

Grzegorz BURZYŃSKI, Krzysztof ALEJSKI

e-mail: grzegorz.burzynski@doctorate.put.poznan.pl

Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, Poznań

Modelowanie przebiegu enzymatycznego rozkładu preparatów o szerokiej dystrybucji mas cząsteczkowych

Wstęp

Przykładem substancji o szerokiej dystrybucji masy cząsteczkowej są biopolimery, takie jak skrobia, skrobia modyfikowana, materiały ligno-celulozowe itp. Jednym z podstawowych sposobów ich przerobu jest enzymatyczny rozkład do substancji małowieliczekowych. Zastosowanie enzymu pozwala na osiągnięcie oczekiwanego składu końcowego, umożliwia prowadzenie procesu przy mniejszym zużyciu energii, jak również lepszą jego kontrolę.

W literaturze dostępnych jest wiele prac podejmujących próbę opracowania modelu opisującego zjawiska zachodzące podczas hydrolizy enzymatycznej. Poprawny opis matematyczny powinien uwzględniać złożoność substratu wyjściowego jak również równoległo-następczy charakter procesu. Dotychczas proponowane modele matematyczne zakładają jednorodność substratu oraz powstanie jednego produktu, przez co nie dają pełnego obrazu składu poszczególnych frakcji po jak i w trakcie trwania procesu.

Podejmowane są również próby stworzenia modeli iteracyjnych pozwalających na określenie składu danej frakcji w dowolnej chwili [1, 2]. Jednakże ich podstawową wadą jest długi czas obliczeń i niemożność szybkiego określenia składu konkretnej frakcji w danym czasie trwania procesu.

W niniejszej pracy przedstawiono próbę opracowania uproszczonego analitycznego modelu opisującego proces rozkładu substancji o szerokiej dystrybucji masy cząsteczkowej na przykładzie preparatów skrobiowych. Opis taki pozwoliłby na szybką analizę poszczególnych frakcji w dowolnym momencie trwania procesu.

Model matematyczny enzymatycznego rozkładu substancji o szerokiej dystrybucji masy cząsteczkowej

Różnorodność jakościowa i ilościowa poszczególnych składników występujących w układzie bardzo utrudnia charakterystykę wyjściowego składu substratu. Wydaje się, że dobrym rozwiązaniem jest tutaj wykorzystanie opisów w formie dystrybucji mas cząsteczkowych składników występujących w substracie. Podobny problem występuje w przypadku próby opisu aktywności enzymu, która może być zmienna w zależności od rozpatrywanej frakcji substratu jak i od czasu trwania procesu. Kolejnym zagadnieniem, które należy wziąć pod uwagę jest preferencja enzymu w stosunku do miejsca, w którym następuje cięcie cząsteczek. W związku z powyższym prezentowany opis oparto na trzech podstawowych założeniach:

- skład wyjściowego substratu oraz mieszaniny reakcyjnej zmieniającej się w trakcie procesu na skutek przebiegu reakcji daje się opisać przy pomocy odpowiedniego rozkładu statystycznego ilości adduktów w cząsteczce (pośrednio mas cząsteczkowych) $f_i(x)$,
- aktywność enzymu można wyrazić w postaci bardziej lub mniej złożonej funkcji ilości adduktów w cząsteczce $A(x)$,
- enzym działa selektywnie w połowie długości cząsteczki.

O ile pierwsze i drugie założenie nie wpływa zasadniczo na przebieg procesu to należy mieć świadomość, że założenie trzecie jest znaczącym uproszczeniem. Istnieje jednak możliwość wprowadzenia pewnej funkcji opisującej różne prawdopodobieństwo ataku enzymu na poszczególne wiązania w cząsteczce, co w znacznej mierze wyeliminuje to uproszczenie prowadząc jednak do znacznie bardziej złożonego opisu

matematycznego (element ten nie został wprowadzony w prezentowanej pracy).

Założony rozkład ilości adduktów w cząsteczce substratu opisać można w postaci funkcji ciągłej. Wprawdzie rozpatrywany układ ma charakter dyskretny, całkowitoliczbowy, biorąc jednak pod uwagę, że mówimy o cząsteczkach zbudowanych z wielu tysięcy adduktów działanie na funkcjach ciągłych nie wprowadza istotnego błędu. Opis poszczególnych przejść, które odpowiadają postępującemu procesowi cięcia cząsteczek przez enzym sprowadza się do odpowiedniego przekształcenia rozkładu mieszaniny reakcyjnej z uwzględnieniem aktywności enzymu i specyficzności jego działania. Przechodzenie do kolejnych rozkładów statystycznych jest bezpośrednio powiązane z bieżącym czasem procesu. W pierwszym kroku przekształcana jest wyjściowa funkcja rozkładu ilości adduktów w cząsteczkach. Biorąc pod uwagę, że w wyniku cięcia cząsteczki powstają cząsteczki o podobnej budowie oraz uwzględniając, że ubytek danej frakcji jest proporcjonalny do aktywności enzymu przekształcenie pierwszej i kolejnych funkcji rozkładu opisujących mieszaninę reakcyjną odbywa się zgodnie z ogólną formułą (1).

$$f_i(x) = f_{i-1}(x) - A(x)f_{i-1}(x) + 2A(x)f_{i-1}(2x) \quad (1)$$

gdzie:

$f_i(x)$ – bieżący rozkład mas cząsteczkowych,

$f_{i-1}(x)$ – poprzedni rozkład mas cząsteczkowych,

$A(x)$ – aktywność enzymu w funkcji ilości adduktów w cząsteczce.

Tak więc w przypadku pierwszych trzech przejść otrzymujemy następujące funkcje rozkładu:

$$f_1(x) = f_0(x)[1 - A(x) + f_0(2x) \cdot 2A(x)] \quad (2)$$

$$f_2(x) = f_0(x)[1 - 2A(x) + A(x)^2] + f_0(2x)[4A(x) - 4A(x)^2] + f_0(4x) \cdot 4A(x)^2 \quad (3)$$

$$f_3(x) = f_0(x) \cdot (1 - 3A + 3A^2 - A^3) + f_0(2x) \cdot (6A - 12A^2 + 6A^3) + f_0(4x) \cdot (12A^2 - 12A^3) + f_0(8x) \cdot 8A^3 \quad (4)$$

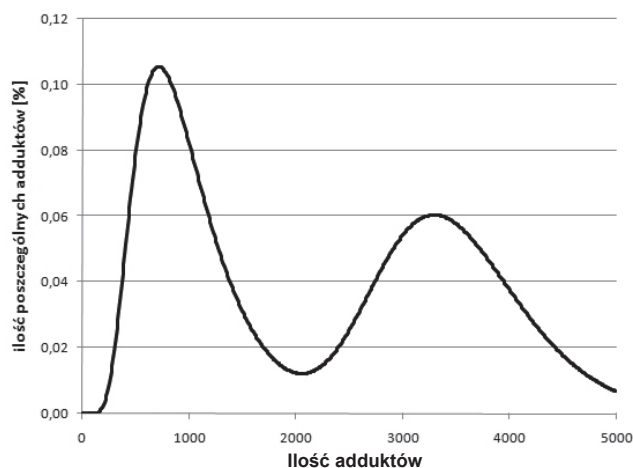
Odpowiednie współczynniki w zależnościach (2, 3, 4) można zapisać w postaci trójkąta *Newtona*, którego poszczególne elementy wyliczane są z zależności:

$$\binom{n}{k} = \frac{n!}{k!(n-k)!} \quad (5)$$

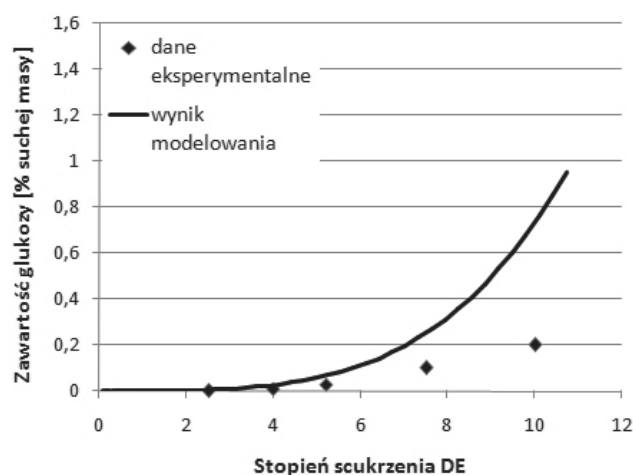
Wykorzystanie zależności (5) umożliwia ogólny zapis transformacji dokonywanej w poszczególnych krokach w postaci funkcji:

$$f(x, n) = \sum_{i=0}^n \left[\binom{n}{i} \frac{n!}{i!(n-i)!} 2A(x)^i \cdot (1 - A(x))^{n-i} \cdot 2^i \cdot f_0(2^i x) \right] \quad (6)$$

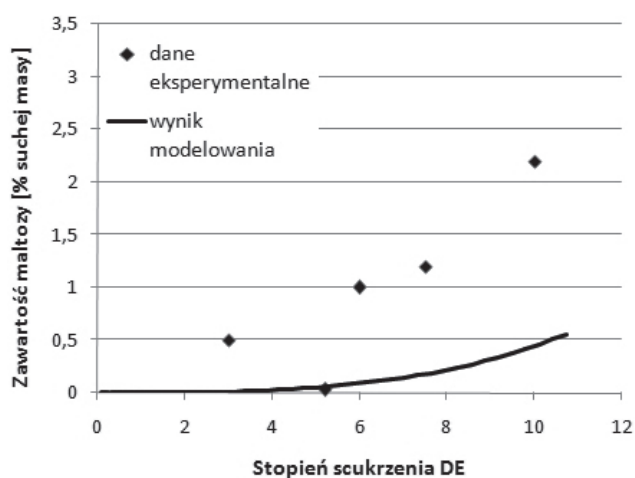
Zależność ta jest funkcją dwóch zmiennych: ilości adduktów w cząsteczce oraz ilości przekształceń wyjściowej funkcji rozkładu dla substratu. Daje ona możliwość określenia tego rozkładu w dowolnym momencie trwania procesu bez konieczności wyliczania rozkładów pośrednich, eliminując tym samym lawinowo narastającą ilość niezbędnych obliczeń w przypadku opisu iteracyjnego



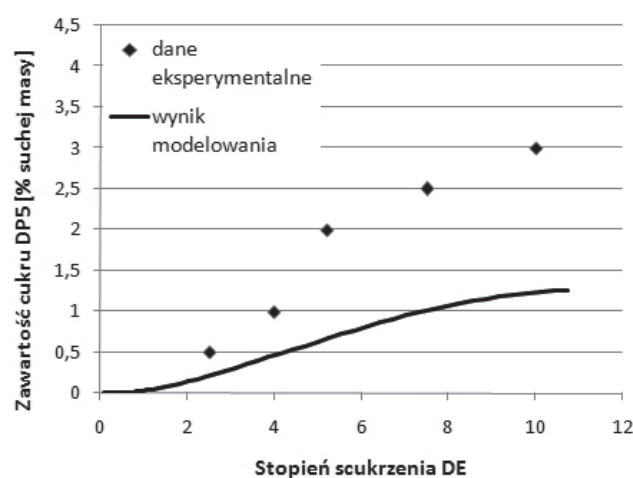
Rys. 1. Założony rozkład ilości adduktów w skrobi



Rys. 2. Zmiana zawartości glukozy w czasie trwania procesu



Rys. 3. Zmiana zawartości maltozy w czasie trwania procesu



Rys. 4. Zmiana zawartości zwierających 5 adduktów w czasie trwania procesu

Przykład zastosowania modelu

Skrobia jak i preparaty skrobiowe składają się zarówno z liniowych jak i rozgałęzionych polimerów, a ich masa cząsteczkowa waha się w granicach od 150 000 do 600 000.

W celu uproszczenia opisu założono występowanie jedynie liniowych polimerów. Na podstawie doniesień literaturowych [3] założono bimodalny rozkład ilości adduktów substratu przedstawiony na rys. 1.

Rozpatrywany przypadek dotyczy hydrolizy skrobi za pomocą enzymu (*alfa*-amylaza), który charakteryzuje się tendencją do cięcia łańcuchów skrobiowych w ich centralnej części.

Dane eksperymentalne zaczerpnięte zostały z pracy Marchala i in. [2]. Wyniki obliczeń zostały odpowiednio przeskalowane i przedstawione w formie zawartości procentowej danej frakcji w suchej masie produktu w funkcji stopnia scukrzenia DE. Stopień scukrzenia jest mierzony jako ilość grup redukujących występujących w układzie (miara postępu reakcji).

Na rys. 2–4 przedstawiono zawartości glukozy, maltozy oraz produktów hydrolizy zawierających pięć adduktów w funkcji stopnia scukrzenia. Uzyskane wyniki stosunkowo dobrze opisują proces jakościowo występują natomiast znaczące różnice ilościowe. Z przeprowadzonych

obliczeń dla wysokich postępów reakcji wynika, że odchylenia się pogłębiają. W takim przypadku proponowany opis jest zbyt uproszczony.

Wnioski

Opracowany model enzymatycznego rozkładu preparatów o szerokiej dystrybucji mas cząsteczkowych jest stosunkowo prosty i łatwy w użyciu. Uwzględnia równoległo-następczy charakter procesu oraz złożony skład substratu. Istotną jego zaletą jest sformułowanie w postaci bardzo ogólnej, w formie funkcji dwóch zmiennych, dzięki czemu obliczenia są szybkie i pozbawione wad metod numerycznych o charakterze iteracyjnym. Model dobrze sprawdza się dla niezbyt wysokich postępów reakcji. Opis pełnego zakresu przereagowań wymaga precyzyjniejszego opisu aktywności enzymu.

LITERATURA

- [1] P. M. Wojciechowski, A. Koziol, A. Noworytai: *Biotechnology & Bioengineering*, 75, 5 (2001).
- [2] L.M. Marchal, R. V. Ulijn, C.D. de Gooijer, G.T. Franke, J. Tramper: *Bioprocess Biosyst Eng.* 26, 123-132 (2003).
- [3] Z. Dai, Y. Yin, M. Zhang, W. Li, S. Yan, R. Cai, Z. Wang: *Acta Agronomica Sinica* 34, 5 (2007)

Praca realizowana w ramach projektu 32-271/10 BW.