

人工神经网络在生物过程中的应用

刘艳芳, 周晓微, 梁 萌

(郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

摘 要: 人工神经网络(ANN)由于其自身具有的自适应非线性信息处理能力,在对动力学具有较强的非线性、非稳态及时变特征的生物反应过程的描述中具有其他方法所无法比拟的优势.分析了人工神经网络在生物反应过程中建模的优势,对其近年来在生物反应过程中建模与仿真、过程优化控制、故障诊断、软测量及培养基优化等方面的应用进行了介绍,并提出了其未来发展的趋势.

关键词: 人工神经网络;建模;优化控制;软测量;故障诊断

中图分类号: Q 815

文献标识码: A

0 引言

生物反应过程的动力学具有强的非线性、非稳态和时变的特征,给系统的建模控制带来很大的困难,这是由多方面原因造成的:第一,细胞代谢由许多复杂且相互影响的反应所组成,而它们并没有全部被精确定义或者是动力学建模;第二,这些反应的交互作用不仅仅限于它们之间,还通过输送养分以及分泌产物而与胞外环境之间发生;第三,外部扰动会以目前没有完全理解的方式影响胞内代谢;第四,胞内反应即使产生了目的产物,但很难进行在线检测,而离线检测往往太慢以致于无法及早察觉到扰动或者是异常.

人工神经网络(Artificial Neural Networks, ANN)是由多个简单处理单元按照某种规则相互连接而成的计算系统,具有学习、记忆、联想和计算功能,其突出优点是可以有效地对模型不确定的数据进行大规模非线性自适应信息处理,自动调节不同类型的非线性响应,其应用已经渗透到各个领域,近年来在生物反应工程^[1]甚至是分析化学方面^[2]都得到越来越广泛的应用.

1 过程仿真

大多数情况下,非结构模型并不适合于大型发酵的过程检测和控制.因此,基于ANN的模型在实际和模拟的工业条件下对描述生物反应器的行为非常有用.Zelic等^[3]在用基因工程大肠杆菌(*Escherichia coli* YYC202 *ldhA::Kan*)发酵生产丙

酮酸的发酵过程中建立了非结构的传统黑箱模型、基于神经网络的模型以及外部循环神经网络模型三种模型,并采用分批式发酵以及恒乙酯流速(1.3 mL/h)补料流加发酵的数据对其进行了对比和验证.结果显示,在非结构的数学模型无法应用的时候,神经网络也可以对复杂的微生物发酵过程进行建模.

Valdez - Castro等^[4]在*Bacillus thuringiensis*的补料批次发酵过程中选择菌体浓度、孢子浓度、葡萄糖浓度、温度、pH、溶氧、通气速率、培养体积、酸碱流加泵开关状态、总营养物流加浓度、初始流加时间、营养物流加速率等12个变量作为输入,菌体浓度、孢子浓度、葡萄糖浓度、溶氧、通气速率、培养体积和营养物流加浓度作为输出,构建了拓扑结构为12-9-7的递归可训神经网络模型(RTNN)进行预测和控制.经过每代162次循环的51代学习,最后一代的学习误差大约是2%.经实验验证,预测值与实验值的误差约为1.8%.

由于复杂的内部生物结构,环境生物过程很难采用传统的建模手段加以建模和控制.Holubar等^[5]采用ANN对厌氧消化过程进行建模,得到了拓扑结构为8-8-2的前馈反向传播神经网络(FFBP),以提前预测生物气体的生产和组成.采用该模型得到一优化流加策略,其最小加载速率为 $6 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$,最大加载速率大于 $12 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$,产气水平高达 $3 \text{ m}^3_{\text{biogas}} \text{ m}^{-3}_{\text{reactor}}$,甲烷含量大约为70%.De la Torre - Sanchez等^[6]提出

收稿日期:2007-01-20;修订日期:2007-03-29

基金项目:郑州轻工业学院校科研基金(2004xjj0005)

作者简介:刘艳芳(1961-),女,山东庆云人,郑州轻工学院实验师,主要研究方向为烟草化学.

使用拓扑结构为 8-13-5 并具有全局和局部反馈的递归神经网络模型(Recurrent Neural Network, RNN)来预测陈化污染土壤中碳水化合物的生物降解过程. 经过 101 代的学习, 最终的平均误差小于 1.25%. 应用该模型预测残存碳水化合物、pH、二氧化碳以及不同通风量和温度下氧气消耗和湿度, 经验证得到较好的精度.

在高温淀粉糖化中, 淀粉酶的热失活被认为是其限制性因素. 在反应物存在的情况下(大范围浓度的酶、底物和产物, 中度搅拌)研究酶的失活时, 底物和葡萄糖作为稳定剂的作用加剧了系统的复杂性. 因此, 各因素的相互关联会降低唯象模型的效果, 这使得 ANN 适合用来描述酶活力的丧失. Bryjak 等^[7]选择了拓扑结构为 4-4-1 的网络对淀粉酶的热失活动力学进行描述. 在使用 42 组数据进行神经网络模型的训练之后, 动力学模拟的计算的标准差以及关系系数(0.997-0.999)证明了建立的 ANN 的正确性.

使用 *Aspergillus niger* 发酵生产柠檬酸的过程中, 孢子接种水平对菌体形态具有很大影响, 而控制菌体形态在工业应用中往往被看作是保证产率增加的先决条件. Papagianni 等^[8]采用数字图像分析菌体的形态特性后, 利用 ANN 进行聚类分析, 考察了圆形和长形的球状体、菌丝团以及游离的菌丝体四种主要类型以及四者之间组合的重要性, 对孢子接种水平改变所造成的最终菌丝体形态变化的影响进行了定量描述. 结果表明采用 ANN 进行聚类分析, 可以对两种极端形态的变化进行细致的定量化, 从而有效地描述了孢子接种水平对菌丝体形态的影响.

2 过程的优化控制

生物反应器的控制系统的设计较为复杂, 这主要是因为: ①模型明显的不确定性; ②缺乏可靠的检测重要状态变量的在线传感器; ③系统的非线性和时变性本质; ④过程的慢响应, 特别是细胞和代谢物浓度. 由于 ANN 在处理非线性、非稳态和时变性系统时的能力, 其在微生物发酵过程的优化控制中得到了广泛的应用.

Coleman 等^[9]提出一种三步优化方法: 第一步使用数据挖掘技术识别对输出变量具有较大影响的输入变量, 第二步使用识别出的关键输入构建 ANN 模型, 最后使用混合遗传算法进行优化. 在使用 *Escherichia coli* 生产绿色荧光蛋白的发酵过程中, 从原始的 13 个变量中识别出 6 个输入, 建立了一个拓扑结构为 6-10-1 的多树平均

(Ensemble Averaging) ANN 模型, 并采用混合遗传算法进行了优化. 验证实验得到的最大荧光值为 2.16×10^6 单位, 比之前观察到的最大荧光值 1.51×10^6 单位提高了 55%.

在利用 ANN 离线优化发酵过程时往往会出现模型预测值与实际测量值的差异, 这是由于发酵过程中存在未知扰动以及模型-设备的不匹配. 为了解决这个问题, Xiong 等^[10]提出了在线再优化的策略, 即在发酵进行一段时间后根据发酵过程中实测数据, 利用模型重新进行优化. 将该策略应用到拓扑结构为 4-10-2-1 的 FFNN 对模拟补料分批发酵乙醇的优化控制上, 结果表明该策略可以有效地解决模型-设备不匹配问题.

潘糖是一种由麦芽糖与葡萄糖之间通过 α -1,6-糖苷键所构成的三糖. 该三糖在食品工业中有被用作无热甜味剂的潜力, 并且被认为是一种有益菌(pre-biotic)的碳水化合物. Fernandes 等^[11]采用 ANN 的方法对批式和补料批式反应器中酶法合成潘糖的过程进行了建模和优化. 批式反应的 ANN 模型的拓扑结构为 2-15-3, 补料批式反应的 ANN 模型的拓扑结构为 2-25-3, 两者均选择蔗糖和麦芽糖的浓度作为输入变量, 输出变量为潘糖的产率、浓度以及麦芽糖的消耗. 经过优化, 在批式培养中达到潘糖的最大生产能力, 其初始蔗糖浓度 $S_0 = 100 \text{ mmol/L}$, 而麦芽糖与蔗糖的比为 5.58, 流加速率为 3000 L/h , 产生了 35.3 g/L 的潘糖, 比优化前的产率提高了 74%.

3 故障诊断

生物反应过程对环境因素十分敏感, 如果生产条件偏离了预先设定的最佳条件, 则会影响其内部代谢过程或者是反应进程, 从而会降低产物得率甚至完全没有产物生成. 此外, 发生染菌时, 杂菌不仅会与生产菌株争夺营养, 还会产生对生产菌株有害的物质. 所以, 及时诊断并预测生物反应过程中的故障十分重要, 可以及早采取措施减少或避免损失和影响. 利用 ANN 对生物系统建模, 对生物反应进程进行预测, 根据实际操作情况与预测情况的差异发现故障是 ANN 在故障诊断领域中的主要应用方式.

Huang 等^[12]对 *Streptomyces virginiae* 生产维及霉素 M 和 S 过程中的浊度、 $\text{CO}_2\%$ 、 $\text{O}_2\%$ 、流加的 HCl 的量以及搅拌桨的转速 RPM 作为输入, 构建了拓扑结构为 5-6-2-6-5 的自联想 ANN, 在使用正常生产数据进行训练后, 该模型的输入

和输出之间的差的平方和非常小,而且其瓶颈层(bottleneck layer)的输出 Z_1 和 Z_2 值呈现簇状。在将异常生产的数据输入后,模型的输入和输出之差的平方和变大,同时瓶颈层的输出 Z_1 和 Z_2 与正常情况下有明显差别,从而可及早地发现发酵过程中的故障。

4 软测量

如上所述,生物过程难以建模和控制的很重要的原因在于缺乏可靠的检测重要状态变量的在线传感器。目前重要内部变量如生物量、底物和产物浓度等的商业化、高可靠性和低操作成本的在线检测手段仍然十分匮乏,并且其测量往往具有很长的测量延迟。由于这些限制,相当多的注意力都集中到了在线的软件状态估计,即软测量上。所谓软测量是指将在线检测过程变量的传感器(硬件)与估算算法(软件)相关联,以提供不可测量、模型参数的在线检测或者是消除测量延迟。在目前软测量领域具有较大潜力的方法中,ANN 由于不需要有关动力学参数的先验知识而成为目前生物过程软测量的主要手段。

Dai 等^[13]提出了基于“假设的内部传感器(Assumed Inherent Sensor)”以及它的逆概念的 ANN 软测量方法,并用于估计一些难以直接测量的关键过程变量。所谓的“假设的内部传感器”即假设对于真实的生物化学过程,其内部存在一个所谓“内部传感器”的子系统,其输入是要估计的过程变量,而输出是可以直接测量的变量。“假设的内部传感器”的逆形式可以看作动态软测量模型,因为它的输出可以重建“假设的内部传感器”的输入变量,或者说要估计的过程变量。为了克服以解析的方式构建“假设的内部传感器”逆形式时的困难,使用 ANN 来近似反应过程内部的非线性过程,从而最终完成反向 ANN 的动态的软测量模型。该反向 ANN 软测量传感器在构建方法上更加严格,而且在实际使用中比大多数提出的软测量传感器更为可信。在红霉素发酵过程中,构建了三个拓扑结构均为 16-22-15-1 的 BPNN,并将其的逆形式用来估计菌丝体浓度、糖的浓度以及化学势能。结果在整个发酵过程中软测量值基本上符合生产过程中取样的离线分析结果。

5 培养基优化

发酵过程机理复杂、影响因素众多。菌种的生理系列化特性及发酵的工艺确定之后,适宜的培养基配方成了发酵水平、原料成本高低的决定因

素。如果能通过模型描述或预测培养基组成与产物浓度的关系,则可大大减少繁琐的实验工作量及缩短研究周期。

Desai 等^[14]为确定一株分离自发酵穆子(*Eleusine coracana*)中的乳酸菌发酵生产外多糖(exopolysaccharide, EPS)的最优的培养基成分以及接种量,使用了由 Plackett-Burman (PB) 设计方法、ANN 和遗传算法所组成的混合方法。使用 PB 方法在 5 种培养基组分中确认乳糖、干酪素水解物和柠檬三铵 3 种培养基成分对 EPS 产率有明显影响,随后以这 3 种成分的浓度以及接种量作为输入, EPS 浓度作为输出,构建了拓扑结构为 4-4-1 的 ANN 模型,其均差和拟合度分别为 4.8% 和 0.999。最后采用遗传算法对该模型进行优化。优化结果预测产量为 7.01 g/L,验证实验产量为 7.14 g/L,与预测结果非常接近。

Nagata 等^[15]运用 ANN 和遗传算法对 *Agrobacterium radiobacter* 生产海因酶的发酵培养基进行建模和优化。以糖蜜、 NH_4NO_3 、 NaH_2PO_4 和 MnCl_2 为输入,海因酶的浓度或细胞浓度为输出,构建了两个拓扑结构为 4-6-1 的 ANN,并结合遗传算法进行优化,得到了海因酶浓度为 $39.29 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、菌体浓度为 $1.92 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的结果,比用响应面法的优化结果高 11~14%。

6 结论与展望

生物过程是复杂的非线性和非稳态的时变系统,ANN 由于其所具有的处理非线性和非稳态的能力而得到越来越多的重视,应用日益增多,但是目前还有许多问题尚待深入研究和解决。

(1) 训练数据的预处理,包括如何选择数据以及在数据呈现稀疏并带有噪声的情况下如何处理数据;

(2) 将先验知识结合进 ANN 中,神经网络不需要依赖于过程模型既是它的优点,同时也为实际应用带来了困难,如果能够将先验知识结合进 ANN 构建“混合神经网络”,将会大大提高模型的精确性和适应性;

(3) 新条件下的建模,例如工业条件下的建模问题以及基因工程菌株发酵过程的建模问题,它们往往存在扰动和噪声或者是对外界环境极端敏感;

(4) 生物数据分析,随着系统生物学的发展目前已经积累了许多生物学上的数据,如何整合并分析这些数据用以推动新的生物学的发现已经越来越迫切。

参考文献:

- [1] 李冰,郭祀远,李琳,等. ANN 在发酵过程中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(12): 91 - 96.
- [2] 曹庭珠,蒋登高,王郑昌. 喹诺酮类药物色谱分析中的人工神经网络技术[J]. 郑州工业大学学报, 1998, 19(1): 60 - 63.
- [3] ZELIC B, BOLF N. Modeling of the pyruvate production with *Escherichia coli*: comparison of mechanistic and neural networks - based models[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2006, 29(1): 39 - 47.
- [4] VALDEZ - CASTRO L, BARUCH I. Neural networks applied to the prediction of fed - batch fermentation kinetics of *Bacillus thuringiensis*[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2003, 25(4): 229 - 233.
- [5] HOLUBAR P, ZANI L. Start - up and recovery of a biogas - reactor using a hierarchical neural network - based control tool[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2003, 78(8): 847 - 854.
- [6] DE LA TORRE - SANCHEZ R, BARUCH I. Neural prediction of hydrocarbon degradation profiles developed in a biopile[J]. Expert Systems with Applications, 2006, 31(2): 383 - 389.
- [7] BRYJAK J, CIESIELSKI K. Modelling of glucoamylase thermal inactivation in the presence of starch by artificial neural network[J]. Journal of Biotechnology, 2004, 114(1 - 2): 177 - 185.
- [8] PAPAGIANNI M, MATTEY M. Morphological development of *Aspergillus niger* in submerged citric acid fermentation as a function of the spore inoculum level. Application of neural network and cluster analysis for characterization of mycelial morphology. [J]. Microbial Cell Factories, 2006, 5: 12.
- [9] COLEMAN M C, BUCK K K S. An integrated approach to optimization of *Escherichia coli* fermentations using historical data[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2003, 84(3): 274 - 285.
- [10] XIONG Z H, ZHANG J. Neural network model - based on - line re - optimisation control of fed - batch processes using a modified iterative dynamic programming algorithm[J]. Chemical Engineering and Processing, 2005, 44(4): 477 - 484.
- [11] FERNANDES F, RODRIGUES S. Optimization of panose production by enzymatic synthesis using neural networks[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(5): 1090 - 1096.
- [12] HUANG J H, SHIMIZU H. Data preprocessing and output evaluation of an autoassociative neural network model for online fault detection in virginiamycin production[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2002, 94(1): 70 - 77.
- [13] DAI X Z, WANG W C. "Assumed inherent sensor" inversion based ANN dynamic soft - sensing method and its application in erythromycin fermentation process[J]. Computers & Chemical Engineering, 2006, 30(8): 1203 - 1225.
- [14] DESAI K M, AKOLKAR S K. Optimization of fermentation media for exopolysaccharide production from *Lactobacillus plantarum* using artificial intelligence - based techniques[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(8): 1842 - 1848.
- [15] NAGATA Y, CHU K H. Optimization of a fermentation medium using neural networks and genetic algorithms[J]. Biotechnology Letters, 2003, 25(21): 1837 - 1842.

Application of Artificial Neural Network in Bioprocess

LIU Yan - fang, ZHOU Xiao - wei, LIANG Meng

(School of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Artificial Neural Network (ANN) is able to deal with complex nonlinear information self - adaptively, which makes it advantageous over other methods to describe nonlinear and unstable biological process. In this paper, the advantage of ANN over other methods in biological process modeling is analyzed. Its application in recent years, focused on modeling, simulation, process optimization and control, fault diagnosis, soft measurement and medium optimization, are reviewed. The prospects of its application are proposed.

Key words: artificial neural network (ANN); modeling; optimization control; soft measurement; fault diagnosis