

# CO<sub>2</sub> 通气量对酵母细胞生长的影响

刘 振, 刘 普

(河南科技大学化工与制药学院, 河南 洛阳 471003)

**摘 要:** 乙醇汽提发酵过程, CO<sub>2</sub> 通气量对酵母细胞生长具有明显的影响。结果表明, 随着通气量的增加, 对细胞生长呈现先促进后抑制的规律。本文研究通气量对于细胞生长的影响, 并建立回归了通气量因子的关联式及参数。为建立适宜的动力学模型, 优化汽提发酵过程提供依据。

**关键词:** 乙醇发酵; 汽提发酵; 通气量; 细胞

中图分类号: TS262.2; TS261.4

文献标识码: A

文章编号: 1001- 9286(2008) 05- 0050- 03

## Effects of CO<sub>2</sub> Flux on Yeast Cells Growth

LIU Zhen and LIU Pu

(Chemical Engineering & Pharmaceutics College, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

**Abstract:** During ethanol stripping fermentation, CO<sub>2</sub> flux had obvious influence on the growth of yeast cells. The experimental results indicated that with the increase of gas flux, it would firstly promote cells growth and later inhibit cells growth. In this paper, gas flux correlation formula was regressed, which could provide evidences for the establishment of suitable dynamics model and for the optimization of stripping fermentation process.

**Key words:** ethanol fermentation; stream stripping fermentation; gas flux; cells

随着社会、经济的快速发展, 能源短缺成为各国面对的严重问题。在众多可开发的再生能源(如太阳能、风能、氢能、生物质能等)中, 生物质发酵制乙醇被认为是最有希望替代石油的液体燃料之一。但目前, 乙醇发酵生产成本还高。为降低乙醇发酵生产成本, 各国学者在改变生产原料(如进行纤维素发酵)、筛选或构建高效工程菌、开发发酵分离耦合工艺等方面进行大量的研究。特别是出现了一大批耦合新工艺, 如真空发酵<sup>[1]</sup>、闪蒸发酵<sup>[2]</sup>、汽提发酵<sup>[3-7]</sup>、萃取发酵<sup>[8]</sup>、膜过程<sup>[9-10]</sup>等。其中, 汽提发酵最有希望实现工业化<sup>[7]</sup>。对于汽提发酵过程, Liu<sup>[3-4]</sup>、沈文豪<sup>[9]</sup>等进行了许多理论研究。但基础研究还不够深入, 特别作为汽提发酵主要控制因素的通气量对细胞生长影响的研究。探讨通气量对于细胞生长的影响, 对于建立适于汽提发酵的动力学模型, 汽提发酵过程的优化控制都有重要的意义。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 菌种

酿酒高活性耐高温型干酵母, 湖北宜昌安琪酵母股份有限公司生产。

#### 1.2 培养基组成

基金项目: 河南科技大学人才科学研究基金 No.06003。

收稿日期: 2008- 01- 21

作者简介: 刘振(1977-), 男, 河南洛阳人, 博士, 讲师, 主要从事化工与生化过程研究。

C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> 150 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5 g/L, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 g/L, 酵母膏 3 g/L, MgSO<sub>4</sub> 0.2 g/L, CaCl<sub>2</sub> 0.1 g/L, 以上试剂皆为分析纯。

#### 1.3 实验设备

反应器为自制玻璃容器<sup>[11]</sup>, 总体积为 2.4 L, 内无导流管, 气体从底部通入, 用金属丝网作气体分布器。汽提载气采用食品级 CO<sub>2</sub>, 由钢瓶提供, 并由气体转子流量计控制流量。

#### 1.4 实验方法

在气升式反应器中, 加入 1.5 L 培养基。灭菌后, 在 30 ℃ 下, 按 5 g/L 的比例加入酵母, 在通气量分别保持在 0 vvm、1.11 vvm、2.22vvm、3.33 vvm、4.44vvm、5.56 vvm 和 6.67 vvm(vvm 表示每分钟单位体积发酵醪的进气量)条件下, 于 30 ℃ 下进行发酵实验。实验只考查了发酵初期的情况, 由于在此时间范围内, 乙醇浓度很低, 乙醇对于细胞生长的抑制作用可以忽略, 这样排除了由于乙醇被移出间接对细胞生长的影响。实验过程中, 每隔 1 h 检测细胞 1 次浓度。

#### 1.5 细胞检测方法

采用比浊法。检测时, 从发酵罐中取出醪液, 稀释

10 倍,使菌体细胞的浓度在标准曲线的范围内,以清水为对照,测定 640 nm 的 OD 值,通过标准曲线换算得到菌体浓度。

## 2 结果与分析

通气量对细胞生长的影响见图 1,对比生长速率的影响见图 2。

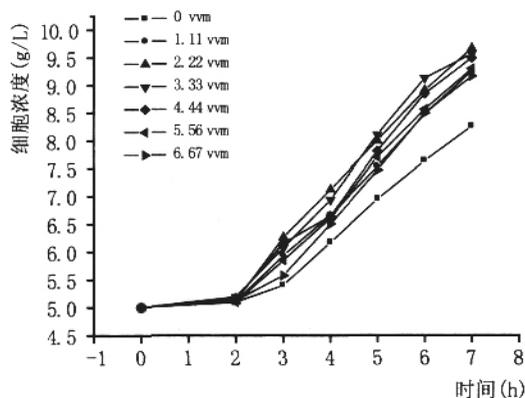


图 1 通气量对细胞生长的影响

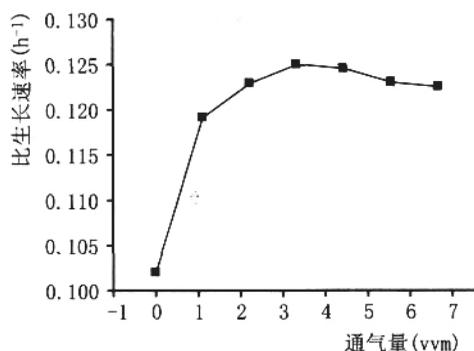


图 2 通气量对比生长速率的影响

图 1 表明,发酵开始阶段,细胞生长有一段延滞期,之后呈指数生长。通气量大于 0,细胞增长速度明显提高,但通气量达到最大为 6.67 vvm 时,相对通气量为 3.33 vvm,细胞的生长速度又有下降的趋势。图 2 表明,开始比生长速率随通气量急速上升,而后平缓,并开始出现略有下降的趋势。

由图 1 和图 2 可知,增加通气量既对发酵起促进作用,但在大的通气量下,又会对发酵产生抑制作用。这是由于细胞的生长速度受菌体自身的发酵能力和发酵过程(如质量、能量的传递等)两方面的影响。对于酵母乙醇发酵来讲,乙醇的生产速度,首先决定于以下几个步骤:醪液中的葡萄糖分子,通过对流、扩散到达细胞膜表面;在转运蛋白的协助下进入细胞内;在细胞内一系列酶的作用下,发生化学反应生产乙醇、二氧化碳等代谢产物;以浓度差为推动力,代谢产物透过细胞膜进入醪液。增加通气量,促进了物质的对流、扩散速度,一方面

增加了葡萄糖与细胞膜表面的转运蛋白的接触几率,另一方面会使代谢生产的乙醇和二氧化碳等物质迅速离开细胞膜表面,因而会提高发酵速度。

从图 1、图 2 还发现,继续增大通气量,细胞的生长略有下降趋势。这有可能是由于通气量的增加,相应的发酵醪运动的剪切力会增加,对酵母细胞造成损伤。虽然气升式反应器剪切力较小,酵母细胞壁也较厚,但在出芽点处和疤点处酵母细胞壁依然薄弱,容易由剪切力引起机械损伤,影响细胞的生长和代谢。

不少学者对机械搅拌发酵罐的研究表明,高的搅拌速度,会造成高的剪切力和高的湍流强度,会抑制菌体细胞的生长<sup>[12-16]</sup>。关于搅拌对于动力学方程的影响,Beyenal<sup>[12]</sup>在动力学方程上直接增加搅拌影响因素 Y(R),通过实验回归出与搅拌转速 R 的关系:

$$Y(R) = \frac{0.0028R^{1.047} - 1.298}{1.241 \times 10^{-9}R^{1.688} - 0.1169} \quad (1)$$

Diaz<sup>[13]</sup>提出搅拌效率的概念,定义为实际的反应速度与最佳搅拌条件下反应速度的比。并对搅拌效率与搅拌输入功率进行关联。

通气量是带有气提操作的发酵过程重要的影响因素,它不仅具有分离乙醇减轻产物抑制的作用,而且对细胞的生长会产生影响。在细胞生长动力学方程中应体现通气量的影响。本文提出通气因子的概念,修正目前细胞生长动力学模型中的最大比生长速率  $\mu_{max}$ 。通气因子的定义是,比生长速率与最佳混合条件下的比生长速率之比。在本文的实验条件下,通气量为 3.33 vvm,比生长速率最大,以此作为最佳混合条件。目前,通气量对细胞生长影响的机理还不确定。图 2 中通气因子的大小分布,与米氏方程的形式大体类似。可以假设通气因子 K(Q)具有以下形式:

$$K(Q) = \frac{k_1 + Q}{k_2 + Q} \quad (2)$$

式中, Q 表示通气量,  $k_1$  和  $k_2$  为方程待定参数。

但是用(2)式不能描述在大的通气量条件下,比生长速率出现下降的现象。因此,对(2)式进行如下修正:

$$K(Q) = \frac{k_1 + Q}{k_2 + Q} \exp(k_3 - k_4 Q) \quad (3)$$

图 3 是分别用(2)、(3)式拟合的结果,表示通气量与通气因子的关系。

其中,(2)式回归得到的参数  $k_1=0.2450$ ,  $k_2=0.3004$ 。(3)式的参数分别为  $k_1=0.8076$ ,  $k_2=1.1091$ ,  $k_3=0.1119$ ,  $k_4=0.0141$ 。很明显(3)式拟合的精度较高,反映了通气量对发酵促进和抑制的现象。

通气因子的表达形式也可用 4 次多项式 5 参数或如式(1)6 参数很好的拟合,但需要的参数较多。

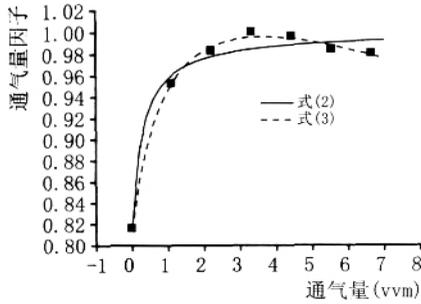


图3 通气量与通气因子的关系

### 3 结论

增大通气量对细胞生长呈现先促进后抑制的趋势。通气量对细胞生长有影响,其回归通气量因子的关联式及参数为:

$$K(Q) = \frac{k_1+Q}{k_2+Q} \exp(k_3 - k_4Q)$$

式中:  $k_1=0.8076$ ,  $k_2=1.1091$ ,  $k_3=0.1119$ ,  $k_4=0.0141$ 。

#### 参考文献:

- [1] Cysewski G R and Wilke C R, Rapid ethanol fermentations using vacuum and cell recycle[J].Biotechnol. Bioeng., 1977, 19: 1125- 1143.
- [2] Silva F L H D, Rodrigues M I and Maugeri F, Dynamic modeling simulation and optimization of an extractive continuous alcoholic fermentation process[J].J.Chem. Technol. Biotechnol., 1999, 74: 176- 182.
- [3] Liu H S and Hsu H W, Analysis of gas stripping during ethanol fermentation- 1 in a continuous stirred tank reactor[J]. Chem. Eng. Sci.,1990, 45(2) : 1289- 1299.
- [4] Lun H S and Hsu H W, Analysis of gas stripping during ethanol fermentation (2) a combined product-substrate inhibition case [J].Chemical Engineering Science, 1991, 46: 2551- 2565.
- [5] 沈文豪,肖希和,杭建忠,等.发酵过程中汽提的动力学行为探讨[J].高校化学工程学报,2003, 17(2) : 166- 172.
- [6] 张君,唐昌平,刘德华,等.指数流加模型在乙醇汽提发酵过程中的应用研究[J].食品与发酵工业,2004, 30(7) : 43- 47.
- [7] Taylor F Kurantz M J and Goldberg N et al, Kinetics of continuous fermentation and stripping of ethanol[J]. Biotechnology Letters, 1998, 20: 67.72.
- [8] Chnsten P, Minier M and Renon H, Ethanol extraction by supported liquid membrane during fermentation[J].Biotechnol. Bioeng., 1990, 36: 116.123.
- [9] Ikegami T, Yanagishita H, Kitamoto D et al, Concentration of fermented ethanol by pervaporation using silicalite membranes coated with silicone rubber[J].Desalination, 2002, 149: 49- 54.
- [10] Gryta M, Morawski A W and Tomaszewske M, Ethanol production in membrane distillation bioreactor[J].Catalysis Today, 2000, 56: 159- 165.
- [11] 刘振,张立峰,曾爱武,等.提高发酵过程乙醇分离效率的新型反应器[J].现代化工,2005, 25(2): 54- 56.
- [12] Beyenal H and Tanyolac A, A combined growth model of Zoogloea ramigera including multisubstrate, pH, and agitation effects[J]. Enzyme Microb. Technol.,1997, 21: 74- 78.
- [13] Diaz M Garcia A I and Garcia L A, Mixing power, external convection and effectiveness in bioreactors[J]. Biotechnol. Bioeng., 1996, 51: 131- 140.
- [14] Converti A Borghi M D and Ferraiolo G et al, Mechanical mixing and biological deactivation: the role of shear stress application time[J]. The Chemical Eengineering Journal, 1996, 62: 155- 167.
- [15] Toma M K Rukisha M P and Vannags J J et al, Inhibition of microbial growth and metabolism by excess turbulence[J]. Biotechnol. Bioeng., 1991, 38: 552- 556.
- [16] Dunlop E H and Ye S J, Micromixing in fermentors: metabolic changes in Saccharomyces cerevisiae and their relationship to fluid turbulence[J].Biotechnol. Bioeng., 1990, 36: 854- 864.

## 贵州龙大曲酱香原酒鉴评会在蓉城举行

本刊讯:贵州龙大曲酱香原酒鉴评会于2008年4月2日在蓉城举行。由全国著名白酒专家曾祖训、胡永松、赖登一、李大和等6人组成的专家组对贵州龙黔威酒业有限责任公司的“贵州龙大曲酱香原酒”进行了感官鉴评,曾祖训任组长,主持鉴评。由平坝县县委常委、县政府副县长杨忠带队的平坝县各政府机构负责人一行及平坝县部分白酒企业的领导10多人组成的考察团在场见证了鉴评会。经过认真品尝,专家们一致认为:“酒体微黄透明、酱香突出、醇厚丰满、香味协调、尾味甜净、空杯留香持久,具有优级酱香大曲原酒风格”。

鉴评结束后,专家们还与考察团一行进行了交流座谈,针对贵州白酒及平坝县白酒业的发展提出了许多宝贵意见和建议。(小雨)



贵州龙大曲酱香原酒鉴评会会场



专家在认真品鉴