

模拟青霉素分批补料发酵过程的细胞自动机模型

于乃功, 阮晓钢

(北京工业大学电子信息与控制工程学院, 北京 100022)

摘要: 根据青霉素产生菌的生长机理和青霉素分批补料发酵过程的动力学特性, 在 Paul 等建立的形态学结构动力学模型的基础上, 建立了模拟青霉素分批补料发酵过程的细胞自动机模型。模型采用三维细胞自动机作为菌体生长空间, 采用 Moore 型邻域作为细胞邻域, 其演化规则根据青霉素分批补料发酵过程中菌体生长机理和简化动力学结构模型设计。模型中的每一个细胞既可代表单个产黄青霉菌体细胞, 又可代表特定数量的这种菌体细胞, 它具有不同的状态。对模型进行的仿真实验结果表明: 模型不但能一致地复现形态学结构动力学模型所描述的青霉素分批补料发酵过程的演化特性, 而且较形态学结构动力学模型更加直观地刻画了青霉素分批补料发酵过程的演化行为。最后, 对所建模型在实际生产过程中的应用问题进行了分析, 指出了需要进一步研究的问题。

关键词: 青霉素发酵过程; 发酵动力学; 形态学结构模型; 细胞自动机模型

中图分类号: TP301, TQ465

1 引言

青霉素是微生物的次级代谢产物, 主要通过微生物发酵的途径生产, 高成本和高能耗是其发酵生产的特征。因此, 优化青霉素发酵生产过程, 对于降低青霉素生产成本和提高青霉素产量、质量具有重要意义。对青霉素发酵过程进行优化的基础是反映其机理的模型, 而最常用的是其动力学模型^[1-4], 这类模型基于微生物学或发酵机理, 在理想条件下, 通过理论推导得出, 是一类确定性的机理模型。由微生物产生青霉素的动力学模型可以分为两类, 即: 非结构模型和形态学结构模型^[5]。非结构模型将细胞看成是均匀分布的物质, 不考虑不同菌丝形态之间的差异, 只考虑各个宏观变量之间的关系。形态学结构模型根据菌丝各部分不同的性质将其分为不同的形态, 将其对底物利用、菌丝生长及产物合成的不同作用分别加以考虑。这两种模型各有优缺点, 非结构模型结构简单, 参数较少, 在宏观变量如生物量、底物浓度和产物浓度上能较好地模拟发酵结果, 但是它将菌丝的不同部分看成是均一的整体, 这与丝状菌实际生长情况不符; 形态学结构模型分别考虑不同菌丝体形态对生长及产物合成的影响, 但由于影响因素较多, 造成模型参数较多, 模型较复杂。

从某种意义上说, 青霉素发酵过程是一种复杂生化过程, 微生物构成了青霉素发酵过程的基本要素, 其生物活性相对简单, 然而, 其形成的整个生

化反应过程却表现出复杂的行为, 这就是青霉素发酵生化过程中众多微生物表现的集体效应。作为生命体, 青霉素发酵过程中微生物的生长和繁殖可视为一个种群的发展, 这种发展依赖于其生存环境, 如葡萄糖、氧气、酸碱度等等。微生物种群与环境相互作用的过程就是种群发展并丰富自身结构或形态的过程, 也即自组织的过程。微生物发酵的生化反应过程机理复杂, 表现出的动态行为复杂多变, 其演化模式的多样性、随机性、不确定性, 以及对初始状态的敏感特性, 均反映出青霉素发酵过程的复杂系统特征。而目前的研究未能用复杂系统的观点去认识和理解青霉素发酵过程, 因而, 所建立的动力学模型未能表现出作为复杂系统的青霉素发酵过程的复杂系统特征, 使基于该类模型的最优控制策略具有很大的局限性, 与青霉素发酵过程优化的要求存在较大的差距。作为人工生命系统一个分支学科的人工细胞自动机 (cellular automata, 简称 CA) 是一种复杂系统, 是自然生命系统的对偶系统, 为复杂系统建模、仿真与控制提供了一种理想的计算模型, 具有特殊的价值。研究表明, 人工细

收稿日期: 2004-07-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (60274060, 60375017),

教育部科学技术研究重点项目 (203002)

通讯作者: 阮晓钢, 电话(传真): (010)67396157

E-mail: adrxg@bjpu.edu.cn

胞自动机具有表现复杂系统行为的能力^[6]，这种能力使基于细胞自动机的青霉素发酵过程建模、仿真与控制成为可能。

本文根据青霉素产生菌的生长机理和青霉素分批补料发酵过程的动力学特性，在 Paul 等^[7]建立的形态学结构动力学模型的基础上，建立了模拟青霉素分批补料发酵过程的细胞自动机模型(simulating penicillin fed-batch fermentation process cellular Automata Model, CAPFM)，对所建模型进行了仿真实验。仿真实验结果表明，CAPFM 不但能一致地复现形态学结构动力学模型所描述的青霉素分批补料发酵过程的演化特性，而且较形态学结构动力学模型更加直观地刻画了青霉素分批补料发酵过程的动态演化行为。

2 青霉素产生菌生长机理及其形态学结构模型

2.1 青霉素产生菌生长机理

产黄青霉 (*P.chrysogenum*)，又称橄榄型青霉，较适合于液体深层发酵，被广泛用于青霉素的工业化生产^[8]。产黄青霉的菌丝内有横隔膜，为多细胞丝状真菌，其完整的生长周期包括孢子萌发、菌丝生长尖端延伸、分支、分化、分生孢子形成。丝状菌发酵动力学模型只考虑丝状菌在发酵条件下的生长情况，因此不必考虑孢子的萌发和分生孢子的形成。菌丝量的增长只与菌丝生长尖端的延伸和菌丝生长尖端数目的增加有关。Paul 等在建立青霉素发酵过程形态学结构动力学模型时，将产黄青霉菌丝分为五个部分，其中 A_0 表示活跃的菌丝生长部分 (actively growing regions) 或称生长尖端， A_1 表示非生长或青霉素生产部分 (non-growing or penicillin producing regions)， A_2 表示非生长部分中的空泡 (vacuoles in the non-growing regions)， A_3 表示失活或没有代谢活性的部分 (degenerated or metabolically inactive regions)， A_4 表示自溶部分 (autolysis regions)。发酵液中， $A_i(i=0,1,2,3,4)$ 为菌丝对应的干重浓度，分别用 a_i ， $(i=0,1,2,3,4)$ 表示。由以上五部分组成的菌丝结构示意图见图 1，菌丝整个生长过程中各部分的相互作用关系示意图见图 2。在本文以后的叙述中将菌丝的各个部分称为细胞 (Cells)。

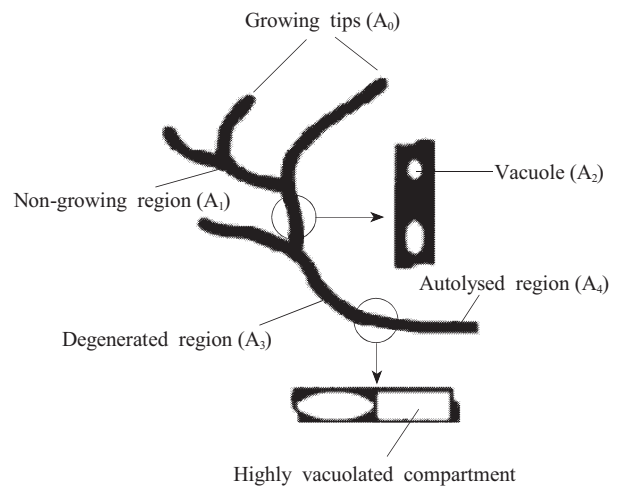


Fig.1 Schematic representation of a *P.chrysogenum* mycelium in submerged fermentation

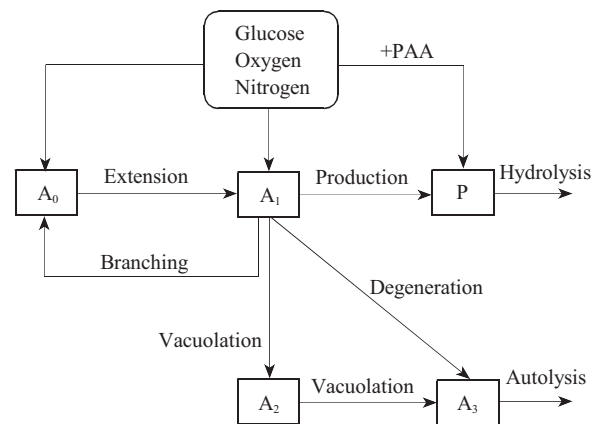


Fig.2 Correlation scheme of various *P.chrysogenum* mycelium segments

2.2 发酵过程简化形态学结构模型

对青霉素发酵过程进行建模的目的在于描述系统的动态特性，并为系统的优化和控制提供计算模型。青霉素发酵过程中需要优化和控制的目标参量往往是发酵过程中有代谢活性的菌体浓度和青霉素的最终产率，而从文献^[9]对青霉素发酵过程动力学的详细描述看出，直接影响发酵液中有代谢活性的菌体浓度的菌体细胞是 A_0 细胞和 A_1 细胞，直接影响青霉素产生速率的菌体细胞是 A_1 细胞，因此利用细胞自动机对青霉素发酵过程进行建模时可重点考虑 A_0 细胞的产生和分化、 A_1 细胞的产生和失活以及青霉素的产生三个反应过程。为此，可得产黄

青霉菌丝的简化结构示意图 (如图 3 所示), 菌丝各部分的相互关系示意图如图 4 所示。

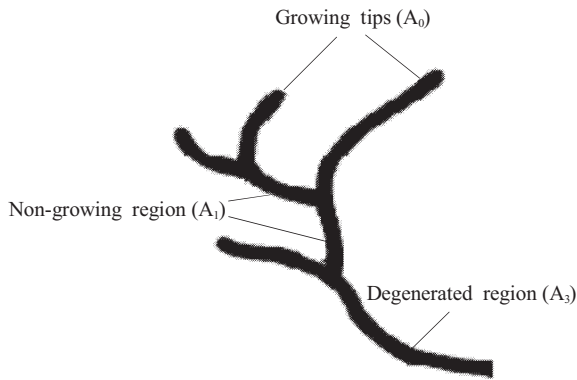


Fig.3 Schematic representation of *P.chrysogenum* simplified structure in submerged fermentation

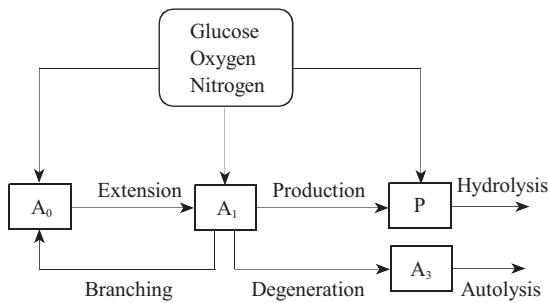


Fig.4 Various mycelium segments correlation scheme of *P.chrysogenum* simplified structure

2.2.1 A_0 细胞的产生和分化

新的生长尖端 A_0 细胞由 A_1 细胞产生的分枝形成, A_1 细胞产生分枝的过程可由反应式(1)描述。



α_0 是化学计量系数, S 代表发酵液中的底物。

A_1 细胞通过分枝产生生长尖端 A_0 细胞的速率 r_{b0} 由式(2)描述, 该反应中底物消耗的速率 r_{s0} 由式(3)描述。式(2)、(3)中, μ_0 为速率常数, K_0 为饱和常数, s 为限制性底物浓度。

$$r_{b0} = \frac{\mu_0 \alpha_1 s}{K_0 + s} \quad (2)$$

$$r_{s0} = \frac{\alpha_0 \mu_0 \alpha_1 s}{K_0 + s} \quad (3)$$

由 A_0 细胞向 A_1 细胞的分化受发酵液中底物浓度的影响, 其分化速率 r_{d1} 由式(4)描述, 分化过程中底物消耗的速率 r_{m0} 由式(5)描述。

$$r_{d1} = \frac{r_1 \alpha_0}{K_1 + s} \quad (4)$$

$$r_{m0} = \frac{m_0 \alpha_0 s}{K_1 + s} \quad (5)$$

式中, r_1 是由 A_0 细胞向 A_1 细胞的分化过程中对底物的最大利用速率, K_1 是底物饱和常数, m_0 是 A_0 细胞的维持系数。该式说明 A_0 细胞向 A_1 细胞的分化受到高浓度底物浓度的抑制, 但当底物浓度非常低时 (例如在产物合成阶段), 该分化过程可能更适合用 α_0 的一阶动力学描述。

2.2.2 A_1 细胞的产生和失活

菌丝长度的增长只能通过菌丝生长尖端 A_0 细胞的延伸来实现, A_0 细胞的延伸存在一个上限, 当 A_0 细胞延伸到一定长度时, 菌丝中便形成一个横隔 (septum), 尖端部分仍为 A_0 细胞, 后面的部分成为 A_1 细胞。该增长过程可由反应式(6)表示。式(6)中, α_e 是化学计量系数, S 代表发酵液中的底物。



A_1 细胞的形成速率 r_{e1} 由式(7)描述, 菌丝增长过程中底物消耗速率 r_{s1} 由式(8)表示。

$$r_{e1} = \frac{\mu_e \alpha_0 s}{K_e + s} \quad (7)$$

$$r_{s1} = \frac{\alpha_e \mu_e \alpha_0 s}{K_e + s} \quad (8)$$

式(7)、(8)中, μ_e 为速率常数, s 为限制性底物浓度, K_e 为饱和常数 (其值等于反应过程中生长速率为最大生长速率的一半时的限制性底物浓度值)。

由于底物的限制, A_1 细胞中会产生小的空泡, 它还会不断增多和增大。在这个过程中, 部分 A_1 细胞中的细胞质会减少或消失, 从而失去代谢活性转化为 A_3 细胞, A_1 细胞失活速率 r_{d3} 由式(9)描述。该过程中底物消耗的速率 r_{m1} 由式(10)描述。式(9)、(10)中, μ_3 是一阶速率常数, m_1 是 A_1 细胞的维持系数, K_2 是底物饱和常数。

$$r_{d3} = \mu_3 \alpha_1 \quad (9)$$

$$r_{m1} = \frac{m_1 \alpha_1 s}{K_2 + s} \quad (10)$$

当 A_3 细胞中的空泡较大时, A_3 细胞会自溶或受外力的作用成为碎片, A_3 细胞的自溶速率 r_{d4} 由式(11)描述。

$$r_{d4} = \mu_a \alpha_3 \quad (11)$$

式中, μ_a 是一阶速率常数。

2.2.3 青霉素生成和水解

假设青霉素的生成只与 A_1 细胞有关, A_1 细胞在消耗底物的同时合成青霉素, 但过高的底物浓度

会抑制青霉素的生成。青霉素的生成速率 r_p 由式 (12) 描述, 青霉素生成的底物消耗速率 r_{sP} 由式 (13) 描述。

$$r_p = \frac{\mu_p \alpha_p s}{K_p + s(1 + s/K_i)} \quad (12)$$

$$r_{sP} = \alpha_p r_p \quad (13)$$

式(12)、(13)中, μ_p 是青霉素生成比速率, K_p 是饱和常数, K_i 是抑制常数。 α_p 是底物转化为青霉素的化学计量系数。

假定青霉素的水解(失活)遵循一阶动力学, 则其水解速率 r_h 由式 (14) 描述。

$$r_h = \mu_h p \quad (14)$$

式(14)中, μ_h 是一阶青霉素水解常数, p 是青霉素的浓度。

2.2.4 简化形态学结构模型

根据前面的讨论, 可以得出青霉素分批补料发

酵过程简化的形态学结构动力学模型表达式 (15)。

$$\begin{cases} \frac{da_0}{dt} = r_{b,0} - r_{d,1} - \frac{Fa_0}{V} \\ \frac{da_1}{dt} = r_{e,1} - r_{b,0} + r_{d,1} - r_{d,3} - \frac{Fa_1}{V} \\ \frac{dp}{dt} = r_p - r_h - \frac{Fp}{V} \\ \frac{ds}{dt} = -\alpha_0 r_{b,0} - \alpha_e r_{e,1} - r_{m,0} - r_{m,1} - \alpha_p r_p - \frac{F(s_f - s)}{V} \\ \frac{dV}{dt} = F \end{cases} \quad (15)$$

上式中, V 是发酵液的总体积, F 是补料速率, s_f 是补料液中的底物浓度。

根据文献[7]提供的实验数据, 该简化形态学结构模型中各个参数的拟合值如表 1 所示, 该模型能较好的拟合实际青霉素发酵过程的试验数据。

Table 1 Model parameters for fed-batch penicillin fermentation process

Parameters	Values	Parameters	Values
μ_0 (h ⁻¹)	0.105	α_e (gS(gA ₀) ⁻¹)	2.10
μ_3 (h ⁻¹)	0.054	α_e (gS(gA ₁) ⁻¹)	1.25
μ_c (h ⁻¹)	0.25	α_p (gS(gP) ⁻¹)	1.00
μ_p (h ⁻¹)	0.023	K_0 (gSL ⁻¹)	0.05
μ_h (h ⁻¹)	0.003	K_e (gSL ⁻¹)	0.05
μ_a (h ⁻¹)	3.50E-3	K_i (gSL ⁻¹)	0.05
r_1 (gSL ⁻¹ h ⁻¹)	5.36E-3	K_2 (gSL ⁻¹)	0.30
K_s (cmh ⁻¹)	3.22E-5	K_p (gSL ⁻¹)	0.0002
m_0 (gS(gA ₀) ⁻¹ h ⁻¹)	0.029	K_i (gSL ⁻¹)	0.002
m_1 (gS(gA ₁) ⁻¹ h ⁻¹)	0.029		

3 CAPFM 的设计

采用三维细胞自动机作为青霉素分批补料发酵过程细胞自动机模型的生长空间, 细胞自动机中的每一个细胞代表特定数量的产黄青霉菌体细胞, 每一个细胞具有不同的状态。在细胞自动机中, 产黄青霉菌丝的生长演化过程就是细胞自动机各个细胞在不同状态值之间不断转化的过程。如此, 青霉素分批补料发酵过程细胞自动机模型被定义为一个五元组, 如式 (16) 所示。

$$\text{CAPFM} = \langle t, \text{Cells}, \text{CellSpace}, \text{Neighborhoods}, \text{Rules} \rangle \quad (16)$$

其中, t 为离散时间, 对于每一个离散时刻 $t=kT_0$, 其中 $k=\{0,1,2,\dots\}$ 为离散时间序列, T_0 为离散时间间隔; Cells 为 CAPFM 的基本元素, 即细胞; CellSpace 为细胞空间, 即 CAPFM 所有细胞的集合; Neighborhoods 为 CAPFM 细胞的邻域, 即 Rules 的定义域; Rules 为 CAPFM 的演化规则, 规定 Cells 状态的演化。

3.1 细胞和细胞空间

细胞是 CAPFM 的基本元素, 假设 CAPFM 细胞是一个微小的立方体, 每一个 CAPFM 细胞的边长设计为 1 mm, 其全体细胞排列成一个有规则的晶格结构, 构成 CAPFM 的细胞空间, 如图 5 所

示。CAPFM 的细胞空间由一个三维坐标系 $O(i,j,k)$ 定位，位于 (i,j,k) 的 CAPFM 细胞记作 $Cell(i,j,k)$ ，其中，CAPFM 的某个顶点细胞被置于坐标原点，记作 $Cell(0,0,0)$ 。因此，CAPFM 细胞空间可由 (17) 式表示，其中， N 为菌体培养液体积的立方根， $N \times N \times N$ 为细胞空间的细胞总数。为了保证局域规则对于每个细胞都适用，本文将立方体晶格的边缘视为上下对接、左右对接、前后对接。

$$CellSpace = \{Cell(i,j,k) \mid i,j,k \in \{0,1,2,\dots,N\}\} \quad (17)$$

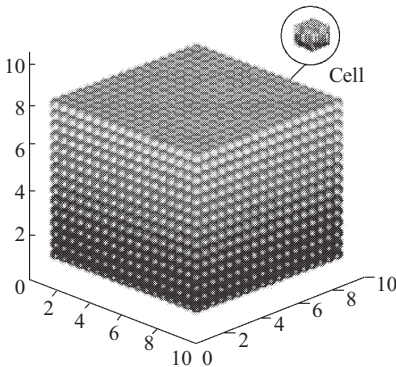


Fig. 5. The CellSpace of CAPFM

3.2 细胞邻域

CAPFM 细胞 $Cell(i,j,k)$ 的邻域记作 $V(Cell(i,j,k))$ ，是 CAPFM 演化规则的演化作用范围，也就是细胞演化规则的定义域。本文采用 Moore 型邻域，如图 6 所示，亦可由式 (18) 来表示。

$$V(Cell(i,j,k)) = \{Cell(q,r,l) \mid q \in \{i-1,i,i+1\}, r \in \{j-1,j,j+1\}, l \in \{k-1,k,k+1\}\} \setminus \{Cell(i,j,k)\} \quad (18)$$

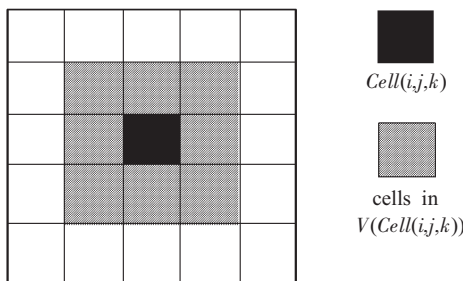


Fig. 6. Two-dimensional Moore-neighborhood of CAPFM

3.3 CAPFM 细胞状态

CAPFM 的每一个细胞代表特定数量的产黄青霉菌体细胞，每一个细胞具有不同的状态，令

CAPFM 细胞 $Cell(i,j,k)$ 在 t 时刻的状态为 $S_{ijk}(t)$ 。根据 2.3 节关于产黄青霉菌简化的形态学结构的描述，对发酵过程进行演化特性仿真时， $S_{ijk}(t)$ 的取值可为四个不同的状态值，如式(19)所示。

$$S_{ijk}(t) \in \{A_0, A_1, A_3, O\} \quad (19)$$

其中， $S_{ijk}(t)=A_0$ 表示 $Cell(i,j,k)$ 在 t 时刻为 A_0 细胞； $S_{ijk}(t)=A_1$ 表示 $Cell(i,j,k)$ 在 t 时刻为 A_1 细胞； $S_{ijk}(t)=A_3$ 表示 $Cell(i,j,k)$ 在 t 时刻为 A_3 ； $S_{ijk}(t)=O$ 表示 $Cell(i,j,k)$ 在 t 时刻为空或细胞死亡。如此，在 CAPFM 中，菌体的生长演化过程就是 CAPFM 的各个细胞单元的状态值在 A_0 、 A_1 、 A_3 和 O 之间不断转化的过程。

3.4 CAPFM 演化规则

CAPFM 的演化规则具有局部特性，CAPFM 每个细胞的演化均依赖于与之相邻的细胞状态。也就是说，在发酵液中各组分相同的情况下，细胞下一个时刻的状态只与它邻域细胞的状态有关（如 3.2 节中所述）。CAPFM 整体按照演化规则进行并行演化，即在任意一个离散时刻，细胞空间中的所有细胞同时依据规则演化。

参照文献[9~10]提出的细胞自动机演化规则的设计方法，根据 2.3 节提出的简化形态学结构模型和青霉素分批补料发酵过程的动力学机理设计 CAPFM 的演化规则 $f_\omega(\omega=1,2,3)$ 。

1) 规则 f_1 :

$$S_{ijk}(t+1) = \begin{cases} A_0 & \text{若 } \exists q,r,l / Cell(q,r,l) \in V(Cell(i,j,k)) / S_{qrl}(t) = A_1 \\ & \text{且 } P_{O,A_0} > P_{O,A_0,Thr} \\ A_1 & \text{若 } \exists q,r,l / Cell(q,r,l) \in V(Cell(i,j,k)) / S_{qrl}(t) = A_0 \\ & \text{且 } P_{O,A_1} > P_{O,A_1,Thr} \\ O & \text{其他} \end{cases}$$

其中， P_{O,A_0} 是 A_1 菌体细胞通过分枝生成 A_0 菌体细胞的概率，其值由式(20)求出，式(20)中 $\delta(A_1)$ 是 t 时刻在 CAPFM 细胞 $Cell(i,j,k)$ 的 Moore 邻域内状态为 A_1 细胞的 CAPFM 细胞数； P_{O,A_1} 是 A_0 菌体细胞通过延伸生成 A_1 菌体细胞的概率，其值由式(21)求出，式(21)中 $\delta(A_0)$ 是 t 时刻在 CAPFM 细胞 $Cell(i,j,k)$ 的 Moore 邻域内状态为 A_0 细胞的 CAPFM 细胞数； $P_{O,A_1,Thr}$ 是 A_1 菌体细胞通过分枝生成 A_0 菌体细胞的概率阈值， $P_{O,A_0,Thr}$ 是 A_0 菌体细胞通过延伸生成 A_1 菌体细胞的概率阈值， $P_{O,A_1,Thr}$ 和 $P_{O,A_0,Thr}$ 均需根据具体发酵条件和机理确定，并在仿真实验

中进行必要的调整。

$$P_{O,A_0} = \frac{\delta(A_1)}{26} \exp \left[\frac{r_{b,0}(KT_0) \times T_0}{a_0(KT_0)} \right] \quad (20)$$

$$P_{O,A_1} = \frac{\delta(A_0)}{26} \exp \left[\frac{r_{e,1}(KT_0) \times T_0}{a_1(KT_0)} \right] \quad (21)$$

2) 规则 f_2 :

$$\text{若 } S_{ijk}(t) = A_0 \text{ 则 } S_{ijk}(t) = \begin{cases} A_1 & \text{若 } \exists q,r,l / \text{Cell}(q,r,l) \in \\ & V(\text{Cell}(i,j,k)) / S_{qrl}(t) = A_0 \\ & \text{且 } P_{A_0,A_1} > P_{A_0,A_1,\text{Thr}} \\ A_0 & \text{其他} \end{cases}$$

其中, P_{A_0,A_1} 是 A_0 细胞受发酵液中底物浓度的影响分化为 A_1 细胞的概率, 其值由式(22)求出, 式(22)中 $\delta(A_0)$ 是 t 时刻在 CAPFM 细胞 $\text{Cell}(i,j,k)$ 的 Moore 邻域内状态为 A_0 细胞的 CAPFM 细胞数; $P_{A_0,A_1,\text{Thr}}$ 是 A_0 细胞分化为 A_1 细胞的概率阈值, 需根据具体发酵条件和机理确定, 并在仿真实验中进行必要的调整。

$$P_{A_0,A_1} = \frac{\delta(A_0)}{26} \exp \left[\frac{r_{d,1}(KT_0) \times T_0}{a_1(KT_0)} \right] \quad (22)$$

3) 规则 f_3 :

$$\text{若 } S_{ijk}(t) = A_1 \text{ 则 } S_{ijk}(t) = \begin{cases} A_3 & \text{若 } \exists q,r,l / \text{Cell}(q,r,l) \in \\ & V(\text{Cell}(i,j,k)) / S_{qrl}(t) = A_1 \\ & \text{且 } P_{A_1,A_3} > P_{A_1,A_3,\text{Thr}} \\ A_1 & \text{其他} \end{cases}$$

其中, P_{A_1,A_3} 为由于菌体细胞 A_1 中空泡形成和生长引起的 A_1 细胞转化为 A_3 细胞的概率, 其值由式(23)求出, 式(23)中 $\delta(A_1)$ 是 t 时刻在 CAPFM 细胞 $\text{Cell}(i,j,k)$ 的 Moore 邻域内状态为 A_1 细胞的 CAPFM 细胞数; $P_{A_1,A_3,\text{Thr}}$ 是 A_1 细胞转化为 A_3 细胞的概率阈值, 需根据具体发酵条件和机理确定, 并在仿真实验中进行必要的调整。

$$P_{A_1,A_3} = \frac{\delta(A_1)}{26} \exp \left[\frac{r_{d,3}(KT_0) \times T_0}{a_3(KT_0)} \right] \quad (23)$$

4 仿真实验

4.1 实验方法

以文献[7]中描述的青霉素分批补料发酵过程为研究对象, 利用 MATLAB 仿真软件编制 CAPFM 的演化程序进行仿真实验。程序功能包括: 1) 利用第 2 节中介绍的方法计算青霉素分批补料发酵过程发酵液中各组分(包括: 各类菌体细胞的菌体浓度、底物浓度)在每一时刻的值; 2) 实现第 3 节中设计的各演化规则, 使 CAPFM 根据

演化规则进行演化; 3) 在实现各演化规则的基础上, 在二维状态空间上自动描绘 CAPFM 的细胞状态演化图案; 4) 在实现各演化规则的基础上, 对每一离散时刻 κT_0 时 CAPFM 中菌体细胞 A_0 和 A_1 的质量进行统计, 并换算成 CAPFM 的菌体浓度 a_0 和 a_1 后自动描绘出其随时间变化的曲线; 5) 在每一离散时刻 κT_0 计算出的菌体细胞浓度 a_0 和 a_1 的基础上, 利用式(15)计算各对应时刻青霉素的浓度值, 并绘制青霉素浓度随时间的演化曲线。CAPFM 中各类菌体细胞 A_i 质量的统计方法是: 将状态为 A_0 、 A_1 和 A_3 的菌体细胞的质量均视为 1, 因此, 当状态为 A_0 的细胞的数量为 n_0 , 状态为 A_1 的细胞的数量为 n_1 , 状态为 A_3 的细胞的数量为 n_3 时, CAPFM 菌体细胞的总质量为 $Q = n_0 + n_1 + n_3$ 。若定义 β 为由 CAPFM 活细胞质量换算成菌体浓度的换算系数, 则 CAPFM 的菌体浓度 a 为: $a = \beta Q$ 。换算系数 β 由 CAPFM 的初始状态、单个细胞所含青霉素全部细菌的质量等因素决定。

4.2 实验步骤及结果分析

不失一般性, 设 CAPFM 的初始细胞状态分布情况如图 7 所示, 即初始时刻 CAPFM 二维状态空间上有 28 个细胞处于 A_0 状态(用绿色方格点表示), 有 81 个细胞处于 A_1 状态(用红色方格点表示), 有 5 个细胞处于 A_3 状态(用蓝色方格点表示), 剩余的细胞均为 O 状态(用黄色方格点表示)。

经过对实际分批发酵过程菌体生长的机理分析和部分实验验证, 可取前述形态学结构模型的离散时间间隔 $T_0 = 0.1$ h, CAPFM 的演化时间间隔 $t = 10T_0 = 1$ h, CAPFM 演化程序经过 160 h 的运行, 可得 CAPFM 演化过程不同时刻细胞状态在二维状态空间上的演化图案(图 8), 同时可得 CAPFM 演化过程中 A_0 细胞菌体浓度和 A_1 细胞菌体浓度随时间的变化曲线(图 9)。将所得的 A_0 和 A_1 细胞的菌体浓度值代入青霉素发酵过程简化形态学结构模型, 可得发酵过程青霉素浓度和底物浓度随时间的变化曲线(图 10)。

由图 8 所示 CAPFM 演化过程不同时刻细胞状态在二维状态空间上的演化图案可以看出: 1) CAPFM 在演化开始后的前 30 h 内, 绿色和红色区域增加较快, 表示产黄青霉菌生长迅速, 且基本没有失活菌体细胞的产生; 2) CAPFM 演化到 30 h 以后, 在红色区域继续较快增加的同时, 绿色区域开始慢慢减小, 蓝色区域出现并开始增加, 表

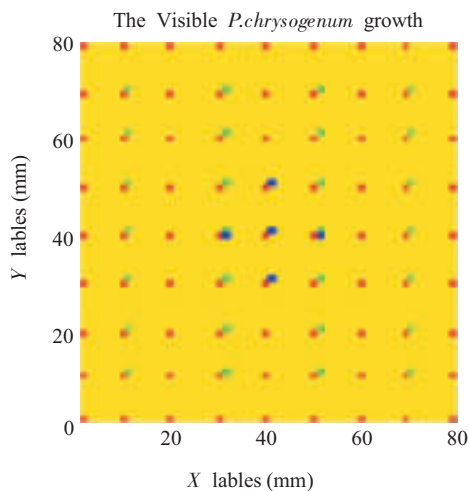


Fig.7 The initial configuration of CAPFM

示产黄青霉菌的生长速度开始减慢，并开始出现向失活细胞的分化；3) CAPFM 演化到 80 h 以后，绿色区域继续减小，蓝色区域继续增加，红色区域基本维持不变，表示发酵液中菌体细胞基本失去生长活性，但仍具有代谢活性。4) 当 CAPFM 演化到 160 h 时，绿色区域几乎消失，红色区域开始减小，蓝色区域增加迅速，表示发酵液中积累了大量失活细胞，且出现菌体细胞自溶现象。可见 CAPFM 的演化图案较直观地演示了青霉素分批补料发酵过程中菌体的生长演化行为。

图 9 中标有黑色和白色小方块的曲线分别表示由式 (15) 所描述的青霉素分批补料发酵过程简化动力学结构模型确定的 A_0 和 A_1 细胞的菌体浓度 a_0

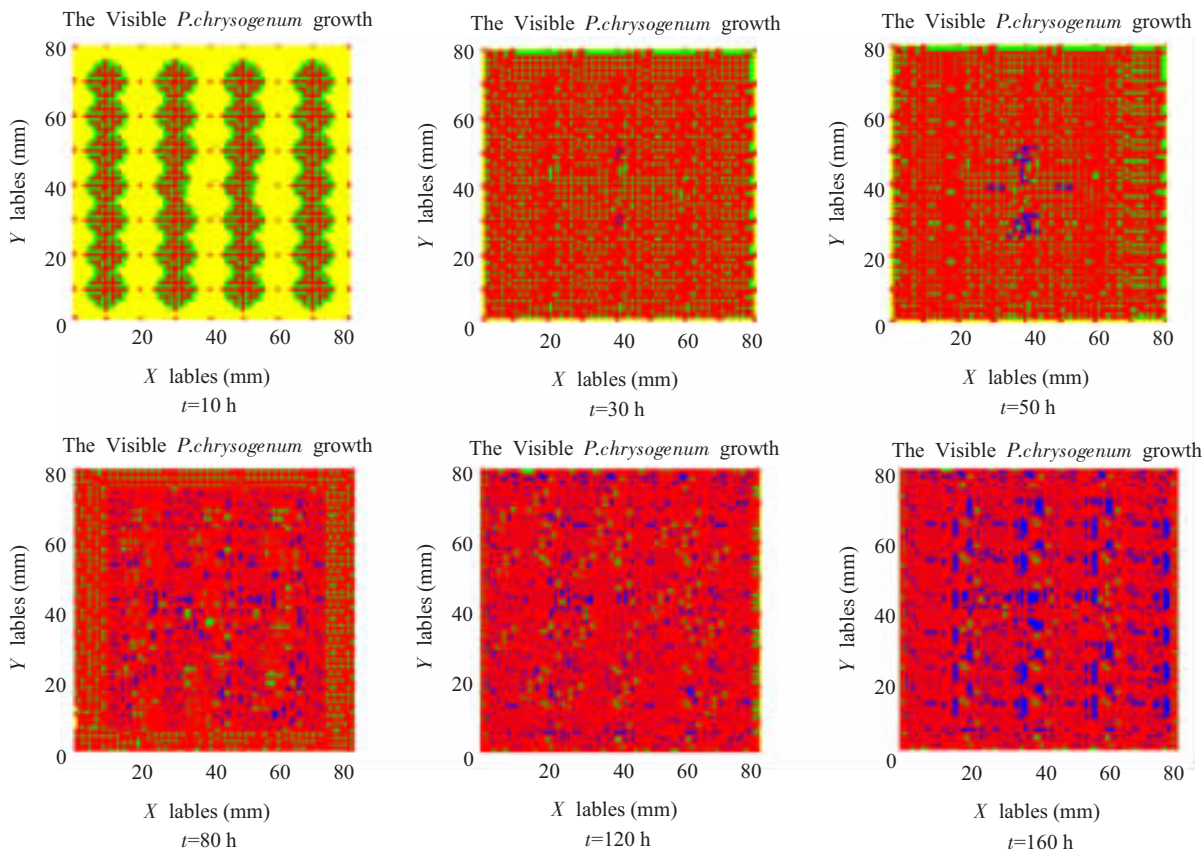


Fig.8 Evolution configurations of CAPFM at different time steps

和 a_1 随时间的变化情况，与标有黑色和白色小方块曲线靠近的曲线分别表示 CAPFM 在演化过程中确定的 A_0 和 A_1 细胞的菌体浓度 a_0 和 a_1 随时间变化的情况。图 10 中标有黑色小三角的曲线和标有黑色小方块的曲线分别表示由式 (15) 所描述的青

霉素分批补料发酵过程简化动力学结构模型确定的底物浓度和青霉素浓度随时间变化的情况，与标有黑色小方块曲线靠近的曲线表示 CAPFM 在演化过程中确定的青霉素浓度随时间变化的情况。从图 9 和图 10 可以看出，CAPFM 演化过程中各组分随

时间而变化的情况较好地复现了式 (15) 所描述的青霉素分批补料发酵过程简化动力学结构模型所描述的各组分的变化情况, 可见 CAPFM 能较好的拟合文献[7]提供的实际青霉素发酵过程的试验数据。

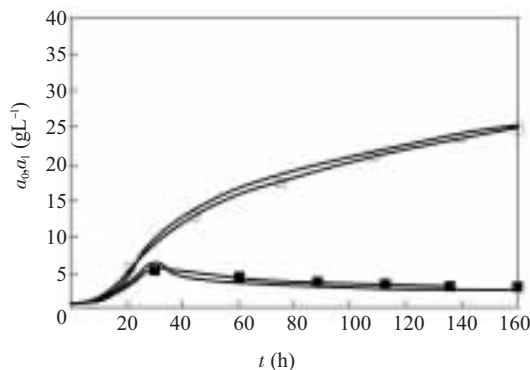


Fig.9 The evolution curves of various CAPFM cells' biomass concentrations. ■: a_6 ; □: a_1

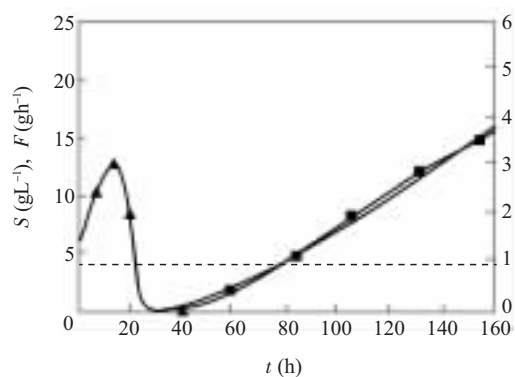


Fig.10 The evolution curves of CAPFM penicillin concentration and substrate concentration. ■: P ; ▲: S ; ---: F

5 结论与展望

本文根据青霉素产生菌的生长机理和青霉素分批补料发酵动力学特性, 在 Paul 等^[7]建立的形态学结构动力学模型的基础上, 建立了模拟青霉素分批补料发酵过程的细胞自动机模型 (CAPFM), 对所建模型进行了仿真实验。仿真实验结果表明, CAPFM 不但能一致地复现描述实际青霉素分批补料发酵过程的形态学结构动力学模型的演化特性, 而且较形态学结构动力学模型更加直观地刻画了青霉素分批补料发酵过程的动态演化行为。

CAPFM 模型是在作者提出的“模拟青霉素发酵过程中菌体生长动态的细胞自动机模型^[10]”的基础上发展而来的, 该模型不但可用于青霉素分批补料发酵过程中补料优化问题的研究, 而且对操作人员了解和调控实际青霉素分批补料发酵过程具有指导作用。

本文在假定外部环境变量控制良好的情况下, 研究了基于细胞自动机的青霉素分批补料发酵过程的模型, 要达到利用基于细胞自动机的青霉素发酵过程模型对整个发酵过程进行优化控制的目的, 还有许多工作需要做, 如: 1) 考虑外部环境变量变化情况的青霉素发酵过程细胞自动机模型的研究; 2) 青霉素发酵过程细胞自动机模型复杂演化特性的理论分析; 3) 实际发酵过程操作指导模型及其在实际生产中应用的研究; 4) 基于各类 CAPFM 的发酵过程优化控制系统及其在实际生产中应用的研究等。

参考文献:

- [1] Cuthrell JE, Biegler LT. Simultaneous optimization and solution methods for batch reactor control profiles. *Computers Chemical Engineering*, 1989,13(1/2):49~62
- [2] Luus R. Optimization of fed-batch fermentors by iterative dynamic programming. *Biotechnology and Bioengineering*, 1993, 41:599~602
- [3] Zuo K, Wu WT. Semi-realtime optimization and control of a fed-batch fermentation system. *Computers Chemical Engineering*, 2000,24:1105~1109
- [4] Mahadevan R, Agrawal SK, Doyle III FJ. Differential flatness based nonlinear predictive control of fed-batch bioreactors. *Control Engineering Practice*, 2001,9:889~899
- [5] 戚以政, 汪叔雄. 生化反应动力学与反应器. 第二版. 北京: 化学工业出版社, 1999.117~179
- [6] Ray TS. An evolutionary approach to synthetic biology: Zen and the art of creating life. *Artificial Life Journal*, 1994,1(1): 179~209
- [7] Paul GC, Thomas CR. A structured model for hyphal differentiation and penicillin production using penicillin chryso-genum. *Biotechnology and Bioengineering*, 1996,51:558~572
- [8] 杨汝德. 现代工业微生物学. 广州: 华南理工大学出版社, 2001. 53
- [9] Guinot V. Modelling using stochastic, finite state cellular automata: rule inference from continuum models. *Applied Mathematical Modelling*, 2002,26:701~714
- [10] 于乃功, 阮晓钢. 模拟青霉素发酵过程中菌体生长动态的细胞自动机模型. *生物物理学报*, 2004,20(2):155~162

A CELLULAR AUTOMATA MODEL FOR SIMULATING FED-BATCH PENICILLIN FERMENTATION PROCESS

YU Nai-gong RUAN Xiao-gang

(Electronic Information & Control Engineering College, Beijing University of Technology, Beijing 100022, China)

Abstract: Based on a hyphal differentiation and penicillin production structured kinetic model, according to the growth mechanism of penicillin production bacteria and the characteristic of penicillin fed-batch fermentation, a cellular automata model for simulating penicillin fed-batch fermentation process (CAPFM) was established. CAPFM adopted three-dimensional cellular automata as its growth space and adopted Moore type neighborhood as its cell neighborhood. The transition rules of CAPFM were designed based on the mechanism and structured kinetic model of penicillin fed-batch fermentation process. Every cell of CAPFM represented a single or specific number of penicillin production bacteria, and they had various states. The simulation experimental results showed that CAPFM replicates the evolution behaviour of penicillin fed-batch fermentation process described by penicillin production structured kinetic model accordantly. Finally, the application problem of CAPFM in practical production processes is analyzed, and the future study problems are pointed out.

Key Words: Penicillin fermentation process; Fermentation dynamic; Morphologically structured model; Cellular automata model