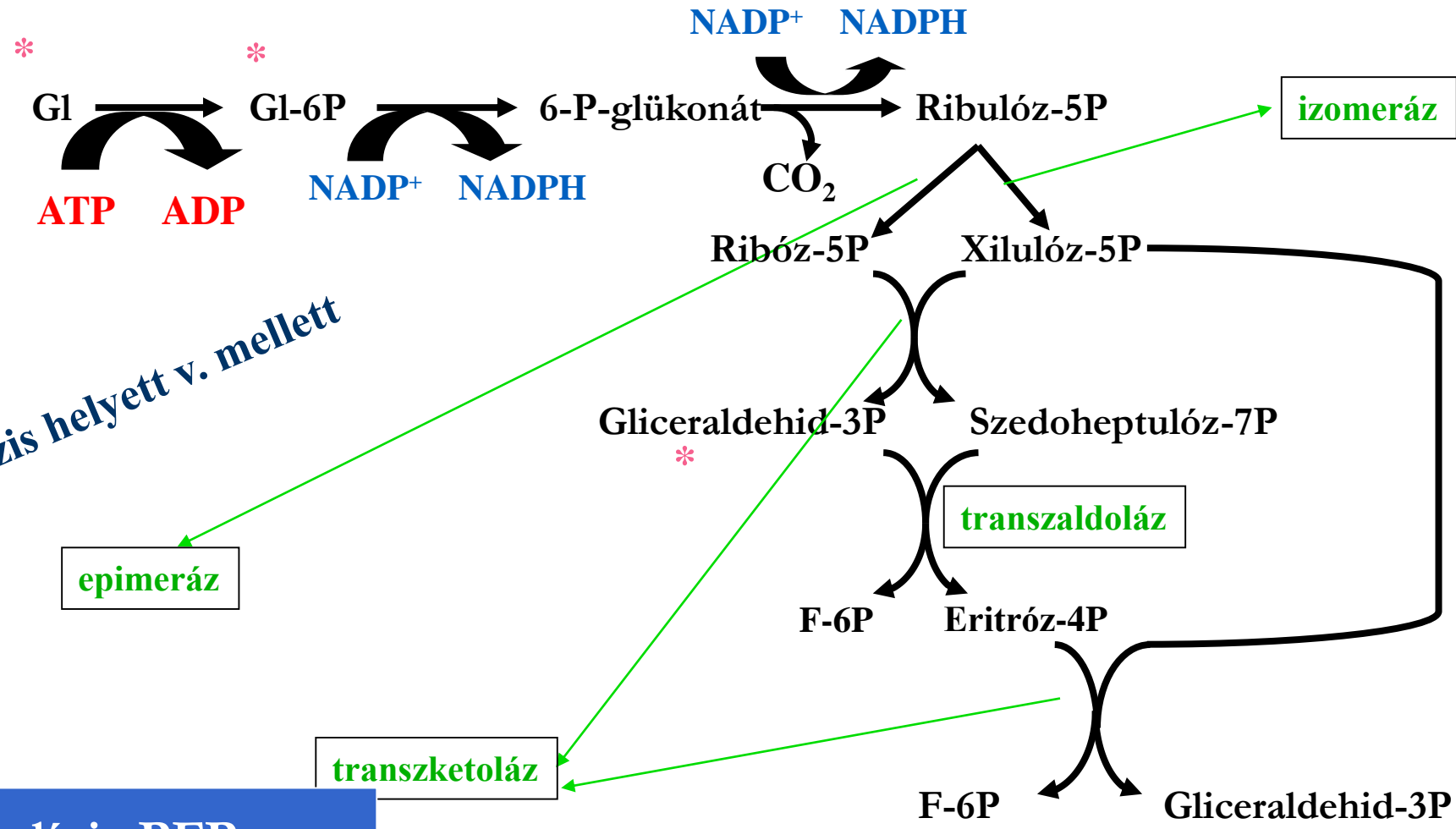
- legtöbb baktérium
- Állati és növényi sejtek



Glikolízis és alternatívái



Pentóz foszfát út (hexóz monofoszfát sönt) NADPH termelés (általános növ. és állati sejtekben)



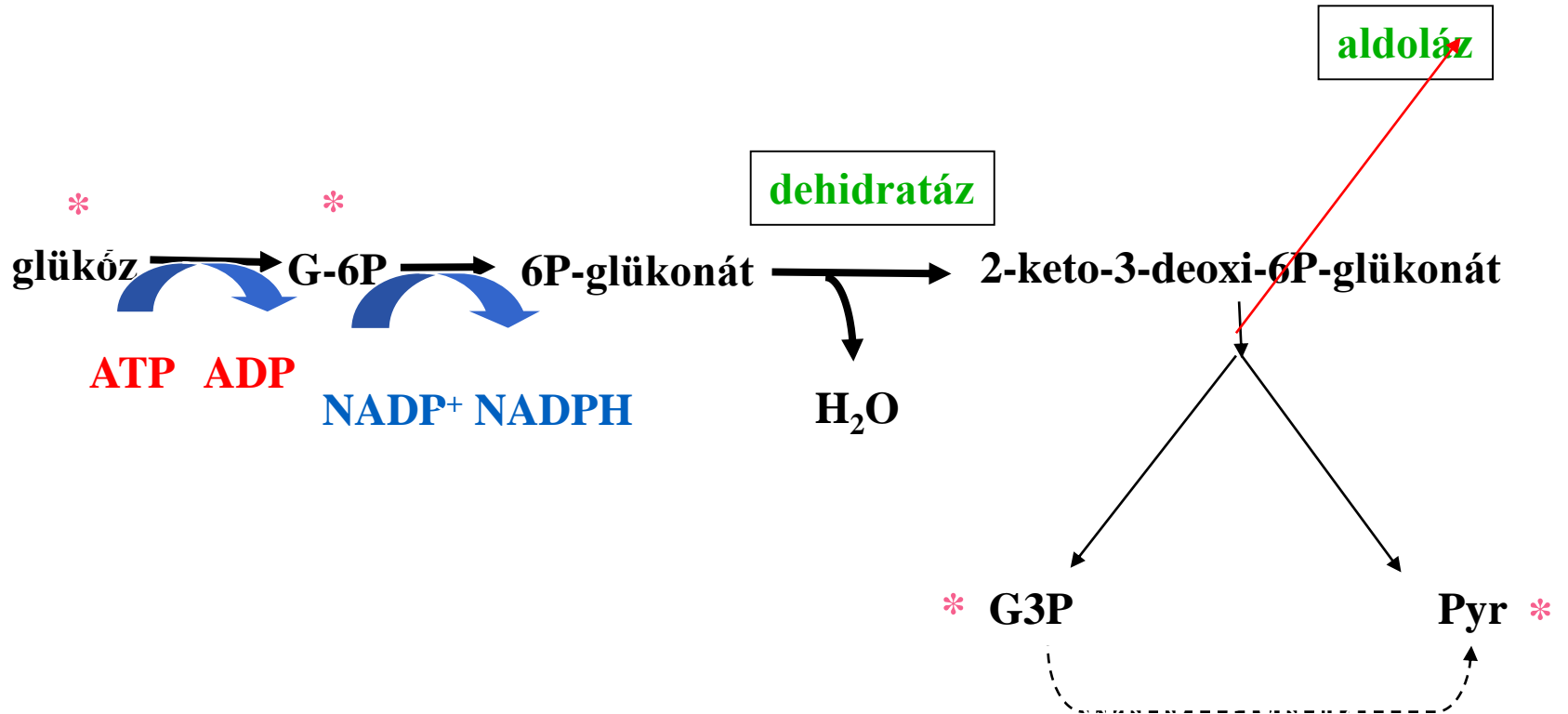
Glikolízis helyett v. mellett

Glikolízis:PFP=
 2:1 → 10,20:1
 Gyors → lassú növekedés

**kapcsolódás a glikolízishez*

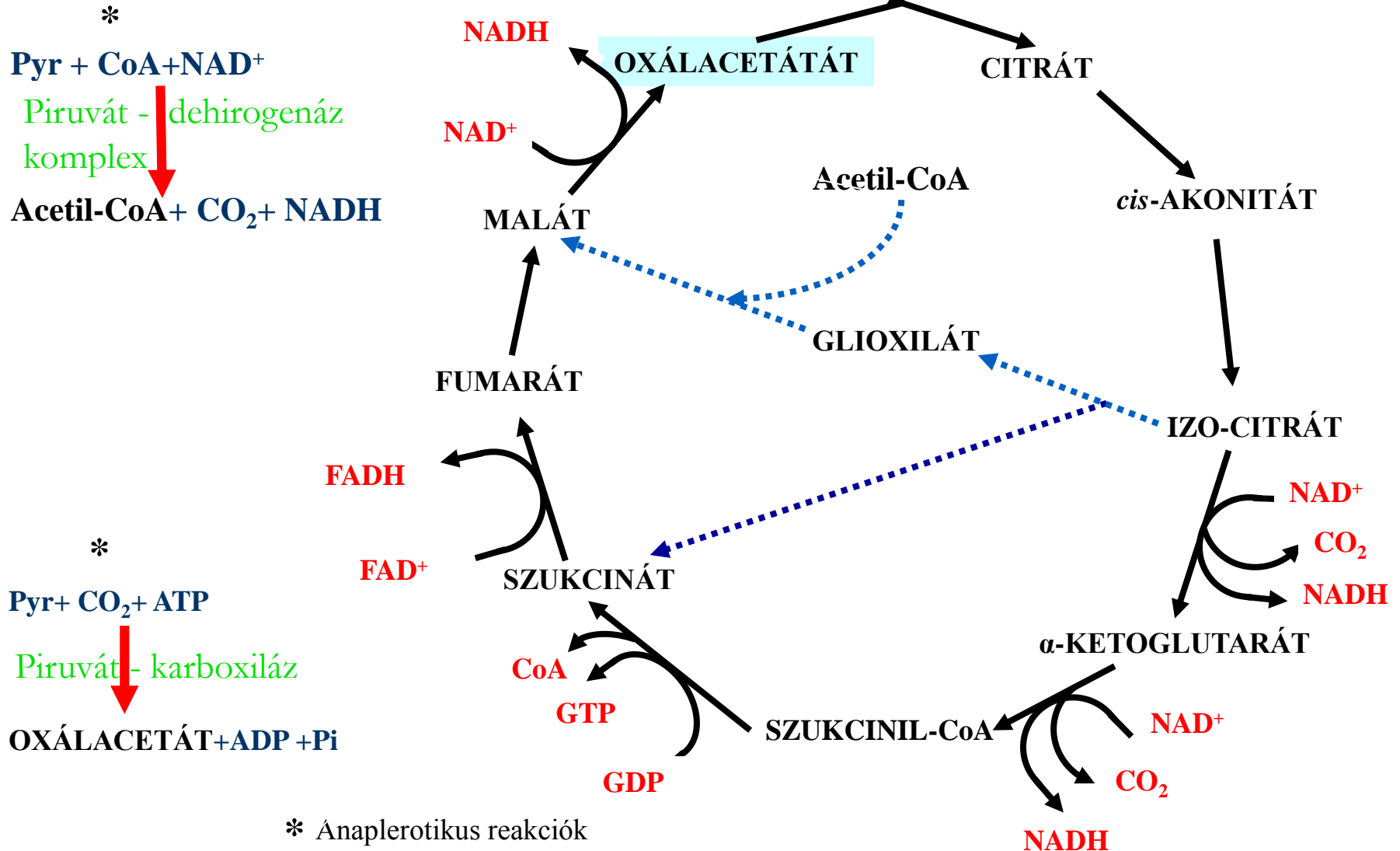
Néhány baktériumban -EMP helyett

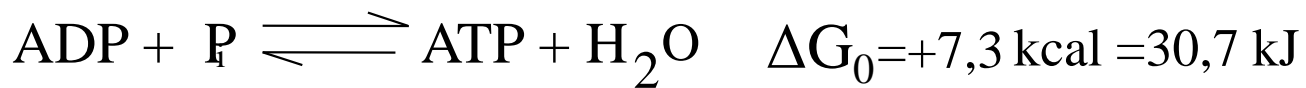
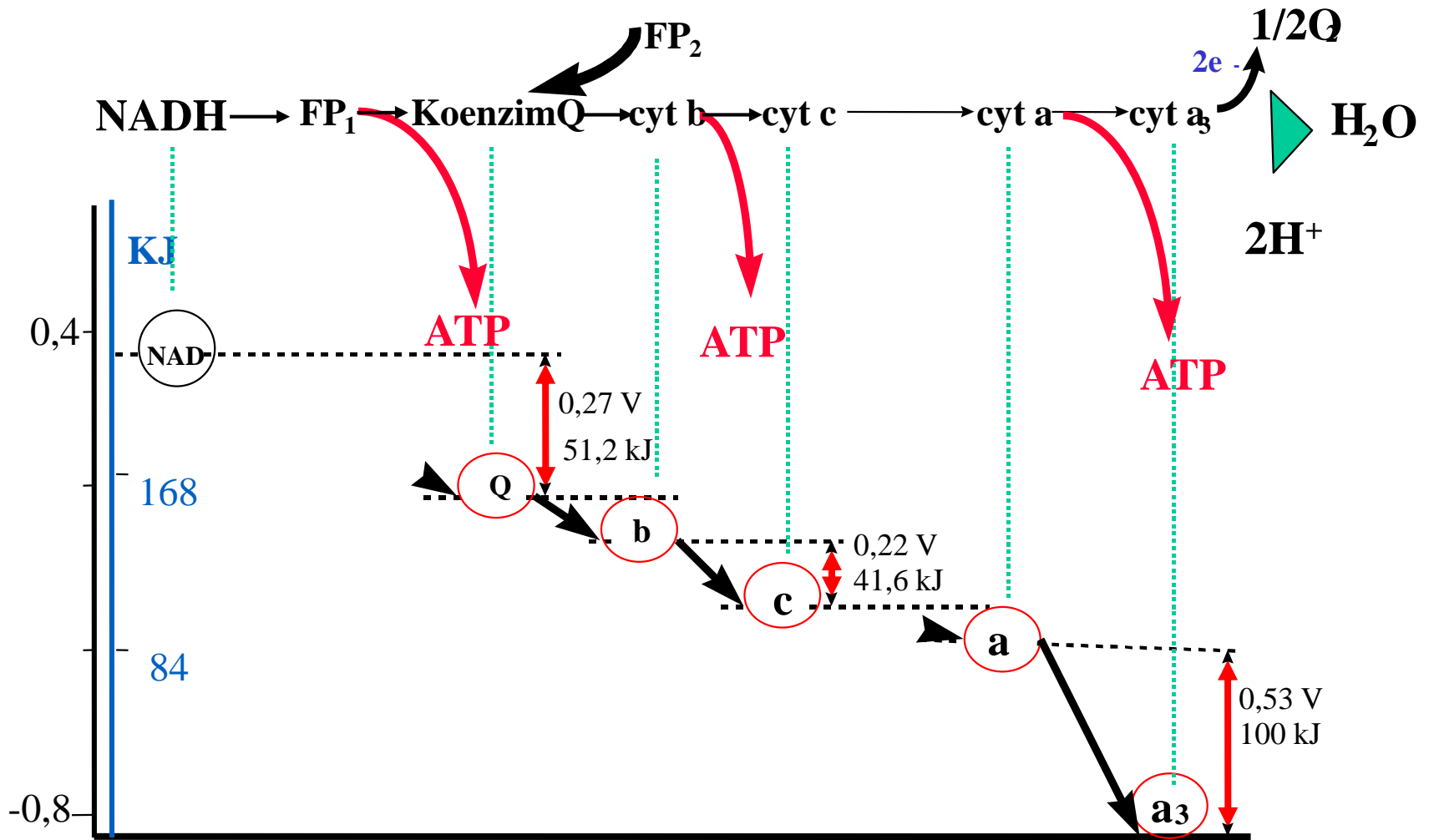
Entner Duodoroff út



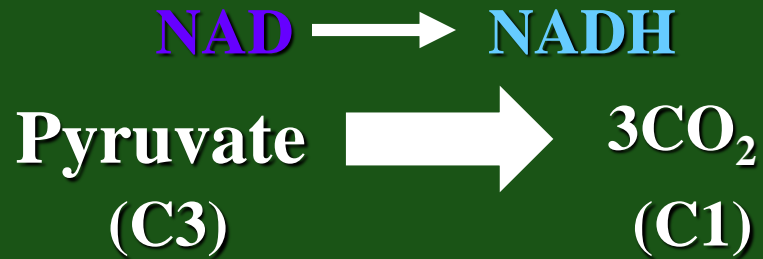
*kapcsolódás a glikolízishez

Citromsav ciklus Szentgyörgyi-Krebs ciklus

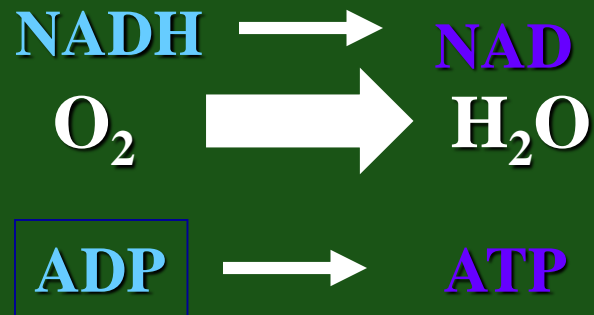


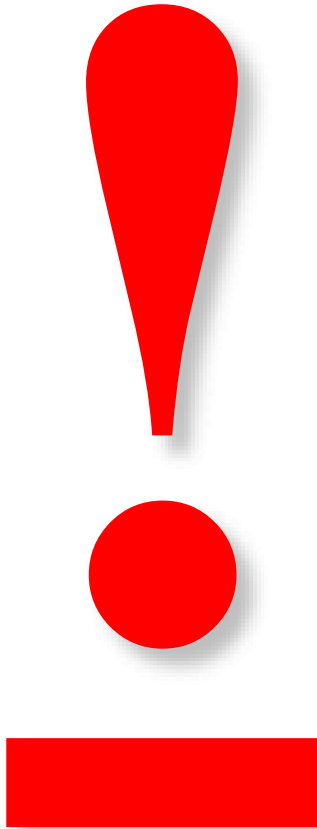


Krebs Cycle (C4-C6 intermediate compounds)

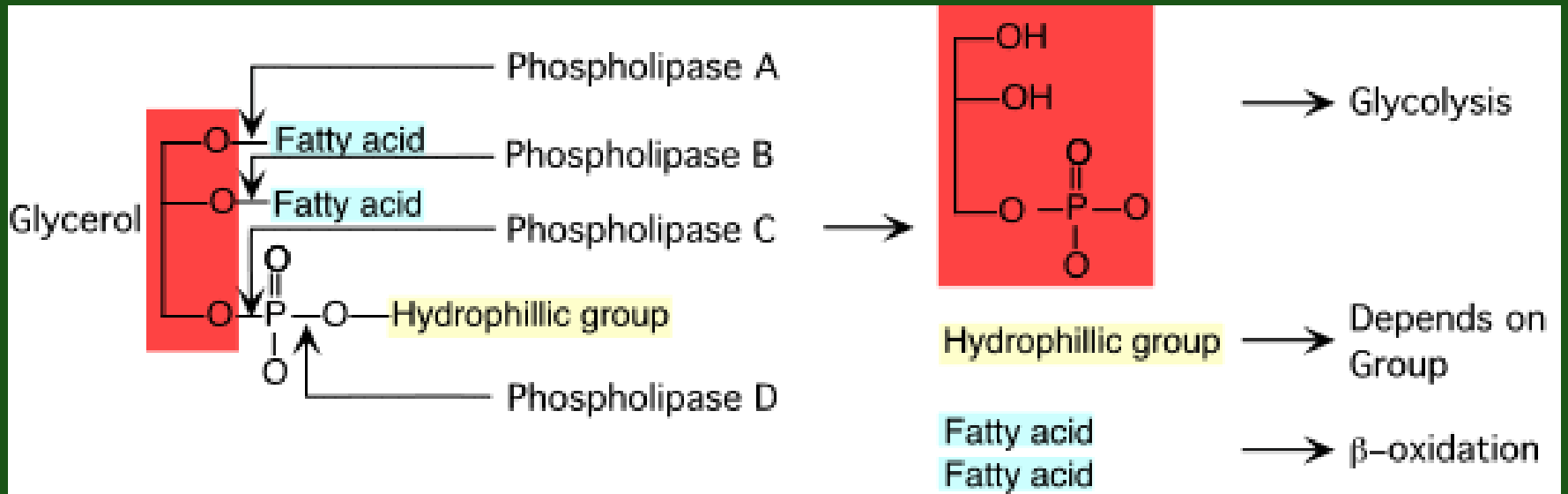


Oxidative phosphorylation

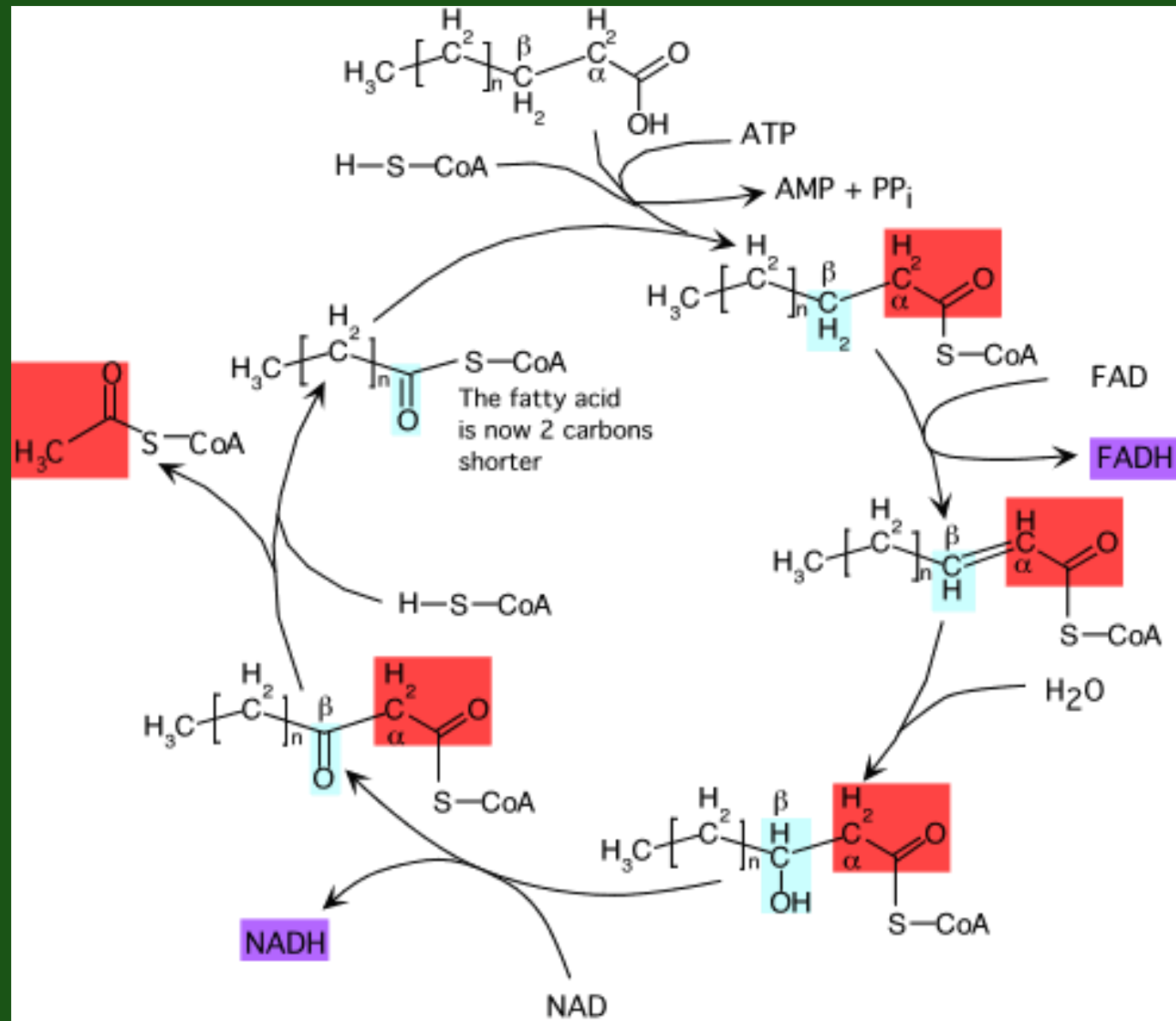




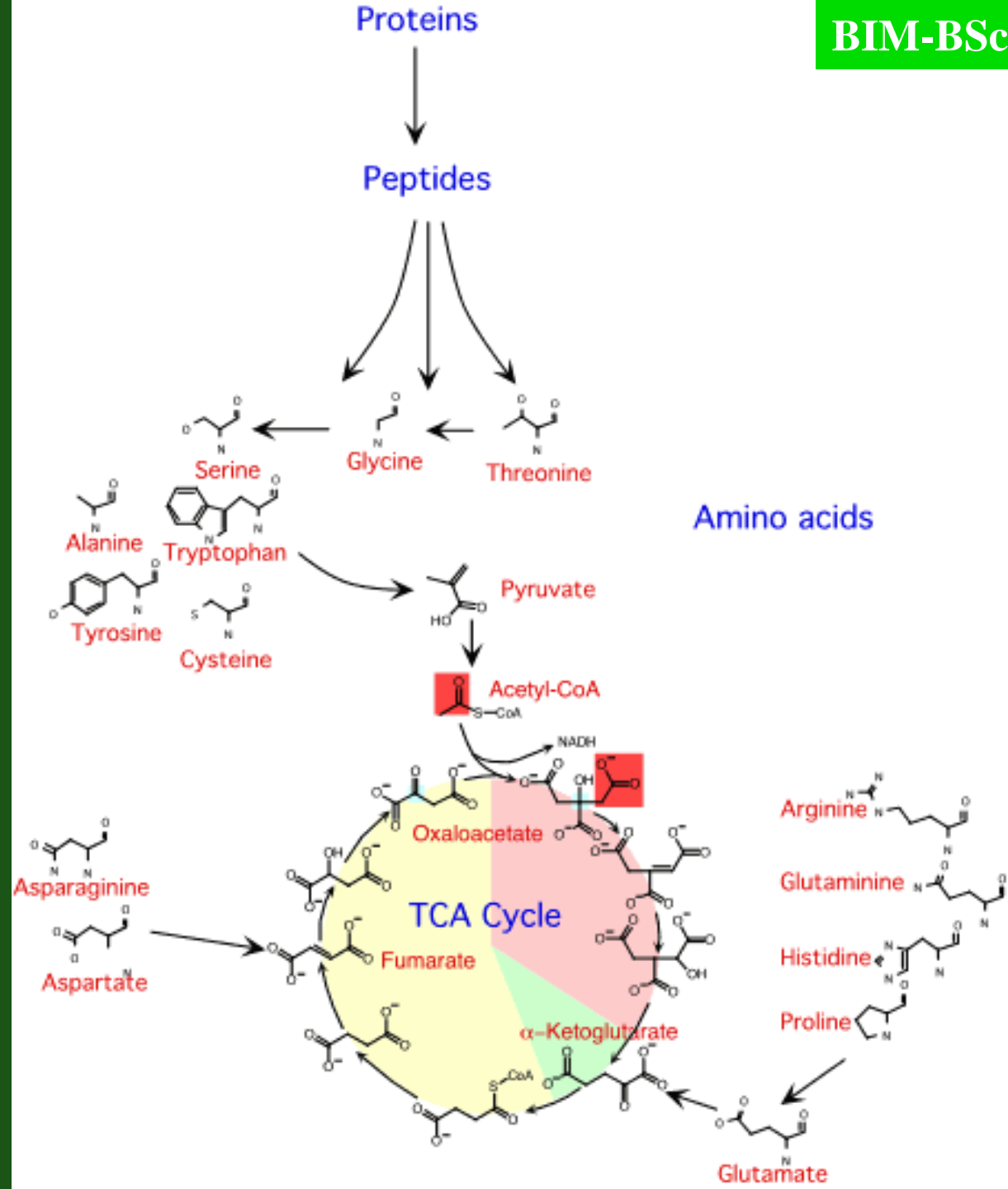
És ha nem cukor a C-forrás (pl. antibiotikum ferm., habgátló stb.)?



Zsírsvav lebontása
β-oxidáció



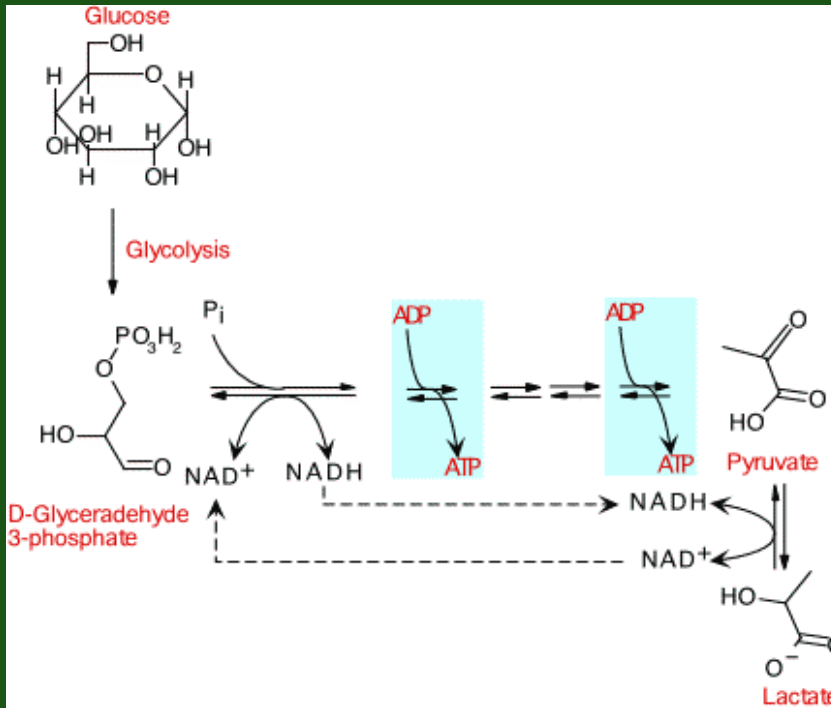
Aminosavak
mint C/energiaforrások



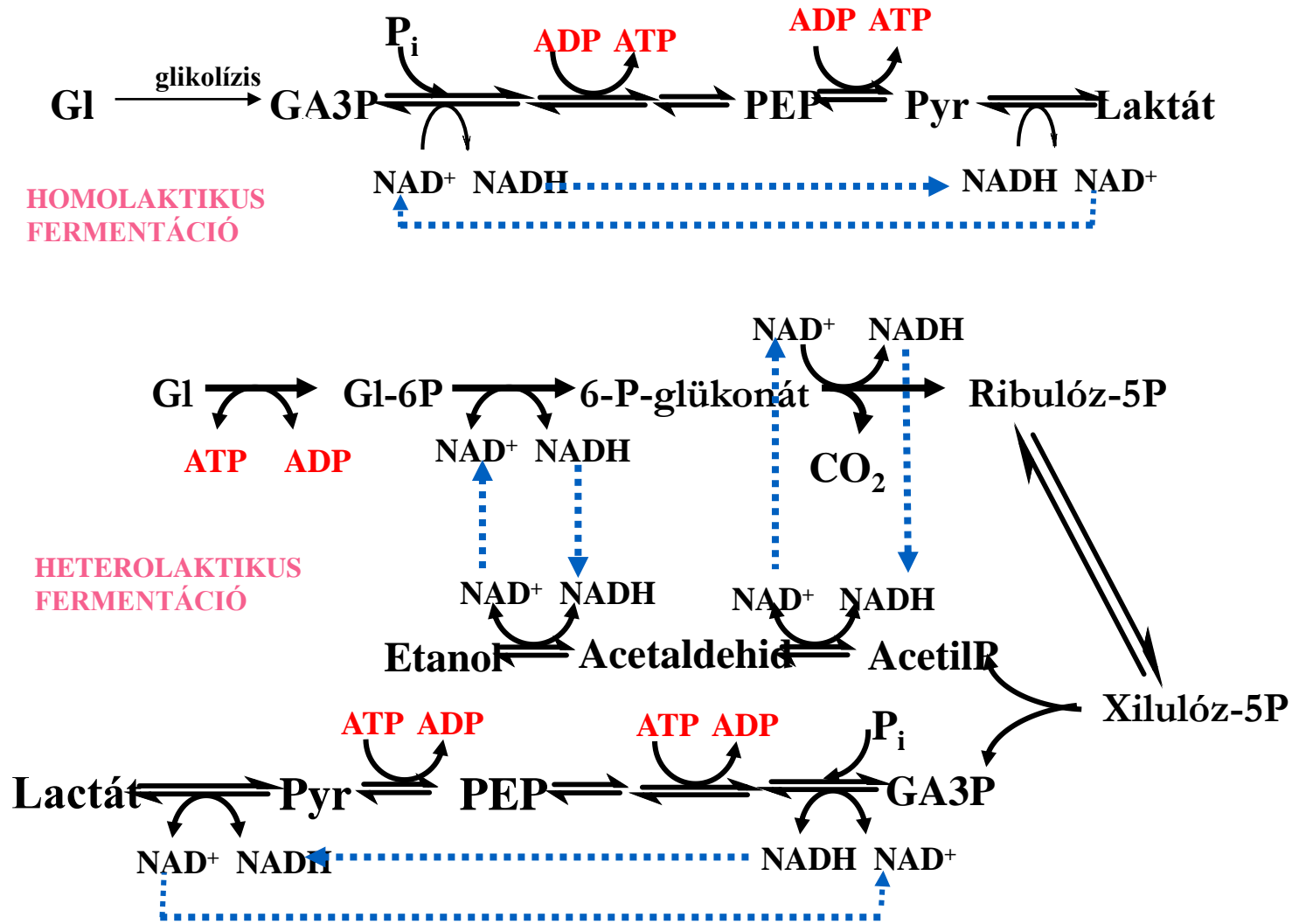
ANAEROB ANYAGCSERE

SZUBSZTRÁT SZINTŰ FOSZFORILEZÉS (GIKOLÍZIS, TCA)

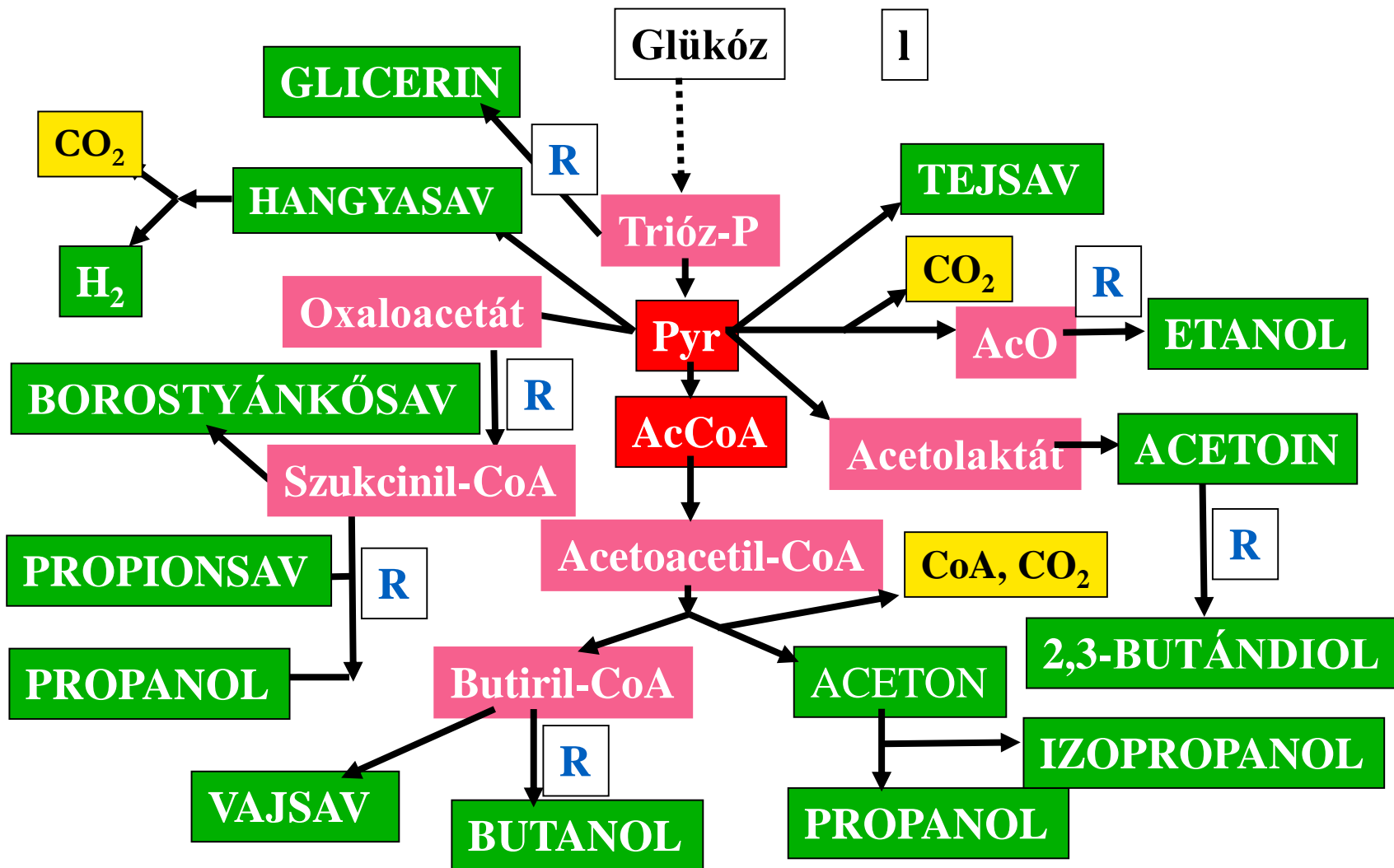
NEMCSAK MIKROBÁKBAN: TEJSAV (homolaktikus fermentáció)



egy sor anyagcseretermék: heterolaktikus fermentáció



1 egy sor anyagcsere termék: anaerob NADH regeneráló anyagcsere utak, végtermékek



BIOFINOMÍTÓK – Platform alkotók

R

NAD-regenerálás

Energiaforrás (redukáló=oxidáló vegyület)	Oxidáns (terminális elektron akceptor)	Respiráció termékei	Példa
*H ₂	SO ₄ ²⁻	H ₂ O+S ²⁻	<i>Desulfovibrio</i>
*Szerves vegyület	NO ³⁻	N ₂ +CO ₂	Denitrifikáló baktérium
S ²⁻ +	NO ₃ ⁻	N ₂ +elemi S	Thiomargarita

BIOSZINTÉZIS

Primer anyagcsere

TROPOFÁZIS

kiegyensúlyozott növekedés
balanced growth

Cél a
homeosztázis

Szekunder anyagcsere

IDIOFÁZIS

kiegyensúlyozatlan növ,
fenntartás: **folyik a primer
anyagcsere részben:**
m á s f e l é

Ac-CoA

Citrát, Itakonát

Zsírsavak (olajok, zsírok)

PHB

Poliketidek

x3

Mevalonsav(C6)

CO₂

Izoprén egységek (C5)

Kinonok

x2

C₁₀

terpének

C₁₅

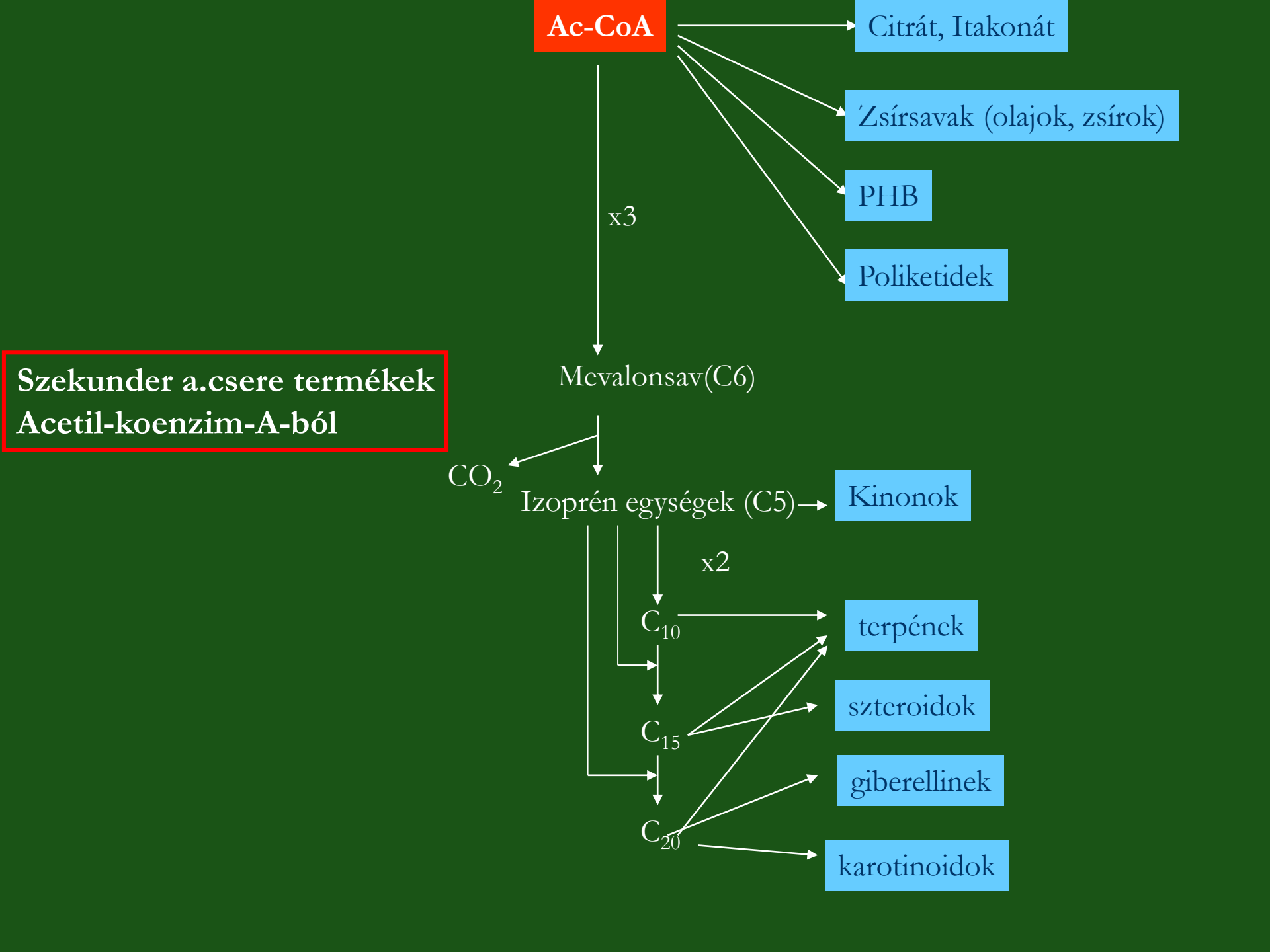
szteroidok

C₂₀

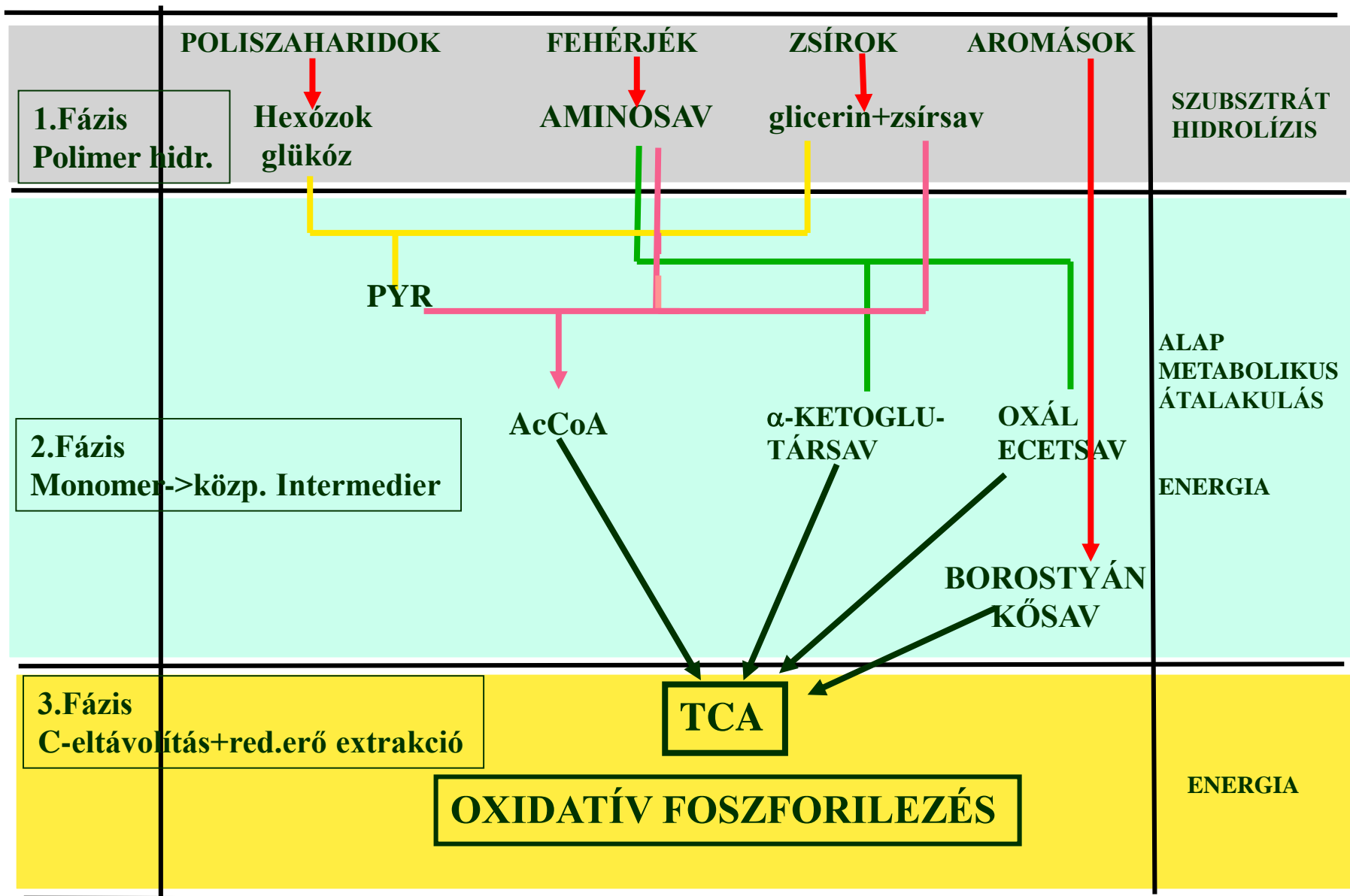
giberellinek

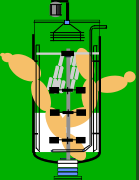
karotinoidok

Szekunder a.c.sere termékek
Acetil-koenzim-A-ból



Substrate haszosulás 3 fázisa:

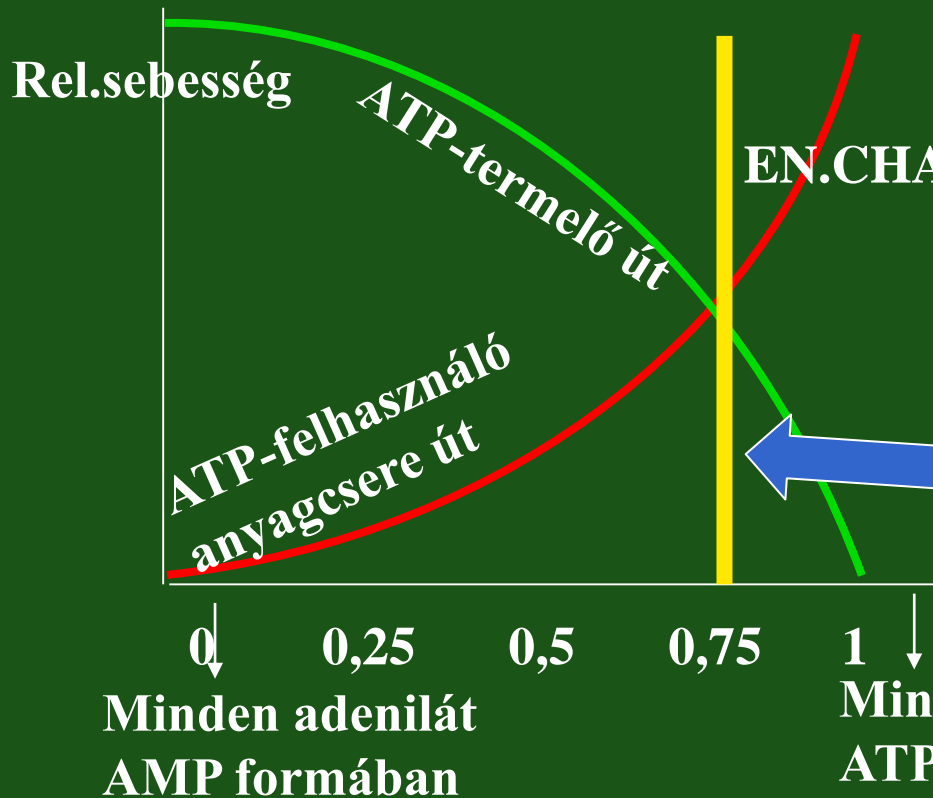




ENERGY CHARGE

ENERGIA-TÖLTÉS

Az energiaállapot indikátora
(Atkinson 1977)



$$\begin{aligned}
 \text{EN.CHARGE} &= \frac{\text{energiát hordozó Adenilátok}}{\text{összes Adenilát}} \\
 &= \frac{[ATP] + 1/2[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}
 \end{aligned}$$

Valós: 0,8-0,95

(Adenilát-kináz)
2ADP->ATP+AMP

Direktebb mértéke az ATP hozzáférésnek a

$$\text{foszforilezési potenciál} = \frac{[ATP]}{[ADP] [P_i]}$$

((350-400mg ATP/100g izom))

Redukáló erő - $\text{NAD(H)} \leftrightarrow \text{NADP(H)}$

Katabolikus reduktív töltés:

$$\text{Crc} = \frac{X_{\text{NADH}}}{X_{\text{NADH}} + X_{\text{NAD}^+}}$$

Anabolikus reduktív töltés:

$$\text{Arc} = \frac{X_{\text{NADPH}}}{X_{\text{NADPH}} + X_{\text{NADP}^+}}$$

Ezek is metab.
kvóciensek!
(de dimenz. Mentés)

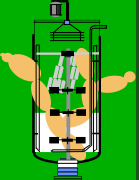
Növekvő sejtekben

Crc alacsony szintű

0,03-0,07

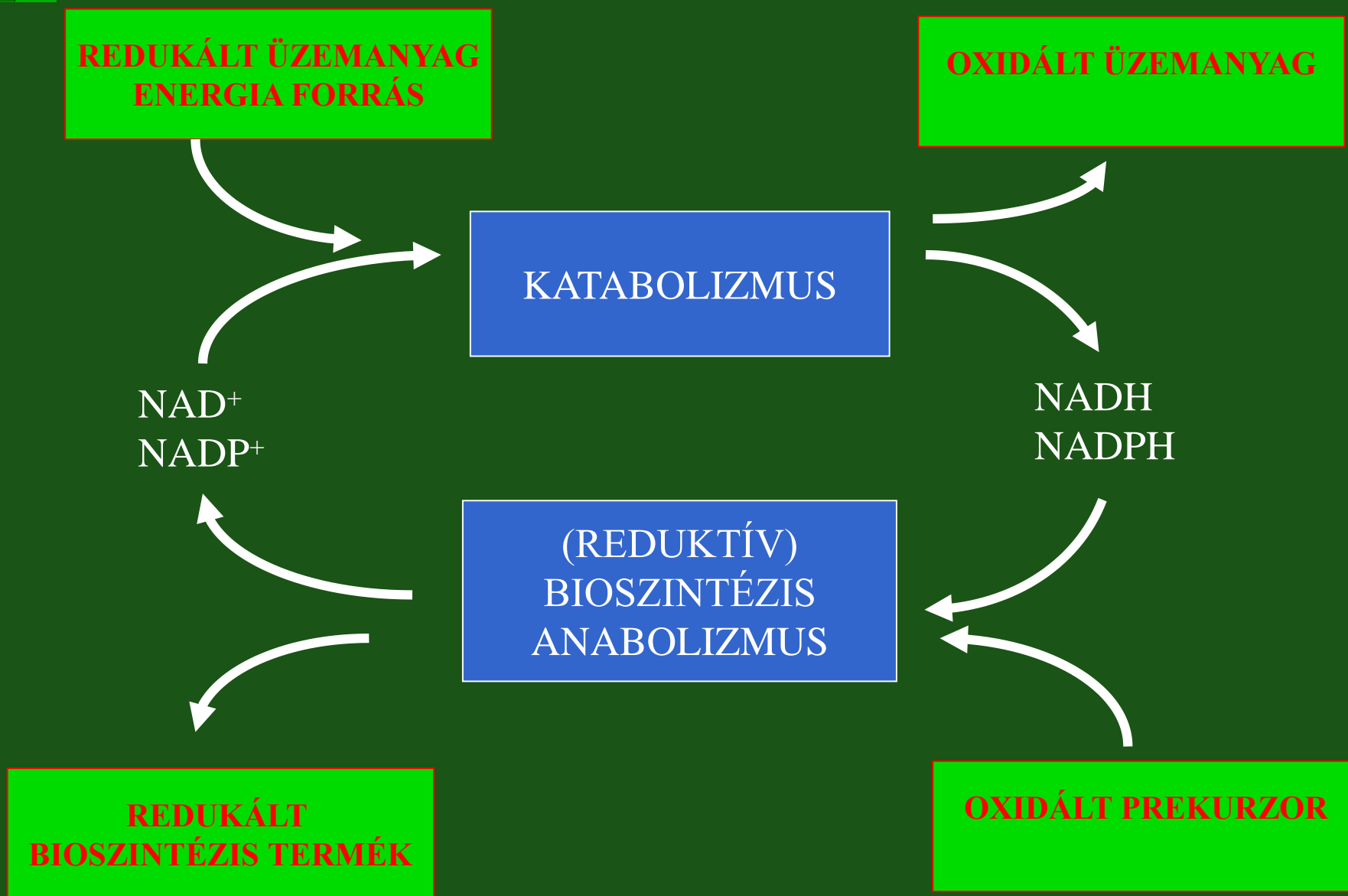
Arc magas

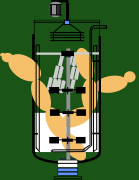
0,4-0,5



Fermentációs tápoldatok „REDUKÁLÓ ERŐ”

BIM2-BSc
2009



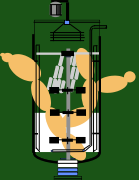


Átlagos baktérium és tápoldat

E l e m	% (száranyag tar- talomra vonatkozóan)		H o z a m (g sz.anyag/g elem)
	élesztő	baktérium	
Szén	47	53	*
Nitrogén	7,5	12	8-13
P (PO_4^{3-} -ben számolva)	1,5	3,0	33-66
S	1,0	1,0	100
O	30,0	20,0	*
Mg	0,5	0,5	200
H	6,5	7,0	**
hamu	8,0	7,0	**

A hamu elem tartalma:P, Mg, Cu,Co, Fe, Mn,Mo, Zn,Ca, K,Na

*részletesebben



szintetikus

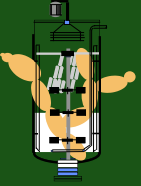
E táptalaj 30 g/dm^3 *Candida utilis* élesztő előállítására alkalmas szakaszos tenyészetben

		g/dm ³	Hozam
C-forrás :	metanol	60	0,5
	vagy etanol	40	0,75
	vagy glükóz	60	0,5*
	vagy hexadekán	30	1,0**
N-forrás:	(NH ₄) ₂ SO ₄	12	
P-forrás	KH ₂ PO ₄	1,3	
	MgSO ₄	1,5	

Elemnyomok: Cu, Co, Fe, Ca, Zn, Mo, Mn 10^{-4} mol/dm^3 mennyiségben.

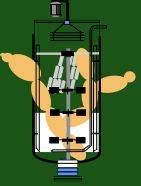
*jellemző érték szénhidrátokra (glükóz, keményítő, cellulóz stb.)

**jellemző érték telített szénhidrogénekre (n-paraffinok)



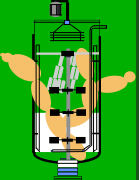
Félszintetikus tt. gomba eredetű proteáz termelésére

Kukoricakeményítő	C	30g/dm ³
Kukoricalekvár	C+N	5
Szójaliszt	N	10
Kazein	N	12
Zselatin	C	5
Szeszmoslék por	C+N	5
KH ₂ PO ₄	P	2,4
NaNO ₃		1
NH ₄ Cl		1
FeSO ₄		0,01



természetes alapú tt. baktériumok eltartására

húskivonat (BACTO BEEF EXTRACT)	10g/dm ³
pepton (BACTO PEPTONE)	10
élesztőkivonat (BACTO YEAST EXTRACT)	5
NaCl	1
agar	20



Ipari táptalajok Termelésre

C-forrás SZENHIDRÁTOK — glükóz ← HYDROL
— szacharóz ← MELASZ %
— malátakivonat
— keményítő, dextrin
— szulfitlúg (hexózok, pentózok)
! (— cellulóz)

NÖVÉNYI OLajok : szója, pálma, gyapok

ALKOHOLOK — MeOH
— EtOH ← CH

PARAFFINOK $C_{12}-C_{18}$ alkánok (60-as évek!)

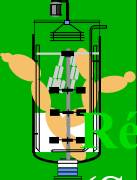
N-forrás SZERVETLEN — $(NH_4)_2SO_4$, $(NH_4)NO_3$, $(NH_4)_2CO_3$
— karbamid

TERMÉSZETES — szójaliszt
— kukoricalekvár %
— maláta
— buzásiker
— halliszt
— élesztőextrakt
— peptonok

OXIGÉN → igény → -átadás

NÖVEKEDÉSI FAKTOROK, VITAMINOK, BIOSZANYAGOK

EGYEDI TÁPOLDATOK → TÁPOLDAT OPTIMÁLÁS



Képacukor melasz összetétele és néhány jellemzője

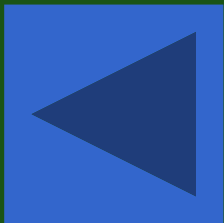
(Szolnoki Cukorgyár, 1993/94. évi kampány adatai)

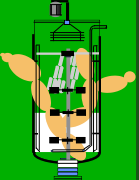
(***)

Szárazanyag tartalom	81 %	83,5
Hamu tartalom	11.9%	11,5
Viszkozitás	7644 cP	
pH	8.16	
Összes cukor tartalom (sz.a.-ra)	46.9%	51
invert cukor	0.9%	1
raffinóz	1.24%	1
Összes nem cukor szervesanyag		19
Összes N tartalom	2.3%	
asszimilálható N	0.87%	
NO3	0.62%	
Ecetsav	1.1%	
K tartalom	2.6%	
Na tartalom	0.7%	
Ca tartalom	0.7%	
Biotin*	<u>0.0584 mg/kg*</u>	<u>0,05mg/100g</u>
	<100	100

*élesztő igényli -> melasz alapú (BUSZESZ)

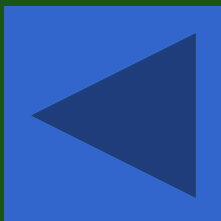
*** Vogel:Ferm.andBiochemEngHandbookí(1998),Noyes Publ.133 oldal,



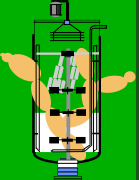
**A kukoricalekvár összetétele**

(DemainSolomon:Manual of Ind.Microbiology and Biotechnology,1986)

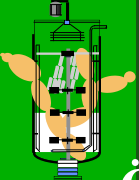
Száranyag tartalom	50%
Fehérjetartalom	24%
Szénhidrát	5.8%
Zsírok	1%
Rost tartalom	1%
Hamu tartalom	8.8%
Biotin	0.88 mg/kg
Piridoxin	19.36 mg/kg
Tiamin	0.88 mg/kg
Pantoténsav	74.8 mg/kg
riboflavin	5.5 mg/kg
Szabad aminosavak	4.9%
ezen belül	



arginin	0.4%	cisztin	0.5	glicin	1.1
Hisztidin	0.3	i-leucin	0.9	leucin	0.1
lizin	0.2	metionin	0.5	fenilalanin	0.3
tirozin	0.1	valin	0.5		

**MURASHIGE-SKOOG (1962) tápoldat növényi
sejtek szuszpenziós és kallusz kultúrájához**

Összetevő	mg/dm ³	Összetevő	mg/dm ³	
Ásványi anyagok		Szerves összetevők		
NH ₄ NO ₃	1650	Szaharóz	30.000	
KNO ₃	1900	Agar	10.000	
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	Glicin	2	
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	Indolecetsav	1-30	} Hormonok
KH ₂ PO ₄	170	Kinetin	0,04-10	
Na ₂ -EDTA	37,3	<i>myo</i> -inozit	1	} vitaminok
FeSO ₄ .7 H ₂ O	27,8	Nikotinsav.HCl	0,5	
H ₃ BO ₃	6,2	Piridoxin.HCl	0,5	
Mn SO ₄ .4H ₂ O	22,3	Tiamin.HCl	0,1	
Zn SO ₄ .4H ₂ O	8,6			
KI	0,83			
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25			
Cu SO ₄ .5H ₂ O	0.025			
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,025			



Fermentációs tápoldatok

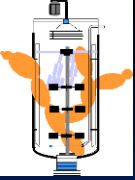
BIM-BSc

EAGLE tápoldat állati sejtek tenyésztésére

2009

ÖSSZETEVŐK	mg/dm³	ÖSSZETEVŐK	mg/dm³
L-aminosavak		Vitaminok	
arginin	105	kolin	1
cisztine	24	fólsav	1
glutamin	292	inozit	2
hisztidin	31	nikotinamid	1
izoleucin	52	pantoténsav	1
leucin	52	piridoxin	1
lizin	58	riboflavin	0,1
metionin	15	tiamin	1
fenilalanin	32	Ásványi sók	
treonin	48	NaCl	6.800
triptofán	10	KCl	400
tirozin	36	CaCl ₂	200
valin	46	MgCl ₂ .6H ₂ O	200
Szénhidrátok		NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	150
glükóz	1000	NaHCO ₃	2.000
Szérum	5-10%		

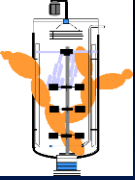
Kiváltása



TÁPOLDATOK, TÁPTALAJOK

HOZAMKIFEJEZÉS ÁLTALÁNOSÍTÁSA

$$\frac{dx}{dS_i} = \frac{\Delta x}{\Delta S} = \frac{\frac{dx}{dt}}{\frac{dS}{dt}} = \frac{\mu_x}{\mu_s} = \frac{\mu_x}{Q_s} - Y_{x/s_i} \quad \text{vagy} \quad = -Y_i$$



C-forrás és hasznosulás

Mire fordítódik a C-forrás?

beépülés energiatermelés

$$\Delta S = \Delta S_C + \Delta S_E$$

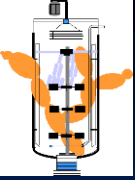
$$\frac{\Delta S}{\Delta X} = \frac{\Delta S_C}{\Delta X} + \frac{\Delta S_E}{\Delta X}$$

$$\frac{1}{Y_{x/s}} = \frac{1}{Y_C} + \frac{1}{Y_E}$$

Eredő hozam

szénhozam

energiahozam



A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009

Írjunk fel egy anyagmérleget a beépülő szénre

$$\alpha_2 \Delta X = \alpha_1 \Delta S_C$$

Sejttömeg C-tartalma

0,46-0,5 50%

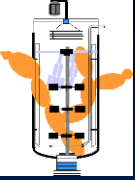
Szubsztrát C-tartalma

Glükóz:0,4

$$\frac{\Delta X}{\Delta S_c} = Y_C = \frac{\alpha_1}{\alpha_2}$$

$$Y_E = \frac{1}{\frac{1}{Y} - \frac{1}{Y_C}} = \frac{Y Y_C}{Y_C - Y}$$

$$Y_E = \frac{Y \cdot \frac{\alpha_1}{\alpha_2}}{\frac{\alpha_1}{\alpha_2} - Y} = \frac{Y \cdot \alpha_1}{\alpha_1 - Y \cdot \alpha_2}$$



Némely esetben a termék mennyiségéből becsülhető Y_E értéke

EtOH

élesztő, cukor

AcOH

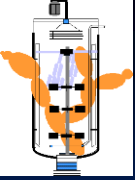
A.aceti, alkohol

NADH !!!

Glükonsav

A.suboxydans, glükóz

Törzs	Táptalaj	Asszimilált szubsztrát %	Disszimilált hányad %
<i>Streptococcus faecalis</i> anaerob tenyészet	komplett	2	98
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> anaerob tenyészet	komplett	2	98
aerob tenyészet		10	90
<i>Aerobacter cloaceae</i>	minimál	55	45



$$\Delta S = \Delta S_c + \Delta S_E$$



?

NÖVEKEDÉS

FENNTARTÁS -maintenance

SEJTMOZGÁS

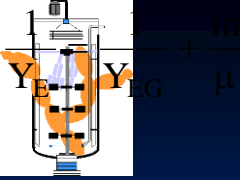
OZMOTIKUS MUNKA

RENDEZETTSÉG FENNTARTÁSA

II.főtétel

reszintézis

$$Y_E = \frac{\Delta x}{\Delta S_E} = \frac{\Delta x}{\Delta S_g + \Delta S_m}$$



A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} \frac{dx}{dt} = -\frac{\mu x}{Y}$$

Bármely szubsz.ra!!!

$$\left(\frac{dS}{dt}\right)_E = \frac{\mu x}{Y_E} = \frac{dS_g}{dt} + \frac{dS_m}{dt}$$

$$\frac{dS_g}{dt} = -\frac{\mu x}{Y_{EG}}$$

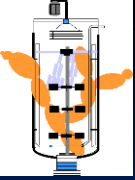
$$\frac{dS_m}{dt} = -m x$$

Csak modell!

$$\frac{\mu x}{Y_E} = \frac{\mu x}{Y_{EG}} + m x$$

$$\frac{1}{Y_E} = \frac{1}{Y_{EG}} + \frac{m}{\mu}$$

≠ konst .



$$\frac{1}{Y_E} = \frac{1}{Y_{EG}} + \frac{m}{\mu}$$

Fajlagos maintenance
Koefficiens

$$g/gh = h^{-1}$$

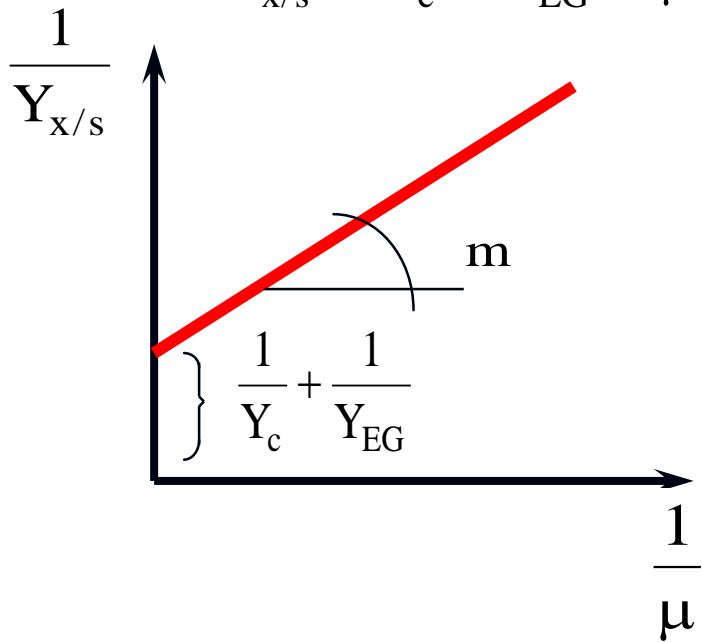
Eredő hozamra:

$$\frac{1}{Y_{x/s}} = \frac{1}{Y_c} + \frac{1}{Y_{EG}} + \frac{m}{\mu}$$

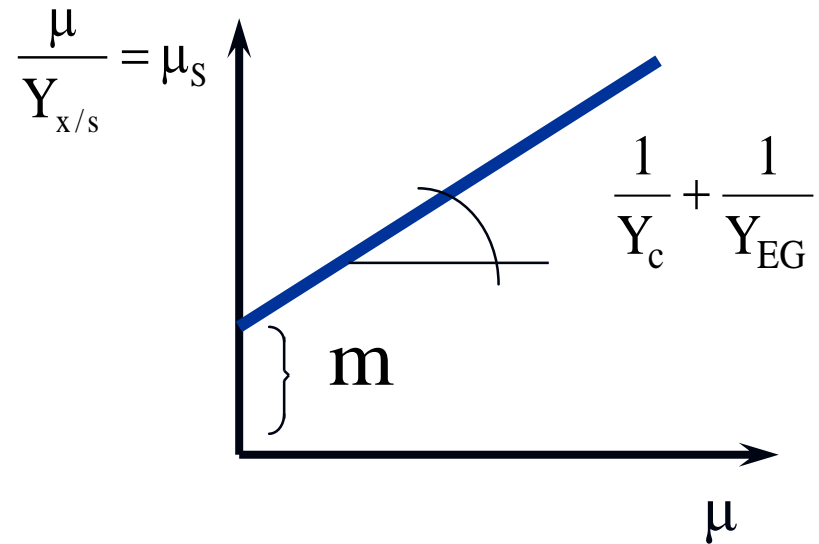
Hipotetikus
maximum

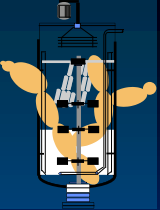
Két grafikus ábrázolási módszer

$$\frac{1}{Y_{x/s}} = \frac{1}{Y_c} + \frac{1}{Y_{EG}} + \frac{m}{\mu}$$



$$\mu_s = \left(\frac{1}{Y_c} + \frac{1}{Y_{EG}} \right) \mu + m$$





EREDETILEG ÁLLANDÓ Y „hozamkonstans”, de...

$$\frac{1}{Y_{x/s}} = \frac{1}{Y_C} + \frac{1}{Y_{EG}} + \frac{m}{\mu_x}$$

Ha van extracell. Termék képzés is, teljes derivált:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{\partial S}{\partial x} \frac{dx}{dt} + \sum_i \frac{\partial S}{\partial P_i} \frac{dP_i}{dt}$$

$$\frac{1}{Y_{P/S_i}} = - \frac{\partial S}{\partial P_i}$$

Sankey diagram:

SZUBSZTRÁT

TELJES FELVETT SZÉN

TERMÉK
C

Aanyagcsere során
Felszabadult CO₂

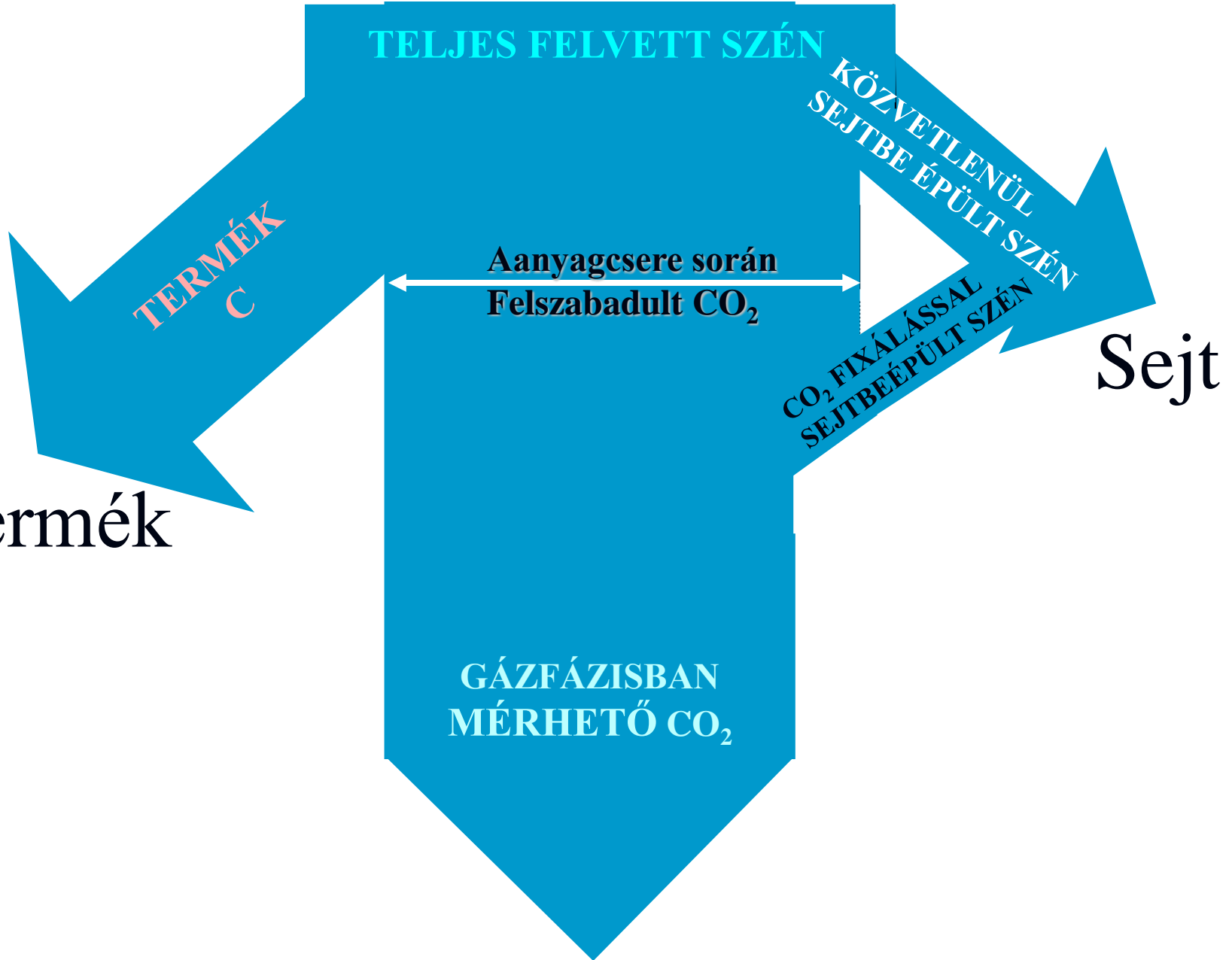
KÖZVETLENÜL
SEJTBE ÉPÜLT SZÉN

CO₂ FIXÁLÁSSAL
SEJTBEÉPÜLT SZÉN

Sejt

Termék

GÁZFÁZISBAN
MÉRHETŐ CO₂



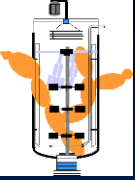
$$\frac{1}{Y_N} = \frac{1}{Y_{N,be}} \left(+ \frac{1}{Y_{NG}} + \frac{mN}{\mu_x} \right)$$

$$\frac{1}{Y_O} = \left(\frac{1}{Y_{O,be}} \right) + \frac{1}{Y_{OG}} + \frac{mO}{\mu_x}$$

$$\frac{1}{Y_P} = \frac{1}{Y_{P,be}} \quad (ADP / ATP = \text{beépültben})$$

kivéve PhosporAccumOrga,

polifoszfát raktár (int rac), ebbőlE nyerés



A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009

ATP-hozam

$$Y_{\text{ATP}} = \frac{\Delta x}{\Delta \text{ATP}} = \frac{Y'_{x/s}}{Y_{\text{ATP}/s}}$$

g/mol

g/mol

mol/mol

$$Y'_{x/s} = M Y_{x/s}$$

10,5 g/mol
(8,3-32)

$$\Delta \text{ATP} = (\Delta \text{ATP})_g + (\Delta \text{ATP})_m$$

$$\frac{1}{Y_{\text{ATP}}} = \frac{1}{Y_{\text{ATP}}^{\text{max}}} + \frac{m_{\text{ATP}}}{\mu}$$

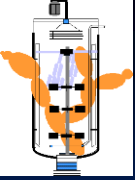
$$Q_{\text{ATP}} = \frac{\mu}{Y_{\text{ATP}}} = \frac{\mu}{Y_{\text{ATP}}^{\text{max}}} + m_{\text{ATP}}$$

tenyésztési
körülmények

fajlagos maintenance
koefficiensek

		m	m _{ATP}
<i>Aerobacter cloaceae</i>	aerob, glükóz	0,094	14
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	anaerob glükóz	0,036	0,52
	+ 0,1 mol/dm ³ NaCl		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	anaerob, glükóz	0,360	2,2
	+1,0 mol/dm ³ NaCl		
<i>Penicillium chrysogenum</i>	aerob	0,022	3,2
<i>Lactobacillus casei</i>	aerob, glükóz	0,135	1,5

Metab.
Kvóc. (1/h)



$$\frac{P}{O}$$

Oxidatív foszforilezés hatékonysága

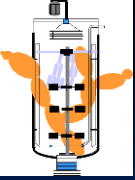
mol/gatom

„P/O hányados”

3/1=3



$$Y_{\frac{p}{s}} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad Y_{\frac{p}{x}} = \frac{\Delta P}{\Delta X}$$



METABOLIKUS
HŐTERMELÉS

$$Y_H = Y_{\text{kcal}} = \frac{\Delta X}{-\Delta H_x \cdot \Delta X + \Delta H_s \cdot \Delta S} = \frac{\Delta X}{\Delta Q}$$



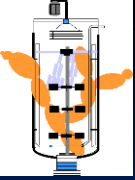
SEJTTÖMEG ÉGÉSHŐ SZUBSZTR.ÉGÉSHŐ

HŐ(TERMELÉSI)HOZAM

$$Y_H = Y_{\text{kcal}} \frac{\frac{\Delta X}{\Delta S}}{-\frac{\Delta X}{\Delta S} \Delta H_x + \Delta H_s \frac{\Delta S}{\Delta S}} = \frac{Y_{X/S}}{\Delta H_s - Y_{X/S} \Delta H_x}$$

csak ha nincs extracelluláris metabolit termelés

ha van....



RQ respirációs hányados

$$\frac{\Delta\text{CO}_2}{\Delta\text{O}_2} = \frac{\frac{d\text{CO}_2}{dt}}{\frac{d\text{O}_2}{dt}} = \frac{q_{\text{CO}_2}}{q_{\text{O}_2}}$$



$$\text{RQ}_{\max} = 1$$



$$\text{RQ}_{\max} = 4/6 = 0,67$$



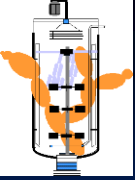
$$\text{RQ}_{\max} = \infty$$



$$\text{RQ}_{\max} = 2/3 = 0,67$$



$$\text{RQ}_{\max} = 2 / \frac{1}{2} = 4$$



PÉLDA (116)

Becsüljük meg, hogy mekkora a P/O hányados egy *Aerobacter aerogenes* folytonos tenyésztése során, ha szintetikus, glükóz alapú tápoldatot használunk.

Méréseket végeztünk a mikroba aerob és anaerob tenyésztése során. A mikroba anaerob körülmények között ecetsavat termel. EREDMÉNYEK:

ANAEROB tenyésztés: $\mu=0,4 \text{ h}^{-1}$.

Fajlagos glükóz fogyási sebesség $\mu_S=0,0154 \text{ mol/g.h}$

Fajlagos acetát képződési sebesség $\mu_A=0,0102 \text{ mol/g.h}$

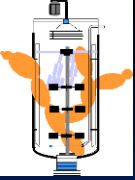
Eredő hozam $Y_{X/S}=0,144\text{g/g}$.

AEROB tenyésztés: $\mu=0,4 \text{ h}^{-1}$.

$\mu_S=0,0062 \text{ mol/g.h}$

Eredő hozam $Y_{X/S}=0,36\text{g/g}$.

Fajlagos légzési sebesség $\mu_{O_2}=0,01078 \text{ mol/g.h}$



A glükóz anyagcseréje során hol és mennyi ATP képződik?

Anaerob esetben „szubsztrátszintű” foszforilezés folyamataiban:

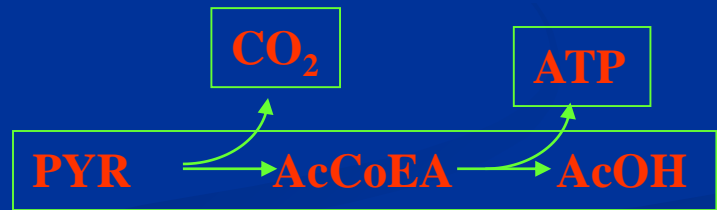
1 mol glükózból 2 mol ATP glikolízis

1 mol az acetátképződés során

Aerob esetben : + oxidatív foszforilezés ATP termelése

(de nincs ecetsav termelés).

Ismernünk kell az $Y_{ATP/S}$ értékét



Minimál (szintetikus) tápoldaton

$$\Delta S = \Delta S_c + \Delta S_E$$

$$\mu_S = (\mu_S)_{\text{beépülés}} + (\mu_S)_{\text{energiatermelés}}$$

$(\mu_S)_{\text{beépülés}}$ könnyen számítható a C-re felírt anyagmérlegből:

$$\alpha_1 (\mu_S)_{\text{beépülés}} = \alpha_2 \mu$$

$\alpha_1 = 72 \text{ g}/180 \text{ g} = 0,4$ glükóz C-tartalma

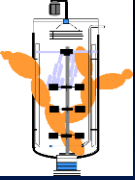
$\alpha_2 = 0,5$ a mikroba szárazanyag tartalma.

(becslésből, mert nincs rá adat megadva)

$$\mu_S = \mu / Y_{X/S}$$

$$\mu = \mu_S Y_{X/S}$$

$$(\mu_S)_{\text{beépülés}} = (\alpha_2 / \alpha_1) \mu$$



A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009

$$\mu_S = \mu / Y_{X/S} \quad (\mu_S)_{\text{beépülés}} = (\alpha_2 / \alpha_1) \mu \quad \leftarrow \quad \mu = \mu_S Y_{X/S}$$

$$(\mu_S)_{\text{beépülés}} = \frac{\alpha_2}{\alpha_1} \mu_S Y_{X/S}$$

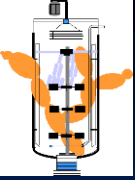
$$\begin{aligned} (\mu_S)_{\text{energiatermelés}} &= \mu_S - \frac{\alpha_2}{\alpha_1} \mu_S Y_{X/S} = \mu_S \left(1 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1} Y_{X/S}\right) = \\ &= 0,0154 \left(1 - \frac{0,4}{0,5} 0,144\right) = 0,0136 \text{ mol / g / h} \end{aligned}$$

glikolízis

AcOH

$$\mu_{\text{ATP}} = (\mu_S)_{\text{energiatermelés}} \cdot 2 + Q_A \cdot 1 = 0,0374 \text{ mol/g/h}$$

$$Y_{\text{ATP}} = \mu / \mu_{\text{ATP}} = 10,69 \text{ g/mol.}$$



A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009

Aerob esetben

0,5mol O

$$\mu_{\text{ATP}} = 2\mu_{\text{S}} \left(1 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1} Y_{\text{X/S}} \right) + 2 \frac{P}{O} \mu_{\text{O}_2}$$

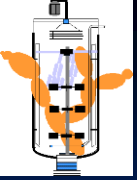
Ua!!!
Aerob=
anaerob

$$\mu_{\text{ATP}} = \mu / Y_{\text{ATP}}$$



$$\frac{P}{O} = \frac{\mu - 2\mu_{\text{S}} \left(1 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1} Y_{\text{X/S}} \right) Y_{\text{ATP}}}{2Y_{\text{ATP}}\mu_{\text{O}_2}} = 1,33$$

mol ATP/gatom O₂



A mikrobaszaporodás alapösszefüggései

BIM-BSc
2009