

Рождение вина: стехиометрия.

В.С.Разуваев, кандидат технических наук,
ЧП «Маркетинговая фирма РВС», г. Ялта
Тел. (0654)396380
E-mail: rvs@yalta.us

Виноградное сусло – уникальная природная среда для проведения различного рода исследований. У него постоянное значение pH, средняя концентрация глюкозы (сахаров) равна 180 г/дм³, что позволяет его рассматривать как её молярный раствор.

Баланс процесса спиртового брожения наиболее близкий к действительности впервые дал Луи Пастер (1). В пересчёте на 1 г-моль глюкозы (180 г) он выглядит следующим образом, в г:

Спирт	87,48
Диоксид углерода	84,24
Глицерин	5,76
Янтарная кислота	0,36
Сухие дрожжи	2,16 (8,64 – прессованные дрожжи 75% влажности)
ИТОГО:	180,00

Работами В.Гваладзе (2) и Л.Женевуа (3) установлен баланс между глицерином и остальными продуктами спиртового брожения, согласно которому в единице объёма бродящей среды количество молей глицерина равно или превышает сумму удвоенного количества молей уксусной кислоты, пятикратного количества молей янтарной кислоты, удвоенного количества молей ацетоина, а также молей 2-3 бутиленгликоля (бутандиола) и ацетальдегида.

Опыты Ж.. Риберо-Гайона и Е. Пейно (4) по сбраживанию виноградного сока различными расами дрожжей, дали средние результаты, подтверждающие отмеченное соотношение. В пересчёте с молярных концентраций на массовые можно получить эталонные данные по выходу вторичных продуктов при нормальном прохождении спиртового брожения, г/дм³: глицерин – 5,9; уксусная кислота – 0,5; янтарная кислота – 0,8; ацетоин – 0,1; бутандиол – 0,4; ацетальдегид – 0,1.

Общий выход вторичных продуктов (7,8 г/дм³) практически совпадает с выходом дрожжей с 25% сухих веществ.

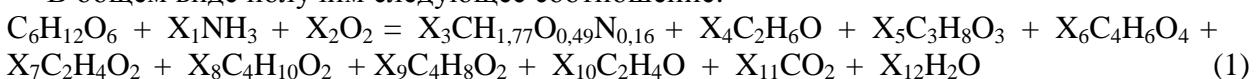
Поскольку процесс образования вторичных продуктов брожения тесно связан с размножением дрожжевых клеток, можно допустить существование прямой корреляционной зависимости между приростом биомассы и образованием вторичных продуктов брожения с коэффициентом их выхода (относительно биомассы) равном единице ($K_{вт}=1$). Тогда доля глицерина в общем выходе вторичных продуктов составит 0,76; уксусной кислоты – 0,06; янтарной кислоты – 0,11; ацетоина и ацетальдегида – по 0,01; бутандиола – 0,05.

С учётом вышеизложенного, а также работ Ерошина (5), Минкевича (6), В.Н.Иванова и Е.В.Стабниковой (7) по культивированию микроорганизмов известное уравнение спиртового брожения, открытое Гей-Люссаком



может быть дополнено и уточнено.

В общем виде получим следующее соотношение:



При сбраживании виноградного сусла рост микроорганизмов обычно не лимитирован ни сахарами, ни азотом, ни кислородом, поэтому выход дрожжей можно принять теоретически достижимым по глюкозе, то есть при допустимом законом сохранения энергии предельном выходе биомассы при росте на глюкозе 0,8 и максимально

возможном значении энергетической эффективности роста от предельного значения выхода 0,66 с каждого грамма потреблённой глюкозы можно получить $0,8 * 0,66 = 0,528$ г АСБ или 2,112 г прессованной. Следовательно, с ΔS_M г глюкозы можно получить $\Delta X / 0,528 \Delta S_\mu$ граммов Абсолютно Сухой Биомассы (100% сухих веществ), а коэффициент (v_x) расхода глюкозы на рост биомассы в пересчёте на прессованные дрожжи получается равным 0,473.

Выразим выход биомассы и продуктов брожения с одного грамма глюкозы:

Выход биомассы:

$$Y_\mu = \frac{0,528 \Delta S_\mu}{180} = \frac{\Delta X}{180}, \text{ г АСБ / г глюкозы}$$

Выход этанола:

$$Y_P = \frac{92(180 - \Delta S_\mu - K_{BT} \Delta S_\mu)}{180 * 180}, \text{ г этанола / г глюкозы}$$

Выход глицерина:

$$Y_G = \frac{0,76 K_{BT} \Delta X}{180} = \frac{0,4 K_{BT} \Delta S_\mu}{180}, \text{ г глицерина / г глюкозы}$$

Выход янтарной кислоты:

$$Y_{AH} = \frac{0,11 K_{BT} \Delta X}{180} = \frac{0,058 K_{BT} \Delta S_\mu}{180}, \text{ г янтарной кислоты / г глюкозы}$$

Выход уксусной кислоты:

$$Y_{UK} = \frac{0,06 K_{BT} \Delta X}{180} = \frac{0,032 K_{BT} \Delta S_\mu}{180}, \text{ г уксусной кислоты / г глюкозы}$$

Выход бутандиола:

$$Y_B = \frac{0,05 K_{BT} \Delta X}{180} = \frac{0,026 K_{BT} \Delta S_\mu}{180}, \text{ г бутандиола / г глюкозы}$$

Выход ацетоина:

$$Y_{ACI} = \frac{0,01 K_{BT} \Delta X}{180} = \frac{0,053 K_{BT} \Delta S_\mu}{180}, \text{ г ацетоина / г глюкозы}$$

Выход ацетальдегида (уксусного альдегида):

$$Y_{YA} = \frac{0,01 K_{BT} \Delta X}{180} = \frac{0,053 K_{BT} \Delta S_\mu}{180}, \text{ г ацетальдегида / г глюкозы}$$

На основании этих выходов выразим коэффициенты $X_3 - X_{10}$ уравнения (1):

$$X_3 = 180 * 0,528 * \Delta S_\mu / 24,28 * 180 = 0,0217 \Delta S_\mu;$$

$$X_4 = 180 * 92 * (180 - \Delta S_\mu - K_{BT} \Delta S_\mu) / 46 * 180 = 0,01111(180 - \Delta S_\mu - K_{BT} \Delta S_\mu);$$

$$X_5 = 180 * 0,4 K_{BT} \Delta S_\mu / 92 * 180 = 0,00435 K_{BT} \Delta S_\mu;$$

$$X_6 = 180 * 0,058 K_{BT} \Delta S_\mu / 118 * 180 = 0,00049 K_{BT} \Delta S_\mu;$$

$$X_7 = 180 * 0,032 K_{BT} \Delta S_\mu / 60 * 180 = 0,00053 K_{BT} \Delta S_\mu;$$

$$X_8 = 180 * 0,026 K_{BT} \Delta S_\mu / 90 * 180 = 0,00029 K_{BT} \Delta S_\mu;$$

$$X_9 = 180 * 0,053 K_{BT} \Delta S_\mu / 88 * 180 = 0,0006 K_{BT} \Delta S_\mu;$$

$$X_{10} = 180 * 0,053 K_{BT} \Delta S_\mu / 44 * 180 = 0,0012 K_{BT} \Delta S_\mu.$$

Остальные коэффициенты уравнения (1) находим путём решения системы уравнений балансов по азоту (X_1), кислороду (X_2), углероду (X_3) и водороду (X_{12}):

$$X_1 = 0,00348\Delta S_\mu; \quad X_2 = 0,0099\Delta S_\mu + 0,00873K_{bt}\Delta S_\mu; \quad X_{11} = 2 + 0,00047\Delta S_\mu + 0,00119K_{bt}\Delta S_\mu; \quad X_{12} = 0,01931\Delta S_\mu + 0,00715K_{bt}\Delta S_\mu.$$

Баланс по азоту:

$$X_1 = 0,16 * 0,02175\Delta S_\mu = 0,00348\Delta S_\mu$$

Баланс по кислороду:

$$6 + 2X_2 = 0,49 * 0,02175\Delta S_M + 0,01111(180 - \Delta S_\mu - K_{em}\Delta S_\mu) + 3 * 0,00435K_{em}\Delta S_\mu + 4 * 0,00049K_{em}\Delta S_\mu + 2 * 0,00053K_{em}\Delta S_\mu + 2 * 0,00029K_{em}\Delta S_\mu + 2 * 0,0006K_{em}\Delta S_\mu + 1 * 0,0012K_{em}\Delta S_\mu + 4 + 0,00094\Delta S_\mu + 0,00238K_{em}\Delta S_\mu + 0,01931\Delta S_\mu + 0,00715K_{em}\Delta S_\mu$$

Баланс по углероду:

$$6 = 0,02175\Delta S_\mu + 2 * 0,01111(180 - \Delta S_\mu - K_{em}\Delta S_\mu) + 3 * 0,00435K_{em}\Delta S_\mu + 4 * 0,00049K_{em}\Delta S_\mu + 2 * 0,00053K_{em}\Delta S_\mu + 4 * 0,00029K_{em}\Delta S_\mu + 4 * 0,0006K_{em}\Delta S_\mu + 2 * 0,0012K_{em}\Delta S_\mu + X_{11}$$

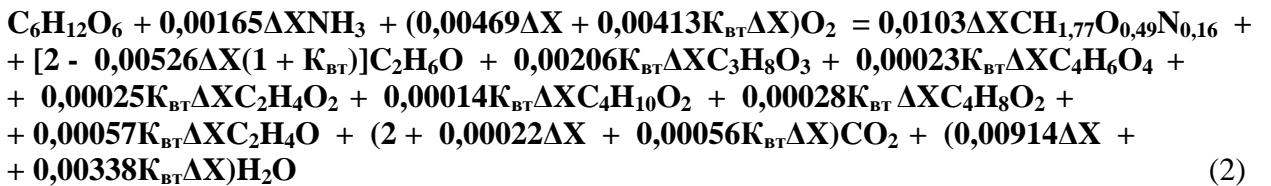
Баланс по водороду:

$$12 + 0,01044\Delta S_\mu = 1,77 * 0,02175\Delta S_\mu + 6 * 0,01111(180 - \Delta S_\mu - K_{em}\Delta S_\mu) + 8 * 0,00435K_{em}\Delta S_\mu + 6 * 0,00049K_{em}\Delta S_\mu + 4 * 0,00053K_{em}\Delta S_\mu + 10 * 0,00029K_{em}\Delta S_\mu + 8 * 0,0006K_{em}\Delta S_\mu + 4 * 0,0012K_{em}\Delta S_\mu + 2X_{12}$$

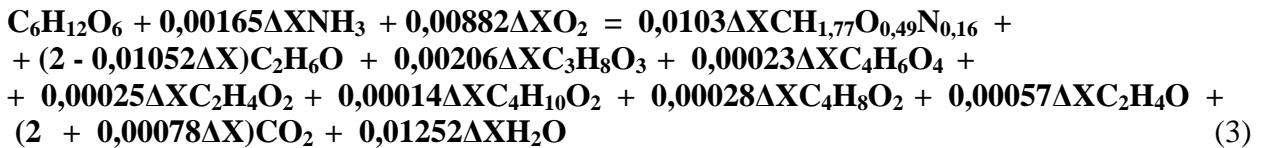
Поскольку величину ΔS_μ (расход глюкозы на биосинтез биомассы) практически определить невозможно, заменим её на легко измеряемую величину прироста биомассы дрожжей:

$$\Delta S_\mu = \frac{\Delta X \text{ (Абсолютно Сухой Биомассы)}}{0,528} = \frac{\Delta X \text{ (с 25% Сухих Веществ)}}{2,212}$$

После подстановки в уравнение (1) и преобразований получаем основное выражение, отражающее процесс спиртового брожения виноградного сусла:



Сделав допущение, что суммарный выход вторичных продуктов практически совпадает с выходом прессованных дрожжей, то есть $K_{bt} = 1$, вместо (2) получаем упрощенное уравнение спиртового брожения, имеющее место при рождении вина:



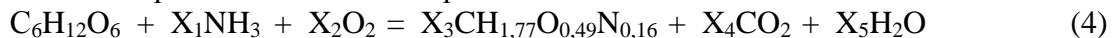
По уравнению (3) можно рассчитать потребность дрожжей в азоте (a_x) и кислороде (m_x):

$$0,00165 * 17 * 14$$

$$a_x = \frac{0,00165 * 17 * 14}{0,0103 * 24,28 * 17 * 4} = 0,023 \text{ г азота/г прессованных дрожжей};$$

$$m_x = \frac{0,00882 * 32}{0,0103 * 24,28 * 4} = 0,28 \text{ г кислорода/г прессованных дрожжей.}$$

Определим выход диоксида углерода, образующегося в процессе роста единицы биомассы дрожжей, из стехиометрического уравнения полного окисления глюкозы до CO_2 и H_2O аналогично произведенным выше расчётом:



После вычисления коэффициентов уравнение (4) принимает следующий вид:
 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 0,6256\text{NH}_3 + 3,5779\text{O}_2 = 3,91\text{CH}_{1,77}\text{O}_{0,49}\text{N}_{0,16} + 2,09\text{CO}_2 + 7,18\text{H}_2\text{O} \quad (5)$

Откуда искомая характеристика будет определена как:

$$K_x^{sg} = \frac{2,09 * 44}{3,91 * 24,28 * 4} = 0,24175 \Delta X / \Delta S \quad (6)$$

Из соотношения (5) вычислим потребность дрожжей на синтез биомассы в азоте:

$$a_x = \frac{0,6256 * 14}{3,91 * 24,28 * 4} = 0,023 \text{ г азота/г дрожжей (25% сухих веществ).}$$

Как следует из расчёта, она оказывается такой же, как и при неполном окислении глюкозы, то есть при брожении.

Потребность дрожжей на синтез единицы биомассы в кислороде также близка к рассчитанной из уравнения брожения:

$$m_x = \frac{3,5779 * 32}{3,91 * 24,28 * 4} = 0,3 \text{ г кислорода/г дрожжей (25% сухих веществ).}$$

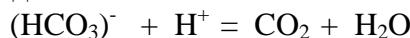
На основании полученного стехиометрического уравнения (3) и табличных значений энтальпий по методу материально-энергетического баланса (7) произведём расчёт теплового эффекта (Q) от сбраживания 1 г-моля глюкозы в виноградном сусле при среднем приросте биомассы прессованных дрожжей 8,6 г/дм³.

$$Q = (6 * 4 + 12 - 12)27,954 - (1 * 4 + 1,77 - 2 * 0,49 - 3 * 0,16)0,0103 * 8,6 * 27 - (2 * 4 + 6 - 2)(2 - 0,01052 * 8,6)26,817 - (3 * 4 + 8 - 3 * 2)0,00206 * 8,6 * 28,2 - (4 * 4 + 6 - 4 * 2)0,00023 * 8,6 * 25,6 - (2 * 4 + 4 - 2 * 2)0,00025 * 8,6 * 26,1 - (4 * 4 + 10 - 2 * 2)0,00014 * 8,6 * 27,6 - (4 * 4 + 8 - 2 * 2)0,00028 * 8,6 * 27,6 - (2 * 4 + 4 - 2 * 1)0,00057 * 8,6 * 27,3 - 0 - 0 = 34,545 \text{ ккал/моль или } 144,4 \text{ кдж/моль.}$$

То есть тепловой эффект брожения оказался весьма близким к экспериментально полученным значениям Ж.. Рибера—Гайоном - 33ккал/моль (8). В справочной же и другой научно-технической литературе приводятся данные, отличающиеся от расчётной величины как в большую, так и в меньшую сторону (9). Объясняется это различными условиями брожения и, следовательно, различным приростом биомассы, а, значит, и образованием вторичных продуктов брожения, возможно, и несовершенством использованных методов расчёта. Как известно, метод материально-энергетического баланса даёт наилучшие результаты (7).

Из анализа уравнения (3) следует, что при увеличении (уменьшении) прироста биомассы на 1 г/дм³ тепловой эффект увеличивается (уменьшается) на 3,5 кдж/моль. При отсутствии же прироста биомассы ($\Delta X = 0$) он равен 114 кдж/моль.

Во время брожения диоксид углерода выделяется из дрожжевой клетки в жидким виде, то есть проходит стадию угольной кислоты с поглощением части тепла, прежде чем превратиться в газ и выделиться из вина:



С учётом поправки на энтальпию CO_2 , как вещества химического базиса, величина теплового эффекта будет ещё меньше:

$$Q = 114 - 2 * 4,18(165,4 - 94 - 68,3) = 88 \text{ кдж/моль,}$$

где, 165,4, 94 и 68,3 – энталпия (HCO_3^-), газообразного CO_2 и воды соответственно.

Исходя из вышеизложенного, получаем математическое выражение, охватывающее и объясняющее накопленные исследователями данные по тепловому эффекту при спиртовом брожении:

$$Q = 88 + 3,5\Delta X \quad (7)$$

Это выражение позволяет определить выход теплоты при брожении в расчёте на грамм потреблённой глюкозы:

$$C_{SX} = 0,489 + 3,5\Delta X/\Delta S \quad (8)$$

Аналогичным образом находится выражение для определения выхода диоксида углерода (в г) при сбраживании грамма глюкозы:

$$K_{eX}^{Sg} = 0,48889 - 0,2085\Delta X/\Delta S \quad (9)$$

Также рассчитаем и выход этанола (в г) при сбраживании грамма глюкозы:

$$K_X^{Sp} = 0,5111111 - 0,4845\Delta X/\Delta S \quad (10)$$

Общий выход диоксида углерода, образующегося при сбраживании сахаров и росте биомассы, определится из соотношения:

$$K_{eX}^{Sg} + K_X^{Sp} = 0,48889 - 0,2085\Delta X/\Delta S + 0,24175\Delta X/\Delta S = 0,48889 + 0,033\Delta X/\Delta S \quad (11)$$

Выполненные исследования положены в основу биоинженерных расчётов для создания новых способов осуществления биотехнологических процессов и их аппаратурного обеспечения.

Литература:

1. Pasteur L.C. r. Academy Science, 1858, t. 46, p. 857.
2. Гваладзе В.З. Корреляция между продуктами алкогольного брожения. Тбилиси, 1936.
3. Genevois L. Bulletin Societe Chemistry Biology, 1936, v.18, p.295.
4. Рибера-Гайон Ж., Пейно Э., Виноделие, М, Пищевая промышленность, 1971, 416 с.
5. Ерошин В.К. Основы материально-энергетического баланса роста микроорганизмов. В сб. «Лимитирование и ингибирование микробиологических процессов». Пущино, АН СССР, 1980, стр. 34-55.
6. Минкевич И.Г. Физико-химические основы материально-энергетического баланса клеточного метаболизма. В сб. «Лимитирование и ингибирование микробиологических процессов». Пущино, АН СССР, 1980, стр. 55-91
7. Иванов В.Н., Стабникова Е.В. Стхиометрия и энергетика микробиологических процессов. Киев, «Наукова Думка», 1987, 152 с.
8. Рибера-Гайон Ж., Пейно Э., Рибера-Гайон П., Сюдро П. Теория и практика виноделия. Том 3. Способы производства вин. Превращения в винах. М, Пищевая промышленность, 1980, 480 с.
9. Справочник по виноделию. Под редакцией Малтабара В.М. и Шприцмана Э.М., М, Пищевая промышленность, 1973, 408 с.