

基于神经网络一生长动力学模型对 DM423 生物量的软测量

Hybrid neural network based on software measurement for DM423 biomass during batch cultivation

曾祥燕^{1,2} 赵良忠^{1,2} 李冰³ 李琳³

ZENG Xiang-yan^{1,2} ZHAO Liang-zhong^{1,2} LI Bing² LI Lin³

(1. 邵阳学院生物与化学工程系, 湖南 邵阳 422000; 2. 湖南豆制品加工技术基础研究基地, 湖南 邵阳 422000;
3. 华南理工大学轻工研究所, 广东 广州 510640)

(1. Department of Biology and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China;
2. Soybean Processing Techniques of the Application and Basic Research Base in Hunan Province, Shaoyang, Hunan 422000, China; 3. Institute of Light Industry & Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

摘要:以温度、培养时间、溶氧量、pH 和葡萄糖浓度为输入变量, 生物量浓度为输出变量, 研究 5-5-1 静态多层前馈网络和神经网络一生长动力学两种模型估算的精确度。结果表明: 静态多层前馈网络测试样本均方差为 1.73×10^{-3} , 而神经网络一生长动力学混合模型测试样本均方差为 0.25×10^{-3} , 其估算精确度优于单独使用静态多层前馈网络对生物量进行估算, 动力学模型有较好的泛化能力。

关键词:神经网络; 生长动力学模型; 腊样芽孢杆菌; 软测量

Abstract: The biomass concentration estimated by the static feedforward multiplayer neural network of 5-5-1 topology and hybrid neural network - microbe growth model with five inputs of culture time, temperature, pH and dissolved oxygen and glucose concentration. The result showed that the static feedforward multiplayer neural network mean squared error (MSE) of testing samples 1.73×10^{-3} . And hybrid neural network - microbe growth model offered a much better generalization accuracy than that of single neural network model, with MSE of testing samples of 0.25×10^{-3} , it was found that there was some deviation between estimated biomass and actual values while microbe were growing in the stationary phase.

Keywords: neural network; growth dynamic model; *Bacillus cereus*; software measurement

研究者一直运用各种模型从机理上探索微生物生长的

基金项目: 曾祥燕, 男, 邵阳学院副教授, 硕士。
作者简介: 李冰 (1972—), 华南理工大学教授, 博士生导师。
E-mail: bli@scut.edu.cn

收稿日期: 2016-01-05

内在规律, 寻找最优的工艺条件, 以求获得最大的经济效益。但是, 微生物培养过程具有时变性、非线性和非稳态性。目前生长动力学模型、产物形成动力学等模型都存在求解困难, 模型中的参数不易确定, 难以用公式表示等问题, 所以, 求解时往往需要作出大量假设, 这样会削弱模型的准确性。人工神经网络是一种典型的“黑箱”模型, 能进行大规模的数据处理, 自动调节不同类型的非线性响应, 不需要了解微生物培养机理, 依靠输入层和输出层参数建立过程模型, 尤其对于大量非线性的、时变性的、多变量的数据。近年来, 人工神经网络在生化工业的应用越来越受到重视^[1-3], 可是, 神经网络是基于过程数据的, 模型的数据全部来自于训练样本, 训练样本的数量和准确性决定了模型的预测程度。李冰等^[4]运用动态的部分反馈神经网络对生物量进行软测量, 在分批培养的前 8 h 内, 神经网络模型对生物量的估算值都能很好地与实测值相吻合, 而在 8~12 h 内, 网络的估算值与实测值存在较大的偏差, 这是由于训练样本的选取受实际培养过程的限制, 不能覆盖微生物培养过程的整个范围, 此外, 神经网络往往难以区分噪声和真实信号, 从而影响了其可靠性^[5-6]。

鉴于以上几点, 人们运用神经网络与各种生长模型相结合的方法, 探索微生物生长的内在规律。Psychogios 等^[7]运用混合的神经网络模型对生物量进行预测, 结果表明, 该混合模型比标准的神经网络模型^[8-9]的性能更优越, 具有精度高、泛化能力强、需要训练样本少以及更容易分析和解析等优点。根据神经网络模型与数学模型结合方式的不同, 分为串联结构、并联结构和串并联结构^[10-12]。

为解决微生物生长处于静止期和减速期的网络估算值

和实际值之间的偏差^[4],本研究以神经网络模型与微生物的生长动力学模型相结合建立混合模型,将该模型用于腊样芽孢杆菌(DM423)发酵过程中生物量的软测量,考察混合模型的泛化能力,并与单纯的神经网络模型对生物量的软测量效果进行比较。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

腊样芽孢杆菌(DM423):华南理工大学轻化工研究所;
3, 5-二硝基水杨酸:分析纯,中国健友化学品厂;
葡萄糖:分析纯,杭州天威工贸有限公司;
其余化学药品:分析纯,市售。

1.1.2 主要仪器设备

分光光度计:UV-2100 型,北京莱伯泰科仪器有限公司;
高速离心机:3K30 型,德国 SIGMA 公司;
分析天平:BS210S 型,北京 SATORIUS 公司;
pH 计:PHS-3C 型,上海虹益仪器厂;
机械式搅拌生物反应器:BTF-A5L 型,中国台湾 Biotop 公司。

1.2 方法

1.2.1 分析方法与数据处理 DM423 的生物量测定:干重法^[13];葡萄糖浓度的测定:3,5-二硝基水杨酸法^[14];数据处理:3 次样条插值法^{[15]97-101}。研究主要考虑模型对微生物生长的通用性而设计,除葡萄糖的浓度改变外,其余培养基的主要成分固定不变,而改变温度、培养时间、溶氧量、pH 等培养条件,在不同的培养条件下共进行 16 批次培养。随机抽取其中 13 个样本作为神经网络的训练样本,剩余 3 个样本作为测试样本 A、B、C。

1.2.2 神经网络模型 腊样芽孢杆菌分批培养过程中,以不同组合的 pH 、温度 T 、培养时间 t 、溶氧 DO 、葡萄糖浓度 S 作为输入变量,以 DM423 浓度(生物量) X 作为输出变量。采用 3 层拓扑结构的神经网络模型,隐含层输出层均采用单极性 S 型函数。隐含层的单元数目的确定是个十分复杂的问题,往往需要根据设计者的经验和多次试验。

1.2.3 混合神经网络—生长动力学模型 以微生物 DM423 发酵过程中的生物量为目标,采用微生物的生长动力学模型。由于生长动力学模型中的比生长速率 μ 是不可测量的,通过神经网络输入变量计算出来,然后,将 μ 值应用到生长动

力学模型,求解出下一时刻的生物量浓度。混合神经网络—生长动力学模型结构见图 1,混合模型的算法推导见文献^{[15]107-113}。

2 结果与讨论

2.1 神经网络对生物量的软测量

通过各变量的组合,以不同的输入层变量构建的不同网络模型,测试结果见表 1。由表 1 可知,测试误差最大为第 6 组(pH 、 T 和 DO),第 11 组(pH 、 T 、 DO 和 S)次之。这两组输入变量相对其它组都没有考虑培养时间 t ,可见培养时间 t 与生物量浓度 X 有很大的相关性,所以,在考虑输入层变量时不能忽略时间 t 。对比第 10、12 组的测试误差,两组的区别在于第 12 组考虑了变量 pH 的影响,第 12 组的测试误差略逊于第 10 组;对比第 8、9 组的测试误差,两组相差不大,第 8 组比第 9 组的变量也少一个 pH 参数,可见 pH 对测试误差影响不大。这与 Leal 等^[16]的研究结果不同,可能是所选择的研究对象微生物的种类不同,在实际生产中,随着发酵的进行,酸性物质增多, pH 下降,为了模型的准确性,最后还是确定神经网络的输入层变量为: DO 、 T 、 S 、 pH 和 t ,即选择第 12 组的网络结构。图 2 给出对测试样本的估算结果。

表 1 不同输入变量下网络的测试误差及结构

Table 1 MSE of testing samples and the topology of neural network for different sets of inputs

编号	输入变量	测试误差($\times 10^{-3}$)	网络结构
1	pH, t	2.60	2-5-1
2	DO, t	1.91	2-7-1
3	pH, T, t	1.85	3-6-1
4	pH, DO, t	2.17	3-8-1
5	T, DO, t	1.57	3-6-1
6	pH, T, DO	5.03	3-7-1
7	pH, T, DO, t	1.59	4-8-1
8	T, S, t	1.45	3-8-1
9	T, S, pH, t	1.46	4-6-1
10	DO, T, S, t	1.66	4-6-1
11	DO, T, S, pH	3.46	4-6-1
12	DO, T, S, pH, t	1.73	5-5-1

由图 2 可知,DM423 在培养过程中的前 8 h 内,神经网络模型对生物量预测值与试验值能很好地吻合,随着发酵培养的继续进行,模型的预测值与试验结果就出现一定的偏差,这是由于微生物的生长包括延迟期、指数生长期、减速期、静止期和衰亡期^[17],各阶段时间的长短与培养基的成分、培养条件等有密切关系,由于各批次不同,其培养条件和培养基成分不同,其发酵进程也不一样,有的可能在相同的时间内,处于不同的阶段,DM423 结果导致生物量的变化趋势也不一样。

根据微生物的生长特点,在 13 组训练样本中,所提供的数据为延迟期和指数生长期的数据,减速期或静止期的数据

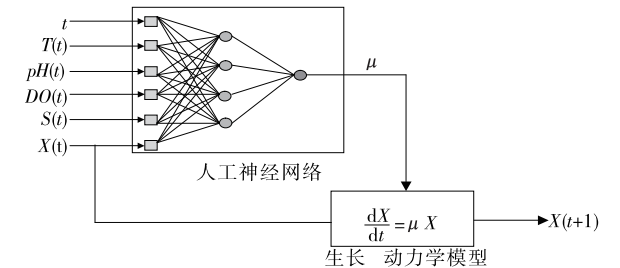


图 1 神经网络—生长动力学混合模型

Figure 1 Hybrid neural network-growth dynamic model

较少,不能覆盖微生物培养过程的整个范围,正如图 2 所示,由于缺乏减速期或静止期的训练数据,模型对生物量的估算存在一定偏差。对此问题,解决的方法有:① 增加培养批次、延长微生物生长过程的采集时间、提高样品的采集频率,提供尽可能全面的数据,供网络学习;② 对微生物的生长进

行网络分阶段训练学习,让网络辨识不同的生长阶段,建立不同阶段的子网络^[18];③ 将机理模型的先验知识与神经网络相结合,在机理数学模型指导下,使网络的估算结果与实际尽量相吻合。

2.2 神经网络—生长动力学混合模型

按神经网络—生长动力学混合模型对 DM423 培养过程的生物量浓度 $X(t+1)$ 进行估算,测试样本均方差为 0.25×10^{-3} ,预测结果见图 3。

对比图 2 和图 3 可知,混合模型的预测结果比图 2 的预测结果更吻合。图 2 运用单一神经网络模型存在较大的误差。采用混合模型弥补训练样本中对微生物在减速期或静止期所采集的数据不多,使神经网络对这些生长阶段的学习不足,造成模型的泛化能力差。而在混合模型中,最后结果是由微生物生长动力学模型给出的,是从机理上对微生物生长过程的数学描述,揭示的是微生物生长的内在规律,所以,动力学模型可保证混合网络最后输出结果不会偏离生长规律,从而保证预测结果与试验结果更吻合。

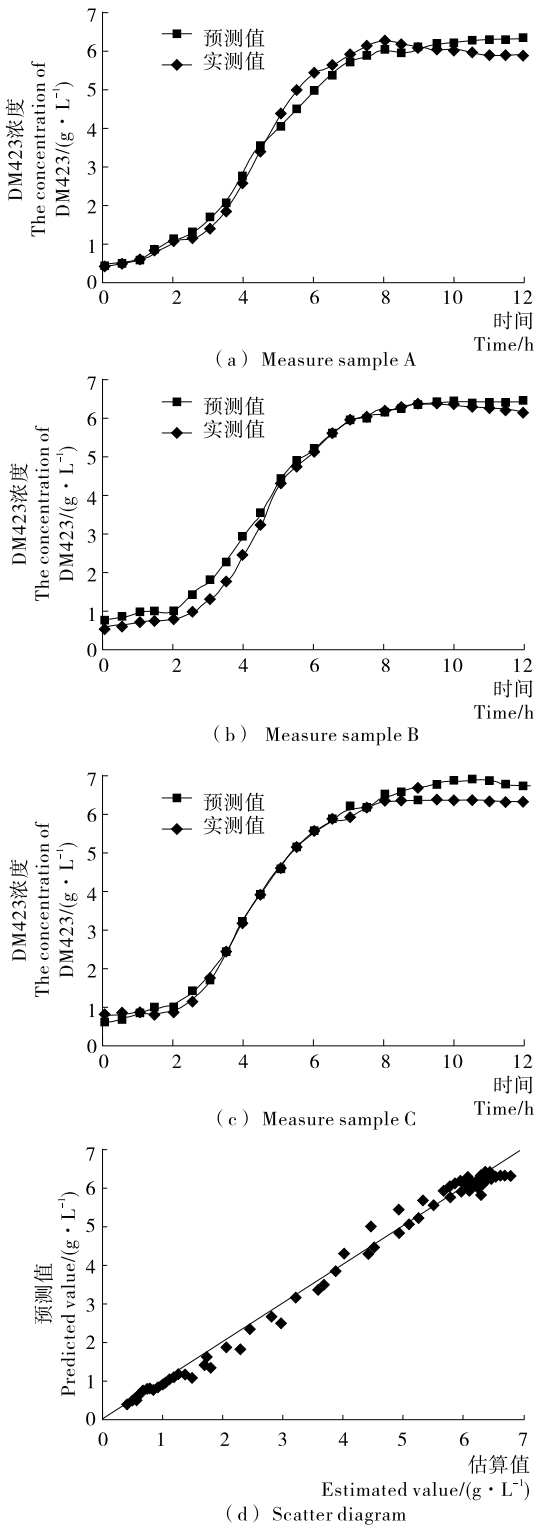


图 2 在第 12 组输入变量下网络对测试样本的估算结果
Figure 2 Estimation results for test samples with No.12 sets of inputs

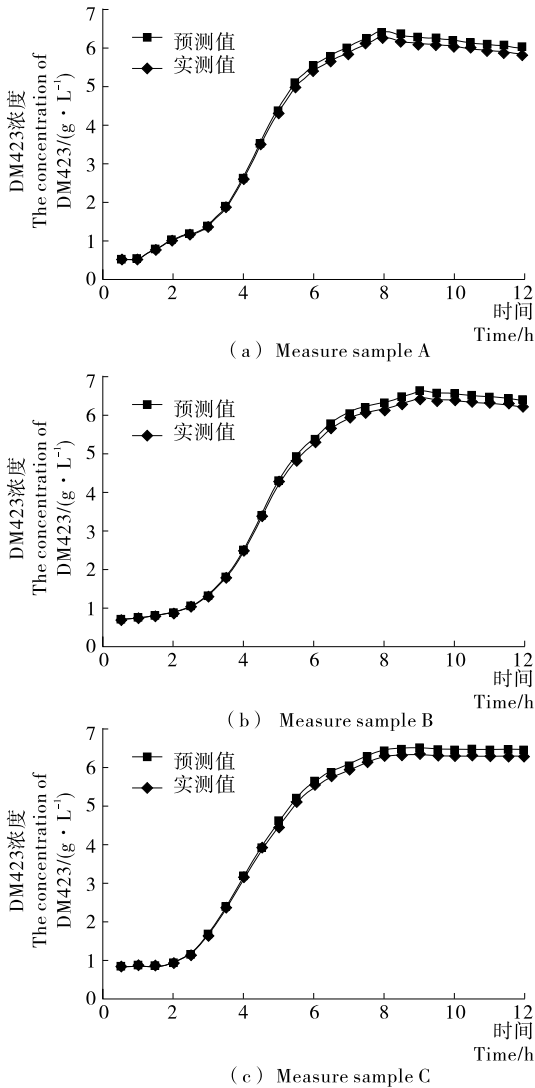


图 3 神经网络—基本原理混合模型的预测结果
Figure 3 Prediction results for hybrid neural network—first principles model

3 结论

运用微生物生长机理模型与神经网络相结合建立的混合模型,对微生物生长过程生物量进行估算。结果表明混合动力学模型有很好的泛化能力,样本的均方差为 0.25×10^{-3} ,而以静态多层前馈网络建模的样本均方差为 1.73×10^{-3} ,模型的估算值与实测值存在一定的偏差,这主要由于微生物处于生长动态过程。而将微生物生长机理模型与神经网络建模技术相结合,建立神经网络—生长动力学混合模型,能保证混合网络最后输出结果不会偏离生长规律。混合模型估算精确度优于单独使用的神经网络,运用该网络的修正模型,以某公司的 1 个月生产报表提供的信息为基础,对报表数据进行了分析与筛选,估算生产过程中酵母生物量的浓度,结果表明网络的估算值与实际测量值有较好的吻合。

参考文献

[1] 曾祥燕, 赵良忠, 蒋盛岩. BP 神经网络优化槐花中芦丁的提取工艺[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 3(25): 312-316.

[2] 许哲军, 何云, 郭美锦, 等. 重组毕赤酵母表达期菌体浓度的软测量模型[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(5): 28-34.

[3] 曾祥燕, 赵良忠, 孙文兵, 等. 基于 PCA 和 BP 神经网络的葡萄酒品质预测模型[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 40-44.

[4] 李冰, 郭祀远, 李琳, 等. PRNN 对 *Bacillus cereus*DM423 分批培养过程中生物量的软测量[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2009, 37(4): 111-115.

[5] 黎移新. 基于前馈神经网络的脐橙糖度及有效酸度检测[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 78-81.

[6] Wilson J A, Zorzetto L F M. A generalized approach to process state estimation using hybrid artificial neural network/

mechanistic models[J]. Computers Chem. Engng., 1997, 21(9): 951-963.

[7] Psychogios C D, Ungar L H. A hybrid neural network-first principles approach to process modeling[J]. AIChE Journal, 1992, 38(10): 1 499-1 511.

[8] 朱海燕, 朱晓莲, 黄頔. 基于动态 BP 神经网络的预测方法及其应用[J]. 计算机与信息技术, 2007(21): 3-6.

[9] 黎移新. 多层前馈神经网络几种算法的样本顺序敏感性[J]. 食品与机械, 2010, 26(6): 100-103.

[10] 隋青美, 于正欧. 发酵过程混合神经网络建模方法比较[J]. 山东工业大学学报, 2001, 26(4): 95-97.

[11] Pan Li-jun, Zhang Chan-chan, Jiang Shao-tong, et al. Medium optimization of *L*-lactic acid fermentation by lactic acid bacteria with rape cake hydrolysate as nitrogen source[J]. Food Sci., 2007, 10(6): 313-316.

[12] 曹乐平, 谢培甫. Vfb 基于补偿模糊神经网络的立式转鼓水果分级系统设计[J]. 食品与机械, 2007, 23(2): 70-73.

[13] 袁丽红. 微生物学实验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 67-69.

[14] 宁正祥. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994: 90-100.

[15] 王树青. 生化反应过程模型化及计算机控制[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1998.

[16] Leal R R, Butler P, Lane P, et al. Data fusion and artificial neural networks for biomass estimation [J]. IEE Proc-Sci. Meas. Technol., 1997, 144(2): 69-72.

[17] 戚以政, 汪叔雄. 生化反应动力学与反应器[M]. 北京: 化学工业出版社, 1998: 57-63.

[18] Ratkov A L, Georgiev T Z, Ivanova V, et al. Investigation of *L*-lysine fed-batch fermentation process with droppings by mathematical modeling[J]. IEEE 26th Int. Conf. Information Technology Interfaces, 2004(6): 543-547.

(上接第 19 页)

具有反作用。原花青素浓度 3 mg/mL、酒精度(体积分数)10%的蓝莓果酒对线虫的抗衰老作用最佳。

本试验填补了此前未用生物模型从整体上研究蓝莓果酒抗氧化和抗衰老功能的空白,间接证实了王艳菊等^[13]发现在氧化应激胁迫条件下葡萄籽原花青素能够很好地保护秀丽隐杆线虫,缓解极端氧化条件对线虫的损伤、周华丽等^[14]发现酒精促进了小鼠肝细胞凋亡等研究结果,但是关于蓝莓果酒引起秀丽隐杆线虫生化指标改变的机理还需作更深入的研究。

参考文献

[1] 李斌, 雷月, 孟宪军, 等. 蓝莓营养保健功能及其活性成分提取技术研究进展[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 251-254.

[2] 蒋本庆, 高铭坤. 果酒的保健功效及蓝莓果酒发展分析研究[J]. 酿酒, 2015, 42(2): 115-118.

[3] 赵慧芳, 吴文龙, 马丽, 等. 基于抗氧化活性分析的蓝莓多酚提取工艺[J]. 食品工业科技, 2015, 36(5): 251-266.

[4] Vanessa Cardenosa, Amadeo Girones-Vilaplana. Influence of genotype, cultivation system and irrigation regime on antioxidant capacity and selected phenolics of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.)[J]. Food Chemistry, 2016, 202: 276-283

[5] 杨曙方, 汪金杰, 周伟东, 等. 蓝莓果酒主发酵工艺研究[J]. 酿酒, 2013, 40(4): 88-91.

[6] 刘子菱, 李影. 添加蜂蜜和白糖对蓝莓果酒品质的影响[J]. 食品科技, 2013, 38(7): 118-122.

[7] Seo Seung-ho, Na Chang-su. Effectiveness of banana additions for completion of stuck and sluggish fermentation of blueberry wine[J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 64(2): 1 143-1 148.

[8] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*[J]. Genetics, 1974, 77(1): 71-94.

[9] 李鹏飞. sir-2.1 RNA 干扰线虫模型的建立及 DhHP-6 抗衰老作用机制的初步研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2009: 26-27.

[10] Benjamin Lant, Wbrent Derry. Fluorescent Visualization of germline apoptosis in living *caenorhabditis elegans* [J]. Cold Spring Harbor Laboratory Protocols, 2014(4): 420-427.

[11] 沈蓉蓉, 郑筱娇. 干细胞生长因子抑制肿瘤细胞凋亡作用研究[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(18): 1 478-1 482.

[12] 孙传范. 原花青素的研究进展[J]. 食品与机械, 2010, 26(4): 146-152.

[13] 王艳菊, 马建伟, 王曦茁, 等. 葡萄籽原花青素对秀丽隐杆线虫抗衰老的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(20): 369-375.

[14] 周华丽. 长期酒精摄入对大鼠肝细胞凋亡与增殖的影响[D]. 浙江: 浙江大学, 2003: 38-39.