

文章编号 :1009-038X(2002)06-0579-04

木糖醇发酵动力学研究

陈宏文^{1,2}, 方柏山², 万宁², 胡宗定¹

(1. 天津大学 化工学院生化工程系, 天津 300072; 2. 华侨大学 材料学院生物工程与技术系, 福建 泉州 362011)

摘要: 根据通用的分批发酵动力学模型, 建立了莫格假丝酵母由木糖转化为木糖醇的发酵动力学模型, 用遗传算法估算反应动力学模型参数. 计算结果表明, 该模型能较好地与实验结果相吻合.

关键词: 木糖醇; 动力学模型; 遗传算法

中图分类号: TQ 92

文献标识码: A

Kinetic Study of Xylitol Batch Fermentation

CHEN Hong-wen^{1,2}, FANG Bai-shan², WAN Ning², HU Zong-ding¹

(1. College of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. College of Material Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362011, China)

Abstract: According to general batch kinetic model of fermentation, a model was developed to describe the xylitol formation process from xylose by *Candida mogii*. Genetic algorithm was employed to determine the kinetic parameters of rate expression. The kinetic model showed a good agreement between experimental and simulated results.

Key words: xylitol; kinetic model; genetic algorithm

木糖醇是一种具有营养价值的甜味物质,也是人体糖类代谢的正常中间体. 在自然界中,木糖醇广泛存在于各种水果、蔬菜中,但其含量很低. 自从 1966 年 Onishi 和 Suzuki 报道了许多酵母菌能够用于由 D-木糖生产木糖醇以来,国际上对发酵法生产木糖醇的研究产生了极大的兴趣.

虽然关于木糖醇发酵方面的报道颇多,但对其进行数学描述的研究论文却很少. 见于期刊的有:

(1) Furlan 等人^[1]引用 Luedeking 和 Piret 方程^[2]建立了木糖醇比生产速率与菌体比生长速率的线性关系式;(2) Sirisansanneeyakul 等人^[3]基于 *C.*

mogii 细胞内、外状态变量的物料衡算建立了木糖醇发酵非线性动力学模型及(3) Sirisansanneeyakul 等人^[4]采用 Monod 方程描述不同初始木糖质量浓度与 *C. mogii* 消耗木糖的比速度之间的关系式. Furlan 等人所建立的数学模型过于简单,而 Sirisansanneeyakul 等人基于物料衡算所提出的模型又较为复杂. 但在他们的模型中分别涉及到两个常见的发酵动力学模型,即 Luedeking 和 Piret 方程及 Monod 方程.

据此,作者试图用常见的发酵动力学模型描述木糖醇发酵动力学的行为. 在估算模型参数时,由

收稿日期 2002-06-21; 修订日期 2002-08-26.

基金项目 福建省自然科学基金重点项目基金(D0120002);生物反应器工程国家重点实验室项目资助课题.

作者简介 陈宏文(1969-)女,浙江德清人,博士研究生.

于传统的“点到点”的优化算法对于初始点的确定往往比较困难,而初始点的选择又直接影响到算法的收敛性,因此采用了能有效地处理多参数高度非线性函数,实现高效、自适应、全局搜索的遗传算法 (genetic algorithm, GA)。

1 材料与方 法

菌种、原料和试剂、斜面培养基、种子培养基、细胞干重质量浓度、木糖和木糖醇质量浓度的测量等见文献 [5],其它的方法如下所述。

1.1 发酵培养基

发酵培养基 (g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.36, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3.92, KH_2PO_4 1.95, MgSO_4 0.49, 酵母浸膏 6.59, 蛋白胨 1.46, CaCl_2 0.1, pH 5, 木糖 30. 木糖与其它营养成分分开灭菌 (121 °C, 20 min)。

1.2 种子培养

挑取保存在斜面上的菌种 6 环,接到盛有 170 mL 种子培养基的 300 mL 三角瓶中,于 30 °C 下旋转摇床培养 48 h,摇床转速 200 r/min。所得菌体离心洗涤两次,悬浮于 10 mL 无菌生理盐水中备用。

1.3 发酵培养

将上述种子悬浮液接入 BIOSTAT B 5 L 发酵罐 (B. Braun 公司,德国),发酵液装量 3 L,通气量 2 L/min,温度 30 °C,初始发酵培养基 pH 5,搅拌转速 400 r/min。

2 通用分批发酵动力学模型及其解析解

2.1 常见的分批发酵动力学模型

常见的分批发酵动力学模型有

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{\max} \frac{sx}{k_s + s} \quad (1)$$

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \quad (2)$$

$$-\frac{ds}{dt} = \frac{1}{Y_G} \frac{dx}{dt} + mx + \frac{1}{Y_P} \frac{dp}{dt} \quad (3)$$

式中 $\frac{dx}{dt}$, $\frac{dp}{dt}$, $-\frac{ds}{dt}$ 分别为微生物生长速度、产物生成速度和限制性底物的总消耗速度; x 和 s 分别为微生物质量浓度和限制性底物浓度; μ_{\max} 为微生物最大比生长速度; k_s 为 Monod 饱和常数; α 和 β 为动力学模型参数; m 为维持系数; Y_G 为最大的微生物生长率; Y_P 为最大的产物生成得率。

2.2 分批发酵动力学模型解析解

式 (1)~(3) 系多元非线性微分方程组,其解析

解为 $x-s$, $p-s$ 和 $t-s$ 的数学关系式^[6]:

$$x = A(B \ln \frac{s+B}{s_0+B} + s_0 - s) + x_0 \quad (4)$$

$$p = C(D \ln \frac{s+B}{s_0+B} + s_0 - s) + p_0 \quad (5)$$

$$t = b_1 \ln(s + b_2) + b_3 \ln[-(s^2 + b_4 s + b_5)] + b_6 \ln(-\frac{s+b_7}{s+b_8}) + b_9 \quad (6)$$

式中 A, B, C, D 和 $b_1 \sim b_9$ 是与动力学参数 μ_{\max} , k_s , α , β , Y_G , Y_P 和 m 有关的复合参数,即

$$A = \mu_{\max} / a_0;$$

$$B = (\beta / m) k_s / a_0;$$

$$C = b_0 / a_0;$$

$$D = B - k_s \beta / b_0;$$

$$a_0 = \mu_{\max} / Y_G + m + (\alpha \mu_{\max} + \beta) Y_P;$$

$$b_0 = \alpha \mu_{\max} + \beta;$$

$$a_1 = -A; \quad a_2 = x_0;$$

$$a_3 = AS_0^2 + a_4 x_0; \quad a_4 = S_0 + 2B;$$

$$a_5 = a_4 + k_s; \quad a_6 = a_4 k_s;$$

$$a_7 = 1 + a_8; \quad a_8 = (a_6 + a_9 b_5) / B;$$

$$a_9 = (a_5 - B - a_6 / B) / (B - b_4 + b_5 / B);$$

$$a_{10} = (b_4^2 - 4b_5) / 2;$$

$$b_1 = -a_9 / a_0; \quad b_2 = B;$$

$$b_3 = a_7 / (2a_0); \quad b_4 = a_2 / a_1;$$

$$b_5 = a_3 / a_1; \quad b_6 = (b_4 a_7 - 2a_8) / (2a_0 a_{10});$$

$$b_7 = (b_4 + a_{10}) / 2; \quad b_8 = (b_4 - a_{10}) / 2;$$

$$b_9 = -b_1 \ln(S_0 + b_2) - b_3 \ln[-(S_0^2 + b_4 S_0 + b_5)] - b_6 \ln[-(S_0 + b_7) / (S_0 + b_8)]$$

有了 $x-s$, $p-s$ 和 $t-s$ 的数学关系式,就可以由分批发酵过程中所测得的 $s(t)$, $p(t)$, $x(t)$ 数据来确定 μ_{\max} , k_s , α , β , Y_G , Y_P 和 m 7 个动力学参数。

3 木糖醇发酵动力学模型

3.1 数学模型

以通用的发酵动力学模型,即式 (1)~(3) 为木糖醇发酵动力学模型,用相应的发酵动力学解析解,即式 (4)~(6) 进行参数估算。

3.2 目标函数

为了综合考虑数学模型对各变量的拟合程度,我们确定如下目标函数:

$$\min g(x) = \sum_{j=1}^3 \sum_{i=1}^n (y_{ij})^2 \quad (7)$$

式中 $g(x)$ 为目标函数; y_{ij} 为 x , p , t 在不同质量浓

度 s 下的实验值与计算值的离差平方和。

3.3 应用遗传算法于参数估算

根据 GA 原理^[7],针对本体系,为了估算所用模型的参数,对 GA 中所涉及的参数进行如下选择:

1) 编码:为了尽可能减少盲目搜索,减少计算量,根据已有的知识和经验,首先设定 7 个估算参数的寻优范围。 Y_G, Y_P 为最大的微生物生长得率和最大的产物生成得率,其值不超过 1,因而设 $Y_G \in [0.01, 1], Y_P \in [0.01, 1]$ 。参考已有文献报道,尽可能扩大 $\mu_{\max}, k_s, \alpha, \beta, m$ 5 个参数寻优范围,设 $\mu_{\max} \in [0.001, 0.1], k_s \in [2, 30], m \in [0.0001, 1], \alpha \in [0.1, 5], \beta \in [-0.0005, 0.05]$ 。

表 1 动力学参数的估算精度

Tab.1 Simulated precision of kinetic parameters

	μ_{\max}	k_s	m	α	β	Y_G	Y_P
α	9.68×10^{-5}	0.0273	9.77×10^{-4}	4.79×10^{-3}	5.38×10^{-6}	9.77×10^{-4}	9.77×10^{-4}

2) 初始化种群:由于过小种群因所含的信息太少不能发挥 GA 的效力,过大因计算量随之增加而延长收敛时间。针对该问题,通过 GA 随机选择 50 个个体,它代表优化问题的一些可能解的集合。

3) 适值计算:由于参数估算问题是目标函数的最小化问题,而 GA 所追求的目标是适值最大,故目标函数需要转化。在此,设适应度函数 $f(x)$ 为

$$f(x) = 1/g(x)$$

4) 选择(复制):采用转轮法,即适应度越高的个体,从父代中被选中的概率越大。为了避免出现早熟现象及尽可能减少计算量,引入期望值判断方法,即每个个体在下一代生存的期望数 M 为

$$M = f_i / f = f_i / (\sum f_i / n) \quad (9)$$

取 $C=0.5, M-C>0$,且符合转轮法选择判断,则该个体被选中,否则被淘汰。

5) 交叉:采用单点交叉方式,交叉概率 P_C 决定交叉的次数,过小新基因组合少,导致搜索停滞不前,过大会使高适值的结构被破坏掉。因此, P_C 一般选为 0.5~1.0。在此区间通过计算, P_C 为 0.75 得到最好结果。

6) 变异:单点变异的概率 P_m 一般为 0.001~0.05,太小易陷入局部极值,太大会引起运算不稳定。为此,取 P_m 为 0.01 可得到较好的结果。

7) 收敛判断:连续发散达到 10 次或运行 100 代。万方数据

采用二进制编码方式,按照多参数编码方法,先对每个参数进行二进制编码,得到子串。这里设每个子串长度 l 均为 10,再把这些子串连成一个染色体(个体),每个个体长度 L 为 $10 \times 7 = 70$ 。每个参数实数值 $x(x \in [U_{\min}, U_{\max}])$ 与其二进制解码整数 $x'(x' \in [0, 2^l - 1])$ 的对应关系为

$$x = U_{\min} + \frac{U_{\max} - U_{\min}}{2^l - 1} x' \quad (8)$$

式中: $\alpha = \frac{U_{\max} - U_{\min}}{2^l - 1}$ 为各参数的精度; $l = 10$ 时各参数的精度(见表 1)能够满足对实验值的拟合需要。

4 结果和讨论

针对 19 组木糖醇发酵动力学数据(见图 2),取种群大小为 50,最大代数为 100,子串长度为 10,交叉概率和变异概率分别为 0.75 和 0.01,用 C 语言编程,在 Pentium II 400 微机上进行运算。当 $gen = 0$ 时,初始串集的平均适应值 f_{avg} 和最大适应值 f_{max} 分别为 0.000115 和 0.000544,平均离差平方和及最大离差平方和分别为 1838.2 和 8695.6。经过 73 次迭代, f_{avg} 和 f_{max} 分别上升到 0.003289 和 0.00546,与 f_{max} 相对应的最大离差平方下降到 183.3。平均适应值 f_{avg} 和最大适应值 f_{max} 的进化见图 1,对应于第 73 次迭代的动力学参数值及最大离差平方和见表 2。

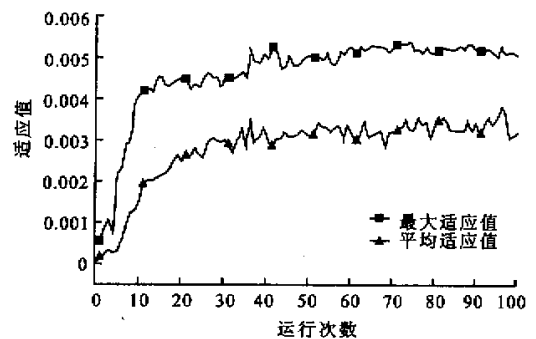


图 1 平均适应值 f_{avg} 和最大适应值 f_{max} 的进化

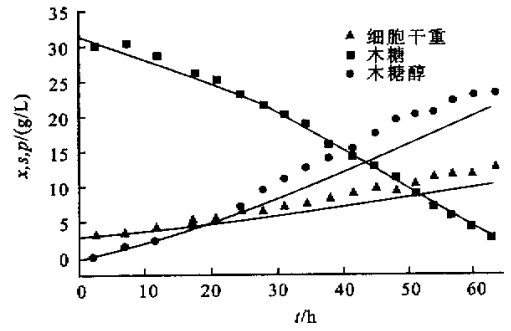
Fig.1 Evolution of average fitness (f_{avg}) and maximum fitness (f_{max})

表2 利用 GA 得到的参数估算值及最大离差平方和

Tab.2 GA simulated values of parameters and maximum sum of squares of deviations

μ_{\max}/h	$k_s/(g/L)$	m/h	$\alpha/(g/g)$
0.0671	4.98	0.000393	2.74
β/h	$Y_g(g/g)$	$Y_p(g/g)$	$g(x)$
0.0115	0.997	0.999	183.3

图2显示由木糖醇动力学模型所得到的计算值与所对应的实验值吻合较好.由此可见,木糖醇发酵动力学可用通用的发酵动力学模型描述,遗传算法能够较好地用于分批发酵动力学模型参数估算.



x : 细胞干重; s : 木糖; p : 木糖醇

图2 木糖醇发酵过程状态变量的计算值与所对应的实验值比较

Fig.2 Comparison of experimental concentrations of xylose biomass and xylitol with their simulated values

参考文献:

- [1] FURLAN S A, BOUILLAUD P, STREHAIANO P, *et al.* Study of xylitol formation from xylose under oxygen limiting conditions[J]. *Biotechnology Letters*, 1991, 13: 203-206.
- [2] LUEDEKING R, PIRET E L. A kinetic study of the lactic acid fermentation batch process at controlled pH[J]. *Biochem Microbiol Technol Eng*, 1959(2): 393-412.
- [3] SIRISANSANEEYAKUL S, RIZZI M, REVESS M. Microbial production of xylitol from wheat straw hydrolysates[C]. DEHEMA Biotechnol conf, 5. VCH Verlagsgemeinschaft[A]. Weinheim, Germany, June 1-3, 1992. 541-544.
- [4] SIRISANSANEEYAKUL S, STANISZEWSKI M, RIZZI M. Screening of yeasts for production of xylitol from xylose[J]. *Journal of Fermentation Bioengineering*, 1995, 80(6): 565-570.
- [5] 陈宏文, 方柏山, 胡宗定. 由莫格假丝酵母发酵法生产木糖醇的研究[J]. 华侨大学学报, 1998, 19(4): 416-419.
- [6] 方柏山, 林金清. 分批发酵动力学参数估算[J]. 生物工程学报, 1992, 8(3): 203-210.
- [7] GOLDBERG D E. Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning[M]. Reading, MA: Addison Wesley, 1989.

(责任编辑 杨勇)