

私立東海大學化學工程與材料工程研究所

碩士論文

指導教授：林大溱

半批次生質丁醇發酵結合滲透蒸發膜分離之動態最佳化

Dynamic Optimization of Semi-Batch

Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation Process coupled

with in-situ Pervaporation Membrane Separation

研究生：李亞勳 撰

中華民國一百零四年一月

## 摘要

本研究之系統以培養丙酮丁醇梭菌(*Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4)生產丁醇(Butanol)，並參考其批次反應代謝路徑動力學結構模型，提出新的動力學修改模型，在生物質生長速率公式內加入基質與產物抑制項，使用隨機模擬退火演算法以最小方差法回歸分析動力學參數，使模擬曲線更符合實驗數據，其目標函數值由 5.1332 下降至 2.2955。

由於此發酵程序內的微生物細胞會受到嚴重的基質與產物抑制，因此本研究以動態隨機最佳化方法模擬半批次系統與半批次系統結合滲透蒸發薄膜之基質進料流量以達降低抑制效應與最大化產物生產目標。研究之動態隨機最佳化方法以選定之非線性圖譜產生演算法(profile generator algorithm)模擬基質進料流量隨時間變化曲線，將圖譜之參數以模擬退火演算法隨機最佳化。參考文獻滲透蒸發 poly(ether-block-amide) (PEBA) 薄膜材料之實驗數據，以相同隨機模型識別方法最佳化滲透蒸發薄膜模型參數。

參考文獻之批次反應器以基質起始濃度 70.6(mM)進行反應之最終丁醇濃度、單位基質產量、生產率實驗值依序為 52.5(mM)、0.689(m-butanol/m-glucose)、0.875(mM/h)。在半批次反應器加入與批次反應器相同基質的質量，以進料基質濃度 500g/l，經由模擬退火法結合圖譜生成演算法尋找修改後半批次反應器之最佳進料流量，獲得最佳的最終丁醇濃度、單位基質產量、生產率模擬值依序為 75.84(mM)、1.0334(m-butanol/m-glucose)、3.82 (mM /h)，結果皆優於批次反應器。

使用批次反應器模型，以最佳化之動態參數模擬起始基質濃度 70.6mM、150mM、300mM，最終丁醇總產量分別為 15.75mmole、31.81mmole、61.98mmole，以相同進料設定模擬半批次系統結合滲透蒸發薄膜分離，最

終丁醇總產量分別提高至 22.59mmole、41.85mmole、81.66mmole。

## Abstract

A revised kinetic structured model of metabolic pathways that describes the dynamic behaviors of metabolites in acetone–butanol–ethanol (ABE) production by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 was proposed. This modified model considers the additional effects of the substrate and product inhibitions on the death reaction rate of the biomass, which is validated on the trend of the experimental time-course data of metabolites in batch cultures published in the literature. Bio-kinetic parameters of the structured model were estimated by minimizing the non-linear weighted sum of squared differences between experimental and predicted state values. The minimum objective function value of the fitting modified model is 2.2955, which shows significant improvement compared to the sum of squared error of the original models found to be 5.1332.

To alleviate the severe impact of the substrate and product inhibitions leads to the design of the semi-batch bio-reactor and the semi-batch bio-reactor coupled with in-situ pervaporation membrane separation, which aims at finding the optimal control of substrate feed rate through time. In this study, a profile generator algorithm is utilized to produce functions in an exponential form that can represent the control space comprising elements of both linearity and curvature. A novel method of stochastic dynamic optimization using Simulated Annealing incorporating direct search through a specialized model predictive controller is used to tackle the maximum reactor final volume on point state constraints. To model and identify the pervaporation separation using poly(ether-block-amide) (PEBA) membrane, we optimize the model parameters

referring to the experimental data in the literature by the same stochastic method.

The maximum obtained experimental butanol product yield, final concentration and productivity in the batch process with initial glucose concentrations of 70.6 mM were found in the previous literature to be equal to 0.689 m-butanol/m-glucose, 52.5 mM and 0.875 mM/h, respectively. The dynamic optimization results indicate that, with the same quantity of glucose used in batch bioreactors, the optimized substrate feeding profile could improve the simulated product yield, final butanol concentration and productivity to be equal to 1.0334 m-butanol/m-glucose, 75.84 mM and 3.82 mM/h, respectively.

The maximum total butanol production in the batch process with initial glucose concentrations of 70.6 mM, 150 mM and 300 mM were simulated to be equal to 15.75 mmole, 31.81 mmole and 61.98 mmole. The dynamic optimization results indicate that, with the same quantity of glucose used in batch bioreactors, the optimized substrate feeding profile and coupled with in-situ pervaporation membrane separation could improve the simulated total butanol production to be equal to 22.59 mmole, 41.8452 mmole and 81.6574 mmole.

## 誌謝

感謝吾師林大溱博士兩年多來之指導與教誨，使本人能順利完成此篇論文。林老師不僅在研究方面給予指導，更在待人處事以及日常生活上給予我們啟發與關懷，使學生得以順利完成學業，謹此致上最高之謝意。感謝口試委員張煖、陳錫仁、李思禹、程學恆與楊怡寬教授等人，在口試時給予我研究上的寶貴建議，於此向老師們致上最真誠的謝意。

在東海的日子，承蒙系上所有老師的關懷與指導，均將永銘毋忘。另外，感謝同實驗室同學彭志軒、周尚宏以及林哲瑋學弟之協助與切磋研究，以及所有化工系所職員之幫忙，在此同申謝忱。

最後，謹將本文獻給親愛的父母親、家人、關心我的親友與研究生涯的摯友們，感謝他們在我進修過程中所給予的鼓勵與支持，願他們在未來的人生道路上一帆風順。

# 目錄

摘要.....	I
Abstract.....	III
誌謝.....	V
目錄.....	VI
表目錄.....	VIII
圖目錄.....	X
符號說明.....	XIII
第一章 緒論.....	1
1.1 前言.....	1
1.2 研究動機.....	2
1.3 論文組織與架構.....	3
第二章 文獻回顧.....	4
第三章 生質丁醇發酵與滲透蒸發薄膜模型識別.....	9
3.1 模擬退火演算法模型識別方法.....	9
3.2 批次生質丁醇發酵建模.....	16
3.3 滲透蒸發薄膜建模.....	38
3.4 批次生質丁醇發酵結合滲透蒸發薄膜分離.....	49

第四章 動態最佳化建構與結果討論.....	56
4.1 六參數圖譜生成演算法.....	56
4.2 半批次生質丁醇發酵動態最佳化.....	65
4.3 半批次結合滲透蒸發薄膜動態最佳化.....	76
第五章 結論.....	92
參考文獻.....	93
簡歷.....	98

## 表目錄

表 3-1 四種葡萄糖起始濃度中各代謝物的起始濃度.....	22
表 3-2 以初始葡萄糖濃度 70.6MM 實驗數據進行估算之最佳化動力學參數 .....	23
表 3-3 最佳化動力學參數模擬數據.....	28
表 3-4 最佳化動力學參數結果.....	29
表 3-5 高初始基質濃度最佳化動力學參數模擬數據.....	35
表 3-6 高初始基質濃度最佳化動力學參數結果.....	36
表 3-7 最佳化滲透蒸發薄膜模型參數模擬數據.....	46
表 3-8 最佳化滲透蒸發薄膜模型參數結果.....	47
表 3-9 兩種葡萄糖起始濃度中各代謝物的起始濃度.....	51
表 3-10 初始基質濃度 150MM 批次結合滲透蒸發膜最佳化滲透蒸發薄膜模 型操作參數模擬數據.....	53
表 3-11 初始基質濃度 300MM 批次結合滲透蒸發膜最佳化滲透蒸發薄膜模 型操作參數模擬數據.....	54
表 4-1 半批次發酵槽各代謝物的起始濃度( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	66
表 4-2 最終丁醇濃度最佳化進料控制圖譜參數模擬數據( $S_0 = 70.6\text{MM}$ )...	69
表 4-3 單位消耗基質產量之最佳化進料控制圖譜參數模擬數據( $S_0 =$	

70.6MM).....	69
表 4-4 生產率之最佳化進料控制圖譜參數模擬數據( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	70
表 4-5 各目標函數最佳化進料控制圖譜參數模擬結果( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	70
表 4-6 半批次發酵結合滲透蒸發膜分離之各代謝物起始濃度.....	78
表 4-7 半批次發酵結合滲透蒸發最佳化模擬數據( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	81
表 4-8 半批次發酵結合滲透蒸發最佳化模擬數據( $S_0 = 150\text{MM}$ ).....	82
表 4-9 半批次發酵結合滲透蒸發最佳化模擬數據( $S_0 = 300\text{MM}$ ).....	83
表 4-10 同等批次基質初濃度總質量基質之半批次發酵結合滲透蒸發膜分離 最佳化模擬結果 .....	84

## 圖目錄

圖 2-1 發酵槽結合滲透蒸發分離系統.....	8
圖 3-1 模擬退火演算法操作流程.....	12
圖 3-2 模擬退火演算法結合動態模型識別之電腦計算流程圖.....	15
圖 3-3 <i>C. ACETOBUTYLICUM</i> ATCC824 <sup>T</sup> 代謝路徑.....	17
圖 3-4 初始葡萄糖 70.6MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	24
圖 3-5 初始葡萄糖 70.6MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	24
圖 3-6 批次發酵槽最佳化修改動力學參數流程圖 .....	27
圖 3-7 初始葡萄糖 36.1MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	30
圖 3-8 初始葡萄糖 36.1MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	30
圖 3-9 初始葡萄糖 70.6MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	31
圖 3-10 初始葡萄糖 70.6MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ...	31
圖 3-11 初始葡萄糖 122MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	32
圖 3-12 初始葡萄糖 122MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	32
圖 3-13 初始葡萄糖 295MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	33
圖 3-14 初始葡萄糖 295MM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線 ....	33
圖 3-15 高基質動態參數葡萄糖 295MM 初濃度代謝物實驗數據與模擬曲線 .....	37

圖 3-16 高基質動態參數葡萄糖 295MM 初濃度代謝物實驗數據與模擬曲線 .....	37
圖 3-17 滲透蒸發膜質傳機制示意圖 .....	39
圖 3-18 滲透蒸發薄膜最佳化動力學參數流程圖.....	45
圖 3-19 模擬溶液內丁醇、丙酮、乙醇濃度隨時間變化模擬曲線與實驗數據 .....	48
圖 3-20 模擬溶液內乙酸、丁酸濃度隨時間變化模擬曲線.....	48
圖 3-21 批次發酵槽結合滲透蒸發薄膜分離最佳化流程圖.....	52
圖 4-1 兩個基本圖譜.....	57
圖 4-2 TYPE 1+ TYPE 2 圖譜 .....	58
圖 4-3 TYPE 2+ TYPE 1 圖譜 .....	59
圖 4-4 結合圖譜來產生各種的曲線.....	59
圖 4-5 模擬退火法結合六參數圖譜演算法的流程圖.....	63
圖 4-6 模型預測控制器示意圖.....	64
圖 4-7 半批次發酵槽模擬退火法結合圖譜演算法流程圖.....	68
圖 4-8 最終丁醇濃度最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	71
圖 4-9 最終丁醇濃度最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	71
圖 4-10 最終丁醇濃度最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	72
圖 4-11 單位消耗基質產量最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ).....	72

圖 4-12 消耗基質產量最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	73
圖 4-13 單位消耗基質產量最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	73
圖 4-14 生產率最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	74
圖 4-15 生產率最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	74
圖 4-16 生產率最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	75
圖 4-17 半批次發酵結合滲透蒸發膜分離最佳化流程圖 .....	80
圖 4-18 最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	85
圖 4-19 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	85
圖 4-20 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	86
圖 4-21 最佳化代謝物分離曲線( $S_0 = 70.6\text{MM}$ ) .....	86
圖 4-22 最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 150\text{MM}$ ) .....	87
圖 4-23 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 150\text{MM}$ ) .....	87
圖 4-24 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 150\text{MM}$ ) .....	88
圖 4-25 最佳化代謝物分離曲線( $S_0 = 150\text{MM}$ ) .....	88
圖 4-26 最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 300\text{MM}$ ) .....	89
圖 4-27 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 300\text{MM}$ ) .....	89
圖 4-28 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 300\text{MM}$ ) .....	90
圖 4-29 最佳化代謝物分離曲線( $S_0 = 300\text{MM}$ ) .....	90

## 符號說明

$A_m$  : 薄膜面積( $m^2$ )

$a_{1,2}$  : 指數函數中的指數

$C_b^T$  : 槽內丁醇濃度( $mM$ )

$d_{1,3}$  : 丁醇濃度修正係數

$d_{2,4}$  : 丁醇濃度修正係數( $mM$ )<sup>-1</sup>

$F_s$  : 開關機制的開關因子

$F$  : 進料體積流率( $L/h$ )

$f_{1,3}$  : 葡萄糖濃度修正係數

$f_{2,4}$  : 葡萄糖濃度修正係數( $mM$ )<sup>-1</sup>

$J_i$  : 物質通量( $mmole/m^2h$ )

$J_{tot}$  : 總通量( $mmole/m^2h$ )

$K_{aj}$  : 活化物活化常數( $mM$ )

$K_{ij}$  : 第  $j$  反應速率方程式之抑制物抑制常數( $mM$ )

$K_{isj}$  : 第  $j$  反應速率方程式之基質抑制常數( $mM$ )

$K_{mj}$  : 當速率等於一半  $V_{max}$  時，代謝物的濃度( $mM$ )

$K_{OV}$  : 通過膜總質傳係數( $m/h$ )

$k_j$  : 反應速率常數( $h^{-1}$ )

$k_V$  : 氣相邊界層質傳系數( $m/h$ )

$k_L$  : 液相邊界層質傳系數( $m/h$ )

$l$  : 薄膜厚度( $m$ )

$P_i^*$  : 進料側膜介面之分壓( $Pa$ )

$P_{ib}$  : 滲透側之分壓( $Pa$ )

$Q_i^m$  : 物質通過膜的滲透率( $m^2/h$ )

$R_j$  : 代謝反應代號

$r_j$  : 代謝反應速率方程式( $mM/h$ )

$S_0$  : 批次初始基質濃度( $mM$ )

$S_f$  : 進料基質濃度( $mM$ )

$T_{total}$  : 總工作時間( $h$ )

$T_{on}$  : 開啟滲透蒸發膜分離之時間點( $h$ )

$T_{off}$  : 關閉滲透蒸發膜分離之時間點( $h$ )

$tb_1$  : 分率參數,  $t_{inter}$  與總時間長度  $t_{total}$  之比率

$t_{inter}$  : 兩個曲線在時間相接的點( $h$ )

$V_{maxj}$  : 最大反應速率( $h^{-1}$ )

$V^T$  : 槽內工作體積( $L$ )

$V$  : 工作體積(L)

$X_i^*$  : 膜介面之莫耳分率

$X_{ib}$  : 液相側之莫耳分率

$X_0$  : 控制變量初始值

$X_F$  : 控制變量最終值

$X_{inter}$  : 控制變量在曲線相接相對應的值

$\alpha$  : 單位修正係數(Pa/mM)

$\beta$  : 冷卻率

$\gamma_i$  : 活性係數

$\rho_L$  : 進料的莫耳體積濃度(mM)

# 第一章 緒論

## 1.1 前言

生物發酵法生產丙酮-丁醇-乙醇生質化學品(acetone – butanol–ethanol, ABE) 是一項傳統的大宗發酵，從二次大戰開始就已存在，一度發展為僅次於酒精發酵的第二大發酵工業。近年來，由於國際石油價格的劇烈波動以及石油資源的不可再生性，發酵法生產 ABE 技術再次引起了廣泛關注。此類發酵法生產的 ABE 混合物具有與液體礦物燃料相似的燃燒性能，其中丁醇由於分子所含碳數較高，比乙醇具較佳的疏水性，可有效的避免空氣中水氣的累積於油箱的問題，同時丁醇的腐蝕性相對的也比乙醇低，因此可利用現有的管線傳送到加油站；使用高比率的丁醇添加的混合汽油燃料時，車輛的引擎系統規格不必更動；且可比乙醇多生產 25% 的能量而被認為是最具有發展潛力的新型液體燃料與生物可再生能源。

但傳統發酵生產 ABE 之微生物，在發酵過程中細胞會受到嚴重的產物抑制效應與基質抑制效應，使得發酵後的丁醇濃度大約為 10-20 g/l，亦即發酵液中高達 95% 以上是屬於水，因此後續的分離純化步驟必將消耗大量能源，導致成本升高。因此，利用滲透蒸發(Pervaporation)主要對丁醇的同步及時分離，串連發酵槽進行高密度菌體發酵，並使用半批次進料系統，維

持發酵液中低丁醇濃度與最佳基質濃度，同時降低基質與產物抑制效應。

## 1.2 研究動機

在能源有限的地球上，由於全球的石化能源逐漸耗竭導致原油價格高漲，尋找永續再生性的新能源已成為一個國家賴以生存及發展經濟所必須努力的目標。生質能是人類最早使用的能量來源，直至今日依然僅次於化石燃料。生質能除了能直接燃燒或烹調供人類使用外，近年來更已成為發電原料，在可再生能源方面僅落後水力與風力，許多汽電共生電廠亦使用生質能，利用廢熱與電力，留住八成至九成的既有能源。

數世紀以來，人們利用酵母及其它的微生物將多種植物糖發酵成酒精，利用發酵將生質變成燃料，例如可利用小麥工廠的廢棄物經由發酵而生成乙醇；將生成的乙醇和柴油混合製成生質柴油可供拖拉機及巴士使用。隨著科技的發展，發酵技術也跟著不斷提升，經由生物直接或間接所生產的可再生性能源主要包含：生質氫氣(biohydrogen)、生質甲烷(biomethane)、生質酒精(bioethanol)與生質丁醇(biobutanol)等，為了有效解決人們過度依賴石化燃料的問題，美國政府於 2007 年公告之 20 in 10 政策，預計於 10 年內減少美國對於石化能源依存度 20%。其主要做法，在短期內將著重於以纖維素發酵乙醇來取代目前的石油，但由於乙醇具有較強的吸水性，作為運輸用燃料考量而言，乙醇仍然不適宜完全取代目前的石化燃料。因此美國

能源部(Department of Energy)的中長期規劃目標將發展生質丁醇做為替代能源考量之一，可見其生質丁醇未來相當具有前瞻性。

### **1.3 論文組織與架構**

本論文的內容主要分為五個章節，第一章緒論部分，對本研究之緣起作一說明；第二章對生質丁醇發酵、滲透蒸發薄膜分離與動態最佳化及方法做一概要性簡介；第三章為生質丁醇發酵與滲透蒸發模型識別，並介紹與用之最佳化方法；第四章為生質丁醇半批次及半批次結合滲透蒸發膜分離之動態最佳化建構與模擬結果；第五章為結論，歸納整理最佳化所得之模擬數據，並為本研究做總結以及針對未來值得探討的方向提出建議。

## 第二章 文獻回顧

西元 1861 年由 Pasteur 發表採用微生物發酵方式生產丁醇<sup>[1]</sup>，其後由 Weizmann 在 1912 年提出利用 *Clostridium acetobutylicum* 菌株來進行 ABE (acetone - butanol - ethanol) 發酵法<sup>[1]</sup>，將丁醇於發酵領域之研究向前推進了一大步。目前，丁醇已被認定可作為生質能源的醇類燃料，為了改善石油危機所帶來的衝擊，也為了製造出更具環保的能源，微生物發酵丁醇(ABE) 之研究再次興起<sup>[2]</sup>。

丁醇發酵的歷史相當悠久，丁醇發酵程序的主要菌種為 *Clostridium* 屬的嚴格厭氧菌，其中以 *C. acetobutylicum* 之探討較為普遍<sup>[3]</sup>，其標準的 ABE 產量比例約為 3:6:1。由於丁醇發酵程序最大的問題，主要來自於高濃度丁醇本身具有毒性，進而抑制菌體的生長及丁醇生產，導致 ABE 發酵法缺乏競爭力。然而目前解決丁醇因產物抑制效應導致生產濃度過低的方法為結合丁醇分離技術之應用，分離技術的種類包含：蒸餾(steam stripping distillation)、氣提(gas stripping)、吸附(adsorption)、滲透蒸發(pervaporation)和液-液相萃取(liquid - liquid extraction)，其中滲透蒸發分離技術較其他分離方法具有低能耗的優點，已被用來結合 ABE 發酵程序，用來分離所生產的丁醇，提高葡萄糖的消耗和較高的丁醇產量，未來極具潛力。

滲透蒸發系統用於移除丁醇的薄膜材料常以 poly(ether-block-amide) (PEBA)和 polydimethylsiloxane(PDMS)作為探討<sup>[4]</sup>，西元 2012 年 Hong-Wei Yen 等人提出了此兩種材料對移除丁醇的比較報告<sup>[5]</sup>，其實驗裝置如圖 2-1。滲透蒸發的原理主要是結合過濾與蒸發，利用過濾膜另一側抽氣降壓的方式，使液態混合物進料得以穿越膜體，並因為減壓的關係而以氣相的型態出現於過濾膜的另一側，再利用冷凝回流的方式收集分離純化後的液體。實驗結果顯示以 PEBA 薄膜具有較高的丁醇移除速率，對於丙酮也有不錯的移除能力。

近年來永續發展(sustainable development)引起了全球相當大的關注，永續發展意旨既能滿足我們現今的需求，又不損害子孫後代能滿足他們的需求的發展模式，因此促使生化產業研究人員和工程師極力尋求降低發展及製造的成本/利益比值。從程序工程的觀點看來，實現此目標的方法就是通過程序最佳化，控制一個生物程序在其最佳狀態，並到達其最低的成本與最高的生產率，在此同時也必須保持其品質。

動態最佳化問題(dynamic optimization problems)又叫最佳控制問題(optimal control problems)，意旨控制變量(control variables)隨時間改變，因此須先將控制變量參數化(control vector parameterization, CVP)；然後以此參數模擬不同控制變量下之動態限制系統—微分代數方程(differential

algebraic equation) 的狀態函數(state variables)，並尋求最佳化問題之參數最佳解。動態最佳化無論是在能源方面、化學工程、亦或是生化工程都有其重要性，常應用在許多工業當中，用以優化或改善需求目標，如在安全及環保規範下提高其收益性、產品質量、生產率等。其主要的挑戰便是開發演算法來有效地得到最佳解。用來描述生物或化學工程的數學模型通常都是非線性(nonlinear)、動態(dynamic)、分佈式(distributed)，可能會導致其動態最佳化問題成為一個非凸優化(nonconvex optimization)問題<sup>[37]</sup>。此外，其數學模型還可能存在非平滑性和不連續性，因此許多動態最佳化問題都需要全域最佳化方法(global optimization methods)來解決<sup>[31][34][35][36][38][39]</sup>。

全域最佳化的方法大致可以分為確定性<sup>[29]</sup>(deterministic)和隨機性<sup>[30]</sup>(stochastic)，確定性方法如割平面法(Cutting plane methods)、分支定界法(Branch and Bound methods)、區間法(Interval methods)等；隨機性方法如模擬退火法(Simulated annealing)、並行回火法(Parallel tempering)等，動態最佳化的全域確定性方法(Global Deterministic methods)在最近幾年的研究已有所進展<sup>[31][32][33][34]</sup>，但仍然需要去解決一些關於函數的可微分性(differentiability)和路徑限制條件(path constraints)的問題，且龐大的計算工作量仍然是這些方法在應用上的一大阻礙。其他的方法如藉由結合隨機性

全域方法(Global Stochastic methods)與確定性的局部搜索來加速收斂以獲得其最佳解，同樣也表現出了非常好的結果<sup>[35][36]</sup>。

本研究將以模擬退火法為主要方法。模擬退火演算法最初是為了解決離散最佳化(Discrete optimization)問題；後來推廣到連續最佳化(Continuous optimization)問題，該演算法已經成功應用於穩態(steady state)設計與化學程序的合成<sup>[7][8][9][10]</sup>。西元 2000 年 Hanke 和 Li 首先應用模擬退火法於連續批次蒸餾的微分代數方程(differential algebraic equation)最佳化問題<sup>[11]</sup>，西元 2005 年 Richard Faber 等人對於模擬退火法應用在動態最佳化問題進行深入探討<sup>[12]</sup>，其將時間軸切成多個離散時間點，每個離散時間間隔對應一個控制變量參數值，以用來描述控制變量隨時間的變化；本研究則是使用圖譜生成演算法<sup>[26]</sup>(Profile Generator Algorithm, PGA)，只需要輸入六個參數即可產生一連續圖譜來描述控制變量隨時間的變化，相較於離散時間的計算方法，最佳化參數數量可大幅降低。

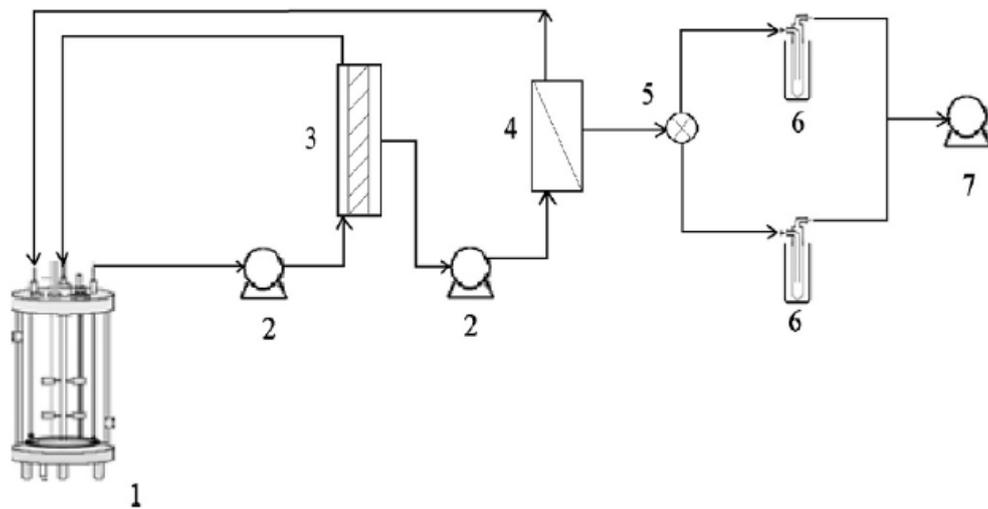


圖 2-1 發酵槽結合滲透蒸發分離系統<sup>[5]</sup>

1, 5-l fermentor; 2, peristaltic pump; 3, ceramic microfiltration; 4, pervaporation cell; 5, valve;  
6, cooling trap and 7, vacuum pump.

## 第三章 生質丁醇發酵與滲透蒸發薄膜模型識別

### 3.1 模擬退火演算法模型識別方法

最佳化問題實際上是一門非常古老的學科，它存在於各行各業中，是一門跨領域的學科。其中一個最有名的例子是所謂的旅行商問題(Traveling Salesman Problem)<sup>[13][14]</sup>。在這個例子中，該名旅行商需要跑遍  $N(N$  大於一)個城市去推銷他的商品，而該些城市之間的距離都不一樣，這名推銷員需要從其中一個城市出發，而他老闆規定他必須把所有城市跑過一遍，請問這名旅行商應該如何繞才是最省時間，因此這名旅行商要找出一個最短距離的路徑。城市的數量愈多，可能的路徑也愈多，而且增加的速度是非線性的，然而設計一個有效的方法去找尋這個最短的路徑就是所謂最佳化問題的基本精神。

模擬退火演算法(Simulated Annealing, SA)是用來解決最佳化問題的其中一種近似解法。模擬金屬在進行退火的過程中，能自行達到最低溫狀態的現象，所發展出的一種全域最佳化方法。最早的想法是由 N. Metropolis 等人(1953)所提出的蒙地卡羅(Monte Carlo)演算法<sup>[15]</sup>，因為它的簡單性與實用性，而被廣泛應用在各種最佳化問題中，主要的概念是把問題看成一個統計系統，而統計系統中的某一個溫度的狀態分佈，是滿足一個波茲曼

(Boltzmann)分佈函數，因此在問題中尋找最佳解的時候，就是利用這個分佈函數來選取答案，而 Kirkpatrick(1983)等人提出模擬退火法，並應用在最佳化問題中。

模擬退火法源自於模擬物質世界中材料的冷卻與結晶過程，在固態物理中，「退火」這個名詞是 Kirkpatrick(1983)等人用 N. Metropolis(1953)等人提出的蒙地卡羅演算法所發明的，「退火」代表一種物理過程，將固體加熱至足夠的高溫時，會從固態開始轉成液態，這個時候所有的分子會在液態物質中隨機的自由排列，隨著溫度的緩慢下降，這些分子就會逐漸到較低能量程度的結晶狀態來重新排列。

模擬退火法建構在物理模型上，它具備了兩個條件，第一，當溫度夠高時，系統的組態能自由變化，可以在能量表面自由移動或稱為做無規則行走(random walk)，也就是能夠自由選擇可行解；第二，當溫度變小時，系統的組態在能量表面移動將受到限制，並逐漸的向低能量的區域集中，在每一次的疊代過程中，都是以目前解做為中心然後隨機產生新的鄰近解，當鄰近解的目標函數值比目前解的目標函數值較佳時，就以鄰近解取代目前解，如果產生的解比目前解差時，模擬退火法會利用機率函數和控制溫度參數來判斷是否接受新解，這也使得模擬退火法具有能力跳脫區域最佳解，透過降溫的動作來控制收斂的速度，隨著溫度的下降，接受較差解的

機率也越來越小，當溫度降到低點時，僅接受較佳的解，進而達到收斂。

模擬退火演算法操作流程如圖 3-1，簡單的操作方法如下<sup>[16][17]</sup>：

- (1) 首先要針對問題選定一個目標函數，並且將該個目標函數視為一個廣義的能量函數。
- (2) 引入一個溫度  $T$ ，這個溫度  $T$  不一定要具有實際的物理意義，並選擇一個足夠高的溫度作為起始溫度。
- (3) 訂定一個退火程序(annealing schedule 或稱降溫程序)決定初始參數，有起始溫度  $T$ 、終止溫度、冷卻率(或冷卻值)，單一溫度疊代次數，由此決定在每一個溫度所停留的時間，及降溫的比例。
- (4) 設定起始疊代次數  $t=0$ ，產生初始目前解  $X$ 。
- (5) 以目前解為中心隨機產生新的鄰近解  $X'$ 。
- (6) 採用 Metropolis 接受法則，用來決定是否接受一個能量變動的改變，計算目前解的能量  $E$ ，以目前解為中心隨機產生新的鄰近解並計算能量  $E'$ ， $\Delta E = E' - E$  為兩個解之間的能量差，根據下列的機率公式來決定是否接受

鄰近解取代目前解：

$$P = \begin{cases} 1 & ,if \Delta E \leq 0 \\ e^{-\frac{\Delta E}{T}} & ,if \Delta E > 0 \end{cases} \quad (3.1)$$

若接受則  $X = X'$ 。

(7)更新疊代次數  $t = t + 1$ ，判斷是否達到設定之疊代次數，若是則進行降溫

$t = 0$ ，而降溫的方式主要有兩種，一是  $T = \beta \times T$ ,  $\beta \in [0,1]$ ，另一是

$T = T - \beta$ ,  $\beta < 0$ 。

(8)判斷溫度是否達到終止溫度，若否則回到步驟(4)重複執行。

(9)得到最後的解  $X$ 。

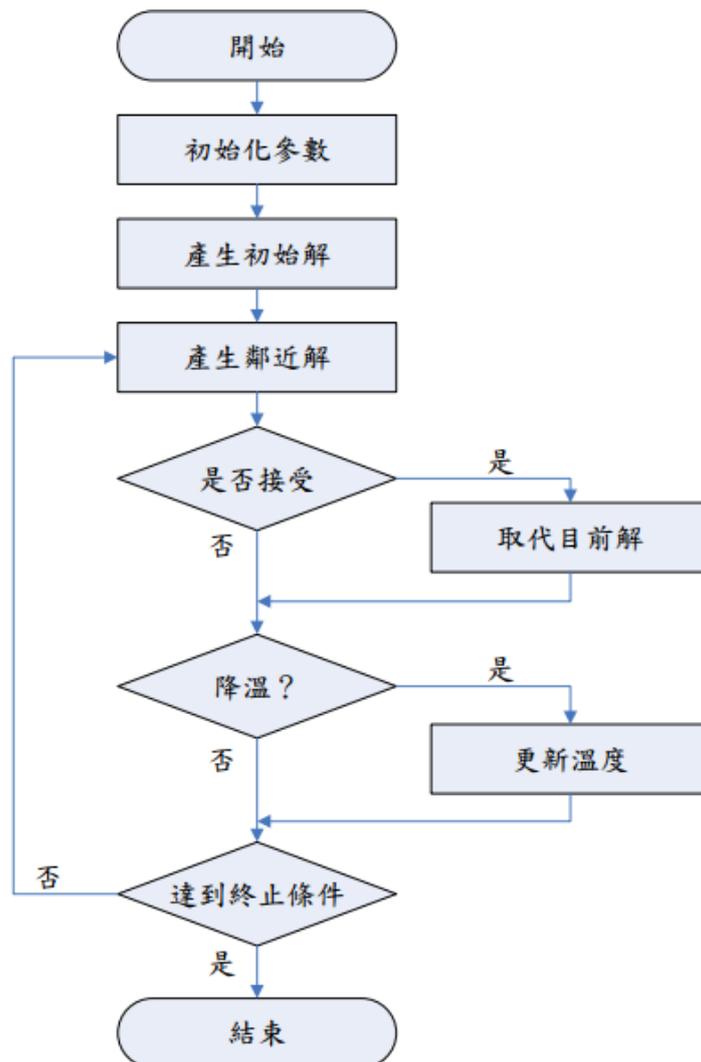


圖 3-1 模擬退火演算法操作流程<sup>[16]</sup>

## 模擬退火演算法結合動態模型識別

本研究採用數學軟體Matlab R2010a版本之內建模擬退火演算法指令進行運算，其指令語法使用如下：

`[X_sa,Obj_val,exitflag,output]=simulannealbnd(Fun,x0,lb,ub)`

其中 `simulannealbnd` 指令表示使用模擬退火演算法尋找函數最低值的變量，`Fun` 為指定的目標函數，`x0` 為初始所猜測之變量值，`lb` 和 `ub` 分別表示所設定變量的下限和上限，`X_sa` 為最佳化之變量值，`Obj_val` 為最佳化變量下的目標函數值，`exitflag` 為出口狀態旗(可由其輸出值判別最佳化終止的原因)。

將於 3.2、3.3 章節中，使用模擬退火演算法執行動力學模型參數最小方差法回歸分析，以第  $h$  個實驗、第  $i$  個變量、第  $k$  個時間點之狀態函數 ( $Z_{hik}$ ) 之實驗值 ( $Z_{hik}^{exp}$ ) 與預測模擬值 ( $Z_{hik}^{pred}$ ) 之縮尺值的變異數總和作為模擬退火演算(simulated annealing algorithm)最佳化方法之目標函數  $G$ ：

$$\min G(kk) = \sum_{h=1}^{nh} \sum_{i=1}^{ni} \sum_{k=1}^{nk} (W_{hik} (Z_{hik}^{pred} - Z_{hik}^{exp}))^2 \quad (3.2)$$

其中  $Z$  為狀態變量、 $kk$  為自變量、 $W_{hik} = 1/Z_{hik}^{exp}$ ， $nh$  為實驗的數量、 $ni$  為變量的數量、 $nk$  為時間點的數量。

其中預測模擬值 ( $Z_{hik}^{pred}$ ) 為下列微分方程式中狀態變數  $Z(t)$  之解：

$$\frac{dZ(t)}{dt} = f(Z(t), kk) \quad (3.3)$$

其中kk為上述微分方程式中之最佳化求解參數，亦即為最佳化方法之目標函數G的自變數或所求得最佳解。本研究使用Matlab的常微分方程求解程式ode45進行計算系統預測模擬值。電腦計算流程圖之詳細步驟與模擬退火演算法結合動態模型識別之電腦計算流程圖如圖3-2所示：

1. 設定動之動力學參數X。
2. 隨機產生選定之動力學參數值 $X_{\text{new}}$ ，其範圍在選定的上下限之間。
3. 將隨機產生之動力學參數值帶入生化反應動力學系統模型。
4. 使用常微分方程解算器計算批次動態模擬系統變量。
5. 計算目標函數(Objective function):使用最小方差法計算模擬值與實驗值誤差。
6. 結合模擬退火演算法去計算目前解是否為最佳解，其解為最佳解則進入到下一步驟，不是則回到步驟一。
7. 得到最後的最佳解( $X_{\text{opt}}$ )。

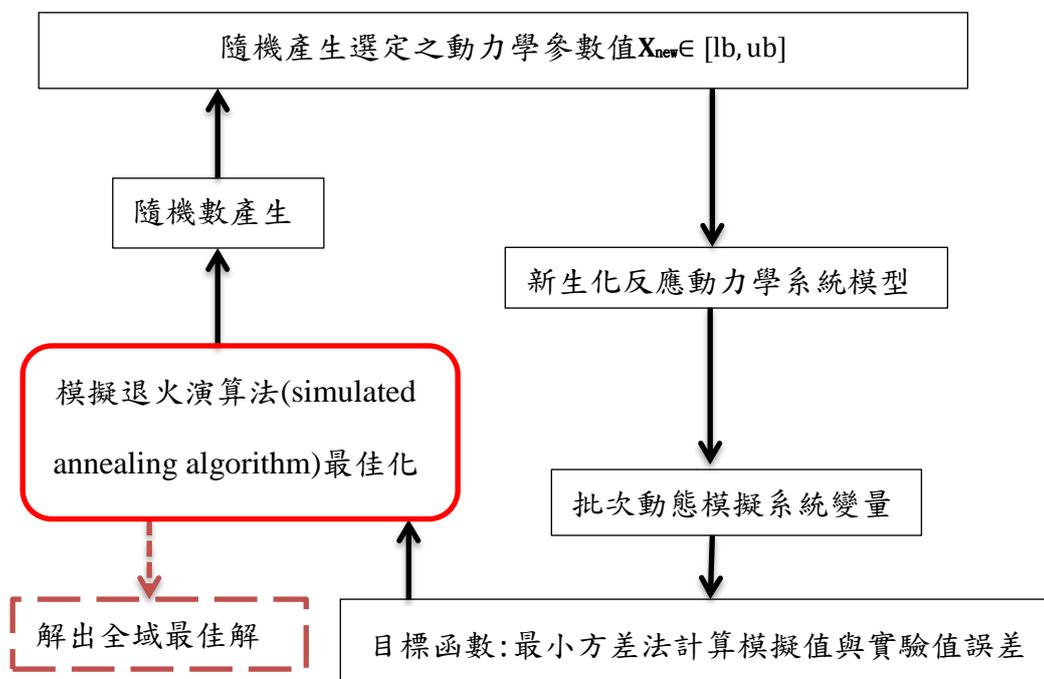


圖 3-2 模擬退火演算法結合動態模型識別之電腦計算流程圖

### 3.2 批次生質丁醇發酵建模

描述代謝物動態行為的代謝路徑動力學仿真模型，可有效以最小消耗操作策略用於創建生物反應器的優化設計和開發。然而，開發這類模型是相當困難的，因為許多動力學參數需在模型內進行估算。此外，對於已發展的某些工業用微生物，因為目前沒有包含複雜代謝路徑的動力學仿真模型，使得開發更為困難<sup>[18]</sup>。

製造丙酮-丁醇-乙醇(Acetone - Butanol - Ethanol, ABE)的梭菌的代謝路徑包括兩個不同的特徵階段，即產酸期(acidogenesis)和溶劑生產期(solventogenesis)。由Jones和Woods發表*C. acetobutylicum* ATCC824<sup>T</sup>的代謝路徑示意圖如圖3-3<sup>[2]</sup>。通常情況下，產酸期(acidogenesis)過程中，細胞呈指數生長，ATP形成的同時生產出乙酸(Acetic acid)和丁酸(Butyric acid)。另外，在溶劑生產期(solventogenesis)階段，細胞生長達到穩定期，有機酸被吸收，產出丙酮，丁醇和乙醇。如上所述，生產ABE梭狀芽孢桿菌具有複雜的代謝功能。

因為涉及ABE生產的代謝路徑相當複雜，很少有描述此路徑的模型被發表，1984年Papoutsakis開發了這種代謝路徑的化學計量模型<sup>[19]</sup>，該模型可用於計算或估計該路徑在梭菌內發生的反應速率。1999年Desai等人通過使用MFA(Metabolic flux analysis)分析*C. acetobutylicum* ATCC824<sup>T</sup>代謝中，酸

的形成路徑的貢獻<sup>[20]</sup>。然而，並沒有描述ABE生產代謝產物動態行為的動力學仿真模型的開發報告。

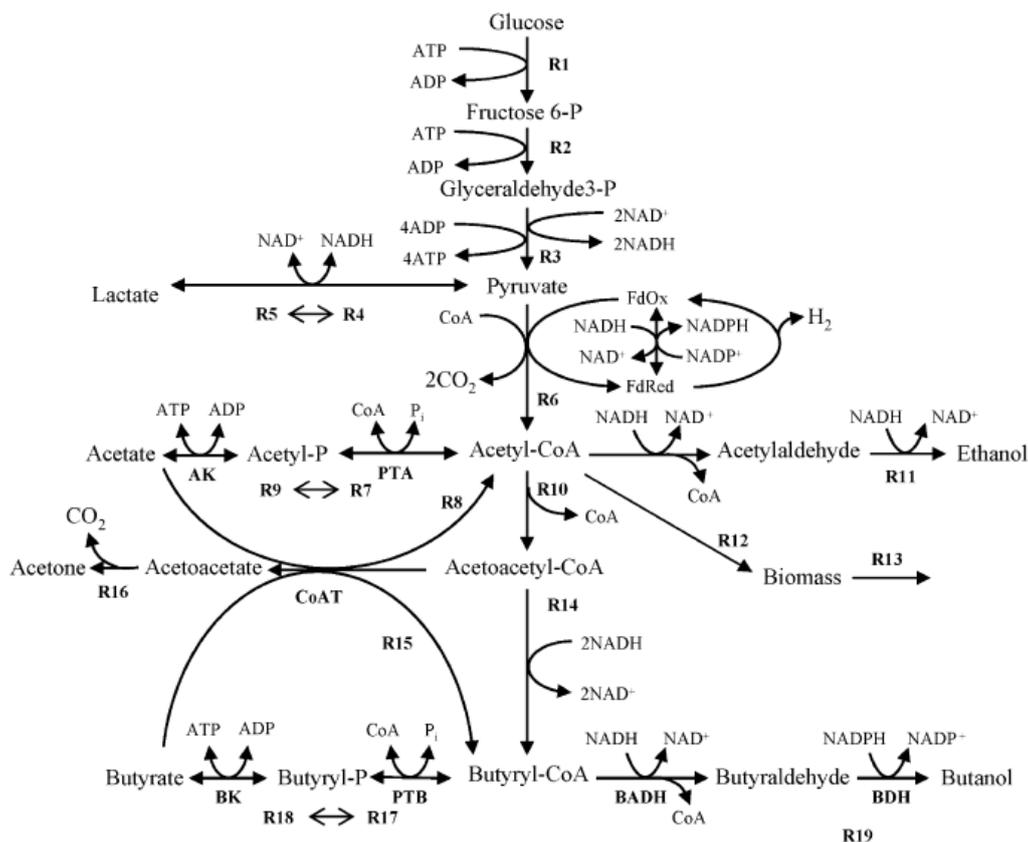


圖 3-3 *C. acetobutylicum* ATCC824<sup>T</sup> 代謝路徑<sup>[2]</sup>

為了成功創造生物反應器的優化設計及開發ABE生產操作策略，並顯示出詳細的代謝網絡，開發動力學模型主要著重於以下三個重點<sup>[18]</sup>：

- (1) 該模型需描述三與ABE生產代謝物的動態行為。
- (2) 需描述抑制和活化機制。
- (3) 能夠了解在一個大範圍內葡萄糖初始濃度的實驗數據。

藉由考慮基質使用率、生產速率和細胞生長速率，2007年Shinto等人以Jones和Woods發表的*C. acetobutylicum* ATCC824<sup>T</sup>代謝路徑為基礎，開發代謝路徑動力學仿真模型。圖3-3各代謝路徑的速率方程式可表示如下<sup>[18]</sup>：

$$r1 = \frac{V_{max1}[Glucose][Biomass]}{K_{m1}\left(1 + \frac{[Glucose]}{K_{is1}}\right)} \times F_s + [Glucose] \left(1 + \frac{[Butanol]}{K_{ii1}}\right) \quad (3.4)$$

$$r2 = \frac{V_{max2}[F6P][Biomass]}{K_{m2} + [F6P]} \times F_s \quad (3.5)$$

$$r3 = \frac{V_{max3}[G3P][Biomass]}{K_{m3} + [G3P]} \times F_s \quad (3.6)$$

$$r4 = \frac{V_{max4}[Lactate][Biomass]}{K_{m4} + [Lactate]} \times F_s \quad (3.7)$$

$$r5 = \frac{V_{max5}[Pyruvate][Biomass]}{K_{m5} + [Pyruvate]} \times F_s \quad (3.8)$$

$$r6 = \frac{V_{max6}[Pyruvate][Biomass]}{K_{m6} + [Pyruvate]} \times F_s \quad (3.9)$$

$$r7 = \frac{V_{max7}[Acetate][Biomass]}{K_{m7} + [Acetate]} \times F_s \quad (3.10)$$

$$r8 = V_{max8} \left( \frac{1}{1 + \left(\frac{K_{m8A}}{[Acetate]}\right)} \right) \times \left( \frac{1}{1 + \left(\frac{K_{m8B}}{[AACoA]}\right)} \right) [Biomass] \quad (3.11)$$

$$r9 = \frac{V_{max9}[ACoA][Biomass]}{K_{m9} + [ACoA]} \times F_s \quad (3.12)$$

$$r_{10} = \frac{V_{max10}[ACoA][Biomass]}{K_{m10}+[ACoA]} \quad (3.13)$$

$$r_{11} = \frac{V_{max11}[ACoA][Biomass]}{K_{m11}+[ACoA]} \times F_S \quad (3.14)$$

$$r_{12} = \frac{V_{max12}[ACoA][Biomass]}{K_{m12}\left(1+\frac{[Butanol]}{K_{ii12}}\right)+[ACoA]\left(1+\frac{[Butanol]}{K_{ii12}}\right)} \quad (3.15)$$

$$r_{13} = k_{13}[Biomass] \quad (3.16)$$

$$r_{14} = \frac{V_{max14}[AACoA][Biomass]}{K_{m14}+[AACoA]} \times F_S \quad (3.17)$$

$$r_{15} = V_{max15} \left( \frac{1}{1+\left(\frac{K_{m15A}}{[Butyrate]}\right)} \right) \times \left( \frac{1}{1+\left(\frac{K_{m15B}}{[AACoA]}\right)} \right) [Biomass] \quad (3.18)$$

$$r_{16} = \frac{V_{max16}[Acetoacetate][Biomass]}{K_{m16}+[Acetoacetate]} \quad (3.19)$$

$$r_{17} = \frac{V_{max17}[Byturate][Biomass]}{K_{m17}\left(1+\frac{K_{a17}}{[Byturate]}\right)+[Byturate]} \times F_S \quad (3.20)$$

$$r_{18} = \frac{V_{max18}[BCoA][Biomass]}{K_{m18}+[BCoA]} \times F_S \quad (3.21)$$

$$r_{19} = \frac{V_{max19}[BCoA][Biomass]}{K_{m19}\left(1+\frac{K_{a19}}{[Byturate]}\right)} \times F_S + [BCoA] \left(1 + \frac{[Butanol]}{K_{ii19}}\right) \quad (3.22)$$

由於acetoacetyl-CoA transferase (CoAT)呈現出明顯的羧酸特異性，且可催化輔酶A(CoA)轉移至乙酸鹽(acetate)和丁酸鹽(butyrate)<sup>[21]</sup>，CoAT速率方程式分別開發為(3.11)、(3.18)。1987年由Soni等人報告指出，丁醇會抑制細

胞生長<sup>[22]</sup>，因此Shinto等人開發了非競爭性抑制的米氏動力學(Michaelis–Menten type kinetics)細胞生長速率方程式(3.15)<sup>[18]</sup>。

各目標代謝物的反應平衡式可表示如下<sup>[18]</sup>：

$$\frac{d[\text{Glucose}]}{dt} = -r_1 \quad (3.23)$$

$$\frac{d[\text{F6P}]}{dt} = r_1 - r_2 \quad (3.24)$$

$$\frac{d[\text{G3P}]}{dt} = r_2 - r_3 \quad (3.25)$$

$$\frac{d[\text{Pyruvate}]}{dt} = r_3 + r_4 - r_5 - r_6 \quad (3.26)$$

$$\frac{d[\text{Lactate}]}{dt} = r_5 - r_4 \quad (3.27)$$

$$\frac{d[\text{ACoA}]}{dt} = r_6 + r_7 + r_8 - r_9 - r_{10} - r_{11} - r_{12} \quad (3.28)$$

$$\frac{d[\text{Biomass}]}{dt} = r_{12} - r_{13} \quad (3.29)$$

$$\frac{d[\text{Acetate}]}{dt} = r_9 - r_7 - r_8 \quad (3.30)$$

$$\frac{d[\text{Ethanol}]}{dt} = r_{11} \quad (3.31)$$

$$\frac{d[\text{AACoA}]}{dt} = r_{10} - r_8 - r_{14} - r_{15} \quad (3.32)$$

$$\frac{d[\text{Acetoacetate}]}{dt} = r8 + r15 - r16 \quad (3.33)$$

$$\frac{d[\text{BCoA}]}{dt} = r14 + r15 + r17 - r18 - r19 \quad (3.34)$$

$$\frac{d[\text{Byturate}]}{dt} = r18 - r15 - r17 \quad (3.35)$$

$$\frac{d[\text{Acetone}]}{dt} = r16 \quad (3.36)$$

$$\frac{d[\text{CO}_2]}{dt} = r6 + r16 \quad (3.37)$$

$$\frac{d[\text{Butanol}]}{dt} = r19 \quad (3.38)$$

由於許多生產ABE的代謝反應都發生在有ATP或NADH的情況下，沒有足夠能量時，這些反應便會終止，即葡萄糖耗盡後。考慮到葡萄糖耗盡後代謝反應的停止，開關機制由Okamoto等人導入此模型<sup>[23]</sup>，在此機制當中，吾人依基質葡萄糖濃度假設 $F_s$ 值為0或1，設定基質葡萄糖濃度為1.00mM當作我們的改變點，當基質葡萄糖濃度超過1.00mM則 $F_s=1$ ，方程式被驅動；若基質葡萄糖濃度低於1.00mM則 $F_s=0$ ，方程式不被驅動。此開關機制導入方程式(3.4)~(3.10)，(3.12)，(3.14)，(3.17)，(3.20)~(3.22)<sup>[18]</sup>。

文獻中對四種基質濃度進行實驗<sup>[18]</sup>，各代謝物的起始濃度值如表3-1所示，並以葡萄糖濃度70.6 mM實驗之數據尋找最佳化參數，其最佳化動力學

參數值如表3-2所示，工作體積為300ml。最佳化參數之模擬曲線與代謝物實驗數據如圖3-4、圖3-5所示。

表 3-1 四種葡萄糖起始濃度中各代謝物的起始濃度<sup>[18]</sup>

Glucose(mM)	Biomass(mM)	Acetate(mM)	Acetone(mM)	Butyrate(mM)	Butanol(mM)
36.1	1.34	41.6	0	1.92	3.01
70.6	1.53	40.0	2.00	1.95	3.83
122	1.36	46.5	0	3.98	2.90
295	1.41	41.2	2.88	1.00	4.49

表 3-2 以初始葡萄糖濃度 70.6mM 實驗數據進行估算之最佳化動力學參數<sup>[18]</sup>

Reaction	$k(\text{h}^{-1})$	$V_{max}(\text{h}^{-1})$	$K_m(\text{mM})$	$K_{is}(\text{mM})$	$K_{ii}(\text{mM})$	$K_a(\text{mM})$	$K_{mA}(\text{mM})$	$K_{mB}(\text{mM})$
$R_1$		3.20	46.0	55.6	67.5			
$R_2$		40.0	10.0					
$R_3$		120	26.5					
$R_4$		7.50	177					
$R_5$		9.70	500					
$R_6$		180	1.50					
$R_7$		0.30	50.0					
$R_8$		19.0					40.0	70.0
$R_9$		26.5	51.0					
$R_{10}$		20.0	1.00					
$R_{11}$		7.45	30.0					
$R_{12}$		8.10	1.10		23.0			
$R_{13}$	0.017							
$R_{14}$		10.0	5.20					
$R_{15}$		80.0					15.0	50.0
$R_{16}$		12.0	10.0					
$R_{17}$		35.0	4.90					
$R_{18}$		100	6.10			2.20		
$R_{19}$		3.15	5.00		67.5	2.20		

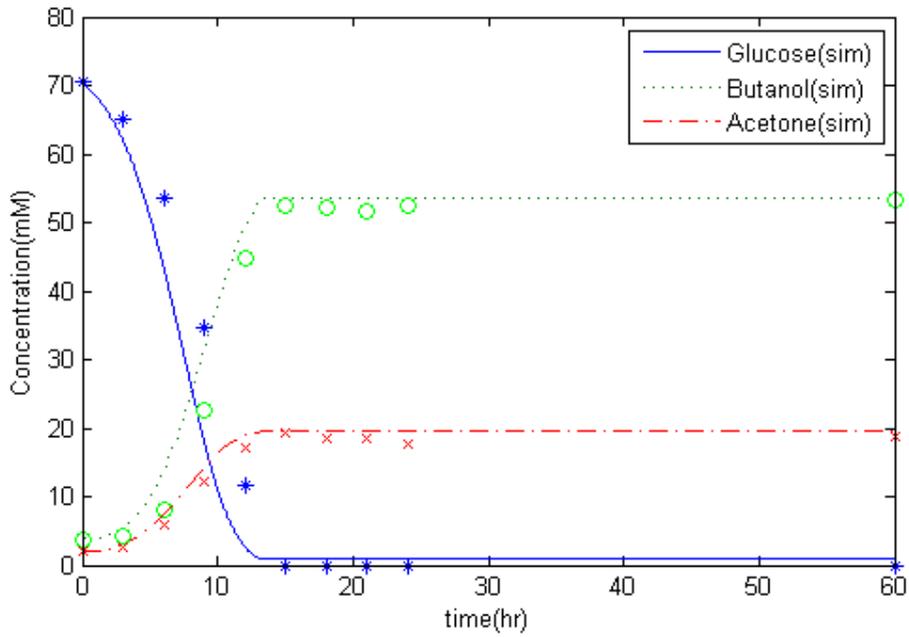


圖 3-4 初始葡萄糖 70.6mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Glucose(exp) o=Butanol(exp) x=Acetone(exp)

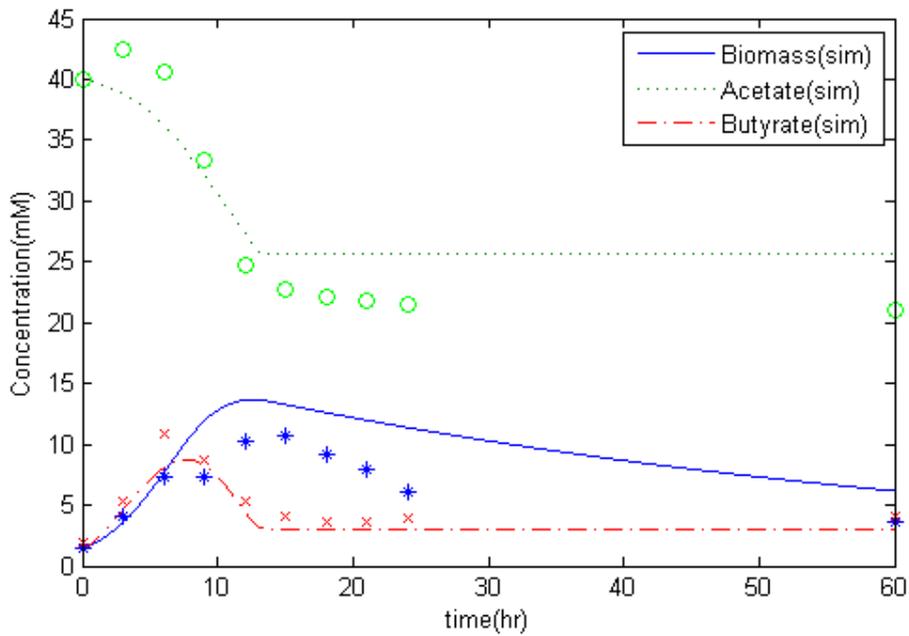


圖 3-5 初始葡萄糖 70.6mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Biomass(exp) o=Acetate(exp) x=Byturate(exp)

### 批次發酵槽最佳化動態參數

文獻之模擬結果圖3-5表明，Biomass模擬曲線與實驗數據有較大誤差，因此在生物質生長速率方程式內加入基質與產物抑制項，使用隨機模擬退火演算法以最小方差法回歸分析動力學參數，使模擬曲線更符合實驗數據，其修改r13之模型如下：

$$\text{原式} \quad r_{13} = k_{13}[\text{Biomass}]$$

$$\text{修改後} \quad r_{13} = k_{13}[\text{Biomass}] \times \frac{d_1 \times [\text{Butanol}] + d_2}{d_3 \times [\text{Butanol}] + d_4} \times \frac{f_1 \times [\text{Glucose}] + f_2}{f_3 \times [\text{Glucose}] + f_4} \quad (3.39)$$

其中 $d_1$ 、 $d_2$ 、 $d_3$ 、 $d_4$ 、 $f_1$ 、 $f_2$ 、 $f_3$ 、 $f_4$ 為新加入之參數。

當基質濃度高、產物濃度低時，基質抑制項會趨近於 $\frac{f_1}{f_3}$ ，產物抑制項會趨近於 $\frac{d_2}{d_4}$ ；反之當基質濃度低、產物濃度高時，基質抑制項會趨近於 $\frac{f_2}{f_4}$ ，產物抑制項會趨近於 $\frac{d_1}{d_3}$ ，由此可避免發散問題。若將產物抑制項的四個參數同除 $d_4$ 、基質抑制項的四個參數同除 $f_4$ ，可由八個參數減少到六個參數，並設定範圍在0~100，可使最佳化速度加快亦能獲得相似的結果。

為了能夠使用一組動態參數就可模擬大範圍的葡萄糖初始濃度，使用原文獻葡萄糖初始濃度70.6mM實驗數據進行估算之最佳化動力學參數，設定目標函數為最小方差法回歸分析計算四種初始濃度36.1mM、70.6mM、122mM、295mM模擬值與實驗值誤差總和，尋找最佳化新加入動力學參數，其狀態變量Z和自變量kk如下：

$$Z = \{ [Glucose], [F6P], [G3P], [Pyruvate], [Lactate], [ACoA], [Biomass], [Acetate], [Ethanol], [AACoA], [Acetoacetate], [BCoA], [Byturate], [Acetone], [Butanol], [CO_2] \}^T \quad (3.40)$$

$$kk = \{ d_1, d_2, d_3, d_4, f_1, f_2, f_3, f_4 \}^T \quad (3.41)$$

其最佳化流程如圖3-6，最佳化動力學參數模擬數據如表3-3，最佳動力學參數結果如表3-4，使用最佳動力學參數結果以修改後之模型模擬四種葡萄糖初始濃度36.1mM、70.6mM、122mM、295mM模擬曲線與代謝物實驗數據如圖3-7~圖3-14。

電腦計算流程如下所示：

1. 設定初始動力學參數 $X(d_1, d_2, d_3, d_4, f_1, f_2, f_3, f_4)$ 。
2. 隨機產生選定之動力學參數值 $X_{new}$ ，其範圍在選定的上下限之間。
3. 將隨機產生之動力學參數值代入生化反應動力學系統模型。
4. 使用常微分方程解算器計算批次動態模擬系統變量。
5. 計算目標函數(Objective function):使用最小方差法計算模擬值與實驗值誤差。
6. 結合模擬退火演算法去計算目前解是否為最佳解，其解為最佳解則進入到下一步驟，不是則回到步驟一。
7. 得到最後的最佳參數解( $X_{opt}$ )。

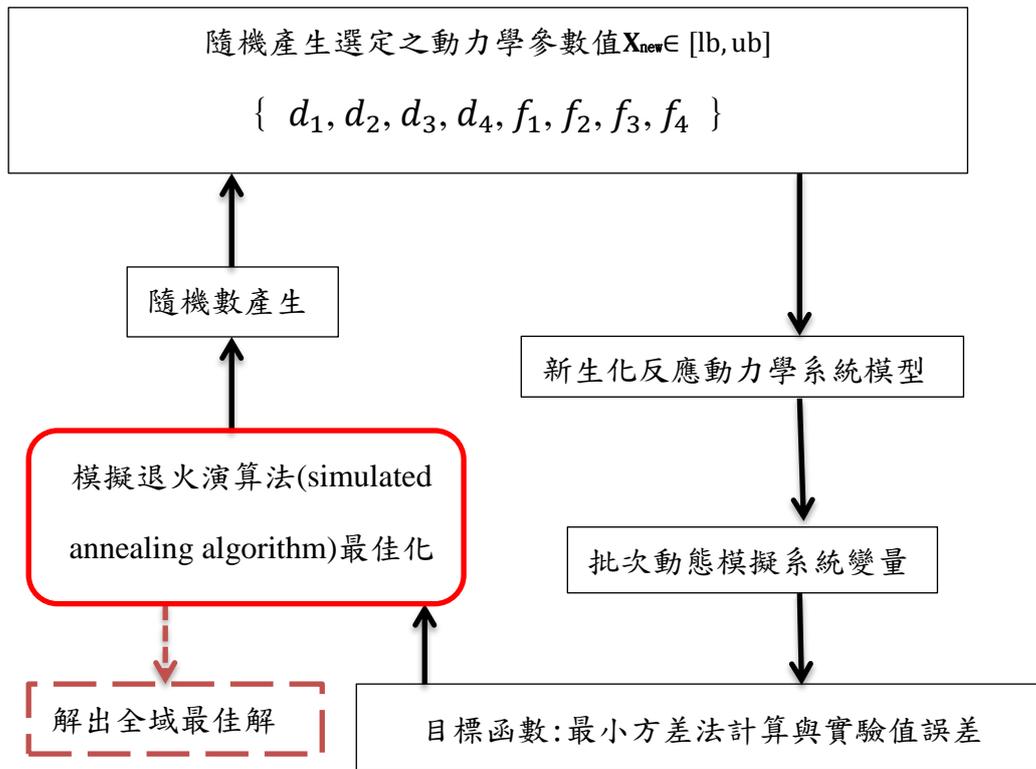


圖 3-6 批次發酵槽最佳化修改動力學參數流程圖

表 3-3 最佳化動力學參數模擬數據

動態 參數 模擬 次數	$d_1$	$d_2$	$d_3$	$d_4$	$f_1$	$f_2$	$f_3$	$f_4$	G
1	275.0785	245.2004	52.5192	9.4190	89.1031	357.6131	332.3054	461.5762	50.8799
2	198.9160	323.8337	59.2598	1.7823	232.6568	386.4684	556.8998	186.1598	50.7654
3	200.0151	235.2260	111.9005	13.9753	436.3968	536.0911	521.8539	105.1983	50.9872
4	449.8859	192.9046	372.3191	47.9811	164.2482	564.9635	134.4187	168.6151	51.0628
5	294.9004	469.1106	351.3852	311.1808	540.7409	594.7501	304.6859	10.7731	51.1118
6	66.4639	344.8581	187.9027	5.3519	189.6551	541.6681	59.4807	50.7982	50.0021
7	439.0780	503.6723	545.2589	112.7974	2.9770	451.2613	3.4731	118.4098	50.1452
8	248.6017	369.2729	83.8472	0.3140	4.0741	274.9823	11.4944	287.9729	50.1146
9	198.4894	328.4551	68.2597	14.3772	159.6276	599.2268	379.8572	275.0388	50.7286
10	125.8426	236.3665	116.0607	23.1174	228.8287	484.5181	178.4795	134.1291	50.8125

表 3-4 最佳化動力學參數結果

參數	單位	最佳值	物理意義	範圍
$d_1$		66.4639	丁醇濃度修正係數	0-600
$d_2$	(mM) <sup>-1</sup>	344.8581	丁醇濃度修正係數	0-600
$d_3$		187.9027	丁醇濃度修正係數	0-600
$d_4$	(mM) <sup>-1</sup>	5.3519	丁醇濃度修正係數	0-600
$f_1$		189.6551	葡萄糖濃度修正係數	0-600
$f_2$	(mM) <sup>-1</sup>	541.6681	葡萄糖濃度修正係數	0-600
$f_3$		59.4807	葡萄糖濃度修正係數	0-600
$f_4$	(mM) <sup>-1</sup>	50.7982	葡萄糖濃度修正係數	0-600

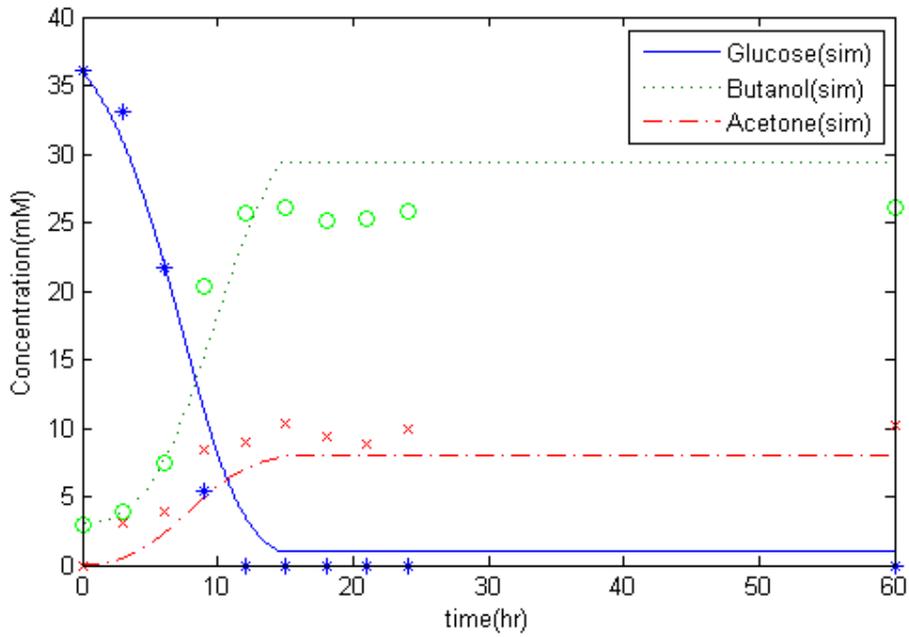


圖 3-7 初始葡萄糖 36.1mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Glucose(exp) o=Butanol(exp) x=Acetone(exp)

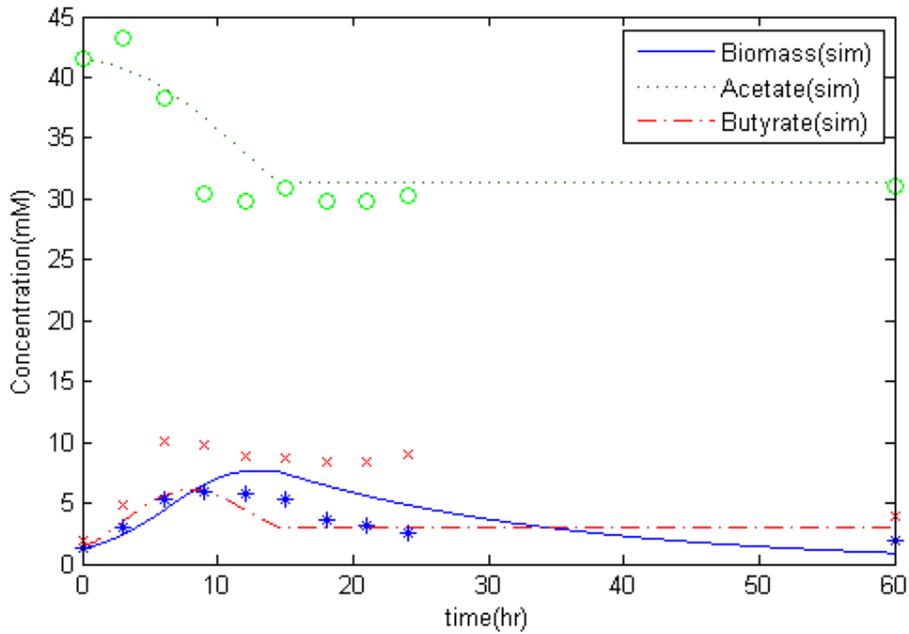


圖 3-8 初始葡萄糖 36.1mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Biomass(exp) o=Acetate(exp) x=Byturate(exp)

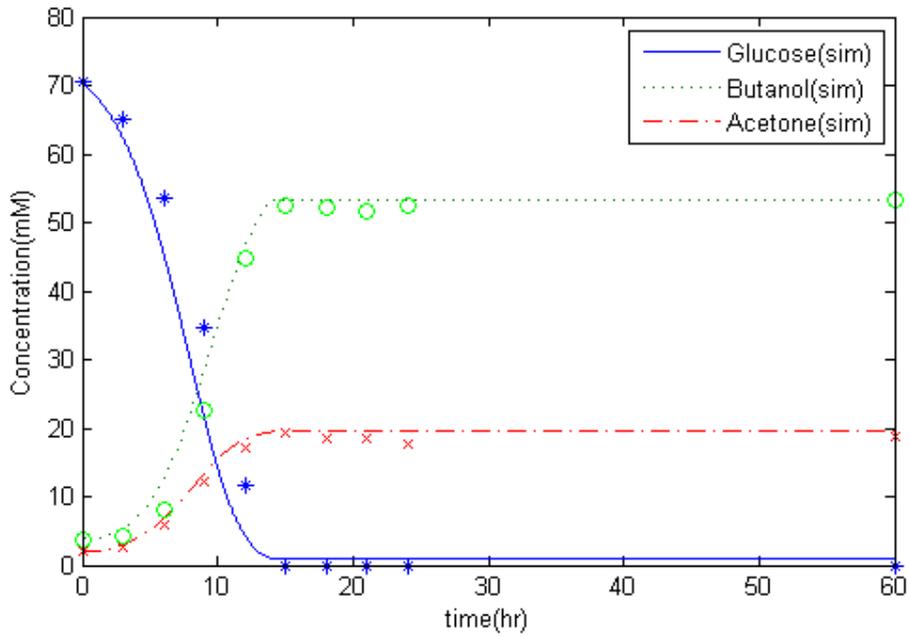


圖 3-9 初始葡萄糖 70.6mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Glucose(exp) o=Butanol(exp) x=Acetone(exp)

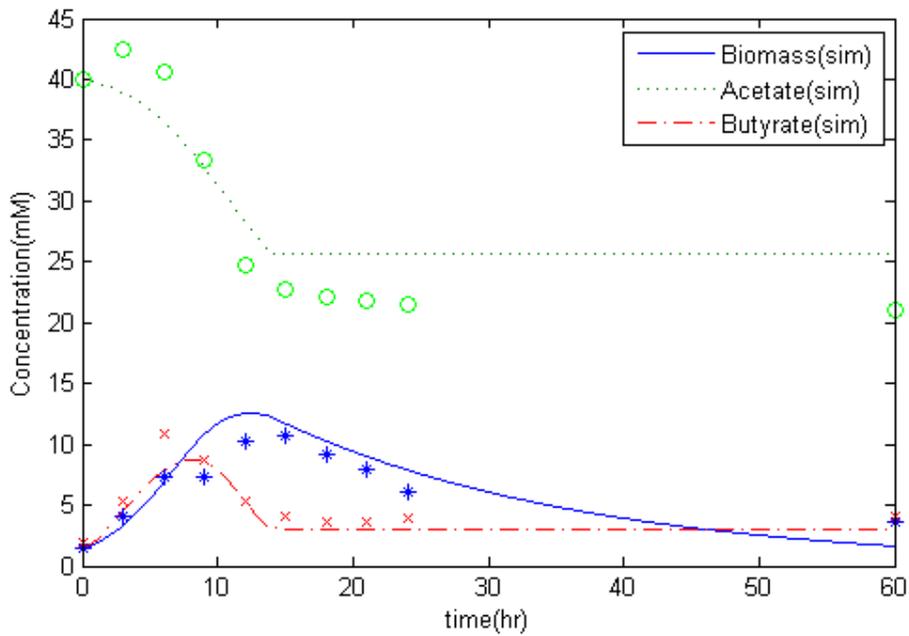


圖 3-10 初始葡萄糖 70.6mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Biomass(exp) o=Acetate(exp) x=Butyrate(exp)

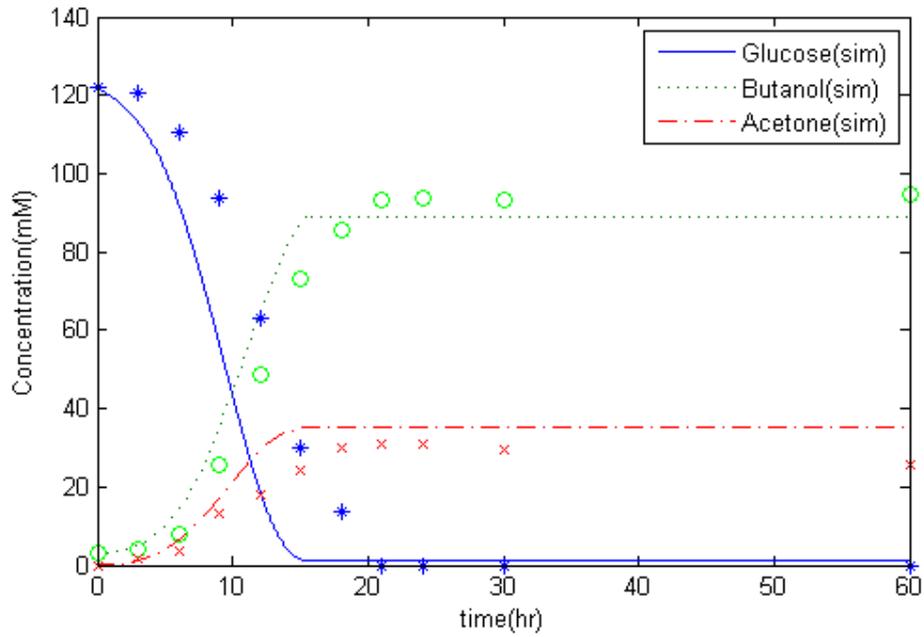


圖 3-11 初始葡萄糖 122mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Glucose(exp) o=Butanol(exp) x=Acetone(exp)

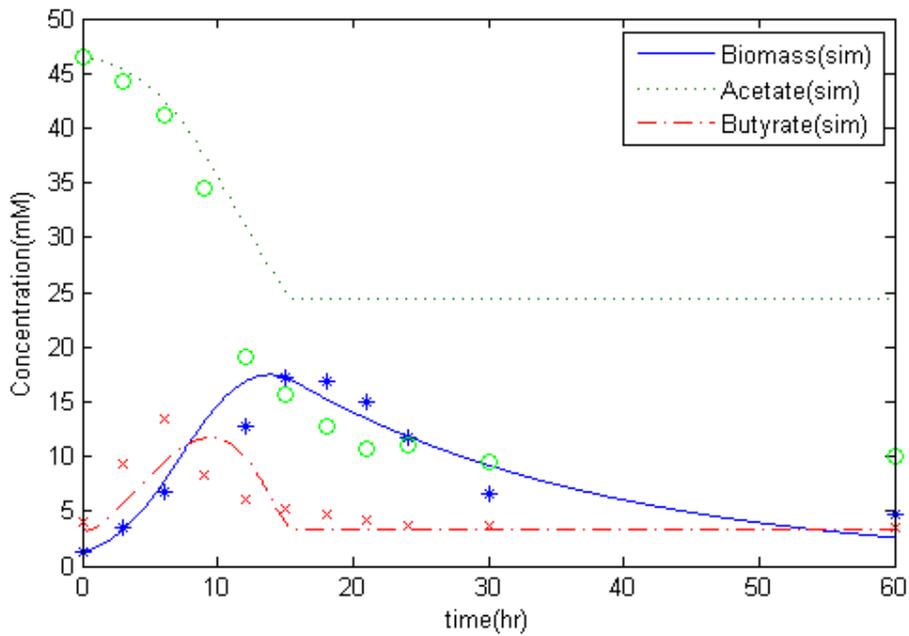


圖 3-12 初始葡萄糖 122mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Biomass(exp) o=Acetate(exp) x=Butyrate(exp)

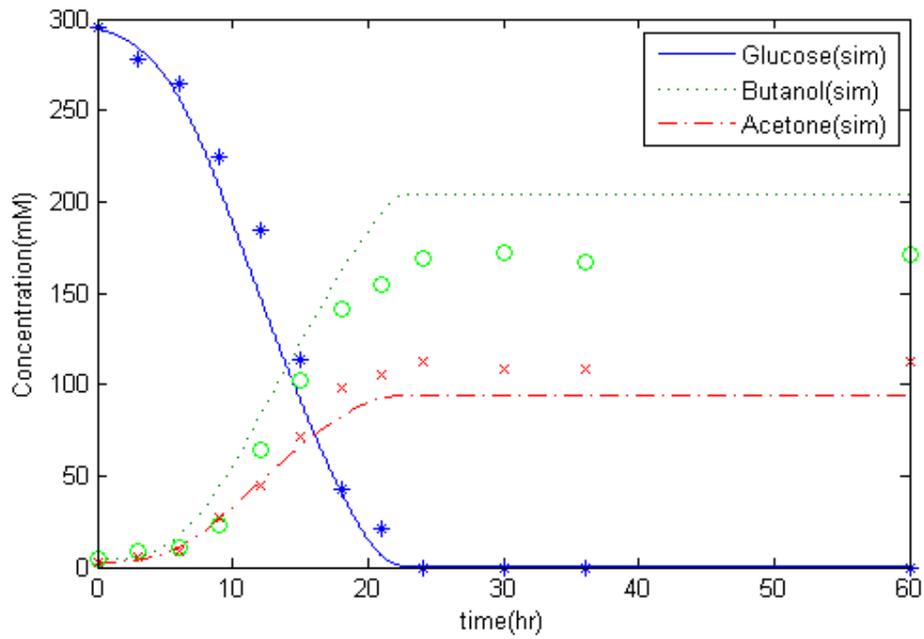


圖 3-13 初始葡萄糖 295mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Glucose(exp) o=Butanol(exp) x=Acetone(exp)

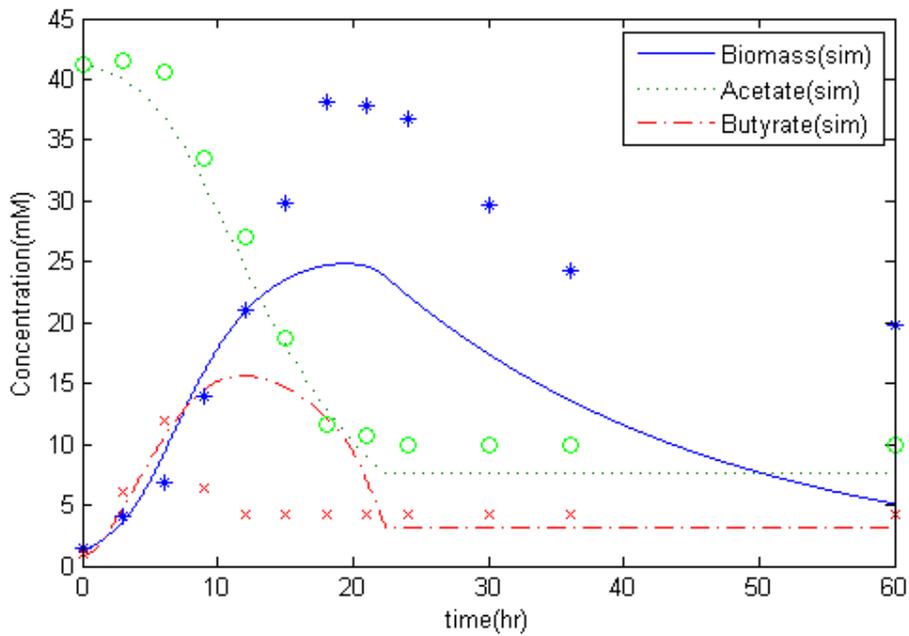


圖 3-14 初始葡萄糖 295mM 濃度下主要代謝產物實驗數據與模擬曲線

\*=Biomass(exp) o=Acetate(exp) x=Byturate(exp)

## 高基質濃度最佳化動態參數

修改後模型以最佳化動態參數模擬結果顯示，在高葡萄糖初始基質濃度295mM時，其Biomass模擬曲線嚴重偏離實驗數據點，因此針對高葡萄糖濃度下，同樣使用隨機模擬退火演算法以最小方差法回歸分析動力學參數，使高基質濃度下模擬曲線更符合實驗數據。高基質濃度最佳化動力學參數模擬數據如表3-5，高基質濃度最佳動力學參數結果如表3-6，使用高基質濃度最佳動力學參數結果以修改後之模型模擬葡萄糖初始濃度295mM模擬曲線與代謝物實驗數據如圖3-15、圖3-16。由圖3-15顯示，使用高基質濃度最佳化動力學參數可使Biomass模擬曲線在初始基質濃度295mM時，更符合實驗數據。

表 3-5 高初始基質濃度最佳化動力學參數模擬數據

動態 參數 模擬 次數	$d_1$	$d_2$	$d_3$	$d_4$	$f_1$	$f_2$	$f_3$	$f_4$	G
1	255.2987	532.4277	201.3329	261.2192	0.0767	297.3427	470.3334	65.0577	21.8596
2	19.6707	452.4237	142.3557	381.0445	333.0360	511.9980	320.8096	8.0300	21.9929
3	171.2452	229.3856	165.1707	231.0058	0.0688	502.2201	355.2377	405.1087	21.8662
4	171.0204	134.2666	27.7062	109.6903	0.0000	32.4075	218.6067	67.4558	21.8605
5	344.7956	157.2239	519.6756	287.1417	0.2119	459.6727	426.5808	9.4719	21.8590
6	135.0030	334.0705	305.9576	72.9851	0.3316	387.3592	233.8508	12.3099	21.8584
7	358.5320	97.2144	312.9106	214.0668	0.0623	427.6119	521.9028	173.3194	21.8608
8	135.0030	334.0705	305.9576	72.9851	0.3316	387.3592	233.8508	12.3099	21.8584
9	113.3901	468.3358	67.5106	298.9344	0.1139	259.1954	375.0775	254.5871	21.8626
10	194.5671	476.4088	147.6147	24.6207	0.2612	311.3556	583.8687	21.8125	21.8583

表 3-6 高初始基質濃度最佳化動力學參數結果

參數	單位	最佳值	物理意義	範圍
$d_1$		194.5671	丁醇濃度修正係數	0-600
$d_2$	(mM) <sup>-1</sup>	476.4088	丁醇濃度修正係數	0-600
$d_3$		147.6147	丁醇濃度修正係數	0-600
$d_4$	(mM) <sup>-1</sup>	24.6207	丁醇濃度修正係數	0-600
$f_1$		0.2612	葡萄糖濃度修正係數	0-600
$f_2$	(mM) <sup>-1</sup>	311.3556	葡萄糖濃度修正係數	0-600
$f_3$		583.8687	葡萄糖濃度修正係數	0-600
$f_4$	(mM) <sup>-1</sup>	21.8125	葡萄糖濃度修正係數	0-600

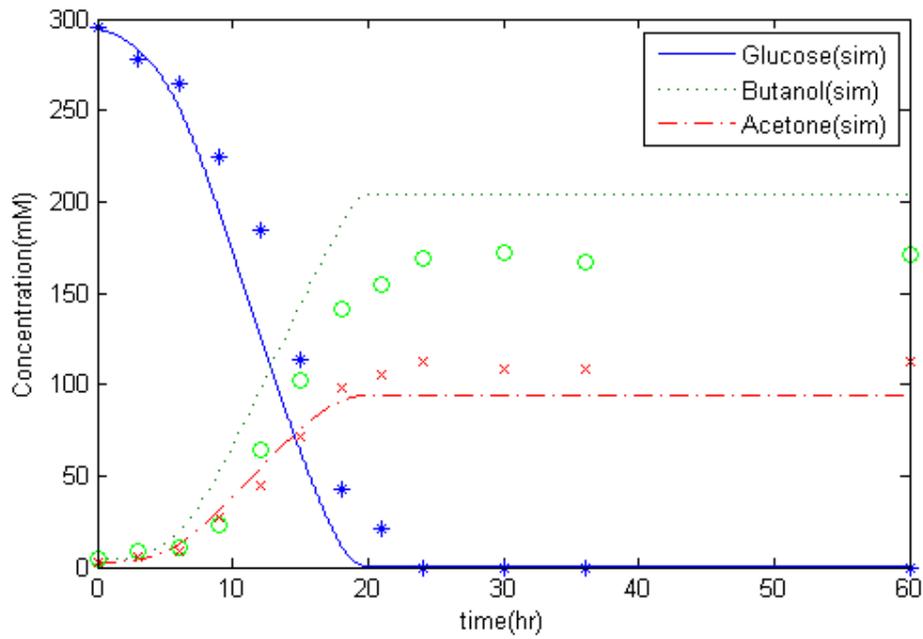


圖 3-15 高基質動態參數葡萄糖 295mM 初濃度代謝物實驗數據與模擬曲線

\*=Glucose(exp) o=Butanol(exp) x=Acetone(exp)

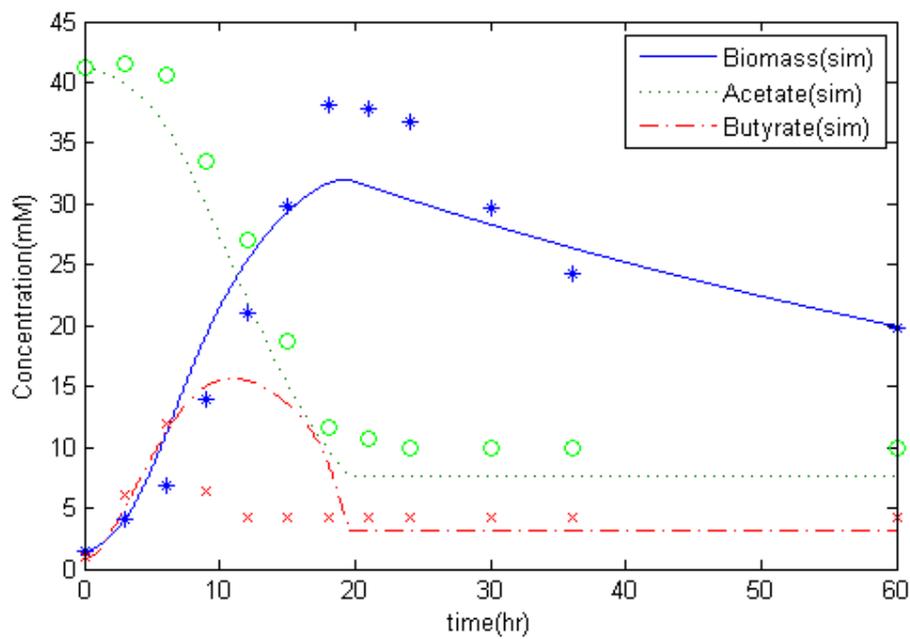


圖 3-16 高基質動態參數葡萄糖 295mM 初濃度代謝物實驗數據與模擬曲線

\*=Biomass(exp) o=Acetate(exp) x=Byturate(exp)

### 3.3 滲透蒸發薄膜建模

在過去的十年中，許多研究集中於酒精發酵的產物回收步驟的整合，以開發一種低成本為目的的酒精生產程序。醇的回收通過膜技術相較於傳統的蒸餾方法能減少能量的消耗，可降低總體的製程成本。目前已研究適合的回收丁醇方法包括滲透蒸發、滲透萃取、汽提、吸附和萃取。在這些研究中，主要著重在回收方法的選擇性和產量。

在ABE發酵程序中，有基質和產物抑制的因素，丁醇在低濃度(4-6g/l)抑制微生物生長；並在濃度約20g/l時停止了微生物的生長，這導致了低生產效率、低產量和高成本的分離方法。滲透蒸發是一個有前途的技術，已被用來結合ABE發酵程序，這個技術主要用來分離所生產的丁醇，提高葡萄糖的消耗和較高的丁醇產量。滲透蒸發分離技術較其他分離方法具有低能耗的優點，未來極具潛力。

使用J. Wenchang和S. Sikdar的數學模型來描述滲透蒸發程序的過程<sup>[24]</sup>，假設描述該質傳機制如圖3-17所示，可分成三個步驟，通過滲透膜進料側的邊界層滲透通量、通過薄膜的通量、通過滲透膜氣相側的邊界層滲透通量。

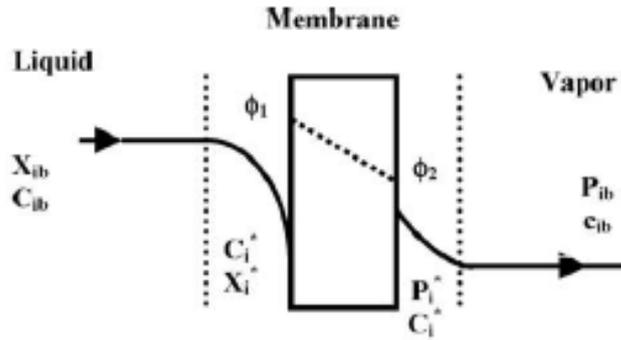


圖 3-17 滲透蒸發膜質傳機制示意圖<sup>[25]</sup>

通過滲透膜進料側的邊界層滲透通量描述如下所示<sup>[25]</sup>：

$$J_i = k_L \rho_L (X_{ib} - X_i^*) \quad (3.42)$$

上式提出  $\frac{1}{P_i^o \gamma_i}$  整理後如下所示：

$$J_i = \frac{k_L \rho_L}{P_i^o \gamma_i} (P_i^o \gamma_i X_{ib} - P_i^o \gamma_i X_i^*) \quad (3.43)$$

通過薄膜的通量描述如下所示<sup>[25]</sup>：

$$J_i = Q_i^m \frac{dP}{dz} \quad (3.44)$$

(3.44)式移項做積分

$$J_i \int_0^l dz = Q_i^m \int_{P_i^*}^{P_i^o \gamma_i X_i^*} dP \quad (3.45)$$

$$J_i l = Q_i^m (P_i^o \gamma_i X_i^* - P_i^*) \quad (3.46)$$

$$J_i = \frac{Q_i^m}{l} (P_i^o \gamma_i X_i^* - P_i^*) \quad (3.47)$$

通過滲透膜氣相側的邊界層滲透通量描述如下所示<sup>[25]</sup>：

$$J_i = k_V (P_i^* - P_{ib}) \quad (3.48)$$

將上列獲得的三個式子(3.43)、(3.47)、(3.48)做結合：

$$J_i = \frac{k_L \rho_L}{P_i^o \gamma_i} (P_i^o \gamma_i X_{ib} - P_i^o \gamma_i X_i^*) \quad (3.49)$$

$$J_i = \frac{Q_i^m}{l} (P_i^o \gamma_i X_i^* - P_i^*) \quad (3.50)$$

$$J_i = k_V (P_i^* - P_{ib}) \quad (3.51)$$

(3.49)、(3.50)、(3.51)三式移項：

$$(P_i^o \gamma_i X_{ib} - P_i^o \gamma_i X_i^*) = \frac{J_i}{\frac{k_L \rho_L}{P_i^o \gamma_i}} \quad (3.52)$$

$$(P_i^o \gamma_i X_i^* - P_i^*) = \frac{J_i}{\frac{Q_i^m}{l}} \quad (3.53)$$

$$(P_i^* - P_{ib}) = \frac{J_i}{k_V} \quad (3.54)$$

再將上列三式(3.52)、(3.53)、(3.54)相加：

$$(P_i^o \gamma_i X_{ib} - P_i^o \gamma_i X_i^*) + (P_i^o \gamma_i X_i^* - P_i^*) + (P_i^* - P_{ib}) = J_i \left( \frac{1}{\frac{k_L \rho_L}{P_i^o \gamma_i}} + \frac{1}{\frac{Q_i^m}{l}} + \frac{1}{k_V} \right) \quad (3.55)$$

$$(P_i^o \gamma_i X_{ib} - P_{ib}) = J_i \left( \frac{1}{\frac{\frac{P_i^o \gamma_i}{k_L \rho_L}}{l} + \frac{1}{Q_i^m} + \frac{1}{k_V}} \right) \quad (3.56)$$

移項獲得：

$$J_i = \frac{(P_i^o \gamma_i X_{ib} - P_{ib})}{\frac{P_i^o \gamma_i}{k_L \rho_L} + \frac{l}{Q_i^m} + \frac{1}{k_V}} \quad (3.57)$$

$$\text{令 } \frac{1}{\frac{P_i^0 \gamma_i}{k_L \rho_L} + \frac{l}{Q_i^m} + \frac{1}{k_V}} = K_{OV} \quad (3.58)$$

$$\text{則 } J_i = K_{OV} (P_i^0 \gamma_i X_{ib} - P_{ib}) \quad (3.59)$$

其中

$$\frac{1}{K_{OV}} = \frac{P_i^0 \gamma_i}{k_L \rho_L} + \frac{l}{Q_i^m} + \frac{1}{k_V} \quad (3.60)$$

槽內工作體積隨時間變化由下列方程式表示<sup>[25]</sup>：

$$\frac{dV^T}{dt} = -J_{tot} \frac{A_m}{\rho} \quad (3.61)$$

丁醇隨時間變化描述如下所示<sup>[25]</sup>：

$$\frac{d(C_b^T V^T)}{dt} = -J_b A_m \quad (3.62)$$

使用乘積法則

$$\frac{d(C_b^T V^T)}{dt} = V^T \frac{dC_b}{dt} + C_b \frac{dV^T}{dt} = -J_b A_m \quad (3.63)$$

將(3.61)式代入(3.63)式整理並移項

$$V^T \frac{dC_b}{dt} + C_b \left( -J_{tot} \frac{A_m}{\rho} \right) = -J_b A_m \quad (3.64)$$

$$\frac{dC_b}{dt} = \frac{-J_b A_m - C_b \left( -J_{tot} \frac{A_m}{\rho} \right)}{V^T} \quad (3.65)$$

其中

$$J_b = K \left( C_{ib} - \frac{P_{ib}}{\alpha} \right) \quad (3.66)$$

$$K = K_{OV}\alpha \quad (3.67)$$

$$\alpha = \frac{P_i^0 \gamma_i}{\rho_L} \quad (3.68)$$

$$J_{tot} = \sum J_i \quad (3.69)$$

$$\rho = \sum C_i \quad (3.70)$$

poly(ether-block-amide)(PEBA)和 polydimethylsiloxane(PDMS)這兩種薄膜材料在過去一直被用在滲透蒸發系統探討移除丁醇的影響<sup>[4]</sup>，西元 2012 年 Hong-Wei Yen 等人提出了此兩種材料對移除丁醇的比較報告<sup>[5]</sup>，結果顯示在模擬溶液中，以 PEBA 薄膜相較於 PDMS 薄膜有較高的丁醇移除速率，且 PEBA 薄膜對於丙酮也有不錯的移除能力。因此本研究以薄膜材料 PEBA 進行模擬，藉由文獻中實驗條件找出薄膜的最佳化動態參數，其配置溶液為 8 g/L 丁醇、4 g/L 丙酮、1.33 g/L 乙醇、3.5 g/L 乙酸和丁酸之模擬溶液 1000 ml，PEBA 薄膜有效面積為 0.08 m<sup>2</sup>、厚度為 50 μm<sup>[5]</sup>。由於 PEBA 薄膜會分離丁醇、丙酮、乙醇、乙酸和丁酸，因此對此五種代謝物以方程式 (3.65)、(3.66)建模，槽內代謝物濃度隨時間變化如下所示：

$$\frac{dC_b}{dt} = \frac{-J_b A_m - C_b \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.71)$$

$$\frac{dC_a}{dt} = \frac{-J_a A_m - C_a \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.72)$$

$$\frac{dC_e}{dt} = \frac{-J_e A_m - C_e \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.73)$$

$$\frac{dC_{aa}}{dt} = \frac{-J_{aa} A_m - C_{aa} \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.74)$$

$$\frac{dC_{ba}}{dt} = \frac{-J_{ba} A_m - C_{ba} \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.75)$$

代謝物通量如下所示：

$$J_b = K_1 \left( C_{ib} - \frac{P_{ib}}{\alpha} \right) \quad (3.76)$$

$$J_a = K_2 \left( C_{ia} - \frac{P_{ia}}{\alpha} \right) \quad (3.77)$$

$$J_e = K_3 \left( C_{ie} - \frac{P_{ie}}{\alpha} \right) \quad (3.78)$$

$$J_{aa} = K_4 \left( C_{iaa} - \frac{P_{iaa}}{\alpha} \right) \quad (3.79)$$

$$J_{ba} = K_5 \left( C_{iba} - \frac{P_{iba}}{\alpha} \right) \quad (3.80)$$

其中為 $J$ 通量、 $J_{tot}$ 為總通量、 $V^T$ 為槽內工作體積、 $A_m$ 為薄膜有效面積、 $\rho$ 為溶液密度、 $C$ 為濃度、下標 $a$ 、 $b$ 、 $e$ 、 $aa$ 、 $ba$ 分別代表丙酮、丁醇、乙醇、乙酸、丁酸。

使用隨機模擬退火演算法，設定目標函數為最小方差法回歸分析模擬溶液內丙酮、丁醇、乙醇模擬值與實驗值誤差總和，由於文獻無提供乙酸和丁酸的實驗數據，因此以乙酸和丁酸的平均通量計算與模擬值的誤差，

找出最佳化滲透蒸發薄膜模型參數，其乙酸平均通量為  $1.022 \text{ g/m}^2\text{h}^{[5]}$ 、丁酸平均通量為  $2.449 \text{ g/m}^2\text{h}^{[5]}$ ，其狀態變量  $Z$  和自變量  $kk$  如下：

$$Z = \{ [Butanol], [Acetone], [Ethanol], [Acetate], [Byturate] \}^T \quad (3.81)$$

$$kk = \{ K_1, K_2, K_3, K_4, K_5, \frac{P_{ib}}{\alpha}, \frac{P_{ia}}{\alpha}, \frac{P_{ie}}{\alpha}, \frac{P_{iaa}}{\alpha}, \frac{P_{iba}}{\alpha} \}^T \quad (3.82)$$

最佳化流程如圖3-18，最佳化滲透蒸發薄膜模型參數模擬數據如表3-7，最佳滲透蒸發薄膜模型參數結果如表3-8，使用最佳滲透蒸發薄膜模型參數結果模擬之模擬曲線與實驗數據如圖3-19、圖3-20，以此滲透蒸發薄膜模型與最佳化滲透蒸發薄膜模型參數進行發酵槽結合滲透蒸發模擬。

電腦計算流程如下所示：

1. 設定初始滲透蒸發薄膜模型參數  $X \left( K_1, K_2, K_3, K_4, K_5, \frac{P_{ib}}{\alpha}, \frac{P_{ia}}{\alpha}, \frac{P_{ie}}{\alpha}, \frac{P_{iaa}}{\alpha}, \frac{P_{iba}}{\alpha} \right)$ 。
2. 隨機產生選定之滲透蒸發薄膜模型參數值  $X_{\text{new}}$ ，其範圍在選定的上下限之間。
3. 將隨機產生之滲透蒸發薄膜模型參數數值代入批次分離系統模型。
4. 使用常微分方程解算器計算批次分離模擬系統變量。
5. 計算目標函數(Objective function): 使用最小方差法計算模擬值與實驗值誤差。
6. 結合模擬退火演算法去計算目前解是否為最佳解，其解為最佳解則進入

到下一步驟，不是則回到步驟一。

7. 得到最後的最佳參數解( $\mathbf{X}_{opt}$ )。

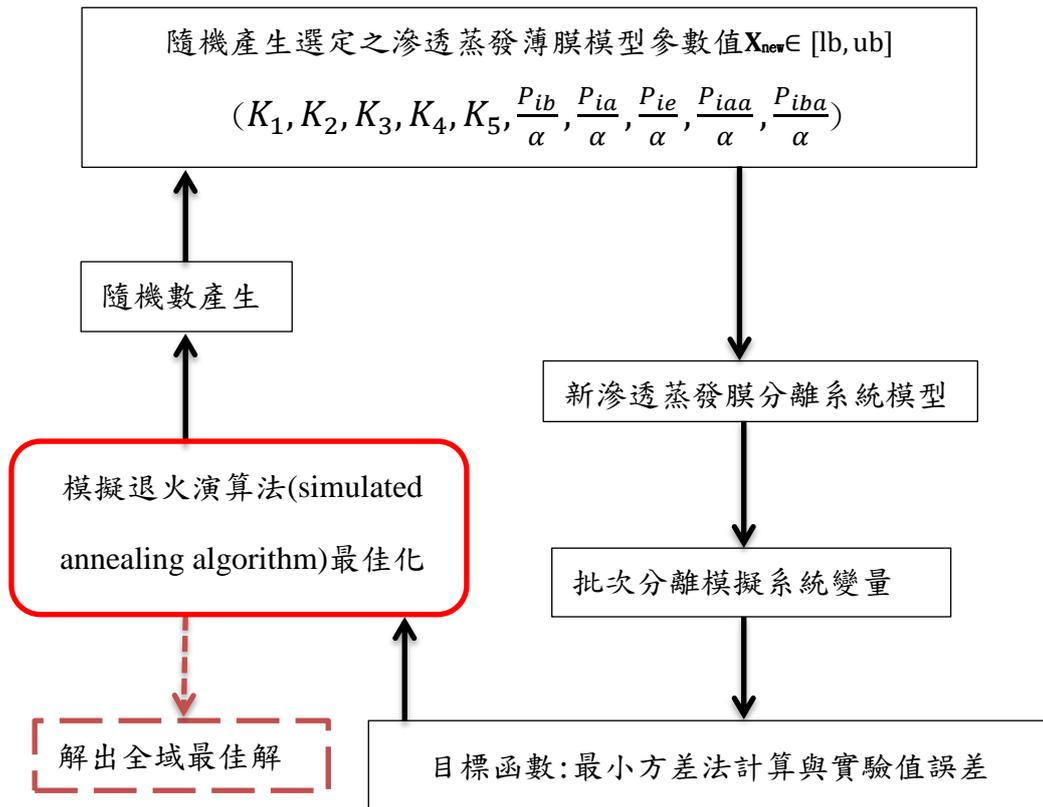


圖 3-18 滲透蒸發薄膜最佳化動力學參數流程圖

表 3-7 最佳化滲透蒸發薄膜模型參數模擬數據

動態 參數 模擬 次數	$K_1$	$K_2$	$K_3$	$K_4$	$K_5$	$\frac{P_{ib}}{\alpha}$	$\frac{P_{ia}}{\alpha}$	$\frac{P_{ie}}{\alpha}$	$\frac{P_{iaa}}{\alpha}$	$\frac{P_{iba}}{\alpha}$	G
1	1.4571	1.2621	2.4377	0.3208	1.0630	3.8997	4.1482	4.9391	3.8381	2.4496	0.9728
2	1.4566	1.2355	2.3428	0.3205	0.9823	1.7998	1.9103	4.6736	4.3014	4.6421	0.9218
3	1.5812	1.3468	2.0463	0.3227	1.0970	4.1488	3.3315	4.9686	2.7935	2.6824	0.8963
4	1.5176	1.2121	2.0964	0.3302	1.2675	1.4146	1.1580	4.6335	3.8812	1.9061	0.8901
5	1.6388	1.2324	2.3759	0.3537	0.9647	3.9004	2.7998	4.9811	1.5313	0.0201	0.8119
6	1.5503	1.2376	2.0586	0.3258	0.9001	0.8824	2.2050	4.0268	0.7576	0.4024	0.8662
7	1.5725	1.3060	2.1115	0.3438	1.2898	2.6674	2.0714	4.0000	0.6331	1.1433	0.9684
8	1.5428	1.3092	1.8569	0.3243	0.7606	1.5920	4.8434	2.5793	3.0180	0.0218	0.9959
9	1.7340	1.1301	2.0974	0.2671	1.2014	4.6061	1.4679	3.3050	1.8835	4.5259	1.0833
10	1.5693	1.3246	2.4243	0.3195	0.9588	4.9727	2.5634	4.8588	1.0249	0.9514	0.9035

表 3-8 最佳化滲透蒸發薄膜模型參數結果

參數	單位	最佳值	物理意義	範圍
$K_1$	m/h	1.6388	丁醇總質傳係數	0-5
$K_2$	m/h	1.2324	丙酮總質傳係數	0-5
$K_3$	m/h	2.3759	乙醇總質傳係數	0-5
$K_4$	m/h	0.3537	乙酸總質傳係數	0-5
$K_5$	m/h	0.9647	丁酸總質傳係數	0-5
$\frac{P_{ib}}{\alpha}$	mM	3.9004	氣相側丁醇分壓	0-5
$\frac{P_{ia}}{\alpha}$	mM	2.7998	氣相側丙酮分壓	0-5
$\frac{P_{ie}}{\alpha}$	mM	4.9811	氣相側乙醇分壓	0-5
$\frac{P_{iaa}}{\alpha}$	mM	1.5313	氣相側乙酸分壓	0-5
$\frac{P_{iba}}{\alpha}$	mM	0.0201	氣相側丁酸分壓	0-5

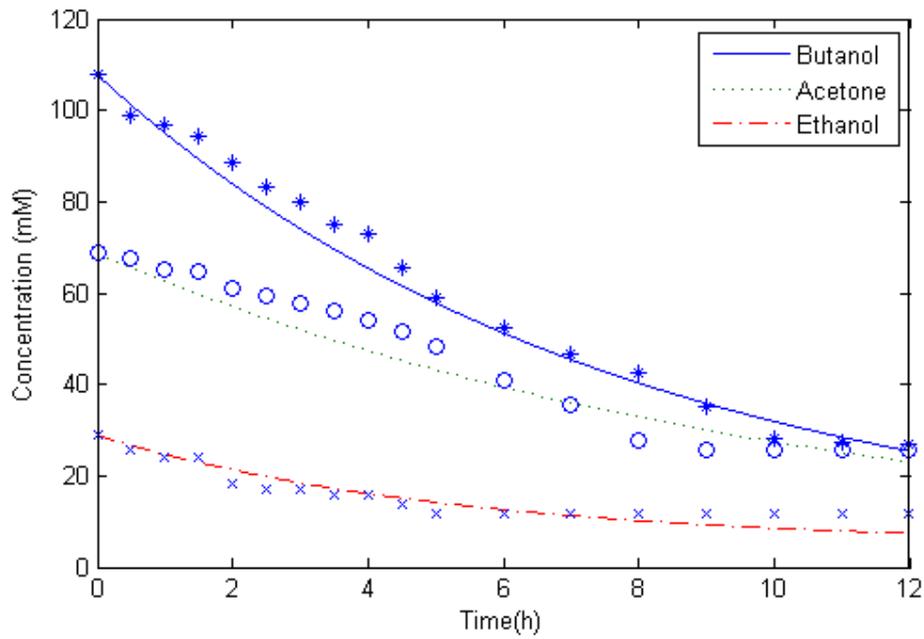


圖 3-19 模擬溶液內丁醇、丙酮、乙醇濃度隨時間變化模擬曲線與實驗數據

\*=Butanol(exp) o=Acetone(exp) x=Ethanol(exp)

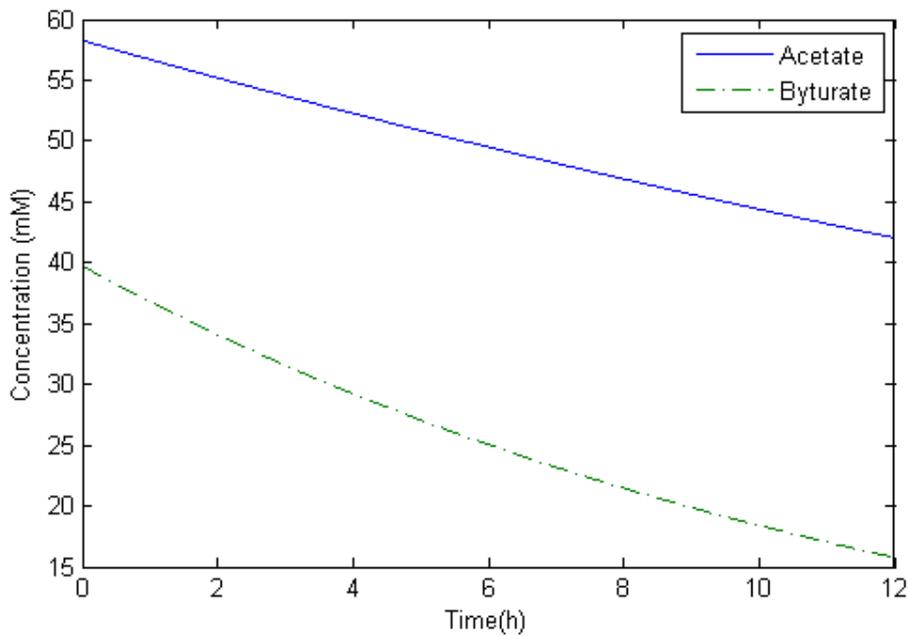


圖 3-20 模擬溶液內乙酸、丁酸濃度隨時間變化模擬曲線

### 3.4 批次生質丁醇發酵結合滲透蒸發薄膜分離

在生質丁醇發酵程序中，微生物細胞會受到嚴重的產物抑制效應，因此，本研究以修改後批次代謝路徑結構模型結合滲透蒸發薄膜分離產物進行最佳化模擬，以達降低產物抑制效應與最大化產物生產目標。將代謝路徑仿真模型內，各產物濃度隨時間變化結合滲透蒸發薄膜分離，其修改後的模型如下所示：

$$\frac{d[\text{Butanol}]}{dt} = r_{19} + \frac{-J_b A_m - [\text{Butanol}] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.83)$$

$$\frac{d[\text{Acetone}]}{dt} = r_{16} + \frac{-J_a A_m - [\text{Acetone}] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.84)$$

$$\frac{d[\text{Ethanol}]}{dt} = r_{11} + \frac{-J_e A_m - [\text{Ethanol}] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.85)$$

$$\frac{d[\text{Acetate}]}{dt} = r_9 - r_7 - r_8 + \frac{-J_{aa} A_m - [\text{Acetate}] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.86)$$

$$\frac{d[\text{Byturate}]}{dt} = r_{18} - r_{15} - r_{17} + \frac{-J_{ba} A_m - [\text{Byturate}] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V^T} \quad (3.87)$$

代謝物通量如下所示：

$$J_b = K_1 \left( [\text{Butanol}] - \frac{P_{ib}}{\alpha} \right) \quad (3.88)$$

$$J_a = K_2 \left( [\text{Acetone}] - \frac{P_{ia}}{\alpha} \right) \quad (3.89)$$

$$J_e = K_3 \left( [\text{Ethanol}] - \frac{P_{ie}}{\alpha} \right) \quad (3.90)$$

$$J_{aa} = K_4 \left( [Acetate] - \frac{P_{iaa}}{\alpha} \right) \quad (3.91)$$

$$J_{ba} = K_5 \left( [Byturate] - \frac{P_{iba}}{\alpha} \right) \quad (3.92)$$

槽內工作體積隨時間變化由下列方程式表示：

$$\frac{dV^T}{dt} = -J_{tot} \frac{A_m}{\rho} \quad (3.93)$$

其中為 $J$ 通量、 $J_{tot}$ 為總通量、 $V^T$ 為槽內工作體積、 $A_m$ 為薄膜有效面積、 $\rho$ 為溶液密度、下標 $b$ 、 $a$ 、 $e$ 、 $aa$ 、 $ba$ 分別代表丁醇、丙酮、乙醇、乙酸、丁酸。

本研究對兩種初始基質濃度進行最佳化模擬，各代謝物的起始濃度值如表3-9所示，初始基質濃度150mM使用修改後發酵槽最佳化動態參數；初始基質濃度300mM則使用修改後高基質濃度發酵槽最佳化動態參數。使用隨機模擬退火演算法，設定目標函數為丁醇總產量，找出最佳化的滲透蒸發薄膜開關時間點及有效滲透蒸發面積，其狀態變量Z和自變量kk如下：

$$Z = \{ [Glucose], [F6P], [G3P], [Pyruvate], [Lactate], [ACoA], [Biomass], [Acetate], [Ethanol], [AACoA], [Acetoacetate], [BCoA], [Butyrate], [Acetone], [Butanol], [CO_2] \}^T \quad (3.94)$$

$$kk = \{ T_{total}, T_{on}, T_{off}, Am \}^T \quad (3.95)$$

其中 $T_{total}$ 為總發酵時間， $T_{on}$ 為開啟滲透蒸發薄膜分離時間點， $T_{off}$ 為關閉滲透蒸發薄膜分離時間點， $Am$ 為滲透蒸發薄膜的有效面積。

表 3-9 兩種葡萄糖起始濃度中各代謝物的起始濃度

Glucose(mM)	Biomass(mM)	Acetate(mM)	Acetone(mM)	Butyrate(mM)	Butanol(mM)
150	1.53	40.0	2.00	1.95	3.83
300	1.53	40.0	2.00	1.95	3.83

最佳化流程如圖3-20，初始基質濃度150 mM最佳化動態參數模擬數據如表3-10；初始基質濃度300 mM最佳化動態參數模擬數據如表3-11。

電腦計算流程如下所示：

1. 設定初始滲透蒸發薄膜模型操作參數 $X(T_{total}, T_{on}, T_{off}, Am)$ 。
2. 隨機產生選定之滲透蒸發薄膜模型操作參數值 $X_{new}$ ，其範圍在選定的上下

限之間。

3. 將隨機產生之滲透蒸發薄膜模型操作參數值代入生化反應動力學結合滲透蒸發薄膜分離系統模型。
4. 使用常微分方程解算器計算批次動態模擬系統變量。
5. 計算目標函數(Objective function): 計算丁醇總產量(mmole)。
6. 結合模擬退火演算法去計算目前解是否為最佳解，其解為最佳解則進入到下一步驟，不是則回到步驟一。
7. 得到最後的最佳參數解( $\mathbf{X}_{opt}$ )。

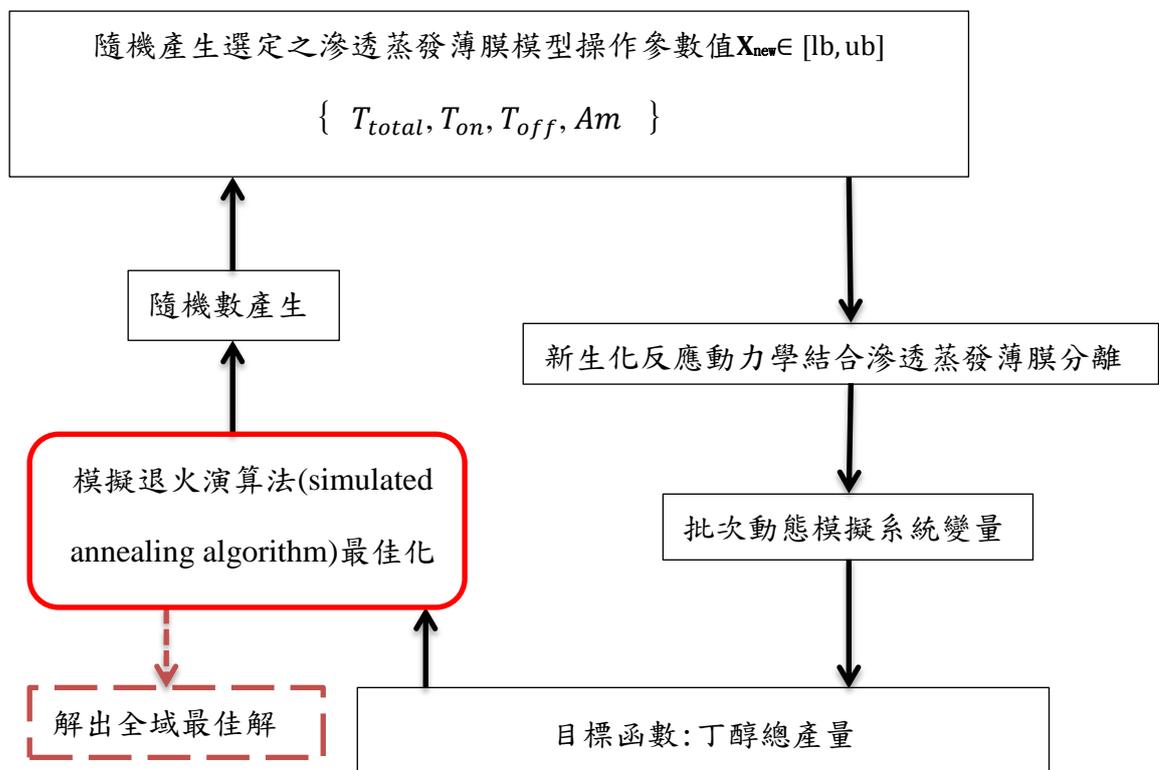


圖 3-21 批次發酵槽結合滲透蒸發薄膜分離最佳化流程圖

表 3-10 初始基質濃度 150mM 批次結合滲透蒸發膜最佳化滲透蒸發薄膜模

型操作參數模擬數據

動態 參數 模擬 次數	$T_{on}(hr)$	$T_{off}(hr)$	$T_{total}(hr)$	$Am(m^2)$	G=Total Butanol (mmole)
1	15.9152	57.5282	85.8247	0.1838	31.8068
2	15.8892	46.0358	89.6566	0.0019	31.8068
3	9.2543	18.6408	43.9778	0.0000	31.8068
4	11.1278	49.4482	56.4324	0.0000	31.8068
5	15.9178	90.0174	98.8957	0.0061	31.8068
6	8.9211	30.1216	40.5802	0.0000	31.8068
7	15.8793	33.5032	77.5844	0.0361	31.8068
8	7.5088	12.6858	73.3656	0.0000	31.8068

表 3-11 初始基質濃度 300mM 批次結合滲透蒸發膜最佳化滲透蒸發薄膜模型操作參數模擬數據

動態 參數 模擬 次數	$T_{on}(hr)$	$T_{off}(hr)$	$T_{total}(hr)$	$Am(m^2)$	G=Total Butanol (mmole)
1	70.8373	70.9565	95.5832	0.8980	61.9786
2	44.5079	44.5365	79.4785	0.8390	61.9786
3	0.8316	13.9891	93.1916	0.0000	61.9786
4	82.5737	82.7985	97.2827	0.6902	61.9786
5	64.1746	64.6442	66.9362	0.4025	61.9786
6	25.1616	25.2638	98.7271	0.7530	61.9786
7	81.5467	81.6314	91.2999	0.5883	61.9786
8	3.4912	29.1561	49.8971	0.0000	61.9786

由表3-10、表3-11的結果顯示，批次發酵槽在初始基質濃度150mM和300mM下，結合滲透蒸發薄膜找出最佳化滲透蒸發薄膜開關時間點及有效滲透蒸發面積，有以下兩種結果：

1. 滲透蒸發薄膜有效面積為零。
2. 滲透蒸發薄膜有效面積不為零，開啟膜分離時間點在基質耗盡之後。

當滲透蒸發薄膜有效面積為零時，最佳化丁醇總產量結果等於未結合滲透蒸發薄膜之批次系統；有滲透蒸發薄膜有效面積時，最佳化開啟膜分離時間點皆在基質耗盡之後，基質耗盡後，細胞代謝便會終止使代謝產物停止生產，因此基質耗盡後開啟膜分離之丁醇總產量結果皆與批次相同。造成這種結果的主要原因是由於選用之PEBA薄膜除了會分離丁醇、丙酮、乙醇之外，還會分離乙酸和丁酸，而在ABE發酵過程中分為兩階段，分別為產酸期(acidogenesis) 階段和溶劑生產期(solventogenesis)階段，產酸期(acidogenesis)過程中，細胞呈指數生長，ATP形成的同時生產出乙酸(Acetic acid)和丁酸(Butyric acid)；在溶劑生產期(solventogenesis)階段，細胞生長達到穩定期，有機酸被吸收，產出丙酮，丁醇和乙醇。當滲透蒸發系統產酸階段開始進行，可能導致丁酸透過滲透蒸發系統移除，進一步降低丁醇的生產。因此，在沒有足夠嚴重的基質和產物抑制環境下，批次發酵生產丁醇的總產量會優於批次結合滲透蒸發薄膜分離系統。

## 第四章 動態最佳化建構與結果討論

### 4.1 六參數圖譜生成演算法

為了成功地應用模擬退火演算法於半連續式生物程序中的動態最佳化，需要有能夠反映出生物動力學細微性質的圖譜控制結構，一個適合的方法必須符合不連續性和非線性曲線。

2002 年 Choong 提出圖譜生成演算法(Profile Generator Algorithm, PGA)，使用六個參數來表現不同曲線的特徵，包括凹度(concavity)、凸度(convexity)和線性度(linearity)，可用來生產空間或時間中多樣的連續方程式曲線系統。其提出六參數圖譜的數學公式，由兩種不同類型的指數函數組成如下<sup>[26]</sup>：

Type 1 :

$$X(t) = X_F - (X_F - X_0) \cdot \left[1 - \frac{t}{t_{total}}\right]^{a_1} \quad (4.1)$$

Type 2 :

$$X(t) = X_0 - (X_0 - X_F) \cdot \left[\frac{t}{t_{total}}\right]^{a_2} \quad (4.2)$$

其中 X 是任意控制變量在任意空間或時間 t 的瞬時值， $X_0$ 和 $X_F$ 分別為控制變量的初始值和最終值，原則上，X 可以是任何控制變量，例如溫度、反應物進料速率、蒸發速率、熱移除或供給等。 $t_{total}$ 是圖譜的總距離或時間，指數函數中的指數 $a_1$ 和 $a_2$ 皆為大於等於 1 的正數，其值的大小關於控制曲

線的凸度和凹度。其中 Type 1 與 Type 2 曲線的典型圖形分別如圖 4-1(a)和 (b)。

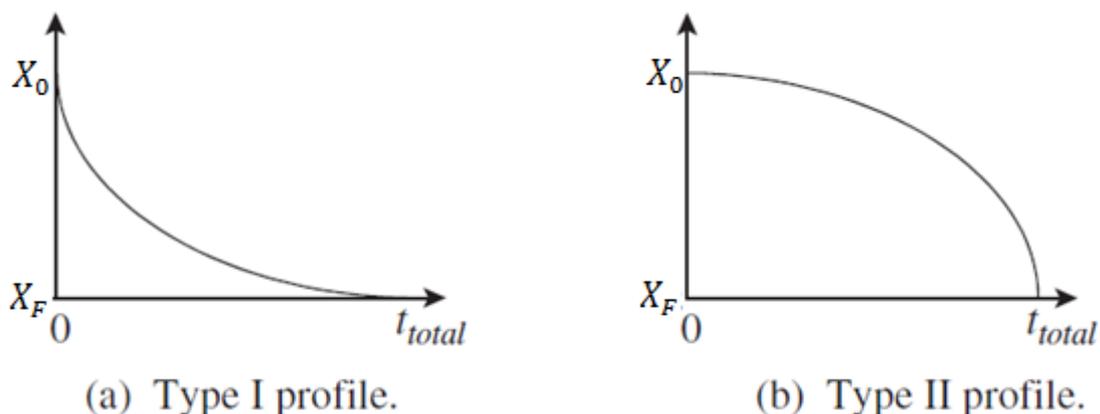


圖 4-1 兩個基本圖譜<sup>[27]</sup>

組合這兩個圖譜以空間或時間作為自變數，以模擬產生實際設計執行之各式類型的連續曲線。演算法中除了 Type 2 與 Type 1 個別曲線之四個參數外，當兩個圖譜結合時，須由另外兩個曲線的接聯參數進行控制； $t_{inter}$  的值代表兩個曲線在空間或時間相接的點， $X_{inter}$  表示控制變量在曲線相接相對應的值。假設新的中間位置分率參數( $tb_1$ )定義為  $t_{inter}$  與總時間長度( $t_{total}$ )之比率，因此其值範圍  $tb_1 \in [-1,1]$ 。圖譜的組合可以有兩種情況，分別為 Type 1+Type 2 及 Type 2+Type 1，其組合圖形如圖 4-2、圖 4-3 所示，每個單元的六參數圖譜可以由數學改寫如下<sup>[27]</sup>：

(1) Type 1+Type 2 :

Type 1 :

$$X(t) = X_{inter} - (X_{inter} - X_0) \cdot \left[ \frac{t_{inter}-t}{t_{inter}} \right]^{a_1}, 0 < t \leq t_{inter} \quad (4.3)$$

Type 2 :

$$X(t) = X_{inter} - (X_{inter} - X_F) \cdot \left[ \frac{t-t_{inter}}{t_{total}-t_{inter}} \right]^{a_2}, t_{inter} < t \leq t_{total} \quad (4.4)$$

(2) Type 2+Type 1 :

Type 2 :

$$X(t) = X_F - (X_F - X_{inter}) \cdot \left[ \frac{t_{total}-t}{t_{total}-t_{inter}} \right]^{a_2}, t_{inter} < t \leq t_{total} \quad (4.5)$$

Type 1 :

$$X(t) = X_0 - (X_0 - X_{inter}) \cdot \left[ \frac{t}{t_{inter}} \right]^{a_1}, 0 < t \leq t_{inter} \quad (4.6)$$

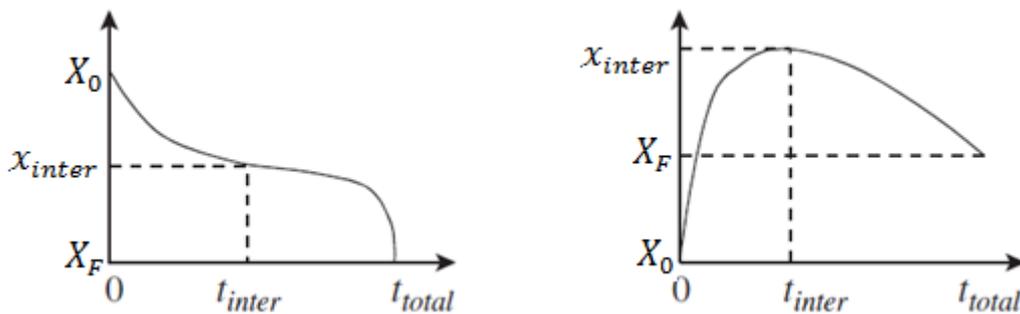


圖 4-2 Type 1+ Type 2 圖譜<sup>[27]</sup>

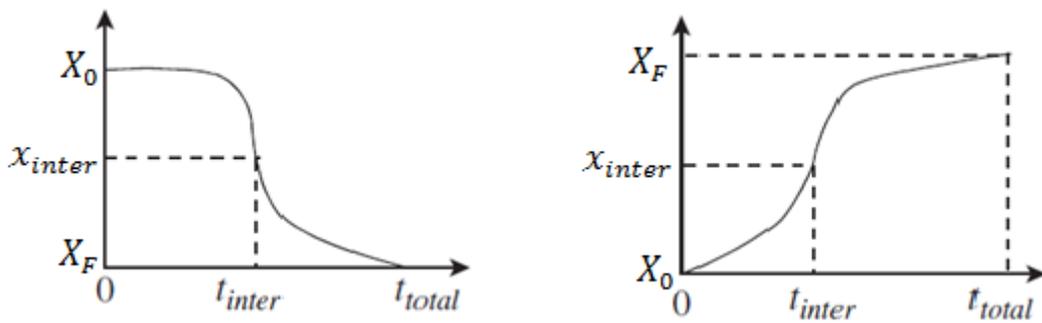


圖 4-3 Type 2+ Type 1 圖譜<sup>[27]</sup>

圖 4-4 顯示出了通過將兩種類型的曲線結合以不同的順序和操作六個變量來製造的形狀範圍。在少數情況下， $tb_1$  的絕對值等於 0 或 1 時，只有一種類型的圖譜被使用。

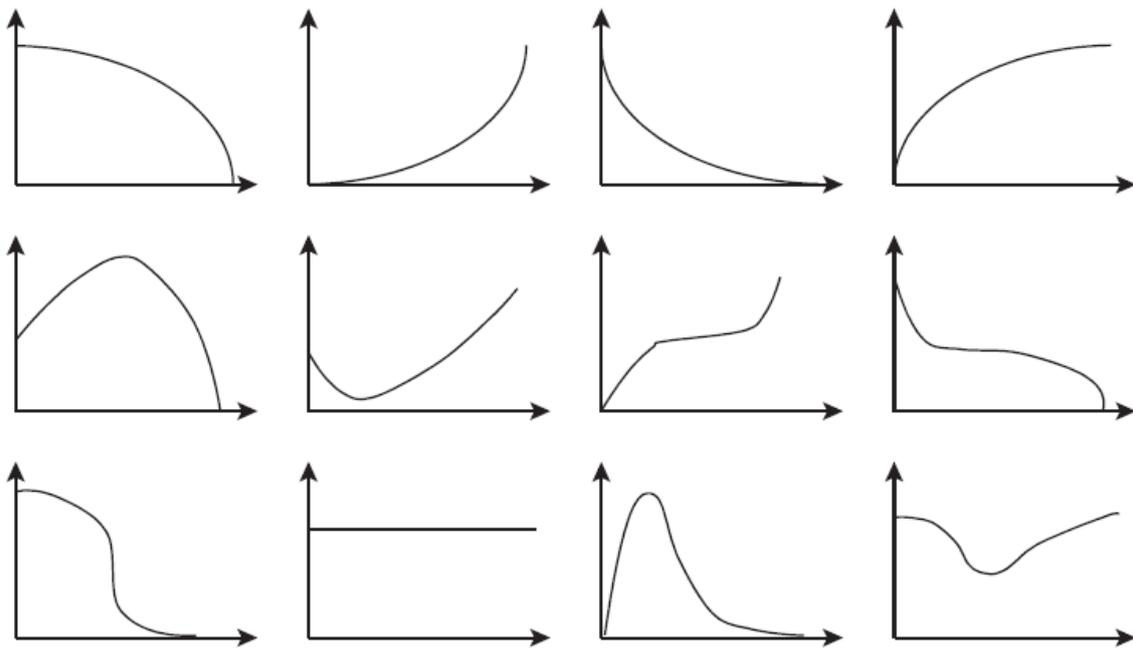


圖 4-4 結合圖譜來產生各種的曲線<sup>[27]</sup>

在設計圖譜時，重點應該放在連續且可以很容易在現實中應用的曲線，因此，具有複雜和不可能實現的嚴重不連續性曲線應避免。從上述方程曲線的組合如 Type 1+Type 2 或 Type 2+Type 1 中，中間點若有顯著的不連續性則不被考慮。圖譜生成器可以在整個空間或時間範圍內很容易地擴展到合併兩個、三個或更多的曲線。然而對於大多數的問題而言，實際上很少有採用多於兩個不同的曲線。

### 六參數圖譜的一階導數

為了表現出更複雜的圖譜，六參數圖譜的一階導數也可以被利用作為一種替代的函數公式，六參數圖譜的一階導數是基於兩種類型的指數函數(4.1)和(4.2)的導數如下<sup>[28]</sup>：

Type 1：

$$\frac{dX}{dt} = \frac{a_1 \cdot (X_F - X_0)}{t_{total}} \cdot \left[ \frac{t_{total} - t}{t_{total}} \right]^{a_1 - 1} \quad (4.7)$$

Type 2：

$$\frac{dX}{dt} = \frac{a_2 \cdot (X_0 - X_F)}{t_{total}} \cdot \left[ \frac{t}{t_{total}} \right]^{a_2 - 1} \quad (4.8)$$

其中的結果表明，一階導數的大小正比於曲率 $a_1$ 和 $a_2$ ，這意味著當一階導數的形式被應用到特定動態制約的最佳化問題時，對自由度有一定的限制。例如，動態制約往往存在於生物程序最佳化問題中的控制和狀態變量，如果六參數圖譜被用來將總進料加入反應器中，一階導數形式涉及的進料速

率項，其限制可能也需要考慮。

## 六參數圖譜的積分

同理，六參數圖譜公式(4.1)和(4.2)積分整合的公式分析分別如下<sup>[28]</sup>：

Type 1：

$$\int_0^t X(t) dt = X_F \cdot t - (X_F - X_0) \cdot \left\{ \frac{-t_{total}}{a_1+1} \right\} \cdot \left\{ \left[ 1 - \frac{t}{t_{total}} \right]^{a_1+1} - 1 \right\} \quad (4.9)$$

Type 2：

$$\int_0^t X(t) dt = X_0 \cdot t - (X_0 - X_F) \cdot \left\{ \frac{t_{total}}{a_2+1} \right\} \cdot \left\{ \left[ \frac{t}{t_{total}} \right]^{a_2+1} \right\} \quad (4.10)$$

其中兩個積分的初始條件假設為零，公式(4.9)的積分常數解可被導出，如果由一個六參數圖譜來描述進料速率，加入生物反應器內總體積的限制將涉及到六參數圖譜的整合。由於控制和狀態變量的限制可能產生可行性的問題，所以不能明確地應用，且問題解只可藉由決策參數的估計可行範圍所直接控制。

除了六個變量控制圖譜的形狀， $t_{total}$ 也可以最佳化，因為批次程序的批次循環時間最佳化在批次程序中是很重要的。這種方法很容易擴展到涉及多個圖譜的問題，例如，在批次結晶程序中，溫度分佈和蒸發圖譜可以同時優化；每個圖譜最佳化使用上述涉及六個參數變量的圖譜方程式。

動態最佳化的模擬部分由給定的控制變量起始猜測值經由圖譜生成演算法隨機生成來執行，如圖 4-5 顯示模擬退火演算法最佳化結合圖譜生成演

算法的架構。在每次迭代中，給定的目標函數同時涉及控制和狀態變量，因此可進行最佳化，其執行步驟如下所示：

1. 設定初始控制圖譜參數 $X_0$ 、 $X_F$ 、 $X_{inter}$ 、 $tb_1$ 、 $a_1$ 、 $a_2$ 。
2. 隨機產生選定之控制圖譜參數值 $X_{new}$ ，其範圍在選定的上下限之間。  
 $X_0$ 、 $X_F$ 、 $X_{inter} \geq 0$ 用來控制流量的範圍； $tb_1 = \frac{t_{inter}}{t_{total}}$ ； $tb_1 \in [-1,1]$ ；  
 $a_1$ 、 $a_2 \geq 1$ 。
3. 將隨機產生之控制圖譜參數值代入半批次生化反應動力學系統模型。
4. 使用模型預測控制器(Model Predictive Control, MPC)判別體積限制條件，以控制進料流量。
5. 使用常微分方程解算器 ode45 計算半批次動態模擬系統變量。
6. 計算目標函數(Objective function)限制條件修正目標函數規避極值：  

$$\text{minimize } f(x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (4.11)$$

$$\text{subject to } g_i(x_1, x_2, \dots, x_n) \geq 0, (i = 1) \quad (4.12)$$
 如果 $g_i$ 在限制條件以外，亦既如( $g_i < 0$ )，則令目標函數 $f$ 為一個極大值。
7. 結合模擬退火演算法去計算目前解是否為最佳解，其解為最佳解則進入到下一步驟，不是則回到步驟一。
8. 得到全域最佳解( $X_{opt}$ )。

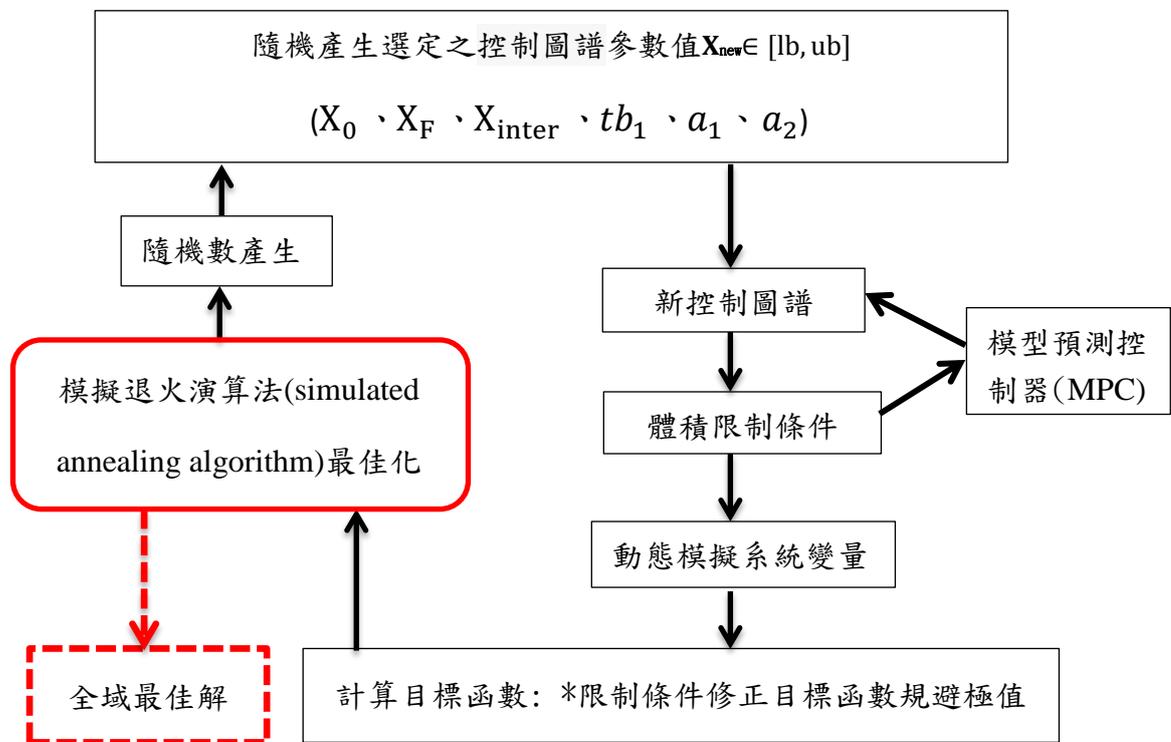


圖 4-5 模擬退火法結合六參數圖譜演算法的流程圖

通過整合修改的圖譜生成器演算法，可生成由非線性和受限制的半連續式生物程序形成的各種複雜的不連續性動態控制圖譜，將其導入模擬退火架構內，得以執行進料速率圖譜隨時間的動態最佳化。圖 4- 6 為預測控制方法的兩個縱向座標：(1)模擬退火法的迭代座標(Iteration axis,  $i$ )、(2)控制(control moves)與預測狀態變數(predicted state)的模擬值；橫向為時間座標，從該初始位置開始， $t_k$ 為當前的時刻，當預測之狀態變數超出其設定點( $X_{sp}$ )，控制器會相對修正該時刻或未來的控制變數的離散值，並且移動到下一個

採樣時刻，完成每一時間點的預測狀態與控制變量修正。本研究模型預測控制器結合六參數圖譜演算法以積分方式計算該時刻工作體積，且該控制器為了避免輸出工作體積(即狀態軌跡)超出設定點，於預測體積達最大體積設定點時，將此時刻後之進料流量調整為零。

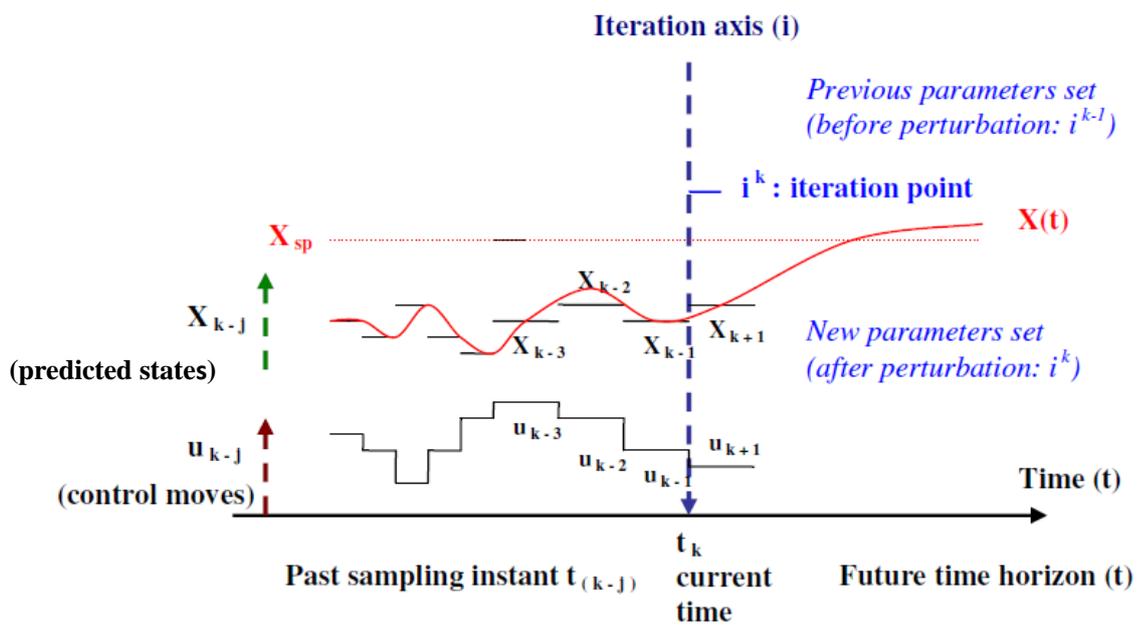


圖 4-6 模型預測控制器示意圖<sup>[28]</sup>

## 4.2 半批次生質丁醇發酵動態最佳化

由於 ABE 發酵有基質和產物抑制的問題存在，導致發酵過程中產物的濃度很低，產物濃度太低則需大量耗能來回收，使得回收成本上升。半批次發酵是一種有用的改善方法，半批次發酵初始基質濃度較低，產物抑制減弱，使得細胞濃度和丁醇的生產強度有所提高。將代謝路徑仿真模型由批次修改成半批次，修改後的模型如下所示：

$$\frac{d[Glucose]}{dt} = -r1 + \frac{F \times (S_f - [Glucose])}{V} \quad (4.13)$$

$$\frac{d[Biomass]}{dt} = r12 - r13 - \frac{F}{V} \times [Biomass] \quad (4.14)$$

$$\frac{d[Lactate]}{dt} = r5 - r4 - \frac{F}{V} \times [Lactate] \quad (4.15)$$

$$\frac{d[Acetate]}{dt} = r9 - r7 - r8 - \frac{F}{V} \times [Acetate] \quad (4.16)$$

$$\frac{d[Ethanol]}{dt} = r11 - \frac{F}{V} \times [Ethanol] \quad (4.17)$$

$$\frac{d[Byturate]}{dt} = r18 - r15 - r17 - \frac{F}{V} \times [Byturate] \quad (4.18)$$

$$\frac{d[Acetone]}{dt} = r16 - \frac{F}{V} \times [Acetone] \quad (4.19)$$

$$\frac{d[Butanol]}{dt} = r19 - \frac{F}{V} \times [Butanol] \quad (4.20)$$

$$\frac{dV}{dt} = F \quad (4.21)$$

本研究在半批次反應器加入與文獻批次反應器初始基質濃度70.6mM數據相同基質的量，設定進料基質濃度500g/l，先計算出該初始基質濃度下批次內的基質總克數；例：70.6mM乘上最大工作體積0.3L再乘上基質毫莫耳質量0.18g/mole可得基質總克數3.812g，再以進料濃度計算3.812g除以500g/l可得所需加入的進料體積0.007624L；最大工作體積與進料體積相減0.3L減0.007624L即可得初始體積0.292376L，以修改後發酵槽最佳化動態參數使用模擬退火演算法結合圖譜生成演算法進行最佳化模擬，設定三種目標函數分別為最終丁醇濃度、單位消耗基質產量、生產率，尋找修改後半批次反應器之最佳進料流量，各代謝物的起始濃度值如表4-1所示，其狀態變量Z和自變量kk如下：

$$Z = \{ [Glucose], [F6P], [G3P], [Pyruvate], [Lactate], [ACoA], [Biomass], [Acetate], [Ethanol], [AACoA], [Acetoacetate], [BCoA], [Byturate], [Acetone], [Butanol], [CO_2] \}^T \quad (4.22)$$

$$kk = \{ X_0, X_F, X_{inter}, tb_1, a_1, a_2, T_{total} \}^T \quad (4.23)$$

表 4-1 半批次發酵槽各代謝物的起始濃度( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

Glucose(mM)	Biomass(mM)	Acetate(mM)	Acetone(mM)	Butyrate(mM)	Butanol(mM)
0	1.53	40.0	2.00	1.95	3.83

其最佳化流程如圖 4-7，以不同參數初始點對各目標函數最佳化進料控制圖譜，可跳脫區域解獲得全域最佳解，其參數模擬數據如表 4-2~表 4-4，各目標函數最佳化進料控制圖譜參數模擬結果如表 4-5，各目標函數最佳化之模擬曲線如圖 4-8~圖 4-16，其執行步驟如下所示：

1. 設定初始控制圖譜參數 $X_0$ 、 $X_F$ 、 $X_{inter}$ 、 $tb_1$ 、 $a_1$ 、 $a_2$ 、 $T_{total}$ 。
2. 隨機產生選定之控制圖譜參數值 $X_{new}$ ，其範圍在選定的上下限之間。  
 $X_0$ 、 $X_F$ 、 $X_{inter} \geq 0$ 用來控制流量的範圍； $tb_1 = \frac{t_{inter}}{t_{total}}$ ； $tb_1 \in [-1,1]$ ；  
 $a_1$ 、 $a_2 \geq 1$ ， $T_{total} \in [0,200]$ 。
3. 將隨機產生之控制圖譜參數值代入半批次生化反應動力學系統模型。
4. 使用模型預測控制器(Model Predictive Control, MPC)判別體積限制條件，以控制進料流量。
5. 使用常微分方程解算器計算半批次動態模擬系統變量。
6. 計算目標函數(Objective function)限制條件修正目標函數規避極值

目標函數：最終丁醇濃度、單位消耗基質產量、生產率乘上一個負號。

限制條件：工作體積  $\leq 300\text{ml}$ 。

由於模擬退火法是尋找目標函數最小值，而本研究為求解最終丁醇濃度、生產率、單位基質產量之最大值，因此目標函數分別為上述三個物理量乘上一個負號；當工作體積在限制條件以外時(工作體積  $> 300\text{ml}$ )，

則令目標函數為一個極大值，以避免取代掉當前的最佳值。

7. 結合模擬退火演算法去計算目前解是否為最佳解，其解為最佳解則進入到下一步驟，不是則回到步驟一。
8. 得到全域最佳解( $X_{opt}$ )。

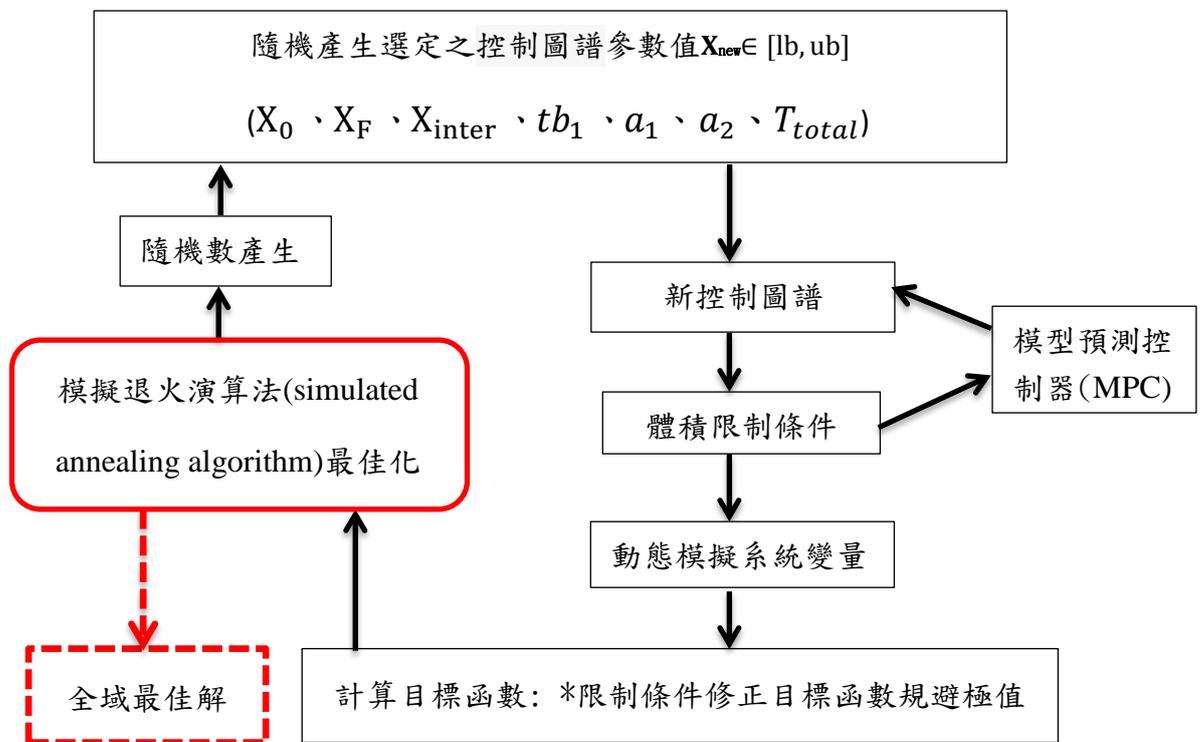


圖 4-7 半批次發酵槽模擬退火法結合圖譜演算法流程圖

表 4-2 最終丁醇濃度最佳化進料控制圖譜參數模擬數據( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

動態參數 模擬次數	$X_0$	$X_F$	$X_{inter}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{total}(h)$	G=最終丁醇濃度
1	0.0721	27.1740	33.7945	-0.9973	5.3545	19.2981	141.6615	74.7812
2	0.0649	8.7809	21.7775	-0.9836	8.7868	18.6405	162.0699	75.2340
3	0.1113	14.7763	11.8790	-0.9965	15.4681	11.7798	121.1533	72.4881
4	0.0532	17.7372	11.1149	-1.0000	10.3862	18.4505	196.7024	75.8384
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	

表 4-3 單位消耗基質產量之最佳化進料控制圖譜參數模擬數據( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

動態參數 模擬次數	$X_0$	$X_F$	$X_{inter}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{total}(h)$	G=單位消耗基質產量
1	0.0642	12.4720	14.3630	-0.9958	5.8503	11.3337	186.5475	1.0243
2	0.0407	35.0506	0.0378	-0.9958	7.5221	19.9852	199.9471	1.0334
3	0.0512	28.6022	14.3968	-0.9608	5.5236	17.7566	193.3598	1.0313
4	0.0983	26.2259	38.4085	-0.9237	2.5982	13.0842	135.1595	0.9971
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	

表 4-4 生產率之最佳化進料控制圖譜參數模擬數據( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

動態參數 模擬次數	$X_0$	$X_F$	$X_{inter}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{total}(h)$	G=生產率
1	31.1634	31.0286	31.4015	-0.5669	10.2091	16.3756	13.3022	3.8175
2	35.5517	15.6924	34.3861	-0.4155	9.8808	3.9330	13.2157	3.8231
3	38.4849	17.5864	11.6859	-0.0791	15.5103	19.6133	13.1648	3.8248
4	35.4874	27.0896	38.0878	-0.0360	14.1003	19.7902	13.1409	3.8190
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	

表 4-5 各目標函數最佳化進料控制圖譜參數模擬結果( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

動態參數 目標函數	$X_0$	$X_F$	$X_{inter}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{total}(h)$	G
最終丁醇濃度	0.0532	17.7372	11.1149	-1.0000	10.3862	18.4505	196.7024	75.8384
單位基質產量	0.0407	35.0506	0.0378	-0.9958	7.5221	19.9852	199.9471	1.0334
生產率	38.4849	17.5864	11.6859	-0.0791	15.5103	19.6133	13.1648	3.8248
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	

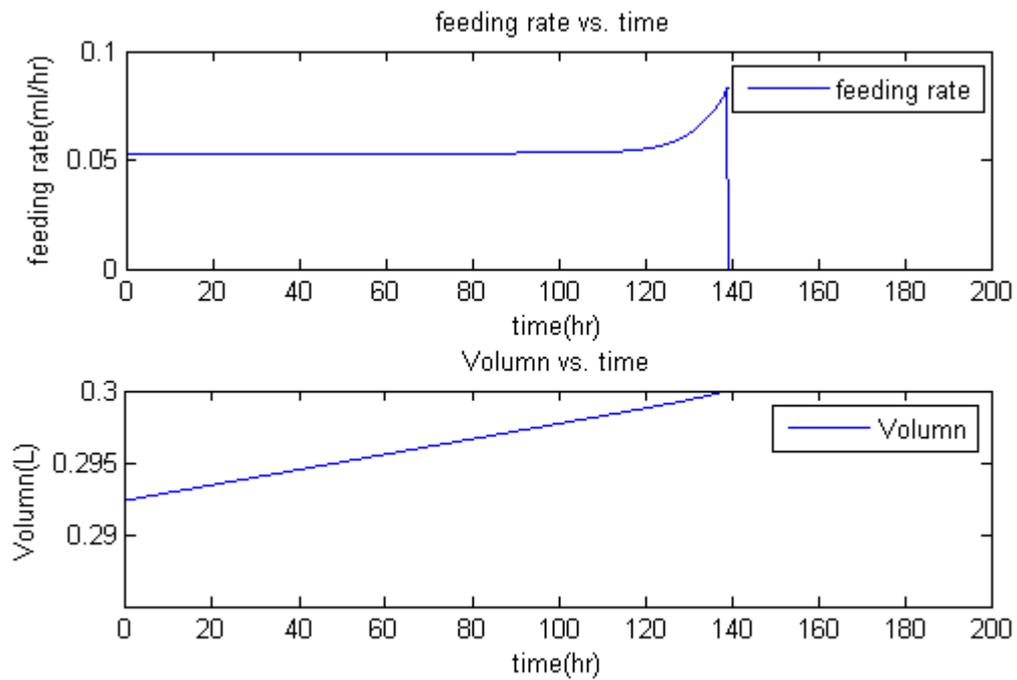


圖 4-8 最終丁醇濃度最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

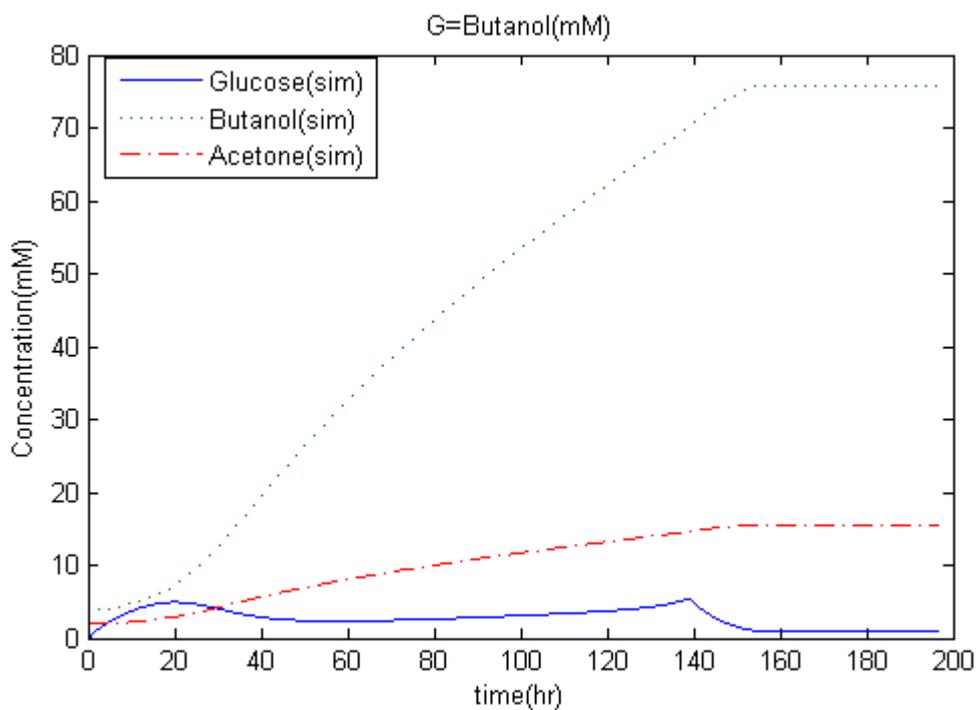


圖 4-9 最終丁醇濃度最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

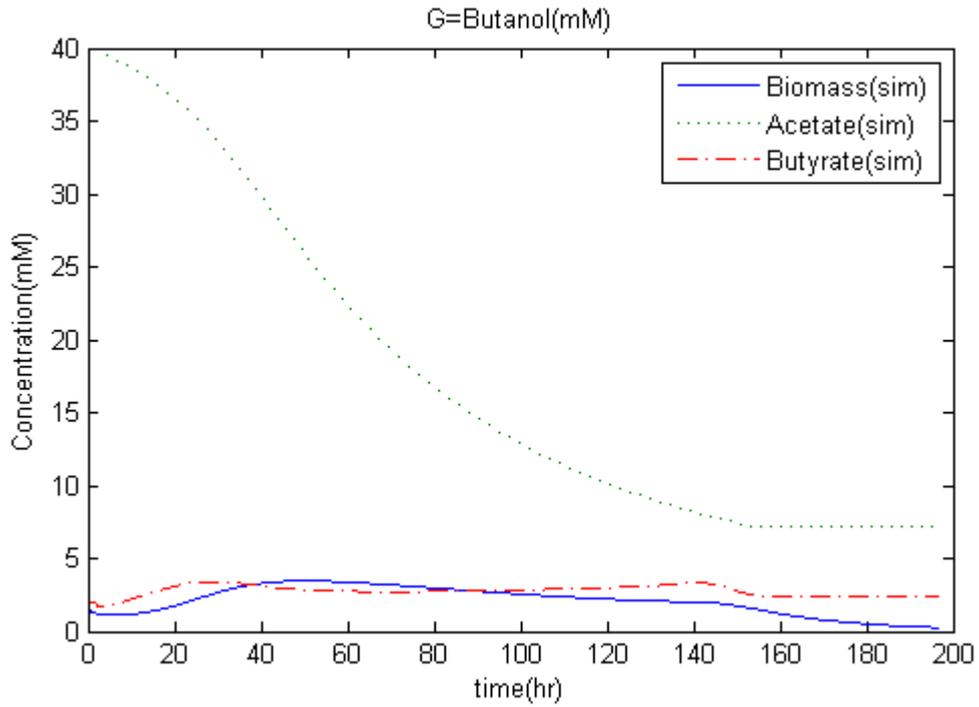


圖 4-10 最終丁醇濃度最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

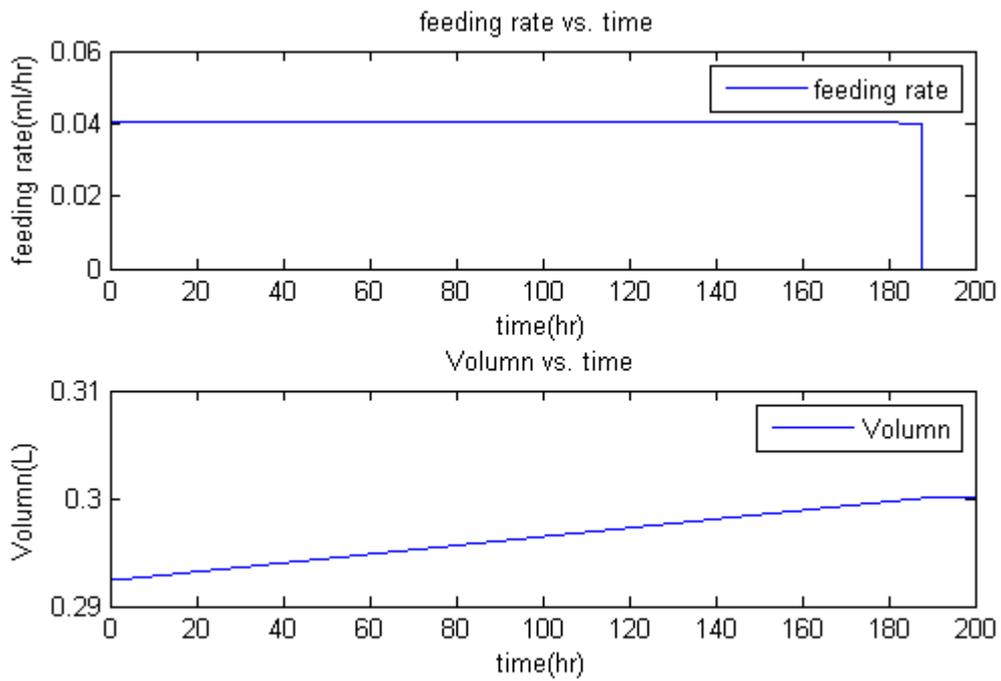


圖 4-11 單位消耗基質產量最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

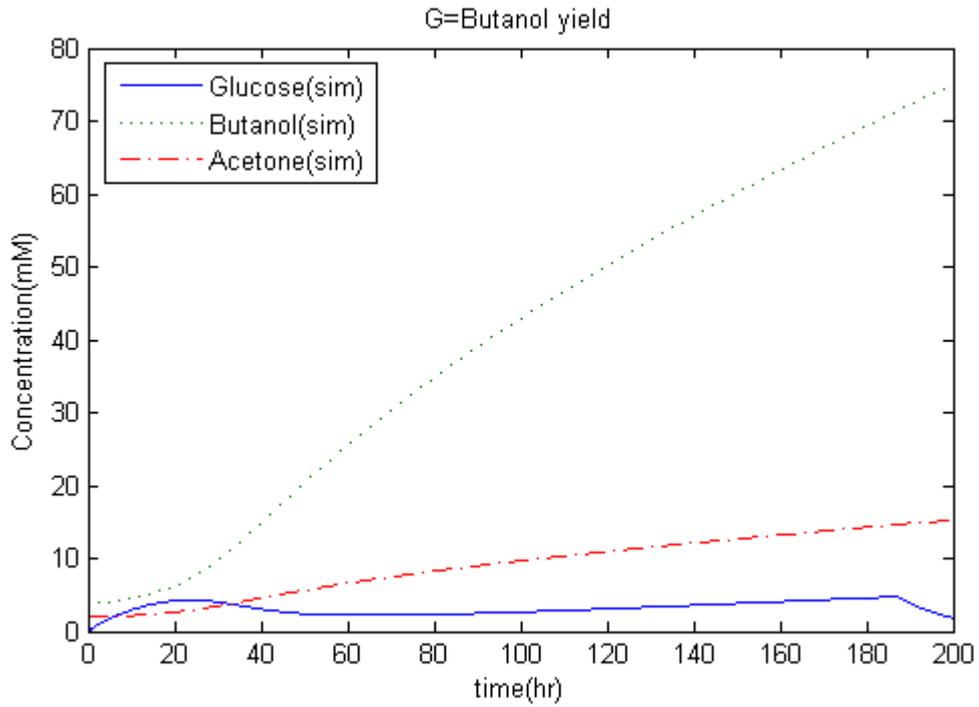


圖 4-12 消耗基質產量最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

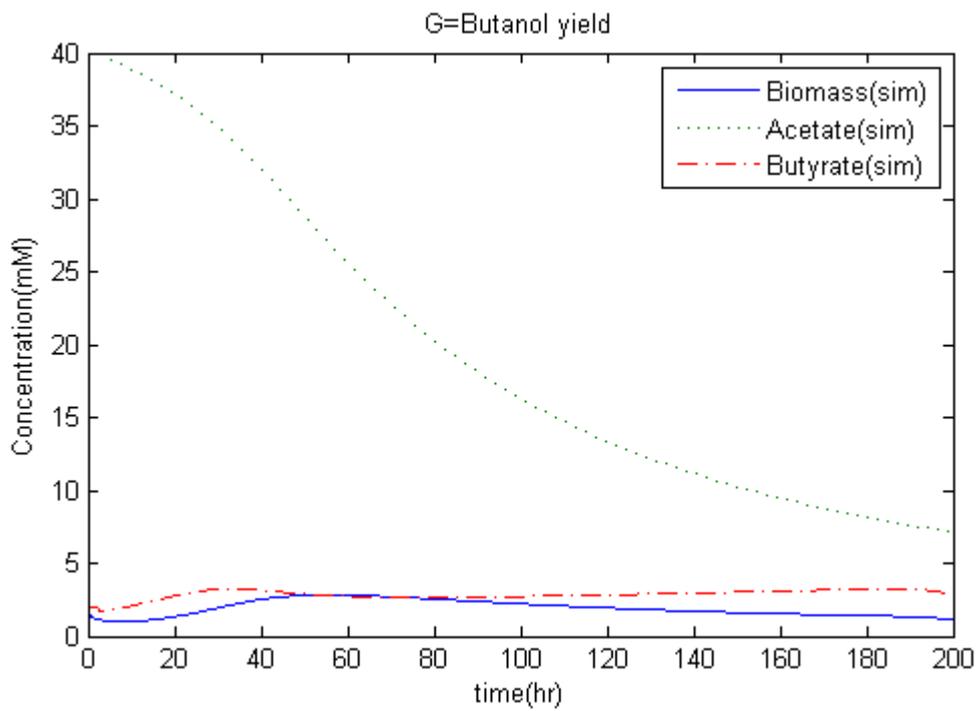


圖 4-13 單位消耗基質產量最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

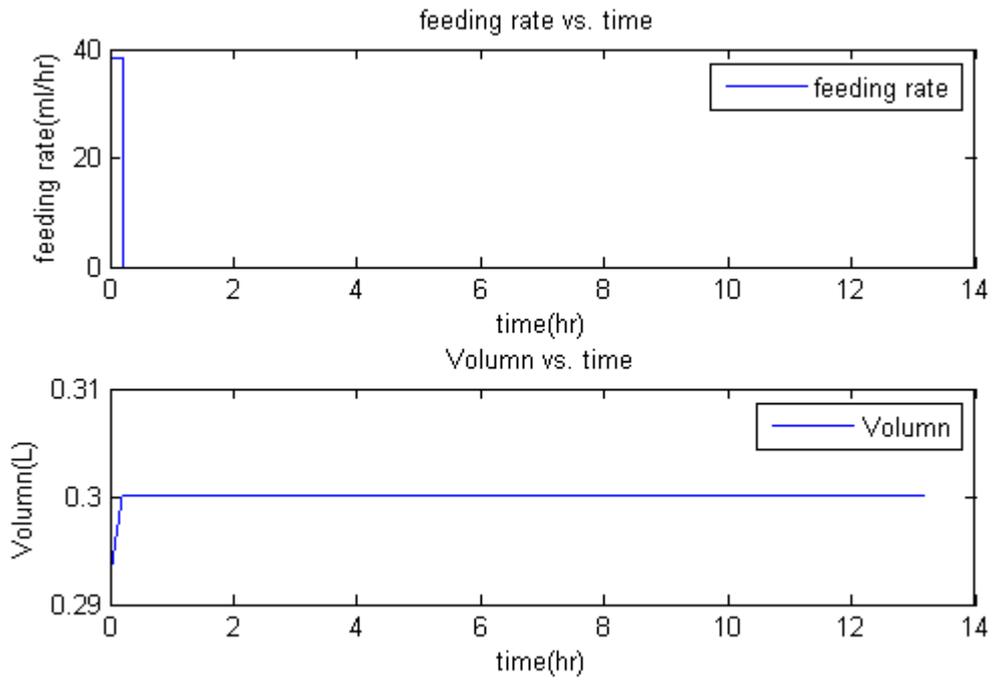


圖 4-14 生產率最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

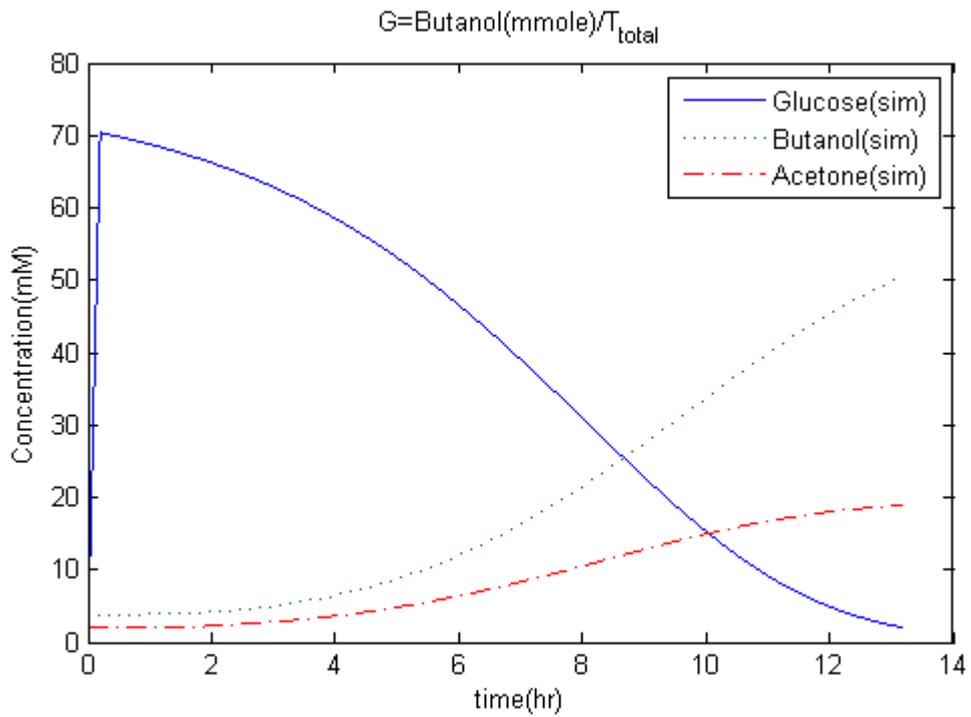


圖 4-15 生產率最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

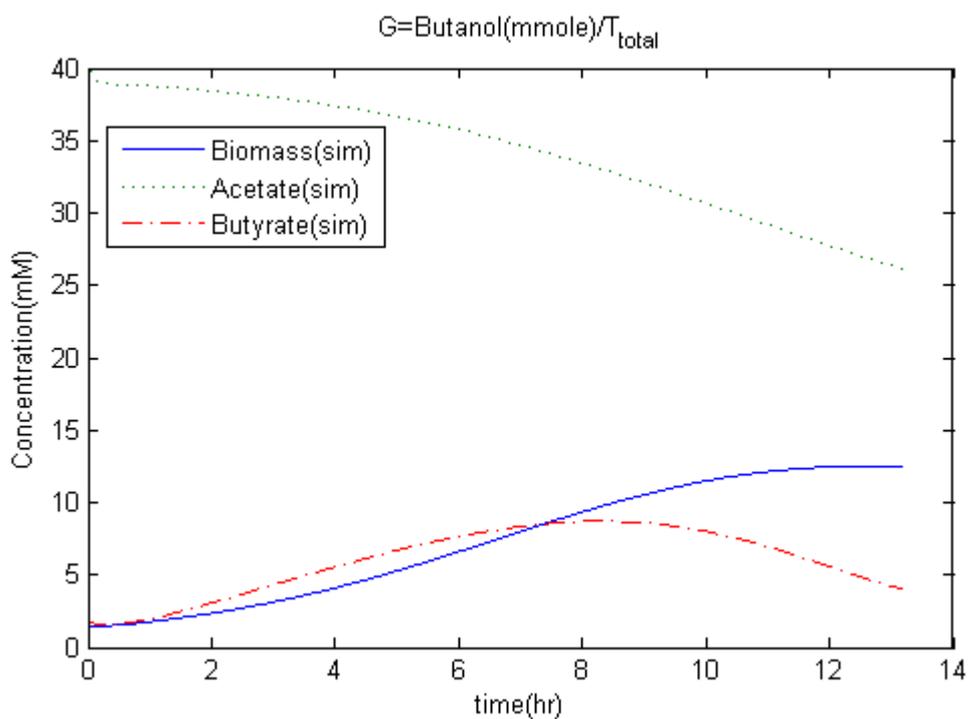


圖 4-16 生產率最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

文獻中，批次反應器以基質起始濃度  $70.6(\text{mM})$  進行反應之最終丁醇濃度、單位消耗基質產量、生產率實驗值依序為  $52.5(\text{mM})$ 、 $0.689(\text{m-butanol}/\text{m-glucose})$ 、 $0.875(\text{mM}/\text{h})$ 。在半批次反應器加入與批次反應器相同基質的質量，以進料基質濃度  $500\text{g}/\text{l}$ ，經由模擬退火法結合圖譜生成演算法尋找修改後半批次反應器之最佳進料流量，獲得最佳的最終丁醇濃度、單位消耗基質產量、生產率模擬值依序為  $75.84(\text{mM})$ 、 $1.0334(\text{m-butanol}/\text{m-glucose})$ 、 $3.8248(\text{mM}/\text{h})$ ，結果皆優於批次反應器。

### 4.3 半批次結合滲透蒸發薄膜動態最佳化

半批次發酵改善了酵過程中因基質抑制效應導致產物濃度過低的問題，針對產物抑制效應的解決方法，本研究採用相較於其他分離方法具較低能耗優點的滲透蒸發分離技術，以動態隨機最佳化方法模擬半批次系統結合滲透蒸發薄膜同步分離之基質進料流量以達降低抑制效應與最大化產物生產目標。將半批次代謝路徑仿真模型結合滲透蒸發薄膜分離，針對 PEBA 薄膜材料會分離之代謝物丙酮、丁醇、乙醇、乙酸及丁酸代謝路徑模型進行修改，其修改後的模型如下所示：

$$\frac{d[Acetate]}{dt} = r9 - r7 - r8 - \frac{F}{V} \times [Acetate] + \frac{-J_{aa}A_m - [Acetate] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V} \quad (4.24)$$

$$\frac{d[Ethanol]}{dt} = r11 - \frac{F}{V} \times [Ethanol] + \frac{-J_{e}A_m - [Ethanol] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V} \quad (4.25)$$

$$\frac{d[Byturate]}{dt} = r18 - r15 - r17 - \frac{F}{V} \times [Byturate] + \frac{-J_{ba}A_m - [Byturate] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V} \quad (4.26)$$

$$\frac{d[Acetone]}{dt} = r16 - \frac{F}{V} \times [Acetone] + \frac{-J_{a}A_m - [Acetone] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V} \quad (4.27)$$

$$\frac{d[Butanol]}{dt} = r19 - \frac{F}{V} \times [Butanol] + \frac{-J_{b}A_m - [Butanol] \left(-J_{tot} \frac{A_m}{\rho}\right)}{V} \quad (4.28)$$

其代謝物通量如下所示：

$$J_b = K_1 \left( [Butanol] - \frac{P_{ib}}{\alpha} \right) \quad (4.29)$$

$$J_a = K_2 \left( [Acetone] - \frac{P_{ia}}{\alpha} \right) \quad (4.30)$$

$$J_e = K_3 \left( [Ethanol] - \frac{P_{ie}}{\alpha} \right) \quad (4.31)$$

$$J_{aa} = K_4 \left( [Acetate] - \frac{P_{iaa}}{\alpha} \right) \quad (4.32)$$

$$J_{ba} = K_5 \left( [Byturate] - \frac{P_{iba}}{\alpha} \right) \quad (4.33)$$

槽內工作體積隨時間變化由下列方程式表示：

$$\frac{dV}{dt} = F - J_{tot} \frac{A_m}{\rho} \quad (4.34)$$

其中為 $J$ 通量、 $J_{tot}$ 為總通量、 $V$ 為槽內工作體積、 $A_m$ 為薄膜有效面積、 $\rho$ 為溶液密度、下標  $b$ 、 $a$ 、 $e$ 、 $aa$ 、 $ba$  分別代表丁醇、丙酮、乙醇、乙酸、丁酸。

本研究對半批次反應器結合滲透蒸發薄膜分離進行最佳化模擬，各代謝物的起始濃度值如表4-6所示，設定進料基質濃度500g/l，加入與批次反應初始基質濃度70.6mM、150mM、300mM相同基質的質量，總進料基質重量等同批次初始濃度70.6mM、150mM使用修改後發酵槽最佳化動力學參數；總進料基質重量等同批次初始濃度300mM則使用修改後高基質濃度發酵槽最佳化動力學參數，使用隨機模擬退火演算法，設定目標函數為丁醇總產量，尋找修改後半批次反應器結合滲透蒸發膜分離之最佳進料流量與滲透蒸發薄膜開關時間點及有效滲透蒸發面積，其狀態變量Z和自變量kk如下：

$$Z = \{ [Glucose], [F6P], [G3P], [Pyruvate], [Lactate], [ACoA], [Biomass], [Acetate], [Ethanol], [AACoA], [Acetoacetate], [BCoA], [Byturate], [Acetone], [Butanol], [CO_2] \}^T \quad (4.35)$$

$$kk = \{ X_0, X_F, X_{inter}, tb_1, a_1, a_2, T_{total}, T_{on}, T_{off}, Am \}^T \quad (4.36)$$

表 4-6 半批次發酵結合滲透蒸發膜分離之各代謝物起始濃度

Glucose(mM)	Biomass(mM)	Acetate(mM)	Acetone(mM)	Butyrate(mM)	Butanol(mM)
0	1.53	40.0	2.00	1.95	3.83

其最佳化流程如圖 4-17，同等批次初濃度 70.6mM 總質量基質之半批次發酵結合滲透蒸發膜分離最佳化模擬數據如表 4-7，同等批次初濃度 150mM 總質量基質之半批次發酵結合滲透蒸發膜分離最佳化模擬數據如表

4-8，同等批次初濃度 300mM 總質量基質之半批次發酵結合滲透蒸發膜分離最佳化模擬數據如表 4-9，三種總基質濃度最佳化模擬結果如表 4-10，同等批次初濃度 70.6mM 總質量基質之最佳化模擬曲線如圖 4-18~圖 4-21，同等批次初濃度 150mM 總質量基質之最佳化模擬曲線如圖 4-22~圖 4-25；同等批次初濃度 300mM 總質量基質之最佳化模擬曲線如圖 4-26~圖 4-29，其執行步驟如下所示：

1. 設定初始控制圖譜參數  $X_0, X_F, X_{inter}, tb_1, a_1, a_2, T_{total}, T_{on}, T_{off}, Am$ 。

2. 隨機產生選定之控制圖譜參數值  $X_{new}$ ，其範圍在選定的上下限之間。

$X_0, X_F, X_{inter} \geq 0$  用來控制流量的範圍； $tb_1 = \frac{t_{inter}}{t_{total}}$ ； $tb_1 \in [-1, 1]$ ；

$a_1, a_2 \geq 1, T_{total} \in [0, 200]$ 。

3. 將隨機產生之控制圖譜參數值代入半批次結合滲透蒸發膜分離生化反應動力學系統模型。

4. 使用模型預測控制器(Model Predictive Control, MPC)判別體積限制條件，以控制進料流量。

5. 使用常微分方程解算器計算半批次動態模擬系統變量。

6. 計算目標函數(Objective function)限制條件修正目標函數規避極值

目標函數：丁醇總產量乘上一個負號。

限制條件：工作體積  $\leq 300\text{ml}$ 。

由於模擬退火法是尋找目標函數最小值，而本研究為求解最終丁醇總產量之最大值，因此在目標函數乘上一個負號；當工作體積在限制條件以外時(工作體積 > 300ml)，則令目標函數為一個極大值，以避免取代掉當前的最佳值。

7. 結合模擬退火演算法去計算目前解是否為最佳解，其解為最佳解則進入到下一步驟，不是則回到步驟一。
8. 得到全域最佳解( $X_{opt}$ )。

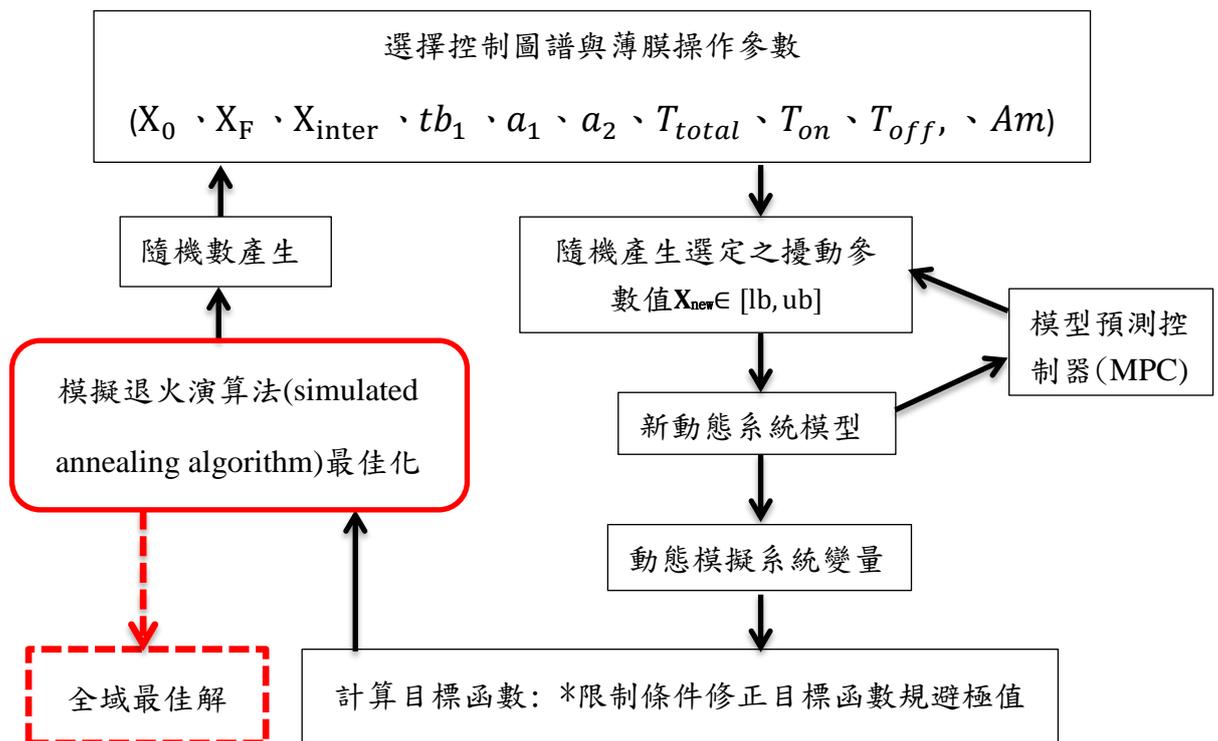


圖 4-17 半批次發酵結合滲透蒸發膜分離最佳化流程圖

表 4-7 半批次發酵結合滲透蒸發最佳化模擬數據( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

動態 參數 模擬 次數	$X_0$	$X_F$	$X_{\text{inter}}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{\text{total}}(h)$	$T_{\text{on}}(h)$	$T_{\text{off}}(h)$	$Am(m^2)$	G=Total Butanol (mmole)
1	0.0701	25.8774	16.1431	-0.9962	4.0589	6.2296	60.2989	2.3056	7.2103	0.0010	18.2135
2	0.0611	36.0730	12.2165	-0.9473	12.8132	19.9996	137.0131	35.7303	39.4707	0.0021	22.2082
3	0.1028	34.3337	2.0364	-0.8346	11.2832	16.8550	112.1297	43.3098	50.7228	0.0029	21.7890
4	0.0801	19.0101	17.0589	-0.8217	4.8757	12.5361	163.4556	34.4358	73.8415	0.0010	21.9434
5	0.0900	7.8875	10.1297	-0.9917	8.7600	9.8220	195.8500	107.8069	146.4110	0.9583	22.2001
6	0.0934	6.1442	36.3200	-0.8080	17.7059	9.3425	176.4307	86.9055	93.6229	0.8211	21.8539
7	0.0610	38.6559	9.1883	-0.9984	12.0490	11.7532	192.0147	178.5962	182.2896	0.0238	22.5897
8	0.1119	20.5076	1.5185	-0.8917	5.7721	8.0572	154.5678	73.5032	77.5513	0.2446	21.7484
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	0~200	0~200	0~1	

表 4-8 半批次發酵結合滲透蒸發最佳化模擬數據( $S_0 = 150\text{mM}$ )

動態 參數 模擬 次數	$X_0$	$X_F$	$X_{\text{inter}}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{\text{total}}(h)$	$T_{\text{on}}(h)$	$T_{\text{off}}(h)$	$Am(m^2)$	G=Total Butanol (mmole)
1	0.0887	23.2618	24.9292	-0.9872	9.0178	4.4132	181.0835	3.9783	58.6544	0.0003	39.3679
2	0.2447	27.7406	34.2989	-0.9034	6.6745	12.8167	139.4982	70.6952	92.1952	0.4759	40.5546
3	0.2871	7.8615	20.9092	-0.6468	14.0410	18.6116	88.6351	4.3926	66.5454	0.0000	39.3411
4	0.1323	24.1843	0.1079	0.7351	3.8722	1.6561	179.6663	132.4463	135.4117	0.0045	41.8452
5	0.2685	20.1765	18.8124	-0.8048	6.9690	9.9817	93.9196	40.0318	46.0258	0.0010	39.5618
6	0.2343	39.2129	21.9534	-0.8623	4.9946	8.6187	131.5264	71.1270	78.6639	0.9310	40.4211
7	0.1528	14.8975	19.3788	-0.7450	6.3726	17.0204	181.5568	69.3259	91.0307	0.0012	41.3989
8	0.1972	18.5473	3.9573	-0.9997	1.8544	8.7603	99.4000	80.3480	94.6917	0.6947	40.7042
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	0~200	0~200	0~1	

表 4-9 半批次發酵結合滲透蒸發最佳化模擬數據( $S_0 = 300\text{mM}$ )

動態 參數 模擬 次數	$X_0$	$X_F$	$X_{inter}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{total}(h)$	$T_{on}(h)$	$T_{off}(h)$	$Am(m^2)$	G=Total Butanol (mmole)
1	0.5615	36.8762	0.0505	-0.9978	4.5213	1.7898	85.7787	51.0452	59.6557	0.0000	77.7148
2	0.2301	27.1470	0.4020	0.5820	1.2862	4.3809	101.1276	5.6598	52.1516	0.0000	78.0769
3	0.2215	11.8442	10.4408	-0.9816	5.2549	8.1718	194.3340	4.9883	52.6662	0.0000	80.5891
4	0.2278	14.4278	7.8902	-0.9983	3.1172	7.0433	179.4231	33.1515	56.1270	0.0000	80.2410
5	0.2825	16.4893	12.2712	-1.0000	2.1754	8.8815	139.0485	59.2712	67.8603	0.0010	79.3007
6	0.1890	6.9510	34.1868	-0.9947	13.1074	17.8591	161.9208	60.2359	66.7732	0.0105	79.6836
7	0.1824	35.5239	1.3671	-0.9732	6.9936	13.6786	195.7920	24.5303	36.3323	0.0010	81.6574
8	0.2584	1.8600	1.4167	-0.9069	14.1870	0.5104	154.0474	122.3761	143.6537	0.5104	80.6340
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	0~200	0~200	0~1	

表 4-10 半批次發酵結合滲透蒸發膜分離最佳化模擬結果

動態 參數 基質 初濃度	$X_0$	$X_F$	$X_{inter}$	$tb_1$	$a_1$	$a_2$	$T_{total}(h)$	$T_{on}(h)$	$T_{off}(h)$	$Am(m^2)$	G=Total Butanol (mmole)
70.6mM	0.0610	38.6559	9.1883	-0.9984	12.0490	11.7532	192.0147	178.5962	182.2896	0.0238	22.5897
150mM	0.1323	24.1843	0.1079	0.7351	3.8722	1.6561	179.6663	132.4463	135.4117	0.0045	41.8452
300mM	0.1824	35.5239	1.3671	-0.9732	6.9936	13.6786	195.7920	24.5303	36.3323	0.0010	81.6574
範圍	0~40	0~40	0~40	-1~1	0~20	0~20	0~200	0~200	0~200	0~1	

\*同等批次基質初濃度之總質量基質作為半批次進料

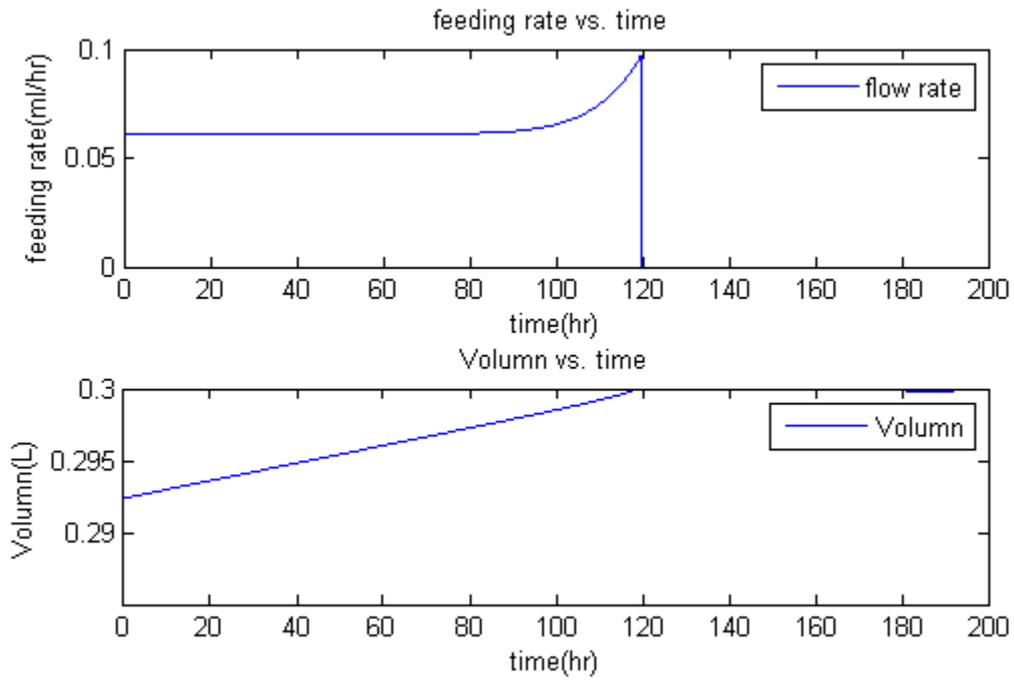


圖 4-18 最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

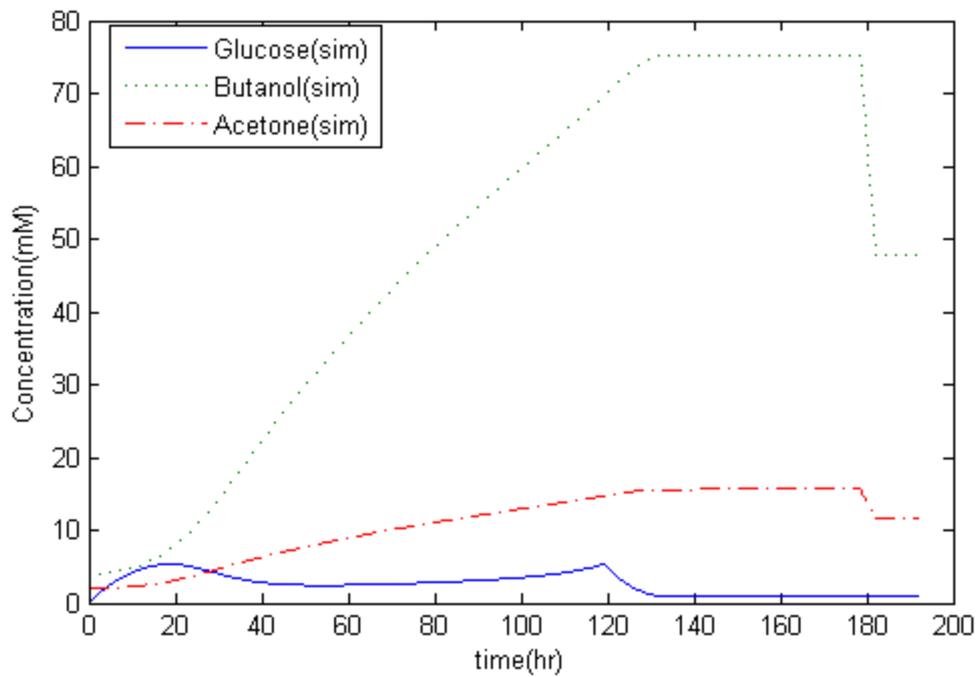


圖 4-19 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

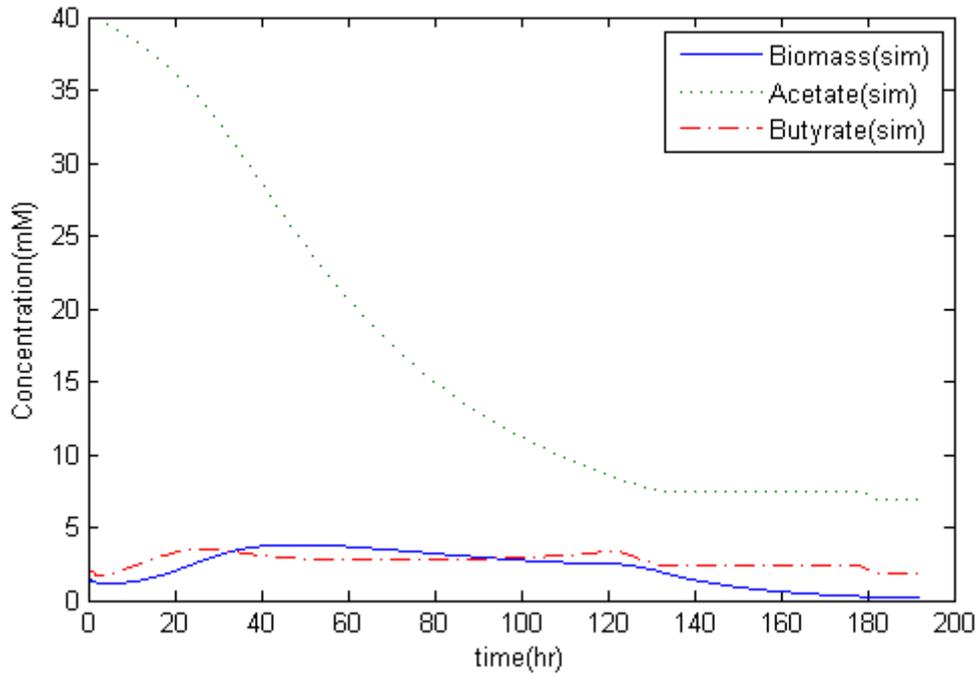


圖 4- 20 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

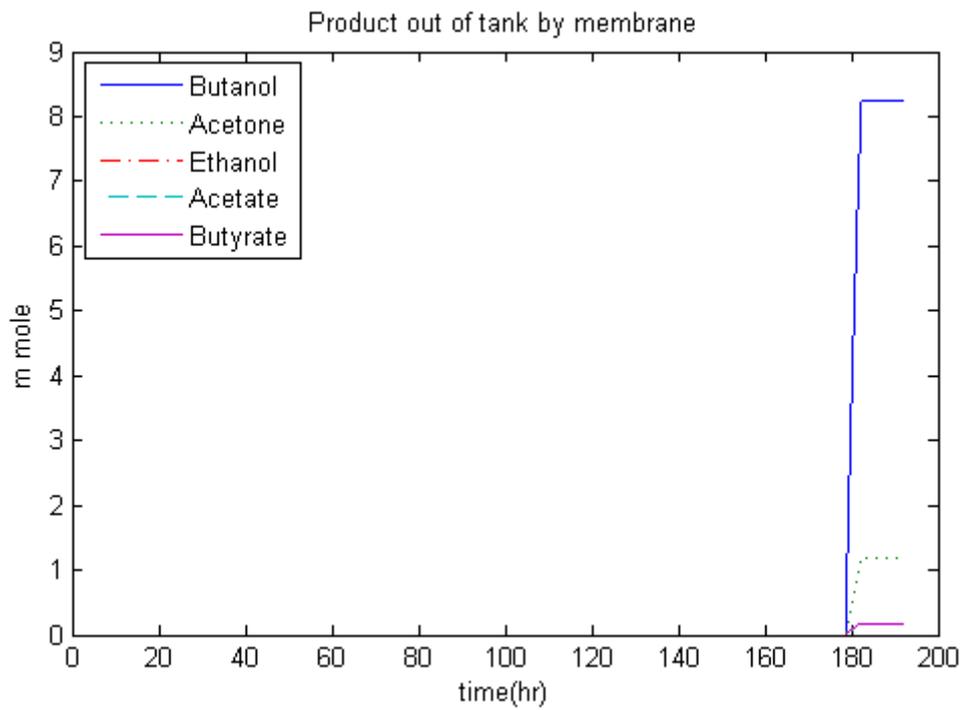


圖 4- 21 最佳化代謝物分離曲線( $S_0 = 70.6\text{mM}$ )

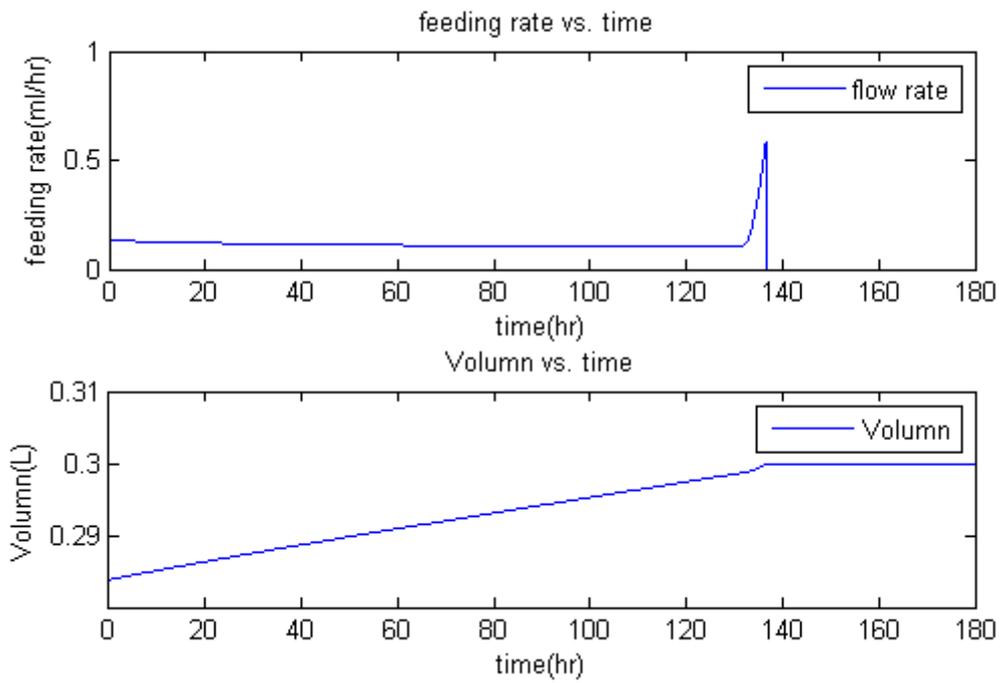


圖 4-22 最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 150\text{mM}$ )

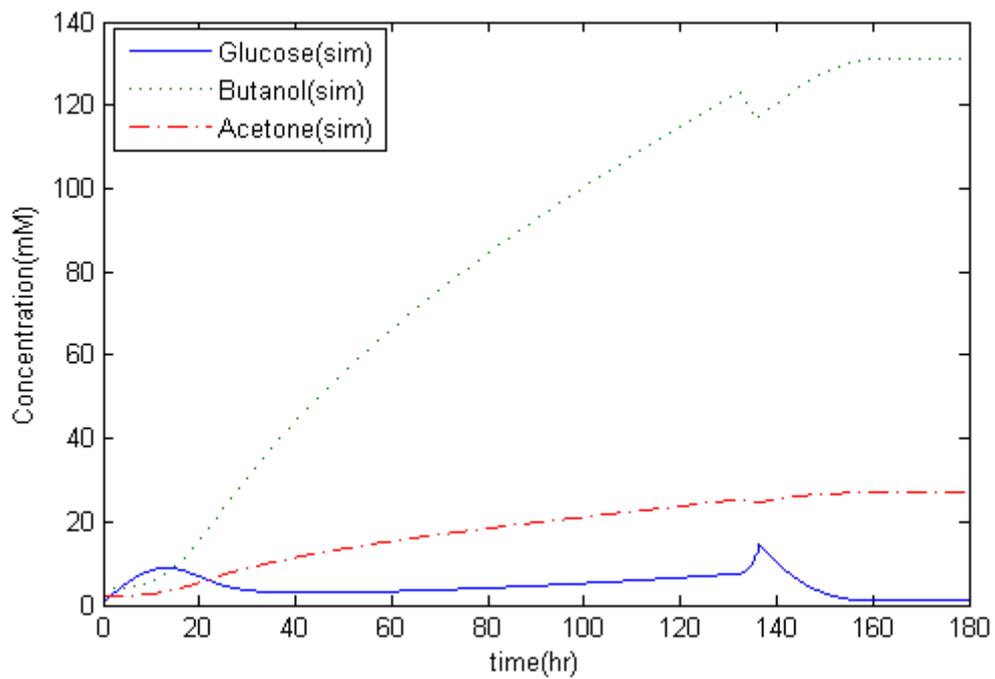


圖 4-23 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 150\text{mM}$ )

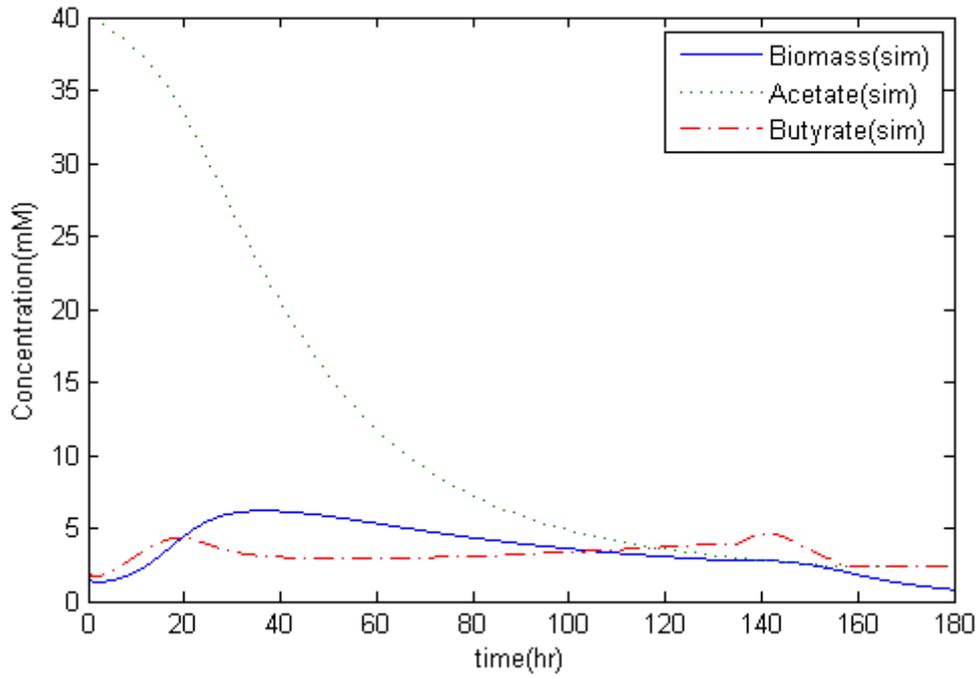


圖 4-24 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 150\text{mM}$ )

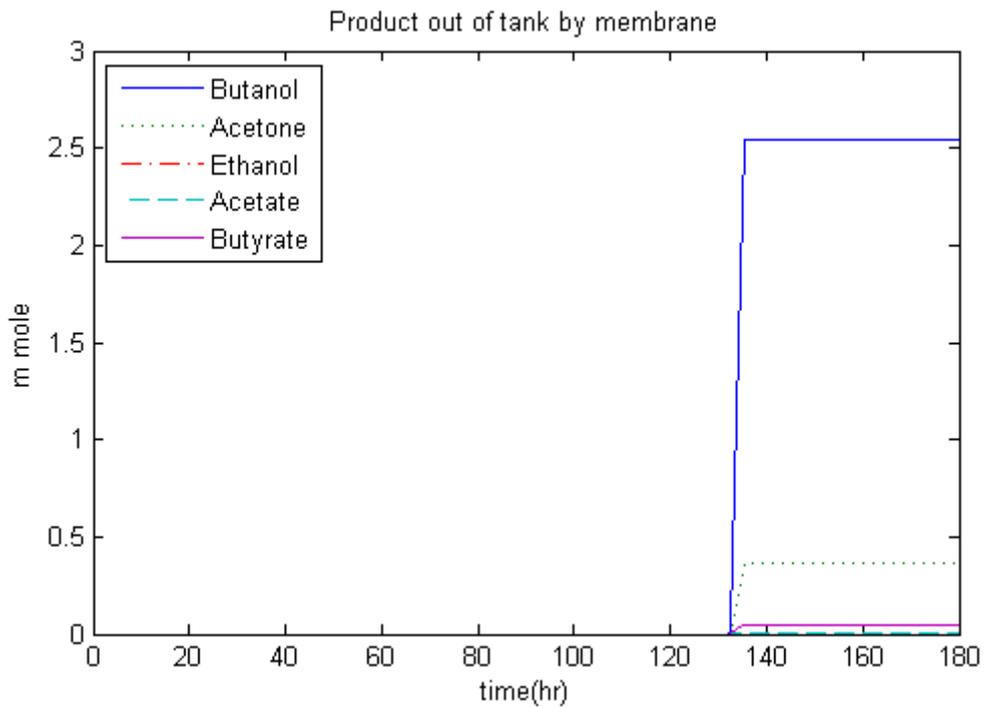


圖 4-25 最佳化代謝物分離曲線( $S_0 = 150\text{mM}$ )

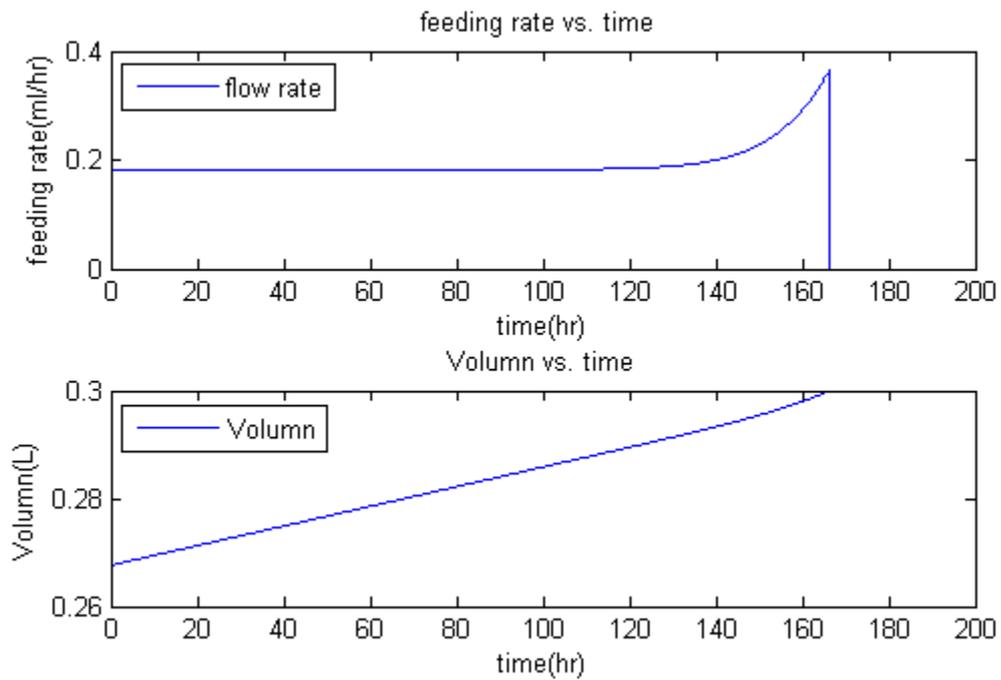


圖 4-26 最佳化進料與體積模擬曲線( $S_0 = 300\text{mM}$ )

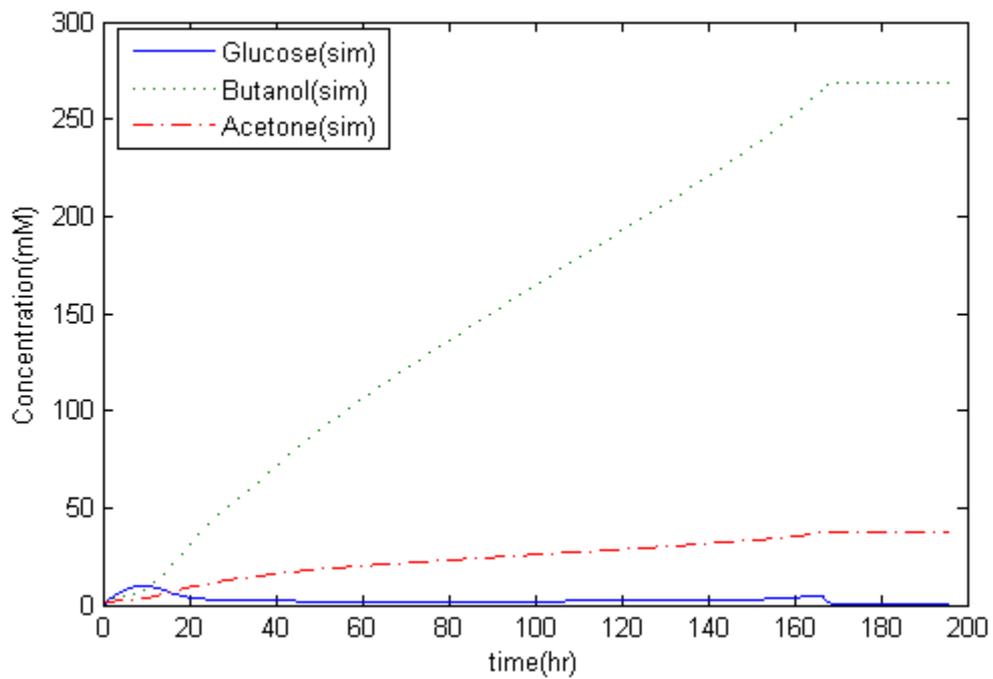


圖 4-27 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 300\text{mM}$ )

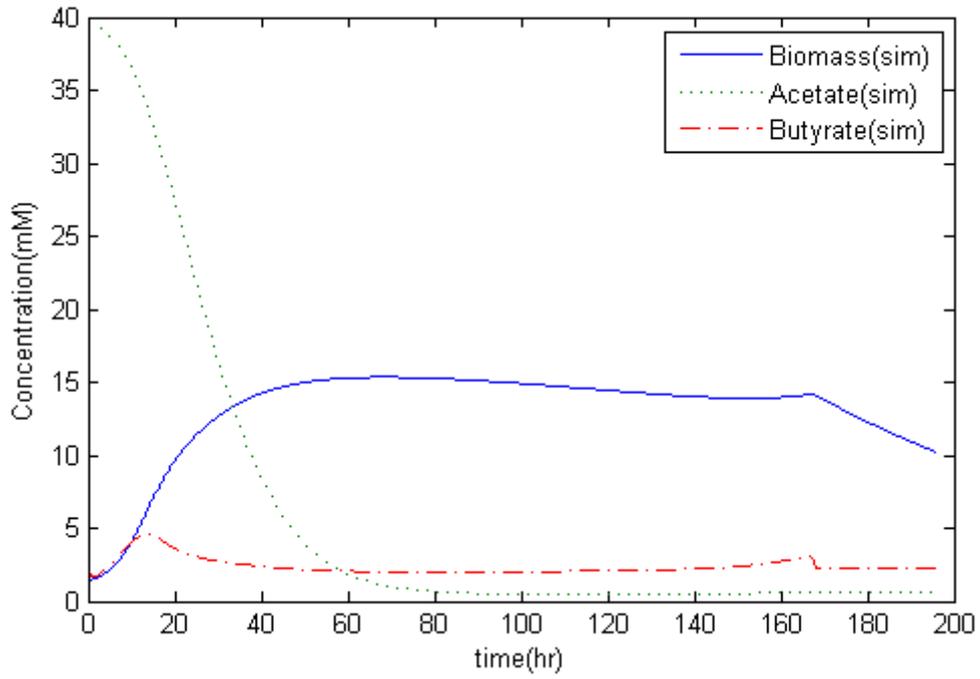


圖 4-28 最佳化代謝物模擬曲線( $S_0 = 300\text{mM}$ )

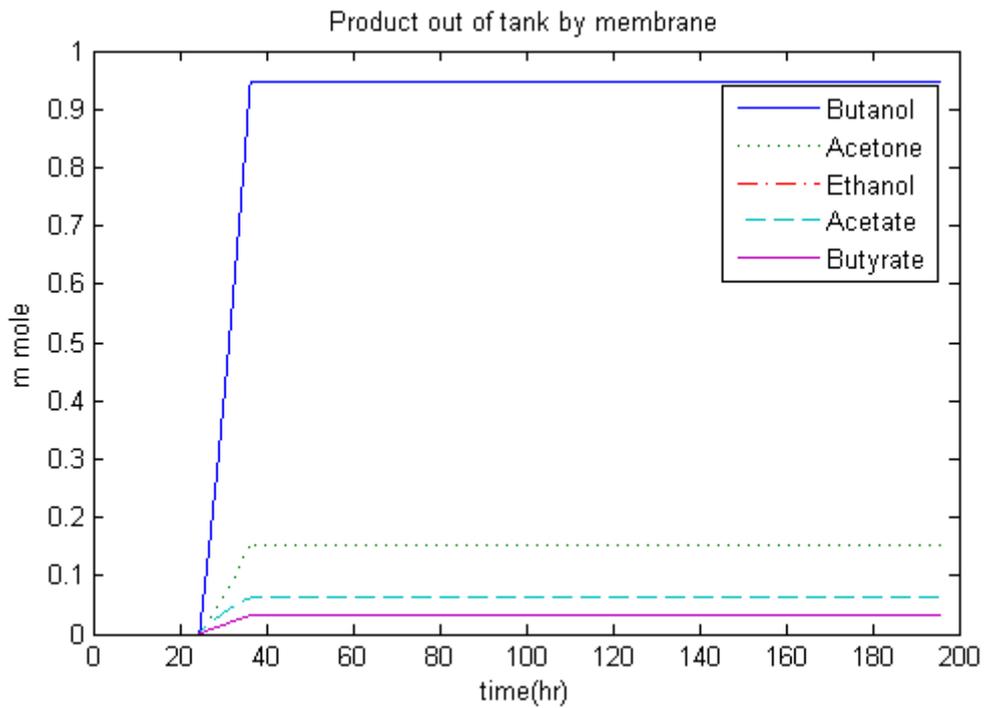


圖 4-29 最佳化代謝物分離曲線( $S_0 = 300\text{mM}$ )

使用批次反應器模型，以最佳化之動態參數模擬起始基質濃度 70.6mM、150mM、300mM，其最終丁醇總產量分別達到 15.75mmole、31.8068mmole、61.9786mmole，若改以模擬半批次結合滲透蒸發膜分離模型，設定進料基質濃度 500g/l，加入與批次反應初始基質濃度 70.6mM、150mM、300mM 相同基質的質量，則當同等批次 70.6mM 初濃度之總質量基質作為半批次進料時，滲透蒸發薄膜面積  $0.0238m^2$ ，總發酵時間為 192.01 小時，在 178.6 小時至 182.3 小時之間開啟滲透蒸發分離系統可獲得最大丁醇總產量 22.59mmole；當同等批次 150mM 初濃度之總質量基質作為半批次進料時，滲透蒸發薄膜面積  $0.0045m^2$ ，總發酵時間為 179.67 小時，在 132.45 小時至 135.41 小時之間開啟滲透蒸發分離系統可獲得最大丁醇總產量 41.85mmole；當同等批次 300mM 初濃度之總質量基質作為半批次進料時，滲透蒸發薄膜面積  $0.001m^2$ ，總發酵時間為 195.79 小時，在 24.53 小時至 36.33 小時之間開啟滲透蒸發分離系統可獲得最大丁醇總產量 81.66mmole，皆大於批次反應器之丁醇總產量。

## 第五章 結論

本研究修改後之 ABE 代謝路徑模型可使 Biomass 模擬曲線更加貼近實驗數據，再以修改後之代謝模型分別模擬批次結合滲透蒸發薄膜、半批次發酵、半批次結合滲透蒸發薄膜等三種不同設定，與批次發酵進行丁醇總產量的比較，結果可發現，在消耗相同基質的量，半批次發酵模擬無論是以最終丁醇濃度、單位基質產量或是生產率來探討，其結果皆優於批次反應模擬；半批次結合滲透蒸發薄膜分離模擬也可以使丁醇總產量較批次反應模擬有所提升。

模擬批次結合滲透蒸發薄膜時，由於選用 PEBA 材質之滲透蒸發薄膜除了會分離丁醇、丙酮、乙醇之外，還會分離乙酸和丁酸，而在 ABE 發酵過程中，不適當的分離時間點可能導致其分離乙酸和丁酸，使溶劑生產階段有機酸吸收量減少，進一步降低產物的總產量。因此，在沒有足夠嚴重的基質和產物抑制環境與適當的分離時間點，批次結合滲透蒸發薄膜分離系統的總產量並不會優於批次發酵。本研究以單一最佳化之代謝路徑參數對不同濃度進行模擬，未來可以針對各實驗設定之數據與結果，最佳化出更符合該實驗之動態參數，將可提升對於該實驗設定之模擬結果準確度。

## 參考文獻

- [1]Thaddeus C. Ezeji, Nasib Qureshi, Hans P. Blaschek, Butanol Fermentation Research: Upstream and Downstream Manipulations, *The Chemical Record*, Vol. 4, 305–314 (2004).
- [2]Jones, D.T. and D.R. Woods., Acetone–butanol fermentation revisited. *Microbiol Rev*, 50, 484–524(1986).
- [3]Ramey, D. and S. –T. Yang, Production of Butyric Acid and Butanol from Biomass, Final Report, DE-F-G02-00ER86106, U.S. Fepartment of Energy(2004).
- [4]Huang J., Pervaporative recovery of n-butanol from aqueous solutions and ABE fermentation broth using thin-film silicalite-filled silicone composite membranes. *Journal of Membrane Science*, 92:231-242(2001).
- [5]Yen H.W., S.F. Lin, and I.K. Yang, Use of poly(ether-block-amide) in pervaporation coupling with a fermentor to enhance butanol production in the cultivation of *Clostridium acetobutylicum*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 113, No. 3, 372–377(2012).
- [6]Biegler L. T., I. E. Grossmann, Retrospective in optimization, *Computers and Chemical Engineering*, 28(10), 1169–1192(2004).
- [7]Cardoso, M. F., S. Salsedo Feyo de Azevedo, D. Barbosa, A simulated annealing approach to the solution of MINLP problems, *Computers and Chemical Engineering*, 21, 1349–1364 (1997).
- [8]Dolan, W. B., P. T. Cummings, and M. D. Levan, Process optimization via simulated annealing, *AIChE Journal*, 35, 725–736(1989).
- [9]Floquet, P., L. Pibouleau, and S. Domenech, Separation sequence synthesis: how to use the simulated annealing procedure, *Computers and Chemical Engineering*, 18, 1141–1148(1994).

[10]Hong-ming, K., and I. Karimi, An evaluation of simulated annealing for batch process scheduling, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 30, 163–169(1991).

[11]Hanke, M., and P. Li, Simulated annealing for the optimization of batch distillation processes, *Computers and Chemical Engineering*, 24, 1–8(2000).

[12]Faber Richard, Tobias Jockenhövel, George Tsatsaronis, Dynamic optimization with simulated annealing, *Computers and Chemical Engineering*, 29, 273–290(2005).

[13]Twohig, Susan N. Aletan and Samuel O, Traveling Salesman Problem, *Annual Computer Science Conference Proceedings*, Washington, DC, 437(1990).

[14]Gao and Shang, Solving TSP with simulated annealing algorithm, *Journal of East China Shipbuilding Institute*, vol. 17, no. 3, 13(2003).

[15]Metropolis N., A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller and E. Teller, Equations of state calculations by fast computing machines, *Journal of Chemical Physics* 21, 1087-1092(1953).

[16] <http://jjcommons.csie.isu.edu.tw/research/download/SA.pdf>，模擬退火法 (Simulated Annealing)，16/5/2013。

[17]孫懷谷、鄧世剛、賴志強、王震宇，機械組件之公差配置最佳化分析研究-以渦輪引擎零組件為例，*中正嶺學報*第三十九卷，第一期，第7頁。

[18]Shinto, H., Y. Tashiro, M. Yamashita, G. Kobayashi, T. Sekiguchi, T. Hanai, et al, Kinetic modeling and sensitivity analysis of acetone–butanol–ethanol production, *J Biotechnol*, 131, 45–56(2007).

- [19]Papoutsakis, E.T., Equations and calculations for fermentations of butyric acid bacteria, *Biotechnol. Bioeng.* 26, 174–187(1984).
- [20]Desai, R.P., L.M. Harris , N.E. Welker, E.T. Papoutsakis, Metabolic flux analysis elucidates the importance of the acid-formation pathways in regulating solvent production by *Clostridium acetobutylicum*. *Metab. Eng.* 1, 206–213(1999).
- [21]Boynton, Z.L., G.N. Bennett, F.B. Rudolph, Intracellular concentrations of coenzyme A and its derivatives from *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 and their roles in enzyme regulation. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 39–44(1994).
- [22]Soni, B.K., K. Das, T.K. Ghose, Inhibitory factors involved in acetone–butanol fermentation by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum*. *Curr. Microbiol.* 16, 61–67(1987).
- [23]Okamoto, M., T. Sakai, K. Hayashi, Biochemical switching device realizing McCulloch–Pitts type equation. *Biol. Cybern.* 58, 295–299(1988).
- [24]Wenchang, J., S. Sikdar and H. Sun-Tak, Modeling of multicomponent pervaporation for removal of volatile organic compounds from water, *J. Membr. Sci.* 93 (1) , 1(1994).
- [25]El-Zanati, E., E. Abdel-Hakim , O. El-Ardi and M. Fahmy, Modeling and simulation of butanol separation from aqueous solutions using pervaporation, *Journal of Membrane Science*, 280, 278–283(2006).
- [26]Choong, K. L.,Optimisation of batch and semi-batch crystallization processes. Department of Process Integration. Manchester, UK, University of Manchester Institute of Science and Technology. PhD(2002).
- [27]Smith, R., *Chemical Process Design and Integration* 1st ed, John Wiley & Sons(2005).

[28]Lin T. C., Dynamic Optimization of Semi-Batch Biochemical Reactors. PhD Thesis. U.K.: University of Manchester. Mar, 1–228(2009).

[29]Grossmann, I. E., Global Optimization in Engineering Design; Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA(1996).

[30]Guus, C., E. Boender, H. E. Romeijn, Stochastic Methods. In Handbook of Global Optimization; Horst, R., P. M. Pardalos, Eds.; Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA, 829-869(1995).

[31]Esposito, W. R., C. A. Floudas, Deterministic global optimization in nonlinear optimal control problems. J. Global Optim, 17, 97–126(2000).

[32]Singer, A. B., J. K. Bok, P. I. Barton, Convex underestimators for variational and optimal control problems. Comput.-Aided Chem. Eng., 9, 767–772(2001).

[33]Papamichail, I., C. S. Adjiman , A rigorous global optimization algorithm for problems with ordinary differential equations. J. Global Optim., 24, 1–33(2002).

[34]Chachuat, B., A. B. Singer; Barton, P. I., Global methods for dynamic optimization and mixed-integer dynamic optimization. Ind. Eng. Chem. Res., 45, 8373–8392(2006).

[35]Banga, J. R., E. Balsa-Canto, C. G. Moles, A. A. Alonso , Dynamic optimization of bioprocesses: Efficient and robust numerical strategies. J. Biotechnol., 117, 407–419(2005).

[36]Balsa-Canto, E., V. S. Vassiliadis, J. R. Banga, Dynamic optimization of single- and multi-stage systems using a hybrid stochasticdeterministic method. Ind. Eng. Chem. Res., 44, 1514–1523(2005).

[37]Jose A. Egea, Eva Balsa-Canto, Mari´a-Sonia G. Garcı´a, and Julio R. Banga, Dynamic Optimization of Nonlinear Processes with an Enhanced Scatter Search Method, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48, 4388–4401(2009).

[38]Papamichail, I., C. S. Adjiman , Global optimization of dynamic systems. *Comput. Chem. Eng.* 28, 403–415(2004).

[39]Banga, J. R., C. G. Moles, A. A. Alonso, Global optimization of bioprocesses using stochastic and hybrid methods. In *Frontiers In Global Optimization*; Floudas, C. A., Pardalos, P. M., Eds.; Kluwer Academic Publishers: Hingham, MA, Vol. 74, 45-70(2003).