

青霉素 G 发酵过程自动控制设计

张志超

(上海交通大学自动化系, 上海 200050)

摘 要:介绍了青霉素发酵过程中自动控制的工程设计。结合青霉素工业化生产方式,制定了以控制溶解氧、酸碱度、温度和压力等参数的模块化工业生产自动控制方案。在制药工程中采用先进的自动控制设计可以在企业投产后大大提高生产控制水平和管理水平。

关键词:青霉素; 发酵; 过程控制

Automatic Control Design of Penicillin Fermentation Process

ZHANG Zhi - chao

(Department of Automation , Shanghai Jiao Tong University , Shanghai 200050 , China)

Abstract: The engineering design of automatic control during penicillin fermentation process was introduced. According to penicillin industrial production , a automatic control program of specifying modularized industrial process was developed by controlling dissolved oxygen , pH and temperature , etc. Using advanced industry automation design , it can greatly upgrade the pharmaceutical factory's control and management level.

Key words: penicillin; fermentation; process control

6-氨基青霉烷酸(6-APA)是合成各种半合成青霉素的重要中间体,目前氨苄青霉素、羧苄青霉素、甲氧苄青霉素等半合成青霉素已成为在细菌感染医疗领域的首选治疗药物。目前工业中生产6-氨基青霉烷酸多以青霉素G为原料,因此在一个完整的半合成青霉素生产企业中,青霉素G发酵生产装置已经成为不可或缺的一部分。

青霉素G发酵过程是一个非常复杂的化学变化和生理变化的综合过程,是一种典型的复杂演化系统。由于过程涉及活的细胞体或组织,从而使得反应呈现高度的非线性和时变性;同时由于缺乏可靠的生物传感器,一些生物参数(如菌体浓度、基质浓度、产物浓度等)在线检测相当困难^[1]。因此在青霉素G工业发酵过程中,可以通过控制青霉素产生菌所需要的培养基、pH、压力、温度、通风、搅拌等参数来实现对这些生物参数的间接控制。本文根据某跨国制药企业的6-APA工程设计中的青霉素发酵部分,来进行青霉素发酵过程自动控制设计的探讨。

1 青霉素发酵工艺概述

在目前主流的青霉素发酵工业生产中,一般都是采用补料分批发酵的生产方式。它是一种间歇性的分批发酵方式,即随着发酵过程的进行,发酵液不断膨胀,当达到当前发酵罐的容量时,会向后续生产的更大容量的发酵罐放出一部分发酵液,如此周而复始的分批操作,从而达到青霉素发酵工业大规模生产的需求。向青霉素一级发酵罐加入浓度为62%的葡萄糖浆、无机盐混合料。将已经准备好的接种液罐中的接种液加入到一级发酵罐中,在接种完成后,开始进行大约20h的分批发酵阶段。每隔一段时间流出一定体积的发酵液至后面的二级和三级发酵罐继续发酵。之后,葡萄糖浆和前体NaPA溶液按照一定的比例经

过高温消毒后流加进二级和三级发酵罐,与此同时,按照一定的速率加入氨水和硫酸铵。氨水和硫酸铵提供发酵所需要的氮源,同时也起到调节发酵液pH的作用。大豆油作为消泡剂,在发酵中泡沫产生的时候进行消泡处理。整个发酵过程持续数百小时。青霉素浓度通过检测尾气中的CO₂浓度来测定。图1为青霉素发酵过程示意图。

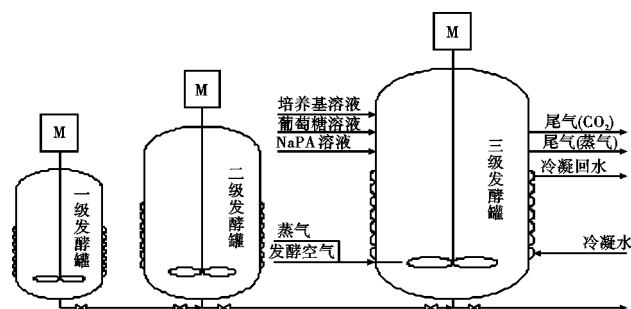


图1 青霉素发酵过程示意图

2 青霉素发酵过程控制

青霉素发酵的过程控制就是要把发酵过程所需要的各种状态变量控制在期望的恒定水平上或者特定的函数曲线上。为实现青霉素发酵过程的最佳补料控制,得到最大的青霉素产率,发酵中环境因素的调控尤其是溶解氧DO、酸碱度pH值、温度和压力的控制是至关重要的^[4]。另外,反应器内的搅拌速度和泡沫等也对发酵过程有一定的影响,因此还需要一些辅助的控制系

作者简介:张志超(1982-),男,工程师,主要从事化工、制药自动化工程设计。

统,而这些辅助的控制系统往往被包含在 DO、pH 等控制回路中。

2.1 溶解氧 DO 浓度控制

青霉素发酵过程属于微生物需氧发酵,因为氧气是青霉素代谢网络中通过氧化磷酸化产生能量的必须物质。在发酵过程中,发酵液中溶解氧浓度与菌体细胞的生长代谢密切相关,若溶解氧浓度过低,细胞的生长就会受到抑制,甚至会分解出酸性物质,影响生物的代谢;相反,若溶解氧过高,则会使生物在发酵前提前衰老。因此,在青霉素发酵过程中,控制好溶解氧浓度是非常重要的^[4]。

溶解氧容易受到发酵罐内压力、搅拌器速率、通气流量,这几种状态变量的影响,另外需要控制的发酵罐内温度也对溶解氧的检测有一定的影响,因此,选用带有温度补偿功能的溶解氧测量分析仪表,并通过发酵过程控制系统对罐顶压力、搅拌器速率及通气流量进行控制可以达到调节溶解氧的目的。在三级发酵罐的溶解氧过程控制系统中,采用两个反馈串级控制系统分别控制与溶解氧有关的发酵空气流量及搅拌器转速,构成的溶解氧控制方案与控制系统图如图 2 和图 3 所示。

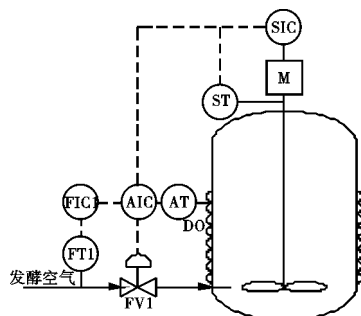


图 2 溶解氧控制方案

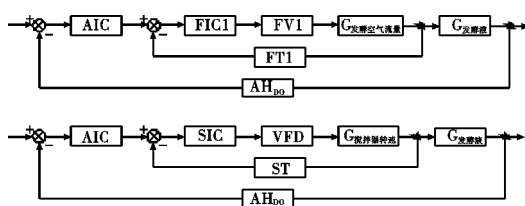


图 3 溶解氧控制系统图

如果在溶解氧控制系统中采用以往的单回路控制系统,单靠测量发酵液的溶解氧数值去控制发酵空气进气流量和搅拌器速度,在复杂的青霉素发酵过程中往往达不到要求。因为溶解氧的测量存在较大的滞后性,发酵空气由于受着很多其他因素的影响,自身的流量本身就不稳定,肯定会对发酵液中的溶解氧数值产生较大波动。再加之用变频器驱动搅拌器并不一定能达到理想的转速。以发酵空气串级控制系统为例,采用了如图所示的系统,可以及时克服发酵空气流体的扰动。以发酵液的溶解氧数值作为一个主参数,构成一个主回路,以发酵空气流量为副参数,构成一个副回路。假设发酵罐处于平衡状态,当发酵空气由于某个不可预知的干扰出现,使得发酵空气流量减小,如果是溶解氧单回路控制,势必要等到溶解氧数值产生减小到设定值,发酵空气控制阀 FV1 才能开启增加供气,由于这个过程较慢,很有可能使得发酵细胞在缺氧的条件下转而消耗自身的乳酸,造成发酵环境 pH 的变化。在采用串级控制系统的情况下,当发酵空气出现流量减小的情况时,由于有流量调节副回路的

存在,流量检测可以很快相应,流量调节阀可以立刻增大发酵空气进气量。这样,发酵空气扰动对于发酵液溶解氧数值的影响可以降低到最低。如果这个流量的干扰仍然对溶解氧数值产生影响,溶解氧控制器可以输出一个调节信号给副回路的流量控制器,再去微调流量,直至溶解氧重新回到正常水平。显然采用如图这样的串级控制系统可以获得响应更快精度更高的控制效果。

2.2 酸碱度 pH 值控制

发酵液的 pH 值既是培养基理化性质的反映,又是微生物生长代谢的结果;反过来又影响微生物生长和发酵产物的合成。不适当的 pH 将显著降低微生物的生长速度,减少发酵产物,甚至完全没有发酵产物产生^[7]。因此,对青霉素发酵液中的 pH 在线检测是间接检测发酵过程中微生物生理状态变化的重要方法。在发酵进行的过程中,葡萄糖代谢产物氨基酸等酸性物质不断的产生和积累,造成 pH 值的不断变化。pH 下降后,通过加入氨水和硫酸铵来控制 pH 值,这样不但保持了发酵罐中 pH 值的稳定,还同时对反应物质自动补给的氮源。对于需要分批补料的青霉素发酵过程控制,对加入的氨水(生理碱性物质)和硫酸铵(生理酸性物质)进行控制,用来调节发酵罐中的 pH 值。图 4 与图 5 为三级发酵罐控制系统中的 pH 控制方案与控制系统图。

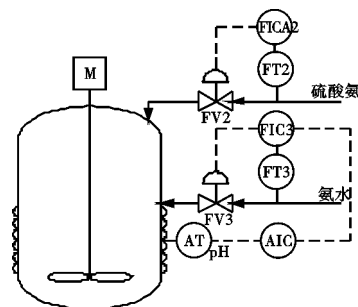


图 4 pH 控制方案

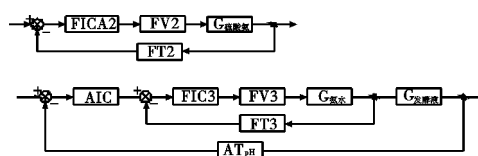


图 5 pH 控制系统图

由图 4、图 5 可以看出,发酵罐 pH 过程控制系统由两个回路组成,一个是单回路的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 流量控制回路,一个是由 pH 分析仪和流量变送器组成的串级控制回路。在发酵过程中,pH 的控制首先要考虑的是发酵液中的酸碱物质的平衡,使它们能够均衡代谢以保证 pH 值的稳定;其次是维持生理酸 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和碱性物质 NH_4OH 在补料中的平衡,使得发酵环境的 pH 值不会因为补料而造成大幅度波动;再次是当发酵罐中的 pH 值偏离了设定范围,适当加入酸碱予以调节。由于采用了单独的分批补料控制系统来对进料进行控制,维持了发酵液中碳源的稳定,因此,此回路只针对氮源 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 进行控制就可以达到就行,使用一个简单的反馈控制回路就可以稳定的控制 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的流量。另外一个回路以 pH 为主参数,建立一个主回路,以 NH_4OH 的流量为副参数,建立一个副回路,构成一个串级 pH 控制系统。假设发酵罐的 pH 处于 5.8 ~ 6.9 的稳定状态,当 NH_4OH 由于某个不可预知的干扰出现,使得 NH_4OH 流量突然

增大,如果采用的是 pH 单回路控制,势必要等到 pH 数值增大到上限, NH_4OH 控制阀 FV3 才能减小 NH_4OH 的流入速度,由于这个过程较慢,造成在发酵液中的氮源过剩,碳源相对不足的情况,这时细胞为维持生命和代谢能量会分解自身的有机酸和其他物质,对正常发酵产生影响。在采用串级控制系统的情况下,当 NH_4OH 出现流量变化的时候,由于有流量调节副回路的存在,流量检测可以很快响应,调节阀可以立刻 NH_4OH 的流量。这样,生理碱溶液的扰动对于发酵液 pH 的影响可以降到最低。由于碳源补给可控,生理酸流量稳定,采用如图这样的串级控制系统控制生理碱的流量不但可以使得发酵液中的碳源与氮源保持相对稳定,也可以获得响应更快精度更高的 pH 控制效果。

2.3 发酵温度控制

青霉素发酵的温度控制在整个生产过程中也是及其重要的,因为青霉素整个发酵过程都需要酶将原料葡萄糖降解成丙酮酸,而每个生产工厂所使用的酶的最佳活力就都有各自不同的温度。因此,青霉素发酵过程的温度进行控制,就是一个重要的青霉素发酵环境因素的控制。此外,发酵罐内的温度还对某些微生物检测所使用的电极传感器产生微弱的影响,如 pH 传感器和溶解氧电极。青霉素发酵罐内的温度影响主要因素有流加的各种反应物的温度、微生物发酵产生的热量、搅拌机产生的热量、加热蒸汽的热量、所加的发酵空气的温度、冷却水本身的温度的偏差及环境温度的变化等。在青霉素发酵生产过程中,涉及温度控制有两个生产工序:消毒与发酵。因此采用两个单回路温度控制系统对三级发酵罐进行温度的控制。图 6 与图 7 为三级发酵罐控制系统中的温度控制方案与控制系统图。

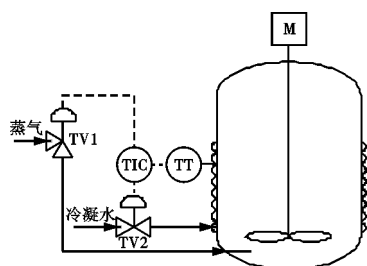


图 6 温度控制方案

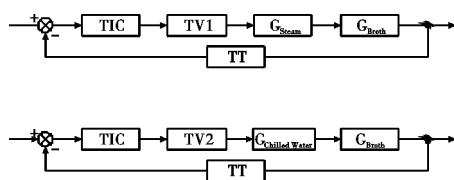


图 7 温度控制系统图

在发酵准备过程中的消毒生产工序中,采用通入高温蒸汽来进行整体的消毒,并且要求发酵罐内温度保持在 $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上,不低于半个小时,以达到药品生产的灭菌目的。在升温阶段,采用手动控制通入高温蒸汽使温度迅速升至 $130\text{ }^{\circ}\text{C}$,然后切换到 TV1 的控制回路进行温度保持控制。热媒介质为 $139\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的蒸汽,由 TV1 控制,出于安全考虑,热媒调节阀 TV1 选用气开阀。在消毒过程中,一旦发酵罐内温度低于设定温度,控制信号便由 TIC 发出控制 TV1,调节进入发酵罐内的蒸汽,使发酵罐内消毒温度重新回到设定状态。

在这个青霉素发酵生产工序中,发酵罐内温度保持在 $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 被认为是最佳的环境温度,而分批流加的反应物都是经

过高温消毒后的葡萄糖和 NaPA 的混合溶液,温度在 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右。冷媒介质为 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冷凝水,由 TV2 控制。在反应过程中,由于在高温消毒后只针对补料溶液进行流量控制而没有进行温度控制,因此,进入发酵罐的分批补料流量稳定但温度并不稳定。在分批补料过程中,由于反应物温度高于设定值许多,由 TIC 控制 TV2,调节冷媒流量。出于安全的考虑,冷媒调节阀 TV2 选用气开阀,冷媒流量越大,发酵罐夹套导热介质吸收发酵液的热量越多。冷媒介质回路的被控对象显然是正作用的,即发酵液温度高于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 越多,阀门开启度越大。

2.4 发酵罐压力控制

在青霉素生产过程中,对发酵罐进行压力控制也是非常必要的。因为青霉素发酵罐在整个生产过程中都必须处于无菌状态,因此保持发酵罐内正压有助于防止外界空气倒流造成污染;此外,保持一定的压力还有助于增加氧气的分压,提高氧的溶解度;而且在压力的不稳定会对溶解氧和 pH 分析仪的读数造成变化,因此保持压力的稳定对溶解氧及 pH 电极的标定及测量都是十分必要的。青霉素发酵罐内的压力影响主要因素有发酵空气的流入、反应时产生的废气的排放及环境温度的变化等。在青霉素发酵生产过程中,涉及压力控制与温度控制一样有两个生产工序:消毒与发酵。因此同样采用两个单回路压力控制系统对三级发酵罐进行压力的控制。图 8 与图 9 为三级发酵罐控制系统中的压力控制方案与控制系统图。

在这个青霉素发酵生产工序中,发酵罐内的压力需要保持在 0.3 MPa (G) 。由于是控制两个生产工序,一个工序是控制杀菌蒸气,另外一个工序是控制发酵废气排放,因此每个工序的排气量并不一样,因此采用两个不一样大小的排气阀门。虽然这两个阀是排气阀门,出于安全起见本应采用气开阀门,但是由于采用了爆破片等其他安全措施,因此这两个排气阀仍然选用气开阀。

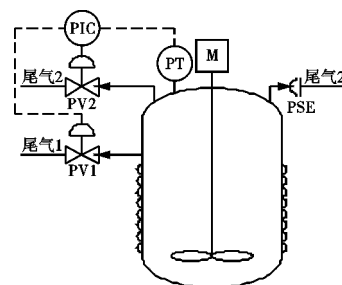


图 8 压力控制方案

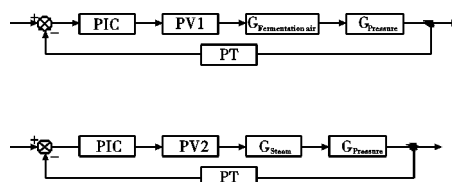


图 9 压力控制系统图

3 结 语

由于制药工厂在工程设计阶段对每个生产过程都采用了适宜的 control 回路,并在整体上采用了先进的自动控制工程设计,使得在生产阶段能够方便的进行扩展并实现一些复杂的控制方案。

(下转第 153 页)

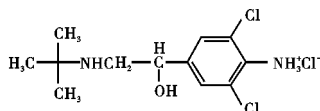


图 7 盐酸克伦特罗分子式

4 食品安全问题在其它类化合物教学中的渗透

2004 年 5 月 11 日,广州一市民被怀疑饮用散装白酒中毒死亡,短短 10 天内,共有 14 人因饮用假酒死亡、39 人受伤。这些散装白酒中含有剧毒工业酒精甲醇。在学习醇类化合物知识时,可以引入假酒这个例子,讲解假酒的危害及造成危害的原因,同时讲解甲醇的性质、用途,可以提高学生学习的积极性。

2004 年 4 月 30 日,安徽省阜阳市,由于被喂食几乎完全没有营养的劣质奶粉,导致 13 名婴儿夭折,近 200 名婴儿患上严重营养不良症。在蛋白质一章的学习中,以上述事件为例,让学生明确认识到食品营养与食品安全的紧密关系,食品营养成分被破坏或缺失同样会危及人类的健康和生命。

日常生活中很多常见的蔬菜瓜果,味道都没有几年前的好,很大一部分原因是在它们生长过程中使用了催熟剂,其中使用最普遍的是乙烯利。乙烯利学名为 2-氯乙基膦酸(图 8),是优质高效植物生长调节剂,具有促进果实成熟,刺激伤流,调节性别转化等效应,但是可能造成环境、水体污染,这一事件可以和有机杂酸的教学有机结合。

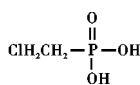


图 8 2-氯乙基膦酸分子式

糖精钠学名叫做邻磺酰苯酰亚胺钠,是最古老的甜味剂,其甜度为蔗糖的 300~500 倍。一些厂商为了降低成本赚取暴利,在饮料、果脯,甚至专供儿童消费的果冻等食品中,普遍使用糖精来代替蔗糖,引起了社会各界和广大消费者的密切关注。糖精钠是有机化工合成产品,对人体无任何营养价值,过多食用会影响肠胃消化酶的正常分泌,降低小肠的吸收能力,使食欲减退。制造糖精的原料主要有甲苯、氯磺酸、邻甲苯胺等,在有机化学相关章节的教学中,可引入糖精钠这个例子,能够增加学生学习兴趣和探索欲。

5 食品安全知识在有机化学考试中的渗透

设计一些与食品安全知识相关试题,并渗透进不同章节的测试及学期考试中。例如:如何以苯和 β -萘酚为原料合成苏丹红 I 号,以甲苯为原料合成塑化剂邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(DEHP),以苯胺和其它原料合成盐酸克伦特罗(瘦肉精)等等。这样,一方面考查学生对化学知识的应用能力,另一方面考察教师对食品安全知识开发与教学渗透情况,还可以培养学生对有机化学的浓厚兴趣,为有机化学教学提供了更广阔的天地。

6 结 语

食品安全问题与有机化学关系紧密,很多食品安全问题都源于有机化合物的滥用,因此在有机化学教学中渗透食品安全知识具备客观条件和基础。通过一些真实存在的食品安全问题在有机化学教学过程中的渗透,不仅提高了学生学习有机化学的兴趣,拓宽了学生的知识面,加深了对有机化学课本知识的理解与掌握,而且使学生对食品安全问题有了一定的认识,有助于增强学生的食品安全防范意识,有利于维护自己及家人的身体健康,为建设和谐家园打下基础。

参考文献

- [1] 康海霞,党玉丽.食品安全知识在有机化学教学中的渗透[J].河南教育学院学报:自然科学版,2008,17(4):65-67.
- [2] 陈宇前,蒲海燕.我国食品安全存在的问题及对策[J].肉类工业,2006(8):41-43.
- [3] 张娟,张福神.重金属 Hg 的环境地球化学特征及污染防治[J].科技情报开发与经济,2010,20(5):144-146.
- [4] 张延.日本水俣病和水俣湾的环境恢复与保护[J].调查研究,2006(5):50-52.
- [5] 高莲欣.服装中甲醛的含量与人体健康[J].新疆化工,2003(2):30.
- [6] 秦菲.食品中苏丹红的毒性及检测方法[J].北京联合大学学报:自然科学版,2008,22(2):50-54.
- [7] 孙文汇,高洪,刘海峰.苏丹红与食品安全[J].动物医学进展,2008,29(4):103-105.
- [8] 栗建辉,赵真,李玉兰,等.三聚氰胺及其同系物三聚氰酸毒性的研究概况[J].临床荟萃,2011,26(5):457-460.
- [9] 李美筠.“瘦肉精”的毒性和致突变性研究进展[J].广西医科大学学报,2009,26(4):653-655.
- [10] 张华.“瘦肉精”的危害及检测方法[J].贵州农业科学,2004,32(1):83-84.

(上接第 121 页)

在生产过程中由操作工程师通过对传统的控制方式进行优化,可以满足青霉素工业化生产这种时变、非线性、多输入多输出的生产过程控制要求。

参考文献

- [1] Elmer L. Gaden, Jr. Fermentation Process Kinetics[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2000, 67(6):629-635.
- [2] Chew Li Mei. Model Predictive Control on Fed-batch Penicillin Fermentation Process[D]. Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering, University Malaysia Pahang, 2009.

- [3] 耿俊.青霉素发酵过程的模型化研究[D].上海:上海交通大学控制理论与控制工程专业,2009.
- [4] 于乃功,阮晓钢.青霉素发酵过程中溶解氧的变结构预估控制[J].中南工业大学学报:自然科学版,2003,34(6):363-367.
- [5] 邵裕森,戴先中.过程控制工程[M].北京:机械工业出版社,2003:139-178.
- [6] 史仲平,潘丰.发酵过程解析、控制与检测技术(第二版)[M].北京:化学工业出版社,2010:11-36.
- [7] 刘鸿强,李立新.精细化工和制药过程控制[M].上海:华东理工大学出版社,2009:131-212.