

文章编号 :1009 - 038X(2000)05 - 0440 - 03

啤酒酵母自溶动力学的研究

张晓鸣¹ , 袁信华¹ , 章克昌²

(1. 无锡轻工大学食品学院 ,江苏无锡 214036 ;2. 无锡轻工大学生物工程学院 ,江苏无锡 214036)

摘 要 :研究了啤酒酵母自溶过程中溶出产物随自溶时间的变化 ,建立了啤酒酵母自溶过程中产物溶出的非结构性动力学模型 .应用非线性最小方差回归方法得到自溶反应的速度常数 Ka 及产物生成系数 α_{KP} 、 β_{LP} 等 .酵母自溶过程中产物溶出遵循一级反应速度方程 .

关键词 :啤酒酵母 ;自溶 ;动力学

中图分类号 :TQ926 文献标识码 :A

Study on the Autolysis Kinetics of Brewer Yeast

ZHANG Xiao-ming¹ , YUAN Xin-hua¹ , ZHANG Ke-chang²

(1. School of Food Science & Technology , Wuxi University of Light Industry , Wuxi 214036 ;2. School of Biotechnology , Wuxi University of Light Industry , Wuxi 214036)

Abstract : The study was conducted to evaluate the autolysis kinetics of brewer yeast . An unstructured kinetic model of first order was found to be capable of simulating quite satisfactorily the time course of residual suspended solids(Y) in the slurry , as well as Kjeldahl(KP) and Lowry(LP) protein accumulation in the clear extract . The autolysis kinetic rate constant (Ka) and yield factors for Kjeldahl and Lowry protein on total solids hydrolysed were determined by using a non-linear least squares estimation method .

Key words : brewer yeast ;autolyse ;kinetics

自溶法是生产啤酒酵母提取物最为常用的一种方法 ,国内外在这方面的研究报道已有很多^[1] ,主要集中在如何提高蛋白质的提取率方面 .自溶条件一般为 :自溶温度 40 ~ 60 ℃ ,pH 5 ~ 7 ,酵母质量分数 10% ~ 15% ,并加入 NaCl 等细胞质壁分离促进剂 ,而对自溶过程中产物溶出的动力学过程及溶出产物的组成研究甚少 .作者通过建立一个酵母自溶过程中产物溶出的非结构性动力学模型 ,分析酵母自溶过程中产物溶出及降解的规律 ,更科学、合理和简捷地研究自溶过程的影响因素 ,优化自溶法

提取酵母蛋白质的工艺参数 .

1 材料与方法

1.1 材料

啤酒废酵母 无锡狮王太湖水啤酒有限公司提供

1.2 分析方法

1.2.1 酵母自溶速度 折光率法^[2] .自溶样品经离心分离、过滤后 ,取上清液 ,测定其折光率 ,按照食品中可溶性固形物的计算方法确定上清液中固

形物含量并计算出酵母自溶速度.

1.2.2 粗蛋白 凯氏定氮法.

1.2.3 真蛋白 福林—酚法.

1.2.4 TCA 可溶性肽 取 0.5 mL 上清液,加入 0.5 mL 10 g/dL TCA 水溶液混合均匀后,2 000 r/min 离心 20 min,取上清液用福林—酚法测定的蛋白质含量即可间接获得 TCA 可溶性肽量^[3].

1.2.5 氨基氮 改良的甲醛滴定法^[4].

1.2.6 氨基酸 氨基酸自动分析仪测定.

2 结果与讨论

2.1 模型描述

建立自溶过程产物溶出动力学模型是为了简洁的归纳和描述自溶过程溶出产物量和时间的关系及溶出产物之间的相互关系.因此,把酵母细胞(胞壁层、细胞质、细胞核)作为一个完整的酵母细胞体(yeast cell mass),并假定在这样一个细胞体中,蛋白质和碳水化合物等组分都是均匀分布的.这种简化不需要分开考虑水解体系中存在的各种对应于特定的结构和物质的不同的酶,而认为内源水解酶是作用于整个细胞.自溶过程中酵母细胞经历了一个逐渐溶解的过程,与之伴随的是介质中粗蛋白(KP)、真蛋白(LP)和总糖(G)的量不断增加,溶出的蛋白质随即降解为肽和氨基酸,这样一个简单的模型可以如图 1 所示.

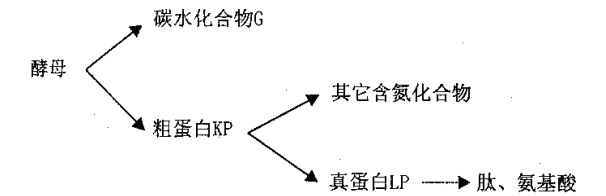


图 1 酵母降解途径

Fig.1 Mechanism of yeast hydrolysis

为简单起见,用下列一组微分方程来表示自溶过程(重点考虑蛋白质的溶出情况,略去碳水化合物)^[4-6].

$$dY/dt = -K_a(Y - Y_{\infty}) \tag{1}$$

$$d[KP]/dt = -\alpha_{KP}(dY/dt) \tag{2}$$

$$d[LP]/dt = \beta_{KP}(d[KP]/dt) \tag{3}$$

这里 K_a 是溶出反应的一级反应速度常数, α_{KP} 是溶出单位量的酵母时的产物生成系数,理论上应等于该组分在酵母干物质中的质量分数,但由于在较高的自溶温度下,细胞内源 β -葡聚糖酶活性较低,胞壁水解较慢,因而在溶出产物中碳水化合物含量偏低,蛋白质含量相应高于其在酵母中的含

量. β_{KP} 是溶出单位粗蛋白 KP 时真蛋白 LP 的生成系数. Y_{∞} 是残余酵母的平衡值,一般 $Y_{\infty} \neq 0$,但在某些情况下 Y_{∞} 很小,可以忽略.

假定所有的系数均为常数,积分初始条件为 $t = 0$ 时, $Y = Y_0$, $[KP] = [KP]_0$, $[LP] = [LP]_0$,由上述微分方程可以得到以下的积分方程:

$$\ln[(Y - Y_{\infty})(Y_0 - Y_{\infty})] = -K_a t$$
$$Y = (Y_0 - Y_{\infty})e^{-K_a t} + Y_{\infty} \tag{4}$$

$$[KP] = [KP]_0 - \alpha_{KP}(Y - Y_0)$$
$$[KP] = -\alpha_{KP} Y + C_1 \tag{5}$$

$$[LP] = [LP]_0 + \beta_{KP}([KP] - [KP]_0)$$
$$[LP] = \beta_{KP}[KP] + C_2 \tag{6}$$

当 $Y_{\infty} = 0$ 时,方程(4)可简化为

$$Y = Y_0 e^{-K_a t} \tag{7}$$

2.2 参数的确定和结果讨论

根据预试的情况确定在温度 54 ℃,pH 6.8,酵母质量分数($Y_{d0} = 10\%$)的条件下进行酵母自溶试验,图 2 为酵母自溶过程的产物溶出曲线.

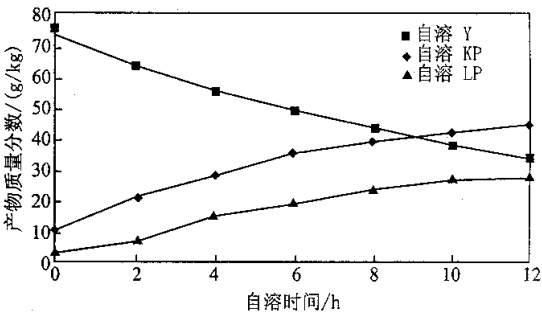


图 2 酵母自溶产物的溶出时间曲线

Fig.2 Kinetics of yeast autolysis

值得指出的是,当 $t = 0$ 时,自溶体系中测定的固体酵母质量分数(Y_{t0})明显小于配置的酵母初始质量分数(Y_{d0})。这是因为酵母含有部分可溶性成分.

采用非线性最小方差回归方法拟合图 2 中实验数据(Y 和 t)可以确定动力学速度常数 K_a 和平衡参数 Y_{∞} (如表 1 所示),拟合结果为 $Y_{\infty} = 0$,说明啤酒酵母的内源酶能比较完全地降解酵母细胞,因此 Y_{∞} 可以忽略.

通过线性回归图 2 中的数据可以得到相应的产物生成系数 α_{KP} 和 β_{LP} (见图 3 A 和表 1),实验结果表明,酵母自溶过程中产物溶出遵循一级反应速度方程,酵母残余量按指数规律衰减.

2.3 自溶产物分析

从表 2 可以看出,自溶开始后溶出的真蛋白中 TCA 可溶性的小分子肽(包括氨基酸)占 84% ~ 97%,溶出总氮中氨基酸占 62% ~ 72%,也就是说

表 1 啤酒酵母自溶动力学参数拟合结果

Tab.1 Simulation results on the kinetics of yeast autolysis					
参数	拟合结果	r^2	参数	拟合结果	r^2
K_a/h^{-1}	0.06837	0.99	$\alpha_{KP}/(g/g)$	0.7450	0.99
$Y_{\infty}/(g/kg)$	0	0.99	$\beta_{LP}/(g/g)$	0.7364	0.97

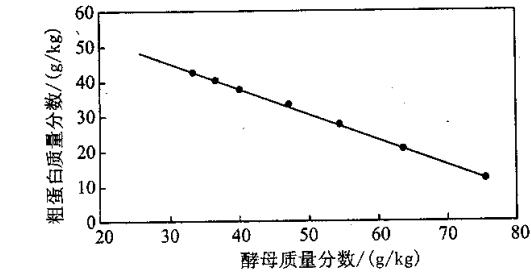


图 3 自溶过程中粗蛋白与酵母的关系

Fig.3 Evolution of KP vs.yeast concentration during autolysis

溶出蛋白质中小分子物质是主要的,反映溶出过程实质上是蛋白质大分子在内源酶作用下降解成小分子再扩散到介质中的过程.自溶起始点($t=0$)总氮中含 86.32% 的氨基氮,说明此时在介质中蛋白质主要以游离氨基酸存在,这是最易溢出细胞壁的成分.

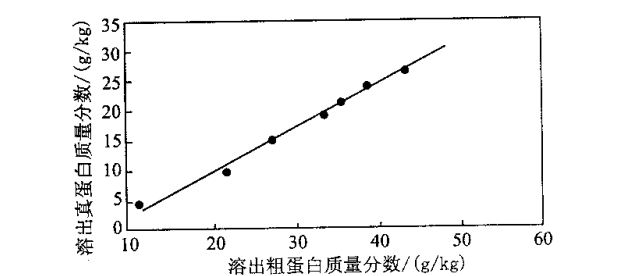


图 4 溶出产物中真蛋白与粗蛋白的关系

Fig.4 Relationship between LP and KP in the autolysis

表 2 自溶产物组成随时间变化情况

测定指标	自溶时间/h						
	0	2	4	6	8	10	12
酵母质量分数/(g/kg)	75.69	63.80	54.62	47.59	40.52	37.00	33.56
粗蛋白质量分数/(g/kg)	11.40	21.24	28.00	34.47	37.56	40.31	43.40
真蛋白质量分数/(g/kg)	4.30	7.30	15.06	18.77	22.30	25.12	26.00
TCA 溶解指数/%		87.91	84.78	93.42	96.83	95.78	95.25
AAN 溶出总 N 质量分数/%	86.32	70.51	71.88	63.57	66.65	65.44	62.85
粗蛋白提取率/%	20.00	37.26	49.12	60.47	65.89	70.74	76.14

3 结 论

啤酒废酵母自溶过程中一级反应速度方程能很好地拟合自溶过程中残余酵母 Y 及溶出产物中

粗蛋白 KP、真蛋白 LP 随时间变化的情况.酵母自溶产物组成随时间变化的情况说明自溶过程中胞内生物大分子必须降解为小分子才能溢出胞外.

参考文献

[1] HUNTER J B ,ASENJO J A. Kinetics of enzymatic lysis and disruption of yeast cells .I. Evaluation of two lytic systems with different properties[J]. **Biotechnol Bioengng** ,1987 ,30 :471 ~ 480.

[2] 张晓鸣.啤酒废酵母酶法制取小肽合成矿物元素蛋白盐[D].无锡:无锡轻工大学,1998.

[3] LOWRY O H. Protein measurement with the folin phenol reagen[J]. **J Biol Chem** ,1951 ,193 :265 ~ 268.

[4] 张晓鸣.蛋白的水解和氨基酸络合物的研究[D].无锡:无锡轻工大学,1990.

[5] HUNTER J B ,ASENJO J A. Kinetics of enzymatic lysis and disruption of yeast cells II. A simple model of lysis kinetics[J]. **Biotechnol Bioengng** ,1987 ,30 :481 ~ 490.

[6] HUNTER J B ,ASENJO J A. A structured mechanistic model of the kinetics of enzymatic lysis and disruption of yeast cells[J]. **Biotechnol Bioengng** ,1988 ,31 :929 ~ 943.

[7] MAURO M. Effect of some physico - chemical treatments on the kinetics of autolysed yeast extract production from whey[J]. **J Sci Food Agric** ,1995 ,67 :347 ~ 357.