

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΛΥΘΙΣΜΙΑΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΣΕ ΒΙΟΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΕΣ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΚΑΙ ΗΜΙ-ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ****Β.Μαργαριτόπουλος<sup>1</sup>, Χ.Χατζηδούκας<sup>1,2,\*</sup>**<sup>1</sup>Τμήμα Χημικών Μηχανικών, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα<sup>2</sup>Ινστιτούτο Χημικών Διεργασιών και Ενεργειακών Πόρων, ΙΔΕΠ/ΕΚΕΤΑ(\*[chatzido@auth.gr](mailto:chatzido@auth.gr))**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η ενζυμική υδρόλυση του κυτταρινικού κλάσματος φυτικής βιομάζας προς σάκχαρα αποτελεί βασική προϋπόθεση αξιοποίησής της για παραγωγή βιοαιθανόλης και προϊόντων υψηλής αξίας και συντελείται με ένα κοκτέιλ υδρολυτικών ενζύμων (ένδο- και έξω-κυτταρινάση και β-γλυκοσιδάση). Η μαθηματική μοντελοποίηση αυτής της διεργασίας συμβάλει σημαντικά στην κατανόηση των μηχανισμών που τη διέπουν και δημιουργούν προϋποθέσεις αριστοποίησης και εφαρμογής της στην αειφόρο βιομηχανική παραγωγή μεγάλου εύρους προϊόντων. Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην ανάπτυξη ενός μηχανιστικού μοντέλου που εμβαθύνει σε φαινόμενα μικροκλίμακας και λαμβάνει υπόψη επιπλέον χαρακτηριστικά της βιομάζας όπως το μέγεθος των σωματιδίων, η περιεκτικότητα σε λιγνίνη και η κατανομή μεγέθους αλυσίδων της κυτταρίνης, διευρύνοντας έτσι την προβλεπτική ικανότητά του μοντέλου για διαφορετικά είδη βιομάζας και περιορίζοντας την υπερ-παραμετροποίησή του. Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν το διακριτό ρόλο και τη σημασία του κάθε ενζύμου στην υδρόλυση. Επίσης, αναδεικνύεται η σημασία των ενδογενών χαρακτηριστικών της βιομάζας όπως είναι το μέγεθος σωματιδίων και η κατανομή μεγέθους αλυσίδας της κυτταρίνης, σε μεγέθη που αποτελούν δείκτες απόδοσης της υδρολυτικής διαδικασίας όπως είναι ο ρυθμός υδρόλυσης και ο βαθμός συνέργειας μεταξύ των ενζύμων.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Τα τελευταία χρόνια, η χρήση της βιομάζας προς την παραγωγή εναλλακτικών καυσίμων προσελκύει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον λόγω της επιτακτικής ανάγκης για μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων που οφείλονται στη χρήση ορυκτών καυσίμων. Επιπλέον, το γεγονός ότι η κυτταρίνη αποτελεί ανανεώσιμη πηγή άνθρακα που συναντάται σε αφθονία στη φύση, την καθιστά ως μια ελπιδοφόρα εναλλακτική λύση στο πρόβλημα των μειούμενων αποθεμάτων ορυκτών καυσίμων. Το κύριο προϊόν της επεξεργασίας βιομάζας είναι η βιοαιθανόλη η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτούσια ως βιοκαύσιμο ή να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο σε άλλα καύσιμα. Η βιοαιθανόλη μπορεί να παραχθεί από διάφορα είδη βιομάζας όπως για παράδειγμα από πρώτες ύλες πλούσιες σε σακχαρόζη (πχ. ζαχαροκάλαμο), από αμυλούχες πρώτες ύλες (πχ. αραβόσιτος) αλλά και λιγνοκυτταρινικές πρώτες ύλες. Στην τελευταία κατηγορία συγκαταλέγονται πρώτες ύλες όπως το άχυρο σίτου, ο βλαστός αραβοσίτου αλλά και υπολείμματα επεξεργασίας ξυλείας. Η κατηγορία αυτή φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη ομάδα πρώτων υλών καθώς εμφανίζουν μικρές εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα και μικρές απαιτήσεις σε καλλιεργήσιμη γη. Τα βιοκαύσιμα που προκύπτουν από λιγνοκυτταρινικές πρώτες ύλες ανήκουν στα βιοκαύσιμα 2<sup>ης</sup> γενιάς.

Ένα από τα κρίσιμότερα στάδια παραγωγής βιοκαυσίμων είναι αυτό της ενζυμικής υδρόλυσης, στο οποίο η κυτταρίνη της βιομάζας διασπάται στο μονομερές της δηλαδή τη γλυκόζη. Στη συνέχεια η γλυκόζη οδηγείται στα επόμενα στάδια που αφορούν τη ζύμωση της και το διαχωρισμό του τελικού προϊόντος. Για την υδρόλυση της βιομάζας μπορούν να χρησιμοποιηθούν ένζυμα τα οποία είναι γνωστά ως κυτταρινάσες. Η ενζυμική υδρόλυση εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα με σημαντικότερα την εξασφάλιση ήπιων συνθηκών λειτουργίας και χαμηλής κατανάλωσης ενέργειας. Παρά τα πλεονεκτήματα της μεθόδου, εμφανίζονται

προκλήσεις οι οποίες καθιστούν τη βιομηχανική εκμετάλλευση της διεργασίας μη βιώσιμη. Οι κυριότερες από αυτές συνοψίζονται στο κόστος των ενζύμων και τη δυσκολία επαναχρησιμοποίησής τους αλλά και στην περιορισμένη γνώση γύρω από τους κινητικούς μηχανισμούς που εμφανίζονται στην υδρόλυση λιγνοκυτταρινικών υποστρώματων<sup>[1]</sup>. Η μαθηματική μοντελοποίηση της ενζυμικής υδρόλυσης δημιουργεί τις προϋποθέσεις για περεταίρω κατανόηση των μηχανισμών που τη διέπουν αλλά και τη βελτιστοποίηση των συνθηκών που θα καταστήσουν δυνατή τη βιομηχανική εκμετάλλευσή της.

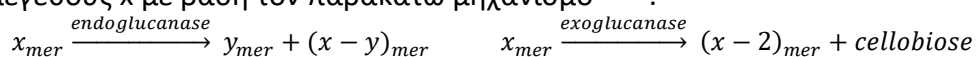
Στην παρούσα εργασία γίνεται ανάπτυξη ενός μαθηματικού μοντέλου, δίνοντας έμφαση στην διακριτή δράση των ενζύμων που χρησιμοποιούνται στη διεργασία αλλά και σε εγγενή χαρακτηριστικά της βιομάζας όπως η διάμετρος των σωματιδίων της, η κατανομή μεγέθους αλυσίδας της κυτταρίνης αλλά και η περιεκτικότητά της σε λιγνίνη, συσχετίζοντας με την χρήση πληθυσμιακών μοντέλων τη μεταβολή του ρυθμού υδρόλυσης με τη δυναμική μεταβολή της κατανομής μεγέθους αλυσίδων της κυτταρίνης.

### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

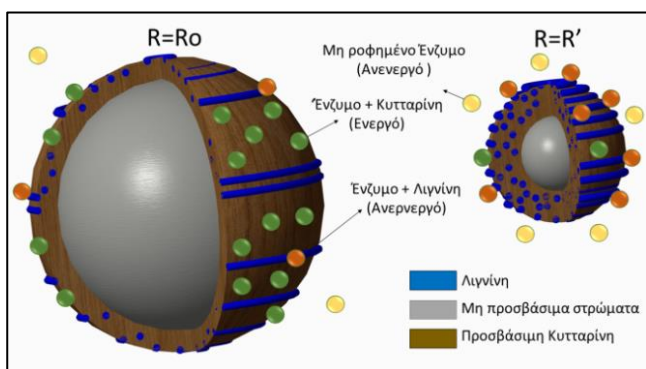
Σε έναν αντιδραστήρα ενζυμικής υδρόλυσης κυτταρίνης συνυπάρχουν 2 φάσεις, η υγρή φάση όπου είναι διαλυμένο το ένζυμο και η φάση του υποστρώματος. Έτσι ο μηχανισμός υδρόλυσης, ως αντίδρασης ετερογενούς κατάλυσης, θεωρείται ότι περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια:

- Ρόφηση του ενζύμου στη στερεή φάση του υποστρώματος.
- Ακαριαία δημιουργία συμπλόκου ενζύμου- υποστρώματος και έναρξη της αντίδρασης.
- Εξέλιξη της αντίδρασης και διαλυτοποίηση των μονομερών/ολιγομερών του υποστρώματος.
- Συνεχής έκθεση φρέσκου υποστρώματος προς το ένζυμο κατά την πορεία της αντίδρασης.
- Διαρκής αύξηση του ποσοστού της λιγνίνης στο υπόστρωμα και ρόφηση της πλειοψηφίας των μορίων του ενζύμου σε αυτήν με αποτέλεσμα την παύση της υδρόλυσης της κυτταρίνης.

Η ρόφηση του ενζύμου στο υπόστρωμα περιγράφεται μέσω ισόθερμων Langmuir και απεικονίζεται στον Πίνακα 1. Οι κυτταρινάσες που χρησιμοποιούνται στην ενζυμική υδρόλυση διακρίνονται στις ένδο- και έξω- κυτταρινάσες. Η ενδο-κυτταρινάση είναι υπεύθυνη για την τυχαία σχάση β-1,4-γλυκοσιδικών δεσμών κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας της κυτταρίνης ενώ η εξω-κυτταρινάση υδρολύει την κυτταρίνη με συνεχή τρόπο παράγοντας το διμερές της γλυκόζης δηλαδή την κελλοβιόζη, σπάζοντας ακραίους β-1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς. Για να ληφθεί υπόψη η διακριτή δράση των ενζύμων αλλά και η κατανομή του μεγέθους αλυσίδας κυτταρίνης, έγινε χρήση πληθυσμιακών ισοζυγίων τα οποία περιγράφουν τη δημιουργία/σχάση αλυσίδων μεγέθους  $x$  με βάση τον παρακάτω μηχανισμό<sup>[2,3]</sup>:



Καινοτομία του μοντέλου αποτελεί η ορθή αναπαράσταση του τρόπου έκθεσης του υποστρώματος στο ένζυμο. Στην αρχή της αντίδρασης, δεν διατίθεται προς υδρόλυση όλη η κυτταρίνη του υποστρώματος, παρά μόνο μέρος αυτής που βρίσκεται στην επιφανειακή στιβάδα



**Σχήμα 1:** Απεικόνιση της ενζυμικής υδρόλυσης ενός σωματιδίου βιομάζας.

των στερεών σωματιδίων. Μέσω δυναμικών ισοζυγίων μάζας<sup>[4,5]</sup>, νέα στρώματα σωματιδίων, τα οποία περιλαμβάνουν μη αποδομημένες αλυσίδες κυτταρίνης και λιγνίνη, εκτίθενται προοδευτικά στα ένζυμα. Με την πρόοδο της υδρόλυσης η ακτίνα των σωματιδίων μειώνεται και λιγότερα ένζυμα ροφώνται. Ταυτόχρονα, το κλάσμα μάζας της λιγνίνης αυξάνεται, προκαλώντας μείωση των ενεργών ενζύμων και επομένως μείωση του ρυθμού υδρόλυσης. Στο Σχήμα 1 γίνεται

γραφική απεικόνιση του μηχανισμού έκθεσης υποστρώματος όπως περιγράφηκε παραπάνω ενώ στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται τόσο τα δυναμικά ισοζύγια έκθεσης επιφανειακής κυτταρίνης στο ένζυμο όσο και τα πληθυσμιακά ισοζύγια δημιουργίας και σχάσης αλυσίδων κυτταρίνης μεγέθους  $x$ . Το συγκεκριμένο μοντέλο συνιστά ένα σύστημα μη γραμμικών συνήθων διαφορικών και αλγεβρικών εξισώσεων. Οι αρχικές συνθήκες των διαφορικών εξισώσεων καθορίζονται από την αρχική κατανομή της μαζικής συγκέντρωσης κυτταρίνης για κάθε μέγεθος αλυσίδας  $x$ . Το σύνολο του μοντέλου αναπτύχθηκε και επιλύθηκε στην υπολογιστική πλατφόρμα gPROMS (PSE Ltd).

**Πίνακας 1.** Παρουσίαση μαθηματικού μοντέλου

<b>Υπολογισμός μεταβολής ακτίνας σωματιδίων βιομάζας:</b>	<b>Σταθερά επιφανειακής ρόφησης της εξω-κυτταρινάσης στην κυτταρίνη και τη λιγνίνη ανά επιφάνεια στερεών σωματιδίων:</b>
$R(t) = \sqrt[3]{\frac{S_T(t)}{S_{T,o}}} R_o \quad (1)$	$K_{S_{ex}}^C(t) = K_{S_{ex}o}^C \frac{1}{1 + \left(\frac{w_l}{w_{l,crit}}\right)^a} \quad (9)$
<b>Υπολογισμός μεταβολής ειδικής επιφάνειας σωματιδίων βιομάζας:</b>	$K_{S_{ex}}^L(t) = K_{S_{ex}o}^L \frac{\left(\frac{w_l}{w_{l,crit}}\right)^a}{1 + \left(\frac{w_l}{w_{l,crit}}\right)^a} \quad (10)$
$SA(t) = \sqrt[3]{\frac{S_{T,o}}{S_T(t)}} SA_o \quad (2)$	<b>Μέγιστη ειδική ρόφηση της ενδο-κυτταρινάσης στη κυτταρίνη και τη λιγνίνη:</b>
<b>Υπολογισμός αρχικής μαζικής συγκέντρωσης της μη-προσβάσιμης/υπολειπόμενης κυτταρίνης:</b>	$W_{max,en}^C(t) = K_{S_{en}}^C(t) SA(t) \quad (11)$
$C_{T,o}^R = \left(\frac{R_o - R_a}{R_o}\right)^3 C_{T,o} \quad (3)$	$W_{max,en}^L(t) = K_{S_{en}}^L(t) SA(t) \quad (12)$
<b>Υπολογισμός μαζικής συγκέντρωσης της αρχικής προσβάσιμης/επιφανειακής κυτταρίνης:</b>	<b>Μέγιστη ειδική ρόφηση της εξω-κυτταρινάσης στη κυτταρίνη και τη λιγνίνη:</b>
$C_{T,o}^S = C_{T,o} - C_{T,o}^R \quad (4)$	$W_{max,ex}^C(t) = K_{S_{ex}}^C(t) SA(t) \quad (13)$
<b>Υπολογισμός μαζικής συγκέντρωσης συνολικής αρχικής βιομάζας:</b>	$W_{max,ex}^L(t) = K_{S_{ex}}^L(t) SA(t) \quad (14)$
$S_{T,o} = L_T + C_{T,o} \quad (5)$	<b>Ισόθερμος Langmuir για την ρόφηση της κυτταρινάσης στην βιομάζα:</b>
<b>Σταθερά επιφανειακής ρόφησης της ενδο-κυτταρινάσης στην κυτταρίνη και τη λιγνίνη ανά επιφάνεια στερεών σωματιδίων:</b>	$C_{En,f}(t) = C_{En,o} - W_{max,en}^C(t) \cdot \frac{K C_{En,f}(t)}{1 + K C_{En,f}(t)} \cdot C_T(t) - W_{max,en}^L(t) \cdot \frac{K C_{En,f}(t)}{1 + K C_{En,f}(t)} \cdot L_T(t) \quad (15)$
$K_{S_{en}}^C(t) = K_{S_{en}o}^C \frac{1}{1 + \left(\frac{w_l}{w_{l,crit}}\right)^a} \quad (6)$	$C_{Ex,f}(t) = C_{Ex,o} - W_{max,ex}^C(t) \cdot \frac{K C_{Ex,f}(t)}{1 + K C_{Ex,f}(t)} \cdot C_T(t) - W_{max,ex}^L(t) \cdot \frac{K C_{Ex,f}(t)}{1 + K C_{Ex,f}(t)} \cdot L_T(t) \quad (16)$
$K_{S_{en}}^L(t) = K_{S_{en}o}^L \frac{\left(\frac{w_l}{w_{l,crit}}\right)^a}{1 + \left(\frac{w_l}{w_{l,crit}}\right)^a} \quad (7)$	<b>Κινητική σταθερά για την δράση της ενδο-κυτταρινάσης:</b>
<b>Κινητική σταθερά για την δράση της ενδο-κυτταρινάσης:</b>	<b>Κινητική σταθερά για την δράση της εξω-κυτταρινάσης:</b>
$F(t, x) = \begin{cases} a \frac{\left(\frac{x}{x_{crit}}\right)^a}{1 + \left(\frac{x}{x_{crit}}\right)^a} \frac{1}{x - 3} & \forall x \geq 4 \\ 0 & \forall x < 4 \end{cases} \quad (8)$	$K_{fh}(t, x) = \frac{K_f}{x} \quad (17)$
<b>Ρυθμός μεταβολής της μαζικής συγκέντρωσης αλυσίδων κυτταρίνης με μία δομική μονάδα (<math>x=1</math>):</b>	
$r_{loss}(t, 1) = W_{max,ex}^C(t) \cdot \frac{K C_{Ex,f}(t)}{1 + K C_{Ex,f}(t)} \cdot C_T(t) \cdot K_{fh}(t, 3) \cdot C^S(t, 3) \cdot \frac{1}{3} \quad (18)$	

**Ρυθμός μεταβολής της μαζικής συγκέντρωσης αλυσίδων κυτταρίνης με μία δομικές μονάδες ( $x=2$ ):**

$$r_{loss}(t, 2) = W_{max,en}^C(t) \cdot \frac{K C_{En,f}(t)}{1+K C_{En,f}(t)} \cdot C_T(t) \left( 2 \int_4^{x_{max}} C^S(t, y) F(t, y) \frac{2}{y} dy \right) + W_{max,ex}^C(t) \cdot \frac{K C_{Ex,f}(t)}{1+K C_{Ex,f}(t)} \cdot C_T(t) \cdot \left( K_{fh}(t, 3) \cdot C^S(t, 3) \cdot \frac{2}{3} + 2K_{fh}(t, 4) \cdot C^S(t, 4) \cdot \frac{2}{4} + \int_4^{x_{max}} K_{fh}(t, y) C^S(t, y) \cdot \frac{2}{y} dy \right) \quad (19)$$

**Ρυθμός μεταβολής της μαζικής συγκέντρωσης αλυσίδων κυτταρίνης με  $x$  δομικές μονάδες ( $3 \leq x < x_{max}-2$ ):**

$$r_{loss}(t, x) = W_{max,en}^C(t) \cdot \frac{K C_{En,f}(t)}{1+K C_{En,f}(t)} \cdot C_T(t) \left( -C^S(t, x) \int_2^{x-2} F(t, x) dy + 2 \int_{x+2}^{x_{max}} C^S(t, y) F(t, y) \frac{2}{y} dy \right) + W_{max,ex}^C(t) \cdot \frac{K C_{Ex,f}(t)}{1+K C_{Ex,f}(t)} \cdot C_T(t) \cdot \left( K_{fh}(t, x) \cdot C^S(t, x+2) \cdot \frac{x}{x+2} - K_{fh}(t, x) \cdot C^S(t, x) \right) \quad (20)$$

**Ρυθμός μεταβολής της μαζικής συγκέντρωσης αλυσίδων κυτταρίνης με  $x$  δομικές μονάδες ( $x_{max}-2 \leq x$ ):**

$$r_{loss}(t, x) = W_{max,en}^C(t) \cdot \frac{K C_{En,f}(t)}{1+K C_{En,f}(t)} \cdot C_T(t) \left( -C^S(t, x) \int_2^{x-2} F(t, x) dy \right) - W_{max,ex}^C(t) \cdot \frac{K C_{Ex,f}(t)}{1+K C_{Ex,f}(t)} \cdot C_T(t) \cdot K_{fh}(t, x) \cdot C^S(t, x) \quad (21)$$

**Ρυθμός έκθεσης κυτταρίνης προς την επιφανειακή στιβάδα των σωματιδίων υποστρώματος:**

$$r_{exp}(t, x) = \frac{R(t) - R_a}{R(t)} \int_3^{x_{max}} r_{loss}(t, y) dy \frac{C^R(t, x)}{C_T^{PR}(t)} \quad (22)$$

**Δυναμικό ισοζύγιο μεταβολής μαζικής συγκέντρωσης της προσβάσιμης/επιφανειακής κυτταρίνης:**

$$\frac{dC^S(t, x)}{dt} = r_{loss}(t, x) + r_{exp}(t, x) \quad (23)$$

**Συνολική συγκέντρωση μη-προσβάσιμης/υπολειπόμενης κυτταρίνης ως προς το χρόνο:**

$$C_T^{PR}(t) = \int_1^{x_{max}} C^R(t, x) dx \quad (28)$$

**Δυναμικό ισοζύγιο μεταβολής μαζικής συγκέντρωσης της μη-προσβάσιμης/υπολειπόμενης κυτταρίνης:**

$$\frac{dC^R(t, x)}{dt} = -r_{exp}(t, x) \quad (24)$$

**Συνολική συγκέντρωση κυτταρίνης:**

$$C_T(t) = C_T^{PS}(t) + C_T^{PR}(t) \quad (29)$$

**Μαζική συγκέντρωση αλυσίδων προσβάσιμης/επιφανειακής κυτταρίνης με  $x$  δομικές μονάδες ( $x > 2$ ):**

$$C_P^S(t, x) = C^S(t, x) \quad (25)$$

**Συνολική μαζική συγκέντρωση υποστρώματος:**

$$S_T(t) = C_T(t) + L_T(t) \quad (30)$$

**Κατανεμημένη μαζική συγκέντρωση κυτταρίνης στα σωματίδια υποστρώματος:**

$$C_P(t, x) = C_P^S(t, x) + C^R(t, x) \quad (26)$$

**Κλάσμα μάζας λιγνίνης:**

$$w_l(t) = \frac{L_T(t)}{S_T(t)} \quad (31)$$

**Συνολική συγκέντρωση προσβάσιμης/επιφανειακής κυτταρίνης ως προς το χρόνο:**

$$C_T^{PS}(t) = \int_1^{x_{max}} C_P^S(t, x) dx \quad (27)$$

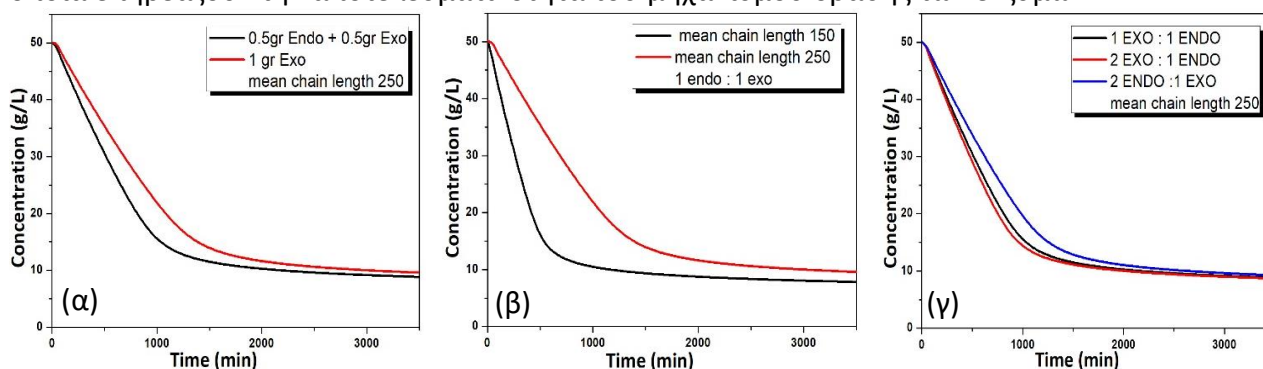
**Συγκέντρωση ολιγομερών:**

$$C_{oligo}(t) = C_{T,o} - C_T(t) \quad (32)$$

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

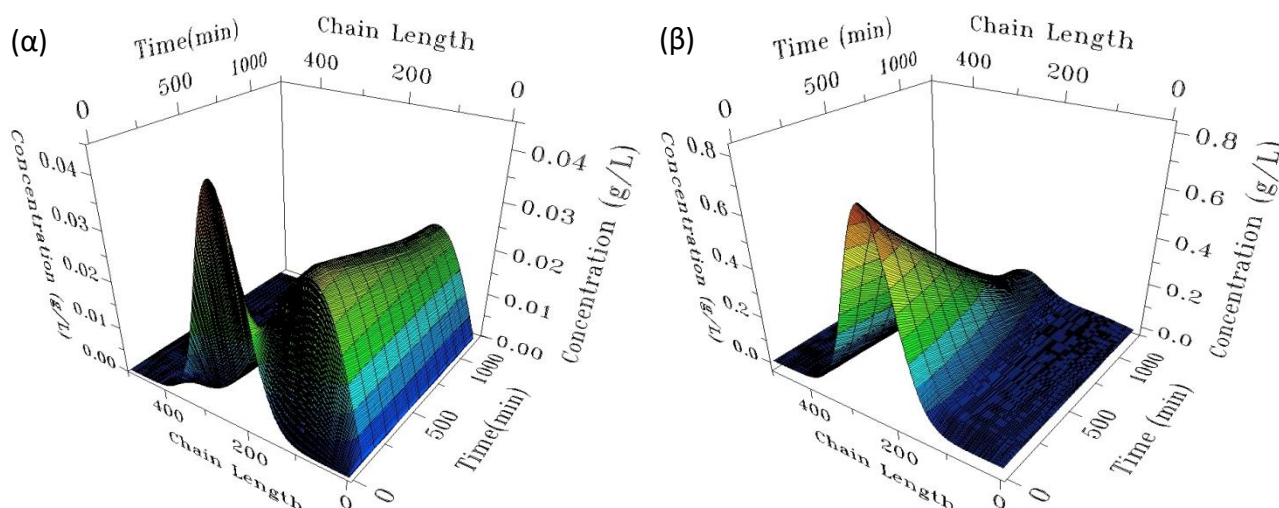
Τα αποτελέσματα του μοντέλου καταδεικνύουν τους διακριτούς ρόλου του κάθε ενζύμου στην υδρόλυση αλλά και την μεταξύ τους συνέργεια. Η ενδο-κυτταρινάση είναι υπεύθυνη για την γρήγορη μείωση του μέσου μεγέθους πολυμερικής αλυσίδας και την παροχή ελεύθερων άκρων στην εξω-κυτταρινάση. Η εξω-κυτταρινάση είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση του υποστρώματος και την παραγωγή διαλυτών ολιγομερών. Η υδρόλυση θα ήταν σχεδόν αδύνατο να πραγματοποιηθεί απουσία της εξω-κυτταρινάσης, ωστόσο αυτό δεν σημαίνει ότι ο ρόλος της ενδο-κυτταρινάσης είναι αμελητέος καθώς η παραγωγή αλυσίδων μικρότερου μεγέθους καθιστά την εξω-κυτταρινάση πιο αποτελεσματική. Στο Σχήμα 2α, γίνεται αντιληπτή η βελτιωμένη απόδοση ενός ενζυμικού κοκτέιλ σε σχέση με τη μεμονωμένη δράση της εξω-κυτταρινάσης. Επιπλέον γίνεται αντιληπτό ότι ενδογενή χαρακτηριστικά της βιομάζας όπως είναι το μέσο μέγεθος αλυσίδας, επηρεάζουν τον συνολικό ρυθμό υδρόλυσης καθώς για μικρότερο μέσο μέγεθος αλυσίδας επιτυγχάνονται μεγαλύτεροι ρυθμοί υδρόλυσης λόγω της αποτελεσματικότερης λειτουργίας της εξω-κυτταρινάσης η οποία εντοπίζει και υδρολύει

ευκολότερα μικρότερες αλυσίδες. Στο Σχήμα 2β παρατηρείται η διαφοροποίηση της υδρόλυσης του υποστρώματος για διαφορετικό μέσο μέγεθος αλυσίδας. Επιπλέον, για δεδομένο μέσο μέγεθος αλυσίδας, διαφορετικές αναλογίες των ενζύμων οδηγούν σε διαφορετικούς ρυθμούς υδρόλυσης. Στην περίπτωση του Σχήματος 2γ, όταν η ενδο-κυτταρίναση βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία, υπάρχει μεγαλύτερη ποσότητα ενζύμου η οποία είναι υπεύθυνη για τη μείωση του μεγέθους αλυσίδας όμως η ποσότητα του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή διαλυτής κελλοβιόζης είναι λιγότερη, οδηγώντας τελικά σε μικρότερους ρυθμούς υδρόλυσης. Από αυτά τα αποτελέσματα μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι ενδογενή χαρακτηριστικά της βιομάζας όπως είναι το μέσο μέγεθος αλυσίδων κυτταρίνης, καθορίζουν τόσο το ρυθμό υδρόλυσης όσο και την βέλτιστη αναλογία ενζύμων που πρέπει να χρησιμοποιηθεί έτσι ώστε να επιτευχθεί ο μέγιστος βαθμός συνέργειας μεταξύ τους. Για μικρά μέσα μεγέθη αλυσίδας φαίνεται ότι απαιτείται ενδο-κυτταρίναση σε μικρή αναλογία ενώ όσο το μέσο μέγεθος αλυσίδας αυξάνεται το ποσοστό της ενδο-κυτταρίνασης χρειάζεται να αυξηθεί. Επιπλέον, κατά την εξέλιξη της αντίδρασης το μέσο μέγεθος αλυσίδας μειώνεται με αποτέλεσμα τη μείωση της συνεισφοράς της ενδο-κυτταρίνασης στην υδρόλυση και την πτώση της συνέργειας μεταξύ των ενζύμων. Επομένως, η ελάττωση του ρυθμού υδρόλυσης σε τέτοιου είδους διεργασίες μπορεί να οφείλεται κατά ένα ποσοστό στην δυναμική μεταβολή εγγενών χαρακτηριστικών του υποστρώματος, τα οποία επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα του μηχανισμού δράσης των ενζύμων.

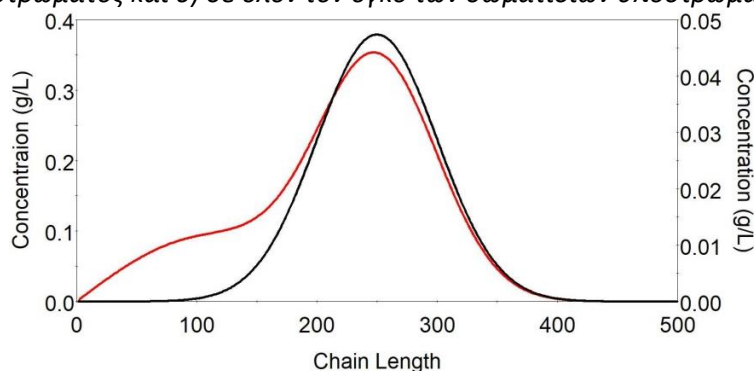


**Σχήμα 2.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης υποστρώματος στην περίπτωση α) δράσης του ενζυμικού κοκτέιλ και μεμονωμένης δράσης της εξω-κυτταρίνασης, β) διαφορετικού αρχικού μέσου μεγέθους αλυσίδων κυτταρίνης, γ) διαφορετικών αναλογιών ενζύμων.

Στο Σχήμα 3α και 3β είναι δυνατή η παρατήρηση της χρονικής εξέλιξης της κατανομής του μεγέθους αλυσίδων για την επιφανειακή κυτταρίνη αλλά και την κυτταρίνη σε όλες τις στιβάδες του υποστρώματος. Στην πρώτη περίπτωση, η μικρή ποσότητα κυτταρίνης που διατίθεται προς υδρόλυση, καθιστά εύκολη τη γρήγορη μετατόπιση του μέσου μεγέθους αλυσίδας σε μικρότερες τιμές. Στην συνέχεια καθώς το επιφανειακό υπόστρωμα καταναλώνεται, νέες ποσότητες φρέσκου υποστρώματος από τις ενδο-στιβάδες εκτίθεται (καθίσταται επιφανειακό) με αποτέλεσμα να μην παρατηρούνται έντονες μεταβολές στην μορφή της κατανομής. Ωστόσο η ποσότητα της επιφανειακής κυτταρίνης η οποία υδρολύεται είναι πολύ μικρή σε σχέση με την κυτταρίνη του συνολικού υποστρώματος με αποτέλεσμα να μην παρατηρούνται έντονες μεταβολές ως προς το μέσο μέγεθος αλυσίδας για το συνολικό υπόστρωμα. Η κατανομή μεγέθους αλυσίδων κυτταρίνης στο συνολικό όγκο των σωματιδίων υποστρώματος παραμένει μορφολογικά ίδια με αμελητέα μετατόπιση της μέσης τιμής, αλλά ουσιαστική μείωση της κορυφής της κατανομής, που αντανακλά τη συνεχή ελάττωση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης στον συνολικό όγκο των σωματιδίων του υποστρώματος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3β. Μετά από αρκετό χρονικό διάστημα η μαζική συγκέντρωση των αλυσίδων κυτταρίνης μικρότερου μεγέθους αρχίζει να γίνεται συγκρίσιμη με αυτήν των μεγαλύτερων, με αποτέλεσμα την εμφάνιση μιας διδιάσπαρτης κατανομής μεγέθους αλυσίδων (bimodal distribution) όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.



**Σχήμα 3.** Χρονική εξέλιξη της κατανομής μεγέθους των αλυσίδων κυτταρίνης α) στην επιφανειακή στιβάδα των σωματιδίων υποστρώματος και β) σε όλο τον όγκο των σωματιδίων υποστρώματος



**Σχήμα 4.** Κατανομή μεγέθους αλυσίδων κυτταρίνης στο συνολικό όγκο των σωματιδίων υποστρώματος σε χρόνο  $t = 0 \text{ min}$  (μαύρη γραμμή) και  $t = 2500 \text{ min}$  (κόκκινη γραμμή).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη έγινε ανάπτυξη ενός δυναμικού μοντέλου ενζυμικής υδρόλυσης μέσω μιας μηχανιστικής προσέγγισης η οποία επικεντρώνεται στα ενδογενή χαρακτηριστικά της λιγνοκυτταρινικής βιομάζας και την αλληλεπίδρασή τους με τις κυτταρινάσες. Η διεξαγωγή πειραματικών μετρήσεων για τον υπολογισμό των απαραίτητων παραμέτρων του μοντέλου αλλά και για την επαλήθευση του μοντέλου αποτελούν αντικείμενο μελλοντικής μελέτης μαζί με τη χρήση του μοντέλου για την προσομοίωση διεργασιών ημι-διαλείποντος έργου.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία υλοποιήθηκε στα πλαίσια του ερευνητικού έργου «LIFE Biomass C+» (κωδικός έργου: LIFE16 CCM/GR/000044), και οι συγγραφείς της εργασίας ευχαριστούν θερμά την Ευρωπαϊκή Ένωση για τη συγχρηματοδότηση του έργου.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Bansal, P., Hall, M., Realff, M., Lee, J. and Bommarius, A. (2009). *Biotechnol. Adv.*, 27(6), pp.833-848.
- [2] Hosseini, S. and Shah, N. (2011). *Biomass and Bioenergy*, 35(9), pp.3830-3840.
- [3] Hosseini, S. and Shah, N. (2011). *Biomass and Bioenergy*, 35(9), pp.3841-3848.
- [4] Griggs, A., Stickel, J. and Lischeske, J. (2011). *Biotechnol. Bioeng.*, 109(3), pp.665-675.
- [5] Griggs, A., Stickel, J. and Lischeske, J. (2011). *Biotechnol. Bioeng.*, 109(3), pp.676-685.