Fermentációs összefoglaló

MIKROORGANIZMUSOK TÁPANYAG IGÉNYE

TERMELŐKÉPESSÉG ← KÖRNYEZET ← GENOM

Néhány mikroba összetétel

Mikroorganizmus	összetétel a sejt szárazanyag százalékában				
	C	H	0	N	S
Saccharomyces cerevisiae	45	6,8	30,6	9,0	
Methylomonas methanolica	45,9	7,2		14,0	2,6
Penicillium chrysogenum	43	6,9	35,0	8,0	

C-forrás + N-forrás + O_2+ ásványi sók +
+speciális tápanyagok (pl. vitamin) →

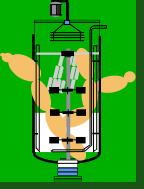
→új sejttömeg(ΔX) + termék(ek) + CO_2 + H_2O

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 ÁLTALÁNOSITÁSA

Tápoldatok szintetikus
félszintetikus
természetes alapú



BIM2
2002

Szerves anyag fogyasztók

KÉMIAI **ENERGIAFORRÁS** FÉNY

SZÉNFORRÁS

SZERVES HETEROTRÓFOK

KEMOORGANOTRÓF

Legtöbb baktérium,gomba…mi

SZERVES

...glükóz...

FOTOOORGANOTRÓF

Bíbor (nem kén-)baktérium.
Néhány eukarióta alga

SZERVES ← **ELEKTRON DONOR**

...glükóz...

SZÉNDIOXID AUTOTRÓFOK

KEMOLITOTRÓF

H-,S-,Fe-
Denitrifikáló-
baktériumok

SZERVETLEN en.forrás

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

FOTOLITOTRÓF

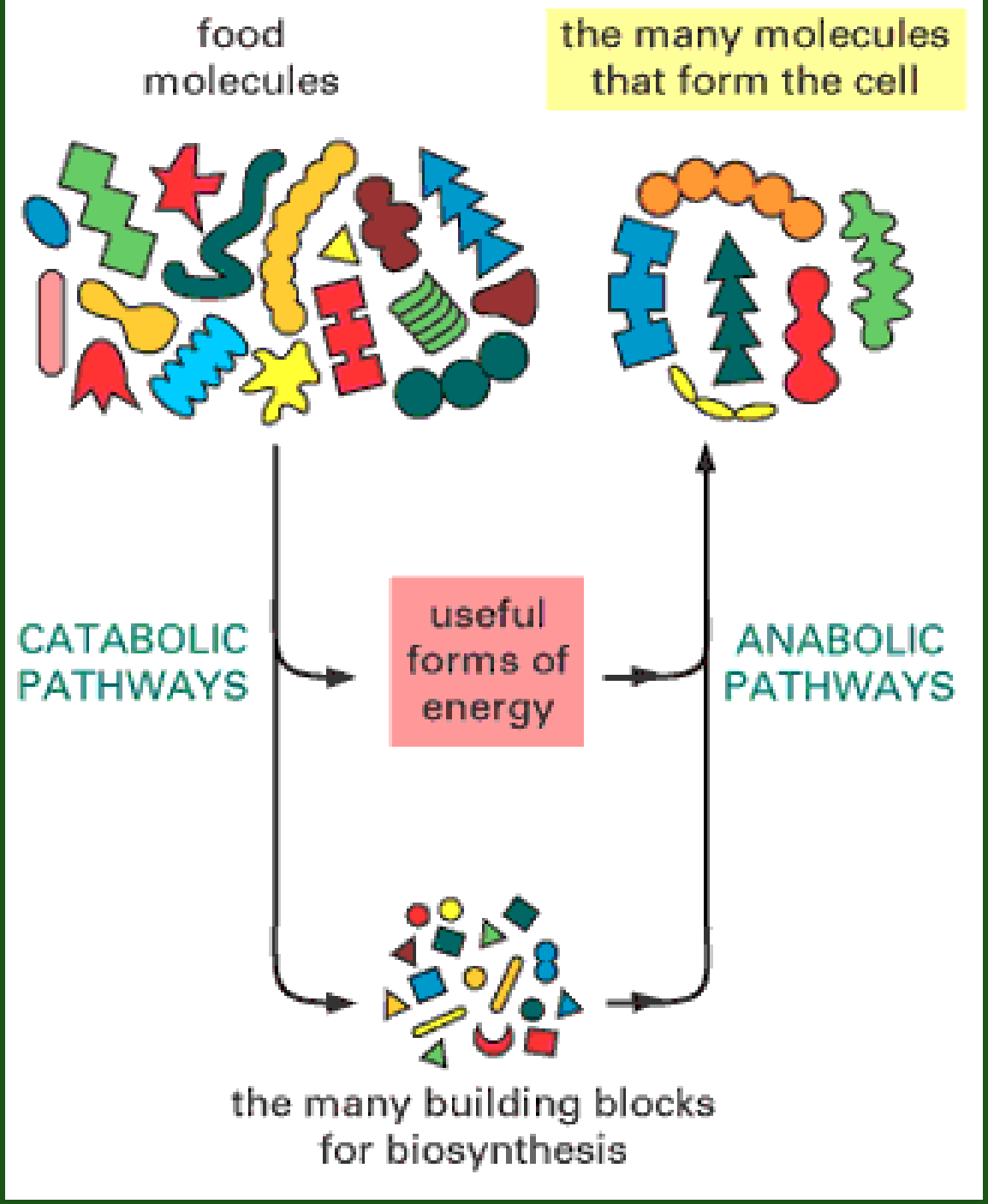
Zöld növények, eukarióta algák (fényben)
Blue/green algák
Cianobaktériumok
Fotoszint.baktériumok

SZERVETLEN ← **ELEKTON DONOR**

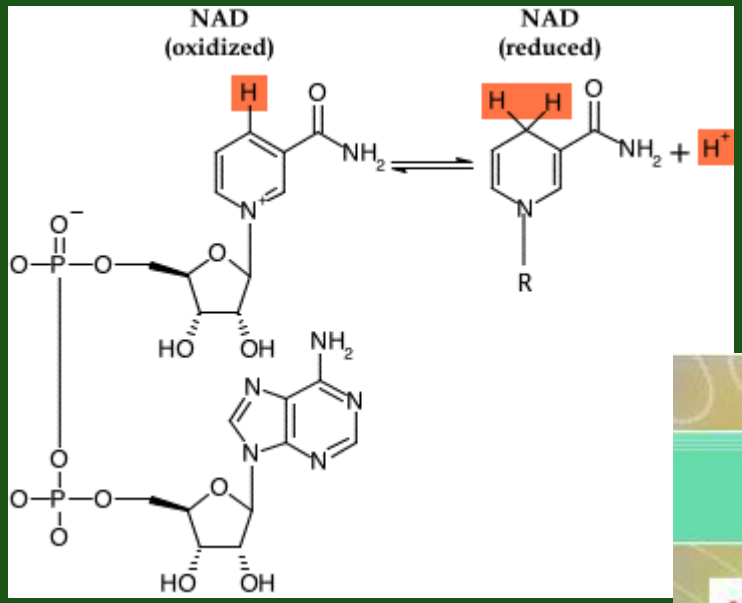
H_2O, H_2S, S...

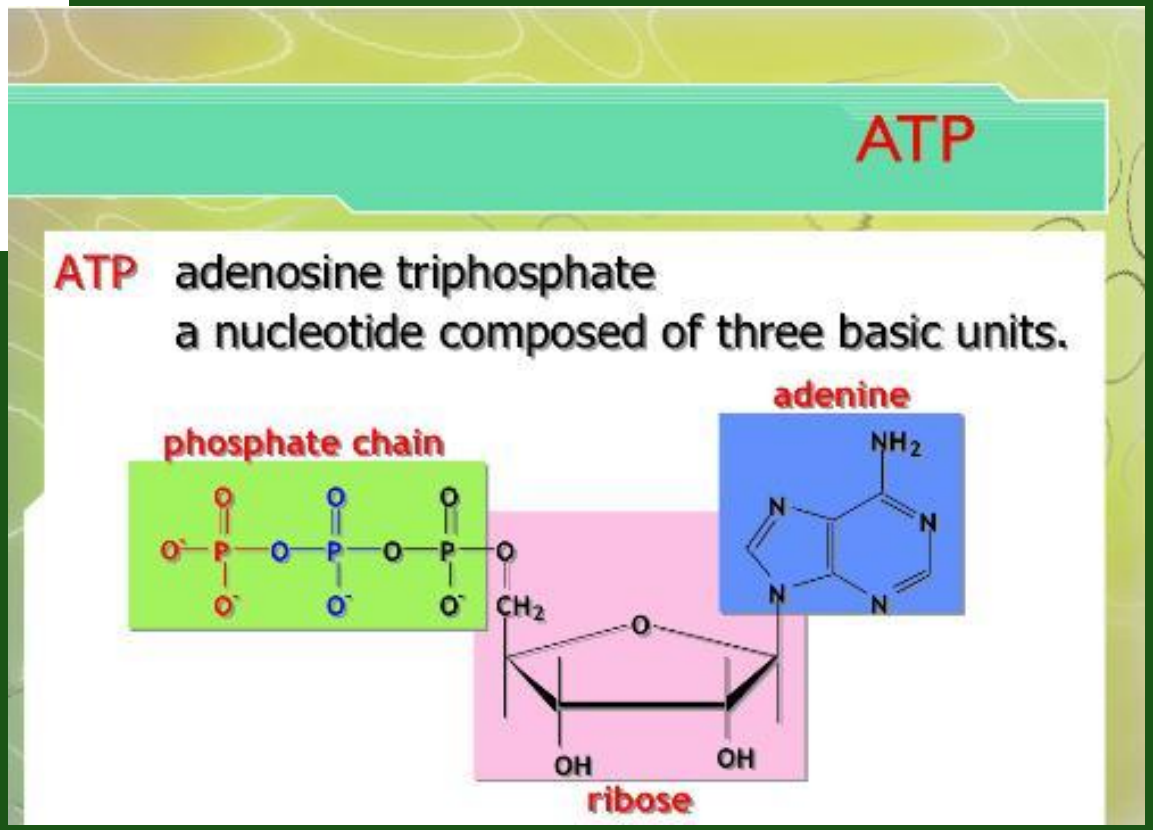
(És mi az elektron akceptor??)

Nettó szerves anyag termelők

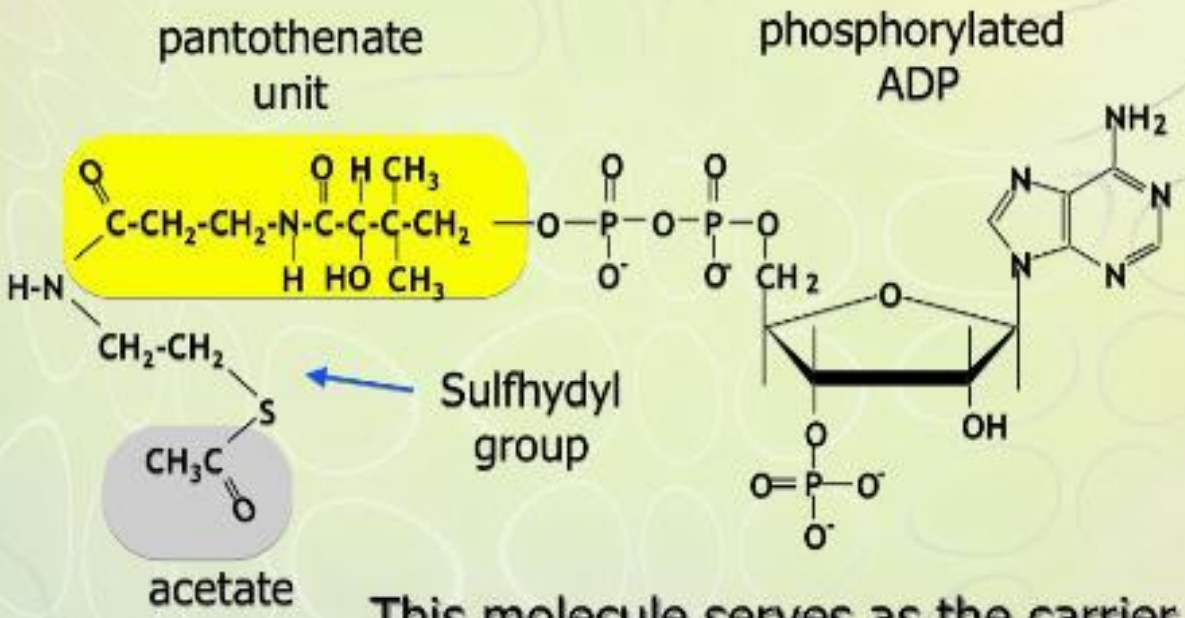

food molecules
the many molecules that form the cell
CATABOLIC PATHWAYS
useful forms of energy
ANABOLIC PATHWAYS
the many building blocks for biosynthesis

NAD


NAD
(oxidized)
NAD
(reduced)
H
O
NH2
H H
O
NH2 + H+
N+
N
R
O−
O
P
O
HO
OH
NH2
N
N
N
N
O
P
O
O
HO
OH


ATP
ATP adenosine triphosphate
a nucleotide composed of three basic units.
adenine
phosphate chain
NH2
N
N
N
N
O
P
O
CH2
O
OH
OH
ribose

Acetyl - coenzyme A



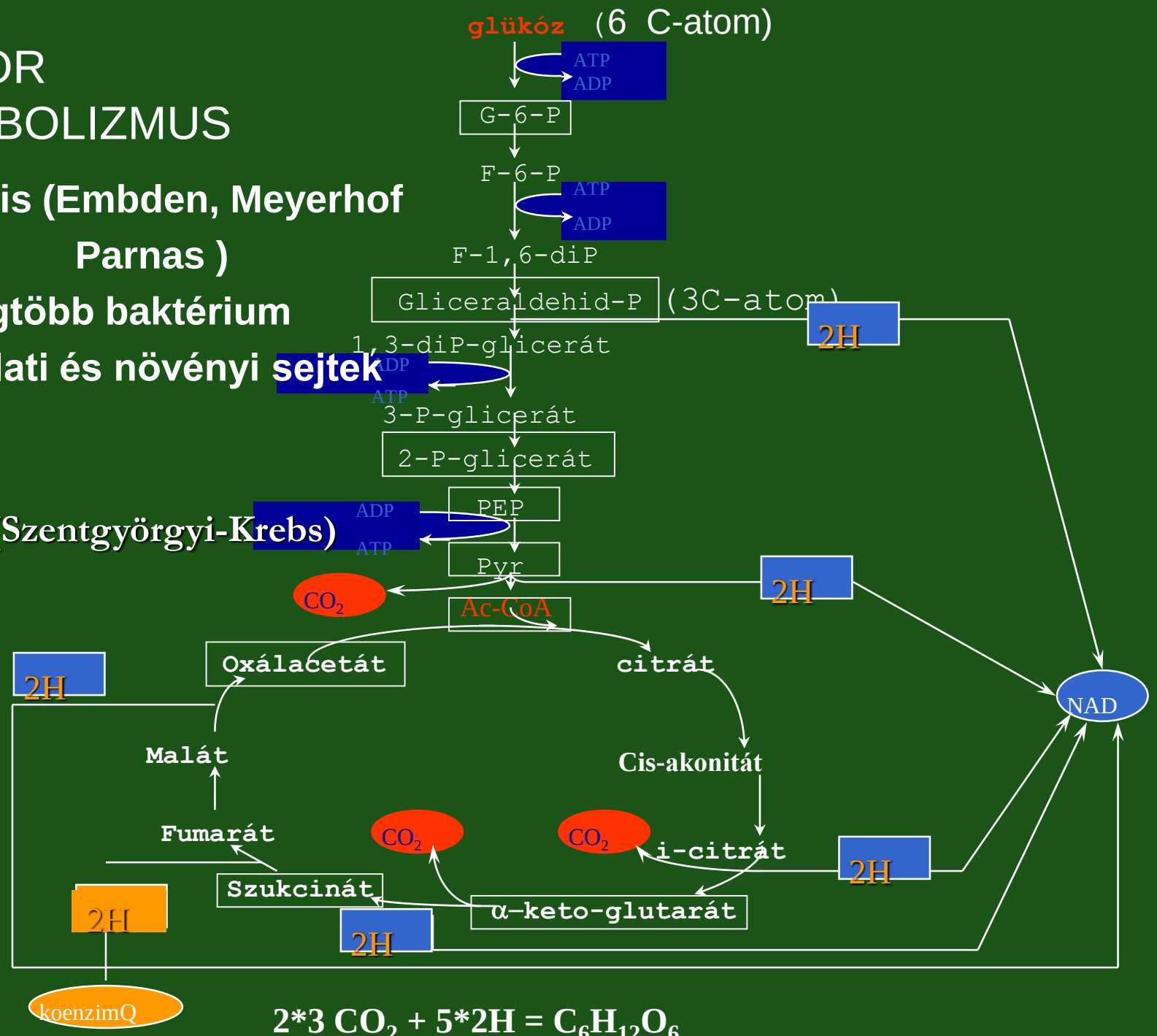
This molecule serves as the carrier for the small molecules from digestion.

CUKOR KATABOLIZMUS

Glikolízis (Embden, Meyerhof Parnas)

- **legtöbb baktérium**
- **Állati és növényi sejtek**

Citrátkör(Szentgyörgyi-Krebs)



$$2*3\ CO_2 + 5*2H = C_6H_{12}O_6$$

Glikolízis

NAD → NADH

Glucose → Pyruvate

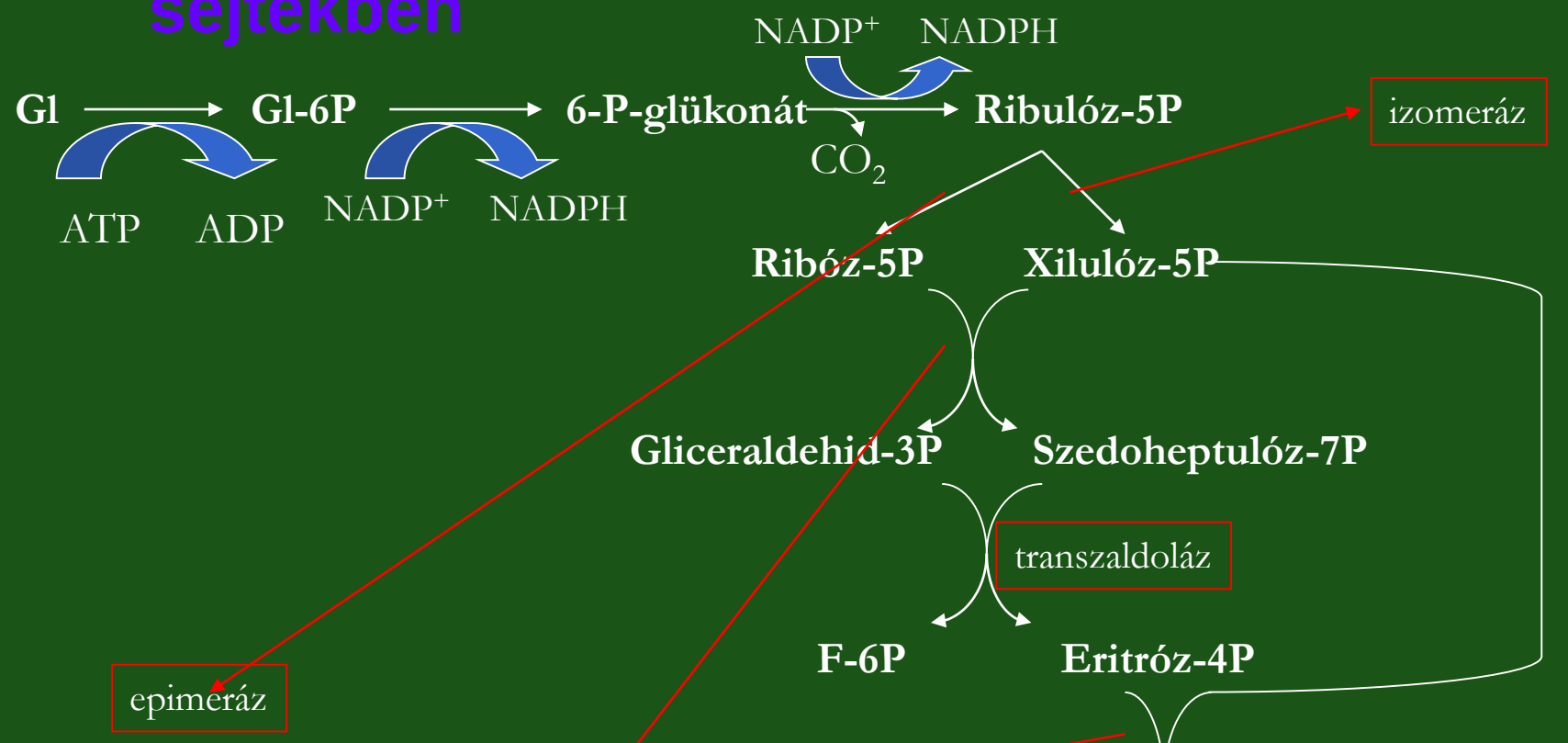
C6 C3

ADP → ATP

Egyéb cukor katabolizmus utak

Pentóz foszfát út (hexose monophosphate sönt)

NADPH termelés,általános növ. és állati sejtekben

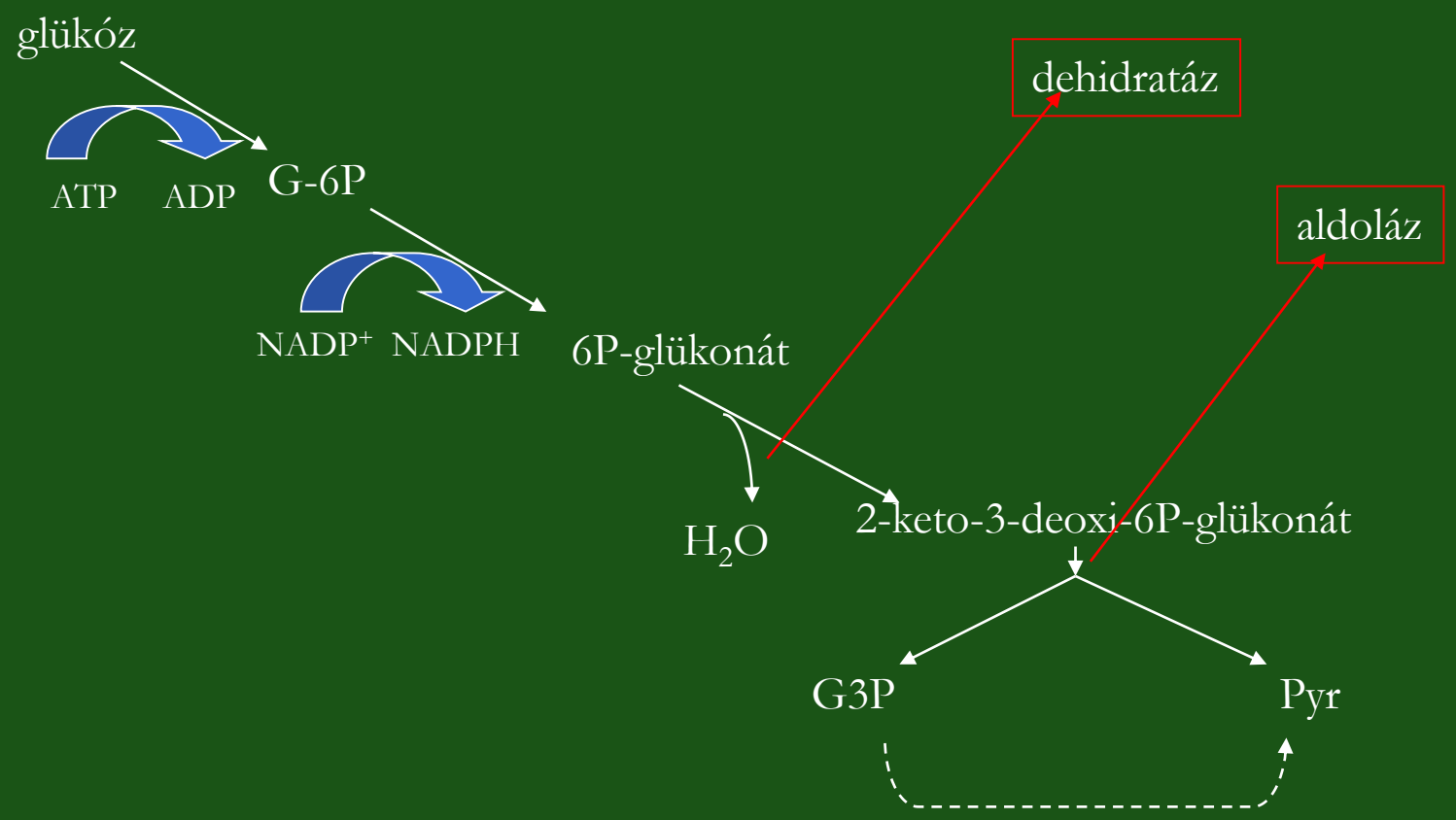


2:1 → 10,20:1

Gyors lassú növekedés

Entner Doudoroff út

Néhány baktériumban -EMP helyett



Citromsav ciklus
Szentgyörgyi-Krebs ciklus

Pyr+ CoA+NAD$^+$

Piruvát-dehirogenáz

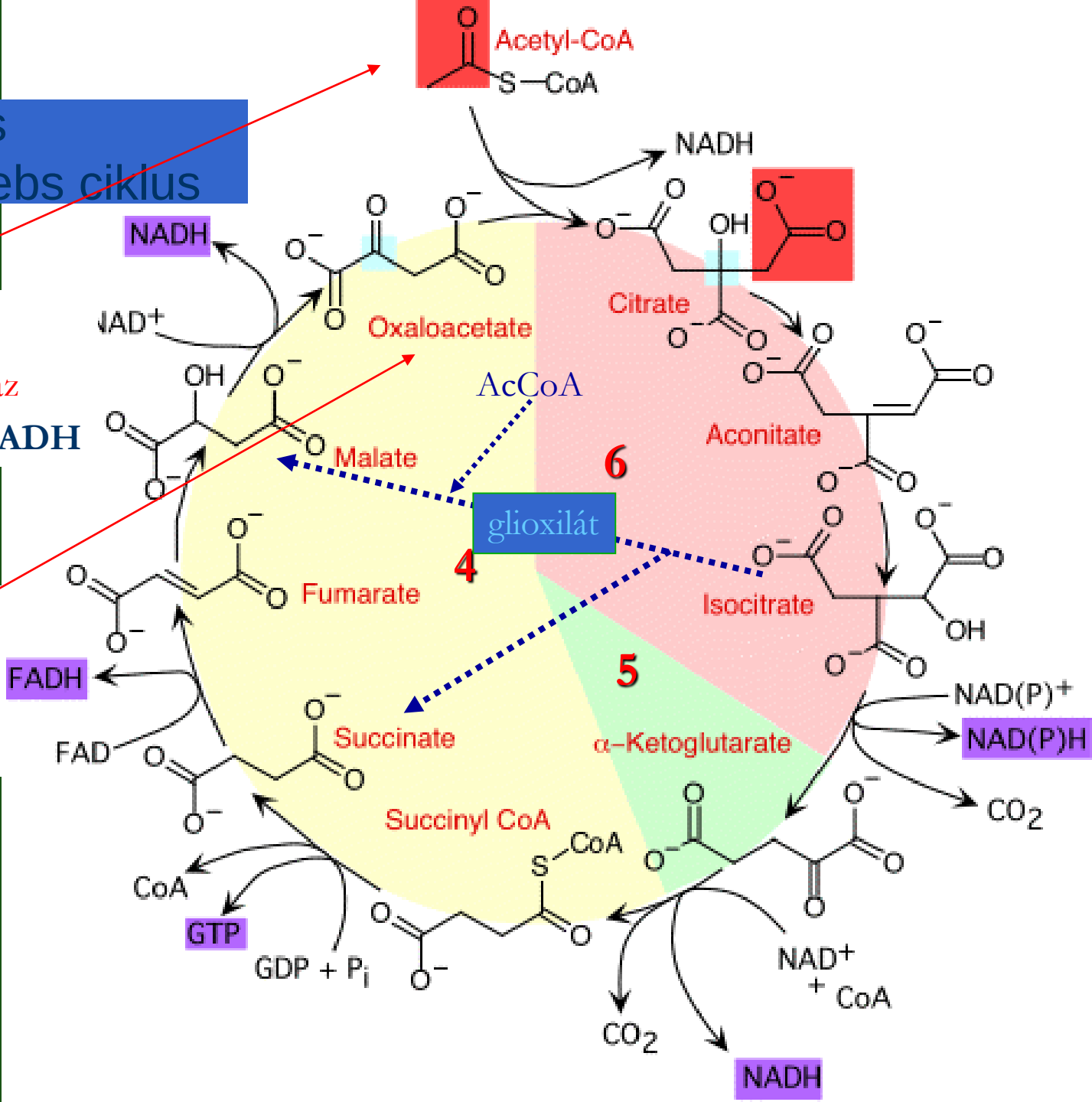
Acetil-CoA+ CO_2+ NADH

Pyr+ CO_2+ ATP

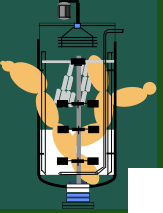
Piruvát-karboxiláz

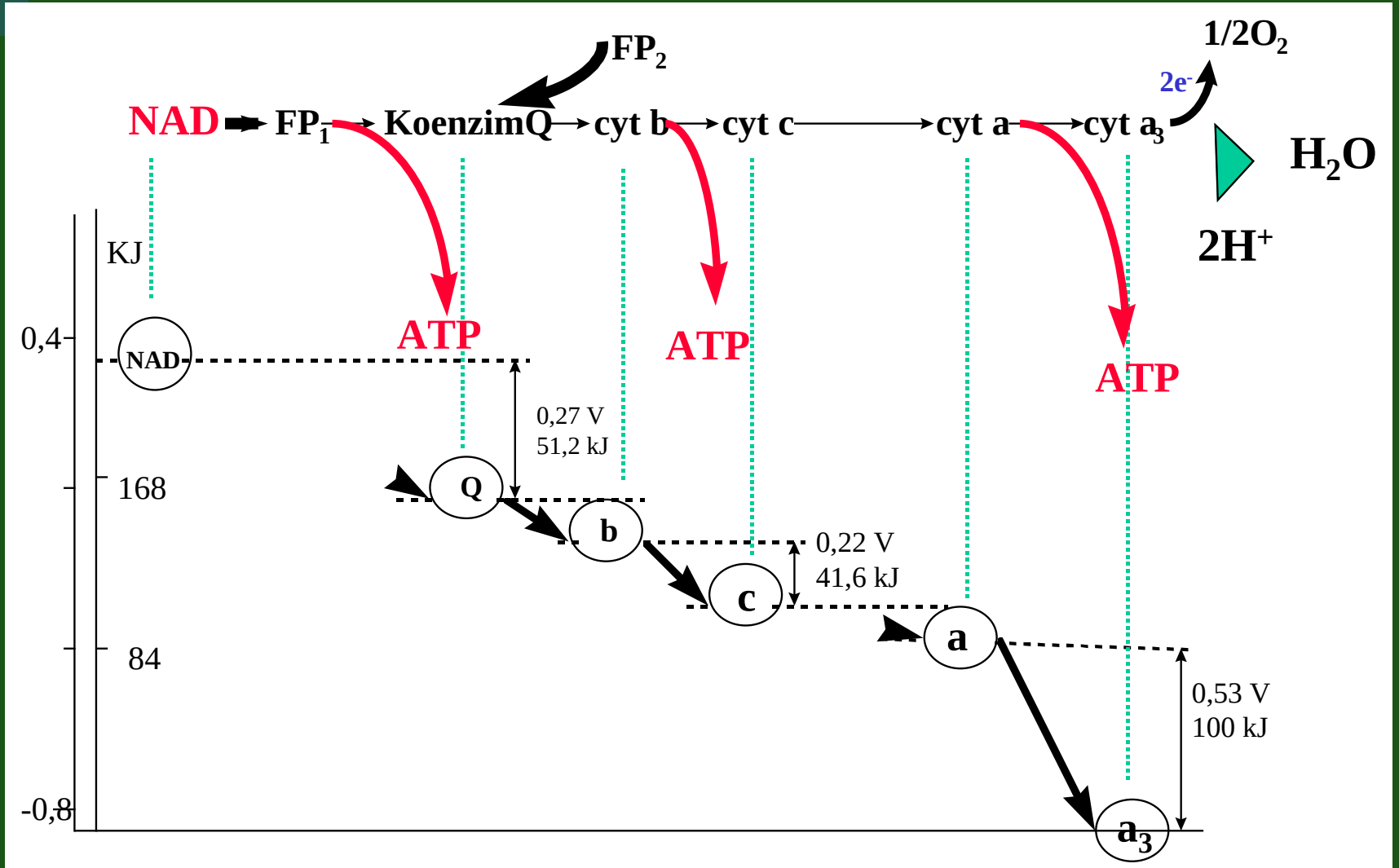
Oxaloacetát+ADP +Pi

anaplerotikus



Az oxigén szerepe , légzés





$$ADP + P_i \rightleftharpoons ATP + H_2O \qquad \Delta G^o = +7{,}3 \text{ kcal} = 30{,}7 \text{ kJ}$$

Krebs Cycle (C4-C6 intermediate compounds)

NAD → NADH

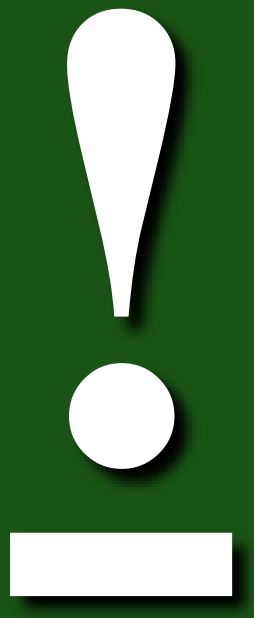
Pyruvate (C3) → $3CO_2$ (C1)

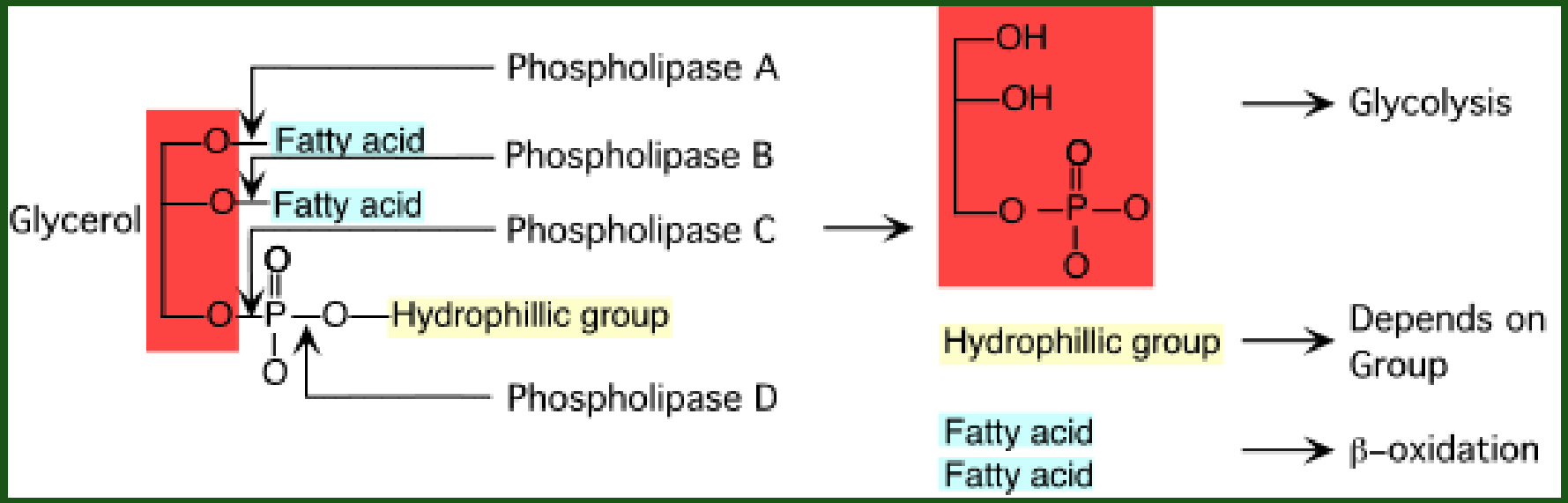
Oxidative phosphorylation

NADH → NAD

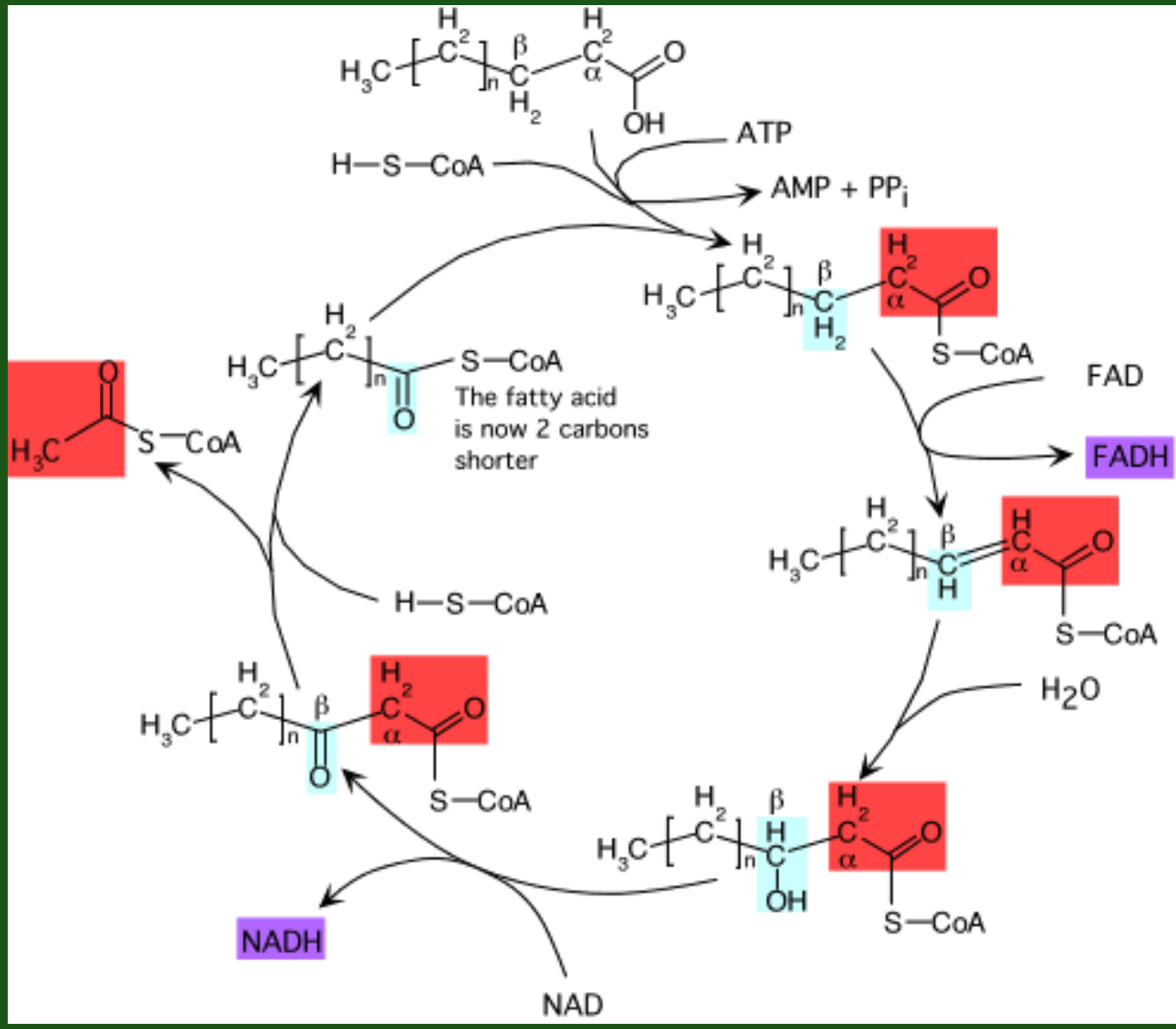
O_2 → H_2O

ADP → ATP

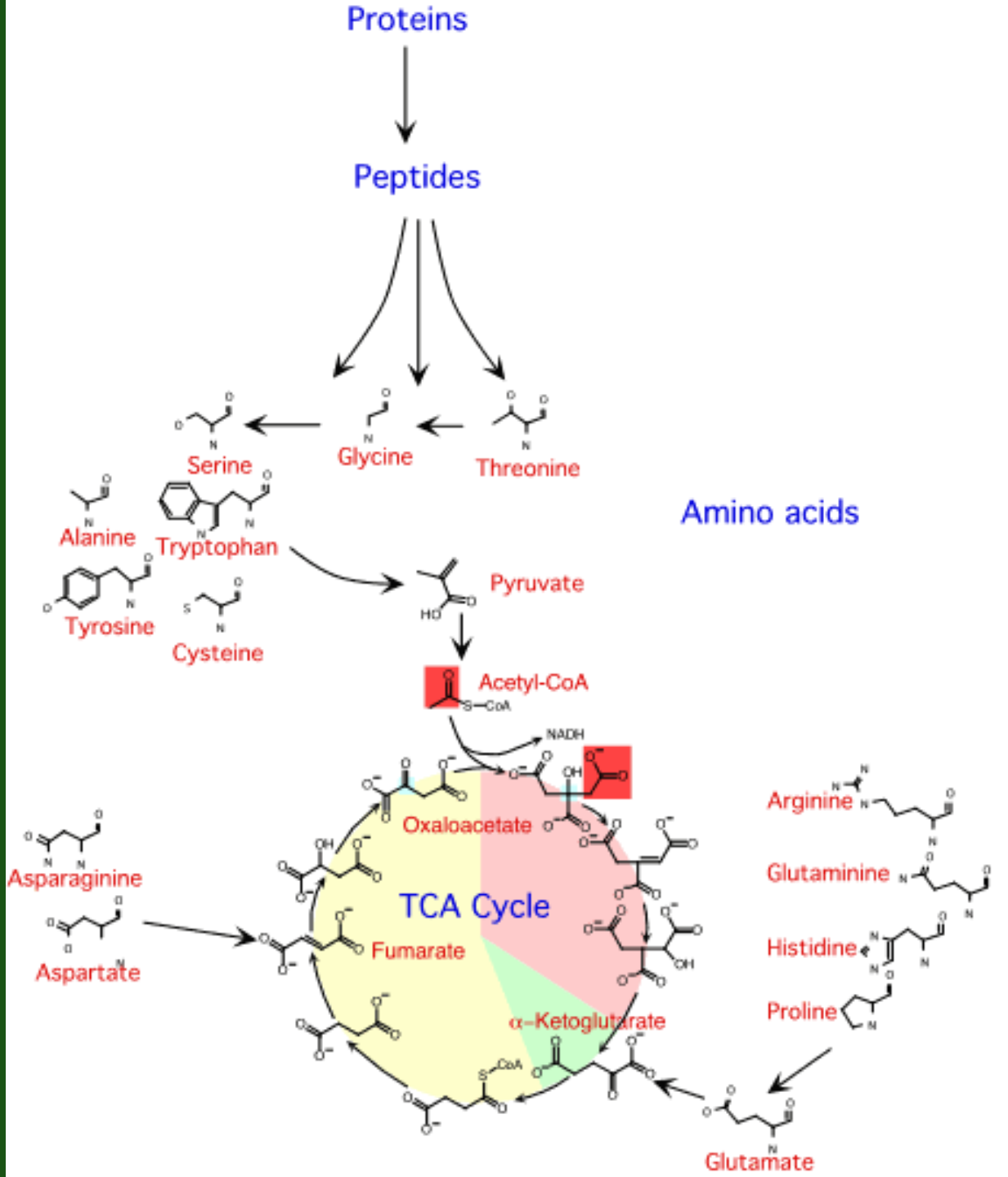



Phospholipase A
Fatty acid
Phospholipase B
Glycerol
Fatty acid
Phospholipase C
Hydrophillic group
Phospholipase D
OH
OH
Glycolysis
Hydrophillic group
Depends on Group
Fatty acid
Fatty acid
β–oxidation

Zsírsaval lebontása
-oxidáció



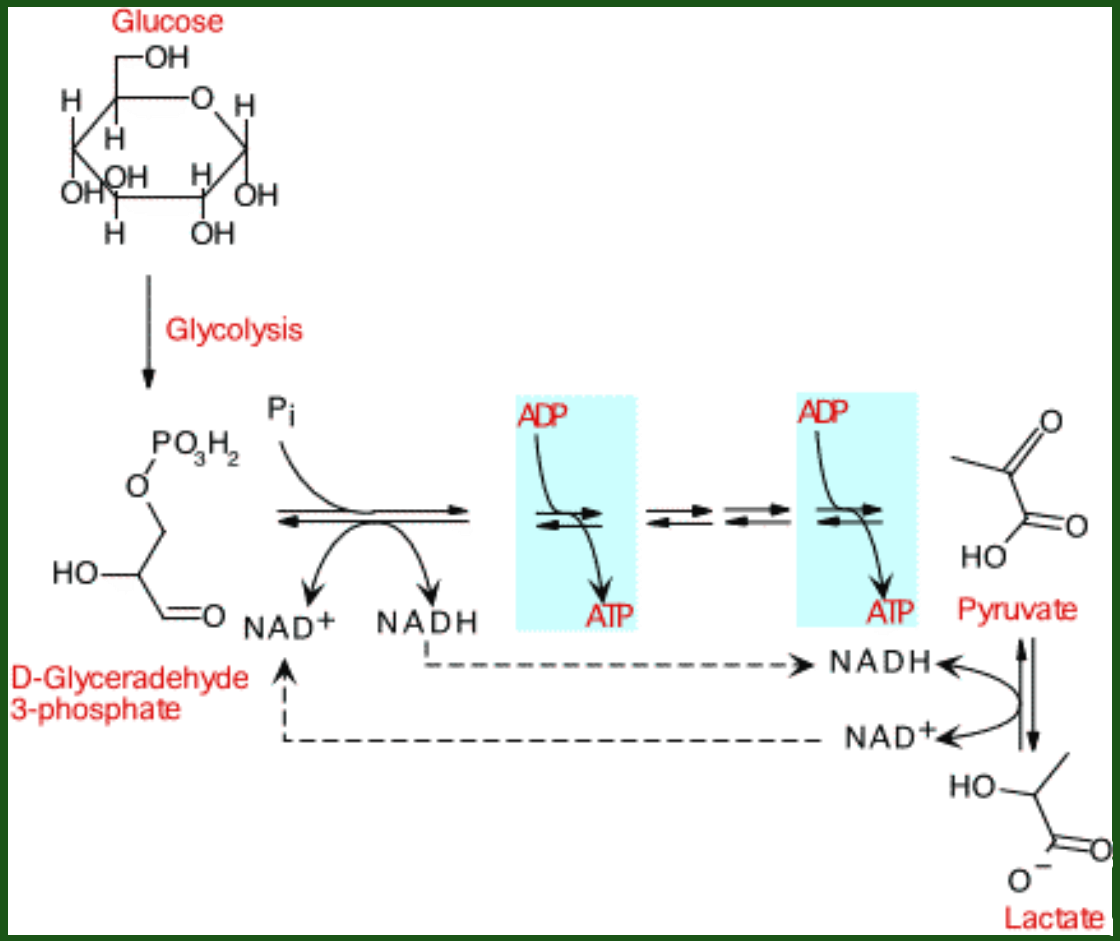
Aminosavak
mint C/energiaforrások



ANAEROB ANYAGCSERE

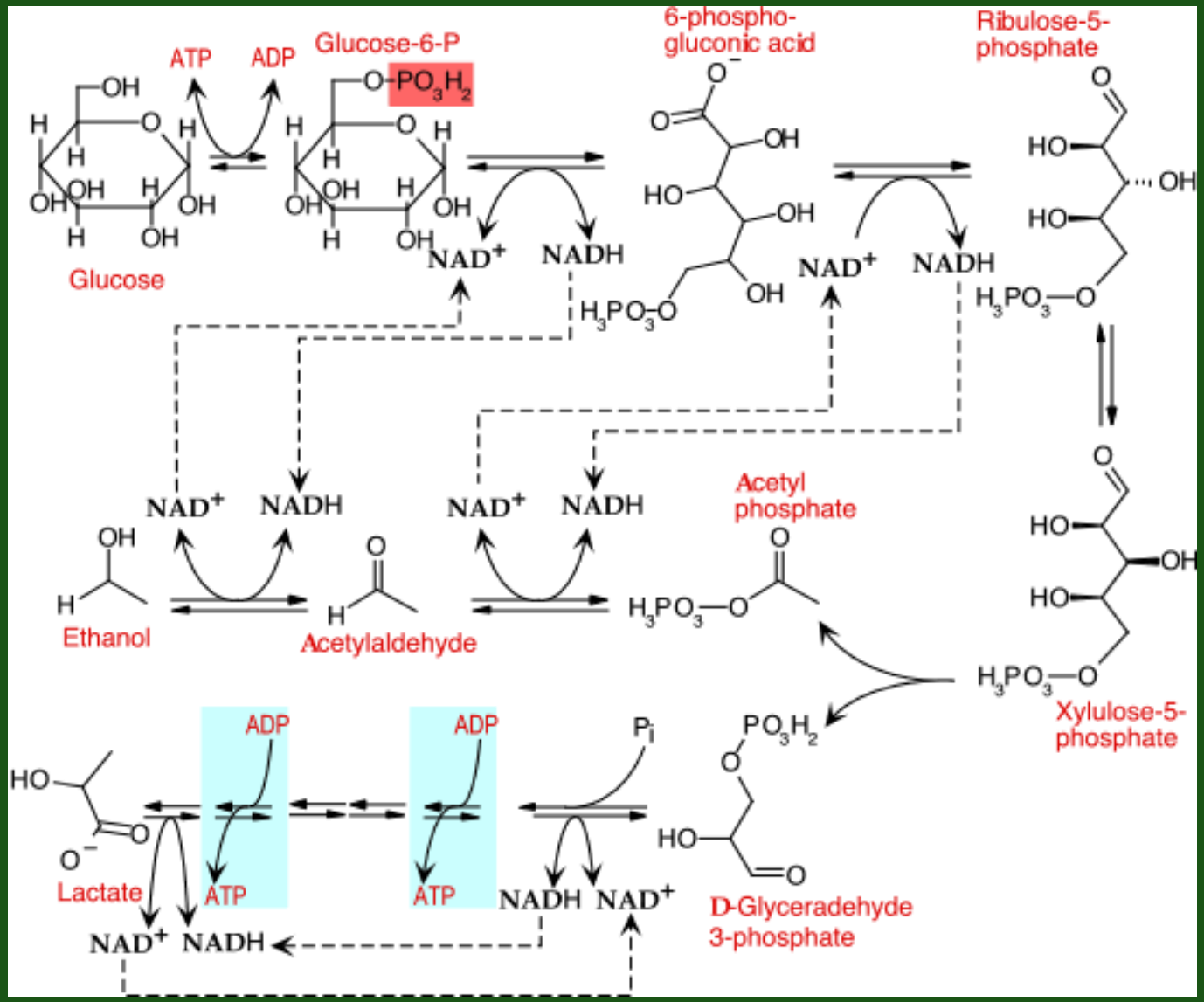
SZUBSZTRÁT SZINTŰ FOSZFORILEZÉS (GIKOLÍZIS, TCA)

NEMCSAK MIKROBÁKBAN: TEJSAV (homolaktikus fementáció

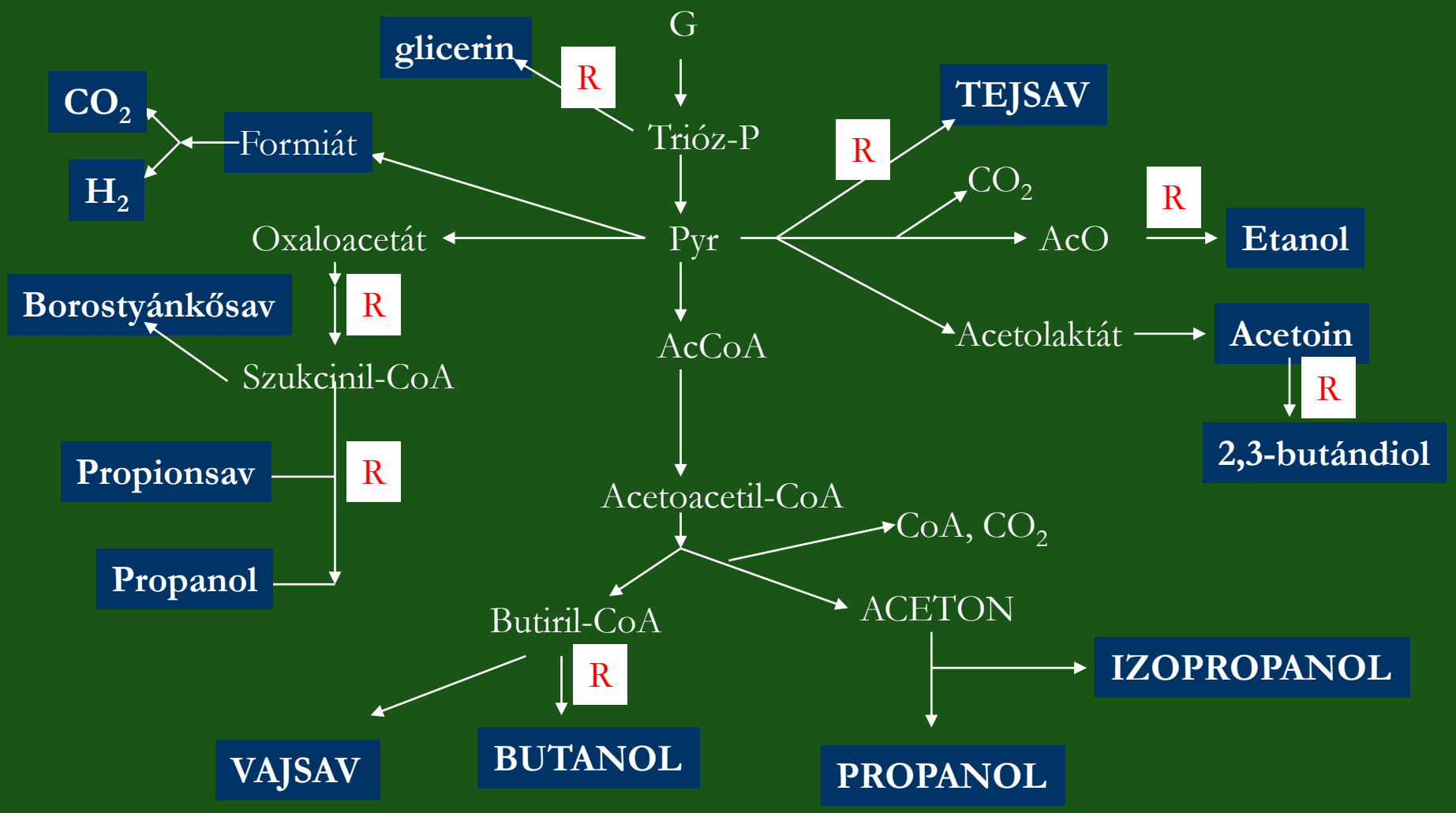


NADH visszaoxidálása **egy sor anyagcseretermék, más elektronakceptorok**

egy sor anyagcseretermék: heterolaktikus fermentáció



1 egy sor anyagcseretermék: anaerob NADH regeneráló anyagcsereutak, végtermékek



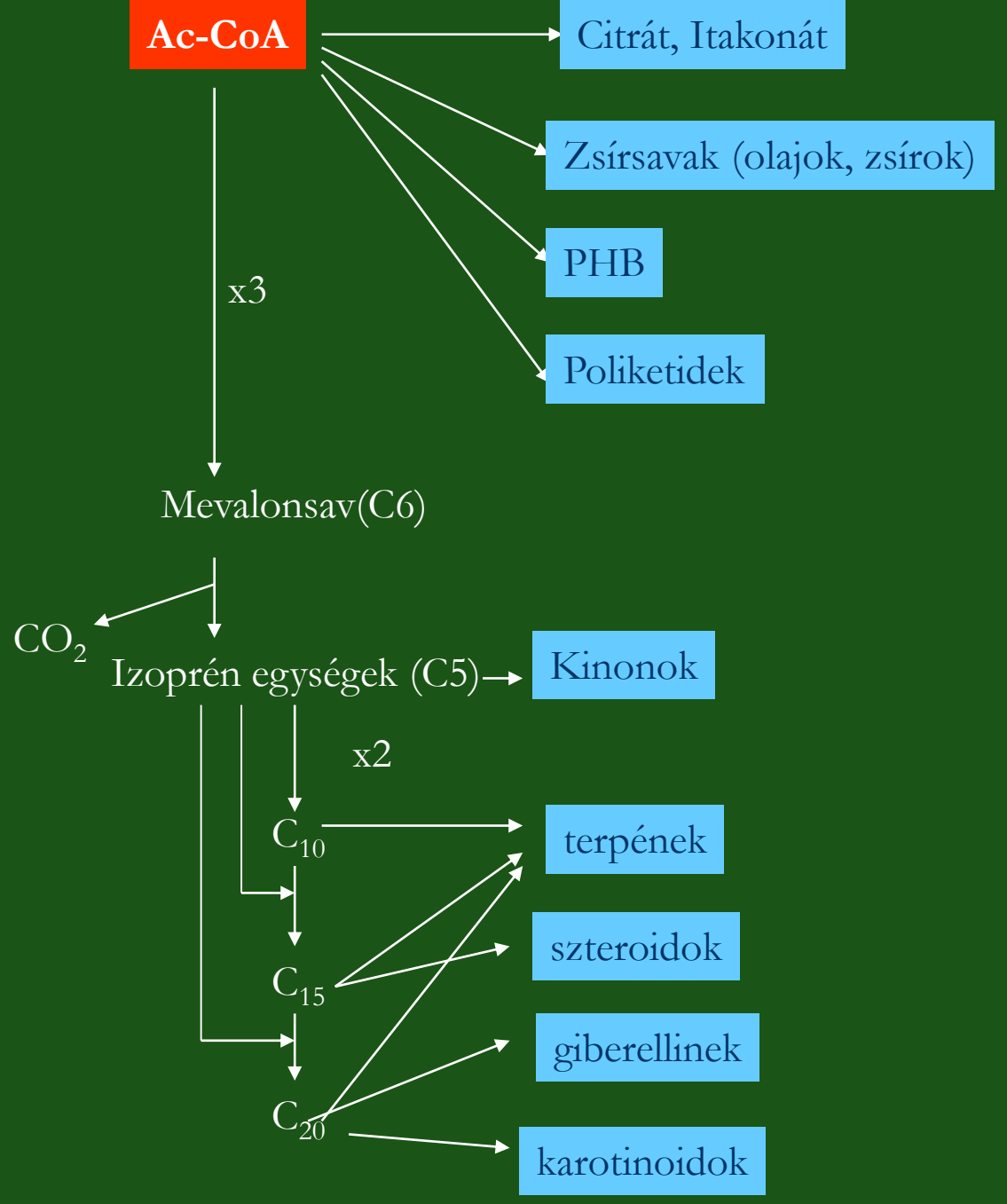
NADH visszaoxidálása: **más elektronakceptorok**

Energiaforrás (redukáló=oxidálódó vegyület)	Oxidáns (terminális elektron akceptor)	Respiráció termékei	Példa
*H_2	SO_4^{2-}	H_2O+S^{2-}	*Desulfovibrio*
*Szerves vegyület	NO^{3-}	N_2+CO_2	Denitrifikáló baktérium
S^{2-} +	NO_3^-	N_2 +elemi S	Thiomargarita

BIOSZINTÉZIS

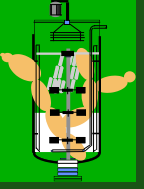
Primer anyagcsere	**TROPOFÁZIS**	**kiegyensúlyozott növekedés** **balanced growth**
Szekunder anyagcsere	**IDIOFÁZIS**	**kiegyensúlyozatlan növ,** **fenntartás: folyik a primer anyagcsere részben:** **m á s f e l é**

Szekunder a.csere termékek Acetil-koenzim-A-ból



Fermentációs tápoldatok

BIM2 2002



1.fázis

POLISZAHARIDOK → **Hexózok glükóz**

FEHÉRJÉK → **AS**

ZSÍROK → **glicerin+zsírsav**

AROMÁSOK

S-HIDRO LÍZIS

2.fázis

PYR

AcCoA

αKETOGLU-TÁRSAV

OXÁL ECETSAV

BOROSTYÁN KŐSAV

ALAP METABOL. ÁTALAKULÁS

TCA

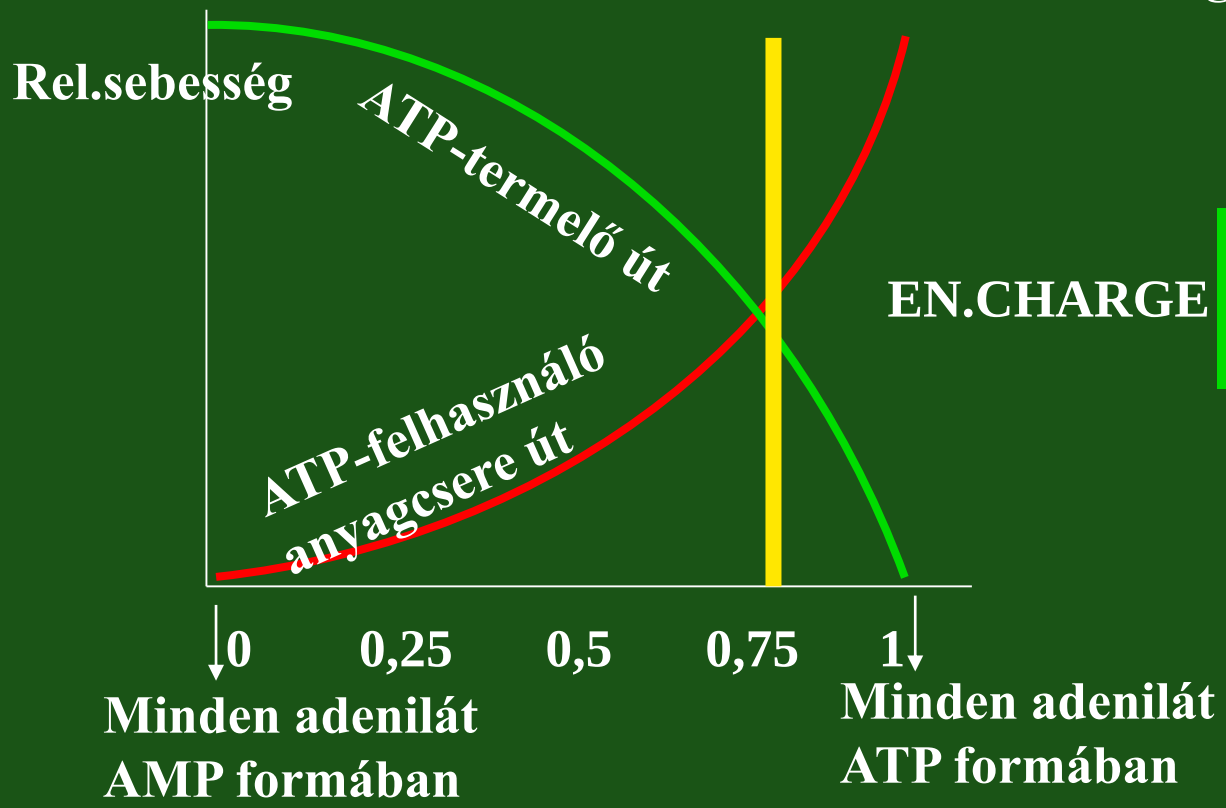
3.fázis

OXIDATÍV FOSZFORILEZÉS

ENERGIA

ENERGY CHARGE ENERGIA-TÖLTÉS

Az energiaállapot indikátora



$$\text{EN.CHARGE} = \frac{[ATP] + 1/2[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

0,8-0,95

(Adenilát-kináz)

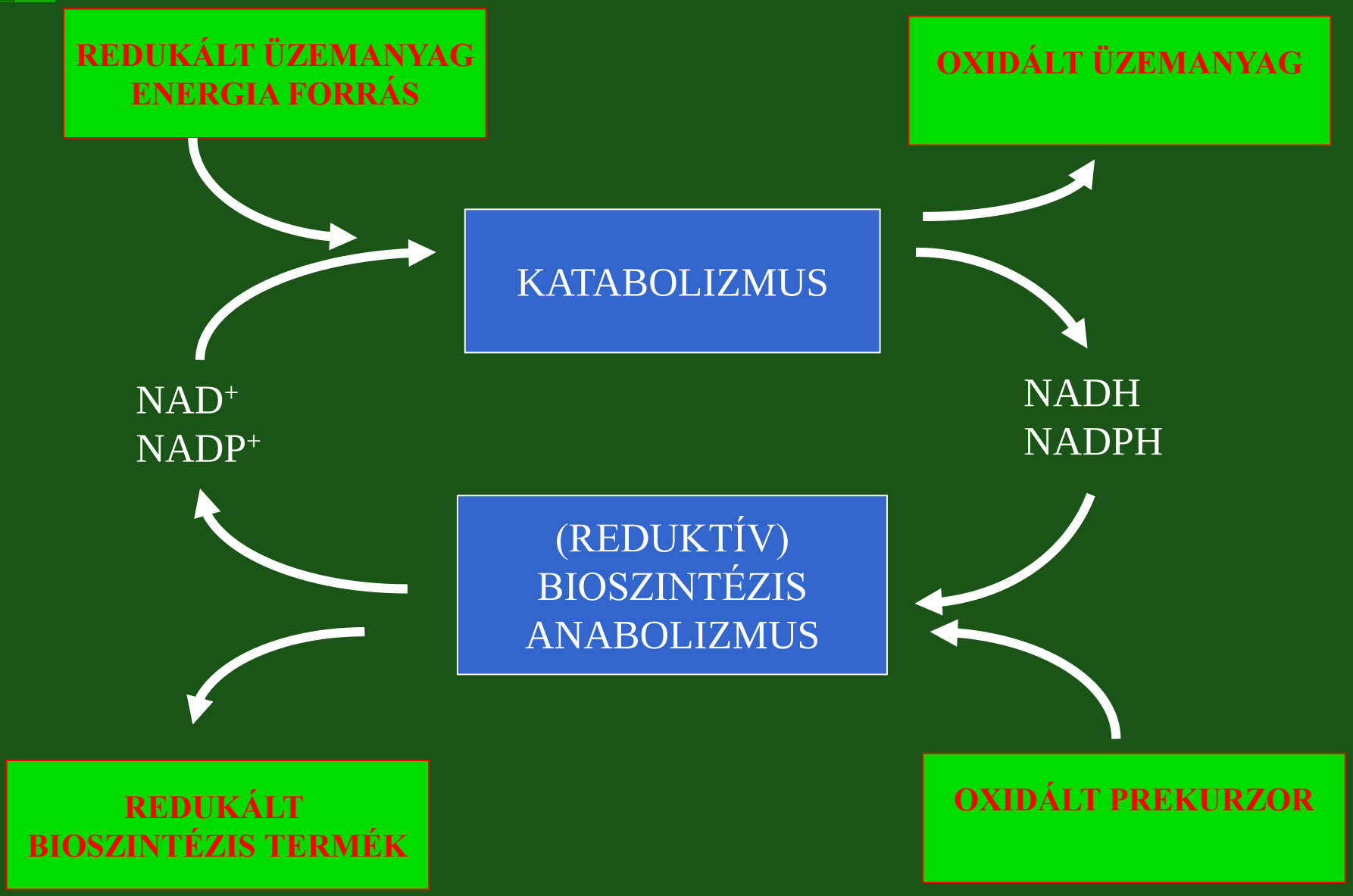
Direktebb mértéke az ATP hozzáférésnek a

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

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

Fermentációs tápoldatok

„REDUKÁLÓ ERŐ”



Ipari táptalajok

C-forrás

SZÉNHIDRÁTOK — glükóz ← HYDROL
— szacharóz ← MELASZ %
— malátakivonat
— keményítő, dextrin
— szulfitlúg (hexózok, pentózok)
! (— cellulóz)

NÖVÉNYI OLAJOK : szója, pálma, gyapot

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
— BÚZASIKÉR
— HALLISZT ....
— ÉLESZTŐEXTRAKT
— PEPTONOK

OXIGÉN → igény → - átadás .....

NÖVEKEDÉSI FAKTOROK, VITAMINOK, BIOSZANYAGOK

EGYEDI TÁPOLDATOK → TÁPOLDAT OPTIMÁLÁS

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

Sejtszám db/ml

N, x

Sejttömeg: sz.a.
mg/ml, g/l,kg/m^3

Generációs idő - doubling tim
generation ti

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

MONOD, 1942

μ: fajlagos növekedési sebesség

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

h^{-1}

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

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

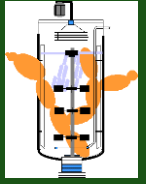
$$\frac{dN}{dt} = \nu . N$$

$$N = N_0 e^{\nu t}$$

μ és a generációs idő kapcsolata:

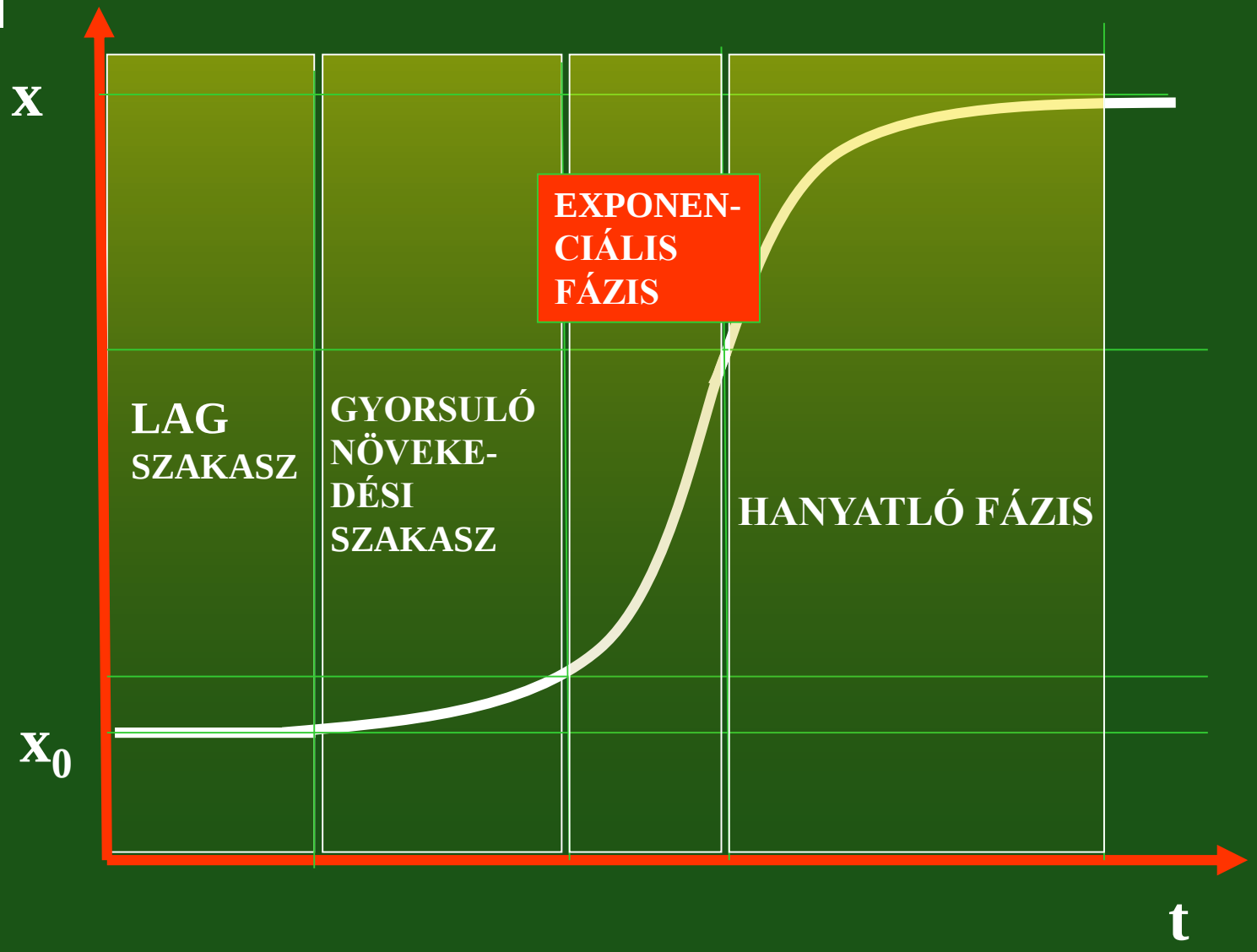
$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu}$$

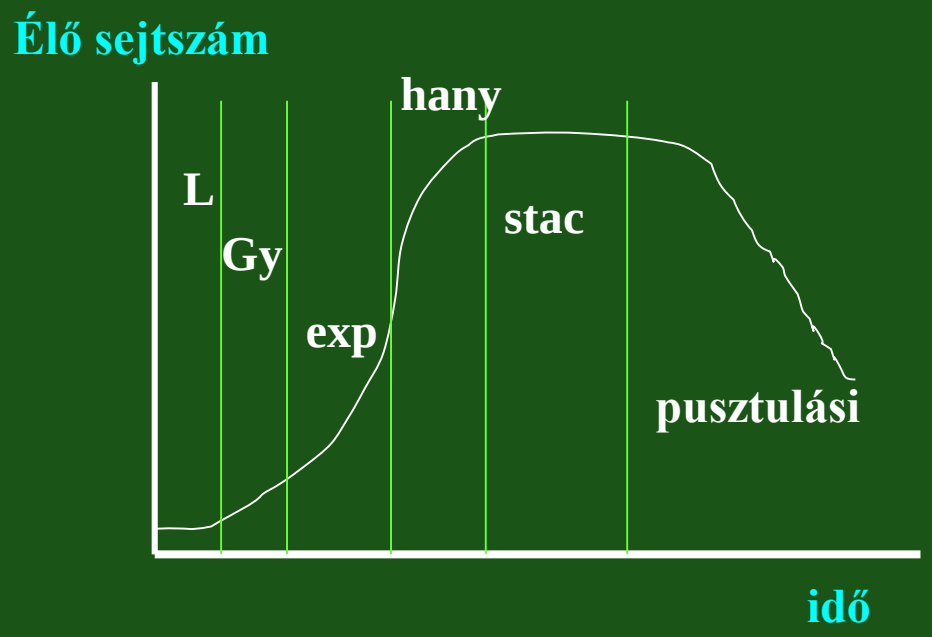
N : fajlagos szaporodási sebesség

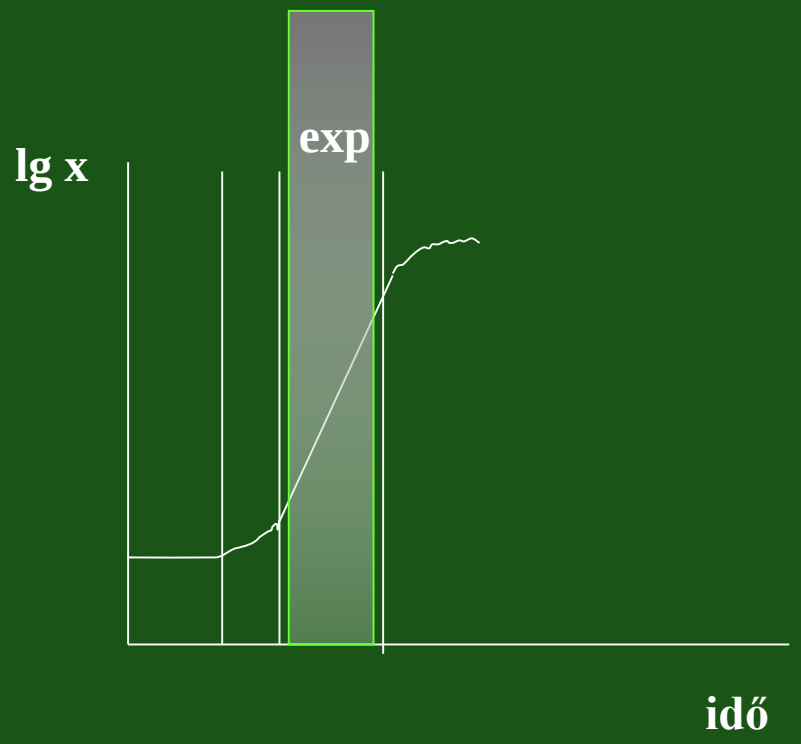


A mikroba szaporodás alapösszefüggései

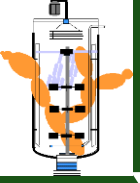
BIM SB
2001

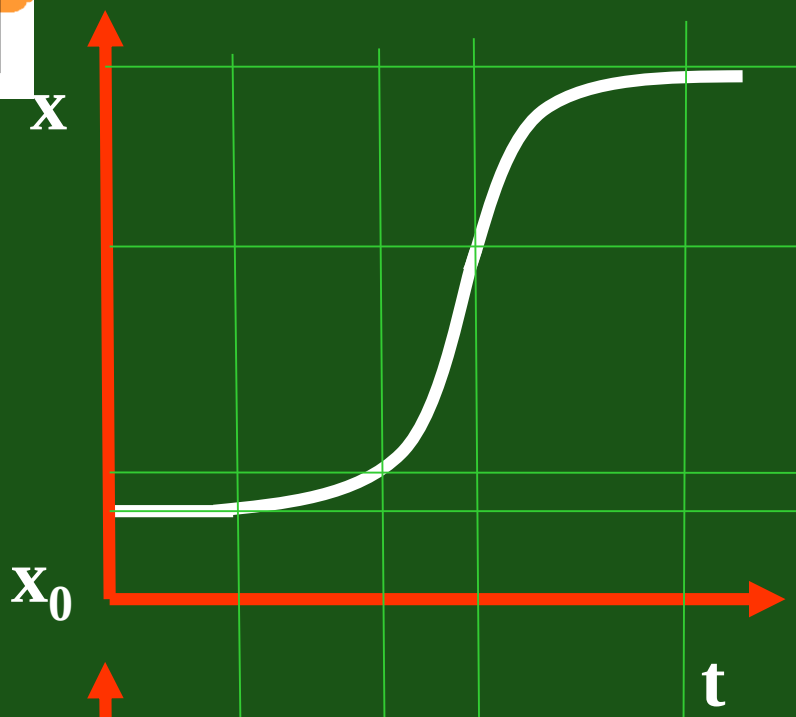


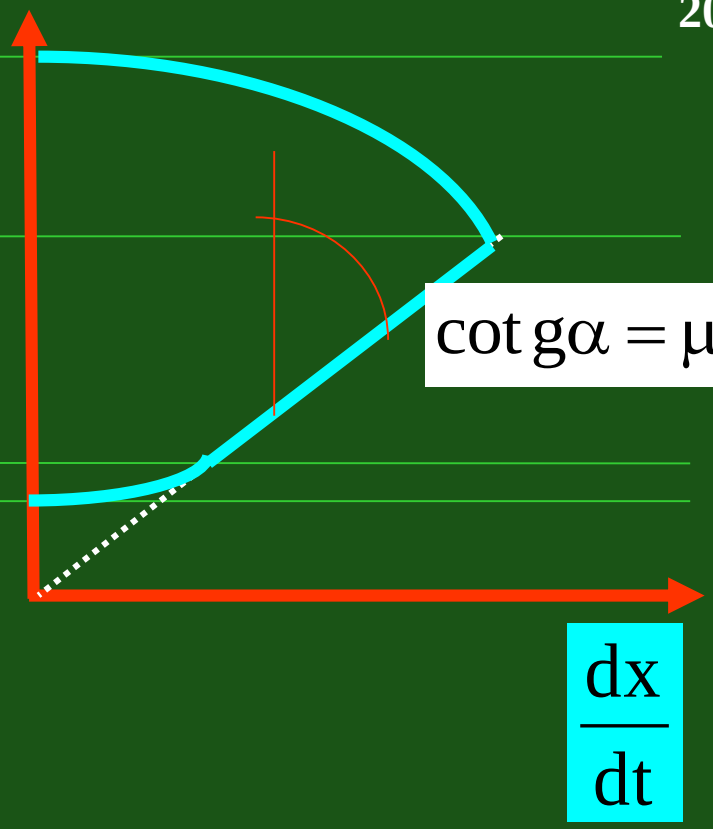

Élő sejtszám
L
Gy
exp
hany
stac
pusztulási
idő

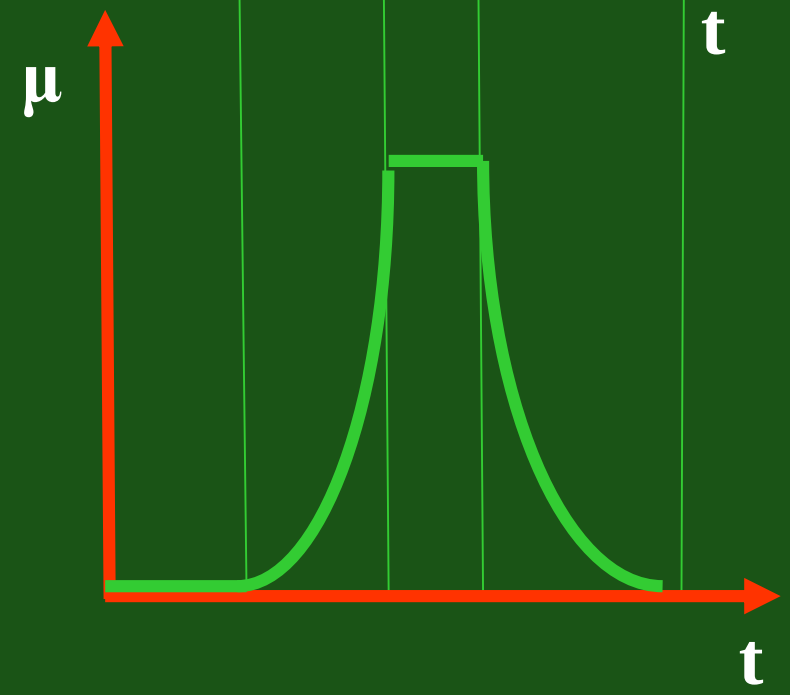

lg x
exp
idő

A mikroba szaporodás alapösszefüggései







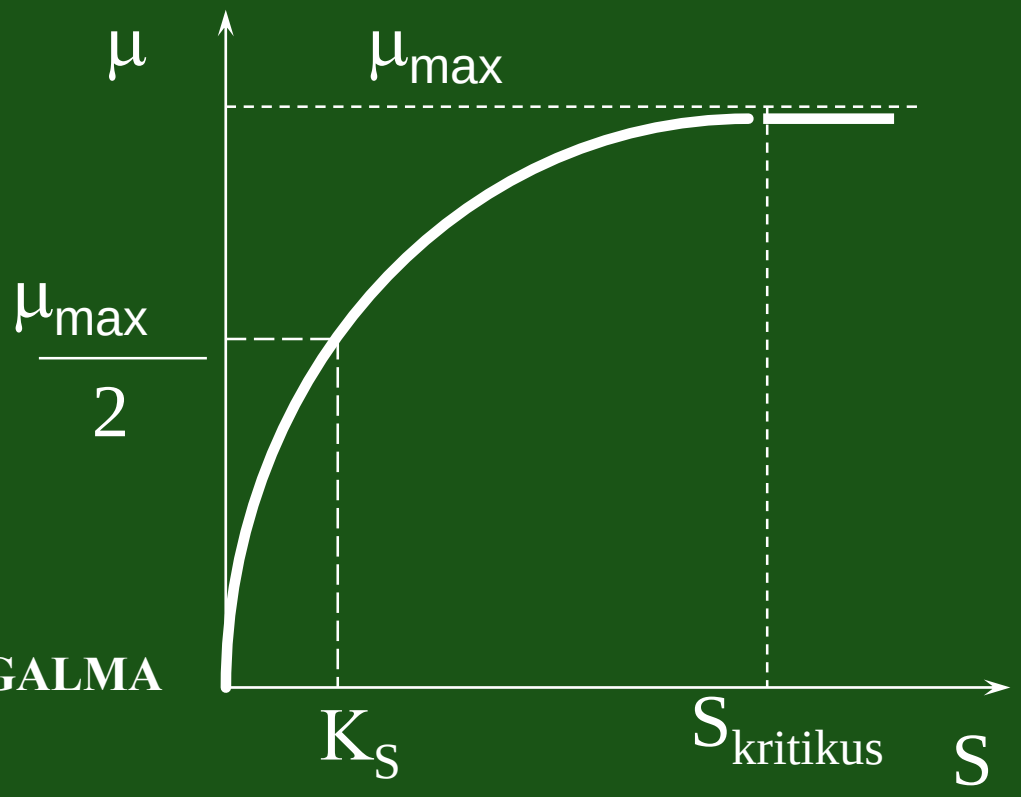


MI AZ OKA A HANYATLÓ FÁZISNAK?

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

MONOD- modell

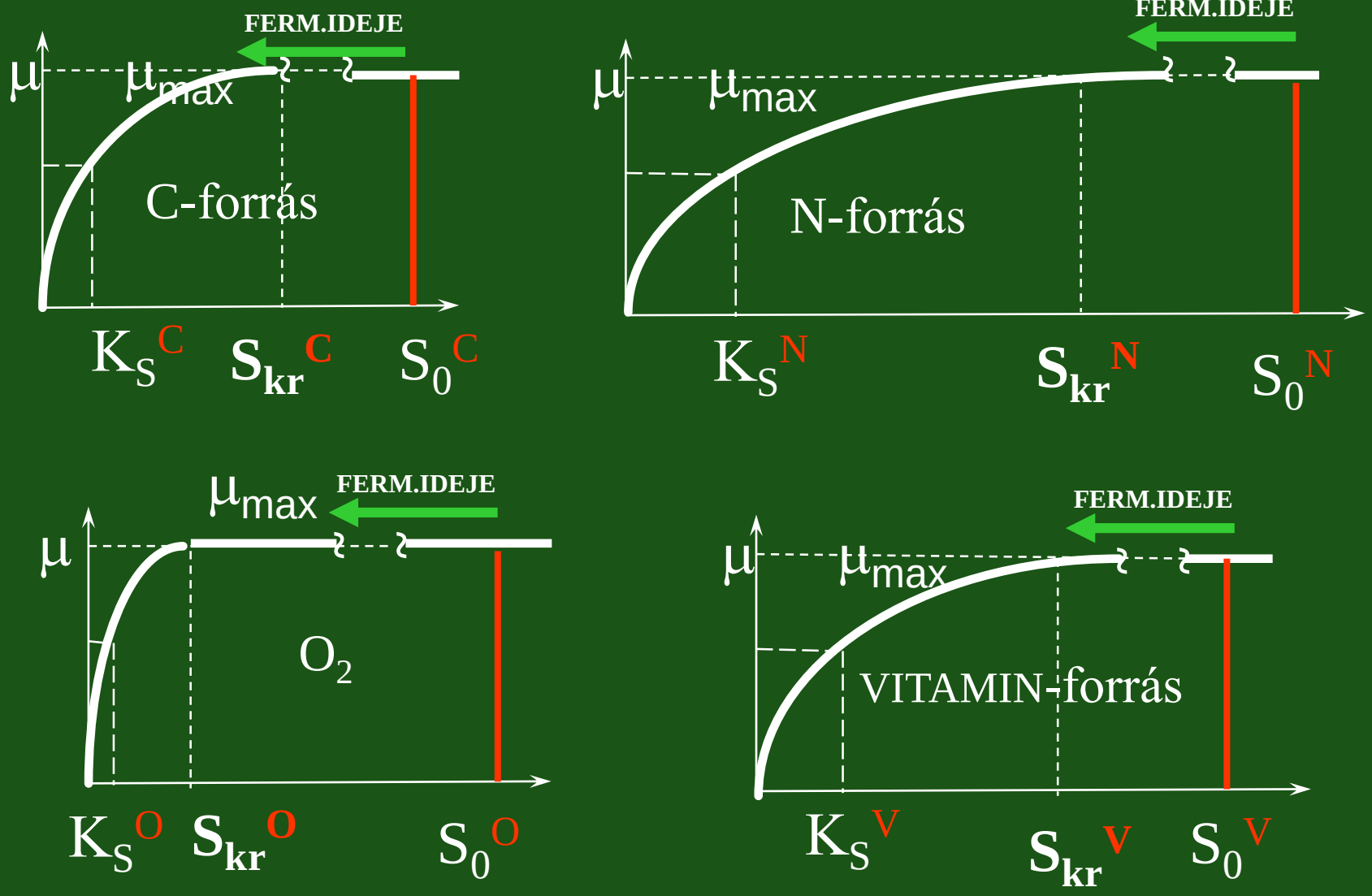
$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S}$$



KRITIKUS KONCENTRÁCIÓ FOGALMA

LIMITÁLÓ SZUBSZTRÁT

MELYIK S LESZ LIMITÁLÓ S ???



LIMITÁLÓ SZUBSZTRÁT FOGALMA

L I M I T Á L Ó S Z U B S Z T R Á T R A

HOZAM:

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

K I T E R J E S Z T É S

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

MINDÍG IGAZ:

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

Exponenciális és Hanyatló fázisban:

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

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

megoldható
diffegy.rendszer

MONOD-modell egyenletei

Több limitáló szubsztrát

interaktív vagy multiplikatív leírás:

$$\mu_x = \mu_{xmax} \frac{S_1}{K_{s1}+S_1} \frac{S_2}{K_{s2}+S_2} \cdots \frac{S_n}{K_{sn}+S_n}$$

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

additív leírás

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

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

súlyfüggvények

nem interaktív leírás

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

Monod-modell „javításai”

Teissier egyenlet

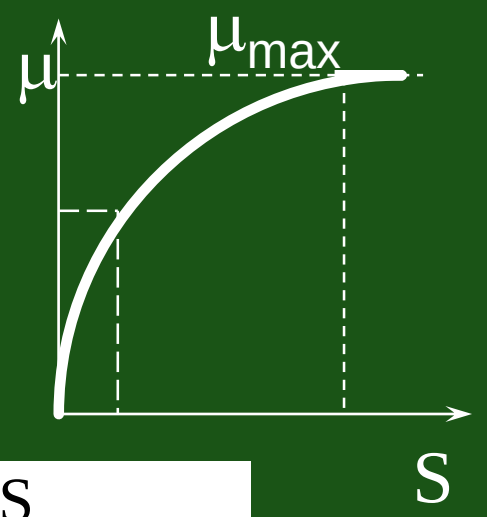
$$\mu = \mu_{x\,max}\left(1 - e^{-KS}\right)$$

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

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

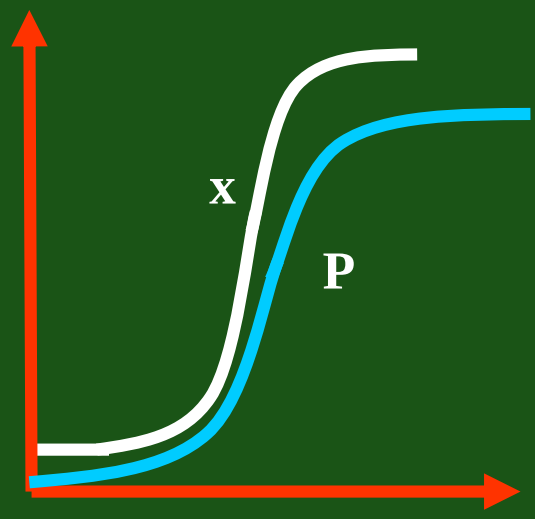


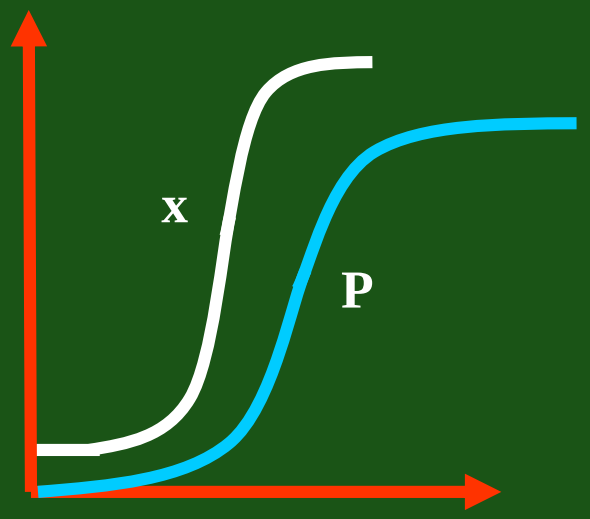
SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

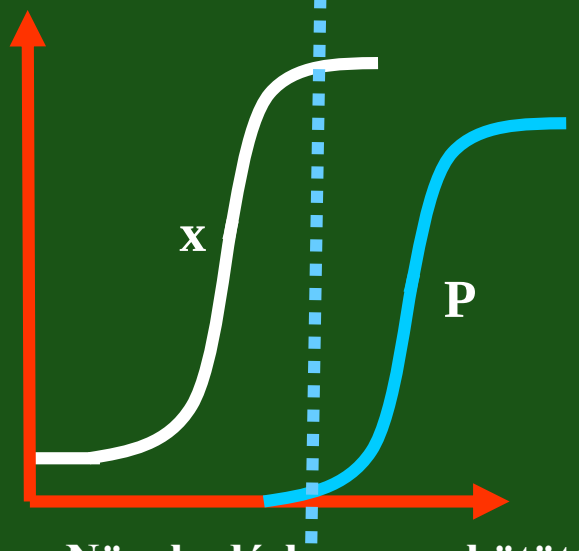
$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu_{x\,max}\frac{S}{aS + \frac{S^2}{K_i} + K_S}x$$

GAEDEN-féle termékképződési típusok

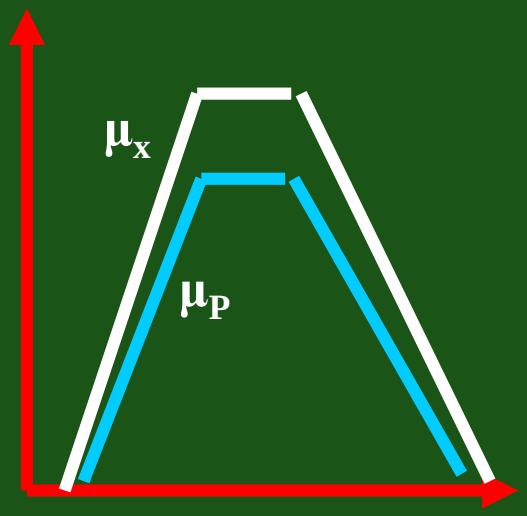
Primer acs. termék ..... **Szekunder acs. termék**

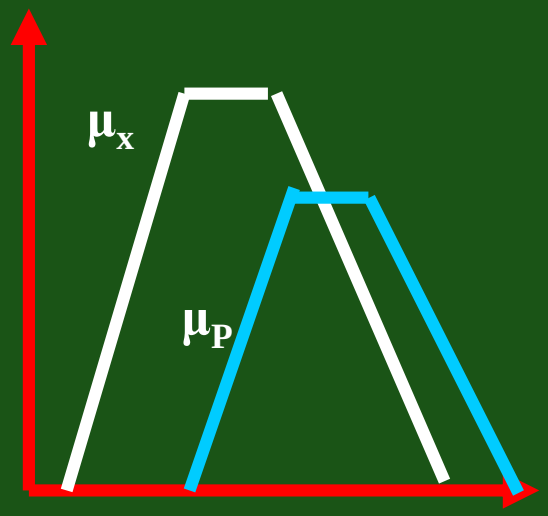


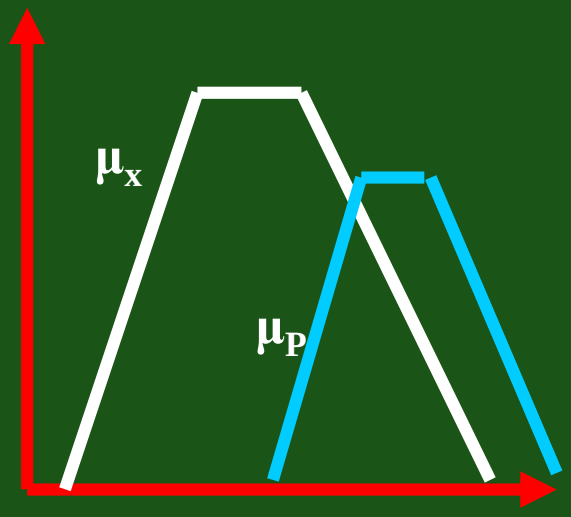




Növekedéshez kötött **Vegyes típus** **Növekedéshez nem kötött**





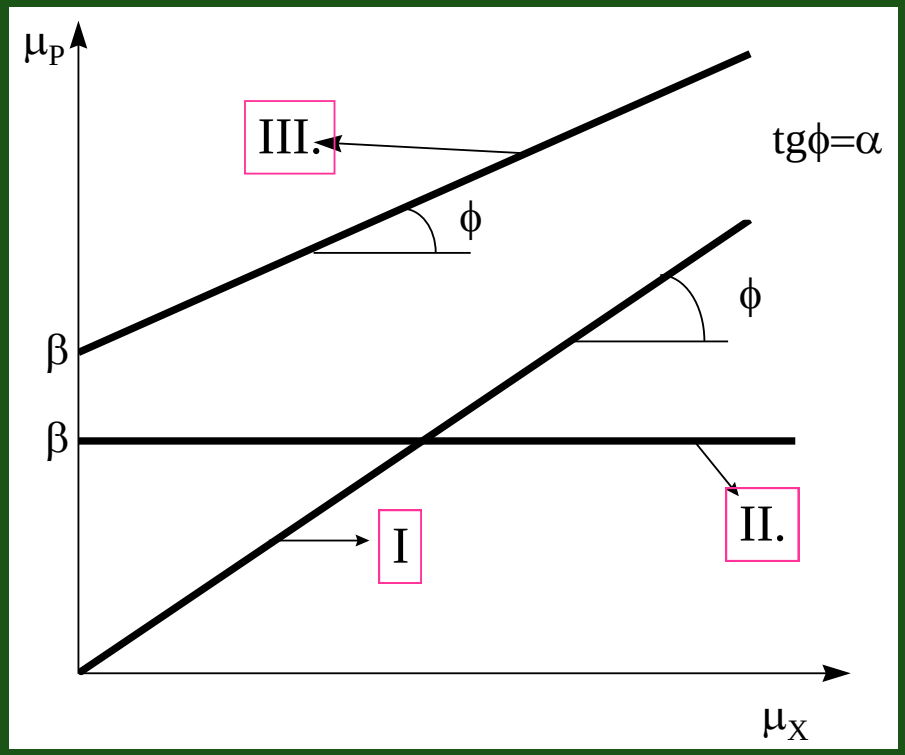


TERMÉKKÉPZŐDÉS KINETIKAI LEÍRÁSA

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 termékképzõdés**

II: $\alpha = 0$ és $\beta>0$ **növekedéshez nem kötött termékképzõdés**

III: $\alpha>0$ és $\beta>0$ **vegyes típusú fermentáció.**

C-forrás és hasznosulás

Mire forditódik 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

Irjunk fel egy anyagmérleget a beépülő szénre

$$\alpha_2 \Delta x = \alpha_1 \Delta S_C$$

Sejttömeg C-tartalma

0,46-0,5 50%

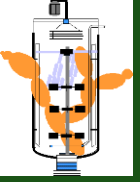
Szubsztrát C-tartalma

Glükóz:0,4

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

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

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



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

?

NÖVEKEDÉS

FENNTARTÁS -maintenance

SEJTMOZGÁS

OZMOTIKUS MUNKA

RENDEZETTSÉG FENNTARTÁSA

II.főtétel reszintézis

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

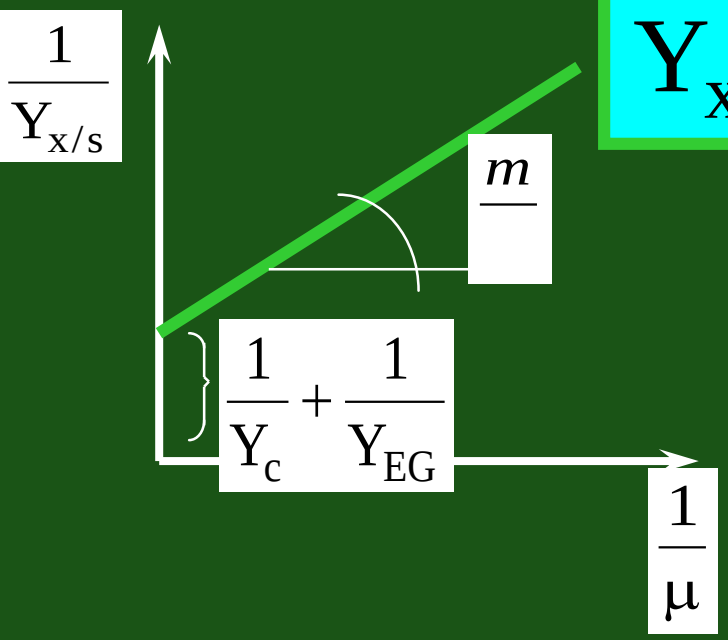
$$\frac{1}{Y_E} = \frac{1}{Y_{EG}} + \frac{m}{\mu}$$

Fajlagos maintenance Koefficiens

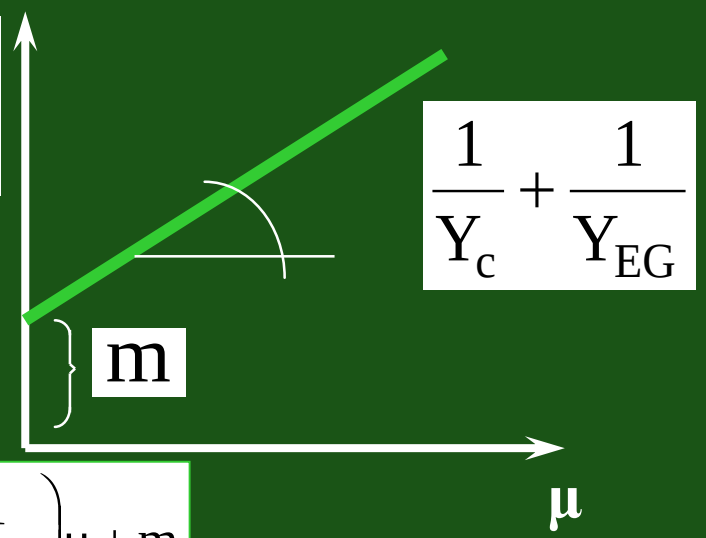
g/gh =h^{-1}

Eredő hozamra:

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



$$\frac{\mu}{Y_{x/s}} = \mu_S$$



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

EREDETILEG ÁLLANDÓ Y „hozamkonstans”, de....

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

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

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

ATP-hozam

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

g/mol **mol/mol** **g/mol**

$$Y'_{x/s} = M(s) \times Y_{x/s}$$

10,5 g/mol

(8,3-32)

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

„P/O hányados” **mol/gatom**

Oxidatív foszforilezés hatékonysága: **3/1=3**

$$NADH + H^+ + 1/2O_2 + 3\,ADP + 3\,H_3PO_4 \longrightarrow NAD^+ + 3\,ATP + 4\,H_2O$$

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

$$Y_H = Y_{kcal} = \frac{\Delta x}{-\Delta H_x.\Delta x + \Delta H_S.\Delta S} = \frac{\Delta x}{\Delta Q}$$

HŐ(TERMELÉSI)HOZAM

SEJTTÖMEG ÉGÉSHŐ **SZUBSZTR.ÉGÉSHŐ**

METABOLIKUS HŐTERMELÉS

Ha van termék….

RQ respirációs hányados

$$\frac{\Delta CO_2}{\Delta O_2} = \frac{\frac{dCO_2}{dt}}{\frac{dO_2}{dt}} = \frac{q_{CO_2}}{q_{O_2}}$$

RQ_{max} <>beépülés

$$\Delta ATP = (\Delta ATP)_g + (\Delta ATP)_m$$

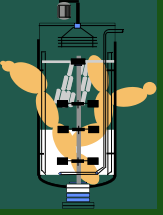
$$\frac{1}{Y_{ATP}} = \frac{1}{Y_{ATP}^{max}} + \frac{m_{ATP}}{\mu}$$

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

$$\frac{1}{Y_O} = \cancel{\frac{1}{Y_O^{beép}}} + \frac{1}{Y_{OG}^{max}} + \frac{m_O}{\mu}$$

$$\frac{1}{Y_N} = \frac{1}{Y_N^{beép}} + \cancel{\left(\frac{m_N}{\mu}\right)}$$

$$\frac{1}{Y_P} = \frac{1}{Y_P^{beép}}$$



Az oxigén szerepe , légzés, levegőztetés

Az oxigén is lehet limitáló szubsztrát

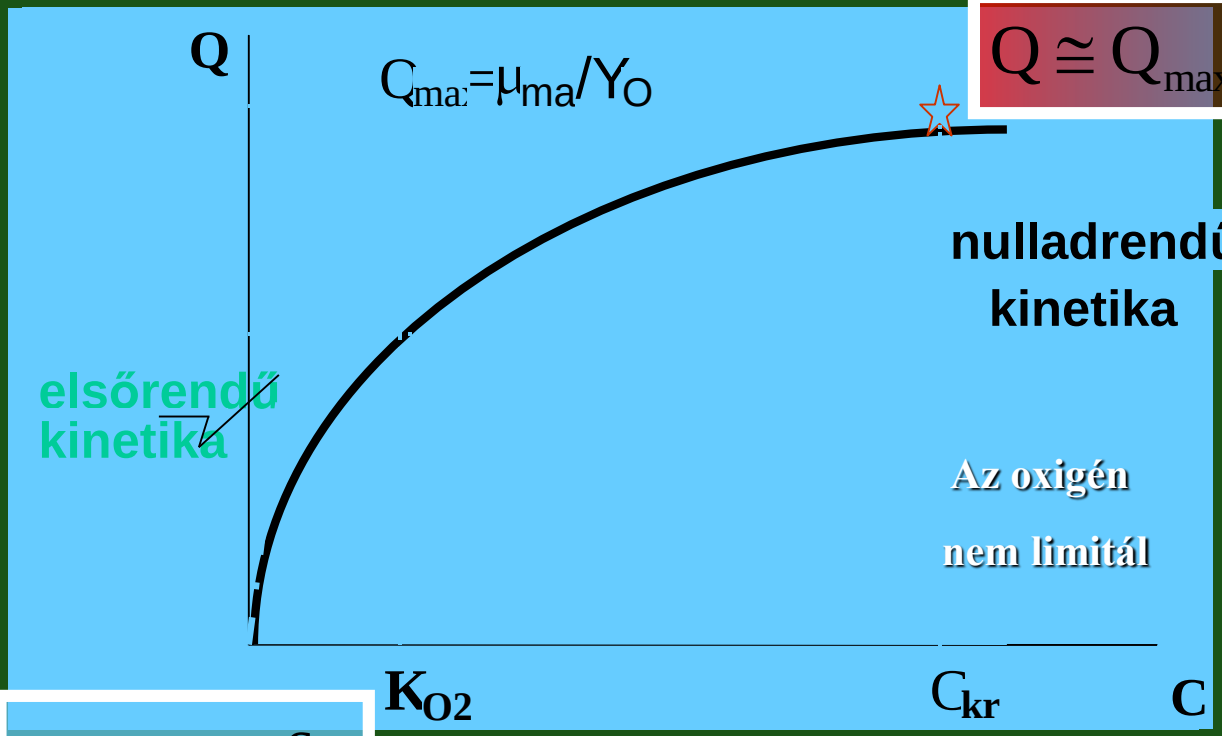
A mikrobák oxigénigényét két módon lehet megadni:

1. légzési sebesség = $\frac{dc}{dt}$ **[mmol O_2/ dm^3.h], [kg O_2/ m^3 .h]**

$$Q \cong Q_{max}$$

2. fajlagos légzési sebesség

$$Q = \frac{1}{x}\frac{dc}{dt}$$ **[h^{-1}]**

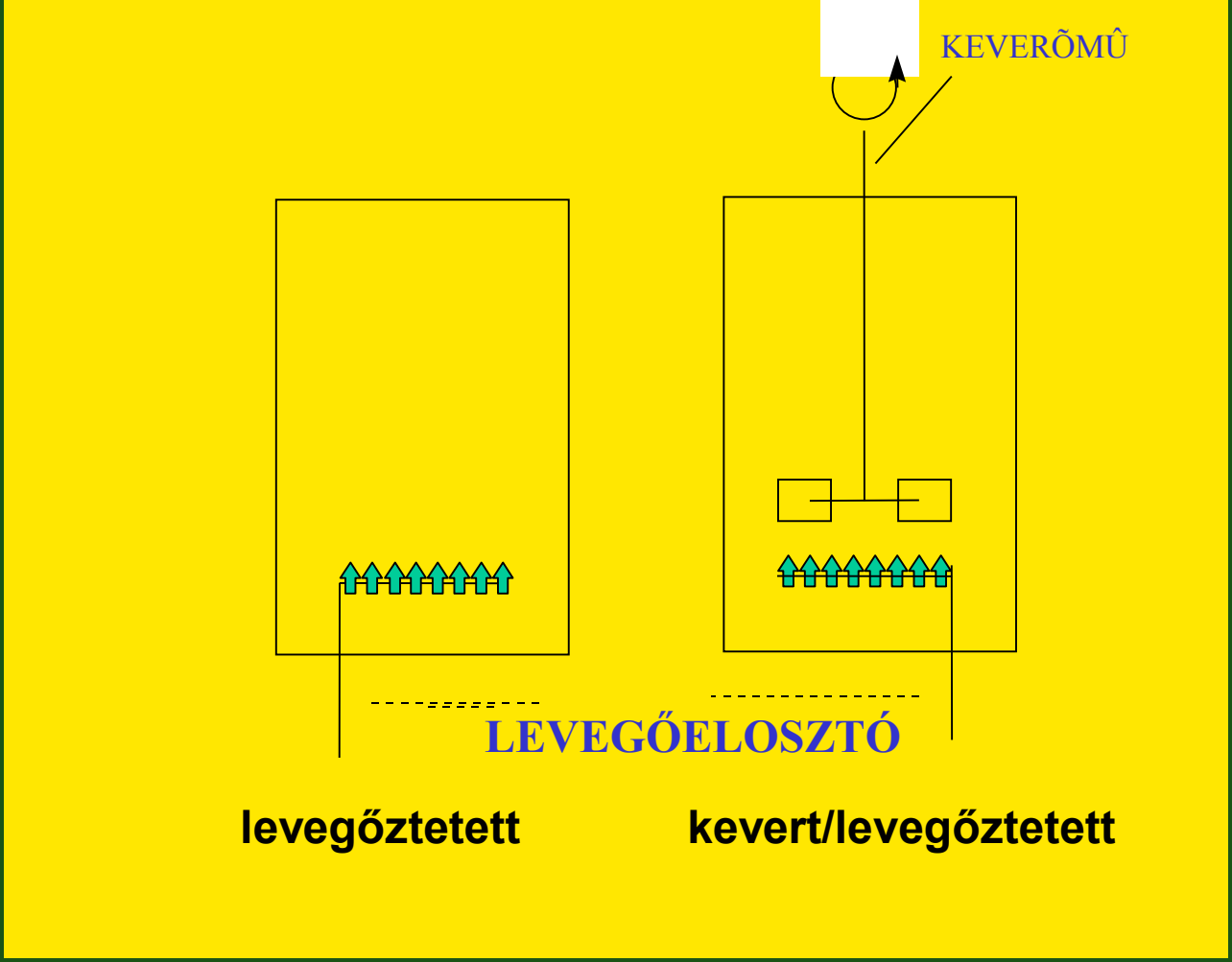


$$Q \cong Q_{max}\frac{c}{K_{O_2}}$$

KRITIKUS OXIGÉN KONCENTRÁCIÓ

0,1-1 mg/dm^3

A levegőztetés technikai megvalósítása

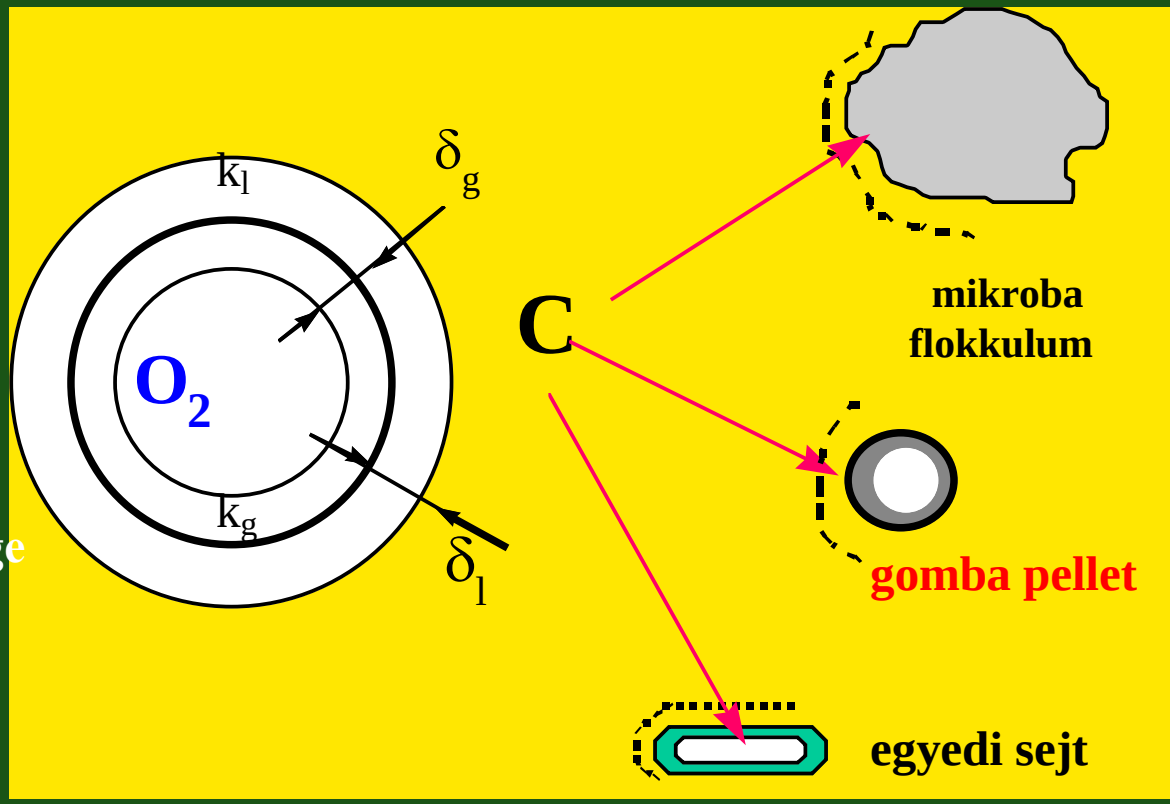


Oxigén átadás buborékból

1.A gázbuborék fõtömegéből diffúzió a gáz/folyadék határ-felületre. $1/k_g$ ellenállás k_g "vezetõképesség„ (anyagátadási tényező)

2.diffúzió a δ_l vastagságú – a gázbuborékot burkoló – stagnáló folyadékfilmen át. Ellenállása $1/k_l$, vezetőképessége k_l anyagátadási együttható.

3. Folyadék fõtömege szintén ellenállást képvisel. Konvekció, de...

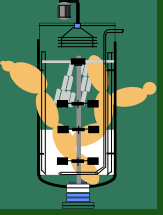


4.Mikrobákat körülvevő folyadékfilm.

Oxigén felvétel mechanizmusa, egy folyadék filmen keresztül történő diffúzióval kezdõdik, majd

5. folytatódik a mikroba vagy mikrobatömeg (flokkulum) vagy mikroba telep (pellet) belsejébe történő diffúzív oxigén transzporttal.

6. Ellenállásként tekinthetjük az oxigén hasznosulás "reakció ellenállását" is: a mikroba légzése is idõben bizonyos sebességgel jellemezhetõ folyamat.



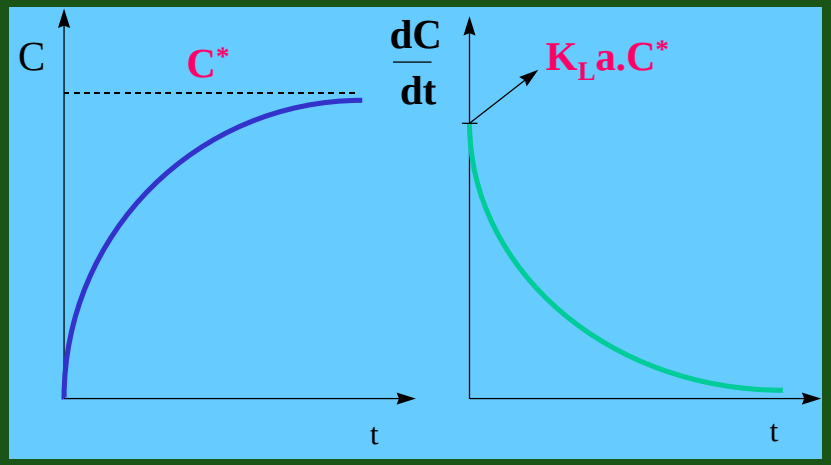
$$\frac{dC}{dt} = K_L a\left(C^* - C\right)$$

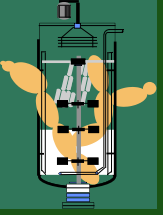
K_L - az eredő folyadékoldali tömegátadási tényező [$cm.s^{-1}$]
a - térfogategységre jutó anyagátadási felület [$cm^2.cm^{-3} = cm^{-1}$]
$K_L a$ - eredő folyadékoldali (térfogati)oxigénabszorpciós együttható[s^{-1}] (h^{-1}).

C* - telítési oxigén koncentráció (mg/dm^3)
C - az aktuális oldott oxigén koncentráció (mg/dm^3)

$$\int_0^C \frac{dC}{C^* - C} = \int_0^C -d\ln(C^* - C) = \int_0^t K_L a.dt$$

$$C = C^*\left(1 - e^{-K_L a.t}\right)$$



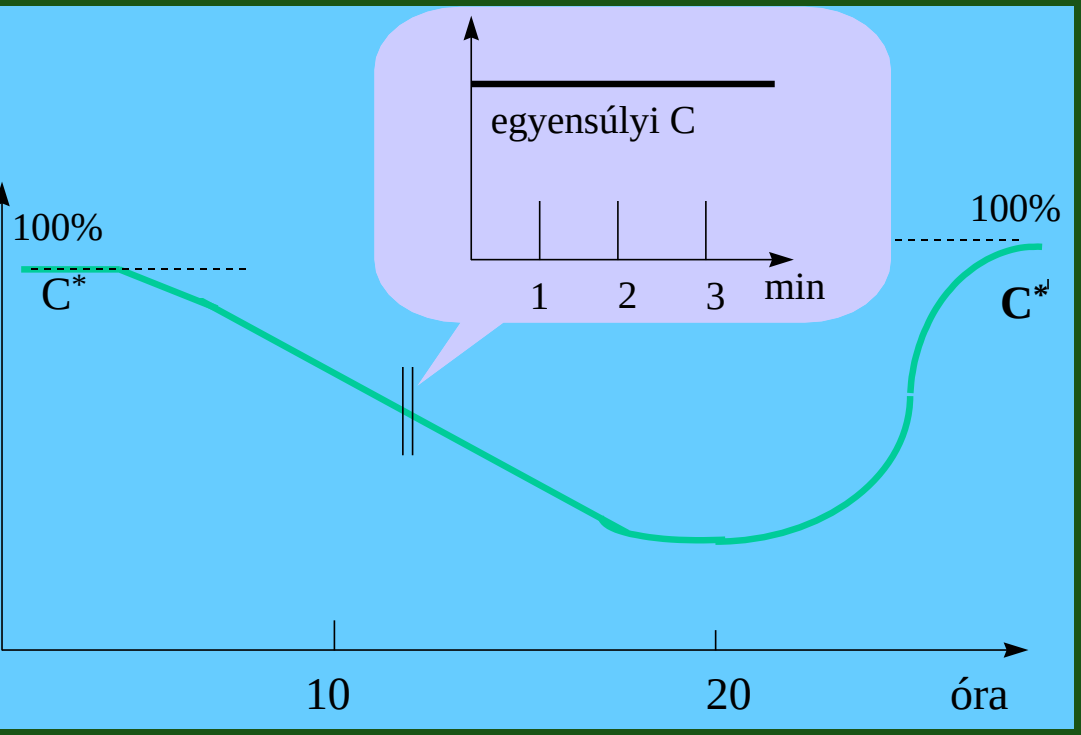


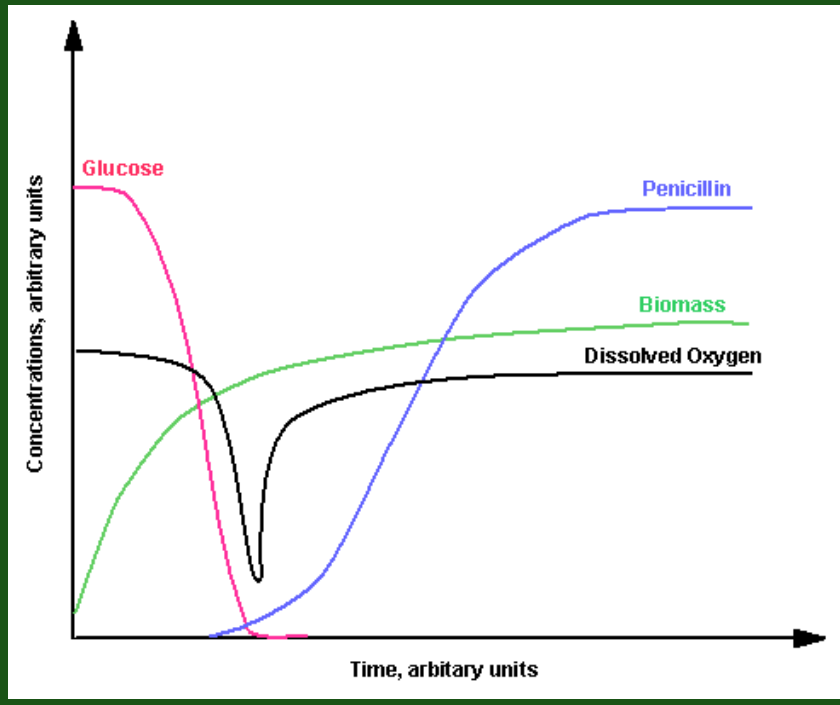
OLDÓDÁSI SEBESSÉG FOGYASZTÁSI SEBESSÉG

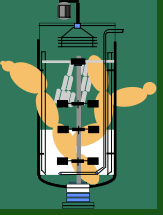
BIM2 2002

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

mindíg $\frac{dC}{dt} = 0$ és $K_L a\left(C^* - C\right) = xQ$







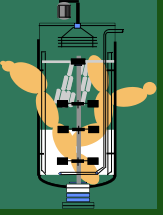
$$\frac{dC}{dt} = K_L a \left(C^* - C\right) - xQ$$

Mitől függ és hogyan a telítési oxigén koncentráció, C* ?

Mitől függ és hogyan a K_L?

Mitől függ és hogyan az a ?

Mitől függ és hogyan a $K_l a$?



A telítési oxigén koncentráció függése a tenyésztési körülményektõl

1. PARCIÁLIS NYOMÁS - Henry törvény :

$$C^* = \frac{1}{H} p_{O_2}$$

2. HŐMÉRSÉKLET : Cl-Cl

$$\frac{d \ln H}{d\left(\frac{1}{T}\right)} = \frac{\Delta G}{R}$$

Cl-Cl egyenlet közelítő megoldása

$$C^* \cong \frac{A}{B + t}$$

3. TÁPOLDAT ÖSSZETÉTELÉTŐL VALÓ FÜGGÉS

$$\lg \frac{C_0^*}{C^*} = \sum_i H_i I_i$$

$$I_i = 0{,}5 c_i z_i^2$$

$$\lg \frac{C_o^*}{C_{szerv}^*} = k C_{szerv}$$

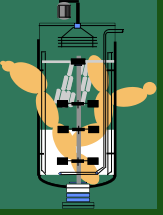
MIVEL NÖVELHETŐ C* ÉRTÉKE?

p_{O2} → ÖSSZNYOMÁS

p_{O2} → GÁZÖSSZETÉTEL

TISZTA OXIGÉN

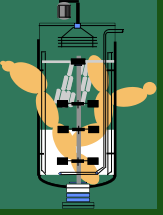
~~HŐMÉRSÉKLET~~
~~TÁPOLDATÖSSZETÉTEL~~



LEVEGŐZTETÉS 3

GÁZVISSZATARTÁS= Hold up = $\dfrac{\textbf{GÁZTÉRFOGAT}}{\textbf{ÖSSZTÉRFOGAT}}$

$$a = H_0 \frac{6}{d_b}$$



LEVEGŐZTETÉS 3

A keverés szerepe, funkciói:
-energiabevitel a folyadékba

MOZGATÁS
HŐ

P/V → $K_L a$

-a levegőztető gáz diszpergálása a folyadékban

BUBORÉKKÉPZÉS, ANYAGÁTADÁS

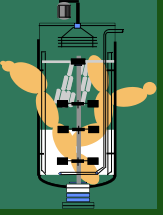
-a gáz- és folyadékfázis elválasztása

FORDÍTOTT A.ÁTADÁS CO_2

-a fermentlé oldott és nem oldott komponenseinek jó elkeverése

ÁLTALÁNOS KEVEREDÉSI FUNKCIÓ

szubsztrátok, termékek...



LEVEGŐZTETÉS 3

állandó geometriájú bioreaktorra

$$P = A' D_i^5 N^3 \rho \, Re^m \, Fr^n$$

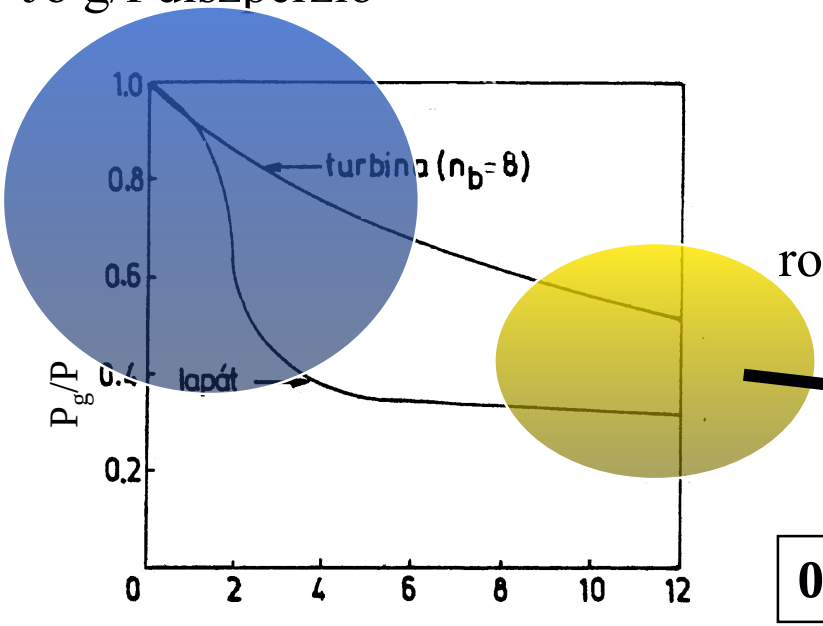
teljesítményszám (Ne=Newton-szám vagy Eu=Euler-szám) :

$$N_P = \frac{P}{D_i^5 N^3 \rho} = A' \, Re^m \, Fr^n$$

LEVEGŐZTETÉSSEL P csökken

$$Na = \frac{\text{látszólagos felületi(lineáris) légsebesség}}{\text{keverő kerületi sebessége}} = \frac{\dfrac{F\,m^3/s}{\dfrac{D_i^2\pi}{4}\,m^2}}{ND_i\pi\,m/s} = \frac{F}{ND_i^3}$$

Jó g/f diszperzió



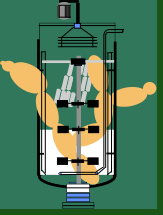
rossz g/f diszperzió

flooding elárasztás

0,25-0,4

$$\frac{P_g}{P} = f(Na)$$

LEVEGÕZTETÉSI SZÁM*10^2 Q/ND_i^3



LEVEGŐZTETÉS 3

$$K_L a \propto \left(\frac{P_g}{V}\right)^{0,4} v_s^{0,4} N^{0,5}$$

labor fermentorokra

$$K_L a \propto \left(\frac{P_g}{V}\right)^{\alpha} v_s^{\beta} N^{0,5}$$

általánosan

α **0,3 — 0,95**

β **0,50—67**

mérettől függő állandók,