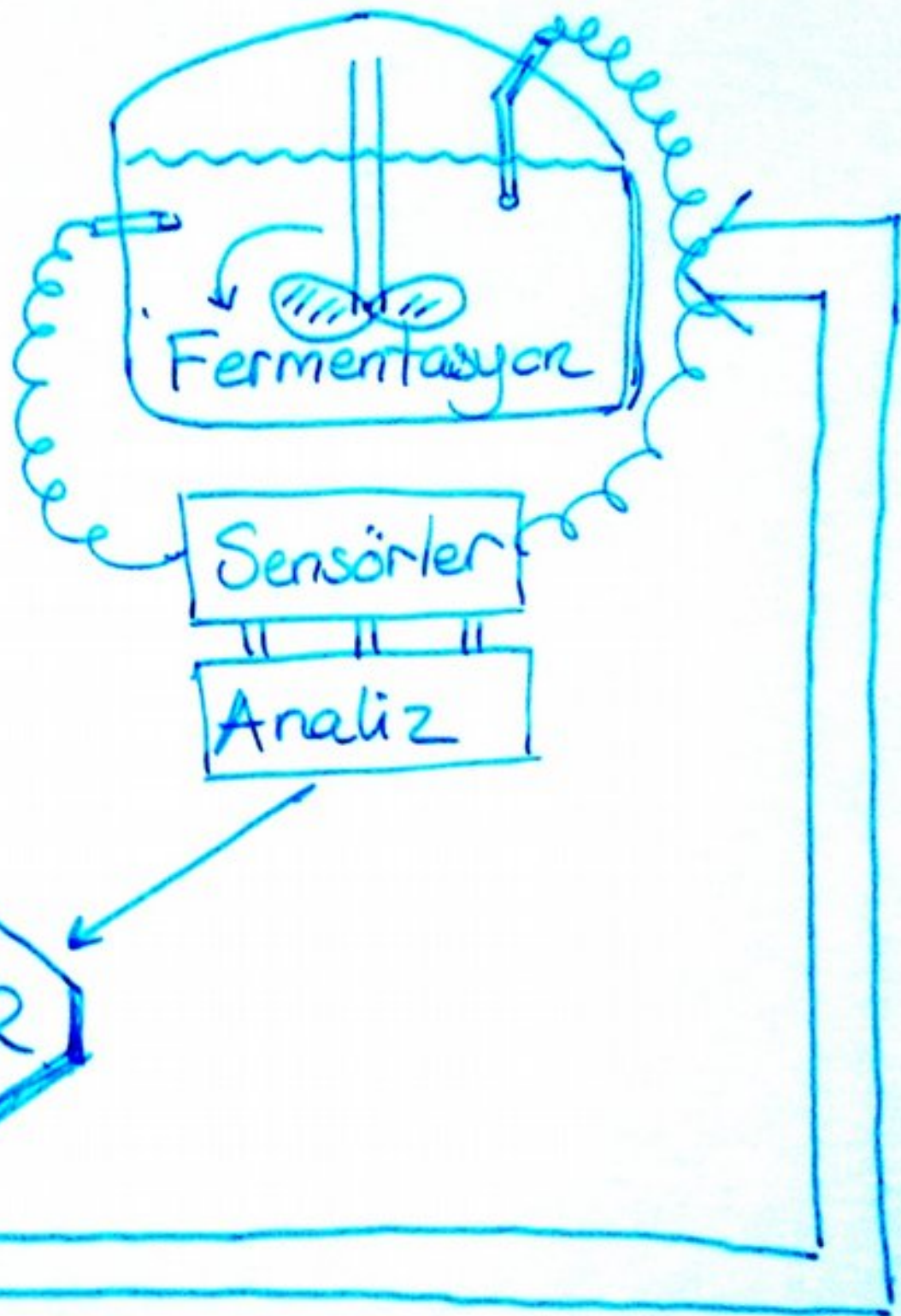


Matematik Model

Parametreler

KONTROLÖR



Çünkü,
(Mikrobiyoloji kokulu bir iştir!)

Fermentör vent gazı analizi



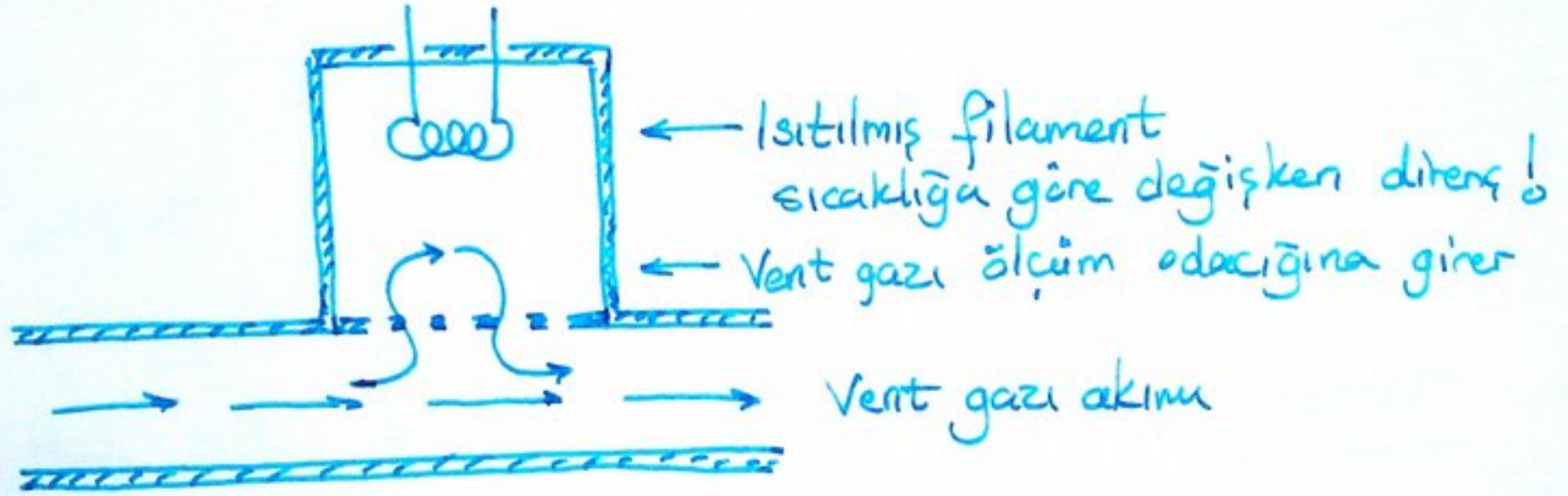
* İyi bir modelleme ile bu gazların besiyerinde görünmüş haldeki konsantrasyonları öngörülebilir

Ayrıca, koklamak steril operasyonu riske sokmaz :)

O^{18}
 C^{13}
izotoplar

O_2 CO_2^{**}
 H_2 CH_4
Volatil hidrokarbonlar
(etanol, butanol, ...)

Termal iletkenlik sensörü

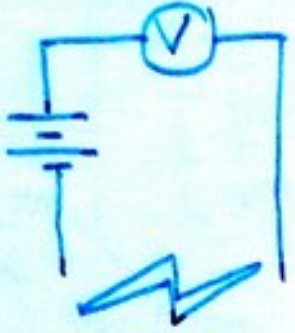


Filament ve örneklenen gaz arasında
ISI TRANSFERİ gerçekleşir

Özgül bir yöntem değil!

CO₂ ölçümü için
ÖNERİNİZ?

Alev iyonizasyonu



O_2 N_2 CO_2 ?
 Ar H_2O_2 NH_3 ?
----- vs
Etanol, organik
bileşikler ?

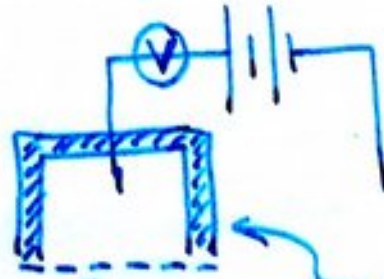
✓ Hassas, ✓ lineer yanıt
özgüllük YOK!

Gaz kromatografisi

Ayrıştırma ☺

Bir sensor ile
taçlandırılmalı!

Elektrokimyasal sensörler

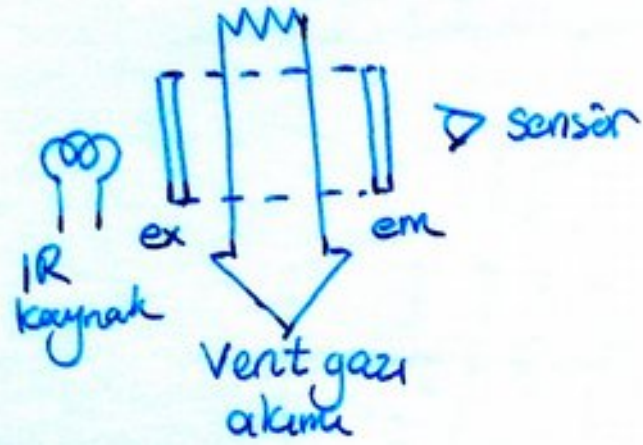


Gaza özgül
seçici geçirgen
membran

Gelacığa giren gaz
redüklenir
AKIM

"Solid state" sensörler

IR sensör



eksitasyon ve emisyon
dalga boyları
nasıl ayarlanabilir?

Monokromatör nasıl?

Ara
(kendimi sansli hiss...)

Paramagnetik sensörler

O_2 paramagnetik
bir gaz b

$80^\circ C$ da (Curie sıcaklığı)
paramagnetik
özellik hemen hemen
ortadan kalkar

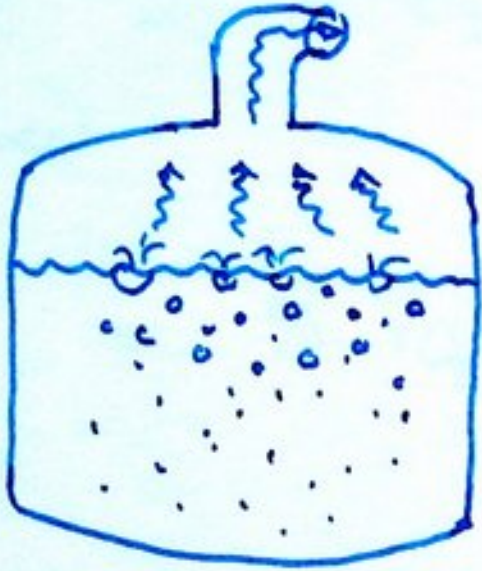
Vent gazı soğuk!

Sensöre girildiğinde
akım yanadır...

*** Kütle spektrometrisi

(Gözler kalbin, ...)

Vent gazı fermentasyon buyyonunun aynasıdır!



Sıvı & gaz fazlarının iyi karıştığı modeller ($< 100 L$)

Alternatif modeller ($> 100 L$)

Volatil organik maddelerin sıvı fazdaki konsantrasyonlarının ön görülmesi ...

"Respiratory Quotient" RQ

$$\text{CER} = \% V_{\text{CO}_2\text{out}} \times \text{flow out} - \% V_{\text{CO}_2\text{in}} \times \text{flow in}$$

(CO₂ Evolution Rate)

$$\text{OUR} = \% V_{\text{O}_2\text{in}} \times \text{flow in} - \% V_{\text{O}_2\text{out}} \times \text{flow out}$$

$$\text{RQ} = \text{CER} / \text{OUR}$$

Verim & Verim katsayıları

$Y_{x/s}$: kg hücre kütlesi / kg substrat
output ↗ ↖ input

$Y_{p/s}$: kg ürün kütlesi / kg substrat

Y
↓
Teorik

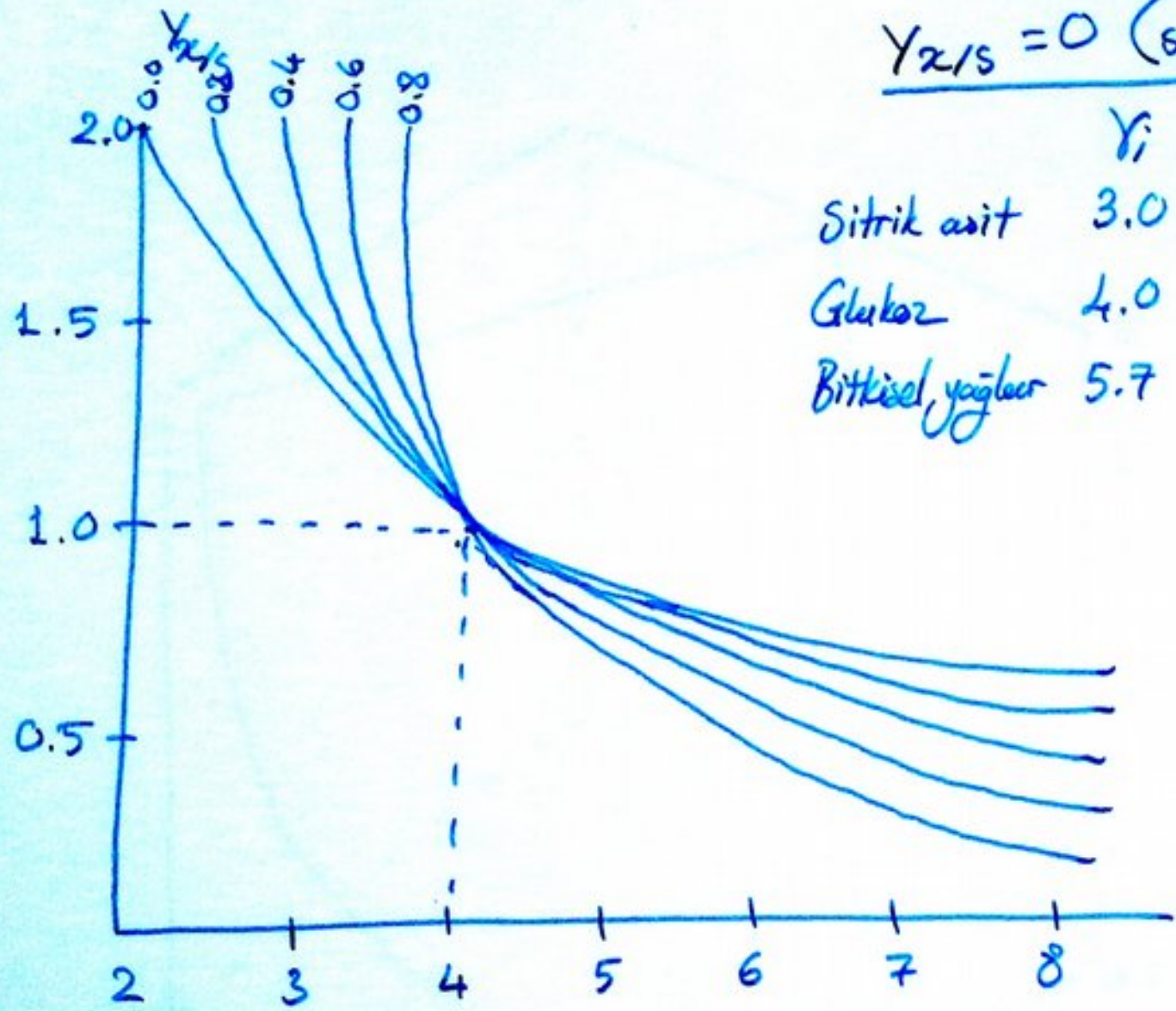
Y'
↓
Güçlenen

$$RQ = Y_{CO_2/O_2}$$

$Y_{x/s} = 0$ (sadece biyokütledüşürken)

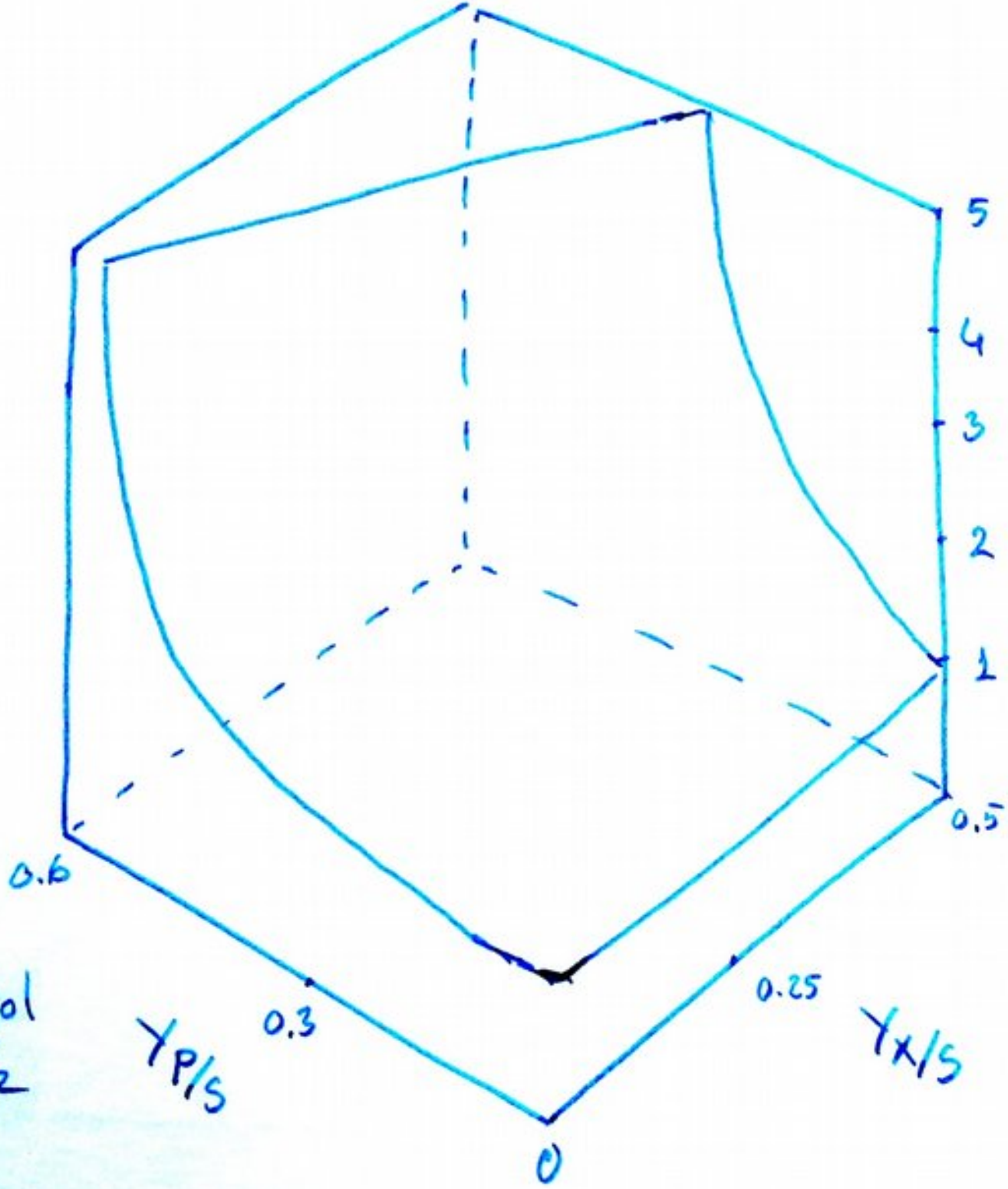
	Y_i	RQ
Sitrik asit	3.0	1.3
Glukoz	4.0	1.0
Bitkisel yağlar	5.7	0.7

RQ



Y_i

RQ



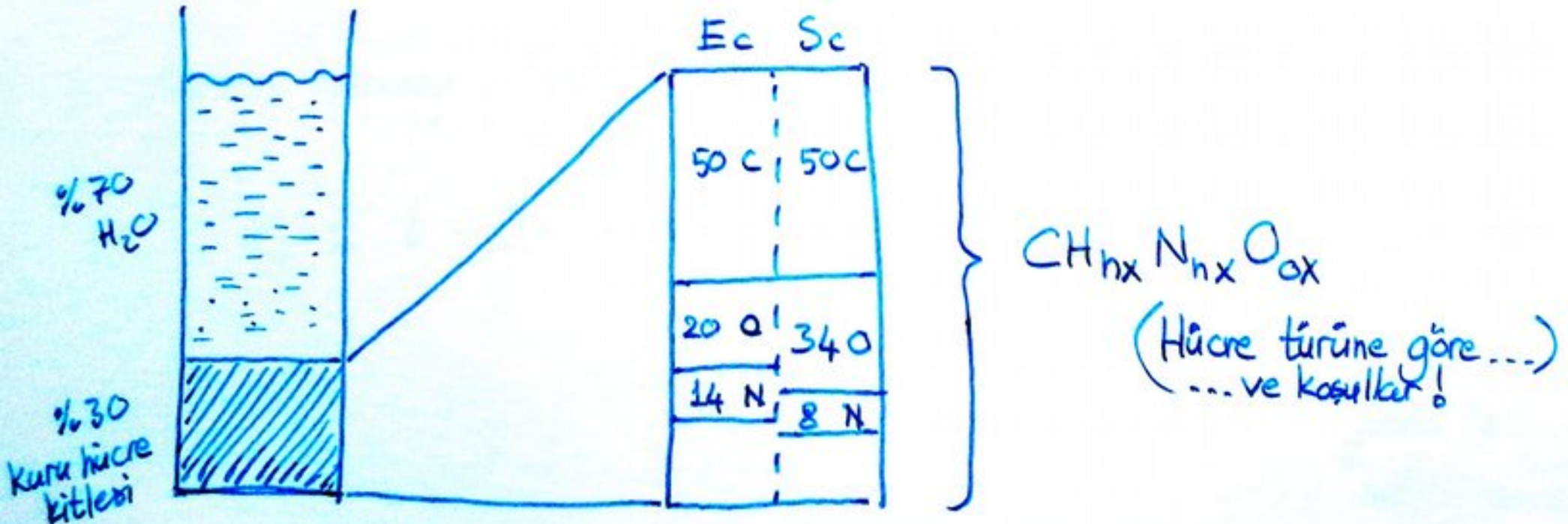
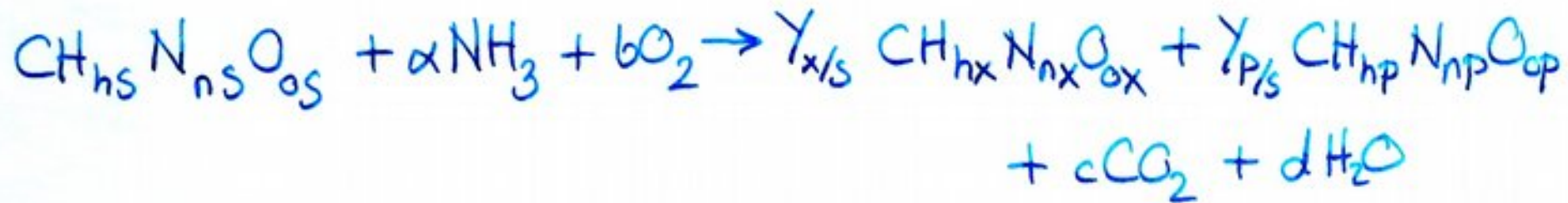
Etanol
Glukoz

$\gamma_{P/S}$

Biyokütle
Glukoz

$\gamma_{X/S}$

ÜREME



of available e^- / # of C

İndirgenme derecesi

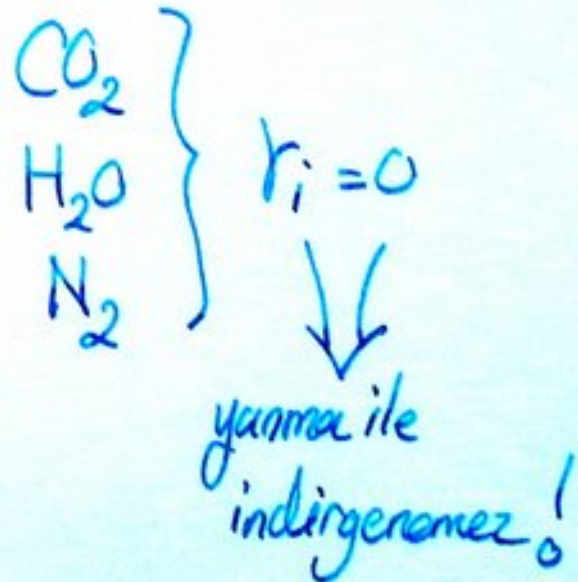
C +4	N 0
H +1	S +6
O -2	P +5



$$r_i = \frac{4a + b - 2c + 6e + 5f}{a}$$

Karbon içermeyen bileşikler için ($a=0$):

$$r_i = b - 2c + 6e + 5f$$



γ_i

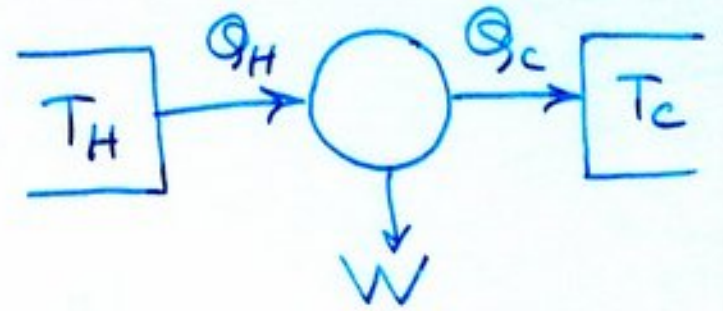
Formik asit	CH_2O_2	2.0
Sitrikasit	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	3.0
Pirivik asit	$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$	3.3
Asetik asit	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	4.0
Glukoz	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	4.0
Biyokütle (ort)	$\text{CH}_{1.8}\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.2}$	4.8
Gliserol	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$	4.7
Bütirik asit	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	5.0
Metanol	CH_4O	6.0
Etanol	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	6.0

Bazı metabolitlerin
indirgenme
dereceleri . . .

		Y_i
<i>E. coli</i>	$CH_{1.83}O_{0.5}N_{0.22}P_{0.01}$	4.91
<i>A. niger</i>	$CH_{1.72}O_{0.55}N_{0.17}$	4.62
<i>S. cerevisiae</i>	$CH_{1.82}O_{0.58}N_{0.16}$	4.66
<i>P. dysogenum</i>	$CH_{1.64}O_{0.52}N_{0.16}$	4.60
<i>C. utilis</i>	$CH_{1.87}O_{0.56}N_{0.20}$	4.75

↘ Bu oranlar nasıl ölçülüyor?

Kalorimetrik denge



$$Q_{acc} = Q_{met} + Q_{ag} + Q_{cer} + Q_{sen} + Q_{evap} + Q_{hizer} + Q_{surr}$$

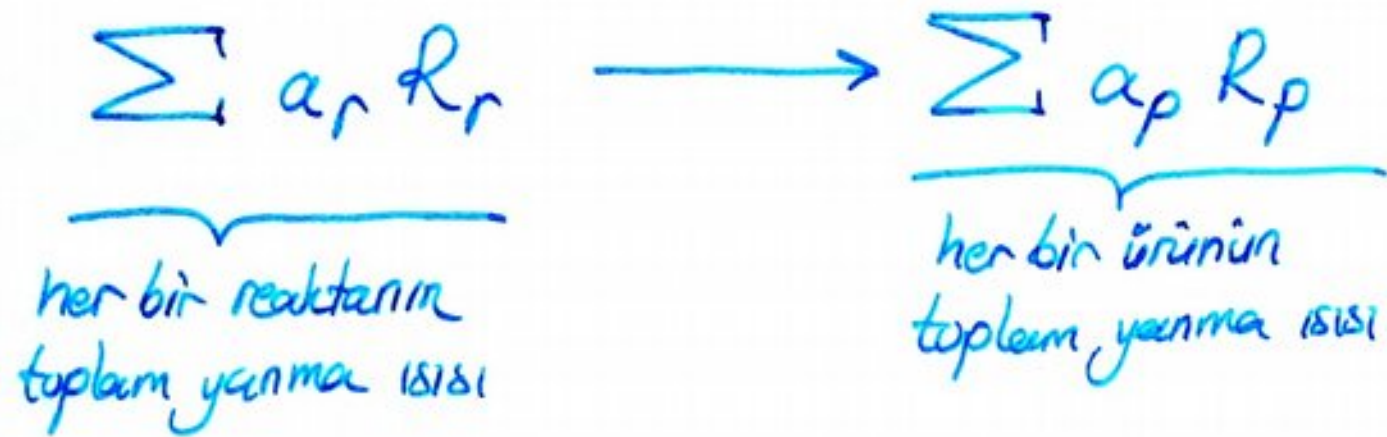
Diagram illustrating the components of the heat balance equation:

- Q_{acc} → Biriken enerji
- Q_{met} → metabolizma kaynağı
- Q_{ag} → ajitasyon kaynağı
- Q_{cer} → aerasyon kaynağı
- Q_{sen} → kondensasyon kaynağı
- Q_{evap} → buharlaşma kaynağı
- Q_{hizer} → ısı değişim aparatı
- Q_{surr} → ortama verilen/alınan

Isı oluşumunu etkileyen temel faktörler:

- 1 - Kullanılan mikroorganizma
- 2 - Karbon kaynağı
- 3 - Fermentasyon koşulları

Isı üretimi ve stoikiyometri



$$\Delta H = \sum_i \gamma_{P_i} (-\Delta H_{c_i}) - \sum_j \gamma_{S_j} (-\Delta H_{c_j})$$

Bir bileşiğin aerobik koşullarda yanma ısı:

$$-\Delta H_{c_i} \approx 115 \gamma_i$$

(kJ/C-mol)

Kültürlerin kimyasal analizi

Keskinlik - accuracy : Ölçüm sonuçlarının gerçek değere ne kadar yakın olduğunun göstergesi

Tekrarlanabilirlik - precision : $CV_{(\%)} = \frac{\sigma}{\mu} \times 100$

→ SD

→ ortalama

Hassasiyet - Sensitivity : Saptanabilen en düşük değer

Karbonhidratlar

* "anthrone reagent" - trisiklik aromatik keton
total CHO ölçümü. Mekanizma?
620nm'de kromofor oluşumunun ölçümü

* indolasetik asit yöntemi
fruktosil grupları
530nm ölçüm

* HPLC ile refraktif indeks saptanmayan
aminopropil kolon, 70:30 AcN:H₂O

* Test kitleleri: Glukoz, Sükroz, Gliserol, Üre, Ürik asit, Sitrat,
 α -amilaz, lipaz, trigliseridler,

Yağlar

- * Sulfofosforanilin testi
Pembe renkli kompleks 530 nm'de okunur.

Azot kayrakları

- * Kjeldahl sindirilmesi ile tüm N-kayrakları amonyaka indirgenir, Nessler reaktifi (iyodid içeren akasya çamuru) ile amonyum sülfat saptanır.
- * Serbest ve peptidik aminasitlerin ninhidrin reaktifi ile saptanması
- * o-phthalaldehyde ile türevlendirilen aminasitlerin HPLC ile ayrılıp 340 nm'de saptanması
- * Coomassie mavisi, BCA, Bradford assay.

Fosfatlar ve diğer inorganik iyonlar

- * Malakit yeşili + amonyum molibdat yöntemi
- * amidd + sodyum metabisülfid + amonyum molibdat yöntemi.
- * iyon kromatografi yöntemi

Fermentasyon metabolitlerinin birikiminin ölçülmesi

Şeker alkoller (polyol'ler)

Karboksilik asitler

Amino bileşikler

Ammonia

Peptid / Protein / Enzim

Tiyol bileşikler

Kısa zincirli yağ asitleri

Pigmentler

Logaritmik faz?
yulan mı?

Mikrobiyal üremenin analizi

$$\mu = \frac{dX}{X dt} = \frac{d \ln X}{dt}$$

μ : özgül üreme hızı

X : populasyon
yoğunluğu ölçüsü

maksimum
özgül üreme hızı

üremeyi sınırlayan
besin maddesi konsantrasyonu

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

Satürasyon
sabit

Buna göre



Monod:

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

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S X}{K_s + S}$$

aynı zamanda:

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{\mu_m S X}{Y(K_s + S)}$$

Verim sabiti
 $Y_{X/S}$

Batch kültürde, S tükenene kadar gerçekleşen kütle dengesi

S harcandıkça X (biyokütle) artıyor

(Batch kültürde)

Biyokütlenin dengeye ulaştığı durumu: (X_e)

$$\frac{dX}{dS} = -Y$$

$$X = -YS + c$$

↗ integrasyon sabiti

Herşey taptaze, yepisyeni yiken:

$$X = X_0 \quad S = S_0 \quad t = 0 \text{ (tabii ki...)}$$

$$c = X_0 + YS_0$$

ve $X = -YS + X_0 + YS_0$ olduğuna göre:

S tükendiğinde
dengeye ulaşılır \Rightarrow
($S_e = 0$)

$$X_e = X_0 + YS_0$$

↓
Denge durumundaki
Biyokütle

Kemostatatta ise durum farklı :

⚠ Termodinamik olarak açık sistem ^{*}_{*}

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m SX}{K_s + S}$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_r - S) - \frac{\mu_m SX}{Y(K_s + S)}$$

Eklene
Substrat konsant.

Toplam reaksiyon hacmi sabit kalacak şekilde besiyeri tahliyesi gerçekleşirken diğer yandan F hızı ile taze besiyeri ekleniyor

D

Dilüsyon hızı $D = F/V$

Sistem "dinamik denge" durumuna ulaşıyor

STEADY
STATE

"Steady State" durumuna ulaşmış kemostatatta,

$X_s =$ bir değer (sabit, değişmeyen), $S_s =$ bir başka değer (değişmeyen)

$$\frac{dX}{dt} = 0 \quad , \quad \frac{dS}{dt} = 0$$

Ortak çözümlenince;

$$D = \frac{\mu_m S_s}{K_s + S_s}$$

$$S_s = \frac{DK_s}{\mu_m - D}$$

veee;

$$X_s = Y(S_r - S_s)$$

Dilüsyen hızı D ve dilüe edici besiyerindeki substrat konsantrasyonu S_r deneysel olarak belirlenmeli ooo

Monod dışında da kinetik fonksiyonlar önerilmiş :

- Lojistik denklem $\mu = \mu_m - \frac{\mu_m}{K} x$ (mikrobiyal ekoloji)
- Tessier denklemi $\mu = \mu_m (1 - e^{-S/K_s})$
- Moser denklemi $\mu = \mu_m (1 + K_s S^{-\lambda})^{-1}$ (λ sabit)
- Contois denklemi $\mu = \frac{\mu_m S}{Bx + S}$ (Bürün sabiti)
- Substrat inhibisyonu $\mu = \frac{\mu_m S}{K_i + S + S^2/K_p}$
- Ürün inhibisyonu $\mu = \frac{\mu_m S K_p}{K_i + K_p S + C}$

Farklı kültür sistemleri için

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - DX$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_r - S) - \frac{\mu X}{Y}$$

Batch

Chemostat

Fed-batch

$$D=0$$

$$D = \text{sabit}$$

$$D = \frac{F}{V_0} + F_t$$

Homojen sistemler

Non-homojen sistemler

Katı/yarı katı reaktör sistemlerinde dispersiyon hesaba katılmak!

Parsiyel diferansiyasyon

Parameter estimation

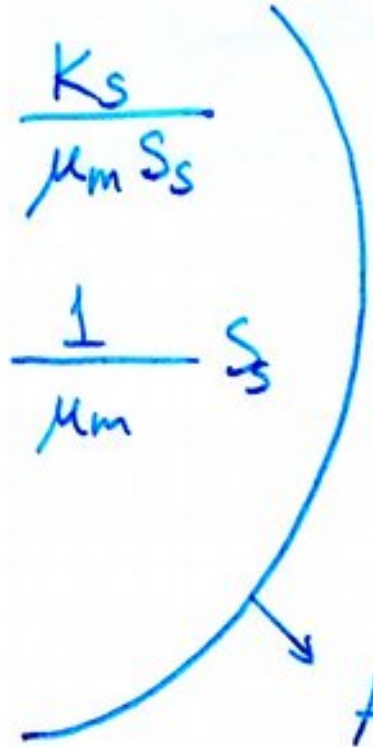
Monod üreme sabitlerinin tahmini

(steady-state kemostat koşullarında...)

$$D = \frac{\mu_m S_s}{K_s + S} \longrightarrow \frac{1}{D} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_s}{\mu_m S_s}$$

$$\frac{S_s}{D} = \frac{K_s}{\mu_m} + \frac{1}{\mu_m} S_s$$

$$D = \mu_m - K_s \frac{D}{S_s}$$



Hepsi de $y = ax + b$

μ_m ve K_s 'i tahmin etmek için



Regresyon analizi

"Wash-out" yöntemi

Kemostat kültürde D (dilüsyon) hızı, kültürün yetişemeyeceği kadar yükseltilir. Zamana karşı X (biyokütle) ölçümleri yapılır $\rightarrow \mu_m$ (özellik üreme hızı) hesaplanır.

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m X - DX$$

integre edildiğinde ($t=0 \rightarrow t=t$ arası)

$$\ln X_t = (\mu_m - D)t + \ln X_0$$

$$\mu_m = \frac{\ln X_t - \ln X_0}{t} + D$$

Simülasyon

Diferansiyel denklemlerin numerik çözümü

Dinamik parametre tahmini

Analitik Yöntemler

Diferansiyel denklemler stabil çözümler vermediğinde . . .

Nonlineer bir denkleme yaklaşık lineer bir denklem oluşturma

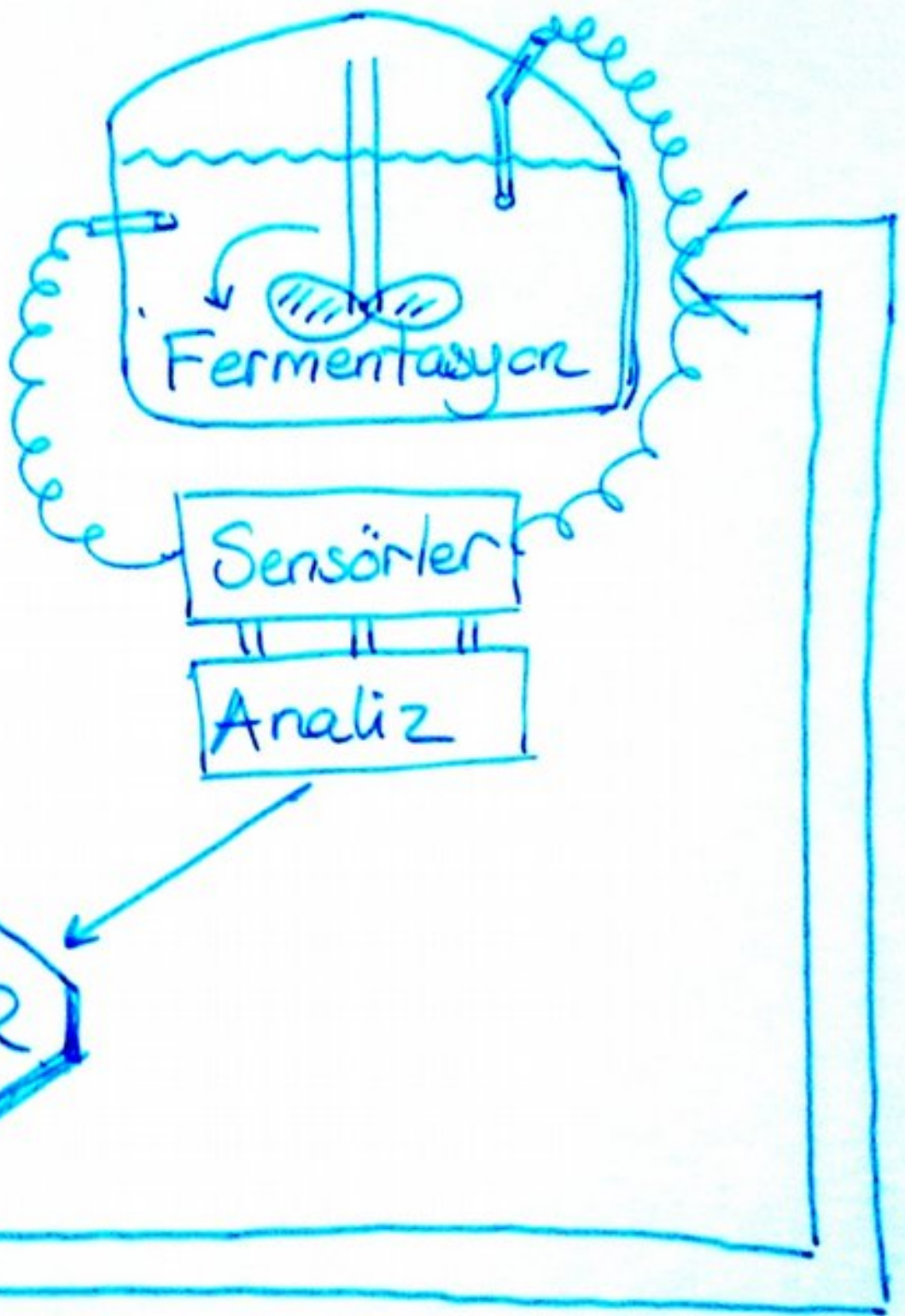
Matematik Model



Parametreler



KONTROLÖR



Sensörler

Analiz