

# Matematyczne modelowanie syntezy estrów katalizowanej przez lipazę *Mucor javanicus* w środowisku niewodnym

Tadeusz Antczak

Edward Galas

Instytut Biochemii Technicznej

Politechnika Łódzka

Łódź

## 1. Wstęp

Podczas enzymatycznej syntezy estrów w środowisku rozpuszczalników organicznych woda stanowi zarówno jeden z elementów środowiska reakcji jak i jest jednym z jej produktów. Jej znaczenie w omawianym procesie należy uznać za zasadnicze [1-4]. Jeżeli prowadzimy reakcję syntezy estrów w środowisku rozpuszczalników apolarnych nasyconych wodą to woda wydzielona w reakcji tworzy drugą fazę. Kiedy stężenie substratów jest duże, to przy wysokim stopniu przereagowania układ monofazowy przechodzi w dwufazowy o wyraźnie wyodrębnionej fazie wodnej. Wywiera ona znaczący wpływ na końcową wydajność reakcji.

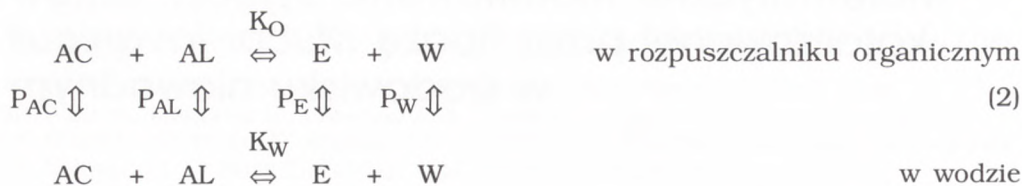
Wyprowadzając model matematyczny zastosowano metodę zaproponowaną przez Martinka i in. [5-8], tj. ułożono bilans materiałowy reakcji estryfikacji przebiegającej w układzie dwufazowym: rozpuszczalnik organiczny — woda. Prace Martinka i in. dotyczyły układu dwufazowego, w którym enzym był rozpuszczony w fazie wodnej, a reakcja estryfikacji przebiegała na granicy faz.

W naszych badaniach lipaza w formie immobilizowanej była umieszczona w fazie organicznej, a woda wydzielona w reakcji estryfikacji, dyfundowała do modelowej fazy wodnej, zwiększając jej objętość.

Schematycznie reakcję estryfikacji można przedstawić następująco:



W układzie dwufazowym zachodzi rozdzielenie reagentów pomiędzy fazę wodną i organiczną wg schematu:



gdzie: AL — alkohol, AC — kwas, E — ester, W — woda.

$K_O$  — stała równowagi w fazie organicznej,  $K_W$  — stała równowagi w fazie wodnej,

$P_{AC}$ ,  $P_{AL}$ ,  $P_E$ ,  $P_W$  — współczynniki podziału faz dla: kwasu, alkoholu, estru i wody.

Współczynniki podziału faz (P) jest wyrażony następującą zależnością:

$$P_{(AC, AL, E, W)} = \frac{[R_O]}{[R_W]} \quad (3)$$

gdzie:  $[R_O]$  i  $[R_W]$  maksymalne stężenia reagentów w fazach organicznej i wodnej.

Reakcję estryfikacji można opisać za pomocą stałej równowagi dla układu dwufazowego ( $K_{DI}$ ), która przyjmuje następującą postać [1]:

$$K_{DI} = \frac{[E_C] [W_C]}{[A C_C] [A L_C]} \quad (4)$$

gdzie:  $[E_C]$ ,  $[W_C]$ ,  $[A C_C]$ ,  $[A L_C]$  całkowite stężenia reagentów w układzie.

Ponadto układ reakcyjny jest charakteryzowany współczynnikiem stosunku objętościowego faz (A):

$$A = \frac{V_O}{V_W} \quad (5)$$

gdzie:  $V_O$  — objętość fazy organicznej,  $V_W$  — objętość fazy wodnej.

Równania bilansu materiałowego mają dla każdego reagenta następującą postać:

$$[R_C] V_C = [R_O] V_O + [R_W] V_W \quad (6)$$

gdzie:  $R_C$  — całkowite stężenie reagenta

$V_C$  — całkowita objętość układu

$R_O$  — stężenie reagenta w fazie organicznej

$V_O$  — objętość fazy organicznej

$R_W$  — stężenie reagenta w fazie wodnej

$V_W$  — objętość fazy wodnej



Wyrażając objętość całkowitą ( $V_C$ ) jako sumę ułamków objętościowych poszczególnych faz można napisać:

$$V_C = V_O + V_W = 1 \quad (7)$$

Podstawiając współczynnik stosunku objętościowego faz (A), można obliczyć, że:

$$V_O = \frac{A}{1 + A} \quad (8)$$

oraz

$$V_W = \frac{1}{1 + A} \quad (9)$$

Stąd bilansując stężenia poszczególnych substratów i produktów w środowisku reakcji z uwzględnieniem współczynników podziału faz wyznaczono stężenia całkowite poszczególnych składników, które podstawiono do wzoru (4) otrzymując równanie (10) [5]:

$$K_{DI} = K_O \frac{P_{AC}P_{AL}}{P_E P_W} \frac{(1 + P_E A)(1 + P_W A)}{(1 + P_{AC} A)(1 + P_{AL} A)} \quad (10)$$

W omawianych badaniach stosowano modelowe układy dwufazowe: rozpuszczalnik organiczny nasycony wodą — woda o różnym współczynniku stosunku objętościowego faz (A).

Przeprowadzono następujące rozumowanie:

1. Po reakcji objętość całkowita układu nie uległa zmianie.
2. W stanie poststacjonarnym nieprzereagowane substraty i powstały ester znajdują się w obu fazach zgodnie ze współczynnikami podziału faz. Ponieważ faza organiczna jest nasycona wodą, wydzielona w reakcji woda dyfunduje do fazy wodnej.
3. Objętość fazy wodnej po reakcji ulega zwiększeniu, co w konsekwencji powoduje zmniejszenie fazy organicznej.

Objętości fazy organicznej i wodnej w stanie poststacjonarnym równa się:

$$V_{CW} = V_W + W \quad (11)$$

$$V_{CO} = V_O - W \quad (12)$$

gdzie:  $V_{CW}$  — objętość fazy wodnej po reakcji,  $V_W$  — objętość fazy wodnej przed reakcją,  $W$  — objętość wody wydzielona w reakcji,  $V_{CO}$  — objętość fazy organicznej po reakcji,  $V_O$  — objętość fazy organicznej przed reakcją.

Podstawiając te zależności do równania (10) otrzymano nowe równanie (13).

$$K_{DI} = K_O \frac{P_{AC}P_{AL}}{P_E P_W} \frac{[1 + P_E A + W(1 - P_E)(1 + A)][1 + P_W A + W(1 - P_W)(1 + A)]}{[1 + P_{AC} A + W(1 - P_{AC})(1 + A)][1 + P_{AL} A + W(1 - P_{AL})(1 + A)]} \quad (13)$$

Prowadząc modelowe syntezy estrów katalizowane przez lipazę *M. javanicus* empirycznie stwierdzono, że stała równowagi w fazie organicznej ( $K_O$ ) jest uzależniona od współczynnika stosunku objętościowego faz (A):

$$K_O = F(A) \quad (14)$$

Funkcja dobrze opisująca tę zależność miała postać następującą:

$$\ln(K_O) = I_2 \ln^2(A) + I_1 \ln(A) + I_0 \quad (15)$$

gdzie:  $I_0$ ,  $I_1$ ,  $I_2$  — stałe współczynniki identyfikowane z eksperymentu. Współczynniki te opisują oddziaływania środowiska reakcji na lipazę.

Uwzględniając to nowy model matematyczny przyjmuje postać [9,10]:

$$K_{DI} = K_O(A) \frac{P_{AC}P_{AL}}{P_E P_W} \frac{[1 + P_E A + W(1 - P_E)(1 + A)][1 + P_W A + W(1 - P_W)(1 + A)]}{[1 + P_{AC} A + W(1 - P_{AC})(1 + A)][1 + P_{AL} A + W(1 - P_{AL})(1 + A)]} \quad (16)$$

Wyprowadzony model matematyczny (16) zastosowano w omawianej pracy do wyznaczania stałej równowagi ( $K_{DI}$ ) reakcji syntezy stearynianów: propylu, butylu i oleilu katalizowanych przez lipazę *M. javanicus* w układzie dwufazowym eter naftowy-woda.

## 2. Materiały i metody

### 2.1. Materiał biologiczny

### 2.2. Lipaza *Mucor javanicus*

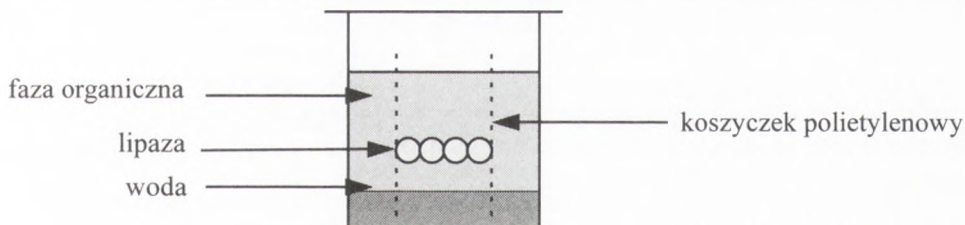
Lipazę *Mucor javanicus* w postaci odwodnionego mycelium otrzymywano metodą opisaną w pracach [11,12].

### 2.3. Wyznaczanie stałej równowagi reakcji dla układu dwufazowego ( $K_{DI}$ )

Modelowe syntezy stearynianów: propylu, butylu i oleilu prowadzono w minireaktorach umieszczonych na wytrząsarce, których schemat zamieszczono na rysunku 1.

Do minireaktora wprowadzano 1 mmol kwasu, 1 mmol alkoholu, eter naftowy nasycony wodą i wodę. Następnie wprowadzano koszyczek polietylenowy z 50 mg lipazy, zapewniający dobrą wymianę masy jednocześnie niedo-





Rys. 1. Schemat układu reakcyjnego do wyznaczenia stałych  $K_{D1}$  w środowisku o różnych współczynnikach stosunku objętościowego faz (A).

puszczający do zetknięcia lipazy z fazą wodną. Całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej wynosiła  $5 \text{ cm}^3$ .

Syntezę estrów prowadzono w ciągu 24 godzin w temp.  $30^\circ\text{C}$  i obrotach wstrząsarki  $250 \text{ min}^{-1}$ , wydajność syntezy estrów, oznaczano metodą miareczkową [13] i podawano w procencie estryfikacji kwasu tłuszczowego.

Doświadczalnie, metodą miareczkową, wyznaczono współczynnik podziału dla kwasu stearynowego ( $P_{AC}$ ). Współczynniki podziału alkoholi ( $P_{AL}$ ) wyliczono na podstawie rozpuszczalności tych substancji w eterze naftowym i wodzie. Współczynnik podziału wody ( $P_W$ ) wyliczono oznaczając zawartość wody w eterze naftowym metodą Karla Fischera. Współczynniki podziału estrów przyjęto arbitralnie na podstawie rozpuszczalności substancji o zbliżonej budowie chemicznej. Modelowanie prowadzono za pomocą pakietu Mathematica.

### 3. Wyniki

Prowadząc estryfikację wyższych kwasów tłuszczowych alkoholami alifatycznymi pierwszorzędowymi katalizowaną przez lipazę *M. javanicus* stwierdzono, że dla wysokich stężeń wyjściowych substratów nie można uzyskać wydajności reakcji wyższej niż 75% [14].

Na podstawie wykonanych badań mieliśmy uzyskać odpowiedź na pytanie: Czy możliwe jest z teoretycznego punktu widzenia przeprowadzenie syntezy estrów lipazą *M. javanicus* w środowisku eteru naftowego z wydajnością 90-95%?

Omawiany dotychczas, model matematyczny dotyczący wyznaczania stałej równowagi reakcji dla układu dwufazowego (16) rozwinięto o elementy umożliwiające wyliczenie przewidywanej wydajności reakcji w stanie poststacjonarnym.

Woda zawarta w środowisku reakcji jest sumą wody zawartej w fazie organicznej, fazie wodnej oraz wody wydzielonej w procesie estryfikacji.

$$W_C = V_O [W_O] + V_W [W_W] + X \quad (17)$$

$V_O[W_O]$  — woda zawarta w fazie organicznej [mol];

$V_W[W_W]$  — woda zawarta w fazie wodnej [mol];

$X$  — woda wydzielona w procesie syntezy, równa ilości moli powstałego estru [mol].

Stała równowagi reakcji dla układu dwufazowego przybiera postać:

$$K_{DI} = \frac{X (V_O [W_O] + V_W [W_W] + X)}{(AC - X) (AL - X)} \quad (18)$$

Przyjmując, że ilości moli kwasu (AC) i alkoholu (AL) wzięte do syntezy są takie same i równe C otrzymano:

$$K_{DI} = \frac{X (V_O [W_O] + V_W [W_W] + X)}{(C - X)^2} \quad (19)$$

Dalsze przekształcenie dają równanie:

$$X^2(K_{DI} - 1) - X \left( \frac{[W_W] P_W A}{A + 1} + \frac{[W_W]}{A + 1} + 2CK_{DI} \right) + K_{DI}C^2 = 0 \quad (20)$$

Stąd liczba moli powstałego estru  $X$  równa się:

$$X = \frac{([W_W]P_W A / (A + 1) + [W_W] / (A + 1) + 2CK_{DI}) - \sqrt{\Delta}}{2 (K_{DI} - 1)} \quad (21)$$

gdzie:

$$\Delta = \left( \frac{[W_W] P_W A}{A + 1} + \frac{[W_W]}{A + 1} + 2CK_{DI} \right)^2 - 4(K_{DI} - 1) K_{DI}C^2 \quad (22)$$

Uwzględniając stężenie eteru naftowego w wodzie (ok. 0,005 M) do wzoru podstawiono stężenie wody w fazie wodnej  $W_W = 55,550$  M.

Prowadzono weryfikację doświadczalną wyprowadzonych modeli matematycznych. Przeprowadzono syntezy stearynianów: propylu (tab. 1), butylu (tab. 2) i oleilu (tab. 3). We wszystkich syntezach estrów stwierdzono dobrą korelację danych doświadczalnych z modelowymi. Przewidywana wydajność reakcji dla stearynianu propylu dla  $A = 45,59$  wynosiła 87%, podczas gdy wydajność empiryczna równała się 86,7% (tab. 1). Dla stearynianu butylu przy współczynniku objętościowym faz  $A = 45,59$  przewidywana wydajność reakcji równała się 89%, podczas gdy wartość eksperymentalna była równa 55,5% (tab. 2). W trzecim przypadku, syntezy stearynianu oleilu modelową wydajność estryfikacji dla  $A = 18,56$  prognozowano na 75,35%, podczas gdy doświadczalnie uzyskano 85,5%.



TABELA 1

STAŁE RÓWNOWAGI I WYDAJNOŚCI REAKCJI W UKŁADZIE DWUFAZOWYM DLA SYNTEZY STEARYNIANU PROPYLU

Współczynnik stosunku objętości faz A	Stała równowagi reakcji w fazie organicznej $K_o$	Wartości doświadczalne		Wartości modelowe	
		$K_{DI}$	C (%)	$K_{DI}$	C (%)
594,61	221,63	408,01	93,30	407,31	93,80
152,21	42,63	182,43	87,55	319,61	90,40
85,83	41,29	281,81	88,00	334,61	88,90
45,59	30,20	361,34	86,70	378,52	87,00
18,46	24,77	695,70	86,10	491,61	83,70
12,10	20,27	857,94	85,05	564,88	81,90
8,88	11,97	685,80	81,30	625,16	80,55
5,62	8,76	788,53	79,15	725,73	78,40
3,98	6,29	797,41	76,55	803,94	76,70
2,32	6,03	1304,21	77,55	918,40	73,90

 $W = 0,001, P_{AC} = 107,29, P_{AL} = 1, P_E = 1500, P_W = 0,002, I_0 = 1,4154, I_1 = 0,4426, I_2 = 0,0225.$ 

TABELA 2

STAŁE RÓWNOWAGI I WYDAJNOŚCI REAKCJI W UKŁADZIE DWUFAZOWYM DLA SYNTEZY STEARYNIANU BUTYLU

Współczynnik stosunku objętości faz A	Stała równowagi reakcji w fazie organicznej $K_o$	Wartości doświadczalne		Wartości modelowe	
		$K_{DI}$	C(%)	$K_{DI}$	C(%)
648,65	44,49	78,79	85,42	94,55	86,95
152,11	44,17	189,38	85,40	234,86	88,90
85,78	43,95	300,12	85,40	350,61	89,15
45,49	44,16	529,51	85,50	547,41	89,00
12,09	37,35	1582,47	85,75	1274,15	87,55
8,86	35,57	2042,09	84,60	1509,61	86,95
5,61	14,87	1339,04	77,80	1889,53	85,95
3,97	14,59	1850,74	78,20	2192,08	85,10
2,32	14,51	3139,22	79,40	2652,98	83,65

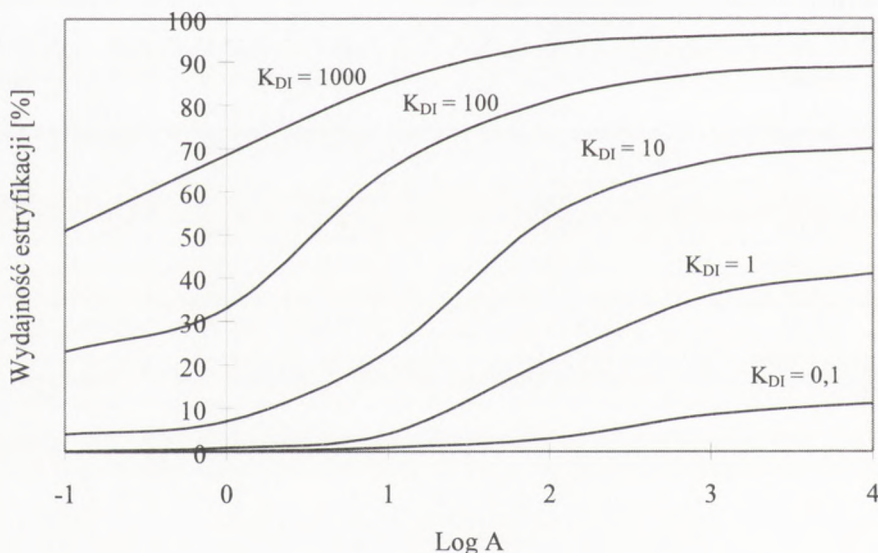
 $W = 0,001, P_{AC} = 107,29, P_{AL} = 11,62, P_E = 1500, P_W = 0,002, I_0 = 1,9424, I_1 = 0,777, I_2 = -0,0774.$

TABELA 3  
STAŁE RÓWNOWAGI I WYDAJNOŚCI REAKCJI W UKŁADZIE DWUFAZOWYM DLA SYNTEZY STEARYNIANU OLEILU

Współczynnik stosunku objętości faz A	Stała równowagi reakcji w fazie organicznej $K_O$	Wartości doświadczalne		Wartości modelowe	
		$K_{DI}$	C(%)	$K_{DI}$	C(%)
748,69	12,30	20,23	85,42	26,97	77,85
158,06	9,91	41,27	85,40	48,07	77,70
87,57	10,34	69,35	88,40	67,37	77,30
18,56	6,14	171,73	85,50	191,22	75,35
8,89	5,49	313,98	85,75	320,33	74,00
5,62	5,07	456,00	84,60	439,97	73,45
3,98	4,38	554,73	77,80	556,55	72,70

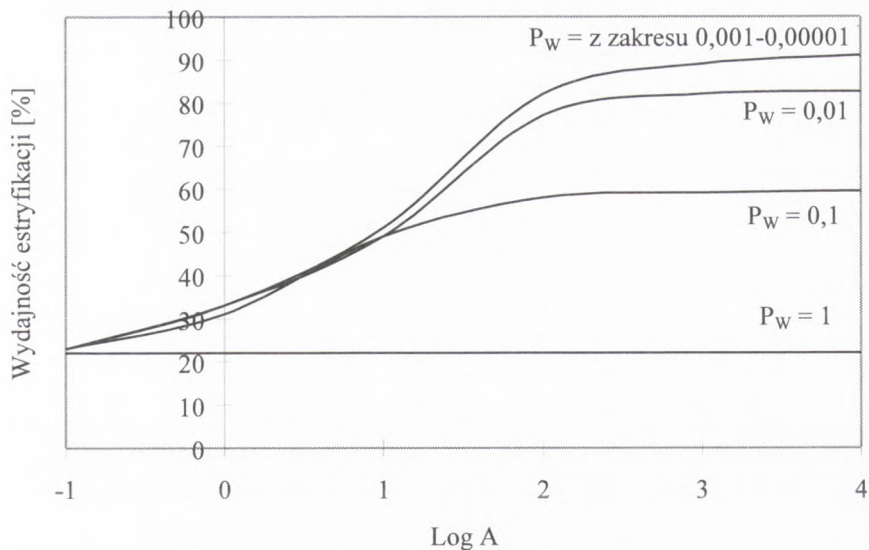
$W = 0,001$ ,  $P_{AC} = 107,29$ ,  $P_{AL} = 1000$ ,  $P_E = 1500$ ,  $P_W = 0,002$ ,  $I_0 = 1,0078$ ,  $I_1 = 0,3688$ ,  $I_2 = -0,0212$ .

Dobre dopasowanie wyprowadzonego modelu matematycznego do wartości eksperymentalnych umożliwiło przeprowadzenie badań symulacyjnych. Przeprowadzono symulację enzymatycznej syntezy estrów katalizowanej przez lipazę *M. javanicus* w środowisku: eter naftowy-woda. Rezultaty zamieszczono na rysunkach 2-5. Stwierdzono, że stała równowagi reakcji dla układu dwufazowego  $K_{DI}$ , współczynnik podziału wody  $P_W$  i współczynnik objętościowy faz A wywierają zdecydowany wpływ na wydajność syntezy estru. Wydajność syntezy wzrasta gdy rośnie stała  $K_{DI}$  i współczynnik A oraz maleje  $P_W$ .

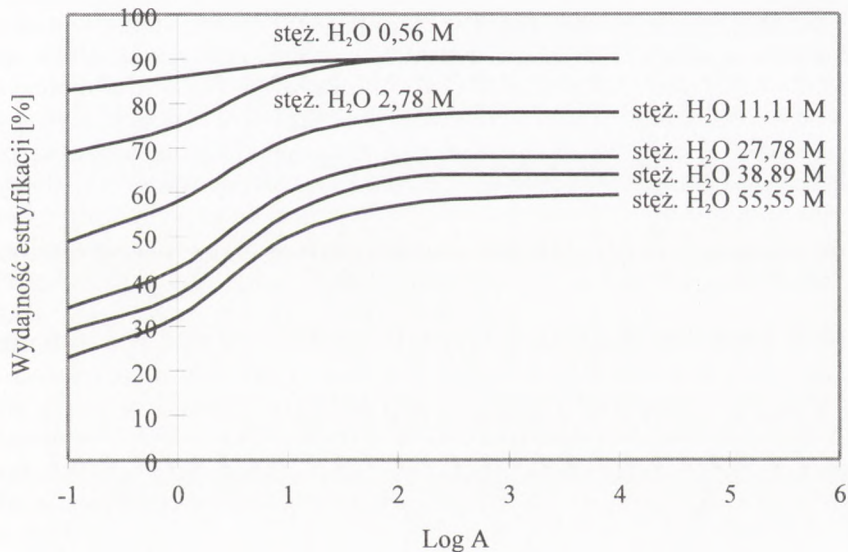


Rys. 2. Wpływ  $K_{DI}$  na wydajność syntezy estrów. ( $P_W = 0,002$ ).

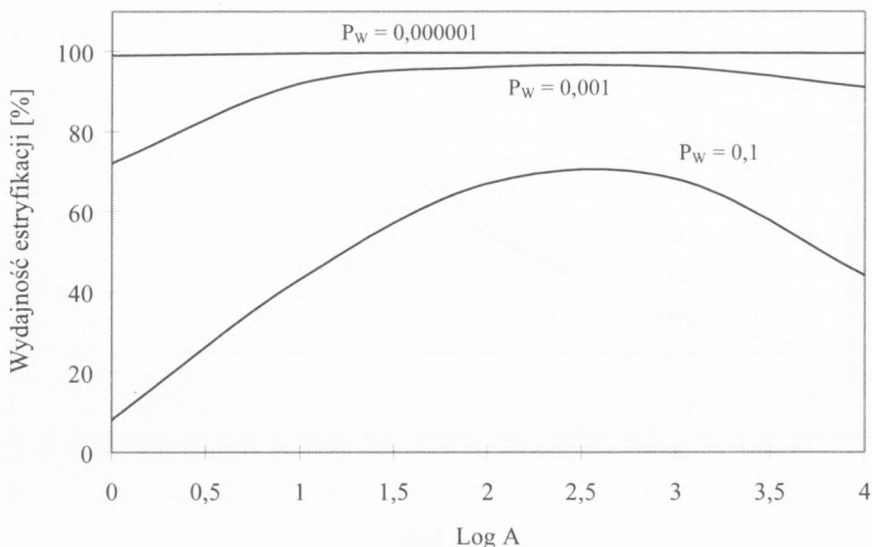




Rys. 3. Wpływ współczynnika podziału wody ( $P_w$ ) na wydajność syntezy estrów. (Dla  $K_{DI}=100$ ).



Rys. 4. Wpływ stężenia wody w fazie wodnej na wydajność syntezy estrów.



Rys. 5. Wpływ  $P_w$  na wydajność syntezy estrów.  
 $P_w = 0,01$

Aby uzyskać wydajność reakcji powyżej 90% należy reakcję prowadzić w warunkach zapewniających uzyskanie  $K_{DI}$  rzędu 100-1000 (rys. 2), przy współczynniku podziału wody  $P_w < 0,001$  (rys. 3) i współczynniku podziału faz  $A > 1000$ .

Nie jest to sprawą prostą, gdyż zakładając wyjściowe stężenie substratów w środowisku reakcji 50% i przewidując wydajność reakcji 95% objętość wydzielonej wody jest tak duża, że po zakończeniu reakcji współczynnik  $A$  (w zależności od masy molowej używanego alkoholu) zawarty byłby w granicach  $A = 28-52$ . Zmiana tego współczynnika jest jedynie możliwa po usunięciu wody w procesie syntezy (np. zastosowanie pochłaniaczy, destylacja).

Z uzyskanych danych doświadczalnych wynika, że w wymaganym zakresie współczynnika  $A = 28-52$  odpowiadającego warunkom preparatywnej syntezy, stosowana lipaza nie katalizuje syntezy estrów z wydajnością powyżej 90%. Zwiększenie ponad 10-krotne współczynnika objętościowego faz  $A$  jedynie w przypadku syntezy stearynianu propylu, gdy  $A = 594,61$  pozwoliło uzyskać wydajność estryfikacji ok. 93% (tab. 1). Podczas syntezy stearynianu butylu dla  $A = 648,65$  przewidywana i uzyskana wydajność syntezy estru wynosiła 87 i 85,4% (tab. 2). Dla stearynianu oleilu przy  $A = 748,69$  przewidywana wydajność syntezy równała się 77,85% i była niższa od wartości doświadczalnej równej 85,42% (tab. 3). W obydwu ostatnich przypadkach stałe równowagi  $K_{DI}$  były zbyt małe aby zapewnić większą wydajność syntezy estrów.

Zwiększenie wydajności estryfikacji poprzez zmniejszenie współczynnika podziału wody  $P_w$  nie jest także proste. Parametr ten jest wartością charakterystyczną dla danego rozpuszczalnika. Rośnie wraz ze wzrostem tempe-



ratury, a maleje ze wzrostem hydrofobowości rozpuszczalnika. Rozpuszczalnik jako taki jest elementem środowiska bezpośrednio oddziałującym na aktywność lipazy. Z tego punktu widzenia aby zwiększyć wydajność reakcji można prowadzić syntezę w niskich temperaturach lub w środowisku rozpuszczalników bardziej hydrofobowych [15] lub stosować mieszaninę rozpuszczalników [16], co może pociągnąć za sobą zmianę aktywności lipazy.

Ponieważ przewidywana wydajność reakcji rośnie wraz ze wzrostem stałej równowagi reakcji układu dwufazowego ważne są działania zwiększające tę stałą. Stała ta rośnie wraz ze wzrostem współczynników podziału substratów. Maleje wraz ze wzrostem współczynników podziału produktów. Nasuwa się pytanie czy zwiększanie efektywnej stałej równowagi zawsze prowadzi do wzrostu wydajności reakcji? W przeprowadzonych przez nas badaniach udowodniliśmy, że jeżeli wzrost  $K_{DI}$  jest efektem zwiększania objętości fazy wodnej to nie jest możliwy wzrost wydajności reakcji. Jeżeli syntezę prowadzimy w środowisku, w którym współczynnik podziału wody jest bardzo mały, to nawet przy wysokim współczynniku podziału estru ich iloczyn może być na tyle mały, że zwiększa efektywną stałą równowagi. Jest to jeden ze sposobów zwiększania stałej  $K_{DI}$ , który prowadzi do wzrostu wydajności reakcji.

Inną drogą zwiększania wydajności reakcji jest zmniejszanie stężenia wody w fazie wodnej poprzez dodatek substancji rozpuszczalnych w wodzie, a nierozpuszczalnych w rozpuszczalniku. Symulacja tego problemu zamieszczona na rysunku 4 dowodzi, że zmniejszenie stężenia wody pięciokrotne (z 55,55 na 11,11 M) prowadzi do wzrostu wydajności reakcji z 57 do 77%. (dla  $P_W = 0,1$  i  $A = 100$ ). Dopiero zmniejszenie stężenia wody dwudziestokrotne może zagwarantować wydajność zbliżoną do 100%. Uzyskanie tak wysokiego obniżenia stężenia wody w warstwie wodnej jest praktycznie niemożliwe.

#### 4. Podsumowanie

Wyprowadzono model matematyczny w którym opisana została synteza estrów w środowisku niewodnym dla układu reakcyjnego, w którym lipaza znajdowała się w środowisku organicznym, a wydzielona woda tworzyła odrębną fazę. Otrzymany model zawiera stałe składniki: współczynniki podziału substratów ( $P_{AC}$ ,  $P_{AL}$ ) i produktów ( $P_E$ ,  $P_W$ ), oraz składniki zmienne: współczynnik stosunku objętościowego faz ( $A$ ), stała równowagi reakcji dla układu dwufazowego ( $K_{DI}$ ) i współczynniki oddziaływania środowiska reakcji na lipazę ( $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_0$ ).

Prowadząc modelowe syntezy estrów w środowisku eter naftowy-woda o różnym współczynniku  $A$  wyznaczono stałe  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_0$ . Są one prawdziwe jedynie dla danego układu reakcyjnego (lipaza, rozpuszczalnik, substraty i produkty).

Model zweryfikowano doświadczalnie, prowadząc syntezę stearynianów: propylu, butylu i oleilu katalizowaną przez lipazę *M. javanicus*. Wyliczona z modelu maksymalna wydajność reakcji dla stearynianu propylu wynosiła



93,8% podczas gdy wartość uzyskana doświadczalnie równała się 93,3%. Podczas syntezy stearynianu butylu przewidywana i uzyskana wydajność syntezy estru wynosiła 87 i 85,4%. Dla stearynianu oleilu przewidywana i uzyskana wydajność syntezy równała się 77,85 i 85,42%.

Badany model matematyczny pozwala wyznaczyć maksymalną do uzyskania (w danych warunkach) wydajność syntezy estru. Może być on także stosowany do prowadzenia badań symulacyjnych dotyczących wpływu poszczególnych składników na wydajność syntezy, tym samym umożliwia optymalny dobór poszczególnych elementów układu reakcyjnego.

Grant KBN numer 6PO4B00311.

## Literatura

1. Zaks A., Russel A. J., (1988), *J. Biotech.*, 8, 259-270.
2. Laane C., (1987), *Biocatalysis*, 1, 17-22.
3. Antczak T., Krystynowicz A., Galas E., (1989), *Kosmos*, 38, 95-110.
4. Antczak T., (1990), *Biotechnologia*, 1(11), 62-70.
5. Martinek K., Semenow A. N., Berezin I. V., (1981), *Biochim. Biophys. Acta*, 658, 76-89.
6. Martinek K., Semenow A. N., (1981), *J. Appl. Biochem.*, 3, 93-98.
7. Semenow A. N., Khamelnitski Yu. L., Berezin I. V., Martinek K., (1987), *Biocatalysis*, 1, 3-8.
8. Semenow A. N., (1994), *Prikl. Bioch. Mikrob.*, 30, 302-310.
9. Antczak T., Konstantynowicz A., Galas E., (1989), *V Scientific Symposium of Socialist Countries on Biotechnology*, Hungary, Abstracts volume II, 185-186.
10. Antczak T., Krystynowicz A., Galas E., (1988), *International Symposium on Enzyme Engineering*, Smolenice, Czechosłowacja, Abstracts volume, P2.
11. Galas E., Antczak T., Krystynowicz A., Patent 150601.
12. Antczak T., Krystynowicz A., Galas E., (1985), *Biotechnologia*, 2(29), 82-91.
13. Bell G., Blain J.A., Patterson J. D. E., Shaw C. E. L., Todd R., (1978), *FEMS Microb. Lett.*, 3, 223-228.
14. Antczak T., Krystynowicz A., Galas E., (1985), *Biotechnologia*, 2(29), 73-81.
15. Antczak T., Hiler D., Galas E., (1993), *Biotechnologia*, 1(20), 59-67.
16. Antczak U., Góra J., Antczak T., Galas E., (1991), *Enzyme. Microb. Technol.*, 13, 589-593.

## Mathematical modelling of esters synthesis catalyzed by *Mucor javanicus* lipase in non water environment

### Summary

A mathematical model describing esters synthesis catalysed by lipase from *Mucor javanicus* was designed. Lipase was in the organic environment and generated water created a separate phase. The model is composed of the following invariable elements: the partition coefficients of substrates ( $P_{AC}$ ,  $P_{AL}$ ) and products ( $P_E$ ,  $P_W$ ) and the following variable elements: coefficient of phase partition (A), the equilibrium constant for the diphasic system ( $K_{DI}$ ) and the interaction coefficients of the reaction medium and lipase ( $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_0$ ).

The interaction coefficients  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_0$  were determined by performing model ester syntheses in the system of petroleum ether-water with different values of coefficient A. They were real only in the case of a particular reaction system (lipase, solvent, substrates).



This model was confirmed by the syntheses of propyl stearate, butyl stearate and oleyl stearate catalysed by *M. javanicus* lipase. The maximum reaction yield for propyl stearate calculated on the basis of the designed model was 93.8% and the experimental value was 93.3%. In the case of butyl stearate, theoretical and experimental yields of the synthesis were 87 and 85.4%, respectively and for oleyl stearate these values were 77.85 and 85.42%.

Using this model it is possible to estimate the maximum achievable (in particular conditions) yield of ester synthesis. The model can also be applied for performing simulations to evaluate the effect of particular elements on the yield of ester synthesis and, consequently, it could enable the optimum selection of particular elements of the reaction system.

**Key words:**

lipase, diphasic water-organic system, ester synthesis, mathematical modelling.

*Adres do korespondencji:*

Tadeusz Antczak, Instytut Biochemii Technicznej, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź.