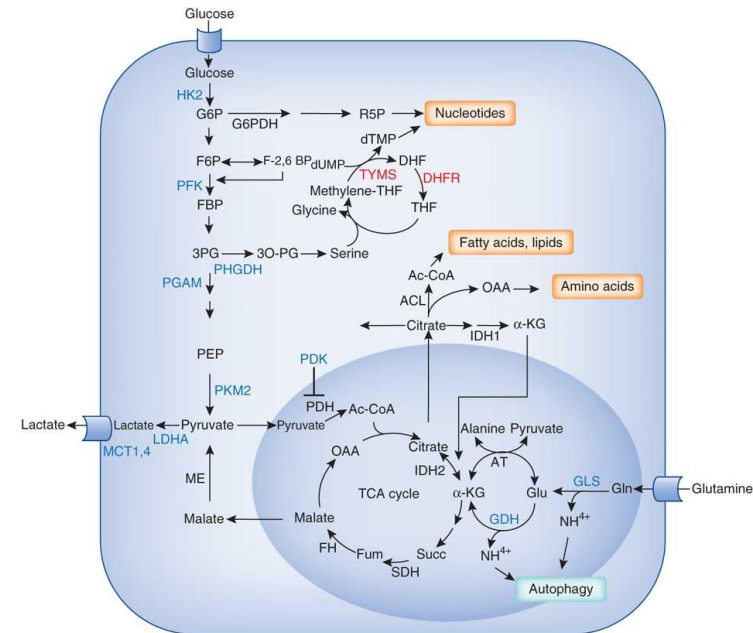




# Ισοζύγια μάζας και ενέργειας στα κύτταρα

**Καθηγητής  
Δημοσθένης Σαρηγιάννης**



**Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μηχανικής**



# Ισοζύγια

- Η μελέτη των ισοζυγίων μάζας προσφέρει απαντήσεις αναφορικά με λειτουργικά δεδομένα βιο-αντιδραστήρων και βιολογικών διεργασιών
  - Ποια είναι η ποσότητα υποστρώματος που καταναλώθηκε και δε μετατράπηκε σε προϊόν;
  - Ποια είναι η ποσότητα υποστρώματος που απαιτείται για να παραχθεί Χ ποσότητα βιομάζας
  - Ποια είναι η ποσότητα οξυγόνου που πρέπει να διοχετευθεί σε ένα βιοαντιδραστήρα έτσι ώστε να συνεχιστεί η ζύμωση;



# Σύστημα και διεργασίες

- Σύστημα – το επιλεγμένο προς εξέταση τμήμα μιας διεργασίας (ή ολόκληρη η διεργασία)
  - Κλειστό σύστημα, αυτό που δεν επιτρέπει το πέρασμα μάζας από το σύστημα προς το περιβάλλον και αντίστροφα και χαρακτηρίζεται από σταθερή ποσότητα μάζας.
  - Ανοικτό, εάν επιτρέπεται η ανταλλαγή μάζας με το περιβάλλον
- Διεργασία είναι μια σειρά φυσικών επεμβάσεων οι οποίες προκαλούν φυσικές ή χημικές αλλαγές σε κάποιο σύστημα ή στο περιβάλλον
  - Διεργασία διαλείποντος έργου – κλειστό σύστημα
  - Διεργασία ημιδιαλείποντος έργου – υπάρχει είσοδος υλικών αλλά όχι έξοδος
  - Διεργασία συνεχούς έργου – επιτρέπει την είσοδο και έξοδο υλικών.



# Σταθερή κατάσταση και ισορροπία

- Όταν όλες οι μεταβλητές ενός συστήματος (θερμοκρασία, πίεση, όγκος, μάζα κλπ) δε μεταβάλλονται με το χρόνο, το σύστημα βρίσκεται σε σταθερή κατάσταση.
  - Οι διεργασίες διαλείποντος και ημι-διαλείποντος έργου δε μπορούν να βρεθούν σε τέτοια κατάσταση
  - Στις ημι-διαλείποντος η μάζα αυξάνεται με το χρόνο
  - Στις διαλείποντος παρότι η μάζα παραμένει σταθερή, η φυσικοχημική κατάσταση μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου
- Οι συνεχούς λειτουργίας-έργου μπορούν να είναι είτε σταθερής κατάστασης είτε μεταβαλλόμενες



# Ισοζύγιο μάζας

- Η αρχή διατήρησης της μάζας εκφράζεται με τη θεώρηση της ροής ενός υλικού μέσα και έξω από ένα σύστημα με τη μορφή του ισοζυγίου μάζας
  - Δεν είναι τίποτε περισσότερο από έναν ισολογισμό των ποσοτήτων μάζας που ρέουν μέσα στα όρια του συστήματος ή της μάζας που υφίσταται αλλαγές στο εσωτερικό του συστήματος, και παίρνει τη μορφή

$$\begin{array}{|c|} \hline \text{Συσσώρευση στο} \\ \text{σύστημα} \\ \hline \end{array} = \begin{array}{|c|} \hline \text{Είσοδος στο} \\ \text{σύστημα} \\ \hline \end{array} - \begin{array}{|c|} \hline \text{Εξοδος απο το} \\ \text{σύστημα} \\ \hline \end{array} + \begin{array}{|c|} \hline \text{Παραγωγή στο} \\ \text{εσωτερικό} \\ \hline \end{array} - \begin{array}{|c|} \hline \text{κατανάλωση στο} \\ \text{εσωτερικό} \\ \hline \end{array}$$

- Ένα ισοζύγιο μάζας μπορεί να εφαρμοστεί για τη συνολική μάζα ενός συστήματος, για ένα συγκεκριμένο είδος ατόμων ή μορίων ή για τη βιομάζα. Ο όρος της συσσώρευσης στο σύστημα μπορεί να είναι θετικός, ή αρνητικός. Το αρνητικό πρόσημο αντιπροσωπεύει την εξάντληση ήδη υπάρχοντων αποθεμάτων



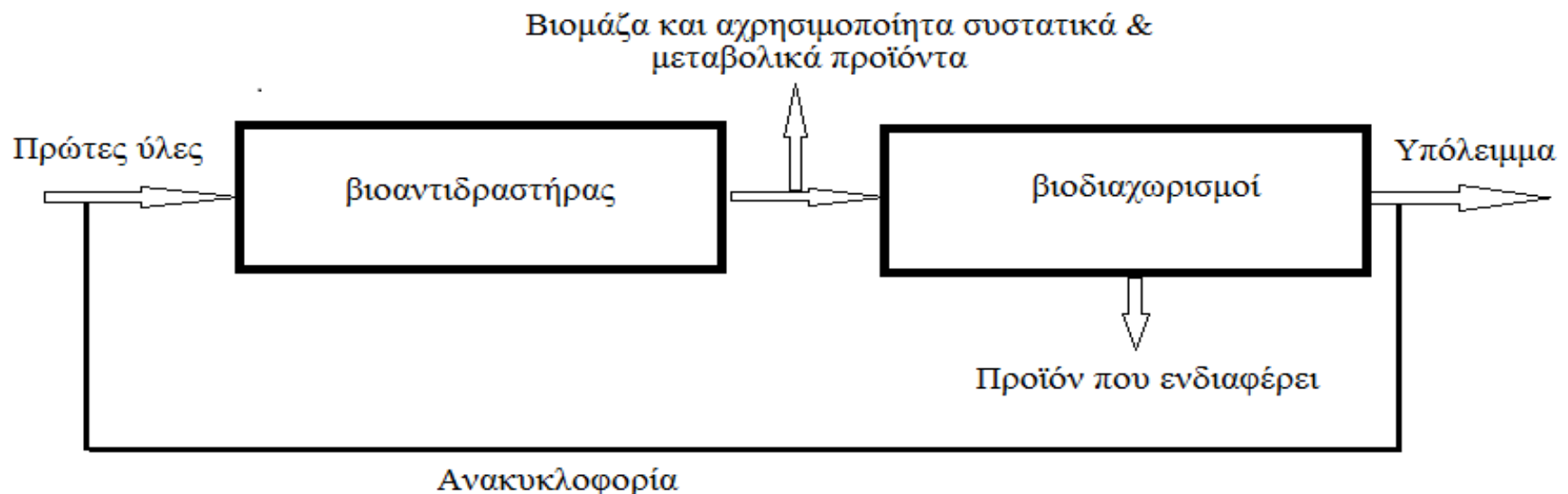
# Διαδικασία εφαρμογής

- Η χρήση τυποποιημένης πορείας έχει ως αποτέλεσμα τη διευκόλυνση της παρακολούθησης και της πορείας επίλυσης. Με τα στάδια να μπορούν να ομαδοποιηθούν σε τέσσερα στάδια: συγκρότηση, ανάλυση, υπολογισμός και ολοκλήρωση.
  - Α) σχεδιασμός ενός σαφούς διαγράμματος ροής με αποτύπωση όλων των διαθέσιμων πληροφοριών
  - Β) επιλογή των μονάδων μέτρησης για τις μεταβλητές του συστήματος
  - Γ) επιλογή και σαφής διατύπωση της βάσης επίλυσης του συστήματος
  - Δ) διατύπωση των παραδοχών που έχουν υιοθετηθεί
  - Ε) Εντοπισμός – εφόσον υπάρχουν – των συστατικών που συμμετέχουν σε αντιδράσεις



# Βιοδιεργασία - βιοαντιδραστήρας

- Ένα δοχείο στο οποίο λαμβάνει χώρα κάποια αντίδραση
- Καταναλώνει αντιδρώντα με κάποιο ρυθμό
- Παράγει προϊόντα με κάποιο ρυθμό
- Για την έκφραση των ρυθμών απαιτείται ο καθορισμός της κινητικής των αντιδράσεων στο εσωτερικό





# Κινητική

- Η μελέτη της εξάρτησης ενός ρυθμού αντίδρασης από:
  - Θερμοκρασία
  - Πίεση
  - pH
  - Συγκέντρωση προϊόντων
  - Συγκέντρωση αντιδρώντων
  - ανάδευση





# Στοιχειώδεις αντιδράσεις

- Παρουσιάζουν απλά γεγονότα όπως η συμπλοκοποίηση του υποστρώματος με το ένζυμο



- Στις αντιδράσεις αυτές μόνο οι ρυθμοί κατανάλωσης είναι ανάλογοι των ρυθμών δημιουργίας και κατ' επέκταση για την παραπάνω αντίδραση ισχύει ότι

$$\frac{d[E]}{dt} = \frac{d[S]}{dt} = -\frac{d[ES]}{dt}$$



# Συνολικές αντιδράσεις

- Βιοχημικές αντιδράσεις σε ολόκληρα μεταβολικά δίκτυα όπως η περίπτωση της **Γλυκόζη**  $\rightarrow$  **2 πυροσταφυλικά οξέα**, ονομάζονται **συνολικές αντιδράσεις** και προκύπτουν από το άθροισμα πολλών επιμέρους απλών αντιδράσεων
- Οι ρυθμοί των επί μέρους απλών αντιδράσεων καθορίζουν και τη σχέση ανάμεσα στους ρυθμούς μεταβολής των συγκεντρώσεων των αντιδρώντων και των προϊόντων.
  - Θεωρώντας ότι υπάρχουν παράλληλες αντιδράσεις πρώτης τάξης **A** $\rightarrow$ **B** και **A** $\rightarrow$ **C** οι οποίες λαμβάνουν χώρα σε κλειστό χώρο υπό ικανοποιητική ανάδευση.
  - Αρχικά υπάρχει μόνο A σε συγκέντρωση  $C_{A0}$ , με τους ρυθμούς των επιμέρους αντιδράσεων να είναι  $K_{1CA}$  και  $K_{2C2}$ .
  - Η συγκέντρωση του A μπορεί να υπολογιστεί με ολοκλήρωση της κανονικής διαφορικής εξίσωσης του ισοζυγίου.

$$\frac{dc_A}{dt} = -k_1c_A - k_2c_A$$

- Κατ' επέκταση η συγκέντρωση του A =  $c_A(t) = c_{A0}e^{[-(k_1+k_2)t]}$



# Συνολικές αντιδράσεις

- Από τα ισοζύγια για B και C

$$\frac{dc_B}{dt} = k_1 c_A \quad \frac{dc_C}{dt} = k_2 c_A$$

- Αντικαθιστώντας για τη συγκέντρωση  $C_A$

$$c_B(t) = \frac{k_1 c_{A0}}{k_1 + k_2} [1 - e^{-(k_1 + k_2)t}]$$

$$c_C(t) = \frac{k_2 c_{A0}}{k_1 + k_2} [1 - e^{-(k_1 + k_2)t}]$$

- Επομένως

$$\Delta c_B(t) = \frac{k_1}{k_1 + k_2} \Delta c_A(t)$$

$$\Delta c_C(t) = \frac{k_2}{k_1 + k_2} \Delta c_A(t)$$



## Συνολικές αντιδράσεις

- Επομένως

$$\Delta c_B(t) = \frac{k_1}{k_1 + k_2} \Delta c_A(t)$$

$$\Delta c_C(t) = \frac{k_2}{k_1 + k_2} \Delta c_A(t)$$

- Από τις σχέσεις αυτές – για κάθε mole του A που καταναλώνεται οι ποσότητες του B και C που παράγονται δεν είναι σταθερές αλλά εξαρτώμενες από την κινητική των επιμέρους αντιδράσεων.
- Γενικά **οι καθαροί ρυθμοί κατανάλωσης και παραγωγής** δεν είναι ανεξάρτητοι αλλά **υπόκεινται σε περιορισμούς**. Έτσι μπορεί οι ποσότητες των προϊόντων στις παράλληλες αντιδράσεις να εξαρτώνται από την επιμέρους κινητική, το άθροισμα τους ωστόσο είναι σταθερό και ίσο με την ποσότητα του A που καταναλώθηκε. Αυτοί οι περιορισμοί πηγάζουν από το νόμο διατήρησης της μάζας



# Στοιχειακά ισοζύγια

Μικροοργανισμός	Περιοριστικό θρεπτικό συστατικό	$\mu$ ( $h^{-1}$ )	Σύσταση (% κατά βάρος)							Εμπειρικός Χημικός Τύπος	«Μοριακό Βάρος» Χημικού Τύπου	
			C	H	N	O	P	S	Τέφρα			
Βακτήριο			53.0	7.3	12.0	19.0				8	$CH_{1.966}N_{0.30}O_{0.27}$	20.7
Βακτήριο			47.1	7.8	13.7	31.3					$CH_2N_{0.25}O_{0.05}$	25.5
<i>Aerobacter aerogenes</i>			48.7	7.3	13.9	21.1				8.9	$CH_{1.78}N_{0.24}O_{0.33}$	22.5
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Γλυκερόλη	0.1	50.6	7.3	13.0	29.0					$CH_{1.74}N_{0.22}O_{0.43}$	23.7
<i>K. aerogenes</i>	Γλυκερόλη	0.85	50.1	7.3	14.0	28.7					$CH_{1.73}N_{0.24}O_{0.43}$	24.0
Ζύμη			47.0	6.5	7.5	31.0				8	$CH_{1.66}N_{0.13}O_{0.40}$	23.5
Ζύμη			50.3	7.4	8.8	33.5					$CH_{1.75}N_{0.15}O_{0.5}$	23.9
Ζύμη			44.7	6.2	8.5	31.2	1.08	0.6			$CH_{1.64}N_{0.16}O_{0.52}P_{0.01}S_{0.005}$	26.9
<i>Candida utilis</i>	Γλυκόζη	0.08	50.0	7.6	11.1	31.3					$CH_{1.82}N_{0.19}O_{0.47}$	24.0
<i>C. utilis</i>	Γλυκόζη	0.45	46.9	7.2	10.9	35.0					$CH_{1.82}N_{0.2}O_{0.56}$	25.6
<i>C. utilis</i>	Λιθανόλη	0.06	50.3	7.7	11.0	30.8					$CH_{1.82}N_{0.19}O_{0.46}$	23.9
<i>C. utilis</i>	Λιθανόλη	0.43	47.2	7.3	11.0	34.6					$CH_{1.82}N_{0.2}O_{0.55}$	25.5

B. Atkinson & F. Matitova. *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*, Macmillan, Inc., New York, 1983.

- Η τυπική σύσταση του κυτταρικού υλικού αντιστοιχεί στον τύπο  $CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2}$



# ΣΤΟΙΧΕΙΟΜΕΤΡΙΑ ΒΙΟΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ

- Γενικά ένα σύστημα  $m$  αντιδράσεων ( $r_1, \dots, r_m$ ) μεταξύ  $N$  διαφορετικών ουσιών  $A_1, \dots, A_N$  (αντιδρώντα και προϊόντα).
- Μπορούμε να παρουσιαστεί κάθε αντίδραση  $j$  με τη μορφή:

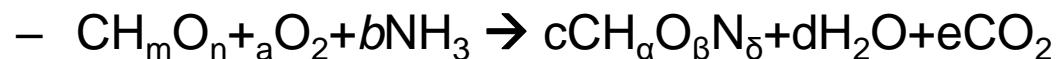
$$\sum_{i=1}^N \nu_{ij} A_i = 0$$

- $\nu_{ij} < 0$  εάν το  $A_i$  είναι αντιδρών,
- $\nu_{ij} > 0$  εάν είναι προϊόν της  $j$  αντίδρασης
- $\nu_{ij} = 0$  εάν δεν παίρνει μέρος στην αντίδραση  $j$



# Στοιχειακά ισοζύγια

- Παίρνοντας την βιολογική μετατροπή χωρίς εξωκυτταρικά προϊόντα εκτός του  $H_2O$  και  $CO_2$



Όπου  $CH_mO_n$  αντιστοιχεί σε 1 mole υδατανθράκων και το  $CH_\alpha O_\beta N_\delta$  αντιστοιχεί σε 1 mole κυτταρικού υλικού. Ισοζύγια για το C, H, O και N οδηγούν στις παρακάτω εξισώσεις:

- $C:1=c+e$
- $H:m+3b=ca+2d$
- $O:n+2a=c\beta+d+2e$
- $N:b=c\delta$
  
- Με το αναπνευστικό πηλίκο (RQ) (δηλαδή ο λόγος του παραγόμενου  $CO_2$  ως προς το καταναλωθέν  $O_2$ ) να δίδεται από τη σχέση
  - $RQ=e/a$



# Βαθμός αναγωγής

- Σε πολύπλοκες αντιδράσεις, όπως στην περίπτωση της παραγωγής εξωκυτταρικών προϊόντων, υφίσταται ένας επιπλέον στοιχειομετρικός συντελεστής ο οποίος είναι ο βαθμός αναγωγής
  - Χρησιμοποιείται για την κατάστρωση ισοζυγίων πρωτονίων και ηλεκτρονίων στις βιοαντιδράσεις.
  - Ορίζεται ως ο αριθμός ισοδύναμων διαθέσιμων ηλεκτρονίων ανά γραμμοάτομο C. Διαθέσιμα ηλεκτρόνια είναι αυτά τα οποία μεταφέρονται στο οξυγόνο κατά την οξείδωση μιας χημικής ένωσης προς  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  και  $\text{NH}_3$
  - Οι βαθμοί αναγωγής κάποιων κοινών στοιχείων είναι  $\text{C}=4$ ,  $\text{H}=1$ ,  $\text{N}=-3$ ,  $\text{O}=-2$ ,  $\text{P}=5$  και  $\text{S}=6$ . Ο βαθμός αναγωγής οποιουδήποτε στοιχείου σε χημική ένωση είναι ίσος με το σθένος του συγκεκριμένου στοιχείου.





# Βαθμός αναγωγής



Βαθμός αναγωγής και βάρος ενός ισοδύναμου άνθρακα ενός γραμμομορίου διαφόρων χημικών ενώσεων και βιομάζας.

Χημική ένωση	Μοριακός τύπος	Βαθμός αναγωγής, $\gamma$	Βάρος, $m$
Βιομάζα	$\text{CH}_{1.64}\text{N}_{0.16}\text{O}_{0.52}$	4.17 ( $\text{NH}_3$ )	24.5
	$\text{P}_{0.0054}\text{S}_{0.005}''$	4.65 ( $\text{N}_2$ )	
		5.45 ( $\text{HNO}_3$ )	
Μεθάνιο	$\text{CH}_4$	8	16.0
n- Αλκάνιο	$\text{C}_{15}\text{H}_{32}$	6.13	14.1
Μεθανόλη	$\text{CH}_4\text{O}$	6.0	32.0
Αιθανόλη	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	6.0	23.0
Γλυκερόλη	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$	4.67	30.7
Μαννιτόλη	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$	4.33	30.3
Οξικό οξύ	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	4.0	30.0
Γαλακτικό οξύ	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$	4.0	30.0
Γλυκόζη	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	4.0	30.0
Φορμαλδεΰδη	$\text{CH}_2\text{O}$	4.0	30.0
Γλυκονικό οξύ	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$	3.67	32.7
Ηλεκτρικό οξύ	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$	3.50	29.5
Κιτρικό οξύ	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$	3.0	33.5
Μυρμηκικό οξύ	$\text{CH}_2\text{O}_2$	2.0	46.0
Οξαλικό οξύ	$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$	1.0	45.0

B. Atkinson & F. Matitova, *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook* Macmillan, Inc., New York, 1983.



# Συντελεστής απόδοσης

- Ο συντελεστής απόδοσης εκφράζεται συνήθως σε g κυτταρικής μάζας ανά g υποστρώματος.
- Ως **υπόστρωμα** θεωρούμε το **περιοριστικό θρεπτικό συστατικό**, το οποίο ορίζεται ως το συστατικό που θα εκλείψει πρώτο αν η αντίδραση (η ανάπτυξη) προχωρήσει μέχρι τέλους.
- Εν γένει διαφοροποιείται αυτό το στοιχειομετρικά περιοριστικό θρεπτικό συστατικό από το θρεπτικό συστατικό που καθορίζει (περιορίζει) και τον ρυθμό ανάπτυξης.



# Συντελεστής απόδοσης

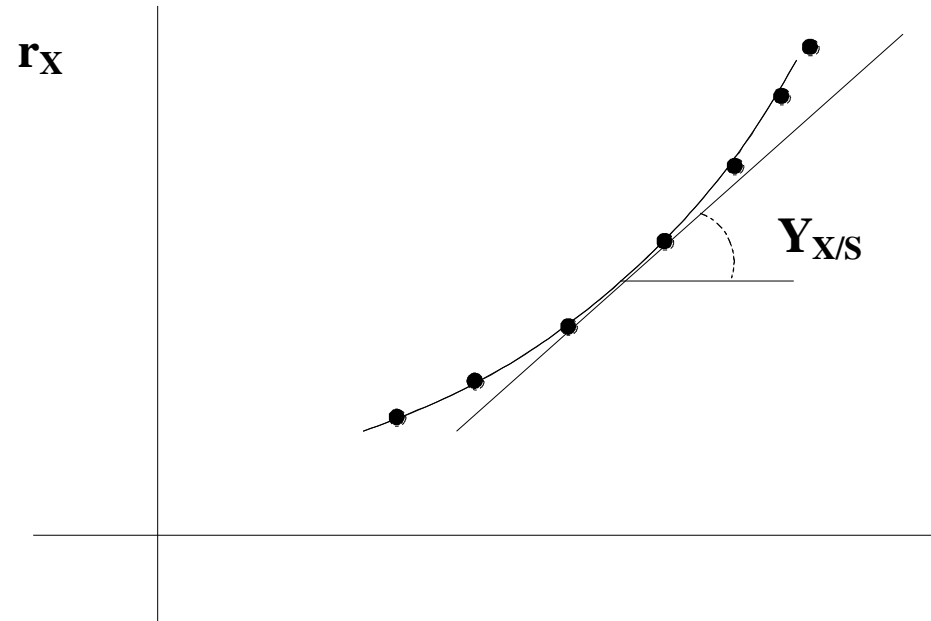
- Ο συντελεστής απόδοσης εξαρτάται από :
  - Το ρυθμό ανάπτυξης
  - Τη θερμοκρασία
  - Το είδος του οργανισμού
  - Το λόγο άνθρακα/αζώτου
  - Την ύπαρξη οξυγόνου
  - Το pH

Κατ' επέκταση η μικροβιακή ανάπτυξη δεν παρουσιάζει σταθερή στοιχειομετρία



# Απόδοση

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{X_t - X_0}{S_0 - S_t} = \frac{r_X}{r_S}$$

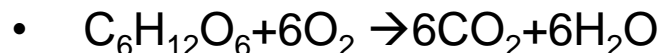


- $r_X$  και  $r_S$  οι ρυθμοί παραγωγής βιομάζας και κατανάλωσης υποστρώματος αντίστοιχα,
- $X_t$  και  $X_0$  η βιομάζα σε χρόνους  $t$  και  $0$  αντίστοιχα
- $S_t$  και  $S_0$  το θρεπτικό υπόστρωμα σε χρόνους  $t$  και  $0$  αντίστοιχα
- πρόκειται για μακροσκοπική ποσότητα που προσδιορίζεται πειραματικά από την κλίση της καμπύλης του  $r_X$  ως προς  $r_S$



# Πρόβλεψη συντελεστών απόδοσης

- Στις αερόβιες ζυμώσεις ο συντελεστής απόδοσης σε κυτταρική μάζα ανά διαθέσιμο ηλεκτρόνιο στα μόρια του οξυγόνου και με την αμμωνία ως πηγή αζώτου είναι περίπου 3.14g ξηρού βάρους κυττάρων.
- Όταν ο αριθμός των μορίων οξυγόνου ανά mole καταναλωθέντος υποστρώματος είναι γνωστός, μπορεί να υπολογισθεί ο συντελεστής απόδοσης σε κυτταρική μάζα,  $Y_{x/s}$ . Ο αερόβιος καταβολισμός της γλυκόζης παριστάνεται από την ακόλουθη εξίσωση.



- Ο συνολικός αριθμός διαθέσιμων ηλεκτρονίων σε 1 mole γλυκόζης είναι 24. ο συντελεστής απόδοσης σε κυτταρική μάζα ανά διαθέσιμο ηλεκτρόνιο είναι  $Y_{x/s} = 24(3.14) = 76$  g ξηρού βάρους κυττάρων ανά/mole
- Ο συντελεστής απόδοσης σε κυτταρική μάζα που προβλέπεται από την εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθοδολογίας είναι  $Y_{xs} = 76/180 = 0.4$  g ξηρού βάρους κυττάρων ανά g/γλυκόζης



***Thank you for your kind  
attention***

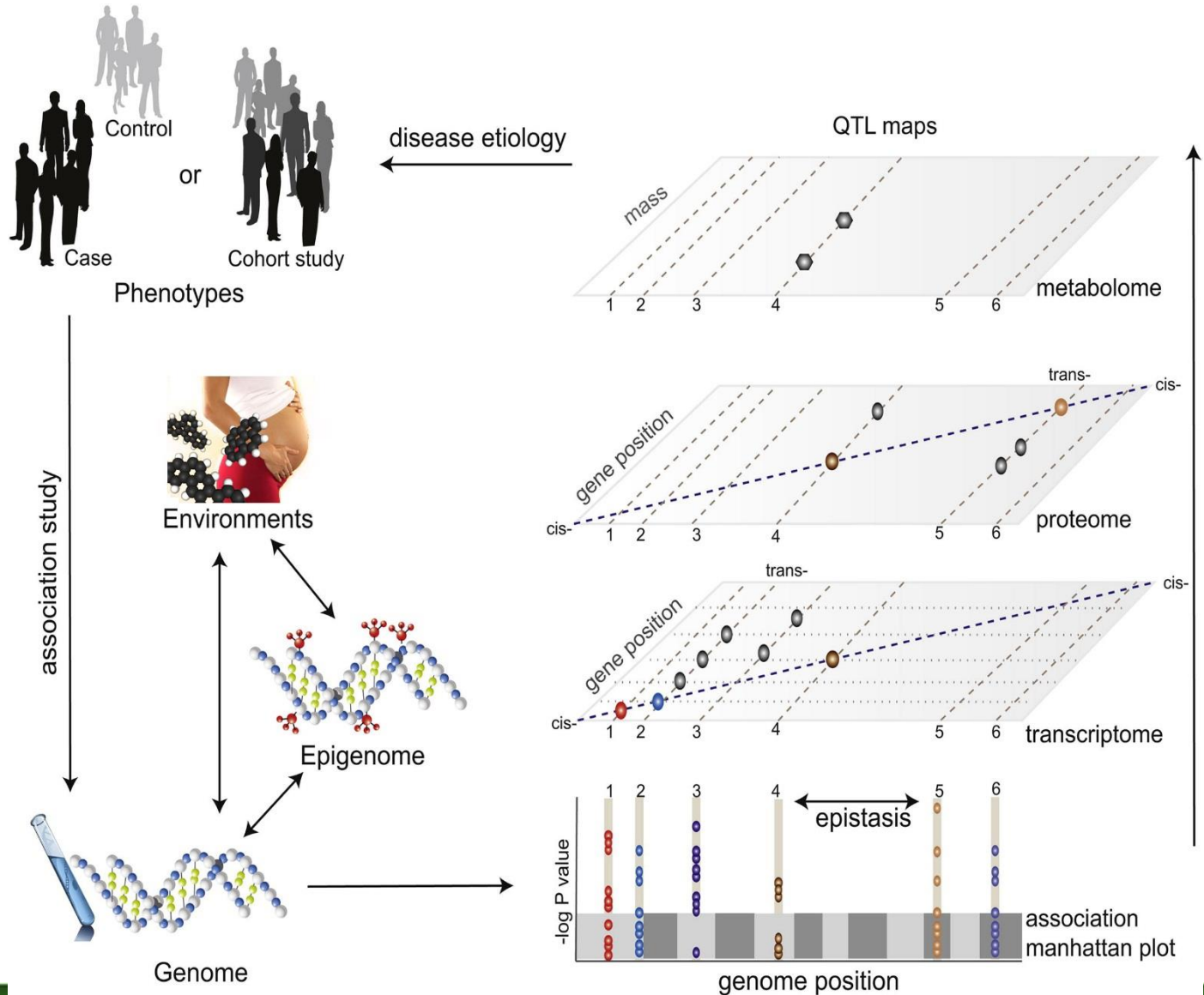


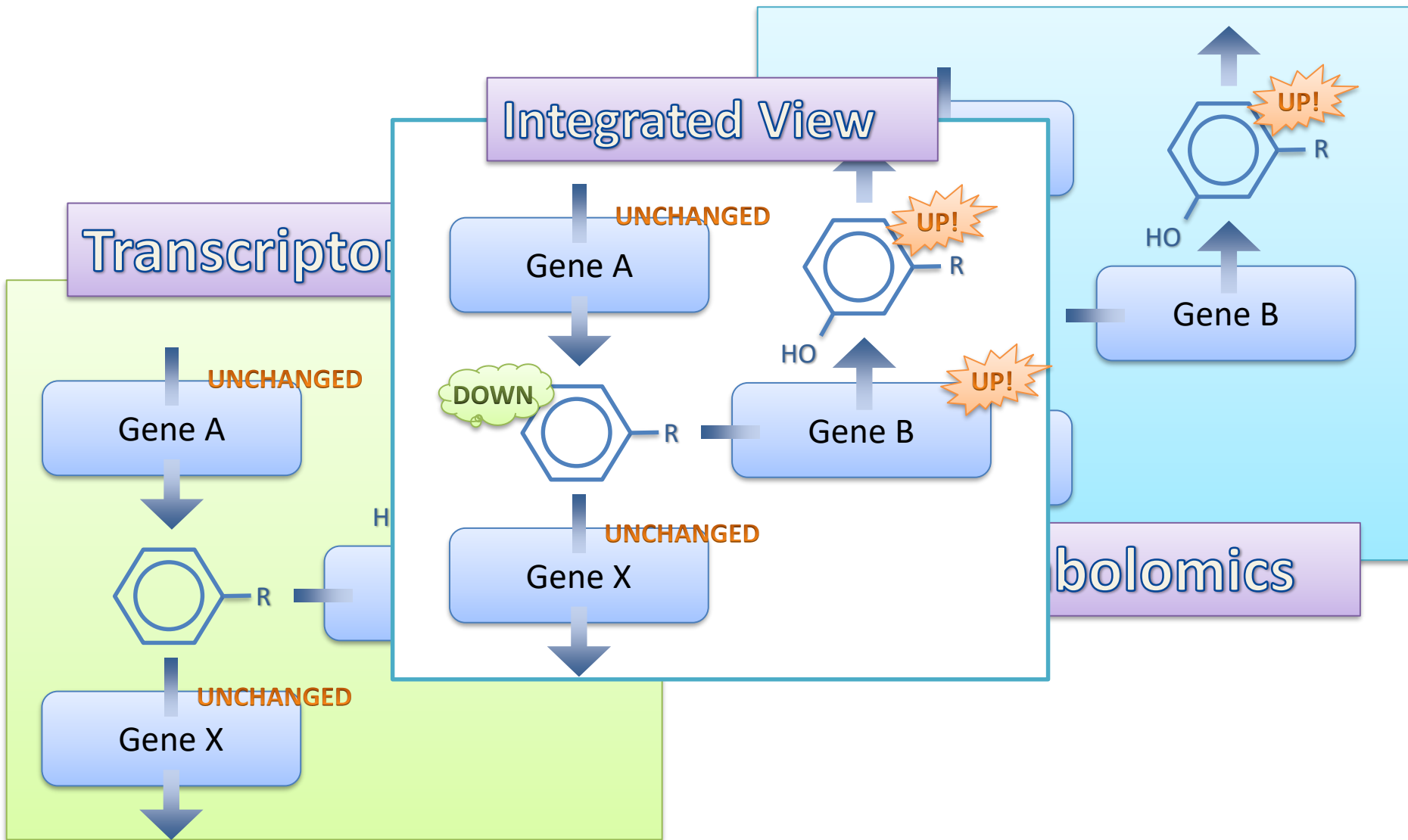
***[www.enve-lab.eu](http://www.enve-lab.eu)***

***A connectivity perspective to environmental health***



# Coupled EWAS-GWAS methodology The HEALS paradigm



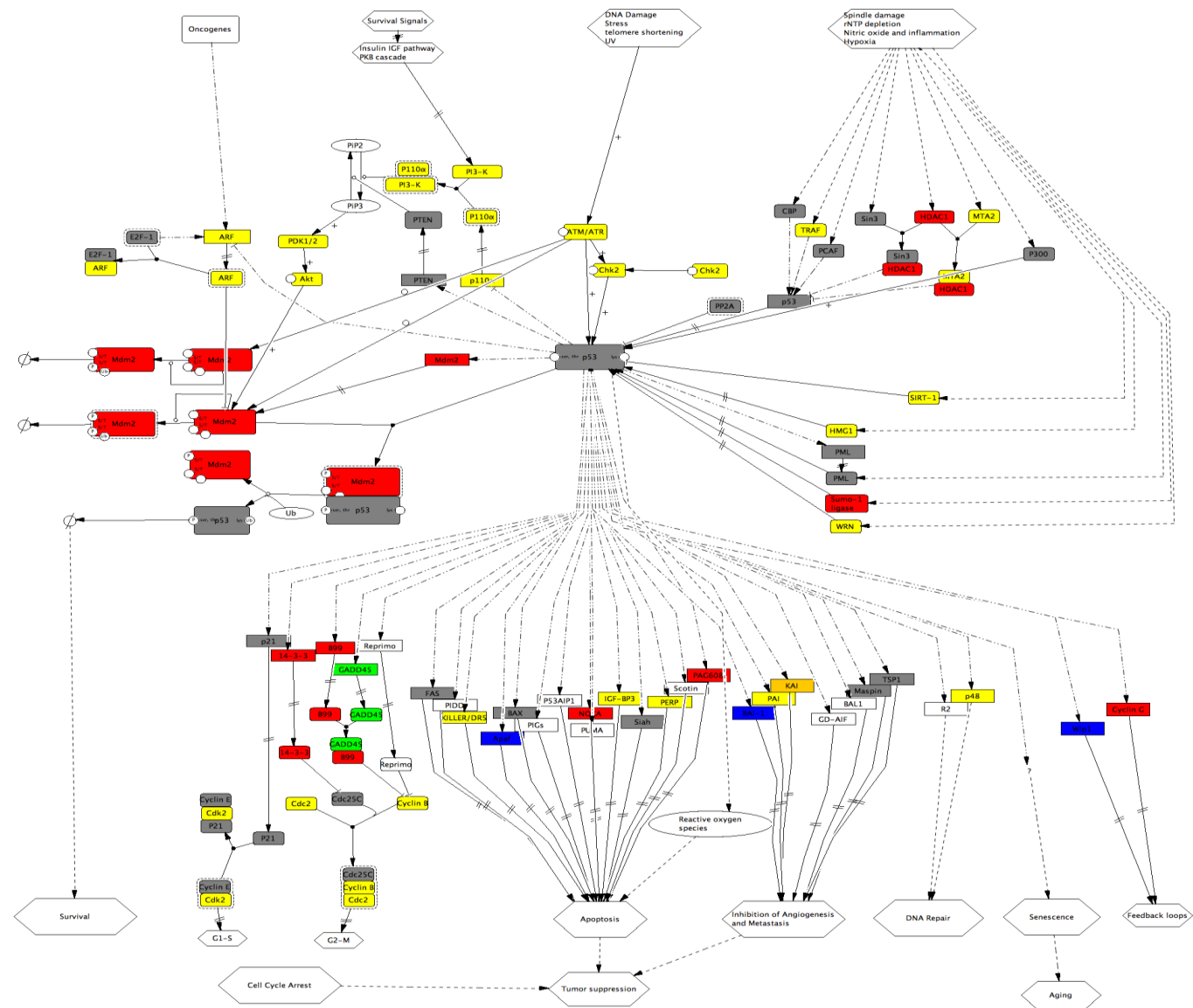






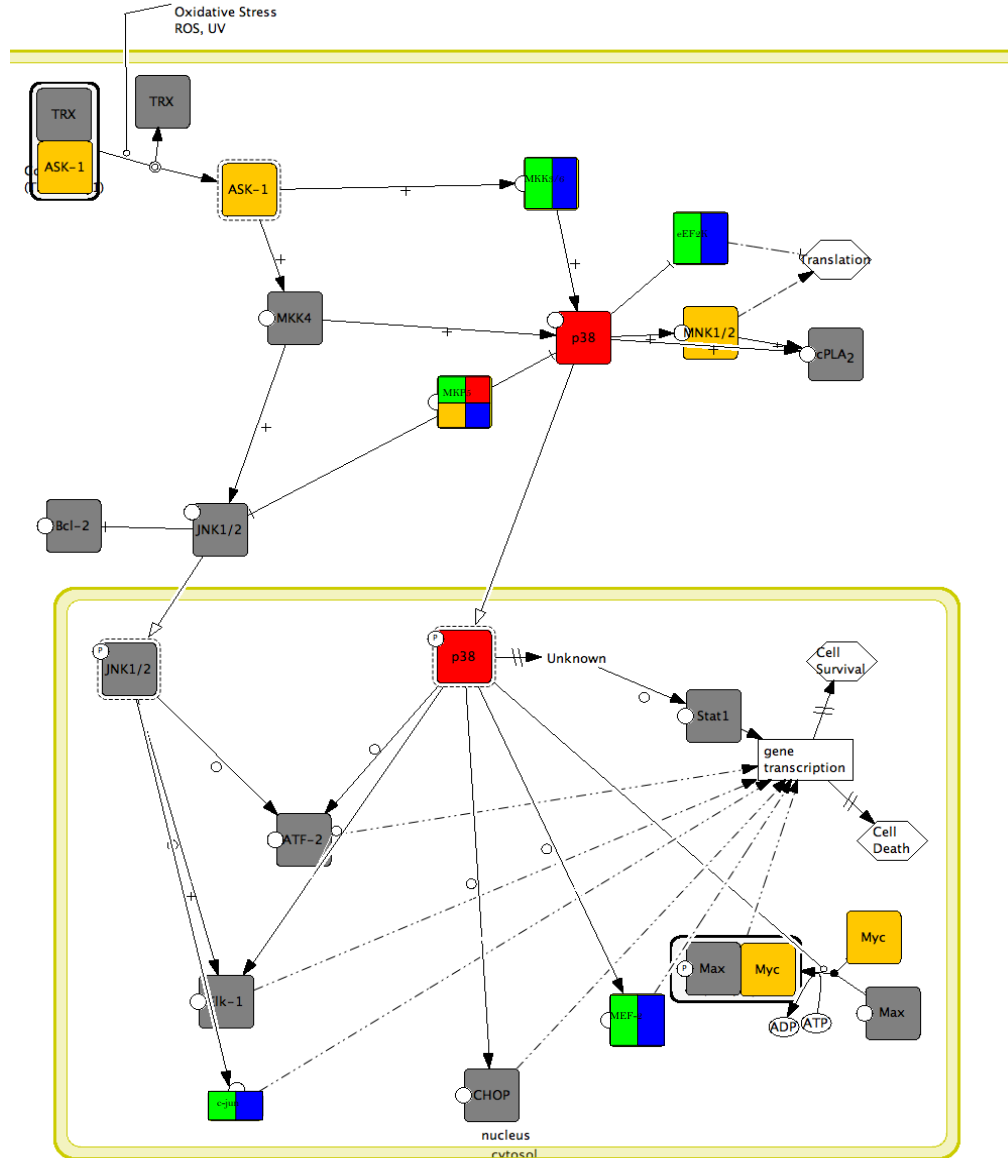
# p53 Pathway: differential modulation of gene expression in A549 cells by Indoor Air Mix and components

**IAM: red**  
**Aromatics: green**  
**Aldehydes: orange**  
**Terpens: blue**  
**Yellow: components in more than one treatment**





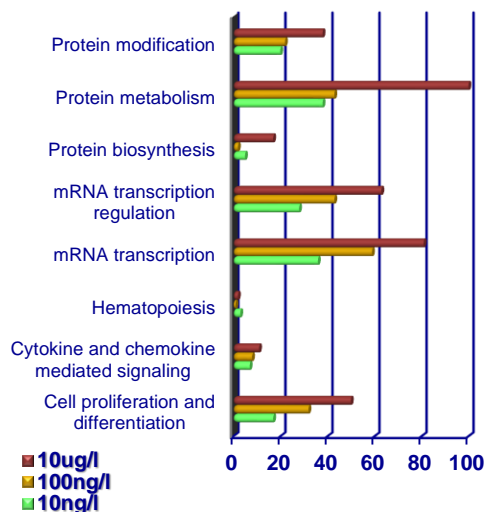
# Oxidative stress pathway



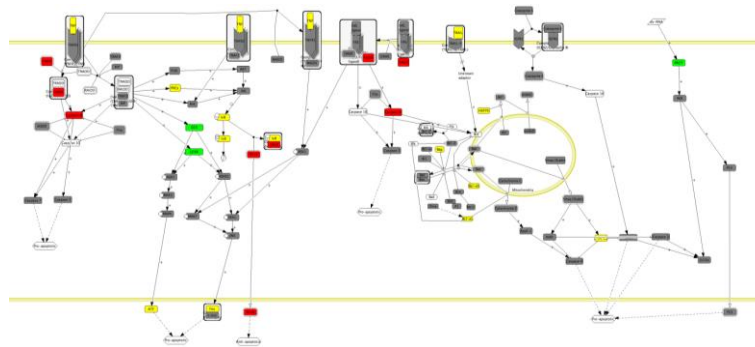
- = Indoor Air Mix
- = Formaldehyde
- = Terpenes
- = Aromatics



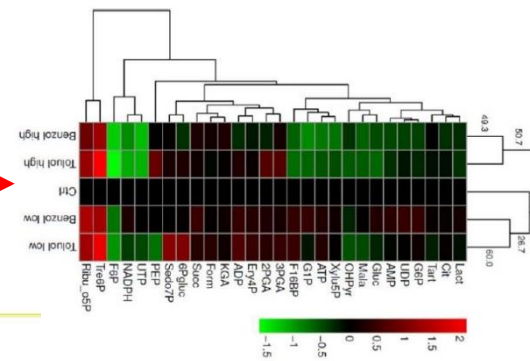
# Multi-omics responses and associations



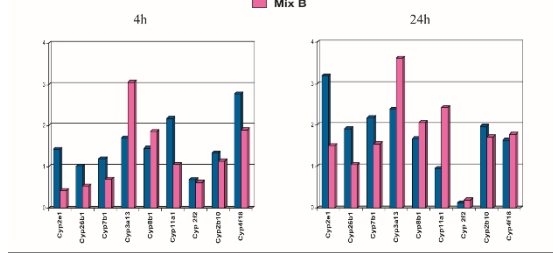
## Apoptosis Signaling Pathway



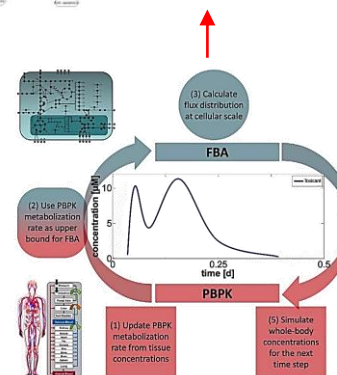
## Identification of differentially expressed proteins



Mix A  
Mix B



Transcriptomics responses to chemical BTEX mixtures



Extracellular perturbations on metabolic states

Identification of AML metabolomic fingerprint

