

研究简报

基于遗传算法的羊肚菌液体发酵动力学模型的建立

王莹¹, 朴美子¹, 孙永海²

1 青岛农业大学食品科学与工程学院, 青岛 266109

2 吉林大学生物与农业工程学院, 长春 130025

摘要: 发酵动力学研究是实现发酵过程最优化控制及发酵过程放大的前提条件。本研究对羊肚菌液体深层发酵动力学进行了研究, 在 Matlab 软件平台上, 应用遗传算法对比了真菌生长较常用的 Monod 与 Logistic 方程在描述羊肚菌生长动力学时的优劣, 并对羊肚菌的生长、胞外多糖产生和基质消耗模型进行了参数估计。结果表明, Logistic 方程与试验数据拟和情况更好, 并给出了羊肚菌液体深层发酵的动力学模型具体形式, 经验证, 模型的平均误差为 5.8%。利用遗传算法选择羊肚菌动力学模型, 并进行参数估计与其他方法相比具有快速、搜索面广、接近全局最优解的特点, 在处理分批发酵动力学问题上具有不可比拟的优势, 发酵动力学模型的建立为发酵过程优化及放大奠定了基础。

关键词: 羊肚菌, 液体发酵, 胞外多糖, 动力学, 遗传算法

Genetic Algorithm for Fermentation Kinetics of Submerged Fermentation by *Morchella*

Ying Wang¹, Meizi Piao¹, and Yonghai Sun²

1 College of Food Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China

2 College of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun 130025, China

Abstract: Fermentation kinetics is important for optimizing control and up-scaling fermentation process. We studied submerged fermentation kinetics of *Morchella*. Applying the genetic Algorithm in the Matlab software platform, we compared suitability of the Monod and Logistic models, both are commonly used in process of fungal growth, to describe *Morchella* growth kinetics. Meanwhile, we evaluated parameters involved in the models for *Morchella* growth, EPS production and substrate consumption. The results indicated that Logistic model fit better with the experimental data. The average error of this model was 5.8%. This kinetics model can be useful for optimizing and up-scaling fungal fermentation process.

Keywords: *Morchella*, submerged fermentation, exopolysaccharide, kinetics, genetic algorithm

羊肚菌(*Morchella esculenta* (L.) Pers)是一种珍贵的野生食用菌, 也是一种高级营养滋补品。科学研究表明, 它具有它有降血脂, 调节免疫功能, 抗疲劳、抗辐射、抗肿瘤等作用, 经中西医专家论证羊肚菌对人体有全面的保健功能, 在提高人体免疫力、抗各类疲劳综合症等方面有极显著的效果^[1-4]。

但是由于羊肚菌子实体生长对环境气候要求比较苛刻, 至今尚未解决人工栽培的工业生产问题, 液体深层发酵在很大程度上解决了羊肚菌资源严重匮乏的现状^[5]。

目前, 羊肚菌的研究多采用液体深层发酵, 以生产菌丝体和多糖为目的, 但是对发酵动力学

Received: January 6, 2008; Accepted: March 24, 2008

Corresponding author: Ying Wang. Tel: +86-13626426308; E-mail: wyllyac@163.com

研究比较少见,唯一的报道为2005年武秋立等研究了羊肚菌胞外多糖的发酵动力学^[6],但是只在摇床规模上得出了结论,并利用实验数据通过绘图的方法得到的模型参数,方法比较麻烦;本研究利用5 L发酵罐培养羊肚菌并研究发酵动力学,利用遗传算法进行参数估计,遗传算法以其以其高效、自适应及益于全局搜索的优势,使得建立的模型更加准确,对于掌握羊肚菌发酵的本质特征,进行发酵过程的优化控制及发酵规模的进一步放大奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 菌种

粗柄羊肚菌(*Morchella crassipes* (Vent.) Pers.) AS5.382, 购于中科院微生物研究所。

1.2 培养基

斜面培养基 (g/g): 20% 土豆汁, 葡萄糖 2%, KH_2PO_4 0.3%, MgSO_4 0.15%, 琼脂 1.5%。

液体种子培养基(g/g): 马铃薯 10%, 蔗糖 3%, 蛋白胨 0.1%, 酵母膏 0.5%, KH_2PO_4 0.05%, MgSO_4 0.05%。

发酵培养基(g/g): 麦麸 4%, 玉米粉 2%, 黄豆粉 1%, MgSO_4 0.1%, KH_2PO_4 0.1%。

1.3 仪器、设备

BOTECH 5 L 在位灭菌发酵罐; 上海保兴生物技术有限公司 LM570 低温振荡器; 以色列 M.R.C. 公司 DU800 紫外/可见光分光光度计; 美国 Beckman coulter 公司。

1.4 方法

1.4.1 培养方法

将粗柄羊肚菌斜面保藏菌种活化 24 h 后, 无菌条件下接入三角瓶液体种子培养基(250 mL 装料 50 mL), 在 28°C, 摇床频率 180 r/min, 培养 48 h, 以 10% 的体积比接种于 5 L 发酵罐(装料 3 L), 在 28°C, 搅拌速度 500 r/min, 通气量 2.5 L/min, 培养 120 h。

1.4.2 菌丝生物量测定方法

利用发酵罐自动取样系统每 12 h 取发酵醪, 3000 r/min 离心 15 min, 沉淀菌丝用蒸馏水清洗 2~3 次, 置于真空干燥箱, 在 0.05 MPa 真空度下 50°C 烘干至恒重, 分析天平称量, 计算菌丝体生物量。

菌丝生物量(g/L)=干菌丝重量(g)/发酵液体积(L)

1.4.3 胞外多糖和基质糖含量测定方法

取 15 mL 去菌丝体发酵醪, 加入 3 倍乙醇, 于 -15°C 沉淀 24 h, 取出于 3000 r/min 离心 15 min, 沉淀加乙醇再离心, 重复 2 次后将沉淀用蒸馏水溶解, 定容, 用硫酸-蒽酮法于 620 nm 测定吸光度值, 计算胞外多糖得率; 上清液直接利用硫酸-蒽酮法测定基质糖含量。

2 发酵动力学模型

2.1 生长动力学模型

羊肚菌是一种食药两用真菌, 真菌的生长动力学常用 Monod^[7]方程和 Logistic^[8,9]方程描述。Monod 方程是目前应用最广泛、形式最简单的微生物生长动力学模型, 其形式见式(1)。

$$\frac{dCx}{dt} = \frac{\mu_{\max} \cdot C_s \cdot Cx}{K_s + C_s} \quad (1)$$

式中: Cx ——菌丝生物量, g/L; μ_{\max} ——最大比生长速率, h^{-1} ; C_s ——限制性基质浓度, g/L; K_s ——饱和常数, g/L; t ——时间, h。

Logistic 方程是由比利时数学家 Verhulst 于 1838 年首创的, 它被看作是一个表现生长与营养物质之间的非线性关系的经验方程^[10]也常用来描述真菌的生长, 其形式见式(2)。

$$\frac{dCx}{dt} = \mu_{\max}' \left(1 - \frac{Cx}{C_{x\max}}\right) \cdot Cx \quad (2)$$

式中: μ_{\max}' ——最大比生长速率, h^{-1} ; $C_{x\max}$ ——最大菌丝生物量, g/L。

下文将对比上述两种方程用于描述羊肚菌生长的适合程度, 选择最佳的羊肚菌生长模型。

2.2 胞外多糖生成模型

羊肚菌胞外多糖的生成通常认为与生长是半生长偶联型的^[6], 采用 Luedeking-Piret^[11]方程描述胞外多糖的生成动力学, 其形式见式(3):

$$\frac{dCp}{dt} = \alpha \left(\frac{dCx}{dt}\right) + \beta Cx \quad (3)$$

式中: Cp ——胞外多糖浓度, g/L; α 、 β ——模型参数, 随发酵条件变化。

2.3 基质消耗模型

在羊肚菌液体发酵过程中, 将糖浓度视为限制性基质浓度, 认为其它组分均过量, 不影响菌丝体的生长。羊肚菌在生长过程中基质消耗主要

与菌体的生长、产物生成及菌体的代谢相关,可用式(4)表示。

$$-\frac{dCs}{dt} = \frac{dCx/dt}{Y_{x/s}} + \frac{dCp/dt}{Y_{p/s}} + m_0 Cx \quad (4)$$

式中: $Y_{x/s}$ —消耗 1 g 基质生成的菌丝体量(g); $Y_{p/s}$ —消耗 1 g 基质生成的胞外多糖量(g); m_0 —细胞的维持系数, h^{-1} ; t —时间, h。

3 结果与讨论

3.1 羊肚菌液体发酵过程代谢变化

图 1 为采用优化后的培养基配方和发酵条件进行羊肚菌液体深层培养的进程曲线。图中描述了羊肚菌菌丝体生物量(Biomass), 胞外多糖产量(Exopolysaccharides, EPS)和基质(Sugar)消耗量随发酵时间的变化。从图中可以发现羊肚菌生长呈现 S 型曲线, 符合真菌生长的特点; 多糖生成与菌丝体的生长呈半偶联关系, 证明选用的多糖生成模型恰当。在该实验数据的基础上, 利用遗传算法对羊肚菌动力学进行模拟, 对比 Monod 方程和 Logistic 方程在描述羊肚菌生长动力学时的优劣, 并利用该算法确定发酵动力学模型的参数。

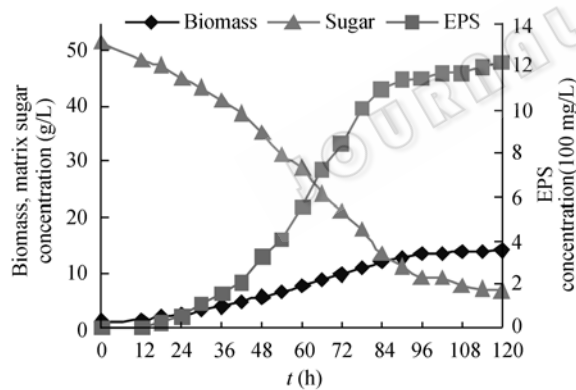


图 1 羊肚菌发酵过程曲线

Fig. 1 Profile of biomass, matrix sugar concentration and EPS concentration during *Morchella* fermenting process

3.2 遗传算法的作用

遗传算法(Genetic algorithms, GA)是一种基于生物自然选择与遗传机理的随机搜索算法, 以其高效、自适应及益于全局搜索的优势在很多领域中得到应用。它的搜索面广, 寻优速度快, 得到的结果能以较大概率接近全局最优解。对于解决分批发酵动力学参数估计问题, 遗传算法较传统的方法具有不可比拟的优势^[12,13]。

3.3 模拟结果与分析

3.3.1 生长模型的选择

在 Matlab 平台下, 应用遗传算法分别对 2 组模型与实验数据进行拟合, 目标函数为实验数据与模型的模拟数据的误差平方和, 将其编写成 M 文件, 值作为标量返回, 微分方程的解法选用四阶龙格-库塔法, 遗传算法初始种群数为 40, 遗传代数 of 100 代, 对比 Monod 方程与 Logistic 方程用于描述羊肚菌生长的进化情况。遗传算法进化结果见图 2、图 3。

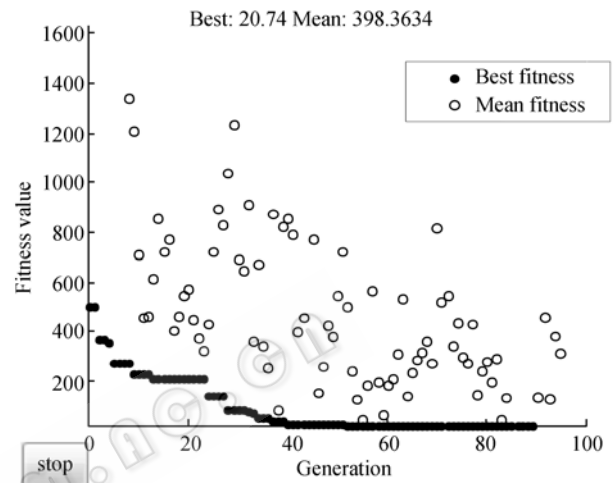


图 2 Logistic 方程的遗传进化结果

Fig. 2 Evolutional result of Logistic equation by GA

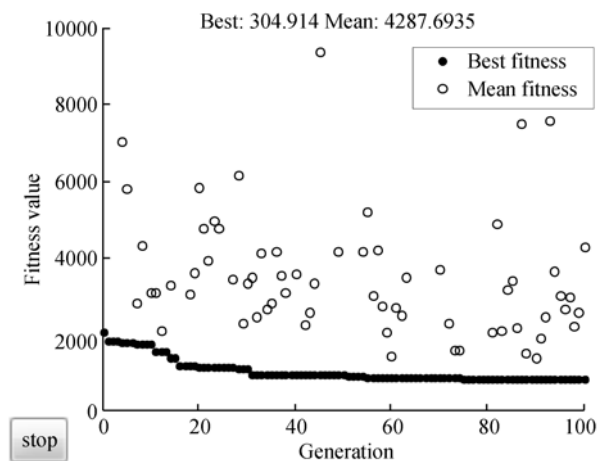


图 3 Monod 方程的遗传进化结果

Fig. 3 Evolutional result of Monod equation by GA

从结果可知 Logistic 方程的最佳适应度为 20, 证明 Logistic 方程描述羊肚菌生长与实验数据吻合较好; 而 Monod 方程的最佳适应度为 304, 说明 Monod 方程与真实发酵情况相差较大, 不适用于描述羊肚菌的生长。因此, 选用 Logistic 方程作为羊肚

菌生长动力学模型。

3.3.2 模型参数的确定

3.3.1 确定了羊肚菌生长动力学模型由 Logistic 方程描述, 因此羊肚菌的发酵动力学模型由生长模型 Logistic 方程、多糖生成模型 Luedeking-Piret 和基质消耗模型组成。根据实验数据利用遗传算法对发酵动力学模型进行参数估计, 遗传算法初始种群数为 40, 遗传代数 100 代, 交叉概率 0.7, 变异概率 0.06, 并模拟得到 Logistic 方程参数估计结果见表 1。

表 1 遗传算法模型参数估计结果
Table 1 Results of parameter estimation by GA

μ_{\max}	$C_{x\max}$	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$	α	β	m_0
0.0494	14.79	0.352	0.3658	0.1023	0.0004	0.0029

因此得到羊肚菌发酵动力学模型为:

$$\frac{dCx}{dt} = 0.0494(1 - \frac{Cx}{14.79})Cx \quad (5)$$

$$\frac{dCp}{dt} = 0.0051(1 - \frac{Cx}{14.79})Cx + 0.0004Cx \quad (6)$$

$$-\frac{dCs}{dt} = \frac{dCx/dt}{0.5756} + \frac{dCp/dt}{0.3658} + 0.0029Cx \quad (7)$$

经验证, 模型的最大相对误差为 7.4%, 平均相对误差为 5.8%, 最佳适应度值为 20, 因此上述模型能够较好地描述羊肚菌菌丝体发酵动力学。运用 GA 算法进行参数估计整个过程用时大约 5 min, 充分体现出了 GA 算法的高效性。通过与前人的研究结果对比发现利用遗传算法进行参数估计, 模型的相对误差较小, 能够更好的反映羊肚菌发酵规律, 为扩大发酵和过程优化奠定基础。

4 结论

在 5 L 发酵罐中, 对羊肚菌进行了液体深层发酵, 测定了发酵过程中的菌丝体生物量、多糖产量和基质(还原糖)变化的试验数据。利用遗传算法分别对 Monod 方程与 Logistic 方程进行拟合。结果表明, Logistic 方程与试验数据拟合情况比较理想, 并给出了组成羊肚菌液体深层发酵动力学的 3 个模型的具体形式, 经验证, 该模型平均误差为 5.8%, 为发酵过程的进一步扩大及优化控制奠定了基础。

REFERENCES

[1] Sun XM, Zhang WM, Wu SL. Study of immune

modulation role of *Morchella*. *Chin Wild Plant Resources*, 2001, **20**(2): 12–13.

孙晓明, 张卫明, 吴素玲. 羊肚菌免疫调节作用研究. 中国野生植物资源, 2001, **20**(2): 12–13.

[2] Li Y, Wen L. Study and exploitation on *Morchella*. *Edible Fungi of China*, 2004, **23**(1): 6–10.

李烨, 温鲁. 羊肚菌的研究和开发. 中国食用菌, 2004, **23**(1): 6–10.

[3] Auaouin P, Vidal JP. Volatile compounds from aroma of some edible mushroom morel (*Morchella conica*). *Sci Aliments*, 1989, **9**(1): 185–193.

[4] Mitsuaki M, Shin-ichi S, Shin-ichi H. Isolation of cis-3-amino-L-proline from cultured mycelia of *Morchella esculenta* Fr. *Appl Envir Microbiol*, 1979, **38**(5): 1018–1019.

[5] Chen XD, Zhu R, Lan J. Advances of researches on *Morchella*. *Acta Edulis Fungi*, 2002, **9**(2): 56–61.

陈向东, 朱戎, 兰进. 羊肚菌研究进展. 食用菌学报, 2002, **9**(2): 56–61.

[6] Wu QL, An JY. Kinetic models for exopolysaccharides of *Morchella esculenta* by fermentation. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis* (Natu Sci Edi), 2005, **38**(1): 43–48.

武秋立, 安家彦. 羊肚菌胞外多糖发酵动力学模型. 南开大学学报(自然科学版), 2005, **38**(1): 43–48.

[7] Bailey JE, Ollis DF. *Biochemical Engineering Fundamentals*. New York: McGraw-Hill Book Company, 1996.

[8] Avadhani SK, Zheng ZX, Kalidas S. A mathematical model for the growth kinetics and synthesis of phenolics in oregano shoot cultures inoculated with *Pseudomonas* species. *Process Biochem*, 1999, **35**: 227–235.

[9] Zhang JG, Song Y, Li JL. Kinetic model for exopolysaccharides (EPS) of *ganoderma lucidum* in batch fermentation. *Chin J Biotech*, 2007, **23**(6): 1065–1070.

张建国, 宋渊, 李季伦. 灵芝宝外多糖分批发酵动力学模型. 生物工程学报, 2007, **23**(6): 1065–1070.

[10] Li WC. Recognition of Logistic equation. *J Beijing Forest Univ*, 1990, **12**(2): 121–127.

李文灿. 对 Logistic 方程的再认识. 北京林业大学学报, 1990, **12**(2): 121–127.

[11] Murat E, Ferda M. A kinetic model for actionrhodin production by *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Process Biochem Eng J*, 2003, **14**: 137–141.

[12] Wang DY, Wang J, Chen N. Application of genetic algorithms to estimating parameters from kinetic model of glutamic acid batch fermentation. *Letters in Biotechnology*, 2005, **16**(4): 407–408.

王东阳, 王健, 陈宁. 基于遗传算法的谷氨酸发酵动力学参数估计. 生物技术通讯, 2005, **16**(4): 407–408.

[13] Lei YJ, Zhang SW, Li XW. *MATLAB Genetic Algorithm Toolbox and Application*. 1st ed. Xi'an: UEST Press, 2005.

雷英杰, 张善文, 李续武, 等. MATLAB 遗传算法工具箱及应用. 第一版. 西安: 西安电子科技大学出版社, 2005.