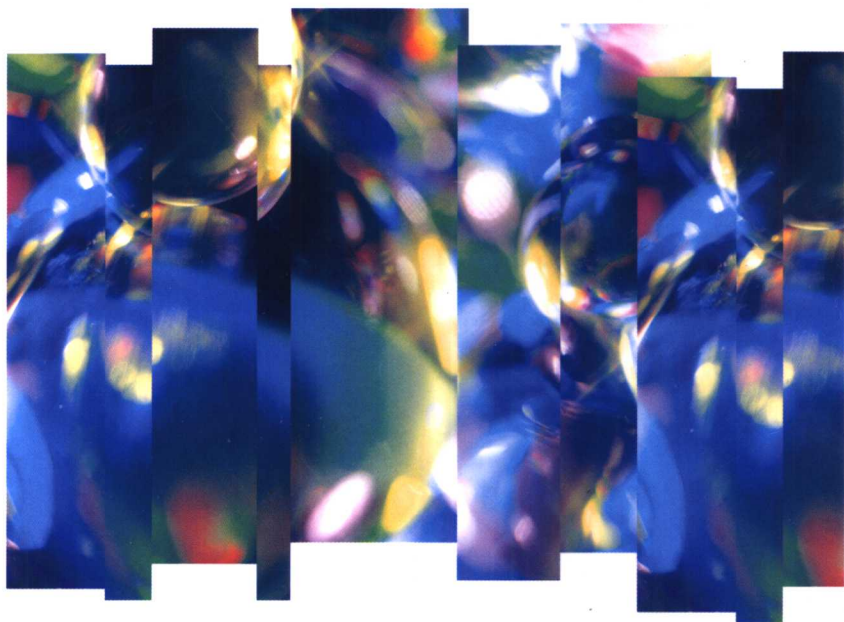


现代发酵工程丛书

发酵过程解析、控制 与检测技术

● 史仲平 潘 丰 编著 ●



Chemical Industry Press



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

现代发酵工程丛书

发酵过程解析、控制 与检测技术

史仲平 潘 丰 编著



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

发酵过程解析、控制与检测技术/史仲平, 潘丰编著. 北京:
化学工业出版社, 2005. 4

(现代发酵工程丛书)

ISBN 7-5025-6827-1

I. 发… II. ①史…②潘… III. 发酵工程 IV. TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 023406 号

现代发酵工程丛书

发酵过程解析、控制与检测技术

史仲平 潘 丰 编著

责任编辑: 孟 嘉 傅四周 周 旭

文字编辑: 伊守亮

责任校对: 于志岩

封面设计: 关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 20 $\frac{1}{4}$ 字数 385 千字

2005 年 5 月第 1 版 2005 年 5 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6827-1/Q·143

定 价: 45.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

《现代发酵工程丛书》编委会

编委会主任	伦世仪	中国工程院院士	教授
编委会委员	陈 坚	教授	
	诸葛健	教授	
	徐 岩	教授	
	史仲平	教授	

序

中国 20 世纪早期的发酵工业多限于厌氧发酵产品的生产，如乙醇、丙酮、丁醇及酿酒等。20 世纪 40 年代初，需氧的青霉素发酵在多学科学者的通力协作下，在美国投入了工业化生产。关于从自然界筛选和优化菌种的方法，以及需氧发酵过程中诸多规律性研究成果——《生化工程学》也伴随而生。这标志着现代发酵工业新纪元的开始。它不但以很快的速度催生了多系列的需氧发酵产业，同时也使原有的厌氧发酵业界受益匪浅。择其要者简述如下：

抗生素 中国 20 世纪 50 年代早期在上海开始生产青霉素。如今中国是青霉素的生产大国，并具有多家综合性大型抗生素厂，医用抗生素种类基本齐全，但半合成头孢菌素的生产能力不足。

氨基酸 中国用微生物发酵法代替面筋酸水解法工业化生产谷氨酸，于 1964 年在上海投产。现在几乎全部的 L-氨基酸都可用发酵法生产；只有少数几种氨基酸采用固定化菌体（酶）催化不对称水解化学合成的 DL-氨基酸 N-酰化衍生物的方法，实现光学拆分，最终获得高得率的 L-氨基酸。

酶制剂 中国的微生物酶制剂发酵工业于 1965 年在无锡首先投产。当时品种虽少，但相关工业行业受益颇丰。1990 年美国食品和药物管理局（FDA）批准以安全菌株构建的凝乳酶基因工程菌投入工业使用之后，国外大型酶制剂生产公司的基因工程菌酶制剂于 20 世纪 90 年代中期进入中国，并建立了控股公司或独资公司，销售 3 个等级 10 多个系列的产品。

有机酸 中国用发酵法生产有机酸是 20 世纪 80 年代兴起的。以柠檬酸、L-乳酸、L-苹果酸和衣康酸等为主。其中柠檬酸产量居世界第二位，年出口额 2 亿美元以上，为世界第一，也是中国化工行业单项出口额最大的产品。

维生素 维生素发酵在我国起步较早，已形成规模化生产的主要是维生素 B₁₂、维生素 B₂ 和维生素 C。中国科学家于 20 世纪 70 年代末期发明的双菌协同发酵生物合成维生素 C 的“二步发酵法”，一举取代了沿用近半个世纪的“莱氏化学合成法”，成为当今国际通用的维生素 C 生产法。中国已成为维生素 C 的生产大国，也是技术强国。

燃料乙醇 汽油中添加 10%~15% 的无水乙醇可获得良好的抗震性，乙醇的助燃性可明显降低汽车尾气对城市的大气污染。中国多省已法定在车用汽油中添加定量无水乙醇，全国大有跟进之势，因而燃料乙醇业有望成为中国最大的发酵产业之一。生产燃料乙醇所消耗的能量大于产出燃料乙醇的能量，是国际上多年来尚未攻克的难题。

酿酒工业 以大曲酒为代表的蒸馏酒传承着中国独有的酿造文化和历史，不同的香型和口感具有明显的产地特征，造就了不少驰名中外的名牌。啤酒源于外国，但近十余年来国内啤酒业已经实现了集约化和现代化，产量位居世界第二。如今酿酒工业的年产值逾千亿元。

当前，中国发酵工业多数产品的技术经济指标均落后于国际先进水平。特别是产品的分离纯化技术进步不快，高纯度等级产品的产量低、成本高。以氨基酸、酶制剂为例，尽管中国不乏优良的生产菌株，可是高纯度等级的产品需要进口。要扭转这种局面，从业人员的继续学习是必由之路。另外，优良的生产菌种是发酵工业的源头，菌种又是在生产过程和环境中极易流失的资源。期待这种产权尽快得到切实、有力的保护，以促进跨学科间的协作。

《现代发酵工程丛书》着眼于提升发酵工业水平的共性技术。内容侧重实用，原理的阐述深入浅出。丛书约十册，先期出版以下五册。

一、现代发酵微生物实验技术

微生物是发酵工业的根本，优良菌株是上佳发酵结果的前提，生产过程中不断强化菌种的性能是保持技术经济优势的必需。中国青霉素发酵液的效价从 20 世纪 50 年代的每毫升数千国际单位，提高到 6 万国际单位以上。据业界总结，菌种强化的贡献约为 50%。

本书含 81 项实验。包括显微技术、细胞特殊结构的观察、代谢调控育种、原生质体融合育种和基因工程等定向育种技术，以及相关新型仪器设备的使用。书中图文并茂，特别适于在学者学习和在职者继续学习时阅读参考。

二、高细胞密度发酵技术

许多发酵的产物积累于菌体细胞内部。要获得这些产物的高生产强度,理想的办法是在维持产率系数和比生产率不降低的同时,尽可能提高发酵液内细胞的密度。但实现高密度发酵并非易事,这涉及液内传质的强化、加速溶氧的供给、基质改良和流加优化控制、有害副产品的随程移除和反应器合理设计等问题的解决。

高细胞密度发酵技术是随着基因工程重组药物生产的需要而发展起来的一项发酵工程新技术。书中详细阐述了它的进展和应用实例,显示了该技术广阔的应用前景。

三、微生物酶与应用生物催化

本书着重阐述微生物酶与生物转化的基本知识与应用,具有实用性和前沿性。微生物酶不但具有所催化底物的专一性,还有底物分子上相同反应基团所在位点的专一性,以及消旋体异构物的选择性,后者对手性化合物的合成具有特别重要的价值。结合固定化酶或固定化细胞技术的生物转化法,大大拓宽了发酵工业的领域。目前,愈来愈多的原来用化工合成的药物和其他精细化工产品改用生物转化法生产,获得高效率、低能耗和低污染的结果。

四、现代固态发酵与酶制剂生产

固态发酵源于中国,酱油发酵已有千年的历史。固态发酵技术用于酶制剂生产的潜在优势早就引起国内外学者的重视。本书主要取材于近10年来数百篇国外研究论文,结合作者的研究经验,详细地介绍了固态发酵的理论基础、过程参数的测量方法和控制技术、固态发酵动力学的研究方法和过程的优化控制技术。书中还介绍了多种酶制剂的固态发酵的生产实例。

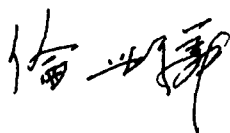
五、发酵过程解析、控制与检测技术

发酵过程的在线检测、实时在线控制和流加过程的优化是提高发酵总体水平的有效途径。本书结合具体的发酵实例,归纳、阐述和系统地总结了发酵过程在线检测、在线自适应控制和最优化控制理论,并对模糊逻辑推理、人工神经网络、代谢网络模型、状态预测模型或识别等方法与技术作了介绍。

本书对所论述的控制方法和技术均附有应用实例,有助于继续学习者对

内容的理解。

本丛书的作者都是多年来工作在科研第一线的学者。他们在百忙之中不辞辛劳，为读者撰写了这套丛书。相信该丛书的面世将会为发酵工业技术水平的提升有所贡献。

A handwritten signature in black ink, appearing to read '林少' (Lin Shao), written in a cursive style.

2005年3月

前言

最近几十年来,以基因工程技术、细胞大量培养技术和生物反应器技术等为基础的发酵过程技术已经成为化学工业、农业、食品工业、医药工业以及能源等国民经济行业的关键技术之一。随着上述行业的迅速发展,发酵产品生产规模和品种不断增加,对于发酵过程进行控制和优化的要求也越来越迫切。作为发酵中游技术中心的发酵过程控制和优化技术,既关系到能否发挥菌种的最大生产能力,又会影响到下游处理的难易程度,在整个发酵过程中是一项承上启下的关键技术。但是,与一般的物理和化学过程相比,发酵过程有着迥然不同的动力学特征,如动力学模型呈高度的非线性和强烈的时变性、大多数生物状态变量难以在线测量、过程响应速率慢、在线测量带有大幅时间滞后等。因此,发展和建立与发酵过程的特点相适应、具有共性的发酵过程解析、控制和最优化技术,对于提高发酵过程的总体性能,提高目的产物的产率产量、生产强度及原料的转化率,将起到至关重要的作用。

鉴于发酵过程的上述基本特征,特别是其强烈的非线性、时变性和基本生物量难以在线测量的特征,对发酵过程实施在线检测和有效的实时在线控制和优化势在必行,发酵过程在线控制和最优化成为提高发酵总体生产水平的最为有效的途径。然而,国内有关发酵过程解析、控制与优化的书籍一般都是以基于离线动力学模型的离线控制和最优化为基础的,实时在线检测和控制也仅仅涉及到常规测量变量,如温度、压力、溶氧浓度、pH以及发酵尾气分压等的测量和简单的定值控制,从实用的角度来看,这已经远远不能适应发酵过程控制与优化的需要。近年来,国内外不少研究者提出了许多适用于发酵过程在线控制和优化的方法、理论和技术。同时,随着计算机以及相关技术的飞速发展,人工神经网络、模糊逻辑推理等新型人工智能技术也逐步开始渗入到发酵过程的建模、状态预测、模式识别、控制与优化等诸多领域。越来越多的适用于发酵过程的在线实时控制技术,例如基于实时在线模型的自适应控制和在线最优化控制系统,基于人工神经网络和模糊逻辑推理技术的智能型过程控制与优化技术,以及基于代谢网

络模型的在线状态预测和控制技术等,被不断地开发出来,并在许多发酵过程中得到了实际应用。然而,国内尚未见有人对这些有关发酵过程在线分析、控制和优化的新的和关键性的理论与技术加以详细和系统性的总结和归纳。

作者多年来一直从事发酵过程的在线检测、解析、控制和优化等方面的研究,通过结合发酵过程自身的特点以及相应的在线检测、过程控制与优化的特有模式,在借鉴国外有关最新研究成果和作者自身完成的研究实例的基础上编撰了此书。本书对发酵过程的解析、控制与优化,特别是在线检测、在线状态预测和模式识别以及在线控制和最优化控制的技术和方法,进行了比较系统和详细的介绍和总结。在介绍基本过程解析、控制和最优化技术的基础上,结合具体的发酵过程实例,着重归纳、阐述和详细系统总结了发酵过程在线检测、在线自适应控制和最优化控制,以及引入模糊逻辑推理、人工神经网络、代谢网络模型等新型的控制和优化、状态预测与模式识别等方法和技术。希望能够对从事发酵工程、生物工程等方面工作的专业人士、研究人员、教师和研究生提供一些有价值的参考以及共性的方法和思路。

本书一共分成九章,第一章为绪论。第二章“生物过程参数在线检测技术”,主要讨论和讲述生物过程的主要状态变量,如溶氧浓度、pH、 CO_2 生成速率、 O_2 摄取速率、呼吸商、细胞浓度、细胞比增殖速率、基质浓度、代谢产物浓度等的在线测量、推定和计算。第三章“发酵过程控制系统和控制设计原理及应用”是本书的基础部分,主要阐述和讲解发酵过程的各类反应和动力学模型,生物反应器的操作模式和解析,前馈和反馈控制系统的构成,反馈控制器在时间和拉普拉斯域上的稳定性、响应特性和定常特性的分析,反馈控制器的设计方法,以及前馈和反馈控制器在发酵过程中的实际应用。第四章“发酵过程的最优化控制”主要论述了以非构造式动力学模型为基础的最优化控制的基本原理和以最大原理、格林定理、遗传算法为代表、典型的最优化控制的计算方法以及它们在发酵过程中的实际应用。第五章“发酵过程的建模和状态预测”详细论述和探讨了发酵过程的各类数学模型,非构造式动力学模型的建模方法,人工神经网络模型的建模方法和在发酵过程状态预测、模式识别等诸方面的实际应用,卡尔曼滤波器以及在发酵过程在线状态预测中的实际应用。第六章“发酵过程的在线自适应控制”主要介绍基于过程输入输出时间序列数据的自回归移动平均模型的在线自适应控制系统和在线最优化控制的概念、方法以及实际应用。第七章“人工智能控制”主要介绍和阐述了基于人类知识和经验的模糊逻辑控制器和融入人工神经网络技术的模糊神经网络控制系统的概念、构成、计算和调整方法,以及在发酵过程中的实际应用。第八章“利用代谢网络模型的过程控制和优化”简要介绍了代谢网络模型的基本特征,代谢流模型的简化和计算,利用代谢流模型的在线状态预测和在过程控制中的应用。第九章“计算机在生化反应过程控制中的应用”

主要讲解了实际工业控制的集散控制系统（DCS）及接口技术，硬件和软件设计，以及计算机控制在柠檬酸、青霉素发酵过程中的实际应用。

本书第一章、第三章～第八章由江南大学生物工程学院史仲平教授编写，第二章、第九章由江南大学通信与控制工程学院潘丰教授编写。在本书的撰写过程中，得到了中国工程院院士、江南大学生物工程学院教授伦世仪先生的热情鼓励。日本九州工业大学情报工学部清水和幸教授、江南大学生物工程学院陈坚教授也对本书的成稿提供了很大的支持，并对内容的修改和完善提供了宝贵的意见。在此谨向他们表示衷心的感谢。

由于作者的能力与水平有限，错误和不足之处在所难免，敬希读者批评指正。

作 者

2004年11月

内 容 提 要

作为发酵工业中游技术核心的发酵过程控制和优化技术,既关系到能否发挥菌种的最大生产能力,又会影响到下游处理的难易程度,在整个发酵过程中是一项承上启下的关键技术。本书作者多年来一直从事发酵过程的在线检测、解析、控制和优化等方面的研究,在借鉴国外的有关最新研究成果和作者自身完成的研究实例的基础上,博采众家之长,写成此书。

全书结合具体的发酵过程实例,分别对发酵过程的解析、控制和优化,特别是在线检测、在线状态预测和模式识别,以及在线控制和最优化控制的技术及方法进行了比较系统详细的介绍,并引入了模糊逻辑推理、人工神经网络模型、代谢网络模型等新型的控制、优化、状态预测以及模式识别等方法和技术。

本书适合于从事发酵工程、生物工程、生物化工、化学工程等相关专业领域研究的科研人员、教师和工程师使用,也可供大专院校相关专业的高年级本科生和研究生参考。

目 录

第一章 绪论	1
第一节 生物过程的特点以及生物过程的操作、控制、优化的基本特征	1
第二节 生物过程控制和优化的目的及研究内容	2
第三节 发酵过程控制概论	4
第四节 发酵过程的状态变量、操作变量和可测量变量	6
第五节 用于发酵过程控制和优化的各类数学模型	7
第六节 发酵过程最优化控制方法概论	8
一、基于非构造式动力学模型的最优化控制方法	8
二、基于可实时测定的过程输入输出时间序列数据和黑箱模型的最优化控制方法	9
参考文献	10
第二章 生物过程参数在线检测技术	11
第一节 pH 的在线测量	13
一、pH 传感器的工作原理	13
二、pH 传感器的使用	15
第二节 溶氧浓度的在线测量	18
一、溶氧浓度测量原理	18
二、溶氧电极	19
三、溶氧电极的使用	21
第三节 发酵罐内氧气和二氧化碳分压的测量以及呼吸代谢参数的计算 ...	23
一、氧分析仪	23
二、尾气 CO_2 分压的检测	26
三、呼吸代谢参数的计算	26
第四节 发酵罐内氧气体积传质系数 K_La 的测量	31

一、亚硫酸盐氧化法	31
二、溶氧电极法	32
三、物料衡算法	33
四、动态测定法	34
五、取样极谱法	35
六、复膜电极测定 $K_L a$	35
第五节 发酵罐内细胞浓度的在线测量和比增殖速率的计算	36
一、菌体浓度的检测方法 & 原理	36
二、在线激光浊度计	38
第六节 生物传感器在发酵过程检测中的应用	39
一、生物传感器的类型和结构原理	39
二、发酵罐基质(葡萄糖等)浓度的在线测量	43
三、引流分析与控制(FIA)	45
四、发酵罐器内一级代谢产物(乙醇、有机酸等)浓度的在线 测量	47
参考文献	48

第三章 发酵过程控制系统和控制设计原理及应用

第一节 过程的状态方程式	49
第二节 生物过程的典型和基本数学模型	51
一、生物过程最基本的合成和代谢分解反应	51
二、生物过程典型的数学模型形式	55
三、发酵过程的各种得率系数和各种比反应速率的表现形式	57
四、生物反应器的基本操作方式	62
五、发酵过程状态方程式在“理想操作点”近旁的线性化	64
第三节 拉普拉斯变换与反拉普拉斯变换	67
一、拉普拉斯变换的定义	68
二、拉普拉斯变换的基本特性以及基本函数的拉普拉斯变换	68
三、反拉普拉斯变换	69
四、有理函数的反拉普拉斯变换	69
五、过程的传递函数 $G_p(s)$ ——线性状态方程式的拉普拉斯函数 表现形式	69
六、过程传递函数的框图和转换	70
七、过程对于输入变量变化的响应特性	71
第四节 过程的稳定性分析	74

一、过程稳定的判别标准	74
二、过程在平衡点（特异点）近旁的稳定特性的分类	75
三、连续搅拌式生物反应器的稳定特性的解析	77
第五节 生物过程的反馈控制和前馈控制	79
一、生物过程的前馈控制	79
二、流加操作的生物过程中常见的前馈控制方式	80
三、生物过程的反馈控制	83
四、生物过程中反馈控制与前馈控制的并用	84
第六节 PID 反馈控制系统的设计和解析	86
一、闭回路 PID 反馈控制的性能特征	86
二、比例动作	87
三、积分动作	88
四、微分动作	89
五、PID 反馈控制器的构成特征	89
六、反馈控制系统的稳定性分析	89
七、反馈控制系统的设计和参数调整	91
八、开关反馈控制	94
第七节 反馈控制系统在生物过程控制中的实际应用	95
一、以溶氧浓度（DO）变化为反馈指标的流加培养控制—— DO-STAT 法	95
二、以 pH 变化为反馈指标的流加培养控制——pH-STAT 法	98
三、以 RQ 为反馈指标的流加培养控制	100
四、直接以葡萄糖浓度为反馈指标的流加培养控制	101
五、以代谢副产物浓度为反馈指标的流加培养控制	103
参考文献	105

第四章 发酵过程的最优化控制

第一节 最优化控制的研究内容、表述、特点和方法	106
第二节 最大原理及其在发酵过程最优化控制中的应用	107
一、最大原理及其算法简介	107
二、利用最大原理确定流加培养过程的最优基质流加策略和方式	111
三、最大原理的数值解法及其在生物过程最优化控制中的应用	116
第三节 格林定理及其在发酵过程最优化控制中的应用	121
一、格林定理	121
二、利用格林定理求解流加培养（发酵）的最短时间轨道问题	122

三、格林定理在乳酸菌过滤培养最优化控制中的应用	125
四、利用格林定理进行乳酸菌过滤培养最优化控制的计算机模拟和 实验结果	128
第四节 遗传算法及其在发酵过程最优化控制中的应用	131
一、遗传算法简介	131
二、遗传算法的算法概要及其在重组大肠杆菌培养的最优化控制 中的应用	132
三、遗传算法在酸乳多糖最优化生产中的应用	138
参考文献	143

第五章 发酵过程的建模和状态预测 144

第一节 描述发酵过程各类数学模型简介	144
一、非构造式动力学模型	145
二、代谢网络模型	146
三、基于在线时间序列数据的自回归平均移动模型	146
四、人工神经网络模型	147
五、正交或多项式回归模型	148
第二节 非构造式动力学数学模型的建模方法	148
一、利用非线性规划法确定非构造式动力学数学模型的模型参数	148
二、利用遗传算法确定过程模型参数	157
第三节 利用人工神经网络建模和预测发酵过程的状态	159
一、神经细胞和人工神经网络模型	159
二、人工神经网络模型的类型	161
三、人工神经网络的误差反向传播学习算法	163
四、利用人工神经网络在线识别发酵过程的生理状态和浓度变化 模式	167
五、利用人工神经网络的发酵过程状态变量预测模型	169
六、利用人工神经网络的非线性回归模型	173
七、结合使用人工神经网络模型和遗传算法的过程优化	175
第四节 卡尔曼滤波器在发酵过程状态预测中的应用	176
一、卡尔曼滤波器及其算法	176
二、利用卡尔曼滤波器在线推定菌体的比增殖速率	178
参考文献	180

第六章 发酵过程的在线自适应控制 182

第一节 基于在线时间序列输入输出数据的自回归移动平均模型解析	184
一、自回归移动平均模型详解.....	184
二、利用逐次最小二乘回归法计算和确定自回归移动平均模型的 模型参数.....	186
第二节 基于自回归移动平均模型的在线自适应控制.....	189
一、“极配置”型的在线自适应控制系统	189
二、“最优控制”型的在线自适应控制系统	190
三、酵母菌流加培养过程的比增殖速率在线自适应最优控制.....	193
四、乳酸连续过滤发酵过程的在线自适应控制.....	196
第三节 基于自回归移动平均模型的在线最优化控制.....	201
一、面包酵母连续生产的在线最优化控制.....	201
二、乳酸连续过滤发酵的在线最优化控制.....	205
第四节 基于遗传算法的在线最优化控制.....	210
一、利用遗传算法实时在线跟踪和更新非构造式动力学模型的 参数.....	210
二、结合使用最大原理和遗传算法的在线最优化控制.....	212
参考文献.....	214

第七章 人工智能控制 216

第一节 模糊逻辑控制器.....	217
一、模糊逻辑控制器的特点和简介.....	217
二、模糊语言数值表现法和模糊成员函数.....	218
三、模糊规则.....	223
四、模糊规则的执行和实施——解模糊规则的方法.....	225
五、模糊逻辑控制系统的构成、设计和调整.....	228
第二节 模糊逻辑控制系统在发酵过程中的实际应用.....	231
一、酵母流加培养过程的模糊控制.....	231
二、谷氨酸流加发酵过程的模糊控制.....	237
三、辅酶 Q_{10} 发酵生产过程的模糊控制	241
四、模糊推理技术在发酵过程在线状态预测中的应用.....	245
第三节 基于人工神经网络的控制系统及其在发酵过程中的应用.....	250
一、基于人工神经网络的在线自适应控制.....	250
二、模糊神经网络控制系统及其在发酵过程中的实际应用.....	253
三、模糊神经网络控制器及其在发酵过程中的应用.....	260
参考文献.....	268