

Matematičko modelovanje proizvodnje etanola u toku fermentacije medovine

Saša Papuga^{1*}, Aleksandar Savić¹, Zvezdana Kisin¹

¹Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet, Republika Srpska, BiH

ISSN 2232-755X
UDC: 661.722:519.87
DOI: 10.7251/GHTE1814015P
Originalni naučni rad

Rad primljen: 31.08.2018.
Rad prihvaćen: 10.12.2018.
Rad dostupan od 31.12.2018.
na <https://glasnik.tf.unibl.org/>

Ključne riječi:
medovina,
etanol,
matematičko modelovanje,
Gompertz model.

Niz autora je dokazalo da se modifikovana Gompertz-ova jednačina može primijeniti za matematičko modelovanje kinetike fermentacije različitih supstrata. U ovom radu se po prvi put analizira primjenjivost modifikovane Gompertz-ove jednačine za opisivanje kinetike nastanka etanola prilikom procesa fermentacije medovine u laboratorijskim uslovima. Optimalni kinetički parametri su dobijeni fitovanjem eksperimentalnih podataka u modifikovani Gompertzov-model, te primjenom nelinearne regresione analize i ocjenom regresionih koeficijenata metodom najmanjih kvadrata. Numerička optimizacija parametara i njihova statistička analiza je izvršena primjenom matematičkih alata Solver i Regression iz programskog paketa Microsoft Excel. Dobijeni matematički model opisuje nastanak etanola tokom fermentacije medovine, predviđa maksimalnu koncentraciju etanola, maksimalnu brzinu fermentacije i lag vrijeme produkcije etanola.

UVOD

Pod medom se podrazumjeva gusta, slatka, sirupasta ili kristalna materija, blijedožute do tamnomrke boje, specifičnog mirisa i ukusa, proizvod pčela medarica *Apis mellifica* L. i *Apis dorsata Fabricius*. Med predstavlja mješavinu velikog broja sastojaka; preko 80% meda čine ugljeni hidrati, a sadrži i neznatne količine azotnih jedinjenja (proteine, aminokiseline i amide), organske kiseline (limunsku, vinsku, oksalnu, jabučnu, glukonsku i dr.), nukleinske kiseline, vitamine (tiamin, folnu, pantotensku i nikotinsku kiselinu, piridoksin, riboflavin, biotin i vitamin C), mineralne materije (kalijum, natrijum, magnezijum, fosfor i dr.) (Škenderov & Ivanov, 1986).

Medovina ili gverc (gverc) je tradicionalno alkoholno piće koje sadrži 8 - 18% vol. etanola i dobija se fermentacijom razblaženog meda po sličnom postupku kao kod proizvodnje bijelih vina, uz korištenje odgovarajućih kvasaca (Pereira et al. 2009). Fermentacija medovine može da traje i do nekoliko mjeseci, što zavisi od vrste meda, soja kvasca kao i sastava meda. Med predstavlja odličan izvor ugljenih hidrata za proces fermentacije, ali ne posjeduje dovoljno visoke koncentracije drugih hranljivih materija (npr. azota) koje mogu da uspore samu fermentaciju. Iz tog razloga postoji potreba za dodatkom izvora azota (Kempka et al. 2014), ali i drugih hranljivih materija (voće, začini, itd.), ali u količinama koje ne bi trebalo da prikrije miris i okus meda.

Sa porastom interesovanja za industrijsku primjenu alkoholne fermentacije, predloženi su različiti kinetički modeli praćenja prirasta mikrobne biomase, produkcije etanola i potrošnje substrata (Song et al. 2008; Dodić et al, 2012; Olaoye & Kolawole, 2013; Oliviera, 2017). Kinetički modeli alkoholne fermentacije daju matematički opis procesa pri različitim procesnim uslovima, kao što su temperatura, aeracija, pH, miješanje, regulacija nivoa pjene, različite korekcije parametara i dr., te omogućavaju bolje upravljanje procesom. Ovo pruža mogućnost relativno lake optimizacije procesa fermentacije, odnosno iznalaženja optimalnih parametara procesa koji će smanjiti troškove proizvodnje i povećati kvalitet krajnjeg proizvoda. Stoga, može se reći da kinetički modeli predstavljaju važan korak u razvoju i izvođenju procesa fermentacije u industrijskim razmjerama.

Cilj ovog rada je praćenje kinetike procesa fermentacije različitih uzoraka medovine, ćelijama kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, uz ocjenu mogućnosti primjene modifikovanog Gompertzovog-modela za opisivanje brzine nastanka etanola. Ranija istraživanja su potvrdila mogućnosti primjene ovog modela za opis kinetike alkoholne fermentacije različitih supstrata (Dodić et al. 2012; Olaoye & Kolawole, 2013; Sheetal & Patil, 2014; Srimachai et al. 2015). Dodić et al. (2012) su dokazali primjenjivost pomenutog modela za opis produkcije bioetanola pri fermentaciji šećerne repe. Primjenjivost navedenog modela potvrđena je i kod opisa produkcije bioetanola pri fermentaciji lišća

* Korespondentni autor: Saša Papuga, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Vojvode Stepanovića 73, Banja Luka, BiH; email: sasa.papuga@tf.unibl.org

palme različite starosti (Srimachai et al.2015), kao i pri fermentaciji glukoze biomase (Gawande & Patil, 2014). Tjørve, K.M.C. i Tjørve, E. (2017) su pokazali mogućnosti primjene različitih oblika Gompertz-ove krive kod opisa rasta različitih bioloških sistema. Na osnovu pregleda dostupne literature ustanovljeno je da Gomperz-ov model do sada nije bio korišten za opisivanje procesa proizvodnje medovine.

MATERIJAL I METODE RADA

Za proizvodnju medovine u laboratorijskim uslovima korišteni su med i jagode sa područja grada Doboj. Za provođenje laboratorijskih mjerenja korištena je slijedeća oprema: UV-VIS spektrofotometar (Milton Roy Spectronic 1201, USA), pH metar (Hanna Instruments HI-2211, USA), baždareni piknometar, kolba za destilaciju (200 - 250 ml), kondenzator, vodeno kupatilo (J.P. Selecta, Spain).

Fizičko-hemijska analiza meda

Za hemijsku analizu meda korištene su metode iz Pravilnika o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda BiH (2009):

- određivanje pH vrijednosti
- određivanje sadržaja šećera

Za svaku od navedenih metoda rađena su paralelna mjerenja.

Priprema rastvora meda sa željenim sadržajem suve materije i fermentacija

Med je razrijeđen sa tolikom količinom vode da se dobije rastvor sa otprilike 17% šećera. U pripremljeni rastvor meda dodano je 10% kaše od jagode i cjelokupna masa je pasterizovana 15 min. na 60-65°C. Nakon pasterizacije rastvori su ohlađeni do sobne temperature i u sterilnim uslovima raspodijeljeni prema šemi rada po 170-200 ml u po 2 staklene boce od 250 ml (SIMAX, Czech Republic). U Tabeli 1 dat je opis pripremljenih uzoraka. Nakon toga u svaku bocu dodano je po 600 mg/l kvasca, stavljene su vrenjače i izvršeno vaganje mase boca. Za potrebe rada je korišten komercijalni pekarski kvasac (Fermin Senta, Serbia). Kao hranivo za kvasac (izvor YAN) korišten je komercijalni preparat VitaFerm® Ultra F3 (Erbslöh, Germany). Boce sa vrenjačama su stavljene u termostat na temperaturu od 25°C. Fermentacija je praćena 21 dan, pri čemu je mjerena promjena mase boca sa vrenjačama usljed oslobađanja CO₂ i drugih isparljivih komponenti. Nakon završene fermentacije sadržaj boca, koje predstavljaju isti uzorak, je spojen, analiziran i rezultat predstavljen u obliku srednje vrijednosti.

Za analizu pripremljenih rastvora meda korištene su slijedeće metode određivanja: sadržaja šećera i pH

vrijednosti po metodama iz Pravilnika o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda BiH (2009), a sadržaja usvojivog azota (YAN) po metodi iz rada Pereira et al. (2014).

Za svaku od navedenih metoda rađena su paralelna mjerenja.

Za analizu medovine korištene su slijedeće metode: mjerenje pH vrijednosti i sadržaja alkohola (Blesić, 2006), a određivanje sadržaja šećera metoda po Pravilniku o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda BiH (2009).

Za svaku od navedenih metoda rađena su paralelna mjerenja.

Kinetički model i proračuni

Produkcija etanola je opisana primjenom modifikovanog Gompertz-ov modela tj. slijedeće jednačine:

$$P = P_m \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{r_{p,m} \cdot \exp(1)}{P_m} \right] (t_i - t) + 1 \right\} \quad (1)$$

gdje je P koncentracija etanola (g/l), P_m je potencijalna maksimalna koncentracija etanola (g/l), r_{p,m} je maksimalna brzina nastanka etanola (g/l·h), t_i je lag vrijeme odnosno vrijeme od početka fermentacije do početka eksponencijalne produkcije etanola (h) i t je vrijeme fermentacija (h).

Kinetički parametri (P_m, r_{p,m} i t_i) su dobijeni fitovanjem eksperimentalnih podataka u modifikovani Gompertzov-model, te primjenom nelinearne regresione analize i ocjenom regresionih koeficijenata metodom najmanjih kvadrata. Numerička optimizacija parametara i njihova statistička analiza su izvršeni primjenom matematičkih alata Solver i Regression iz programskog paketa Microsoft Excel, nelinearnom metodom analize.

Efikasnost fermentacije

Potrošnja šećera (S_c), prinos etanola (E_p), produktivnost etanola (E_p) i efikasnost fermentacije (E_E) su proračunati korišćenjem sljedećih jednačina:

$$S_c = \frac{\text{Količina šećera na početku} - \text{količina preostalog šećera}}{\text{Količina šećera na početku}} (g) \cdot 100 (\%) \quad (2)$$

$$E_p = \frac{\text{Izmjerena maksimalna količina etanola (g)}}{\text{Količina potrošenog šećera (g)}} (g_{\text{etanola}}/g_{\text{glukoze}}) \quad (3)$$

$$E_p = \frac{\text{Izmjerena maksimalna koncentracija etanola (g/l)}}{\text{Vrijeme fermentacije (h)}} (g/lh) \quad (4)$$

$$E_E = \frac{\text{Prinos etanola (g/g)}}{\text{Teorijski prinos etanola (g/g)}} \cdot 100 (\%) \quad (5)$$

Tabela 2. Rezultati hemijske analize meda i rastvora meda nakon pasterizacije (prije korekcije pH vrijednosti i sadržaj YAN-a)
Table 2. The results of chemical analysis of honey and honey solution after pasteurization (before correction of pH value and YAN content)

Ispitivani parametri/uzorak Tested parameters /sample	Med Honey	Rastvor meda + sok od jagode Honey solution + strawberry juice
Sadržaj šećera (%) Sugar content (%)	66,51	15,8
pH	4,40	4,09
Sadržaj usvojivog azota (YAN) (mg/l) Yeast assimilable nitrogen content (YAN) (mg/l)	-	56

Tabela 3. Rezultati hemijske analize medovine na kraju procesa
Table 3. The results of chemical analysis of mead on the fermentation end

Ispitivani parametri / uzorak Tested parameters / sample	E	F	G	H
pH	3,60	3,61	3,59	3,57
Sadržaj etanola (%vol) Ethanol content (%vol)	8,40	8,32	8,40	8,32
Sadržaj šećera (g/l) Sugar content (g/l)	8,24	8,37	9,1	9,33

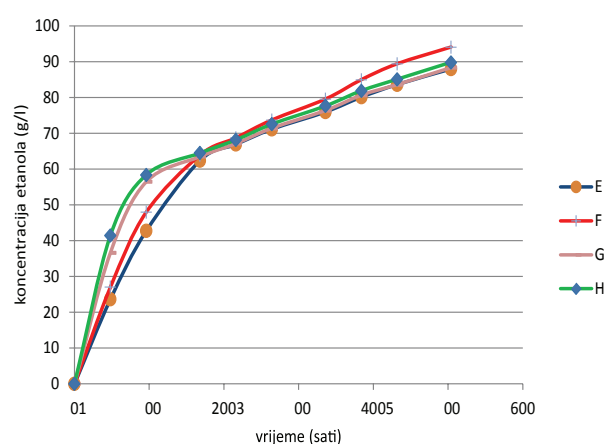
REZULTATI I DISKUSIJA

U Tabeli 2 prikazani su rezultati hemijske analize meda i rastvora meda nakon pasterizacije (prije korekcije pH vrijednosti i sadržaj YAN-a).

U tabeli 3 prikazani su rezultati hemijske analize medovine na kraju procesa. pH vrijednost je bila skoro identična i kretala se od 3,57 (uzorak D) do 3,61 (uzorak B). Dobijene pH vrijednosti su niže nego kod rastvora meda, navjerovatnije zbog proizvodnje kiseline od strane kvasaca u toku fermentacije (Sroka & Tuszyński, 2007), kao i slabog puferskog kapaciteta rastvora meda (Mendes-Ferreira et al. 2010). Sadržaj etanola je bio ujednačen i kretao se od 8,32 (uzorci B i D) do 8,40 %vol (uzorci A i C). Sadržaj šećera između uzoraka na kraju fermentacije se nije pretjerano mnogo razlikovao i kretao se od 8,24 g/l kod uzorka A do 9,33 g/l kod uzorka D.

Uticaj pripreme uzorka na tok fermentacije i prinos etanola

Produkcija etanola tokom fermentacije medovine prikazana je na slici 1. Uzorci medovine počeli su ravnomjerno fermentisati nakon 168 sati. Uzorci G i H su intenzivnije fermentisali od uzoraka E i F što nam ukazuje da viši sadržaj YAN povećava intenzitet fermentacije, što se slaže sa rezultatima drugih autora



Slika 1. Promjena koncentracije etanola tokom fermentacije medovine

Figure 1. Change in ethanol concentration during fermentation of mead

(Ferreira et al. 2010; Chen et al. 2013; Pereira et al. 2014). Smatra se da je oko 140 mg/l amino azota dovoljna količina za provođenje uspješne fermentacije, ali bi količina između 400 i 500 mg/l bila optimalna, a u studiji koju su sproveli Mendes-Ferreira et al. (2004) ustanovljeno je da je za uspješan završetak alkoholne fermentacije potrebno barem 267 mg/l usvojivog azota. Na slici 1 prikazan je tok promjene konc. etanola (koncentracije su izračunate na osnovu promjene mase boca i stehiometrijskog odnosa monosaharid – etanol) u toku fermentacije.

Kinetički model i parametri modela

Kinetike produkcije etanola tokom fermentacije medovine, prikazane su na graficima sa Slike 2, respektivno. Na graficima su prikazane mjerene vrijednosti koncentracije etanola u vidu odgovarajućih simbola, dok su fitovane krive, odnosno modelom predviđene promjene koncentracije etanola u funkciji vremena, prikazane punim linijama. Na prikazanim graficima vidi se da modelovane krive za uzorke E i F dosta dobro odgovaraju mjerenim

Tabela 4. *Produkcija etanola i efikasnost fermentacije*
 Table 4. *Ethanol production and fermentation efficiency*

Uzorak/parametar Sample/parameter	Potrošnja šećera Sugar consumption (%)	Maks. koncentracija etanola Max. ethanol concentration (g/l)	Prinos etanola Ethanol yield (g/g)	Produktivnost etanola Ethanol productivity (g/lh)	Vrijeme fermentacije Fermentation time (h)	Efikasnost fermentacije Fermentation efficiency (%)
E	94,78	66,28	0,443	0,20	504	86,42
F	94,7	65,65	0,439	0,21	504	85,91
G	94,24	66,28	0,445	0,20	504	87,08
H	94,09	65,65	0,442	0,21	504	86,5
Sirovi sok šećerne repe* sugar beet raw juice*	98,6	66,31	0,48	-	20	93,93
Sok od palminog lišća** Oil Palm Frond Juice**	94,05	11,50	0,39	0,12	96	76,52
Lišće sirka*** Sorghum leaves***	-	-	0,49	0,345	32	96

* Dodić et al. 2012; ** Srimachai et al.2015; *** Rorke & Kana (2017).

vrijednostima koncentracije u čitavom mjerenom intervalu koncentracija, što se i statistički potvrđuje veoma visokom vrijednostima koeficijenta korelacije – koeficijenta odlučivanja (R^2) od 0,979 i 0,964, respektivno. Znači, 97,9 odnosno 96,4 % varijabiliteta zavisne promjenljive (predviđene vrijednosti) može

biti objašnjeno nezavisno promjenljivom (mjerene vrijednosti), tako da je jačina veze – korelacije jaka. Ovo se potvrđuje i visokim vrijednostima koeficijenata višestruke korelacije (R) od 0,989 i 0,982 (tabela 5). Stoga, može se reći da se primjenom modifikovane Gomperz-ove jednačine može opisati kinetika

Tabela 5. *Parametri modifikovanog Gompertz-ovog modela uzoraka medovine i parametri objavljeni od drugih istraživača*
 Table 5. *Parameters of modified Gompertz model of mead and parameters from other researchers*

Uzorak Sample	P_m	$r_{p,m}$	t_1	R^2	R	Referenca Reference
E	81,77	0,41	0	0,979	0,989	ovo istraživanje this research
F	86,36	0,43	0	0,964	0,982	ovo istraživanje this research
G	77,60	0,61	0	0,934	0,967	ovo istraživanje this research
H	78,1	0,70	0	0,921	0,960	ovo istraživanje this research
Sirovi sok šećerne repe Sugar beet raw juice	73,31	4,39	1,04	-	-	(Dodić et al. 2012)
Profiltrirani sok šećerne repe Filtrated beet juice	69,85	4,54	2,21	-	-	(Dodić et al. 2012)
Sok od palminog lišća Oil Palm Frond Juice	11,5	0,24	0,12	-	-	(Srimachai et al.2015)

* P_m - Potencijalna maks. konc.etanola (g/l)

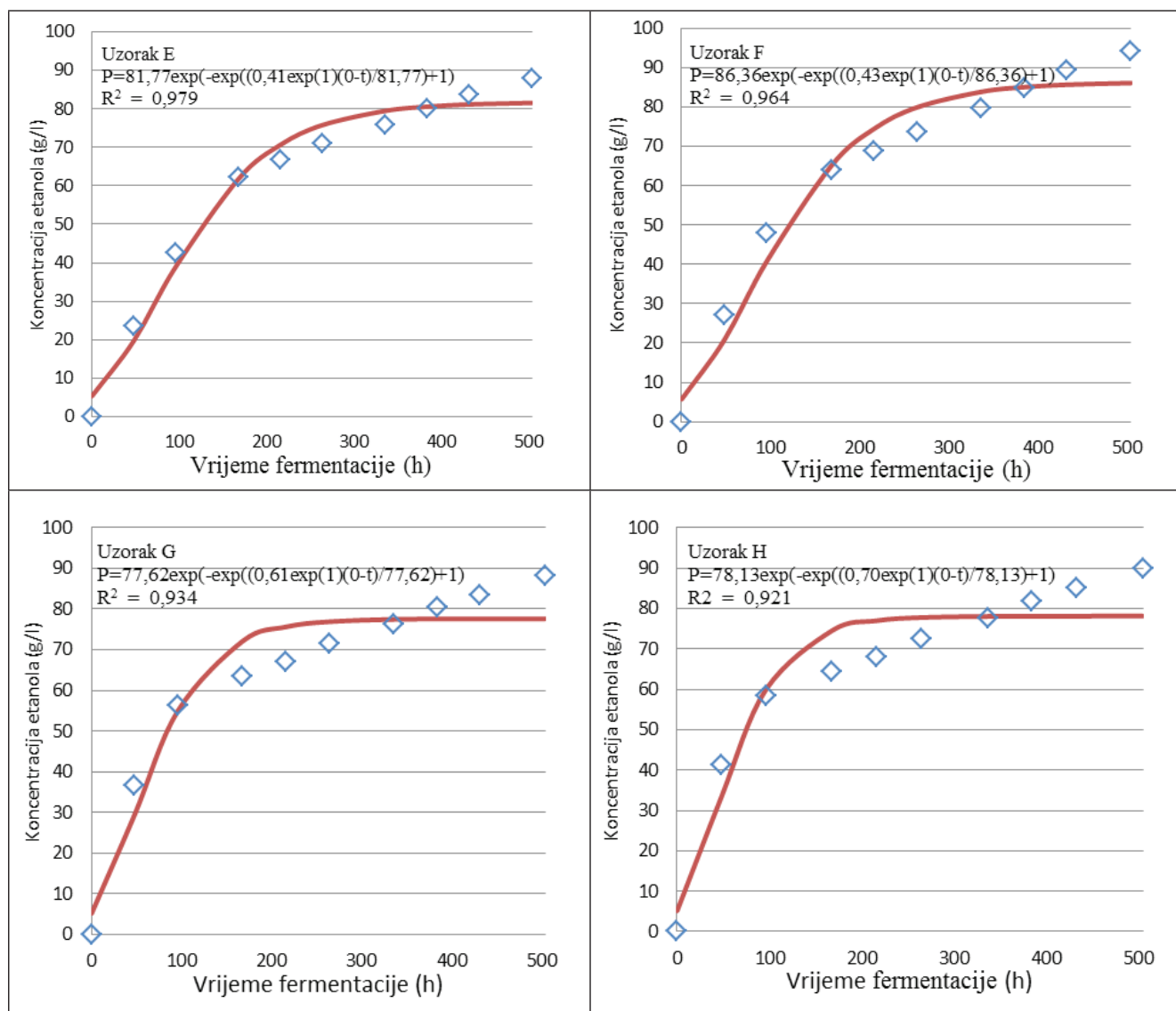
Potential maximum ethanol concentration (g/l)

** $r_{p,m}$ - Maks. brzina proizvodnje etanola (g/l*h)

Maximum ethanol production rate (g/l*h)

*** t_1 - Lag vrijeme od početka ferm. do eksponencijalne proizvodnje etanola (h)

Lag time from the beginning of fermentation to exponential ethanol production (h)



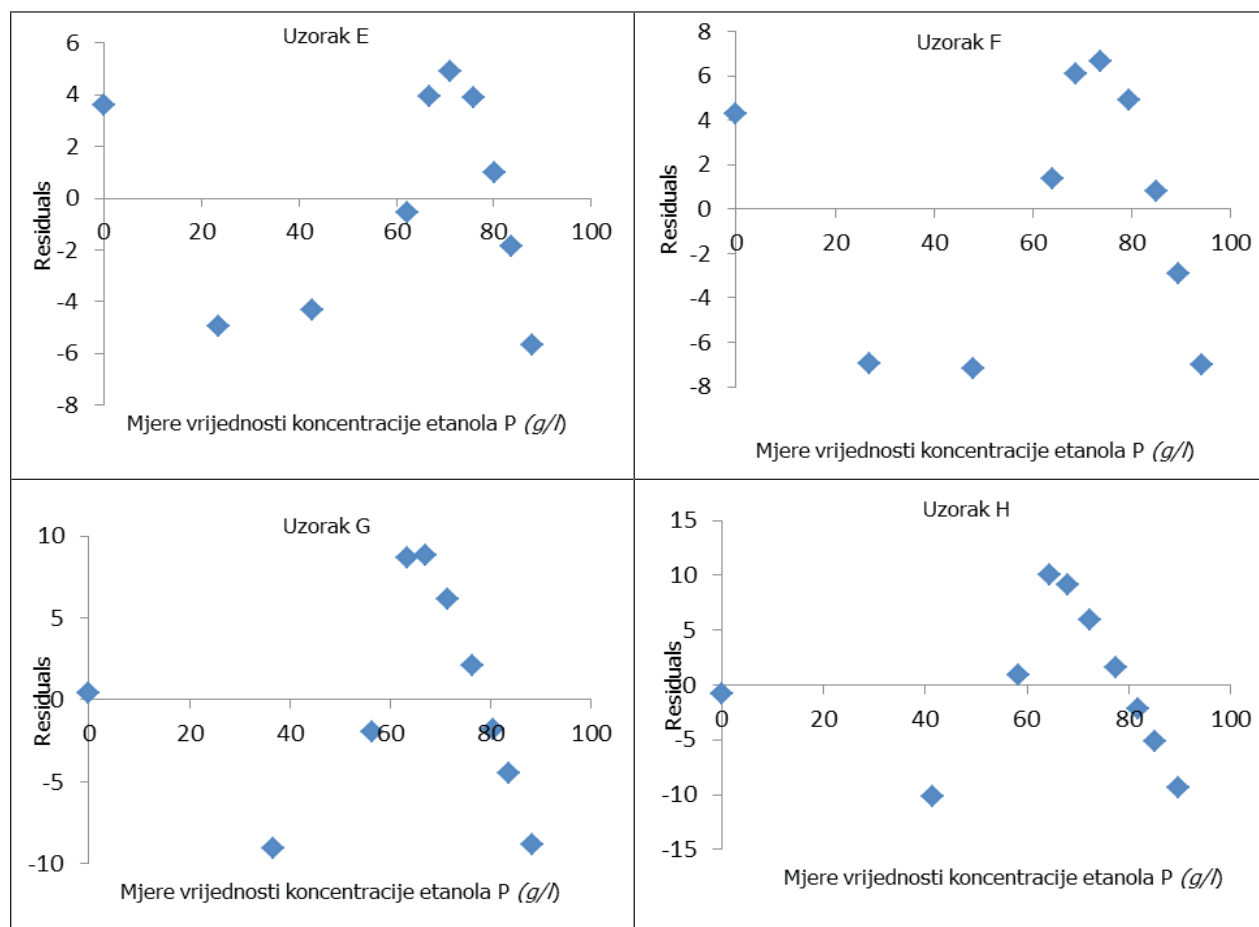
Slika 2. Kinetički modeli produkcije etanola (Puna linija - fitovana kriva, symbol \diamond - mjerene vrijednosti)
 Figure 2. Kinetic model of ethanol production (Full line - fitted curve, symbol \diamond - measured values)

produkcije etanola tokom fermentacije medovine uzoraka E i F, odnosno uzoraka sa vrijednostima korekcije YAN do 267 mg/l. Takođe, navedene tvrdnje se mogu uočiti i razmatranjem grafika reziduala sa slike 3, koji predstavljaju grafičku interpretaciju grešaka modela. Sa grafika na slici 3 je uočljivo da su reziduali nasumično raspodjeljeni odnosno prisutna su ujednačena negativna i pozitivna odstupanja u odnosu na mjerene vrijednosti, pri čemu su maksimalna odstupanja -5,65 ua uzorak E odnosno - 7,2 g/l za uzorak F.

Modelovane krive za uzorke G i H pokazuju dobro poklapanje sa mjerenim vrijednostima koncentracija etanola u početnom periodu fermentacije, prvih 98 sati, odnosno pri maksimalnim brzinama fermentacije. Očigledno je da model predviđa nešto duži period maksimalne brzine fermentacije, kakav je kod uzoraka

E i F. Međutim, kod uzoraka G i H, nakon početnog perioda od 98 sati, izmjerene su nešto niže vrijednosti koncentracije etanola u odnosu na modelovanu krivu. Do sličnih zaključaka može se doći i razmatranjem podataka predstavljenih u tabeli 4. Uzročnici pojave nižih vrijednosti sadržaja etanola kod uzoraka G i H mogu biti i polazne koncentracije YAN (više nego kod uzoraka E i F), jer one mogu dovesti do nepotrebnog umnožavanja ćelija kvasca, čime se smanjuje konverzija šećera u alkohol. Osim toga, nakupljanje štetnih sporednih proizvoda u toku fermentacije koja traje duži vremenski period, kao kod medovine, takođe, može dovesti do smanjene konverzije šećera u etanol.

Ipak, razmatranjem odgovarajućih vrijednosti koeficijentata korelacije (uzorak G: R^2 - 0,934 i R - 0,967; uzorak H: R^2 - 0,921 i R - 0,960), može se reći da predviđeni model i za ove uzorke oslikava jaku



Slika 3. Grafički prikaz greške modela. Residuals – razlika između mjerenih i predviđenih vrijednosti (g/l)
 Figure 3. Residual plots. Residuals – difference between the observed value and the predicted value (g/l)

korelaciju. Slično kao i kod uzoraka E i F, na slici 3 se uočava nasumična raspodjela reziduala, pri čemu su maksimalna odstupanja -8,8 za uzorak G odnosno +9,2 g/l za uzorak H i to pri višim vrijednostima koncentracije etanola odnosno pri kraju procesa fermentacije.

U tabeli 5 prikazani su parametri kinetičkih modela uzoraka medovine koji su dobijeni fitovanjem eksperimentalnih. Zajedno sa kinetičkim parametrima prikazane su i odgovarajuće izmjerene vrijednosti maksimalne koncentracije i maksimalne brzine produkcije etanola tokom fermentacije uzoraka medovine. Analizom podataka iz tabele 5 može se konstatovati da je stepen poklapanja modelovanih krivih sa eksperimentalnim podacima dosta visok, u intervalu od 0,921 - 0,979. Posebno je interesantno uočiti kako kinetički parametar P_m polako povećava svoje odstupanje u odnosu na odgovarajuće izmjerene vrijednosti maksimalne koncentracije od uzorka E prema uzorku H, što se uočava i na graficima sa Slike 4. Ovo se može protumačiti time da sa povećanjem vrijednosti YAN raste intenzitet fermentacije, što sigurno može dovesti do pojave određenih odstupanja u dobijenim vrijednostima. Takođe i kinetički parametar $r_{p,m}$ pokazuje lagano povećanje odstupanja u odnosu

na odgovarajuće izmjerene vrijednosti maksimalne brzine produkcije etanola od uzorka E prema uzorku H. Ipak ove izmjerene vrijednosti maksimalne brzine produkcije etanola treba uzeti sa rezervom s obzirom na dosta širok interval mjerenja koncentracija etanola (48 i 72 sata). Poredeći dobijene vrijednosti maks. brzine proizvodnje etanola sa podacima drugih autora, može se primijetiti da su one nešto veće nego kod Srimachai et al. (2015), ali i za znatno niže nego kod Dodić et al. (2012). Ovi rezultati su teško uporedivi zbog različite dužine trajanja procesa fermentacije (u ovom radu 504 h, kod Dodić et al. (2012) 20 h, a kod Srimachai et al. (2015) 96h), ali mogu poslužiti kao odgovarajući indikatori.

ZAKLJUČAK

S obzirom na prethodna razmatranja može se reći da modifikovani Gompertz-ov model može uspješno opisati produkciju etanola tokom fermentacije uzoraka medovine sa korekcijom YAN, pri čemu se za uzorke sa nižim vrijednostima YAN može očekivati veći stepen preklapanja sa stvarnim vrijednostima koncentracija etanola u odnosu na uzorke sa većim vrijednostima YAN.

LITERATURA

- Blesić, M. (2006). Tehnologija vina praktikum, Poljoprivredni fakultet, Sarajevo, Retrieved 29.11.2018. from <http://www.sraspopovic.com/.../Polj.../vinarstvopraktikum.pdf>
- Dodić, M.J., Vučurović, D.G., Dodić, S.N., Grahovac, J.A., Popov, S.D., & Nedeljković, N.M. (2012). Kinetic modelling of batch ethanol production from sugar beet raw juice. *Applied Energy*, 99, 192–197. DOI:10.1016/j.apenergy.2012.05.016.
- Gawande, S.B., & Patil, I.D. (2014). Economic Study of Fermentation Kinetics for Production of Ethanol from damaged Sorghum and Corn grains: a Critical Review. *Prathiba: The International Journal of Science, Spirituality, Business and Technology (IJSSBT)*, 2 (2), 2277-7261, Retrieved 29.11.2018. from <http://www.ijssbt.org/volume2.2/pdf/6.pdf>
- Kempka, A.P., Frühauf, M., Pagliarini, M.A., Matiello, J.A., Fachinello, F. & Prestes, R.C. (2015). Influence of the addition of pollen and brewer's yeast on growth of *Saccharomyces cerevisiae* in honey-must, *International Food Research Journal*, 22(3), 1288-1292, Retrieved 29.11.2018. from [http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20\(03\)%202015/\(56\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20(03)%202015/(56).pdf)
- Mendes-Ferreira, A., Cosme, F., Barbosa, C., Falco, V., Inês, A., & Mendes-Faia, A. (2010). Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 193–198. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.016
- Mendes-Ferreira, A., Mendes-Faia, A., and Leão, C. (2004). Growth and fermentation patterns of *Saccharomyces cerevisiae* under different ammonium concentrations and its implications in winemaking industry, *Journal of Applied Microbiology*, 97, 540–545. DOI:10.1111/j.1365-2672.2004.02331.x
- Olaoye, O.S., & Kolawole O.S. (2013). Modeling of the Kinetics of Ethanol Formation from Glucose Biomass in Batch Culture with a Non Structured Model. *International Journal of Engineering Research and Applications (IJERA)*, 3 (4), 562-565. Retrieved 29.11.2018. from <http://pdfs.semanticscholar.org/d0a6/f28ef1cc9028c97c585616aabe545a87abd6.pdf>
- Oliveira, S. C., Stremel, D. P., Dechechi E. C., & Pereira, F. M. (2017). Chapter 6: Kinetic Modeling of 1-G Ethanol Fermentations. In *fermentation process* (Edited by Faustino Jozala, A.), InTechOpen, 95-117. DOI: 10.5772/65460.
- Pereira, A. P., Mendes-Ferreira, A., Oliveira, J.M., Estevinho, L.M., & Mendes-Faia, A. (2013). High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimisation of mead production, *Food Microbiology*, 33, 114–123. DOI:10.1016/j.fm.2012.09.006.
- Pereira, A.P., Dias, T., Andrade, J., Ramalhosa, E., & Estevinho, L.M. (2009). Mead production: Selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food and Chemical Toxicology*, 47 (8), 2057-63. DOI:10.1016/j.fct.2009.05.028.
- Pereira, A.P., Mendes-Ferreira, A., Oliveira, J.M., & Estevinho, L.M., & Mendes-Faia, A. (2014). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilisation on mead production. *LWT-Food Science and Technology*, 56, 21–30. DOI:10.1016/j.lwt.2013.11.005.
- Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Službeni glasnik BiH, broj 37/09.
- Rorke, D.C., S. & Kana, E. B. G. (2017). Kinetics of Bioethanol Production from Waste Sorghum Leaves Using *Saccharomyces cerevisiae* BY4743, *Fermentation*, 3 (2), 19. DOI:10.3390/fermentation3020019.
- Škenderov, S., & Ivanov, C. (1986). Pčelinji proizvodi i njihovo korištenje, Nolit, Beograd. Retrieved 29.11.2018. from <http://www.tehnologijahrane.com/knjiga/pcelinji-prozvodi-i-njihovo-koriscenje>
- Song, H., Jang, S., Park, J., & Lee, S. (2008). Modeling of batch fermentation kinetics for succinic acid production by *Mannheimia succinici* *producens*, *Biochemical Engineering Journal*, 40 (1), 107–115. DOI: 10.1016/j.bej.2007.11.021
- Srimachai, T., Nuithitikul, K., O-thong, S., Kongjan, P., & Panpong, K. (2015). Optimization and Kinetic Modeling of Ethanol Production from Oil Palm Frond Juice in Batch Fermentation. *Energy Procedia*, 79, 111–118. DOI: 10.1016/j.egypro.2015.11.490.
- Sroka, P., & Tuszyński, T. (2007). Changes in organic acid contents during mead wort fermentation, *Food Chemistry*, 104, 1250–1257. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.01.046.
- Tjørve, K.M.C. & Tjørve, E. (2017). The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model approach: An addition to the Unified-Richards family, *PLOS ONE*. 12 (6): e0178691. DOI:10.1371/journal.pone.0178691

Mathematical modeling of ethanol production in the mead fermentation

Saša Papuga^{1*}, Aleksandar Savić¹, Zvezdana Kisin¹

¹University of Banja Luka, Faculty of technology, Republic of Srpska, B&H

Key words:
mead,
ethanol,
mathematical
modeling,
Gompertz model.

Mead is a traditional alcoholic drink containing 8-18% vol. ethanol obtained fermentation from diluted honey. Honey is mainly composed of carbohydrates, water, and minor components such as minerals, proteins, vitamins, lipids, organic acids, amino acids, phenolic compounds, enzymes and other phytochemicals. The honey is an excellent source of carbohydrates for the fermentation process, but it lacks of other nutrients (for example nitrogen) that can slow down the fermentation process. Therefore, there is a need for adding nitrogen sources. Also other nutrients (fruits, spices, etc.) can be add but their addition should not hide the smell and taste of honey. To enhance its character and complexity, a variety of fruits, vegetables, herbs, or spices (ginger, cardamom, cloves, thyme, rosemary, bay leaves, sage, parsley, fennel, cinnamon, nutmeg, lemon or orange peels, among others) may be added too, during, or after fermentation. In this paper, the influence of correction of some parameters on the fermentation and on the mead quality, as well as the possibility of using the Gompertz model for representing the production of ethanol is examined. A numerous of authors has shown that the modified Gompertz equation can be applied to the mathematical modeling of the fermentation kinetics of different substrates. In this paper, for the first time, the applicability of the modified Gompertz equation for the description of the ethanol production kinetics during the process of fermentation of honey in laboratory conditions is analyzed. Optimal kinetic parameters were obtained by fitting experimental data into a modified Gompertz model, using nonlinear regression analysis and evaluating regression coefficients by the least square method. Numerical optimization of parameters and their statistical analysis was done using mathematical tools Solver and Regression from the Microsoft Excel software package. The resulting mathematical model describes the formation of ethanol during fermentation of the medium, envisages the maximum concentration of ethanol, the maximum fermentation speed, and the lag time of ethanol production. The degree of matching of the model curves with the experimental data is quite high, according to the corresponding regression parameters. The obtained mathematical model, with the appropriate kinetic parameters, can be used during the scaling of the honey fermentation process, switching from the laboratory conditions to the semi-industrial and industrial scale.