

菌体比生长速率的酒精发酵动力学研究

王英臣

(吉林农业科技学院食品科学系,吉林 132109)

摘要: 对酒精发酵过程和发酵动力学进行了研究。根据菌体生长速率定义($dC_x/dt = \mu C_x$)和菌体比生长速率(μ)出发,建立发酵过程中菌体生长和酒精生成的数学模型,并对试验数据与模型进行了比较,结果拟合良好,说明此模型较好地反映了酒精发酵过程及其动力学机制。

关键词: 菌体; 比生长速率; 酒精发酵; 发酵动力学

中图分类号: TQ920.1; TS262.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2005)09-0048-04

Study on Kinetics of Alcohol Fermentation on the Basis of the Biomass Specific Growth Rate

WANG Ying-chen

(Food Science Department of Jilin Agriculture Science and Technology College, Jilin 132109, China)

Abstract: The fermentation process of alcohol and the fermentation kinetics were studied. The mathematical kinetic models describing the biomass growth and product formation were established on the base of the formula of the biomass specific growth rate (μ) and the biomass growth rate ($dC_x/dt = \mu C_x$). The comparison of test data and the model suggested a reasonable regression, which indicated that the model could reflect the fermentation process and the kinetics mechanism very well. (Tran. by YUE Yang)

Key words: thallus; biomass specific growth rate; alcohol fermentation; fermentation kinetics

本文主要以菌体生长速率($dC_x/dt = \mu C_x$)和菌体比生长速率(μ)为出发点,对酒精发酵过程的动力学进行了研究和探讨。

1 实验材料

1.1 菌种

K字酒精酵母菌(本实验室提供)。

1.2 仪器及器皿

1.2.1 仪器

高压蒸汽灭菌锅,干燥灭菌箱,恒温培养箱,恒温水浴锅,离心机,搅拌器,显微镜,糖度计,分析天平,物理天平,冰箱,电炉。

1.2.2 器皿

三角瓶,烧杯,量筒,大铝锅,移液管,试管,培养皿,玻璃棒,胶头吸管,漏斗,碱式滴定管,血球记数板,盖玻片,比重瓶,温度计,试剂瓶。

2 实验方法及步骤

2.1 液体发酵培养基^[1]

取淀粉 200 g,加入 1000 mL 45 °C 温水中,搅拌均匀。加入 0.2% 氯化钙,并调节浆液的 pH 值到 6.0~6.2 之间。取液化酶 1 g,用温水溶解后,于 50~60 °C 加入淀粉溶液内。继续升温至 75 °C 保持 15 min,再继续升温至 85 °C 左右,恒温 20~30 min,以碘液反应不变色,即表示液化过程结束。将醪液迅速冷却至 58~60 °C,并调节醪液 pH 值到 4.4~4.6。把 1 mL 糖化酶(10 万单位)加入醪液中,于 60 °C 恒温糖化,淀粉水解液的糖度为 16 Bx 左右时停止糖化。在淀粉水解液中加入 2% 的玉米浆,并煮沸 1 h,冷却过滤。将滤液调至所需要的还原糖含量,最后调 pH 值为 4.8~5.0,再经灭菌冷却后待用。

2.2 实验步骤

2.2.1 酒精酵母菌的活化

取出酒精酵母菌贮藏管及装有斜面培养基的试管,在无菌室内接菌并培养活化。

2.2.2 酒精酵母菌的液体培养基活化

在无菌室内自斜面菌种管内挑取酵母菌体接入装有液体培养基的三角瓶中,30 °C 保温培养 2 d。

收稿日期: 2005-04-05

作者简介: 王英臣(1967-),男,学士,讲师,发表论文多篇。

2.2.3 酒精发酵^[2]

在无菌室内以 10% 的接种量把种子液移入到发酵培养基里,然后在 30℃ 保温发酵 72 h。

2.3 实验参数的测定^[3]

酵母干重的测定^[3],二氧化碳生成量的测定^[3]。

3 结果与讨论

3.1 实验结果

通过实验,在发酵温度为 30℃,培养基 pH 值为 5.8 时,为最佳反应条件,测得酵母菌体量、二氧化碳的生成量,并计算出相应的酒精量和残糖量及反应结束时测得的残糖量,数据见表 1。

表 1 发酵实验结果 (g/L)

发酵时间(h)	菌体量	二氧化碳生成量	酒精生成量
0	0.29	0	0
5	0.63	6.85	7.16
10	1.23	18.85	19.7
15	1.84	31.82	33.26
20	2.32	42.06	43.97
25	2.48	46.55	48.66
30	2.52	48.86	51.08
35	2.55	51.73	54.08
40	2.55	54.83	57.32
45	2.55	58.57	61.23
50	2.56	62.31	65.14
55	2.56	64.98	67.94
60	2.51	67.85	70.94
65	2.43	70.35	73.55
70	2.32	73.06	76.38

3.2 利用变量比生长速率 μ 推导酒精发酵动力学模型

3.2.1 酵母菌体生长的动力学模型的建立

对于菌体生长速率可定义为:

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu C_x \quad (1)$$

式中 μ ——菌体比生长速率(1/h);

C_x ——菌体浓度(g/h);

t ——时间(h)。

由于某一菌株在发酵全过程中,其比生长速率是变化的,因此可表示为时间的函数,即:

$$\mu = \mu(t) \quad (2)$$

将比生长速率对发酵时间(t)进行 Taylor 展开,即得:

$$\begin{aligned} \mu &= \mu(t_0) + \mu'(0)t + \frac{\mu''(0)}{2!}t^2 + \dots + \frac{\mu^{(n)}(0)}{n!}t^n + \dots \\ &= \sum_{i=0}^{\infty} \frac{\mu^{(i)}(0)}{i!}t^i \quad (i=1, \dots, n) \end{aligned} \quad (3)$$

$$\text{令 } \mu = a_0 + a_1t + a_2t^2 + \dots + a_nt^n + \dots = \sum_{i=0}^{\infty} a_it^i \quad (4)$$

$$\text{其中 } a_i = \frac{\mu^{(i)}(0)}{i!} \quad (i=1, \dots, n)$$

对(1)式两边积分,得:

$$\int_{C_{x0}}^x \frac{dC_x}{C_x} = \int_0^t \mu dt = \int_0^t (a_0 + a_1t + a_2t^2 + \dots + a_nt^n + \dots) dt \quad (5)$$

$$\text{即 } \ln C_x - \ln C_{x0} = a_0t + \frac{a_1}{2}t^2 + \dots + \frac{a_n}{n+1}t^{n+1} + \dots$$

$$= \sum_{i=0}^{\infty} \frac{a_i}{i+1}t^{i+1} \quad (6)$$

(6)式即为菌体生长过程中的动力学方程,其中 C_{x0} 为初始菌体浓度(g/L)。

大量的实验表明:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\mu^{(n)}(0)}{n!}t^n = \lim_{n \rightarrow \infty} a_nt^n = 0 \quad (7)$$

因而比生长速率 μ 的 Taylor 展开式只要取前 n 项就能近似表达出比生长速率(μ)随时间(t)变化的函数关系。

由(4)(6)(7)式得发酵时间对酵母生长量的函数关系为:

$$C_x \approx \exp \left[\ln C_{x0} + \sum_{i=0}^n \frac{a_i}{i+1}t^{i+1} \right] \quad (i=1, \dots, n) \quad (8)$$

3.2.2 酒精及二氧化碳生成的动力学模型建立

对酒精发酵,其代谢产物的生成,根据 Luedeking-Piret 对发酵的分类,属于第一类产物生成的动力学模型,即酒精和 CO_2 的生成速率与菌体的生长速率成正比,则:

$$\frac{dC_p}{dt} = a \cdot \frac{dC_x}{dt} = a \cdot \mu \cdot C_x = p \cdot C_x \quad (9)$$

式中 α ——菌体和代谢产物的速率比例系数;

C_p ——产物量(g/L);

p ——产物比生成速率(1/h)。

产物的比生成速率是发酵代谢产物速度大小的表征,因菌株、代谢条件和菌龄而不同,所以应为时间的函数。对酒精发酵,其主要的代谢产物为酒精和 CO_2 ,酒精或 CO_2 的比生成速率根据(1)式进行整理,得到产物的比生成速率(p)的 Taylor 展开形式:

$$\begin{aligned} p &= \frac{dC_p}{C_x dt} p(t) = a \cdot \mu(t) = a \sum_{i=0}^{\infty} a_it^i = b_0 + b_1t + b_2t^2 + \dots + b_nt^n + \dots \\ &= \sum_{i=0}^{\infty} b_it^i \end{aligned} \quad (10)$$

$$\text{其中 } b_i = a \cdot a_i \quad (11)$$

将(8)(10)代入,并将(9)式积分,即可求得酒精发酵代谢产物的生成量 C_p 与时间的关系:

$$C_p = \int_{p_0}^p dC_p = \int_0^t a\mu C_x dt = a \int_0^t \frac{dC_x}{dt} dt = aC_x \quad (12)$$

3.3 酒精发酵动力学模型与实验参数的拟合

3.3.1 酵母菌生长的动力学实验参数拟合

根据菌体生成量的实验值 C_x , 可计算在每个时间间隔的平均比生长速率 μ 。即:

$$\mu_i = \frac{(C_{x_{i+1}} - C_{x_i})}{[(C_{x_{i+1}} + C_{x_i})/2](t_{i+1} - t_i)} \quad (13)$$

根据(13)式计算酵母菌在各时间段的平均比生长速率, 结果见表2。

表2 菌体平均比生长速率与发酵时间的关系 (1/h)

发酵时间 (h)	菌体平均比生长速率	发酵时间 (h)	菌体平均比生长速率
0	0	40	0
5	0.1478	45	0
10	0.129	50	0.0008
15	0.0795	55	0
20	0.0462	60	-0.0039
25	0.0133	65	-0.0065
30	0.0032	70	-0.0093
35	0.0024		

通过表2可绘制平均比生长速率-发酵时间的曲线, 该曲线的回归方程为:

$$\mu(t) = 0.002938 + 0.04981t - 0.005692t^2 + 0.0002527t^3 - 5.4551 \times 10^{-6}t^4 + 5.7301 \times 10^{-8}t^5 - 2.3485 \times 10^{-10}t^6 \quad (14)$$

菌体比生长速率对发酵时间的回归方程的相关性为 $R^2=0.9908$ 。因而可以认为该方程很好地对曲线进行了拟合。根据式(18)可求得(4)式中的各回归系数 a_i , 又知 $C_{x,0}=0.29$, 代入(8)式即为菌体生长量随发酵时间的回归方程:

$$C_x(t) = 0.29 \exp(0.002938t + 0.0249t^2 - 1.8973 \times 10^{-3}t^3 + 6.318 \times 10^{-5}t^4 - 1.091 \times 10^{-6}t^5 + 9.5516 \times 10^{-9}t^6 - 3.355 \times 10^{-11}t^7) \quad (15)$$

由(15)式得菌体生长的拟合曲线, 与试验测得的值相比较, 结果见图1。

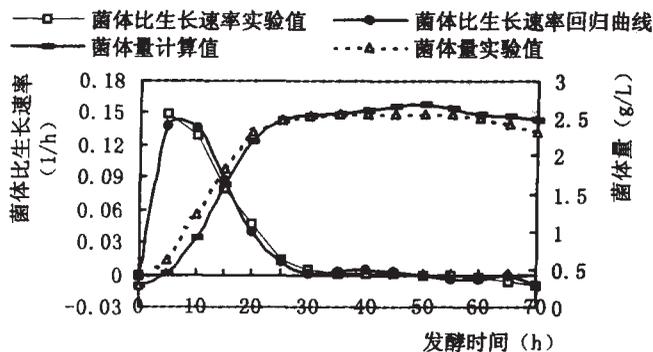


图1 菌体生长动力学模型拟合及菌体比生长速率随时间变化的曲线

3.3.2 酒精、二氧化碳代谢产物生成的动力学实验参数拟合

根据实验可计算在每个时间间隔代谢产物的平均比生长速率 p 。即:

$$p_i = \frac{C_{p_{i+1}} - C_{p_i}}{[(C_{p_{i+1}} + C_{p_i})/2](t_{i+1} - t_i)} \quad (16)$$

根据(16)式计算代谢产物在各时间段的平均比生长速率, 结果见表3。

表3 二氧化碳、酒精的平均比生成速率与发酵时间的变化关系 (1/h)

发酵时间 (h)	二氧化碳平均比生成速率	酒精平均比生成速率	发酵时间 (h)	二氧化碳平均比生成速率	酒精平均比生成速率
0	0	0	40	0.2431	0.2541
5	2.9781	3.1135	45	0.2934	0.3067
10	2.5798	2.6971	50	0.2932	0.3065
15	1.6901	1.7669	55	0.2086	0.2181
20	0.9849	1.0297	60	0.2265	0.2367
25	0.3739	0.3908	65	0.2026	0.2118
30	0.1851	0.1935	70	0.228	0.2384
35	0.2261	0.2363			

在间歇式酒精发酵过程中, 前发酵为 6~8 h, 主发酵期约为 12 h, 后发酵在 40 h 左右。由于在后发酵中, 酵母的生理活动受代谢产物等多种因素的影响而受到抑制, 对糖的分解速度比较缓慢, 比主发酵要低很多。所以前发酵和主发酵期间酵母的生成速率同代谢产物的生成速率存在一定的关系, 即在发酵 0~20 h 之间认为 p 与 μ 之间的比值为 α 。

把表2与表3中的相应数值代入, 并根据(10)式得二氧化碳的 α 值为 20.2, 酒精为 21.1, 所以产物的比生成速率为:

$$P_{CO_2} = 0.05934 + 1.006t - 0.1149t^2 + 0.005104t^3 - 0.00011t^4 + 1.157 \times 10^{-6}t^5 - 4.742 \times 10^{-9}t^6 \quad (17)$$

$$P_{C_2H_6O} = 0.06199 + 1.0509t - 0.1201t^2 + 0.005357t^3 - 0.00011t^4 + 1.209 \times 10^{-6}t^5 - 4.9542 \times 10^{-9}t^6 \quad (18)$$

由(12)式得产物的生成量为:

$$C_{CO_2} = 5.858 \exp(0.002938t + 0.0249t^2 - 1.8973 \times 10^{-3}t^3 + 6.318 \times 10^{-5}t^4 - 1.091 \times 10^{-6}t^5 + 9.5516 \times 10^{-9}t^6 - 3.355 \times 10^{-11}t^7) \quad (19)$$

$$C_{C_2H_6O} = 6.119 \exp(0.002938t + 0.0249t^2 - 1.8973 \times 10^{-3}t^3 + 6.318 \times 10^{-5}t^4 - 1.091 \times 10^{-6}t^5 + 9.5516 \times 10^{-9}t^6 - 3.355 \times 10^{-11}t^7) \quad (20)$$

根据(17)(19)式绘制二氧化碳生成动力学模型及二氧化碳比生成速率动力学模型曲线, 并与实验值比较, 结果见图2。

根据(18)(20)式绘制酒精生成动力学模型及酒精比生成速率动力学模型曲线, 并与实验值比较, 结果见图3。

4 结论

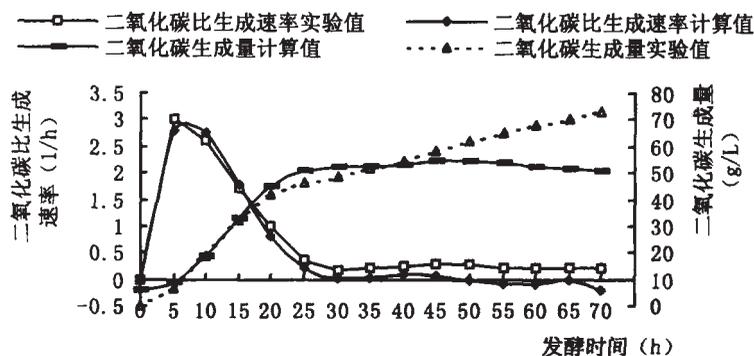


图2 二氧化碳生成动力学模型拟合及比生成速率随时间的变化关系

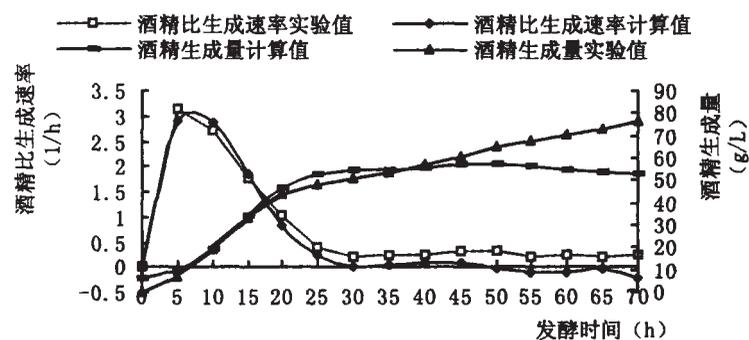


图3 酒精生成动力学模型拟合及比生成速率随时间的变化关系

利用上述 6 个模型绘制的动力学曲线与实验值进行比较。结果显示,菌体生长动力学模型在整个发酵过程中,模型计算值与实验值拟合良好,酒精和二氧化碳生成计算值与实验值在酒精发酵中的前发酵和主发酵期间拟合良好,说明模型正确反映了在前发酵和主发酵的反应过程及动力学机制。

通过菌体比生长速率方程、酒精和二氧化碳比生成速率方程可以看出,它们在酒精发酵过程中,都是随时间变化的,并为时间的函数,且都有最大值出现,出现的时间大致相同,即在菌体由延滞期到对数生长期的过渡期阶段。这一点与经典发酵反应动力学理论有所不同。

参考文献:

- [1] 杜连祥. 工业微生物实验技术[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1992.
- [2] 章克昌. 酒精与蒸馏酒工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1995.
- [3] 天津轻工业学院, 大连轻工业学院, 无锡轻工业学院, 华南理工大学. 工业发酵分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1980.

《白酒酿造工鉴定培训教材》 即将出版

本刊讯 2003年初,中华人民共和国劳动和社会保障部颁布了《白酒酿造工》国家标准。此《标准》对白酒酿造工、培菌制曲工、储存勾调工、白酒包装工的初级、中级、高级技工、技师、高级技师的职业技能鉴定制定了具体标准。

为配合劳动和社会保障部对白酒行业职工进行技能鉴定,广泛征求了白酒企业、科技人员、生产第一线工人及管理干部的意见。四川省食品发酵工业研究设计院再次组织力量,以《白酒工人培训教程》(中国轻工出版社,1999.6出版发行)为基础,并将《白酒生产技术全书》的相关内容引入内,还增补了近年最新的技术成果,使其更全面、实用。为使读者学习方便,根据标准要求,全书分上、下两册。全书由我国著名酿酒专家李大和教授级高工策划各章节并统稿。上册适用于白酒初、中、高级工鉴定培训之用;下册适用于白酒各工种技师、高级技师鉴定培训之用。本书即将由中国轻工业出版社出版发行。如有订购者,请与我们或出版社联系(电话 028-82765778)。

本书收集资料较全,从理论到实践进行了较通俗的全面论述,具有较强的科学性、系统性。本书适用于酿酒行业培菌制曲、酿造、储存勾调、包装等技工的培训与鉴定,也可作为白酒企业科技人员、相关专业的大专院校师生的参考资料。

上半年川酒利润占全国 总额近六成

本刊讯 据悉,今年上半年四川省白酒工业各项经济指标仍在全国白酒行业保持了优势地位,规模以上(年销售收入500万元以上)白酒企业实现利润总额22.41亿元,占全国白酒利润总额58.97%。四川白酒的代表“六朵金花”今年1~7月实现销售收入142亿元,同比增长13%。据估计,“川酒”“六朵金花”今年销售收入将首次突破200亿元,预计同比增长13.2%。全国白酒利润四川独揽近六成。

统计显示,今年上半年该省规模以上酒类企业一共生产白酒28.38万千升,同比增长16.94%,占全国总产量的17.1%;实现销售收入145.55亿元,同比增长17.49%,占全国白酒销售收入41.81%;实现税金总额17.95亿元,同比增长12.38%,占全国白酒税金总额33.01%;实现利润总额22.41亿元,同比增长10.43%,占全国白酒利润总额58.97%。“六朵金花”品牌集体提升,世界品牌实验室日前推出的中国最具价值500品牌榜,也对四川省白酒品牌给予了认可,五粮液(品牌价值302.51亿元)、泸州老窖(69.61亿元)、剑南春(65.32亿元)、沱牌曲酒(45.05亿元)、郎酒(41.52亿元)、全兴大曲(14.33亿元)等“六朵金花”全部上榜,而且相比去年都有较大的价值提升。(源凡)