

摘 要

生物发酵技术的应用相当广泛，能够缓解能源短缺。能源严峻的形式致使发酵工程技术产业化势在必行。进行发酵过程机理研究，特别是在传热方面的研究和温度场的模拟，以提高大规模工业发酵过程的温控效率就具有重要的工程应用意义。

生物发酵基的制备、发酵过程控制优化、发酵发生器及其配套设备等技术国内外都作了一些深入的研究，但是还不完善。相应地，发酵工程有很多应用。由于一些关键的技术有待解决，在国内发酵工程应用相对滞后。对于发酵传热方面的研究就更少。本文采用实验研究、理论分析与数值模拟相结合的方法，研究微生物发酵传热特性及其温度场的分布特性。为以后发酵工程应用提供理论参考。

本文首先选 PVC 板制作一个边长为 300mm 的立方体箱，根据需要布置热电偶，做好保温工作，搭建好发酵实验台。逐步作了柑桔皮渣和葡萄的自然发酵实验。熟悉了发酵的过程步骤和注意事项。

在线采集温度数据，发酵结束进行数据处理，得出温度时间图线。通过曲线图比较分析，结果表明发酵具有阶段性。温度随时间不断变化，说明发酵过程中有内热源产生，在发酵期温度上升明显，揭示发酵反应是放热反应。

对发酵试样进行了物性参数测试，从物理性能方面研究发酵物的特性。由此对配套设备作出相应的技术处理。发热量的大小决定了发酵后的剩余产物的用途，合理利用资源。

分析了温度对发酵的影响。根据自然发酵过程的温度时间图，拟合温度时间关联式。按能量守恒，经过公式推导，引用测试的物性参数，得到内热源的经验公式。

再一次作了葡萄试样的控温发酵实验。向发酵箱中间的不锈钢里面通入冷热水源，控制温度恒定，实时地来控制发酵过程温度，以有利于发酵的进行。处理在线采集的温度数据，得到控温时的温度时间图线。分析表明温度随时间变化不大，温度时间图线几乎是一条水平直线。证明了控温效果明显，达到实验目的。

结合实验工况、边界条件，用 ansys 软件模拟了温度场的分布情况。从数值模拟结果和实验数据结果对比情况看，两者相近，表明了模拟结果正确，对大型工业管网布置提供了理论参考。

关键词：发酵过程，传热，温度，内热源

ABSTRACT

The application of biological fermentation technology is quite widespread. Which can alleviate the energy to be short. The form of lack energy causes the imperative development of fermentation engineering technology industry. Conducting the academic research on fermentative process, especially in the heat transfer aspect and the temperature field simulation, enhances the efficiency of controlling temperature on the large-scale industrial fermentation process. Which have the important project application significance.

Domestic and foreign researcher have all done some thorough research on the biological fermentation base preparation, the fermentative process control optimized, the fermentation generator and its supplementary equipment, and so on. But it is imperfect. Correspondingly, the fermentation engineering has applied very much. Because some important technologies wait for the solution, the domestic fermentation engineering application is relatively. It has less been researched at the aspect of fermentation heat transfer. The author researched microorganism fermentation heat-transfer property and its temperature field distributed characteristic with the union method of the experimental study, the theoretical analysis and the value simulation. Which provide the theory reference for the later fermentation engineering application.

In this article first there is a cube box, to manufacture with the PVC-board whose side length is the 300mm. According to the needs, the thermo-element is arranged, the heat preservation work is completed, and then the fermentation laboratory bench was done well. Gradually they are made on the natural fermentation of orange peel dregs and grape's nature fermentation test. It has been familiar about the fermentation process step and the matters attention needed.

The on-line gathering temperature data are carried on the processing at the end of the fermentation experiment, and then the result is the temperature time graph. According to the diagram of curves comparative analysis, finally it indicates the fermentation has gradualness. The temperature unceasingly changes as necessary, which shows the fermentative process has the heat source production. The temperature rise is obvious in the fermentation process. It shows that the fermentation response is the exothermic reaction.

The author has carried on the natural parameter test to the fermentation specimen,

studies the fermentation characteristic from the physical performance aspect, and makes corresponding technical processing to the supplementary equipment. The calorific capacity size has decided the use of fermentation surplus product, which reasonably used the resources.

The author has analyzed influence of the temperature to the fermentation. According to the temperature-time chart in the nature fermentative process, the author simulates the fitting temperature-time type formula. In according to the conservation of energy, the process equation development, it obtains the internal heat source empirical formula after the quotation test natural parameter.

The author made the controlling temperature fermentation test of the grape specimen once again. The cold hot water source is passed to the stainless steel inside in the middle of fermentation box. The temperature of water of the stainless steel inside is invariable, which can real-timely control the fermentative process temperature, it is advantageous to fermentation carrying on. Processing the on-line gathering temperature data, it will obtain the temperature time graph under controlling temperature. The analysis indicates the temperature changes as time is not in a big way, the temperature time graph nearly is a even straight line. It has proven the effect of controlling temperature is obvious, achieves the experimental goal.

According to the union of experiment operating modes and the boundary condition, the author has simulated the temperature field distributed situation with ansys software. From two value analogue results of the contrast between simulation data and empirical data, it had indicates the simulation is correct, has provided the theory reference to the major industry pipe network arrangement

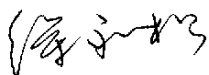
Keywords: Fermentation process, Heat transfer, Temperature, Internal heat source

主要符号表

η	效率	Q	热能, J
W	功, J	ΔE	能量变化, J
ρ	密度, Kg/m^3	c	比热容, $\text{KJ}/\text{Kg}\cdot^\circ\text{C}$
t	温度, $^\circ\text{C}$	τ	时间, s
R	相关系数	T	节点温度, $^\circ\text{C}$
$\dot{\Phi}$	内热源, W/m^3	λ	导热系数, $\text{W}/(\text{m}\cdot\text{K})$
ΔV	体积变化, m^3	ΔH	焓变化, J
N	形函数		

独创性声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得重庆大学或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名： 签字日期：2006 年 11 月 30 日

学位论文版权使用授权书

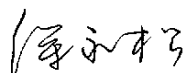
本学位论文作者完全了解重庆大学有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权重庆大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

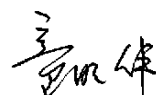
保密（☐），在____年解密后适用本授权书。

本学位论文属于

不保密（☒）。

（请只在上述一个括号内打“√”）

学位论文作者签名：

导师签名：

签字日期：2006 年 11 月 30 日

签字日期：2006 年 11 月 30 日

1 绪言

1.1 课题背景及意义

21 世纪的工业生物技术产业是什么样的格局，作为工业生物技术基础的发酵工程在已经开始的生物经济时代所处的状态，所起的作用，面临的课题都是人们所关注的问题。

发酵是微生物在一定的培养环境中生长并形成代谢产物的过程。原本发酵是指微生物在厌氧条件下，将有机物不完全氧化为一些代谢产物而获取能量进行生长的过程，不过现在把微生物的好气培养也归入发酵。随着人类对微生物的认识的加深，微生物资源的开发日益深入，发酵工业提供了越来越丰富的产品，为人类生活质量的提高作出了重大贡献。

几千年前，现代人的祖先已经掌握了酿酒、发面、制醋等技术，经过一代一代作业者的改良，改善了人类的生活。不过，根本不了解发酵机理，发酵技术的进步受到很大的限制。18 世纪微生物的发现，大大促进了发酵业的发展。20 世纪 40 年代由微生物学家和化学工程师的通力合作实现了青霉素的产业化^[1]。极大地推动了现代发酵工业的发展，并促进生化工程这一学科的诞生。近年来，分子生物学和基因重组技术的发展为利用微生物生产异源蛋白质和构建高产菌种创造了条件，给发酵工业带来了新的发展机遇。

与传统的化学工程相比，发酵工程有某些突出特点：①主要以可再生资源作原料；②反应条件温和，多为常温常压、能耗低、选择性好、效率高的生产过程；③环境污染较少；④投资较小；⑤能生产目前不能生产的或用化学法生产较困难的性能优异的产品。由于这些特点，发酵工程已成为工业领域重点发展的行业，发酵工程产品包括各种抗生素、氨基酸、维生素、有机酸等与人们日常生活息息相关的产品。

发酵工程技术主要包括提供高性能生产菌种技术、实现降低成本大规模生产产品的发酵技术及最终获得合格产品的分离提取技术。进行发酵工程关键技术及重大产品的研究开发，将发挥中国丰富的生物资源优势，提高发酵技术的水平，促进食品加工、生物化工、生物医药等相关行业的产品竞争力和可持续发展。

作为全世界最大的发展中国家，当前中国工业化阶段正处于资源消耗的高峰期，面临的问题尤为突出：资源缺乏、能源短缺、石油资源短缺、环境污染等已成为中国经济可持续发展的障碍。发酵工程是解决以上问题的重要手段，发展生物工业产业是有效利用中国丰富生物资源的重要手段。中国拥有十分丰富的微生物和动植物等生物资源，为发酵工程技术产业发展提供了得天独厚的有利条件。

中国是一个农产品生产和消费大国。目前,中国粮食年总产量为 5 亿吨左右,其中稻谷 1.95 亿吨,小麦为 1.23 亿吨,均为世界之首。中国陈年粮的数量巨大,处理任务艰巨。据统计,在酿酒、氨基酸、有机酸、酶制剂、淀粉糖、酵母等几个主要产业中,每年的粮食加工量接近全国粮食总产量的 5%左右^[2]。提高发酵工程技术水平,利用基因技术等扩大结构调整、提高农副产品附加值和增加农民收入都具有十分重要的意义。不少专家预测,全世界探明的石油可开采储量为 1000 亿吨~1409 亿吨,按目前的采油速度,只能开采 40 年左右。中国石油紧缺尤为突出。随着未来经济的快速发展和能源结构的调整,中国对石油的需求还会增大。另外,石化能源燃烧后产生的二氧化碳、氧化氮、氧化硫以及排放的黑烟是导致严重环境污染如温室效应、全球气候变暖等的主要原因。严重的能源危机和环境问题促使人们进行石油替代能源的研究和开发。中国和发达国家相比,发展发酵工业具有劳动力成本低、投资成本低等诸多优势,将有利于中国两大支柱产业——化学工业、医药工业的产业升级和国际竞争力的提升^[3]。利用发酵工程,以农副产品为原料生产具有高技术含量、高附加值的产品,是中国农产品的主要出路之一。利用淀粉发酵燃料乙醇部分代替石油是新能源研究与开发的一个重要项目,目前燃料乙醇在北美洲和南美洲已占相当比例,装备燃料乙醇的发动机的汽油车已投入市场^[4];以农产品为原料利用发酵工程技术生产化工原料可以减轻传统化学工业的污染,实现资源的再生利用。总之,大力开发发酵工程技术,对于有效利用中国丰富的生物资源、增加农产品转化、提高农产品的附加值、减少环境污染、提高民族工业的国际竞争力、实现国民经济的持续发展,具有十分重要的意义。

因此生物发酵技术的产业化就势在必行,进行发酵过程机理研究,特别是在传热方面的研究和温度场的模拟,以提高大规模工业发酵过程的温控效率就具有重要的工程应用意义。

1.2 发酵技术

发酵技术包括发酵培养基制备技术、发酵过程控制优化技术及与发酵过程配套的技术(空气压缩、搅拌、制冷等技术)。

对于发酵基制备技术,国内企业及其研发机构通常主要考虑以发酵生产成本最低为目标进行开发,即采用最低的成本制备发酵所需的大量营养物质,包括两方面的内容:①以最低的价格购买发酵原材料;②以最低的成本对原材料进行灭菌。而目前世界上的技术发展趋势是将发酵和提取结合起来综合考虑产品的生产成本来开发培养基的技术。合成培养基由于成分简单,含杂质少,有利于后提取的产品分离,已逐渐成为国外大公司的首选。虽然这样发酵成本略有上升,但是提取成本却因为工艺的简化而大大降低,并且合成培养基由于成分清晰,发酵结

果重复性好, 这一动态值得国内同行关注和借鉴。

发酵过程控制优化指的是在已经提供的菌种或基因工程菌基础上, 在发酵发生器中通过操作条件的控制或发酵发生器装备的选型改造, 达到发酵成品最优, 即生产能力最大、成本消耗量最低或产品质量最高。当前中国在传统生物技术产业上有关发酵产品的品种和生产量已经处于世界第一的地位, 但是由于发酵过程控制优化技术研究和应用滞后的原因, 许多产品的生产水平不高, 与国际差距大, 因而生产成本很高, 市场竞争能力弱。

随着在发酵发生器中微生物大规模培养技术的深入研究, 以及对以批式培养为主要对象的发酵过程参数的时变性、多样性、耦合性和不确定性的认识, 建立了以过程动力学为基础的数学模型, 又引入了一系列现代控制理论, 其中有静态和动态优化、系统识别、自适应控制、专家系统、模糊控制、神经网络直到各种混沌现象的研究, 以实现过程优化。这种适应发酵过程的非线性特征的研究方法对深入开展微生物培养技术研究以及提高学术研究水平起了很大作用^[5]。但在实际工业生产上仍有很大局限性, 效果不明显。近年来有关代谢工程研究的文献大量报道, 这些研究还与生化研究结合起来, 由宏观走向微观把代谢网络中的代谢流分配与化学计量结合起来, 并通过计算机仿真得到许多有价值的结果。这些在基因水平和细胞水平的代谢调控研究为深入理解微生物过程起着重要作用, 但是在发酵发生器的实际操作中, 由于发酵过程酶学研究的困难, 以及过程特征数据采集和处理的困难, 发酵工艺优化研究的基本思路仍旧时寻求培养基配方和最佳温度、PH、溶解氧等采用动力学为基础的以最佳工艺控制点为依据的静态操作方法, 实际上这只是化学工程的动力学概念在发酵工程上的延伸^[6]。长期以来, 无论是商业化或工业规模的发酵发生器的传感器与计算机配置都是以宏观动力学为理论指导, 因而有很大的局限性。随着对发酵代谢流为核心的发酵过程多尺度问题认识的增加, 传感器与计算机软硬件配置除考虑动力学的概念外, 还加强了发酵发生器物料流和代谢流的检测。在发酵发生器中设计、利用各种传感技术, 把各种检测参数的多样性、时变性、相关耦合性和不确定性, 通过这些特性就可以得到生物反应器中多尺度问题有意义的研究内容。目前国外已普遍使用尾气分析仪对发酵过程中菌体的代谢情况并作出相应的工艺调整, 确保了小试规模的发酵工艺能够成功放大, 目前普遍使用 $200\sim 300\text{ m}^3$ 的发酵装置进行产品的发酵生产, AMD 公司进行黄原胶生产的发酵罐甚至达到 450 m^3 的规模, 而国内发酵厂 100 m^3 以上的很少。普遍使用的是 $30\sim 50\text{ m}^3$ 的发酵罐进行生产, 使得产品的生产规模难以扩大, 成本高据不下。

发酵技术中的配套设备对于发酵产品成本的降低极为重要。发酵产品的成本中有 $40\%\sim 60\%$ 是设备使用的动力成本 (包括水、电、汽、气), 然而在这方面长

期为国人所忽视，发酵工程所需使用配套的开发远远落后于国外同行。以最简单的发酵搅拌为例，国内发酵规模长期停滞不前的一个主要原因就是搅拌轴机械加工技术落后、难以生产出适合大规模发酵搅拌所需要的搅拌轴，缺少有实力的企业投入资金人力开发。发酵工业中发酵罐配套设备国产化，需要各个部门的合作攻关。

1.3 发酵过程机理国内外研究现状

几千年来，采用微生物发酵技术来生产各种酒类、醋、泡菜及各种奶制品等的过程一直是采用经验法，而对其中的原理知之甚少。在 19 世纪的后 50 年中，对有关发酵机理的争论促使目前作为应用微生物学和生物化学科学基础的一系列研究的进行。

数个世纪以来，人们一直把发酵过程等同于今天所称的化学反应，其主要误解可能是由于发酵过程会产生剧烈的气泡。19 世纪早期有一些证据进一步支持了发酵过程是严格意义上的化学反应这一观点。由 Lavoisier 和 Gay-Lussac 所领导的法国化学家得出酒精发酵能被描述为一分子葡萄糖转化成两分子乙醇和两分子二氧化碳的过程，当然，需要将酵母加入葡萄糖溶液以确保可重复及快速的发酵过程能够进行。按照化学家的说法，酵母仅仅作为一种化学催化剂。1837 年，Theodor Schwann 和 Charles Cagniard-Latour 各自发表了有关酵母是一种生物体的研究报告，在他们的论文发表之前，酵母一直仅被认为是一种含蛋白质的化学物质。难以确定酵母是一种活体的一个理由是其像大多数真菌一样不能动的。酵母细胞的性质是在改良型的显微镜出现后才被发现的^[7]。Schwann 和 Cagniard-Latour 也观察到酒精发酵总是在有酵母存在时才会发生。且随着酵母的繁殖而不断进行，并在酵母生长停止后即终止，因而这两个科学家后来推出的发酵的生物学原理对当时主要的化学家们提出了挑战。1857 年，巴斯德发表了他在发酵领域的第一篇论文，该文章所研究的时有关乳酸发酵，而不是酒精发酵。采用当时最精细的显微镜，巴斯德发现牛奶变酸与微生物的生长有关，在随后的数年中，巴斯德将其研究扩展到其他发酵过程中，乳酸发酵是不动细菌。巴斯德的发现为生物学原理提供了有力证据。在 1860 年巴斯德总结得出：发酵是一种生物过程，不同的发酵过程是由不同的微生物产生的。没有细胞的繁殖及其持续的活动，酒精的发酵是不可能进行的。在确证活酵母能产生酒精发酵之后，分离和鉴定负责其它类型发酵的微生物也取得了很快的进展^[8]。大量实践经验的积累、商业化培养基的开发及生产菌种的改良，促使发酵工业的发展趋于多元化。随着生产菌种的改良技术的成熟和完善，各种新型、高效生物反应器的研究与开发，反应器中供氧、传质的改善，等一系列问题的解决，微生物发展工业进入了一个崭新的发展阶段。

发酵过程产物的生产水平取决于所用菌种的生产能力、发酵的工艺条件和发酵罐的操作性能。对于给定的菌株，通过建立适当的发酵工艺，给微生物提供良好的环境，可以充分发挥所用菌株的生产能力，提高发酵的水平。发酵过程的工艺控制，则有赖于发酵罐的操作性和过程控制。例如青霉素发酵，现在的水平已经超过 50g/L，比原来提高了 4000 倍以上^[9]，取得这样的成果依靠菌种选育、发酵工艺改进和发酵罐的操作性能和过程控制。获得一个生产菌株后，需要确定发酵的工艺条件，如种子的培养、温度、培养基、PH、通气、补料等。例如，在早期的青霉素发酵中采用乳酸为碳源，若以易利用的葡萄糖为碳源则菌种生长旺盛，但严重影响青霉素的生成。发酵中通过缓慢补加葡萄糖可有效避免碳源代谢无阻遏^[10]，从而替代了乳酸的使用。在进行发酵的工艺研究时，很多采用了实验设计和统计学的方法，如正交设计、均匀设计、响应面法等，收到很好的效果。

发酵的本质是化学反应，伴随着菌体的生长，营养物质浓度和代谢产物浓度响应发生变化，这些变化间存在一定的关系，从物料平衡、能量平衡^[11]和反应动力学的角度研究发酵过程的特点和规律，是发酵过程优化的重要手段。在发酵过程中，产物的合成与微生物的生长速率往往有密切的关系，一些初级代谢发酵过程中，菌体的生长速率长于产物的合成速率有关，而次代谢产物的合成则一般与菌体的生长不相关。如许多抗生素发酵显示两个阶段，即生长阶段和生产阶段。在生长阶段中，菌体生长素率高，但抗生素合成速率很低或不合成抗生素，随着菌体生长速率的下降，抗生素大量合成，进入生产阶段，因此在这两个阶段中，发酵条件的控制是不同的。

然而，微生物在代谢产物合成中受到自身的调节。研究有关产物的合成途径及代谢调节，对于高手菌种的选育和发酵过程的控制有重要的指导作用^[12]。例如氨基酸的合成收到自身严密的调控，通常不会过量生产，通过对微生物氨基酸合成调控的研究，选育出能积累各种氨基酸的突变菌株。随着基因工程技术的发展普及，和我们自己有罐发酵机理的更过研究，有助于建立合理的发酵工艺，提高发酵生产水平^[13]。

在国内有关发酵传热及其内热源的有无、公式的拟合等研究出现的比较少。在某种意义上说，对此相关研究还有许多工作要做，需要建立在实验的基础上完成理论论证。随着发酵技术的发展相关的机理分析会逐渐增多。

数学模型和计算能够帮助人们加深对生物过程的认识^[14]。在对发酵过程的研究中，研究人员很早就关注菌体生长、底物消耗和产物生成速率的定量规律。由于微生物代谢的复杂性和计算机能力的限制，菌体内部的代谢反应通常作为黑箱处理。尽管如此，仍然还有许多研究致力于微生物宏观代谢特性与细胞水平的代谢规律的关联。例如，1974 年日本的井上一朗等根据物料平衡的原理研究了酵母

菌在连续培养中用于菌体生长、二氧化碳生成和乙醇生长的葡萄糖消耗分配；1976年 Verhoff^[15,16]等根据柠檬酸发酵涉及的代谢反应的计量关系，分析了柠檬酸和草酸可能的合成途径；1984年 Papoutsakis 根据丁酸菌发酵的代谢反应和化学计量关系，对文献报道的不同丁酸发酵数据进行了计算^[17]；Dubach^[18]等根据化学计量关系考虑了菌体大分子结构的前体化合物合成，从而对大肠杆菌在基本培养基中的生长进行模拟；1993年 Vallino^[19]等采用包括 34 个代谢反应和 37 个代谢物的化学计量关系，计算了包括菌体生长的谷氨酸棒杆菌发酵生产赖氨酸的代谢流的分布。这些以细胞为反应器的研究，对提高细胞的生物反应效率重建细胞的代谢网络等研究具有深远的意义。

近年来还有人采用由许多不同化学气体传感器组成的电子鼻，用于对发酵过程产生的挥发性化合物进行检测。由于化学气体传感器对发酵产生的挥发性代谢产物响应没有专一性，所以用来跟踪发酵过程的变化需采用有关数学方法，如用主元分析法选择具有代表性的传感器响应数据，用人工神经网络对发酵过程进行模拟。现有研究表明，电子鼻能够对发酵中菌体生长等进行模拟，而且可以及时发现杂菌污染和进行微生物鉴别等。

发酵过程中变量的检测不仅为过程特征的研究提供了大量信息，也为对其进行控制创造条件。通过反馈控制，发酵温度、PH、溶氧等均能控制在所需的范围内，保证发酵的顺利进行。同时，随着计算机技术和相关的控制技术的发展和工业发酵中计算机的应用也越来越普遍。

20 世纪 40 年代青霉素发酵的产业化，催生了生物化学工程学科，为发酵工业的发展提供了坚实的基础。同时，得益于化学工程、自动控制、计算机技术、分析测定技术等方面的研究成果发酵过程的面貌发生了巨大变化。发酵不再完全进行，计算机已在发酵工厂中普遍应用。随着对微生物遗传学的深入了解和基因操作技术的普及，高产菌种和生产新产物菌种的构建，以及生物合成所具有的低能耗、低污染的特点，给发酵工业的发展提供了无穷的机会。发酵过程的工艺控制，提高了产物的生产速率和产物关于主要底物的转化率。发酵过程的放大，以便了解在不同培养条件下微生物代谢的变化，为过程的工艺提供了依据。过去由于技术上的限制在研究发酵过程时，多将细胞内的反应作为黑箱处理，对于所得到的技术较成熟，将发酵过程中微生物显示的宏观代谢特征研究与细胞水平的代谢特征研究相结合，深入认识发酵的机理，对于发酵过程的优化和放大具有重要意义。另外，细胞对周围环境如温度、PH、营养浓度具有检测并反应的能力，近年来还发现细胞和细胞之间通过信号物质会对细胞的代谢进行调控^[20]，有人发现与细胞浓度有关的信号分子对基因工程菌外源基因的表达也产生影响^[21]。因此，在对发酵研究中，注意与基因组和生物信息学的研究成果相结合，在分子水平上了解发

酵过程所显示规律的机理,有助于更有效地进行发酵过程优化。

1.4 发酵工程发展现状

1.4.1 国外发酵工程现状

发酵工程技术经过了 50 多年的发展,目前已经形成了一个完整的工业体系,整个发酵工程行业也出现了一些新的发展趋势。

由于发酵工业工程应用面广,涉及行业多,所以应用发酵工业的企业较多。据报道,目前美国生物技术的企业有 1200 多家,西欧有 580 多家,日本有 300 多家。其中既有 ADM 公司、诺维信公司等专门以发酵工程居多和生产部分产品的公司,也有 DSM 公司、汉高公司等利用大规模发酵技术生产部分产品的公司,还有在某一方面有专长的公司如生产基因重组蛋白质的 Amgen 公司等^[22]。进入 21 世纪,生命科学已成为新世纪最具活力的领域之一,世界大公司正在把注意力向生命科学转移,生物技术正在从食品、医药、农产品这些传统领域向化工、塑料、燃料和溶剂等工业领域扩展,尤其是发酵工程技术在向传统的化学工业延伸,这必将化学工业带来巨大变革。

在传统化学工业中,化学反应一直依赖高温条件和以化学品作为催化剂。而现在,这些工艺正在向采用生物催化剂的方向发展。随这更加稳定、形式多样的各种新品种酶不断被开发出来,酶可以安全的起到工业催化剂的作用。目前世界工业酶的市场销售总额为 26 亿美元/年且年均增长率在 11% 以上。特别是酶能够产生活性分子这一能力将使得采用酶的工艺路线成为精细化工的首选技术。在最近几年里,纤维酶和脂肪酶以及植物酶的使用量增长迅速。传统合成方法生产的药品,现在已经改成采用酶工程工艺生产。德国巴斯夫公司建设一家 R-苯乙醇酸生产厂,采用使生物催化工艺,产品纯度达 99%^[23]。美国一家公司将一种酶的热稳定性比其自然状态下提高了 3 万倍,使这种酶可以反复地加热和冷却而不失去活力。德国的酶生产厂家 Roche 诊断公司与美国加州的生物催化剂公司采用遗传工程的发放开发用于生产工艺的酶,特别是用于医药工业的手性药物。而酶工程技术得以迅速发展的前提条件就是发酵工程的日趋成熟,使各种工业用酶的生产成本大幅度降低,工业应用得以实现。

近年来许多国家对利用生物技术生产塑料和燃料的研究力度都在加大。对于塑料生产厂家而言,用植物这样的可再生资源来取代以石油为基础的原料。发展前景极为诱人。树脂生产厂家不在依靠化石燃料的有限供应,可降解性的生物高分子可以变成肥料,不仅节省了填埋场所占的土地面积,而且更有利于环境保护和工业的可持续发展。从玉米、高粱和其他植物获得的淀粉和糖,是目前正在开发的几种生物化学新工艺的基础原料。例如,日本三井正在生产应于农用地膜、

瓶子和耐热容器等生物包装材料的 **LaceaPLA**。他们还在研究完全由氨基酸、二醇、二羧酸等共聚单体生产聚酯。另外，环保型的酯类溶剂也可以来自植物，它们将取代大约 80% 的现有的有毒溶剂。国外科学家于 1999 年就已经获得这项技术的专利权。这项专利技术可从碳水化合物原料中提取出高纯度乳酸酯，并使生产成本降低一半，大大节约了能源，减少了挥发性排放物。

据统计，2000 年美国的 1290 家生物技术公司实现销售收入 146 亿美元，比 1995 年增加了 15%。而且这个行业还在不断地扩大，预计在未来 5 年里，美国在这一领域的业务年均增长率将达到 11%。同时，生物技术在欧洲的发展速度也极为迅猛，整个欧洲新创立的生物技术公司数量已经超过 1500 个。在过去 3 年里，德国新建的公司已经增加了 150% 以上，成为欧洲生物技术公司最多的国家。近年来，欧美许多传统的化学公司已将重点转向生物技术，包括美国的孟山都公司、德国的赫司特公司和法国的罗纳普朗克公司等。由此可以看到，生物技术已经成为新世纪最具有活力和生命力的领域之一，其突飞猛进的发展是各国的产业结构发生了巨大变化，必将给传统工业尤其是化学工业带来革命性的影响。生物技术用于精细化工是 21 世纪世界范围内重点发展的高新技术领域之一，将其用于生产农用抗生素、细胞农药、真菌农药和病毒农药等生物农药，具有安全性好、选择性高、易于溶解、污染小、用量少等优点；用于食品添加剂生产，可代替化学合成方法生产向景象料，如聚基丁酸酯及聚乳酸等。以生物为基础的手性化合物在精细化工产品中占有重要地位，目前世界上正在开发的 1200 中新药中有 2/3 是手性药物，预计 2005 年全球新上市的化学药品中将有 60% 为单一异构体^[24,25]。利用生物催化剂制备手性化合物具有广阔的应用前景，用于不对称合成、对映体拆分，不仅可以催化很多的化学反应，还可以合成结构复杂、具有生物活性的大分子和高分子化合物，同时可以解决利用化学法进行不对称合成与拆分所需的寿星员以及产生的无效对映体和环保问题。随着现代生物技术的兴起，发酵工程的应用已经涉及到国计民生的方方面面，包括农业生产、轻化工原料生产、医药卫生、食品、环境保护、资源和能源的开发等各领域。当代，随着生物工程上游技术的进步以及化学工程、信息工程和生物信息学等学科技术的发展，发酵工业将迎来一个崭新的发展时期。面对新技术革命的兴起，化学工业作为传统的基础工业，不可避免地面临着生物新技术的挑战，随着基因重组、细胞融合、酶的固定化等技术的发展，使发酵工程技术的发展必将推动生物技术和化工生产技术的变革和进步，产生巨大的经济效益和社会效益，因此发酵工程技术将在 21 世纪有着辉煌的前景。

1.4.2 国内发酵工程现状

中国发酵工业经过长期发展已有一定基础，并一直持续快速发展。特别是改革开放以后，发酵工程的发展进入了一个崭新的阶段，不同品种虽然发展速度不

一，但大都呈几倍乃至数十倍的增长，目前发酵工程产品涉及医药、保健、农药、食品、饲料、有机酸等各个方面。

在医药方面，抗生素得到迅猛发展，1998 年中国抗生素的产量达到 33486 吨，其中青霉素的产量居世界首位。其他生化药物中，初步形成产业化规模的有干扰素、白细胞介素、乙型肝炎疫苗。在农药方面，生物农药品种达 85 种，主要有苏云金芽孢杆菌、井冈霉素、赤霉素等。其中，井冈霉素的产量居世界第一位。在食品与饲料方面，作为三大发酵制品的味精、柠檬酸、酶制剂的产量也有很大的增加，2001 年味精产量从 1990 年的 22.3 万吨增加到 71.3 万吨，柠檬酸产量从 1990 年的 6.13 万吨增加到 35 万吨，酶制剂从 1990 年的 8.5 万吨增加到 30 万吨^[26]。酵母及淀粉糖的产量也有明显增加。中国的味精生产和消费居世界第一，柠檬酸的生产和出口也居世界第一。另外，1998 年赖氨酸的产量在 2 万吨左右，苹果酸的产量在 6000 吨。在有机酸方面，衣康酸产量达 5000 吨，中国开发的生物法二元酸工艺居世界领先地位，该产品世界上最大的发酵法生产已在中国投入运行，目前年生产能力达 6000 吨以上，以次单体为原料的聚合物系列产品在开发之中。在保健品方面，中国已能永生无法生产多种氨基酸、维生素、和核酸等^[27]。另外，中国生物法合成丙烯酰胺的最大生产规模达到年产 2 万吨，与日本同处于世界领先地位。

表 1.1 国内外几种重要发酵工程产品产量的对照 (2001)

Table 1.1 Comparison of several important ferment engineering productions in the world (2001)

产品	世界产量/ 万吨	中国产量/ 万吨	产品	世界产量/ 万吨	中国产量/ 万吨
柠檬酸	100	35	赖氨酸	55	2
乳酸	13~15	1.5	维生素 C	7	4
衣康酸	3	0.6	维生素 B2	0.6	0.1
苹果酸	2	0.02	黄原胶	3.2	0.8
谷氨酸	100	71.3	丙烯酰胺	37	5.5

近年来，中国的生物化工产品生产得到了很大发展，但仍存在着诸多问题。中国媒质几种的支柱产品糖化酶、碱性蛋白酶，自 1998 年引进高产菌株后，发酵水平一直鲜有提高，而国外却提高很快。以糖化酶为例，目前中国产酶活力仍停留在 35000U/ml 左右，国外达到 50000U/ml 以上。由于剂型单一及质量不稳定，中国酶制剂产品难以打入国际市场。氨基酸的整体水平，产率国外比国内高 30%~50%。中国谷氨酸的平均产酸水平为 10%~12%，国外为 13%~14%；总之，中国的发酵总体技术水平与国外差距较大，产品生产成本明显高于国外，即难以

进入国际市场参与竞争，也难以抵挡国外产品进入国内市场^[28]。

中国发酵产品总体生产规模小，应选择一些达到国际先进技术水平的生物化工和精细化工项目重点开发，将有代表性的骨干产品大规模生产，形成产业链。发酵工业的发展必须要有超前意识，有选择地引进消化吸收国外先进技术成果的同时，以发酵工程、酶工程和生化工程的开发为重点，建立高效能的科研开发体系，大力培养并建立企业的开发力量，为新世纪开创发酵工程及其产业新局面奠定坚实基础。

1.5 课题研究的创新点和重难点

1.5.1 课题的创新点

该实验在发酵箱中进行，由于对称性，简化装置和可操作性，在中心对称平面上按“十”字型布置热电偶。

在发酵过程中在线监测温度随时间的变化情况，并采集数据。以确定在发酵过程中是否有内热源。通过所采集的数据得到温度时间曲线图，拟合在没有控温时的内热源和时间的关系公式。

在发酵箱中心的不锈钢管中通入冷热水，作为冷热源来控制发酵过程中的温度，以使发酵更好地进行。

数值模拟控温情况下有内热源的发酵过程的温度场，为大型工业发酵池的控温管网布置提供理论依据。

1.5.2 课题的重难点

课题的任务是分析发酵过程的传热特性和模拟温度场，因此确定内热源与时间的关系公式是重点。要通过采集的温度数据来拟合，使得问题的解决比较困难，可见内热源公式拟合也是难点。

前面内热源的公式拟合，能得知发酵过程有热源。同时也是为了后面能更好地进行数值模拟，确定温度的分布梯度。合理的负荷加载，得到符合实际的温度场同样是课题的重难点。

1.6 本课题的主要工作内容

通过对国内外发酵过程理论和相关技术文献分析整合，对微生物发酵过程的传热方面的研究还很不充分，在国内更少，针对发酵工业生产的需要，本文将研究以下几个问题：

1. 实验研究：

- 1) 用 PVC 板制作 300mm×300mm×300mm 的发酵箱，中心安有不锈钢管。布置绝缘铠装热电偶和康铜热电偶，粘贴保鲜膜，连接恒温水槽等，搭建

实验台。

- 2) 用小型破碎机破碎发酵后的柑桔皮渣，烘烤过后称水分变化，待重量基本不变得得到含水率。运用差示扫描量热仪（DSC 200 PC）及相关的热分析软件等设备对发酵产物进行热物性测定，如比热等。
- 3) 发酵过程中用艾雷斯 DAC-8018 8 通道热电偶输入模块采集温度数据，用组态软件 VisiDAQ 记录，存储。并通过可视窗口观察发酵情况。
- 4) 在自然发酵的基础上，向不锈钢管里面通入冷热水，让葡萄在控温的情况下发酵，同样采集温度数据。

2. 理论研究：

- 1) 分析数据结果，得到温度时间关系图表。计算推导内热源公式。分析温度等其他因素对传热的影响。
- 2) 内热源和外加的热源均会影响发酵过程的温度分布情况，因此需要建立模型，利用 ansys 等分析软件模拟温度场，为实际应用提供理论依据。
3. 在实验和理论的基础上总结课题结论，并进一步提出建议和展望。

2 微生物发酵的实验研究

为了更好分析发酵传热机理和确定其温度分布情况，必须以实验作为基础。可视化实验台搭好后，需要进行自然发酵实验和控温发酵实验。本章将系统全面介绍实验内容，实验仪器，实验步骤及其原理方法，以后章节不在详述。下面就按照实验类型逐一介绍，根据研究需要，而要求做的两种发酵实验：自然发酵过程实验和在温度控制下的发酵过程实验。

2.1 自然发酵过程实验

本文实验目的就是要了解发酵过程的传热问题，确证在发酵过程中是否有内热源的问题。根据发酵过程原理^[29]，现形设计了如图 2.1 所示的实验装置，可进行几种微生物的发酵实验，系统主要由发酵箱和数据采集系统组成。在发酵开始到结束，在线不间断检测。

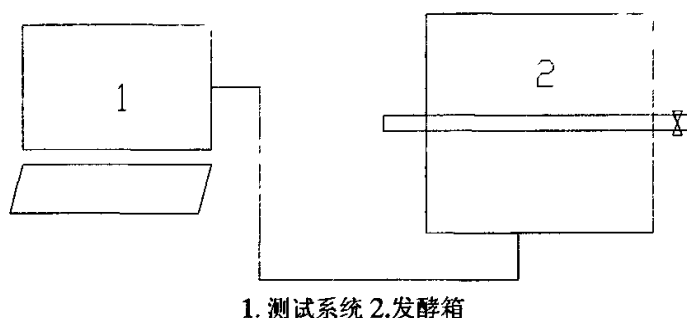


图 2.1 自然发酵过程示意图

Fig2.1 Sketch map of the spontaneous fermentation process

2.1.1 发酵箱

为方便实用起见，设计了一个用 PVC 板制成的正方体发酵箱，板厚 5mm，边长为 300mm，前面有一面用的是有机玻璃，便于观察。要求不能泄漏，因此密封性要好，上面是一个可以用螺丝加固的盖子，不能漏水。在前后面和底面上有一个吊环，方便后面的热电偶布置。盖子上有左右有两个大小孔，其一是插入热电偶之用，后者是在实验中要取出少许发酵后的微生物，测量其物性，比如：含水率，密度，比热容，发热量等。在另外两个面中央穿入一根长 460mm，直径是 16mm 的不锈钢管，其两端都是 80mm，见示意图 2.2 和实物图 2.3。

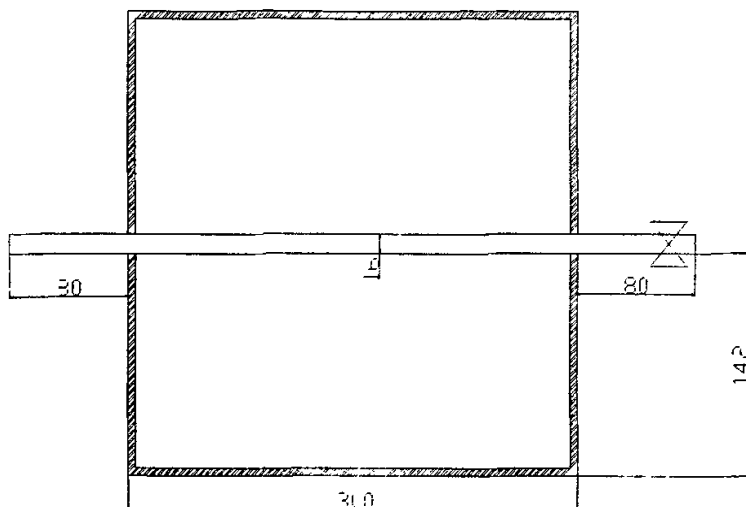


图 2.2 发酵箱示意图

Fig2.2Sketch map of fermentation chest

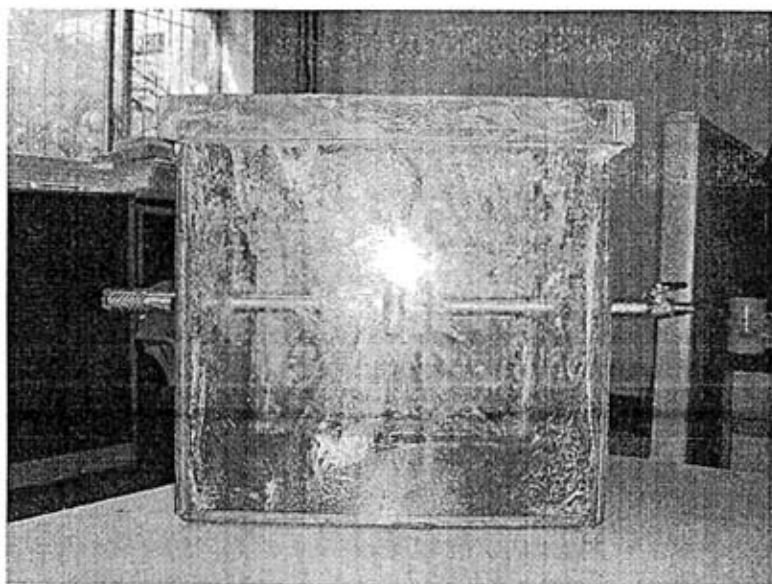


图 2.3 发酵箱实物图

Fig2.3 Practical map of fermentation chest

2.1.2 数据采集系统

数据采集系统由铠装热电偶直接接入艾雷斯 DAC-8018 8 通道热电偶输入采集模块, DAC-8018 模块输出的 RS-485 信号接入 DAC-8520 模块的 RS-485 输入接口, 通过 DAC-8520 模块转换为 RS-232 输入/输出接口输出到计算机的串口 (COM)。实验采用 VisiDAQ 组态软件, 所有实验数据除在计算机上进行实时监

控外，全部通过 DDE 通讯存入 Excel 工作表中进行处理。本实验主要采集和记录温度变量。温度信号设定采样间隔时间为 20s，经过转化后，进入计算机。数据采集主要流程图如图 2.4 所示，各组成部分介绍如下。

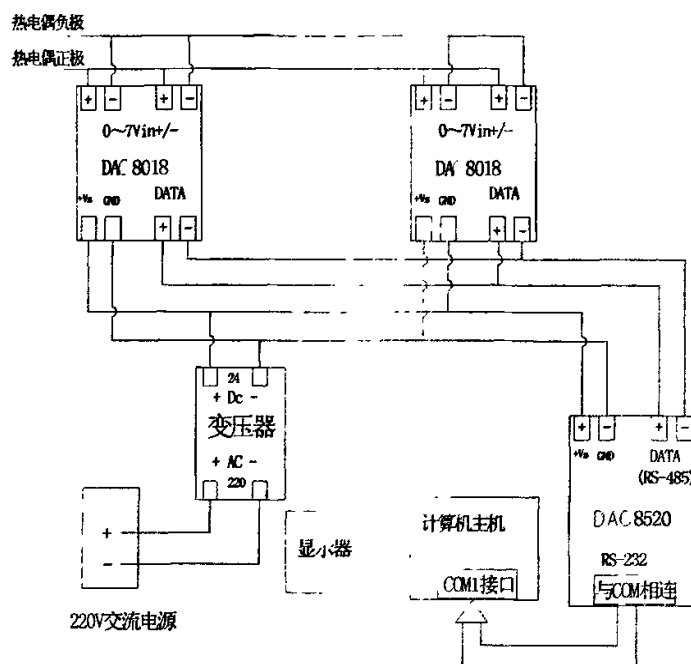


图 2.4 数据采集原理图

Fig2.4 Principle scheme of data acquisition

2.1.2.1 热电偶

铠装热电偶是新型的温度传感器，具有体形细长、热响应快、抗震动、难高压、使用寿命长等优点。它们与显示仪表配套，可实现对气体、液体介质和固体表面温度的自动检测和自动调节，广泛应用于石油、化工等科技领域。

铠装热电偶的作用原理是基于赛贝尔效应，即：如果两种不同成分的均质导体（热电极）组成闭合回路，当两端存在温度梯度时，回路中就有电流通过，那么两端之间就存在赛贝尔电势—热电势，如示意图 2.5。

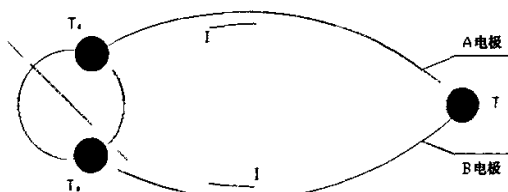


图 2.5 热电偶原理图

Fig2.5 Principle scheme of thermoelectric pair

2.1.2.2 热电偶输入模块

艾雷斯 DAC-8018 8 通道热电偶输入模块有以下性能参数:



图 2.6 DAC-8018 模块实物图

Fig 2.6 Practical map on module of DAC-8018

- ◆ 输入通道: 6 路差动信号输入; 2 路单端信号输入
- ◆ 输入类型: mV, V, mA, 热电偶
- ◆ 输入范围: J,K,T,E,R,S 和 B 型热电偶, $\pm 15\text{mV}$, $\pm 50\text{mV}$, $\pm 100\text{mV}$
- ◆ A/D 分辨率: 16 位
- ◆ 输出接线方式: RS-485 (2 线)
- ◆ 传输速率: 1200, 2400, 4800, 9600, 19.2K, 38.4K bps
- ◆ 最大距离: 1200m
- ◆ 隔离电压: 3000VDC
- ◆ 采样速率: 10 次/秒
- ◆ 工作温度: $0^{\circ}\text{C} \sim 60^{\circ}\text{C}$
- ◆ 储存温度: $-20^{\circ}\text{C} \sim 70^{\circ}\text{C}$
- ◆ 静电放电抗扰度: 达 2 级标准
- ◆ 射频场感应的传导抗扰度: 达 2 级标准
- ◆ 辐射干扰: 达 B 级限值

模块实物图, 见 2.6 所示。

2.1.2.3 VisiDAQ 组态软件

DAC 解决方案应用组态软件 VisiDAQ 是基于 Windows 的数据采集、控制、分析和显示开发软件包。除了典型的人机界面 (HMI) 功能外, VisiDAQ 的另外一个特点是它具有一个 Visual Basic 编程环境, 可以提供大量的图形控制和

显示图标来帮助您开发 HMI。用户可以通过将图标拖动到显示画面上来组织控制和显示图标，这样可以创建一个动态的、实时的过程数据显示。大多数数据采集和控制系统都能够通过这个图形设计和显示系统来实现。 软件具有以下特性：

- ◆ 开放实时数据中心
- ◆ Visual Basic 兼容的脚本程序
- ◆ 可支持同时多显示和多任务
- ◆ 面向对象图形
- ◆ 图形图标（拖动并放下）编程
- ◆ 可配置的报表编辑器
- ◆ 实时显示/计算/控制
- ◆ 实时和历史趋势
- ◆ 口令保护
- ◆ 报警/事件处理
- ◆ 动态数据交换 (DDE)

本实验主要测量温度参数，在标定、校正热电偶之后，设计了图形图标编程程序，图片 2.7 所示。

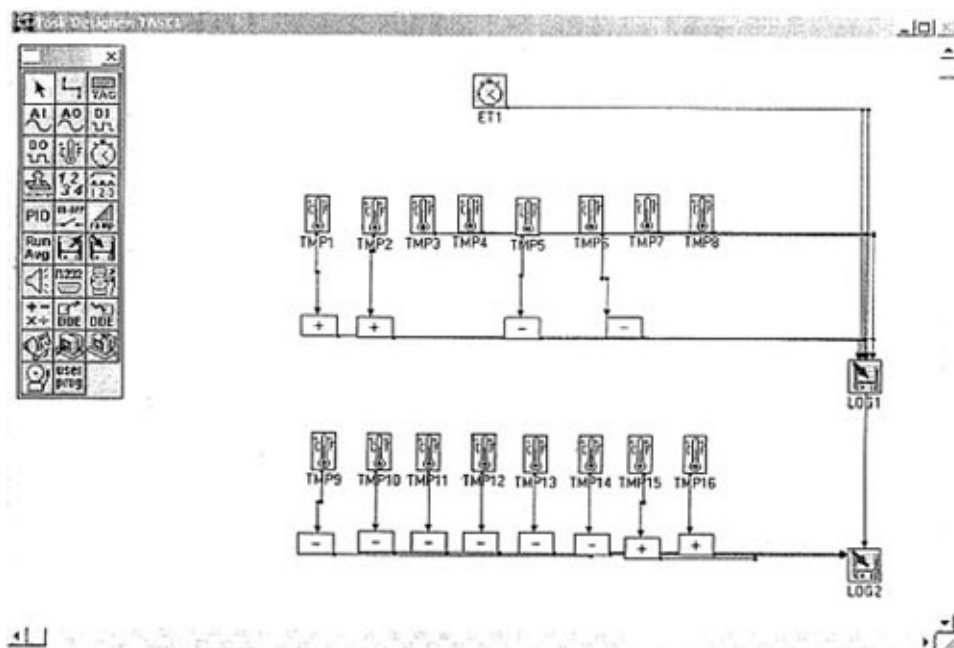


图 2.7 图形图标编程程序图

Fig2.7Writing program map in graphics icon0

2.1.3 热电偶的标定

实验中用到的热电偶是制冷行业中广泛使用的铠装热电偶和铜—康铜热电

偶，主要用于低温和环境温度的测量，具有热电势—温度线性好，热电势大，灵

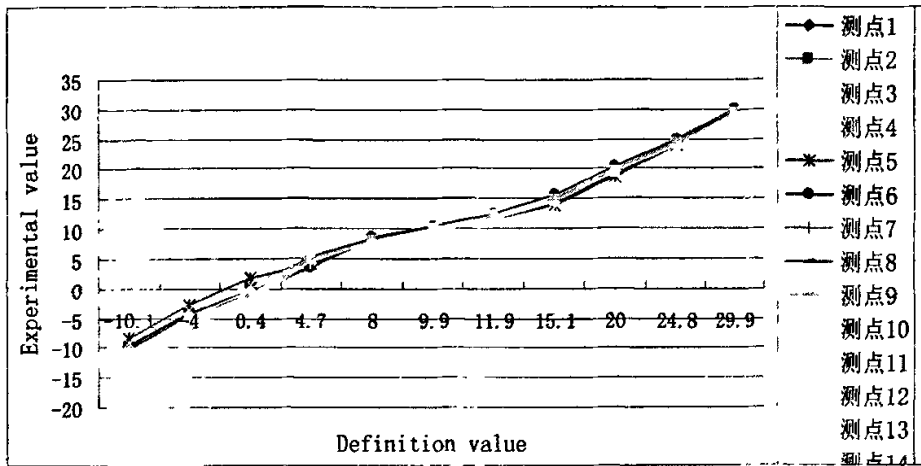


图 2.8 热电偶标定图

Fig2.8Demarcate chart of thermoelectric pair

敏度高，是一种准确性较好的热电偶。在实验之前，为了测试数据的准确性，必须进行热电偶标定。

热电偶的标定方法：采用恒温水浴法，标定时测量端放入恒温浴槽的冷水中，电极端，直接接入 DAC-8018 数据采集模块，通过组态软件 VisiDAQ 在显示器上显示测量温度值，将测量温度和恒温浴槽显示屏上的设定温度对比，如果相差比较大的话，就在组态软件 VisiDAQ 的如图 2.7 的自行设计界面中增加校正的模板，相应地增加和减小数据，致使两者数据相近。在各个测点的温度值和设定温度值的对比图如图 2.8 所示。

从图表中可以看出，测量值和设定值的大小相差不大，图线基本是一条与横坐标成 45° 角的直线，得知在有限误差范围内标定正确。

2.1.4 实验系统特点

整个实验系统简单、实用，具有以下特点：

- (1) 操作方便，界面友好，通用性强，Windows 平台的计算机均适用，性能稳定可靠。实现对测点参数的实时监控，可视化窗口便于观察实验过程。
- (2) 组态软件功能强大，库函数丰富，可按照实验要求灵活自主地编程，设计测试模块的用户界面，可塑性强。
- (3) 整个实验过程中能够实现从数据采集、结果分析，到 Excel 文件格式等数据图表输出全部工作。装置可进行多种类似的微生物发酵实验，方便，经济实用。

2.1.5 实验内容和步骤

在介绍实验内容和步骤之前，先了解一下发酵的流程。

根据发酵所用培养基的状态，发酵分为固体发酵和液体发酵。固体发酵的培养基中自由水含量较低，常采用农副产品为原料，能量消耗少，成本低，一些产品的发酵可远远高于液体发酵的水平，但过程的控制等比较困难。液体发酵中，微生物通常漂浮在培养基中，由于发酵液的混合均匀，发酵过程容易控制，杂菌污染也容易避免，发酵热的移走也较易实施，发酵罐的规模可达到非常大的程度。现在工业发酵多采用液体发酵的方式。为了使高产菌株在发酵罐中很快进入目标产物的生产，通常先要将保存的菌种经斜面活化接入摇瓶中培养，经多级种子罐扩大培养，最后接入发酵罐进行发酵生产，其流程见图 2.9。

从摇瓶种子培养一直到发酵生产，各级培养都需要保持纯种的培养的状态，避免杂菌污染。因此，所用的培养基、发酵罐，以及所有加入发酵罐的物料和所用管道均需灭菌后使用。实施严格的无菌操作是发酵与一般的化工过程最明显的差别。将配好培养基的发酵罐通入蒸汽，使培养基温度逐渐上升到一定的温度(通常为 $120\sim 125^{\circ}\text{C}$)，保温 20min 左右，然后降温保压待用^[30,31]。

发酵罐应密封没有泄漏。在发酵过程中维持一定的罐压，接种、取样和补料等操作前都应先将所需使用的管道灭菌，利用两个设备间的压力差将物料转移。发酵过程中应定期进行发酵液的无菌取样，对发酵液进行无菌试验，确保其无菌和纯种发酵^[32]。

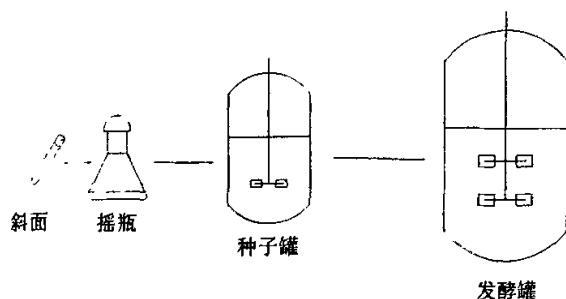


图 2.9 发酵流程图

Fig2.9 Flow chart of fermentation

在自然发酵过程的实验中，做了固体发酵实验：柑桔皮渣发酵和液体发酵实验：葡萄发酵。现重点介绍柑桔皮渣发酵实验的步骤：

1. 实验前的准备工作。

(1) 发酵箱中热电偶的布置。

①在上面介绍的箱中的吊环上前后拉一根具有弹性的鱼线，在底部的吊环和管子之间再拉一根鱼线，长度是前者的一半。根据对称性只在中心面上布置热电偶。

②在鱼线形成的“十”象限上只在第三象限的两边上布置，由对称性，可以

就此简化操作。综合发酵箱的大小，每边均匀分布 6 个测点，中心一个测点在自然发酵时测量中心微生物的温度，而在控温发酵实验中同时测量的是管外壁温，也是发酵体的中心温度。此点非常关键，两次的位置基本不变。电偶测点布置图，见示意图 2.10 和实物图 2.11。

(2) 粘贴保鲜膜。在布好热电偶之后，因 PVC 有轻微毒性，发酵要无菌，安全性和实验需要，因此，要粘贴保鲜膜。

整个操作过程比较繁琐，就需要细心，手巧，确保热电偶位置均匀，在位置上不能滑动。同时，保证不能划破很薄的保鲜膜。完成以上步骤，发酵前的装置准备工作完毕。

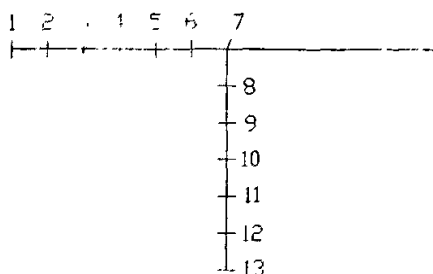


图 2.10 热电偶布置图

Fig2.10 Disposal map of thermoelectric pair

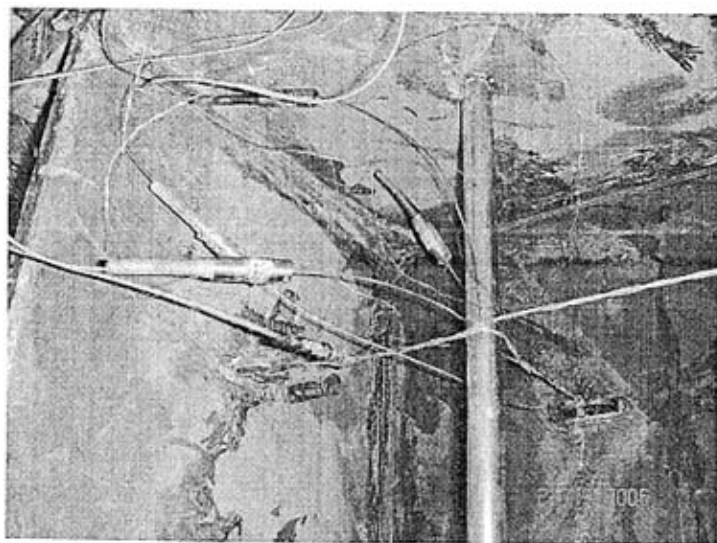


图 2.11 热电偶布置实物图

Fig2.11 Disposal practical map of thermoelectric pair

2. 发酵实验过程步骤。

前面 2.15 节中已经介绍了发酵的流程，结合具体的柑桔皮渣发酵归纳实验步骤：

- (1) 菌种筛选。这一部分中国农科院重庆柑桔研究所的老师已经作了大量工作,以提高成品饲料中粗蛋白质含量和降低其纤维素含量为目的,通过单因素实验和正交实验,选出比较好的混合菌种组合。
- (2) 杀菌。将破碎后的柑桔皮渣放在灭菌炉里面,在高温高压下灭菌一个小时。
- (3) 菌种扩培。根据菌种的生活习性选择适当合理的培养条件。包括培养温度、培养基、培养时间。具体条件为温度 28℃,培养基为麦芽汁培养基,培养时间 72 小时。在摇瓶中进行菌种扩培。
- (4) 接种。将高温高压杀菌后的柑桔皮渣,冷却到室温后,在无菌室里面接种,并加入其他可以提高蛋白质含量的尿素等化合物。
- (5) 搅拌。搅拌柑桔皮渣,使菌种和柑桔皮渣能够很好的混合。
- (6) 发酵。准备好的柑桔皮渣转移到实验前准备好的发酵箱里面,盖好盖子后加固。发酵箱应密封没有泄漏,因此,用保鲜膜密封好盖缝隙。
- (7) 保温。用 10cm 厚的泡沫板将发酵箱全部包裹起来,前面开有可动观察窗口,用胶布把保温泡沫裹紧。
- (8) 在线采集、观察。接通数据采集系统,实验开始,根据重庆柑桔研究所的实验经验,在线采集、观察。发酵过程中,形成泡沫稳定的蛋白质分解,泡沫减少。发酵后期菌体自溶,可溶性蛋白质浓度增加促使泡沫上升,近 72 小时,实验结束。

2.2 控温发酵实验

为了更好地研究微生物发酵的传热机理,做好市科委项目“三峡库区柑桔皮渣综合利用关键技术及成套设备研制”的前期理论工作,在前面自然发酵的基础上,组建了一个发酵箱,恒温浴槽,数据采集组成的控温微生物发酵系统。实验台整个实验系统原理示意图如图 2.13 所示,实验系统实物图见 2.14。其中 1 数据采集系统,2 发酵箱在前面已经介绍过,这里不赘述。

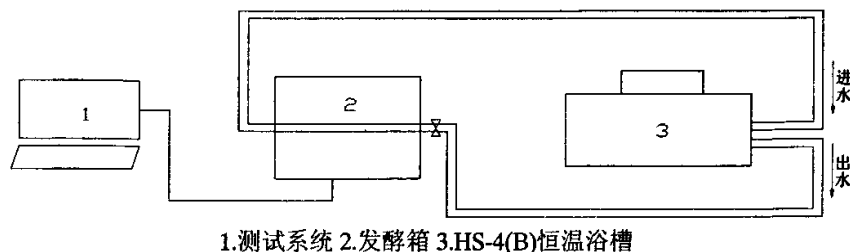


图 2.13 实验系统原理示意图

Fig2.13 Principle sketch map of experimentation system

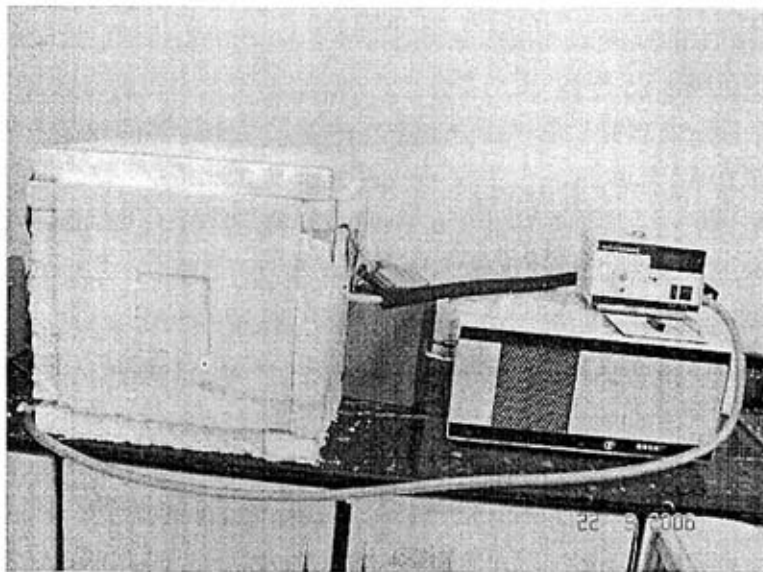


图 2.14 控温实验系统实物图

Fig2.14 Practical map on experimentation system of controlling temperature

2.2.1 恒温浴槽

恒温浴槽（制冷型）中是冷热水，根据需要提供一定温度的水冷热源。HS-4 型恒温浴槽是一种实验室通用仪器。能广泛应用于石油、化工、医学、药物、生

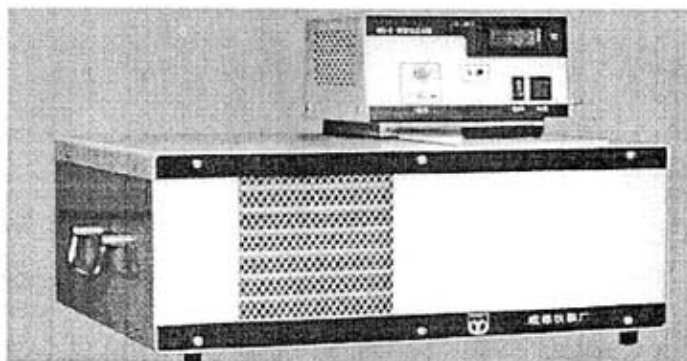


图 2.15 恒温浴槽实物图

Fig2.15 Practical map of constant temperature flume

物、物性测试等领域。由于本仪器具有高的控温精度（ $\pm 0.01^{\circ}\text{C}$ ），故特别适用于科研和计量部门如生化、光合、电泳、细胞等的研究及温度计校验和各种需要冷却和恒温循环水源的部门。实物图见图 2.15，下面是主要技术性能：

- ◆ 控温范围： $-15^{\circ}\text{C} \sim +100^{\circ}\text{C}$
- ◆ 温度波动度： $\pm 0.02^{\circ}\text{C} / 15\text{min}$
- ◆ 加热功率： 1KW

- ◆ 制冷机功率: 120W
- ◆ 水泵流量: 6L/min
- ◆ 使用环境相对湿度: < 85 %
- ◆ 使用环境温度: +5℃ ~ 35℃
- ◆ 供电电源: 220V±10%, 50Hz±0.5Hz
- ◆ 仪器轮廓尺寸: 540×400×400
- ◆ 浴槽开口尺寸: 150×150
- ◆ 浴槽容积: 7L

本浴槽是一种高、低温循环式恒温器。采用压缩机制冷, 脉宽调制式电路控温。

2.2.2 控温实验步骤

在前面自然发酵的经验中, 进一步做在控制温度的情况下的微生物发酵实验, 目的就是让其能更好地发酵, 为大型发酵工程的温度管网布置提供理论依据, 给实际操作中以可行性论证。结合前面实验步骤, 介绍葡萄发酵的实验步骤:

(1) 葡萄的选取。为了发酵后有好的葡萄酒, 在选择葡萄是要求颜色越深(紫黑)越好, 成熟度越高越好, 红皮红肉更好。葡萄酒的酒精度是由葡萄所含的糖分转换而来, 红葡萄酒的颜色来源于葡萄皮肉所含的色素, 所以, 应尽量选择成熟度好、新鲜、干净卫生的葡萄用来发酵^[33]。

(2) 清洗。这一步要注意清洗的力度, 程度, 轻微漂洗为宜。因强度和加洗涤剂的清洗, 会破坏葡萄皮上的天然酵母, 使得发酵的自然启动变得困难。

(3) 破碎。葡萄清洗过后, 人工挤压将葡萄皮和果肉, 果梗分开。破碎的目的是使葡萄被压榨时果汁能完全流出, 得到大量的果汁。

(4) 加糖。是否需要加糖和加多少糖, 是根据最后想酿成的酒度和葡萄原料的糖度来推算出添加量的。葡萄汁含糖量低就酒度低, 难以保存; 糖太高就发酵不彻底, 产出甜葡萄酒。参考文献^[34]后, 因此, 向 13.4kg 的葡萄中加入 1.9kg 糖, 近 14.3% 的糖份。在容器中搅拌使糖和葡萄汁很好混合。

(5) 准备发酵箱。重复自然发酵实验中前期准备步骤的(1)~(2), 这样发酵箱中热电偶, 保鲜膜就绪后, 用水管连接不锈钢管和恒温浴槽, 确保不漏水, 然后在不锈钢管的进出口插上热电偶, 测量进出口水温。

(6) 发酵。缓慢填入葡萄, 封好盖子, 包好保温层, 开启恒温浴槽, 开始发酵。

(7) 测定, 控温, 观察。开通采集系统, 测试温度数据。葡萄在发酵过程中会产生大量的热量。糖度每降低 1° Bx, 温度大约上升 1.3℃。如果葡萄的汁糖度为 20° Bx, 发酵结束糖度为 0 的话, 那么发酵全过程将升温 26℃。发酵温度过高超过 35℃, 不仅葡萄酒酵母的发酵力会减弱, 而且容易招致乳酸菌和醋酸菌等耐热

性杂菌的污染，所以对发酵过程的温度要加以控制。红葡萄酒一般控制在 25°C - 30°C ，在本实验中，有些热量损失，故总体温度控制在 30°C ^[35,36]。发酵期一般近 12 天左右。第一步是葡萄糖份转化到酒精的发酵，有明显的气泡，气泡量由少到多，再由多到少，大约需要 4-5 天；第二步是对红葡萄酒而言的苹果酸到乳酸的发酵，气泡细腻均匀干净，也是经历少—多—少的过程，大约一个星期的时间^[37]。

(8) 熟成，澄清。发酵一结束，就需将酒液和沉淀分离，用无菌棉纱布将固体物质过滤分离，装入容器。然后对容器中的新酒液，静放一段时间做澄清处理，最后得到成品酒。

2.3 小结

本章具体讲述了实验的细节，实验过程步骤等，现总结如下：

1. 设计了发酵箱，分别组建自然发酵和控温发酵的装置。
2. 熟悉测试仪器，调试仪器和校正热电偶。
3. 按照发酵流程来具体做好每一步的准备工作，包括菌种的选配、添加发酵酶等。
4. 铺设热电偶，做好杀菌消毒工作和保温工作。
5. 发酵开始，采集温度数据，整个实验过程结束。主要是要做好细节工作，确保实验的成功和数据的准确性，为以后分析服务。

3 生物物性参数测定与分析

了解生物的物质特性有助于下一步的生物技术的发展和实施应用，也是微生物发酵传热特性的研究前提基础。因此，在下面的章节将叙述到生物本身的含水率、密度、比热容、发热量等物性的测定以及相关分析。

3.1 含水率的测定

在“三峡库区柑桔皮渣综合利用关键技术及成套设备研制”项目中，要求发酵过后，柑桔皮渣要进行离心脱水，研究柑桔皮渣发酵饲料的成套生产设备及其工艺的关键技术。因此，脱水前，测定含水率十分必要。实验仪器有高温烘箱，见图 3.1，电子称，烧杯等，其步骤是：



图 3.1 高温烘箱

Fig3.1 High temperature oven

1. 取样。发酵过后的柑桔皮渣，用钥勺取一定量的样品于烧杯中。
2. 称量。用电子称称量烧杯和发酵后的柑桔皮渣总重 30g。
3. 烘烤。将称量后的烧杯，放入图 2.12 所示的高温烘箱中，将温度值设定在 105℃，先烘烤 2 小时后，取出烧杯。
4. 重复 2~3 步，最后得到的总重为 6g，再次重复 2~3 次，总重还是 6g。
5. 计算结果。进行到两次的重量没有变化，就可以认为水分蒸发完毕。因此可得含水率 η ：

$$\begin{aligned}\eta &= \frac{30g - 6g}{30g} \times 100\% \\ &= 80\%\end{aligned}\tag{3.1}$$

同样可以测得，葡萄发酵过后的葡萄渣的含水率。取样 5g，连续烘干 3 次，直到后两次的样品质量不变为止，为 3.5g，计算含水率 η 为：

$$\eta = \frac{5g - 3.5g}{5g} \times 100\%$$

$$= 30\% \quad (3.2)$$

为降低烘干能耗应把发酵皮渣先在离心机中去掉至少 85% 的水分，皮渣中的水分在离心力作用下透过管壁上的网孔洒落到渣汁收集罐中。因此可以根据含水率的多少等因素研制出一种可自动排渣的锥形离心脱水机。

3.2 密度的测定

在发酵后葡萄原液（未过滤）取样，用量筒取一定体积的试样，电子称称重。经过多次测量，得到密度平均值，数据见表 3.1。

表 3.1 葡萄酒密度测量数据表

Table 3.1 Measure datasheet of raki density

质量/g	体积/ml	密度/(g/ml)
100.5825	100	1.0058
30.2506	30	1.0083
50.5	50	1.01
76.2383	75	1.0165
83.0268	83	1.003

计算密度 ρ 为：

$$\rho = \frac{1.0058 + 1.0083 + 1.01 + 1.0165 + 1.003}{5} = 1.0087 \quad (3.3)$$

亦有密度 ρ 为： $1.0087 \times 10^3 \text{ Kg/m}^3$ 。

3.3 生物比热容 DSC 测定

3.3.1 差示扫描量热法 (DSC)

1964 年, 美国的 Waston 和 O'Neill 在分析化学杂志上提出了差示扫描量热法 (DSC) 的概念, 随后 DSC 技术得到迅速发展。差示扫描量热法是在线性温度程序控制下经过温度扫描, 以所测能量差来研究物质热力学性质的一种热分析仪器。在加热和冷却过程中, 材料的任何变化都要伴随着热量的交换, DSC 可以得到样本在物理或化学变化过程中所伴随发生的吸热或放热反应, 再通过热分析软件计算材料的热物性。根据测量方法, 这种技术可分为功率补偿式差示扫描量热法和热流式差示扫描量热法。对于功率补偿式 DSC 技术要求试样和参比物温度, 无论试样吸热或放热都要处于动态零位平衡状态, 使 $\Delta T = (T_s - T_r)$ 等于 0。对于热流式 DSC 则要求试样和参比物温差 ΔT 与试样和参比物间热流量差成正比例关系。

差示扫描量热法(DSC)的影响因素:

(1) 升温速率

程序升温速率主要对 DSC 曲线的峰温和峰形产生影响。一般来说,速率越快,峰温越高,峰形越大和越尖锐。升温速率对融解热值的影响很小。

(2) 所通气体的影响

为了避免某些物质在实验过程中发生氧化、还原等化学反应,不同的物质需在不同的气氛中测试。

(3) 试样性质的影响,包括试样量、试样粒度、试样的厚度等

(4) 试样的热历史影响

3.3.1.1 实验仪器

本实验使用的是热流式 DSC, 图 3.2 为 DSC 原理示意图。其基本原理为: 将待测样品与参比样品(标样)分别置于银制炉体内左右两侧的载物平台上, 当施予两侧相同的热量时, 热流就通过康铜电热板(constantan thermoelectric disc)传至待测样品与参比样品, 由于标样和试样的吸放热特性不同, 二者会有差热产生。而紧贴于载物平台下方的两对热电偶可精确地测量出待测样品与参比样品两者的温度差, 再根据差热-温度 DSC 曲线就可计算出样品的比热。

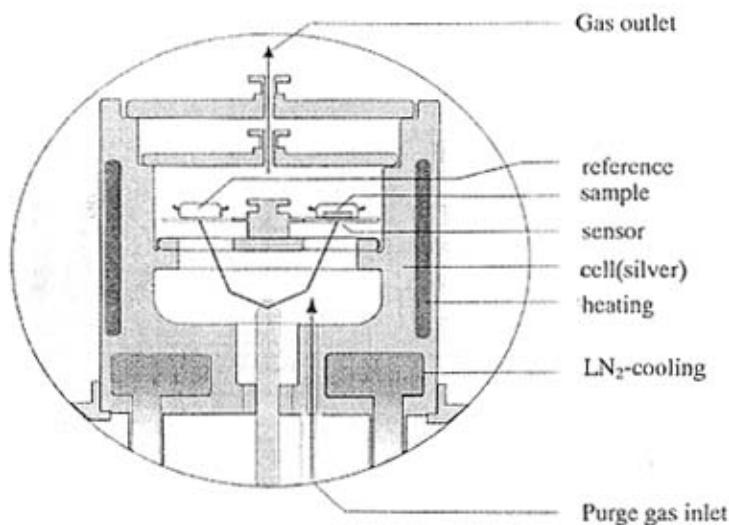


图 3.2 热流式 DSC 原理示意图

Fig3.2 Principle sketch map of heat flow DSC

仪器名称: 热流式差示扫描热量仪(德国NETZSCH公司生产)

型号: DSC-200 PC Phox

温度范围: $-150^{\circ}\text{C} \sim +600^{\circ}\text{C}$

灵敏度: $3\mu\text{V}/\text{mW}$

基线的线性度: 0.5 mW

热量范围: $\pm 2500\text{uv}(\pm 700\text{mw})$

升温速率: $0.1\sim 99.9\text{k/min}$

其他辅助设备有:

(1) 计算机和数据采集系统, 用于设计实验温度程序, 记录实验结果及处理数据。

(2) DSC 专用压模机, 坩埚装样品后, 用此压模机将其密封。

(3) 电子天平, 用来称量样品质量。型号 BP211D, Max210g $d=0.01\text{mg}(80\text{g})$
 $0.1\text{mg}(210\text{g})$

(4) 液氮和氮气瓶(里面装高纯氮气 99.99%), 液氮用来冷却, 氮气起吹扫和保护气用, 吹扫气流速: 20ml/min , 保护气流速: 60ml/min 。

图 3.3 为 DSC 热分析系统实物图:

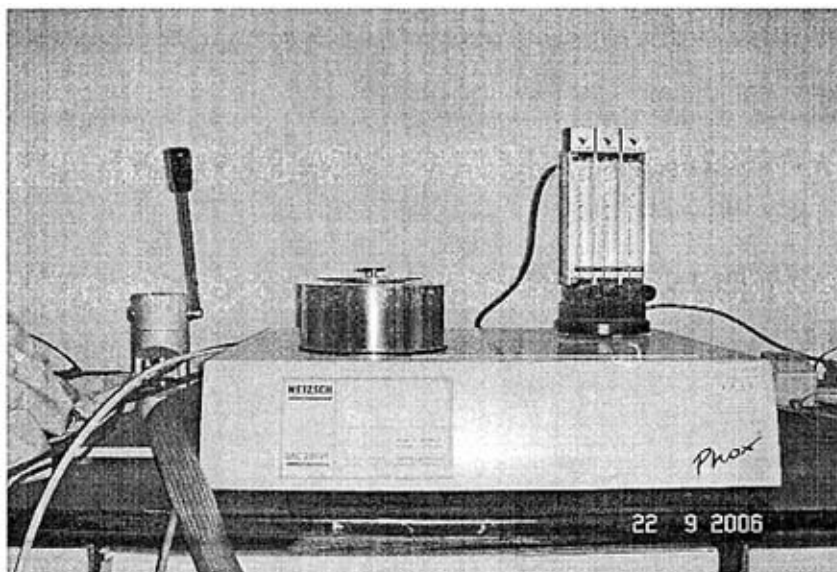


图 3.3 DSC 热分析系统实物图

Fig.3.3 Practical diagram of DSC thermal analysis system

3.3.1.2 系统校正

做实验之前, 需要对系统进行热校正。热校正是对 DSC 系统的温度测量系统进行校正, 包括灵敏度校正和温度校正。

(1) 灵敏度校正

用来计算热电偶电压对热流的比例因子, 包括基线测试和蓝宝石测试。进行基线测试(校正)是为了产生无样品条件下的热流特征曲线, 蓝宝石测试是用于基线的参数管理的测试。在基线测试时, 将两个空的坩埚放在炉体内左右两侧的载物平台上, 其中一个空坩埚是参比物。基线校完后, 将蓝宝石(熔点 2030°C , 质量

已知)放入试样坩埚内,测出相应的热流曲线。完成上述两步后,从蓝宝石热流曲线减去基线热流曲线,所得结果被拟合成灵敏度多项式。

(2) 温度校正

在实际 DSC 测量中要获得精确度高的温度值,必须用高纯物质的熔点或相变温度进行校正,常用的有 Indium(熔点 156.6°C)、Hg(熔点 -38.8°C)、Sn(熔点 231.9°C)、Zn(熔点 419.6°C)。本文以铟作为标样,铟(Indium)的熔点为 156.1°C (标准值为 156.6°C ,相差 0.4°C ,约 0.32%)相变潜热为 28.2kJ/kg (标准值为 28.6kJ/kg ,相差 0.4kJ/kg ,约 1.4%)。

3.3.1.3 实验过程与步骤

(1) 打开氮气瓶阀门,通入氮气,然后打开电源开关,调整氮气流量为:吹扫气流速: 20ml/min ,保护气流速: 60ml/min 。

(2) 样品准备,首先用镊子夹一空坩埚放入电子天平除零,然后放入少量样品称重(液体一般为 $5\text{--}12\text{mg}$,固体一般为 $5\text{--}20\text{mg}$),天平读数即为样品重量。

(3) 合上坩埚盖,用专用压模机将盖子压紧。

(4) 打开炉盖,将装有样品的坩埚放入炉腔,盖好盖子;

(5) 在计算机中输入样品参数,设定好温度程序,开始准备记录实验数据。

实验中注意事项:

(1) 开始测量之前,先打开电源,使仪器预热一段时间,氮气一直开启,并保持吹扫气流速为 20ml/min ,保护气流速为 60ml/min 。

(2) 在将坩埚压紧时应注意保持坩埚底部为水平面,否则变形后,坩埚受热不均匀影响测试结果。

(3) 向坩埚中加入样品时,应减小试样厚度,增大与坩埚底部的接触面积。

(4) 在实验过程中,参比物坩埚一直保持不动,千万不能移动位置。否则会增大实验误差,样品坩埚每次也应放在与标定时坩埚的同一位置。

(5) 在一个样品测完时,如果是高温实验,则应待炉腔冷却到室温(可用空气冷却器或液氮)后方可取出样品。否则会造成炉腔的氧化。如果是低温实验(即样品的相变点低于 0°C)。同样需要炉腔温度回升到室温后取出样品,以避免水汽在炉腔内凝结。

3.3.2 实验原理

本实验主要测定的是葡萄发酵样品的比热容。比热容的定义是单位质量的某种物质温度升高 1°C 吸收的热量。用 DSC 测定比热容时,试样是处在线性程序升温控制下,流入试样的热流速率是连续测定的,它等于样品吸收的热量,而比热容和吸收的热量之间存在下列关系:

$$C = \frac{dH}{dT} \times \frac{1}{m_{sample}} \quad (3.4)$$

上式中 C 为试样的比热容, dH 和 dT 分别为试样与标样的热量差和温度差, m_{sample} 为试样质量。实际上, 很难准确测定 dH/dT 的绝对值, 因此常采用间接测量的方法。

测量方法:

依次测出三条DSC扫描曲线, 分别为基线(base line)、标样线(standard line)、试样线(sample line)。如图3.4。

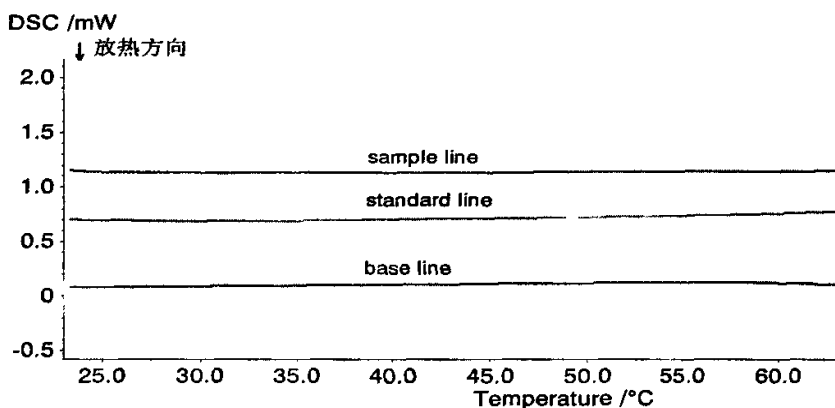


图 3.4 比热容测量时对应的 DSC 信号曲线

Fig.3.4 Curve of DSC signal on measuring specific heat

1. 基线的测量

将两个空坩埚称量后, 分别置于参比侧和样品侧。在所要测量的温度范围内, 以固定的升温速率对炉子进行加热。并通入恒定流量的氮气, 以维持炉子内部的温度, 如此便可求得参比侧与样品侧两者间的热流差值对温度的关系图谱。

2. 标样线的测量

将蓝宝石(sapphire) 称量后置入样品侧的空坩埚内, 而参比侧的空坩埚维持不变, 并以跟测量基线相同的升温速率与氮气流量进行测量, 既可得参比侧(空坩埚)与样品侧(空坩埚+蓝宝石)两者间的热流差值对温度的关系图谱。

3. 样品线的测量

将待测样品置入空坩埚内称量, 而参比侧亦维持不变。以相同的升温速率与氮气流量进行测量, 既可得参比侧(空坩埚)与样品侧(空坩埚+待测样品)两者间的热流差值对温度的关系图谱。然后根据下式即可算出样品的比热容值:

$$C = \frac{m_{standard}}{m_{sample}} \times \frac{DSC_{sample} - DSC_{baseline}}{DSC_{standard} - DSC_{baseline}} \times C_{standard} \quad (3.5)$$

C —样品在温度 T 时的比热容, $\text{kJ/kg}\cdot^{\circ}\text{C}$;

C_{standard} —标样在温度 T 时的比热容, $\text{kJ/kg}\cdot^{\circ}\text{C}$;

m_{standard} —标样的质量, mg ;

m_{sample} —样品的质量, mg ;

$\text{DSC}_{\text{sample}}$ —样品在温度 T 时的 DSC 信号, μV ;

$\text{DSC}_{\text{standard}}$ —标样在温度 T 时的 DSC 信号, μV ;

$\text{DSC}_{\text{baseline}}$ —基线在温度 T 时的 DSC 信号, μV .

由于蓝宝石(sapphire)的比热容值在所测温度范围内已知为 $\pm 0.2\%$ 的准确性,故一般文献上对于测量比热容值皆以蓝宝石做为标准样品。在测量的温度范围内,忽略压力的影响,即所测比热容近似看作等压比热容。

3.3.3 测量过程

样品: 葡萄发酵试样。

样品质量: 26.38mg, 33.62mg, 39.67mg。

升温速率: $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$;

吹扫气及流量: 高纯度氮气, $20\text{mL}/\text{min}$;

保护气及流量: 高纯度氮气, $60\text{mL}/\text{min}$;

温度范围: $10^{\circ}\text{C}\sim 40^{\circ}\text{C}$ 。先用液氮把仪器冷却到 10°C , 恒温 15 min, 然后升温($3^{\circ}\text{C}/\text{min}$)至设定温度 40°C 。样品最少进行 3 次测量, 取其平均值作为最终结果。

实验注意事项:

(1) 将样品放入铝坩埚后, 必须用 DSC 专用压模机将坩埚盖与坩埚压紧封口, 最好改变角度多压几次, 以避免挥发性样品蒸汽在高温下顶开坩埚盖。

(2) 基线、标样线和样品线的测量条件必须完全相同(起始和结束温度、加热率)。

(3) 测试开始时, 要等到初始温度稳定以后才开始。

3.3.4 测定结果及分析

为了确定仪器的可靠性, 先测量了去离子水的比热容, 与文献值比较, 其最大相对误差仅为 0.60% , 说明仪器能保证测量精度。图 3.5 为发酵过程试样比热容 DSC 信号曲线, 局部放大后可以看到稳定后曲线随温度变化不是很大。

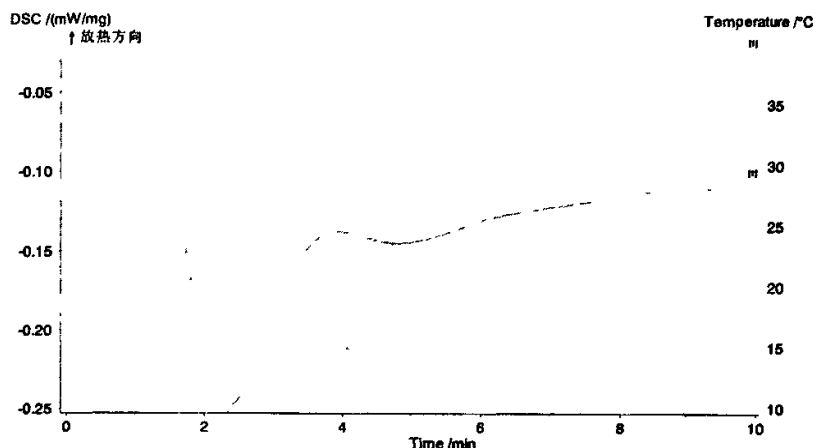


图 3.5 发酵试样比热容 DSC 信号曲线

Fig.3.5 Curve of DSC signal on sample of fermentation

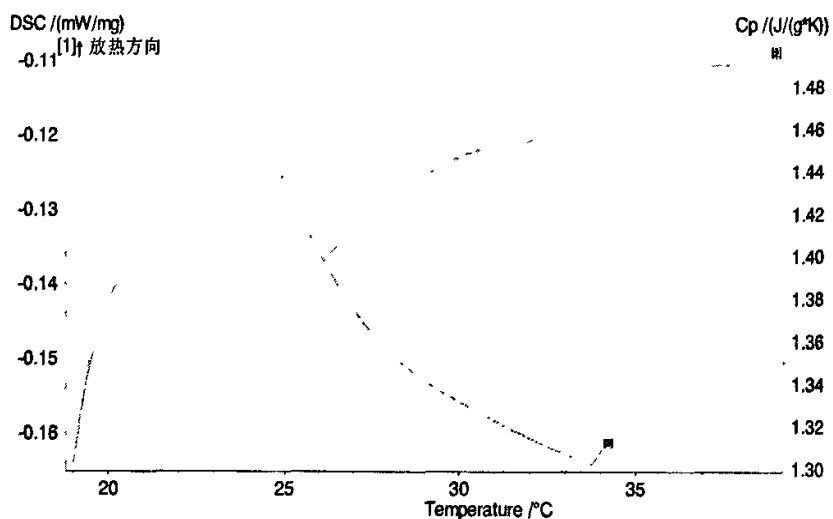


图 3.6 发酵试样比热容—温度图

Fig.3.6 Specific heat vs temperature curve on sample of fermentation

从图 3.5 中可以看出发酵试样的比热容随温度的变化趋势，比热容数值曲线在 19℃~39℃ 温度范围内波动较小，在实验条件限制，误差允许范围内为常数值；在测量时应注意温度范围，温度设定应包括实验过程中采集到的温度范围。因所测试样液体混合物，每次称量的样品都不是完全一样，结果不是理论直线。根据 3 次的比热容测试范围和图 3.6 的数据显示，比热容几乎在 1.30~1.48 之间波动，将图中的比热容曲线线性回归拟合，为了方便后面的计算，取比热容值 c 为：

$$c = 1.41 \quad (3.6)$$

c —样品在温度 T 时的比热容, $\text{kJ/kg} \cdot ^\circ\text{C}$ 。

图 3.7 为与本仪器配套的热分析程序主菜单

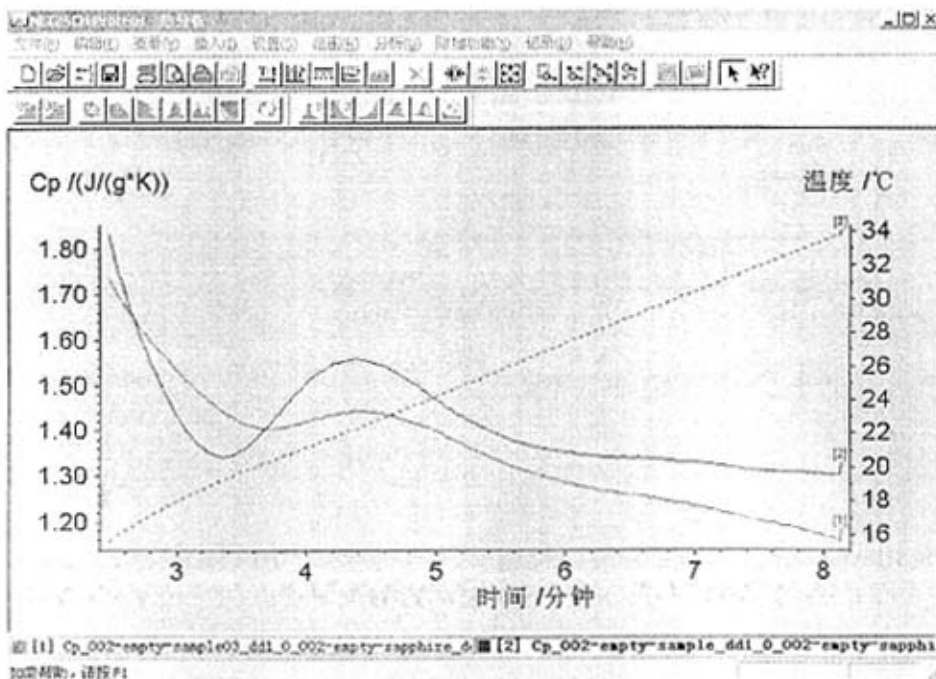


图 3.7 DSC-200 PC Phox 分析程序主菜单

Fig.3.7 Menu of DSC-200 PC Phox analytical program

从上面差示扫描量热法(DSC)的基本介绍,到具体发酵试样品的比热容测量,在学习 DSC 的相关用法的同时,得到了生物的比热容特性参数大小。本实验过程特别需要注意的是从空坩埚到样品的测试过程中,设定的相关条件不能变。必须在温度稳定后,测试结果更准确。

3.4 发热量的测定

有效利用发酵过后的剩余产物,在实验室先测试相类似的生物浮萍的发热量。发热量有高位发热量和低位发热量。在工业上为核算企业对能源的消耗量,统一计算标准,便于比较和管理,采用标准煤的衡量标准。因此可以如此定义,高位发热量就是样煤在氧弹内燃烧时产生的热量(即弹筒发热量)减去硫和氮生成酸的校正值后所得的发热量。而弹筒发热量是把一克煤样放在高压充氧的弹筒中燃烧,由量热计测得的发热量称为弹筒发热量(QDT)。下面简要介绍下实验。

3.4.1 实验仪器

SDACM3000 系列量热仪主要由 SDACM3000 自动桶、SD—YD 氧弹、SD—CYQ 自动充氧器、SD 测控接口卡和控制卡、SD 测控软件、计算机、打印机等组

成（见图 3.8）

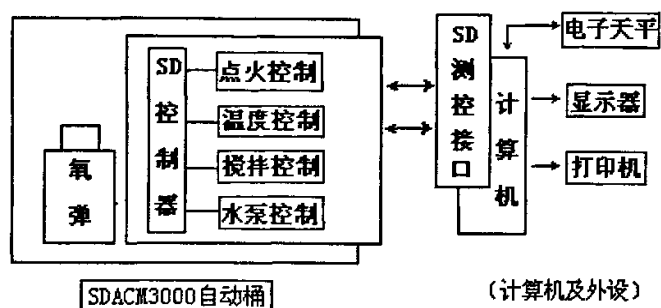


图 3.8 组成示意图

Fig3.8 Sketch map of configuration

在这里介绍一个有代表性的仪器实物图，图 3.9 自动桶实物图。

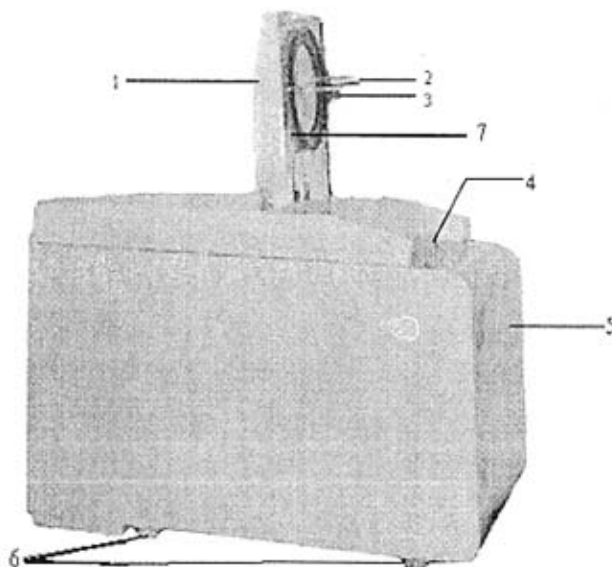


图 3.9 自动桶侧视图

Fig3.9 Side elevations of automatism barrel

- | | | | |
|--------|--------|---------|------|
| 1.内桶盖 | 2.长电极杆 | 3.短电极杆 | 4.内桶 |
| 5.外壳箱体 | 6.底座 | 7.橡胶密封圈 | |

3.4.2 仪器工作过程

启动计算机进入实验测控软件，当实验准备就绪（氧弹已接好，实验参数输入）后，系统自动完成内桶水量的称取和水温的调节，自动进入实验状态，经过测温探头及测控电路准确地采集温度数据，按程序约定，自动完成整个实验过程，并自动计算、打印、保存测试结果。在测试过程中，若系统某部分运行或工作不

正常，则屏幕上有相应的明确提示，以便进行简单的调试。

3.4.3 测试操作流程

下面介绍利用 SDACM3000 测控系统进行浮萍发热量测试的过程。

1. 系统启动

启动SDACM3000测控系统，进入如图3.10的应用界面。

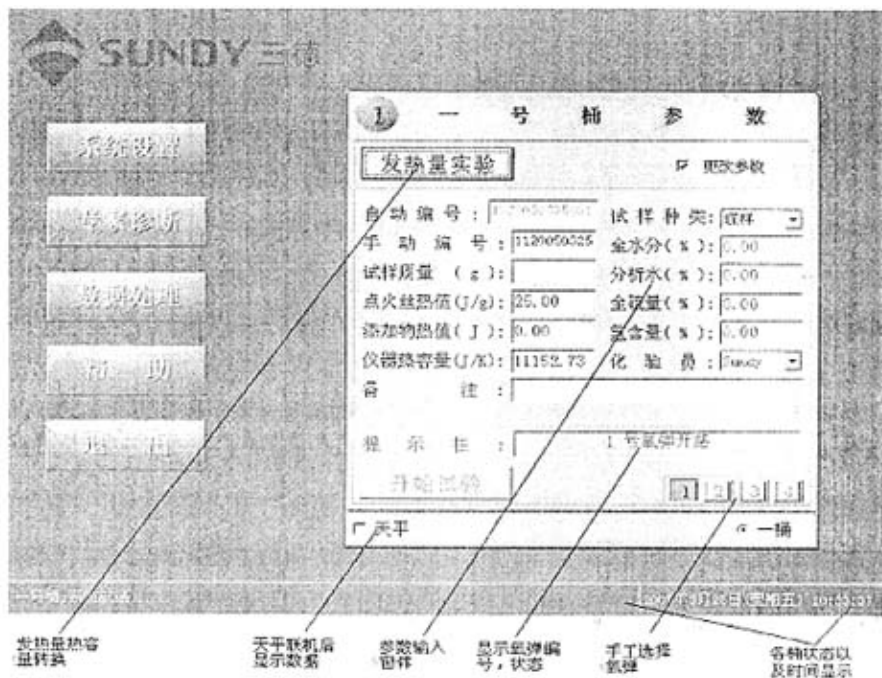


图 3.10 系统温度平衡后的窗体

Fig3.10 Window of system temperature after balance

2. 系统设置

设置包括：测试发热量是精密测试：自动进入实验；自动水量判断等方面的设置。

3. 试样准备

按要求称样质量在 0.9g~1.1g 之间，浮萍质量是：1.0541g，装氧弹，充氧，并将氧弹放入内桶。

4. 数据输入

(1) 按图 3.9 的模式输入试样质量、点火丝热值、添加物热值（缺省值为 0J）其中试样质量可由天平自动输入。

(2) 发热量手工编号最多为 20 个字符。

(3) 在做发热量实验时，人工编号将是判断平行样的前提条件，只有人工编号相同的试样才会报出是否合格及平均值。

(4) 单击“开始实验”按钮或在系统设置中选择自动进入实验。

(5) 参数输入完后按回车即可。

5. 测试过程

当试样参数输入完毕后，系统开始进入测试状态，自动开启搅拌、自动点火、自动计算、自动保存测试结果。在实验过程中，将看到如图 3.9 所示的窗体。

6. 结果显示

试样测试完毕后，登陆数据处理，数据库可显示当天、当前以及重复样实验结果。得到弹筒发热量：15265.96KJ/Kg。

3.4.4 实验结论

从中药浮萍的正品紫萍的乙醇提取物中分离出 4 个黄酮化合物，经理化常数和光谱鉴定，得到其结构，经研究成分分别为芹菜素(apigenin)、木犀草素(luteolin)、芹菜素-7-O-葡萄糖苷 (apegenin-7-O-glucoside) 和水犀草素-7-O-葡萄糖苷 (leuteolin-7-O-glucoside)，它们是紫萍中的主要化学成分。经查实芹菜素描述分子式：C₁₅H₁₀O₅ 分子量：270.25^[38,39]。木犀草素分子式及分子量：C₁₅H₁₀O₆；286.23。木犀草素为黄色晶体，属于黄酮。木犀草素熔点：328℃-330℃。从上面分子式中中和葡萄糖苷中均未含有硫和氮元素，根据以上高位发热量的定义，浮萍高位发热量就和弹筒发热量相当^[40]。

1. 可以得出高位发热量的大小约为：15265.96KJ/Kg。标准煤：每千克标准煤的发热量：29307.6KJ/Kg。根据煤的发热量大小可以说浮萍的发热量比较大，因此浮萍可以做燃料。

2. 测得其他生物的发热量后，可以根据发热量大小来决定其应用。发热量较小可以做饲料；含有其他元素如氮的话，发热量较高，可以做肥料。从发热量角度，根据具体情况可以合理利用资源。

3.5 小结

本章主要是对生物物性参数的测定。总结起来，有如下内容：

1. 叙述中相应地介绍了测试仪器的原理及使用，测试实验过程步骤和注意事项，重点介绍了比热容的相关测试。

2. 测得生物与传热相关的一些特性，从传热方面对生物发酵过程中，过程后的一些产物有一个新的认识。

4 微生物发酵传热特性

发酵的本质是化学反应。发酵过程中微生物从周围环境摄取各种营养物质,通过各种生化反应合成其细胞得结构物质,获取能量,并形成各种代谢产物。大型发酵工业的应用和发酵工艺的建立应以对发酵过程的研究为基础。本章介绍了发酵过程中的热量平衡问题,温度对发酵的影响和发酵过程中的内热源情况等传热特性。

4.1 发酵过程中的热量平衡

细胞在生长过程中需要从环境中摄取各种原材料,合成其结构物质,这个过程需要消耗能量,以满足生命活动的需求。根据热力学原理,一个系统的内能决定与其状态。系统与其环境发生能量的交换,可从环境得到或者放出热量或做功。能量守恒定律指出,一个过程系统与环境的总能量保持不变,过程中系统的内能变化 ΔE 由与环境的热或功的交换造成。即

$$\Delta E = Q - W \quad (4.1)$$

式中, Q 为热能,吸热为正; W 为功,对环境做功使为正。本实验是在常压下进行,因此所做的功

$$W = pV_2 - pV_1 = p\Delta V \quad (4.2)$$

或

$$Q = \Delta E + p\Delta V = \Delta H$$

(4.3)

式中, p 为压力; ΔV 为体积; ΔH 为焓的变化。系统焓的变化为负时是放热反应。在发酵过程中依照上面的理论,分别讨论各种产生的热量。

4.1.1 发酵热

引起发酵过程温度变化的原因是发酵过程所产生的热量,称为发酵热。发酵热包括生物热、蒸发(汽化)热和辐射热等^[41]。在本实验中主要是生物热。

1. 生物热

由于菌体的生长繁殖和形成代谢产物,不断地利用营养物质,将其分解氧化获得能量,其中一部分能量用于合成高能化合物,供合成细胞物质和合成代谢产物所需要的能量。其余部分以热的形式散发出来,这就是生物热。

影响生物热的因素有:

菌体,培养基,发酵时期。

生物热具有阶段性。发酵过程的产热具有明显的时间性。即在不同培养阶段,菌体呼吸作用和发酵作用强度不同,所产生的热量不同。在生长初期,生物热少;

在生长期，生物热大量产生。

2. 蒸发热

虽然发酵箱是密闭状态，然仍有小缝隙通气或是上盖小孔的缝隙通气时，引起含水较多的发酵微生物的水分蒸发，发酵热量因水汽而被带走的热量称为汽化热，其大小可以忽略。

3. 辐射热

因发酵过程温度与周围环境温度不同，虽然发酵箱外面用保温层包裹，然发酵微生物的非常小的一部分热量通过箱体向外辐射。客观存在的大小，取决于罐内外温度差，冬天大些，夏天小些。一般不超过 5%，本实验中会更小。

因此，由热量平衡发酵过程发酵热为：

$$Q_{\text{总}} = Q_{\text{生}} + Q_{\text{搅拌}} - Q_{\text{汽化}} - Q_{\text{辐射}} \quad (4.4)$$

本文实验主要考虑的是生物热，发酵过程中，细胞在生长过程中的能量转换，就表现为生物热。

4.2 温度对微生物发酵的影响

微生物的生长是细胞要进行大量的生长繁殖，需要持续的进行合成和分解代谢，而环境因素恰恰影响着代谢的速度和进程。高细胞密度发酵中，要得到高的细胞密度，更是要求在发酵过程中保持适宜的环境。

影响微生物发酵的因素有很多，如温度，PH 值，泡沫，补料，二氧化碳等，本文重点讨论温度的影响。

在影响微生物生长繁殖的各种物理因素中，温度起着最重要的作用。温度直接影响酶反应，从而影响着生物体的生命活动。微生物的生长和产物的合成都是在各种酶催化下进行的，温度是保证酶活性的重要条件，是发酵正常进行并获得产品的重要保证。高温之所以能杀菌，最主要的原因是高温能使蛋白变性或凝固，同时也破坏了酶的活性，从而杀死了微生物。微生物对高温的抗性与微生物的种类和数量、微生物的年龄、有无芽孢、pH 等环境因素有密切的关系^[42]。

微生物对低温的抵抗力一般比对高温的强。原因是由于它们的体积小，在其细胞内不能形成冰晶体，因此也不能破坏细胞内的原生质体。各种微生物在一定的条件下都有一个最适的生长温度范围，在此温度范围内，微生物生长繁殖最快^[43]。温度和微生物生长的关系，一方面在其最适温度范围内，生长速度随温度升高的增加；另一方面，不同生长阶段的微生物对温度的反应不同。

温度对发酵的影响是多方面的，对菌体生长和代谢产物形成的影响是由各种

因素综合表现的结果^[44,45]。

1. 从酶反应动力学角度来看, T 升高, 反应速度加快, 生长繁殖快, 产物提前合成; 另一方面, T 升高, 酶失活愈快, 菌体易于衰老, 影响产物合成, 失活愈快, 周期缩短, 产物最终产量少。

2. 温度通过影响发酵微生物的物理性质间接影响发酵。如影响氧的溶解和传递, 影响对基质的分解和吸收速度等。

3. 温度能影响生物合成方向。如金色链霉菌 $>35^{\circ}\text{C}$ 时, 合成四环素; $<30^{\circ}\text{C}$ 时, 合成金霉素。

4. 温度能影响酶系组成及酶的特性。

5. 同一种生产菌, 菌体生长和积累代谢产物的最适温度往往不同。

表 4.1 两种适宜温度比较

Fig4.1 the comparison of two kinds of suitable temperature

菌体	适合生长温度	产物温度
谷氨酸产生菌	最适生长 30°C – 32°C	产物 34°C – 37°C
黑曲霉	37°C	柠檬酸、糖化酶 32°C – 34°C
青霉素	30°C	分泌青霉素 20°C

4.2.1 发酵温度和时间的关系

因此, 在自然发酵实验中, 温度是随着时间不断变化的, 在线测定的温度数据和时间的关系图, 如图 4.1 和图 4.2 所示:

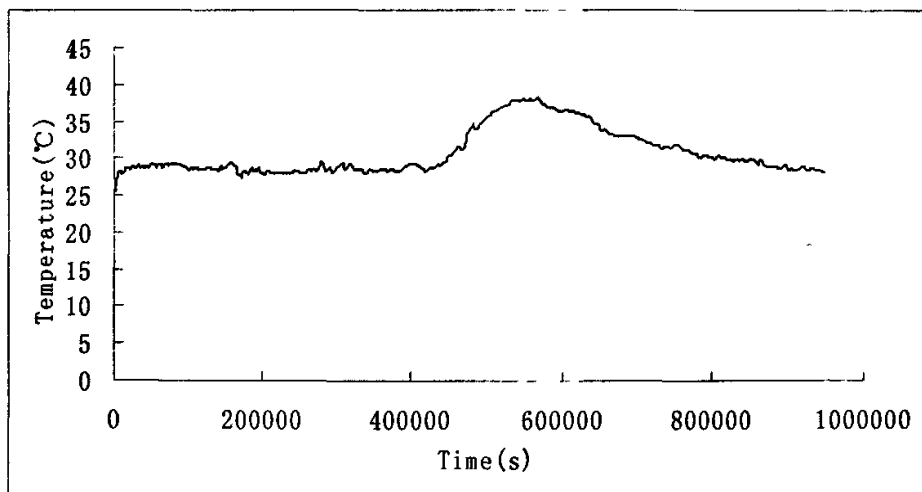


图 4.1 中心测点 7 温度时间图

Fig4.1 Temperature-time chart of center measure point 7

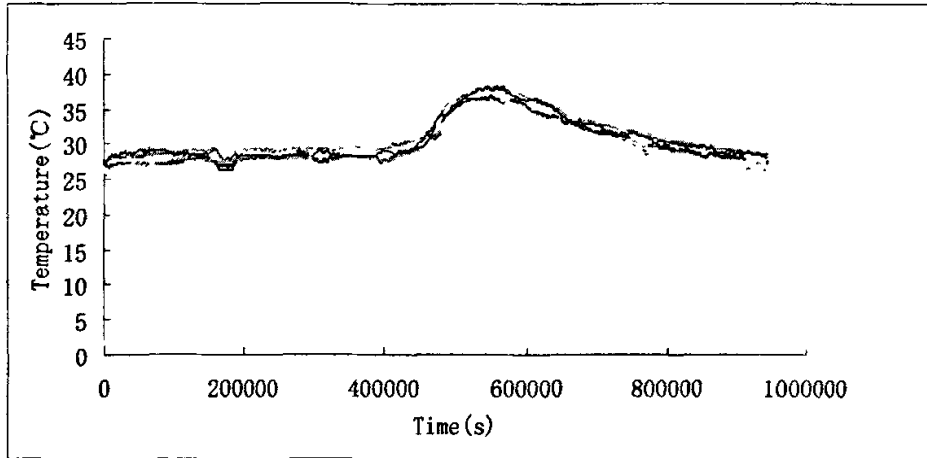


图 4.2 各测点温度时间图

Fig4.2 Temperature-time chart of all measure point

从图中可以看出：

1. 各测定的温度随时间变化趋势基本一样。
2. 温度值不是恒定的，是变化的，意味着有热量的产生，发酵过程中有内热源。
3. 发酵的过程是分阶段的，即发酵前期，温度变化缓慢，微生物生长比较慢；发酵期，温度变化剧烈，急剧上升微生物处于快速生长阶段；发酵后期，温度慢慢下降，发酵逐渐结束。
4. 整个发酵过程中，温度几乎在 $25^{\circ}\text{C} \sim 39^{\circ}\text{C}$ 。

同样，在控温过程中采集数据，有控温情况下的温度时间曲线选两个作为代表，如图 4.3，图 4.4 和各个测点总体图 4.5 所示：

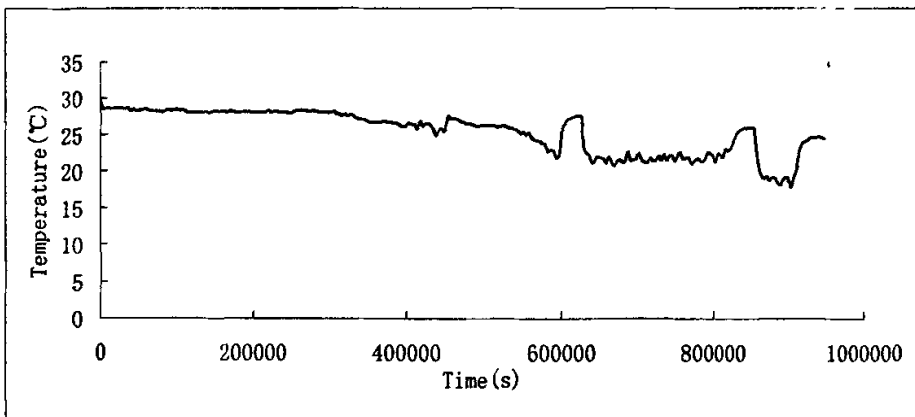


图 4.3 控温中心测点 7 温度时间图

Fig4.3 Temperature-time chart of center measure point 7 by controlling temperature

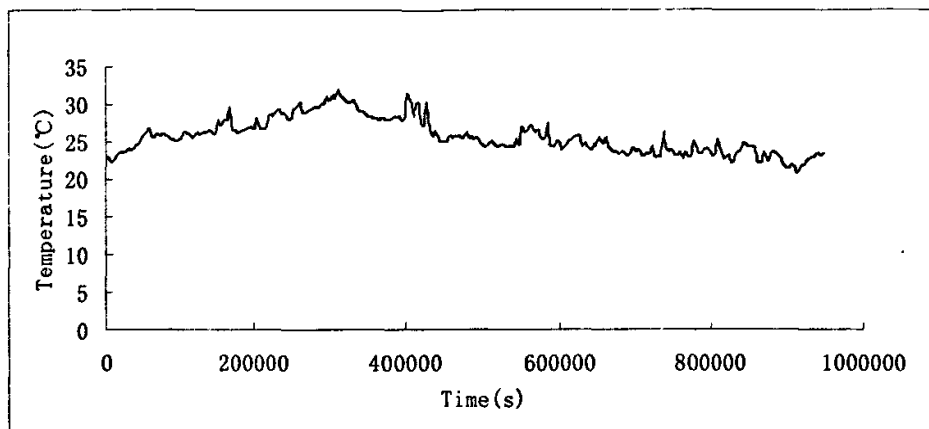


图 4.4 控温测点 9 温度时间图

Fig4.4 Temperature-time chart of measure point 9 by controlling temperature

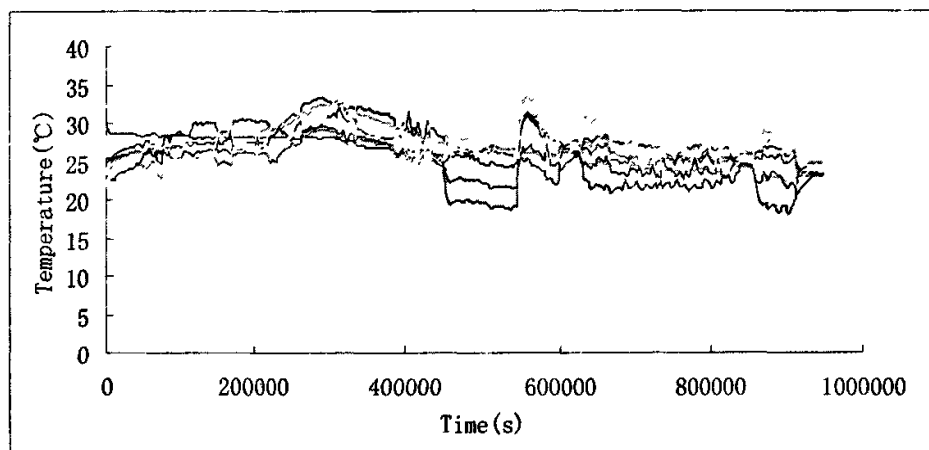


图 4.5 控温温度时间图

Fig4.5 Temperature-time chart of controlling temperature

从图 4.3, 图 4.4 和图 4.5 中可以看出, 相比自然发酵的温度时间图 4.1 和图 4.2, 有如下结论:

1. 各温度测点的温度随时间变化很小, 图线比较平直, 接近看成水平直线, 图 4.6 中有所证明。说明能够很好地控制发酵温度。
2. 温度范围几乎在 $25^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ 之间, 是发酵的理想温度。达到控制温度的目的。
3. 温度值变化小的原因是在绝热的发酵箱内外部冷水带走热量, 从而控制了温度。
4. 比较图 4.2 和图 4.5 得知, 在自然发酵过程中各测点的温度变化趋势几乎完全一样。在控温的情况下, 各测点的温度变化趋势有些不同, 因受到恒温水的温

度影响，温度分布情况非线性。

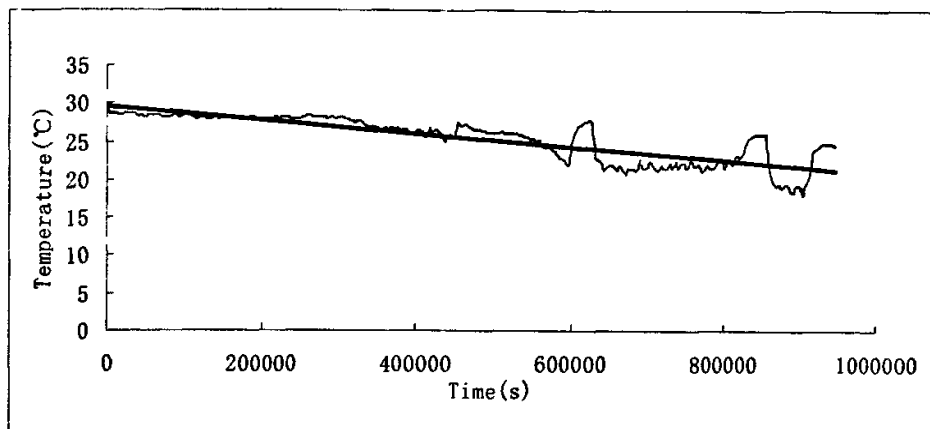


图 4.6 测点 9 拟合比较线

Fig4.6 Relative imitate chart of measure point 9

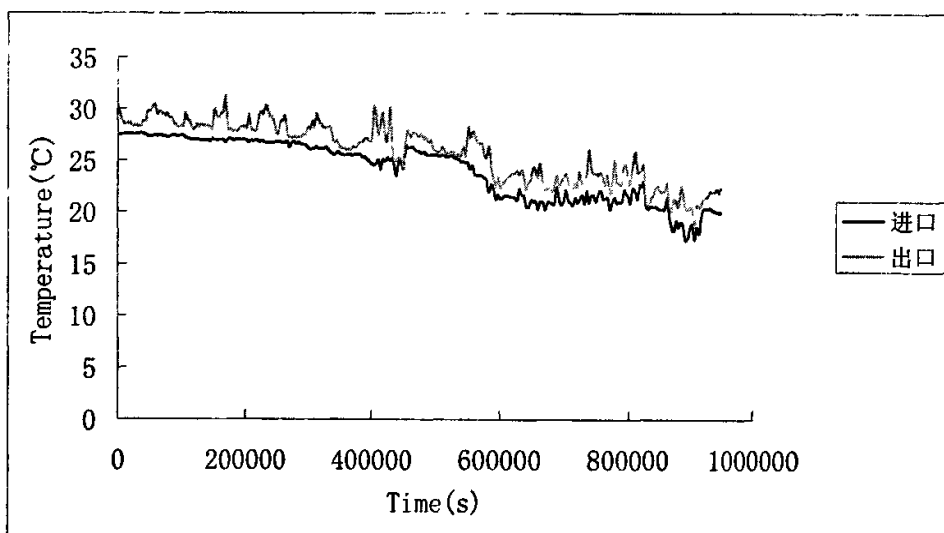


图 4.7 进出水口温度时间图

Fig4.7 Temperature-time chart at pass in and out water gap

从上面图 4.7 知道：

1. 进水口的温度低于出水口的温度，说明冷水带走了发酵箱里面的热量，从而能够维持发酵温度比较稳定。
2. 发酵反应是放热反应。
3. 进出水口后来温度有所降低，是根据发酵的进程，后期发酵减弱。作出相应的恒温浴槽水温的设定值减小的变化。

根据实验采集系统显示温度数据，合理地设定恒温浴槽的温度来维持发酵过

程中的温度比较恒定，在 $25^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ 温度范围内。

4.3 内热源公式的拟合

在 4.2 节里面已经讲到，在发酵过程中温度会随时间变化，有内热源的存在。同时外界控制温度的情况下，发酵过程中，温度会受到影响。为工业应用提供理论依据，更深入了解发酵传热理论，在自然发酵过程中，内热源公式的拟合十分有必要。

4.3.1 导热微分方程式

根据能量守恒原理来建立温度场的数学关系式，将整个发酵箱看成一个研究的微元体。此微元平行六面体来作分析。假定导热物体是各项同性的。

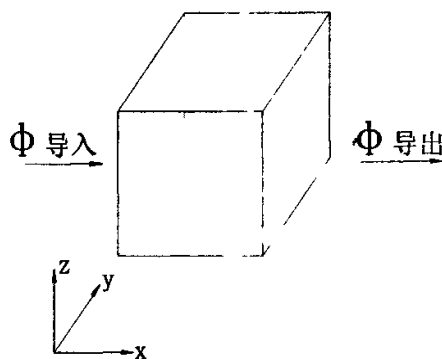


图 4.8 微元平行六面体的导热分析图

Fig4.8 Analysis map on transmit heat of tiny parallelepiped

对于此微元体，见图 4.8，按照能量守恒定律，在任一时间间隔内有以下热平衡关系：

$$\begin{aligned} & \text{导入微元体的总热流量} + \text{微元体内热源的生产热} \\ & = \text{导出微元体的总热流量} + \text{微元体热力学（内能）的增量} \end{aligned} \quad (4.5)$$

式 (4.5) 中其他两项的表达式为

$$\text{微元体热力学的增量} = \rho c \frac{\partial t}{\partial \tau} dx dy dz \quad (4.6)$$

$$\text{微元体内热源的生产热} = \dot{\Phi} dx dy dz \quad (4.7)$$

其中， ρ 、 c 、 $\dot{\Phi}$ 及 τ 各为微元体的密度、比热容、单位时间内单位体积中内热源的生成热及时间。

整个箱体在 10cm 厚的保温层内，可视为整个箱体和外界绝热。在图 4.6 中 Φ 导入和 Φ 导出均为零，则将式 (4.6)、(4.7) 代入 (4.5) 有

$$\Phi \text{ 导入} + \rho c \frac{\partial t}{\partial \tau} dx dy dz = \Phi \text{ 导出} + \dot{\Phi} dx dy dz \quad (4.8)$$

整理得到：

$$\rho c \frac{\partial t}{\partial \tau} dx dy dz = \dot{\Phi} dx dy dz \quad (4.9)$$

式(4.9)即为所求得的热导微分方程。

4.3.2 公式拟合

数值分析中多项式拟合的章节中讲到从实验数据拟合经验公式的方法^[46], 借此将介绍内热源公式的拟合。

4.3.2.1 多项式拟合

假设有已知数据组 $(x_i, y_i) (i=0,1,2,\dots,m)$ 。现求作一个不超过 $n (n \leq m)$ 次

多项式 $P_n(x) = \sum_{k=0}^n a_k x^k$, 使得 $\sqrt{\sum_{i=0}^m [y_i - P_n(x_i)]^2}$ 取最小, 也即是 $\sum_{i=0}^m [y_i - P_n(x_i)]^2$ 取最小。

记 $r_i = y_i - P_n(x_i) (i=0,1,2,\dots,m)$, $r = (r_0, r_1, \dots, r_m)^T$, 不难看出以上多项式最小

二乘拟合问题就是求解关于 $a_k (k=0,1,\dots,m)$ 的超定方程组 $\sum_{k=0}^n a_k x^k = y_i$, $(i=0,1,2,\dots,m) (m > n)$ 的最小二乘解问题。

把 a_k 当作变量, 上述方程组的矩阵记法为

$$\begin{pmatrix} 1 & x_0 & x_0^2 & \cdots & x_0^n \\ 1 & x_1 & x_1^2 & \cdots & x_1^n \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots \\ 1 & x_m & x_m^2 & \cdots & x_m^n \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sum y_i \\ \sum x_i y_i \\ \vdots \\ \sum x_i^n y_i \end{pmatrix}$$

是一个超定方程组, 有所对应的正规方程组公式为

$$\begin{pmatrix} m+1 & \sum x_i & \sum x_i^2 & \cdots & \sum x_i^n \\ \sum x_i & \sum x_i^2 & \sum x_i^3 & \cdots & \sum x_i^{n+1} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots \\ \sum x_i^n & \sum x_i^{n+1} & \sum x_i^{n+2} & \cdots & \sum x_i^{2n} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sum y_i \\ \sum x_i y_i \\ \vdots \\ \sum x_i^n y_i \end{pmatrix} \quad (4.10)$$

以上 $\sum$ 记号均为 $\sum_{i=0}^m$ 的简写。

记 $S_k = \sum_{i=0}^m x_i^k$, $t_r = \sum_{i=0}^m x_i^r y_i$ ($k=0, 1, \dots, 2n$; $r=0, 1, \dots, n$) 则式(4.11)

可改写为

$$\begin{pmatrix} S_0 & S_1 & \cdots & S_n \\ S_1 & S_2 & \cdots & S_{n+1} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ S_n & S_{n+1} & \cdots & S_{2n} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} t_0 \\ t_1 \\ \vdots \\ t_n \end{pmatrix} \quad (4.12)$$

通过解该正规方程组便可解出 a_k , 从而确定出拟合多项式 $P_n(x)$ 。

多项式拟合的一般方法可归纳为：

(1) 根据具体问题，确定拟合多项式的次数 n ；

(2) 由公式 $S_r = \sum_{i=0}^m x_i^r$ ($r=0, 1, 2, \dots, 2n$),

$t_r = \sum_{i=0}^m x_i^r y_i$ ($r=0, 1, 2, \dots, n$) 计算出 S_r 与 t_r ；

(3) 写出正规方程组
$$\begin{pmatrix} S_0 & S_1 & \cdots & S_n \\ S_1 & S_2 & \cdots & S_{n+1} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ S_n & S_{n+1} & \cdots & S_{2n} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} t_0 \\ t_1 \\ \vdots \\ t_n \end{pmatrix} ;$$

(4) 解正规方程组，求出 $a_0, a_1, \dots, a_n$ ；

(5) 写出拟合多项式 $P_n(x) = \sum_{k=0}^n a_k x^k$ 。

4.3.2.2 拟合温度公式

自然发酵温度数据图非常相似，从任一曲线图 4.9 中，可见测得的数据是一条非线性曲线，试用最小二乘法原理，结合 Origin 软件处理数据得到它的多项式拟合曲线。观察 Origin 曲线拟合模型，因而可取 $n=9$ ，计算 S_r ， t_r 。

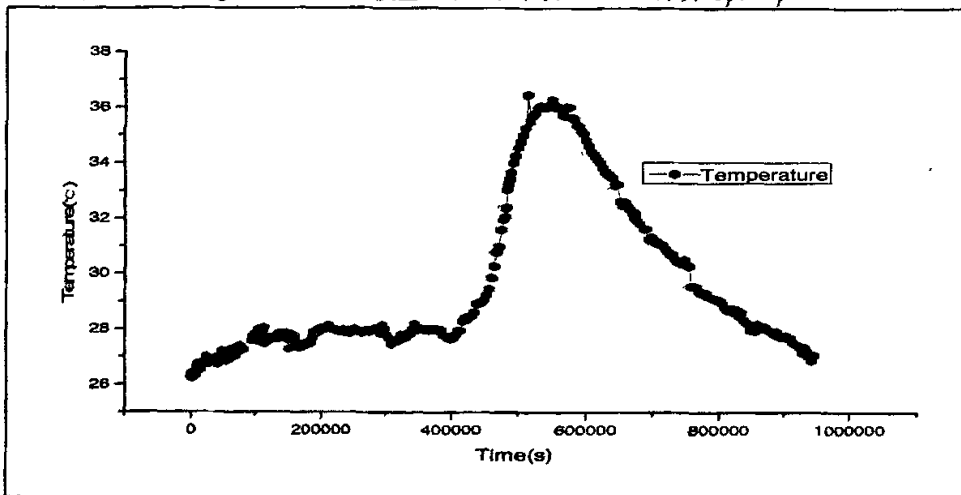


图 4.9 测点 11 温度时间图

Fig4.9 Temperature-time chart of measure point 11

温度曲线的拟合结果见图 4.10。图中的光滑曲线是拟合曲线，与数据线相当。拟合得到的公式为

$$t = a_0 + a_1\tau + a_2\tau^2 + a_3\tau^3 + a_4\tau^4 + a_5\tau^5 + a_6\tau^6 + a_7\tau^7 + a_8\tau^8 + a_9\tau^9 \quad (4.13)$$

其中 $a_0=25.67913$; $a_1=0.00011$; $a_2=-2.8685E-9$; $a_3=3.2858E-14$;

$a_4=-1.9104E-19$; $a_5=6.1535E-25$; $a_6=-1.1425E-30$; $a_7=1.2165E-36$;

$a_8=-6.9003E-43$; $a_9=1.6171E-49$, $R^2=0.95176$ 。

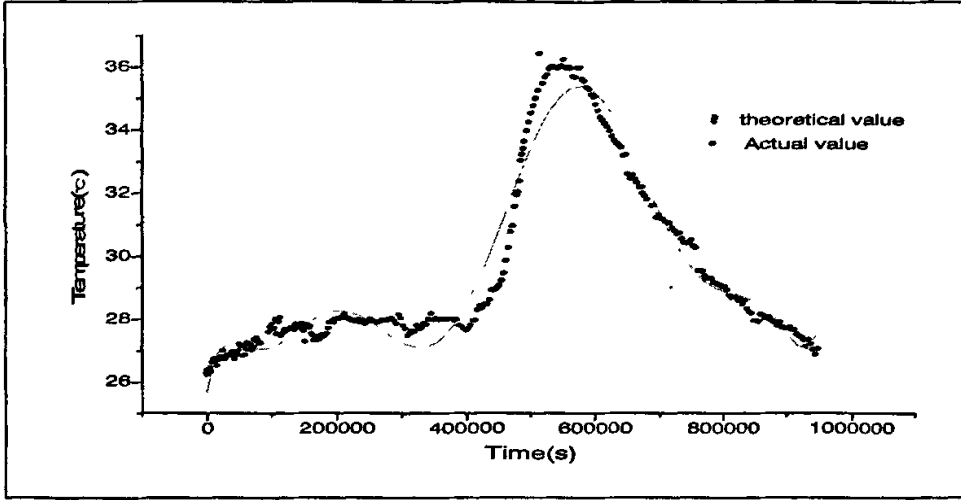


图 4.10 对比温度时间图

Fig4.10 Comparative temperature-time chart

需要指出的是,拟合公式的精确度是通过一个相关系数 R 来判定。 R 称为相关系数,表示经验公式对原始数据拟合的程度,一般要求 $R^2 > 0.8$ 时,观察经验公式和原曲线的拟合效果比较真实。 R 值越接近 1 越好,如果 R 值的偏小,说明曲线拟合不够理想,重新选择函数拟合^[47]。此处 $R^2 = 0.95176$,相当接近 1,说明拟合效果非常好。分别代入常系数值,将得到温度时间的拟合公式。

4.3.2.3 内热源经验公式

由公式 (4.9) 得

$$\int_V \rho c \frac{\partial t}{\partial \tau} dx dy dz = \int_V \dot{\Phi} dx dy dz \quad (4.14)$$

即有

$$\rho c \frac{\partial t}{\partial \tau} = \dot{\Phi} \quad (4.15)$$

依据公式 (4.13), 温度 t 对 τ 求导数得

$$\frac{\partial t}{\partial \tau} = a_1 + 2a_2\tau^1 + 3a_3\tau^2 + 4a_4\tau^3 + 5a_5\tau^4 + 6a_6\tau^5 + 7a_7\tau^6 + 8a_8\tau^7 + 9a_9\tau^8 \quad (4.16)$$

综上公式 (4.15), (4.16) 有单位时间内单位体积内热源的生产热为:

$$\dot{\Phi} = \rho c (a_1 + 2a_2\tau^1 + 3a_3\tau^2 + 4a_4\tau^3 + 5a_5\tau^4 + 6a_6\tau^5 + 7a_7\tau^6 + 8a_8\tau^7 + 9a_9\tau^8) \quad (4.17)$$

通过所采集到的自然发酵过程的温度数据,在 3 章中测得的物性参数有密度 ρ 为 $1.0087 \times 10^3 \text{ Kg/m}^3$, 比热容 c 为 $1.41 \text{ KJ/Kg} \cdot ^\circ\text{C}$, 公式 (4.13) 中的常系数分别代入公式 (4.17) 有单位时间内单位体积内热源的生产热的经验公式

$$\begin{aligned} \dot{\Phi} = & 0.1564 + (-8.1595E-18)\tau + (1.4019E-18)\tau^2 + (-1.0868E-23)\tau^3 + \\ & (4.3759E-29)\tau^4 + (-9.7496E-34)\tau^5 + (1.2111E-40)\tau^6 \\ & + (-7.8512E-47)\tau^7 + (2.0699E-53)\tau^8 \end{aligned} \quad (4.18)$$

公式 (4.18) 表明, 内热源就变成了时间的关系式。方便以后的应用计算。

4.4 小结

论文的传热理论, 本章较多阐述。从发酵原理到内热源公式的确定, 主要从温度因素入手分析了发酵的热理论, 具体有:

1. 主要介绍发酵过程中与传热相关的热平衡问题, 从能量守恒和化学反应方面具体论述。

2. 突出介绍在本论文实验当中测试采集到的数据参数温度对发酵过程的影响情况。

3. 分析处理温度数据, 分别得到自然发酵和控温发酵过程相应的温度随时间变化的图线, 揭示出发酵过程中有内热源的存在。

4. 通过上述自然发酵过程的温度时间图线, 多项式的拟合理论和 origin 数据分析软件得到温度时间的关联式。

5. 理论分析微元体的能量守恒, 进而有温度时间关联式, 最终得到发酵过程中内热源时间的关联经验公式, 突出了传热分析的重点。

5 温度场数值模拟

数值模拟是一项综合应用技术，它对教学、科研、设计、生产、管理、决策等部门都有很大的应用价值；可以直观地显示目前还不易观测到的、说不清楚的一些现象，容易为人理解和分析；还可以显示任何试验都无法看到的发生在结构内部的一些物理现象；数值模拟促进了试验的发展，对试验方案的科学制定、试验过程中测点的最佳位置、仪表量程等的确定提供更可靠的理论指导。总之，数值模拟计算已经与理论分析、试验研究成为科学技术探索研究的三个相互依存、不可缺少的手段。

恒温浴槽控温下的葡萄发酵后，发酵产物葡萄酒的色味道感相比自然发酵后的葡萄酒要好，原因是控制了发酵温度。在大型工业发酵池布置冷热水管网，以控制发酵温度之前，需要了解恒温水对发酵池周围的温度影响情况，因此，温度场的数值模拟十分必要。

在传热计算方面广泛应用有限差分法、有限元法、有限体积法等。本文的数值模拟利用 ANSYS 有限元软件求解实验过程中的热问题，温度场的分布情况。根据本实验的工况，温度随时间不断变化，因此属于非稳态的有内热源的导热问题。借助 ANSYS 进行瞬态热分析。

ANSYS 瞬态热分析的基本步骤包括构建模型、施加载荷、求解与后处理。

5.1 物理模型及控制方程

5.1.1 构建物理模型

工业发酵池很大，为了方便计算，可以将发酵实验装置看成模型中心为一直径 d_0 为 16mm 的冷热水源管，周围是单位时间单位体积内热源生产热为 $\dot{\Phi}$ 的一个立方体，外边长为 300mm 的一个传热截面作为研究对象。具体物理模型如图 5.1 所示。

该问题属于瞬态有内热源的二维传热学问题。根据问题的对称性，在求解过程中取实物中心纵截面的四分之一建立有限元计算模型，如图 5.2 所示。

在进行数值模拟计算前，为简化问题的求解，进行以下假设：

- (1) 圆柱体外表面是绝热。模拟中心水管壁温恒定为 25°C ；
- (2) 假设实验的每个截面上的温度分布一样；
- (3) 不考虑因温度的局部变化，而导致某一温度区域的内热源的影响；视温度未波及到的区域，在某一时刻发酵面上内热源均匀；
- (4) 发酵物均质，混合均匀；

- (5) 其物性如导热系数、比热容视为恒定；
- (6) 箱体内理想化为只有传导换热；
- (7) 该问题只考虑一个纵向横截面，二维问题；
- (8) 将模拟横截面内圆弧边缘温度为恒定水温 25℃。

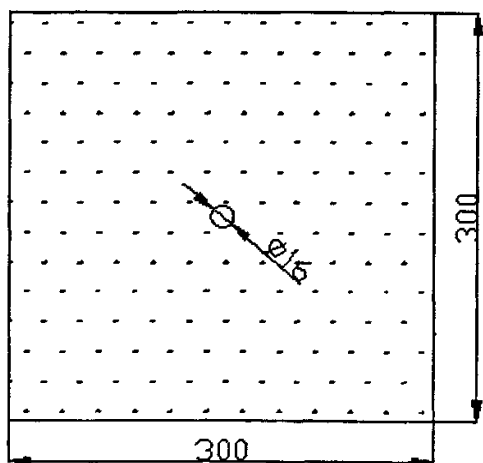
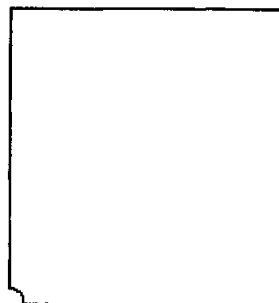


图 5.1 发酵物理模型图

Fig5.1 Physics model of fermentation



5.2 有限元计算模型

Fig5.2 Compute model of finite cell

5.1.2 模型的控制方程

根据能量守恒原理，在不考虑水在管内的对流和热量损失、绝热热量散失。系统内通过不锈钢管只与冷水有能量交换。参考文献^[48]，使用微元控制容积法得到三维非稳态导热微分方程的一般形式为

$$\rho c \frac{\partial t}{\partial \tau} = \frac{\partial}{\partial x} \left(\lambda \frac{\partial t}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(\lambda \frac{\partial t}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(\lambda \frac{\partial t}{\partial z} \right) + \dot{\Phi} \quad (5.1)$$

导热系数视为常数，在直角坐标系中二维非稳态有内热源导热方程由式 (5.1) 简化为

$$\frac{\partial t}{\partial \tau} = \frac{\lambda}{\rho c} \left(\frac{\partial^2 t}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 t}{\partial y^2} \right) + \frac{\dot{\Phi}}{\rho c} \quad (5.2)$$

对于图 5.1 所示的几何形状模型，图中填充的部分的导热体有内热源，物性为常数，且过程处于非稳态。发酵箱内发酵体与水管里面的水进行热交换，在此几何模型中就表现为中心圆管内部表面温度在横截面上保持 t_0 不变，而正方形外边界处于绝热。依次可以描述该问题的导热控制方程为：

$$\frac{\partial t}{\partial \tau} = \frac{\lambda}{\rho c} \left(\frac{\partial^2 t}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 t}{\partial y^2} \right) + \frac{\dot{\Phi}}{\rho c} \quad (5.3)$$

5.2 热物性参数及初始、边界条件

(1) 已知物性参数

在 3 章中, 已经测量得到相应的物性参数密度 $\rho = 1008.7 \text{ Kg/m}^3$ 、比热容 $c = 1.41 \text{ KJ/Kg} \cdot ^\circ\text{C}$ 。

(2) 导热系数。

因没有进行导热系数的测定, 发酵试样葡萄经查的成分是高分子有机物^[49]。参考文献^[50], 选取导热系数值为 $\lambda = 0.2141 \text{ W/m} \cdot ^\circ\text{C}$ 。

(3) 初始条件

几何模型图 5.2 中的发酵平面初始温度, 根据实际测量的控温条件下的温度数据选定为 23.45°C 。

(4) 边界条件

几何模型图 5.2 中, 圆弧段边界线的均匀稳定的温度值是 25°C 。其余四周, 由于包裹保温层, 边界处于绝热状态, 即在边界上没有热流通过, 温度的导数为零。

(5) 内热源载荷

在 4 章中, 通过测温数据拟合的非线性的内热源公式, 见 (4.18)。在数值计算中, 按照生热率的形式加载。

5.3 非线性热传导分析有限元法及求解算法

5.3.1 非线性热传导分析有限元法

工程应用中所遇到的很多热传导问题, 本质上都是非线性的。如边界条件为非线性的, 或者热传导方程有热源项是非线性的, 本文中非稳态的热传导微分方程是非线性的。根据能量守恒原理, 非线性非稳态热传导问题的有限元离散方程表述为下述非线性方程组公式^[51]

$$[C]\{T^{\dot{}}\} + [K]\{T\} = \{Q\} \quad (5.4)$$

式中: $[C]$ 为比热容矩阵;

$\{T^{\dot{}}\}$ 为温度对时间的导数;

$[K]$ 为导热系数矩阵;

$\{T\}$ 为节点温度向量;

$\{Q\}$ 为节点热流率向量, 包含热生成。

对热传导参数实验阶段已经测试过, 为已知值在此处不用离散。设结构平面剖分为若干个单元, 单元内的温度场 $T = T(x, y)$ 为

$$T = NT_e \quad (5.5)$$

其中, N 为形函数, T_e 为节点自由度。这些自由度包括节点温度, 也可能包

括温度的空间导数。温度梯度为

$$\{T_x, T_y\}^T = BT_e \quad (5.6)$$

$$\text{其中 } B = \left\{ \frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y} \right\}^T N。$$

5.3.2 求解算法

求解该非稳态热传导方程式方程组, 根据 5.2 节中给定的初、边界条件, 常用求解方法是逐步积分法。方程为(5.4)式, 其中 Q 为已知的热生成时间函数, 见(4.18)式。假定时间函数为 Δt , 时刻 t 的温度与时刻 $t + \Delta t$ 的温度 $T_{t+\Delta t}$ 有下述关系

$$T_{t+\Delta t} = T_t + \left\{ (1-\theta)T^* + \theta T_{t+\Delta t}^* \right\} \Delta t \quad (5.7)$$

其中 $\theta \in [0, 1]$ 为算法参数。由此导出的积分格式为

$$\left(\frac{1}{\Delta t} C + \theta K \right) T_{t+\Delta t} = \left(\frac{1}{\Delta t} C - (1-\theta)K \right) T_t + (1-\theta)R_t + \theta R_{t+\Delta t} \quad (5.8)$$

由 $t=0$ 时刻已知的 T_0 , 用上式算出 $T_{\Delta t}$, 然后由 $T_{\Delta t}$ 求得 $T_{t+\Delta t}$, 如此类推, 求得温度随时间的变化历程。时间步 Δt 长不改。上式中 $T_{t+\Delta t}$ 的系数矩阵只需约化一次。然后对方程反复求解, 以求出各时间点的温度值。在求解方程时也可以根据问题特点在不同时间段采用不同时间步长, 称为变步长计算, 但系数矩阵在每次步长改变后都要进行约化。

同样要对稳定性进行分析, 对于非线性热传导问题, 式(5.7)稳定极限如下

$$\Delta t_{cr} = \frac{2}{(1-2\theta)\mu_{\max}} \quad (5.9)$$

其中 $\mu_{\max}$ 为式(5.10)的最大特征值

$$(K - \mu C)T = 0 \quad (5.10)$$

常用的 θ 参数取值:

$\theta = 0.0$ 时, 为向前差分, 也称 Euler 法, 为显式有条件稳定。稳定条件为式(5.7)。

$\theta = 0.5$ 时, 为中心差分, 也称 Galerkin 法, 为隐式无条件稳定。

$\theta = 2/3$ 时, 为向后差分, 为隐式无条件稳定。

$\theta = 1.0$ 时, 为向后差分, 为隐式无条件稳定。

在网格足够密的情况下, 采用逐步积分法, 计算结果更精确, 一般方便采用迭代法计算。

5.3.2.1 直接迭代法

此非稳态问题有限元离散化的结果将得到下列形式的方程组^[52]

$$K(u)u = F \quad (5.11)$$

上式参数 u 代表未知函数的近似解。对于该线性方程组, 由于 K 依赖于未知数 u , 因而不可能直接求解, 一般采用迭代法、牛顿法等方法。

对于式 (5.11), 假设初始试探解为

$$u = u^0 \quad (5.12)$$

代入方程式 (5.11) 的 $K(u)$ 中, 可以求得第一次近似解

$$u^1 = (k^0)^{-1} F, \quad k^0 = K(u^0) \quad (5.13)$$

重复上述过程, 直到获得误差的某种范数小于规定的容许小量 ε , 即

$$\|e\| = \|u^i - u^{i-1}\| \ll \varepsilon \quad (5.14)$$

其中上标 i 为迭代次数。

直接迭代法的每次迭代需要计算和形成新的系数矩阵 $K(u^{i-1})$, 并对它进行求逆计算。在 $K(u)u - u$ 表示的函数是凸的情况下, 通常解是收敛的。

5.4 计算方法

本文采用大型通用有限元软件 ANSYS, 在处理热问题方面有强大的功能。进行热分析的原理是先将所处理的对象划分成有限个单元 (包含若干个点), 然后根据能量守恒原理求解一定边界条件和初始条件下每一节点的热平衡方程, 由此计算出各节点温度, 继而进一步求解出其他相关量。

本实验传热问题的瞬态热分析基本步骤如下:

- (1) 建立工作名和工作标题;
- (2) 定义单元类型;
- (3) 设置材料属性;
- (4) 创建几何模型;
- (5) 划分网格;
- (6) 加载负荷, 求解;
- (7) 查看结果。

5.4.1 网格生成

一个划分得很好的网格可以大大简化偏微分方程的求解。在某些情况下, 由于划分网格不合理, 使计算过程产生明显的不稳定性和缺乏收敛性。网格的划分是求解偏微分方程的核心问题之一。

根据求解区域的形状及实际问题的物理特点, 将区域剖分为若干相互连接、不重叠的单元, 从而得到有限元网格。由几何模型, 在 ANSYS 热分析单元类型库中, 选取 Quad 4node55 亦即 PLANE55 的二维实体平面单元。网格生成如图 5.3 所示。

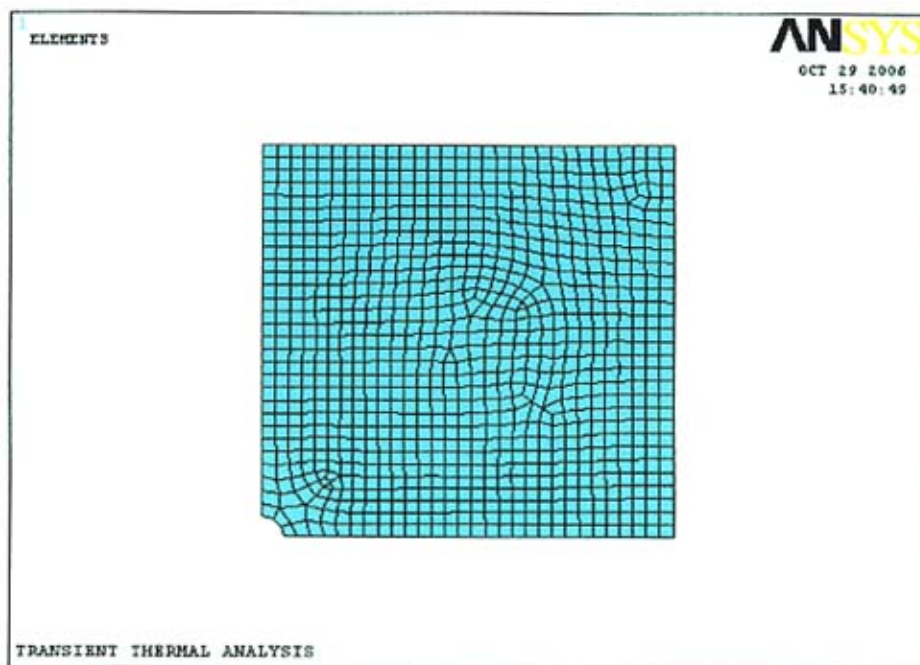


图 5.3 计算区域网格

Fig5.3 Meshes of the compute field

5.4.2 结果及分析

通过对非稳态有内热源的二维热导热问题的模拟，有如下非稳态的温度场分布结果。

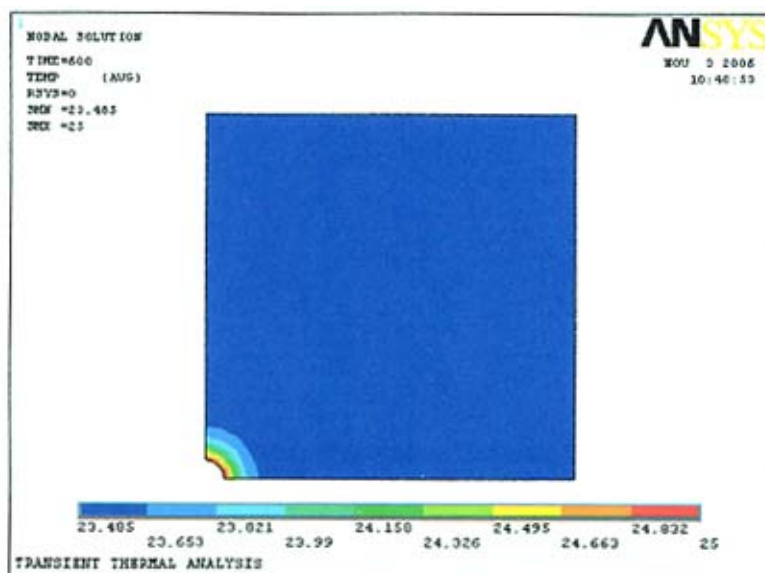


图 5.4 发酵在 600s 的温度分布图

Fig5.4 Temperature nephogram of fermentation at 600 second

图 5.4 表明发酵刚开始的时候, 发酵过程的温度受到控温管水的温度影响相当小, 靠近管壁有些影响, 在远离管的地方几乎没有影响。

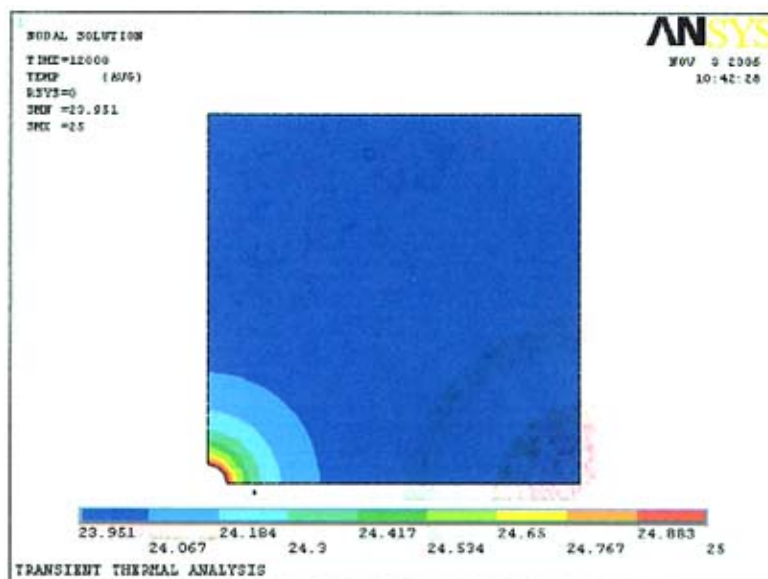


图 5.5 发酵在 12000s 的温度分布图

Fig5.5 Temperature nephogram of fermentation at 1200 second

图 5.5 表明, 随着时间的推移, 温度影响范围扩大, 同时发酵的内热源使温度有所增加。

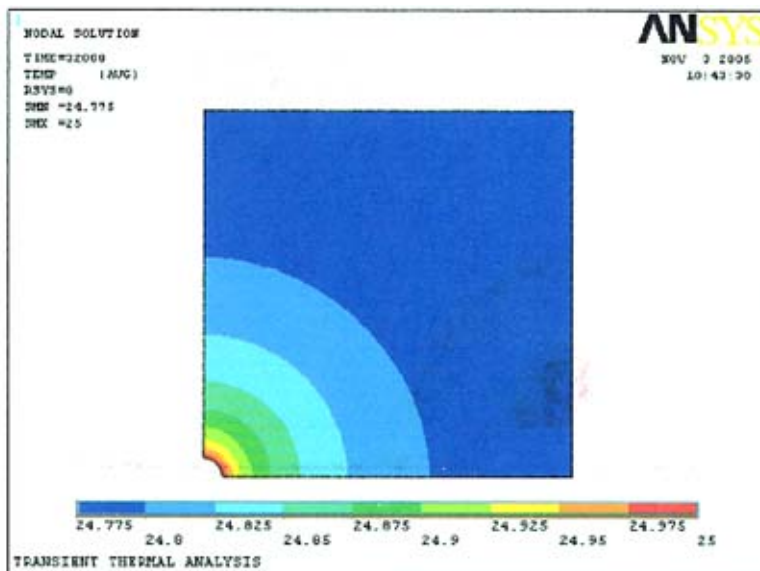


图 5.6 发酵在 32000s 的温度分布图

Fig5.6 Temperature nephogram of fermentation at 600 second

图 5.6 表明, 控温管水温影响范围进一步扩大, 同时发酵体温度因内热源进一步升高, 相比刚开始幅度较大。发酵面的温度差缩小。

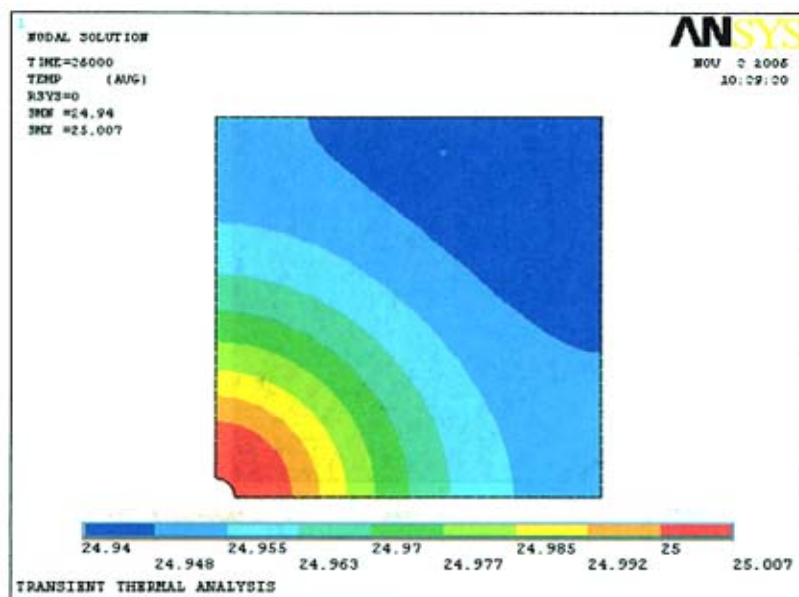


图 5.7 发酵在 36000s 的温度分布图

Fig5.7 Temperature nephogram of fermentation at 36000 second

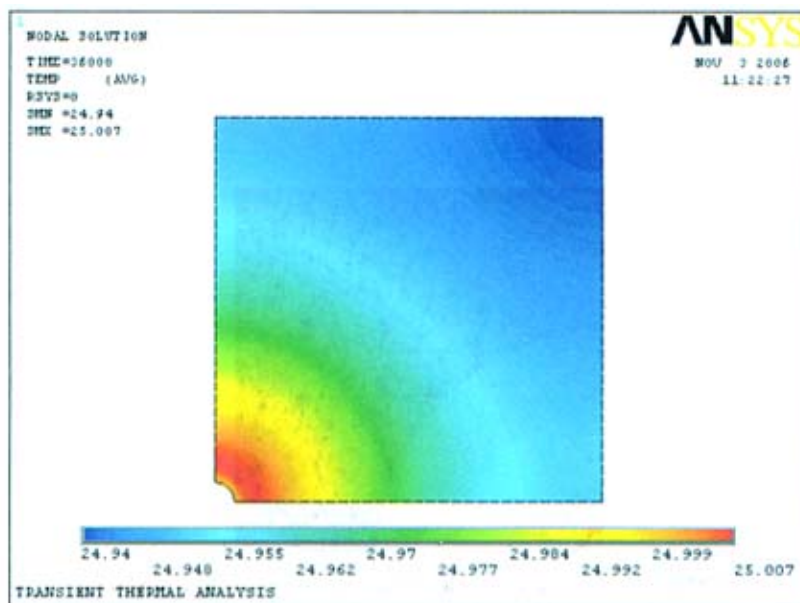


图 5.8 发酵在 36000s 的温度分布图

Fig5.8 Temperature nephogram of fermentation at 36000 second

图 5.7, 图 5.8 表明, 水温影响达到极至, 发酵面温度差距进一步缩小。从图

5.8 清晰看到整个温度的分布情况，两种温度相互影响分布情况，差距进一步缩小，甚至水管壁温都有细微影响。温度分布是处在一个转折阶段。

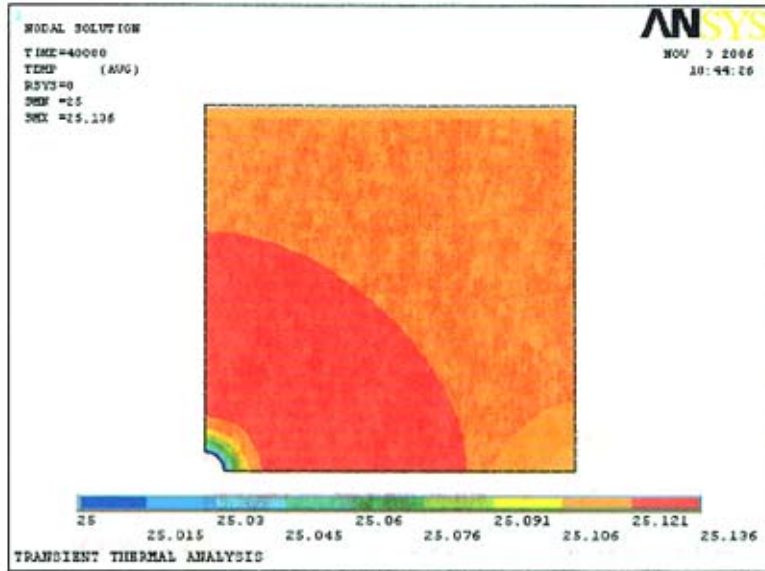


图 5.9 发酵在 40000s 的温度分布图

Fig5.9 Temperature nephogram of fermentation at 40000 second

图 5.9 表明，经过一个转折之后，温度值几乎相当。因为内热源作用和控温管水温影响，使得靠近控温管的相当大一部分的温度值最高，水管外壁温度最低，然而温差很小。

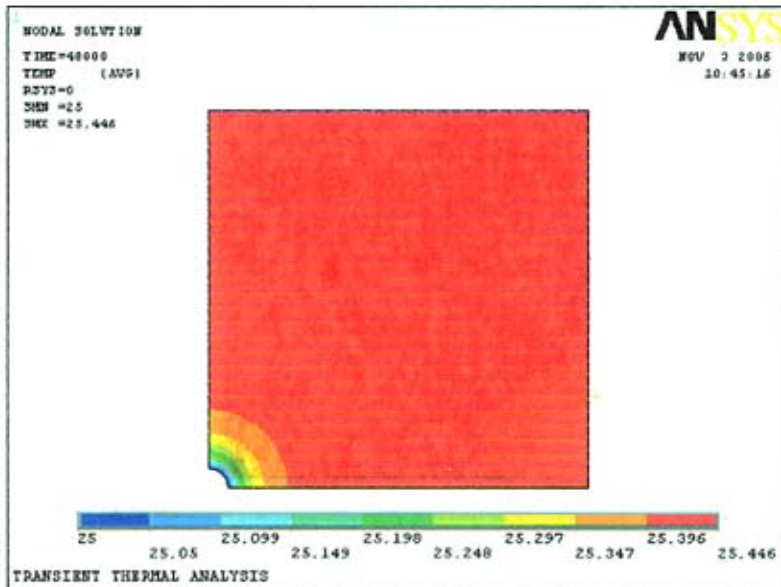


图 5.10 发酵在 48000s 的温度分布图

Fig5.10 Temperature nephogram of fermentation at 48000 second

图 5.10 表明，发酵进入一个相对稳定时期，温度分布影响较大，由于有控温管水温限制，整个发酵面温度值变化不大，达到控温的目的。

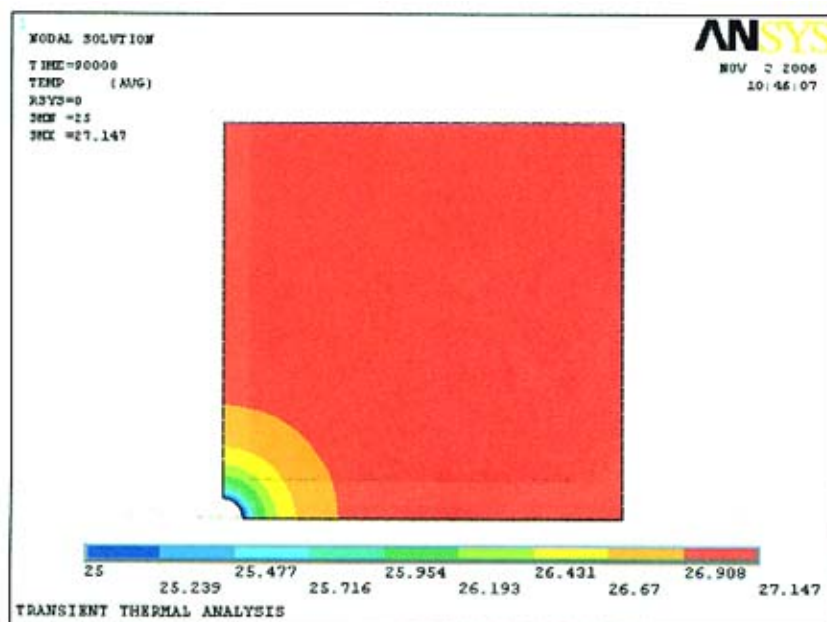


图 5.11 发酵在 90000s 的温度分布图

Fig5.11 Temperature nephogram of fermentation at 90000 second

图 5.11 表明，延续图 5.10 的温度分布势头，此时温度差距有所增加，但是大部分温度较在 48000s 时刻有一定上升，控温管仍对发酵面温度有干扰控制作用。

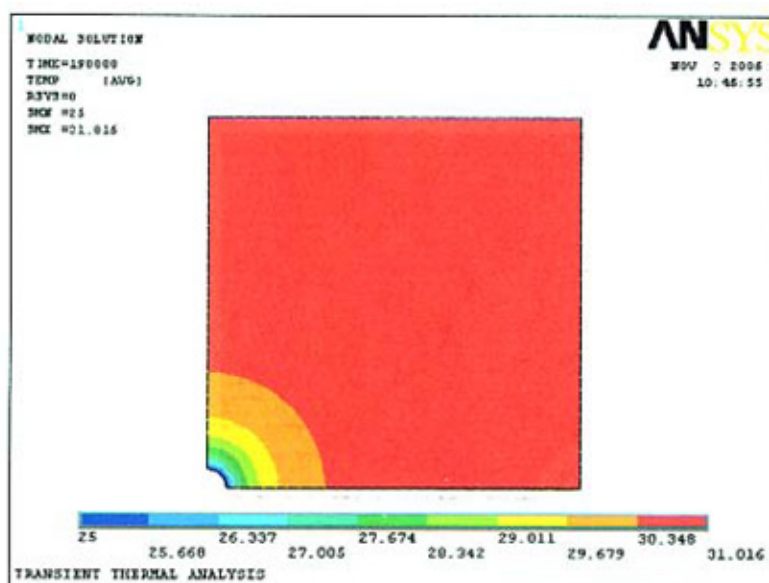


图 5.12 发酵在 190000s 的温度分布图

Fig5.12 Temperature nephogram of fermentation at 190000 second

图 5.12 表明，内热源的影响不是线性的，控温管附近的温度分布有明显变化，然总体温度在增加，温度值比较高。

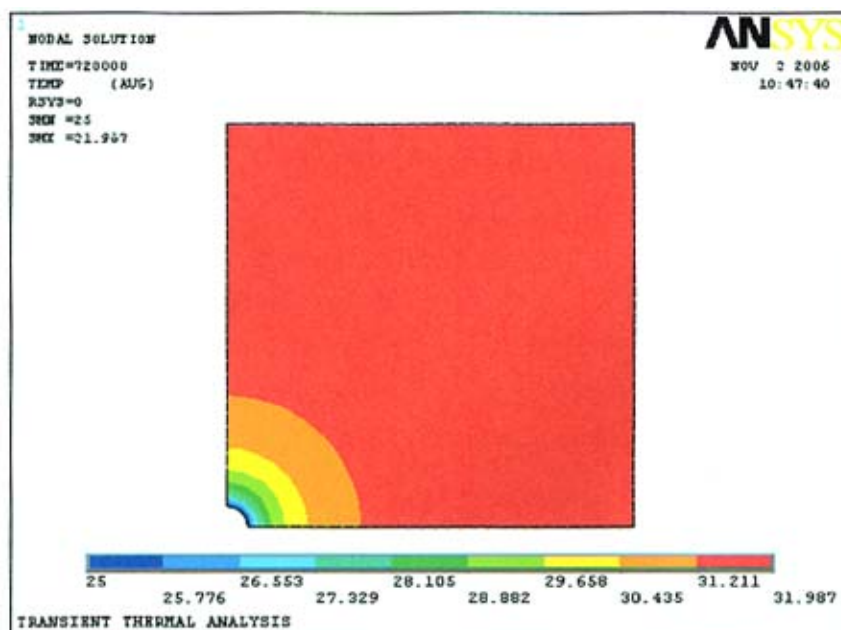


图 5.13 发酵在 720000s 的温度分布图

Fig5.13 Temperature nephogram of fermentation at 720000 second

图 5.13 表明，经过相当长的时间发酵过后，温度值几乎达到最高，温度差值也很大，发酵将要进入后期，因此，为了更好控制温度，需要及时调节控温管的温度设定值，达到更好的控制发酵过程的温度。

通过上面的各时刻的温度分布情况对发酵过程进行理论分析，更加清楚了发酵的过程。比较前面控温的温度范围几乎在 $25^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$ 之间，说明了，模拟结果正确，对以后的工作有参考意义。

5.5 小结

根据前面的理论分析，温度时间图线和内热源公式，对模型进行温度场模拟，得到相应的温度梯度。在大型工业化发酵中，提供了温度管网布置的理论参考。

总结本章内容有：

1. 简要认识并实地应用有限元方法进行模拟计算。
2. 得到发酵过程温度场在不同时间的模拟结果，显示了温度数据，能够看出温度梯度。更深入地了解了发酵过程的温度变化情况，对各时间的发酵情况进行了理论分析。

6 结论及建议、展望

6.1 结论

本文针对发酵的传热问题,结合国内外在发酵发生器方面的研究,参考了中国农科院重庆市柑桔研究所的专家的意见,在导师指点下,注意细节的同时完成了实验装置的搭建工作,从柑桔皮渣的发酵实验到葡萄的发酵实验过程,了解了发酵的步骤和注意事项,完成了自然发酵的温度数据测试和相关仪器的校正工作。在测定发酵生物物性参数的同时,学会了相关软件的应用调试。了解了发酵试样的相关特性,为在发酵过后的脱水,烘干等相关工艺做好前期理论准备。综合资源利用,从发热量的大小,来确定发酵后的产物的用途,如作燃料,饲料,肥料。由实验上升到理论,重点分析了在自然发酵过程中传热问题,以及温度对发酵的影响情况。通过回归模拟,得到关联的传热经验公式。控制温度有利于发酵过程进行,在控温条件下的温度场模拟,得到温度的分布情况,给工业应用,提供理论依据。

研究得到以下结论:

1. 设计的实验装置在发酵应用方面具有广泛性,可以作相关的发酵传热实验,如啤酒发酵等。
2. 生物物性测定结果显示,含水率比较高,发酵后柑桔皮渣含水率为80%。同时由于发酵试样的物态是粘糊状,介于固-液体之间,给离心脱水带来困难;烘干、研磨需要比较长的时间。
3. 发酵后的试样的发热量较高,根据发酵试样种类,可以确定其作燃料,饲料,肥料。如柑桔皮渣作饲料,浮萍作燃料均可。
4. 发酵过程中,通过采集的温度数据显示,温度随时间不断变化,在某一段时间内,温度值上升幅度很大,说明发酵反应是放热反应。
5. 温度时间图线能够说明发酵过程中有内热源产生。内热源时间关联经验公式见式(4.18)。
6. 控制发酵过程温度是促进发酵的有效途径。温度场数值模拟可以确证在大型工业应用当中,布置温度管网,达到发酵的过程控制。

6.2 进一步工作和建议

本文对传热问题作了一些相关实验和理论研究,由于时间,条件,能力的限制,还有待进一步的工作,在此实验和理论分析过程中,有一些自身体会和建议。针对本文的进一步工作和建议如下:

1. 发酵实验装置设计上最好能加上搅拌器, 实验前的准备要细致, 测试系统严格校正调试, 要做好保温工作。

2. 在发酵的程序方面要相当严格, 建议严格杀菌, 菌种的选配需要进一步研究。

3. 在葡萄试样发酵后, 该用橡木桶盛装葡萄酒, 对酒质有好处。

4. 控制过程温度时, 建议分段控制。数据测点越多越好, 测定结果的时间间隔尽量短。以后需要对如压力, PH 值等因素的在线测定。

5. 需要作过程控制程序设计, 以及控制器的研制方面的工作。

6. 传热分析工作以后还可以从微观方面分析传热机理如热量对微生物的代谢等方面影响, 由宏观走向微观。

7. 在发酵控温实验过程中, 可以多布置几根冷热水源管, 便于更好控制温度。

8. 建议数值模拟范围扩大, 或者改变边界条件。乃至模拟无限大平面或者进行三维模拟工作。

6.3 展望

结合国内外对发酵相关工作的研究现状和热学等学科在生物学方面的应用, 提出以下展望。

1. 今后中国将实现发酵产业的工业化, 对资源有效利用, 从现在食品工业到沼气应用得到验证。

2. 从传热方面研究发酵过程的工作会有更多更深地投入加大。利用传热传质方面的热学理论解决像发酵一样的生物问题会更多更广, 形成交叉学科。

3. 新技术在发酵工程中得到应用。发酵工程涉及生物学、物理学、化学、工程信息学等诸多学科领域, 任何在这些学科领域所取得的研究进展都有可能被应用到发酵工程并可能对发酵技术的进步和各学科的发展起到促进作用。

致 谢

本论文是在导师童明伟教授的悉心指导和关怀下完成的。在论文工作的各个方面，自始至终得到了导师的非常关键的指导和谆谆教诲。导师以渊博的知识，活跃的思维，以及平易近人和蔼可亲的心态给我学习的动力和生活的温暖。导师的，“在学术上，要大胆假设，小心证明”，的经典话语，相信会给我以后在学术工作上以很大的启迪。要说“我能”的胆识会给我工作生活的勇气，在此我衷心地感谢他！

本课题是重庆市科委项目，在此要感谢中国农科院重庆柑桔研究所的王老师和西南大学的李同学给予我的帮助和照顾。

在实验过程和理论分析当中，得到博士师兄刘彬的很多指点，还有陈胜立同学的在实验过程的协助，一起解决实验难点，合作很好，非常感谢！

感谢本实验室的严嘉师兄和师妹胡银平在数值模拟等方面的帮助。感谢原如冰师弟和张强、李先碧同学在生活上帮助照顾，和大家相处甚欢，感谢他们！

在测定物性过程中，胡建宏同学帮助不少，得到蒲老师，唐老师的指点，并向他们表示谢意！

最后谨以此文谢谢给予帮助的老师、同学、朋友。

徐永松

二〇〇六年十月 于重庆大学

参 考 文 献

- [1] Humphery A. Shake flask to fermentor: what have we learned? *Biotechnol Prog*, 1998, 14: 3-7
- [2] 饶本强、陈坤. 现代生物技术在食品开发中的应用[J]. *生物学教学*, 2005, 30 (6): 5-6
- [3] 周斌. 21 世纪生物医药的发展[J]. *中国药业*, 2004, 13 (6): 3-4
- [4] 叶新喈等. 生物质燃料[J]. *生物学杂志*, 2004, 21 (2): 14-18
- [5] 张克旭, 陈宁等. 代谢控制发酵. 北京: 中国轻工业出版社, 1998
- [6] Zhang J, Greasham R. Chemically defined media for commercial fermentations. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, 51: 407-421
- [7] Aiba S, Humphrey A E, Millis O. *Biochemical Engineering*. 2nd ed. Tokyo: uiniversity of Tokyo Press, 1973. 128-132
- [8] Voisard D, Pugeaud P, Kumar A R, et al. Development of a large-scale biocalorimeter to monitor and control bioprocesses. *Biotechnol Bioeng*, 2002, 80: 125-138
- [9] Parekh S. V A, Strobel R J. Improvement of microbial strain and fermentation processes. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2000, 54: 287-301
- [10] Soltero F V, Johnson M J. Continous addition of glucose for evaluation of penicillin-producing cultures. *Appl Microbiol*, 1954, 2: 41-44
- [11] Erickson L E, Minkevich I G, Eroshin VK. Application of mass and energy balance regularities in fermentation. *Biotechnol Bioeng*, 1978, 20: 1595-1621
- [12] 孙天松. 发酵过程中微生物代谢的限制因素[J]. *中国调味品*, 1994, 10: 2-6
- [13] 陈敏, 王静馨. 发酵工艺条件的多目标化[J]. *生物技术*, 1995, 5 (4): 37-39
- [14] Bailey J E. Mathematical modeling and analysis in biochemical engineering: past accomplishments and future opportunities. *Biotechnol Prog*, 1998, 14: 8-20
- [15] Verhoff F H, Spradin F E. Mass and energy balance analysis of metabolic pathways applied to citric acid production by *Aspergillus niger*. *Biotechnol Bioeng*, 1976, 18: 425-432
- [16] 张明光. 柠檬酸发酵温度控制方法研究及其实现. *计算机测量与控制*, 2003, 11 (11): 856-859
- [17] Papoutdakias E T. Equations and calculations for fermentations of butyric acid bacteria. *Biotechnol Bioeng*, 1984, 26: 174-187
- [18] Domach M M, Leung S K, Cahn R E, et al. Computer model for glucose-limited growth of a single cell of *Escherichia coli* B/r-A. *Biotechnol Bioeng*, 1980, 26: 203-216
- [19] Vallino J J, Stephanopoulos G. Metabolic flux distribution in *Corynebacterium glutamicum* during growth and lysine overproduction. *Biotechnol Bioeng*, 1993, 41: 633-646

- [20] Whitehead N A, Barnard A M L, Slater H, et al. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 2001, 25: 365-404
- [21] Delisa M p, Valdes J J, Bentley W E. Quorum signaling via AI-2 communicates the "metabolic burden" associated with heterologous protein production in *Escherichia coli*. *Biotechnol Bioeng*, 2001, 75: 439-450
- [22] Stephanopoulos G, Konstantinov K, Sauer U, et al. Fermentation data annlysis and control. In: Rehm, H, J. *Biotechnology: Bioprocessing*, 1993, 3; 359-400
- [23] 杜晨宇, 李春, 张木, 曹竹安. 工业催化过程的发展及其展望. *化工学报*, 2003, 54 (4): 456-463
- [24] 周斌. 21 世纪生物医药的发展[J]. *中国药业*, 2004, 13 (6): 3-4
- [25] 胡世清. 生物技术在医药领域的应用[J]. *生命科学仪器*, 2003, 6: 27-31
- [26] 曾庆文. 中药发酵的研究进展[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2005, 26 (5): 545-547
- [27] 史先振. 现代发酵工程技术在食品领域的应用研究进展[J]. *中国酿造*, 2005, 12: 1-4
- [28] 姬德衡, 钱方, 牟光庆. 生物技术在保健食品开发中的应用综述[J]. *大连轻工业学院学报*, 2005, 23 (3): 186-189
- [29] 叶勤. 发酵过程原理[M]. 化学工业出版社, 2005
- [30] 邱江, 叶勤, 张嗣良. 红外光谱技术在生物过程检测中的应用. *生物工程学报*, 1998, 14: 1-5
- [31] Cheruy A. software sensors in bioprocess engineering. *J Biotechnol*, 1997, 52: 19-199
- [32] Mishima K, Mimura A, Takahara Y, et al. On-line monitoring of cell concentrations by dielectric measurements. *J Fermen Bioeng*, 1991, 72: 291-295
- [33] 彭德华. 葡萄酒酿造技术概论. 北京: 中国轻工业出版社, 1995
- [34] 奚惠萍. 中国果酒. 北京: 中国轻工业出版社, 1995
- [35] 李功祥. 葡萄酒酒发酵最适宜温度控制过程的模拟研究. *广州化工*, 2000, 28 (4): 9-11
- [36] 王斌, 王孙安. 生物发酵过程的温度控制模型研究. *西安交通大学学报*, 2004, 38 (7): 737-740
- [37] 孙方勋. 世界葡萄酒和蒸馏酒知识. 北京: 中国轻工业出版社, 1995
- [38] 中国科学院上海药物研究所植物室. 黄酮体化合物鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1981.48
- [39] 叶强. 广西多米源药材及混乱品种调查用考证[M]. 南宁: 广西科技出版社, 1989.257
- [40] 孙秉华. 江苏中医. 北京: 科学出版社, 1962, 4: 38
- [41] 陈坚, 堵国成等. 微生物重要代谢产物. 北京: 化学工业出版社. 2005
- [42] 戚以政. 影响固态发酵速率的因素及其动力学[J]. 1995, 11 (1): 18-24
- [43] 李季轮, 张伟心等. 微生物生理学. 北京: 北京农业大学出版社, 1993

- [44] 陈坚, 李寅. 发酵过程优化原理与实践. 北京: 化学工业出版社, 2002
- [45] Zhu, Sheng-Dong, Tong, Hai-Bao, Chen, Da-Chang, Xie, De-Cheng. Xanthan fermentation process via two-stage temperature control. *Shiyou Huagong Gaodeng Xuexiao Xuebao/Journal of Petrochemical Universities*, v 18, n 4, November, 2005, p 24-26
- [46] 杨大地, 涂光裕. 数值分析. 重庆: 重庆大学出版社, 2003
- [47] 关治, 陈景良. 数值计算方法. 北京: 清华大学出版社, 1990
- [48] 杨世铭. 传热学. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 1998.25-31
- [49] 乔宾福等. 实用微生物技术. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1994
- [50] 刘静, 王存诚. 生物传热学[M]. 北京: 科学出版社, 1997
- [51] 朱伯芳. 有限单元法原理与应用. 北京: 中国水利水电出版社, 1998
- [52] 张洪武, 关振群等. 有限元分析与 CAE 技术基础. 清华大学出版社, 2004

附录： 作者在攻读硕士期间发表的论文目录

- [1] 徐永松, 董明伟. 新型蓄冷工质气体水合物研究现状及其应用. 制冷与空调, 已录用