

# 谷氨酸温度敏感突变株发酵过程中丙氨酸浓度 近红外模型的建立

桂勇利<sup>1</sup>, 梁静波<sup>1</sup>, 张成林<sup>1</sup>, 马雷<sup>2</sup>, 谢希贤<sup>1</sup>, 徐庆阳<sup>1</sup>, 陈宁<sup>1</sup>

(1. 天津科技大学生物工程学院, 代谢控制发酵技术国家地方联合工程实验室, 天津 300457)

(2. 天津科技大学电子信息与自动化学院, 天津 300457)

**摘要:** 丙氨酸是谷氨酸发酵过程中的副产物之一, 对谷氨酸产量及转化率有显著影响, 因此及时准确监测丙氨酸浓度变化对谷氨酸发酵过程控制有重要意义。为实现谷氨酸发酵过程中丙氨酸浓度的快速检测, 采用近红外光谱技术结合偏最小二乘的方法, 通过不同光谱预处理和波长范围, 建立并优化谷氨酸温度敏感突变株强制发酵过程中丙氨酸浓度预测模型。优化后的模型交叉验证误差均方根、决定系数和剩余预测偏差分别为 0.21 g/L、0.97 和 5.55。以谷氨酸温度敏感突变株强制发酵作为外部检验进一步验证模型的准确性和可靠性, 并将预测值与实际值进行对比, 经分析其决定系数和平均相对误差分别为 0.97 和 5.83%, 表明该模型具有很好的预测能力。本文所建预测模型能够准确快速地对发酵过程中丙氨酸进行预测, 可为谷氨酸温度敏感突变株强制发酵过程的实时控制及其优化提供理论基础和借鉴。

**关键词:** 近红外; 丙氨酸; 发酵过程

文章编号: 1673-9078(2015)8-159-164

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.026

## Monitoring Alanine Concentration During the Temperature Triggered Glutamate Fermentation by Near-infrared Spectroscopy

GUI Yong-li<sup>1</sup>, LIANG Jing-bo<sup>1</sup>, ZHANG Cheng-lin<sup>1</sup>, MA Lei<sup>2</sup>, XIE Xi-xian<sup>1</sup>, XU Qing-yang<sup>1</sup>, CHEN Ning<sup>1</sup>

(1. College of Biotechnology of Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)(2. College of Electronic Information and Automation of Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Alanine is one of main by-products produced during process of glutamate fermentation. High concentration of alanine significantly affects glutamate production and yield, so accurately and rapidly monitoring alanine concentration is rather important for controlling fermentation process. In this study, to realize the rapid detection of alanine during glutamate fermentation, the calibration models for monitoring concentrations of alanine in the temperature-triggered glutamate fermentation process were developed by the near infrared (NIR). The NIR measurements of samples were analyzed by partial least-squares (PLS) regression with selecting spectral pre-processing methods and different wavelength. The root-mean square error of cross-validation (RMSECV), determination coefficient ( $R^2$ ) and residual predictive deviation (RPD) of the model was 0.21 g/L, 0.97 and 5.55, respectively, indicating that the model had good predictive ability. New batch fermentations as external validation were used to check the model. Compared with concentrations of predict value and measured value, the determination coefficient and average relative error of the model was 0.97 and 5.83%, respectively. These results showed that prediction model could accurately and quickly predict and monitor alanine concentration during the temperature-triggered glutamate fermentation process, and the study could provide theoretical basis for the real-time control and optimization of the temperature-triggered glutamate fermentation.

**Key words:** near infrared; alanine; fermentation process

发酵过程是一个复杂的动态过程, 其变量较多且变化速率较快。因此实时监测发酵过程中主要物质浓

收稿日期: 2014-11-03

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (2013AA102106); 天津市应用基础与前沿技术研究计划 (14JCYBJC23500)

作者简介: 桂勇利 (1974-), 男, 博士研究生, 研究方向为代谢控制发酵

通讯作者: 陈宁 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向为代谢工程

度变化, 对其过程控制及优化具有重大意义。丙氨酸是谷氨酸发酵过程中的主要副产物之一, 其生成量与溶氧量具有一定相关性, 丙氨酸浓度过高会抑制菌体生物量并导致谷氨酸产量和糖酸转化率下降, 从而提高其生产成本<sup>[1]</sup>。目前传统的丙氨酸浓度分析方法比较耗时, 获得数据速度往往具有一定的滞后性, 因此不能对发酵过程进行实时分析并指导生产<sup>[2]</sup>。

近红外光谱技术(Near Infrared Spectroscopy)具有分析速度快、准确率高的优点<sup>[3-4]</sup>,已被广泛应用于医药、食品、石油化工等领域<sup>[5-7]</sup>。将该技术应用于检测发酵过程中主要物质浓度,对实时控制并优化发酵过程具有重要的指导意义。Gonzalez-Saiz 等<sup>[8]</sup>采用近红外光谱结合迭代预测加权-最小偏二乘法建立预测模型对食醋生产过程中的乙醇、乙酸及菌体生物量浓度进行预测,所构建的乙醇和乙酸预测模型平均误差均低于 2.5%,菌体生物量浓度预测误差为 6.1%。Guo 等<sup>[9]</sup>在乳酸链球菌素发酵过程中采用近红外光谱学结合蒙特卡洛偏最小二乘法对乳酸链球菌素和葡萄糖浓度及菌体生物量和 pH 四个关键因素建立多元校正模型,决定系数  $R^2$  分别为 0.83、0.90、0.99 和 0.96。Sakhamuri<sup>[10]</sup>等在乳酸发酵过程中采用近红外光谱技术建立菌体生物量、葡萄糖和乳酸浓度预测模型,得到预测误差均方根(Root Mean Square Error of Prediction, RMSEP)分别为 0.23、0.7 g/L 和 2.5 g/L。

为实现谷氨酸温度敏感突变株强制发酵过程中丙氨酸浓度的快速检测,本文采用近红外光谱结合偏最小二乘法建立校正模型并以谷氨酸温度敏感突变株强制发酵进行外部检验。结果表明,所建模型的交叉验证误差均方根、决定系数和剩余预测偏差分别为 0.21 g/L、0.97 和 5.55;预测值与实际值对比分析后其决定系数和平均相对误差分别为 0.97 和 5.83%,说明该模型具有很高的准确性和可靠性。本文可为发酵过程中产物和底物浓度的快速检测提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器

近红外分析仪 Tensor 37,德国布鲁克光谱仪器公司;近红外分析软件 OPUS 7.0,德国布鲁克光谱仪器公司;SBA-40C 生物传感仪,山东省科学院生物研究所。

### 1.2 菌种

谷氨酸温度敏感突变株 *Corynebacterium glutamicum* TCCC11822,由本实验室保藏。

### 1.3 培养基及发酵条件

固体斜面培养基:葡萄糖 1 g/L,牛肉膏 10 g/L,蛋白胨 10 g/L,NaCl 25 g/L,琼脂 20 g/L,pH 7.0~7.2,121 °C,20 min<sup>[11]</sup>。

种子培养基:葡萄糖 30 g/L,玉米浆 40 mL/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>3</sub> 1 g/L,MgSO<sub>4</sub> 0.5 g/L,MnSO<sub>4</sub> 2.5 mg,FeSO<sub>4</sub>

5 mg/L,甲硫氨酸 0.5 g/L,VH0.3 mg/L,VB<sub>1</sub> 0.3 mg/L,尿素 0.05 g/L,pH 7.0~7.2,115 °C,15 min<sup>[11]</sup>。

发酵培养基:糖蜜 20 mL/L,玉米浆 20 mL/L,葡萄糖 30 g/L,豆饼水解液 15 mL/L,MnSO<sub>4</sub> 30 mg/L,MgSO<sub>4</sub> 2 g/L,K<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub> 30 mg/L,FeSO<sub>4</sub> 20 mg/L,VH0.3 mg/L,VB0.3 mg/L,pH 7.0~7.2,115 °C,15 min<sup>[11]</sup>。

种子培养:接 1 环生长良好的斜面菌种于装有 100 mL 液体种子培养基的 1000 mL 摇瓶中,于 33 °C,200 r/min 条件下振荡培养 14 h<sup>[11]</sup>。

发酵培养:以 20% 接种量将种子培养物接入装有 3 L 发酵培养基的 5 L 发酵罐中,起始发酵温度为 33 °C,当  $\Delta OD_{600}$  为 8 时将提高温度至 39 °C,以 25% 氨水控制 pH 7.0,通过调节通风量、罐压和搅拌桨转速对溶氧进行分段控制即菌体生长期和产酸期溶氧分别控制在 20% 和 10%,发酵培养 26 h<sup>[12]</sup>。

### 1.4 发酵液中丙氨酸浓度的测定

采用高效液相分析系统测定丙氨酸浓度。色谱分离条件:Agilent C<sub>18</sub> (15 mm×4.6 mm, 3.5  $\mu$ m), 2, 4-二硝基氟苯柱前衍生测定,乙腈与醋酸钠溶液进行梯度洗脱,柱温 33 °C,流动相流量 1 mL/min,检测波长为 360 nm<sup>[13]</sup>。

### 1.5 发酵液中丙氨酸浓度近红外模型的建立

#### 1.5.1 取样

在过程中,每隔 1 h 收集样品,用于扫描近红外光谱以及测定发酵液中丙氨酸浓度。

#### 1.5.2 近红外光谱扫描

吸取 0.5 mL 发酵液至 2 mm 比色杯中,用近红外分析仪 Tensor 37 于 25 °C 条件下在波长 833~2500 nm 处扫描样品,采集样品原始近红外光谱(以空气作为参比,分辨率为 8.0 cm<sup>-1</sup>,扫描次数为 32 次)。

#### 1.5.3 近红外光谱前处理

采用近红外分析软件 OPUS 7.0 对原始近红外光谱前处理优化。光谱前处理包括一阶导数(First derivative, 1<sup>st</sup>)、二阶导数(Second derivative, 2<sup>nd</sup>)、矢量归一化(Vector Normalization, SNV)、多元散射校正(Multiplicative scatter correction, MSC)、最小-最大归一化(Min-max normalization)、减去一条直线(Straight line subtraction)、1<sup>st</sup>+SNV、1<sup>st</sup>+MSC 和 1<sup>st</sup>+减去一条直线<sup>[14]</sup>。平滑点数设定为 13。

#### 1.5.4 近红外校正模型的建立<sup>[11]</sup>

采用近红外光谱与偏最小二乘(Partial Least-squares, PLS)相结合的方法建立多元校正模型。多元校正模型建立过程中应用交叉检验(Cross-

validation) 的方法。利用近红外分析软件 OPUS 7.0 将样品随机地、均匀地按 4:1 的比例分为模型校正集和外部检验集, 分别用于校正模型的建立和模型的外部检验。

采用近红外分析 OPUS 7.0 软件对样品的原始光谱对不同处理条件进行自动优化。获得模型各项参数: 校正均方根 (Root Mean Square Error of Calibration, RMSEC)、交叉验证均方根 (Root Mean Square Error of Cross Validation, RMSECV)、RMSEP、维数或主因子数 (Latent variables, LV)、剩余预测偏差 (Residual predictive deviation, RPD)、决定系数 (Coefficient of determination, R<sup>2</sup>) 等。其中依据 RMSECV 最小值作为确定维数的指标并确定最优校正模型, 其值越小校正模型越精确; RMSEP 则作为模型外部检验的指标用于预测模型的验证, 表示真实值与预测值之间的相近程度, 数值越小其预测能力越高; 而 RPD 作为验证模型准确性和可靠性的重要指标, RPD 值越大说明模型越好; R<sup>2</sup> 表示实际值和预测值之间的关系, 其值越接近 1 证明模型拟合度越好。RMSEC、RMSECV、RMSEP、RPD 和 R<sup>2</sup> 计算方法见公式 (1)、(2) 和 (3):

$$RMSEC \text{ 或 } RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_c} (X_{ci} - \bar{X}_{ci})^2}{n_p}} \quad (1)$$

其中式 1 中  $\bar{X}_{ci}$  和  $X_{ci}$  分别表示模型校正集中预测值和实际值。

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_p} (X_{pi} - \bar{X}_{pi})^2}{n_p}} \quad (2)$$

注: 式 2 中  $X_{pi}$  和  $\bar{X}_{pi}$  分别表示外部验证集中预测值和实际值

$$RPD = \frac{SD}{RMSECV} \text{ 或 } \frac{SD}{RMSEP} \quad (3)$$

注: 式 3 中 SD、RMSECV 和 RMSEP 分别表示标准差、交叉验证均方根和预测误差均方根

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n_p} (X_{ci} - \bar{X}_{cm})^2}{\sum_{i=1}^{n_p} (X_{ci} - \bar{X}_{cm})^2} \text{ 或 } 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n_p} (X_{pi} - \bar{X}_{pm})^2}{\sum_{i=1}^{n_p} (X_{pi} - \bar{X}_{pm})^2} \quad (4)$$

注: 式 4 中  $\bar{X}_{cm}$  和  $\bar{X}_{pm}$  分别表示校正集和检验集中实际值的平均数

## 2 结果与讨论

### 2.1 发酵液样品原始近红外光谱分析

采用近红外分析仪 Tensor 37 对 121 个发酵液样品进行扫描, 其中 0 h、10 h 和 20 h 原始光谱如图 1 所示。发酵液样品在 1000~1800 nm 和 2100~2400 nm 范围内光谱较为平整且稳定, 能够充分体现样品间差异, 有利于提取光谱和浓度相关性的有效信息, 其中特征峰 O-H 的一级倍频 1450 nm 也包含在 1000~1800 nm 波段范围内。虽然 1900~2050 nm 之间和 2400~2500 nm 之间也有吸收峰, 但该峰不稳定且无明显规律, 有效信息提取困难, 特征光谱变量也难以利用, 故不适合建立校正模型。因此在 1000~1800 nm 范围内建立校正模型, 同时可将 2100~2400 nm 范围用于校正模型的补充和优化<sup>[8-9]</sup>。

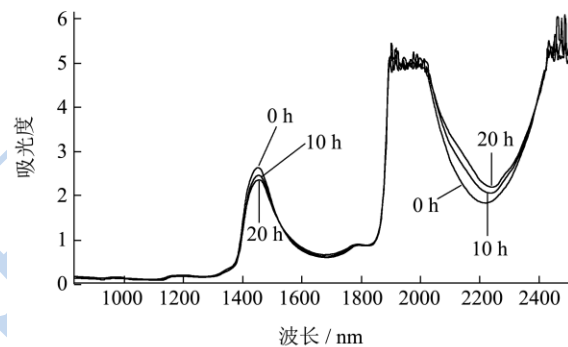


图 1 谷氨酸发酵液近红外原始光谱

Fig.1 NIR spectra of samples taken from glutamate fermentation broth

### 2.2 丙氨酸浓度近红外模型的建立

#### 2.2.1 样品的划分

表 1 发酵液中丙氨酸浓度参数

Table 1 Parameters of alanine concentration in the fermentation broth

样品分类	样品数	浓度范围 / (g/L)	平均值 / (g/L)	标准差 / (g/L)
模型校正集	131	0.58~5.66	3.30	1.16
外部检验集	33	0.66~5.50	2.28	1.29

校正集和检验集的浓度范围、平均数和标准差对于评价校正模型的可靠性和准确性具有重要意义。通常情况下, 检验集浓度范围应在校正集范围内, 以避免超过校正模型预测范围。同时平均数和标准差差别不应过大, 以保证所选样品分类是均匀分布的并具有代表性<sup>[15]</sup>。采用近红外分析软件 OPUS 7.0 将 164 个样品分为校正集和检验集 (表 1), 其平均值分别为 3.30 g/L 和 2.28 g/L, 浓度范围分别为 0.58 g/L~5.66 g/L 和 0.66 g/L~5.50 g/L, 标准差分别为 1.16 g/L 和 1.29

g/L。由此可见,该校正集和检验集可以用于建立和验证发酵液中丙氨酸浓度校正模型。

### 2.2.2 丙氨酸浓度近红外模型的建立

应用近红外分析软件 OPUS 7.0,采用全波长和不同光谱预处理的方法建立谷氨酸发酵液中丙氨酸浓度 PLS 校正模型并对其进行优化,所得各模型参数结果如表 2 所示。作为评介模型的重要指标, RMSECV 值越小说明所建模型的预测能力越强。对所建模型 RMSECV 值分析可知, 1<sup>st</sup>+SNV 作为预处理(模型 9, RMSECV=0.29 g/L) 优于其他预处理,但其决定系数 R<sup>2</sup> 较低(0.91), 暗示该模型效果不够理想,因此可在光谱预处理为 1<sup>st</sup>+SNV 条件下,选择不同波数范围进一步优化丙氨酸浓度校正模型。

表 2 不同光谱预处理条件下的丙氨酸浓度最优模型

Table 2 The optimal model of alanine concentration under different spectral pretreatment

模型序号	光谱预处理	波长范围 /nm	RMSECV /(g/L)	RPD	决定系数 (R <sup>2</sup> )
1	无	1000~1800	0.31	3.77	0.93
2	减一条直线	1000~1800	0.35	3.28	0.92
3	SNV	1000~1800	0.30	3.95	0.94
4	最大最小归一化	1000~1800	0.32	3.94	0.94
5	MSC	1000~1800	0.31	3.80	0.93
6	1 <sup>st</sup>	1000~1800	0.30	3.84	0.93
7	2 <sup>nd</sup>	1000~1800	0.30	3.82	0.92
8	1 <sup>st</sup> +减一条直线	1000~1800	0.31	3.56	0.90
9	1 <sup>st</sup> +SNV	1000~1800	0.29	3.97	0.91
10	1 <sup>st</sup> +MSC	1000~1800	0.32	3.65	0.92

表 3 不同波长范围下的丙氨酸浓度最优模型

Table 3 Optimal model of alanine concentration under different wave band

模型序号	波长范围 /nm	RMSECV (g/L)	RPD	决定系数 (R <sup>2</sup> )
11	1000~1600	0.27	4.29	0.95
12	1000~1600+2100~2400	0.23	4.92	0.96
13	1000~1800	0.24	4.83	0.96
14	1000~1800+2100~2400	0.23	4.92	0.96
15	1200~1600	0.24	4.69	0.96
16	1200~1600+2100~2400	0.23	4.89	0.96
17	1200~1800	0.26	4.37	0.95
18	1200~1800+2100~2400	0.21	5.47	0.97
19	1400~1600	0.26	4.39	0.96
20	1400~1600+2100~2400	0.21	5.55	0.97
21	1400~1800	0.27	4.16	0.94
22	1400~1800+2100~2400	0.21	5.55	0.97

为进一步优化模型,在预处理为 1<sup>st</sup>+SNV 条件下分别选取在 1000~18000 nm 范围内不同波段以及与 2100~2400 nm 组合进行模型优化。结果见表 3 所示,与 2100~2400 nm 共同组合的模型 RMSECV 小于单一波段所建模型,说明添加 2100~2300 nm 波段可能补充光谱所包含的信息量有利于模型优化。模型 20 与 22 得到结果相同 RMSECV 为 0.21 g/L 且均低于其他模型,其决定系数为 0.97,可作为优化后的丙氨酸校正模型,但模型 22 波长范围要比模型 20 波长范围宽,包含更多的样品光谱信息,因此确定模型 22 作为丙氨酸校正模型。

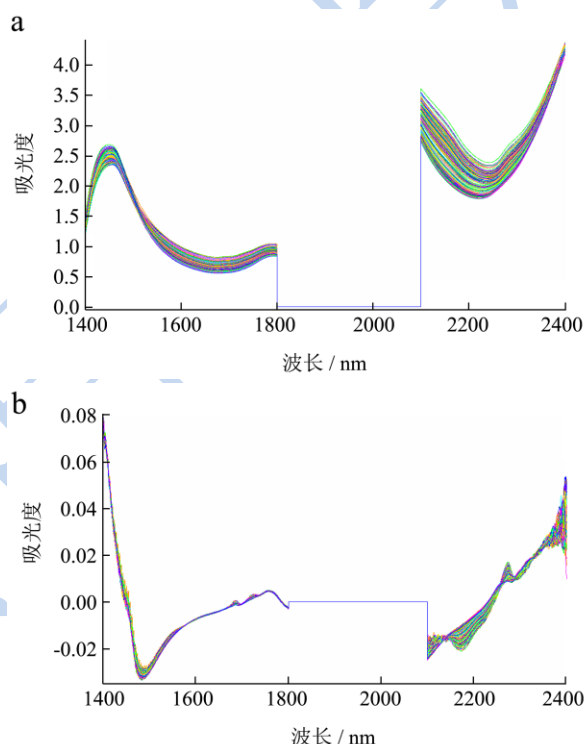


图 2 1400~1800 nm+2100~2400 nm 丙氨酸浓度校正模型原始光谱 (a)和预处理光谱 (b)

Fig.2 The original spectra (a) and pre-processing spectra (b) of of alanine concentration calibration mode between 1400-1800 nm+2100-2400 nm

优化后的丙氨酸校正模型中 1400~1800 nm 和 2100~2400 nm 范围内 1<sup>st</sup>+SNV 预处理光谱如图 2 所示。校正模型中维数的确定是依据 RMSECV 最小值来确定的。维数的多少对模型的稳定性有较大影响。维数过多,则测量噪音加大,导致模型出现过拟合现象;反之则使光谱信息分析不全面,导致模型预测能力降低。维数与 RMSECV 的关系如图 3 所示, RMSECV 随主因子数增加而急剧下降,当主因子数为 3 时 RMSECV 值达到最小为 0.21 g/L,当主因子数大于 3 时 RMSECV 值开始上升,因此维数确定为 3。丙氨酸浓度校正模型中校正集和检验集中丙氨酸浓度实

际值与预测值的关系如表 4 和图 4 所示。其中 RMSECV 和 RMSEP 分别为 0.21 g/L 和 0.24 g/L, 拟合方程分别为  $y=0.97x+0.05$  和  $y=0.90x+0.24$ 。作为检验模型能力的重要指标, RPD 值大于 5 时证明模型具有较好的预测能力<sup>[15-16]</sup>, 而本模型的 RPD 值分别为 5.55 和 5.26。表明优化后的丙氨酸浓度校正模型具有很好的预测能力。

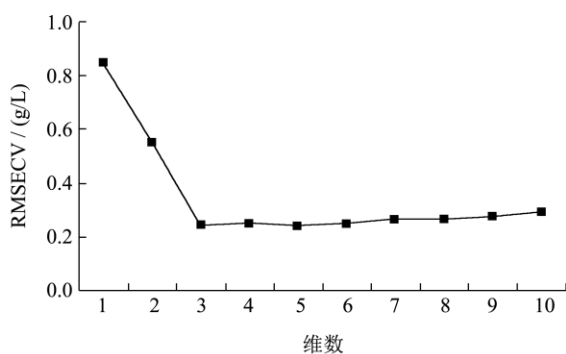


图 3 RMSECV 与维数的关系

Fig.3 RMSECV versus the numbers of latent variables

表 4 丙氨酸浓度 PLS 校正模型参数

Table 4 Parameters of the PLS calibration models of alanine concentration

	concentration	
	模型校正集	外部检验集
维数	3	
波长范围	1400-1800 nm+2100-2400 nm	
光谱预处理	1 <sup>st</sup> +SNV	
RMSEC	0.21 g/L	-
RMSECV	0.21 g/L	-
RMSEP	-	0.24 g/L
拟合方程	$y=0.97x+0.05$	$y=0.90x+0.24$
决定系数	0.97	0.96
偏移量	0.08	0.09
RPD	5.55	5.26

### 2.3 谷氨酸温度敏感突变株发酵过程中谷氨酸浓度预测

为进一步验证谷氨酸温度敏感突变株发酵过程中所建立丙氨酸浓度模型的准确性和可靠性, 以谷氨酸分批发酵过程中的发酵液作为外部检验, 结果如图 5 所示。在发酵过程中丙氨酸浓度预测值和实际值的浓度变化总体趋势相同。该预测模型对外部检验的预测能力如表 5 所示, 其平均相对误差和决定系数  $R^2$  分别为 5.83% 和 0.97, 表明该模型具有良好的预测能力, 可用于谷氨酸发酵过程中丙氨酸浓度预测。

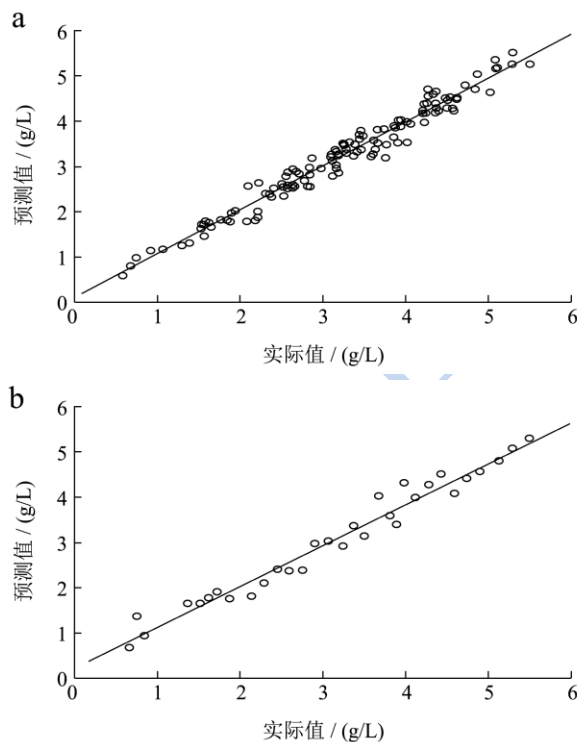


图 4 校正集 (a) 和检验集 (b) 中丙氨酸浓度实际值与预测值的关系

Fig.4 Predicted values versus experimental values based on the calibration set (a) and validation set (b) of alanine concentration

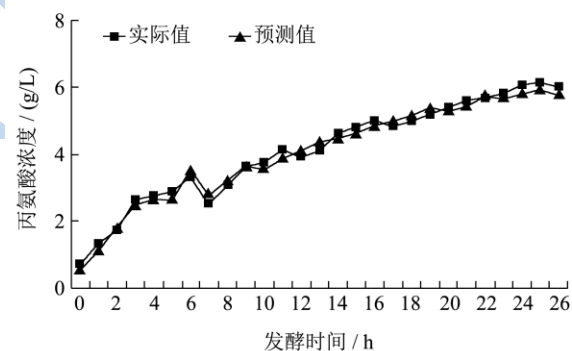


图 5 谷氨酸温度敏感突变株发酵过程中丙氨酸浓度预测值和实际值的关系

Table 5 Predicted versus experimental values of compositions in temperature triggered glutamate fermentation

目前主要采用高效液相色谱的方法测定发酵液中丙氨酸浓度。但该方法耗时较长, 不利于快速准确监测谷氨酸发酵过程中丙氨酸浓度变化。而近红外技术检测技术具有预处理简单、速度快、处理量大、精确度高以及能够同时检测多种成分的优点, 适用于发酵过程实时在线监测并为发酵过程控制及优化提供依据<sup>[8-9]</sup>。本文所建模型的交叉验证误差均方根、决定系数和剩余预测偏差分别为 0.21 g/L、0.97 和 5.55, 且经检验表明其决定系数和平均相对误差分别为 0.97 和

5.83%，说明该模型具有较高的准确性和可靠性以及良好的预测能力。如前所述，谷氨酸发酵过程中丙氨酸生成量与溶氧量具有一定相关性，因此为了进一步验证模型的可靠性和适用性，预测了不同溶氧

(5%~30%)条件下谷氨酸发酵液中丙氨酸浓度，经与实际值比较，其平均相对误差为 3.79%~6.78%， $R^2$  为 0.96~0.98，可见该模型具有很好的可靠性和适用性。

表 5 谷氨酸温度敏感突变株发酵过程中模型预测能力

预测模型	模型预测范围 (g/L)	实际浓度范围 (g/L)	平均相对误差 /%	$R^2$	RMSEP (g/L)	变异系数 /%
丙氨酸	0.58~6.17	0.46~5.79	5.83	0.97	0.18	4.34

### 3 结论

快速、准确地监控谷氨酸发酵过程中丙氨酸浓度变化对发酵过程控制优化具有极其重要的意义。本文采用近红外光谱学结合偏最小二乘的方法对谷氨酸温度敏感突变株发酵过程中丙氨酸浓度建立校正模型并应用该模型对谷氨酸发酵过程中丙氨酸浓度进行预测。结果表明该模型具有较好的预测能力，可为谷氨酸温度敏感突变株强制发酵过程中丙氨酸浓度实时监控及发酵过程优化提供理论和实践依据。

### 参考文献

- [1] 刘剑,赵策,储炬,杭海峰,等.溶氧对谷氨酸棒杆菌发酵产谷氨酸代谢的影响[J].华东理工大学学报,2012,38(4):459-464  
LIU Jian, ZHAO Ce, CHU Ju, et al. Influence of dissolved oxygen on metabolism of glutamic acid biosynthesis by corynebacterium glutamicum [J]. Journal of East China University of Science and Technology (Natural Science Edition), 2012, 38(4): 459-464
- [2] Kourti T. The process analytical technology initiative and multivariate process analysis, monitoring and control [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 384(5): 1043-1048
- [3] Chen Z, Lovett D, Morris J. Process analytical technologies and real time process control a review of some spectroscopic issues and challenges [J]. Journal of Process Control, 2011, 21(10): 1467-1482
- [4] Rathore A S, Bhambure R, Ghare V, et al. Process analytical technology (PAT) for biopharmaceutical products [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010, 398(1): 137-154
- [5] Lee M J, Seo D Y, Leeb H E, et al. In line NIR quantification of film thickness on pharmaceutical pellets during a fluid bed coating process [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2011, 403(1-2): 66-72
- [6] Liu Y, Ying Y, Yu H, et al. Comparison of the HPLC method and FT-NIR analysis for quantification of glucose, fructose and sucrose in intact apple fruits [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(8): 2810-2815
- [7] Nicolai B M, Theron K I, Lammertyn J. Kernel PLS regression on wavelet transformed NIR spectra for prediction of sugar content of apple [J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2006, 85(2): 243-252
- [8] González-Sáz J M, Esteban-Déz I, Sánchez-Gallardo C, et al. Monitoring of substrate and product concentrations in acetic fermentation processes for onion vinegar production by NIR spectroscopy: value addition to worthless onions [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008, 391(8): 2937-2947
- [9] Wei L G, Yi P D, Yong C Z, et al. At-line monitoring of key parameters of nisin fermentation by near infrared spectroscopy chemometric modeling and model improvement [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(3): 993-1002
- [10] Sakhamuri S, Joseph I, Demirci A. Simultaneous determination of multiple components in lactic acid fermentation using FT-MIR, NIR and FT-Raman spectroscopic techniques [J]. Process Biochemistry, 2001, 37(4): 371-378
- [11] 梁静波,马跃超,谢希贤,等.棉籽饼粉水解液为有机氮源的L-谷氨酸发酵的研究[J].食品与发酵工业,2014,40(2):1-5  
LIANG Jing-bo, MA Yue-chao, XIE Xi-xian, et al. The effect of cottonseed meal hydrolysate as organic nitrogen source used for L-glutamate fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 40(2): 1-5
- [12] 梁静波,郭轩,张大龙,等.响应面法优化谷氨酸温度敏感突变株生产L-谷氨酸[J].发酵科技通讯,2012,41(2):4-9  
LIANG Jing-bo, GUO Xuan, ZHANG Da-long, et al. Optimization of L-glutamate fermentation by temperature-triggered glutamate-producing strain by response surface method [J]. The Fermentation Technology Communication, 2012, 41(2): 4-9

- [13] 徐庆阳,孙家凯,吴晓娇,等.有机氮源对谷氨酸棒杆菌发酵L-缬氨酸的影响[J].食品与发酵工业,2012,38(5):12-16  
XU Qing-yang, SUN Jia-kai, WU Xiao-jiao, et al. The Effects of organic nitrogen sources on the fermentation of L-valine by corynebacterium glutamicum [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 38(5): 12-16
- [14] Puchert T, Holzhauer C V, Menezes J C, et al. A new PAT/QbD approach for the determination of blend homogeneity: combination of on-line NIRS analysis with PC scores cistance analysis (PC-SDA) [J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2011, 78(1): 173-182
- [15] Cozzolino D, Kwiatkowski M J, Parker M, et al. Prediction of phenolic compounds in red wine fermentations by visible and near infrared spectroscopy [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 513(1): 73-80
- [16] Geladi P, Dabakk E. An overview of chemometrics applications in near infrared spectrometry [J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 1995, 3(1): 119-132
- [17] Vaccari G, Dosi E, Campi A L, et al. A Near-Infrared spectroscopy technique for the control of fermentation processes: an application to lactic acid fermentation [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1994, 43(10): 913-917