

Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

*Online is: pl. FIA

offline kémiai elemzés
kolorimetria*
 NH_4^+ - és NH_3 -elektród
pH-sztát: NH_3 -fogyás
 NO_3^- elektród
 $\text{NH}_2\text{-N}$ (antibiotikumok)

DO és DCO_2
gázelemzés
MS
 $K_L a$

indirekt: O_2 -fogyásból
hőmérleg
kalorimetria

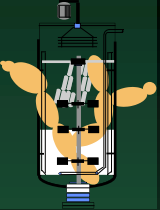
C/E + O_2 + N + Σegyéb tt. komponens

ΔX + ΣP_i + CO_2 + $\Delta H\ddot{O}$

offline kémiai elemzés
kolorimetria*
refraktív index
viszkozitás
kromatográfia: HPLC,
gázkromatográfia: EtOH, MeOH...
indirekt mérések

K^+ , Mg^{2+} , PO_4^{3-}
offline kémiai elemzés
kolorimetria*
ionszelektív elektródok

kémiai elemzés,
pH, viszkozitás
kromatográfia
MS, MS-GC
katás alapján:
Biológiai titrálás,
agardiffúzió



Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

BIM2
2002

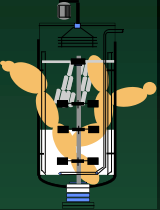
FIZIKAI (rendszer) - KÉMIAI változók - BIOLÓGIAI (mikroba)



LEHET

ON LINE vagy

OFF LINE



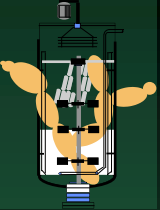
PRIMÉR MÉRT VÁLTOZÓK

INDIREKT SZÁMOLT VÁLTOZÓK

(gateway sensors)



mindkettő
lehet szabályozókör
inputja



Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

BIM2
2002

Legáltalánosabban mért fizikai változók:

Hőmérséklet *

nyomás **

áramlási sebesség (folyadékok, gázok)*

térfogat és/vagy tömeg

keverősebesség **

teljesítmény felvétel

habszint**

viszkozitás

turbiditás

Legáltalánosabban mért kémiai változók:

pH **

Elektródpotenciál

Si.....Pj

DO , *

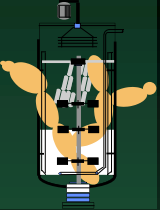
DCO₂

sejtkoncentráció

Mérések és szabályozás minimális szintje **

Néha több helyütt a bioreaktorban*

Mérések minimum szintje *

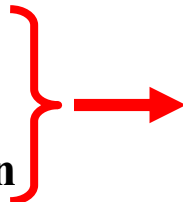


INDIREKT SZÁMOLT VÁLTOZÓK

pH és lúgadatolás

savképződési sebesség

gázáramlási sebesség
hőmérséklet, nyomás
O₂ és CO₂ az elmenő gázban



OUR

CER



RQ

Cukorszint

Cukoradatolási sebesség

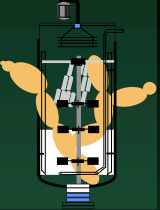


HOZAM

Teljesítményfelvétel + keverősebesség



látszólagos viszkozitás



SEJTNÖVEKEDÉS MÉRÉSI MÓDSZEREK

Direkt módszerek

szárazanyag
nefelometria
turbidimetria**
impedometria
elektronikus részecske
számlálás
optikai mikroszkópia
élősejtszám
ultrahang** (acoustic
resonance densitometry)

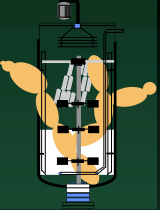
Indirekt v. Származtatott módszerek

biolumineszcencia**
kemilumineszcencia**
radiometria
sejtkomponens analízis
MS**
NMR
IR, NIR**
anyagmérleg (massbalancing)
sztöhio....

Legtöbb off line néhány on line ** is

Destruktív módszerek

NINCS ÁLTALÁNOSAN ALKALMAZHATÓ

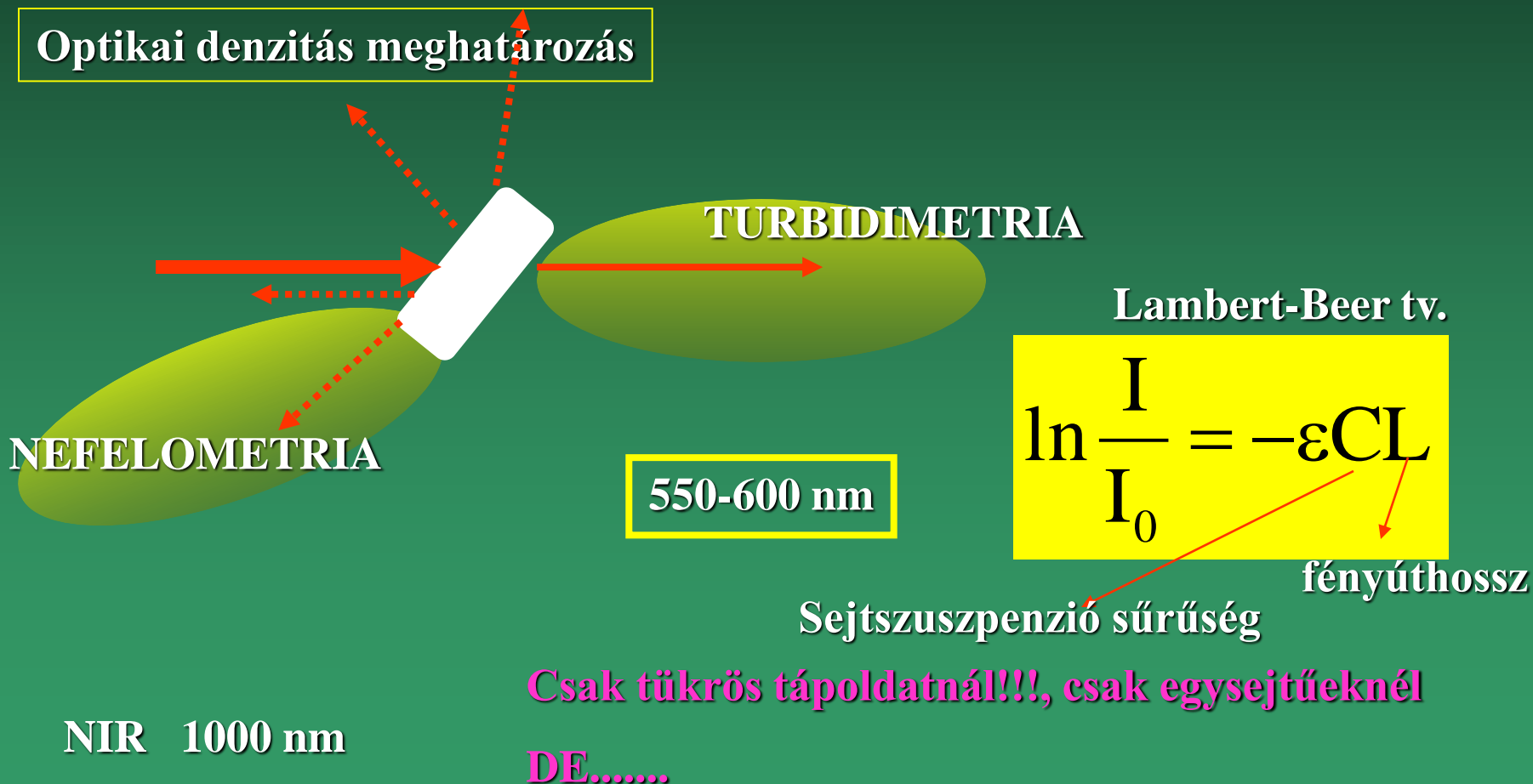


Szárazanyag meghatározás

Sejtelválasztás után (szűrés membránon) szárítás 105 °C-on

Csak tükrös tápoldatnál!!!

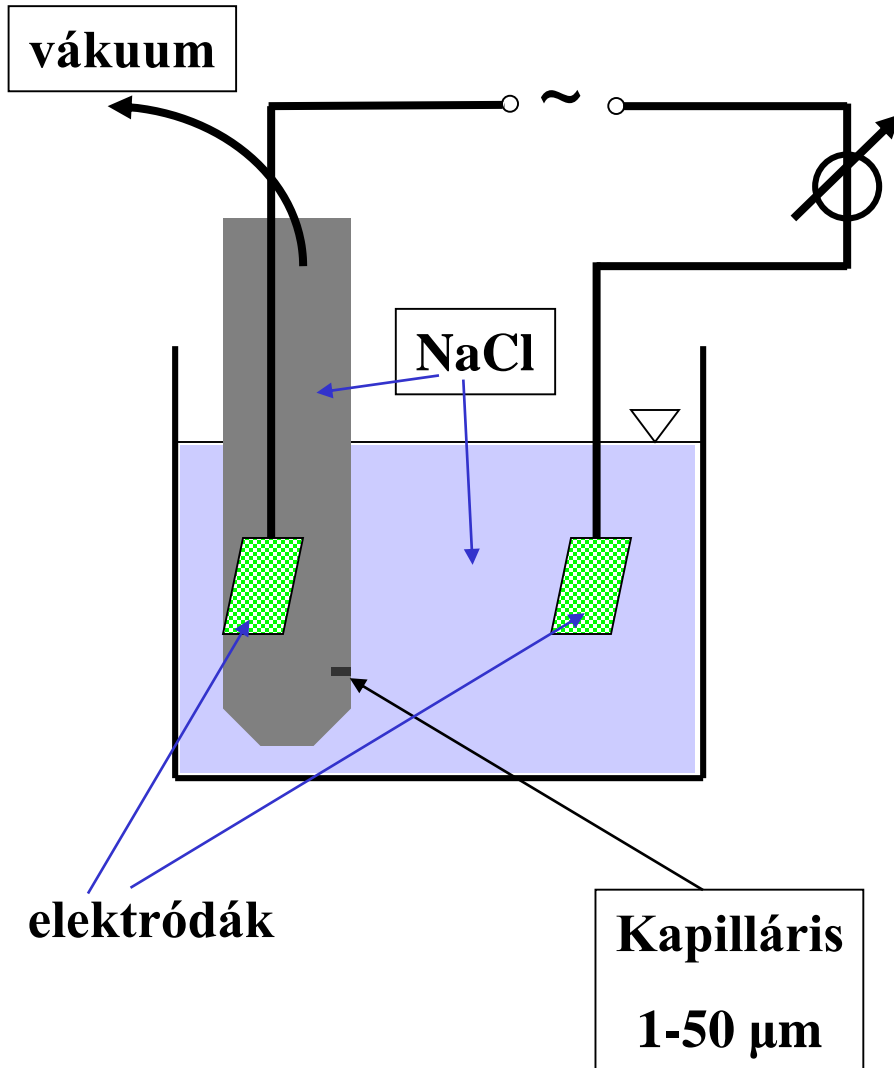
Optikai denzitás meghatározás



Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

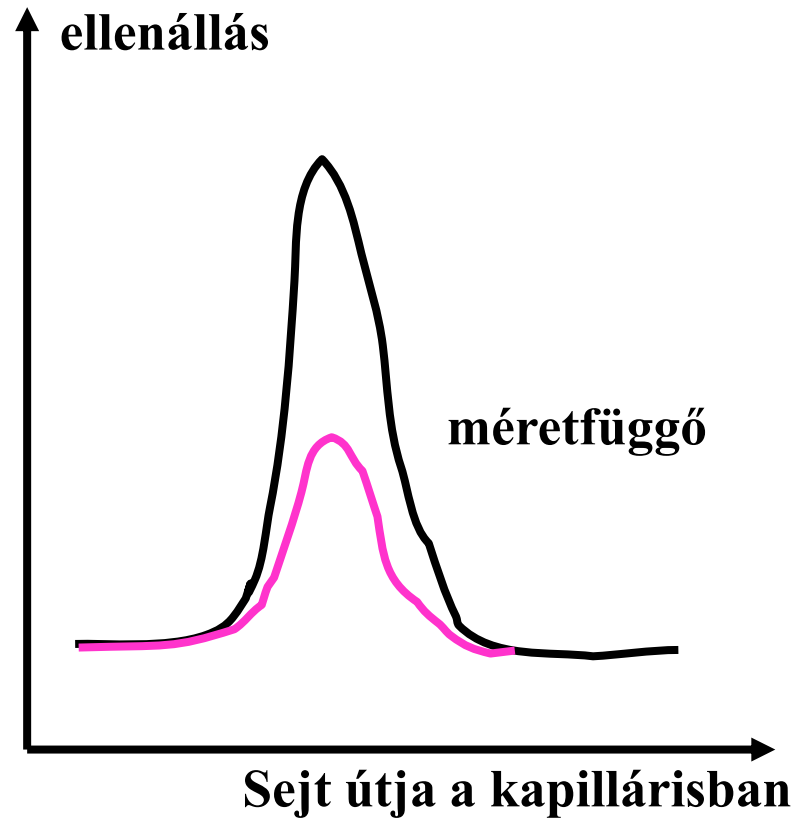
SEJTSZÁM MEGHATÁROZÁS

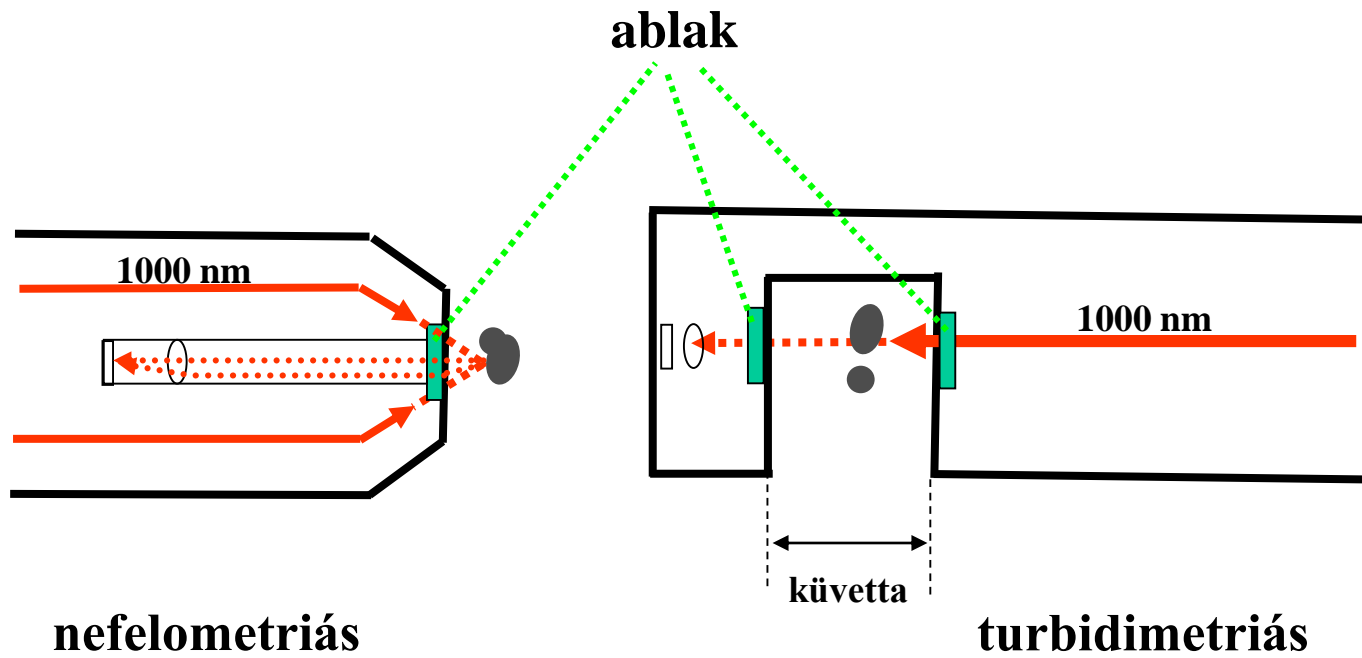
Elektronikus sejtszámlálás



Mikroszkóp: Buerker-kamra

Élősejtszám:.....





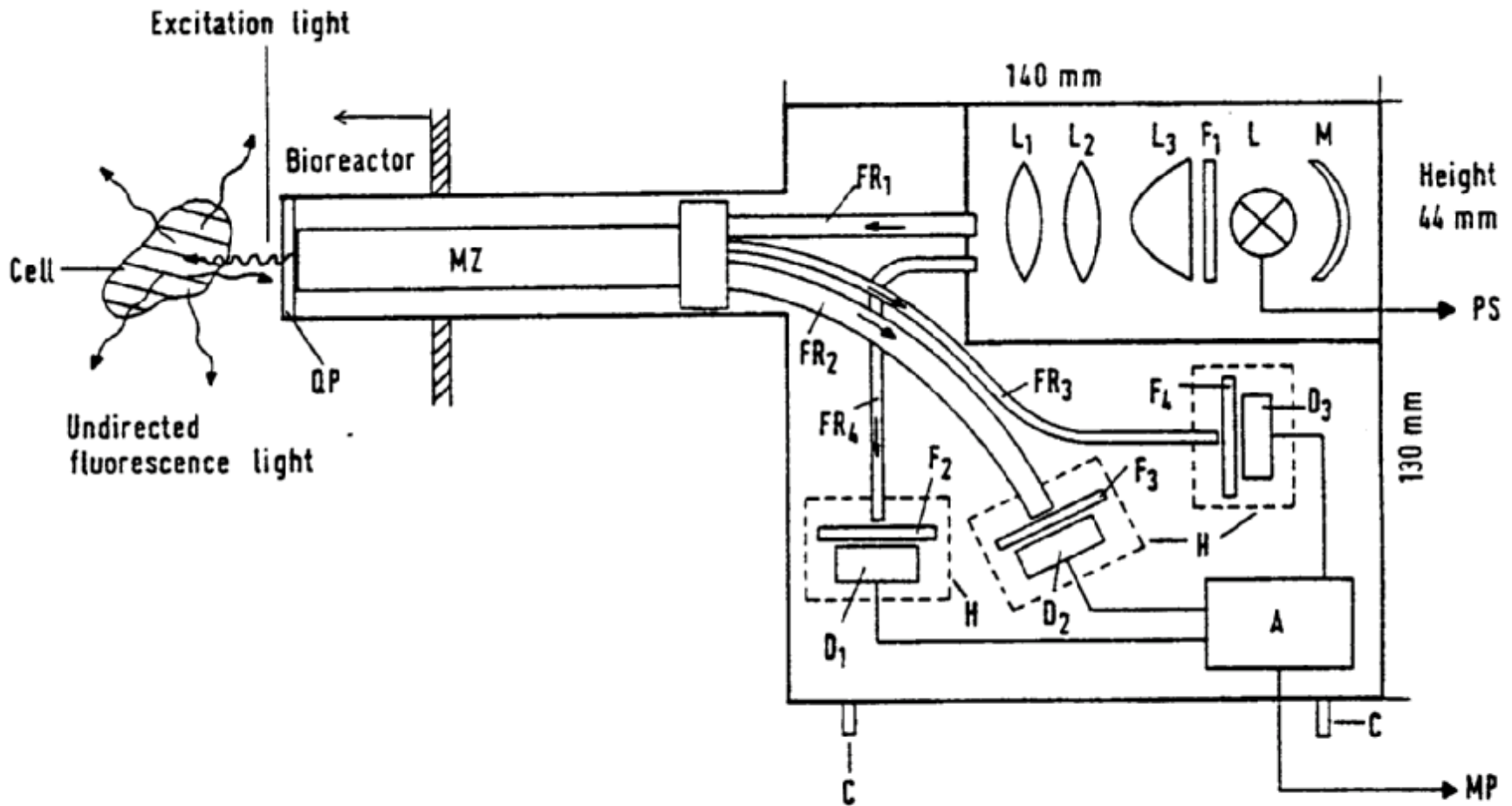
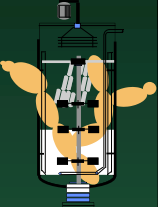


Fig. 8. Schematic design of a fluorescence probe for the simultaneous detection of two different wavelengths. M mirror, L lamp, L_{1-3} lenses, F_{1-4} filters, FR_{1-4} fiber cables, D_{1-3} photodetectors, H housing, MZ mixing zone of fibers, QP quartz plate, A amplifier, C cooling, MP microprocessor unit, PS power supply.



citofluoriméter

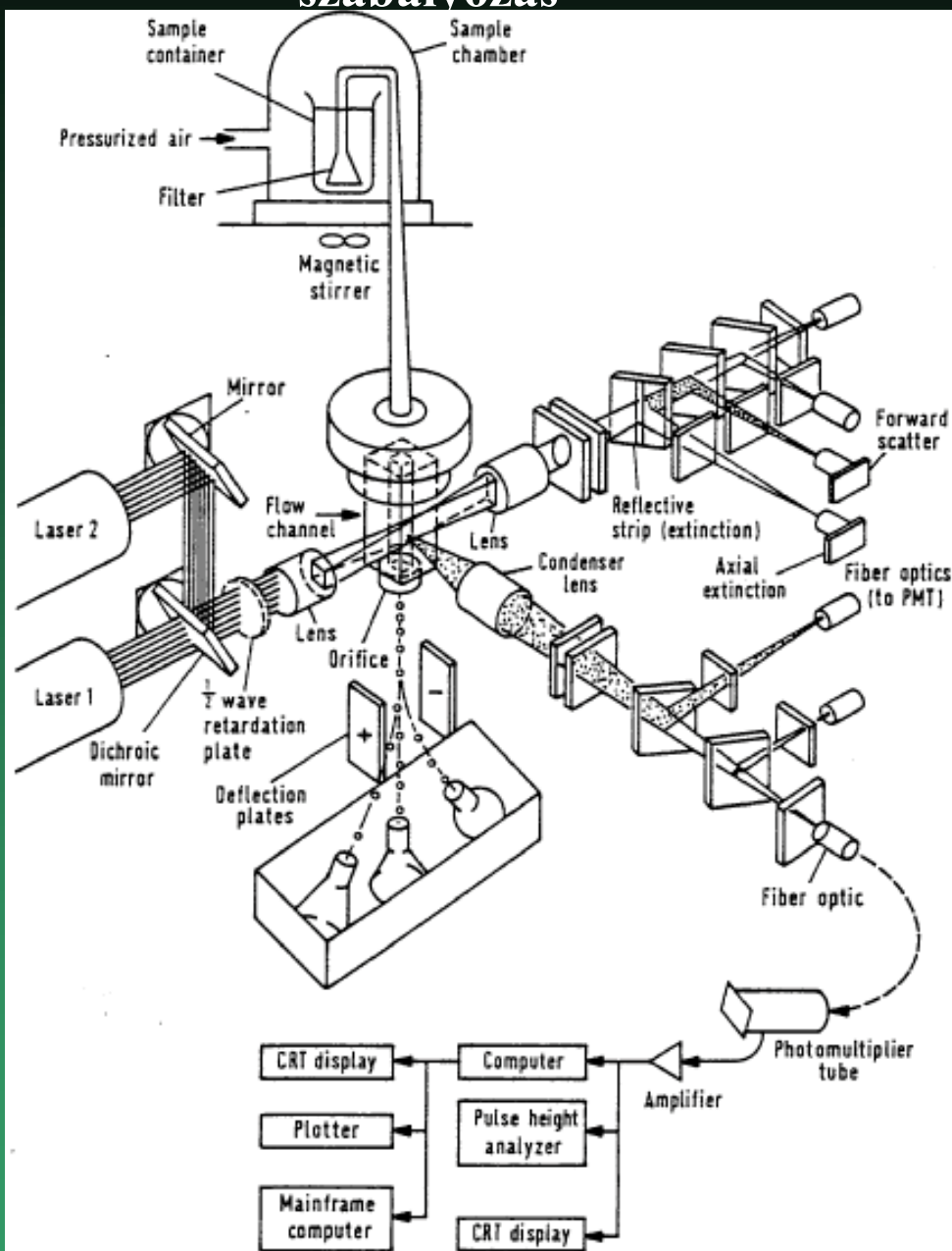
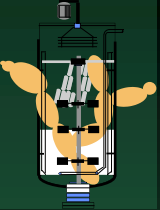


Fig. 18. Schematic diagram of a typical flow cytometer with two lasers and cell-sorting capability (reprinted with permission from BAILEY and OLLIS, 1986)



GÁZANYAGCSERE MÉRÉSE

Mit kell mérni? Levegő áramlási sebesség
 hőmérséklet
 gázösszetétel

IR CO_2

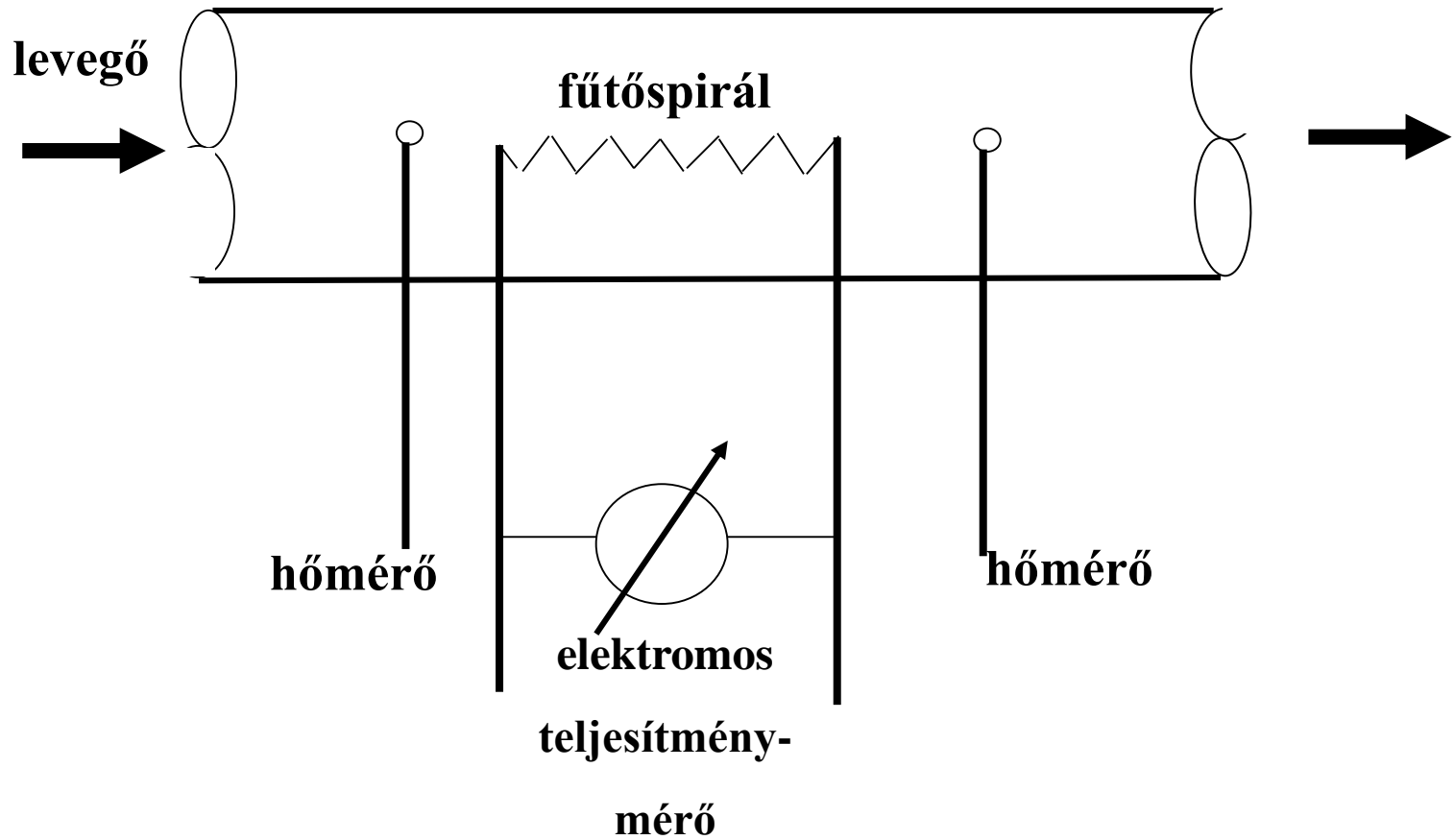
 hővezetőképesség

Paramágneses O_2

Tömegspektrométer CO_2 ,
 O_2 ,.....

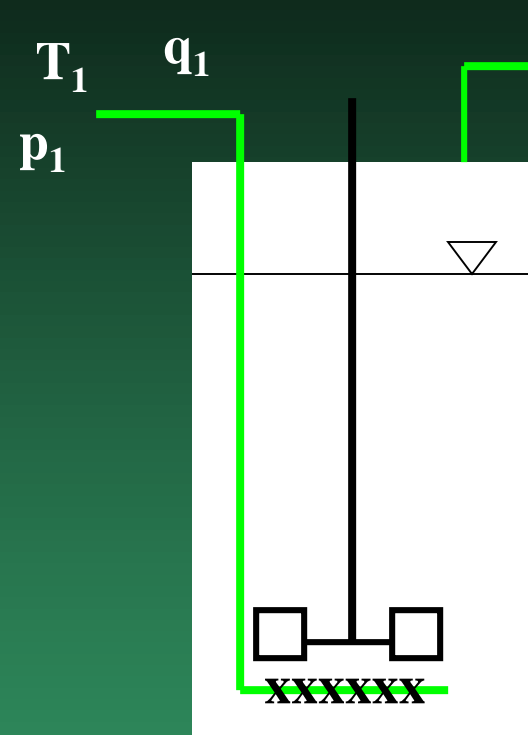
Drága,de....

Mass-flow meter



Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

BIM2
2002



O₂ be

$$\frac{p_1 q_1}{RT_1} O_{21}$$

CO₂ be

$$\frac{p_1 q_1}{RT_1} CO_{21}$$

N₂ be

$$\frac{p_1 q_1}{RT_1} (1 - O_{21} - CO_{21})$$

O₂ ki

$$\frac{p_2 q_2}{RT_2} O_{22}$$

CO₂ ki

$$\frac{p_2 q_2}{RT_2} CO_{22}$$

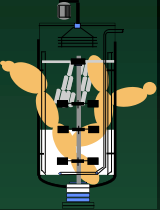
N₂ ki

$$\frac{p_2 q_2}{RT_2} (1 - O_{22} - CO_{22})$$

=

Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

BIM2
2002



$$\frac{p_1 q_1}{RT_1} (1 - O_{21} - CO_{21}) = \frac{p_2 q_2}{RT_2} (1 - O_{22} - CO_{22})$$

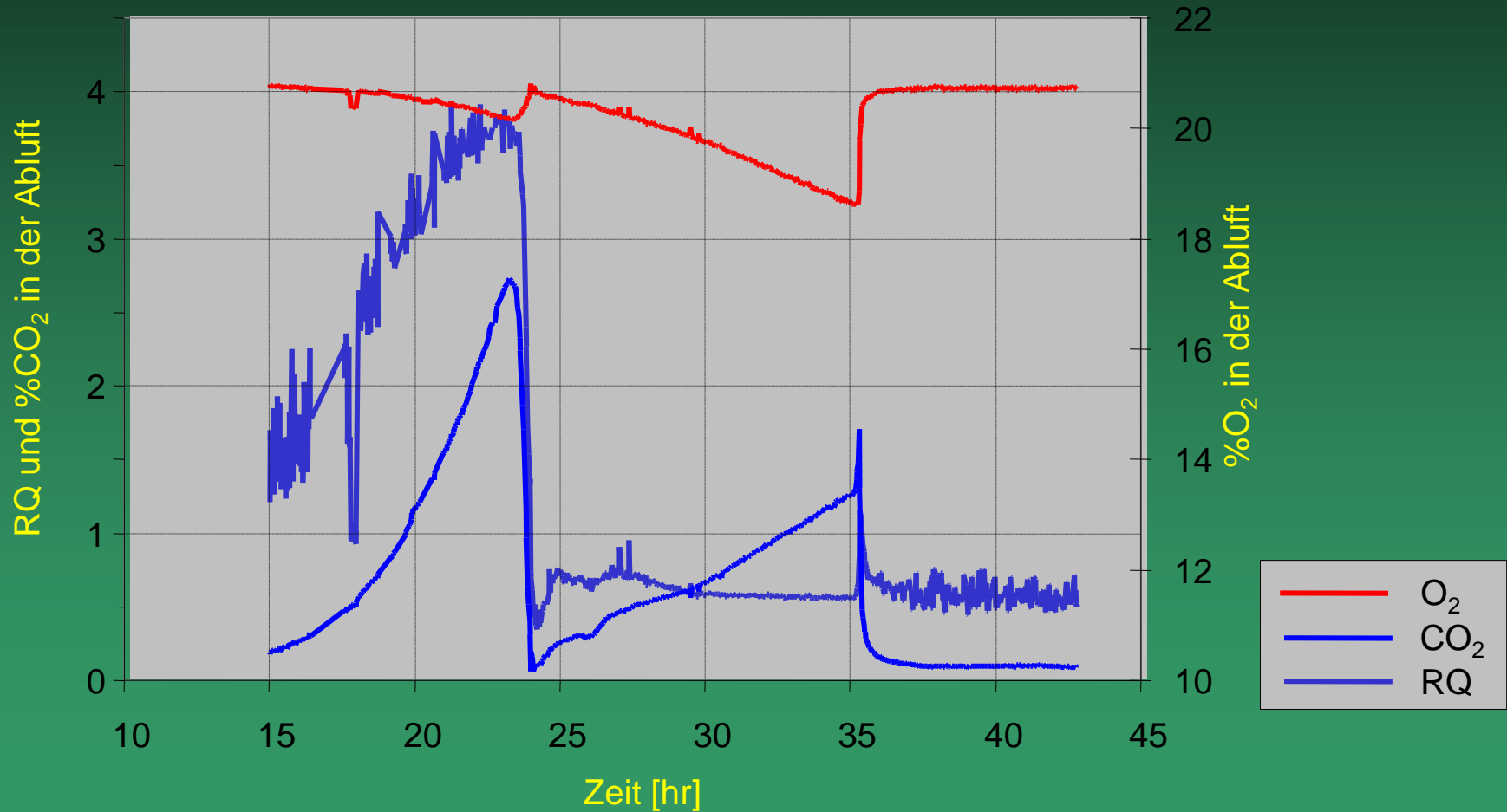
$$q_2 = \frac{RT_2}{RT_1} \frac{p_1 q_1 (1 - O_{21} - CO_{21})}{p_2 (1 - O_{22} - CO_{22})}$$

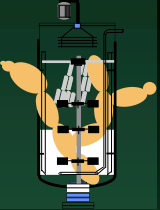
$$OUR = \frac{p_1 q_1}{RT_1} \left(O_{21} - \frac{1 - O_{21} - CO_{21}}{1 - O_{22} - CO_{22}} O_{22} \right)$$

$$CER = \frac{p_1 q_1}{RT_1} \left(\frac{1 - O_{21} - CO_{21}}{1 - O_{22} - CO_{22}} CO_{22} - CO_{21} \right)$$

$$RQ = \frac{CER}{OUR} = \frac{\left(\frac{1 - O_{21} - CO_{21}}{1 - O_{22} - CO_{22}} CO_{22} - CO_{21} \right)}{\left(O_{21} - \frac{1 - O_{21} - CO_{21}}{1 - O_{22} - CO_{22}} O_{22} \right)}$$

Abluft Analyse einer Batch Fermentation



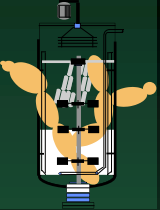


OXIGÉNÁTADÁSSAL kapcsolatos mérési módszerek

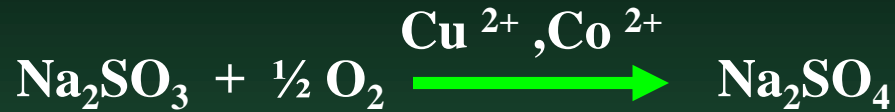
1. Statikus módszer: szulfitoxidációs módszer

2. Dinamikus módszer: $K_L a$ dinamikus meghatározása

(3. Gyakorlaton alkalmazott módszer: kombináció)



1. Statikus módszer: szulfitoxidációs módszer



• 0-ad rendű reakció az SO_3^{2-} -ra nézve (0,1-1 Na_2SO_3)

ha van katalizátor: $10^{-3} - 10^{-4}$ mol/l

• Gyakorlatilag irreverzibilis

• Gyakorlatilag pillanatszerű

$$C = 0$$

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C^* - C) = K_L a C^* \rightarrow r = K_L a C^*$$

reakciósebesség

$$\text{tg} \alpha = r$$

mg O_2 /l.min

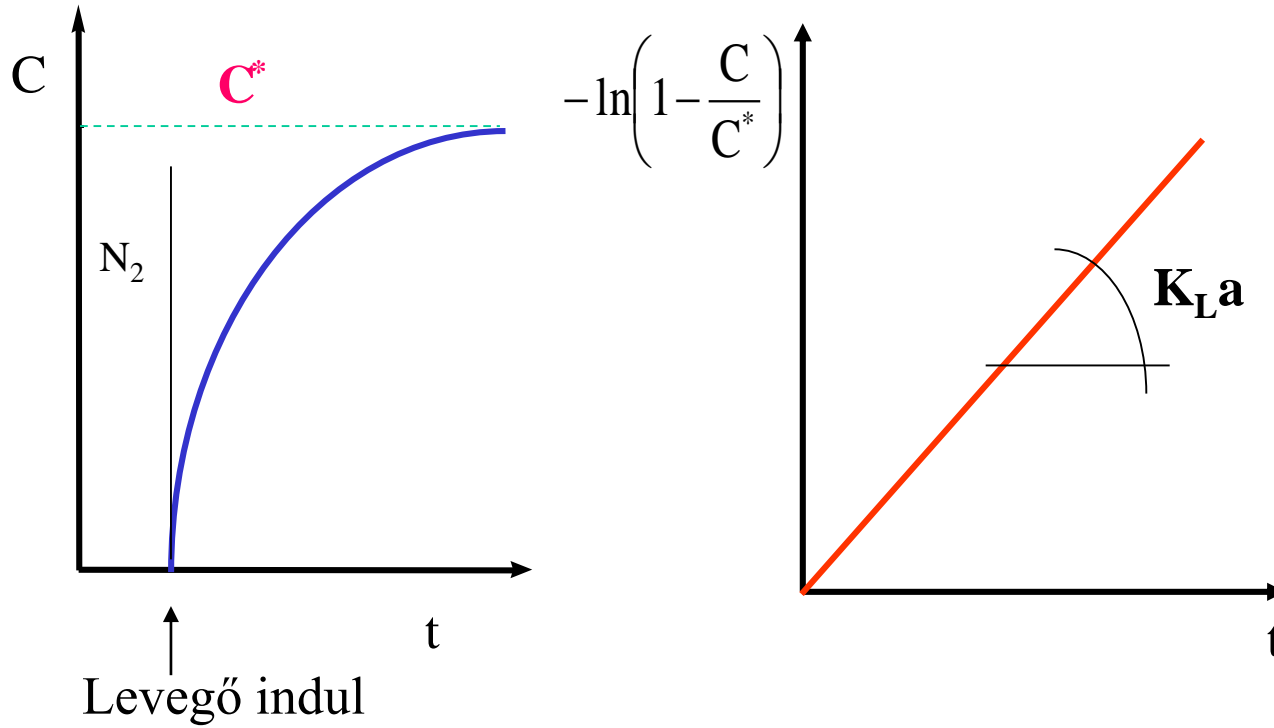
mmol O_2 /l.min

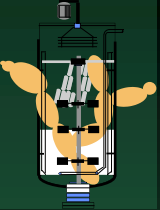
idő

OTR!!, de: enhancement factor...

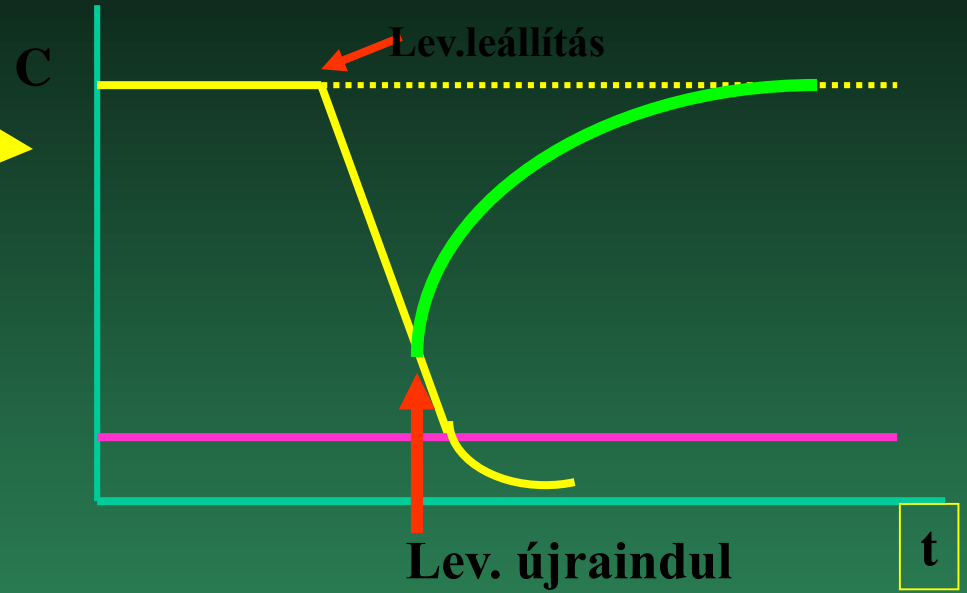
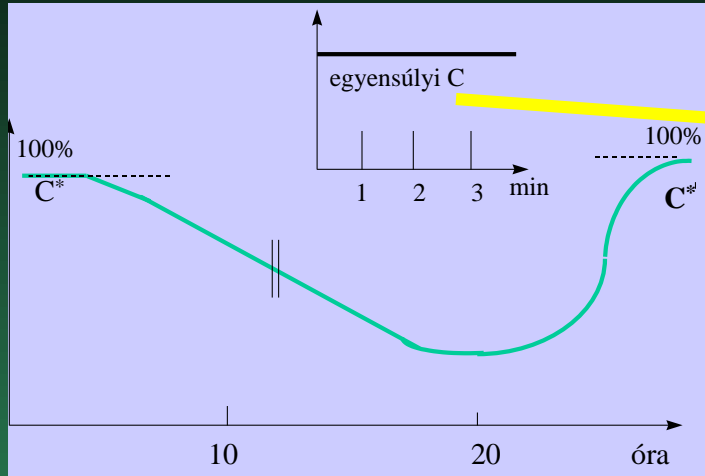
$\text{OTR}_{\text{szulfitmérés}} > \text{OTR}_{\text{fermentáció}}$

2. Kilevegőztetési módszer- gassing-out





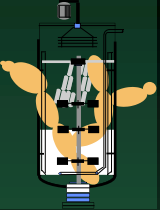
3. Dinamikus módszer: $K_L a$ dinamikus meghatározása



$$\frac{dC}{dt} = -xQ$$

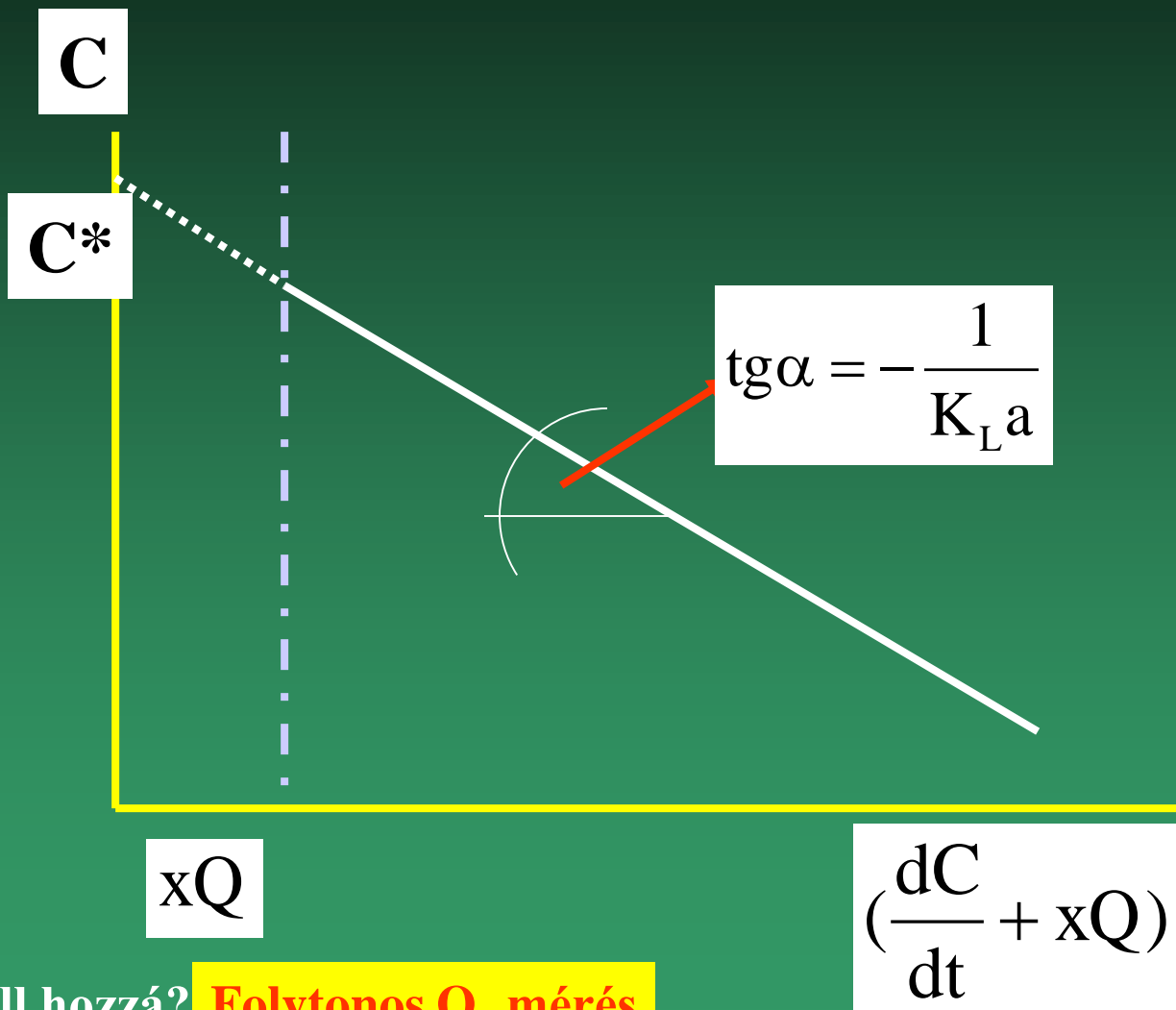
$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C^* - C) - xQ$$

Linearizálás:



Fermentációs folyamat szab

$$C = -\frac{1}{K_L a} \left(\frac{dC}{dt} + xQ \right) + C^*$$

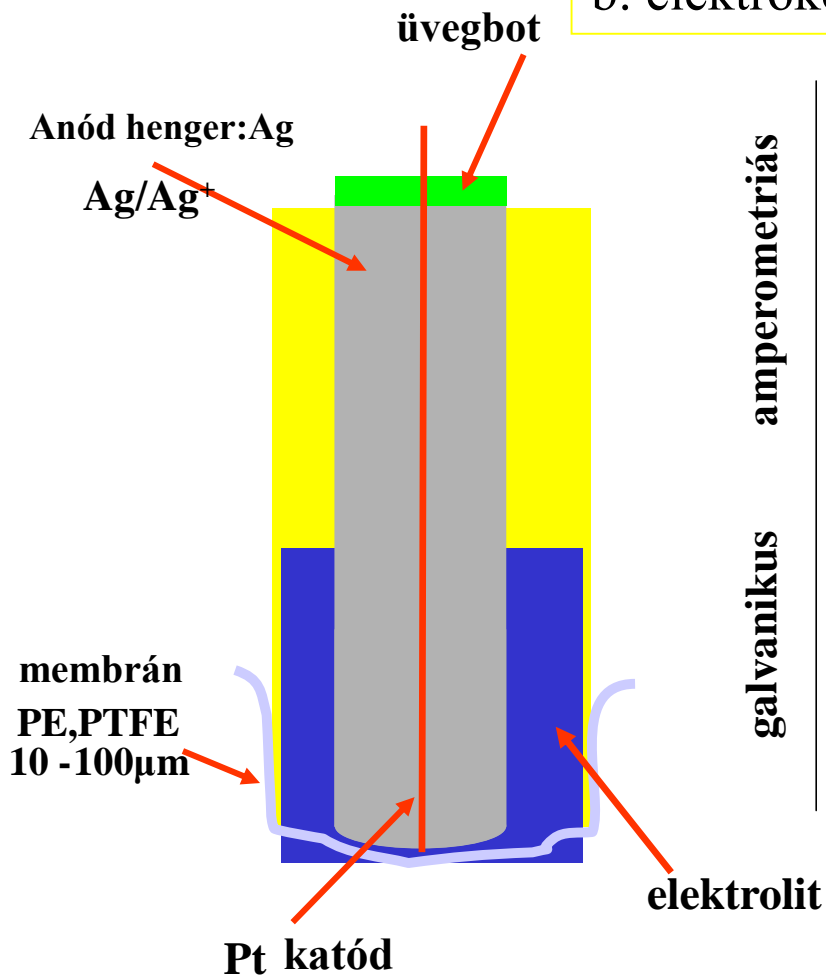


Mi kell hozzá? **Folytonos O_2 mérés**

DO-mérés: C kicsi, dc/dt nagy \longrightarrow mintavétel, off line mérés lehetetlen

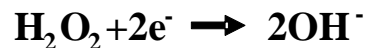
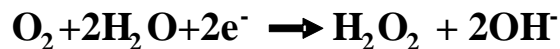
a.: tubing módszer

b: elektrokémiai detektorok

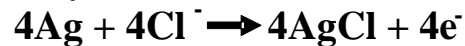


Clark-elektrod (Pt/Ag(KCl))

Katódfolyamat:

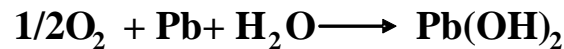
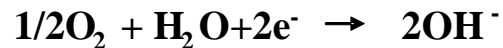


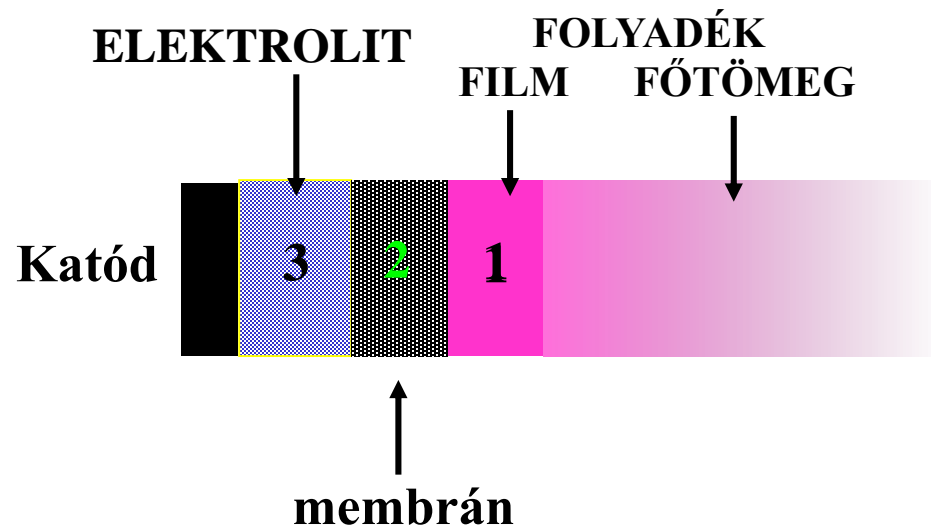
anódfolyamat:



Mackereth, Johnson - Borkowski elektrod

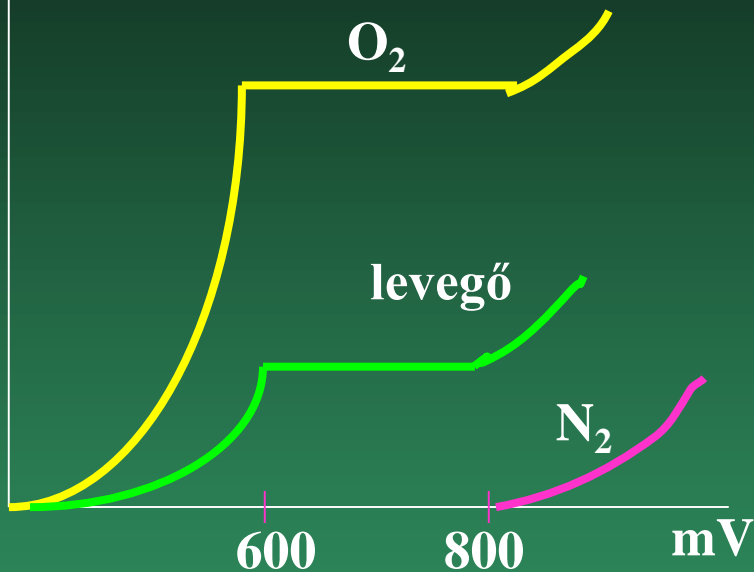
Au/Pb (AcOH+Pb(OAc)₂)





1,2,3:DIFFÚZIÓS HATÁRRÉTEGEK

Polarográfiás görbe



NEM O₂ KONCENTRÁCIÓT MÉR!

Depozit(AgCl, bázikus PbOAc az anód felületen, időnként megújítandó

$$I = kDS \cdot pO_2 / X = nFA S/X pO_2$$

Diff.a membránban

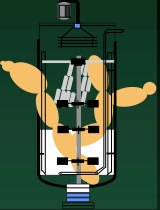
Oldhatóság a membránban

membránvastagság

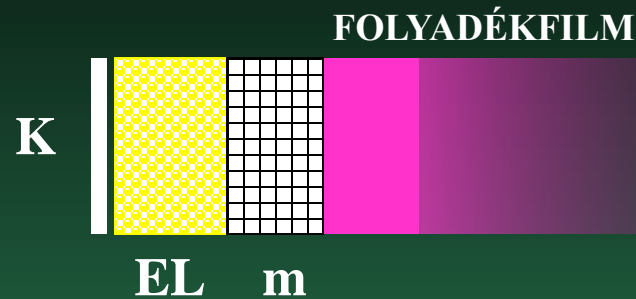
katódfelület

Faraday áll.

O₂ par. nyomás



IDŐKÉSÉS!



Írjuk le elsőrendű időállandóval (egytárolós tag)

Deriváljuk!

$$T \frac{dC'}{dt} + C' = A \cdot C$$

Itt A=1

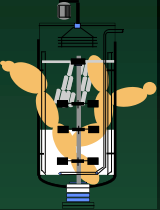
$$T \frac{d^2C'}{dt^2} + \frac{dC'}{dt} = \frac{dC}{dt} = K_L a (C^* - C) - xQ$$

Linearizálás:

$$C = T \frac{dC'}{dt} + C' = -\frac{1}{K_L a} \left(T \frac{d^2C'}{dt^2} + \frac{dC'}{dt} + xQ \right) + C^*$$

Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

BIM2
2002



$$C = T \frac{dC'}{dt} + C' = -\frac{1}{K_L a} \left(T \frac{d^2 C'}{dt^2} + \frac{dC'}{dt} + xQ \right) + C^*$$

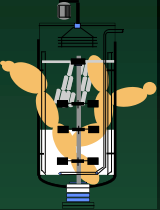
$$T \frac{dC'}{dt} + C'$$

C^*

$$\operatorname{tg} \alpha = -\frac{1}{K_L a}$$

xQ

$$\left(T \frac{d^2 C'}{dt^2} + \frac{dC'}{dt} + xQ \right)$$



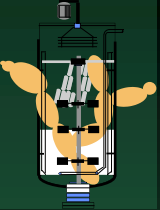
Fermentációs folyamatok nyomonkövetése: mérés, szabályozás

BIM2
2002

Ha nincs mikroba jelen: analitikus megoldás:

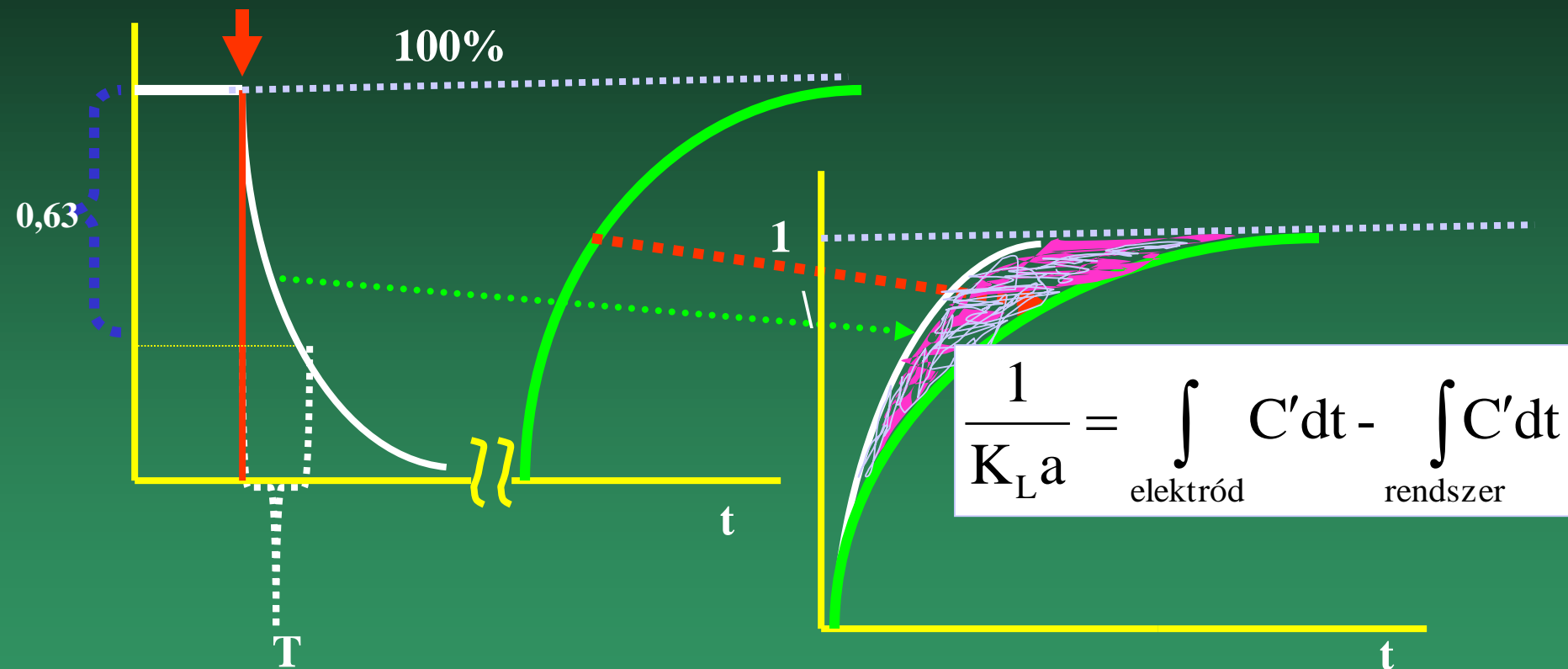
Szimmetrikus!

$$C' = C^* \left\{ 1 + \frac{K_L a}{\frac{1}{T} - K_L a} \exp\left(-\frac{1}{T} \cdot t\right) - \frac{\frac{1}{T}}{\frac{1}{T} - L_L a} \exp(-K_L a \cdot t) \right\}$$



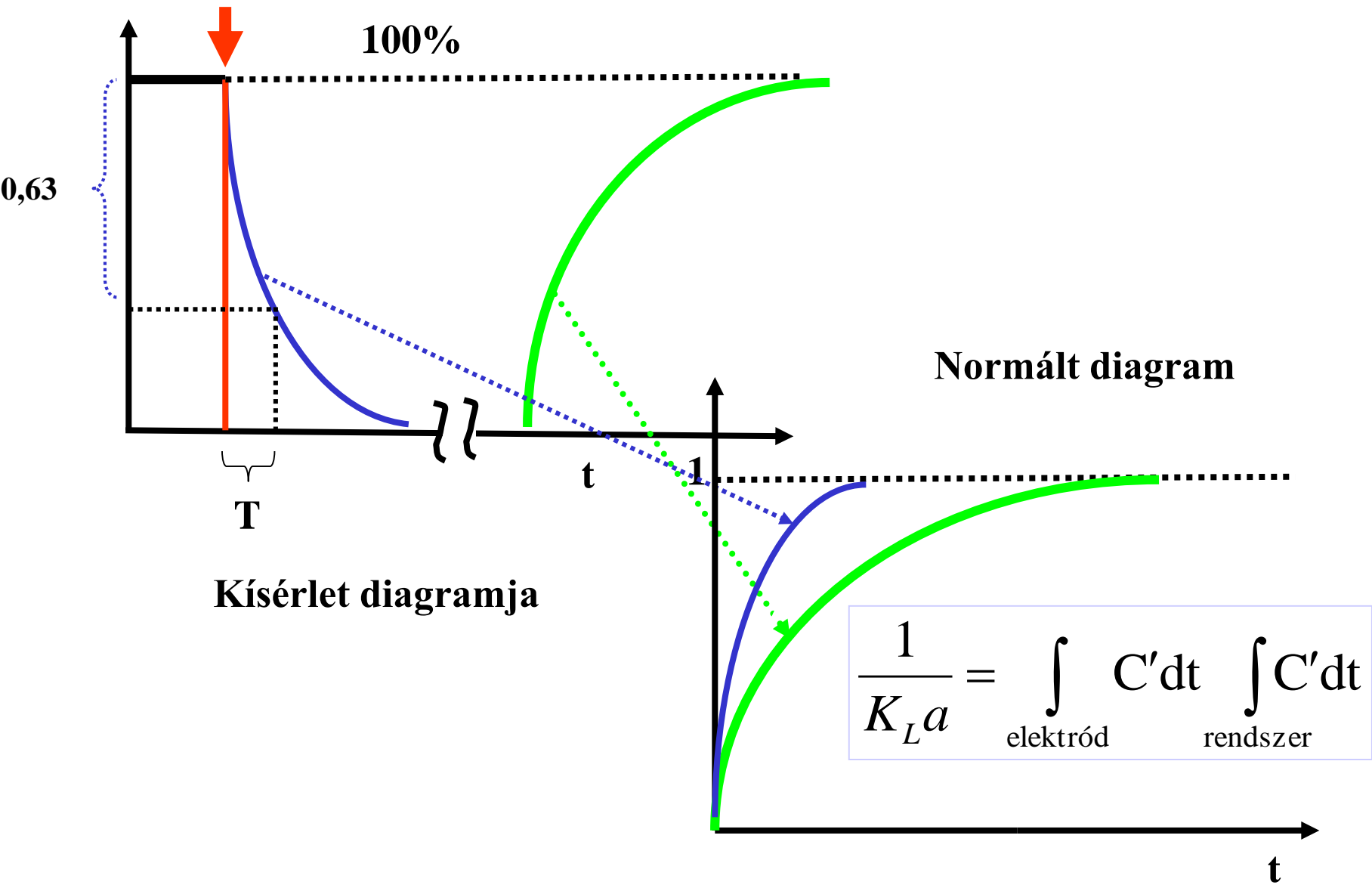
(3.Gyakorlaton alkalmazott módszer: kombináció)

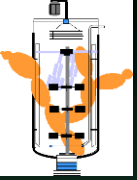
Egységugrás: Na_2SO_3



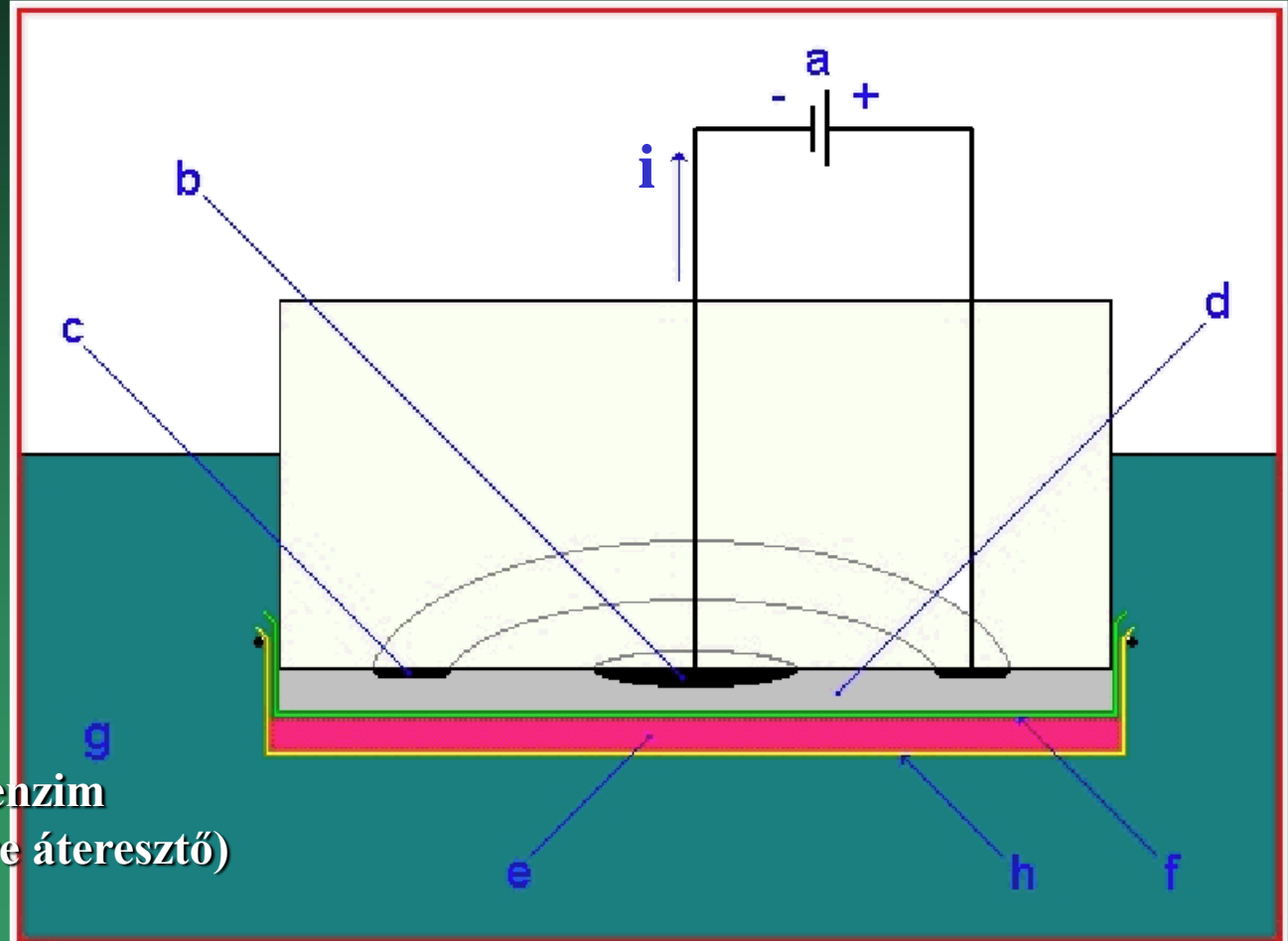
(3. Gyakorlaton alkalmazott módszer: kombináció)

Egységugrás: Na_2SO_3





Enzimlektród

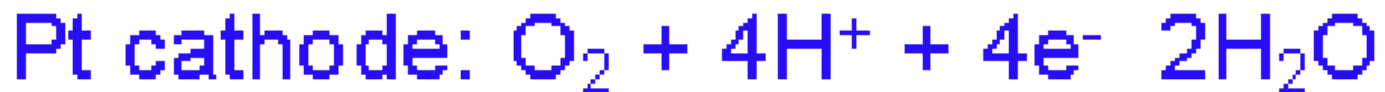


- a.) FESZÜLTÉSÉG
- b) platina katód
- c) ezüst anód
- d) Telített KCl oldat

- e.) biokatalizátor rögzített enzim
- f) acetát membrán (oxigénre áteresztő)
- g) analyte
- h) polycarbonate membrán (permeábilis oxigénre, szubsztrátra termékre)
- i) az elektródok között folyó áram

Enzimlektród 2

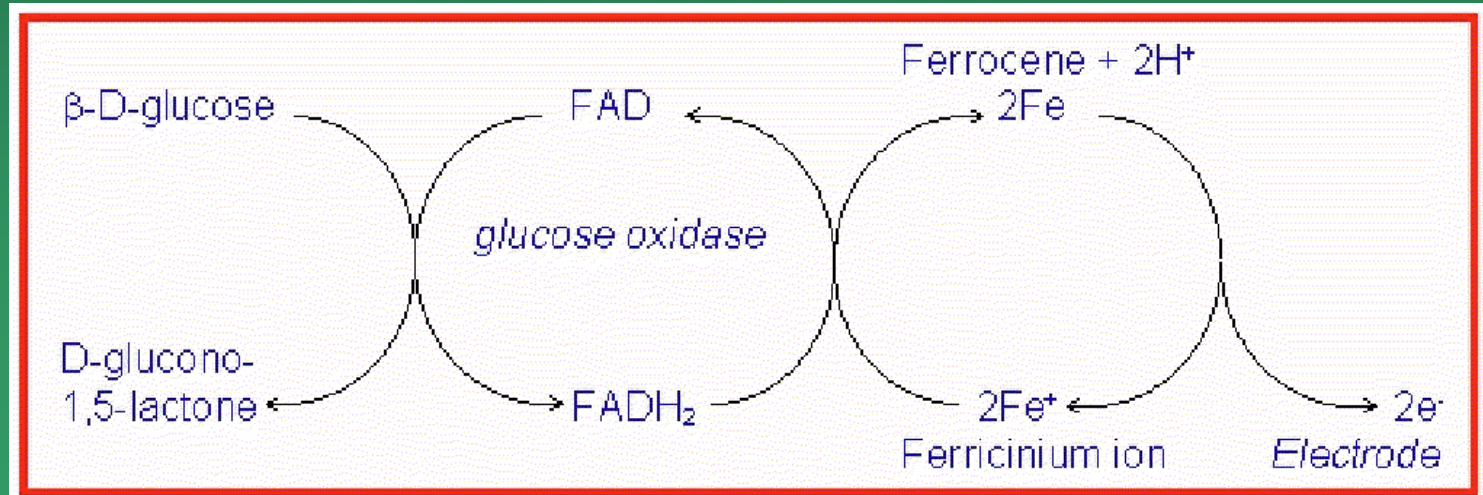
ELEKTRÓDFOLYAMAT



PÉLDA

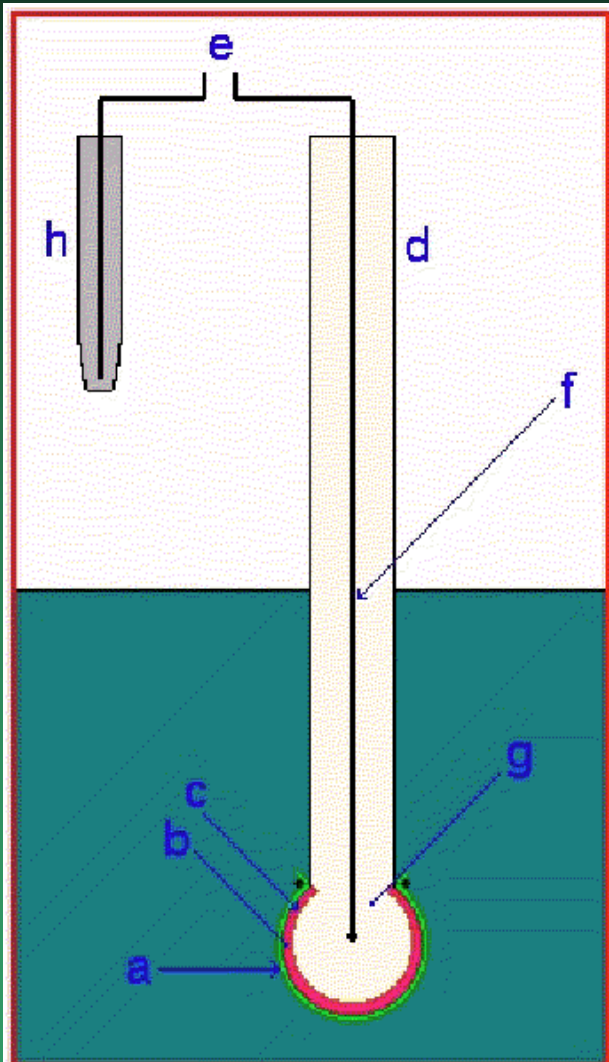


MEDIÁTOR

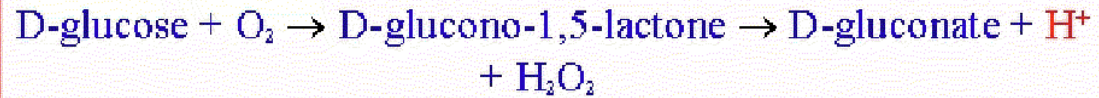


Enzimlektrod 3

POTENCIOMETRIÁS



Glucose Oxidase:



Penicillinase:



Urease:



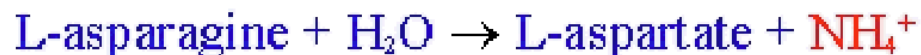
Lipase:



L-amino acid oxidase:



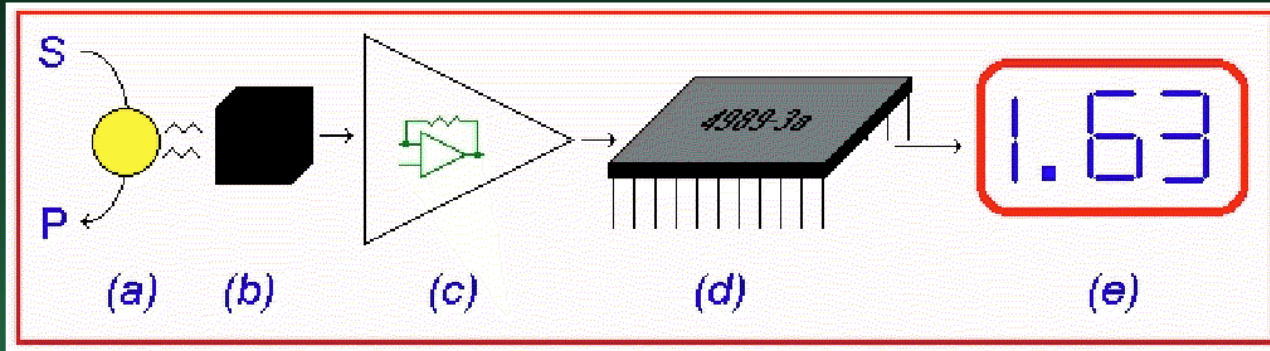
Asparaginase:



Urease:



BIOSZENZOR



- a) Biocatalyst - converts the analyte into product.
- b) Transducer - detects the occurrence of the reaction and converts it into an electrical signal.
- c) Amplifier - amplifies the usually tiny signal to a useable level.
- d) Microprocessor - signal is digitised and stored for further processing, e.g. integration, derivatisation, etc.
- e) Display - usually need a real-time display of the analyte concentration.

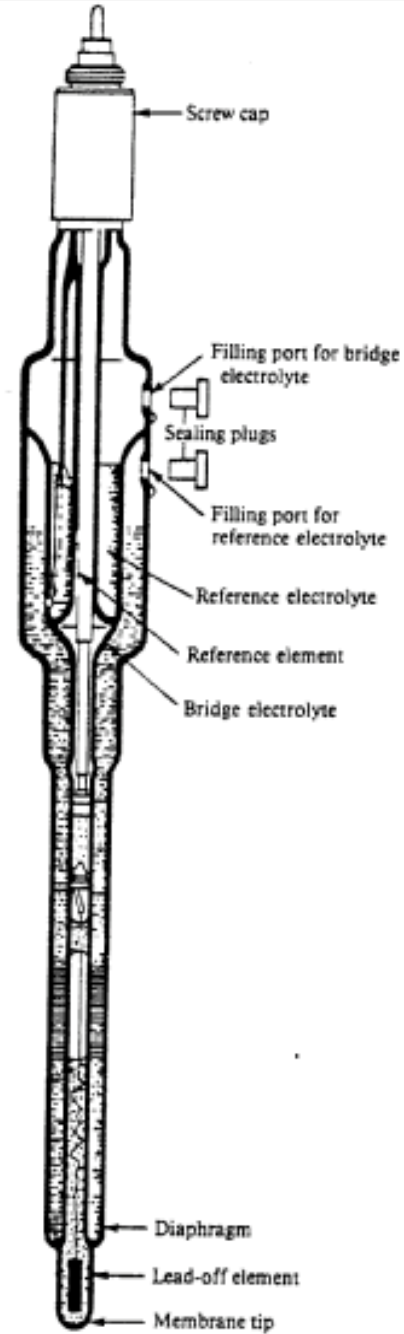
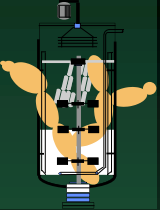


Fig. 18.6. Combined steam-sterilizable pH electrode (diagrammatic).