

# MİKROBİYAL ÜREMENİN STOKİYOMETRESİ VE ÜRÜN OLUŞUMU

## Giris

Hücre çoğalması ve ürün oluşumu kompleks proseslerdir. Hücre içerisinde gerçekleşen binlerce tepkimenin kinetik ve stokiyometresi bu prosesleri etkiler. Birçok proses hesaplamasında potansiyel substratları, hücre kütlesi verimi, ürün verimi veya ısının oluşumu açısından karşılaştırırız. Termodinamik kısıtlamaların sistemin işletilmesini nasıl etkilediğini anlamak isteriz. Yeni ürün verimi kinetik ve termodinamik özelliklerce kısıtlanır. Bu durumda üretim, mutasyon veya genetik mühendisliği yaklaşımıyla arttırılabilir.

Hücreler kompleks de olsa, substratların ürün ve hücre materyallerine dönüşümü genellikle basit eşitliklerle gösterilebilir. Bu bölümde bu eşitliklerin nasıl yazıldığını ve anahtar verim katsayıları ile ilgili faydalı hesaplamaların nasıl yapılacağı tartışılacaktır.

## Bazı tanımlar

$Y_{x/s}^m$  = toplu substrat verim katsayısı

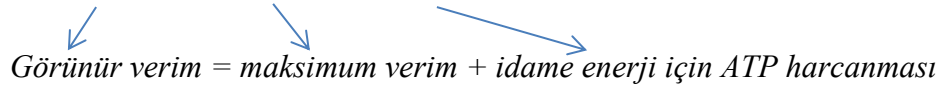
$Y_{X/ATP}$  = üretilen 1 mol ATP için oluşan hücre miktarı

$Y_{X/ATP}^m = 10-11$  kuru ağırlık/mol ATP (*heterotropik anaerobik çoğalma*)

$Y_{X/ATP}^m > 10.5$  kuru ağırlık/mol ATP (*Aerobik çoğalma*)

$Y_{X/ATP}^m = 6.5$  kuru ağırlık/mol ATP (*ototropik çoğalma*)

$1/Y_{X/ATP}^{AP} = 1/Y_{X/ATP}^m + m_{ATP}/D$

  
Görünür verim = maksimum verim + idame enerji için ATP harcanması

Benzer şekilde:

$1/Y_{X/O_2}^{AP} = 1/Y_{X/O_2}^m + m_{O_2}/D$

$Y_{X/O_2} = 0.17 - 1.5$  g hücre/ g  $O_2$

## Elementel denklik

Biyolojik tepkimeler için substrat, ürün ve hücre materyalinin bileşimi belli ise madde denkliği kolayca yazılabilir. Stokiyometrik katsayıların tayini için ilave olarak elektron-proton denkliği de gereklidir. Hücre materyalinin bileşimini kesin olarak

belirlemek güçtür. Tipik hücre bileşimi  $CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2}$  olarak gösterilir. 1 mol biyolojik materyal bir atom gram karbon içerir.

$CO_2$  ve  $H_2O$ 'nun oluştuğu bir biyolojik dönüşüm için;



$$C \text{ için: } 1 = c + e \dots\dots\dots(1)$$

$$H \text{ için: } m + 3b = c\alpha + 2d \dots\dots\dots(2)$$

$$O \text{ için: } n + 2a = c\beta + d + 2e \dots\dots\dots(3)$$

$$N \text{ için: } b = c\delta \dots\dots\dots(4)$$

$$RQ = e / a \text{ (respiratory quotient) } \dots\dots\dots(5)$$

RQ (*harcanan  $O_2$  başına oluşan  $CO_2$  molü*) ölçülür; 5 bilinmeyenli 5 denklikten a, b, c, d, e hesaplanır.

### İndirgenme derecesi

Daha karışık kompleks tepkimelerde (ekstraselüler ürünlerin oluşması halinde) ilave stokiyometrik katsayılar eklenir ve daha fazla bilgi gerekir. İndirgenme derecesi kavramı geliştirilir ve biyotepkimelerdeki proton denkligi kullanılır. Organik bileşikler için indirgenme derecesi,  $\gamma$  şöyledir:

$$C = 4; H = 1; N = -3; O = -2; P = 0; S = 6$$

$$\text{Metan, } CH_4 : 1(4) + (1) = 8; \gamma = 8/1 = 8;$$

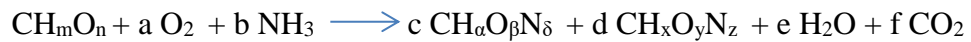
$$\text{Glükoz, } C_6H_{12}O_6 : 6(4) + 12(1) + 6(-2) = 24; \gamma = 24/6 = 4;$$

$$\text{Etanol, } C_2H_5OH : 2(4) + 6(1) + 1(-2) = 12; \gamma = 12/2 = 6$$

Yüksek indirgenme derecesi düşük oksidasyon derecesine karşı gelir.

$$\gamma_{CH_4} > \gamma_{EtOH} > \gamma_{glükoz}$$

Tek bir ekstraselüler ürünün aerobik oluştuğu bir biyokimyasal reaksiyon düşünelim:



İndirgenme dereceleri:

$$\gamma_{\text{substrat, s}} = 1(4) + m(1) + n(-2) = 4 + m - 2n \dots\dots\dots(1)$$

$$\gamma_{\text{biyokütle, b}} = 4 + \alpha - 2\beta - 3\delta \dots\dots\dots(2)$$

$$\gamma_{\text{ürün, ü}} = 4 + x - 2y - 3z \dots\dots\dots(3)$$

CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, ve NH<sub>3</sub>'ün indirgenme dereceleri sıfırdır.

Yukarıdaki tepkime için oksijen ve hidrojen denkliklerini kullanmak güçtür (böyle bir tepkimede oluşan veya harcanan suyu tayin etmek güçtür). Bu nedenle elektron denkliğinden yararlanılır.

$$\text{Karbon denklığı: } c + d + f = 1 \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Nitrojen denklığı: } c \delta + d z = b \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{Elektron denklığı: } c \gamma_b + d \gamma_{\text{ü}} = \gamma_s - 4 a \dots\dots\dots(3)$$

Enerji denklığı ve toplam kütle denklığı de yazılarak stokiyometrik katsayılar bulunabilir.

**Örnek:** Karbon kaynağı substratın ağırlıkça 2/3ü mikroorganizmalar için harcanıyor.

a) Aşağıdaki biyolojik reaksiyonların stokiyometrik katsayılarını hesaplayınız.



b) Y<sub>X/S</sub> (g kuru hücre/ g substrat) ve Y<sub>X/O<sub>2</sub></sub> (g kuru hücre/ g O<sub>2</sub>) verim katsayılarını hesaplayınız.

Çözüm:

a)

Hekzadekan için:

1 mol substrattaki karbon miktarı: 16 (12) = 192 g

Biomass'a dönüşen miktar: 192 (2/3) = 128 g

128 = c (44) (12)  $\Rightarrow$  c = 2.42

Karbonun 1/3ü CO<sub>2</sub>'ye dönüşüyor; 192-128 = 64 g

64 = e (12)  $\Rightarrow$  e = 5.33

Azot dengesi: 14 b = c (0.86) (14)  $\Rightarrow$  b = (2.42)(0.86) = 2.085

Hidrojen dengesi: 34 (1) + 3 b = 7.3c + 2d  $\Rightarrow$  d = 12.43

Oksijen dengesi: 2 a (16) = 1.2 c (16) + 2 e (16) + d (16)  $\Rightarrow$  a = 12.427

Glüköz için:

1 mol substrattaki karbon miktarı: 72 g

Biomass'a dönüşen miktar: 72 (2/3) = 48 g

48 = 4.4 c (12)  $\Rightarrow$  c = 0.909

Karbonun 1/3ü CO<sub>2</sub>'ye dönüşüyor; 72- 48 = 24 g

$$24 = e (12) \rightarrow e = 2$$

$$\text{Azot dengesi: } 14 b = c (0.86) (14) \rightarrow b = 0.782$$

$$\text{Hidrojen dengesi: } 12 + 3 b = 7.3c + 2d \rightarrow d = 3.854$$

b)Hekzadekan için:

$$Y_{X/S} = 2.42 (\text{MA})_{\text{hücre}} / (\text{MA})_{\text{substrat}} = 2.42 (91.34) / 226 = 0.98 \text{ g kh/g substrat}$$

$$Y_{X/O_2} = 2.42(91.34) / \{12.43(\text{MA})_{O_2}\} = 2.42(91.34) / \{(12.43)(32)\} = 0.557 \text{ g kh/g O}_2$$

Glükoz için:

$$Y_{X/S} = (0.909) (91.34) / 180 = 0.461 \text{ g kh /g substrat}$$

$$Y_{X/O_2} = (0.909) (91.34) / \{(1.437)(32)\} = 1.769 \text{ g kh / g O}_2$$