



Αρχές Βιοτεχνολογίας Τροφίμων

Ενότητα 6: Συνεχής Καλλιέργεια (Continuous Culture)(4/5), 2ΔΩ

Τμήμα: Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Διδάσκων: Δρ. Σεραφείμ Παπανικολαου



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης





Μαθησιακοί Στόχοι

- Ημισυνεχής τροφοδοτούμενη καλλιέργεια
- Συνεχής καλλιέργεια
- Στοιχεία τεχνολογίας
- Στοιχεία ενζυμικών διεργασιών
- Προτυποποίηση (μοντελοποίηση) βιοδιεργασιών



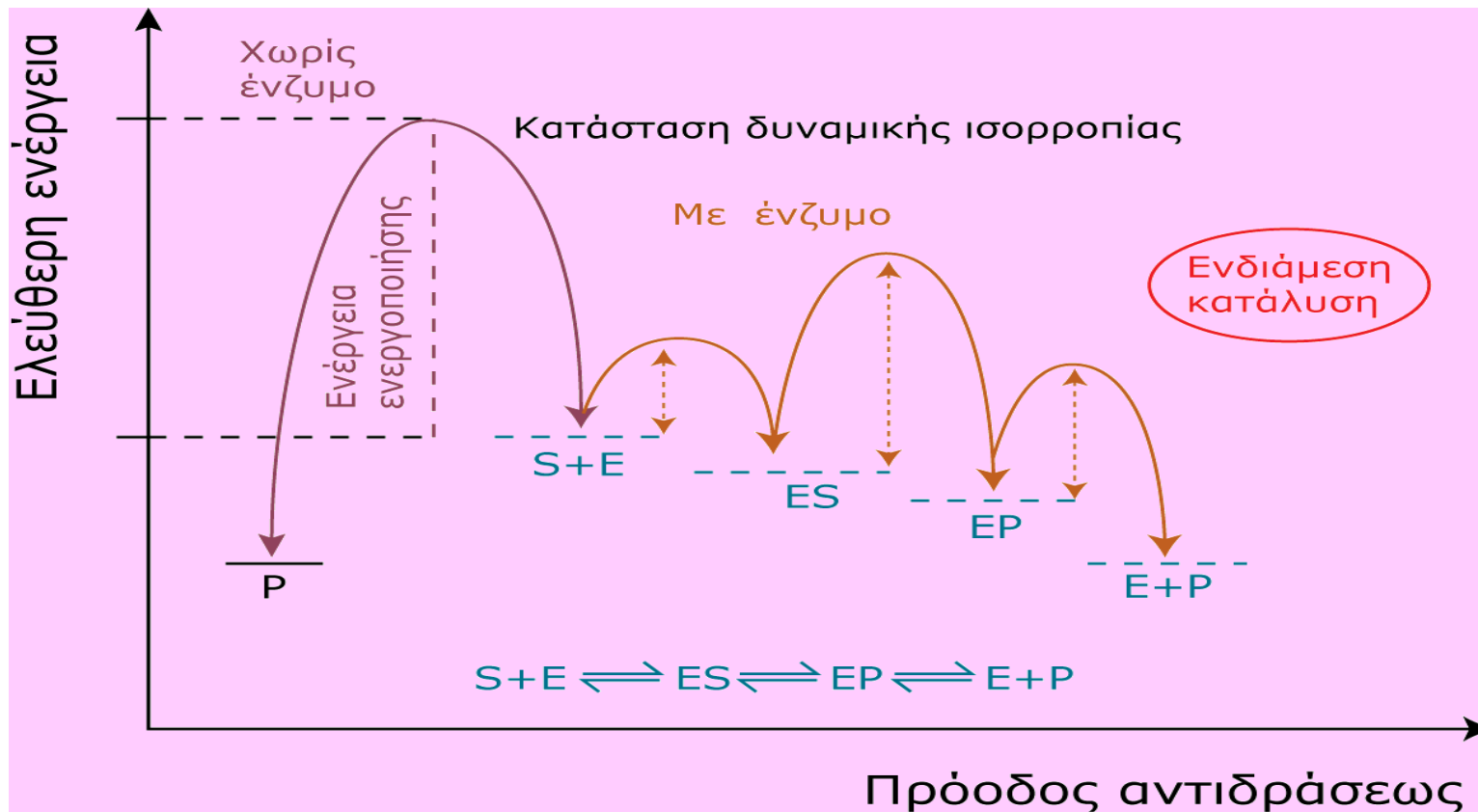
Λέξεις Κλειδιά

- Ημισυνεχής τροφοδοτούμενη καλλιέργεια
- Συνεχής καλλιέργεια
- Ενζυμική τεχνολογία
- Προτυπτοποίηση (μοντελοποίηση) βιοδιεργασιών



Στοιχεία Ενζυμικής Βιοτεχνολογίας 1/2

- Μείωση ενέργειας ενεργοποίησης της αντίδρασης.

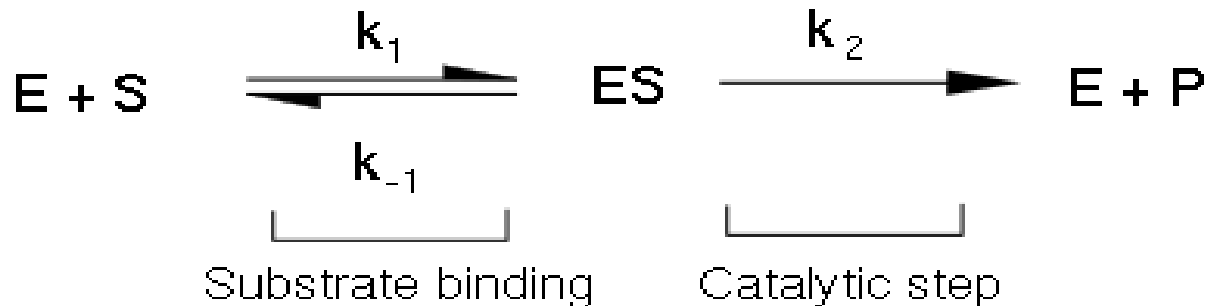


$10^8 - 10^{20}$ φορές γρηγορότερα πραγματοποιείται η αντίδραση



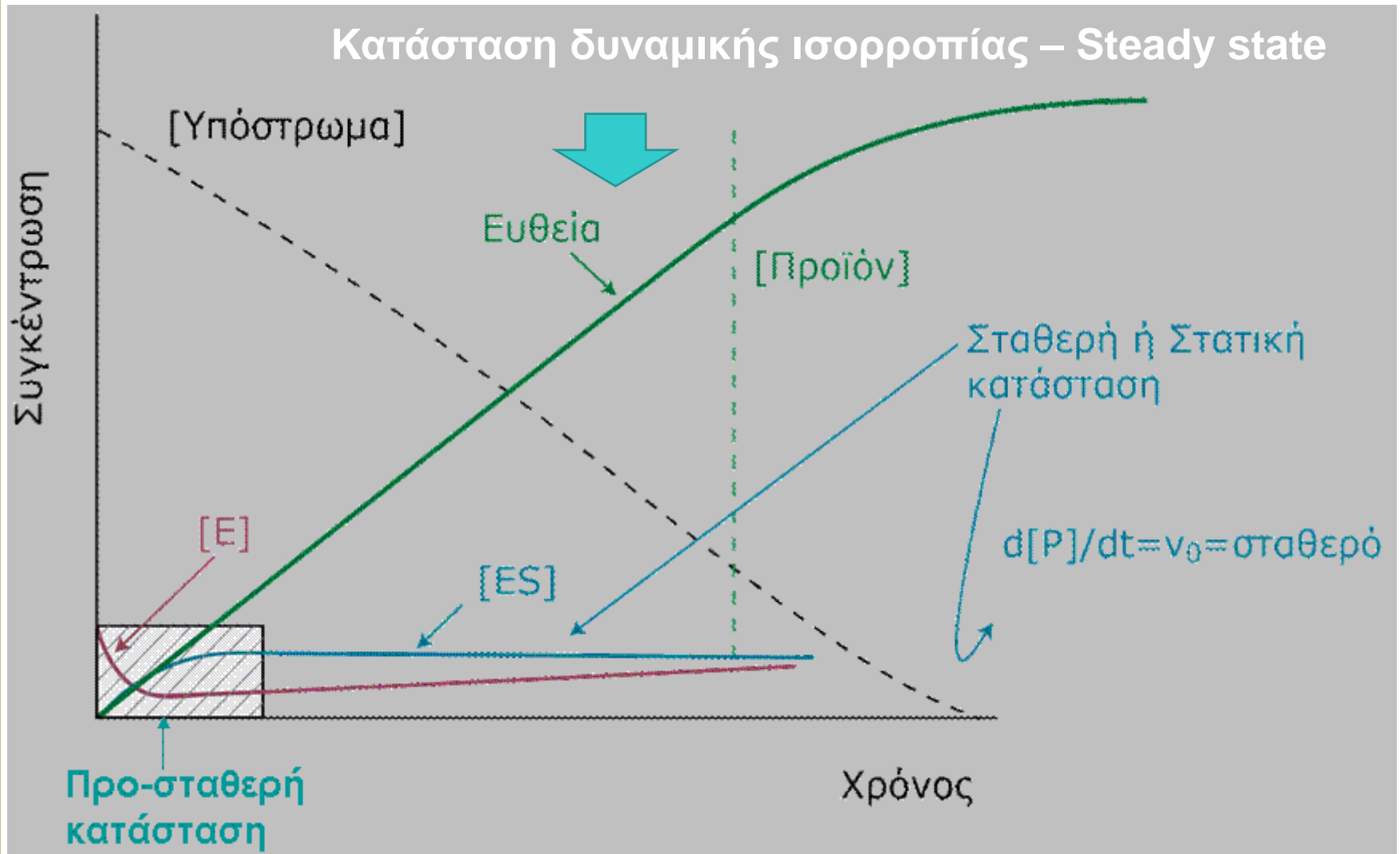
Στοιχεία Ενζυμικής Βιοτεχνολογίας 2/2

- Έστω ότι πραγματοποιείται μια ενζυμική αντίδραση σε ένα κλειστό σύστημα αντιδραστήρα, όπου τοποθετούμε μια συγκεκριμένη ποσότητα υποστρώματος (S) και μια συγκεκριμένη ποσότητα ενζύμου (E).
- Πραγματοποιείται η κάτωθι αντίδραση, όπου ως ES λογίζεται το συνδεδεμένο ένζυμο με το υπόστρωμα (σύμπλοκο).





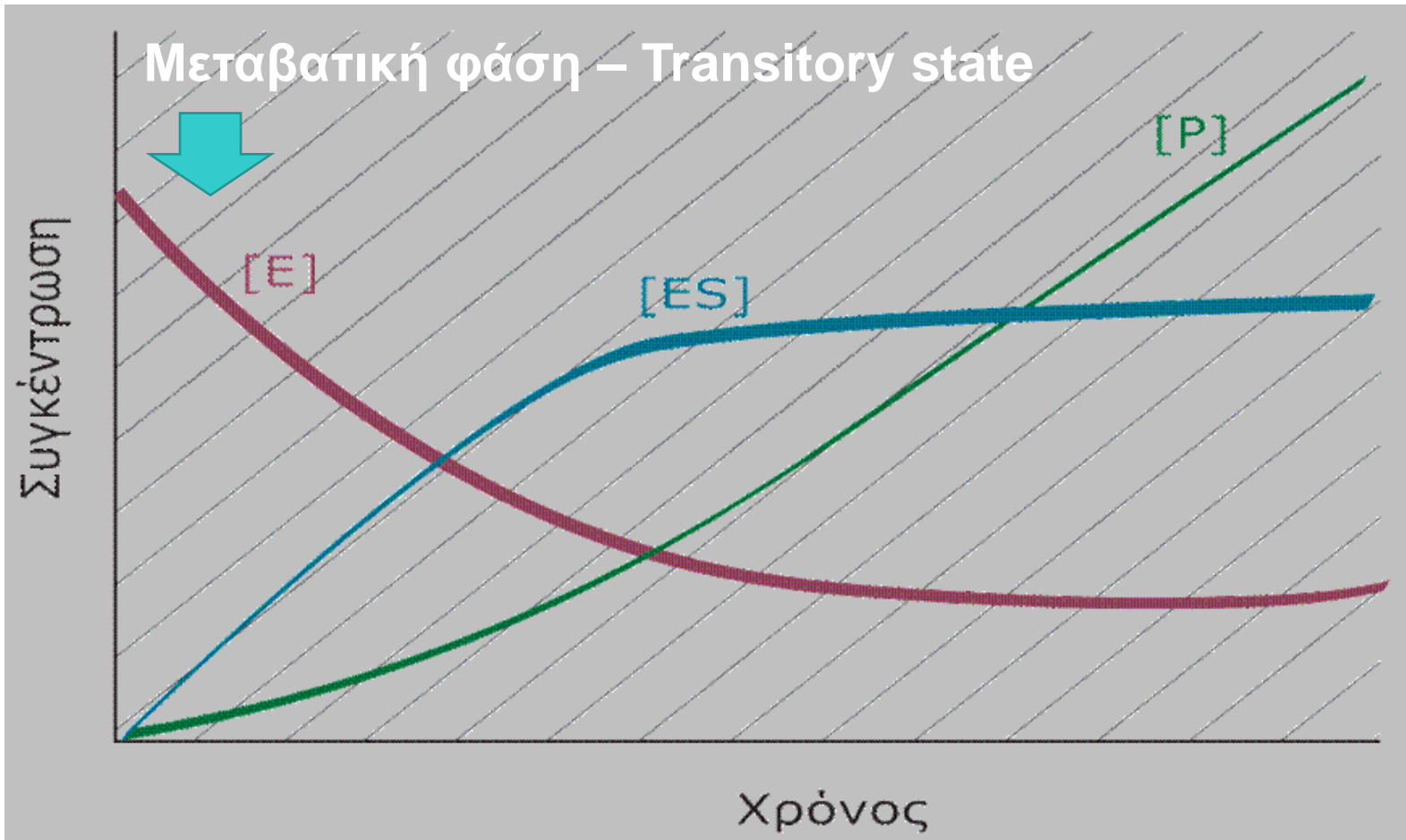
Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 1/16





Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 2/16

Προ – σταθερή Κατάσταση





Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 3/16

- Στην περίπτωση κατά την οποία η συγκέντρωση του ενζύμου είναι πολύ μικρότερη από αυτή του υποστρώματος $[(E) \ll (S)]$, όπως συμβαίνει στα περισσότερα από τα βιολογικά συστήματα, χωρίς σφάλμα γενικότητας, έχουμε την λεγόμενη «κατάσταση δυναμικής ισορροπίας» («σταθερή» κατάσταση) (steady-state), όπου η συγκέντρωση (ES) παραμένει πρακτικώς σταθερή.

$$\frac{d(ES)}{dt} \approx 0$$



Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 4/16

- Το ένζυμο στην ενζυμική αντίδραση ευρίσκεται είτε υπό ελεύθερη μορφή (E) είτε υπό μορφή συμπλόκου (ES), και η συνολική συγκέντρωση του ενζύμου (E_T) εκφράζεται ως ακολούθως:

$$(E_T) = (E) + (ES)$$

- Στην ενζυμική αντίδραση, κατά την Κ.Δ.Ι. ισχύουν τα εξής:

$$V_{\max} = k_{+2} \cdot (E_T)$$

- και $K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}$



Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 5/16

- Η ανωτέρω κινητική έκφραση δίδεται γενικώς υπό την κλασσική εξίσωση Michaelis-Menten, όπου v ή r είναι η ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης.

$$v = r_s = \frac{V_{\max} \cdot S}{K_m + S}$$

- Στη βιομηχανική ενζυμολογία, αν υποθεθεί ότι ένα υπόστρωμα αρχικής συγκεντρώσεως S_0 μετατρέπεται σε συγκέντρωση S με την πάροδο του χρόνου t , ως κλάσμα μετατροπής X ορίζεται η εξής ποσότητα:

$$X = \frac{S_0 - S}{S_0}$$

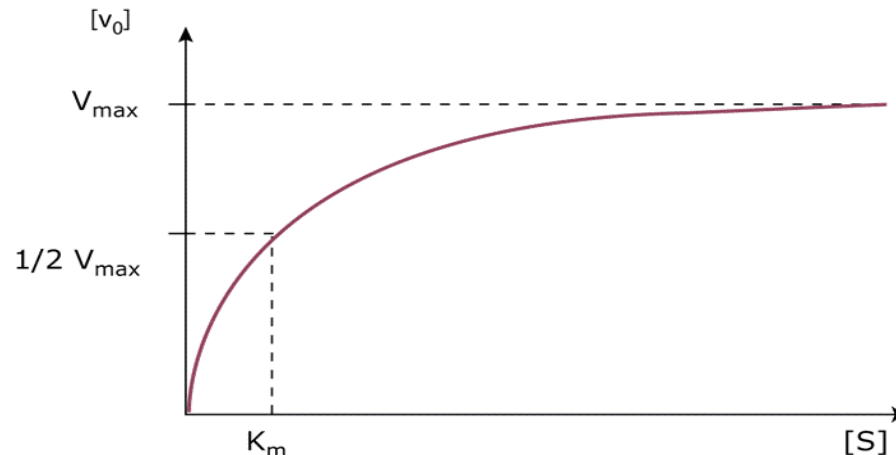


Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 6/16

Διερεύνηση της Εξισώσεως Michaelis-menten

- Όταν η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι πολύ μεγαλύτερη από το K_m , τότε πρακτικά έχουμε τη μέγιστη ταχύτητα της ενζυμικής αντιδράσεως, ενώ το K_M αντιστοιχεί στη συγκέντρωση υποστρώματος όπου επιτυγχάνεται η μισή της μέγιστης ταχύτητα αντιδράσεως.

Κορεσμός ενζύμου

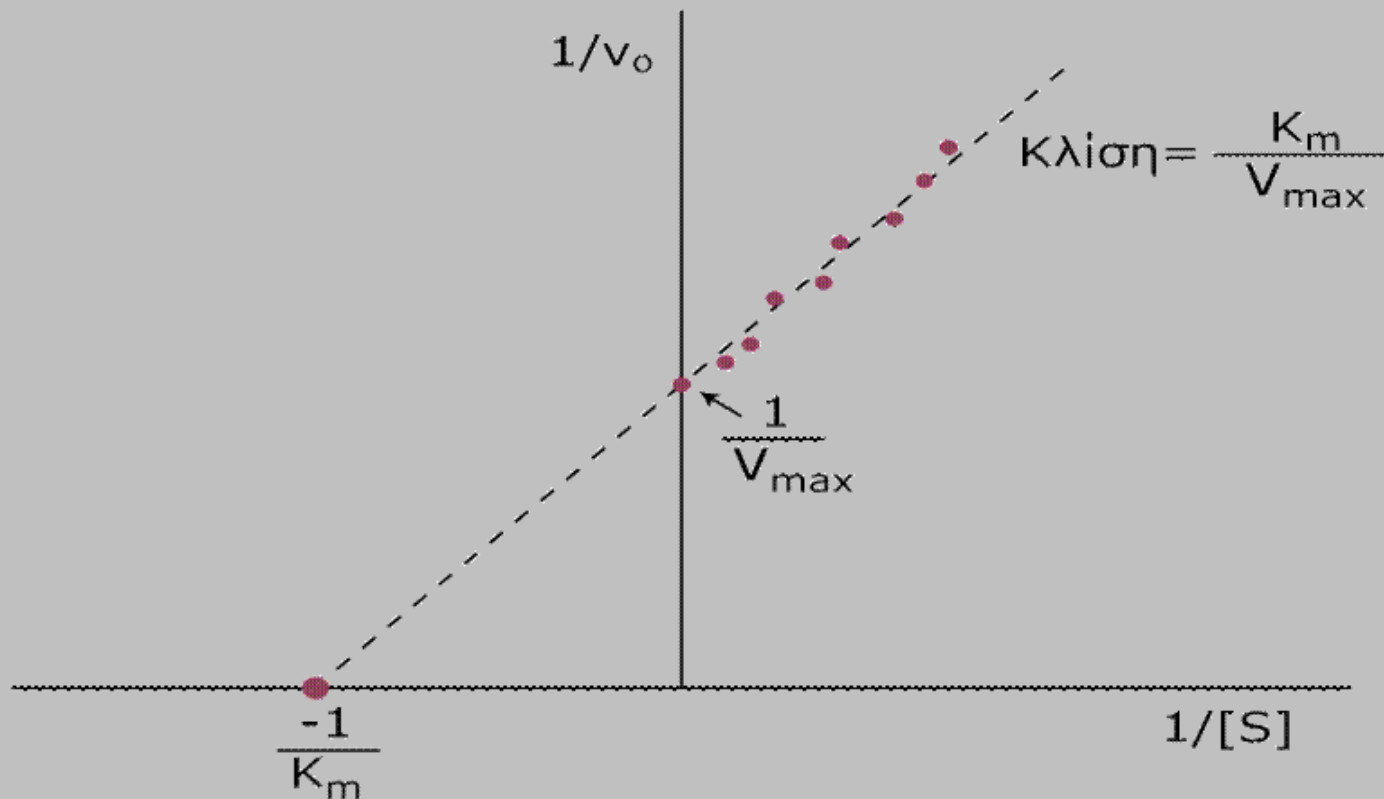




Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 7/16

Γραφική παράσταση Lineweaver-Burk

$$1/v_o = K_m/V_{max} \cdot 1/[S] + 1/V_{max}$$

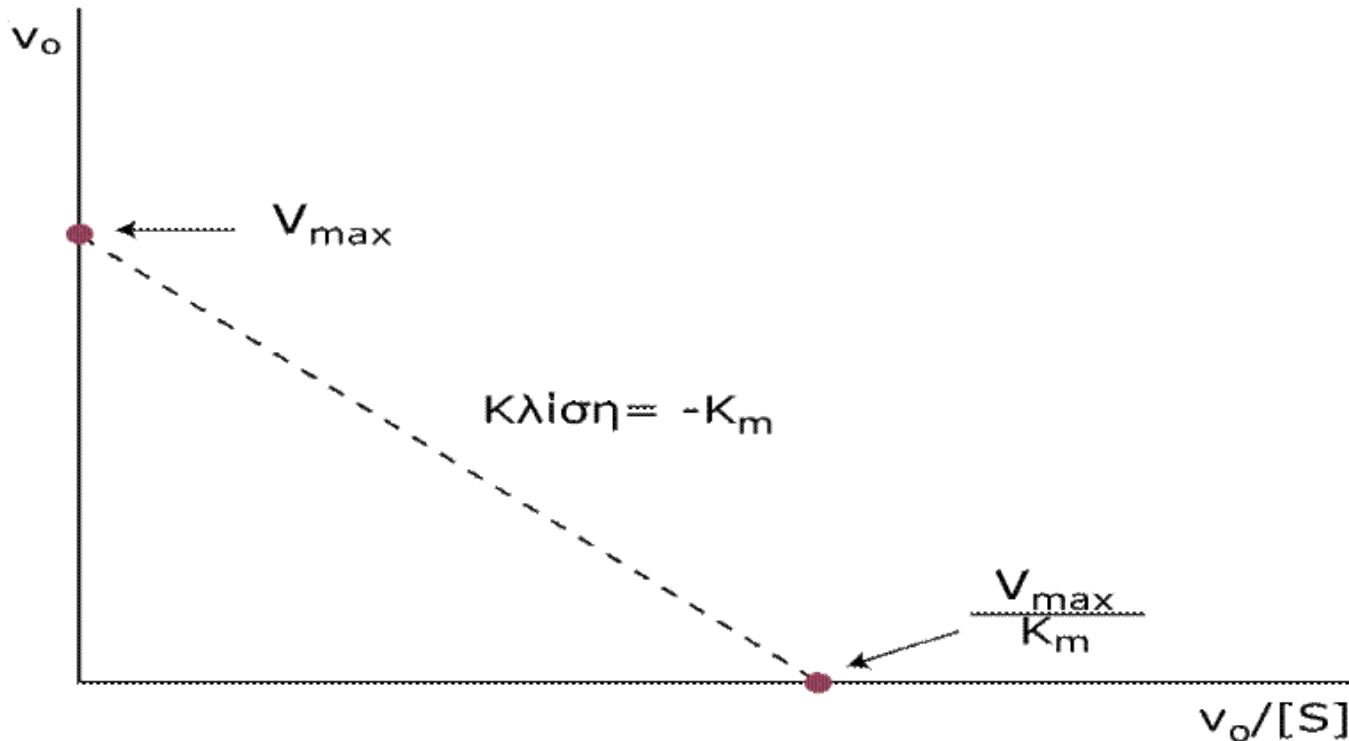




Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 8/16

Γραφική παράσταση Eadie - Hofstee

$$v_o = -K_m \frac{v_o}{[S]} + V_{\max}$$





Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 9/16

Επίδραση της Θερμοκρασίας στην Ενζυμική Κατάλυση

- Γενικώς στα περισσότερα από τα ένζυμα, μέχρι τις θερμοκρασίες των 55-60 °C, όπου από αυτό το θερμοκρασιακό επίπεδο και μετά άρχεται η μετουσίωση των πρωτεϊνών, η αύξηση της θερμοκρασίας επωάσεως μιας αντιδράσεως καταλυμένης από ένζυμο, αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας.
- Το Q10 στις ενζυμικές αντιδράσεις για το εύρος θερμοκρασιών όπου δεν παρατηρείται αλλοδομή των πρωτεϊνών, είναι περίπου 2.

$$Q_{10} = \frac{r_{T+10^{\circ}C}}{r_T} \approx 2$$



Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 10/1

- Όπως ειπώθηκε στα προηγούμενα εδάφια, η μέγιστη ταχύτητα της ενζυμικής αντιδράσεως είναι:

$$V_{\max} = k_{+2} \cdot (E_T)$$

- Η σταθερά της ταχύτητας αντιδράσεως k_{+2} , αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας σύμφωνα με το νόμο του Arrhenius ως ακολούθως:

$$k_{+2} = A \cdot e^{-\frac{E_a}{R \cdot T}}$$

- Όπου A είναι μια εμπειρική προ-εκθετική παράμετρος, R είναι η παγκόσμια σταθερά των αερίων και E_a η ενέργεια ενεργοποίησης της



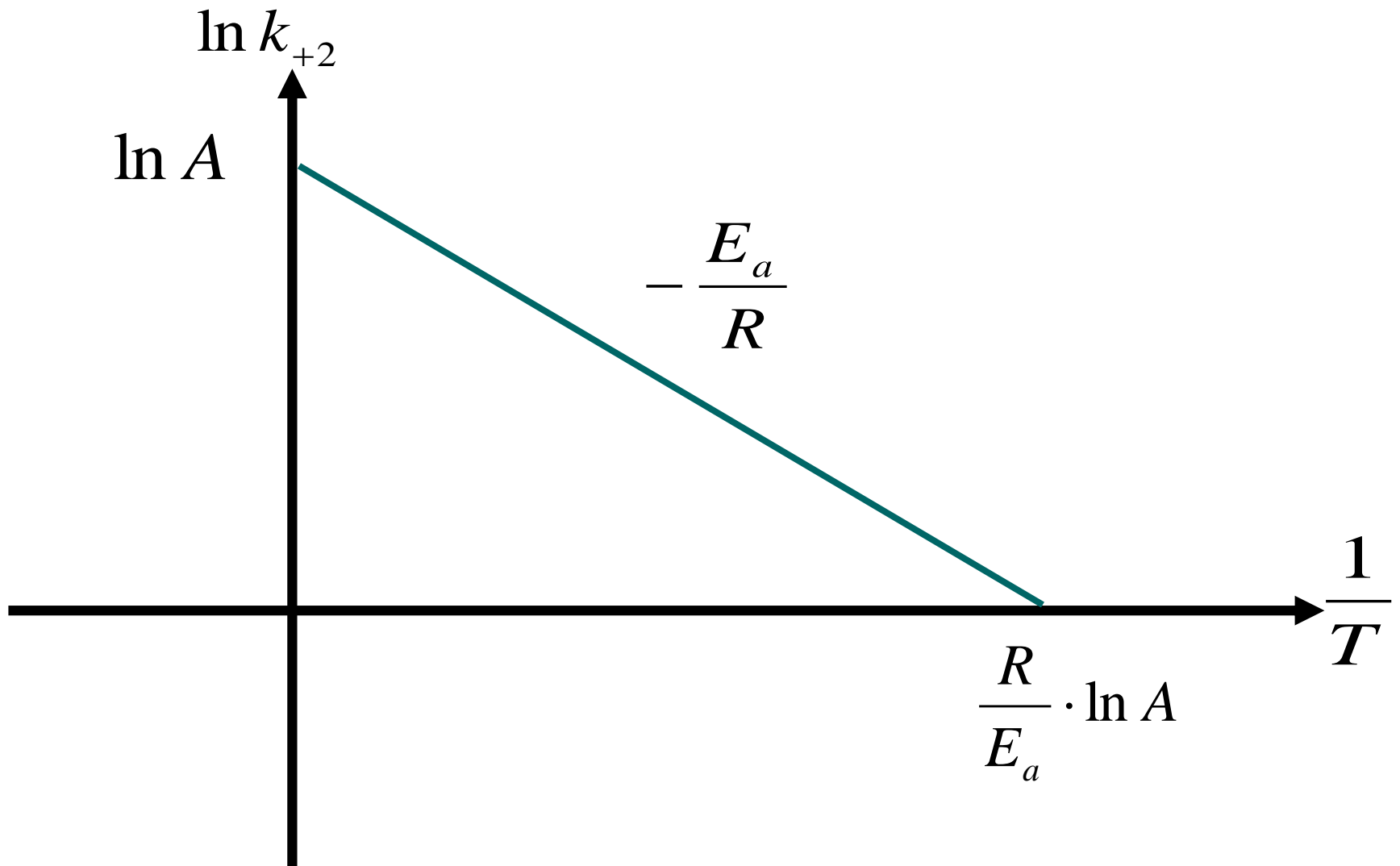
Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 11/1

- Για τον προσδιορισμό της παραμέτρου A (εμπειρικής προ-εκθετικής παραμέτρου), καθώς και της E_a της αντίδρασης, προσδιορίζουμε για δοθείσα αρχική συγκέντρωση υποστρώματος και ενζύμου τη μέγιστη ταχύτητα ενζυμικής αντίδρασης για ένα set θερμοκρασιών, και λαμβάνουμε ένα set δεδομένων $\ln k_{+2}$ σε συνάρτηση με τις θερμοκρασίες επώασης αφού:

$$\ln k_{+2} = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$$



Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 12/1





Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 13/1

- Ακόμη και σε θερμοκρασίες όχι πολύ υψηλές (π.χ. 40 °C), παραμονή του ενζύμου σε ένα διάλυμα μιας δοθείσης συγκεντρώσεως υποστρώματος, δύναται να μειώνει την ενεργότητα του ενζύμου.
- Προφανώς όσο πιο μεγάλες είναι οι θερμοκρασίες επώασης (π.χ. 50 °C, 60 °C κλπ) τόσο πιο ταχεία θα είναι η μείωση της ενεργότητας του ενζύμου.



Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 14/1

- Η κινητική της μείωσης της ενεργότητας του ενζύμου μέσω μιας σταθεράς αλλοδομής k_d , συνήθως ακολουθεί αντίδραση πρώτης τάξης:

$$-k_d \cdot [E] = \frac{d[E]}{dt} \Rightarrow \int \frac{d[E]}{[E]} = -\int k_d \cdot dt \Rightarrow$$

$$[E_T] \rightarrow [E]$$

$$0 \rightarrow t$$

$$\Rightarrow \ln \frac{[E]}{[E_T]} = -k_d \cdot t \Rightarrow [E] = [E_T] \cdot e^{-k_d \cdot t}$$



Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 15/1

- Όπως ειπώθηκε στα προηγούμενα εδάφια, η μέγιστη ταχύτητα της ενζυμικής αντιδράσεως είναι:

$$V_{\max} = k_{+2} \cdot (E_T)$$

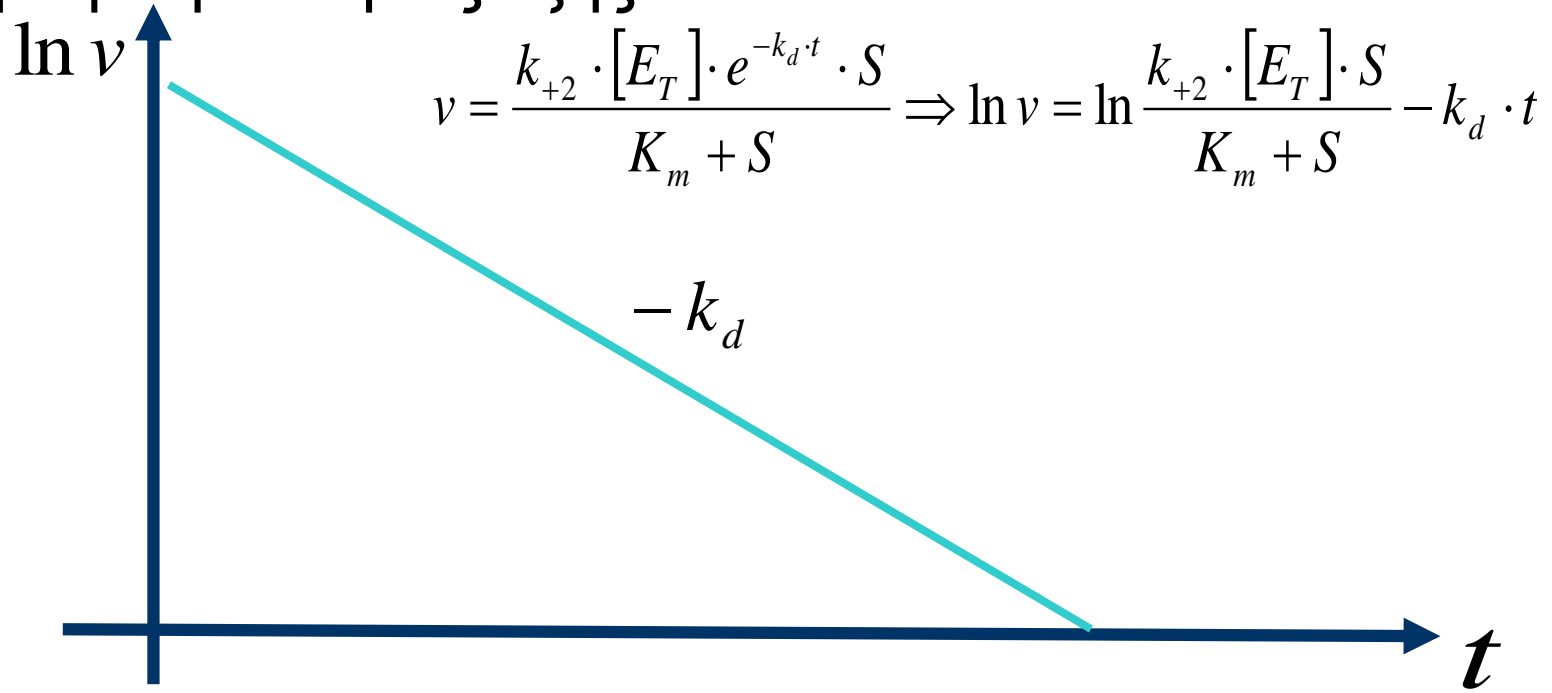
- Η ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης αν εμπλακεί η παράμετρος της αλλοδομής και η κινητική είναι τύπου Michaelis-Menten, γίνεται ως εξής:

$$v = \frac{k_{+2} \cdot [E_T] \cdot e^{-k_d \cdot t} \cdot S}{K_m + S}$$



Στοιχεία Ενζυμικής Τεχνολογίας 16/1

- Για δοθείσα συγκέντρωση υποστρώματος και θερμοκρασία επώασης ενός ενζύμου με γνωστά κινητικά χαρακτηριστικά, ο προσδιορισμός της σταθεράς αλλοδομής k_d γίνεται με λογαρίθμηση και γραφική λύση ως εξής:





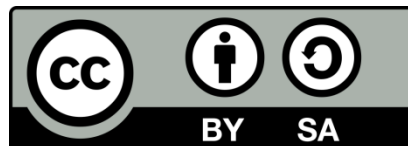
Βιβλιογραφία

- Αγγελής (2007) Μικροβιολογία και Μικροβιακή Τεχνολογία, 1η έκδοση, Α. Σταμούλης.
- Shuler, Kargi (2002) Bioprocess Engineering, Basic Concepts Second Edition, Prentice Hall (Editions)



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδεια χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





Χρηματοδότηση

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





Σημείωμα Αναφοράς

- Copyright Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σεραφείμ Παπανικολάου, «Αρχές Βιοτεχνολογίας Τροφίμων». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2014.
Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:
<http://mediasrv.aua.gr/eclass/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

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



Η άδεια αυτή ανήκει στις άδειες που ακολουθούν τις προδιαγραφές του Ορισμού Ανοικτής Γνώσης [2], είναι ανοικτό πολιτιστικό έργο [3] και για το λόγο αυτό αποτελεί ανοικτό περιεχόμενο [4].

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

[2] <http://opendefinition.org/okd/ellinika/>

[3] <http://freedomdefined.org/Definition/EI>

[4] <http://opendefinition.org/buttons/>



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
 - το Σημείωμα Αδειοδότησης
 - τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
 - το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)
- μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.