

U9.1

Byla testována rychlost termické inaktivace amyloglukosidázy produkované mikroorganismem *Endomycopsis bispora*. Enzym byl inkubován při teplotě 40°C v roztoku pufru o optimální hodnotě pH a byl zjišťován pokles jeho aktivity. Enzym byl použit v rozpustné formě a v podobě imobilizovaného preparátu připraveného uzavřením enzymu do částic z polyakrylamidového gelu. Výsledky experimentů jsou uvedeny v tabulce:

čas [min.]	aktivita enzymu [$\mu\text{mol cm}^{-3}\text{min}^{-1}$]	
	rozpustný	imobilizovaný
0	0,86	0,45
3	0,79	0,44
6	0,70	0,43
9	0,65	0,43
15	0,58	0,41
20	0,46	0,40
25	0,41	0,39
30	-	0,38
40	-	0,37

Určete hodnoty rychlostní konstanty inaktivace 1. řádu a poločas enzymové aktivity pro obě formy enzymu.

Výsledek: Rozpustný enzym: $k_d = 0,0298 \text{ min}^{-1}$, $\tau_{1/2} = 23,3 \text{ min}$; imobilizovaný enzym: $k_d = 0,00541 \text{ min}^{-1}$, $\tau_{1/2} = 128 \text{ min}$.

U9.2

Enzym α -amyláza ze sladu je používána k hydrolyze škrobu. Experimentálně byla stanovena závislost reakční rychlosti hydrolyzy na teplotě:

teplota [$^{\circ}\text{C}$]	r [$\text{mmol dm}^{-3}\text{s}^{-1}$]
20	0,31
30	0,66
40	1,20
60	6,33

Určete hodnotu aktivační energie pro tuto enzymovou reakci.

Výsledek: Aktivační energie má hodnotu 61 kJ mol⁻¹.

U9.3

Závislost rychlostní konstanty termické inaktivace enzymu na teplotě je popsána Arrheniovou rovnicí $k_d = 2,25 \cdot 10^{27} \exp\left(\frac{-174200}{RT}\right)$, T je teplota v Kelvinech a $R = 8,3144 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ je plynová konstanta. Hodnota k_d vychází v h⁻¹. Jaké jsou hodnoty poločasu enzymové aktivity při teplotách 25°C a 55°C. Porovnejte hodnoty reakčních rychlostí při uvedených teplotách, jestliže použijete hodnotu aktivační energie z úlohy U9.2. Která teplota je výhodnější pro uskutečnění enzymové reakce?

Výsledek: Při teplotě 25°C je poločas enzymové aktivity 1021 h a při teplotě 55°C poklesne na 1,65 h. Poměr hodnot reakčních rychlostí při 55°C a 25°C je roven 9,5. Pro uskutečnění

reakce je výhodnější nižší teplota, protože při ní je rychlost inaktivace enzymu podstatně nižší než při 55°C, pokles rychlosti reakce je přitom přijatelný.

U9.4

V promíchávaném vsádkovém reaktoru se při konstantní teplotě a konstantní hodnotě pH uskutečňuje enzymová reakce. Počáteční koncentrace substrátu má hodnotu $1,86 \text{ mol dm}^{-3}$. Maximální reakční rychlost uvažované reakce je rovna $0,0025 \text{ mol dm}^{-3}\text{s}^{-1}$ a Michaelisova konstanta enzymu má hodnotu $0,053 \text{ mol dm}^{-3}$. Určete reakční dobu potřebnou k dosažení 97%-ní konverze substrátu pro případ, kdy inaktivace enzymu v průběhu reakce není významná. Jak se změní reakční doba, bude-li enzym podléhat termické inaktivaci s kinetikou prvního řádu a s hodnotou inaktivační konstanty $k_d = 0,0005 \text{ s}^{-1}$?

Výsledek: Požadované hodnoty konverze substrátu bude dosaženo za 796 s. Při současně probíhající inaktivaci enzymu se reakční doba prodlouží na 1015 s.

U9.5

Jaké hodnoty dosáhne konverze substrátu za 2900 s v promíchávaném vsádkovém reaktoru, ve kterém probíhá enzymová reakce s kinetikou Michaelise a Mentenové. Počáteční koncentrace substrátu je 1 mol dm^{-3} , maximální reakční rychlost je rovna $0,00031 \text{ mol dm}^{-3}\text{s}^{-1}$ a Michaelisova konstanta $K_m = 0,025 \text{ mol dm}^{-3}$. Inaktivaci enzymu v průběhu reakce neuvažujte.

Výsledek: Konverze dosáhne hodnoty 85,1%.

U9.6

Uvažujte podmínky úlohy U9.5 a určete, jaké hodnoty dosáhne konverze substrátu za 2900 s, pokud enzym v průběhu reakce podléhá termické inaktivaci 1. řádu s rychlostní konstantou $k_d = 0,00025 \text{ s}^{-1}$.

Výsledek: Konverze dosáhne hodnoty 61,6%.

U9.7

Vláknitý mikroorganismus byl kultivován ve vsádkovém systému. Jako jediný (limitující) zdroj uhlíku byla použita glukóza. Při experimentu byla zjištěna data uvedená v tabulce:

čas [h]	konc. biomasy [g dm ⁻³]	konc. substrátu [g dm ⁻³]
0	1,25	100
9	2,45	97
16	5,1	90,4
23	10,5	76,9
30	22	48,1
34	33	20,6
36	37,5	9,38
40	41	0,63

Určete a) hodnotu maximální růstové rychlosti mikroorganismu, b) hodnotu úhrnného růstového výtěžku, c) pro případ, bude-li použita počáteční koncentrace glukózy 150 g dm^{-3} a stejná velikost inokula, maximální dosažitelnou koncentraci biomasy.

Výsledek: Maximální růstová rychlost je $0,105 \text{ h}^{-1}$, růstový výtěžek je roven 0,4 a je možno dosáhnout koncentrace biomasy $61,25 \text{ g dm}^{-3}$.

U9.8

Při vsádkové kultivaci buněk aerobní bakterie s methanolem jako zdrojem uhlíku byla získána data uvedená v tabulce:

čas [h]	konc. biomasy [g dm^{-3}]	konc. substrátu [g dm^{-3}]
0	0,2	9,23
2	0,211	9,21
4	0,305	9,07
8	0,98	8,03
10	1,77	6,8
12	3,2	4,6
14	5,6	0,92
16	6,15	0,077
18	6,2	0

Určete: hodnotu maximální růstové rychlosti, hodnotu úhrnného růstového výtěžku a dobu zdvojení biomasy.

Výsledek: Maximální růstová rychlost má hodnotu $0,29 \text{ h}^{-1}$, růstový výtěžek je roven 0,65 a doba zdvojení biomasy je rovna 2,38 h.

U9.9

Buňky bakterie *Zymomonas mobilis* (producent ethanolu) jsou kultivovány v chemostatu o pracovním objemu 60 m^3 . Vstupní proud obsahuje 12 g dm^{-3} glukosu. Saturační konstanta $K_S = 0,2 \text{ g dm}^{-3}$, maximální růstová rychlost $\mu_{\max} = 0,3 \text{ h}^{-1}$, růstový výtěžek $Y_{X/S} = 0,06$. Specifická rychlost tvorby produktu je $q_P = 3,4 \text{ h}^{-1}$. Růst buněk se řídí Monodovou kinetikou.

- Jakou hodnotu musí mít zředovací rychlost, aby koncentrace substrátu v ustáleném stavu ve výstupním proudu činila $1,5 \text{ g dm}^{-3}$?
- Jaká bude koncentrace buněk ve výstupním proudu při hodnotě zředovací rychlosti z předchozího bodu?
- Jakou hodnotu bude mít koncentrace ethanolu na výstupu chemostatu za podmínek předchozího bodu?

Výsledek: a) Potřebná hodnota zředovací rychlosti je $D = 0,265 \text{ h}^{-1}$; b) koncentrace buněk ve výstupním proudu dosáhne hodnoty $X = 0,63 \text{ kg m}^{-3}$; c) koncentrace ethanolu bude mít hodnotu $P = 8,1 \text{ kg m}^{-3}$.

U9.10

Bakterie *Pseudomonas sp.* má dobu zdvojení biomasy v exponenciální fázi růstu při kultivaci na acetátu jako zdroji uhlíku rovnu 2,4 h. Růst se řídí Monodovou kinetikou. Saturační konstanta má hodnotu $K_S = 1,3 \text{ g dm}^{-3}$ a růstový výtěžek $Y_{X/S} = 0,46 \text{ g biomasy na g acetátu}$. Jestliže vstupní proud chemostatu obsahuje 38 g dm^{-3} acetátu, určete:

- maximální přípustnou hodnotu zředovací rychlosti D_{\max} ,
- koncentraci substrátu ve výstupním proudu při zředovací rychlosti $D = 0,8 D_{\max}$,
- koncentraci biomasy ve výstupním proudu při zředovací rychlosti $D = 0,5 D_{\max}$,

d) produktivitu chemostatu pro biomasu při zředovací rychlosti $D = 0,5 D_{\max}$.

Výsledek: a) Maximální specifická růstová rychlost má hodnotu $\mu_{\max} = 0,289 \text{ h}^{-1}$ a maximální hodnota zředovací rychlosti je $D_{\max} = 0,279 \text{ h}^{-1}$; b) koncentrace substrátu ve výstupním proudu má hodnotu $S = 4,44 \text{ g dm}^{-3}$; c) koncentrace biomasy ve výstupním proudu je $16,92 \text{ g dm}^{-3}$, d) produktivita chemostatu je rovna $2,36 \text{ g dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$.

U9.11

Fermentor o objemu 5 m^3 je provozován v kontinuálním režimu při koncentraci substrátu na vstupu 20 kg m^{-3} . Mikroorganismus kultivovaný ve fermentoru má tyto růstové charakteristiky: $K_S = 0,8 \text{ kg m}^{-3}$, $\mu_{\max} = 0,45 \text{ h}^{-1}$, $Y_{X/S} = 0,55 \text{ kg kg}^{-1}$.

- Jakou hodnotu musí mít objemový průtok média fermentorem, má-li být dosaženo 90%-ní konverze substrátu,
- Porovnejte hodnotu produktivity systému pro biomasu při 90%-ní konverzi substrátu s maximálně možnou produktivitou.

Výsledek: a) Objemový průtok musí být nastaven na hodnotu $1,61 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; b) maximální produktivita chemostatu je $P_{\max} = 3,33 \text{ kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a produktivita dosažená při 90%-ní konverzi je $P = 3,19 \text{ kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$.

U9.12

Chemostat s recyklem má objem 2 dm^3 a objemový průtok vstupního proudu je $0,25 \text{ dm}^3 \text{ h}^{-1}$. Mikroorganismus kultivovaný v chemostatu roste při limitaci jediným substrátem – glukosou. Růstový výtěžek má hodnotu $Y_{X/S} = 0,65$. Koncentrace glukosy ve vstupním proudu je rovna 20 g dm^{-3} . Maximální hodnota specifické růstové rychlosti mikroorganismu je $0,25 \text{ h}^{-1}$ a saturační konstanta má hodnotu $1,5 \text{ g dm}^{-3}$. Koncentrační faktor chemostatu má hodnotu $C = 1,75$ a recyklační poměr $\alpha = 0,75$. Systém pracuje v ustáleném stavu, vstupní proud neobsahuje žádnou biomasu a mikroorganismus neprodukuje žádný extracelulární produkt.

Určete: a) produktivitu tohoto chemostatu pro biomasu a koncentraci zbytkového substrátu ve výstupním proudu, b) porovnejte výše vypočtené hodnoty s hodnotami pro chemostat bez recyklu se stejným objemem a stejným objemovým průtokem.

Výsledek: a) Produktivita chemostatu s recyklem je $1,59 \text{ g dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$, koncentrace substrátu ve výstupním proudu je $0,42 \text{ g dm}^{-3}$. b) Chemostat bez recyklu dosáhne produktivity pro biomasu $1,503 \text{ g dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$, koncentrace zbytkové glukosy bude $1,5 \text{ g dm}^{-3}$.

U9.13

V kaskádě dvou chemostatů má první člen objem $0,5 \text{ m}^3$ a druhý má objem $0,3 \text{ m}^3$. První člen slouží k růstu biomasy a druhý k produkci sekundárního metabolitu. Objemový průtok na vstupu do prvního členu je roven $0,1 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ a vstupní koncentrace glukosy (substrátu) je rovna 5 g dm^{-3} . Maximální hodnota specifické růstové rychlosti je $0,3 \text{ h}^{-1}$, saturační konstanta je rovna $0,1 \text{ g dm}^{-3}$ a růstový výtěžek je roven $0,4$.

a) Určete koncentraci substrátu a biomasy na výstupu z 1. členu kaskády. b) Za předpokladu, že růst biomasy ve 2. členu je zanedbatelný, specifická rychlost tvorby produktu je rovna $0,02 \text{ h}^{-1}$ a $Y_{P/S} = 0,6$ určete koncentrace substrátu a produktu na výstupu z 2. členu.

Výsledek: a) Koncentrace substrátu ve výstupním proudu 1. členu je $0,2 \text{ g dm}^{-3}$, koncentrace biomasy je rovna $1,92 \text{ g dm}^{-3}$. b) Na výstupu 2. členu je koncentrace substrátu $0,008 \text{ g dm}^{-3}$ a koncentrace produktu je rovna $0,1152 \text{ g dm}^{-3}$.