

ОПТИМИЗАЦИЯ НА ФЕРМЕНТАЦИОНЕН ПРОЦЕС: ПРИЛОЖЕНИЕ ВЪВ ФЕРМЕНТАЦИЯ НА *ESCHERICHIA COLI*

Татяна Симеонова Илкова¹, Юлиана Христова Георгиева²,
Митко Младенов Петров¹, Стоян Михов Цонков¹

¹Българска академия на науките – Централна лаборатория по биомедицинско инженерство
²Технически колеж - Ямбол
tanja@clbme.bas.bg¹, mpetrov@clbme.bas.bg¹, techcol@atil.net²

Ilkova T.S., Y.H. Georgieva, M.M. Petrov, St. M. Tzonkov. Optimisation of fermentation process: application of Escherichia Coli fermentation. In this paper a method with purpose modeling and optimization of fermentation processes Escherichia Coli (E. Coli) fermentation is developed. Based on real experimental data, simulation program and an adequate model of the process are developed and obtained. Using Dynamic programming an effective algorithm for process optimization is synthesised. An optimal profile of feeding rate is obtained.

1. ВЪВЕДЕНИЕ.

В настоящия доклад е представен полупериодичен ферментационен процес (ФП) – ферментация на *E. Coli*. При тези процеси съществен технически и икономически проблем е получаването на оптимално количество на крайния продукт и максимално оползотворяване на хранителния субстрат. Рационален подход за решаване на този проблем е свързан с приложението на съвременни методи за математическо моделиране за синтезиране на адекватни модели на реални ферментационни процеси. На тяхна основа би могъл да се разработи ефективен алгоритъм за контрол [1,4].

Методът на динамичното програмиране (ДП) дава много добри резултати при оптимизацията на ФП [4,5], но при него съществуват редица изчислителни затруднения, включително свързани и с това, че неговото математическо описание включва няколко нелинейни диференциални уравнения.

В този доклад е разработен и представен метод за приложение на ДП с цел моделиране и оптимизация на ферментационен процес – ферментация на *E. Coli*.

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

Експериментите са проведени чрез 2 L-М лабораторен биореактор оборудван с магнитно дисково устройство и максимален обем 2l. Биореакторът е включен в Система за автоматично управление (САУ). САУ е проектирана от колектив от Център за биомедицинско инженерство – БАН. САУ контролира

следните параметри на процеса: скорост на въртене – n ; парциално налягане на кислорода – pO_2 ; температура – $T^{\circ}C$, pH, ниво на пяната; разход на газовия поток – Q и разход на отлагане на субстрата.

За експеримента са използвани порции съдържащи глюкоза, пептон е минерални соли. За хранване се използват 20% разтвор на глюкоза.

Условията на процеса са:

температура	$T=37^{\circ}C$;
pH	$pH=6,8\div 7,0$;
парциално налягане на кислород	$pO_2=50\div 70\%$;
обем на течността в реактора	$V=1\div 1,5$ л.

В процес на култивиране са подадени (за време над 1 час) проби, с които се определят плътността на клетките и концентрацията на субстрата.

3. МОДЕЛИРАНЕ НА ПРОЦЕСА

Моделът на процеса е синтезиран с помощта на експериментални данни, представящи динамиката на нарастване на биомасата (бактерия *E. Coli*) и консумацията (разход) на субстрат (глюкоза). На основата на реални експериментални данни е разработена симулационна програма, която описва системата уравнения (1), с начални параметри $X_N=1.0$, $S_N=19.5$, $S_0=200$ и $V_N=1$ л [2]:

$$\begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= \mu \cdot X - \frac{F}{V} \cdot X \\ \frac{dS}{dt} &= \frac{F}{V} \cdot (S_0 - S) - \eta \cdot X \\ \frac{dV}{dt} &= F \end{aligned} \quad (1)$$

Специфичното нарастване на биомасата, степента на глюкозно превръщане и коефициентите на модела се определят с помощта на параметричната идентификация. Оптималните стойности на μ и η се дават чрез:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S + K_i S^2} \quad \text{и} \quad \eta = K_m + \frac{\mu}{Y} \quad (2)$$

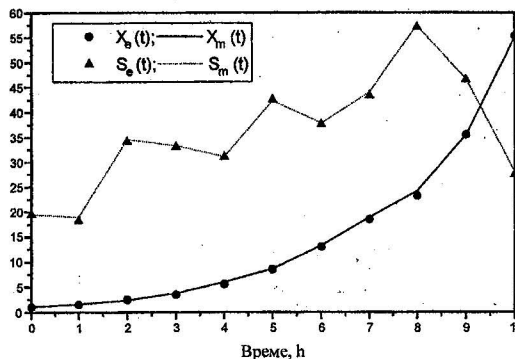
Параметричната идентификация включва определяне на стойностите на параметрите. Коефициентите на модела (1)-(2) са:

$$\mu_{\max}=3.5 \text{ h}^{-1}, K_s=75.75 \text{ h}^{-1}, K_m=6.71 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}, K_i=0.127 \text{ и } Y=1.072.$$

Анализът на получените резултати показва, че модела адекватно описва процес с корелационен коефициент между $X_c(t)$ и $X_m(t)$ - $R^2=0.99983$, и между

$S_e(t)$ и $S_m(t)-R^2=0.99969$. На фиг.1 са показани резултати от симулацията на модели с експериментални данни.

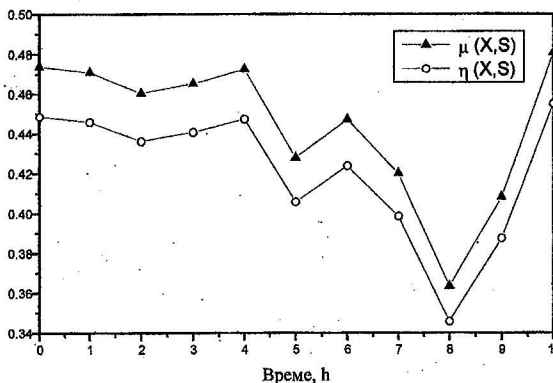
X и S, g/l



Фиг.1 Резултати от симулация на модели. Където $X_e(t)$ и $S_e(t)$ са експериментални резултати, $X_m(t)$ и $S_m(t)$ – от симулация на модела

На фиг.2 е показано изменението на специфичното нарастване на биомасата и специфичният разход.

μ и η , h^{-1}



Фиг.2 Резултати от специфичното нарастване на биомасата и специфичната консумация

Анализът на получените резултати (фиг.1) и (фиг.2) показва, че моделът адекватно описва процеса, т.е. той е приложим за оптимизация на процеса.

4. УПРАВЛЕНИЕ НА ПРОЦЕСА

За решаване на задачата за оптимално управление на полупериодичен процес ние сме избрали критерий максимизиране на продукцията на биомаса, когато контролиран параметър е захранването със субстрат F . Предназначението на оптимизацията е да намери оптимален профил на контролираната стойност F , която максимизира критерия:

$$J = \int_{t_0}^{t_k} \mu[S(t_f)]X(t_f) \rightarrow \max, \quad (3)$$

и целта е да се постигне получаване на максимално количество биомаса в края на процеса.

Т.е. да се намерят фамилия функции, които удовлетворяват неравенството:

$$\int_{t_n}^{t_k} F_k(t) \leq F_{\text{const}} = 1 \ell,$$

за определяне на такава функция $F(t)$, която максимизира критерия (3). Продължителността на процеса се разделя на 12 времеви интервала [4]:

$$t_0, t_1, t_2, \dots, t_N(t_f); \Delta t = \frac{t_N - t_0}{N} = 1 \text{ h}; N = 12 \text{ h}.$$

Допустимите стойности на контролирания параметър се дават с интервала $0 \leq F \leq 1$, със стъпка на дискретизация $\Delta F = 0,1$.

В настоящия доклад е представен метод за приложение на ДП за решаване на оптимизационна задача.

В полупериодичният ферментационен процес контролирания параметър F е определен чрез:

$$\sum_{i=1}^N F_i = F, \quad (4)$$

тогава общото количество захранващ субстрат е:

$$V_i = \sum_{i=1}^N F_i \cdot h_i, \quad (5)$$

където $h_i = t_i - t_{i-1}$ е стъпка на дискретизация.

Дискретизацията на задачата за оптимално управление се ръководи от функцията $f_k(X_k, F_k)$, която кореспондира с критерий (3) във време t_k . По този начин критерия за основния продукт в дискретния случай е [6]:

$$J_f = \mu[S(t_f)]X(t_f) - \mu[S(t_0)]X(t_0) = \sum_{i=1}^N f_k(X_k, F_k) \quad (6)$$

където $X_k = X(t_k)$, $F_k = F(t_k)$ в дискретния интервал $[t_0, t_N]$.

Рекурентното уравнение на функцията е:

$$f_k(X_k, F_k) = \int_{t_k}^{t_{k+1}} \mu[S(t)X(t)] \Big|_{F=F_k} dt \quad (7)$$

за $k=0, 1, 2, \dots, N$.

За приложение на метода на ДП за дискретните уравнения (6) – (7) и ограниченията (4) – (5), функцията на Белман се дава с [1]:

$$B(X_i, F_i) = \max_{F_{\min} \leq F_k \leq F_{\max}} \sum_{k=1}^N f_k(X_k, F_k). \quad (8)$$

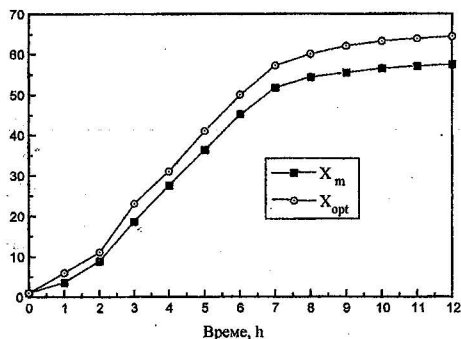
В съответствие с “*принципа на оптимума*” [1] рекурентното уравнение на функцията на Белман е:

$$B(X_i, F_i) = \max_{F_{\min} \leq F_k \leq F_{\max}} \{f_i(X_i, F_i) + B_{i-1}(F - F_i)\}. \quad (9)$$

Така се получават N рекурсивни уравнения на Белман.

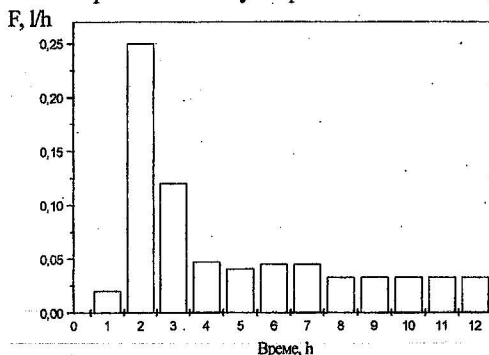
Те са решени във времевите интервали $t_i - t_{i+1}$, $i=1, \dots, N$. За всеки интервал са зададени N и максимума на функцията. С този ефективен алгоритъм се получава оптималният профил на нивото на захранване (фиг.3).

$X, g/l$



Фиг.3. Резултати от оптимизацията. Където X_m са резултатите от симулацията и X_{opt} - резултати след оптимизация

Стратегията на захранване със субстрат е показана на фиг.4.



Фиг.4. Оптимална стратегия на управление

Чрез използване на този профил се постига 16,01% увеличаване на количеството на биомаса до края на процеса, в сравнение с ферментация с константно ниво на захранване.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В тази доклад е разработен и представен метод за приложение на ДП с цел моделиране и оптимизация на ФП в *E. Coli* ферментация. На основа на реални експериментални данни е разработена симулационна програма и е получен адекватен модел на процеса. За получения модел, използвайки ДП е синтезиран ефективен алгоритъм за оптимизация на процеса. Изследването показва, че в този случай метода на ДП може успешно да се прилага за моделиране и оптимизация на полупериодични процеси.

6. ЛИТЕРАТУРА

1. A. Constantinides, J. Spencer, E. Gaden, Optimization of Batch Fermentation Process, I. Development of Mathematical Models for Batch Fermentation, *Biotechnology and Bioengineering* 12 (1970) 803-830.
2. J. Staniskis, D. Levisauskas, Investigation of On-Line Adaptive Control for Fed-Batch Culture-In: Materials of the 1st Workshop on Modeling and Control of Biotechnical Processes, Helsinki, 1982, 1056-1067.
3. M. Kishimoto, T. Yoshida, H. Taguchi, Modeling Fed-Batch Fermentation Process, *Biotechnology Letters* 2 (9) (1980) 403-406.
4. M. Kishimoto, T. Yoshida, H. Taguchi, On-line Optimal Control of Fed-Batch Culture of Glutamic Acid Production, *Journal Fermentation Technology* 59(2)(1981) 125-129.
5. R. Bellman, E. Dreyfus, *Applied Dynamic Programming*, Princeton, New Jersey, 1965.
6. R. Berber, C. Perteve, M. Türker. Optimization of Feeding Profile for Baker's Yeast Production by Dynamic Programming, *Bioprocess Engineering* 20 (1998) 236-269.
7. X.-Ch. Zhang, A. Visala, A. Halme, P. Linko, Functional State Modelling Approach for Bioprocesses: Local Models for Aerobic Yeast Growth Processes, *Journal of Process Control* 4 (3) (1994) 127- 134.