

面包酵母细胞循环模型的实验验证

袁景淇 蒋慰孙

(华东化工学院自动化研究所, 上海 200237)

Bellgardt, K.H.

(Hannover University, 3000 Hannover, FRG)

Deckwer, W.D.

(GBF, 3300 Braunschweig, FRG)

本文对作者早期提出的面包酵母细胞循环模型 CCM 进行了改进和动态实验验证。结果表明, CCM 的动态特性基本与真实过程相符。基于该模型设计的酵母流加发酵最优进料控制策略的实施结果证实, CCM 能够用于酵母生产的质量控制。

关键词 面包酵母; 非对称芽殖; 细胞循环模型; 动态验证; 质量控制

面包酵母(*Sacchromyces cerevisiae*)用于面包及其它面粉类食品的发酵。面包酵母以出芽分裂(budding)的方式繁殖, 见图1, 子细胞生长到一定的阶段开

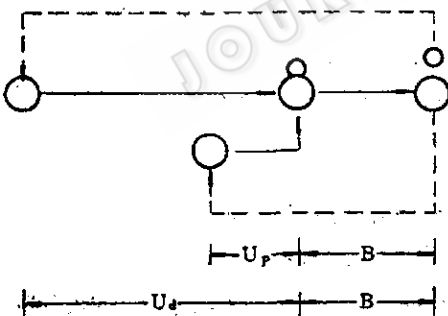


图1 面包酵母*S.cerevisiae*细胞循环分裂简图

Fig.1 Simplified cell cycling process for baker's yeast *S.cerevisiae* U_d—Unbudded daughter phase, U_p—Unbudded parent phase, B—Budding phase

始发芽而成为带芽细胞。带芽细胞继续生长, 经 B 小时后芽胞成熟并与母体分离, 这样就形成了一个新的子细胞和一个 1-痕母细胞(子细胞与母体分离时会在母细胞表面留下一个疤痕)。二者分别继续上述

循环, 不过子细胞的循环周期在任何比生长速率下均较母细胞为长, 即 $U_d > U_p$ 。这就是所谓的非对称循环过程。图 1 中的 U_d 、 U_p 分别表示无芽子细胞和无芽母细胞的循环期, B 是带芽细胞循环期, 它们的量纲均为小时。对上述酵母细胞循环分裂过程进行模型化有着直接的工业应用意义。因为实验数据表明^[1,2], 酵母产品中带芽细胞分率 FBC (Fraction of budding cells) 分别与压榨酵母的耐贮存力和活性干酵母的发酵力近似地成反比。因此, 使 $FBC \rightarrow \min$ 是模型化研究和应用的主要目的。

在早期的工作中我们已经建立了酵母细胞循环模型 CCM (Cell cycling model)^[3]。该模型的静态特性与文献中的实验数据甚为吻合。本文则利用新近完成

本文于 1991 年 9 月 23 日收到。

本文实验工作得到 GBF 的 K. Schaller 先生, A. Afschar, H. Biebl 和博士的热情帮助, 特此致谢。

国家教委优秀青年教师基金资助。

的动态实验数据对 CCM 的过渡过程特性进行了检验并作了必要的修正, 结果比较令人满意。作为一个应用例子, 我们用改进后的 CCM 设计了一次控制实验, 并给出了实验结果。事实上, 在最优进料策略控制下, FBC 几乎达到了理论上的极小值。

(一) CCM 的动态改进

CCM 的基本模型结构由图 2 表示:

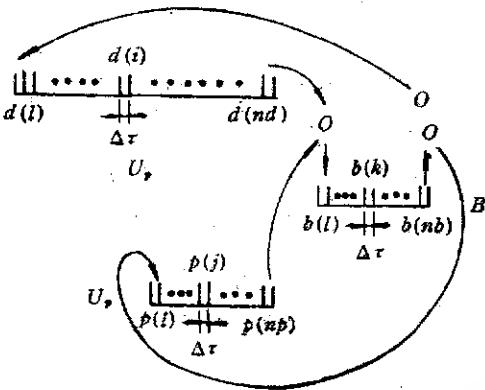


图 2 酵母细胞循环模型 CCM 的模型结构

Fig.2 Schematics of the discrete cell cycling model for *S. cerevisiae*

图 2 是图 1 的离散化结果。离散化小区间的宽度为 $\Delta\tau$ 小时。 $d(i)$, $p(j)$ 和 $b(k)$ 分别表示这些小区间中的细胞数, 它们分别属于循环期 U_d , U_p 和 B 。CCM 则是描述各小区间中的细胞沿循环方向(见图 1)运动动态过程的一组代数方程^[3]。

大量实验数据证明, 当比生长速率 μ 恒定时, U_d , U_p 和 B 与 $1/\mu$ 存在线性关系。我们称这样的线性关系为循环期方程, 它有如式(1)所示的简单形式:

$$\begin{aligned} U_d &= C_{d,1} \ln 2 / \mu + C_{d,2} \\ U_p &= C_{p,1} \ln 2 / \mu + C_{p,2} \\ B &= C_{b,1} \ln 2 / \mu + C_{b,2} \end{aligned} \quad (1)$$

当方程(1)中的各系数已知且 μ 给定时, 即可用 CCM 对细胞循环分裂过程进行仿真。文献[3]给出了面包酵母 *S. cerevisiae* S 288c/1 的稳态循环过程实验

值和模型仿真结果比较, 二者完全一致。然而, 工业化酵母生产中大量采用的是流加发酵方式, 而流加发酵中的 μ 是时变的而不是定值。出于实用的考虑, CCM 必须适应时变的 μ 。在 μ 变化以后, 各循环期的长度将相应地变化。原来位于各离散化循环小区间内的细胞势必面临再分布。再分布的形式决定了后继动态循环特性。要严格地描述这样的细胞再分布过程将是极其困难的, 因为细胞的再分布与细胞在过渡过程中的极为复杂的形态变化有关。

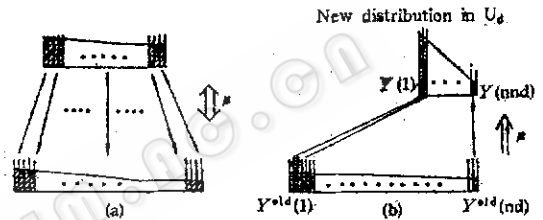


图 3 比生长速率 μ 改变后各循环期中细胞的再分布型式

Fig.3 Redistribution mode of the cells in a cycling phase after μ changes (a) uniform; (b) exponential

在原始模型中曾采用了最简单的再分布方式——均匀再分布, 见图 3(a)。但是, 与本文中动态循环过程实验数据的比较表明, 采用均匀再分布的模型动态误差较大。经过反复的仿真对照发现, 若在 μ 的上升沿对 U_d 中的细胞作指数型再分布(见图 3(b)), 而在其它情况下仍采用图 3(a)所示的均匀再分布, 则可获得较为令人满意的模型动态特性。这样的修正实质上改进了细胞群体中形态变化最烈的子细胞的动态描述, 详见^[1]。

(二) CCM 的动态实验验证

CCM 的输入变量是 μ 。 μ 通常难于直接测量, 但可由动力学模型估计出来。为此将 CCM 与一描述面包酵母生长代谢的结构模型(Bellgardt's model^[4]) 结合

起来^[1]。所得组合模型的输入变量是通常的工程控制变量，即进料流量， μ 则作为中间变量处理。

为对 CCM 进行动态验证，共设计了四次发酵实验。进行采样分析的过程变量有：细胞浓度(干重) X ，糖浓度 S ，乙醇浓度 E 、细胞密度 X_n 和带芽细胞分率 FBC。其中前三个变量与代谢过程有关，被用于代谢模型的参数辨识以获 μ 的估计

值；后两个变量与细胞动态循环过程有关，被用于 CCM 的动态验证。实验概况见表 1；

图4(a)—(d)给出了CCM的仿真曲线与四次实验结果比较。其中 μ 由代谢模型仿真而得。

表 2 是四次实验的循环期方程系数辨识结果；

在图4a—d中， X_n 的模型仿真值与实

表 1 为验证细胞循环模型设计的实验

Table 1 Outline of the experiments designed for model verification

Exp. No.	Strains	Substrate	Volume of fermenter(l)	Operation manner	Temperature (°C)	pH
1	<i>S.cerevisiae</i> H1022	glucose	20	batch + feed	30	5.0
2	<i>S.cerevisiae</i> H1022	molasses	20	pulsed feed	34	4.8
3	<i>S.cerevisiae</i> H620	glucose	30	fed-batch	32	5.0
4	<i>S.cerevisiae</i> H620	glucose	30	fed-batch	32	5.0

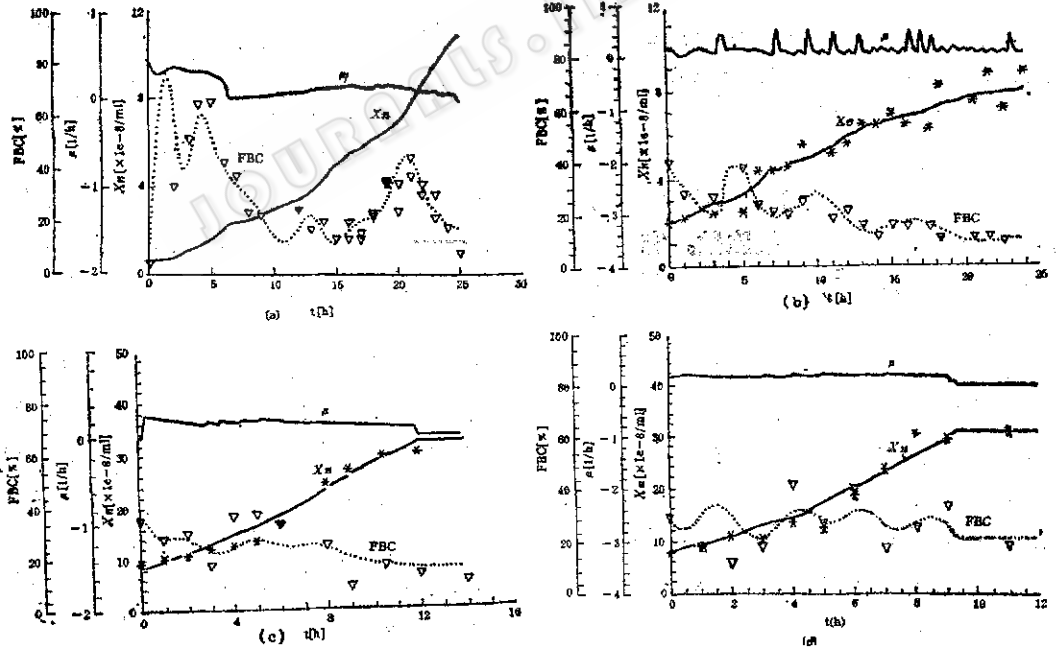


图 4 CCM 的动态仿真曲线与实验结果的比较 (a)—(d) 对应于实验 1—4

— μ , $\nabla \dots \nabla$ FBC, *—* X_n

Fig.4 Comparison of the simulations by the CCM with the experiments.

(a)—(d): experiment 1—4

— Specific growth rate μ (1/h) $\nabla \dots \nabla$ Fraction of budding cells FBC(%)

— Cell number concentration X_n ($\times 10^{-8}$ /ml)

表 2 对应于四次实验的循环期方程系数
Table 2 Identified parameters in CCM for experiment 1—4

Exp.No.	Strains	C_{d1}	C_{d2}	C_{p1}	C_{p2}	C_{b1}	C_{b2}
		—	h	—	h	—	h
1	H1022	0.294	1.39	1.84	-1.09	0.462	-0.10
2	H1022	0.259	1.20	1.88	-1.11	0.558	-0.10
3	H620	0.019	1.36	1.57	-1.179	0.464	-0.29
4	H620	0.015	1.33	1.45	-1.57	0.435	-0.40

验值(实验一无分析数据)吻合良好。这表明,示于图 2 中的 CCM 基本模型结构与真实过程大致相同。FBC 定性地看与实验数据的变化趋势一致,但定量地看还是有一定的误差。其中的一部分属于分析误差(由于 FBC 是在显微镜下目测计数的结果,故误差较大),另一部份是模型误差。进一步完善模型是可能的,但下节将可看到,即使用此不很精确的循环模型,也能满足一些重要的应用要求。比较表 2 中所列循环期方程系数可以发现,同一菌株系数变化是不大的,这与前人研究结果相同^[6]。这个事实对 CCM 的实际应用极为有利,因为人们无须对同一菌株的循环期方程系数进行反复辨识。

(三)CCM 的应用实例

为考察 CCM 的实用价值,这里设计

了一次最优控制实验,目标是使发酵终了时 FBC 值尽可能地低,以改善产品的质量指标。当然,在优化质量指标的同时不能偏废产率、得率指标,故选取式(2)作为目标函数:

$$\min J(t = t_f) = (45 - X)^2 + E^2 + S^2 + FBC^2 \quad (2)$$

$$F_{min} < F < F_{max}$$

式(2)中的 F 是指基质补料流量, F_{min} 和 F_{max} 分别是其下限和上限。 t_f 是发酵时间, 取为 10h。由于在给定的 t_f 及培养基组成下, 最终细胞浓度不会超过 45g(干重/L)故分项 $(45 - X)$ 意为使 X 极大化。实验在 30L 的发酵罐上进行。初始体积 17.2L 发酵温度 30℃, pH 值 5.0, 基质为葡萄糖, 补料溶液的糖浓度为 230g/L, 补料流量时间序列来自组合模型对式(2)所

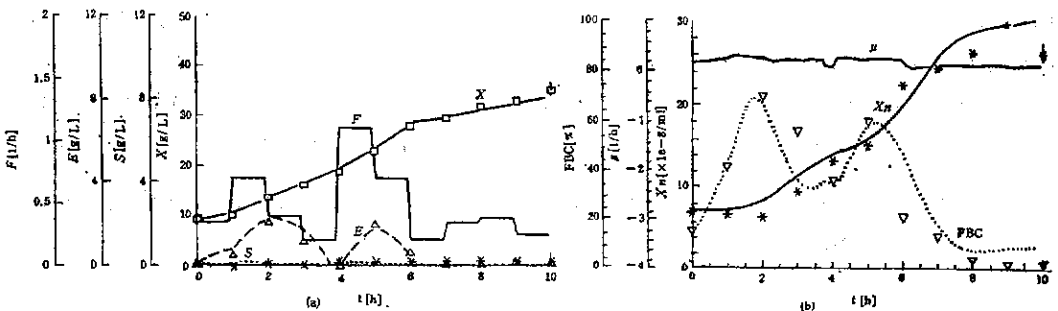


图 5 CCM 在面包酵母质量控制中的应用 (a)最优进料策略及代谢过程状态变量; (b) μ 的估计值及最优控制下的 X_n 和 FBC

Fig.5 The application of the CCM in the experiment of quality control (a) optimized feeding strategy and other process variables (b) X_n and minimized FBC.

- (a) — Feeding rate F (L/h)
- $\Delta \cdots \Delta$ Ethanol conc. E (g/L)
- *...* Glucose conc. S (g/L)
- $\square - \square$ Biomass X (g/L)
- (b) $\Delta \cdots \Delta$ Fraction of budding cells FBC (%)
- Specific growth rate μ (1/h)
- *...* Cell number conc. X_n ($\times 10^{-8}$ /ml)

示目标函数优化仿真结果。组合模型的参数(包括动力学模型参数及循环期方程系数)取自对实验3的参数辨识结果。最优进料策略及其控制结果见图5。

参 考 文 献

- [1] 袁景琪, 华东化工学院博士论文, 1991.
 [2] Reid, B. and Hartwell, L. H.: *J. Cell Biol.*, 75:355, 1979.
 [3] Yuan, J. Q. *et al.*: *Biochemical Engineering-Stuttgart*, Reuss, M. *et al.* (eds), Gustav Fischer, Stuttgart., New York, pp.369-372, 1990.
 [4] Bellgardt, K.H., Ph. D. *Dissertation of University Hannover*, 1983.
 [5] Hartwell, L.H. and Unger, M.W., *J. Cell Biol.*, 75:422, 1977.

Verification of the Cell Cycling Model for Baker's Yeast

Yuan Jingqi Jiang Weisun

(*Institute of Automatic Control, East China University of Chemical Technology,
Shanghai 200237*)

Bellgardt K.H.

(*Hannover University, FRG*)

Deckwer W.D.

(*GBF, Braunschweig, FRG*)

The cell cycling model (CCM) for baker's yeast *Sachromyces cerevisiae* proposed earlier was modified and dynamically verified with our own experiments. It was shown that the simulations by the modified CCM are coincident with the experimental data. Based on the CCM, optimal feeding strategy in a fed-batch culture for baker's yeast was designed to minimize the fraction of budding cells (FBC) in cell population so as to enhance the fermentation activity of yeast product. The optimal control experiment was carried out with very successful results.

Key words: Baker's yeast; unequal budding; cell cycling model; optimal quality control