

4. Βιοαντιδραστήρες

❑ **Βιοαντιδραστήρας** είναι ο αντιδραστήρας που διατηρεί και υποστηρίζει τη ζωή των κυττάρων και των καλλιεργειών τους.

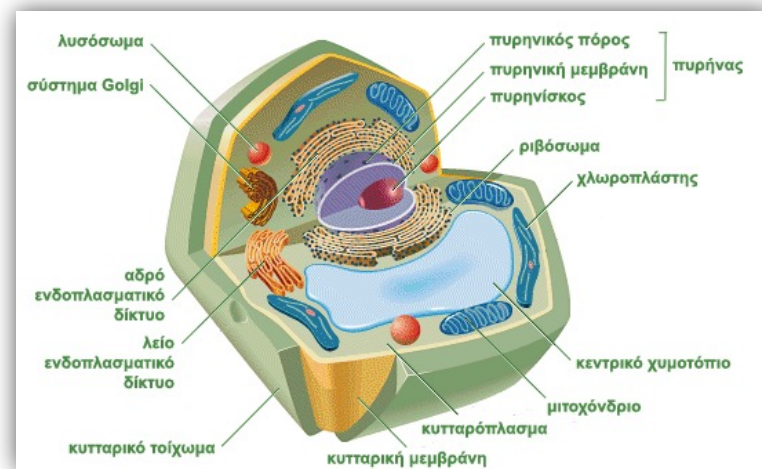
❑ Όλες οι κυτταρικές αντιδράσεις που είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της ζωής, χρησιμοποιούν **ένζυμα**, αφού αυτά καταλύουν τα στάδια του μεταβολισμού των κυττάρων, όπως η μετατροπή της χημικής ενέργειας, ο σχηματισμός, η διάσπαση και η χώνευση των κυτταρικών συστατικών.

❑ Η εξίσωση **Monod**, η οποία περιγράφει τον νόμο ανάπτυξης για ορισμένο αριθμό βακτηρίων, είναι παρόμοια με την εξίσωση Michaelis-Menten.

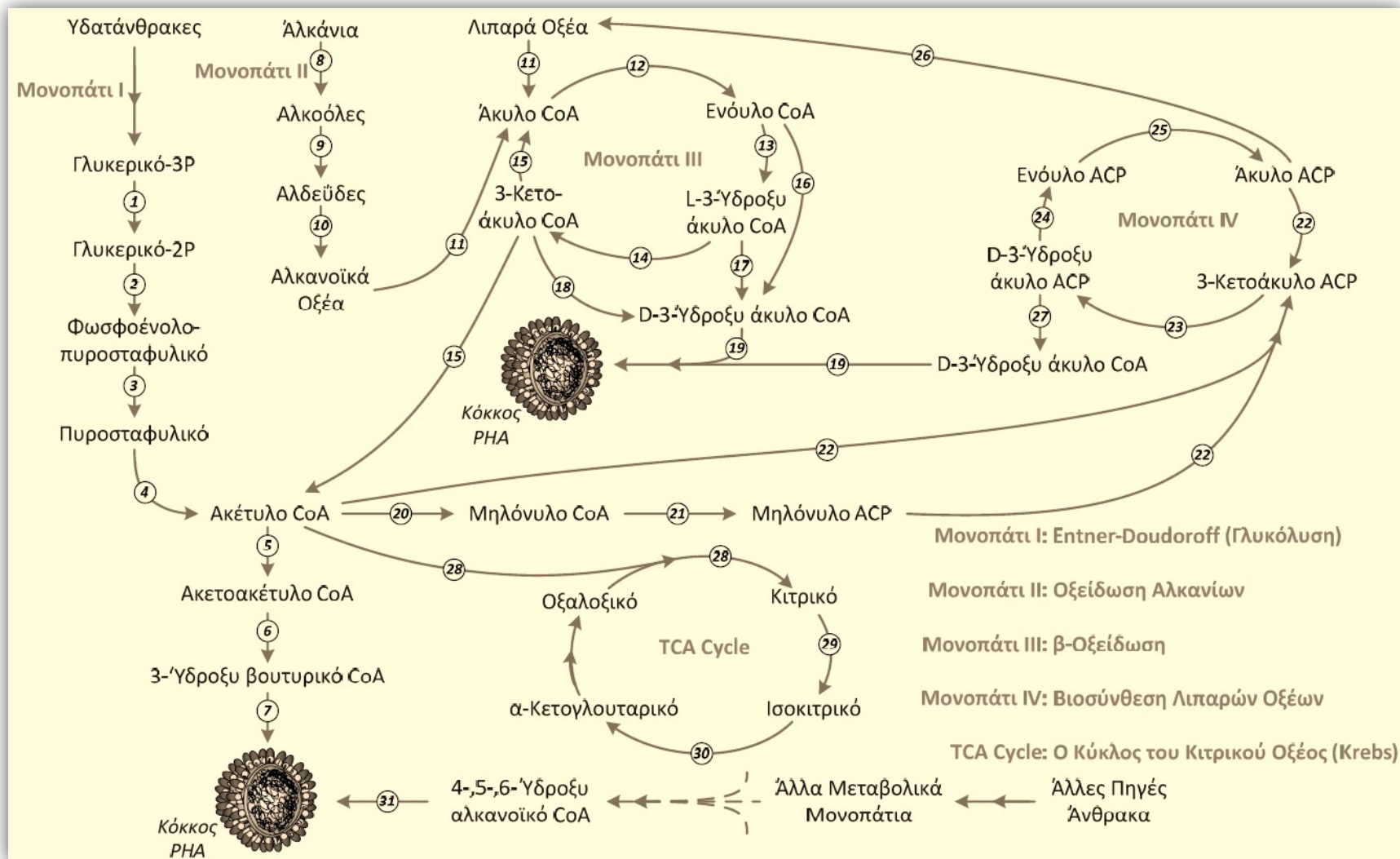
❑ Τα **πλεονεκτήματα** των βιοαντιδράσεων είναι οι ήπιες συνθήκες αντίδρασης, οι υψηλές αποδόσεις και ότι οι οργανισμοί περιέχουν πολλά ένζυμα που μπορούν να καταλύουν στερεοειδικά τα διαδοχικά στάδια μίας αντίδρασης.

❑ Στη βιοσύνθεση, τα κύτταρα, γνωστά και σαν **βιομάζα**, καταναλώνουν θρεπτικά συστατικά και παράγουν νέα κύτταρα και σημαντικά προϊόντα. Εσωτερικά, το κύτταρο χρησιμοποιεί τα θρεπτικά συστατικά για την παραγωγή ενέργειας και νέων κυττάρων.

❑ Η μετατροπή των θρεπτικών υλών σε ενέργεια και παραπροϊόντα επιτυγχάνεται με τη χρήση από το κύτταρο διαφορετικών **ενζύμων** σε επάλληλες αντιδράσεις παραγωγής προϊόντων **μεταβολισμού**. Τα προϊόντα αυτά μπορούν να παραμείνουν στο κύτταρο (ενδοκυτταρικά) ή να απεκκριθούν από τα κύτταρα (εξωκυτταρικά). Στην πρώτη περίπτωση, τα κύτταρα πρέπει να διαχωρισθούν (να διασπαστούν) και το προϊόν να καθαριστεί (διαχωρισθεί) από το μίγμα των προϊόντων.

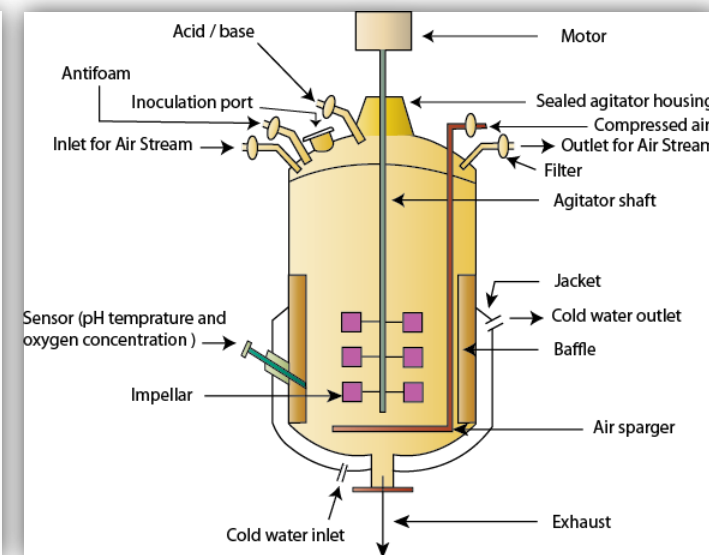


4. Παράδειγμα Μεταβολισμού



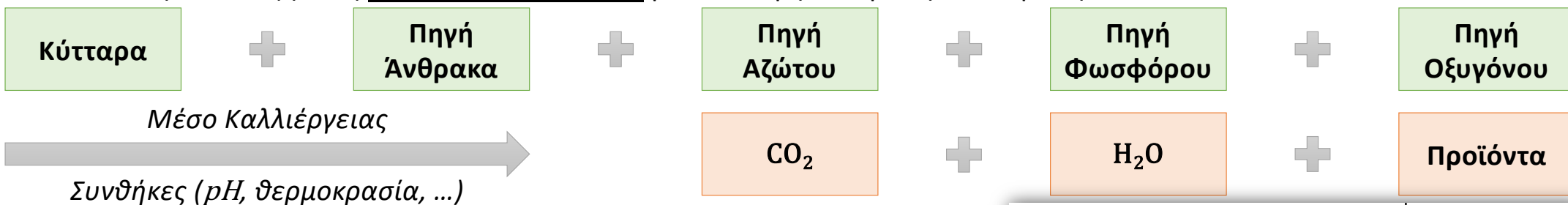
4. Βιοαντιδραστήρες

- ❑ **Βιοαντιδραστήρες** (ζυμωτήρες) ονομάζονται τα δοχεία στα οποία λαμβάνουν χώρα **βιολογικές αντιδράσεις**, όπως είναι η μικροβιακή ανάπτυξη.
- ❑ Αποσκοπούν **(α)** στην παραγωγή **βιομάζας** (κυτταρικής μάζας), **(β)** στην παραγωγή συγκεκριμένων **μεταβολικών** προϊόντων, **(γ)** στην **απομάκρυνση ή μετατροπή** ορισμένων θρεπτικών συστατικών, **(δ)** στην καταλυτική **βιομετατροπή** κάποιων χημικών ενώσεων, ή **(ε)** σε κάποιο **συνδυασμό** των (α)-(δ).

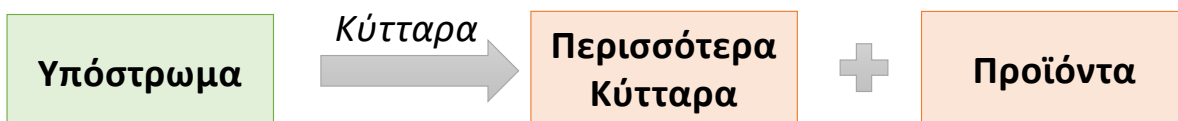


4. Ανάπτυξη και Διαίρεση Κυττάρων

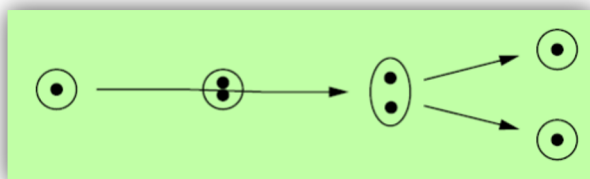
□ Γενικά, η ανάπτυξη ενός αερόβιου οργανισμού γίνεται σύμφωνα με την αντίδραση:



□ Μία συντομότερη μορφή που χρησιμοποιείται γενικότερα είναι:

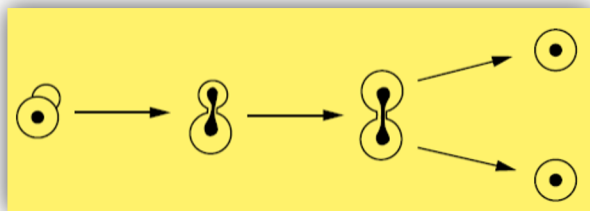


Βακτήρια

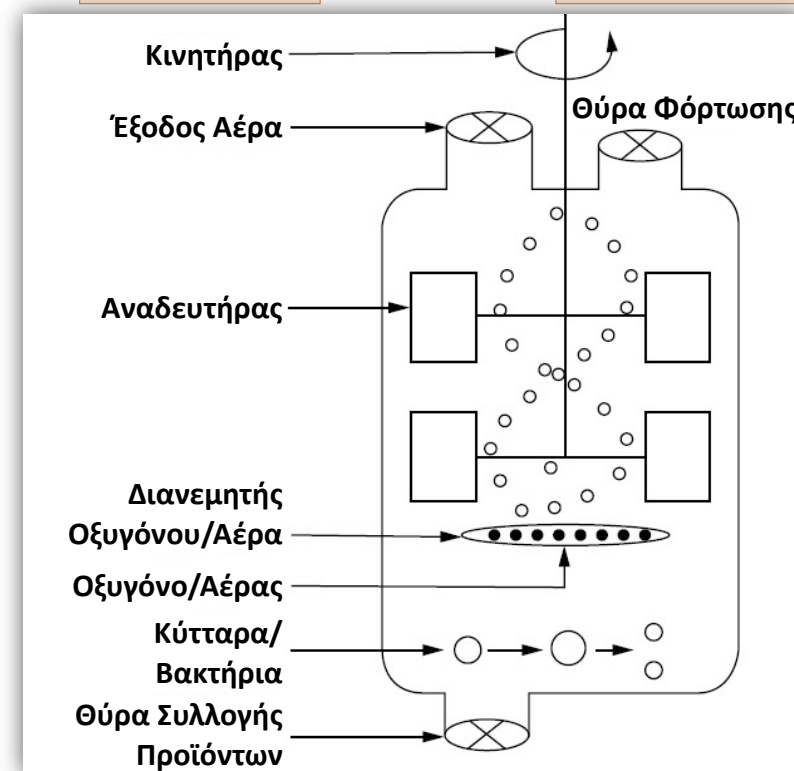


Διαίρεση
Κυττάρων

Ζυμομύκητες



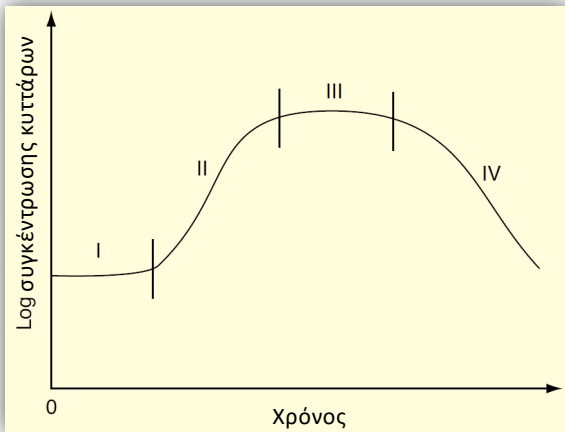
Τυπικός
Βιοαντιδραστήρας



- ❑ Αρχικά, πραγματοποιείται η προσθήκη ενός **μικρού αριθμού κυττάρων** στον βιοαντιδραστήρα, ο οποίος περιέχει τη **θρεπτική ύλη** και η διαδικασία της κυτταρικής ανάπτυξης ξεκινά.

ΦΑΣΗ I

- ❑ Στη Φάση I, που ονομάζεται **φάση υστέρησης (προσαρμογής)**, παρατηρείται πρακτικά μηδενική ή μικρή αύξηση της συγκέντρωσης των κυττάρων. Κατά τη διάρκεια της φάσης υστέρησης τα κύτταρα **προσαρμόζονται στο νέο τους περιβάλλον**, συνθέτοντας ένζυμα και προετοιμάζοντας την αναπαραγωγή τους.
- ❑ Η **διάρκεια της φάσης υστέρησης** εξαρτάται από το μέσο ανάπτυξης από το οποίο έγινε η λήψη του υλικού τροφοδοσίας σε σχέση με το μέσο αντίδρασης στο οποίο τοποθετήθηκε.



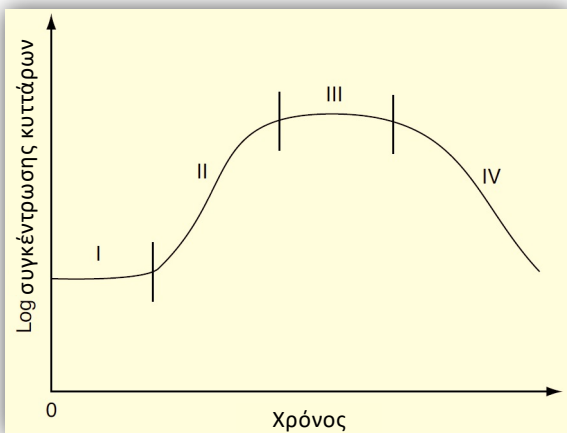
- Αν το υλικό εμβολιασμού είναι παρόμοιο με το μέσο του βιοαντιδραστήρα, η φάση υστέρησης θα είναι σχεδόν **ανύπαρκτη**.
- Αν το υλικό εμβολιασμού είχε τοποθετηθεί σε μέσο με διαφορετική θρεπτική ύλη, ή αν η καλλιέργεια του εμβολίου βρισκόταν στη φάση στασιμότητας ή στη φάση θανάτου, τα κύτταρα θα έπρεπε να **αναπροσαρμόσουν τις οδούς μεταβολισμού τους** ώστε να μπορέσουν να καταναλώσουν τη θρεπτική ύλη στο καινούργιο τους περιβάλλον.

ΦΑΣΗ II

- ❑ Η Φάση II καλείται **εκθετική φάση (ανάπτυξης)**, εξαιτίας της αναλογίας της ανάπτυξης των κυττάρων με τη συγκέντρωση των κυττάρων.
- ❑ Στη φάση αυτή, τα κύτταρα **διαιρούνται με μέγιστο ρυθμό**, επειδή όλες οι οδοί μεταβολισμού του ενζύμου για τον μεταβολισμό του υποστρώματος βρίσκονται στη σωστή θέση (σαν αποτέλεσμα της φάσης υστέρησης) και τα κύτταρα είναι ικανά να χρησιμοποιήσουν τη θρεπτική ύλη αποτελεσματικότερα.

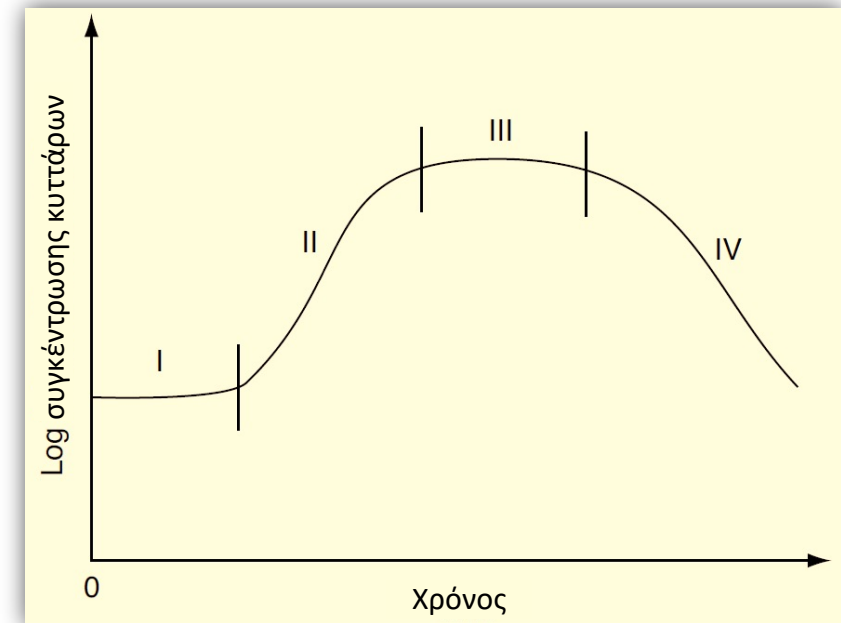
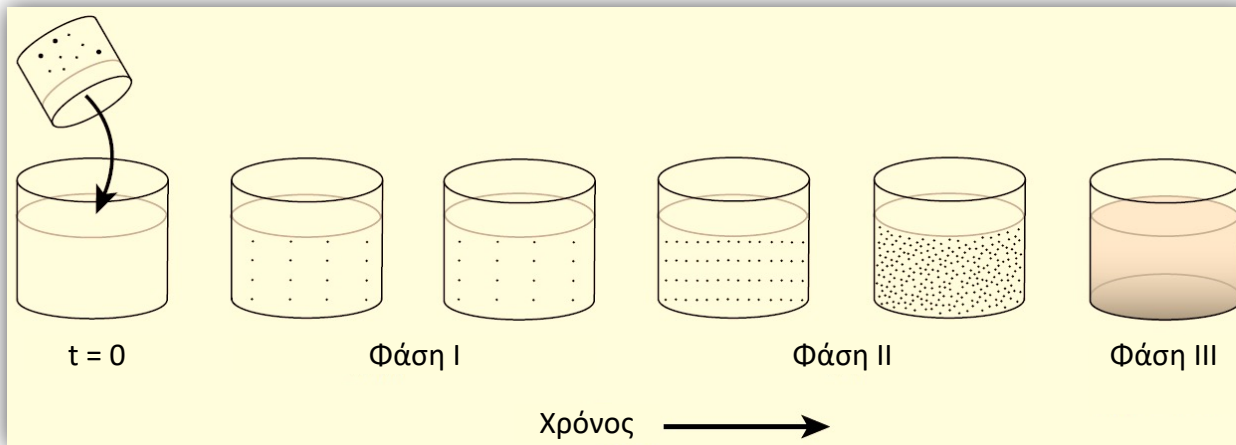
ΦΑΣΗ III

- ❑ Η Φάση III αντιστοιχεί στη **φάση στασιμότητας (συντήρησης)**, στη διάρκεια της οποίας τα κύτταρα φτάνουν σε ένα βιολογικό χρονικό διάστημα στο οποίο η **έλλειψη ενός ή περισσότερων θρεπτικών υλών** περιορίζει την ανάπτυξη τους.
- ❑ Στη διάρκεια της, **ο καθαρός ρυθμός ανάπτυξης ισούται με το μηδέν** σαν αποτέλεσμα της εξάντλησης των θρεπτικών υλών και των βασικών μεταβολιτών.
- ❑ Η κυτταρική ανάπτυξη **επιβραδύνεται** επίσης εξαιτίας της δόμησης οργανικών οξέων και τοξικών ουσιών που σχηματίζονται κατά τη φάση ανάπτυξης.



ΦΑΣΗ IV

- Η τελική φάση είναι η **φάση θανάτου (καταστροφής)**, κατά την οποία πραγματοποιείται **ελάττωση της συγκέντρωσης** των ζωντανών κυττάρων. Η πτώση αυτή μπορεί να οφείλεται σε τοξικά παραπροϊόντα, σε επιβαρυντικές περιβαλλοντικές συνθήκες ή/και στην εξάντληση των θρεπτικών συστατικών.



- Η απεικόνιση της κινητικής μπορεί να γίνει και σε ημιλογαριθμική κλίμακα. Η **λογαριθμική κλίμακα** χρησιμοποιείται για τη συγκέντρωση της βιομάζας (ή των μικροοργανισμών), η δε φυσική κλίμακα για τον χρόνο.

4. Ανάπτυξη Κυττάρων

- Η στοιχειώδης αύξηση της βιομάζας dX στον στοιχειώδη χρόνο dt είναι ανάλογη της υφιστάμενης βιομάζας X :

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

- Για τη **Φάση II** (φάση ανάπτυξης), η εξίσωση με ολοκλήρωση δίνει:

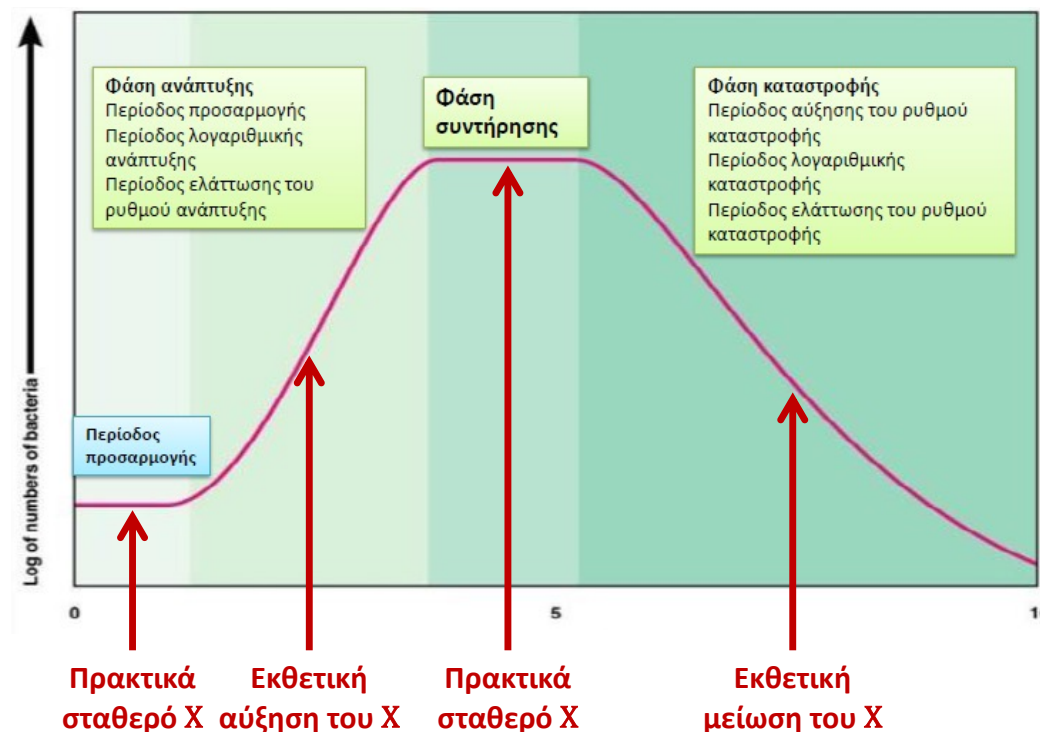
$$X = X_0 \cdot e^{\mu \cdot t}$$

όπου: X = συγκέντρωση βιομάζας (κυττάρων) (g/l),
 X_0 = αρχική συγκέντρωση βιομάζας (κυττάρων) (g/l),
 μ = ειδικός συντελεστής αύξησης (hr^{-1}), και
 t = χρόνος (hr).

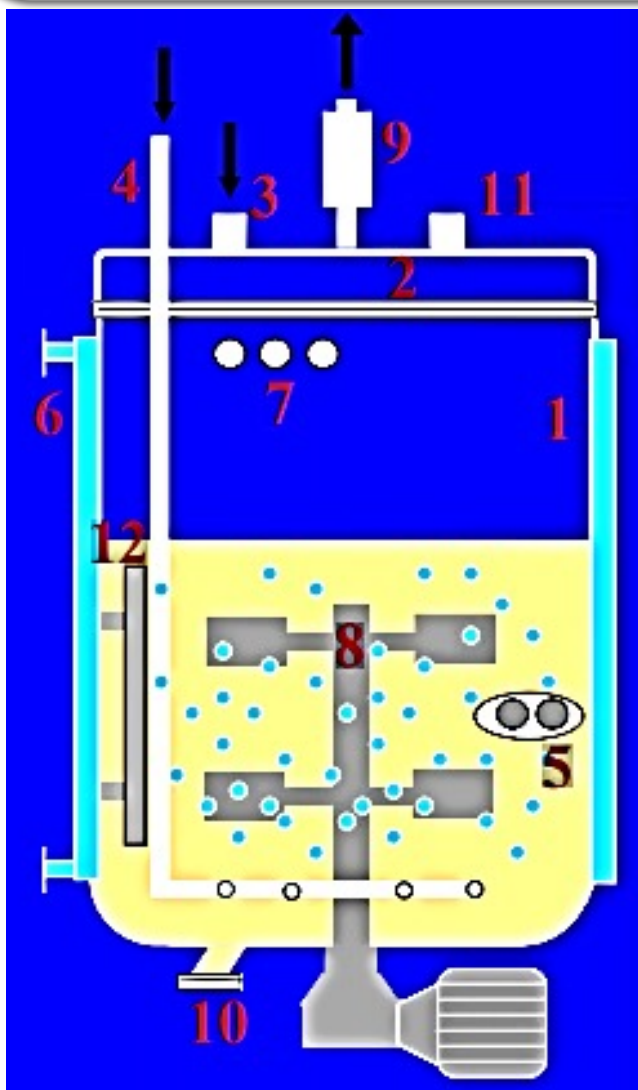
- Αντίστοιχα, για τη **Φάση IV** (φάση καταστροφής):

$$X = X_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

όπου: k = ειδικός συντελεστής καταστροφής (hr^{-1}).



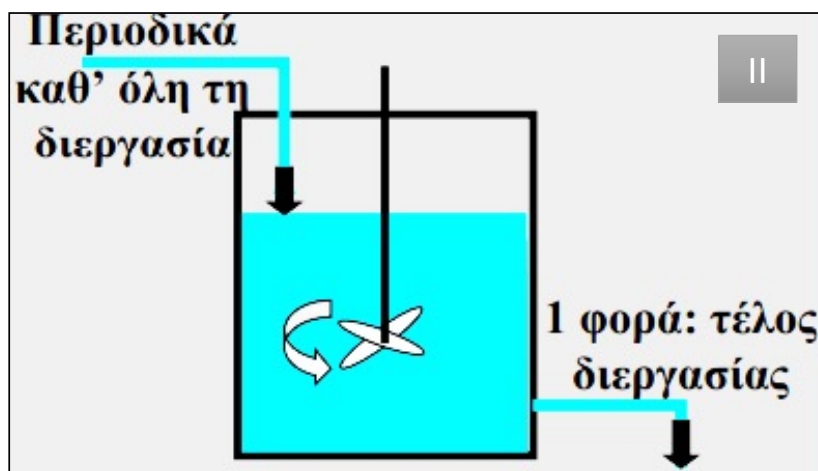
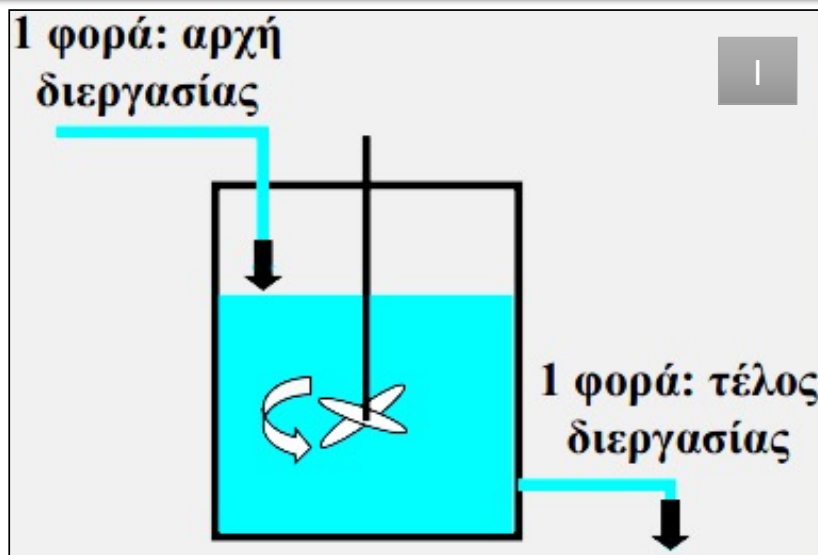
4. Τυπικός Βιοαντιδραστήρας



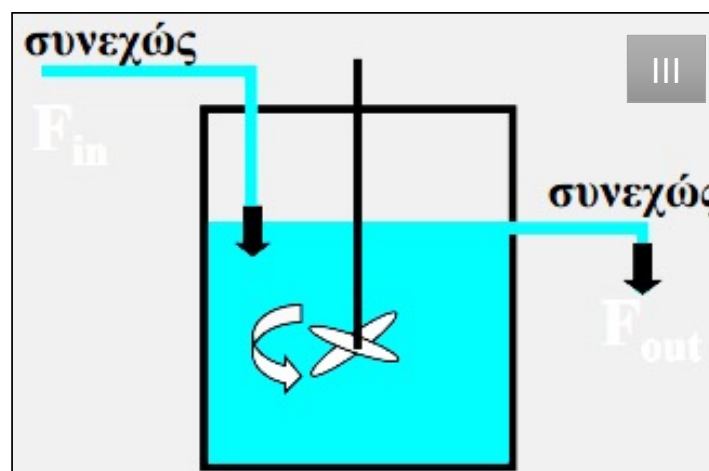
1. Δοχείο ζύμωσης.
2. Μετακινούμενο σκέπασμα-καπάκι.
3. Θυρίδα εισόδου υποστρώματος και εμβολίου.
4. Σύστημα εισόδου αέρα.
5. Θυρίδες αισθητήρων (pH, T, DO).
6. Μανδύας ελέγχου θερμοκρασίας.
7. Θυρίδες εισόδου (οξύ, βάση, θρεπτικά, αντιαφριστικό).
8. Αναδευτήρας.
9. Έξοδος αέρα.
10. Θυρίδα εξόδου (δειγματοληψία).
11. Βαλβίδα εκτόνωσης πίεσης.
12. Πτερύγια εκτροπής ροής.



4. Είδη Βιοαντιδραστήρων

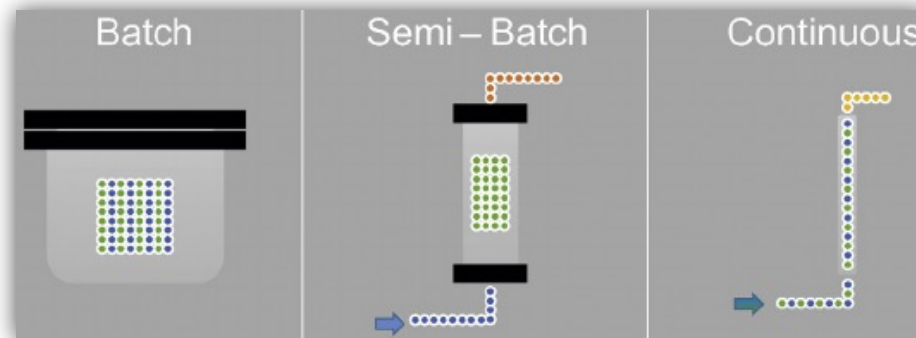


- I. Βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου (ασυνεχής).
- II. Βιοαντιδραστήρας ημιδιαλείποντος έργου (ημισυνεχής).
- III. Βιοαντιδραστήρας συνεχούς έργου (ροής).



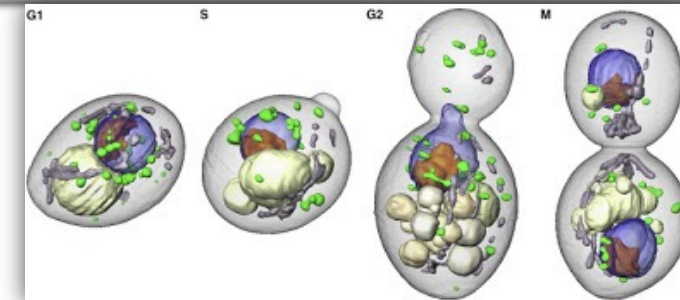
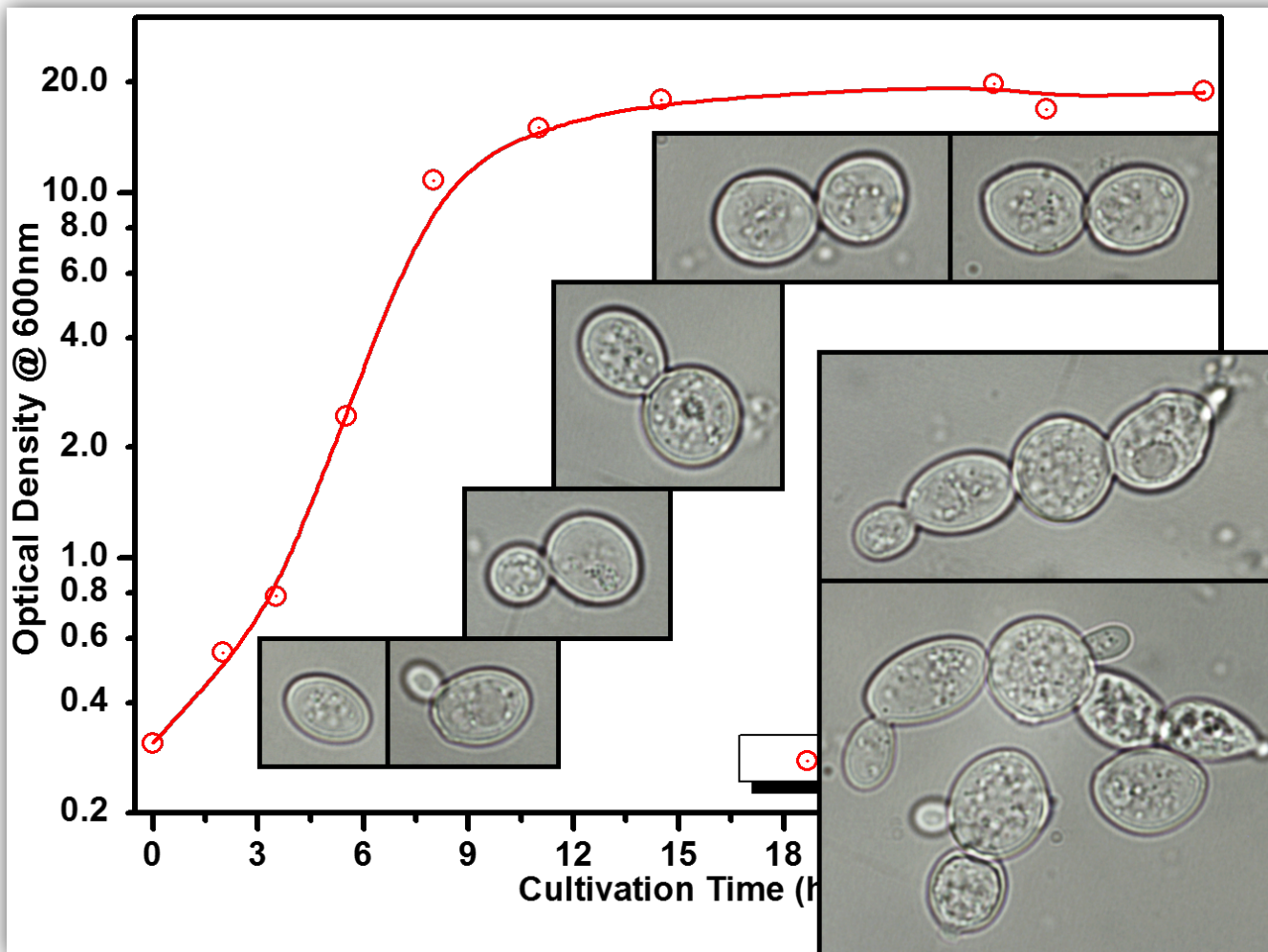
□ Διακρίνονται τρεις βασικοί **τρόποι λειτουργίας** του αναδευόμενου βιοαντιδραστήρα:

1. ονομάζεται **διαλείπωντος έργου** (batch), όταν παραμένει κλειστός όσον αφορά τη μεταφορά μάζας κατά τη διάρκεια της λειτουργίας του,
2. ονομάζεται **ημιδιαλείπωντος (ημισυνεχούς) έργου** (semi-batch ή fed-batch), όταν τα αντιδρώντα (θρεπτικό μέσο) προστίθενται κατά τη διάρκεια της λειτουργίας του, και
3. ονομάζεται **συνεχούς έργου** (Continuous Stirred Tank Reactor, CSTR), όταν χαρακτηρίζεται από συνεχή τροφοδότηση και απορροή.



- Στην περίπτωση του **διαλείπωντος έργου**, η σύσταση μεταβάλλεται χρονικά και τα προϊόντα συλλέγονται αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση. Στην περίπτωση του **ημιδιαλείπωντος έργου**, ο όγκος του αντιδρώντος διαλύματος αυξάνει με τον χρόνο. Στην περίπτωση του **συνεχούς έργου**, ο όγκος και η σύσταση παραμένουν χρονικά σταθερές (μόνιμη κατάσταση).

4. Ανάπτυξη και Διαίρεση Κυττάρων



- ❑ **Κυτταρικός κύκλος ή κύκλος ζωής του κυττάρου** είναι το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη στιγμή που το κύτταρο διαιρείται σε δύο θυγατρικά έως τη στιγμή που και αυτά θα διαιρεθούν.
- ❑ Ο κυτταρικός κύκλος χωρίζεται σε δύο κύριες φάσεις: **(α) τη μεσόφαση και (β) τη μίτωση ή μιτωτική διαίρεση (M).**
- ❑ Η μεσόφαση καταλαμβάνει ποσοστό 90-95% της διάρκειας ζωής του κυττάρου και υποδιαιρείται στα στάδια:
 - **G1: Κύτταρο με 1 μόριο DNA.**
 - **S: Αντιγραφή του DNA.**
 - **G2: Κύτταρο με διπλασιασμένο DNA.**

4. Κινητικές Εξισώσεις

- Ενώ υπάρχουν πολλές εξισώσεις που δύνανται να περιγράψουν τον ρυθμό ανάπτυξης νέων κυττάρων κατά την αντίδραση: **Κύτταρα + Υπόστρωμα → Νέα Κύτταρα + Προϊόν**, η εξίσωση που χρησιμοποιείται περισσότερο είναι η εξίσωση **Monod**, η οποία εκφράζει την **εκθετική ανάπτυξη** των κυττάρων:

$$r_g = \mu \cdot C_c$$

όπου: r_g = ρυθμός ανάπτυξης κυττάρων, $g/(dm^3 \cdot sec)$
 C_c = συγκέντρωση κυττάρων, g/dm^3
 μ = ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, sec^{-1}

- Ο **ειδικός ρυθμός ανάπτυξης** των κυττάρων μπορεί να εκφραστεί ως:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s}$$

όπου μ_{max} = ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, sec^{-1}
 K_s = η σταθερά Monod, g/dm^3
 C_s = συγκέντρωση υποστρώματος, g/dm^3

- Συνδυάζοντας τις παραπάνω εξισώσεις καταλήγουμε στην **εξίσωση Monod**:

$$r_g = \mu_{max} \cdot \frac{C_s \cdot C_c}{K_s + C_s}$$

4. Κινητικές Εξισώσεις

- Για ένα ορισμένο αριθμό διαφορετικών βακτηρίων, η σταθερά K_s είναι μικρή, οπότε ο νόμος της κινητικής γίνεται:

$$r_g = \mu_{\max} \cdot C_c$$

- Ο **ρυθμός ανάπτυξης** εξαρτάται συχνά από τη συγκέντρωση περισσότερων θρεπτικών συστατικών και παρουσιάζει **αναστολή από συγκεκριμένα υποστρώματα ή/και προϊόντα**. Στην περίπτωση **αναστολής από το προϊόν P**, μία τέτοια εξίσωση ρυθμού έχει την παρακάτω εμπειρική μορφή:

$$r_g = k_{\text{obs}} \cdot \mu_{\max} \frac{C_s \cdot C_c}{K_s + C_s}$$

όπου:

$$k_{\text{obs}} = \left(1 - \frac{C_p}{C_p^*} \right)^n$$

με: C_p^* = συγκέντρωση προϊόντος στην οποία σταματά ο οποιοσδήποτε μεταβολισμός, g/dm^3
 n = εμπειρική σταθερά

- Ο **ρυθμός θανάτου** των κυττάρων είναι αποτέλεσμα των αντίξων περιβαλλοντικών συνθηκών, των δυνάμεων διάτμησης, της εξάντλησης των θρεπτικών και της παρουσίας τοξικών ουσιών:

$$r_d = (k_d + k_t \cdot C_t) \cdot C_c$$

όπου: C_t η συγκέντρωση μίας ουσίας τοξικής για το κύτταρο. Οι σταθερές του ειδικού ρυθμού του θανάτου k_d και k_t αναφέρονται σε φυσικό θάνατο και σε θάνατο λόγω τοξικής ουσίας, αντίστοιχα.

- Οι ρυθμοί ανάπτυξης των κυττάρων, εκφράζονται ως προς τους **χρόνους διπλασιασμού**.

- ❑ Η **στοιχειομετρία** της ανάπτυξης των κυττάρων είναι πολύπλοκη και μεταβάλλεται ανάλογα με τον μικροοργανισμό-θρεπτική ύλη και τις συνθήκες περιβάλλοντος.
- ❑ Θα επικεντρώσουμε τη μελέτη μας σε μία απλοποιημένη εκδοχή της κυτταρικής ανάπτυξης, η οποία περιορίζεται σε ένα μέσο το οποίο περιέχει μόνο μία θρεπτική ύλη.
- ❑ Γενικά, έχουμε: **Κύτταρα + Υπόστρωμα → Νέα Κύτταρα + Προϊόν**
- ❑ Για να συσχετίσουμε το υπόστρωμα που καταναλώνεται, τα σχηματιζόμενα νέα κύτταρα και το παραγόμενο προϊόν, εισάγουμε τους **συντελεστές απόδοσης**.
- ❑ Ο συντελεστής απόδοσης για τα κύτταρα ως προς το υπόστρωμα είναι:

$$Y_{C/S} = \frac{\text{Μάζα νέων κυττάρων που σχηματίζονται}}{\text{Μάζα υποστρώματος που καταναλώνεται}} = -\Delta C_C / \Delta C_S, \text{ με } Y_{C/S} = 1 / Y_{S/C}$$

- ❑ Αντίστοιχα, ο συντελεστής απόδοσης για το προϊόν ως προς τα κύτταρα είναι:

$$Y_{P/C} = \frac{\text{Μάζα παραγόμενου προϊόντος}}{\text{Μάζα νέων κυττάρων που σχηματίζονται}} = \Delta C_P / \Delta C_C, \text{ με } Y_{P/C} = 1 / Y_{C/P}$$

- Ο στοιχειομετρικός συντελεστής απόδοσης ο οποίος συνδέει την ποσότητα του παραγόμενου προϊόντος ανά μάζα υποστρώματος που καταναλώνεται είναι:

$$Y_{P/S} = \frac{\text{Μάζα παραγόμενου προϊόντος}}{\text{Μάζα υποστρώματος που καταναλώνεται}} = -\Delta C_P / \Delta C_S, \text{ με } Y_{P/S} = 1 / Y_{S/P}$$

- Εκτός από το υπόστρωμα που καταναλώνεται για την παραγωγή νέων κυττάρων, μέρος του υποστρώματος πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τη συντήρηση των δραστηριοτήτων του κυττάρου. Ο αντίστοιχος όρος είναι:

$$m = \frac{\text{Μάζα υποστρώματος που καταναλώνεται για τη συντήρηση των κυττάρων}}{\text{Μάζα κυττάρων} \cdot \text{Χρόνος}} = -\Delta C_S / DC_C$$

- Αν μπορούσαμε να διαχωρίσουμε το υπόστρωμα (S) που καταναλώθηκε παρουσία των κυττάρων προς παραγωγή νέων κυττάρων, (C), από το υπόστρωμα που καταναλώθηκε για να δώσει το προϊόν (P), δηλαδή: $S \rightarrow Y'_{S/C} \cdot C + Y'_{S/P} \cdot P$, οι συντελεστές απόδοσης μπορούν να γραφούν ως εξής:

$$Y'_{S/C} = \frac{\text{Μάζα υποστρώματος που καταναλώνεται για σχηματισμό νέων κυττάρων}}{\text{Μάζα νέων κυττάρων που σχηματίζονται}}$$

$$Y'_{S/P} = \frac{\text{Μάζα υποστρώματος που καταναλώνεται για σχηματισμό προϊόντος}}{\text{Μάζα παραγόμενου προϊόντος}}$$

❖ Τα παρακάτω πειραματικά δεδομένα **δυναμικών συγκεντρώσεων** προσδιορίστηκαν σε έναν **βιοαντιδραστήρα ασυνεχούς λειτουργίας** για τον ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*. Υποθέστε ότι στην ανάπτυξη του ζυμομύκητα **δεν υπάρχει υστέρηση και αγνοήστε τη συντήρηση** κατά την έναρξη της ανάπτυξης των κυττάρων, όπου υπάρχουν λίγα μόνο κύτταρα.

➤ Προσδιορίστε τα: $Y_{S/C}$, $Y_{C/S}$, $Y_{P/S}$, $Y_{S/P}$, $Y_{P/C}$ και $Y_{C/P}$.

Χρόνος t (hr)	Κύτταρα C_C (g/dm ³)	Γλυκόζη C_S (g/dm ³)	Αιθανόλη C_P (g/dm ³)
0	1	250	0
1	1,37	245	2,14
2	1,87	238,7	5,03
3	2,55	229,8	8,96

4. Ισοζύγια Μάζας

- ☐ Το **ισοζύγιο μάζας** για ένα **μικροοργανισμό** σε έναν βιοαντιδραστήρα σταθερού όγκου έχει ως εξής:

<div style="background-color: #fff9c4; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Συσσώρευσης Κυττάρων (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $V \cdot \frac{dC_c}{dt}$ </div>	=	<div style="background-color: #c8e6c9; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Εισερχόμενων Κυττάρων (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $v_0 \cdot C_{C0}$ </div>	-	<div style="background-color: #ffe0b2; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Εξερχόμενων Κυττάρων (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $v \cdot C_c$ </div>	+	<div style="background-color: #bbdefb; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Σχηματισμού Κυττάρων (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $(r_g - r_d) \cdot V$ </div>
---	---	---	---	---	---	---

- ☐ Το αντίστοιχο ισοζύγιο μάζας για το υπόστρωμα έχει ως εξής:

<div style="background-color: #fff9c4; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Συσσώρευσης Υποστρώματος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $V \cdot \frac{dC_s}{dt}$ </div>	=	<div style="background-color: #c8e6c9; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Εισερχόμενου Υποστρώματος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $v_0 \cdot C_{S0}$ </div>	-	<div style="background-color: #ffe0b2; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Εξερχόμενου Υποστρώματος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $v \cdot C_s$ </div>	+	<div style="background-color: #bbdefb; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Κατανάλωσης Υποστρώματος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $r_s \cdot V$ </div>
---	---	---	---	---	---	---

- ☐ Το αντίστοιχο ισοζύγιο μάζας για το προϊόν έχει ως εξής:

<div style="background-color: #fff9c4; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Συσσώρευσης Προϊόντος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $V \cdot \frac{dC_p}{dt}$ </div>	=	<div style="background-color: #c8e6c9; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Εισερχόμενου Προϊόντος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $v_0 \cdot C_{P0}$ </div>	-	<div style="background-color: #ffe0b2; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Εξερχόμενου Προϊόντος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $v \cdot C_p$ </div>	+	<div style="background-color: #bbdefb; padding: 5px; text-align: center;">Ρυθμός Σχηματισμού Προϊόντος (g/sec)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-top: 5px;"> $r_p \cdot V$ </div>
--	---	--	---	--	---	--

Συνήθως ισχύει για ασυνεχείς συνθήκες: $C_{C0} \neq 0$ (υπάρχει μία μικρή αρχική ποσότητα κυττάρων) και $C_{P0} = 0$.

Ασυνεχής Λειτουργία

Για σύστημα ασυνεχούς λειτουργίας, όπου $\mathbf{v} = \mathbf{v}_0 = 0$, τα ισοζύγια μάζας είναι τα εξής:

Κύτταρα:

- Ο ρυθμός ανάπτυξης των κυττάρων είναι:

$$\mathbf{V} \cdot \frac{dC_C}{dt} = (r_g - r_d) \cdot \mathbf{V}$$

Διαιρώντας με τον όγκο του αντιδραστήρα \mathbf{V} παίρνουμε:

$$\frac{dC_C}{dt} = r_g - r_d$$

Υπόστρωμα:

- Ο ρυθμός κατανάλωσης του υποστρώματος προκύπτει από το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη του κυττάρου και το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για τη συντήρηση του κυττάρου:

$$\mathbf{V} \cdot \frac{dC_S}{dt} = r_S \cdot \mathbf{V} = Y_{S/C} \cdot (-r_g) \mathbf{V} - m \cdot C_C \cdot \mathbf{V}$$

Ασυνεχής Λειτουργία

Υπόστρωμα:

Διαιρώντας με V λαμβάνουμε το ισοζύγιο του υποστρώματος για τη φάση ανάπτυξης:

$$\frac{dC_S}{dt} = Y_{S/C} \cdot (-r_g) - m \cdot C_C$$

Για κύτταρα στη φάση στασιμότητας, κατά την οποία δεν υπάρχει ανάπτυξη, η συντήρηση του κυττάρου και ο σχηματισμός του προϊόντος είναι οι μόνες αντιδράσεις στις οποίες μπορεί να καταναλωθεί το υπόστρωμα. Κάτω από αυτές τις συνθήκες το ισοζύγιο υποστρώματος απλοποιείται στο:

$$\frac{dC_S}{dt} = Y_{S/P} \cdot (-r_P) - m \cdot C_C$$

Προϊόν:

- Ο ρυθμός παραγωγής προϊόντος είναι δυνατό να συσχετιστεί με τον ρυθμό κατανάλωσης του υποστρώματος και τον ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων, μέσω του παρακάτω ισοζυγίου:

$$\frac{dC_P}{dt} = r_P = Y_{P/S} \cdot (-r_S) = Y_{P/C} \cdot r_g$$

- ❖ Σε έναν βιοαντιδραστήρα ασυνεχούς λειτουργίας πρόκειται να πραγματοποιηθεί ζύμωση της γλυκόζης προς αιθανόλη με τη βοήθεια ενός μικροοργανισμού, όπως ο *Saccharomyces cerevisiae*. Η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων στον βιοαντιδραστήρα είναι ίση με 1 g/dm^3 , ενώ η αρχική συγκέντρωση του υποστρώματος (γλυκόζη) ισούται με 250 g/dm^3 .
- Απεικονίστε γραφικά τις συγκεντρώσεις των κυττάρων, του υποστρώματος και του προϊόντος συναρτήσει του χρόνου. Ποιες θα είναι οι συγκεντρώσεις των τριών συστατικών μετά από 13 hr ζύμωσης;

Πρόσθετα δεδομένα:

$$C_p^* = 93 \text{ g/dm}^3$$

$$Y_{C/S} = 0,08 \text{ g/g}$$

$$n = 0,52$$

$$Y_{P/S} = 0,45 \text{ g/g}$$

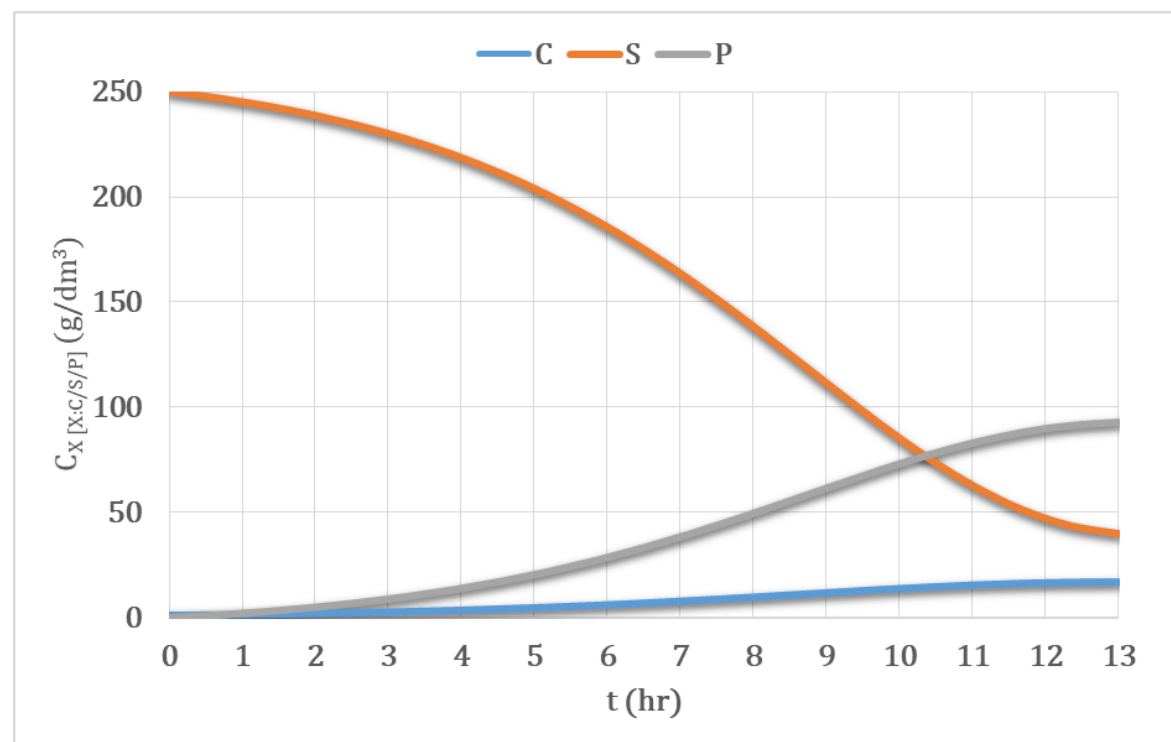
$$\mu_{\max} = 0,33 \text{ hr}^{-1}$$

$$Y_{P/C} = 5,6 \text{ g/g}$$

$$K_S = 1,7 \text{ g/dm}^3$$

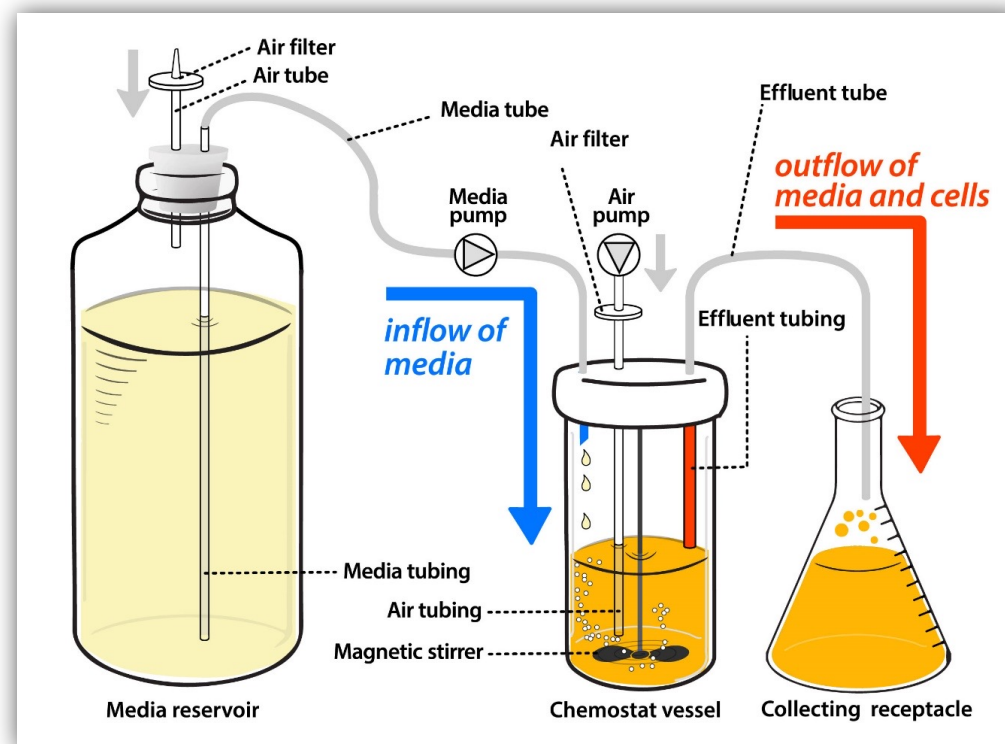
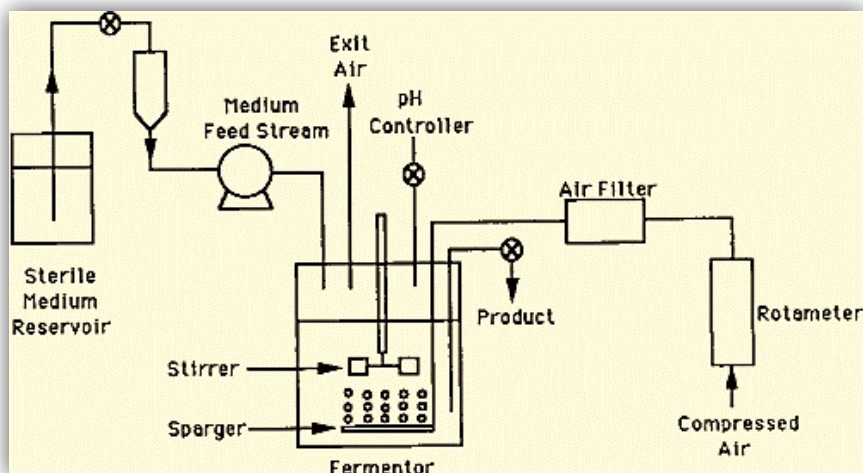
$$k_d = 0,01 \text{ hr}^{-1}$$

$$m = 0,03 \text{ (g υποστρώματος)/(g κυττάρων}\cdot\text{hr)}$$



Χημειοστάτες

- Οι χημειοστάτες είναι ουσιαστικά βιοαντιδραστήρες CSTR που περιέχουν μικροοργανισμούς. Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά ενός χημειοστάτη είναι ότι επιτρέπει στον χειριστή να ελέγχει τον ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων. Ο έλεγχος αυτός του ρυθμού ανάπτυξης επιτυγχάνεται με ρύθμιση του ογκομετρικού ρυθμού τροφοδοσίας.



Χημειοστάτες

- ❑ Θεωρούμε ότι οι **ογκομετρικοί ρυθμοί ροής** στην είσοδο και στην έξοδο είναι ίσοι και **δεν εισέρχονται κύτταρα**.
- ❑ Ορίζουμε στη συνέχεια μία παράμετρο συνήθη για την περίπτωση των βιοαντιδραστήρων, η οποία ονομάζεται **ρυθμός διάλυσης ή αραιώσης, D**. Ο ρυθμός διάλυσης είναι ίσος με: $D = v_0/V$ και είναι απλά το αντίστροφο του χωρο-χρόνου, τ.
- ❑ Χρησιμοποιώντας τον ορισμό του ρυθμού διάλυσης, έχουμε:

Κύτταρα:

$$\frac{dC_C}{dt} = 0 - D \cdot C_C + (r_g - r_d)$$

Υπόστρωμα:

$$\frac{dC_S}{dt} = D \cdot C_{S0} - D \cdot C_S + r_S$$

Προϊόν:

$$\frac{dC_P}{dt} = 0 - D \cdot C_P + r_P$$

- Η κινητική σταθερά της ανάπτυξης των κυττάρων μπορεί να ελεγχθεί με έλεγχο του ρυθμού διάλυσης, D.

- Χρησιμοποιώντας την εξίσωση Monod, προσδιορίζουμε τον ρυθμό ανάπτυξης:

$$r_g = \mu \cdot C_C = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S \cdot C_C}{K_S + C_S}$$

- Μόνιμη κατάσταση:

Κύτταρα:

$$\frac{dC_C}{dt} = 0 - D \cdot C_C + (r_g - r_d) = 0$$

$$D \cdot C_C = r_g - r_d$$

Υπόστρωμα:

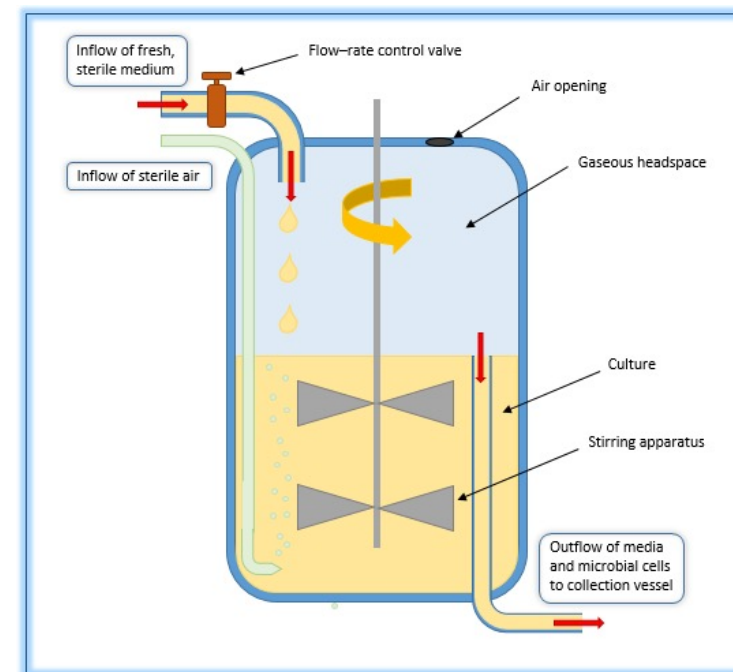
$$\frac{dC_S}{dt} = D \cdot C_{S0} - D \cdot C_S + r_s = 0$$

$$D \cdot (C_{S0} - C_S) = -r_s$$

Προϊόν:

$$\frac{dC_P}{dt} = 0 - D \cdot C_P + r_p = 0$$

$$D \cdot C_P = r_p$$



4. Ισοζύγια Μάζας

- Μπορούμε τώρα να αγνοήσουμε τον ρυθμό θανάτου, r_d , και να υπολογίσουμε τον ρυθμό ροής μάζας των κυττάρων στην έξοδο του συστήματος:

$$F_C = C_C \cdot v_0 = r_g \cdot V = \mu \cdot C_C \cdot V$$

- Αφού διαιρέσουμε με $C_C \cdot V$ προκύπτει: $D = \mu$

➤ Η κινητική σταθερά της ανάπτυξης των κυττάρων μπορεί να ελεγχθεί από τον ρυθμό διάλυσης, D .

- Χρησιμοποιώντας τη σχέση του μ και λύνοντας ως προς τη συγκέντρωση του υποστρώματος για λειτουργία σε μόνιμη κατάσταση, παίρνουμε:

$$C_S = \frac{D \cdot K_S}{\mu_{\max} - D}$$

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S}$$

- Υποθέτοντας ότι ένα μόνο αντιδρών είναι περιοριστικό, ότι η ανάπτυξη των κυττάρων είναι η μόνη διεργασία η οποία συνεισφέρει στη χρήση του υποστρώματος και ότι η συντήρηση του κυττάρου μπορεί να αγνοηθεί:

$$-r_S = r_g \cdot Y_{S/C}$$

$$C_C = Y_{C/S} \cdot (C_{S0} - C_S)$$

Αντικαθιστώντας το C_S :

$$C_C = Y_{C/S} \cdot \left(C_{S0} - \frac{D \cdot K_S}{\mu_{\max} - D} \right)$$

Απομάκρυνση

□ Επίδραση του ρυθμού διάλυσης:

$$\frac{dC_C}{dt} = (\mu - D) \cdot C_C$$

- Αν $D > \mu$ τότε $dC_C/dt < 0$ και η συγκέντρωση των κυττάρων θα συνεχίσει να μειώνεται έως: $C_C = 0$
- Ο ρυθμός διάλυσης για $C_C = 0$:

$$D_{\max} = \frac{\mu_{\max} \cdot C_{S0}}{K_S + C_{S0}}$$

- Μέγιστος ρυθμός παραγωγής κυττάρων ($F_C = C_C \cdot v_0$ προς V , $g/(dm^3 \cdot sec)$):

$$r_{\max}^P = \frac{F_C}{V} = \frac{v_0 \cdot C_C}{V} = D \cdot C_C$$

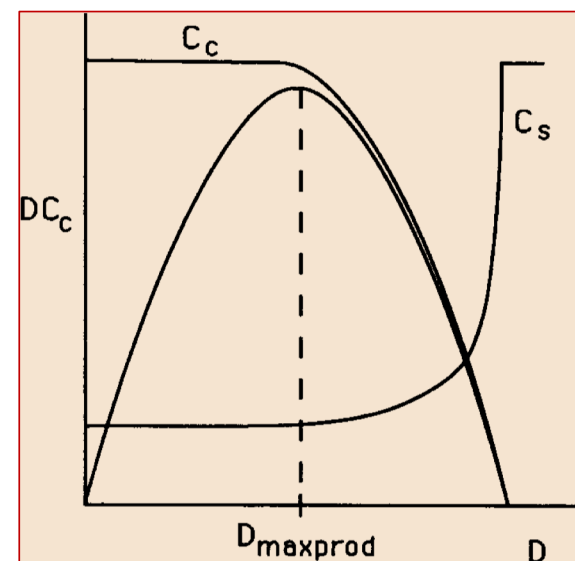
- Από τη σχέση του C_C :

$$r_{\max}^P = D \cdot C_C = D \cdot Y_{C/S} \cdot \left(C_{S0} - \frac{D \cdot K_S}{\mu_{\max} - D} \right)$$

- Μέγιστος ρυθμός παραγωγής ($d(r_{\max}^P)/dD = d(D \cdot C_C)/dD = 0$):

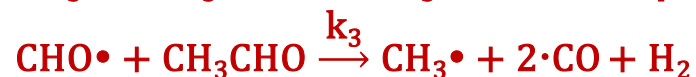
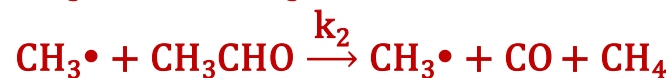
$$D_{\max,prod} = \mu_{\max} \cdot \left(1 - \sqrt{\frac{K_S}{K_S - C_{S0}}} \right)$$

$$C_C = Y_{C/S} \cdot \left(C_{S0} - \frac{D \cdot K_S}{\mu_{\max} - D} \right)$$



Συγκέντρωση κυττάρων και υποστρώματος και ρυθμός παραγωγής συναρτήσει του ρυθμού διάλυσης.

❖ Η πυρόλυση της ακεταλδεΐδης θεωρείται ότι λαμβάνει χώρα σύμφωνα με την ακόλουθη αλληλουχία **στοιχειωδών βημάτων**:

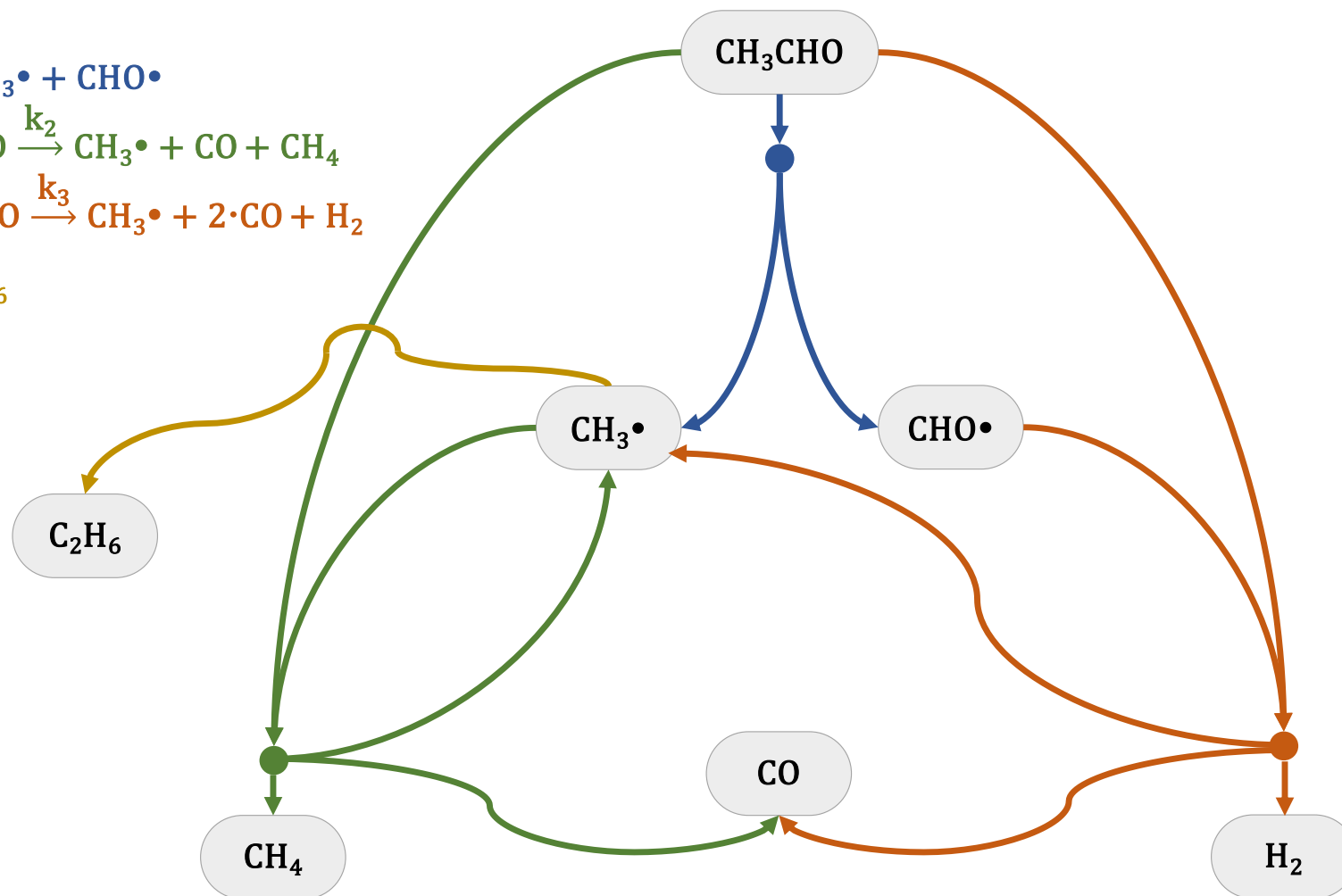
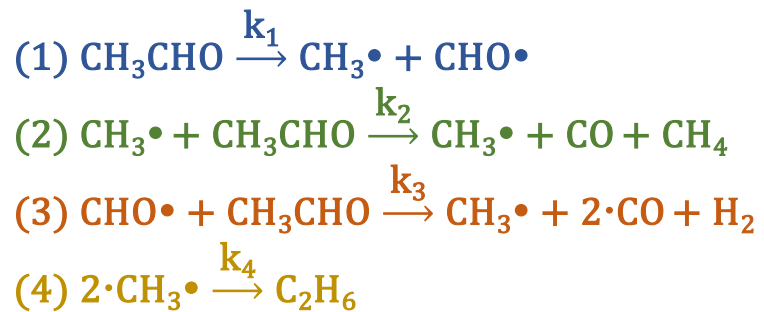


(α) Διατυπώστε την **κινητική εξίσωση** που περιγράφει τον ρυθμό κατανάλωσης της **ακεταλδεΐδης**, $-r_{\text{Ac}}$.

(β) Κάτω από **ποιες προϋποθέσεις** η κινητική εξίσωση συμφωνεί με τη γνωστή **κινητική εξίσωση** που περιγράφει τη διάσπαση της ακεταλδεΐδης: $-r_{\text{CH}_3\text{CHO}} = k \cdot C_{\text{CH}_3\text{CHO}}^{3/2}$;

(γ) Σχεδιάστε το **διάγραμμα πορείας** της αντίδρασης.

Παράδειγμα 7.5 (2/2)



- ❖ Η ενζυμική υδρόλυση του αμύλου πραγματοποιήθηκε παρουσία και απουσία μαλτόζης και α-δεξτρίνης, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

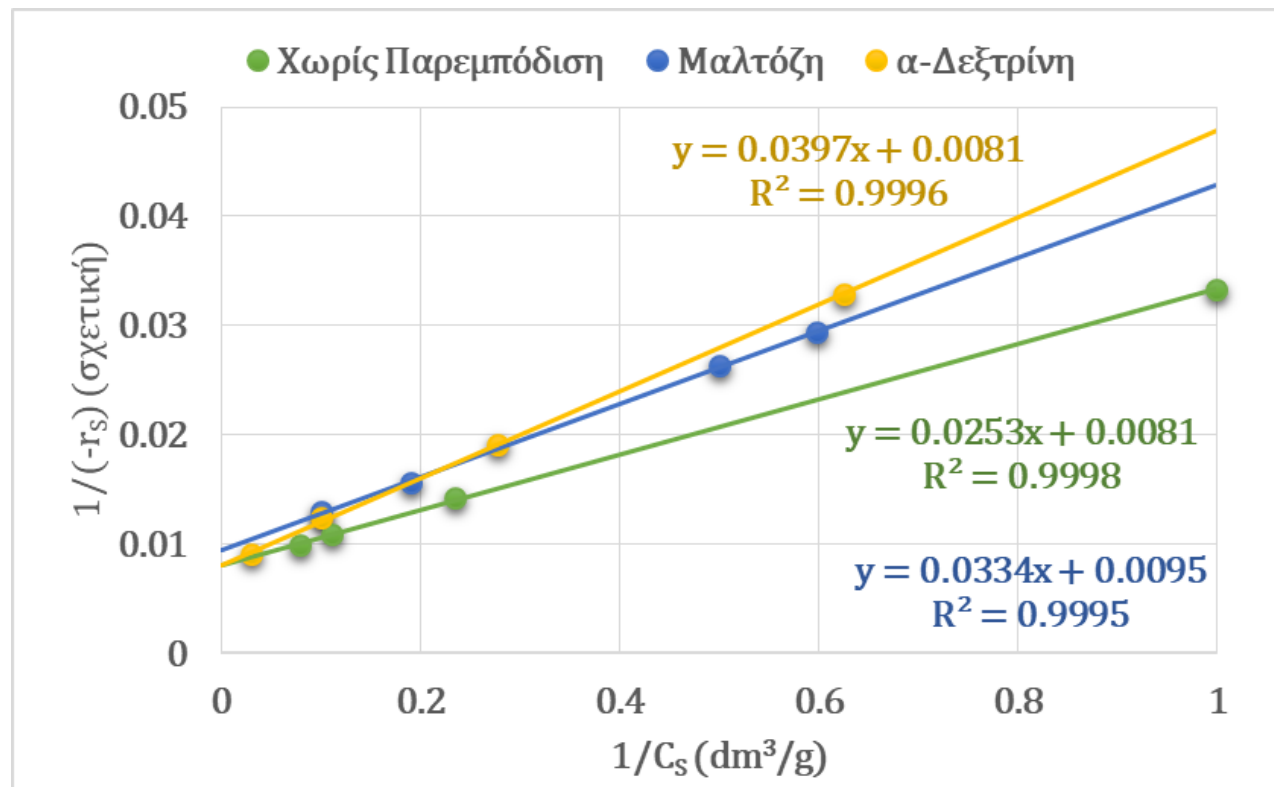
Άμυλο → α-Δεξτρίνη → Οριακή Δεξτρίνη → Μαλτόζη

- Προσδιορίστε τα είδη της αναστολής (παρεμπόδισης) για τη μαλτόζη και την α-δεξτρίνη.

Χωρίς Αναστολή				
C_S (g/dm ³)	12,5	9	4,25	1
$-r_S$ (σχετική)	100	92	70	20
Μαλτόζη ($I = 12,7$ mg/dm ³)				
C_S (g/dm ³)	10	5,25	2	1,67
$-r_S$ (σχετική)	77	64	38	34
α-Δεξτρίνη ($I = 12,7$ mg/dm ³)				
C_S (g/dm ³)	33	10	3,6	1,6
$-r_S$ (σχετική)	110,2	80,75	52,25	30,4

Παράδειγμα 7.6 (2/2)

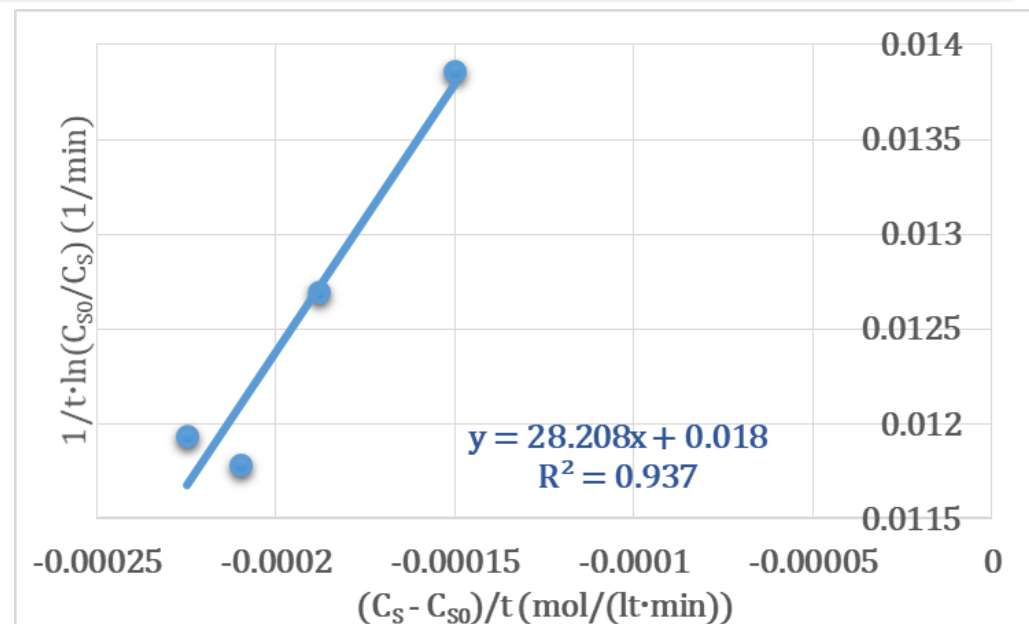
Χωρίς Αναστολή				
C_s (g/dm ³)	12,5	9	4,25	1
$-r_s$ (σχετική)	100	92	70	20
$1/C_s$ (dm ³ /g)	0,08	0,111	0,235	1
$1/(-r_s)$	0,01	0,011	0,014	0,033
Μαλτόζη (I = 12,7 mg/dm ³)				
C_s (g/dm ³)	10	5,25	2	1,67
$-r_s$ (σχετική)	77	64	38	34
$1/C_s$ (dm ³ /g)	0,1	0,19	0,5	0,599
$1/(-r_s)$	0,013	0,016	0,026	0,029
α-Δεξτρίνη (I = 12,7 mg/dm ³)				
C_s (g/dm ³)	33	10	3,6	1,6
$-r_s$ (σχετική)	110,2	80,75	52,25	30,4
$1/C_s$ (dm ³ /g)	0,03	0,1	0,278	0,625
$1/(-r_s)$	0,009	0,012	0,019	0,033



❖ Η καταλάση βοοειδών έχει χρησιμοποιηθεί για την επιτάχυνση της **διάσπασης του υπεροξειδίου του υδρογόνου** προς νερό και οξυγόνο. Η **συγκέντρωση** του υπεροξειδίου του υδρογόνου δίνεται στον παρακάτω πίνακα ως συνάρτηση του **χρόνου** για ένα μίγμα αντίδρασης με σταθερό pH = 6,5 στους 30 °C.

(α) Προσδιορίστε τις **σταθερές Michaelis-Menten**, V_{max} και K_M .

(β) Αν η **συγκέντρωση του ενζύμου** τριπλασιαστεί, πόση θα γίνει η συγκέντρωση του υποστρώματος μετά από **20 min**;



t (min)	C_S (mol/lt)	C_{S0}/C_S (-)	$(1/t) \cdot \ln(C_{S0}/C_S)$ (1/min)	$C_S - C_{S0}$ (mol/lt)	$(C_S - C_{S0})/t$ (mol/(lt·min))
0	0,02	1	-	0	-
10	0,01775	1,127	0,0119	-0,00225	-0,00023
20	0,0158	1,266	0,0118	-0,0042	-0,00021
50	0,0106	1,887	0,01270	-0,0094	-0,00019
100	0,005	4	0,01386	-0,015	-0,00015

- ❖ Το υπόστρωμα A και το ένζυμο E τροφοδοτούνται σε ένα CSTR αντιδραστήρα όγκου $V=6$ lt. Από τις συγκεντρώσεις εισόδου και εξόδου και την ογκομετρική ροή, βρείτε μια εξίσωση που μπορεί να εκφράζει την κινητική της αντίδρασης του υποστρώματος A που καταλύεται από το ένζυμο E. Δίνονται:

C_{E0} , mol/liter	C_{A0} , mol/liter	C_A , mol/liter	v , liter/hr
0.02	0.2	0.04	3.0
0.01	0.3	0.15	4.0
0.001	0.69	0.60	1.2

$\tau=V/v_0$	$(E_t)(S)\tau/((S)+(K_M))$
2	0.01
1.5	0.001
5	0.0333

$$V = \frac{F_{A0} \cdot X}{-r_A} = \frac{F_{A0} - F_A}{-r_A} \quad \text{Διαιρώντας κατά μέλη με } v_0 \text{ παίρνουμε στο αριστερό μέλος την ταχύτητα χώρου } \tau \text{ και στο δεξί μέλος τις συγκεντρώσεις.} \quad \tau = \frac{C_{A0} - C_A}{-r_A}$$

όπου $C_A = (S)$ η συγκέντρωση του υποστρώματος A.

Η εξίσωση Michaelis-Menten δίνεται από τον τύπο 7.25 του βιβλίου:
$$-r_A = \frac{k_{cat} \cdot (E_t) \cdot (S)}{(S) + K_M}$$

Αντικαθιστώντας το $-r_A$ στον τύπο που δίνει τον όγκο του αντιδραστήρα και λύνοντας προς (S) παίρνουμε:

$$(S) = -K_M + k_{cat} \cdot \left(\frac{(E_t) \cdot (S) \cdot \tau}{(S_0) - (S)} \right) \quad \text{που είναι της μορφής: } y=ax+b, \text{ με } a=k_{cat} \text{ και } b=-K_M$$

- ❖ Το υπόστρωμα A και το ένζυμο E τροφοδοτούνται σε ένα CSTR αντιδραστήρα όγκου $V=6$ lt. Από τις συγκεντρώσεις εισόδου και εξόδου και την ογκομετρική ροή, βρείτε μια εξίσωση που μπορεί να εκφράζει την κινητική της αντίδρασης του υποστρώματος A που καταλύεται από το ένζυμο E. Δίνονται:

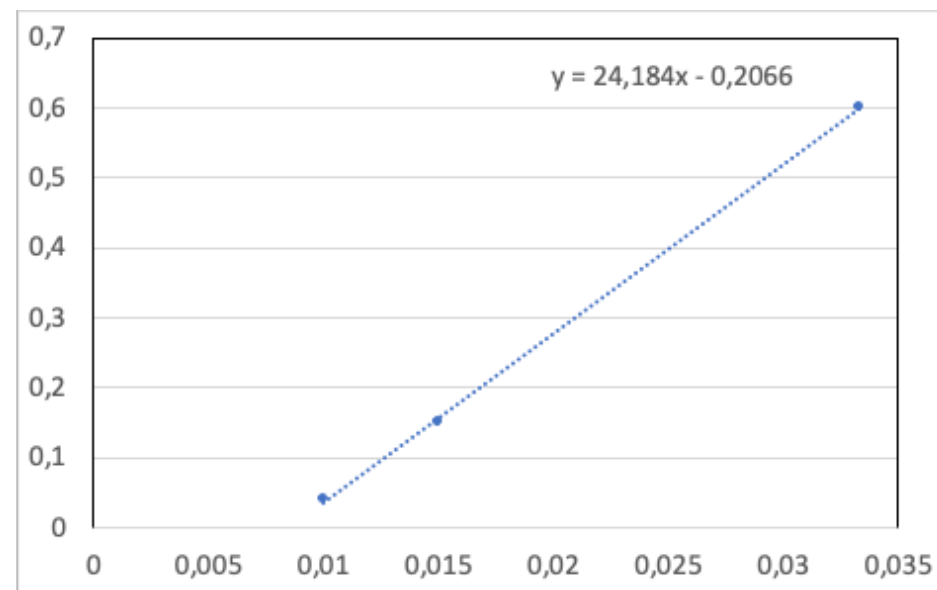
C_{E0} , mol/liter	C_{A0} , mol/liter	C_A , mol/liter	v , liter/hr
0.02	0.2	0.04	3.0
0.01	0.3	0.15	4.0
0.001	0.69	0.60	1.2

$\tau=V/v_0$	$(E_e)(S)\tau/((S_0)-(S))$
2	0.01
1.5	0.015
5	0.0333

$$(S) = -KM + k_{cat} \cdot \left(\frac{(Et) \cdot (S) \cdot \tau}{(S_0) - (S)} \right)$$

Σε αυτή την εξίσωση η συγκέντρωση του υποστρώματος (S) είναι πρώτης τάξης σε σχέση με το κλάσμα $(E_e)(S)\tau/((S_0)-(S))$. Κάνοντας λοιπόν τη γραφική παράσταση, μπορούμε να βρούμε τα $-KM$ και k_{cat}

$$-r_A = \frac{k_{cat} \cdot (Et) \cdot (S)}{(S) + KM} = \frac{24.2 \cdot (Et) \cdot (S)}{(S) + 0.2}$$



- ❖ Το υπόστρωμα A και το ένζυμο E τροφοδοτούνται σε ένα αντιδραστήρα διαλείποντος έργου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις όπου και λαμβάνουν χώρα οι αντίστοιχες αντιδράσεις. Σε συγκεκριμένο χρόνο ο αντιδραστήρας ψύχεται, οι αντιδράσεις σταματούν και αναλύονται τα περιεχόμενα του. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παρακάτω, βρείτε μια εξίσωση που μπορεί να εκφράζει την κινητική της αντίδρασης του υποστρώματος A που καταλύεται από το ένζυμο E. Δίνονται:

Run	C_{E0} , mol/m ³	C_{A0} , mol/m ³	C_A , mol/m ³	t , hr
1	3	400	10	1
2	2	200	5	1
3	1	20	1	1

(α) Για αντιδραστήρα διαλείποντος έργου και κινητική Monod: $\frac{dN_S}{dt} = r_S \cdot V$

Επειδή πρόκειται για αντίδραση που λαμβάνει χώρα στην υγρή φάση: $\frac{dC_S}{dt} = r_S$

που οδηγεί στην: $\frac{dC_S}{dt} = -\frac{V_{\max} \cdot C_S}{K_M + C_S}$

Εδώ θυμίζουμε ότι $V_{\max} = k_{\text{cat}} \cdot C_E$ για δεδομένη ολική συγκέντρωση ενζύμου

- ❖ Το υπόστρωμα A και το ένζυμο E τροφοδοτούνται σε ένα αντιδραστήρα διαλείποντα έργου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις όπου και λαμβάνουν χώρα οι αντίστοιχες αντιδράσεις. Σε συγκεκριμένο χρόνο ο αντιδραστήρας ψύχεται, οι αντιδράσεις σταματούν και αναλύονται τα περιεχόμενα του. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παρακάτω, βρείτε μια εξίσωση που μπορεί να εκφράζει την κινητική της αντίδρασης του υποστρώματος A που καταλύεται από το ένζυμο E. Δίνονται:

Run	C_{E0} , mol/m ³	C_{A0} , mol/m ³	C_A , mol/m ³	t, hr
1	3	400	10	1
2	2	200	5	1
3	1	20	1	1

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{V_{\max} \cdot C_S}{K_M + C_S}$$

(β) Μετασχηματίζοντας και ολοκληρώνοντας με αρχική συνθήκη για $t = 0$ τη $C_S = C_{S0}$, παίρνουμε κατά σειρά:

$$\frac{K_M + C_S}{C_S} \cdot dC_S = -V_{\max} \cdot dt \rightarrow \left(\frac{K_M}{C_S} + 1\right) \cdot dC_S = -V_{\max} \cdot dt \rightarrow$$

$$\int_{C_{S0}}^{C_S} \left(\frac{K_M}{C_S} + 1\right) \cdot dC_S = \int_0^t -V_{\max} \cdot dt \rightarrow [K_M \cdot \ln C_S + C_S]_{C_{S0}}^{C_S} = -V_{\max} \cdot t \rightarrow$$

$$K_M \cdot \ln\left(\frac{C_S}{C_{S0}}\right) + C_S - C_{S0} = -V_{\max} \cdot t \quad \text{που μπορεί να γραφεί ως:} \quad \frac{1}{t} \cdot \ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right) = \frac{V_{\max}}{K_M} - \frac{C_{S0} - C_S}{K_M \cdot t}$$

$$\text{που είναι της μορφής: } y=ax+b, \text{ όπου: } y = \frac{1}{t} \cdot \ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right), x = \frac{C_{S0}-C_S}{t}, a = -\frac{1}{K_M}, b = \frac{V_{\max}}{K_M}$$

- ❖ Το υπόστρωμα A και το ένζυμο E τροφοδοτούνται σε ένα αντιδραστήρα διαλείποντα έργου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις όπου και λαμβάνουν χώρα οι αντίστοιχες αντιδράσεις. Σε συγκεκριμένο χρόνο ο αντιδραστήρας ψύχεται, οι αντιδράσεις σταματούν και αναλύονται τα περιεχόμενα του. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παρακάτω, βρείτε μια εξίσωση που μπορεί να εκφράζει την κινητική της αντίδρασης του υποστρώματος A που καταλύεται από το ένζυμο E. Δίνονται:

$$\frac{1}{t} \cdot \ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right) = \frac{C_S - C_{S0}}{K_M \cdot t} + \frac{V_{\max}}{K_M}$$

$$V_{\max} = k_{\text{cat}} \cdot C_E$$

$$\frac{1}{t} \cdot \ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right) = \frac{C_S - C_{S0}}{K_M \cdot t} + \frac{k_{\text{cat}} \cdot C_E}{K_M}$$

Διαιρούμε κατά μέλη με $\ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)$

$$\frac{1}{t} = \frac{C_S - C_{S0}}{K_M \cdot t \cdot \ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)} + \frac{k_{\text{cat}} \cdot C_E}{K_M \cdot \ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)}$$

Πολλαπλασιάζουμε κατά μέλη με $t \cdot K_M$

$$K_M = \frac{C_S - C_{S0}}{\ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)} + \frac{k_{\text{cat}} \cdot C_E \cdot t}{\ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)}$$

$$\frac{C_{S0} - C_S}{\ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)} = \frac{k_{\text{cat}} \cdot C_E \cdot t}{\ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)} - K_M$$

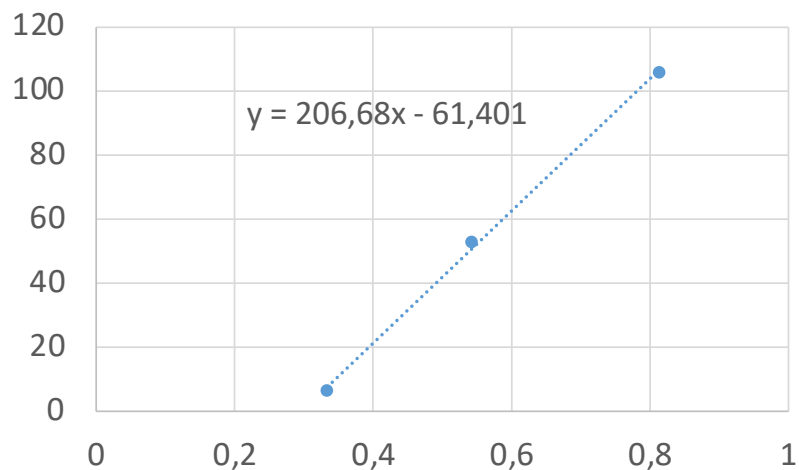
που είναι της μορφής: $y = ax + b$, με $a = k_{\text{cat}}$ και $b = -K_M$
 όπου: $y = \frac{C_{S0} - C_S}{\ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)}$, $x = \frac{C_E \cdot t}{\ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right)}$

- ❖ Το υπόστρωμα A και το ένζυμο E τροφοδοτούνται σε ένα αντιδραστήρα διαλείποντα έργου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις όπου και λαμβάνουν χώρα οι αντίστοιχες αντιδράσεις. Σε συγκεκριμένο χρόνο ο αντιδραστήρας ψύχεται, οι αντιδράσεις σταματούν και αναλύονται τα περιεχόμενα του. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παρακάτω, βρείτε μια εξίσωση που μπορεί να εκφράζει την κινητική της αντίδρασης του υποστρώματος A που καταλύεται από το ένζυμο E. Δίνονται:

$$y = ax + b, \text{ με } a = k_{cat} \text{ και } b = -K_M$$

$$\text{όπου: } y = \frac{C_{S0} - C_S}{\ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right)}, \quad x = \frac{C_E \cdot t}{\ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right)}$$

CE	CS0	CS	t	$\frac{C_{S0} - C_S}{\ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right)}$	$\frac{C_E \cdot t}{\ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right)}$
3	400	10	1	105,723162	0,81325509
2	200	5	1	52,86158098	0,54217006
1	20	1	1	6,342355813	0,3338082



$$a = k_{cat} = 206,68 \text{ και } b = -K_M = -61,4$$

Επομένως:

$$-r_A = \frac{k_{cat} \cdot (Et) \cdot (S)}{(S) + K_M} = \frac{206,7 \cdot (Et) \cdot (S)}{(S) + 61,4}$$

- ❖ Το ένζυμο E καταλύει τη μετατροπή του υποστρώματος A. Για να εξετάσουμε αν η ουσία B δρα παρεμποδιστικά, κάναμε δύο πειράματα σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου, ένα παρουσία του B και ένα απουσία του B. Από τα δεδομένα που δίνονται βρείτε: α) μια εξίσωση κινητικής της αντίδρασης μετατροπής του A, β) ποιος είναι ο ρόλος του B σε αυτή τη μετατροπή, γ) προτείνετε ένα μηχανισμό της αντίδρασης.

Πείραμα 1: $C_{A0}=600 \text{ mol/m}^3, C_{E0}= 8 \text{ gm/m}^3$, απουσία B

Πείραμα 2: $C_{A0}=800 \text{ mol/m}^3, C_{E0}= 8 \text{ gm/m}^3, C_B=C_{B0}=100 \text{ mol/m}^3$

C_A (mol/l)	350	160	40	10
t (hr)	1	2	3	4

C_A (mol/l)	560	340	180	80	30
t (hr)	1	2	3	4	5

Αρχικά θέλουμε να υπολογίσουμε τα K_M, V_{max} , επομένως παίρνουμε την εξίσωση στην ανάλογη μορφή:

$$\frac{1}{t} \cdot \ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right) = \frac{V_{max}}{K_M} - \frac{C_{S0} - C_S}{K_M \cdot t} \quad \text{που είναι της μορφής: } y=ax+b, \text{ όπου: } y = \frac{1}{t} \cdot \ln \left(\frac{C_{S0}}{C_S} \right), x = \frac{C_{S0}-C_S}{t}, a=-\frac{1}{K_M}, b = \frac{V_{max}}{K_M}$$

Έπειτα επεξεργαζόμαστε τα δεδομένα του πίνακα, δημιουργώντας νέες στήλες:

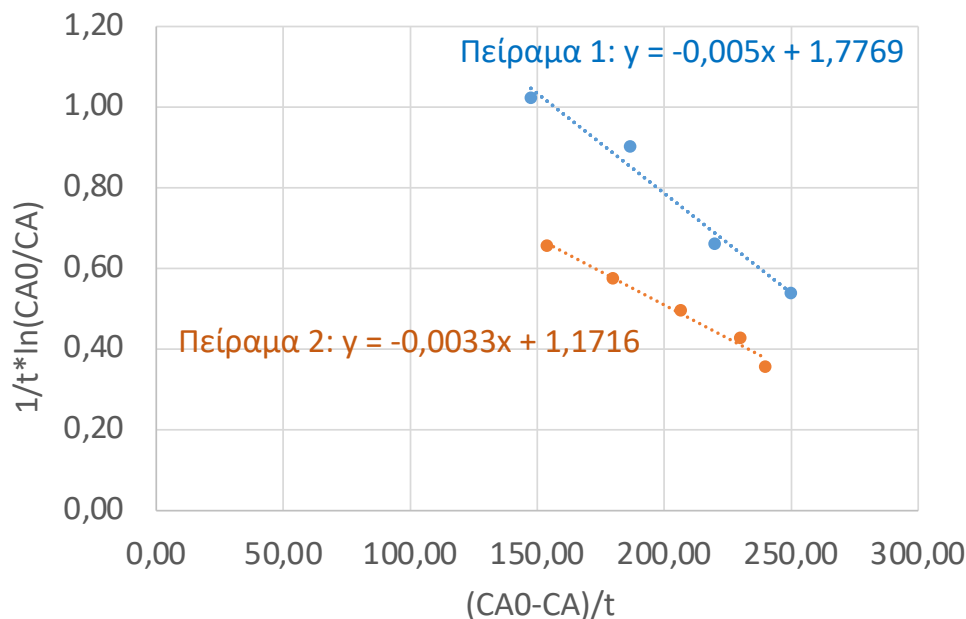
Πείραμα 1

t	CA	1/t*ln(CA0/CA)	CA0-CA/t
0	600		
1	350	0,54	250,00
2	160	0,66	220,00
3	40	0,90	186,67
4	10	1,02	147,50

Πείραμα 2

t	CA	1/t*ln(CA0/CA)	CA0-CA/t
0,00	800,00		
1,00	560,00	0,36	240,00
2,00	340,00	0,43	230,00
3,00	180,00	0,50	206,67
4,00	80,00	0,58	180,00
5,00	30,00	0,66	154,00

Παράδειγμα 7.10 (2/3)



$$y=ax+b, \text{ όπου: } y = \frac{1}{t} \cdot \ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right), x = \frac{C_{S0}-C_S}{t}, a = -\frac{1}{K_M}, b = \frac{V_{\max}}{K_M}$$

Επομένως:

πείραμα 1: $K_M=200, V_{\max}=355,38$

πείραμα 2: $K_M=303,03, V_{\max}=355,03$

Θυμόμαστε τώρα ότι η γενική μορφή της εξίσωσης Michaelis-Menten είναι: $-r_S = \frac{V_{\max} \cdot C_S}{K_M + C_S}$

Που μπορεί και να γραφτεί και ως εξής: $\frac{1}{-r_S} = \frac{K_M + C_S}{V_{\max} \cdot C_S} \rightarrow \frac{1}{-r_S} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_M}{V_{\max} \cdot C_S}$

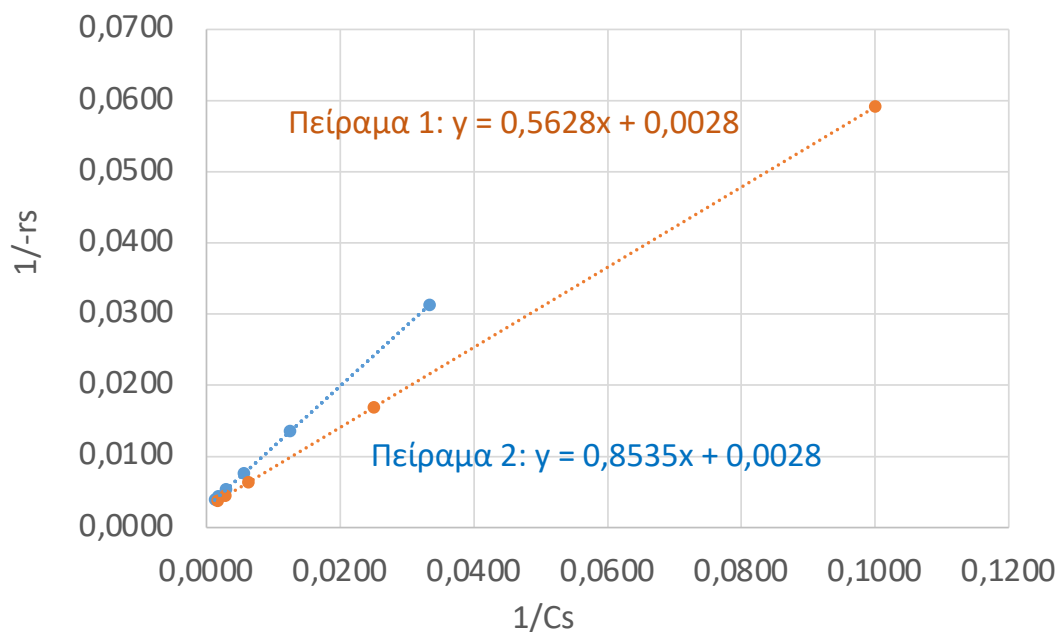
Που έχει επίσης τη γενική μορφή $y=ax+b$: $\frac{1}{-r_S} = A \cdot \frac{1}{C_S} + B$

Πείραμα 1

t	Cs	1/Cs	1/rs
0	600	0,0017	0,0038
1	350	0,0029	0,0044
2	160	0,0063	0,0063
3	40	0,0250	0,0169
4	10	0,1000	0,0591

Πείραμα 2

t	Cs	1/Cs	1/rs
0,00	800,00	0,0013	0,0039
1,00	560,00	0,0018	0,0043
2,00	340,00	0,0029	0,0053
3,00	180,00	0,0056	0,0076
4,00	80,00	0,0125	0,0135
5,00	30,00	0,0333	0,0313



Κάνοντας τη γραφική παράσταση του $1/-r_s$ ως προς $1/C_s$, παρατηρούμε ότι οι δύο ευθείες που αντιστοιχούν στα δύο πειράματα χωρίς (1) και με (2) έχουν ίδια τεταγμένη επί την αρχή ενώ η κλίση αυξάνει, επομένως έχουμε ανταγωνιστική παρεμπόδιση.

$$-r_s = \frac{355 \cdot C_s}{200 + C_s} \quad \text{Απουσία Β}$$

$$-r_s = \frac{355 \cdot C_s}{303 + C_s} \quad \text{Παρουσία Β}$$

Η κυτταρίνη μπορεί να μετατραπεί σε σάκχαρα με τη χρήση του ενζύμου κυτταρινάση, με την κελλοβιόζη (cellobiose) και τη γλυκόζη (glucose) να δρουν παρεμποδιστικά. Για να μελετηθεί η κινητική της αντίδρασης, έλαβε χώρα ένας αριθμός πειραμάτων σε αναδευόμενο αντιδραστήρα στους 50°C, με συγκέντρωση κυτταρίνης ($C_{A0} = 25 \text{ kg/m}^3$), ενζύμου ($C_{E0} = 0.01 \text{ kg/m}^3$) σε όλα τα πειράματα και με διάφορους παρεμποδιστές. Τα αποτελέσματα έχουν ως εξής:

α) βρείτε την κινητική αποπολυμερισμού της κυτταρίνης χωρίς την παρουσία παρεμποδιστή.

β) ποιος είναι ο ρόλος της κελλοβιόζης στον αποπολυμερισμό της κυτταρίνης; (είδος παρεμποδισμού και εξίσωση κινητικής)

Πείραμα	Συγκέντρωση εξόδου κυτταρίνης, C_A , kg/m^3	Σειρά 1, άνευ παρεμπόδισης, τ , min	Σειρά 2, με κελλοβιόζη, $C_{B0}=5$ kg/m^3 , τ , min	Σειρά 3, με γλυκόζη, $C_{G0}=10 \text{ kg/m}^3$, τ , min
1	1,5	587	940	1020
2	4,5	279	387	433
3	9	171	213	250
4	21	36	40	50

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{V_{\max} \cdot C_S}{K_M + C_S}$$

Αν προσαρμόσουμε τη κλασική εξίσωση (Michaelis-Menten): $-r_S = \frac{k_{\text{cat}} \cdot C_{E0} \cdot C_S}{K_M + C_S}$

Στη σχεδιαστική εξίσωση ενός αναδευόμενου αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας: $\tau = \frac{C_{A0} - C_A}{-r_A}$

$$\tau = \frac{C_{A0} - C_A}{-r_A} = \frac{(C_{A0} - C_A) \cdot (K_M + C_A)}{k_{\text{cat}} \cdot C_{E0} \cdot C_A}$$

$$k_{\text{cat}} \cdot C_{E0} \cdot \tau = \frac{(C_{A0} - C_A) \cdot (K_M + C_A)}{C_A}$$

Που μπορεί να πάρει τη μορφή:

$$C_A = -K_M + \frac{k_{\text{cat}} \cdot C_{E0} \cdot C_A \cdot \tau}{(C_{A0} - C_A)}$$

Όπου S=substrate είναι η κυτταρίνη A

Η κυτταρίνη μπορεί να μετατραπεί σε σάκχαρα με τη χρήση του ενζύμου κυτταρινάση, με την κελλοβιόζη (cellobiose) και τη γλυκόζη (glucose) να δρουν παρεμποδιστικά. Για να μελετηθεί η κινητική της αντίδρασης, έλαβε χώρα ένας αριθμός πειραμάτων σε αναδευόμενο αντιδραστήρα στους 50°C, με συγκέντρωση κυτταρίνης ($C_{A0} = 25 \text{ kg/m}^3$), ενζύμου ($C_{E0} = 0.01 \text{ kg/m}^3$) σε όλα τα πειράματα και με διάφορους παρεμποδιστές. Τα αποτελέσματα έχουν ως εξής:

Σχηματίζοντας το διάγραμμα C_A ως προς $C_{E0} \cdot C_A \cdot \tau / (C_{A0} - C_A)$, μπορούμε να βρούμε k_{cat} (κλίση) και K_M (τεταγμένη)

Και στις 2 περιπτώσεις η k_{cat} (κλίση) είναι ίση με 13. Το γεγονός ότι έχουν ίδια κλίση και είναι παράλληλες υποδηλώνει ότι υπάρχει ανταγωνιστική παρεμπόδιση με την κελλοβιόζη.

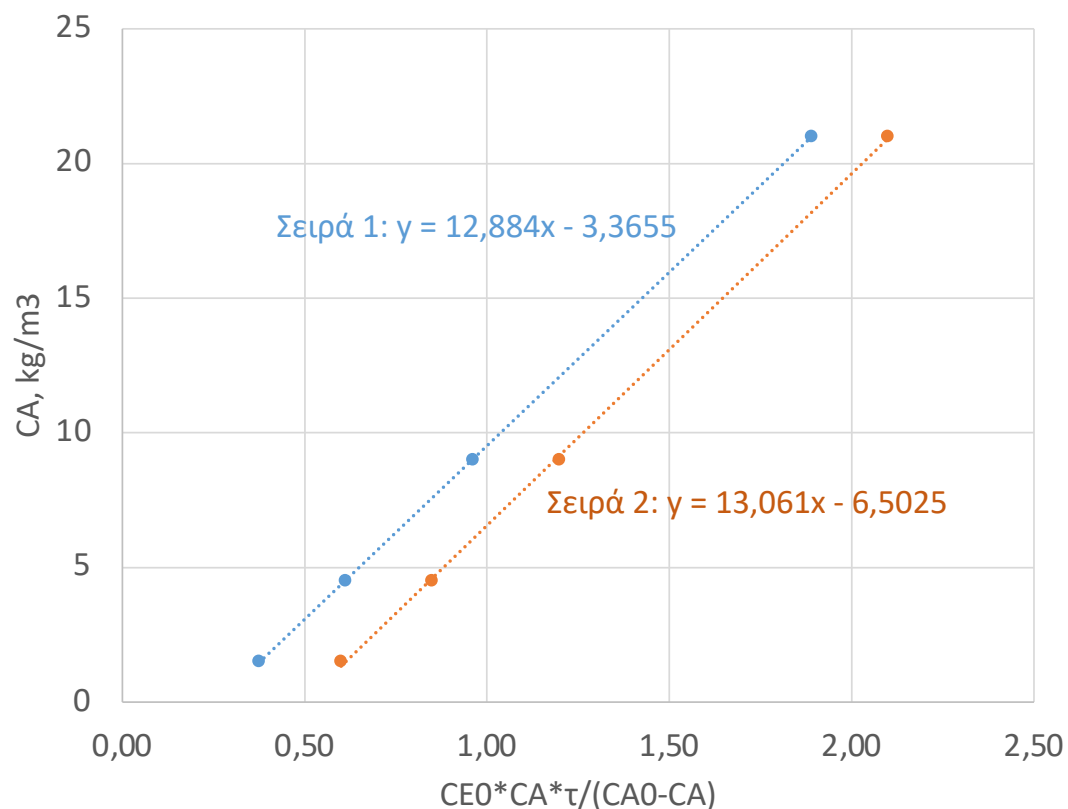
$$-r_S = \frac{k_{cat} \cdot C_{E0} \cdot C_S}{K_M + C_S}$$

$$-r_S = \frac{13 \cdot 0,01 \cdot C_S}{3,36 + C_S} = \frac{0,13 \cdot C_S}{3,36 + C_S}$$

$$-r_S = \frac{13 \cdot 0,01 \cdot C_S}{6,5 + C_S} = \frac{0,13 \cdot C_S}{6,5 + C_S}$$

Ανευ παρεμπόδισης

Παρουσία κελλοβιόζης



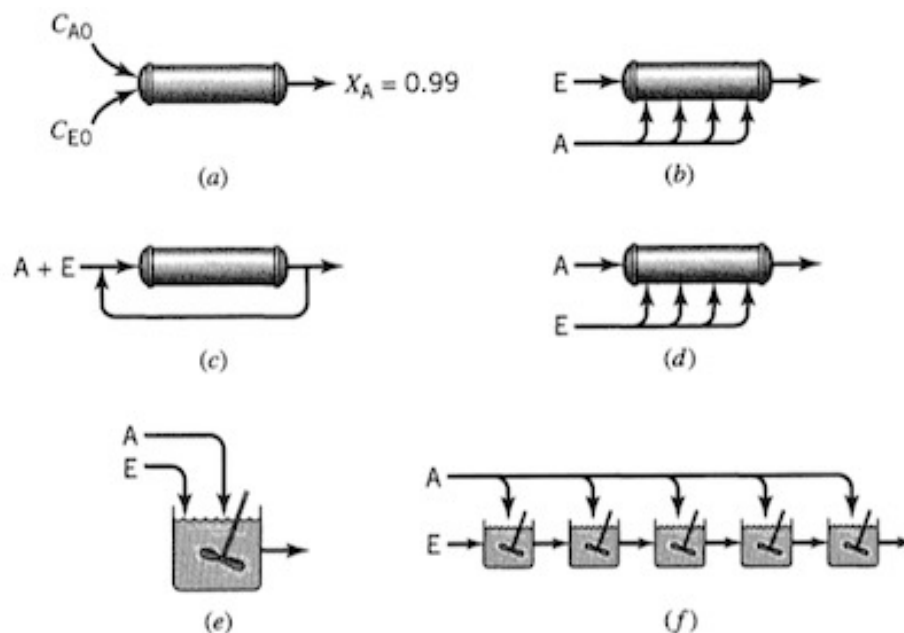
Παράδειγμα 7.12

Λαμβάνοντας υπόψη ότι η εξίσωση Michaelis-Menten αντιπροσωπεύει αντιδράσεις ενζύμου-υποστρώματος και λαμβάνοντας υπόψη τις παρακάτω εξισώσεις:



$$-r_S = \frac{k_{\text{cat}} \cdot C_{E0} \cdot C_S}{K_M + C_S}$$

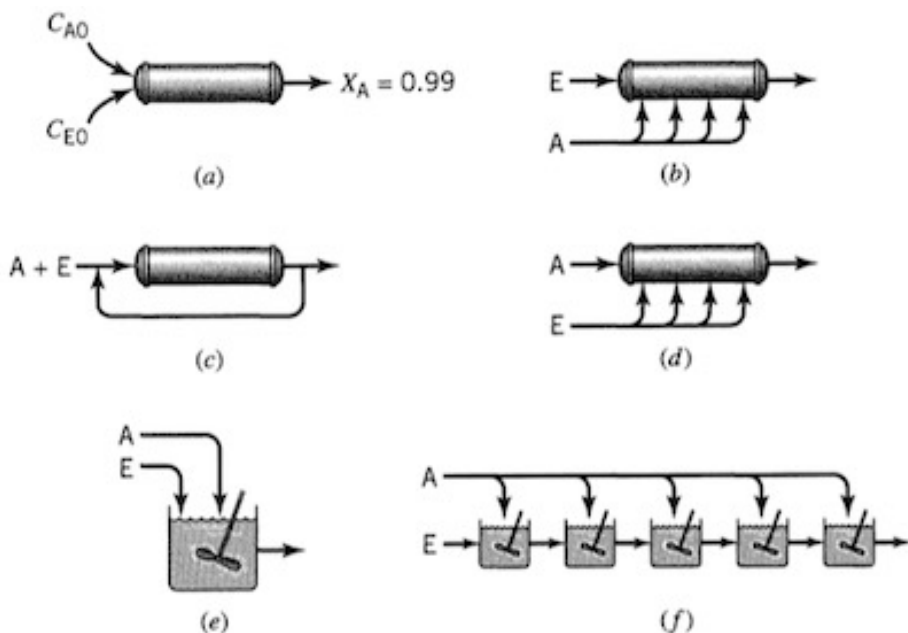
Ποιες από τις παρακάτω επιλογές εισαγωγής των αντιδρώντων (ενζυμο και υπόστρωμα) θα δώσει καλά αποτελέσματα (δηλαδή ελάχιστο όγκο αντιδραστήρα) και ποιες όχι; Όπως φαίνεται στα σχήματα, η τροφοδοσία θα γίνεται με δύο ρεύματα C_{A0} και C_{E0} :



Λαμβάνοντας υπόψη ότι η εξίσωση Michaelis-Menten αντιπροσωπεύει αντιδράσεις ενζύμου-υποστρώματος και λαμβάνοντας υπόψη τις παρακάτω εξισώσεις:



Ποιες από τις παρακάτω επιλογές εισαγωγής των αντιδρώντων (ενζυμο και υπόστρωμα) θα δώσει καλά αποτελέσματα (δηλαδή ελάχιστο όγκο αντιδραστήρα) και ποιες όχι; Όπως φαίνεται στα σχήματα, η τροφοδοσία θα γίνεται με δύο ρεύματα C_{A0} και C_{E0} :



Για την κινητική που περιγράφεται από την εξίσωση Michaelis-Menten ο ρυθμός αντίδρασης είναι 1^{ης} τάξης ως προς τη συγκέντρωση του ενζύμου E και μεταξύ μηδενικής και 1^{ης} τάξης ως προς τη συγκέντρωση του υποστρώματος A (ή S). Επομένως, η εξάρτηση του ρυθμού αντίδρασης από τη συγκέντρωση του ενζύμου E είναι πιο ισχυρή σε σχέση με την εξάρτηση από τη συγκέντρωση του υποστρώματος A. Έτσι, θα πρέπει να διατηρήσουμε τη συγκέντρωση του E στην υψηλότερη δυνατή τιμή ώστε να μεγιστοποιήσουμε το ρυθμό αντίδρασης του A.

Αυτό συμβαίνει στις περιπτώσεις b, f ενώ αντίθετα οι επιλογές a, c, d, e είναι ακατάλληλες για την περίπτωση που εξετάζουμε