应用与环境生物学报 2008, **14** (6): 834~837
Chin J Appl Environ Biol=ISSN 1006-687X
2008-12-25
DOI: 10.3724/SP.J.1145.2008.00834

BP神经网络和遗传算法在红发夫酵母培养基优化中的应用

彭 锋[1,2] 李安明[1*]
([1]中国科学院成都生物研究所 成都 610041; [2]中国科学院研究生院 北京 100049)

摘 要 运用BP神经网络对红发夫酵母发酵培养基组成进行建模以及预测类胡萝卜素产量, 在此基础上采用遗传算法对此模型进行全局寻优. 得到红发夫酵母发酵培养基的最佳配比为: 蔗糖45.10 g/L, 硫酸铵3.00 g/L, 硫酸镁0.80 g/L, 磷酸二氢钾1.40 g/L, 酵母膏3.00 g/L, 氯化钙0.50 g/L, 类胡萝卜素产量达到8.20 mg/L, 干重达到9.47 g/L. 采用上述方法优化后的培养基使类胡萝卜素的产量比起始培养基提高了95.90%. 图4 表1 参13

关键词 红发夫酵母; 虾青素; BP神经网络; 遗传算法; 培养基优化
CLC Q936

Optimization of Carotenoid Fermentation Medium of *Phaffia rhodozyma* by BP Neural Network and Genetic Algorithm

PENG Feng[1,2] & LI Anming[1*]
([1]*Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences,* Chengdu 610041, China)
([2]*Graduate University of Chinese Academy of Sciences,* Beijing 100049, China)

Abstract In order to improve the carotenoid yield of *Phaffia rhodozyma*, Uniform Design was used for trial design of the formula medium components, then back-propagation neural network was established to model the relationships between the carotenoid yield and medium components and predict the concentration of medium components. Genetic algorithm (GA) was applied for integrated optimization of the model. The optimum combination of the medium was obtained: sucrose 45.10 g/L, ammonium sulfate 3.00 g/L, magnesium sulfate 0.80 g/L, potassium dihydrogen phosphate 1.40 g/L, yeast extract 3.00 g/L and calcium chloride 0.50 g/L. The yield of carotenoid reached 8.20 mg/L, which was 95.90 % higher than that of the original medium. Fig 4, Tab 1, Ref 13

Keywords *Phaffia rhodozyma*; astaxanthin; BP neural network; genetic algorithm; fermentation medium optimization
CLC Q936

虾青素(Astaxanthin)的化学名称为3,3'-二羟基-4,4'-二酮基-β,β'-胡萝卜素, 是一种酮式类胡萝卜素, 广泛存在于生物界中. 由于其呈天然的紫红色, 最初在欧美国家被作为色素用于水产业的饲料添加剂. 近年的研究证实, 天然虾青素具有强烈的抗氧化活性[1, 2], 被称为“超级维生素E”. 此外, 虾青素还具有很强的抑制肿瘤发生[3, 4]、增强免疫功能[5~7]等生理功能, 因而在食品添加剂、水产养殖、化妆品、保健品和医药工业方面具有广阔的应用前景. 由于虾青素分子结构复杂, 合成困难, 价格昂贵, 且出于安全性的考虑, 其应用受到限制, 所以目前国内外研究重点放在了利用微生物生产虾青素上. 红发夫酵母被认为是最有可能实现工业化发酵生产虾青素的优良菌种, 其胞内色素主要为虾青素[8], 具有培养过程不需要光照、可异养代谢、能利用大多数糖、生长快、可高密度培养等优点.

适宜的培养基配方能提高红发夫酵母虾青素产量, 但发酵过程中因素复杂多变, 并且由于各因素之间的交叉影响, 试验因素与其结果之间具有较强的离散性, 因此使用常规方法建立的发酵模型相对而言比较粗放, 误差较大, 不能准确地描述产量与操作条件或培养基组分之间的非线性关系. 人工神经网络技术(Artificial neural network, ANN)具有很强的非线性映射能力, 它根据输入输出数据来建立模型, 网络的统计信息储存在连接权矩阵内, 故可以反映十分复杂的非线性关系, 网络的输出端点个数不限, 因而很适合于多因变量、多自变量统计中的建模, 在发酵工业中广泛应用, 如培养基优化[9, 10]、发酵建模过程和控制优化[11]以及发酵分批补料控制[12]等, 已成为目前研究的热点之一. 遗传算法(Genetic algorithms, GA)由Michigan大学Holland教授于20世纪70年代提出[13]. GA采用选择(Selection)、交叉(Crossover)和变异(Mutation)运算来实现“物竞天择, 适者生存”这一自然法则的模拟. 将BP神经网络和遗传算法耦联处理, 可以较好地优化出培养基配方.

本文使用均匀设计方法进行试验设计, 再采用BP神经网络对红发夫酵母发酵培养基建模, 然后用遗传算法对建立的BP模型进行全局寻优, 从而得到红发夫酵母培

收稿日期: 2007-09-24 接受日期: 2008-01-02
*通讯作者 Corresponding author (E-mail: liam@cib.ac.cn)

养基的最佳配比. 本研究中神经网络建模与遗传寻优采用MATLAB7.0软件进行.

1 材料与方法

1.1 菌 种

红发夫酵母(As 2.1557), 购于中国科学院微生物所.

1.2 培养基

种子培养基: YM培养基(葡萄糖10g/L, 蛋白胨5 g/L, 酵母膏3 g/L, 麦芽膏3 g/L, pH 5.0.

斜面培养基: 种子培养基加2%琼脂.

发酵培养基: 蔗糖20 g/L, 硫酸铵5 g/L, 磷酸二氢钾1 g/L, 七水合硫酸镁0.5 g/L, 氯化钙0.1 g/L, 酵母膏2 g/L, pH 5.5.

1.3 培养方法

菌种活化: 取斜面保藏菌种划线接种于活化斜面上, 20 ℃恒温培养48 h.

种子培养: 取活化菌种一环于装有种子培养基的三角瓶中(100 mL/500 mL), 于摇床上20 ℃、200 r/min振荡培养36 h.

摇瓶发酵: 250 mL三角瓶中装30 mL发酵培养基, 接种量10%, 20 ℃、200 r/min振荡培养84 h, 结束后测定. 所有实验设2次重复, 结果取平均值.

1.4 分析方法

生物量: 采用干重法, 取10 mL发酵液, 3000 r/min离心10 min, 洗涤离心两次, 于105 ℃烘干至恒重.

类胡萝卜素的提取与测定: 采用二甲亚砜法, 取2 mL发酵液, 3 000 r/min离心10 min, 洗涤离心两次, 加入预热至50 ℃的二甲亚砜1 mL, 漩涡振荡1 min, 加入5 mL丙酮振荡提取1 min, 3 000 r/min离心10 min, 上清液以二甲亚砜丙酮体积比1 : 5作空白测$D_{480\,nm}$.

计算公式如下:

类胡萝卜素质量浓度(μg/mL)=(A*V)/(0.16*V_0)

式中: A为吸光度读数; V为萃取液体积(mL); 0.16为丙酮的消光系数; V_0为取样体积(mL).

1.5 神经网络建模与遗传算法寻优方法

采用MATLAB7.0软件进行神经网络的建模以及遗传算法的寻优.

2 结果与讨论

2.1 BP神经网络建模

以发酵培养基的均匀设计试验数据作为BP神经网络的学习样本. 根据培养基成分的个数和优化指标设计神经网络的结构, 然后用试验数据对神经网络进行训练. 本研究以蔗糖、硫酸铵、磷酸二氢钾、硫酸镁、氯化钙、酵母膏为均匀设计试验因素进行发酵, 每个因素取6个水平, 进行24组试验, 作为训练样本. 另做一组实验用来检验神经网络的泛化能力. 以各试验因素作为神经网络的输入参数, 类胡萝卜素产量作为输出, 经研究发现隐层氮源数为13时, 能精确地拟合试验数据, 因此BP神经网络的拓扑结构为6—13—1. 为减少训练时间, 先对样本进行处理, 使数据全部规到[0,1]之间, 训练时采用BP算法, 收敛精度取10^{-5}, 网络经过7次训练就达到精度要求, 从而建立发酵培养基的神经网络模型. 网络模型和训练过程见图1和图2, 实测与预测类胡萝卜素浓度比较如图3所示.

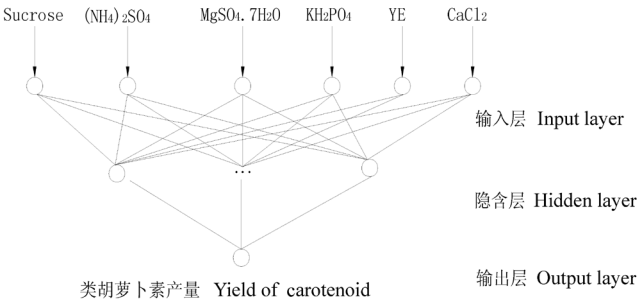

图1 BP神经网络模型

Fig. 1 BP neural network structure for the modeled system

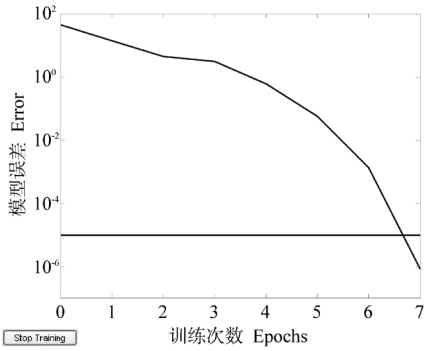

图2 BP神经网络的训练过程

Fig. 2 Training process for BP neural network

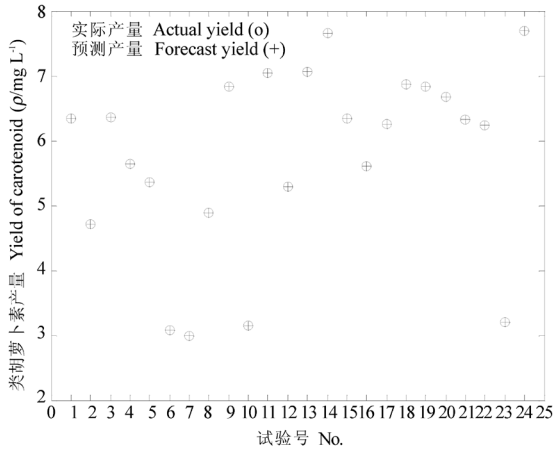

图3 实测与预测类胡萝卜素浓度比较

Fig. 3 Comparison of the resulted and predicted contents of carotenoid

从图3中可看出, 神经网络的拟合精度很高, 说明只要知道培养基成分的组合, 就能通过建立好的BP神经网络来预测红发夫酵母产类胡萝卜素的产量.

2.2 遗传算法优化

2.2.1 遗传算法描述及实现 遗传算法是以编码空间代替问题的参数空间, 以适应度函数作为评价依据, 以编码群体为进化基础, 以对群体中的个体位串采用选择、交叉、变异等操作实现遗传机制, 建立起一个迭代过程. 在这一过程中, 通过随机重组编码位串中重要的基因, 使子代的位串集合优于父代的位串集合, 这样一代代地不断进化, 逐步逼近最优

解，最终得到一个最优个体，从而完成了问题寻优，其主要步骤如下：

(1) 选择编码策略，把参数集合和域转换为位串结构空间S；

(2) 定义适应值函数，$f(x)$；

(3) 确定遗传策略，包括选择群体大小n，选择、交叉、变异方法，以及确定交叉概率P、变异概率P等参数；

(4) 随机初始化生成群体P；

(5) 计算群体中个体位串解码后的适应值$f(x)$；

(6) 按照遗传策略，运用选择、交叉、变异算子作用于群体，形成下一代群体；

(7) 判断群体性能是否满足某一指标，或者已完成预定迭代次数；若不满足则返回步骤(6)，或者修改遗传策略再返回(6).

2.2.2 **利用遗传算法优化发酵培养基组成** 针对红发夫酵母发酵类胡萝卜素产量这一优化目标的神经网络建模过程结束以后，利用神经网络获得的正确输入输出关系，将神经网络输出作为求解目标函数值. 由于遗传算法不需要目标函数明确的数学方程和导数表达式，所以可利用它进行寻优计算，

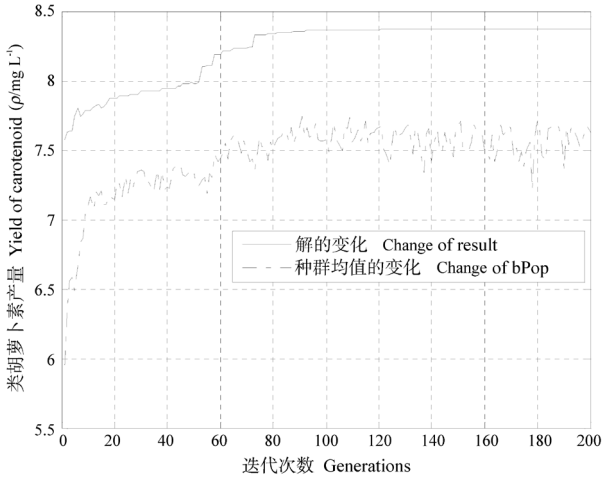

图4 遗传算法寻优轨迹

Fig. 4 Optimization curve of GA

获得最佳的发酵培养基组分组合，实现类胡萝卜素产量的提高. 本文中将每代染色体种群数设为20，交叉概率P 设为0.80，变异概率P 设为0.05，遗传算法寻优结果如图4所示.

2.2.3 **优化培养基发酵检测** 使用BP—GA优化模型对培养基配方进行全局寻优，经过100次的遗传操作后，得到最优化发酵培养基组成(表2)，根据BP模型预测得到此优化条件下的类胡萝卜素产量为8.38 mg/L. 同时也把均匀设计模型用DPS软件进行回归分析，得到回归方程、最大值及相应的培养基配比(表1). 同时发酵检验两种优化方法得到的最优条件并做比较.

分析表明，用GA优化前后的培养基中类胡萝卜素的实际产量和BP预测结果间的误差都小于2%，而用均匀设计所建立的回归方程得到的理论最优值与实际值之间误差相当大，这说明BP神经网络建模法非常适合用于象红发夫酵母发酵过程这种高度非线性的生物系统. 所建立的模型具有较高的仿真精度，能够精确地拟合红发夫酵母发酵时类胡萝卜素的产量与发酵培养基之间的内在关系，模型预测结果和实际结果比较吻合.

3 结 论

本文首先采用均匀设计对影响红发夫酵母发酵的培养基组分配比进行试验设计，再在此基础上用BP神经网络建立培养基组分与类胡萝卜素产量的关系模型，最后用遗传算法获得优化培养基. 采用优化后的发酵培养基进行摇瓶发酵，类胡萝卜素产量为8.23 mg/L，比原始培养基提高了95.90%. 由于BP神经网络模型具有较高的仿真精度，能够很精确地拟合类胡萝卜素产量与培养基主要组分之间的内在关系，并且遗传算法常可迅速完成全局寻优，因此利用BP–GA方法进行红发夫酵母发酵培养基的优化是一种行之有效的途径.

References

1 Marcello S, Monica Z, Marco B, Donatella F, Giancarlo F. Lutein, zeaxanthin and astaxanthin protect against DNA damage in SK-N-SH human neuroblastoma cells induced by reactive nitrogen species. *J Photochem & Photobiol B: Biology*, 2007, **88** (1): 1~10

2 Xuebo L, Toshihiko O. Cis astaxanthin and especially 9-cis astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity in vitro compared to the all-trans isomer. *Biochem & Biophys Res Commun*, 2007, **357** (1): 187~193

3 John SB, Alex LV. Cancer prevention by retinoids and carotenoids: Independent action on a common target. *Biochim et Biophys Acta (BBA) - Mol Basis Dis*, 2005, **1740** (2): 170~178

4 Hiroshi K, Hirofumi K, Sumio A, Yoshinobu K. Contribution of the

表1 培养基优化前后类胡萝卜素产量比较

Table 1 Comparison of the carotenoid yields from different mediums

成分与误差 Content & error	原始培养基 Initial medium	均匀设计优化 Optimization medium of UD	GA优化 Optimization medium of GA
蔗糖 Sucrose (ρ/g L^{-1})	20.00	60.00	45.15
$(NH_4)_2SO_4$ (ρ/g L^{-1})	5.00	8.00	3.00
$MgSO_4.7H_2O$ (ρ/g L^{-1})	0.50	0.80	0.80
KH_2PO_4 (ρ/g L^{-1})	0.10	0.50	1.40
酵母膏 Yeast extract (ρ/g L^{-1})	2.00	1.00	3.00
$CaCl_2$ (ρ/g L^{-1})	0.10	0.20	0.50
预测值 Predicted yield (ρ/mg L^{-1})	4.21	19.83	8.38
实测值 Actual yield (ρ/mg L^{-}	4.20	7.06	8.23
误差 Error (%)	0.30	64.40	1.79

antioxidative property of astaxanthin to its protective effect on the promotion of cancer metastasis in mice treated with restraint stress. *Life Sci*, 2002, **70** (1): 2509~2520

5 Jyonouchi H, Sun S, Gross MD. Astaxanthin, a carotenoid without vitamin a activity, arguments antibody responses in cultures including T-helper cell clones and suboptimal doses of antigen. *J Nutr*, 1995, **125**: 2483~2492

6 Jyonouchi H, Sun S, Mizokami M, Gross MD. Effects of various carotenoids on cloned, effector-stage T-helper cell activity. *Nutr & Cancer*, 1996, **26** (3): 313~324

7 Yeong-HCh, Tian-FSh, Fei P, Bao-JCh. Effects of aflatoxin and carotenoids on growth performance and immune response in mule ducklings. *Comp Biochem & Physiol Part C: Toxicol & Pharmacol*, 2001, **128** (1): 19~26

8 Andrewes AG, Phaff HJ, Starr MP, Carotenoids of *Phaffia rhodozyma*, a red-pigmented fermenting yeast. *Phyto-chemistry*, 1976, **15**: 1003~1007

9 Pan LJ (潘丽军), Zhang CC (张婵婵), Jiang ST (姜绍通), Ruan SJ (阮少钧). Medium optimization of L-lactic acid fermentation by lactic acid bacteria with rape cake hydrolysate as nitrogen source. *Food Sci* (食品科学), 2007, **10**: 313~316

10 Ma L (马雷), Zhang B (张蓓), Wu GH (武改红). Optimization of guanosine fermantation medium based on BP neural network and genetic algorithms. *J Tianjin Univ Sci & Technol* (天津科技大学学报), 2005, **20: 17~19**

11 Ge AD (葛爱冬), Sui QM (隋青美), Wang BP (王斌鹏). Application of generalized hybrid neural network modeling methods in penicilllin fermentation process. *J Shandong Inst Light Ind* (山东轻工业学院学报), 2006, **3**: 30~33

12 Yang L (杨梁), Xiong WL (熊伟丽), Xu BG (徐保国). Control system of appending Stuffa about engineering bacteria fermentation base on the earticale swarm optimize. *Computer Automated Measurement & Control* (计算机测量与控制), 2005, **3**: 255~257

13 Holland JH. Adaption in Natural and Artificial Systems M. MA: University of Michigan Press, 1975. 300~389