

文章编号 :1009-038X(2002)06-0638-03

基于模糊理论的酵母发酵动力学模型

于湘莉¹, 苗志奇¹, 元英进¹, 李睿洁², 张磊²

(1. 天津大学 化工学院, 天津 300072; 2. 天津华立达生物工程有限公司博士后工作站, 天津 300241)

摘 要 :在模糊理论基础上,提出了一种描述菌体生长的模糊动力学模型,将专家对发酵过程的定性经验描述和精确的数学模型联系起来.模型分析发现,对数期隶属度函数就是菌体的相对比生长速率,从而提供了一种划分菌体发酵阶段的方法.最后针对酵母发酵过程,精确地确定了划分对数生长期的开始时间和结束时间.

关键词 :模糊;发酵;生长动力学;对数期

中图分类号 :TQ 920.1

文献标识码 :A

Study of the Fuzzy Growth Model of Fermentation Based on the Fuzzy Theory

YU Xiang-li¹, MIAO Zhi-qi¹, YUAN Ying-jin¹, LI Rui-jie², ZHANG Lei²

(1. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. The Working Station of Post-doctor in Tianjin HULIDA Bioengineering Co. Ltd., Tianjin 300042, China)

Abstract : A fuzzy growth model was constructed based on the fuzzy theory. It combined the qualitative describe of expert and the quantitative mathematic mode into one system. The model showed that the relative specific growth rate curve was the optimal membership function of the exponent growth phase. Thus a method was obtained to divide the phases in fermentation. Finally, the exponential growth phase was marked off in the yeast fermentation.

Key words : fuzzy; fermentation; growth dynamics; exponential growth phase

在菌体发酵和细胞培养过程中,细胞生长状况受到普遍关注^[1,2].由于S型生长曲线最为常见,所以一般将发酵过程划分为适应期、对数期和饱和期3个阶段.在不同生长阶段,细胞的形态、能荷不同,核酸、蛋白质、糖类、脂类等大分子物质的分布都存在差异,最终这些差别体现到细胞分裂周期上,决定细胞生长的快慢.另外同阶段的细胞对外界刺激的响应不同,比如诱导子的最佳加入时期为

对数生长后期^[3],补加新鲜培养基的最佳时期在对数期和饱和期之间^[4].因此准确合理地确定细胞所处的发酵阶段,具有重要的理论和实际应用价值.

在实验研究和生产中,细胞阶段的划分是由有经验的发酵专家在参考生长曲线的基础上做出的.因此这种定性划分必然受到专家经验的影响,具有主观性,导致不同人的划分并不一致.同时在实际应用中这种定性划分并不能直接提供精确定量的

收稿日期 2002-06-21; 修订日期 2002-10-11.

作者简介:于湘莉(1973-),女,天津人,工学硕士.

万方数据

生长动力学模型.

作者利用模糊理论将用自然语言描述的定性划分和用仪器设备测得的定量数据联系起来,建立完全符合人类思维习惯的、参数具有明确物理意义的定量生长动力学模型.并通过模型分析,确定合理划分细胞生长阶段的方法.最后以富硒酵母发酵过程为例,建立生长动力学模型,并对发酵过程中适应期、对数期和饱和期进行划分.

1 材料与方法

1.1 试剂

实验中所有化学试剂均为分析纯级.

1.2 富硒酵母细胞系

富硒酵母为南开大学生命科学院提供的热带假丝酵母.

1.3 培养基

30 g/L 葡萄糖,8 g/L 酵母膏,10 g/L 甘氨酸,0.1 mmol/L 亚硒酸钠.

1.4 培养条件

实验采用 NBS 公司的 5 L 容积发酵罐 BIOFLO 3000 型.溶解氧保持为 80%,pH 为 7,30 ℃ 培养.在培养体系中添加双氧水以促进硒的吸收.培养周期为 8 h.

1.5 菌体密度的测定

每小时取样一次,稀释后于 540 nm 测量吸光度,对照标准曲线计算菌体密度.

2 结果与讨论

2.1 模糊生长动力学模型

针对 S 型生长曲线,一般将发酵过程划分为适应期(A)、对数期(E)和饱和期(S)3 个阶段,分别用隶属度函数 $\mu_A(t)$ 、 $\mu_E(t)$ 、 $\mu_S(t)$ 来描述,见图 1.

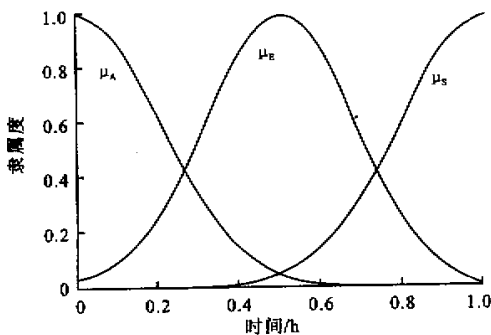


图 1 发酵过程模糊划分示意图

Fig.1 The scheme of fuzzy division of fermentation
用 3 条模糊规则来定义不同生长阶段中菌体

的生长情况:

$$\begin{cases} \text{If } t \in A & \text{Then } u = u_A = 0 \\ \text{If } t \in E & \text{Then } u = u_E > 0 \\ \text{If } t \in S & \text{Then } u = u_S = 0 \end{cases} \quad (1)$$

根据以上模糊规则,经模糊推理^[4]可计算任意时刻 t 的菌体比生长速度:

$$u = \frac{\sum_{\omega \in W} \mu_{\omega}(t) u_{\omega}}{\sum_{\omega \in W} \mu_{\omega}(t)} \quad W = \{A, E, S\} \quad (2)$$

式(2)又可以表示为:

$$u = \sum_{\omega \in W} \frac{\mu_{\omega}(t)}{\sum_{\omega \in W} \mu_{\omega}(t)} u_{\omega} \quad W = \{A, E, S\} \quad (3)$$

由于适应期和饱和期分别位于对数期的前后,不相邻,因此以假定适应期和饱和期的交集为空.同时为减少模型的复杂程度,规定对于任意发酵时刻,都有:

$$\sum_{\omega \in W} \mu_{\omega}(t) = 1 \quad W = \{A, E, S\}$$

根据以上约束条件,可以确定细胞生长 3 个阶段的隶属度函数.设发酵时刻为 t_E 对对数期的隶属度为 1,即 $\mu_E(t_E) = 1$,则适应期和饱和期的隶属度函数为:

$$\mu_A(t) = \begin{cases} 1 - \mu_E(t) & t < t_E \\ 0 & t \geq t_E \end{cases} \quad (4)$$

$$\mu_S(t) = \begin{cases} 1 - \mu_E(t) & t > t_E \\ 0 & t \leq t_E \end{cases} \quad (5)$$

在以上设定条件下,式(4)(5)可以简化成

$$u = \sum_{\omega \in W} \mu_{\omega}(t) u_{\omega} \quad W = \{A, E, S\} \quad (6)$$

根据比生长速率的定义 $\mu = \frac{1}{x} \frac{dx}{dt}$,可以获得描述菌体生长的差分方程

$$\chi_{t+\Delta t} = \chi(1 + \mu \Delta t) \quad (7)$$

在上述模型中,只有对数期隶属度函数和不同阶段的细胞生长速率待定.由于对数期位于整个培养周期的中部,所以其隶属度函数曲线应为峰型曲线.常用的对数期隶属度函数有正态分布函数、组合正态分布函数和组合 SIGMOID 函数:

$$\mu_E(t) = \exp\left(-\frac{(t - t_E)^2}{r^2}\right) \quad (8)$$

$$\mu_E(t) = \exp\left(-\frac{(t - t_1)^2}{r_1^2} - \frac{(t - t_2)^2}{r_2^2}\right) \quad (9)$$

$$\mu_E(t) = \frac{1}{1 + K_1 \exp(-(t - t_1))} \times \frac{1}{1 + K_2 \exp(t - t_2)} \quad (10)$$

根据实验中获得的菌体生长曲线数据,在选定对数期隶属度函数类型后,就可采用非线性最小二乘法拟合模型参数,确定隶属度函数,从而建立起

发酵过程的模糊动力学模型.

2.2 发酵阶段的划分

由于适应期和饱和期的细胞分裂生长非常慢,所以可以假定 $u_A = u_S = 0$,式(6)可以进一步简化为

$$u = u_E \mu_E(t) \tag{11}$$

由于 $0 \leq \mu_E(t) \leq 1$,所以 $\mu_E(t) = 1$ 时对应的比生长速率为最大比生长速率,即

$$u_E = \max(u) \tag{12}$$

所以对数期的隶属度函数为:

$$\mu_E(t) = \frac{u}{\max(u)} \tag{13}$$

因此对数期的隶属度函数曲线就是归一化的菌体比生长速率曲线,可以通过发酵过程中菌体密度的检测数据并用数据微分的方法求得,从而确定对数期.由于数据微分方法对数据中的误差较敏感,因此该方法获得的对数期隶属度函数一般误差较大,只能作为一个初步结果.消除误差的方法是首先对生长曲线进行曲线拟合,然后对拟合函数求导来确定对数期隶属度函数.

2.3 富硒酵母发酵的模糊动力学模型与分析

对富硒酵母发酵的菌体密度数据进行数值微分,绘制比生长速率曲线(见图2).

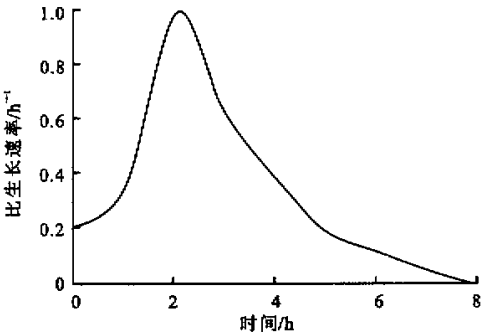


图 2 富硒酵母发酵比生长速率曲线

Fig.2 The specific growth curve of yeast rich with Se
选择正态分布函数作为对数期的隶属度函数,根据式(8)(11),有

$$\mu = \mu_E \exp\left(-\frac{(t - t_E)^2}{r^2}\right) \tag{14}$$

根据图2结合式(13),确定 t_E , r 和 μ_E 最佳初值为: $t_E = 2.2$, $r = 0.1$, $\mu_E = 1$.

联立式(7)(14),可以求取所有时刻的菌体密度.利用最小二乘法调整 t_E , r 和 μ_E 的取值,经过12次参数调整后,计算菌体密度和实测菌体密度接近一致(见图3),误差为4.3%.此时模型参数为:
 $t_E = 2.6$ $r = 0.1$ $\mu_E = 0.97$.

图3显示模糊生长模型对实验数据具有良好的拟合能力,可以真实反映发酵过程中富硒酵母的生长情况.

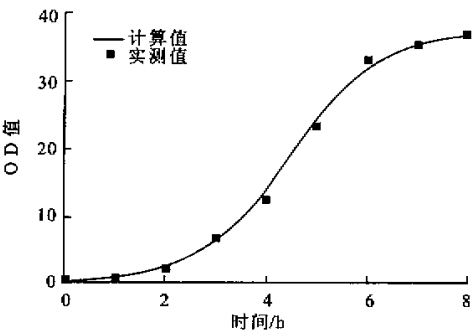


图 3 模糊生长模型对发酵数据的拟合分析

Fig. 3 The comparison between the specific growth curve measured in yeast fermentation and that calculated by the fuzzy growth model

根据模型参数,可以确定对数期、适应期和饱和期的隶属度函数,如图4所示.

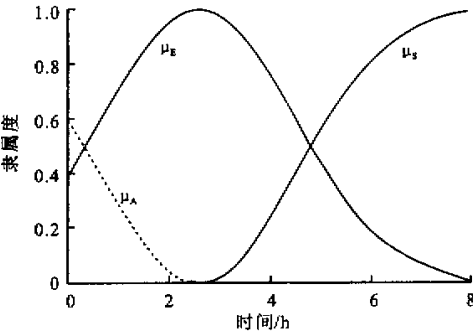


图 4 富硒酵母发酵中细胞生长阶段的模糊划分

Fig.4 The division of different phase in yeast fermentation

在实际应用中常采用对数期的 λ 截集来对上述模糊对数期进行去模糊化

$$E_\lambda = \{t | \mu_E(t) \geq \lambda\} \tag{15}$$

对于富硒酵母发酵

$$E_{0.5} = [0.4, 4.8] \tag{16}$$

所以在0.5的截集水平上富硒酵母发酵的前0.4h为适应期,0.4~4.8h为对数期,4.8h以后为饱和期.

3 结 论

模糊动力学模型可以准确模拟富硒酵母的生长情况.模糊动力学模型中参数具有明确的物理意义,对数期隶属度函数对应相对比生长速率曲线,
(下转第644页)

从图 4 可见 ,当 DE 值小于 2% 时 ,产品形成凝胶的能力随着 DE 值的增加而迅速下降 ;DE 值在 2%~3% 时 ,产品形成相对稳定的弱凝胶 ,能够模拟脂肪的性质 ;当 DE 值大于 4% 时 ,几乎不能形成凝胶.

参考文献：

[1] GRIFFIN V K ,BROOKS J K. Production and size distribution of rice maltodextrins hydrolyzed from milled rice flour using heat-stable alpha-amylase[J]. **Journal of Food Science** ,1989 ,54(1) :190 - 193.

[2] SHETTY J K ,ALLEN W G. An acid-stable , thermostable alpha-amylase for starch liquefaction[J]. **Cereal Foods World** , 1998 , 33(11) 929 - 934.

[3] 无锡轻工业学院 ,天津轻工业学院. 食品分析[M]. 北京 :中国轻工业出版社 ,1992. 120 - 216.

[4] QB/T2320—97 麦芽糊精[S].

[5] JU ,MITTAL G S. Physical properties of various starch based fat-substitutes[J]. **Journal of Food Processing and Preservation** , 1995 ,119 331 - 383.

[6] 费荣昌. 实验设计与数据处理[Z]. 无锡 无锡轻工大学 ,1997. 57 - 65.

[7] ELIASION A C. Starch gelatinization in the presence of emulsifier : amorphological study[J]. **Starch** ,1985 ,37 411 - 415.

[8] HENNING V ,LECHERT H. Examination of swelling mechanism of starch by pulsed NMR method[J]. **Starch** ,1976 ,28 10 - 12.

(责任编辑 朱 明)

(上接第 640 页)

而对数期的比生长速率对应整个发酵过程的最大比生长速率. 因此在数值微分法确定的相对比生长速率曲线基础上 ,可以确定合理的参数初值 ,从而只经过少数几次的参数调整 ,就可获得最终的模型参数 ,缩短了建模时间 ,为模型的在线自适应和在

线应用提供了可能.

对数期可以用菌体的相对比生长速率曲线来确定. 在 0.5 的截集水平上 ,富硒酵母发酵的对数期开始于 0.4 h ,结束于 4.8 h.

参考文献：

[1] VLADIMIR G D ,JURY D T , ANDREI J C , *et al.* Method for producing human leukocyte interferon alpha-2[P]. USP : 4680260 ,1987-07-08.

[2] 李志勇 ,郭祀远 ,李琳. 藻类对微量元素的生物富集及其应用[J]. 微生物学通报 ,1997 (3) :12 - 14.

[3] 苗志奇 ,未作君 ,元英进. 水杨酸在紫杉醇生物合成中诱导作用的研究[J]. 生物工程学报 ,2000 ,16(4) :106 - 110.

[4] YUAN Y J ,MIAO Z Q ,LI S Y. The fuzzy neural network controller in yeast fed-batch fermentation[J]. **Chemical Engineering Ommunication** , 1999 ,174 :163 - 167.

(责任编辑 李春丽)