

흐름주입분석기술을 이용한 생물공정에서 암모니아 농도의 제어

이 종 일

전남대학교, 공과대학, 화학공학부
(접수 : 2001. 8. 8., 게재승인 : 2001. 10. 18.)

Control of Ammonium Concentration in Biological Processes Using a Flow Injection Analysis Technique

Jong Il Rhee

Faculty of Chemical Engineering, College of Engineering, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea
(Received : 2001. 8. 8., Accepted : 2001. 10. 18.)

Concentrations of ammonia in biological processes were controlled by PID controllers and also neural network based controllers (NN controllers). A flow injection analysis system has been used to on-line monitor the concentrations of ammonia in a bioreactor. The effect of the analysis error and the residence time of samples on the control performance were studied. The optimal neural network structure was investigated by using computer simulation and found to be a 3(input layer)-2(hidden layer)-1(output layer). The NN controller is often time consuming, but it has advantage over the PID controller in sensitivity. The 3-2-1 NN controller has been applied to control the ammonia concentrations in a simulated bioprocess and also a real cultivation process of yeast. The good control performance showed that the 3-2-1 NN controller based on the FIA system can be used to control the concentration of substrates in biological processes very well.

Key Words : flow injection analysis, bioprocess monitoring and control, ammonia, neural network controller

서 론

생물공정에서 공정변수, 즉 온도, 용존산소(pO_2), 발효 배가스(O_2 , CO_2 등) 등을 모니터링하고 제어하는 것은 공정의 생산 효율을 증대시키고 폐기물을 최소화하기 위해 매우 중요하다. 특히, 생물 반응기내 글루코스나 암모니아 등 기질의 농도를 온라인 모니터링하고 적절하게 제어할 때 저해산물(inhibitory products)의 생산이 억제되어 미생물의 성장이 촉진된다(1-3). 따라서 생물공정을 온라인 모니터링 하기위해 HPLC, GC, capillary electrophoresis 등의 값비싼 생물 분석 기기와 자동 시료기(auto sampler)를 결합하여 생물 반응기내 기질 또는 생산물의 농도를 모니터링 하고자 하는 노력이 많이 이루어지고 있다(4,5).

한편, 1975년 덴마크의 과학자에 의해 개념이 처음 도입된 흐름주입분석기술(flow injection analysis technique, FIA)은 빠른 시간내에 많은 분석시료를 측정할 수 있고 각종 센서와 쉽게 결합할 수 있는 장점이 있어서, 생물공정에서 기질이나

생산물의 농도를 온라인 모니터링 하는데 많이 이용되고 있다. FIA의 원리 및 생물공정의 모니터링에 대해서는 여러 문헌(6-9,11)에 자세히 소개되어 있다. 그러나 FIA에 의한 생물공정의 제어에 관한 연구는 아직 체계적으로 이루어지지 않고 있는 실정이다.

대개의 생물공정에서 글루코스와 암모니아는 주요 탄소원 및 질소원으로 사용되고 있는데, 생물 반응기내의 암모니아는 그 농도에 따라 미생물의 성장에 크게 영향을 끼친다. 예를 들면 *Escherichia coli* 배양에서 암모니아의 농도가 적정농도보다 높게 되면 cell내의 아미노산 합성과정에서 glutamine synthetase의 합성이 저해된다. 그리고 *Saccharomyces cerevisiae* 배양에서 암모니아의 농도를 낮게 유지하면 cell 내의 RNA 양이 감소하고 글리코젠이 축적된다. 그러나 PHB (poly- β -hydroxybutyrate) 생산에 사용되는 *Pseudomonas putida*의 배양에서는 암모니아 농도가 증가함에 따라 PHB 생산이 증가하게 되므로 반응기내의 암모니아 농도를 최적조건으로 조절해야 한다(10,12,17-19).

따라서 본 연구에서는 생물공정내 미생물 성장에 크게 영향을 미치는 암모니아의 농도를 FIA에 의해 온라인 모니터링하고 그 결과를 이용하여 반응기내의 암모니아 농도를 제어하는 시스템을 개발하고자 한다. 특히, 인공 신경망에 기초한 제어기(artificial neural network based controller, NN controller)를 개발하여 생물공정에 적용하고 기존의 제어기인 비례적분

*Corresponding Author : Faculty of Chemical Engineering, Chonnam National University, YongBong-dong 300, Kwangju 500-757, Korea
Tel : +82-62-530-1847, Fax : +82-62-530-1849
E-mail : jirhee@chonnam.ac.kr

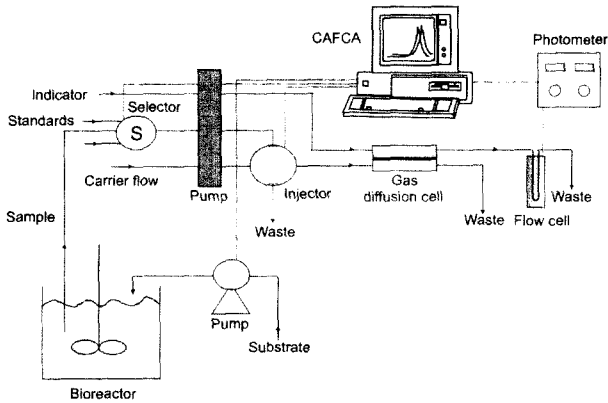


Figure 1. Set up of ammonia FIA.

Table 1. Standard operating conditions of ammonia FIA system

	Ammonia FIA
Carrier flow rate	1 mL/min
Sample flow rate	0.15 mL/min
Indicator flow rate	1 mL/min
Sample injection volume	50 µl
Cyclus time	240 sec
Temperature	26 °C
Recording frequency	2 Hz

및 미분제어기 (proportional integral and derivative controller, PID controller)와 그 특성을 비교, 연구하고자 한다.

재료 및 방법

암모니아 측정 원리

생물 반응기내 배양액중의 암모니아 농도는 가스 확산 (gas diffusion) 법을 이용하여 분석할 수 있다. 배양액 시료중의 암모니아는 알칼리성 운반용액 (carrier solution)과 혼합될 때 암모니아 가스가 생성되며 가스 분리막을 통과한 후 acceptor 용액에 흡수 된다. Acceptor 용액으로는 bromcresol 지시약 용액 (indicator solution)이 사용되며 흡수된 암모니아의 양에 따라 지시약 용액의 색깔이 변화한다. 암모니아 농도에 따른 지시약 용액의 색깔 변화는 분광 광도계 (Skalar, Model 6010)를 이용하여 측정할 수 있으며 반응기내 배양액중의 암모니아 농도를 분석하는데 이용된다.

흐름주입분석 장치 (Flow Injection Analysis System)

본 연구에 사용된 암모니아 측정용 FIA 장치와 그 표준 조작 조건을 Figure 1과 Table 1에 보였다. 시료 주입기 (injector)에 주입된 시료는 운반용액에 의해 가스 분리막 장치를 통과하면서 암모니아 가스가 생성, 분리되고, 지시약 용액에 흡수된 후 검출기인 분광 광도계에 도달한다. 시료 주입기, 펌프, 검출기 등의 자동화 및 결과 분석을 위해 컴퓨터 분석 소프트웨어인 CAFCA (Computer Assisted Flow & Control Analysis, anasyscon GmbH, Germany)를 사용하였다.

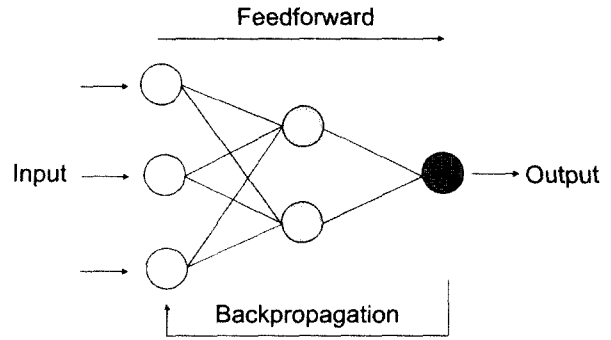


Figure 2. Backpropagation neural network.

사용된 시약 및 분리막

본 연구에서 사용한 지시약, Bromcresol violet은 Sigma 회사에서 구입하였으며, 다른 화학 약품은 Fluka 회사에서 분석 용을 구입하였다. 암모니아 가스 분리에 사용한 분리막 장치의 분리면적은 0.1 cm²이고 Akzo Nobel회사에서 구입한 polypropylene 막 (pore size: 2 µm, transmembrane flow for nitrogen : ≥ 1.5 (cm₂.min.bar)⁻¹)을 가스 분리막으로 사용하였다.

사용한 제어 알고리즘

PID 제어기

화학공정에 많이 사용되고 있는 제어기 중의 하나인 PID (Proportional Integral Differential Control)제어기는 생물공정 내 기질의 농도를 제어하는데 사용할 수 있다. 어느 시간 (t)에서 생물 반응기내 제어 변수 (U)는 아래와 같은 PID 제어식에 의해 표현될 수 있다.

$$U = K_p \times X_w + \frac{K_p}{T_i} \int X_w dt + K_p \times T_D \frac{dX_w}{dt} + U_o \quad (1)$$

여기서 X_w, K_p, T_D, T_i 는 제어 오차 (설정점과 측정값과의 차이), 비례이득(proportional gain), 미분 및 적분 시간상수이다.

NN 제어기

생물 및 화학공정의 모델링 등에 광범위하게 이용되고 있는 인공 신경망 구조 (artificial neural network structure)를 생물 반응기를 제어하는데 이용하고자 하는 노력이 많이 이루어지고 있다 (14-16). 본 연구에서는 인공 신경망 구조를 이용하여, 생물 반응기내의 기질의 농도를 제어하기 위한 3 개의 층 (입력층 (input layer), 숨겨진 층(hidden layer), 출력층 (output layer))을 가진 backpropagation neural network을 개발하였다. Figure 2에 보인 것과 같이, 상호 연결된 각각의 신경을 하나의 공정단위로 생각할 때, 입력신호 (O_i)는 무게합수 (W_i)와 곱한 후 각 신경의 순 입력 (net input)으로 합하여진다. 활성화 함수 (F)를 이용하여 각 신경의 활성화 상태가 계산되는데, 본 연구에서는 전형적인 활성화 함수 중의 하나인 sigmoid 함수를 이용하였다.

한편, 본 연구에서 개발한 제어 알고리즘은 turbo pascal을 이용하여 프로그래밍하였고 소프트웨어CAFCA에 연결하여

반응기내의 암모니아 농도를 제어하는데 사용하였다.

제어기의 매개변수값 추정

생물공정은 비선형으로써 해석적으로 매개변수를 구하는 것이 쉽지 않기 때문에 적절한 발효 모델에 기초한 computer simulation 프로그램을 이용하여 각 제어기의 변수값을 추정할 수 있다. 본 연구에서 개발하고자 하는 NN 제어기는 3개 이상의 매개변수를 가지고 있다. 따라서 제어하고자 하는 생물공정의 조건에 최적화한 매개변수값을 얻기 위해서 아래와 같이 수학적으로 표현할 수 있는 simplex 방법을 사용하였다. 즉, 처음에는 임의의 값을 선택한 후 제어 오차의 합이 감소하도록 연속적으로 변화시켰다.

최소화 : $c_1 x_1 + c_2 x_2 + c_3 x_3 + c_4 x_4 + \dots + c_n x_n \equiv c^T x$
모든 x 에 대해 다음의 부수적 조건을

$$a_{i1} x_1 + a_{i2} x_2 + \dots + a_{in} x_n \leq b_i \quad i = 1, 2, 3, \dots, m$$

$$a_{i1} x_1 + a_{i2} x_2 + \dots + a_{in} x_n = b_i \quad i = m+1, m+2, \dots, n$$

만족해야 하는데, a_{ik} , b_i , c_k 는 주어진 실수이고 m 은 부등호의 수이다.

한편, PID 제어기의 매개변수는 발효공정의 모델을 이용할 수 없는 경우에 Ziegler-Nichols 방법이나 Cohen-Coon 방법을 이용하여 추정하였다.

생물공정

모사생물공정

흐름주입분석기술을 이용한 생물공정 제어기술을 연구하기 위해 1 L용 교반형 연속 반응기를 사용하였다. 반응기에 일정 농도의 암모니아 용액 (초기에 10 mM Phosphate 용액이 도입됨) 또는 10 mM Phosphate 용액 (초기에 일정 농도의 암모니아 용액이 도입됨)을 일정한 속도로 연속적으로 유입 및 유출시킬 때 반응기내의 암모니아 농도는 변화하고, FIA를 이용하여 반응기내 암모니아 농도를 온라인 모니터링하였다. 모니터링된 값을 기초로 PID 제어기 또는 NN 제어기를 이용하여 반응기내의 암모니아 농도를 적절한 설정점으로 제어한다.

실제발효공정

암모니아 농도를 제어하기 위해 *Saccharomyces cerevisiae* 를 4.3 L 교반형 생물 반응기 (25°C, pH 6.5)에서 배양했으며, 배양액으로는 (NH₄)₂SO₄이 주요 질소원인 최소 배양액 (Glucose, 5 g/L; (NH₄)₂HPO₄, 1.9 g/L; KCl, 0.9 g/L; MgSO₄·7H₂O, 0.34 g/L; CaCl₂·2H₂O, 0.42 g/L; Na-Citrate, 5.9 g/L; trace element solution (FeCl₃·6H₂O, 0.015 g/L; MnSO₄·H₂O, 0.0105 g/L; ZnSO₄·7H₂O, 0.009 g/L; CuSO₄·5H₂O, 0.0024 g/L; m-Inositol, 0.06 g/L; Ca-Pantothenate, 0.03 g/L; Vitamine B₁, 0.006 g/L; Vitamine B₆, 0.0015 g/L; Biotin, 0.00003 g/L), 1 mL/L)을 사용하였다.

결과 및 고찰

Computer simulation 프로그램

생물공정에 이용된 제어기의 최적 매개변수값을 추정할 뿐

만 아니라 제어기의 종류에 따른 이론적인 제어 결과를 비교하거나, 또한 분석 시료의 체류시간 (residence time)에 따른 제어특성을 모사하는 경우 등을 위해 turbo pascal을 이용하여 computer simulation 프로그램을 개발하였다. Computer simulation은 Figure 3에 보인 것과 같이 회분 공정으로부터 반응기내 암모니아 농도 변화에 대한 적절한 모델을 설정한다. 설정된 모델 및 추정된 매개 변수값을 이용하여 제어하고자 하는 생물공정을 모사한 후 제어기 설정값과 모사에 의해 얻어진 결과를 비교하여 처음 추정된 매개변수값을 변화시킨다. 이와같은 과정을 반복하여 제어편차 (설정 제어값과 모사 결과와의 차이)가 5% 이내에 이르렀을 때의 매개변수값을 제어기용 매개변수값으로 사용한다. 이처럼 모사에 의해 얻어진 최적 매개 변수값을 이용하여 반응기내로 주입될 고농도 기질의 주입속도나 이론적인 제어 결과를 그래프형태로 나타낼 수 있었다.

제어기의 매개 변수 값의 영향

각종 제어기에 의해 생물공정을 제어하는 경우 제어기의 매개변수값에 따라 제어 특성이 커다란 영향을 받게 된다. 예를 들면 PID 제어기에서 3개의 매개변수값은 Ziegler-Nichols 법 또는 Cohen-Coon 법등에 의해 추정되는데, 본 연구에서는 simplex 법에 의해 추정된 매개변수값을 위의 두 방법에 의해 구한 값과 비교, 고찰하였다. 이를 위해 소형흐름반응기(constant stirred tank reactor, CSTR, 150 mL)를 이용하여 암모니아-FIA에 의한 반응기내 암모니아 농도의 PID 제어 실험을 행하였다. 먼저, phosphate완충용액이 5.984 mL/min로 유입, 유출되는 CSTR에 10 g/L의 암모니아를 1.96 mL/min의 유속으로 주입한 후 (이때 7.944 mL/min로 유출) 그 농도분포를 측정하는 실험을 행하였는데, CSTR의 체류시간(residence time)은 21.1 min (T_{real})이었고, 암모니아-FIA의 분석시료에 대한 체류시간은 4.5 min이었다. 한편, CSTR에서 1차 반응이 일어난다고 했을 때 이상적인 반응기 체류시간 (T_L)은 18.9 min (= (150 mL) / (7.944 mL/min))로서 실제 반응기 체류시간 보다 약 11.6% 작다. 이러한 반응기의 특성을 이용하여 식 (1)의 PID 제어기 매개변수값을 Ziegler-Nichols 법 및 Cohen-Coon 법으로 계산하면 Table 2와 같다.

Table 2에서 S는 초기값 ($t=0$)에서 공정곡선의 기울기로서 초기 암모니아 농도 (C_0 , 10 g/L) / 시간상수 (T_L)를 이용하여 계산할 수 있다.

한편, Simplex법에 의해 매개변수값을 계산하기 위해서는 식 (1)을 분산형태 (discrete form)로 아래와 같이 쓸 수 있다.

$$U(k) - U(k-1) = q_1 X_u(k) + q_2 X_u(k-1) + q_3 X_u(k-2) \quad (2)$$

변형된 PID 제어기의 매개변수 q_1 , q_2 , q_3 에 대한 값을 Ziegler-Nichols 법 및 Cohen-Coon 법으로 계산한 값과 비교하여 Table 3에 나타냈다.

Figure 4에는 Table 3의 3가지 방법에 의해 계산된 매개변수값을 이용하여 생물 반응기내 암모니아의 농도를 5 g/L로 제어한 경우 PID제어의 특성을 나타냈다. Ziegler-Nichols 및 Cohen-Coon 방법에 의해 추정된 매개변수를 사용했을 때 보다 simplex 법에 의해 추정된 값을 사용했을 경우가 제어

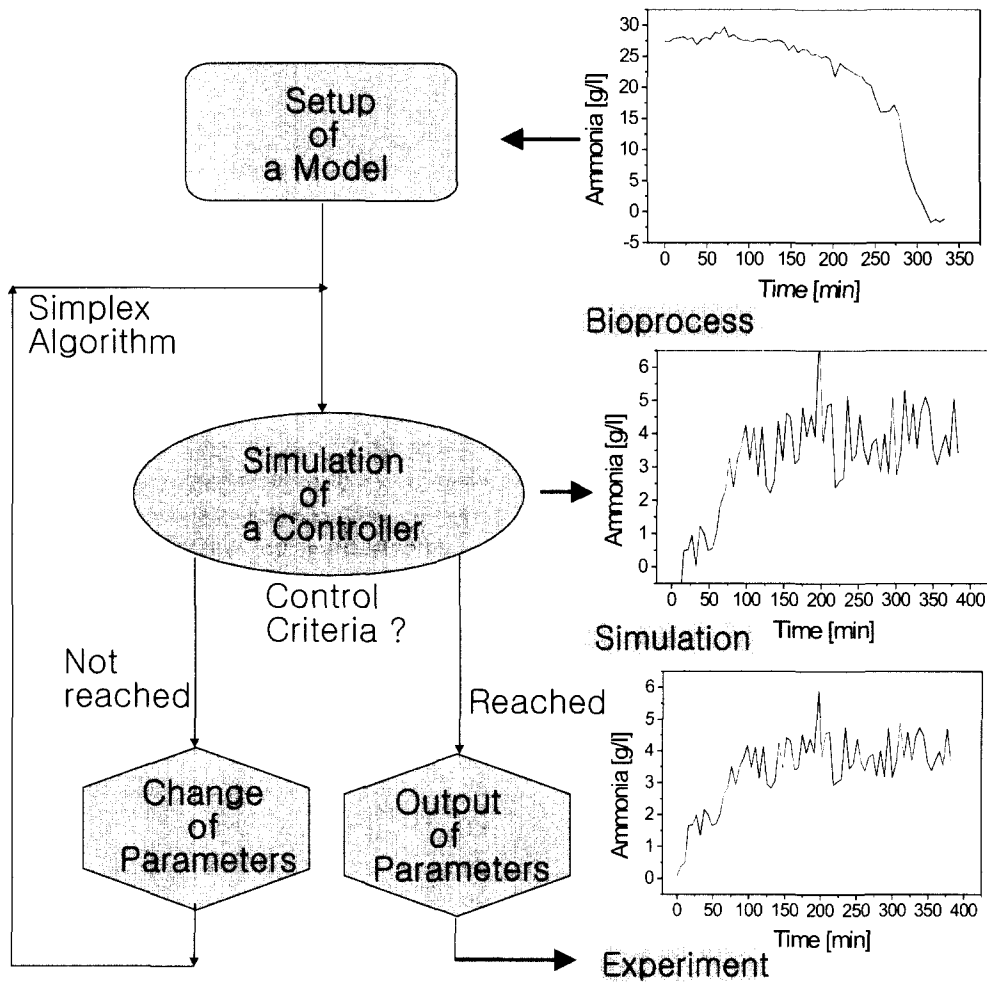


Figure 3. Computer simulation procedure for the calculation of controller parameters.

Table 2. Comparison of PID parameters calculated by Ziegler-Nichols method and Cohen-Coon method

Methods	K_P	T_I (min)	T_D (min)
Ziegler-Nichols	$1.2 * 1 / (T_L * S) = 0.12$	$2 * T_L = 37.8$	$T_L / 2 = 9.45$
Cohen-Coon	$T_{real} / 2 / T_L * (1.33 + T_L / 12 / T_{real}) = 0.784$	$T_L * (32 + 6 * T_L / T_{real}) / (13 + 8 * T_L / T_{real}) = 33.15$	$T_L * 4 / (12 + 2 * T_L / T_{real}) = 5.48$

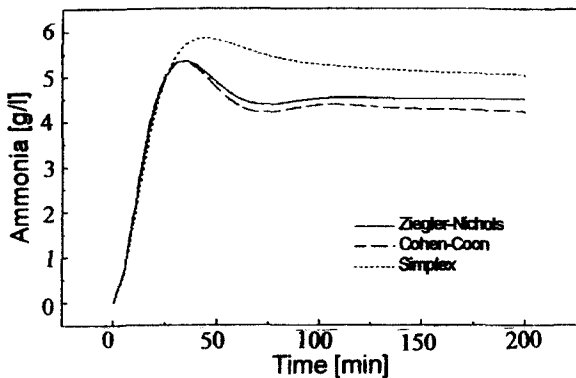


Figure 4. Simulation of ammonia concentrations by a PID-controller using 3 different controller parameters (set point : 5 g/L).

Table 3. Modified PID parameters calculated by simplex method ($T_0 = 0.25$ min), compared with Ziegler-Nichols method and Cohen-Coon method

Methods	$Q_1 = K_P / (1 + T_D / T_0)$	$q_2 = -K_P (1 + 2 T_D / T_0 - T_0 / T_I)$	$q_3 = K_P T_D / T_0$
Ziegler-Nichols	4.66	-9.19	4.54
Cohen-Coon	17.97	-35.15	17.19
Simplex	0.60	-0.28	-0.18

값의 진동없이 설정값에 빨리 도달함을 볼 수 있다. 한편, Ziegler-Nichols 법과 Cohen-Coon 법에 의한 매개변수값을 사용한 경우에는 그 제어 특성이 거의 비슷함을 볼 수 있는

Table 4. Simulation results with different neural network structure

Network structure	Numbers of connection	Training cycles	Mean errors (without A.E.)	Mean errors (with 5% A.E.)
3 - 0 - 1	3	5000	3.0%	8.3%
3 - 1 - 1	4	1000	2.9%	8.2%
3 - 2 - 1	8	1000	0.9%	6.2%
3 - 3 - 1	12	5000	> 50%	> 50%
3 - 3 - 2	15	5000	> 50%	> 50%

A.E. represents the analysis error of an ammonia-FIA system

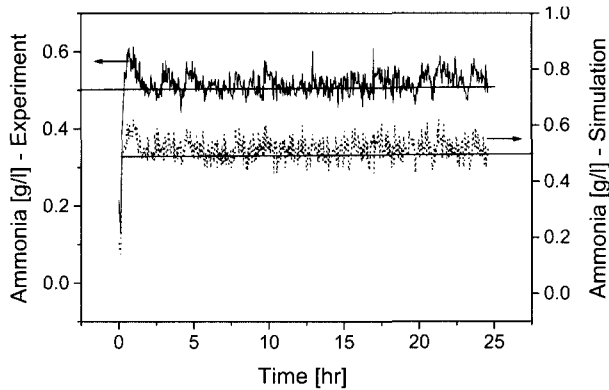


Figure 5. Time course of ammonia concentrations in simulation and experiment by a PID-controller (set point : 0.5 g/L; analysis frequency of the ammonia FIA : 24 1/hr).

데 이는 두 방법에 의한 매개변수값(q_1, q_2, q_3) 이 3.8 배의 차이가 있기 때문인 것으로 생각된다. 위의 결과로부터 본 연구에서는 PID제어기를 사용하여 제어하는 경우에도 simplex 방법으로 매개변수값을 추정하여 사용하였다.

모사공정에서 암모니아의 농도 제어

PID 제어기 또는 NN 제어기에 의한 생물 반응기내 암모니아 농도의 제어특성을 모사 생물공정을 이용하여 비교, 고찰하였다. 생물 반응기에 주입할 기질의 양을 계산하기 위해 반응기에 대한 질량수지로부터 세운 아래의 식을 이용하였다.

$$\frac{dC_{Sub}}{dt} = -qX + \frac{FC_{Sub'}}{V} - \frac{C_{Sub}}{V} \frac{dV}{dt} \quad (3)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{X}{V} \frac{dV}{dt} \quad (4)$$

여기서 C_{Sub} , C_{Sub}^* , q , X , V , F 및 μ 는 반응기 및 저장 용기내 기질의 농도, 기질의 소모속도, cell 밀도, 배양액의 부피, 기질의 주입유속 및 cell의 성장속도이다. 식 (3)과 (4)를 일정한 부피 하에서 반응기내 기질의 초기 농도를 C_{Sub}^0 라 했을 때 적분하여 정리하면 아래의 식 (5)와 같다.

$$C_{Sub} = C_{Sub}^0 - P_1 \exp(\mu t) + P_2 t \quad (5)$$

$$P_1 = \frac{qX_0}{\mu}, \quad P_2 = \frac{FC_{Sub}'}{V}$$

한편, 생물 반응기내 암모니아의 농도를 암모니아-FIA를 이용하여 온라인 모니터링하고 설정 값으로 제어하는데 암모

니아-FIA 장치의 분석오차를 적절히 고려해야 한다(7,13). Figure 5에 암모니아-FIA 장치의 분석오차 5%를 고려하고 PID제어기를 사용하여 모사 생물공정에서 암모니아 농도를 0.5 g/L로 제어하고자 하는 경우, 모사에 의한 제어 결과와 실험에 의한 결과를 나타냈다. 실험 시작 후 1.7 시간이 경과했을 때, 즉 반응기의 제어를 시작한 때부터 설정 값과 모사에 의한 제어 결과와의 사이에서 제어 오차는 약 10% 정도였고, 또한 실험에 의한 결과와 설정 값과의 제어 오차도 약 10% 정도였다. 그러나, 모사결과와 실험결과와의 평균 제어 오차는 약 1.4% 정도로 매우 작았다. 본 실험을 통해 PID 제어기에 의해 생물공정을 제어하는 경우에는 FIA 장치의 분석오차를 5% 이상 고려할 필요가 있음을 알 수 있다.

인공 신경망 (artificial neural network) 구조를 이용한 제어기는 사용한 층 (layer)과 신경 (neuron)의 수에 따라 제어 구조가 복잡해지고 계산시간도 길어지게 된다. 본 연구에서는 한 개의 입력 층을 시간에 따른 기질의 농도, 한 개의 출력 층을 기질 주입유속으로 했을 때 한 개의 감추어진 층에서 신경의 수가 변화함에 따라 신경망의 구조도 복잡해진다. 인공 신경망 구조의 감추어진 층에서 신경의 수가 0인 경우, 즉 3-0-1 구조를 가진 경우 3개의 매개변수를 가진 PID 제어기와 같은 반면, 3-3-1의 구조를 가진 경우에는 신경들 사이에 12개의 연결선 (connection lines)을 가지게 되어 계산하는데 많은 시간이 소모된다.

Table 4에는 다른 신경망 구조를 가진 제어기의 특성을 모사한 결과를 나타냈다. 표에서 암모니아-FIA 장치의 분석오차 5%를 고려한 경우와 고려하지 않은 경우의 제어 오차는 최소 5.3% 이상 차이가 있음을 알 수 있다. 한편, 감추어진 층에 3 개의 신경이 있는 경우, 즉 3-3-1 구조 및 3-3-2 구조에서는 훈련 주기 (training cycles)를 5000으로 했을 때에도 50% 이상의 제어 오차가 발생하여 생물공정의 제어기로 적합하지 않는 구조임을 알 수 있다. 따라서 본 연구에서는 Table 4에서의 결과에 따라 3-2-1의 구조를 생물공정의 제어를 위한 구조로 사용하였다.

Figure 6에는 모사 생물공정에서 암모니아 농도를 제어하기 위해 3-2-1 신경 구조를 가진 신경망 제어기를 3-0-1 구조를 가진 제어기, 즉 PID 제어기와 실험적으로 비교한 결과를 나타냈다. 회분공정에서 반응기내 암모니아의 농도가 선형으로 감소한다는 가정을 이용하여 제어 매개변수를 추정하였고, 5%의 암모니아-FIA 장치의 분석오차와 150 훈련 주기를 이용하였다. Figure 6에서 0.7 g/L의 암모니아 농도를 제어 설정값으로 했을 때 인공 신경망 제어기에 의한 제어 편차 (17.5%)는 PID 제어기에 의한 오차 (30.3%) 보다 낮음을 볼 수 있다. 즉 생물 공정내 기질의 농도를 제어하기 위해서는

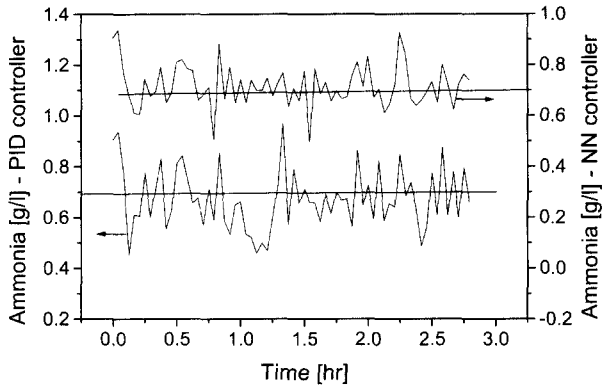


Figure 6. Experimental comparison of a 3-2-1 NN-based controller with a PID controller for the control of ammonia concentration to 0.7 g/L (5% analysis error, 150 training cycles).

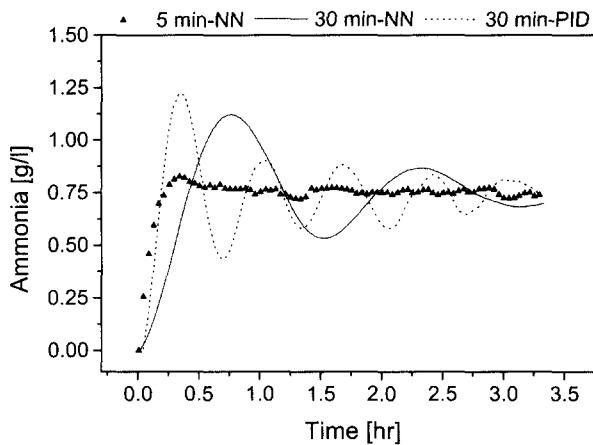


Figure 7. Time courses of simulations with different residence times of samples by a NN-based controller and a PID controller (set point : 0.75 g/L).

PID 제어기보다 3-2-1 구조의 인공 신경망 제어기가 더 유리하다고 할 수 있다.

한편, 인공 신경망 제어기는 FIA 장치에 의해 측정되는 분석 시료의 체류시간에 영향을 받을 수 있는데 체류시간을 각각 5분, 30분으로 변화시켰을 때 인공 신경망 제어기에 의한 제어 특성과 30분의 체류시간을 가진 PID 제어기의 제어 특성을 비교한 결과가 Figure 7에 있다. 체류시간이 5분인 경우 인공 신경망 제어기는 진동없이 제어 설정 값에 도달하는 반면, 30분인 경우 두 제어기는 진동을 한 후 설정 값에 도달한다. 그러나 인공 신경망 제어기는 PID 제어기보다 overshoot가 낮고 진동횟수가 적음을 볼 수 있다.

Figure 8에서는 반응기내 암모니아의 농도가 회분공정에서 지속적으로 감소한 경우 인공 신경망 제어기에 의한 암모니아 농도의 제어 특성을 보였다. 제어를 시작한 후 제어 결과와 설정 값과의 평균 제어 오차는 10.2%이지만, 9시간 이후에는 진동이 증대되기 시작함을 볼 수 있다. 이러한 진동의 증대는 기질 주입펌프가 on-off 형태로 작동하기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 기질 저장 용기내 기질의 농도를 적절하게 조절하여 생물 반응기가 제어되는 동안 주입 펌프가 연속적으로 작동될 수 있도록 하여야 할 것이다.

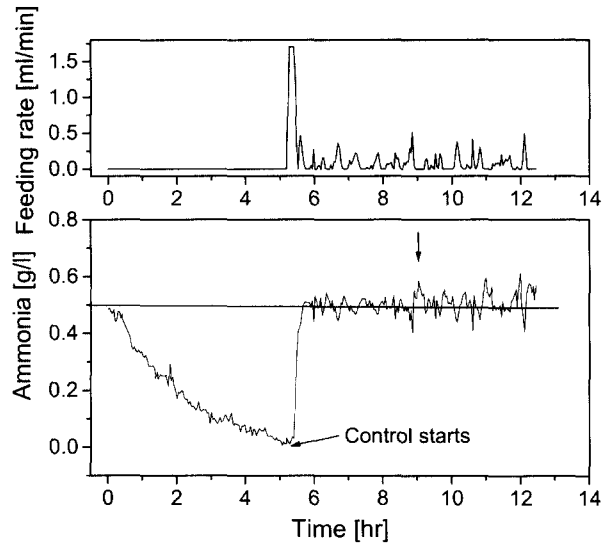


Figure 8. Time course of ammonia concentration and feeding rate in a SSTBR controlled by a NN-based controller (set point : 0.5 g/L).

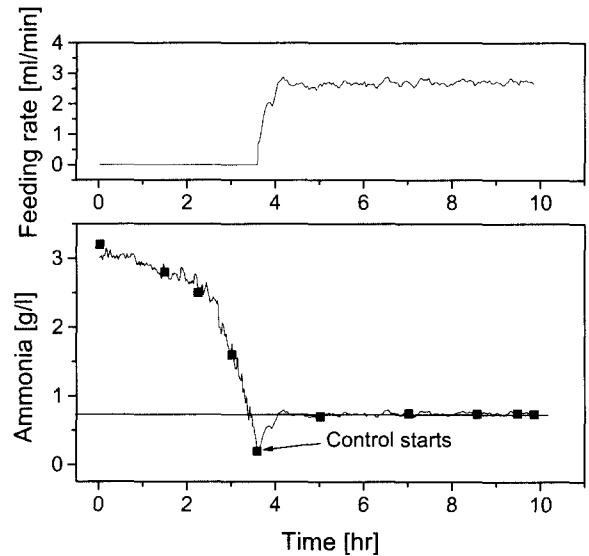


Figure 9. Time course of ammonia concentration and feeding rate in a *S. cerevisiae* cultivation process controlled by a NN-based controller (set point : 0.7 g/L).

암모니아-FIA를 이용한 모사 생물공정의 암모니아 제어 특성 시험으로부터 5% 정도의 FIA 장치의 분석오차를 고려해야 하고, 3-2-1의 구조를 가진 인공 신경망 제어기가 생물공정을 제어하는데 적합함을 알 수 있었다. 또한 PID 제어기와 비교했을 때 인공 신경망 제어기가 더 우수한 제어 특성을 보였다. 그러나 분석 시료의 체류시간에 따라 진동이 발생하기 때문에 제어기의 매개변수를 computer simulation에 의해 구할 때 이를 고려하여야 하고, 저장 용기내 기질의 농도를 적절하게 조절하여 고농도의 기질이 연속적으로 생물 반응기에 도입되도록 펌프를 작동해야 한다.

Yeast발효공정에서 암모니아 농도의 제어

암모니아-FIA를 이용한 PID 제어기 및 NN 제어기에 의한

모사 생물공정에서의 암모니아 농도의 제어 특성에 대한 결과를 이용하여 *Saccharomyces cerevisiae* 발효공정에서 암모니아 농도를 제어하는 실험을 행하였다. 제어기의 최적 매개변수값을 구하기 위해 5%의 암모니아-FIA 장치의 분석오차와 생물 반응기에서 FIA장치까지 분석시료의 체류시간 7분을 고려하였다. Simplex 법을 이용한 computer simulation에 의해 구한 매개변수값을 적용하여 3-2-1 구조를 가진 인공신경망 제어기를 이용하였다. Figure 9에는 NN 제어기에 의한 발효공정의 암모니아 농도의 제어 특성을 보였다.

실험 시작 3.5시간 이후 암모니아 농도를 7.5 g/L로 제어하기 시작하였다. 제어 실험을 하는 동안 설정 값과 측정 값과는 10.2% 정도의 오차가 있다. 그리고 FIA에 의한 암모니아 농도의 온라인 모니터링 결과는 분광 광도계를 이용한 오프라인 분석 결과와 잘 일치함을 볼 수 있다. 또한, NN 제어기를 실제 발효 공정에 적용할 때 반응기내의 기질의 농도를 잘 제어할 수 있음을 알 수 있다.

요 약

생물 공정에서 암모니아 농도를 제어하기 위해 NN 제어기를 개발하였고 기존의 PID 제어기와 비교하였다. 특히, 생물 반응기내 암모니아 농도를 온라인 모니터링하기 위해 암모니아-FIA 장치를 사용하였으며 이 장치의 분석 오차, 분석 시료의 체류 시간 등의 제어 특성에 대한 영향을 computer simulation을 통해 비교, 고찰하였다. 또한, computer simulation에 의해 생물공정에 적합한 인공 신경망 제어구조를 고찰하였고 3-2-1 구조의 NN 제어기가 PID 제어기보다 우수함을 알 수 있었다. 3-2-1 구조의 NN 제어기를 이용하여 모사 생물공정 및 yeast 발효공정에서 암모니아 농도를 제어하여 그 특성을 고찰하였다. 본 연구로부터 미생물의 비선형 성장 특성을 가진 생물공정에서 기질의 농도를 제어하기 위해서는 3-2-1 구조의 인공 신경망 제어기가 적합함을 알 수 있었다.

REFERENCES

- Johnson, A. (1987), The control of fed-batch fermentation processes - a survey. *Automatica*, **23**, 691-705.
- Kleman, G. L., Chalmers, J. J., Luli, G. W., and Strohl, W. R. (1991), A predictive and feedback control algorithm maintains a constant glucose concentration in fed-batch fermentations. *Appl. Env. Microbiol.*, **57**, 910-917.
- O'Conner, G. M., Sanchez-Riera, F., and Cooney, C.L. (1992), Design and evaluation of control strategies for high cell density fermentations. *Biotech. Bioeng.*, **39**, 293-304.
- Mou, D. G. and Cooney, C. L. (1983), Growth monitoring and control through computer-aided on-line mass balancing in fed-batch penicillin fermentation. *Biotech. Bioeng.*, **35**, 312-319.
- Luli, G. W., Schlasner, S. M., Ordaz, D., Mason, M., and Strohl, W. R. (1987), An automatic, on-line glucose analyzer for feedback control of fed-batch growth of *Escherichia coli*. *Biotechnol. Tech.*, **1**, 225-230.
- Ritzka, A., Sosnitza, P., Ulber, R., and Scheper, T. (1997), Fermentation monitoring and process control. *Curr. Opin. Biotech.*, **8**, 160-164.
- Schugerl, K. (1993), Which requirements do flow injection analyzer/biosensor systems have to meet for controlling the bioprocess?, *J. Biotechnol.*, **31**, 241-256.
- van der Pol, J. J., de Gooijer, C. D., Biselli, M., Wandrey, C. and Tramper, J. (1996), Automation of selective assays for on-line bioprocess monitoring by flow-injection analysis. *TIBTECH*, **14**, 471-477.
- Ruzicka, J. and Hansen, E. H. (1998), Flow injection analysis where are we heading? *Trend. Anal. Chem.*, **17**, 69-73.
- Lasko, D. R. and Wang, D. I. C. (1996), On-line monitoring of intracellular ATP concentration in *Escherichia coli* fermentations. *Biotech. Bioeng.*, **52**, 364-372.
- Keay, P. J. and Wang, Y. (1997), Applications of flow injection analysis to analytical biotechnology. *Trend. Anal. Chem.*, **15**, 76-81.
- Honda, H., Nakazeko, T., Ogiso, K., Kawase, Y., Aoki, N., Kawase, M., and Kobayashi, T. (1997), Colominic acid production from *Escherichia coli* in fed-batch culture under the control of ammonium ions using a FIA system. *J. Ferm. Bioeng.*, **83**, 59-63.
- Hitzman, B., Ritzka, A., Ulber, R., Scheper, T., and Schugerl, K. (1997), Computational neural networks for the evaluation of biosensor FIA measurements. *Anal. Chim. Acta*, **348**, 135-141.
- Montague, G. and Morris, J., (1994), Neural network contributions in biotechnology. *TIBTECH*, **12**, 312-324.
- Kruse, H., Mangold, R., Mechler, B., and Penger, O., (1991), Programmierung neuronaler Netze, eine Turbo Pascal Toolbox. Addison-Wesley, Bonn.
- Stoer, J. (1983), Einführung in die Numerische mathematik I, 4.ed. Springer Verlag, Berlin.
- Wittmann, C., Zeng, A.-P., and Deckwer, W.-D. (1995), Growth inhibition by ammonia and use of a pH-controlled feeding strategy for the effective cultivation of *Mycobacterium chlorophenolicum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **44**, 519-525.
- Thomson, B. G., Kole, M., and Gerson, D. F. (1985), Control of ammonia concentration in *Escherichia coli* fermentations. *Biotech. Bioeng.*, **27**, 818-824.
- Kole, M. M., Thomson, B. G., and Gerson, D. F. (1985), Ammonia concentration control in fed-batch fermentations of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Ferm. Technol.*, **63**, 121-125.