ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

PEYNİR YAPIM TESİSLERİNDEN ALINAN ATIKSUYU BİYOLOJİK İŞLEMDEN GEÇİRME

Semin ALTUNTAŞ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2012

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

PEYNİR YAPIM TESİSLERİNDEN ALINAN ATIKSUYU BİYOLOJİK İŞLEMDEN GEÇİRME

Semin ALTUNTAŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hale HAPOĞLU

Yapılan çalışmada, peynir altı suyundan kefir mayası kullanılarak tekrar kullanılabilir hale gelen bir ürününün (kefir-tipi içecek) oluşturulması için kullanılan kesikli olarak işletilen bir biyoreaktörün dinamiğinin incelenmesi, optimizasyonu, teorik ve deneysel olarak kontrolu gerçekleştirilmiştir.

Optimum koşulları belirlemek için, literatürde izlenen yollardan biri olan ve parametrelerden birinin değişen değerlerinde diğer parametrelerin sabit tutulduğu, aktif deneyleme metodu kullanılmıştır. Başka bir deyişle, kesikli olarak işletilen karıştırmalı bir biyoreaktörde havalı koşullarda kefir-tipi içecek üretmek üzere, uygun işletim koşullarının optimum değerlerinin belirlenmesi deneysel olarak gerçekleştirilmiştir.

Kontrol çalışmaları öncesinde biyoreaktörün dinamik davranışı deneysel olarak incelenmiştir. Biyoreaktörde kontrol edilen değişken olarak pH, ayarlanabilen değişken olarak da baz akış hızı seçilmiştir. Daha sonra set noktasına basamak etki verilerek, kendinden ayarlamalı oransal integral türevsel (STPID) ve genelleştirilmiş tahmin edici kontrol (GPC) algoritmaları biyoreaktöre teorik olarak uygulanmıştır. En iyi kontrol ayar parametre değerleri performans kriterlerine göre seçilmiştir.

Deneysel kontrol optimum işletim koşullarında çalışılmıştır. Bu çalışmalar için on-line bilgisayar kontrol sistemi kullanılmıştır. Deneysel pH kontrolu GPC sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analitik ve mikrobiyolojik veriler Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği kapsamında değerlendirilmiştir.

Mart 2012, 160 sayfa

Anahtar Kelimeler: Peynir altı suyu, Genelleştirilmiş tahmin edici kontrol (GPC), kendinden ayarlamalı oransal integral türevsel (STPID) kontrol, optimizasyon, kefir tipi içecek üretimi

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

BIOLOGICAL TREATMENT OF WASTEWATER FROM CHEESEMAKING PLANTS

Semin ALTUNTAŞ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Hale HAPOĞLU

In the present study, the dynamics, optimization and experimental and theoretical control application were investigated in a batch bioreactor where a product (kefir-type drinks) becomes available again from whey using kefir yeast.

To determine the optimum conditions, the "active experimentation" method, which is one of the way followed in the literature, is used by changing the value of one of the parameters when other parameters kept constant. In other words, to produce kefir-type drink in a stirred batch bioreactor operated in aerobic condition, the optimum values of the appropriate operating conditions were determined experimentally.

First of all control studies, the dynamic behaviors of the bioreactor were investigated experimentally. In the bioreactor, the pH value and the base flow rate were chosen as the controlled and the manipulating variables respectively. Then, Self-Tuning Proportional-Integral-Derivative (STPID) and Generalized Predictive Control (GPC) algorithms were applied theoretically to the bioreactor in the face of a step change in set point. The best control tuning parameter values were chosen according to performance criterias.

The experimental control were studied at the optimum operating condition. On-line computer control system was used in these studies. The experimental pH control was achieved by using GPC system. The analytical and microbiological data obtained were evaluated according to Turkish Food Codex on Fermented Milk Products.

March 2012, 160 pages

Key Words: Whey, Generalized Predictive Control (GPC), Self-Tuning Proportional-Integral-Derivative (STPID) control, optimization, kefir-type drink production

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendirerek desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hale HAPOĞLU'na, bilgi ve tecrübesi ile çalışmama katkısı ve destekleri çok büyük Sayın Prof. Dr. Mustafa ALPBAZ'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Suna ERTUNÇ, dönem arkadaşım Kimya Yüksek Mühendisi Havva BOYACIOĞLU, Araştırma Görevlisi Baran ÖZYURT, Araştırma Görevlisi Zeynep YILMAZER ve proses kontrol grubumuzun her bir bireyine, ayrıca Sayın İlknur ATAMAN'a yardım, sabır, beceri ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Uzun çalışma dönemim boyunca daima desteklerini yanımda hissettiğim, sabır ve şefkat göstermenin yanında madden de her zaman yanımda olan çok kıymetli anneciğim-babacığım, kardeşlerim, manevi babam olan dayılarım, anneannem ve teyzeme şükranlarımı sunarım. Siz olmasaydınız bu eğitim de nihayetlenemezdi. Teşekkür ederim.

Semin ALTUNTAŞ
Ankara, Mart 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xiii**
1. GİRİŞ **1**
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**
3. TEORİK BİLGİLER **9**
3.1 Peynir Altı Suyu (PAS) **9**
3.2 Peynir Altı Suyunun Çevre Kirliliği Üzerine Etkileri **11**
3.3 PAS'ın Kullanım Alanları **13**
3.4 PAS İçecekleri **14**
3.5 Kefir ve Fermentasyon **17**
3.5.1 Kefir **17**
3.5.2 Kefir danesinin mikrobiyal florası **19**
3.5.3 Fermentasyon **22**
3.5.4 Geleneksel kefir üretimi **22**
3.6 Kontrol Yöntemleri ve Uygulamaları **24**
3.6.1 PRBS etki ve Bierman algoritması **24**
3.6.2 Genelleştirilmiş Tahmin Edici (GPC) kontrol **24**
3.6.3 Self-Tuning PID kontrol **25**
4. MATERYAL ve YÖNTEM **27**
4.1 Kefir ve Sıvı Maya Hazırlanması **27**
4.2 Biyotepkime Koşullarının Belirlenmesi **28**
4.3 Analitik ve Mikrobiyolojik İşlemler **30**
4.3.1 Titrasyon asitliği tayini **30**
4.3.2 Protein tayini **31**
4.3.2.1 Biüre yöntemi ile protein tayini **31**
4.3.2.2 Kjeldahl yöntemi ile protein tayini **34**

4.3.3 Besiyerleri 36
4.3.3.1 *Lactobacillus* cinsi bakteri sayımı 38
4.3.3.2 *Lactococcus* cinsi bakteri sayımı 39
4.3.3.3 Maya sayımı 40
4.4 Deney Sistemi 41
4.4.1 Biyoreaktör ve diğer ekipmanlar 41
4.4.2 Visidaq paket programı 44
4.5 Deney Yöntemi 45
4.5.1 Kalibrasyon çalışmaları 45
4.5.2 Asit-baz çalışmaları 45
4.5.3 Dinamik çalışmalar 46
4.5.3.1 Açık-hat biyoreaktör işletimi 46
4.5.3.2 Biyoreaktörün dinamik analizi 46
4.5.4 Kontrol çalışmaları 47
4.5.4.1 Kontrol çalışmalarında kullanılan sistem modelleri 47
4.5.4.2 Sistem model parametrelerinin belirlenmesi 50
4.5.4.3 Genelleştirilmiş Prediktif Kontrol (GPC) çalışmaları 54
4.5.4.4 Self-Tuning PID kontrol çalışmaları 61
5. DENEYSEL ve TEORİK SONUÇLAR 70
5.1 Biyotepkime Koşullarının Belirlenmesine İlişkin Sonuçlar 70
5.2 Kalibrasyon Çalışmaları 78
5.3 Asit-Baz Çalışmaları 79
5.4 Dinamik Çalışmalar 87
5.4.1 Açık-hat biyoreaktör işletimi 87
5.4.2 Biyoreaktörün dinamik analizi 88
5.5 GPC Kontrol Çalışmaları 91
5.5.1 Teorik çalışma sonuçları 91
5.5.2 Deneysel çalışma sonuçları 98
5.6 Protein Tayini Sonuçları 114
5.7 Mikrobiyolojik Sonuçlar 115
5.8 STPID Kontrol Çalışmaları 116
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 121

6.1 Sonuçlar 121
6.2 Öneriler 122
KAYNAKLAR 124
EKLER 133
EK 1 GPC Kontrol için Visidaq Programı 134
EK 2 GPC Kontrol için Visidaq Programının Pre-Task Konfigürasyonu 139
EK 3 GPC Kontrol için Matlab Programı 141
EK 4 STPID Kontrol için Matlab Programı 146
EK 5 Bierman Algoritması için Matlab Programı 149
EK 6 MRS Agar Malzeme Güvenlik Bilgi Formu 153
EK 7 M 17 Agar Malzeme Güvenlik Bilgi Formu 158
EK 8 YGC Agar Malzeme Güvenlik Bilgi Formu 159
ÖZGEÇMİŞ 160

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

θ	Parametre vektörü
τ_I	İntegral kontrol sabiti, saniye
τ_D	Oransal kontrol sabiti, saniye
ε	Hata
λ	Kontrol Ağırlık Faktörü
A, B, ...	Polinomlar
a_i	A polinomunun katsayısı
b_i	B polinomunun katsayısı
J	Maliyet fonksiyonu
K_C	Oransal kontrol katsayısı
K_I	İntegral kontrol katsayısı
n_a	A polinomunun derecesi
N_1	Minimum maliyet ufku
N_2	Maksimum maliyet ufku
N_u	Kontrol maliyet ufku
r	Set noktası
s	Sinyal çıkış değişkeni
x(t)	t anındaki x'in değeri
x(t-1)	t+Δt anındaki x'in değeri
x(t-i)	t+i.Δt anındaki x'in değeri
t_1, t_2, t_3	Self-Tuning PID kontrol ayar parametreleri
Δt	Örnek alma zamanı
u	Kontrol edici çıkış değişkeni
x(t)	t anındaki x'in değeri
x(t-1)	t+Δt anındaki x'in değeri
x(t-i)	t+i.Δt anındaki x'in değeri
y	Sistem çıkış değişkeni
z	Gecikme operatörü

ARMAX	Auto Regressive Moving Average eXogenous
ARIMAX	Auto Regressive Integral Moving Average eXogenous
BOİ	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
GPC	Genelleştirilmiş tahmin edici kontrol
KOİ	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
NARIMAX	Nonlineer Auto Regressive Integral Moving Average eXogenous
PID	Oransal-İntegral-Türevsel kontrol
PRBS	Pseudo Random Binary Sequence
STPID	Self-Tuning PID kontrol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Peynir üretimi esnasında çıkan peynir altı suyu 9

Şekil 3.2 Kefir danesi 18

Şekil 3.3 Geleneksel kefir üretiminin şematik gösterimi 23

Şekil 3.4 PRBS etki ve cevabı 24

Şekil 3.5 GPC kontrol sisteminin blok diyagramı 25

Şekil 3.6 Self-Tuning PID kontrol sisteminin blok diyagramı 26

Şekil 4.1 Geleneksel yöntem ile olgunlaşmamış kefir (sıvı maya) eldesinin aşamaları .28

Şekil 4.2 Biüre yöntemi ile protein tayini 33

Şekil 4.3 Kjeldahl yöntemi ile protein tayini 36

Şekil 4.4 Seyreltme yönteminin şematik gösterimi.....37

Şekil 4.5 MRS Agar üzerinde *Lactobacillus casei* bakterisi.....39

Şekil 4.6 M17 Agar üzerinde *Lactococcus* bakteri fajları.....40

Şekil 4.7 YGC Agar üzerinde *Aspergillus niger* 40

Şekil 4.8 YGC Agar üzerinde *Saccharomyces cerevisia* 41

Şekil 4.9 Deney sistemi 42

Şekil 4.10 Deney düzeneği.....43

Şekil 4.11 Display ekranı 44

Şekil 4.12 PRBS sinyallerinin gösterimi.....51

Şekil 4.13 Kendinden ayarlamalı kontrol edici yapısı 54

Şekil 4.14 Genelleştirilmiş tahmin edici kontrol algoritması 60

Şekil 4.15 Self-Tuning kontrol sisteminin blok diyagramı 62

Şekil 5.1 pH-İnkübasyon süresi grafiği.....71

Şekil 5.2 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği 71

Şekil 5.3 pH-İnkübasyon süresi grafiği.....72

Şekil 5.4 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği 72

Şekil 5.5 pH-İnkübasyon süresi grafiği.....73

Şekil 5.6 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği 73

Şekil 5.7 pH-İnkübasyon süresi grafiği.....74

Şekil 5.8 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği 75

Şekil 5.9 pH- Mayalama oranı grafiği 76

Şekil 5.10 Titrasyon asitliği- Mayalama oranı grafiği 76

Şekil 5.11 pH- Karıştırma başlangıç zamanı grafiği.....77

Şekil 5.12 Titrasyon asitliği- Karıştırma başlangıç zamanı grafiği.....78

Şekil 5.13 Pompa kalibrasyon grafiği 79

Şekil 5.14 Besi ortamının pH'ının 0,005 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 80

Şekil 5.15 Besi ortamının pH'ının 0,01 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 81

Şekil 5.16 Besi ortamının pH'ının 0,05 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 81

Şekil 5.17 Besi ortamının pH'ının 0,1 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 82

Şekil 5.18 Besi ortamının pH'ının 0,5 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 82

Şekil 5.19 Besi ortamının pH'ının 1 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 83

Şekil 5.20 Farklı derişimlerdeki asit çözeltileri ile değişim.....83

Şekil 5.21 Besi ortamının pH' ının 0,01 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi.....84

Şekil 5.22 Besi ortamının pH' ının 0,05 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi.....85

Şekil 5.23 Besi ortamının pH'ının 0,1 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 85

Şekil 5.24 Besi ortamının pH'ının 0,5 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 86

Şekil 5.25 Besi ortamının pH'ının 1 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi 86

Şekil 5.26 Farklı derişimlerdeki baz çözeltileri ile değişim.....87

Şekil 5.27 Sistemin dinamik davranışı.....88

Şekil 5.28 PRBS sinyaline karşı baz akış hızı değişimi.....88

Şekil 5.29 Deneysel PRBS sinyali 89

Şekil 5.30 Mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen biyotepkimeye benzetim çalışmaları-1 90

Şekil 5.31 Mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen biyotepkimeye benzetim çalışmaları-2 91

Şekil 5.32 (a) Kapalı sistemde set noktasının 5,83'den 6,09'a çıkarıldığı basamak etki altında pH'ın zamanla değişimi, (b) kapalı sistemde akış hızının zamanla değişimi (N2=2 Nu=1 λ=0,007).....93

Şekil 5.33(a) Kapalı sistemde set noktasının 5,83'den 6,09'a çıkarıldığı basamak etki altında pH'ın zamanla değişimi, (b) kapalı sistemde akış hızının zamanla değişimi (N2=4 Nu=1 λ=0,005).....95

Şekil 5.34 (a) Kapalı sistemde set noktasının 5,83'den 6,09'a çıkarıldığı basamak etki altında pH'ın zamanla değişimi, (b) kapalı sistemde akış hızının zamanla değişimi (N2=4 Nu=2 λ=0,0052).....97

Şekil 5.35 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 0{,}5*10^{-5}$).....99

Şekil 5.36 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 2*10^{-5}$).....100

Şekil 5.37 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 1*10^{-5}$).....101

Şekil 5.38 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/8)*10^{-4}$).....102

Şekil 5.39 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 1*10^{-4}$).....103

Şekil 5.40 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/5)*10^{-4}$).....104

Şekil 5.41 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/7)*10^{-4}$).....105

Şekil 5.42 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/6)*10^{-4}$).....106

Şekil 5.43 Mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu ($\lambda = 1$).....107

Şekil 5.44 Mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =0,5).....108

Şekil 5.45 Mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =1,5).....109

Şekil 5.46 Sıcaklık kontrolu yok iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =0,5).....110

Şekil 5.47 Sıcaklık kontrolu var iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =0,5).....111

Şekil 5.48 Sıcaklık kontrolu yok iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =1,0).....112

Şekil 5.49 Sıcaklık kontrolu var iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =1,0).....113

Şekil 5.50 t_1=0,2 için set noktasına artış olarak basamak etki verildiğinde pH ın STPID kontrolu. (a) pH değişimi (b) Baz akış hızı değişimi 117

Şekil 5.51 t_1=0,1 katsayısı için STPID kontrol sonuçları 118

Şekil 5.52 t_1=0,9 katsayısı için STPID kontrol sonuçları 119

Şekil 5.53 t_1=0,01 katsayısı için STPID kontrol sonuçları 120

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Maya ve asit PAS' larının bazı nitelikleri 10

Çizelge 3.2 Avrupa pazarında yer alan bazı PAS içecekleri 16

Çizelge 3.3 Fermente süt ürünleri özellikleri 19

Çizelge 3.4 Kefirin mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar 21

Çizelge 5.1 25°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarında örneklere ilişkin veriler 70

Çizelge 5.2 30°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarında örneklere ilişkin veriler 72

Çizelge 5.3 26°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarında örneklere ilişkin veriler 73

Çizelge 5.4 26°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarında örneklere ilişkin veriler 74

Çizelge 5.5 26°C sıcaklıkta farklı aşılama (maya) oranlarındaki örneklere ilişkin veriler 76

Çizelge 5.6 26°C sıcaklıkta %1 aşılama (maya) oranındaki örneklere ilişkin veriler 77

Çizelge 5.7 Besi ortamının pH'ının farklı sitrik asit çözeltilerinin eklenen hacimleri ile değişimine ilişkin veriler 80

Çizelge 5.8 Besi ortamının pH'ının farklı sodyum bikarbonat çözeltilerinin eklenen hacimleri ile değişimine ilişkin veriler 84

Çizelge 5.9 Model parametre değerleri 89

Çizelge 5.10 N_2=2 ve N_u=1 değerlerinde ISE ve IAE değerleri 92

Çizelge 5.11 N_2=4 ve N_u=1 değerlerinde ISE ve IAE değerleri 92

Çizelge 5.12 N_2=4 ve N_u=2 değerlerinde ISE ve IAE değerleri 94

Çizelge 5.13 Piyasada bulunan farklı kefir örneklerinin protein içeriği 114

Çizelge 5.14 Deney sonucunda elde edilen kefir örneklerinin protein içeriği 114

Çizelge 5.15 Kefir örneklerinin bakteri ve maya sayısı 115

Çizelge 5.16 Çeşitli ayar değişkenleri (t_1) için performans kriterleri 116

1. GİRİŞ

Ülkemizde süt işletmeciliği ve peynir üretimi yapan tesislerin çokluğu ve çoğunun ilkel şartlarda çalışan küçük kapasiteli işletmeler olması itibariyle, sütten elde edilen peynirin ayrılmasından sonra geriye kalan en önemli artıklardan biri Peynir Altı Suyudur (PAS). Her ne kadar elde edilen bu artığa "serum" deniliyorsa da, Fransızca, İngilizce ve Almanca gibi dillerde ortak ad olarak "lactoserum", "whey" ve "molke" kelimeleri de kullanılmaktadır.

Gerek endüstriyel olsun, gerek küçük çaptaki üretimler olsun, sütün bileşimi ve uygulanan teknolojiye bağlı olarak, işlenen 1 litre sütten 0,6 - 0,9 litre arasında, değişen miktarda PAS arta kalmaktadır. Başka bir deyişle, peynire işlenen sütün ortalama %80'i PAS olarak ayrılmaktadır. PAS'ta süt kuru maddesinin yaklaşık yarısı bulunmakla birlikte kuru maddeyi oluşturan maddeler sütteki oranlar dahilinde bir dağılım göstermektedir. Sütün bileşimi ve peynirin yapım yöntemleri PAS'ın bileşimini etkilemekle birlikte PAS'ın genel bileşimini; toplam kuru madde, laktoz, yağ, mineral madde, azotlu maddeler ve süt asidi oluşturur.

PAS, gerçekte çevre kirletici bir madde olmamasına karşın alıcı ortama salınması durumunda yüksek protein ve laktoz içeriğinden kaynaklı olarak "organik kirliliğe" sahiptir, dolayısıyla sakınca yaratmaktadır. Diğer taraftan PAS'ın asit ve yağ oranının yüksek olması nedeniyle arıtılması pahalı olmaktadır. Kaldı ki PAS'ın arıtılmasına ilişkin birçok çalışma yapılmış olmasına karşın, pratikte Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)'nin aynı kalması itibariyle, çevresel problem çözülememiştir. Dolayısıyla PAS'ın alıcı ortama direkt atılması, çevresel açıdan oluşturacağı kayıplar nedeniyle, mümkün değildir.

Diğer taraftan PAS'ın atılması önemli derecede besin kaybına neden olmaktadır. Değerlendirilme imkanları olmasına karşın buna uyulmaması ekonomik değerini de büyütmektedir. PAS bileşiminde bulunan besinler, özellikle proteinler, kıymetlidir. Daha önce yapılmış olan araştırmalara göre Türkiye'de PAS'ın atılması ile kaybolan

protein miktarı yılda 17.000 ton'dur. Bir insanın yıllık tükettiği ortalama protein miktarı 26 kg olarak baz alındığında, kaybolan protein miktarının 677.000 insanın ihtiyacı olan proteine karşılık geldiği ortadadır.

Yukarıda belirtilenler doğrultusunda, çevre kirliliğine neden olmaması açısından PAS'ın yüksek maliyetli olacak arıtılma işlemi yerine besin kaybını önlemek üzere biyolojik dönüşümünün gerçekleştirilmesi için bir biyokatalizör kullanılarak, araştırmanın yanında ticari uygulaması da olabilecek şekilde, bir ürün elde etmek suretiyle kullanılması söz konusudur. Kaldı ki, PAS'ın içecek olarak, özellikle hastalıkları iyileştirme amacıyla kullanımı bilinmekte, ayrıca besleyici yumuşak içkilerin veya yüksek proteinli içkilerin formülünde kullanılabileceği literatürde yaygın olarak yer almaktadır.

Peynir altı suyundan alkollü içecek üretiminden uygulanan genel yol; önce PAS, ısısal işlemle proteinlerinden arındırıldıktan sonra *Klayveromyces laktis*, *Saccaromyces cerevisia* gibi fermentörler ile fermantasyona tabi tutulmasıdır. Bazı hallerde bu içecekleri içmeyi kolaylaştırmak amacıyla aroma maddeleri ve tatlandırıcı maddeler de ilave edilmektedir. Diğer taraftan bazı hallerde kefir ya da kımız gibi protein içeren içecekler de üretimde kullanılmıştır. Kaldı ki gerçek endüstriyel koşullarda ve pilot ölçekte kefirin kirlenmeye dayanım göstermesinin tercih sebebi olduğu bilinmektedir.

Kefir Orta Asya'da göçebe olarak yaşamlarını sürdüren Türkler tarafından 5000 yıl önce bulunmuş olup, Türklerin yaşamlarının her alanında bulunan at, koyun, keçi ve ineklerin gerek etlerinden gerekse sütlerinden yararlandıkları aşikardır. At sütünden kımız, koyun, keçi ve inek sütünden süt, yoğurt ve kefir olarak faydalanmışlardır (Wójtowski vd. 2003).

Belirtilenler kapsamında, bu doktora çalışmasında bir biyoreaktör kullanılarak PAS fruktoz, siyah üzüm özütü (ekstrakt) ve %20 oranında süt ilavesi gibi ilavelerle zenginleştirilmiş ve kefir tipi içecek elde edilmiştir. Deneyler esnasında içeceğin stabilizasyonunu sağlamak üzere katkı maddesi ilaveleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca

pıhtılaşmayı önlemek üzere süt proteinlerinin izoelektrik noktası olan pH 4,6'nın üzerinde olan bir set noktası tercih edilmesine dikkat edilmiştir. Böylece süt proteinlerinin biyolojik değerleri bakımından yumurta proteininden sonra en değerli protein olma özelliğini taşıması itibariyle, proteinlerin çöktürülerek ayrılması da engellenmiş olmaktadır.

Öncelikle aerobik fermentasyon ile optimum koşullar belirlenmiştir. Sistemin model parametrelerini belirlemek üzere, sistemi etkilemek için ayarlanabilen değişken olarak kullanılan sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$) çözeltisi akış hızına PRBS sinyalleri gönderilmiştir. Dinamik deneyde kullanılan PRBS sinyalleri kontrol tasarımları için hesaplamalar yapılacak olan program ile gerçekleştirilmiştir.

GPC kontrol algoritması ile ortamın seçilen çıkış değişkenlerinin kontrolunun değerlendirilmesi için Visual Basic programlama dilinde yazılmış program oluşturulmuş ve bu program konfigürasyonunda farklı katsayılar, su deneyleri ile, karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Katsayı denemeleri neticesinde en iyi performansı verenler seçilerek oluşturulan kontrol programı ile kesikli biyoreaktörde fermentasyon ile kefir-tipi içecek üretilirken pH kontrolu gerçekleştirilmiştir. Türk Gıda Kodeksi ilgili yönetmelikleri kapsamında % laktik asit miktarı yanında mikrobiyolojik parametreler ile elde edilen ürünün (içecek) uygunluğu değerlendirilmiştir. Ayrıca kontrol etkinlikleri; ISE ve IAE gibi etkinlik kriterleri hesaplanarak karşılaştırılmıştır. Diğer taraftan teorik olarak MATLAB programlama dilinde yazılmış Self-Tuning PID kontrol algoritması ile teorik çalışmalar yapılmıştır.

Yapılan kontrol çalışmalarının yanında elde edilen ürünün analitik ve mikrobiyolojik verileri Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği kapsamında değerlendirilmiştir. Böylece ürün özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Peynir altı suyu, kefir, kefir kullanımı ve üretimi ile mikrobiyolojik işlemlere ilişkin kaynak araştırması sonucunda değerlendirilenler aşağıdaki gibidir:

Paraskevopoulou vd. (2003) çalışmasında, %2 (w/v) fruktoz (siyah üzüm ekstraktı), 20 (v/v) süt ve PAS'tan oluşan karışımı kefir granülleri ile fermente etmek suretiyle, kefir tipi içecek hazırlamıştır. Karışım öncelikle 72°C'da ve 12 dakika pastörize edilmiştir. Sonrasında gerçekleştirilen aerobik fermentasyon 1,5 L cam reaktörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sıcaklığı 30°C ve pH = 4'dür. Reaktörde kullanılan 9500 rpm/dk karıştırma hızındaki mekanik karıştırıcı sayesinde, kefir tipi içecek içindeki flokülasyonlar çözülerek homojenize edilmiştir. Böylece elde edilen içecek farklı parametrelere göre karşılaştırılarak yorumlanmıştır.

Tekinşen (1997)' nin çalışmasında, farklı kültürlerde saflık kontrolu, koliform bakteri, küf ve maya aranması, ayrıca katalaz testi gerçekleştirmiş olup bu kültürlerin çoğaltılması esnasında yabancı mikroorganizmaların bulaşmasının önemli bir sorun oluşturduğundan bahsedilmiştir. Katalaz, bakteriler tarafından üretilen ve hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşmesini sağlayan bir enzimdir. Genellikle aerobik veya fakültatif bakteriler katalaz enzimine sahiptir ancak mikroaerofilik ve anaerobik organizmalarda katalaz enzimi görülmez. Katalaz testi ile bakterilerin cinsleri karşılaştırılmaktadır.

Tango ve Ghaly (1999)'nin çalışmasında, 5 L sürekli karıştırmalı, kesikli bir biyoreaktör kullanılarak laktozdan laktik asit üretimi gerçekleştirilmiş, bu esnada *Lactobacillus helveticus*'un büyümesi üzerine sıcaklığın etkisi araştırılmıştır. Bu fermentasyon prosesinde, öncelikle farklı sıcaklık değerlerinde sıcaklık kontrolu gerçekleştirilirken (23°C sıcaklıkta kontrol yok iken, 37°C ve 42°C sıcaklıklarda kontrol var iken), pH kontrolu olmaksızın üretim gerçekleştirilmiştir. Sonrasında sıcaklık ve pH'ın aynı anda kontrolu fermentasyon prosesinde izlenmiş ve pH'ın sürekli azaldığı (başlangıç değeri 4,4'ten 3,0'dan daha düşük seviyelere) gözlenmiştir. pH kontrolu

olmadan ise fermentasyon sıcaklığının 23°C' dan 42°C'a artması ile laktoz kullanımı ve laktik asit üretimi sırasıyla % 26,6 ve 6,2 gL^{-1} olarak arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, örneğin 42°C'da sıcaklık kontrolu var iken fermentasyon için maksimum spesifik büyüme hızı 0,25 h^{-1}, laktoz kullanımı % 60,6 (başlangıç konsantrasyonundan) ve laktik asit üretimi 10,0 gL^{-1}' dir. Çalışma sonuçları; peynir altı suyundan kesikli olarak laktik asit fermentasyonu esnasında, verim kayıplarını önlemek için, pH ve sıcaklığın birlikte kontroluna ihtiyaç olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Özer vd. (2000) çalışmasının birinci aşamasında fermentasyon gerçekleştirip ikinci aşamasında starter kullanımı ile iki aşamalı olarak kefir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Üretilen kefirlerin kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik ve duyusal özellikleri incelenmiştir. İncelemesi yapılan örneklerin pH değeri, titrasyon asitliği, laktik asit, laktoz, tirozin ve asetaldehit içeriklerindeki değişim ile toplam bakteri arasındaki ilişkisi belirlenerek yorumlanmıştır.

Gadaga vd. (2001), geleneksel Zimbabwe inek sütü olan ve UHT-arıtılmış amasi'ye izole edilen *Candida kefyr* 23, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* C1 ve *L.lactis* subsp. *lactis* Lc261'in büyüme karakteristiklerini araştırmıştır. Maya-laktik asit bakterisi (LAB) karışımı olan kültürler UHT süte aşılanmış (inoküle edilmiş) ve 25°C'da inkübe edilmiştir. 48 saatlik fermentasyon süresi sonrasında 5 gün boyunca 4°C'da depolanan fermente sütteki uçucu organik bileşikler, organik asitler, karbon dioksit, pH ve canlı hücre sayılarındaki değişimler gözlenmiştir. 18 saat sonunda maksimum sabit faz sayısına ulaşan maya-laktik asit bakterisi karışımının, 24 saat sonundaki maya miktarının maksimum seviyeye ulaştığının görüldüğü bildirilmiştir. 48 saat sonunda laktoz kullanılırken, aktif büyüme evresinde her iki *Lactococcus* yapısında da galaktoz birikmiştir. Asetaldehit alt-kültürde daha hızlı üretilmiş ve depolama esnasında artmaya devam etmiştir. Çalışma sonucunda, C1 ve *C. kefyr* bakterisinin 23 farklı karışık kültürü ile uygun şekilde fermente süt ürünü elde edilebileceği, ayrıca 25°C'da 24 saat fermentasyon süresinin uygun olduğu bildirilmiştir.

Yılmaz vd. (2003), yoğurt gibi fermente bir süt ürünü olan kefirin karbon dioksit içermesi ve asidik tatta olması itibariyle yoğurttan farklılık gösterdiğini vurguladığı çalışmasında, inek sütü kullanarak böğürtlen, ahududu ve çilek meyveleri ile aromalandırarak kefir üretilmiş, ayrıca ürünlerin kalitesi ve depolama süresince değişimleri araştırılmıştır.

Garcia- Fanton vd. (2005), inek sütünün starter kültür kullanılarak mayalanması sonucunda elde edilen kefirde mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler incelenmiştir. Çalışmada kefirin fermentasyonu esnasındaki toplam aerobik mezofilik bakteri, laktik asit bakterileri (laktokok, lökonostok ve laktobasil), maya miktarları ve bazı biyokimyasal parametreleri (laktoz, glukoz, galaktoz, L+ ve D- laktik asit, etanol, titrasyon asitliği ve pH değeri) belirlenmiştir. Ancak fermentasyon esnasında glikoz ve galaktoz belirlenemediği bildirilmiştir.

Gallo vd. (2007), farklı pH, sıcaklık ve nisin etkisi ile, sıvı PAS içinde *Listeria innocua* büyümesi izlenmiştir. Büyüme verileri nonlineer regresyon analizi ile, Gompertz ve lojistik modellerin "en uygun"unu oluşturmak üzere çalışılmıştır. *L. innocua* büyüme kinetiği, özellikle gecikme evresinde, nisinin etkinliği açısından sıcaklık yükselirken pH'ın düştüğü bildirilmiştir. Bunun sonucu olarak özellikle düşük sıcaklıkta, bakteriler birlikte çalışıyorlarsa mikroorganizmaya karşın bu birleşik davranış sıvı PAS için koruma sağlamaktadır.

Dragone vd. (2009) yaptıkları çalışmada, laktoz fermentasyonu sonucunda elde edilen bir maya olan *Kluyveromyces marxianus* ile peynir altı suyu (PAS) sürekli bir sistemde fermente edilmesinden sonra karışımı fermente et suyu ile distile etmiş ve sonuçta alkolik bir içki üretilmiştir. Gaz kromatografi ile bu içecekte bulunan 40 çeşit uçucu bileşik tanımlanmıştır. Çalışmada kullanılan PAS'tan, kullanım öncesi santrifüjleme işlemi ile krema ve ince tabaka yağın ayrılması sağlanmış, sonrasında 20 dakika 65°C sıcaklıkta pastörize edilmiştir. Çalışma sonucunda *Kluyveromyces marxianus* ile PAS'ın sürekli fermentasyonundan elde edilen ürünün kabul edilebilir organoleptik karakteristikte olduğu sonucuna varılmıştır.

Aloys ve Angeline (2009), Burundi'de evlerde geleneksel olarak üretilen süt türevli fermente yiyecek ve içecekler üzerinde dokümantasyona yönelik yaptıkları çalışmada, bu ürünlerin kalitesi geliştirilmiş ve ürün metotlarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Malbaša vd. (2009), çalışmasında çeşitli Kombucha starterlerinin uygulandığı süt bazlı içki üretimlerini araştırmışlardır. Kombucha starterleri % 10 ve % 15 (v/v) oranlarında süte (% 2,2 yağ) uygulanmıştır. Tüm fermentasyonlar pH 4,4'e ulaştığında sonlandırılmıştır. Elde edilen fermentasyon eğrilerine göre ürünlerin performansı değerlendirilmiştir.

Kontrol çalışmaları üzerine yapılan kaynak araştırması sonucunda değerlendirilen kaynaklar aşağıdaki gibidir:

Hapoğlu (1993), pilot ölçekli bir damıtma kolonunun kontrol ve dinamiğini teorik olarak incelemiş, teorik olarak gerçekleştirdiği kontrolde Self-Tuning PID, GPC ve GMV kontrol algoritmalarını deneysel ve teorik olarak uygulamıştır.

Wellstead ve Zarrop (1991), sinyal ve sistem modellerini belirlemek üzere Self-Tuning PID sistemi için En Küçük Kareler Tekniği ile çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. İki boyutlu ARMAX modelleri öngörmeli ve düzeltmeli olacak şekilde algoritma oluşturarak Self-Tuning ile elektronik olarak sistem kontrolunu gerçekleştirmişlerdir.

Kahvecioğlu (1999), havalı koşullarda bir biyoreaktörün çoğalma ortamı sıcaklığı, doğrusal ve doğrusal olmayan Self-Tuning PID kontrol yöntemleri üzerine gerçekleştirdiği çalışmasında, bunların kontrolunu gerçekleştirmiştir. Sistemin tanımlanması içim PRBS kullanılmış ve Bierman Algoritması ile model parametreleri belirlenmiştir.

Leung vd. (2006), yaptıkları çalışmada gerçek zamanlı model öngörmeli kontrol sistemini uzman teknolojisi kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Üç ana elemanın bu kontrol yöntemi için önemli olduğu belirtilen çalışmada, bu elemanların gösterme ve kontrol çıktısının gösteriminin belirlenmesi, operatör/işletmeci için gerekli bilgilerin oluşması, adaptasyon mekanizmaları olarak belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca, gerçek sistem olarak sürekli karıştırmalı tank içeren bir proses seçilmiştir.

Altınten (2007), çalışmasında (GPC) pH nötralizasyonunu sürekli akış boru tipi reaktöründe gerçekleştirmiştir. Kontrol ile, besleme akış hızında değişiklikler karşısında pH değerinin istenilen set değerinde tutulması amaçlanmıştır. ARIMAX modeli GPC algoritması için sistem modeli olarak kullanılmıştır.

3. TEORİK BİLGİLER

3.1 Peynir Altı Suyu (PAS)

Peynir yapımında bir yan ürün olan peynir altı suyu; sütün pıhtılaştırılması sonucunda pıhtının ayrılmasından sonra geriye kalan yeşilimsi-sarı renkteki sıvı kısımdır (Şekil 3.1). PAS'ın bu rengi bileşimindeki riboflavinden kaynaklanmaktadır. Laktoz, mineral maddeler, vitaminler, protein ve az miktarda da süt yağını içermektedir. Bunların içinde peynir altı suyu proteinleri en önemli kısmı oluşturmaktadır.

Peynir teknolojisi atıklarının en önemlilerinden biri PAS olup, peynire işlenen sütün %80'i PAS olarak ayrılmakta, ayrıca kazein üretiminden de bir miktar PAS elde edilmektedir.



Şekil 3.1 Peynir üretimi esnasında çıkan peynir altı suyu

Sütü pıhtılaştırmak için kullanılan pıhtılaştırıcı maddelerin niteliğine göre bileşimi de farklılık gösterecek şekilde 'maya veya tatlı PAS' ve 'asit PAS' olmak üzere iki farklı tipe ayrılmaktadır. PAS bileşiminin sadece pıhtılaştırıcı maddelere bağlı olmadığı,

hammadde olan sütün bileşimi, asitliği, işleme koşulları gibi durumların da PAS bileşimini etkilediği unutulmamalıdır (Ghaly vd. 2005, Bakırcı ve Kavaz 2006, Dragone vd. 2009). Maya ve asit PAS'larının bazı özellikleri çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1 Maya ve asit PAS' larının bazı nitelikleri (Sienkiewicz ve Riedel 1990)

Bileşen	Maya peynir altı suyu (Cheddar peynirinden)	Asit peynir altı suyu (Kazein üretiminden)
Su (%)	93,3	94,0-95,0
Toplam kurumadde (%)	6,70	5,40-6,00
Yağ (%)	0,12-0,36	-
Protein (%)	0,60	0,9
Laktoz (%)	5,00	3,80-4,20
Kül (%)	0,52	0,70-0,80
Kalsiyum (%)	0,05	0,10-0,13
pH	6,10	4,50-4,70
Yoğunluk, 15ºC'de	1,026	1,024-1,025

Çizelge 3.1' den anlaşılacağı gibi, 'asit PAS' protein açısından 'maya PAS'tan daha zengindir, buna karşın daha az laktoz içermektedir. Kaldı ki peynir altı suyu proteinlerinin diğer proteinlere göre üstün olan tarafı sadece biyolojik değeri değil, aynı zamanda antioksidan fonksiyonları destekleyen sülfür içeren aminoasitlerini yüksek oranda içermesidir. Peynir altı suyu proteinleri kısa zincirli aminoasitleri içermekte olup, bu aminoasitler proteinlerin bozulmasının artması durumundaki, kas kaybının mümkün olduğunca azalmasına yardımcı olmaktadırlar (Smithers vd. 1996, Anonymous 1998).

PAS'taki proteinler esas olarak serum proteinleridir. PAS'taki bu proteinler esas olarak globüler formdadır. Bunlar, *Albümin fraksiyonu* (asit ya da amonyum sülfat ilavesiyle çöktürülenler) ve *Globülin fraksiyonu* (sıvı kısımda kalanlar) olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır (Gürsel vd. 2007).

Albümin fraksiyonunda esas olarak β-laktoglobülin ve α-laktalbümin yer almaktadır. Bir enzim olan ve minör proteinler arasında sayılan laktoperoksidaz da bu grupta

bulunmaktadır. β-laktoglobülin pH, sıcaklık derecesi ve iyonik yüke karşı çok duyarlıdır, belirli koşullar altında denatürasyona uğrar, böylece yapısında bulunan sülfidril grupları açığa çıkar ve bunlarda kolaylıkla okside olurlar ve sonuçta moleküller arası bağlanma yoluyla polimerizasyon meydana gelir. PAS'ta ayrıca, ısıya dirençli, asitte çözünebilen glikoproteinlerin karışımından ibaret olan, proteoz-peptonlar bulunmaktadır.

Çözünürlük özelliği açısından PAS proteinlerini değerlendirecek olursak; bu proteinlerin kendine özgü bir izoelektrik pH noktası vardır ve yaklaşık pH 4,6 civarındadır. Bu noktada proteindeki pozitif ve negatif yüklerin toplamı birbirine eşittir ve net yük sıfır, toplam yük ise maksimumdur. Toplam yük proteindeki bütün pozitif ve negatif yüklerin toplamı, net yük ise pozitif ve negatif yüklerin farkıdır. Ortam pH'nın düşmesi veya yükselmesi, net yükü maksimuma doğru artırma eğiliminde iken toplam yük daima izoelektrik noktadan daha düşük olur. İyonlaşmada yalnızca proton alıp verilmemekte, diğer iyonlar da bu yönde reaksiyona girmektedir. İzoiyonik nokta olarak tanımlanan bu reaksiyon; H^+ ve OH^- dışında hiçbir iyon bulunmayacak derecede sonsuz seyreltme yapılmış protein çözeltisinin pH'ı olarak da tanımlanmaktadır. Bu durumda proteinin çözünürlüğü izoelektrik noktada en düşük düzeyde olup bu noktada çözelti içinde çökme eğilimindedir (izoelektrik noktada çökelme- koagülasyon).

Peynir altı suyunun protein içeriğine etki eden faktörler; PAS'ın tipi, süt hayvanının laktasyon dönemi, peynir ve kazein üretiminde uygulanan işleme koşullarıdır. Peynir altı suyundaki proteinlerin çoğu normal pastörizasyon koşullarında denatüre olmazlar, fakat peynir altı suyunun 77ºC'de 1 saat süreyle ısıtılması halinde tamamen denatüre olurlar (Gürsel vd. 2007).

3.2 Peynir Altı Suyunun Çevre Kirliliği Üzerine Etkileri

Süt yan ürünlerinden biri olan PAS besleyici değeri yüksek gıda olmasına karşın, bileşiminde yer alan organik ve inorganik maddeler sayesinde çevreye zararlı ürün haline gelebilmektedir. Dolayısıyla herhangi bir işlemden geçirilmeden sulara karışan

PAS, su kirliliğine ve ortamda yaşayan canlıların zehirlenerek yok olmalarına neden olabilmektedir. Başka bir deyişle organik maddelerin özellikle proteinlerin mikroorganizmalar tarafından parçalanması veya oksidasyonu sonucu oluşan maddeler canlı yaşam üzerinde toksik etki gösterebilmektedir. Organik maddelerin miktarı belirli sınırları aşmadıkça doğadaki denge korunmakta ve organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından parçalanması sürdürülmektedir. Ortamda yeterli miktarda oksijen bulunması halinde suda çözünen organik bileşikler mikroorganizmalar tarafından besin maddesi olarak kullanılıp parçalanmaktadır. Bu madde değişim işlemi sonunda oksidasyon atıkları, örneğin CO_2 ve su meydana gelmekte, aynı zamanda mikroorganizmalar yeni hücre maddesi meydana getirerek hücre bölünmesi yoluyla çoğalmaktadır. Suda çözünemeyen maddeler ise çökmektedir (Gürsel vd. 2007).

Organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından parçalanması suda var olan çözünür oksijenin tükenmesine neden olduğu için, sudaki kirliliğin belirlenmesinde ölçü olarak oksijen ihtiyacı dikkate alınmaktadır. Sudaki yaşamın devamı için litrede en az 5 mg çözünür oksijene ihtiyaç vardır. Çözünür oksijen içeriğinin bu miktarın altına düşmesi sudaki canlı yaşamının tehlikede olduğunu ifade etmektedir. Oksijen ihtiyacını belirtmek için iki kavramdan yararlanılmaktadır (Metcalf 1991):

a) Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı (BOİ): Kirli sulardaki organik maddeleri parçalamak için mikroorganizmalar tarafından harcanan oksijen miktarıdır, litrede mg olarak ifade edilir. Genellikle mikroorganizmaların 5 günlük oksijen ihtiyacı gözönüne alınarak bu değer $BOİ_5$ şeklinde gösterilmektedir. $BOİ_5$, ortamdaki atık maddenin miktarına ve tipine, mikroorganizmaların sayısına ve türüne ve oksijen miktarına bağlı değişim göstermektedir.

b) Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ): Mikroorganizmaların etkisi olmadan, organik maddelerin yalnızca kimyasal oksidasyonu için gereken oksijen miktarıdır. KOİ bir atık su örneğindeki organik maddelerin kuvvetli bir kimyasal oksitleyici tarafından oksidasyonu sonucu harcanan oksijen miktarına eşdeğerdir.

Pratikte, sudaki kirlilik düzeyi genellikle biyokimyasal oksijen ihtiyacına göre belirlenmektedir. Süt endüstrisi yan ürünlerinin mikroorganizmalar tarafından parçalanması için çok yüksek miktarlarda oksijene ihtiyaç duyulmaktadır. Peynir altı suyu için BOİ ortalama olarak 44 g/litredir. Bu değerin kişi başına günlük ortalama su tüketiminin 100 litre ve biyokimyasal oksijen ihtiyacının yaklaşık 54 g olduğu durumda 1 litre peynir altı suyunun kanalizasyona dökülmesi sonucu oluşan kirlilik yükü, yaklaşık olarak bir kişinin bir günde harcadığı suyla ortaya çıkan atık miktarına eşdeğer olmaktadır. Bu hesap, yıllık olarak artık olarak kalan PAS'ı dikkate alarak değerlendirildiğinde bir yılda oluşan PAS'ın yaklaşık 70 000 nüfuslu bir yerleşim yerindeki su tüketimi ile meydana gelen kirliliğe eşdeğer kirliliğe yol açabileceği söylenebilir (Gürsel vd. 2007).

Belirtilen değerler süt yan ürünlerinin çevre kirliliği üzerinde önemli ölçüde etkili olduğunu ve parçalanmaları için ortamda fazla miktarda oksijen bulunması gerektiğini ifade etmektedir. Bu nedenle, süt yan ürünlerinin bileşiminde yer alan laktoz, protein, yağ ve mineral maddeler değerlendirilmeli, böylece geriye kalan en son artıkların oksijen ihtiyacı sudaki canlıların yaşamlarını etkilemeyecek bir hale getirilmelidir. Teknolojisi ileri ülkelerde, işletme temizliğinde kullanılan sular da dahil olmak üzere, süt fabrikalarında elde edilen yan ürünlerin hiçbir işleme tabi tutulmadan çevreye, akarsulara atılması yasaklanmıştır. Bunun yanında farklı kullanım alanları geliştirilmesi söz konusudur.

3.3 PAS'ın Kullanım Alanları

İşlenen sütün yaklaşık % 70- 90'ını oluşturan PAS'da laktoz, azotlu maddeler ve mineral maddeler yer alması itibariyle genellikle peynir altı suyu tozu (PAST) haline getirilerek bisküvi, çikolata ve dondurma sanayiinde katkı maddesi olarak kullanılması söz konusudur.

Yüksek emülsiyon kapasitesi ve kararlılığı PAS proteinlerinin yağ oranı yüksek kremalarda, mayonezde, krem peynirde, et sosları ve salata sosları gibi ürünlerin üretilmesinde kullanılabilmektedir.

PAS'ların uygulama alanlarından bir diğeri de çiftlik hayvanlarının beslenmesinde doğrudan doğruya veya işlendikten sonra kullanılmasıdır. Kurutulmuş ve/veya konsantre edilmiş halde, PAS tozlarının daha uzun süre muhafaza edilebilmesi söz konusu olduğundan hayvan beslemede bu ürünler ön plana çıkmıştır. Bu grup ürünlerin en önemli dezavantajı, sıvı PAS'lara göre daha pahalı olmalarıdır (Kosikowski 1982). PAS, tarla ve merada gübre olarak değerlendirilme imkanları da araştırılmıştır. Ancak, PAS dikkatli ve kontrollu bir şekilde verilmediği taktirde; iklim, coğrafik yapı ve toprak özelliklerine bağlı olarak PAS'dan gelen mineral tuzlarıyla toprağın doymasına böylece tahıl ya da çayır otlarının zayıf ve cılız kalmasına yol açmaktadır. Bundan dolayı, PAS'ın çayırlara veya ilkbahar mevsimi gibi yağışların bol olduğu dönemlerde toprağa verilmesinin doğru olacağı belirtilmektedir.

Peynir altı suyundan içecek eldesi üzerine bir çok çalışma, ülkemizde pek yaygın olmasa da, mevcuttur. Bu konuda yapılan çalışmalarda PAS'a değişik meyve aromaları ve/veya farklı gıda asitleri ilave edilerek çeşitli içecekler üretilmiş, bunların duyusal ve fiziksel özelliklerini geliştirilmesi çalışılarak elde edilen ürünlerin depolama stabiliteleri incelenmiştir. Ayrıca, protein ve karbonhidratça zengin olan PAS'ın tek hücre proteini ve mikrobiyel yağ üretimi için çok uygun bir substrat olduğu kaydedilmiştir (Yağcı vd. 2006).

3.4 PAS İçecekleri

PAS, sağlığa yararlı etkileri nedeniyle, cilt ve sindirim sistemi rahatsızlıkları, tüberküloz gibi bazı hastalıkların tedavisinde Antik Yunan çağından beri kullanılmaktadır. 18. yüzyılda PAS ile hastalıkların tedavisi için uzmanlaşmış enstitüler kurulmuş, PAS'ın besinsel ve tedavi edici özellikleri üzerine detaylı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. O dönemlerde İsviçre, Almanya ve Avusturya'da "peynir kürleri" denilen terimler

alışılagelmiştir. PAS ise diyare, safra hastalıkları, cilt problemleri, üriner bölgedeki pullanmalar ve bazı zehirlenmelerin tedavileri için başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Bu içeceklerin yüksek besinsel değerli yüksek miktardaki proteinleri nedeniyle sporcular için ideal besin ve enerji kaynağı olduğu bilinmektedir (Yerlikaya vd. 2010).

Peynir altı suyundan içecek üretimi 1970'li yıllarda başlamıştır. En eski peynir altı suyu içeceklerinden bir tanesi İsviçre'de üretilen Rivella'dır. Çizelge 3.1'de sunulduğu üzere Avrupa pazarında yer alan bazı PAS içeceklerinin bir kısmı alkollü diğer kısmı da alkolsüz olacak şekilde üretildiği bilinmektedir. Sadece Almanya'da ticari olarak piyasada 15 çeşit alkolsüz PAS içeceği bulunmaktadır. Bu amaç için, daha ziyade rennet PAS kullanılmaktadır (Bakırcı vd. 2006).

Çizelge 3.2 Avrupa pazarında yer alan bazı peynir altı suyu içecekleri (Bakırcı vd. 2006)

Ürün ismi	Orijin ülke	Karakteristikler/Bileşim
Frusighurt	Almanya	Meyve/turunçgil ilaveli PAS
Big M		Aromalandırılmış ve E-vitaminince zenginleştirilmiş PAS
Mango Molke-Mix		Mango ekstraktı ve bifidobakter eklenmiş PAS
Frucht-Molke (Immense)		Siyah frenk-üzümü veya % 25 oranında 10 meyvenin karışımı (portakal, ananas, kayısı, muz, egzotik meyveler, mango, erik ve turunçgil) eklenmiş PAS
Kur-Molke		Elma veya portakal/maracuja ekstraktı eklenmiş PAS
Molken Frucht Nektar		PAS + % 25 portakal/maracuja konsantresi
Multivitamin-Molke		PAS + 10 meyve ekstraktı + 10 vitamin
Rivella	İsviçre	Su, PAS, karbon asidi, şeker, doğal aromalar, asitlendirici ajan (L-laktik asit)
Sureli		% 35 temiz, proteinize, karbonatlı PAS
Fit		Rivella benzeri içecek, fakat karbonatlı PAS'a %15 meyve pulpu veya mango ekstraktı ilaveli
Latella	Avusturya	PAS + mango + maracuja ve meyve pulpu/turunçgil ekstraktı
Morea	Fransa	PAS konsantresi + % 40 mango, kivi ve egzotik meyve ekstraktı
Djoez	Norveç	% 80 PAS + % 12,8 meyve konsantresi + aroma
Taksi		% 85,3 PAS + % 6,3 meyve konsantresi + renklendirici ajan
Hedelmatarha	Finlandiya	Laktozu hidrolize PAS + meyveler (mango veya egzotik meyve karışımı)
Fanna-fitt	Macaristan	% 80 ultrafiltre tatlı PAS fermente edilerek meyve ekstraktları (mango, ananas, çilek) 2. Ultrafiltrasyondan sonra karıştırılmaktadır
Lambada	Slovenya	Pastörize PAS'a % 3 meyve şurubu, şeker ve gerektiğinde sitrik asit ilave edilmektedir. Uygun 8 farklı aroma (egzotik, kivi, kayısı, ananas, limon, portakal, mango) eklenmektedir.

Alkollü içeceklerde; laktoz, peynir altı suyu kuru maddesinin ana bileşeni (% 70) olduğu için, peynir altı suyu alkollü içeceklerin üretimi için çok iyi bir materyaldir. Düşük alkollü (≤ % 1,5) içecekler olarak adlandırılan alkollü PAS içecekleri, laktozun direkt fermentasyonu (genellikle *Kluyveromyces fragilis* ve *Saccharomyces lactis* gibi maya türleri ile) veya istenen alkol seviyesine (% 0,5 - 1,0) ulaşana kadar sakkaroz ilavesi, aromalandırma, tatlandırma ve ambalajlama aşamalarından oluşmaktadır. Böylece, mevcut laktoz miktarı laktik aside dönüşmekte, kalan fermentler alkole dönüşürken bu son ürüne serinletici ekşi tat vermektedir.

PAS birası malt ilaveli veya ilavesiz olarak üretilebilmekte olup bu ürün minerallerle zenginleştirilebilmekte veya nişasta hidrolizatları ve vitaminler içerebilmektedir. PAS şarabı, nispeten düşük alkol miktarına (% 10-11) sahiptir ve genellikle meyve aromaları ile aromalandırılmaktadır. PAS şarabı üretimi; temizleme, deproteinizasyon, laktoz hidrolizi, tortusundan arındırılarak aktarım ve soğutma, mayaların eklenmesi ve fermantasyon, aktarma, olgunlaştırma, filtreleme ve şişeleme aşamalarını kapsar (Yerlikaya vd. 2010).

3.5 Kefir ve Fermentasyon

3.5.1 Kefir

Kefir, Kuzey Kafkasya orijinli fermente süt ürünüdür. İnek, koyun ve keçi sütünden serinlemek amacıyla yapılan bu ürünün tarihçesi hakkında çok fazla bilgi yoktur. Kefir Kafkasya'da kefir danesi ile yapılmıştır. Keçi, sığır tulumu veya işkembesi içine konan taze süt, burada kefir danesindeki mikroorganizmaların etkisiyle kendiliğinden pıhtılaştırılarak yazın evin dışında, kışın ise içinde bırakılırdı. Buradan fermente süt alınır ve içilir; tulumun içine tekrar taze süt katılırdı (Weis ve Burgbacher 1986, Assadi vd. 2000, Irigoyen vd. 2005, Tada vd. 2007, Sarkar 2008). Halen kefir, çok fazla miktarda Birleşik Devletler Topluluğu'nda bunun dışında Almanya, Macaristan, Polonya, İsveç ve diğer bazı ülkelerde ticari olarak yapılmaktadır. Birleşik Devletler Topluluğu'nda 1988 yılında 1.206.000 ton kefir üretildiği bildirilmiştir.



Şekil 3.2 Kefir danesi (Otles ve Cagindi 2003)

Kefir; uçucu yağ asitleri, karbondioksit, etil alkol gibi fermentasyon ürünlerini içeren, şekil 3.2'den de görülebileceği gibi beyazımtırak renkte, karnıbaharı andırır şekilde ve genellikle bezelye veya fındık büyüklüğünde tanelerden meydana gelen koyu kıvamda ve kendine özgü ferahlatıcı maya tadıyla karakterize edilen fermente bir süt içkisidir (Korovkina vd. 1978, Alpkent ve Küçükçetin 2000, Güzel-Seydim vd. 2005, Karagözlü vd. 2007, Chen vd. 2008).

16.02.2009 tarih ve 27143 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre ise; "Fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus* kefiri, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir danelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü" olarak tanımlanmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (2009/25) kapsamında tanımlanan fermente süt ürünlerinin özellikleri çizelge 3.3'de sunulduğu gibi olup, deney aşamasında elde edilen veriler bu çizelgeye göre değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.3 Fermente süt ürünleri özellikleri (Tebliğ 2009/25 Ek-2)

	Fermente Süt Ürünü	Yoğurt	Asidofiluslu Süt	Ayran	Kefir	Kımız
Süt Proteini (Kütlece %)	En az 2,7	En az 3,0	En az 2,7	En az 2,0	En az 2,7	-
Süt Yağı (Kütlece %)	En fazla 10	En fazla 15	En fazla 15	-	En fazla 10	En fazla 10
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	En az 0,3	En az 0,6 En fazla 1,5	En az 0,6	En az 0,5 En fazla 1,0	En az 0,6	En az 0,7
Etanol (% hacim/ağırlık)	-	-	-	-	-	En az 0,5
Toplam Spesifik Mikroorganizma (kob/g)	En az 10^7	En az 10^7	En az 10^7	En az 10^6	En az 10^7	En az 10^7
Etikette Belirtilen Toplam İlave Mikroorganizma (kob/g)	En az 10^6	En az 10^6	En az 10^6	En az 10^6	En az 10^6	En az 10^6
Mayalar (kob/g)	-	-	-	-	En az 10^4	En az 10^4

3.5.2 Kefir danesinin mikrobiyal florası

Kefir danesinde; torula mayaları, *Saccharomyces*, *Streptococcus cremoris*, *Betabacterium caucasium* gibi mikroorganizmalar bulunur. Bunların faaliyeti sonucu süt asidi, etil alkol ve karbondioksit meydana gelir. Kefir danesi içerisinde bulunan mikroorganizmalardan bazıları süt şekerini parçalayarak süt asidi meydana gelir ve süt pıhtılaşır. Mikroorganizmalardan bazıları ise karbondioksit ve etil alkol meydana getirirler. Fermantasyon sonucu kefir adı verilen hafif ekşimsi, köpüklü, alkollü ve

yoğurt kıvamında bir süt içkisi ortaya çıkar. Kefir yapımında inek, koyun, keçi, manda sütleri yağlı veya yağsız olsun kullanılabilir (Marshall ve Cole 1985, Engel vd. 1986, Angula vd. 1993, Garrote vd. 2001, Beshkova vd. 2002, Karagözlü 2003, Garcia-Fontan vd. 2005, Simova vd. 2006, Chen vd. 2008).

Koroleva (1988) kefir danesindeki mikroorganizmaları şöyle bildirmiştir:

- Mesofil homofermantatif streptokoklar: *Streptococcus lactis* subps. *cremoris*, *Streptococcus durans*
- Laktobasiller: *Lactobacillus brevis*, *Laactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus kefyr*, *Lactobacillus casei*
- Lökonostroklar: *Leuconostoc masenteroiddes* subps. *Dextranicum*
- Asetik asit bakterileri: *Acetobacter acceti*, *Acetobacter ranens*
- Mayalar: *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefyr*.

Koliform bakteriler doğal olarak kefir mikroflorası tarafından inhibe edilirler. Shigella ve Salmonella gibi patojen mikroorganizmalar kefir saf kültürü ile birlikte üreyemezler.

Çizelge 3.4 Kefirin mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar (Witthuhn vd. 2005)

Mikroorganizma Grubu	**Mikroorganizma çeşidi**	**Bulunma Oranı**
Laktobasiller	*Lactobacillus acidophilus*	10^6- 10^9 kob/g
	L. delbrueckii subsp. bulgaricus	
	L. helveticus	
	L. lactis	
	L. casei	
	L. brevis	
	L. buchneri	
	L. kefyr	
Koklar	*Streptococcus lactis*	10^6 kob/g
	S. lactis subsp. cremoris	
	S. lactis subsp. diacetylactis	
	S. durans	
	Leuconostoc kefyr	
	L. mesenteroides	
Asetik asit bakterileri	*Acetobacter aceti*	10^3-10^4 kob/g
	A.rasens	
Mayalar	*Candida kefyr*	10^6-10^8 kob/g
	C. pseudotropicalis	
	C. valida	
	Kluyveromyces fragilis	
	K. marxianus subsp. marxianus	
	K. lactis	
Mayalar	*K. bulgaricus*	10^6-10^8 kob/g
	Sacchoromyces unisporus	
	S. cerevisia	
	Candida tenuis	
	Candida kefyr	
	Torulaspora delbrueckii	
Lökonostoklar	*Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*	

3.5.3 Fermentasyon

Mayalanma ya da fermantasyon, bir maddenin bakteriler, mantarlar ve diğer mikroorganizmalar aracılığıyla, genellikle ısı vererek ve köpürerek kimyasal olarak çürümesi olayıdır. Fermantasyon anaerobik şartlarda, yani oksidatif fosforilasyon olamadığı durumlarda, glikoliz yoluyla AdenozinTriFosfat (ATP) üretimini sağlayan önemli bir biyokimyasal süreçtir.

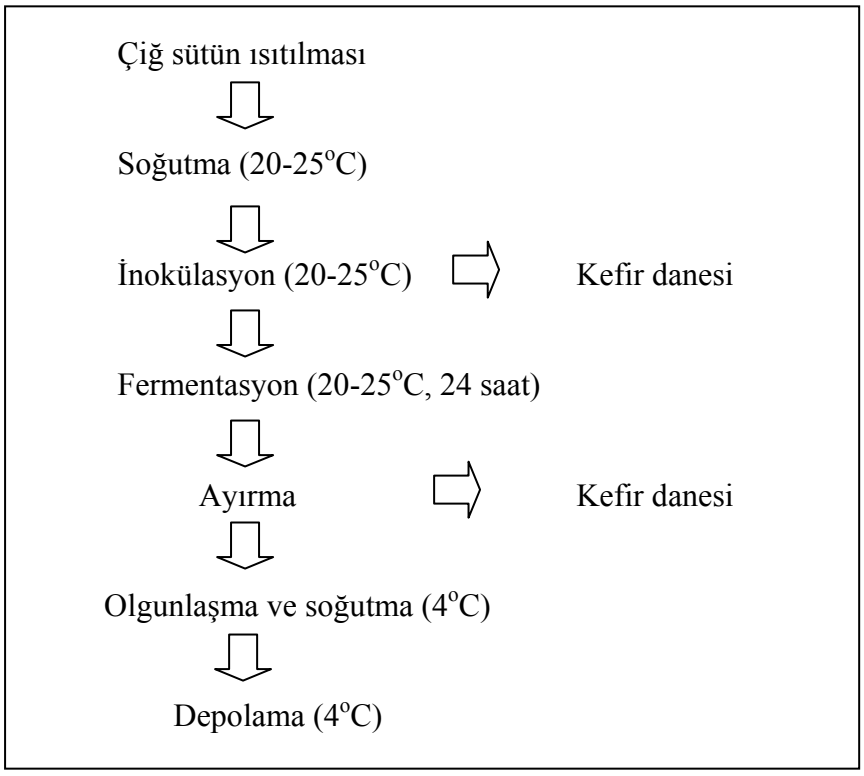
Fermantasyonda glikoz (veya başka bir bileşik) hidrojenlerini teker teker kaybederek enerji üretimini sağlar. Oksijen olmadığı için bu parçalanma sonucunda ortaya çıkan basit organik bileşikler hücrenin kullanabileceği nihai elektron alıcısı ve hidrojen alıcıları olurlar. Fermantasyonun son adımı (pirüvatın fermantasyon ürünlerine dönüşmesi) enerji üretmese dahi, bu süreç anaerobik bir hücre için önemlidir çünkü glikozun pirüvata dönüşmesi sırasında harcanan nikotinamit adenin dinükleotit'in (NAD^+) yenilenmesini sağlar; glikolizin devamı için bu gereklidir. Örneğin alkol fermantasyonunda pirüvattan oluşan asetaldehit, $NADH + H^+$ tarafından etanola dönüşür, bu da hücreden dışarı atılır.

Fermantasyon terimi biyokimyada oksijen yokluğunda enerji üreten reaksiyonlar için kullanılmasına karşın, gıda sanayiinde daha genel bir anlam taşır, mikroorganizmaların oksijen varlığında yaptığı parçalama reaksiyonlarını da kapsar (sirke fermantasyonu gibi). Biyoteknolojide bu terim daha da genel kullanılır ve büyük tanklarda büyütülen mikroorganizmalara yaptırılan her türlü üretime (proteinler dahil) fermantasyon denir (Anonim 2010c).

3.5.4 Geleneksel kefir üretimi

Geleneksel kefir üretimi süte direk olarak kefir danesi ilave edilerek yapılmaktadır. Çiğ süt 85 – 90°C'de 20 dakika ısıtılır, 20 – 25 ^oC'ye kadar soğutulur ve kefir danesi % 2 – 10 (genellikle % 5) oranında ilave edilir. 20 – 25^oC'de 18 – 24 saat fermantasyona

bırakılır. Daha sonra süt süzgeçten süzülerek kefir danesi ayrılır. Kefir 4°C'de depolanır ve tüketime sunulur. Kefir danesi ise oda sıcaklığında kurutulur ve bir dahaki inokülasyona kadar soğukta (+4°C'de) muhafaza edilir (Şekil 3.3). Daha uzun süre saklanacaksa liyofilize edilir ya da dondurulur. Kefir danesi ıslak olarak 4°C'de, kuru olarak da oda ısısında 36 – 48 saat saklanabilir. Islak kefir danesinin aktivitesini 8 – 10 gün, kurutulmuş kefir danesinin 12 – 18 ay sürdürdüğü belirtilmiştir. Optimal üretim koşullarında kefirin de 1 hafta dayandığı bildirilmiştir (Garrote vd. 1998, Karagözlü ve Kavas 2000).

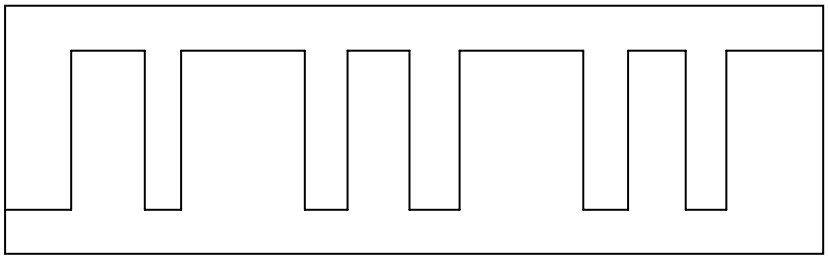


Şekil 3.3 Geleneksel kefir üretiminin şematik gösterimi

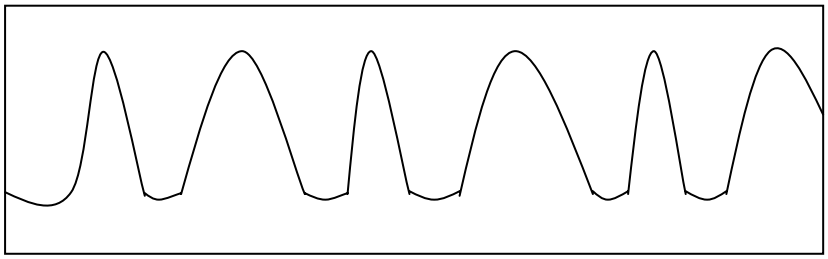
3.6 Kontrol Yöntemleri ve Uygulamaları

3.6.1 PRBS etki ve Bierman algoritması

Belirli periyotlarla tekrarlanmak üzere uygulanır. Geniş spektruma sahip olması itibariyle tercih edilmiştir. Değeri önceden bilinen, gürültüsüz özelliktedir.



(a)



(b)

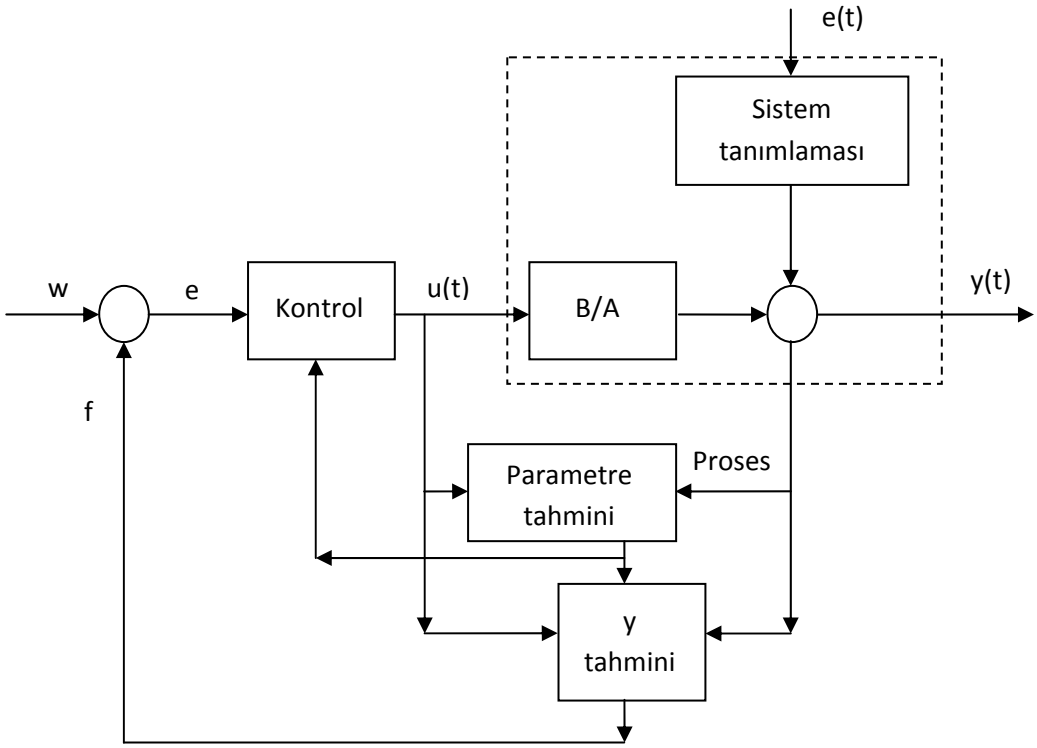
Şekil 3.4.a. PRBS etki, b. cevabı

Sistemin ayarlanabilen değişkenine uygulanan şekil 3.4.a'daki gibi PRBS sinyalinin büyüklüğü, proses işletim şartlarına bağlı olmalıdır. Böylece hesaplanan model parametreleri de bu işletim aralığında olacaktır.

3.6.2 Genelleştirilmiş Tahmin Edici (GPC) kontrol

GPC kontrol yönteminde birkaç örnekleme zamanı dikkate alınarak tahmin gerçekleştirilmekte, bunun için de gelecek kontrol değerleri kullanılmaktadır. GPC ile değişen parametre içeren prosesler, kararlı olacak şekilde kontrol edilmektedir. Belli

aralıklarda model derecesi değişen sistemler için GPC kontrol sisteminin iyi çalışması açısından ilgili aralığın girdi ve çıktıları alınarak sistem tanımlanmaktadır.

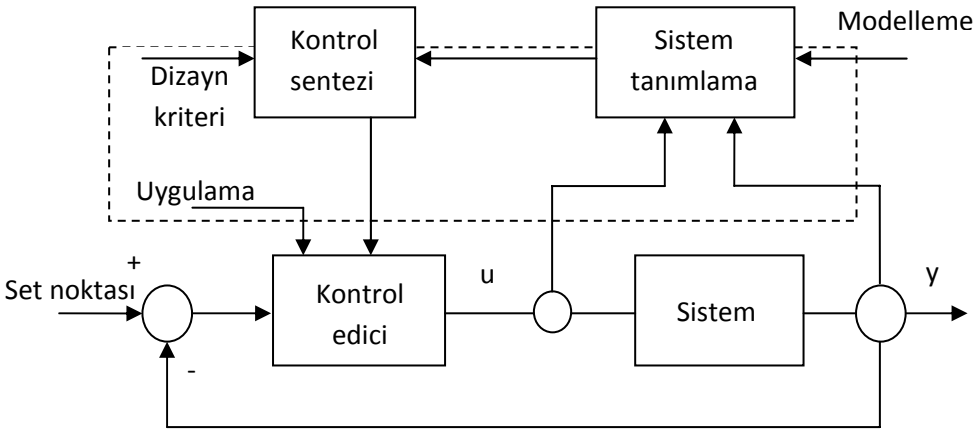


Şekil 3.5 GPC kontrol sisteminin blok diyagramı

3.6.3 Self-Tuning PID kontrol

Bir adaptif kontrol mekanizması olan Self-Tuning PID kontrol mekanizması, doğrusal ve doğrusal olmayan prosesler için modeller tasarlanmaktadır. Kendinden ayarlamalı kontrol mekanizması, parametre tahmin edici ile otomatik kontrol sistemlerini bir arada bulunduran bir kontrol mekanizmasıdır. Bu tip bir kontrolde önce kontrol edilen sistem için bir model (doğrusal veya doğrusal olmayan) belirlenir. Bu modelin yapısı model parametrelerinin polinom mertebesi ile açıklanmaktadır. Kullanılan Self-Tuning PID mekanizması için, geri beslemeli kontrol sistemlerinden farklı olarak çıkış değişkeninin varyansının minimum olması şartı istenmektedir.

Kendinden ayarlamalı kontrol mekanizması iki basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamakta, sisteme giren ve çıkan değişkenlerin ölçülmesi ve bunun bir sistem modeli oluşturmak üzere kullanılması, ikinci basamakta ise, kendinden ayarlamalı kontrol mekanizmasının kullanılması söz konusudur (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Self-Tuning PID kontrol sisteminin blok diyagramı

4. MATERYAL ve YÖNTEM

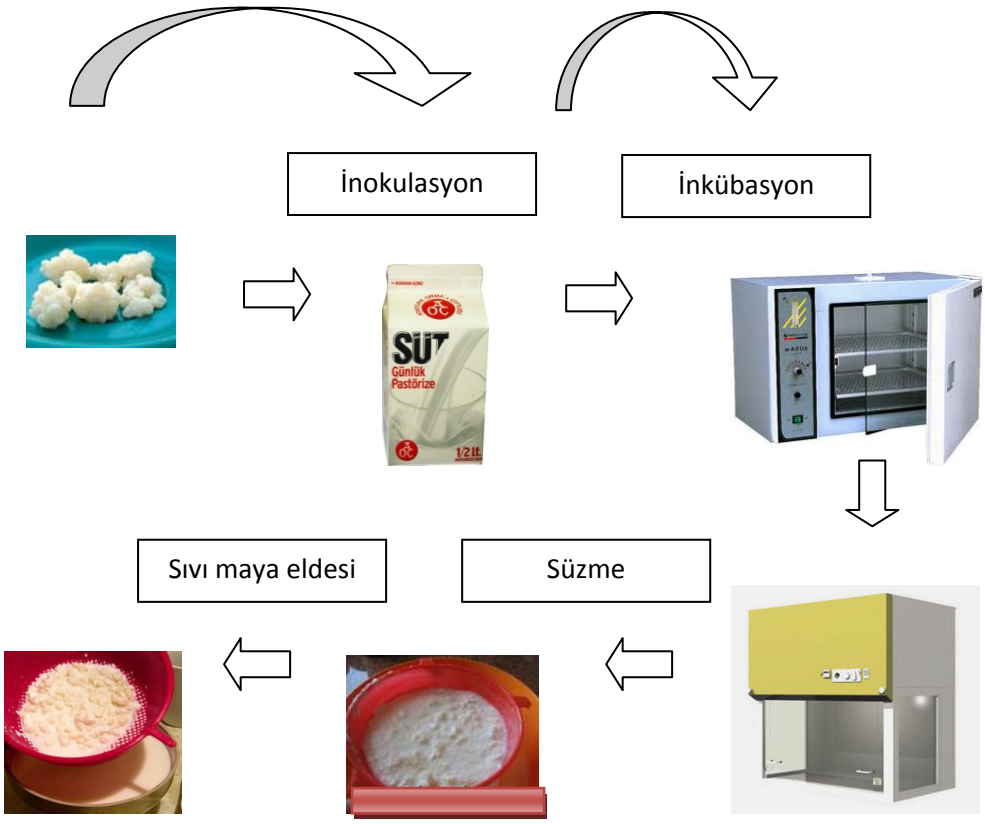
4.1 Kefir ile Sıvı Maya Hazırlanması

Bu çalışmada sıvı maya elde etmek üzere, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümünden temin edilen kefir daneleri kullanılmıştır. Kefir daneleri ile, biyotepkimenin optimum koşullarını belirlemek üzere yapılan ön denemelere Bölüm 4.2'de değinilecektir.

Öncelikle sıvı maya temini için geleneksel yöntem ile kefir üretimi gerçekleştirilmiştir. Bunun için; kefir taneleri, pastörize edilmiş 25°C'daki (oda sıcaklığı) ½ L AOÇ marka günlük süte inoküle edilerek yaklaşık 8 saat aynı sıcaklıkta inkübatörde inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda jel (yeni tutmuş yoğurt kıvamı) kıvamındaki karışım süzgeçten geçirmek suretiyle kefir daneleri ile sıvı kısmın ayrılması sağlanmıştır. Sıvı kısım (olgunlaşmamış kefir), kesikli biyoreaktörde fermentasyon ile kefir-tipi içecek üretilirken maya olarak kullanılmıştır. Biyotepkime için maya olarak kullanılan olgunlaşmamış kefir, 4°C'de en fazla 15 gün saklanmıştır.

Ayrılan kefir daneleri bir sonraki mayalama için, saf su içinde 4°C'de 2-15 gün süreyle saklanmıştır. Şayet kefir daneleri uzun süre kullanılmayacak ise danelerin üzerini örtecek kadar pastörize süt konulmak suretiyle kapalı bir biçimde -18°C'de derin dondurucuda saklanmıştır. Ancak derin dondurucudan çıkarıldıktan sonra kefir danelerinin aktif hale getirilmesi için 2-3 defa süt ile mayalanması gerekmiştir.

Yapılan çalışmaların akış diyagramı şekil 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.1 Geleneksel yöntem ile olgunlaşmamış kefir (sıvı maya) eldesinin aşamaları

4.2 Biyotepkime Koşullarının Belirlenmesi

Optimum koşulları belirlemek için, literatürde izlenen yollardan biri olan ve parametrelerden birinin değişen değerlerinde diğer parametrelerin sabit tutulduğu, "aktif deneyleme" metodu kullanılmıştır. Başka bir deyişle, kesikli olarak işletilen karıştırmalı bir biyoreaktörde havalı koşullarda kefir-tipi içecek üretmek üzere, uygun işletim koşullarının optimum değerlerinin belirlenmesi deneysel olarak gerçekleştirilmiştir.

Optimizasyon çalışmaları üç aşamalı olacak şekilde; steril kabinde hazırlanmış besiyerleri kullanılarak 250 ml'lik erlenlerde ve uygun şartlara göre ayarlanmış bir inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerin sonucunda biyoreaktörde yapılacak deneyler için uygun koşulların tahmini gerçekleştirilmiştir.

Birinci optimizasyon için bağımlı değişken olarak pH, ağırlık, tüketilen laktoz oranı (titrasyon asitliği), bağımsız değişken olarak da sıcaklık ve inkübasyon süresi alınmıştır. Bunun için geleneksel yöntem ile üretilen Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Eğitim-Araştırma-Uygulama İşletmesi'nden temin edilen kefir danesinden elde edilen kefir mayası AOÇ marka günlük süte kütlece % 1 oranında aşılanarak karıştırmasız ortamda 25°C, 30°C ve 26°C sıcaklıklarda farklı zaman aralıklarında ve bu aralıklara bir önceki deney sonucuna göre karar verilmek suretiyle inkübasyona tabi tutulmuştur. Böylece deney için uygun sıcaklık belirlenmesi amaçlanmıştır.

İlk olarak 25°C sıcaklıkta 12 saat, 18 saat, 24 saat ve 36 saat için hazırlanan örneklerin belirtilen süre sonundaki pH değerleri ile analizlenen titrasyon asitlikleri değerleri çizelge 5.1 ve şekil 5.1- 5.2'de sunulmuştur. Yapılan deney setinde 36 saat sonunda alınan örnekte yoğun kötü koku olduğundan bu sürenin bozulmaya neden olacak kadar uzun olduğu kanısına varılmıştır. Bu nedenle ikinci deney setinde 30°C sıcaklıkta karıştırmasız ortamda 8 saat, 10 saat, 12 saat, 14 saat, 17 saat ve 24 saat için hazırlanan örneklerin bu süreler sonundaki pH değerleri ile analizlenen titrasyon asitlikleri değerleri çizelge 5.2 ve şekil 5.3- 5.4'de sunulmuştur. Yapılan bu deney setinde sıcaklığın artması ile kötü koku da arttığından bozulmanın daha çabuk olduğu kanısına varılmıştır. Bu nedenle yeni planlanan deney setinde düşük sıcaklık (26°C) ve sürede (6 saat, 8 saat, 10 saat, 12 saat, 14 saat, 16 saat) işlemlerin tekrarlanmasının uygun olacağı değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 5.3 ve şekil 5.5- 5.6'da sunulmuştur. En son gerçekleştirilen deney seti Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Eğitim-Araştırma-Uygulama İşletmesi'nden temin edilen kefir danesinden birinci mayalama sonrası elde edilen kefir mayasının aşılanması ile gerçekleştirilmiştir. Aynı deney seti birinci mayalamada kullanılan kefir danesinin ikinci defa mayalanması ile elde edilen kefir mayasının aşılanması suretiyle tekrarlanmış ve performansları karşılaştırılmıştır. Ancak önceki deney setinde 16 saat sonunda alınan örnekteki kötü koku nedeniyle bu deney setinde bu zaman aralığının da tekrarlanması tercih edilmemiştir. Bu deney setine ilişkin sonuçlar çizelge 5.4 ve şekil 5.7- 5.8'de sunulmuştur.

Literatür taramalarında ve 16.02.2009 tarih ve 27143 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe giren Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre Titrasyon Asitliği **(**Laktik asit olarak kütlece %) parametresi ile hangi deney süresinin uygun olacağı değerlendirilmiştir. Ayrıca literatür taramalarından peynir altı suyunu da içeren kefir tipi içeceğin 1 L karışımı için; 500 ml PAS, 100 ml siyah üzüm suyu, 10 g fruktoz/glikoz, 400 ml süt kullanıldığı anlaşılmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda ikinci optimizasyon çalışması; belirtilen miktarlarda hazırlanan karışıma aşılanacak kefir mayasının oranının (hacimce %) belirlenmesi için planlanmıştır. Dolayısıyla 26°C sıcaklıkta 8 saat boyunca karıştırmasız olarak işlemler gerçekleştirilmek suretiyle ortama eklenen maya oranında karışımdaki süt miktarı azaltılmıştır. Buna göre toplam 100 ml karışım olacak şekilde karışım; 50 ml PAS, 10 ml siyah üzüm suyu (AOÇ marka), 1 g glikoz, 40 ml sütten ibarettir. Bu deney setine ilişkin veriler çizelge 5.5 ve şekil 5.9- 5.10'da sunulmuştur.

Son olarak 8 saatlik deney süresi boyunca karıştırmanın hangi zamanda başlatılacağına karar verilmesi için bir deney seti planlanmıştır. Bu deney seti de 26°C sıcaklıkta toplam 8 saat olmak üzere ve % 1 maya oranında aşılama yapılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir. İlgili veriler çizelge 5.6 ve şekil 5.11- 5.12'de sunulmuştur.

4.3 Analitik ve Mikrobiyolojik İşlemler

Bu bölümde deneyler sonrasında elde edilen ürünlerin karşılaştırılması açısından gerçekleştirilen analitik ve mikrobiyolojik işlemlere yer verilmiştir. Analitik olarak gerçekleştirilen işlemler titrasyon asitliği ve protein tayininden ibaret olup mikrobiyolojik işlemler kapsamında farklı besiyerleri kullanılarak maya, küf ve *E.coli* değerleri tayin edilmiştir.

4.3.1 Titrasyon asitliği tayini

Süt ürünlerindeki asit miktarını tayin etmek o sütün fabrikada ısı işlemlerine dayanıp dayanamayacağını anlamak bakımından önemlidir. Bilindiği üzere asitliği fazla olan süt ürünlerinin ısıya dayanıklılığı da az olmaktadır. Bu nedenle tespit edilmesi Türk Gıda

Kodeksi ve ilgili Yönetmelikleri ile de öngörülen asitlik tayini için "Titrasyon metodları"ndan % laktik asit miktarının tespiti ile yapılmıştır (Anonim 1976, 2002).

Titrasyon asitliği tayininde numunenin pH' ını, fenol fetalin indikatörünün renk değiştirdiği, 8,3 pH'ya çevirmek için gerekli NaOH ile yarım dakika sabit kalabilen pembe renge kadar titre edilir. Titrasyonda harcanan N/10 NaOH miktarı (a) olarak alındığında a x 4 x 0,009 = % laktik asit veya (a x 4) / 2,5 = SH cinsinden sonuç vermektedir. SH asitlik derecesini % laktik asite çevirmek için 0,0225 faktörüyle çarpılır.

4.3.2 Protein tayini

Protein tayini için iki farklı yöntem deneylerin farklı safhalarında kullanılmıştır. Bu yöntemlerden Biüre yöntemi piyasada bulunan farklı markalı kefirler ile ilk ürünün protein değerlerinin karşılaştırılması açısından kullanılmıştır. Ancak sonrasında Türk Gıda Kodeksi kapsamında değerlendirme yapabilmek üzere, gıdalar için tercih edilen ve TSE Standartları kapsamında kabul görmüş bir yöntem olan Kjeldahl Yöntemi ile protein tayinleri gerçekleştirilmiştir.

4.3.2.1 Biüre yöntemi ile protein tayini

Protein tayini için kullanılan yöntemlerden biridir. Proteinlerdeki peptit bağlarının alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyonu sonucu oluşan mor rengin kolorimetrik olarak ölçümüne dayanmaktadır. Hazırlanan numuneler için analizler fotometri yöntemine dayalı olarak yapılmaktadır.

Kuvvetli alkali ortamda gıda maddelerindeki proteinler bakır bileşikleri ile reaksiyona girerek kırmızı-menekşe veya erguvan rengi (mor) bir bileşik oluştururlar. Oluşan rengin yoğunluğu ortamdaki protein miktarına bağlıdır. Biüre reaksiyonlarında karakteristik rengin oluşabilmesi için en az bir veya birkaç peptit bağı bulunmalıdır.

Ortamda proteinlerden başka herhangi bir organik bileşik kırmızı-menekşe rengi vermediğinden biüre reaksiyonu çok spesifiktir (Anonim 2009).

Ölçüm numuneleri hazırlanırken öncelikle kör ve standart numuneler hazırlanmıştır. Bunun için deney tüplerine ilk olarak $CuSO_4.5H_2O$, NaK tartarat.$4H_2O$ ve saf su ile hazırlanan biüre çözeltisi, sonrasında Na-deoksikolat çözeltisi, son olarak da BSA çözeltisi ile protein değeri ölçülecek olan örnekler konulmuştur. Ardından H_2O konularak numuneler vortekslenmiş ve su banyosuna alınmıştır. Renginin mora dönüştüğü gözlenen örneklerin protein tayini, UV fotogrametre (UV-1700 Shimadzu) ile ölçülmüştür. Cihazda standart numunelerin okunan değerleri ile kalibrasyon grafiği çizilmiş, böylelikle protein değeri ölçülmek istenen numunelerin okunan değerlerine göre protein miktarları hesaplanabilmiştir.



Şekil 4.2 Biüre yöntemi ile protein tayini

Piyasayada bulunan kefirlerin protein tayini için, kullanılan diğer yöntem ile karşılaştırma yapılabilmesi açısından, kullanılmıştır. Sonuçlar 5. Bölüm'de sunulmuştur.

4.3.2.2 Kjeldahl yöntemi ile protein tayini

Gıdalarda protein tayini için sıklıkla kullanılan ve gıdaların mevcut kalite standartlarına uygunluğunu belirlemek amacıyla gıdalardaki serbest azotun amonyum iyonuna çevrilmesi ile protein tayinine dayalı bir yöntemdir (Anonim 1976).

Kjeldahl Yöntemi; gıdalardaki organik azotun tayininde kullanılan, gıdanın bileşimindeki azotun katalizör ve sülfürik asit varlığında yaş yakma yöntemi ile amonyağa dönüştürülüp, amonyağın amonyum sülfat olarak tutulmasına dayanan bir yöntemdir. Yöntem 3 temel aşamada gerçekleşir (Gönül vd. 1996):

İlk aşama örnek içindeki organik maddelerin oksidasyonu ile azotun amonyum sülfat haline dönüştürülmesi aşamasıdır.

$$\text{Azotlu madde } (N_2) + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4 + SO_2 + H_2O + CO_2 \quad (4.1)$$

Bu reaksiyonda azotlu maddeler derişik sülfürik asit ile işleme tabi tutulmaktadır. Sürekli 420°C'da ısı uygulandığında SO_2, H_2O, CO_2 açığa çıkar. İşlem çeker ocakta yapılarak istenmeyen gazları zararlı etkileri ortadan kaldırılabilir. Ayrıca su trompu ile istenmeyen gazların bir kısmı suya verilir. İşlem çok uzun zaman aldığı için $CuSO_4$ ve K_2SO_4 içeren katalizörler kullanılabilir. Katalizör kimyasal reaksiyonu ve organik bileşiklerin oksidasyonunu hızlandırır. Katalizör, H_2SO_4'ün kaynama noktasını yükselterek yüksek sıcaklıkta reaksiyonun daha çabuk gerçekleşmesini sağlar.

İkinci aşamada, amonyum sülfat su ve NaOH ile ayrışarak önce NH_4OH daha sonra da NH_3 haline dönüştürülür.

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow 2NH_4OH + Na_2SO_4 \quad (4.2)$$

$$2NH_4OH \rightarrow NH_3 + NH_3 \quad (4.3)$$

$$NH_3+H_3BO_4 \rightarrow (NH_4)_3BO_3 \quad (4.4)$$

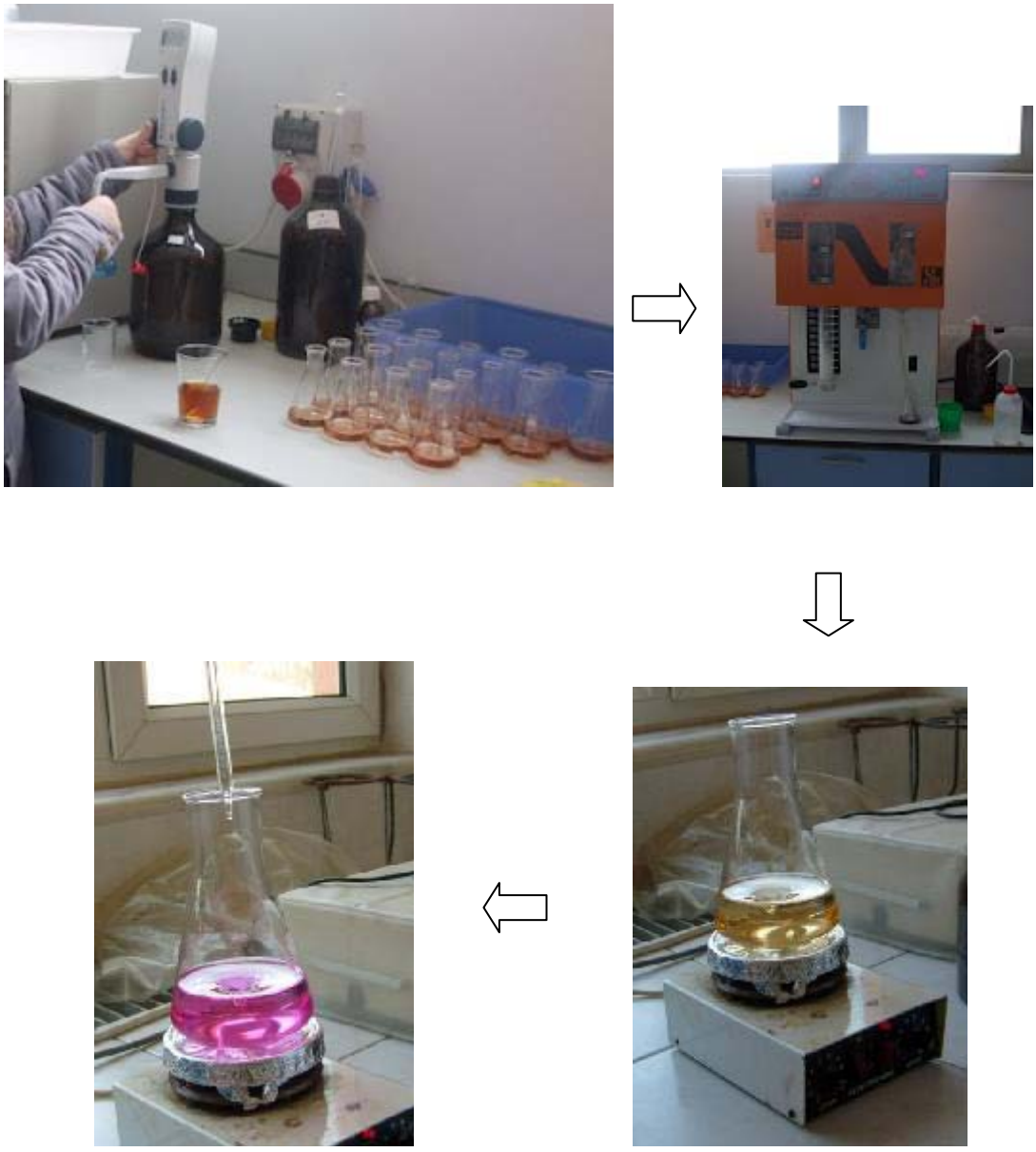
NH_3 ise zayıf asit içinde tutularak, Kjeldahl yakma ünitesinde tüm organik maddeler uzaklaştırıldıktan sonra örnek limon sarısı-yeşilimtrak bir renk almakta ve siyah renk tamamen kaybolmaktadır. Örnek, soğutulduktan sonra destilasyon ünitesine bağlanır ve üzerine 10 M NaOH ilave edilerek ardından destilasyona başlanır. Test tüpüne eklenen NaOH amonyağı amonyum sülfattan ayırır ve destilasyon yardımıyla ayrılan amonyak, % 4'lük borik asit içinde tutulur.

Son aşamada ise distilasyon ile elde edilen amonyak bir asitle (0,05 N HCl) ile titre edilir ve azot miktarı eşitlik (4.6) ile hesaplanır.

$$NH_4 + BO_2 + HCl \rightarrow NH_4Cl + HBO_2 \quad (4.5)$$

$$\%\text{Azot miktarı} = [(V_0-V_1) \times F \times 0{,}0014 \times 100] / m \quad (4.6)$$

Eşitlik (4.6)'da yer alan V_0 : tanık denemede harcanan 0,05 N HCl miktarının ml cinsinden değerini, V1 : örnek için harcanan 0,05 N HCl miktarının ml cinsinden değerini, F : titrasyonda alınan HCl çözeltisinin normalitesi (0,05 N HCl) ve m : analizi yapılan örnek miktarının g cinsinden değerini simgelemektedir. İşlem sonucunda bulunan değer 6,38 faktörü ile çarpıldığında süt ürünü için protein oranı belirlenmiş olmaktadır.



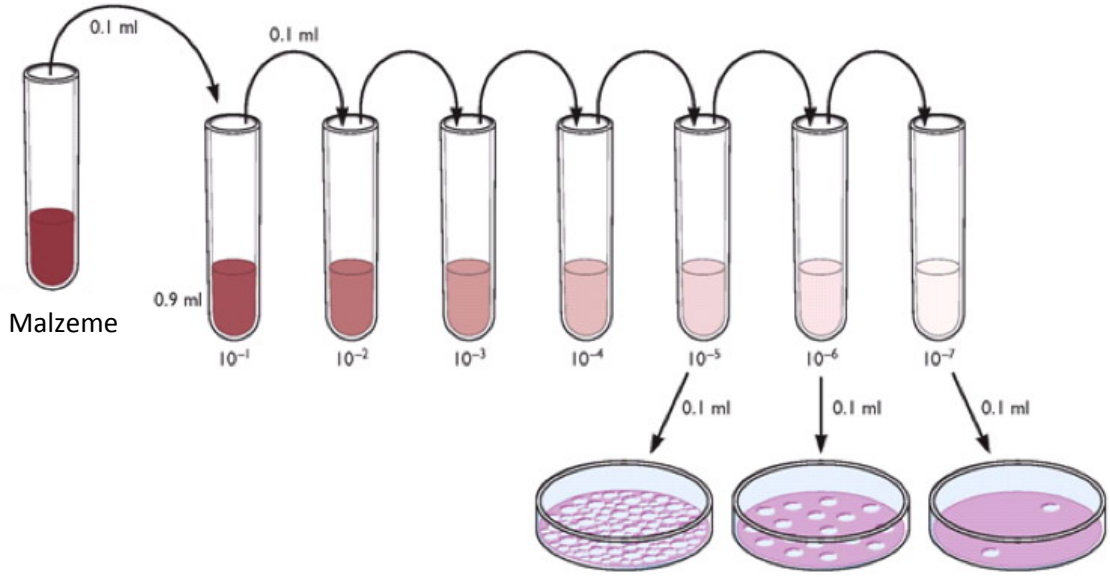
Şekil 4.3 Kjeldahl yöntemi ile protein tayini

4.3.3 Besiyerleri

Lactobacillus cinsi bakteriler için MRS Agar, *Lactococcus* cinsi bakteriler için M 17 Agar ve mayalar için YGC Agar kullanılmıştır. Sonuçlar Türk Gıda Kodeksi ve ilgili Yönetmelikleri kapsamında değerlendirilmiş olup kullanılan besiyerlerine ait malzeme güvenlik bilgi formları (MSDS) EK 4, EK 5 ve EK 6' da sunulmuştur (Atlas 1997, Anonim 2010a).

Bakteri sayımı için kullanılan besiyerleri ile farklı yöntemler kullanılarak sayım yapılması mümkündür. İstatistiksel bir kural olarak dökme ve yayma kültürel sayım yöntemlerinde bir petri kutusundaki koloni sayısının 30-300, damla kültür yönteminde ise her damlada 10-30 arasında bulunması gerekir. Örneğin 1 g yoğurtta 108 adet canlı bakteri olduğu varsayılırsa, 1 g yoğurdun doğrudan petri kutusuna alınması halinde 108 sayıda koloni oluşacaktır. Bu kadar fazla sayıda koloninin petri kutusunda sayılması olanaksız olduğundan bu gibi canlı mikroorganizma sayısı yüksek olan örneklerde sayım, bu tez kapsamında da kullanıldığı üzere, seyreltme (dilüsyon) tekniği ile yapılır (Atlas 1997, Halkman ve Ayhan 2000, Anonymous 2005).

Seyreltme tekniğinin esası, sayımı yapılacak malzemenin hücre sayısını bir seri seyreltme yaparak kademeli bir şekilde azaltmaktır. Bu amaçla genellikle 1:9 (10 misli) oranında seyreltme yapılır. Şekil 4.3'de yöntemin prensibi basit olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Seyreltme yönteminin şematik gösterimi

Şekil 4.4'de 1 nolu tüp, materyale göre 10 kez; 2 nolu tüp 1 nolu tüpe göre 10 kez, materyale göre 100 kez; 3 nolu tüp ise materyale göre 1000 kez daha az sayıda canlı

hücre içerecektir. Burada tüp numarası 10 üssü olarak materyale göre seyreltme oranını göstermektedir.

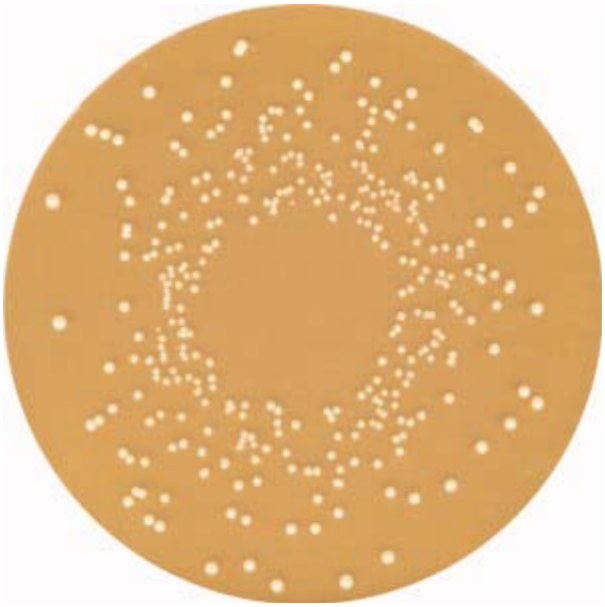
Özet olarak söylemek gerekirse, seyreltme tekniği ile bir seri tüp kullanarak tüplerdeki canlı hücre sayısı giderek 10'ar misli seyreltilmekte sayılabilecek kadar azalmaktadır. Nitekim seyretilen tüplerden dökme kültürel sayım yöntemi ile 1 ml alındığında, 1 nolu tüpten yapılan 1 ml ekim sonunda 5000, 2 nolu tüpten 500, 3 nolu tüpten 50, 4 nolu tüpten 5 koloni oluşması beklenir. Sonuç olarak seyreltmenin amacı petri kutusunda 30-300 arasında koloni elde edilecek şekilde ekimin yapılmasıdır.

4.3.3.1 *Lactobasillus* cinsi bakteri sayımı

Lactobasillus cinsi bakteriler başta yoğurt ve peynir olmak üzere süt ürünleri endüstrisinde starter kültür olarak kullanılmakla birlikte, çeşitli gıdalarda bozulma etmeni olarak ortaya çıkmaktadırlar. Bu nedenle 'gıdalarda istenmeyen mikroorganizmalar' olarak analizinin yapılması gerekmektedir.

Lactobasillus cinsi bakterilerin analizinde pek çok besiyeri bulunmakla beraber, MRS Broth ve MRS Agar en fazla kullanılan besiyerleridir. MRS Agar besiyeri *Lactobasillus* cinsi bakteriler için selektif olmakla birlikte, başta *E.coli* olmak üzere diğer bakteriler de bu besiyerlerinde gelişebilirler. *Lactobasillus* cinsi bakteriler Gram pozitif, çubuk şeklinde, mikroskopta ardı ardına ya da yan yana zincir formunda görülen, sporsuz ve katalaz negatif bakterilerdir.

MRS Agar besiyerinin bileşiminde pepton, et ekstraktı, maya ekstraktı, D (+) glukoz, dipotasyum hidrojen fosfat, diamonyum hidrojen sitrat, sodyum asetat, magnezyum sülfat, manganez sülfat, agar-agar mevcuttur. Dehidre MRS Agar besiyeri damıtık su içinde ısıtılarak eritildikten sonra otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklav sonrası 50°C'a soğutulan besiyeri steril petri kutularına dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsıdır (Şekil 4.4).



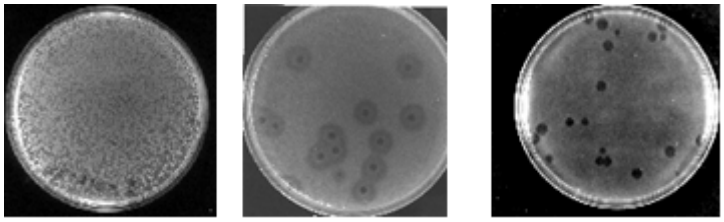
Şekil 4.5 MRS Agar üzerinde *Lactobacillus casei* bakterisi (Anonymous 2005)

Lactobacillus cinsi bakteri sayımı için ekim yapılan bu besiyerinde 28-30ºC'de 48-72 saat inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılmıştır.

4.3.3.2 *Lactococcus* cinsi bakteri sayımı

Laktozu metabolize edemeyen mutasyona uğramış bakteriler M 17 Agar besiyerinden izole edilebilmekte olup diğer benzer besiyerlerinden daha üstündür. Sadece laktik streptokokların gelişimi desteklenir.

Bileşiminde soya ve et peptonları, maya ekstraktı, et ekstraktı, laktoz, monohidrat, askorbik asit, sodyum β-gliserofosfat, magnezyum sülfat, agar-agar bulunmaktadır. Dehidre besiyeri ısıtılarak damıtık su içinde eritilir ve otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklavlama işlemi sonrasında 45-50°C'a soğutulup, steril petri kutularına dökülür. Hazırlanan besiyeri berrak ve kahverengidir (Şekil 4.5).



Şekil 4.6 M 17 Agar üzerinde *Lactococcus* bakteri fajları (Anonim 2010)

Lactococcus cinsi bakteri sayımı M 17 agar besiyerine ekim yapılmış 37ºC'de 48-72 saat inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılmıştır.

4.3.3.3 Maya sayımı

Maya ve küf belirlenmesi ve sayımı için kullanılan YGC Agar'ın bileşiminde maya ekstraktı, D (+) glukoz, kloramfenikol, Agar-agar bulunmaktadır. Dehidre besiyeri damıtık su içinde ısıtılarak eritilir. Otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilir ve 45-50°C'a soğuduğunda steril petri kutularına dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsıdır (Şekil 4.6- 4.7).



Şekil 4.7 YGC Agar üzerinde *Aspergillus niger* (Anonymous 2005)



Şekil 4.8 YGC Agar üzerinde *Saccharomyces cerevisiae* (Anonymous 2005)

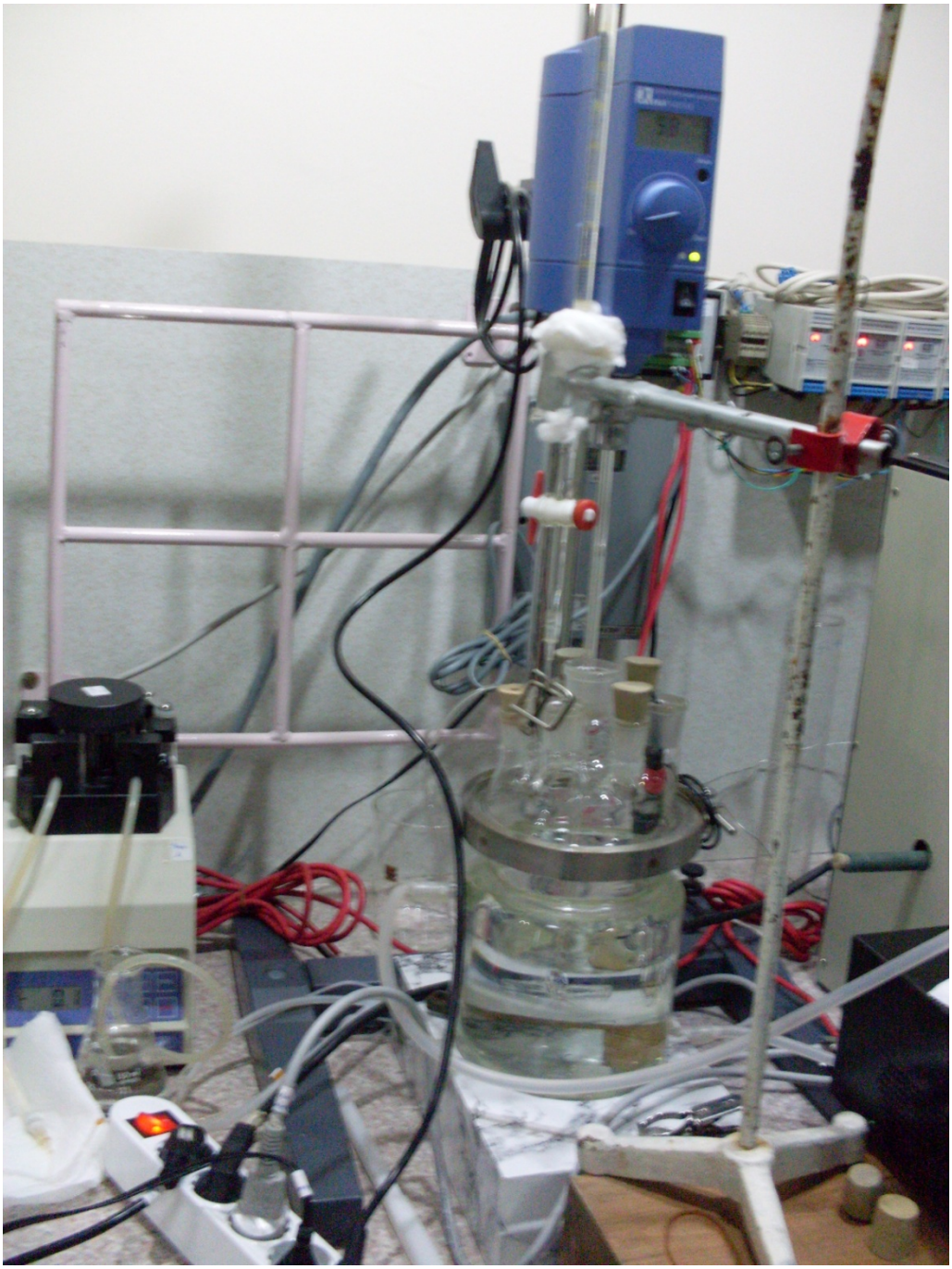
Maya sayımı YGC agar besiyerine ekim yapılmış 20-25ºC'de 96 saat inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılmıştır.

4.4 Deney Sistemi

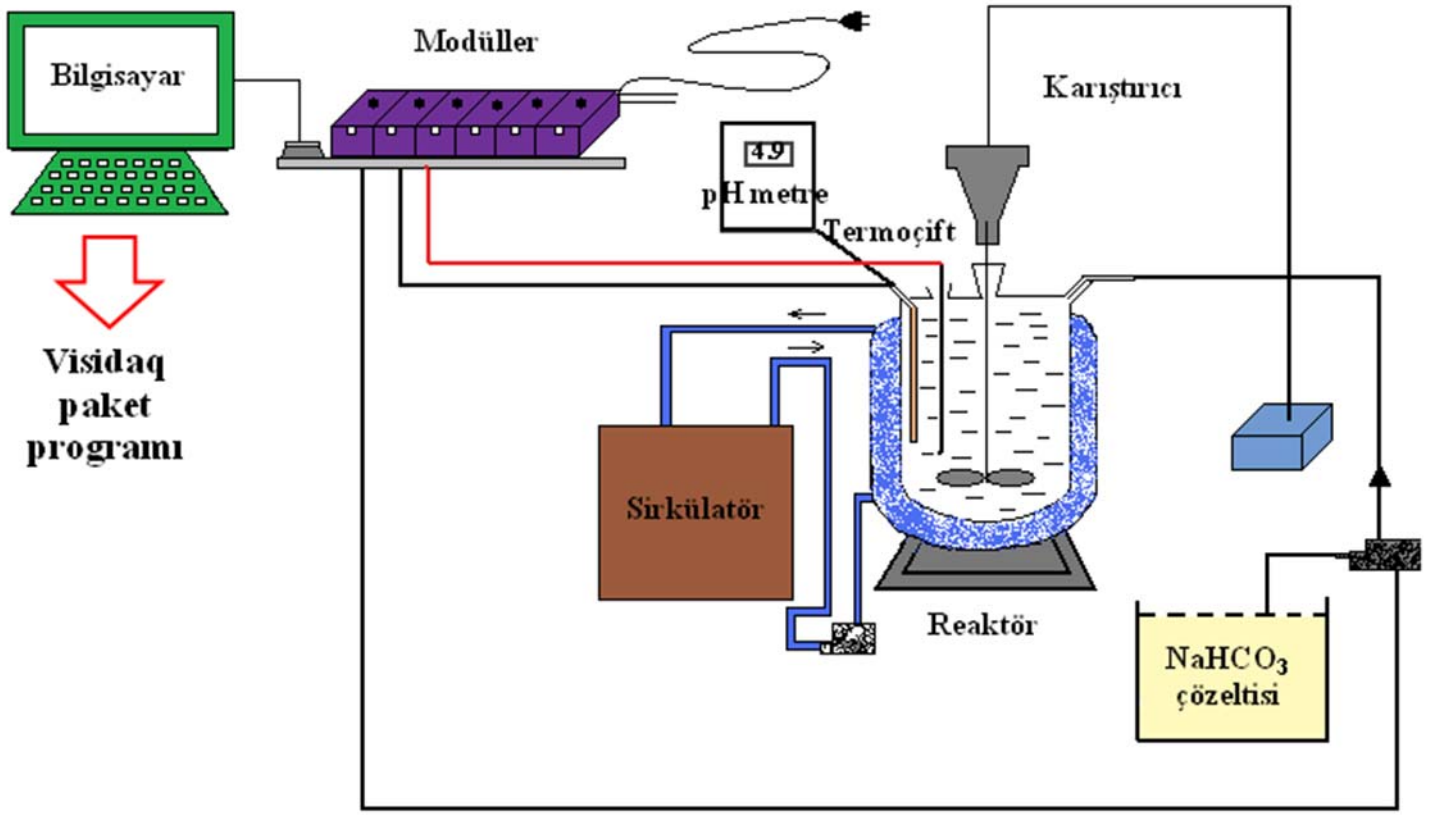
Çalışmada kullanılan deney düzeneği şekil 4.9'da verilmiştir. Sistem, biyoreaktör ve diğer ekipmanlar ile Visidaq paket programı olmak üzere iki bölümde ele alınmıştır.

4.4.1 Biyoreaktör ve diğer ekipmanlar

Laboratuar ölçekli deneyler için kesikli olarak işletilen 1 L hacminde, pyrex cam, soğutma ceketli bir biyoreaktör kullanılmıştır. Deneyler (biyotepkime) 700 ml mayalı ortamda gerçekleştirilmiştir. Karıştırma dört bıçaklı türbin tipte mekanik karıştırıcı ile sağlanmıştır. Biyoreaktörde deney süresinde çözünmüş oksijen derişimi, sıcaklık, pH gibi önemli parametreler on-line bağlı bir oksijenmetre, ısıl çift, pH değişimini göstermek için pHmetre gibi sensörler kullanılarak eş zamanlı izlenmiş ve kaydedilmiştir.



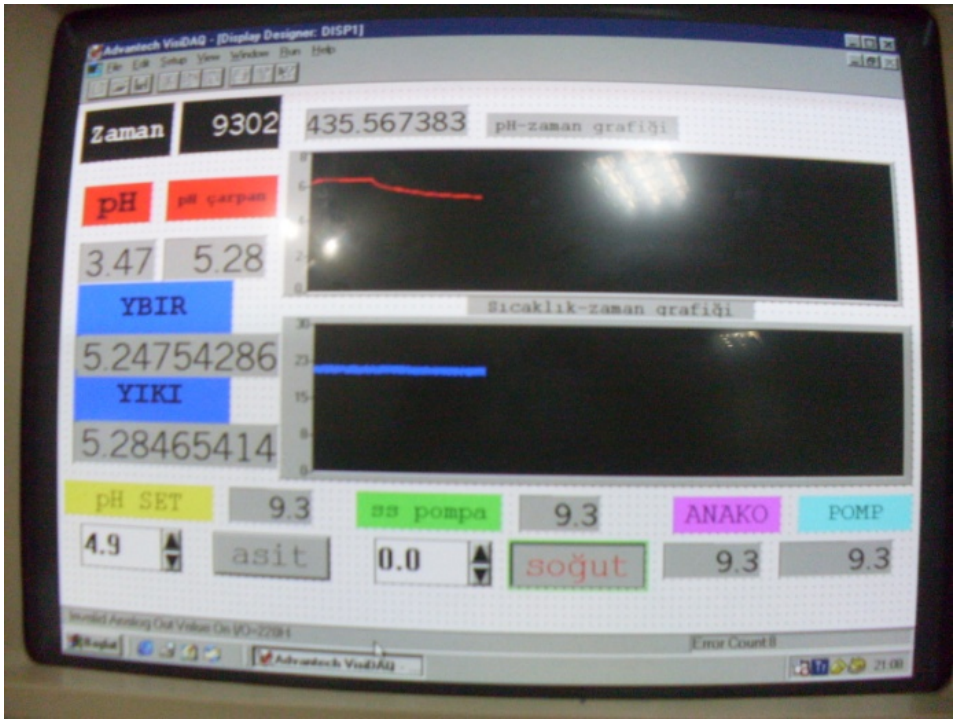
Şekil 4.9 Deney sistemi



Şekil 4.10 Deney düzeneği

4.4.2 Visidaq paket programı

Kontrol programı olarak Visual Basic dilinde yazılan Visidaq paket programı kullanılmıştır. Bu program içinde işlemlerin takip edildiği bir Display ekranı (Şekil 4.10) ile işlemlerin tesisini sağlayan Task Designer ekranı yanında başlangıç verilerinin kaydedildiği Pre-task Designer ekranını barındırmaktadır.



Şekil 4.11 Display ekranı

Task Designer, sistemin girdi ve çıktılarının tanımlandığı, verilerin kaydedildiği kutucukların yer aldığı, ayrıca kutucukları birbiriyle ilişkilendirmek için gerekli bağlantıların yapıldığı bölümdür. "AI" kutucukları sisteme giriş sinyallerini, "AO" kutucukları sistemden çıkış sinyallerini ifade etmektedir. Giriş ve çıkış sinyalleri ile ilgili düzenlemeler "SOC" kutucukları ile yapılmakta olup on-line işletimde dışarıdan parametre girişine izin veren tuşlar, ayrıca veri depolamaya yarayanlar başka kutucuklar da mevcuttur. Deney süresini izlemek ve kaydetmek üzere "ET" kutucuğu kullanılmaktadır. Giriş ve çıkış sinyalleri, zaman ve programda hesaplanan değerleri

kayıt etmek üzere her bir veri için "LOG" kutucuğuna bağlantı yapılması gerekmektedir. Kontrol algoritması Visual Basic dilinde oluşturularak "Basic Script" kutucuğuna kaydedilir. Display Designer, giriş ve çıkış değişkenlerini grafiksel ve/veya rakamsal olarak izlenmesi, ayrıca ekrana yerleştirilen tuşlar vasıtasıyla çıktılara müdahale edilmesinin söz konusu olduğu penceredir.

Bilgisayara on-line olarak sisteme bağlı kanallar vasıtasıyla gelen sinyaller, paket programda gerekli hesaplamaları yapılarak kullanılmaktadır. Böylece elde edilen çıkış sinyallerinin hesaplanan değerleri ve sistemin yanıtı anında ekranda rakamsal ve grafiksel olarak görüntülenebilmektedir. Ancak tüm bu verilerin doğruluğu açısından bağlantıların hatasız yapılması önem taşımaktadır.

4.5 Deney Yöntemi

4.5.1 Kalibrasyon çalışmaları

Deney sisteminde kullanılacak olan on-line pH probu ile asit pompasının kalibrasyonu yapılarak çalışma doğruları belirlenmiştir. Kalibrasyon işlemine ilişkin veriler 5. Bölüm' de sunulmuştur.

4.5.2 Asit-baz çalışmaları

Kullanılacak asit-baz çiftinin belirlenmesi amacıyla, literatür taramasının yanında yürürlükte olan Türk Gıda Mevzuatı çerçevesinde kullanılmasına izin verilen gıda katkı maddelerinden seçilmesine dikkat edilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda yaygın şekilde asit olarak sitrik asit, baz olarak da sodyum bikarbonat kullanılması bu asit-baz çiftinin tercih edilmesine zemin oluşturmuştur. Asit-baz derişimi belirleme çalışmalarında kullanılacak asit-baz hacminin, toplam reaksiyon hacminin (700 ml) %10'unu aşmamasına dikkat edilmiştir. Buna göre asit ve baz derişimleri, her birinin hacmi en fazla 35 ml olacak şekilde belirlenmiştir.

Kontrol deneylerinde kullanılacak asit-baz derişimi belirleme çalışmaları için; öncelikle reaksiyon kabı olarak kullanılan 250 ml'lik erlenlerde hazırlanmış besi ortamlarına 0,005 M, 0,01 M, 0,05 M, 0,1 M, 0,5 M, 1 M' lik sitrik asit çözeltileri küçük hacimler olarak eklenmiş ve pH grafikleri oluşturulmuştur.

Sonrasında 250 ml'lik erlenlerde hazırlanmış besi ortamlarına 0,01 M, 0,05 M, 0,1 M, 0,5 M, 1 M'lik sodyum bikarbonat çözeltileri küçük hacimler olarak eklenmiş ve pH grafikleri oluşturulmuştur, Asit çözeltisi derişim belirleme çalışmalarında 0,005 M derişim ile uygun sonuç alınamadığından aynı derişimdeki baz çözeltisi denenmemiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol deneylerinde kullanılacak derişimdeki asit-baz çiftine karar verilmiştir.

4.5.3 Dinamik çalışmalar

4.5.3.1 Açık-hat biyoreaktör işletimi

Kontrol çalışmaları öncesinde sistemin dinamiğini incelemek üzere biyotepkime ortamında dinamik deney gerçekleştirilmiştir. Kontrol edilen değişken olan pH'ın kullanılan yöntemlerden herhangi biri ile kontrol edilmemesi durumunda, zamanla değişimini incelemek suretiyle gerçekleştirilen dinamik deneyde diğer parametreler sabit tutulmuştur.

4.5.3.2 Biyoreaktörün dinamik analizi

Mikroorganizmanın ürettiği asit miktarının benzetimini yapmak için, yük değişkeni olarak mikroorganizmanın ortamdaki asit üretimi yerine asit akış hızı kullanılarak benzetim yapılmıştır. Gerçekleştirilen kontrolun etkinliği açısından asit akış hızının pH üzerine etkisini araştırmak için asit akış hızına basamak etkiler verilmiş ve pH değişimi incelenmiştir. Oluşturulan bu etkiler biyotepkime ortamında gerçekleştirilmiştir. Elde

edilen veriler kontrol çalışmaları için model parametrelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Model parametrelerinin belirlenmesi için Bölüm 4.5.4'te ayrıntılı şekilde anlatıldığı üzere işlemler gerçekleştirilmiştir.

4.5.4 Kontrol çalışmaları

4.5.4.1 Kontrol çalışmalarında kullanılan sistem modelleri

Sistem modellerinin parçalı ve bu nedenle parçalı zaman algoritması ile ifade edildiği kabul edilerek kontrol çalışmalarında kullanılmıştır. x(t) çıkış ve u(t) giriş parçalı zaman şekillerinde sunulmuştur. u(t) ve gürültüden bağımsız olan x(t) arasındaki ilişki, aşağıdaki doğrusal fark denklemi olarak ifade edilmiştir:

$$x(t) + a_1 x(t-1) + \ldots + a_{na} x(t-n_a) = b_0 u(t) + b_1 u(t-1) + \ldots + b_{nb} u(t-n_b) \quad (4.7)$$

Zaman gecikme operatörü olarak z^{-1} kullanılırsa;

$$z^{-1} x(t) = x(t-1) \quad (4.8)$$

x(t) : t anındaki x' in değeri
x(t-1) : t+Δt anındaki x' in değeri
x(t-i) : t+i.Δt anındaki x' in değeri temsil eder.

Eşitlik (4.7) parçalı zaman iletim fonksiyonu cinsinden aşağıdaki gibidir.

$$x(t) = \frac{B}{A} u(t) \quad (4.9)$$

Bu denklemde, A ve B polinomları z^{-1} olarak ifade edilecek olursa;

$$A(z^{-1}) = 1 + a_1 z^{-1} + \ldots + a_{na} z^{-n_a} \quad (4.10)$$

$$B(z^{-1}) = b_0 + b_1 z^{-1} + \cdots + b_{nb} z^{-n_b} \quad (4.11)$$

A polinomunun kökleri sistemin kutupları, B polinomunun kökleri ise sistemin sıfırlarıdır.

a) Yük değişkeni modeli

Yük değişkeni s(t), kendinden ayarlamalı (self-tuning) kontrol sistemine sistemin bir parçası veya kontrol edilen prosesteki çıkış değişkenine verilebilen rastgele (random) sinyal olarak bir yük etkisi halindedir ve aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$s(t) = \frac{C}{A} e(t) \quad (4.12)$$

Burada C, z^{-1} terimlerinin bir polinomu şeklindedir.

$$C = 1 + c_1 z^{-1} + \ldots + c_{nc} z^{-nc} \quad (4.13)$$

Bu model ARMA (Auto Regressive Moving Average) model olarak adlandırılır. Eşitlik (4.12) rastgele değişen offset düzensizlikleri ifade etmekte yetersiz kaldığından s(t)' ye artış verilerek bu sorun azaltılmaya çalışıldığında;

$$s(t) = s(t-1) \frac{C}{A} e^t \quad (4.14)$$

veya

$$s(t) = \frac{C}{\Delta A} e^t \quad (4.15)$$

yazılır. Burada $\Delta=1-z^{-1}$ fark işlemcisidir. Bu durumda ARIMA (Auto Regressive Integrated Moving Average) elde edilmiş olur.

Tüm düzensizlikler toplanarak aşağıdaki gibi toplam sinyal kombinasyonu elde edilir.

$$s(t) = \frac{R(t)}{A} + \frac{D}{A}v(t) + \frac{C}{A}e^{t} \tag{4.16}$$

Eşitlik (4.9) ile tanımlanan sistem modeli ve sinyal modelinin birleştirilmesi ile proses çıktısı;

$$y(t) = x(t) + s(t) \tag{4.17}$$

veya aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$y(t) = \frac{B}{A}u(t-1) + \frac{R(t)}{A} + \frac{D}{A}v(t) + \frac{C}{A}e^{t} \tag{4.18}$$

ARMA tipi sinyale bir kontrol girdisi ilave edilmiş modelin (veya eXogenous) yapısı;

$$y(t) = \frac{B}{A}u(t-1) + \frac{C}{\Delta A}e(t) \tag{4.19}$$

Eşitlik (4.19) **A**uto **R**egressive **M**oving **A**verage with e**X**ogenous (ARMAX veya CARMA) model olarak adlandırılan bu eşitliği başka bir şekilde gösterecek olursak;

$$A(z^{-1})y(t) = B(z^{-1})u(t) + C(z^{-1})e^{t} \tag{4.20}$$

Eşitlik (4.20) ile gösterilen modeli fark eşitliği olarak yazarsak;

$$y(t) + a_1 y(t-1) + \cdots + a_{na} h(t-na) = b_1 u(t-1) + \cdots + b_{nb} u(t-nb) + e(t) + c_1 e(t-1) + \cdots + c_{nc}(t-nc) \quad (4.21)$$

Eşitlik (4.20) düzenlenirse aşağıdaki model elde edilir.

$$y(t) = \frac{B(q^{-1})}{A(q^{-1})} u(t) + \frac{C(q^{-1})}{A(q^{-1})} e(t) \quad (4.22)$$

Bu eşitlik matris şeklinde yazılacak olursa;

$$\varphi^T = [-y(t-1) \ldots -y(t-na) u(t-1) \ldots u(t-nb) e(t-1) \ldots e(t-nc)] \quad (4.23)$$

$$\theta^T = [a_1 \ldots a_{na}\ b_0 \ldots b_{nb}\ c_1 \ldots c_{nc}] \quad (4.24)$$

Böylece çıkış değişkenini veri ve parametre vektörüne bağlayan aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$y(t) = X^T(t)\,\theta + e(t) \quad (4.25)$$

Burada $X^T(t)$ ile θ arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu nedenle parametre bakımından doğrusaldır ve parametre hesaplama algoritmasının başlangıcıdır.

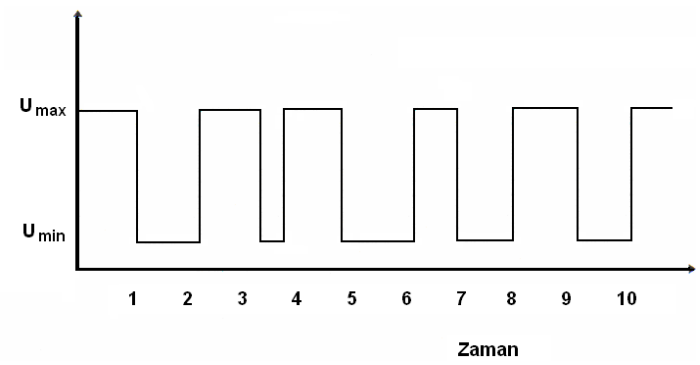
4.5.4.2 Sistem model parametrelerinin belirlenmesi

Sistem girdisine Pseudo Random Binary Sequence (PRBS) sinyali uygulanarak doğrusal sistem model parametre tahmini gerçekleştirilmiş olup bu parametreler Bierman algoritması kullanılarak hesaplanmıştır. PRBS sinyallerinin büyüklüğü, proses işletim aralığında olduğundan hesaplanan model parametreleri de bu işletim aralığında

geçerlidir. Şekil 4.11'de gösterilen PRBS sinyalleri eşit olasılıklı olarak değerler almakta ve rastgele seçilen Δt zaman aralığında gerçekleşmektedir.

a) Parametre belirlenmesinde PRBS kullanımı

PRBS parametre tahmini için test sinyali olarak kullanılır. Sistemin ayarlanabilen değişkenine uygulanan PRBS sinyallerinin büyüklüğü, proses işletim şartlarına bağlıdır. PRBS sinyallerinin sisteme verdiği etki ile doğrusal ardışık modellerin parametreleri hesaplanmıştır. Şekil 4.11'de yer alan PRBS sinyalleri eşit olasılıklı olarak değerler alacak şekilde Δt zaman aralığında gelişigüzel seçilmiştir.



Şekil 4.12 PRBS sinyallerinin gösterimi

b) Bierman algoritması

PRBS sinyalleri verildiğinde parametre hesabı için Bierman algoritması kullanılır. Bunun için her PRBS sinyali değiştiğinde farklı değerler alır. PRBS sinyalleri prosesi belli işletim koşullarında tarandığından bulunan parametreler tüm işletim şartları için geçerlidir.

Eşitlik (4.19), parametre hesabının yapılabilmesi için (4.25)'deki eşitlik yazılır.

Burada θ, bilinmeyen parametreler vektörüdür ve aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$\theta = [-a_1, \ldots, -an_a, b_0, \ldots, bn_b, d_0, c_1, \ldots, cn_c] \quad (4.26)$$

X^T, sistemin giriş ve çıkış değişkenlerini içerir.

$$X^T = [y(t-1), \ldots, y(t-n_a), u(t-1), \ldots, u(t-n_b-1), 1, e(t-1), \ldots, e(t-n_c)] \quad (4.27)$$

n_c=0 olduğu varsayılarak C katsayıları c_1, c_2, c_3, ...= 0 olur. Böylece veri vektörü (X^T)' deki bilinmeyen gürültü terimleri yok edilmiş olur. Bu durumda vektör, x(t) veri vektörü olarak yeniden adlandırılır.

Böylece Bierman algoritması aşağıdaki adımlar ile açıklanır.

1. adım: f ve g vektörleri hesaplanır.

$$f = U^T(t\text{-}1)\, x(t) \quad (4.28)$$

$$g = D(t\text{-}1)\, f \quad (4.29)$$

Burada, U(t): üst üçgensel matris ve D(t): diyagonal matris' dir.

P(t), katsayı matrisi aşağıdaki şekilde ifade edilir;

$$P(t) = U(t)\, D(t)\, U^T(t) \quad (4.30)$$

Bu hesabın başında P(0), birim matris olarak alınır ve α ile çarpılır.

$$P(t) = \alpha\, I \quad (4.31)$$

Model parametreleri θ(t) matrisi başlangıçta sıfır alınır. α = 1000 alındığında iyi bir hesaplama sonucu elde edilir.

2. adım: ζ(t) değeri eşitlik (4.26)' den hesaplanır.

$$\zeta(t) = y(t) - X^T(t)\,\theta(t\text{-}1) \tag{4.32}$$

3. adım: j=1, ..., m aralığında aşağıdaki basamaklar tekrarlanır.

(a)

$$\beta_j = \beta_{j\text{-}1} + f_i g_i \tag{4.33}$$

$$d_j(t) = \beta_{j\text{-}1}\, d_j\,(t\text{-}1) \,/\, \beta_j\, \lambda,\ \beta_0 = \lambda \tag{4.34}$$

$$v_j = g_i \tag{4.35}$$

(b)

$$i = 1, \ldots, j\text{-}1 \ \ (j>1),\ u_{ij}(t) = u_{ij}(t\text{-}1) - v_i f_d \,/\, \beta_{j\text{-}1} \tag{4.36}$$

$$v_i = v_i + u_{ij}(t\text{-}1)\, v_j \tag{4.37}$$

4. adım: $L^T(t) = [v_1, v_2, \ldots, v_m]$ oluşturulur. (4.38)

5. adım: Bu adımda parametreler güncelleştirilir.

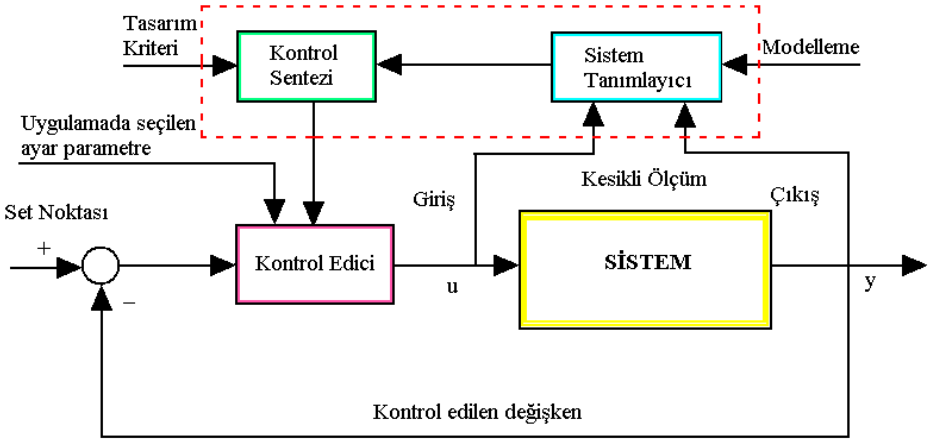
$$\theta(t) = \theta(t\text{-}1) + L(t)\,\zeta(t) \,/\, \beta_m \tag{4.39}$$

6. adım: t = t+1 alınarak 1. adıma geri dönülür ve işlemler tekrarlanır.

4.5.4.3 Genelleştirilmiş Prediktif Kontrol (GPC) çalışmaları

Deneysel olarak gerçekleştirilen bu bölümde, sistem için geliştirilen ve doğrusal GPC kontrol algoritması içeren program kullanılmıştır.

GPC sistem çıktısını birkaç örnek zamanını göz önüne alarak tahmin eder. Bunun için gelecek kontrol değerlerini kullanır. Şekil 4.12'de kendinden ayarlamalı kontrol edici yapısı görülmektedir. Sistem yapısını tanımlayabilmek için, sisteme giren u değişkenine dinamik etki verilerek rahatsız edilir. Böylece farklı u değerleri için farklı y yani çıkış değişkeni elde edilir. Elde edilen u ve y değerleri kesikli ölçüm sinyalleri halinde sistem model parametrelerini bulmak için bir modelle birlikte sistem tanımlayıcıya gönderilir. Burada herhangi bir algoritmayla model parametreleri hesaplatılır ve tasarım kriter ile birlikte kontrol sentezine iletilir. Burada kontrol katsayıları hesaplandıktan sonra uygulamada seçilen ayar parametresi ile birlikte kontrol ediciye gönderilir. Buradan sistemimize giriş değişkeni olarak bir u çıktısı elde edilir (Clarke vd. 1987, 1989).



Şekil 4.13 Kendinden ayarlamalı kontrol edici yapısı

Çalışmanın başında set noktaları vektörel olarak aşağıdaki şekilde tanımlanır.

$$[r(t+1), r(t+2), \ldots, r(t+1)]; \quad 1 = 1, \ldots,] \tag{4.40}$$

Çoğu durumda r(t+j) sabit olan r(t)'ye eşit alınır. Bazı durumlarda ise r(t+j)'deki gelecek değişimler bilinir. t anındaki y(t) çıktısında r için doğrusal bir yaklaşım göz önünde bulundurulur. Bu ilişki basit bir birinci mertebeden modelle gösterilirse,

$$r(t+j) = \alpha\, r(t+j-1) + (1-\alpha)\, r \qquad , j = 1, 2, \ldots \tag{4.41}$$

Eğer $\alpha \cong 1$ alınırsa gelecekteki set noktaları gerçek set noktasına eşit alınır. Ayrıca GPC gelecekteki set noktası değişimleri için de uygulanabilir.

GPC kontrol yönteminin amacı, gelecekteki sistem çıktıları olan y(t+j)'leri aşağıdaki şekilde gösterildiği gibi r(t+j)'lere yaklaştırmaktır. Kontrol etkinliği bunu gerçekleştirmeyi gerektirir. GPC kontrol tasarımını yapabilmek için öncelikle maliyet fonksiyonu minimize edilir.

$$J(u,t) = E\left\{ \sum_{j=N_1}^{N_2} (y(t+j) - r(t+j))^2 + \lambda \sum_{j=1}^{N_u} (\Delta u(t+j-1))^2 \right\} \tag{4.42}$$

$$\Delta u(t+j) = 0 \qquad ve \quad J = N_u, \ldots, N_2$$

N_1: Minimum maliyet ufku, N_2: Maksimum maliyet ufku ve r(t): set noktası'dır. Set noktası sistem çıktısının izlemesi gereken yol olarak seçilir. Pozitif sabit bir değişken olan λ (kontrol ağırlık faktörü) kontrolde hatayı azaltmak için bir ağırlık etkisi yapar. Gerekli kontrol ayarını yapar.

Optimizasyon işleminde, N_2-N_1+l gelecekteki sistem çıktısını ve N_u kadar geleceğe yönelik ayar değişkenini dikkate alarak gerçekleştirir. Bu algoritmanın önemli varsayımlarından biri gerçek sistem gecikmesinin N_1 ile N_2 arasında bir değer almasıdır. GPC ayar parametrelerinin seçimi asağıda gösterilen koşullara göre yapılır.

a) Minimum Çıktı Ufku N_1: Eğer prosesin ölü zamanı tam olarak biliniyorsa, N_i k'ya eşit olarak alınmalıdır. Eger N_i k'dan küçük alınırsa gereksiz yere hesaplamalar yapılmış olur. Eğer k bilinmiyorsa veya değişkense $N_1 = 1$ alınır ve $B(z^{-1})$' nin derecesi bütün k değerlerini içerecek şekilde genelleştirilir. Bu nedenle N_1 değeri genelde bir tasarım parametresi olarak kullanılmaz.

b) Maksimum Çıktı Ufku N_2: Eğer sistem minimum olmayan faz ise başlangıçta negatif bir değer üretir. N_2 daha sonra pozitif bir çıktı üretecek şekilde seçilir. Bu, kesikli zaman sisteminde N_2'nin $B(z^{-1})$ polinom derecesinden daha büyük seçilmesi demektir. Pratikte, N_2'nin genelde büyük değerleri kullanılır ve proses yükselme zamanına yakın bir değer seçilir.

c) Kontrol Maliyel Ufku N_u: Genelde N_u=1 koymak, kabul edilebilir bir kontrol sağlar. Nu'nun arttırılması kontrolün daha aktif olmasına neden olur. Bu aktiflik bir noktaya kadardır. Bundan sonraki N_u değerinin arttırılması kompleks sistemler için uygundur. N_u en azından kararlı olmayan veya sönümlü köklerin sayısına eşit alındığında iyi kontrol gerçekleştirilir.

d) Kontrol Ağırlığı λ: Pratikte λ= 0 alınır, Eğer $\lambda=\delta$ ise (δ küçük bir değer), ilgili değer ile sayısal kontrol edilebilirliği gerçekleşir. λ iyi bir kontrol ayarı olarak değerlendirilir. N_u ise kontrol için kaba ayarlayıcı olarak belirlenebilir.

GPC kriteri $J(u,t)$'yi optimize edecek şekilde seçilir. Bu uygulama Diophantine eşitliğini de içine alır. Sistem modeli olarak ARIMAX modeli kullanılır. J basamak ileriye yönelik çıktı değişkenlerinin tahmini için Diophantine eşitliğinin çözülmesi gerekir.

ARIMAX modeli,

$$Ay(t) = Bu(t-1) + \frac{C}{\Delta}e(t) \tag{4.43}$$

Diophantine eşitliği ise şu şekildedir;

$$C = EA\Delta + z^{-1}F \tag{4.44}$$

Eşitlik (4.44)' i eşitlik (4.43)'de yerine koyup t = t + j yazılırsa;

$$y(t+j) = \frac{B}{A}u(t+j-1) + Ee(t+j) + \frac{F}{A\Delta}e(t) \tag{4.45}$$

Burada E*e(t+j)* gelecekteki verileri temsil eder ve (F/AΔ)*e(t)* geçmiş ve şimdiki verileri gösterir. E değeri bütün bilinmeyen verileri t zamanda kapsar.

$$E = 1 + e_1 z^{-1} + \cdots + e_{j-1} z^{-j+1} \tag{4.46}$$

Eşitlik (4.43)'den c(t) çekilip eşitlik (4.45)'de yerine konulursa;

$$y(t+j) = \frac{B}{A}u(t+j-1) + Ee(t+j) + \frac{F}{C}y(t) - \frac{FB}{AC}u(t-1) \tag{4.47}$$

ve

$$y_{t+j} = \frac{F}{C}y(t) + \frac{EB}{C}\Delta u_{t+j-1} + Ee_{t+j} \tag{4.48}$$

Bu eşitlikteki son terim t. zamandaki ölçüm sinyallerinden bağımsız olan veriyi içerir. eşitlik (4.48)'den (4.49) elde edilir.

$$y_{t+j} = \frac{F}{C}y_t + \frac{EB}{C}\Delta u_{t+j-1} \tag{4.49}$$

Burada y_{t+j} t. zamandaki bilinen sinyal değerinin ve gelecek kontrol çıktısının bir fonksiyonudur. İkinci bir tanım eşitliği burada geçmiş ve gelecek kontrol değerlerini ayırmak için yapılır. Bu sebeple tanım eşitliği uygulanarak (4.50) elde edilir.

$$\frac{EB}{C}\Delta u_{t+j-1} = G\Delta u_{t+j-1} + \frac{\Gamma}{C}\Delta u_{t-1} \tag{4.50}$$

$$G = 1 + g_1 z^{-1} + \cdots + g_{j-1} z^{-j+1} \tag{4.51}$$

$G\Delta u_{t+j-1}$ gelecek, $\frac{\Gamma}{C}\Delta u_{t-1}$ geçmiş ve bu zamandaki verileri kullanırlar. t. zamanda bütün bilinmeyen veriler G'de şekillenir. Böylece istenilen tanımlama;

$$\frac{EB}{C} = G + z^{-1}\frac{\Gamma}{C} \tag{4.52}$$

(4.50) eşitliği ile (4.53) eşitliği birleştirilirse,

$$\bar{y}_{t+j} = G\Delta u_{t+j-1} + \frac{\Gamma\Delta u_{t-1}}{C} + \frac{F}{C}y_t \tag{4.53}$$

$$\bar{y}t + j\big|_t = \frac{\Gamma\Delta u_{t-1}}{C} + \frac{F}{C}y_t \tag{4.54}$$

Burada $\bar{y}t + j\big|_t$ 'serbest yanıtımı' gösterir ve serbest yanıtım tahminlerini f vektörüyle belirtir.

$$f = \left\lfloor \bar{y}_{t+1|t}, \bar{y}_{t+2|t} \quad ,\ldots, \quad \bar{y}_{t+N_2|t} \right\rfloor \tag{4.55}$$

Gelecek kontrol artışları olan ayarlanabilen değişken $\bar{u}$ vektörü aşağıdaki gibidir.

$$\bar{u} = \left[\Delta u_t, \Delta u_{t-1}, \ldots, \Delta u_{t+N_u-1}\right]^T \tag{4.56}$$

Tahmin edilen ve kontrol edilen sistem çıktıları vektörü;

$$\bar{y} = \left[\bar{y}_{t+1}, \bar{y}_{t+2}, \ldots, \bar{y}_{t+N_2}\right]^T \tag{4.57}$$

G matrisi g_i parametrelerinden oluşur. $g_i = \frac{B_i}{A_0}$ tanımından;

$$G = \begin{bmatrix} g_0 & 0 & \cdots & 0 \\ g_1 & g_0 & \cdots & 0 \\ \cdot & \cdot & \cdots & 0 \\ g_{N_U-1} & g_{N_U-2} & \cdots & g_0 \\ \cdot & \cdot & \cdots & \cdot \\ g_{N_2-1} & g_{N_2-2} & \cdots & g_{N_2-N_U} \end{bmatrix} \tag{4.58}$$

Bu durum için $N_1 = 1$ alınır. Eşitlik (4.42)'nin minimize edilmesiyle aşağıdaki eşitlik türetilir.

$$J = (\bar{y} - r)^T (\bar{y} - r) + \lambda (\bar{u})^T \bar{u} \tag{4.59}$$

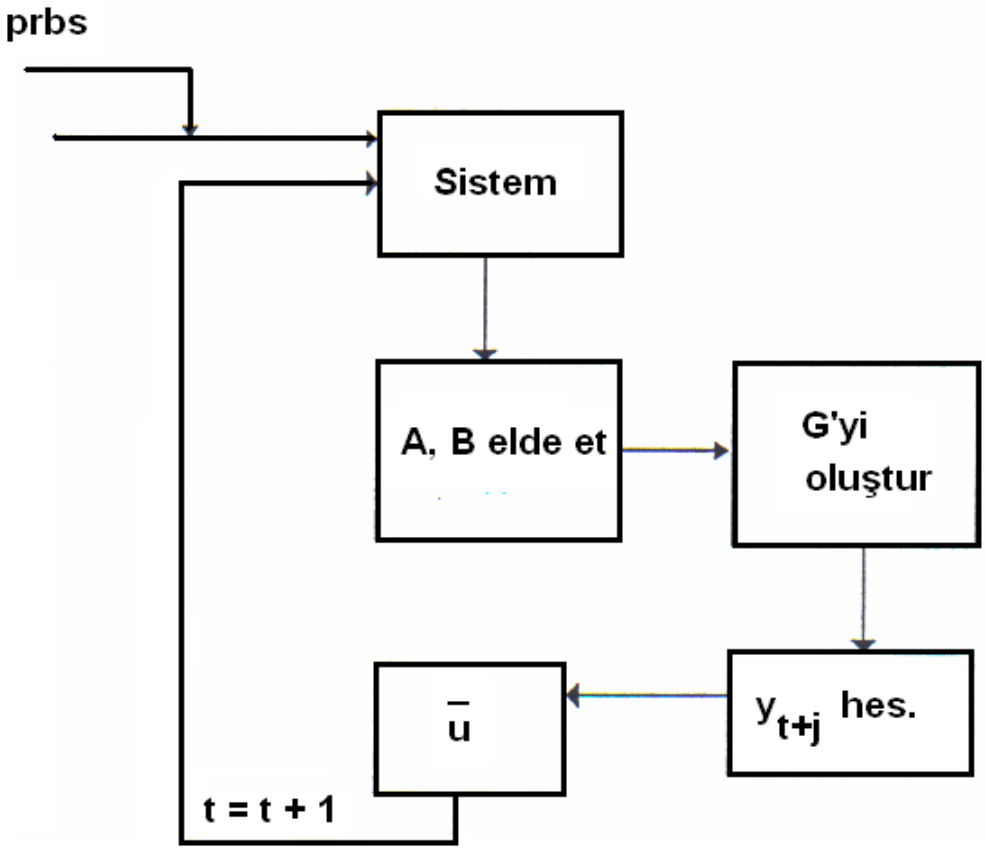
Gelecek için kontrol değerlerini içeren $\bar{u}$ vektörü aşağıdaki şekilde tanımlanır.

$$\bar{u} = (G^T G + \lambda I)^{-1} (r - f) \tag{4.60}$$

Buradaki r set noktası vektörü veya referans sinyali tarif edilirse,

$$r = \left[r_{t+1}, r_{t+2}, \ldots, r_{t+N2}\right]^T \tag{4.61}$$

Eşitlik (4.60) gelecek için kontrol değerlerini t zamanı için verir. GPC' nin uygulanması ile elde edilen $\bar{u}$ vektörünün kontrol amacı ile ilk elemanı, $\Delta\bar{u}$ kullanılır. Optimum kontrolün bu çözümünden sonra t+1 zamanı için elde edilen veriler kullanılarak gelecek basamak için hesap yeniden tekrarlanır. Eşitlik (4.60)'daki kontrol kazancı sabit kalır ve sadece f ve r vektörleri her örnek alma zamanı için yeniden bulunur. GPC algoritması aşağıdaki sırayla verilmiş olup, şekil 4.13'de gösterilmiştir.



Şekil 4.14 Genelleştirilmiş Tahmin Edici Kontrol algoritması

a) Sisteme PRBS sinyallerini uygulayarak sistem çıktıları elde edilir.
b) Bierman algoritması kullanılarak A ve B polinomunun katsayıları tahmin edilir.
c) Bu bölümdeki denklem setleri kullanılarak GPC kontrol çıktısı hesaplanır.
d) Zaman artırımı yapılarak tekrar (a)'ya dönülür.

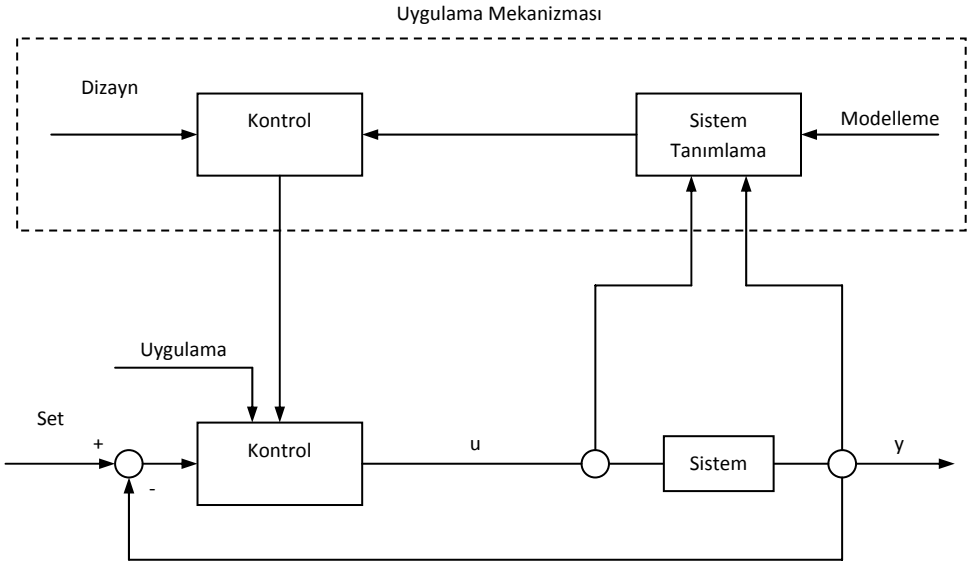
GPC ile değişen parametre içeren prosesler kararlı olarak kontrol edilir. Model derecesi belli aralıklarda değişen sistemler için GPC kontrol sisteminin iyi çalışabilmesi için ilgili aralığın girdi ve çıktı verilerini alarak sistemi tanımlamaya yetecek kadar büyük olması gerekir. Bu kontrol açık-hat kararsız, minimum olmayan faz ve fazla parametreli model için de etkilidir. Implicit (doğrudan) GMV kendinden ayarlamalı kontrol sistemi model derecesinin değişmesine karşın kontrolü gerçekleştirebilir, ancak değişken ölü zamanlı sistemleri kontrol edemez. Explicit (dolaylı) kök yerleştirme metodu STPID, değişen ölü zamanlı sistemleri kontrol etmesine rağmen model derecesi fazla olanlar için başarılı olamaz.

Bu çalışmada, ARMAX model içeren kontrol programı öncelikle parametre hesabı için çalıştırılmıştır. Parametre hesaplamasında bilgisayar programı içerisinde yer alan Bierman algoritması kullanılmıştır. Ayrıca manuel olarak ayar değişkenine verilen PRBS sinyalleri ile dinamik analizler yapılarak sistemin en iyi şekilde çalıştırılması sağlanmıştır.

4.5.4.4 Self-Tuning PID kontrol çalışmaları

Self-Tuning kontrol mekanizması, parametre tahmin edici ile otomatik kontrol sistemlerini birarada bulunduran bir kontrol mekanizmasıdır. Bu tip bir kontrolda önce kontrol edilecek sistem için doğrusal bir model belirlenir. Bu modelin yapısı model parametrelerinin polinom mertebesi ile açıklanır. Kullanılan Self-Tuning kontrol mekanizması için, geri beslemeli kontrol sistemlerinden farklı olarak çıkış değişkeninin varyansının minimum olması şartı istenir (Aström vd. 1973, 1997, Wellstead ve Zarrop 1991).

Self-Tuning kontrol mekanizması iki basamaktan oluşur. Birinci basamakta, sisteme giren ve çıkan ölçülür ve bu bir sistem modeli oluşturmak için kullanılır, ikinci basamakta ise, bir Self-Tuning kontrol mekanizması uygulanır (Şekil 4.14).



Şekil 4.15 Self-Tuning kontrol sisteminin blok diyagramı

Kontrol edilecek sistemin doğrusal olduğu varsayıldığından bu bölümde sadece doğrusal Self-Tuning kontrol mekanizmasından bahsedilmiştir.

Kesikli zamandaki PID kontrol edici hız formunun bir Self-Tuning formatına eşdeğer olduğu düşünülürse;

$$u(t) = \frac{S}{R}\left[r(t) - y(t)\right] \tag{4.62}$$

Burada r(t) set noktası, u(t) sistem girdisi, y(t) ise sistem çıktısıdır. S ve R ise z^{-1} terimlerinin polinomları şeklinde verilir.

$$S = s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2} \tag{4.63}$$

$$R = (1 - z^{-1}) \tag{4.64}$$

Analog PID kontrol edicinin standart formu aşağıda verilmiştir.

$$u(t) = K_C \varepsilon(t) + \frac{K_C}{\tau_I} \int_0^t \varepsilon(t)dt + K_C \tau_D \frac{d\varepsilon(t)}{dt} \tag{4.65}$$

Yamuk kuralını kullanarak integral terimi ve türev terimi için (Jacquot 1980) önerdiği geriye dönüşlü fark alma yöntemi kullanılır.

$$u(t) = K_C \varepsilon(t) + \frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} \sum_{n=0}^{t-1} \left[\varepsilon(n) + \varepsilon(n+1)\right] + \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \left[\varepsilon(t) - \varepsilon(t-1)\right] \tag{4.66}$$

$$\sum_{n=0}^{t-1} \left[\varepsilon(n) + \varepsilon(n+1)\right] = \varepsilon(0) + \varepsilon(1) + \varepsilon(1) + \varepsilon(2) + \ldots + \varepsilon(t-2) + \varepsilon(t\text{-}1) + \varepsilon(t\text{-}1) + \varepsilon(t) \tag{4.67}$$

(t-1) zaman adımı için benzer yaklaşım yapılır.

$$u(t-1) = K_C \varepsilon(t-1) + \frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} \sum_{n=0}^{t-2} \left[\varepsilon(n) + \varepsilon(n+1)\right] + \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \left[\varepsilon(t-1) - \varepsilon(t-2)\right] \tag{4.68}$$

$$\sum_{n=0}^{t-2} \left[\varepsilon(n) + \varepsilon(n+1)\right] = \varepsilon(0) + \varepsilon(1) + \varepsilon(1) + \varepsilon(2) + \ldots + \varepsilon(t-2) + \varepsilon(t-1) \tag{4.69}$$

u(t)' den u(t-1) çıkarılırsa;

$$\Delta u(t) = \left[K_C + \frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} + \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \right] \varepsilon(t) + \left[\frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} - K_C - \frac{2K_C \tau_D}{\Delta t} \right] \varepsilon(t-1) + \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \varepsilon(t-2) \tag{4.70}$$

$$\Delta u(t) = s_0 \varepsilon(t) + s_1 \varepsilon(t-1) + s_2 \varepsilon(t-2) \tag{4.71}$$

Burada;

$$s_0 = K_C + \frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} + \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \tag{4.72}$$

$$s_1 = \frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} - K_C - \frac{2K_C \tau_D}{\Delta t} \tag{4.73}$$

$$s_2 = \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \tag{4.74}$$

$\Delta t = R$: Örnekleme zamanı (okuma peryodu)

$$K_I = \frac{K_C}{\tau_I} \tag{4.75}$$

$$K_D = K_C \tau_D \tag{4.76}$$

Yukarıda (4.75) ve (4.76) eşitlikleri ile gösterilen değerler (4.72), (4.73), (4.74) numaraları ile gösterilen s_0, s_1, s_2 eşitliklerinde yerlerine yazılarak çeşitli hesaplamalar sonucu aşağıdaki eşitlikler türetilir.

$$K_C = \frac{s_0 - s_1 - 3s_2}{2} \tag{4.77}$$

$$K_I = \frac{s_0 + s_1 + s_2}{\Delta t} \tag{4.78}$$

$$K_D = s_2 \Delta t \tag{4.79}$$

$$\tau_I = \frac{K_C}{K_I} = \frac{(s_0 - s_1 - 3s_2)/2}{(s_0 + s_1 + s_2)/\Delta t} \tag{4.80}$$

$$\tau_D = \frac{K_D}{K_C} = \frac{s_2 \Delta t}{(s_0 - s_1 - 3s_2)/2} \tag{4.81}$$

$$y(t) = \frac{B}{A} u(t-1) + \frac{C}{A} e(t) \tag{4.82}$$

ARMAX model z^{-1} gecikme operatörü cinsinden yazıldığında (4.83) eşitliği ile belirtilir.

$$y(t) = \frac{B}{A} z^{-1} u(t) + \frac{C}{A} e(t) \tag{4.83}$$

Yukarıda gösterilen (4.83) numaralı modelde eşitlik (4.62) ile belirtilen u(t) değeri yerine yazılırsa sırasıyla aşağıdaki eşitlikler elde edilir.

$$y(t) = \frac{B}{A} z^{-1} \left[\frac{S}{R} \left[r(t) - y(t) \right] \right] + \frac{C}{A} e(t) \tag{4.84}$$

$$y(t) = \frac{z^{-1} BS}{AR} r(t) - \frac{z^{-1} BS}{AR} y(t) + \frac{C}{A} e(t) \tag{4.85}$$

$$y(t)+\frac{z^{-1}BS}{AR}y(t)=\frac{z^{-1}BS}{AR}r(t)+\frac{C}{A}e(t) \tag{4.86}$$

$$y(t)\left[1+\frac{z^{-1}BS}{AR}\right]=\frac{z^{-1}BS}{AR}r(t)+\frac{C}{A}e(t) \tag{4.87}$$

$$y(t)\left[\frac{AR+z^{-1}BS}{AR}\right]=\frac{z^{-1}BS}{AR}r(t)+\frac{RC}{AR}e(t) \tag{4.88}$$

$$y(t)=\frac{z^{-1}BS}{AR+z^{-1}BS}r(t)+\frac{RC}{AR+z^{-1}BS}e(t) \tag{4.89}$$

$$T = AR + z^{-1}BS \tag{4.90}$$

Yukarıda eşitlik (4.90) ile verilen T polinomunun katsayıları kullanıcı tarafından belirlenir. T polinomunun dereceleri arasında eşitlik (4.91) ile gösterilen bir bağıntı vardır.

$$n_a + n_r = n_b + n_s + 1 = n_t \tag{4.91}$$

S polinomunun derecesi 2, R polinomunun derecesi 1 alınarak ve kullanıcı tarafından A polinomunun katsayısı 2, B polinomunun katsayısı 0 alınarak eşitlik (4.91) aşağıda görüldüğü gibi sağlanır.

$$2 + 1 = 0 + 2 + 1 = 3 \tag{4.92}$$

S ve R polinomları eşitlik (4.62)'de yerlerine yazılarak aşağıdaki eşitlikler türetilir.

$$u(t) = \frac{[r(t) - y(t)](s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})} \tag{4.93}$$

$$u(t) = \frac{(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})} r(t) - \frac{(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})} y(t) \tag{4.94}$$

$$y(t) = \frac{b_0 z^{-1}}{1 + a_1 z^{-1} + a_2 z^{-2}} \left[\frac{(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})} r(t) - \frac{(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})} y(t) \right] \tag{4.95}$$

$$y(t) = \frac{b_0 z^{-1}(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})(1 + a_1 z^{-1} + a_2 z^{-2})} r(t) - \frac{b_0 z^{-1}(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})(1 + a_1 z^{-1} + a_2 z^{-2})} y(t) \tag{4.96}$$

$$y(t) \left[1 + \frac{b_0 z^{-1}(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})(1 + a_1 z^{-1} + a_2 z^{-2})} \right] = \frac{b_0 z^{-1}(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})(1 + a_1 z^{-1} + a_2 z^{-2})} r(t) \tag{4.97}$$

$$y(t) = \frac{b_0 z^{-1}(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})}{(1 - z^{-1})(1 + a_1 z^{-1} + a_2 z^{-2}) + b_0 z^{-1}(s_0 + s_1 z^{-1} + s_2 z^{-2})} r(t) \tag{4.98}$$

Eşitlik (4.98) ile gösterilen Kapalı Hat için set noktası ile sistem çıktısı arasındaki bağıntıdır. Kapalı Hat sistemine T polinomunun eşdeğer formu aşağıdaki gibidir.

$$T = 1 + t_1 z^{-1} + t_2 z^{-2} + t_3 z^{-3} \tag{4.99}$$

(4.99) eşitliği ile (4.98) eşitliğinin paydası eşit olarak alınıp birtakım işlemler sonucu (4.103), (4.104) ve (4.105) numaraları ile gösterilen eşitlikler elde edilir.

$$(1-z^{-1})(1+a_1z^{-1}+a_2z^{-2})+b_0z^{-1}(s_0+s_1z^{-1}+s_2z^{-2})=$$
$$1+t_1z^{-1}+t_2z^{-2}+t_3z^{-3} \tag{4.100}$$

$$1+a_1z^{-1}+a_2z^{-2}-z^{-1}-a_1z^{-2}-a_2z^{-3}+b_0s_0z^{-1}+b_0s_1z^{-2}+b_0s_2z^{-3}$$
$$=1+t_1z^{-1}+t_2z^{-2}+t_3z^{-3} \tag{4.101}$$

$$1+(a_1-1+b_0s_0)z^{-1}+(a_2-a_1+b_0s_1)z^{-2}+(b_0s_2-a_2)z^{-3}$$
$$=1+t_1z^{-1}+t_2z^{-2}+t_3z^{-3} \tag{4.102}$$

$$s_0=\frac{(t_1-a_1+1)}{b_0} \tag{4.103}$$

$$s_1=\frac{(t_2-a_2+a_1)}{b_0} \tag{4.104}$$

$$s_2=\frac{(t_3+a_2)}{b_0} \tag{4.105}$$

Self-Tuning Kontrol Yönteminin Bilgisayarda Çözüm Algoritması:

1) Sistem girdisine PRBS sinyalleri verilip çıkış değişkenleri ölçülür.

2) ARMAX (Auto Regressive Moving Average eXogenous) modeli kullanılarak A ve B polinomlarının katsayıları Bierman Algoritmasından hesaplanır.

3) $s_0=\frac{t_1-a_1+1}{b_0}$ $s_1=\frac{(t_2-a_2+a_1)}{b_0}$ $s_2=\frac{(t_3+a_2)}{b_0}$

4) $K_C=\frac{s_0-s_1-3s_2}{2}$ $\tau_I=\frac{K_C}{K_I}=\frac{(s_0-s_1-3s_2)/2}{(s_0+s_1+s_2)/\Delta/}$

$$\tau_D = \frac{K_D}{K_C} = \frac{s_2 \Delta t}{(s_0 - s_1 - 3s_2)/2}$$

5) $$\Delta u(t) = \left[K_C + \frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} + \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \right] \varepsilon(t) + \left[\frac{K_C \Delta t}{2\tau_I} - K_C - \frac{2K_C \tau_D}{\Delta t} \right] \varepsilon(t-1) + \frac{K_C \tau_D}{\Delta t} \varepsilon(t-2)$$

6) Yeni çıkış değişkeni bulunur.

7) Çıkış değişkeni set noktasıyla karşılaştırılır ve yeni hata değeri hesaplanır.

8) (5) adımına geri dönülür.

Teorik olarak gerçekleştirilen çalışmanın bu safhasında sisteme çeşitli basamak etkiler verilerek kontrol edicinin ayar değişkenine etkisi incelenmiştir.

5. DENEYSEL ve TEORİK SONUÇLAR

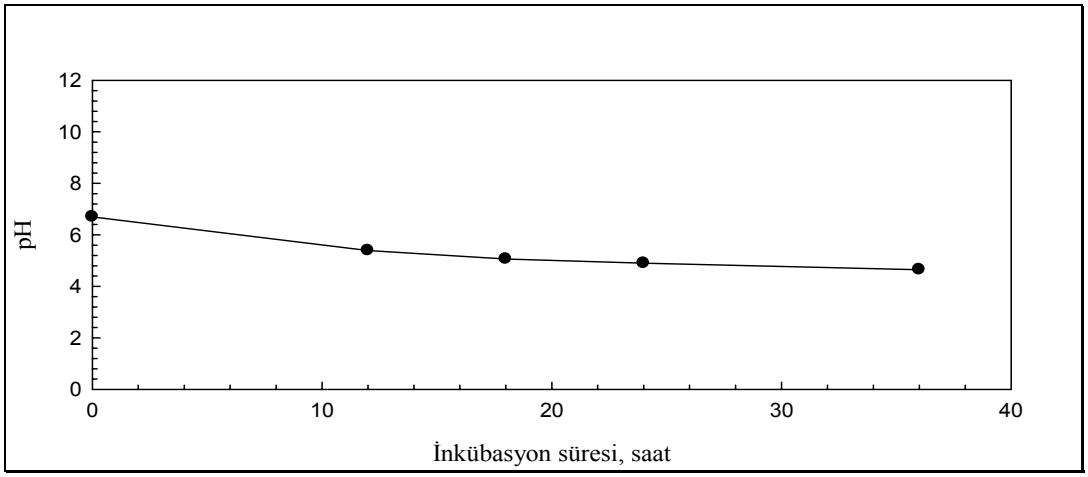
5.1 Biyotepkime Koşullarının Belirlenmesine İlişkin Sonuçlar

Geleneksel yöntem ile kefir üretimi için; kefir danesi oda sıcaklığındaki AOÇ marka günlük süte kütlece %1 oranında aşılanmış ve 30°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. Farklı zaman aralıklarında (12 saat, 18 saat, 24 saat, 36 saat) alınan örneklerin pH ve titrasyon asitlikleri analizlenmiş ve çizelge 5.1'de verilmiştir, ayrıca bu örneklerin protein miktarı ile mikrobiyolojik değerleri değerlendirilmiştir. Bu veriler şekil 5.1 ve şekil 5.2'de sunulmuştur. Buradan en uygun inkübasyon süresi değerlendirilmiş ve ikinci adımda yapılacak işlemlerde 18 saatlik kefir danesinin aşılanması uygun görülmüştür. Ayrıca oluşan kefir tel süzgeçten süzülerek kefir danesi ile kefir ayrılmış ve kefir danesi 200 ml'lik cam şişelere konarak 4°C'de depolanmıştır.

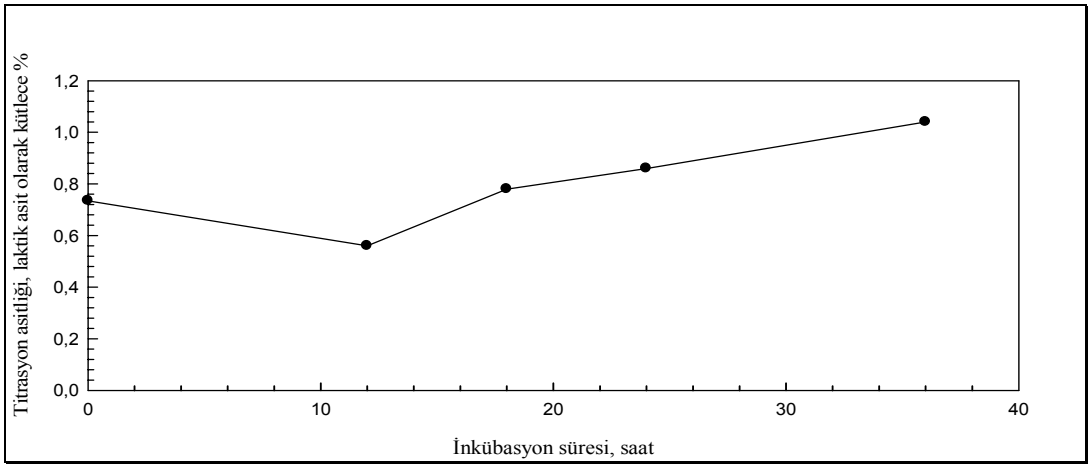
Çizelge 5.1 25°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarındaki örneklere ilişkin veriler

Zaman, saat	**12**	**18**	**24**	**36**
pH	5,39	5,06	4,90	4,65
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	0,56	0,78	0,86	1,04

Başlangıç noktası olarak sütün pH ve titrasyon asitliği değerleri alınmış olup bu değerler sırasıyla 6,70 ve 0,7344'tür.



Şekil 5.1 pH- İnkübasyon süresi grafiği (25°C)

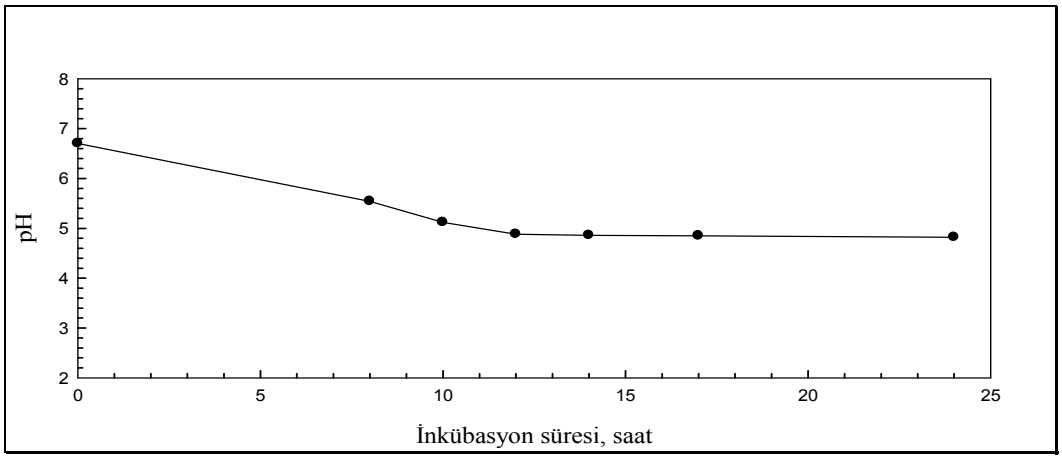


Şekil 5.2 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği (25°C)

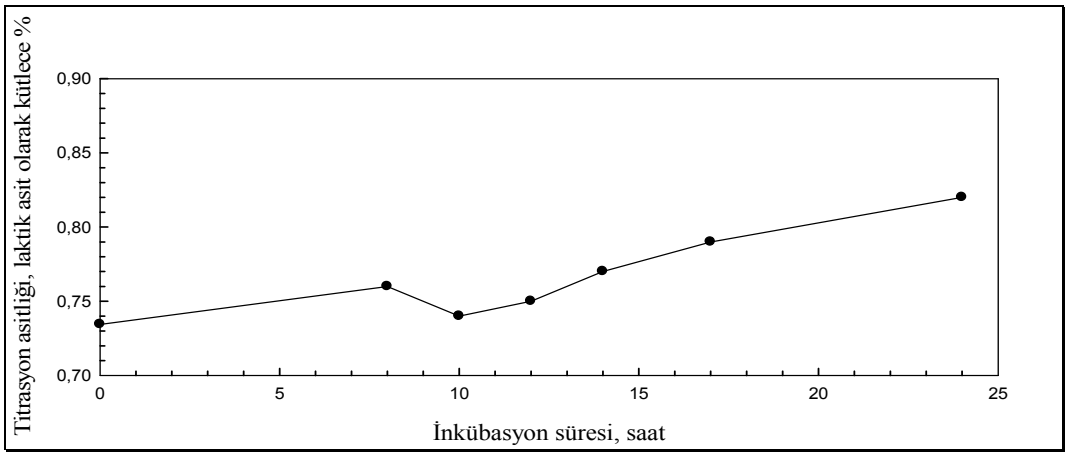
Yapılan deney setinde 36 saat sonunda alınan örnekte yoğun kötü koku olduğundan bu sürenin bozulmaya neden olacak kadar uzun olduğu kanısına varılmıştır. Bu nedenle ikinci deney setinde 30°C sıcaklıkta karıştırmasız ortamda 8 saat, 10 saat, 12 saat, 14 saat, 17 saat ve 24 saat için hazırlanan örneklerin bu süreler sonundaki pH değerleri ile analizlenen titrasyon asitlikleri değerleri çizelge 5.2 ve şekil 5.3-5.4'de sunulmuştur.

Çizelge 5.2 30°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarında örneklere ilişkin veriler

Zaman, saat	**8**	**10**	**12**	**14**	**17**	**24**
pH	5,54	5,12	4,88	4,86	4,85	4,82
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	0,76	0,74	0,75	0,77	0,79	0,82



Şekil 5.3 pH- İnkübasyon süresi grafiği (30°C)



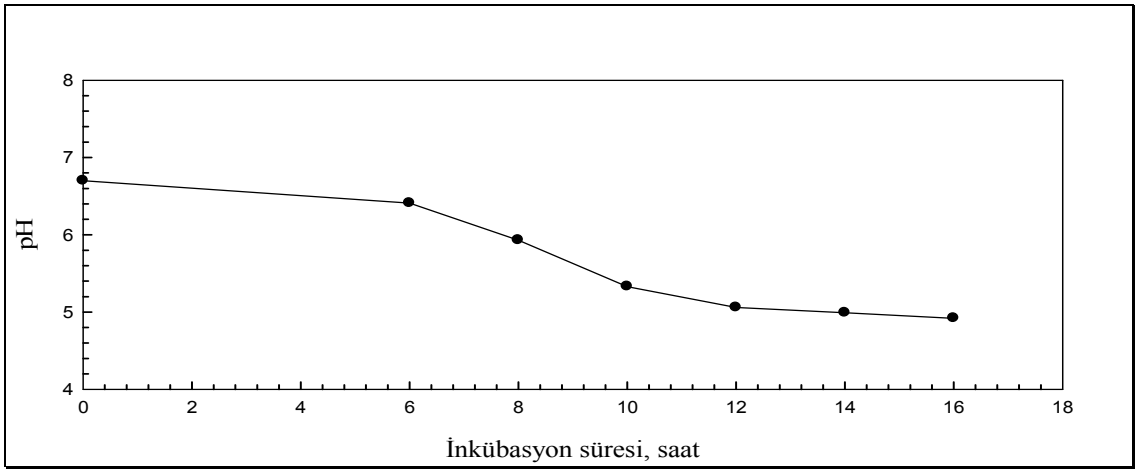
Şekil 5.4 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği (30°C)

Yapılan deney setinde sıcaklığın artması ile kötü koku da arttığından bozulmanın daha çabuk olduğu kanısına varılmıştır. Bu nedenle yeni planlanan deney setinde düşük sıcaklık (26°C) ve daha kısa sürede (6 saat, 8 saat, 10 saat, 12 saat, 14 saat, 16 saat)

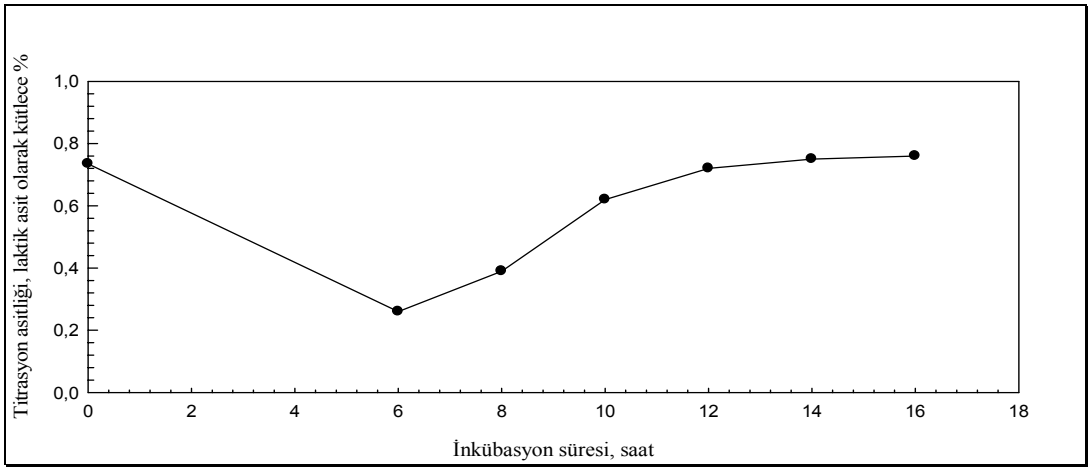
işlemlerin tekrarlanmasının uygun olacağı değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 5.3 ve şekil 5.5- 5.6' da sunulmuştur.

Çizelge 5.3 26°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarında örneklere ilişkin veriler

Zaman. saat	**6**	**8**	**10**	**12**	**14**	**16**
pH	6,41	5,93	5,33	5,06	4,99	4,92
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	0,26	0,39	0,62	0,72	0,75	0,76



Şekil 5.5 pH- İnkübasyon süresi grafiği (26°C)



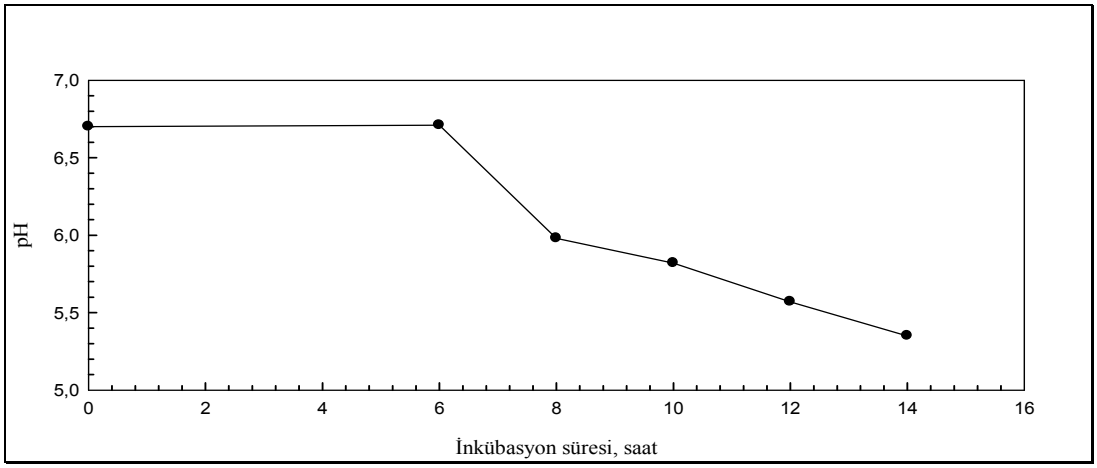
Şekil 5.6 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği (26°C)

Yukarıda gerçekleştirilen deney seti, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Eğitim-Araştırma-Uygulama İşletmesi'nden temin edilen kefir danesinden birinci mayalama sonrası elde edilen kefir mayasının aşılanması ile gerçekleştirilmiştir.

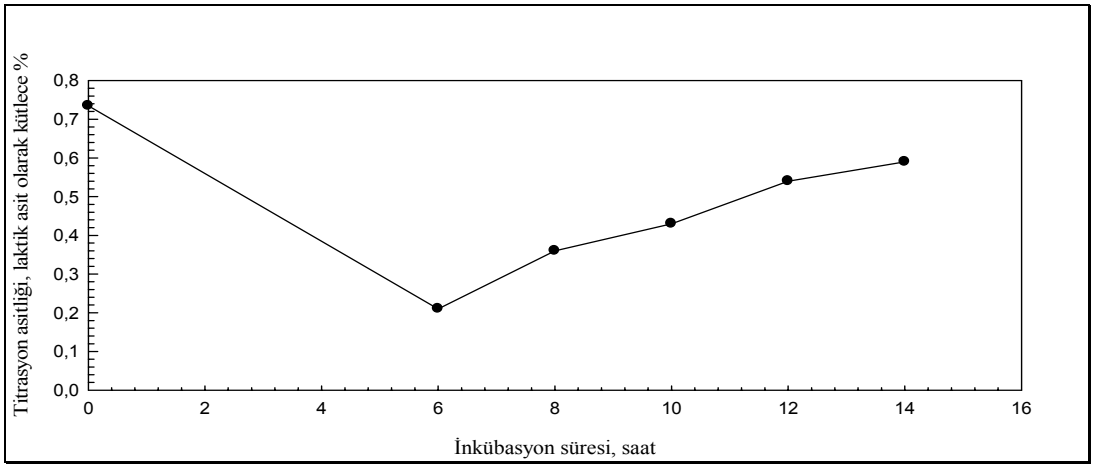
Aynı deney seti birinci mayalamada kullanılan kefir danesinin ikinci defa mayalanması ile elde edilen kefir mayasının aşılanması suretiyle tekrarlanmış ve performansları karşılaştırılmıştır. Ancak önceki deney setinde 16 saat sonunda alınan örnekteki kötü koku nedeniyle planlanan yeni deney setinde bu zaman aralığının da tekrarlanması tercih edilmemiştir. Bu deney setine ilişkin sonuçlar çizelge 5.4 ve şekil 5.7- 5.8'de sunulmuştur.

Çizelge 5.4 26°C sıcaklıkta farklı zaman aralıklarında örneklere ilişkin veriler

Zaman. saat	**6**	**8**	**10**	**12**	**14**
pH	6,71	5,98	5,82	5,57	5,35
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	0,21	0,36	0,43	0,54	0,59



Şekil 5.7 pH- İnkübasyon süresi grafiği (26°C)



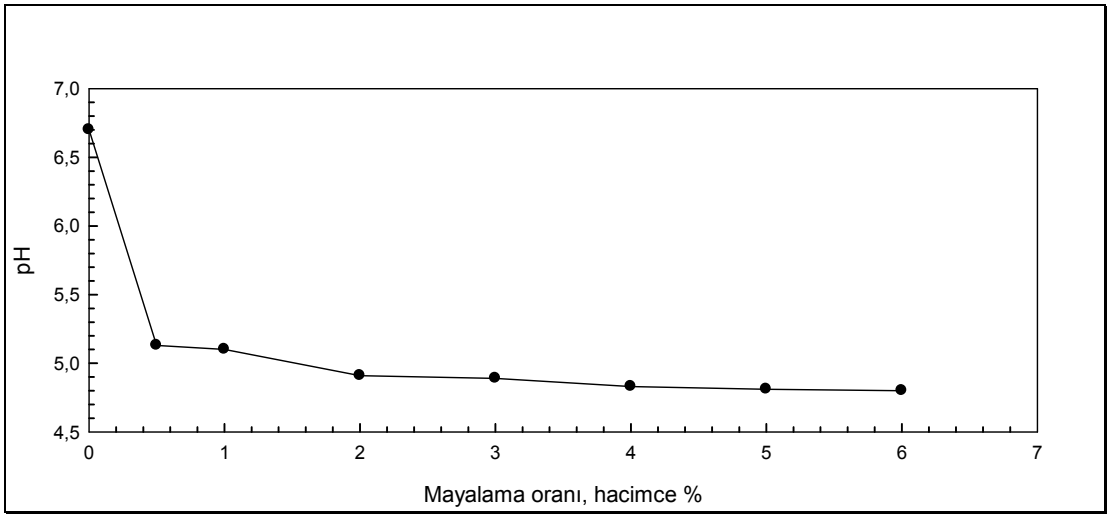
Şekil 5.8 Titrasyon asitliği- İnkübasyon süresi grafiği (26°C)

Literatür taramalarında ve 16.02.2009 tarih ve 27143 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe giren Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre "Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)" parametresinin en fazla 0,6 olması gerektiğinden deney süresinin 8 saat olmasının uygun olacağı değerlendirilmiştir.

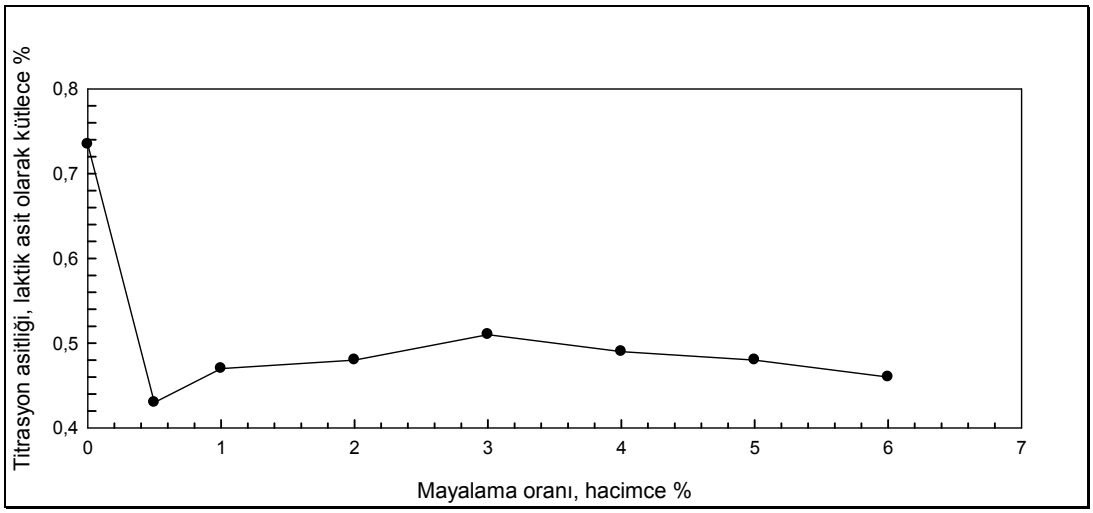
Literatür taramalarından peynir altı suyunu da içeren kefir tipi içeceğin 1 L karışımı için; 500 ml PAS, 100 ml siyah üzüm suyu, 10 g fruktoz/glikoz, 400 ml süt kullanıldığı anlaşılmıştır (Paraskevopoulou vd. 2003). Bundan sonraki aşamada belirtilen miktarlarda hazırlanan karışıma aşılanacak kefir mayasının oranının (hacimce %) belirlenmesi çalışması için deney seti planlanmıştır. Bunun için 26°C sıcaklıkta 8 saat boyunca karıştırmasız olarak işlemler gerçekleştirilmiş olup maya oranı oranında karışımdaki süt miktarı azaltılmıştır. Buna göre toplam 100 ml karışım olacak şekilde karışım; 50 ml PAS, 10 ml siyah üzüm suyu (AOÇ marka), 1 g glikoz, 40 ml sütten ibarettir. Bu deney setine ilişkin veriler çizelge 5.5 ve şekil 5.9- 5.10'da sunulmuştur.

Çizelge 5.5 26°C sıcaklıkta farklı aşılama (maya) oranlarındaki örneklere ilişkin veriler

Maya oranı (Hacimce %)	**0,50**	**1,00**	**2,00**	**3,00**	**4,00**	**5,00**	**6,00**
pH	5,13	5,10	4,91	4,89	4,83	4,81	4,80
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	0,43	0,47	0,48	0,51	0,49	0,48	0,46



Şekil 5.9 pH- Mayalama oranı grafiği (26°C)



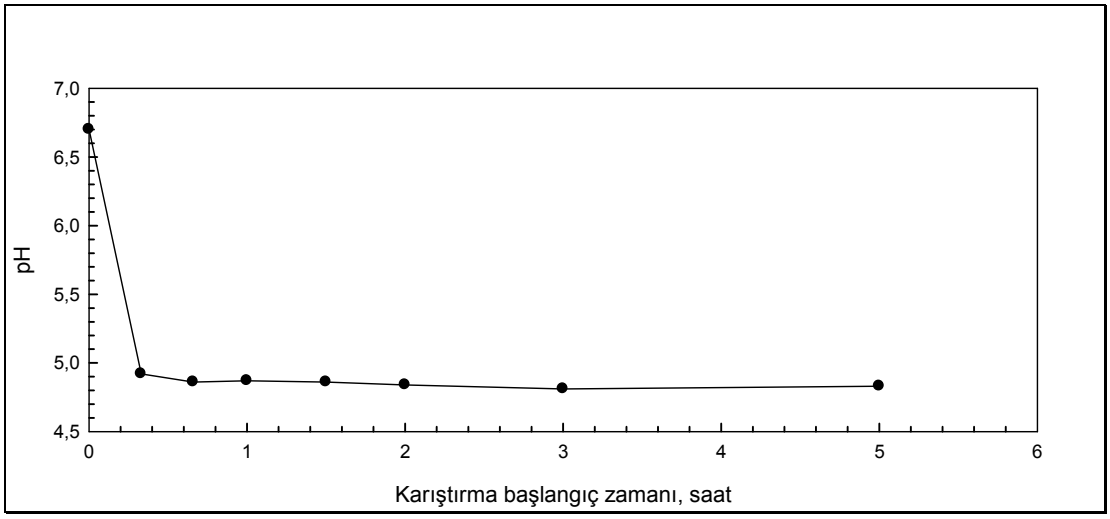
Şekil 5.10 Titrasyon asitliği- Mayalama oranı grafiği (26°C)

Yapılan bu deneme sonucunda, literatürde de yer aldığı gibi, % 1 maya oranının seçilmesinin uygun olacağı değerlendirilmiştir.

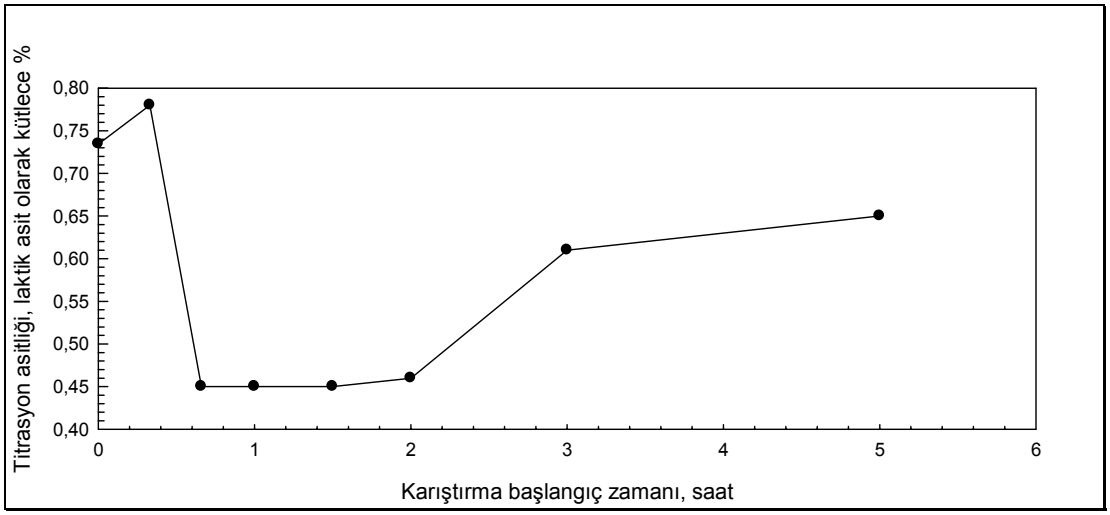
Son olarak 8 saatlik deney süresi boyunca karıştırmanın hangi zamanda başlatılacağına karar verilmesi için bir deney seti planlanmıştır. Bu deney seti de 26°C sıcaklıkta toplam 8 saat olmak üzere ve % 1 maya oranında aşılama yapılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir. İlgili veriler çizelge 5.6 ve şekil 5.11- 5.12'de sunulmuştur.

Çizelge 5.6 26°C sıcaklıkta %1 aşılama (maya) oranındaki örneklere ilişkin veriler

Karıştırma başlangıç zamanı, saat	**0,33**	**0,66**	**1,00**	**1,50**	**2,00**	**3,00**	**5,00**
pH	4,92	4,86	4,87	4,86	4,84	4,81	4,83
Titrasyon Asitliği (Laktik asit olarak kütlece %)	0,78	0,45	0,45	0,45	0,46	0,61	0,65



Şekil 5.11 pH- Karıştırma başlangıç zamanı grafiği (26°C)

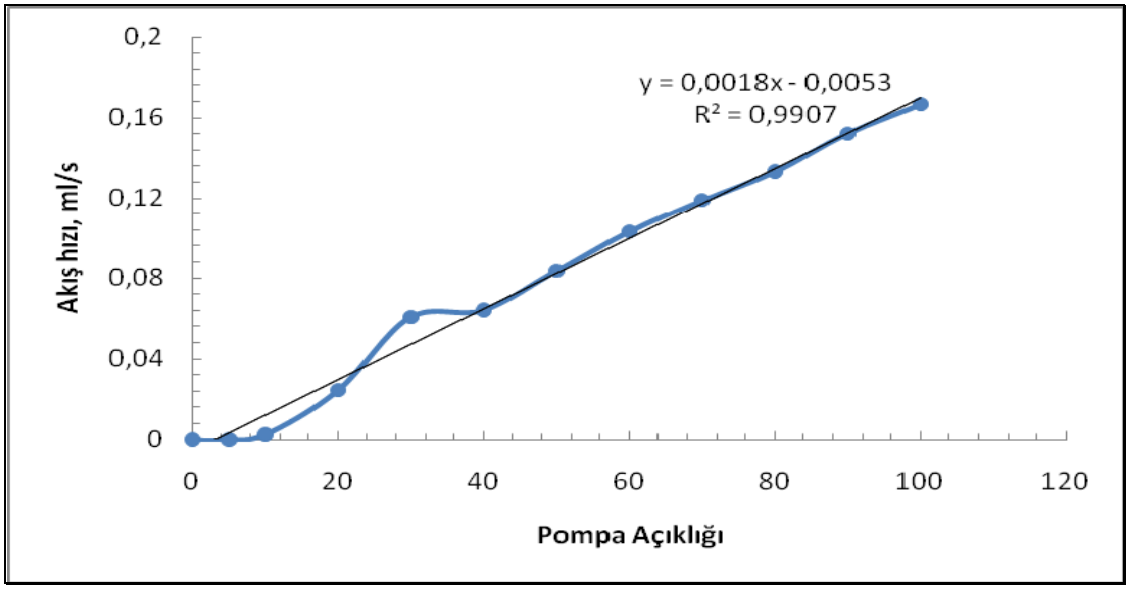


Şekil 5.12 Titrasyon asitliği- Karıştırma başlangıç zamanı grafiği (26°C)

Yukarıda verileri sunulan deney setine göre 1,5 saat sonra karıştırmanın başlatılmasının uygun olacağı değerlendirilmiştir.

5.2 Kalibrasyon Çalışmaları

Deneyler esnasında kullanılan ekipmanların kalibrasyonları, deneylere başlamadan, yapılmıştır. Kullanılan pH probunun, gösterge değeri ve bilgisayar sinyali değerleri arasındaki bağlantının doğrulanması açısından, kalibrasyonu kullanım kılavuzunda öngörüldüğü şekilde gerçekleştirilmiştir. Kullanılan pompaların kalibrasyonları ise pompa konumu (gösterge değeri) ile bilgisayar sinyali değerlerine karşılık gelen akış hızına karşı kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 5.13).



Şekil 5.13 Pompa kalibrasyon grafiği

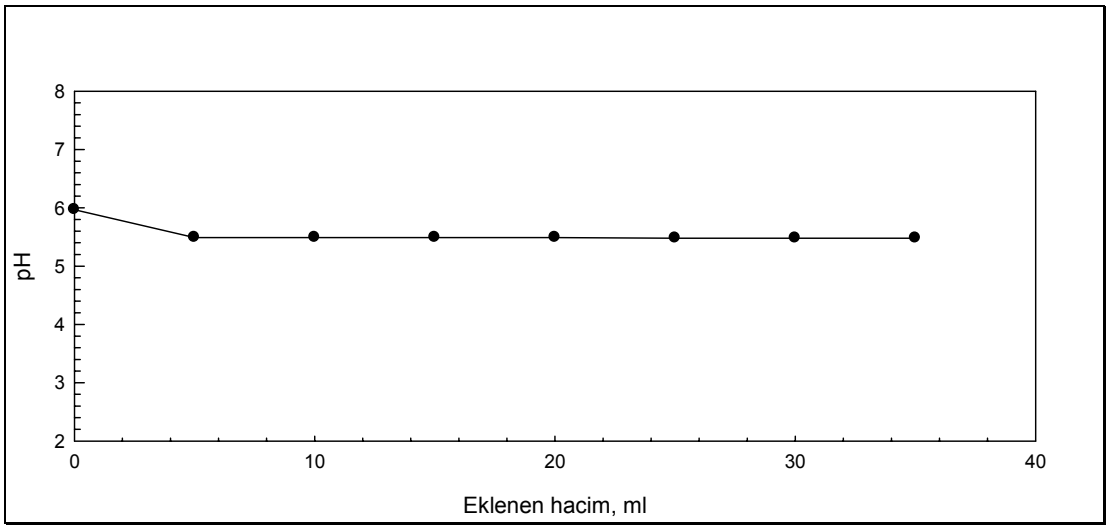
5.3 Asit-Baz Çalışmaları

Kullanılacak asit-baz çiftinin belirlenmesi amacıyla, literatür taramasının yanında yürürlükte olan Türk Gıda Mevzuatı çerçevesinde kullanılmasına izin verilen gıda katkı maddelerinden seçilmesine dikkat edilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda asit olarak en yaygın kullanılan sitrik asit, baz olarak da sodyum bikarbonat olması ve bu asit-baz çiftinin kullanılması değerlendirilmiştir. Asit-baz derişimi belirleme çalışmalarında kullanılacak asit-baz hacminin, toplam reaksiyon hacminin (700 ml) % 10'unu aşmamasına dikkat edilmiştir. Buna göre asit ve baz derişimleri, her birinin hacmi en fazla 35 ml olacak şekilde belirlenmiştir.

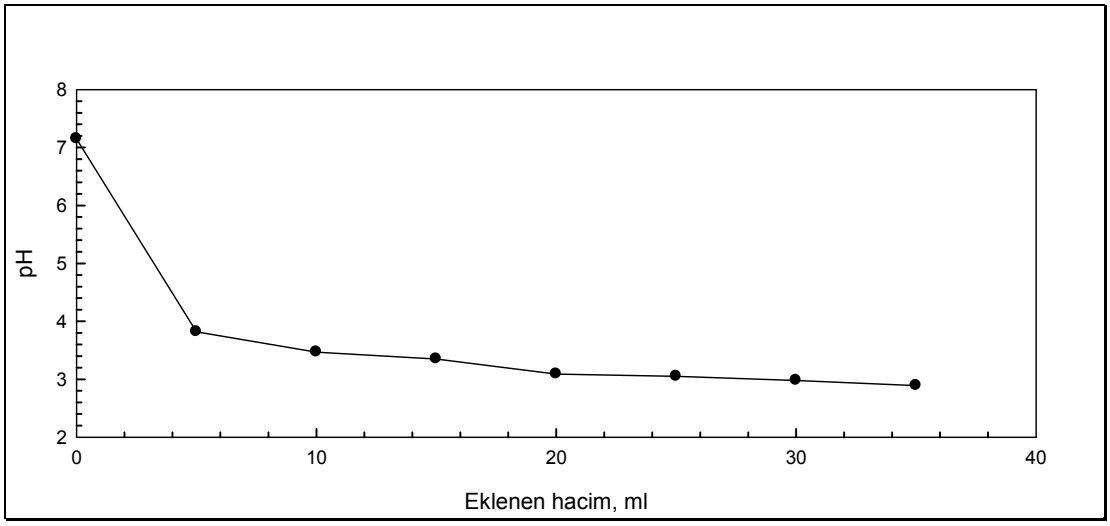
Kontrol deneylerinde kullanılacak asit-baz derişimi belirleme çalışmaları için; öncelikle tepkime kabı olarak kullanılan 250 ml'lik erlenlerde hazırlanmış besi ortamlarına 0,005 M, 0,01 M, 0,05 M, 0,1 M, 0,5 M, 1 M' lik sitrik asit çözeltileri küçük hacimler olarak eklenmiş ve pH grafikleri oluşturulmuştur.

Çizelge 5.7 Besi ortamının pH'ının farklı sitrik asit çözeltilerinin eklenen hacimleri ile değişimine ilişkin veriler

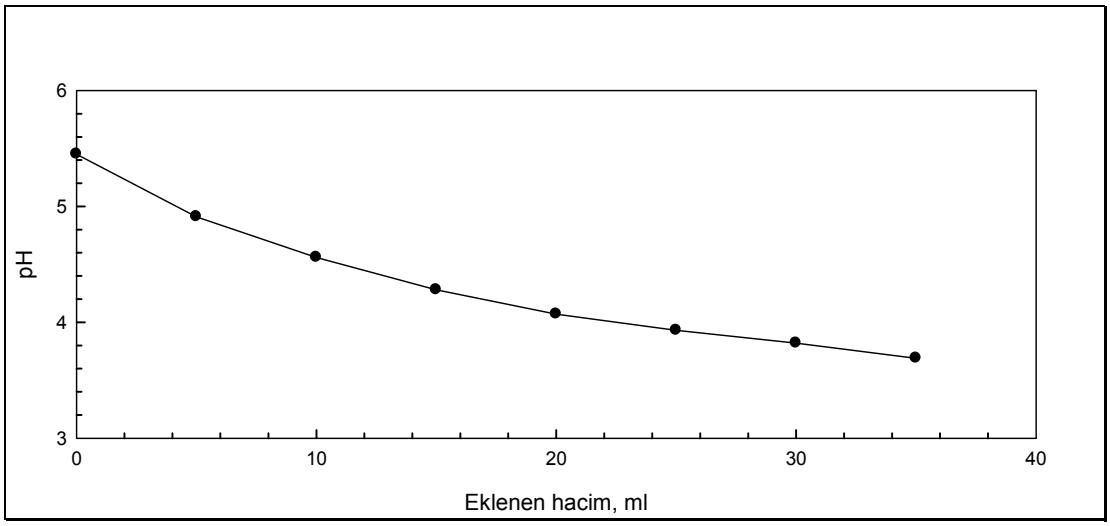
Eklenen hacim. ml	**0**	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**35**
0,005 M çözelti için pH	5,97	5,49	5,49	5,49	5,49	5,48	5,48	5,48
0,01 M çözelti için pH	7,15	3,82	3,47	3,35	3,09	3,05	2,98	2,89
0,05 M çözelti için pH	5,45	4,91	4,56	4,28	4,07	3,93	3,82	3,69
0,1 M çözelti için pH	5,32	4,64	4,15	3,86	3,66	3,49	3,48	3,33
0,5 M çözelti için pH	5,45	3,60	3,01	2,69	2,46	2,29	2,18	2,08
1 M çözelti için pH	5,53	3,14	2,61	2,26	2,11	1,91	1,79	1,76



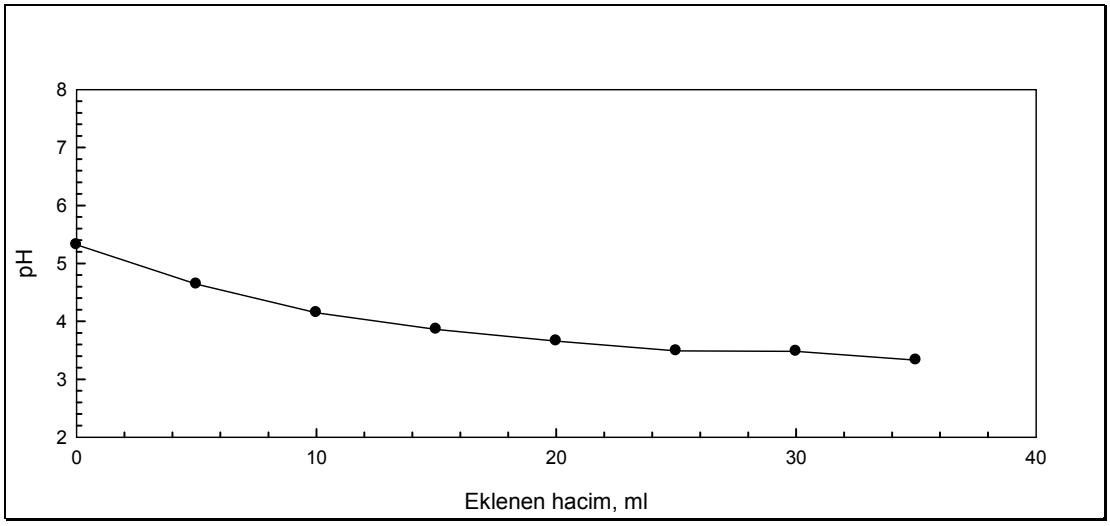
Şekil 5.14 Besi ortamının pH'ının 0,005 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



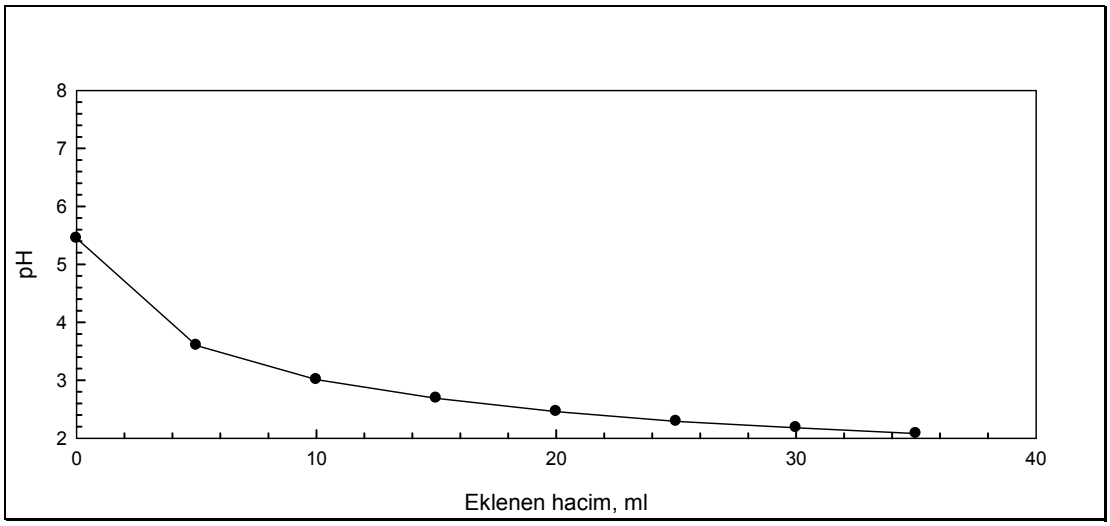
Şekil 5.15 Besi ortamının pH'ının 0,01 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



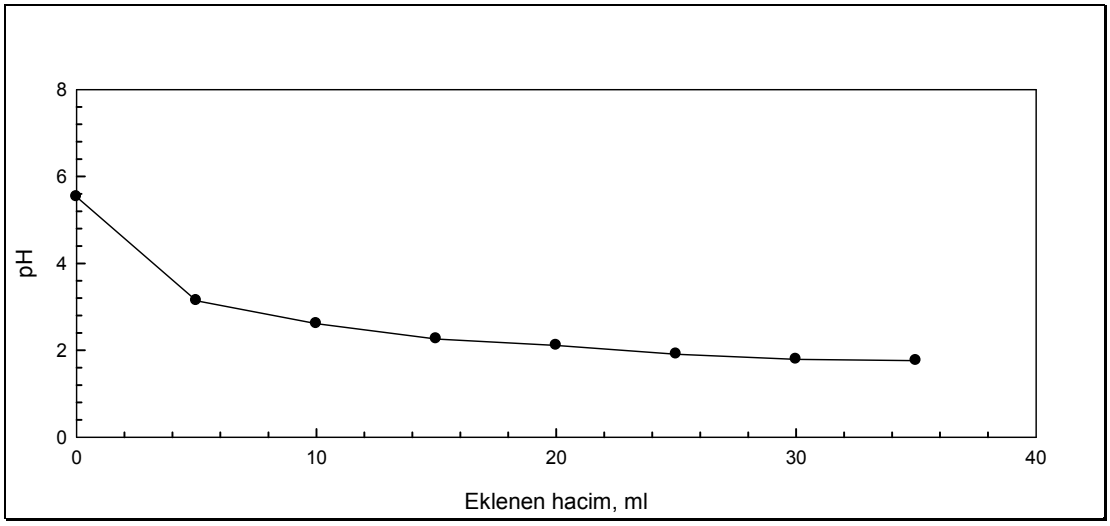
Şekil 5.16 Besi ortamının pH'ının 0,05 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



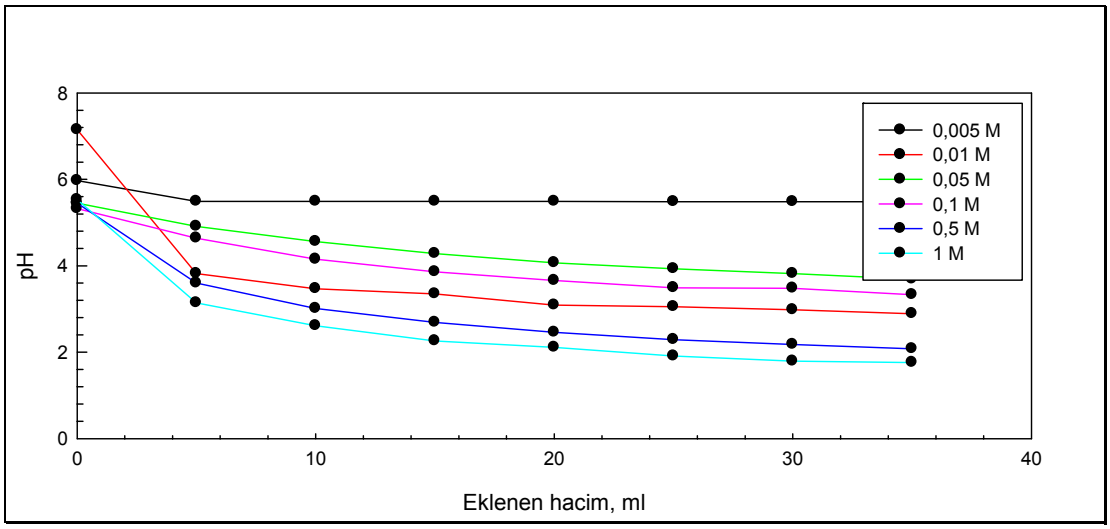
Şekil 5.17 Besi ortamının pH'ının 0,1 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



Şekil 5.18 Besi ortamının pH'ının 0,5 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



Şekil 5.19 Besi ortamının pH'ının 1 M sitrik asit çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



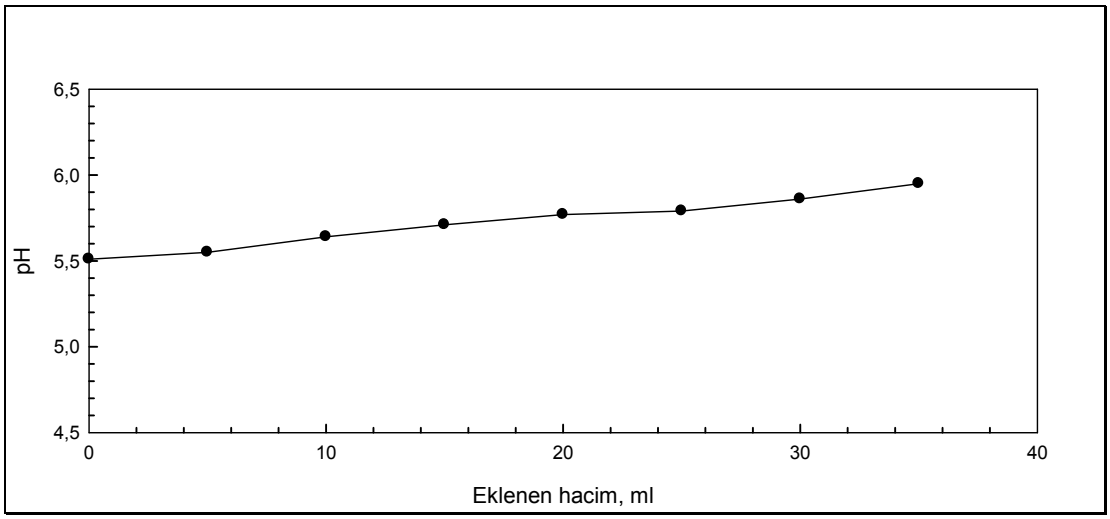
Şekil 5.20 Farklı derişimlerdeki asit çözeltileri ile değişim

Sonrasında 250 ml'lik erlenlerde hazırlanmış besi ortamlarına 0,01 M, 0,05 M, 0,1 M, 0,5 M, 1 M'lik sodyum bikarbonat çözeltileri küçük hacimler olarak eklenmiş ve pH grafikleri oluşturulmuştur. Baz çözeltisi derişim belirleme çalışmalarında 0,005 M derişiminde baz çözeltisi denenmemiştir.

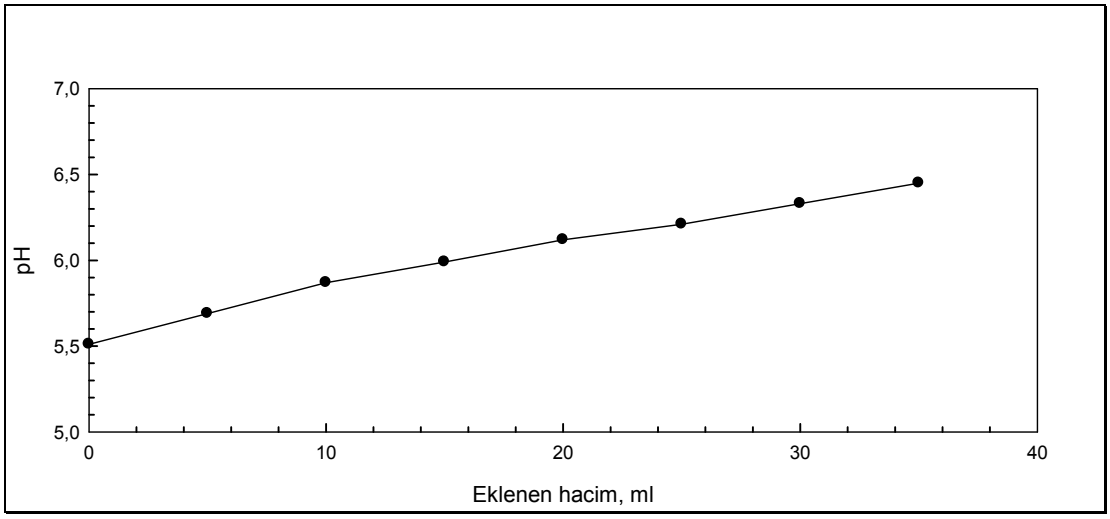
Yukarıda bahsedildiği gibi asit derişimine yönelik işlemlerin benzeri baz çözeltileri ile de gerçekleştirilmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 5.8 Besi ortamının pH' ının farklı sodyum bikarbonat çözeltilerinin eklenen hacimleri ile değişimine ilişkin veriler

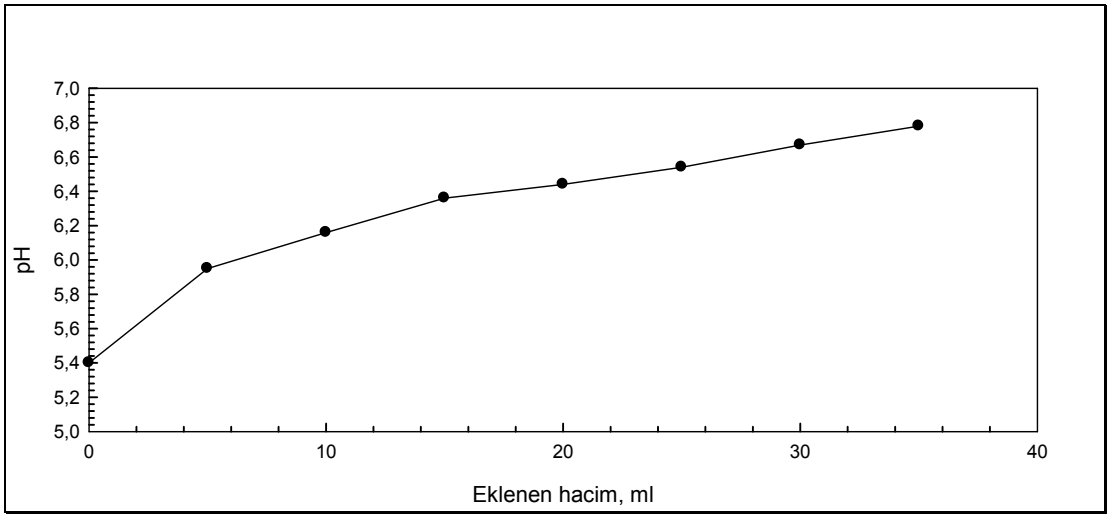
Eklenen hacim, ml	**0**	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**35**
0,01 M çözelti için pH	5,51	5,55	5,64	5,71	5,77	5,79	5,86	5,95
0,05 M çözelti için pH	5,51	5,69	5,87	5,99	6,12	6,21	6,33	6,45
0,1 M çözelti için pH	5,40	5,95	6,16	6,36	6,44	6,54	6,67	6,78
0,5 M çözelti için pH	5,51	6,56	6,86	6,99	7,13	7,24	7,32	7,41
1 M çözelti için pH	5,51	6,77	7,06	7,26	7,42	7,55	7,64	7,76



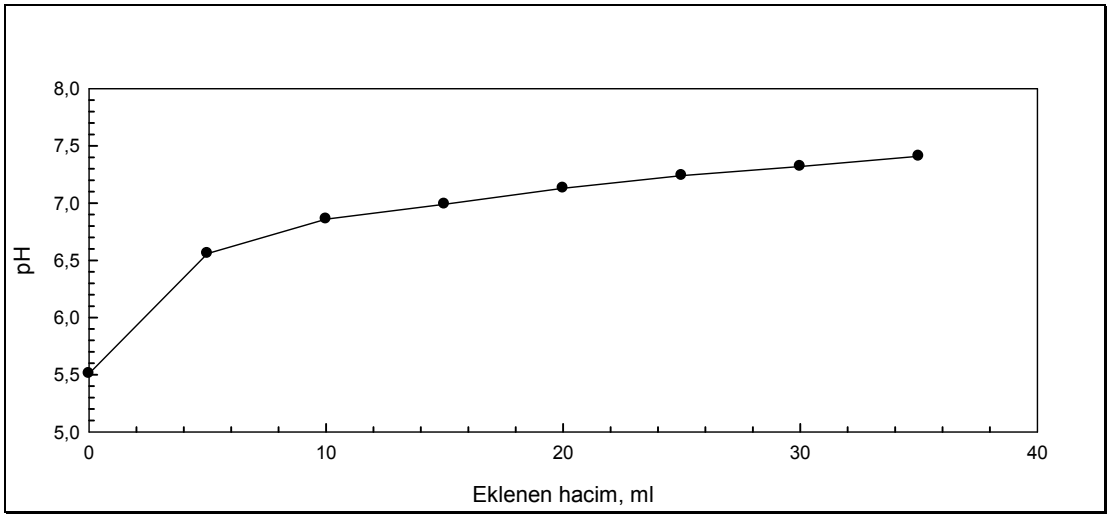
Şekil 5.21 Besi ortamının pH'ının 0,01 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



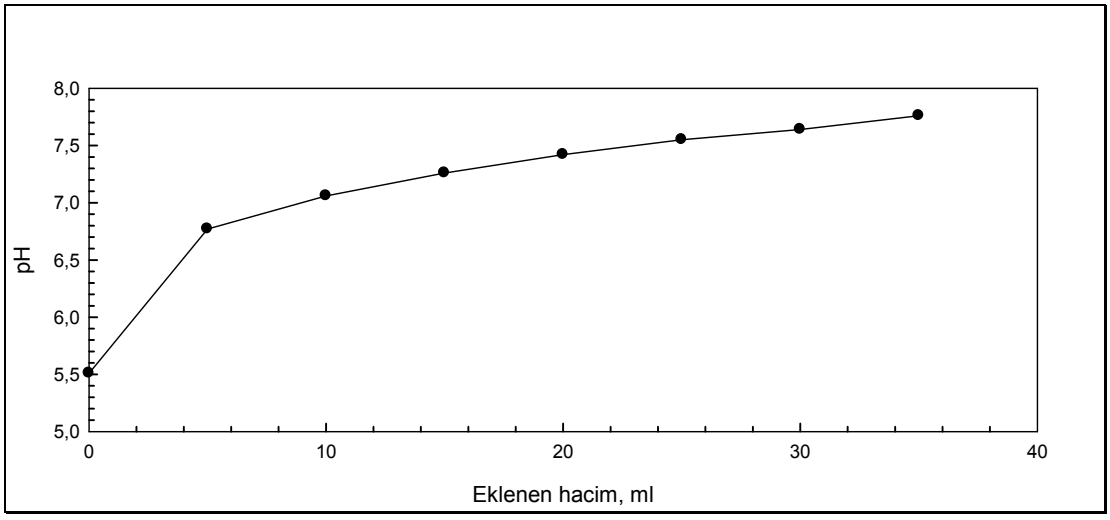
Şekil 5.22 Besi ortamının pH'ının 0,05 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



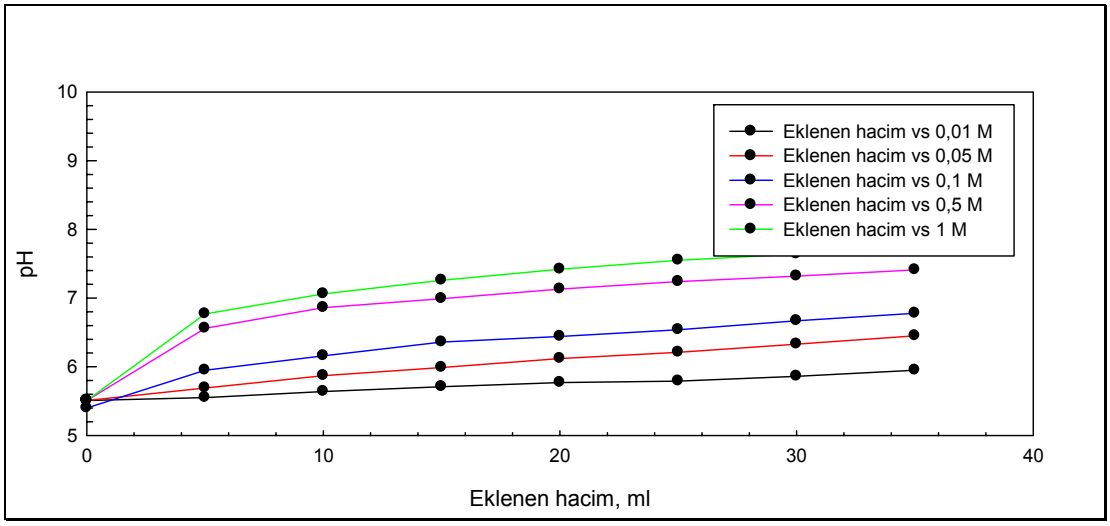
Şekil 5.23 Besi ortamının pH'ının 0,1 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



Şekil 5.24 Besi ortamının pH'ının 0,5 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



Şekil 5.25 Besi ortamının pH'ının 1 M sodyum bikarbonat çözeltisinin eklenen hacmi ile değişimi



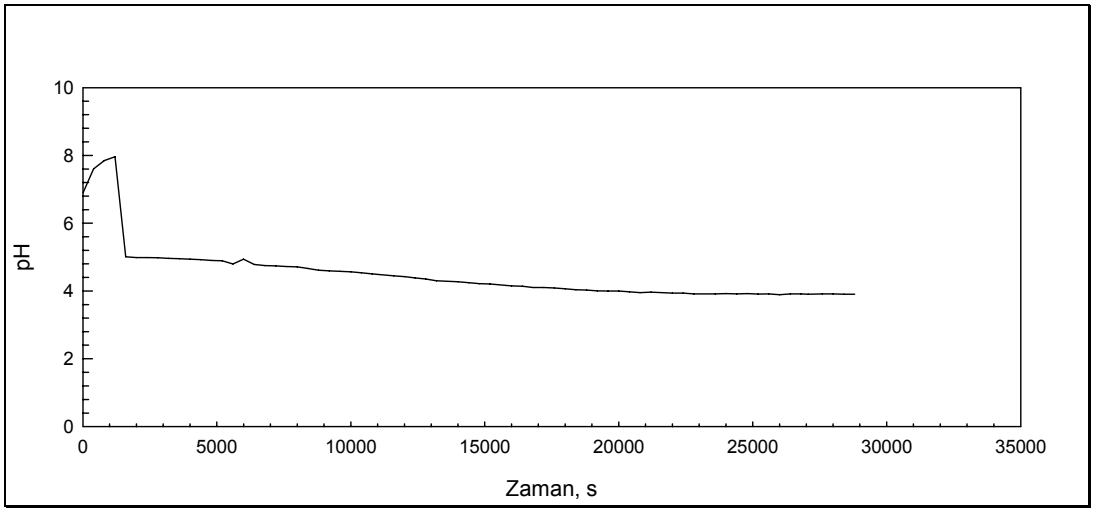
Şekil 5.26 Farklı derişimlerdeki baz çözeltileri ile değişim

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol deneylerinde kullanılacak asit-baz çifti; 0,5 M sitrik asit ve 0,5 M sodyum bikarbonat olarak belirlenmiştir.

5.4 Dinamik Çalışmalar

5.4.1 Açık-hat biyoreaktör işletimi

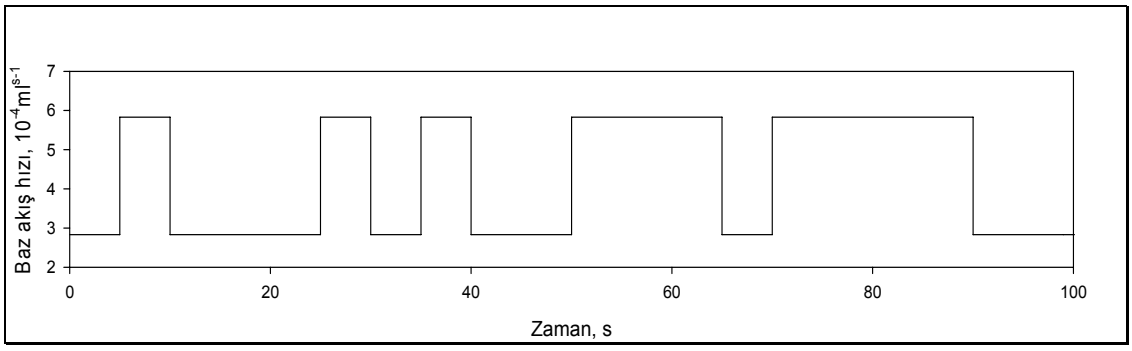
Biyoreaktör ve diğer ekipmanlar sterillendikten sonra besi ortamı biyoreaktöre konulmuş ve sistemi tanımak üzere sisteme asit ve/veya baz eklenmeksizin. karıştırma olmaksızın kısaca pH dışındaki işletim parametreleri sabit koşullarda olmak suretiyle dinamik deney gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.33).



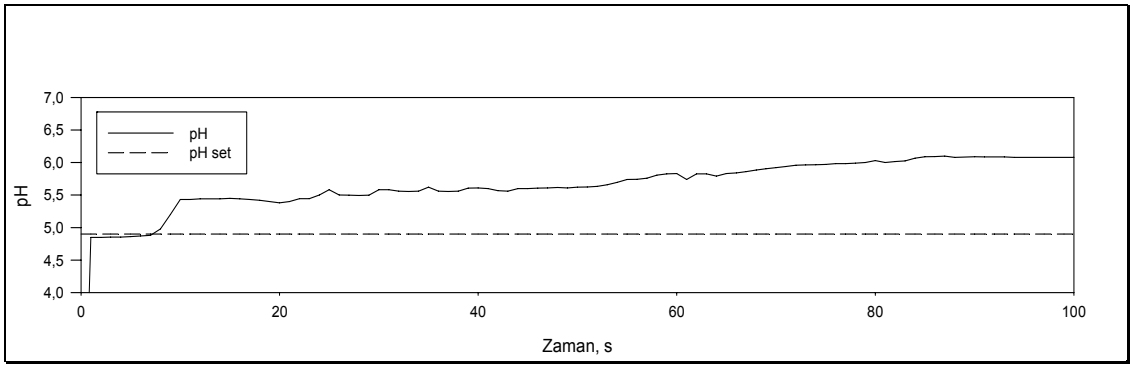
Şekil 5.27 Sistemin dinamik davranışı

5.4.2 Biyoreaktörün dinamik analizi

Model parametrelerinin belirlenmesi amacıyla yarı deneysel yarı kuramsal bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Proses için kuramsal olarak bir PRBS sinyali oluşturulmuştur. Geliştirilen sinyal bir bilgisayar programı ile prosese on-line bağlı bilgisayara yüklenmiştir. Bilgisayardan alınan ve şekil 5.28'de sunulmuş olan PRBS sinyali, ayarlanabilen değişken olan sodyum bikarbonat akış hızına verilmiştir. pH ölçümlerinin sonuçları ise şekil 5.29'da sunulmuştur.



Şekil 5.28 PRBS sinyaline karşı baz akış hızı değişimi



Şekil 5.29 Deneysel PRBS sinyali

Ayarlanabilen değişkene verilen PRBS etkileriyle pH'ın zamanla değişim verileri model parametrelerinin hesaplanması için teorik olarak kullanılmıştır. Model parametrelerinin hesabı için Bierman algoritması kullanılmıştır. Hesaplanan model parametre değerleri çizelge 5.9'da sunulmuştur.

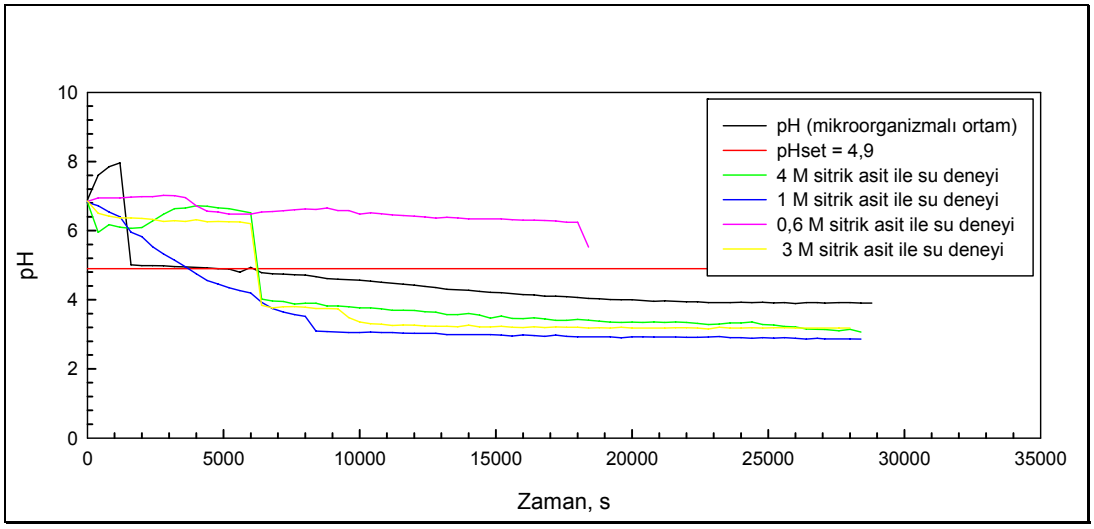
Çizelge 5.9 Model parametre değerleri

Model Parametresi	Parametre Değeri
a_1	- 0,933
a_2	-0,000132
b_0	+0,0000650

Biyoreaktörde hazırlanan ortamın başlangıç pH'ı 6,86'dır. Ortama baz çözeltisi eklenmeksizin ortamın pH'ında önemli bir azalma sözkonusu değildir. Dolayısıyla baz akış hızının ortamın pH'ı üzerinde doğrudan etkisi vardır.

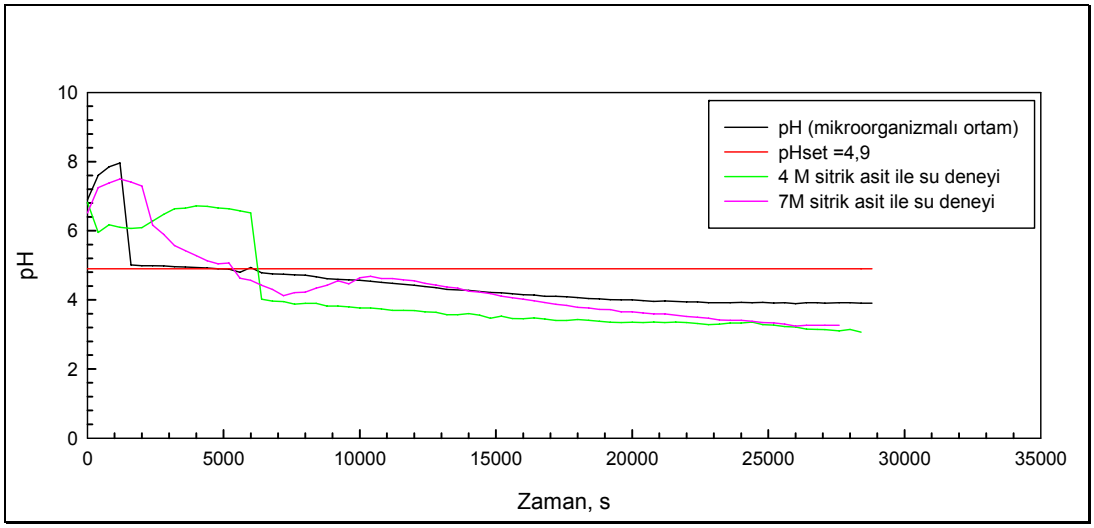
Fermentasyon prosesi süresince pH'ın set noktasının altında olmasından dolayı, mikroorganizmanın ürettiği asit miktarının benzetimini yapmak için, yük değişkeni olarak mikroorganizmanın ortamdaki asit üretimi yerine asit akış hızı kullanılarak benzetim yapılmıştır. Gerçekleştirilen kontrolun etkinliği açısından asit akış hızının pH üzerine etkisini araştırmak için asit akış hızına basamak etkiler verilmiş ve pH değişimi

incelenmiştir. Oluşturulan bu etkiler biyotepkime ortamında gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar şekil 5.30- 31'de sunulmuştur.



Şekil 5.30 Mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen biyotepkimeye benzetim çalışmaları-1

Biyotepkime ortamında gerçekleştirilen asit akış hızının pH üzerine etkisini araştırma deneyleri sonucunda, yukarıdaki şekilde görülen sonuçlardan da anlaşılacağı üzere, sistemin dinamiğine en yakın olan sonucun 4 M sitrik asit ile gerçekleştirilen deney sonucu olduğu görülmüştür. Ancak daha iyi sonuç elde edebilmek üzere aynı koşullarda 7 M sitrik asit ile deney gerçekleştirilmiş ve şekil 5.31'de sonuçların karşılaştırılması (4 M asit çözeltisi ile) görülen sonuç elde edilmiştir.



Şekil 5.31 Mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen biyotepkimeye benzetim çalışmaları-2

Şekil 5.31'den görülebileceği gibi sistem dinamiğine en uygun sonucu veren asit derişiminin 7 M sitrik asit çözeltisi olduğu görülmüştür.

5.5 GPC Kontrol Çalışmaları

5.5.1 Teorik çalışma sonuçları

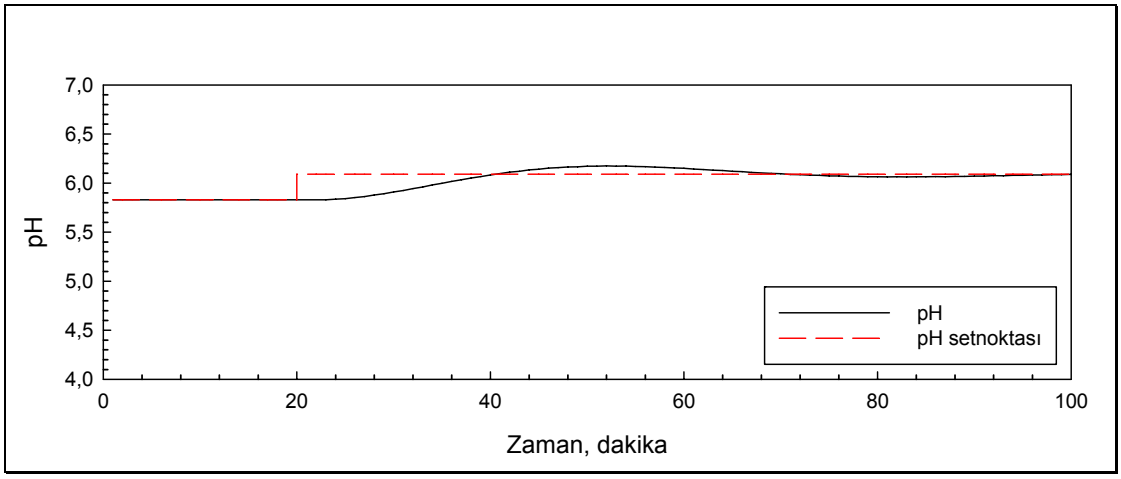
Uzun aralık öngörmeli pH kontrolu araştırılması için kontrol çalışmaları esnasında, öncelikle ortam sıcaklığı 25°C olarak on-off kontrol sağlanmıştır. Kontrol olmaksızın karışımın pH'ı online olarak izlenmiştir. 8 saatlik deney süresi sonunda; pH'ın başlangıç değeri olan yaklaşık 6,9 değerinden 3,9 değerine düştüğü görülmüştür. Sonuçta koagülasyonu (pıhtılaşma) önlemek üzere PAS karışımının fermentasyonu esnasında kontrol edilmesi gerekmektedir.

Biyoproseste, teorik olarak, GPC algoritması uygulanmış ve set noktasına basamak etki verilmiştir. Bu algoritma, ayar parametrelerinin temel olarak düzenlenmesi için kullanılmıştır. Elde edilen ISE ve IAE verileri karşılaştırılmak suretiyle aşağıdaki sonuçlar tablo halinde çizelge 5.10'da sunulmuştur.

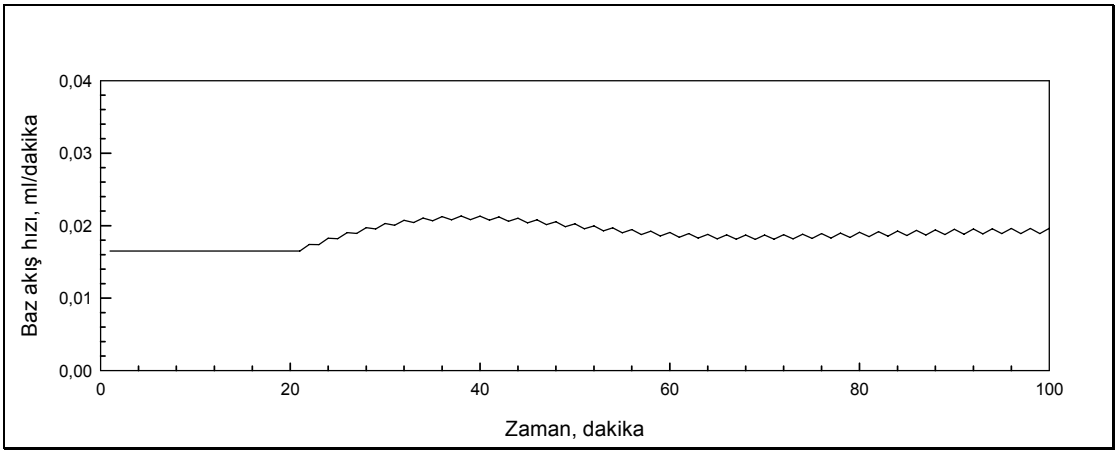
Çizelge 5.10 N_2=2 ve N_u=1 değerlerinde ISE ve IAE değerleri (* en iyi kontrol)

λ	**IAE**	**ISE**	**Şekil No**
0,005	0,015	0,00023	
0,006	0,0096	0,000092	
0,0065	0,0047	0,000022	
(*)0,007	0,00028	0,000000079	Şekil 5.32
0,0075	0,0049	0,000024	
0,008	0,0087	0,000075	
0,009	0,014	0,00018	

Çizelge 5.10 ile görülen sonuçlar karşılaştırıldığında, rastgele seçilen N_2=2 and N_u=1 değerlerinde en iyi λ'nın (ağırlık faktörü) 0,007 olduğu değerlendirilmiş olup sonuçlar şekil 5.32'de grafik olarak da sunulmuştur.



(a)



(b)

Şekil 5.32 (a) Kapalı sistemde set noktasının 5,83 den 6,09'a çıkarıldığı basamak etki altında pH'ın zamanla değişimi, (b) kapalı sistemde akış hızının zamanla değişimi (N_2=2 Nu=1 λ=0,007)

Kapalı sistemde set noktasının 5,83'den 6,09'a çıkarıldığı basamak etki altında, pH'ın ve akış hızının zamanla değişiminin gösterildiği şekil 5.32'den de görüleceği gibi N_2=2, Nu=1 ve λ=0,007 değerlerinde set noktasına yakın bir kontrol gerçekleştirildiği söylenebilir.

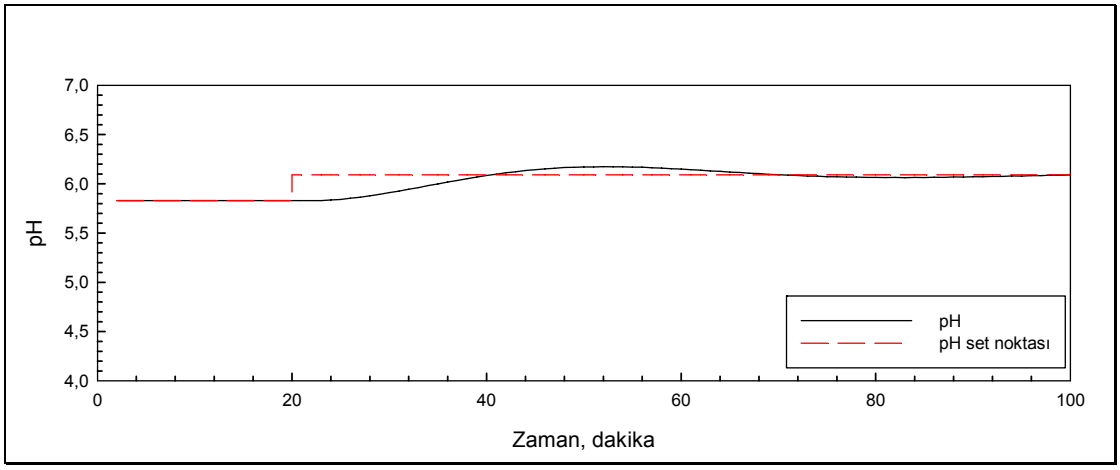
λ' nın (ağırlık faktörü) farklı değerleri ile N_2=4 ve N_u=1 değerlerinde en iyi ISE ve IAE değerlerinin karşılaştırılması suretiyle gerçekleştirilen çalışmada en iyi kontrolun ağırlık faktörünün 0,005 değerinde olduğu değerlendirilmiş ve sonuçlar çizelge 5.11 ile sunulmuştur.

Çizelge 5.11 N_2=4 ve N_u=1 değerlerinde ISE ve IAE değerleri (* en iyi kontrol)

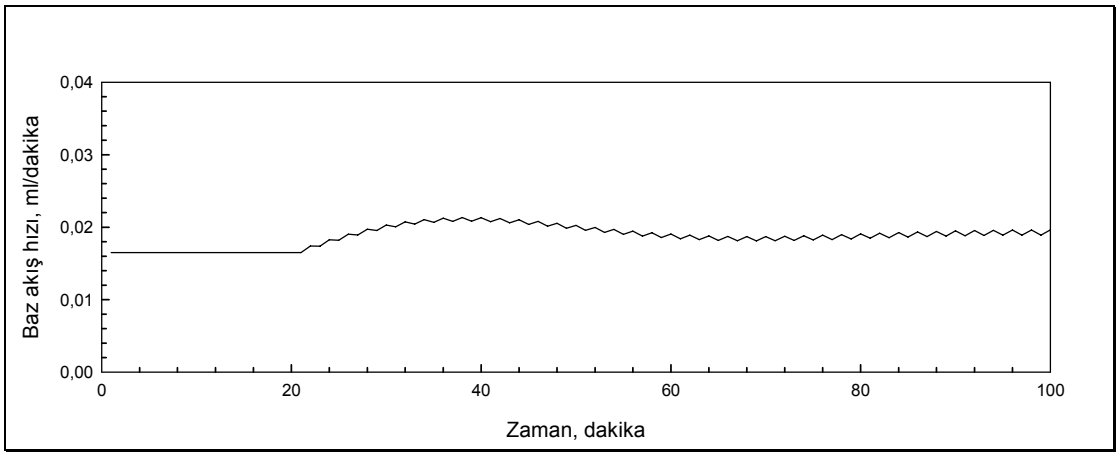
λ	**IAE**	**ISE**	**Şekil No**
0,001	0,0048	0,000023	
0,004	0,01	0,0001	
0,0045	0,0052	0,000027	
(*)0,005	0,00014	0,00000002	Şekil 5.33
0,0055	0,0045	0,00002	
0,006	0,0084	0,00007	
0,008	0,015	0,00023	

Şekil 5.33'de grafik olarak da sunulan bu çalışmada; sistem için denemesi yapılan ayar parametre değerlerinin, şekil 5.32 ile grafik olarak gösterilen değerlere göre daha geç yanıt verdiği değerlendirilmiştir.

Ayrıca çizelge 5.10 ile çizelge 5.11'de sunulan verileri karşılaştıracak olursak, N_2 değeri artırıldığında ağırlık faktörü λ'nın öncekine kıyasla daha düşük değerinde ISE ve IAE değerlerinin de düşük olduğu görülmüştür.



(a)



(b)

Şekil 5.33 (a) Kapalı sistemde set noktasının 5,83 den 6,09'a çıkarıldığı basamak etki altında pH ın zamanla değişimi, (b) kapalı sistemde akış hızının zamanla değişimi (N_2=4 Nu=1 λ=0,005)

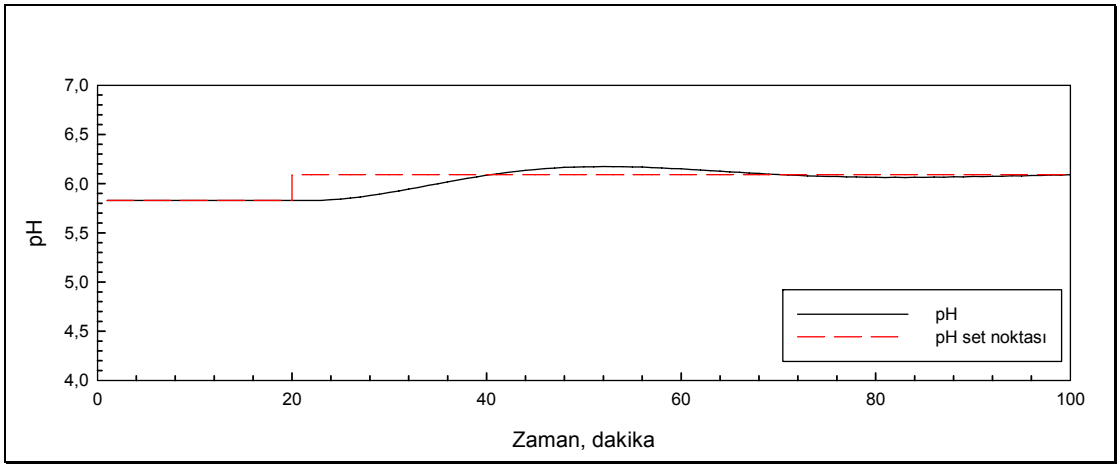
Elde edilen sonuçlardan sonra N_2=4 olacak şekilde N_2 değeri değiştirilmeden farklı bir N_u değeri olan N_u=2 değerinde en iyi λ'nın (ağırlık faktörü) 0,0052 olduğu değerlendirilmiştir. Sonuçlar tablo halinde çizelge 5.12 ve grafik olarak da şekil 5.34'de sunulmuştur.

Çizelge 5.12 N_2=4 and N_u=2 değerlerinde ISE ve IAE değerleri (* en iyi kontrol değeri)

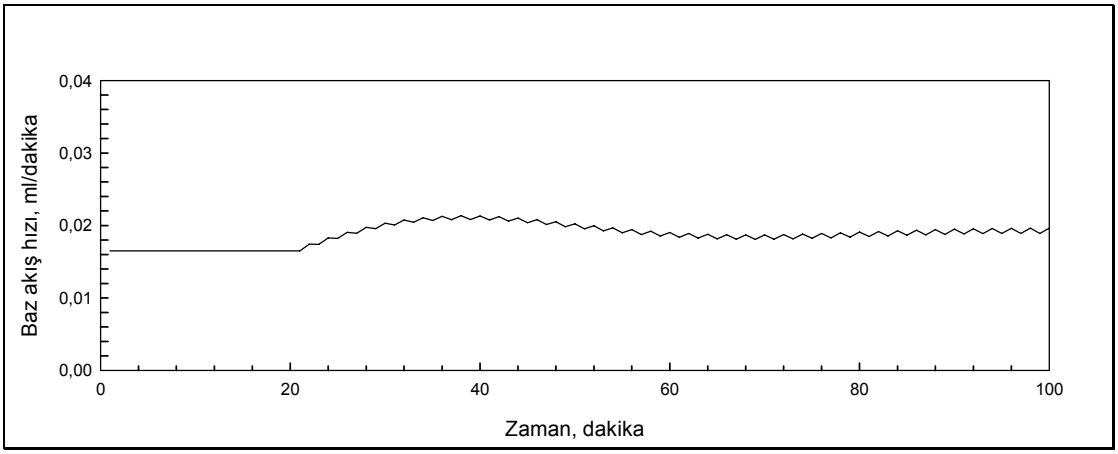
λ	**IAE**	**ISE**	**Şekil No**
0,004	0,012	0,00015	
0,005	0,0023	0,0000053	
0,0051	0,0013	0,0000016	
(*)0,0052	0,00024	0,000000058	Şekil 5.34
0,0053	0,00076	0,00000058	
0,006	0,007	0,000049	
0,007	0,013	0,00017	

Çizelge 5.12, çizelge 5.10 ve çizelge 5.11 ile karşılaştırıldığında, N_2'nin artan değerinde N_u değeri de artırıldığında ağırlık faktörü **λ**'nın daha yüksek değerinde ISE ve IAE değerlerinin artmış olduğu görülmüştür.

Bu çalışmalardan sonra set noktasına artan şekilde basamak etki verildiğinde N_2=4, Nu=2 ve λ=0,0052 değerleri ile pH değerinin grafiksel sunumu şekil 5.34' de olduğu gibidir.



(a)



(b)

Şekil 5.34 (a) Kapalı sistemde set noktasının 5,83 den 6,09'a çıkarıldığı basamak etki altında pH'ın zamanla değişimi, (b) kapalı sistemde akış hızının zamanla değişimi (N_2=4 Nu=2 λ=0,0052)

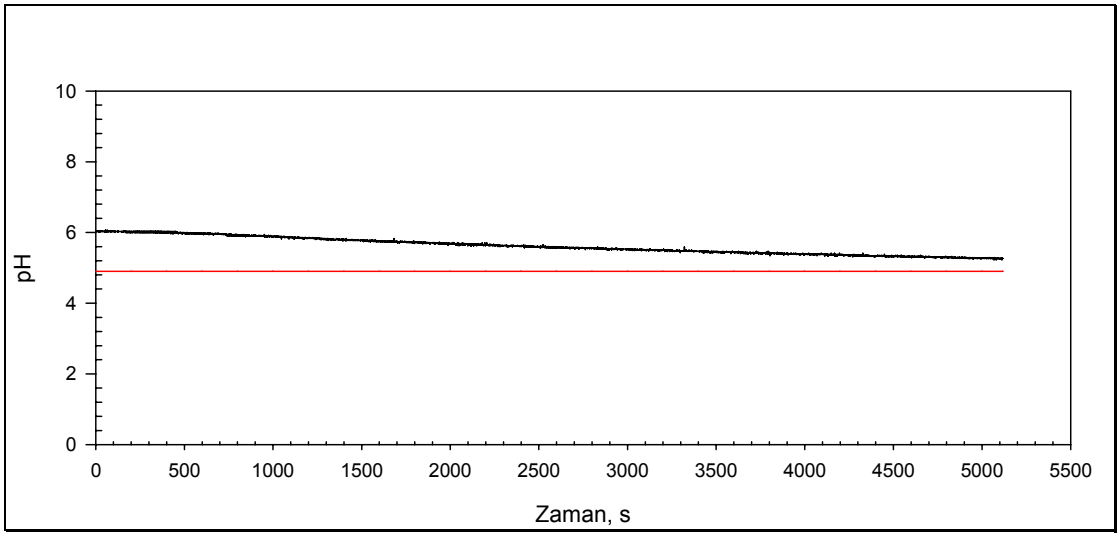
Yapılan bu çalışmalar sonucunda elde edilen ayar parametreleri sonraki kontrol çalışmalarında en iyi kontrol sonucunu elde etmek üzere kullanılmıştır.

5.5.2 Deneysel çalışma sonuçları

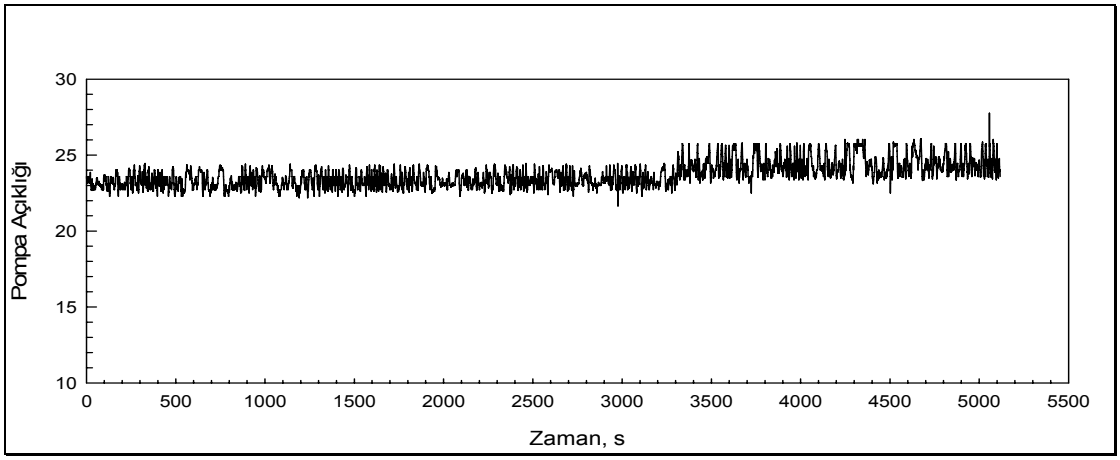
Kontrol etkinliği için deneysel olarak yapılan çalışmalarda öncelikle farklı katsayı için aynı λ (ağırlık faktörü) değerleri su deneyleri ile denenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir. Su deneyleri esnasında asitt- baz çalışmaları sonucunda uygun olacağı değerlendirilen asit-baz çifti kullanılmıştır.

Öncelikle $\lambda = 0{,}5*10^{-5}$ değeri için su deneyi gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar şekil 5.35 ile sunulmuştur. $\lambda = 0{,}5*10^{-5}$ değeri için elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, bu λ değerine göre daha büyük bir değer ile olan $\lambda = 2*10^{-5}$ değeri ile su deneyi gerçekleştirilmiş ve sonuçları şekil 5.36'da sunulmuştur.

$\lambda = 0{,}5*10^{-5}$ değeri için gerçekleştirilen deney sonucu uygun değerlendirilmediğinden daha önce yapılan iki deney için denemesi yapılan λ değerlerinin arasında bir değer olarak $\lambda = 1*10^{-5}$ değeri için deney gerçekleştirilmiştir.

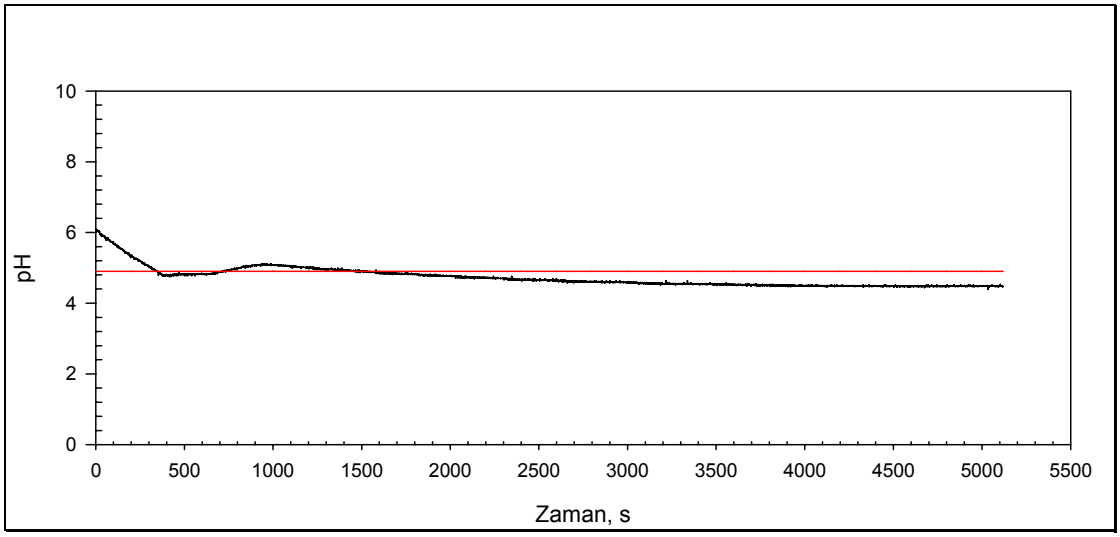


(a)

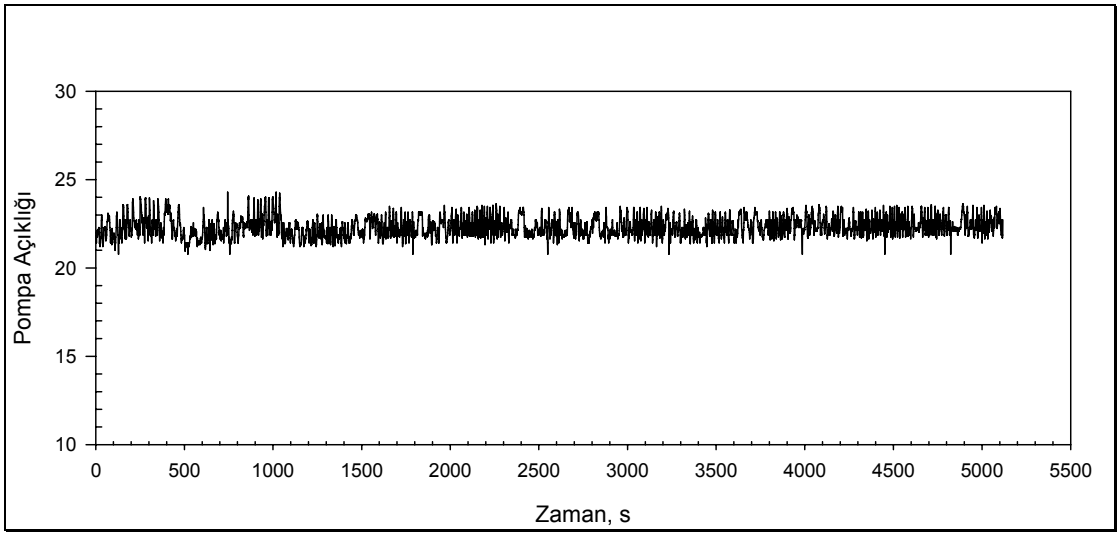


(b)

Şekil 5.35 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 0{,}5*10^{-5}$)

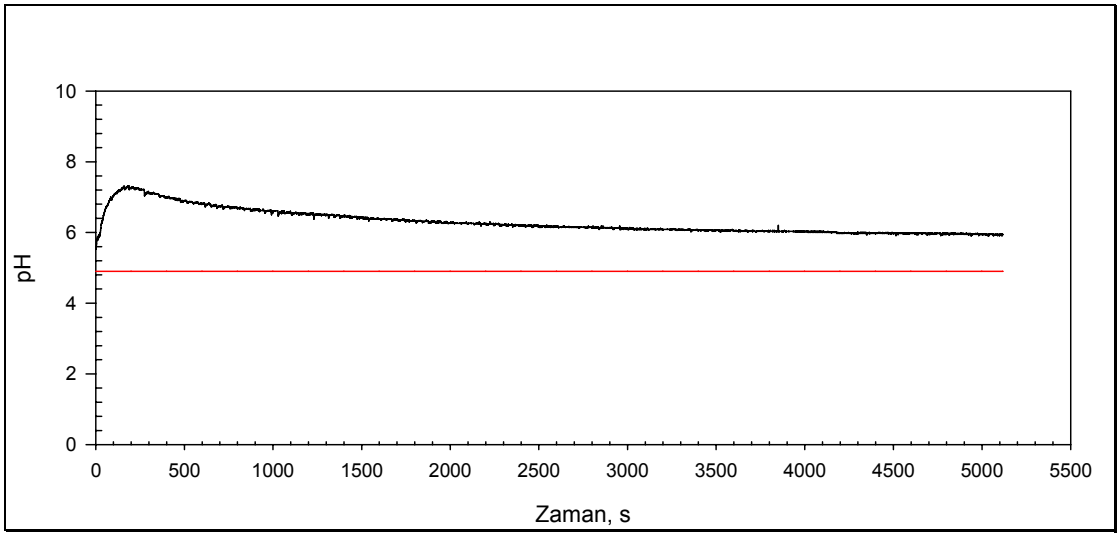


(a)

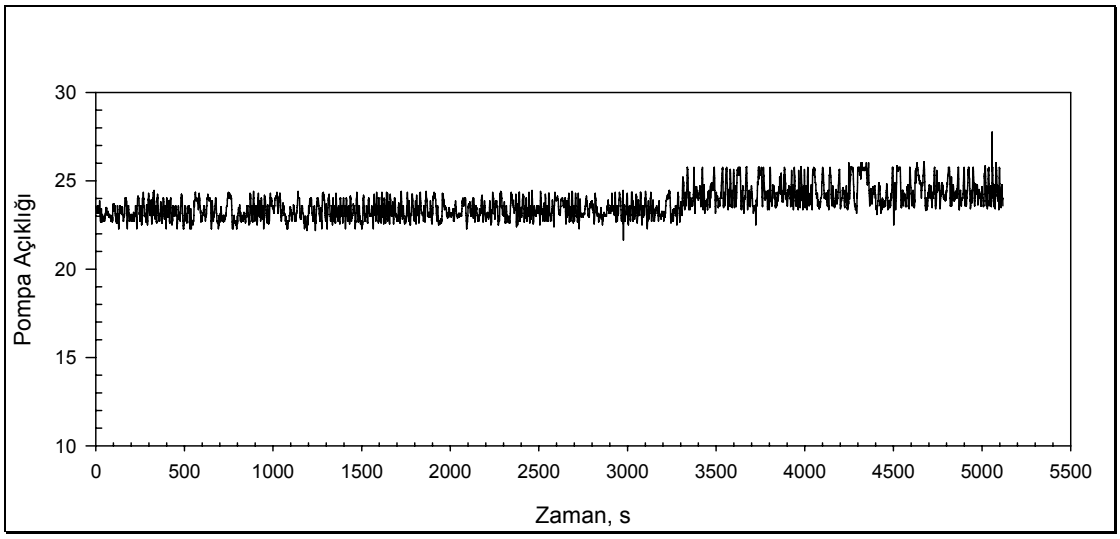


(b)

Şekil 5.36 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 2 * 10^{-5}$)



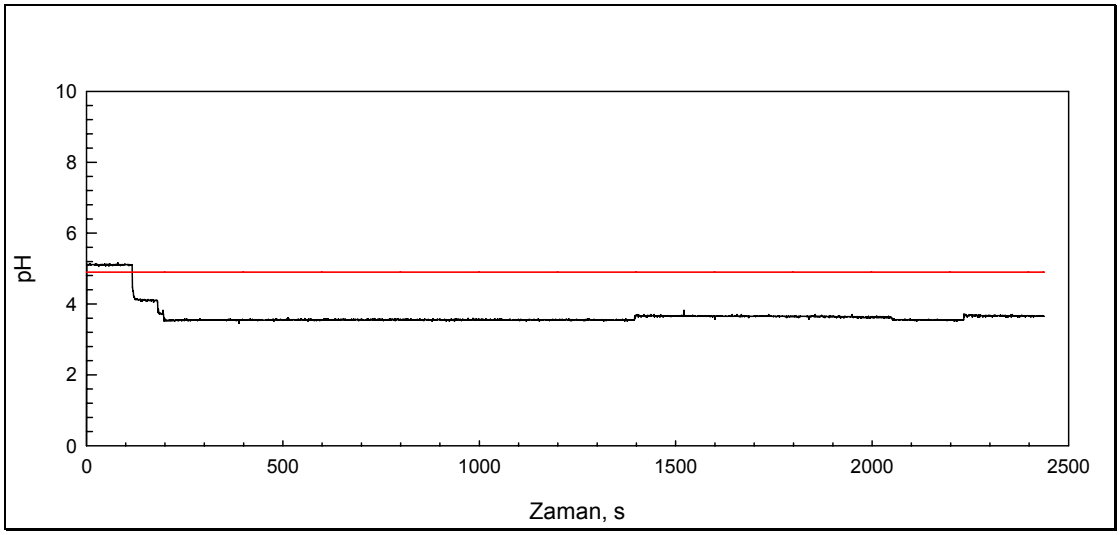
(a)



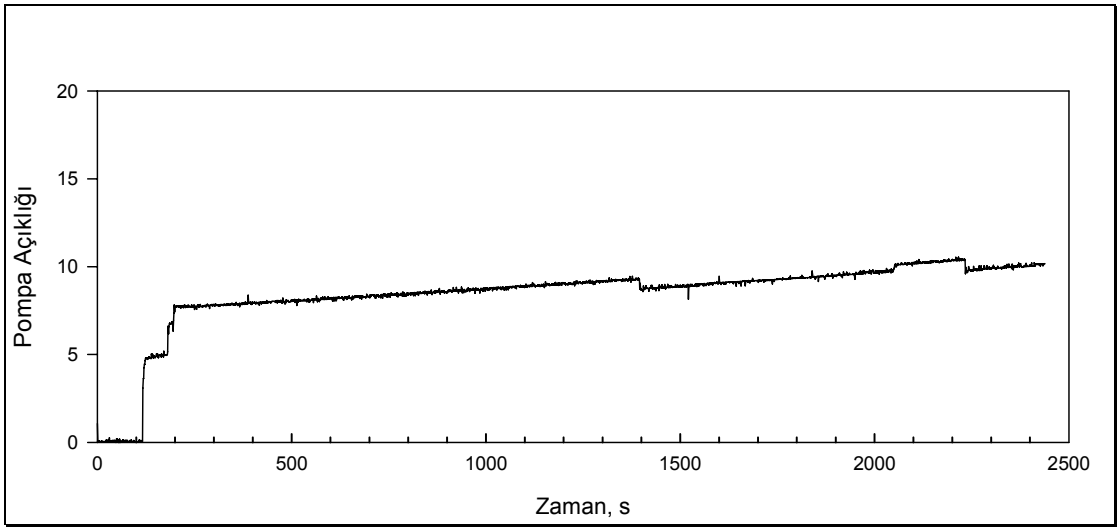
(b)

Şekil 5.37 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 1*10^{-5}$)

λ'nın denenen değerleri ile gerçekleştirilen deney sonuçlarına göre bu ağırlık faktörleri uygun bulunmadığından daha büyük değerleri ile deneyler gerçekleştirilmiştir.



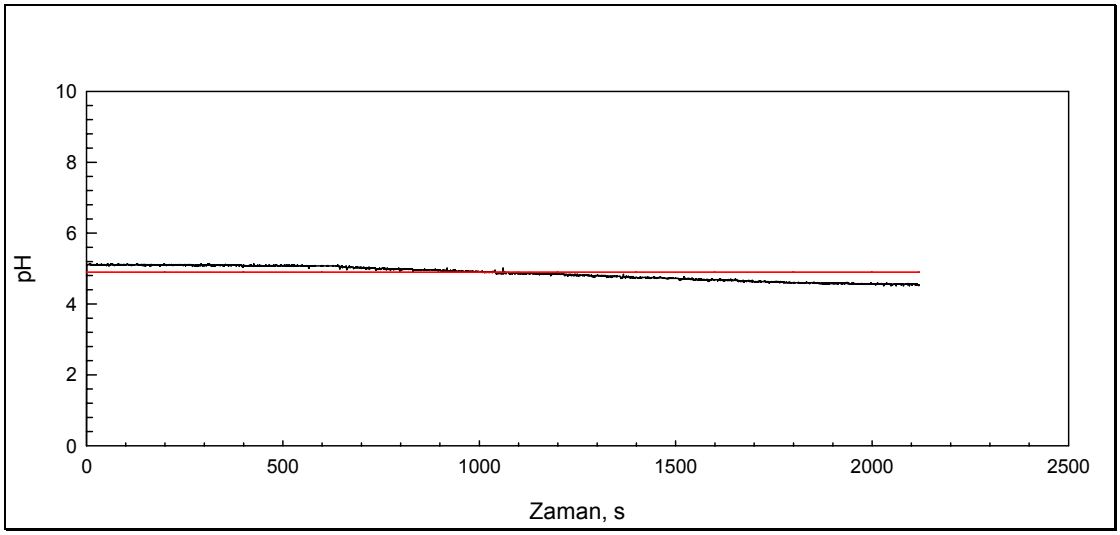
(a)



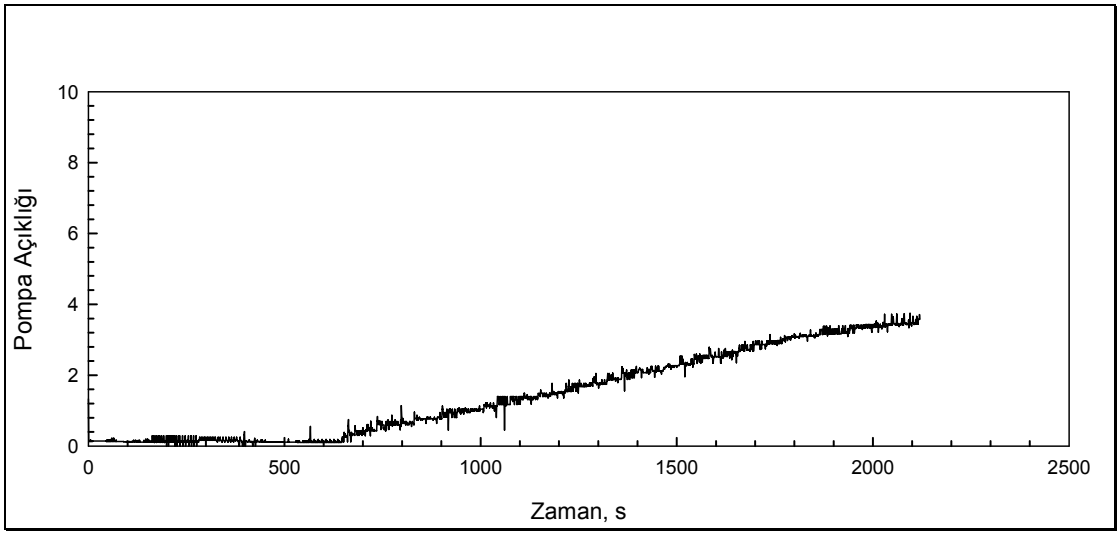
(b)

Şekil 5.38 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/8)*10^{-4}$)

Elde edilen sonuca göre daha büyük bir değer seçilmesine karar verilmiş ve $\lambda = 1*10^{-4}$ değeri ile deney gerçekleştirilmiştir.



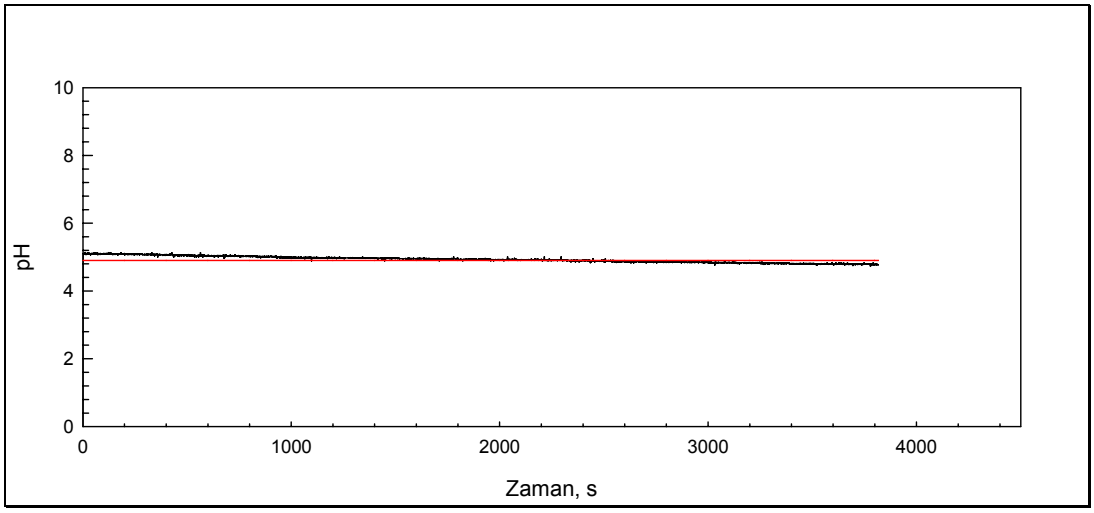
(a)



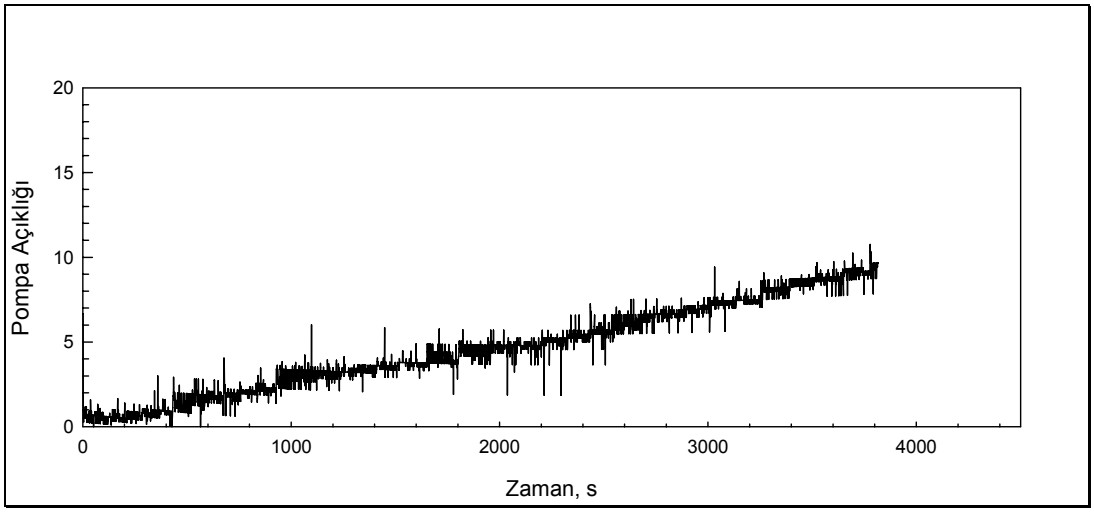
(b)

Şekil 5.39 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = 1*10^{-4}$)

Elde edilen sonuca göre öncekine göre ortada bir değer seçilmesine karar verilmiş ve $\lambda = (1/5)*10^{-4}$ değeri ile deney gerçekleştirilmiştir.



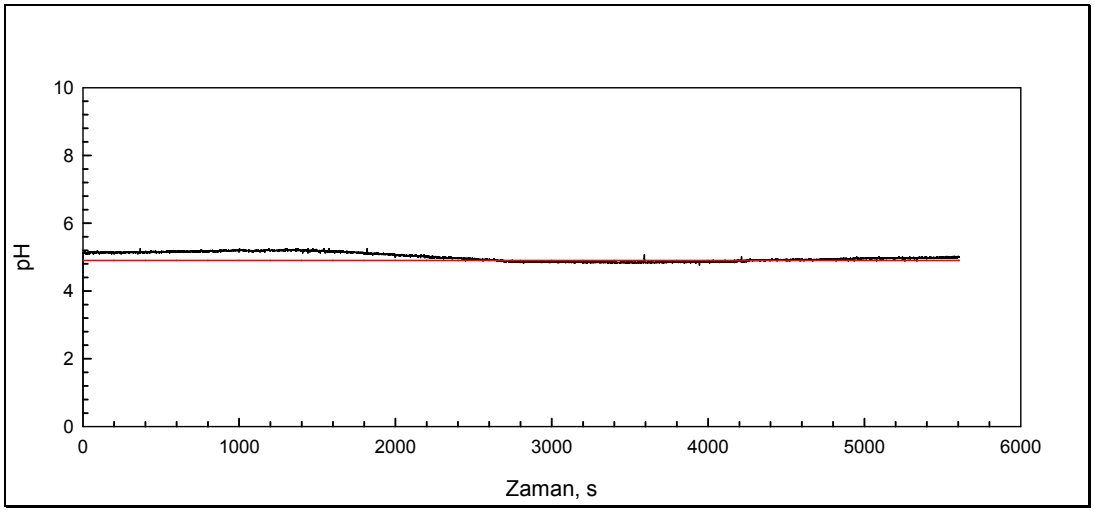
(a)



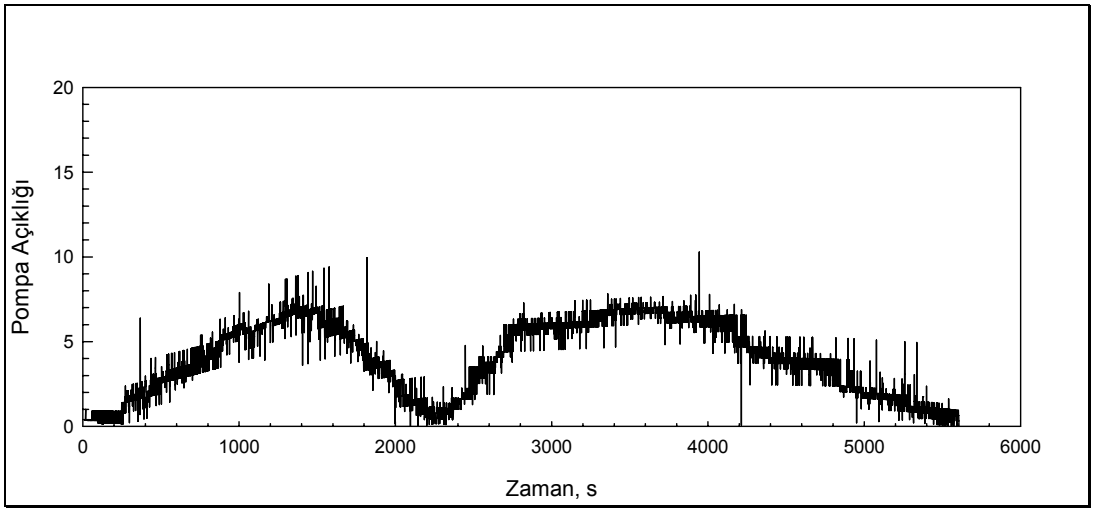
(b)

Şekil 5.40 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/5)*10^{-4}$)

Deney sonucunda elde edilen sonuçlar ile ağırlık faktörünün uygunluğuna karar verebilmek adına $\lambda = (1/7)*10^{-4}$ değeri ile deney gerçekleştirilmiştir.



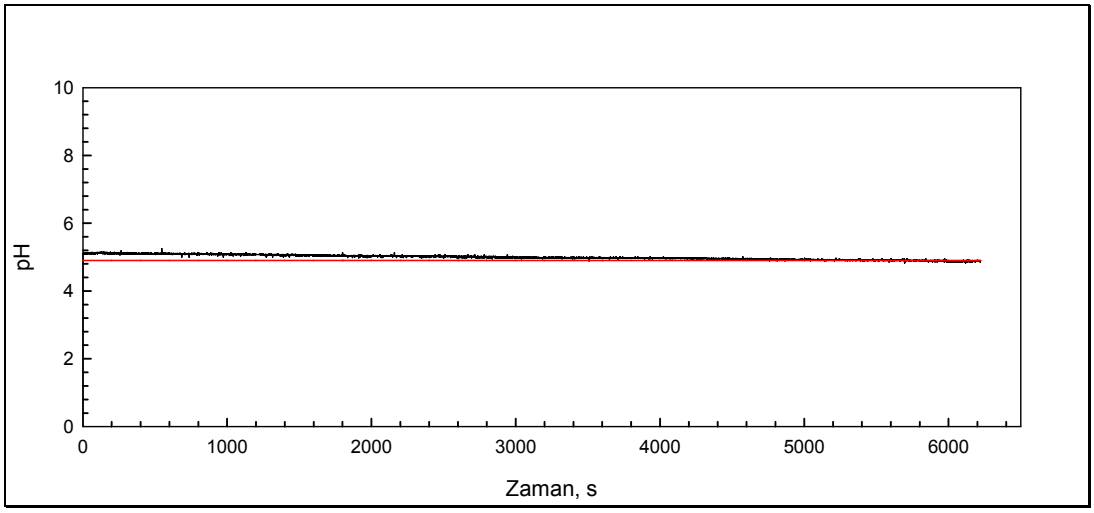
(a)



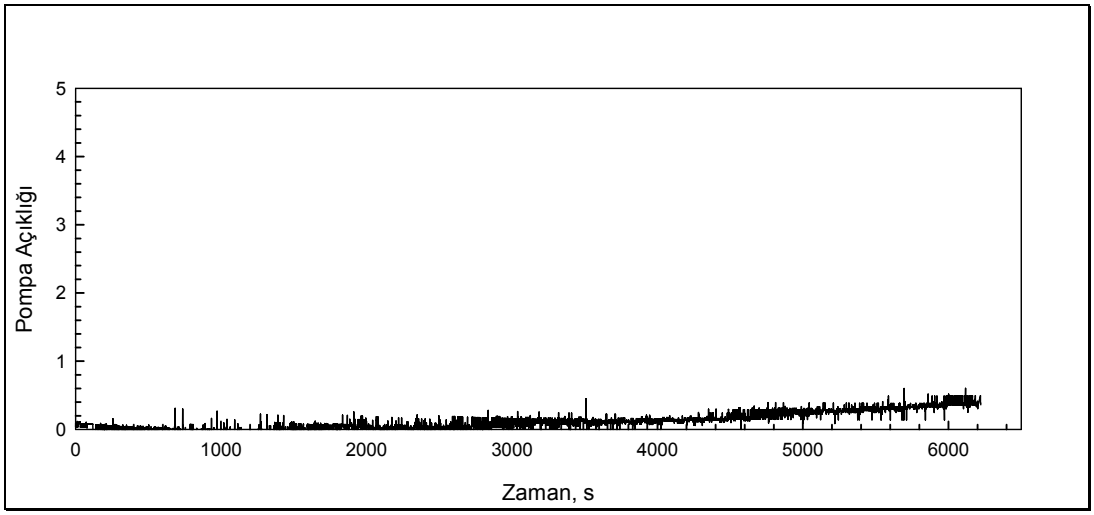
(b)

Şekil 5.41 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/7)*10^{-4}$)

$\lambda = (1/7)*10^{-4}$ değeri ile yapılan deney sonucunun $\lambda = (1/5)*10^{-4}$ değeri ile yapılan deney sonucuna göre iyi olmadığı değerlendirilmiş olup $\lambda = (1/6)*10^{-4}$ ile deney gerçekleştirilmiştir.



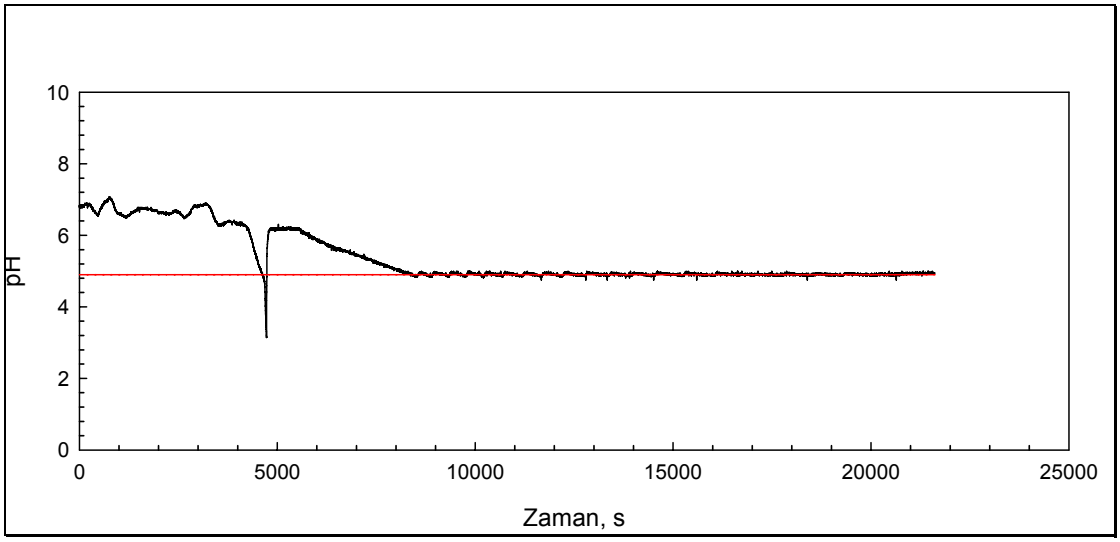
(a)



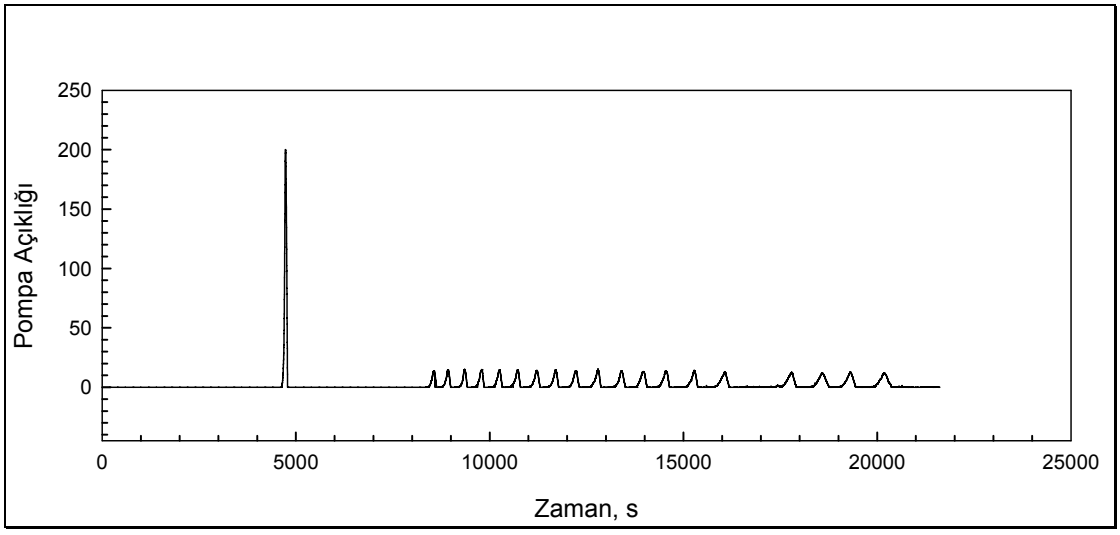
(b)

Şekil 5.42 GPC Kontrol ile pH kontrol ($\lambda = (1/6)*10^{-4}$)

Ağırlık faktörü λ içinde yer alan programda kullanılacak katsayıya belirlendikten sonra daha iyi sonuç alabilmek için tekrar farklı λ ile mikroorganizmalı ortamda deneyler gerçekleştirilmiştir.



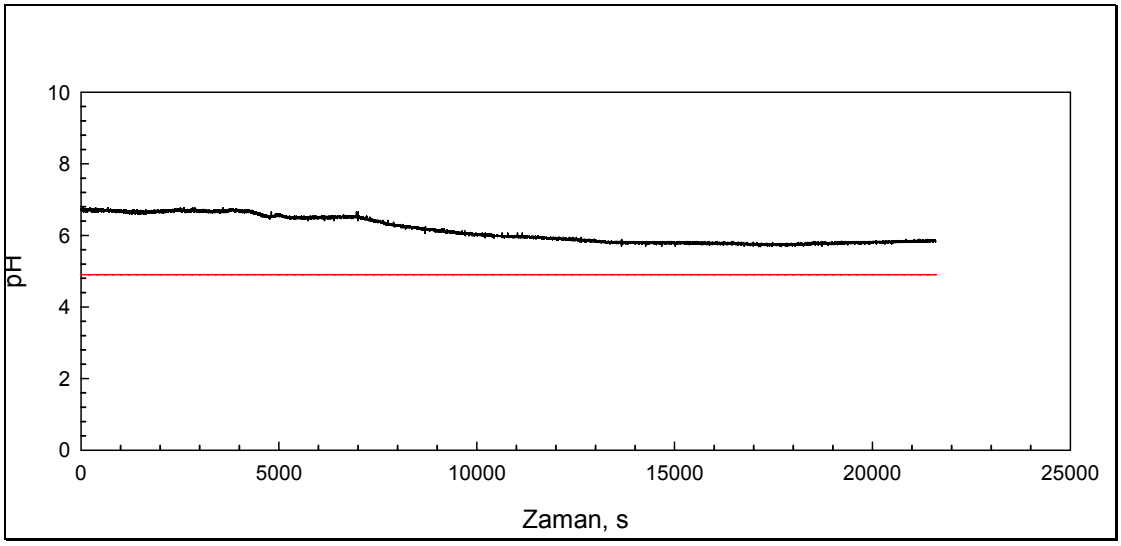
(a)



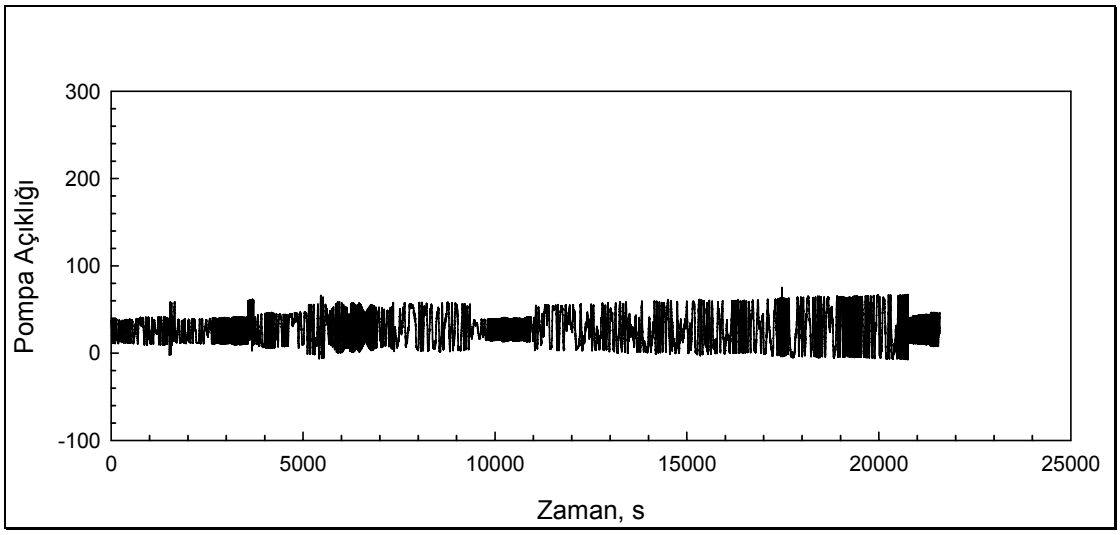
(b)

Şekil 5.43 Mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =1)

Mikroorganizmalı ortamda, ağırlık faktörü λ =1 değeri için, pH'ın GPC Kontrol ile kontrolu sonuçlarının akabinde aynı işlem λ =0,5 değeri ile gerçekleştirilmiştir.



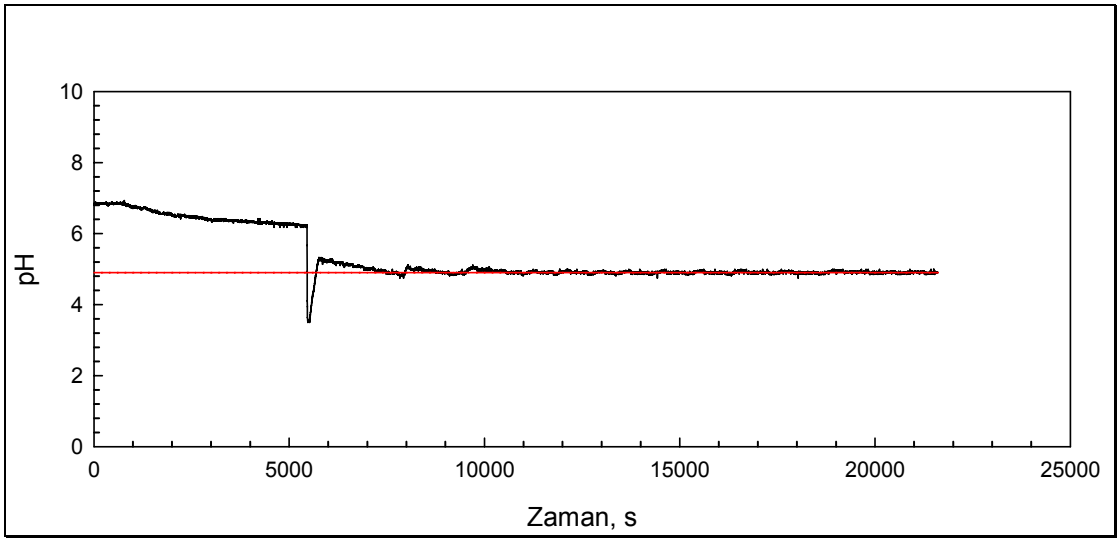
(a)



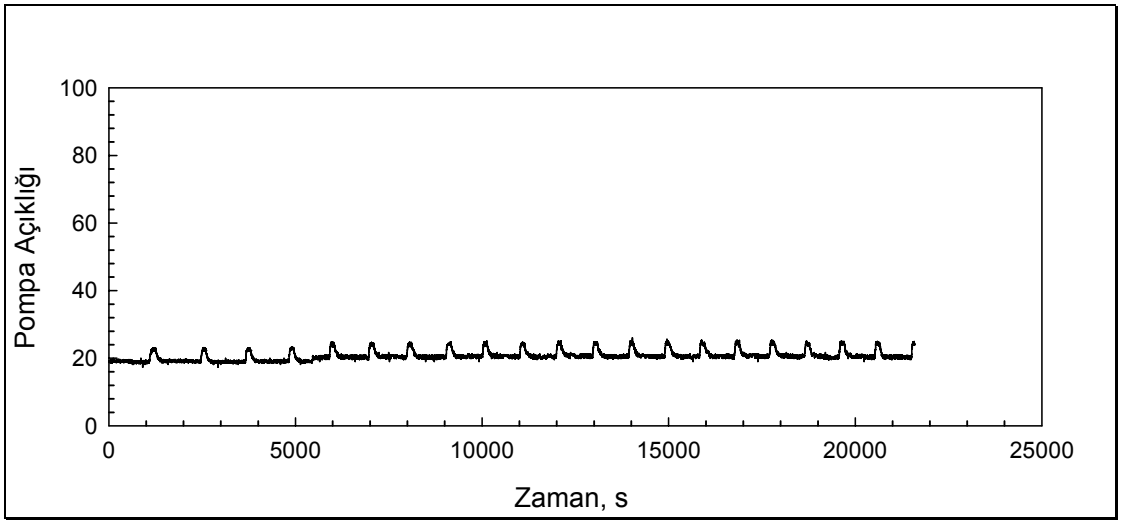
(b)

Şekil 5.44 Mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =0,5)

λ =0,5 değeri için gerçekleştirilen deneyin ardından λ =1,5 değeri ile de deney gerçekleştirilmiştir.



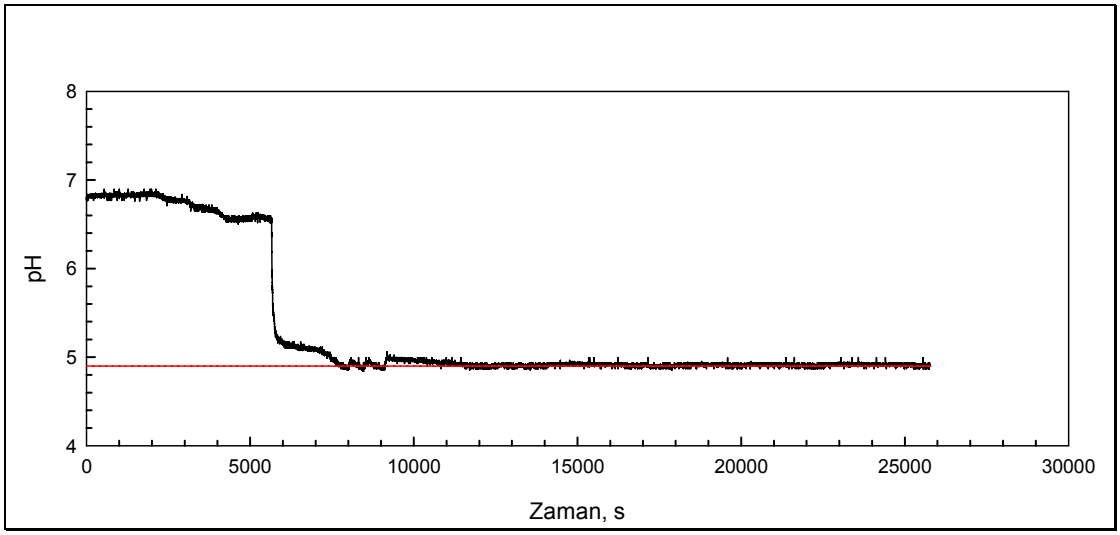
(a)



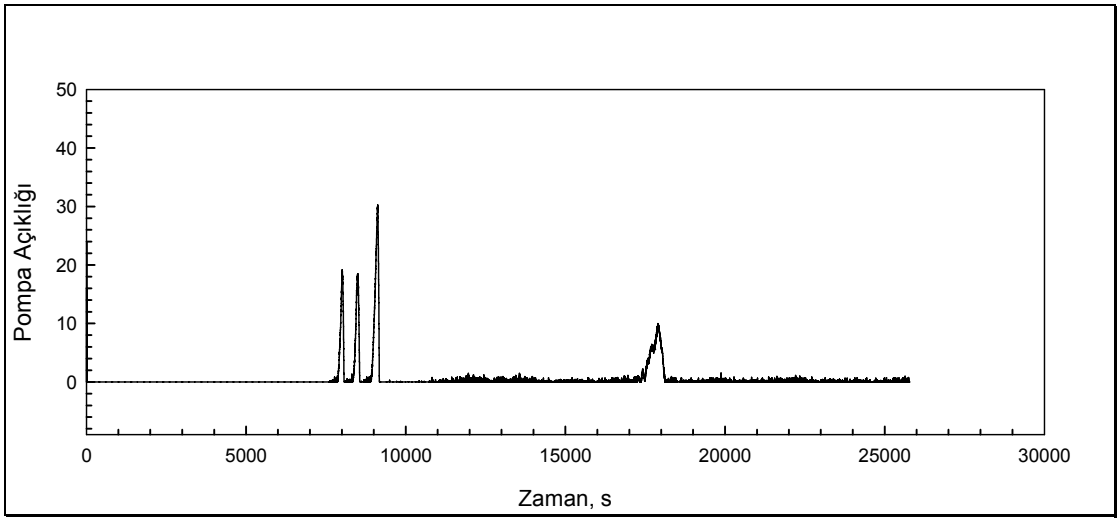
(b)

Şekil 5.45 Mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =1,5)

Mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen deneyler için şekil 5.43- 5.45 ile sunulan grafikler karşılaştırıldığından ağırlık faktörünün iyi ve kötü sonuçlarına göre (sırasıyla λ =1,5 ve λ =0,5), ceketten soğutma suyu geçirerek ve geçirmeksizin iki farklı deney gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar aşağıda sunulduğu gibidir.



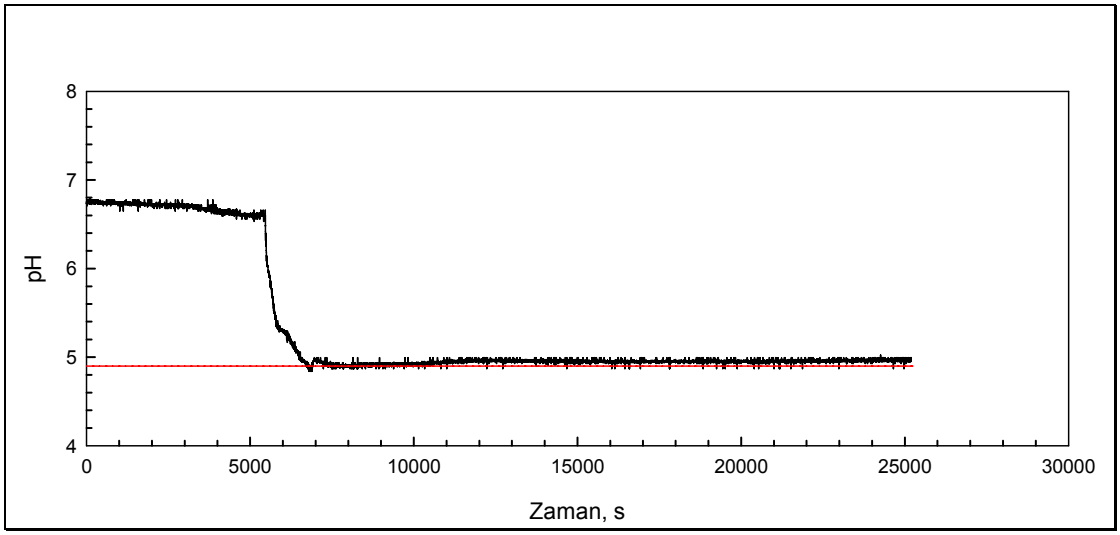
(a)



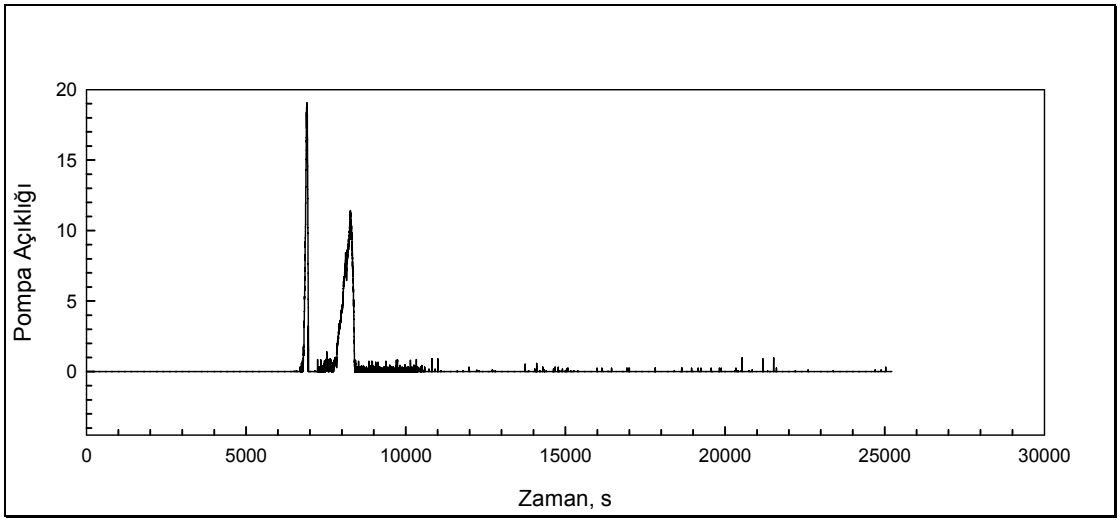
(b)

Şekil 5.46 Sıcaklık kontrolu yok iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =0,5)

Sıcaklık kontrolu yok iken gerçekleştirilen kontrolun akabinde sıcaklık kontrolu var iken deney gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere göre ISE=11130,851 ve IAE=19390,730'dir.



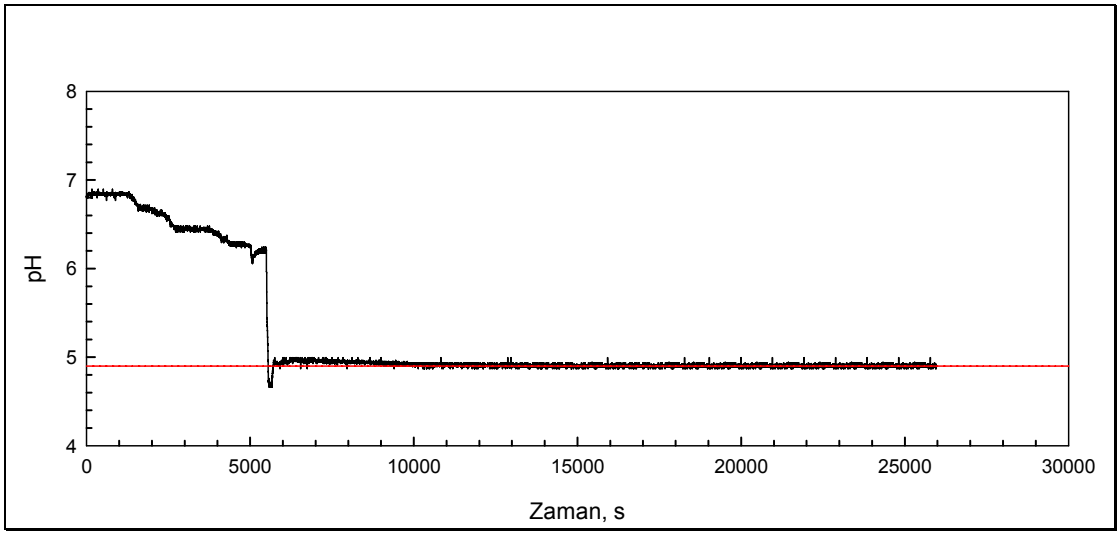
(a)



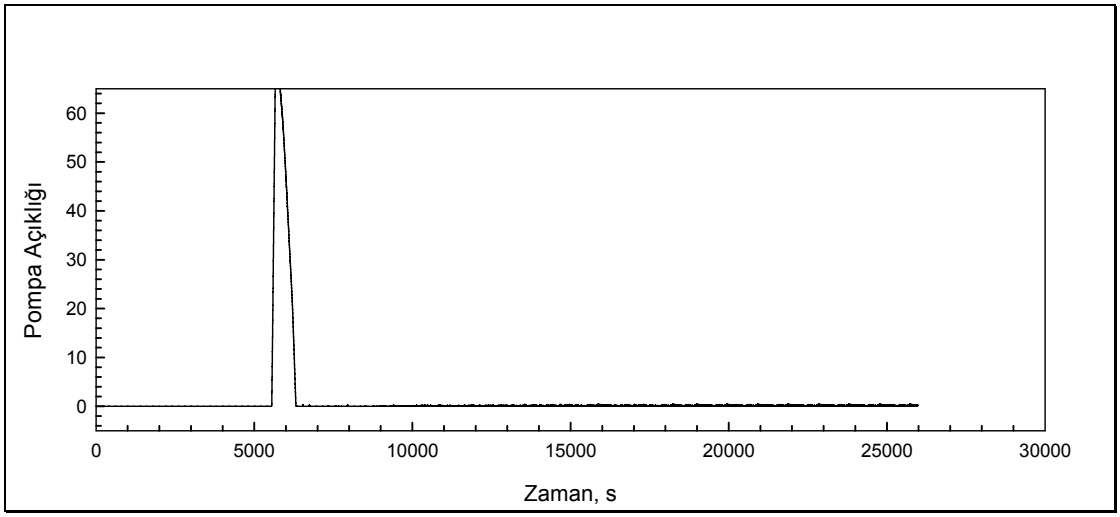
(b)

Şekil 5.47 Sıcaklık kontrolu var iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =0,5)

Mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen sıcaklık kontrollu ve sıcaklık kontrolsuz deneyler λ =0,5 ağırlık faktörü değeri ile yapılmış olup teorik çalışmalarda 0,5'den daha iyi sonuç veren λ =1,0 değeri ile aynı koşullarda gerçekleştirilen deney sonuçları şekil 5.49 ile sunulduğu gibidir. Ayrıca λ =0,5 ağırlık faktörü değeri ile yapılmış olan deney sonuçlarına göre ISE=11714,084 ve IAE=43222,406'dır.



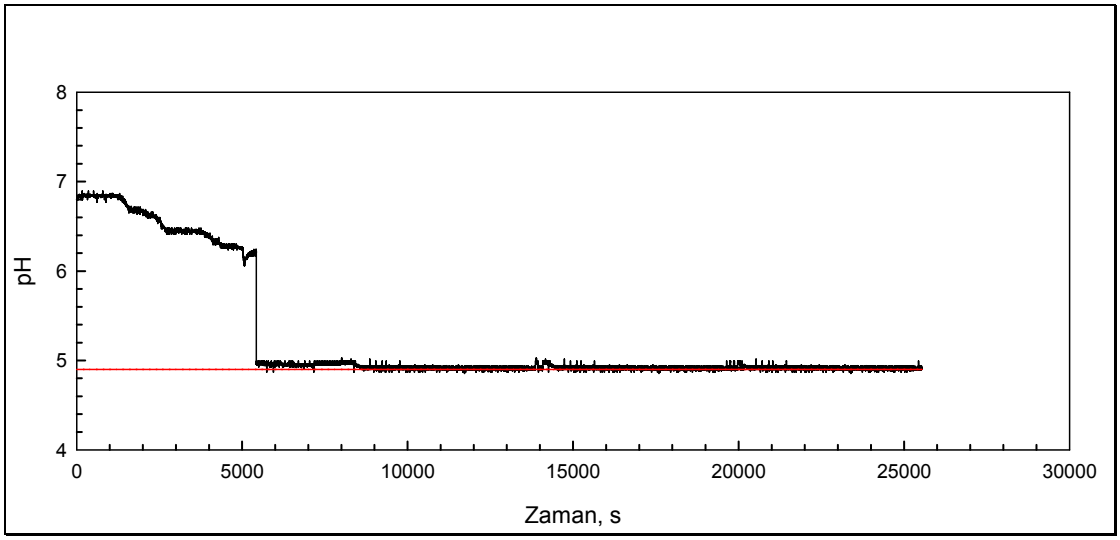
(a)



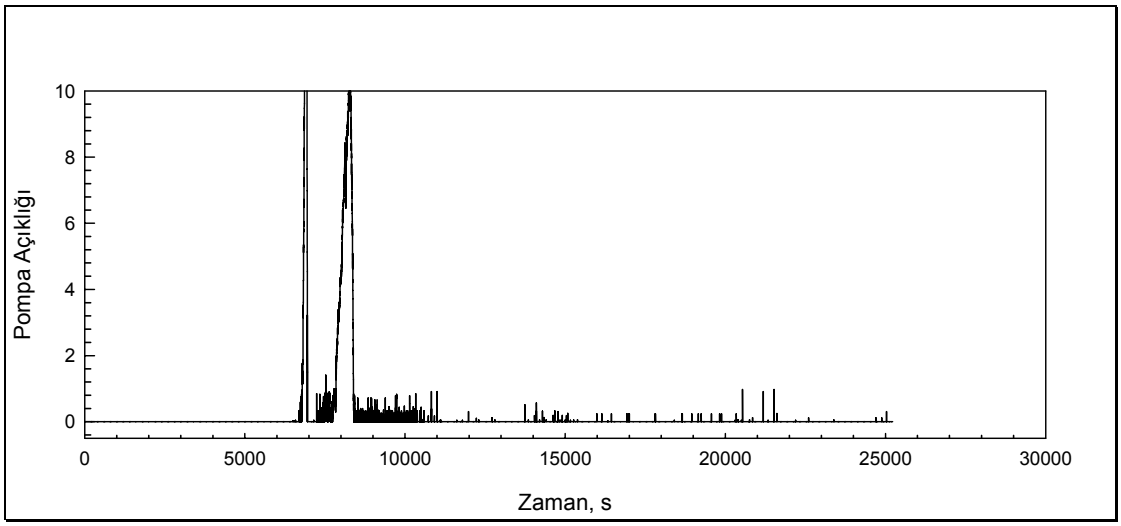
(b)

Şekil 5.48 Sıcaklık kontrolu yok iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrolu (λ =1,0)

Sıcaklık kontrolu yok iken gerçekleştirilen kontrolun akabinde sıcaklık kontrolu var iken deney gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık kontrolu yok iken λ =1,0 değeri ile elde edilen verilere göre ISE=18794,2341 ve IAE=26629,875'dir.



(a)



(b)

Şekil 5.49 Sıcaklık kontrolu var iken mikroorganizmalı ortamda GPC Kontrol ile pH kontrol (λ =1,0)

Sıcaklık kontrolu var iken λ =1,0 değeri ile gerçekleştirilen deney sonucuna göre ISE=16964,369 ve IAE=26543,117'dir. Sonuçta mikroorganizmalı ortamda gerçekleştirilen sıcaklık kontrollu ve sıcaklık kontrolsuz deneyler sonucunda; λ=1,0 değerinin iyi sonuç verdiği görülmüş olup sıcaklık kontrolunun bu deney koşulları için gerekli olmadığı kanaatine varılmıştır.

5.6 Protein Tayini Sonuçları

Biüre yöntemi ile gerçekleştirilen protein tayini sonuçlarına göre piyasada bulunan farklı kefir örneklerinin protein içeriği çizelge 5.13'deki gibidir.

Çizelge 5.13 Piyasada bulunan farklı kefir örneklerinin protein içeriği

Örnek	pH	Titrasyon asitliği, laktik asit olarak kütlece %	Protein içeriği (100 ml' de)
AOÇ Süt	6,70	0,7344	3,31±0,01
AOÇ Kefir	4,70	0,8013	3,03±0,04
İçim Kefir	4,60	0,7598	3,01±0,04

Deney sonucunda elde edilen örneklerin protein içeriği çizelge 5.14'deki gibidir.

Çizelge 5.14 Deney sonucunda elde edilen örneklerin protein içeriği

Yapılan deney	Protein içeriği (100 ml'de)
$\lambda = 0.5*10^{-5}$	3,02±0,08
$\lambda = 2*10^{-5}$	3,04±0,05
$\lambda = 1*10^{-5}$	3,05±0,04
$\lambda = 1*10^{-4}$	3,06±0,05
$\lambda = (1/5)*10^{-4}$	3,05±0,07
$\lambda = (1/7)*10^{-4}$	3,05±0,04
$\lambda = (1/6)*10^{-4}$	3,06±0,07
Ceketten soğutma suyu geçirerek gerçekleştirilen kontrol deneyi ($\lambda = 1$)	3,11±0,10
Ceketten soğutma suyu geçirmeksizin gerçekleştirilen kontrol deneyi ($\lambda = 1$)	3,10±0,04

Çizelge 5.13'den görüleceği gibi pH değeri azaldıkça titrasyon asitliği artmaktadır. Ancak protein içeriğinin pH ile ilgili olup olmadığına ilişkin yorum yapılamamaktadır.

5.7 Mikrobiyolojik Sonuçlar

Mikroorganizma ortamında elde edilen ürünlere ilişkin mikrobiyolojik sonuçlar çizelge 5.15'de sunulmuştur.

Çizelge 5.15 Kefir örneklerinin bakteri ve maya sayısı, $\log_{10}$ kob/mL

Yapılan deney	***Laktobasillus* cinsi bakteri sayımı**	***Laktococcus* cinsi bakteri sayımı**	**Maya sayımı**
$\lambda = 0{,}5*10^{-5}$	8,44±0,19	8,42±0,53	8,61±0,36
$\lambda = 2*10^{-5}$	9,01±0,72	8,56±0,25	8,33±0,02
$\lambda = 1*10^{-5}$	8,88±0,24	8,13±0,76	8,19±0,62
$\lambda = 1*10^{-4}$	8,32±0,07	8,25±0,41	8,06±0,33
$\lambda = (1/5)*10^{-4}$	8,86±0,82	7,55±0,24	7,22±0,53
$\lambda = (1/7)*10^{-4}$	8,61±0,51	7,38±0,56	7,82±0,71
$\lambda = (1/6)*10^{-4}$	8,33±0,18	7,13±0,49	8,14±0,69
Ceketten soğutma suyu geçirerek gerçekleştirilen kontrol deneyi ($\lambda = 1$)	9,44±0,38	9,03±0,51	9,99±0,70
Ceketten soğutma suyu geçirmeksizin gerçekleştirilen kontrol deneyi ($\lambda = 1$)	9,30±0,29	9,12±0,11	9,24±1,17

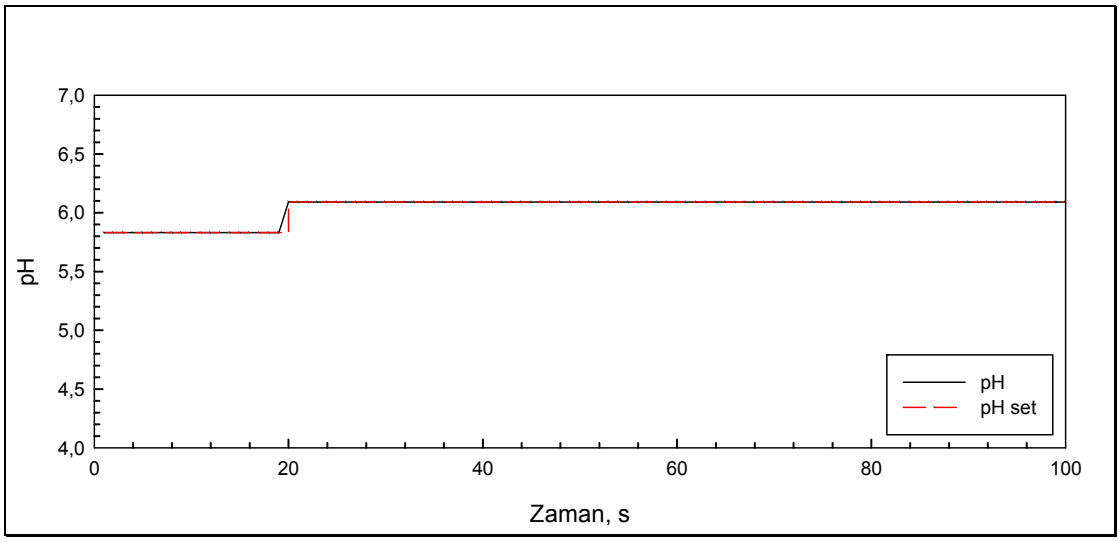
5.8 STPID Kontrol Çalışmaları

STPID kontrol yöntemi için model parametrelerinin belirlenmesi amacıyla yarı deneysel yarı kuramsal bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Kendinden Ayarlamalı Oransal-İntegral-Türevsel Kontrol biyoprosese uygulanmıştır. Bilgisayardan alınan ve şekil 5.28'de sunulmuş olan PRBS sinyali, ayarlanabilen değişken olan sodyum bikarbonat akış hızına verilmiştir. Ayarlanabilen değişkene verilen PRBS etkileriyle pH'ın zamanla değişim verileri model parametrelerinin hesaplanması için teorik olarak kullanılmıştır. STPID algoritması MATLAB programlama dilinde yazılmış ve set noktasına basamak etki verilerek proses modeline uygulanmıştır. Kontrol etkinliğinin başarısı çeşitli t_1 değerlerine verilen farklı değerler sonucunda elde edilen ISE ve IAE kriterlerine göre karşılaştırılmıştır. Bu durumlara ilişkin veriler çizelge 5.16'da sunulmuştur. Kapalı sistemde en iyi t_1 değerinin 0,2 olduğu değerlendirilmiştir.

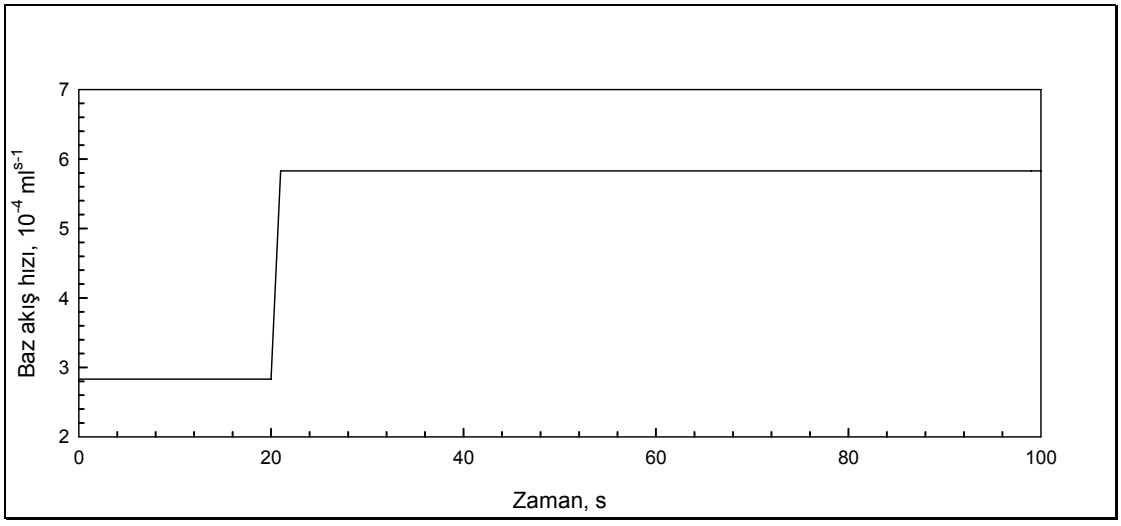
Çizelge 5.16 Çeşitli ayar değişkenleri (t_1) için STPID performans kriterleri

t_1	$\sum e^2$ = ISE	$\sum \lvert e \rvert$ = IAE
0,9	0,4259	3,1365
0,8	0,1649	1,1209
0,7	0,1108	0,6920
0,6	0,0885	0,5057
0,5	0,0772	0,4017
0,4	0,0712	0,3355
0,3	0,0683	0,2898
(0,2)	0,0676	0,2637
0,1	0,0687	0,2974
0,09	0,0689	0,3011
0,05	0,0699	0,3169
0,01	0,0711	0,3340

Yapılan çalışmalar neticesinde, bu tez kapsamında denemesi gerçekleştirilen diğer sonuçlara ilişkin grafikler sunulmamış olup set noktasının en iyi şekilde takibi şekil 5.50'de görüldüğü gibidir.



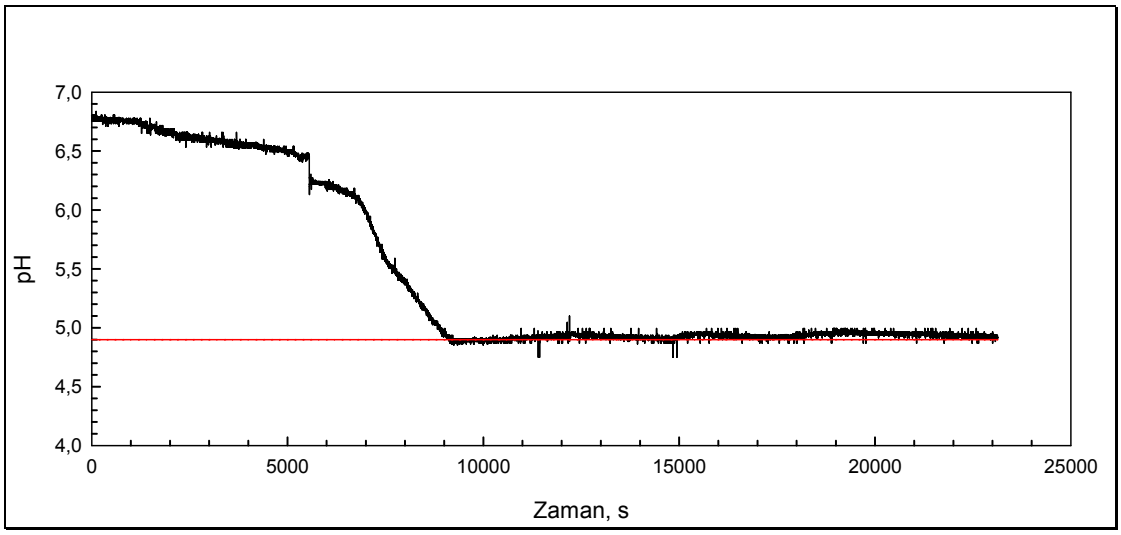
(a)



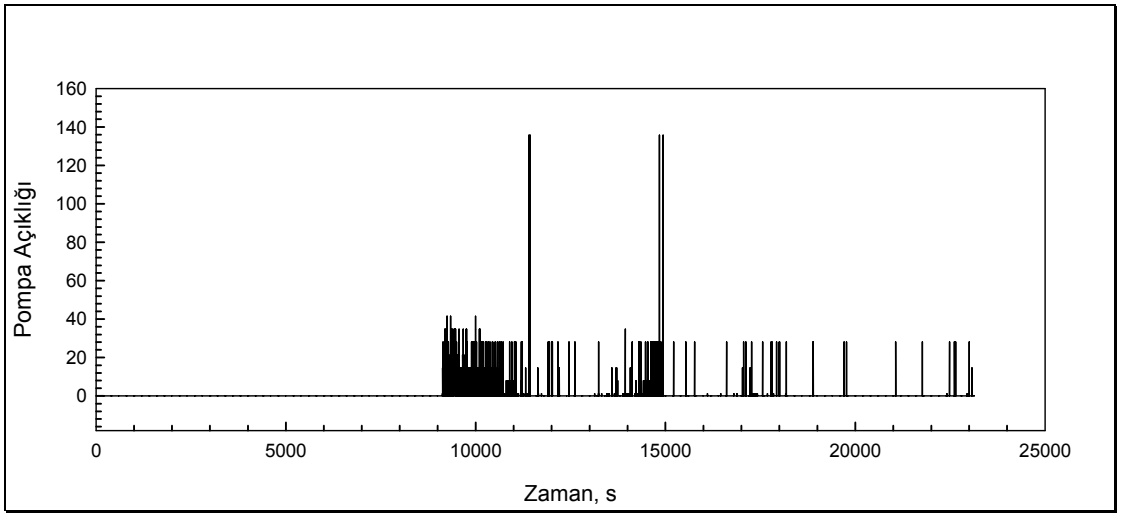
(b)

Şekil 5.50 t_1=0,2 için set noktasına artış olarak basamak etki verildiğinde pH'ın STPID kontrolu, (a) pH değişimi (b) Baz akış hızı değişimi

Bu işlemden sonra t_I ayar değişkeninin farklı değerleri için deneysel çalışma gerçekleştirilmiş ve pH kontrolunun sağlanıp sağlanamadığına ilişkin karşılaştırma yapılmıştır.

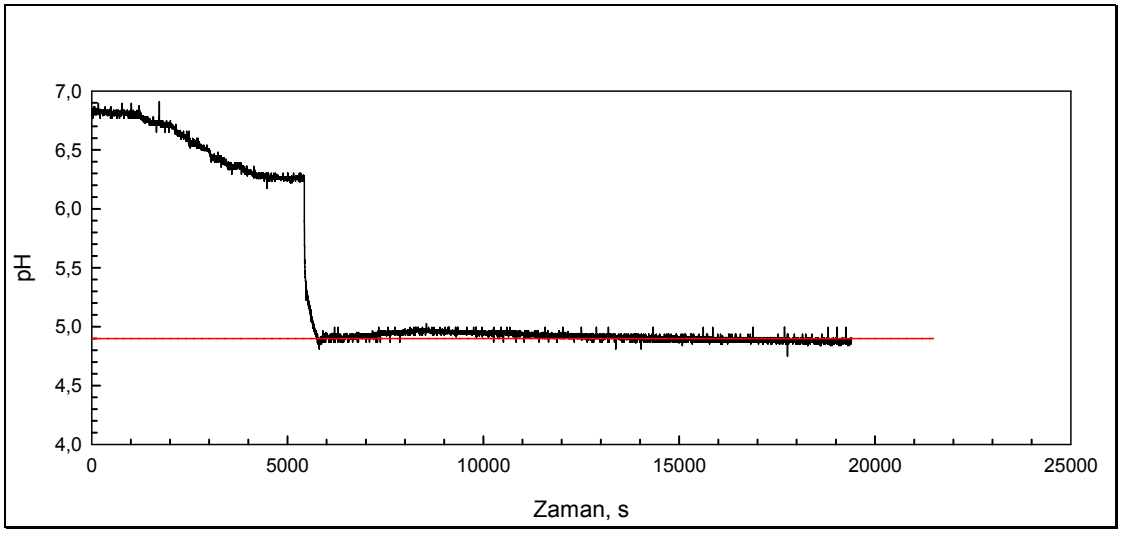


(a)

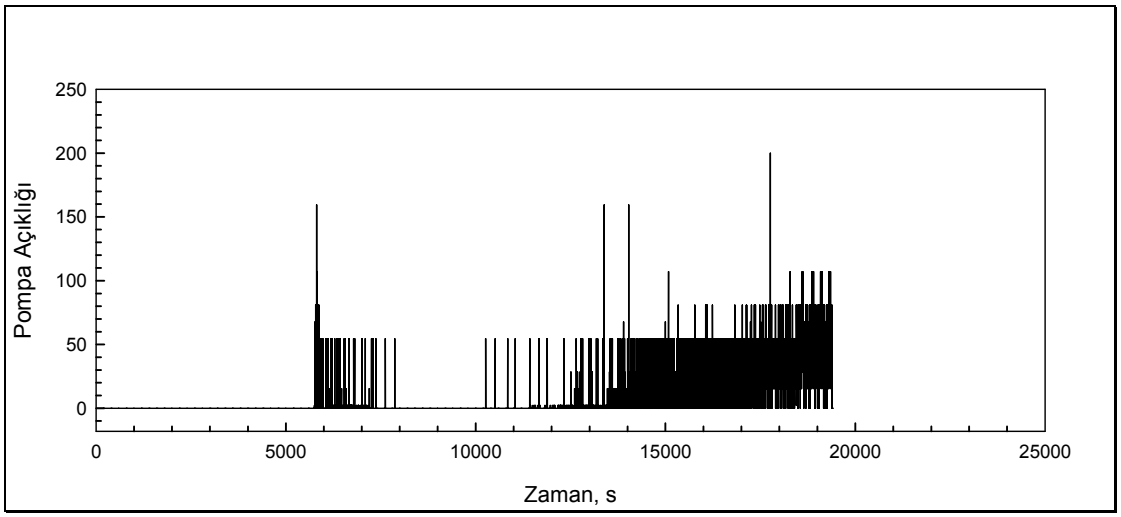


(b)

Şekil 5.51 t_I=0,1 katsayısı için STPID kontrol sonuçları



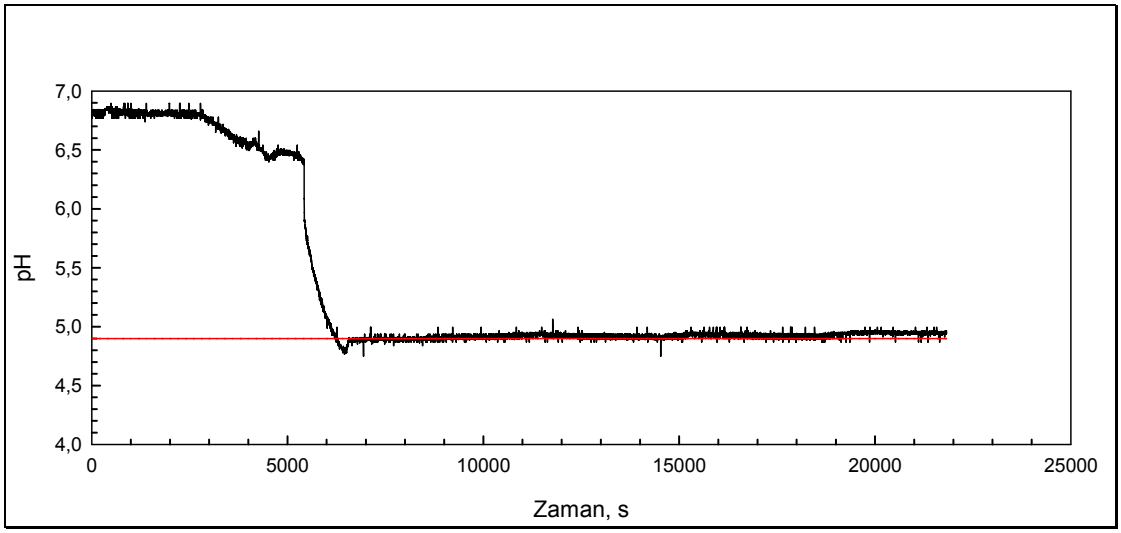
(a)



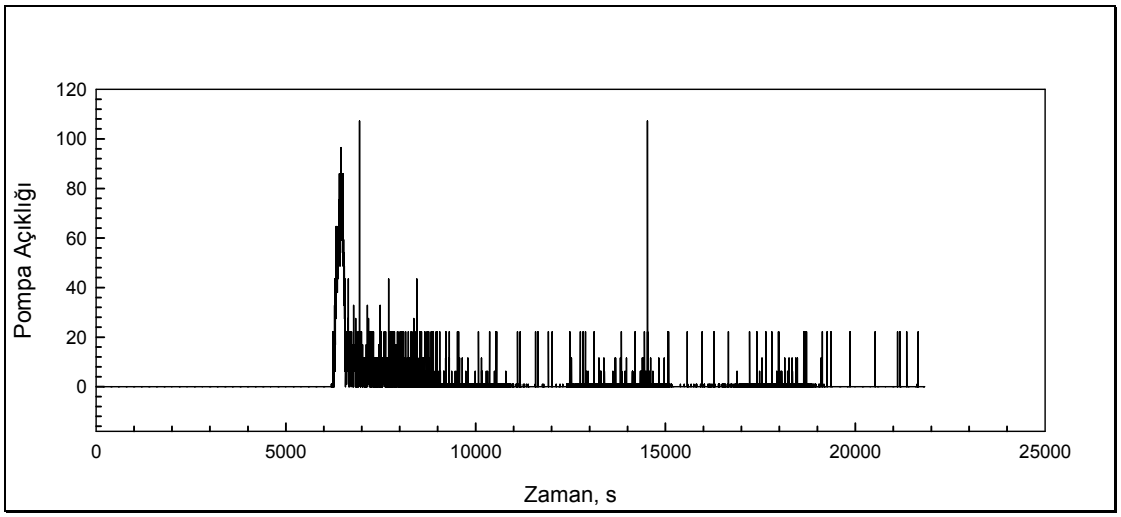
(b)

Şekil 5.52 t_I=0,9 katsayısı için STPID kontrol sonuçları

Yukarıdaki şekillerden de anlaşılacağı üzere, t_I=0,1 katsayısı için elde edilen kontrol sonuçlarının teorik olarak denemesi yapılan en yüksek t_I=0,9 katsayısı için elde edilen sonuçlara göre daha iyi olduğu görülmüştür. Teorik olarak denemesi yapılan en düşük t_I=0,01 katsayısı için de deneysel bir çalışma gerçekleştirilmiştir.



(a)



(b)

Şekil 5.53 t_I=0,01 katsayısı için STPID kontrol sonuçları

Şekil 5.53'den görüleceği üzere başlangıçta olmasa da deney süresinin geneline göre kıyaslama yapıldığında, t_I=0,01 katsayısı için gerçekleştirilen deneysel çalışma performansının t_I=0,1 katsayısı ile gerçekleştirilen kontrol performansına yakın olduğu söylenebilir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1 Sonuçlar

Süt endüstrisi, pazarda başarı sağlamış yeni, besinsel değeri yükseltilmiş ürünlerin sunulmasıyla büyük ölçüde gelişmiştir. Bu yüzden geleneksel süt ürünlerinin fonksiyonel özellikleri yanında daha sağlıklı ve besinsel özellikleri arttırılmış yeni nesil süt ürünlerinin geliştirilmesine uzun yıllardır çalışılmıştır.

Bu çalışmada, peynir altı suyunun mikroorganizma kullanılarak kesikli olarak işletilen bir biyoreaktörde tekrar kullanılabilir hale gelen bir ürününün oluşturulması sağlanmıştır. Bunun yanında eş zamanlı olarak kontrol algoritmaları ile ortamın seçilen çıkış değişkenlerinin kontrolu sağlanarak kontrol etkinlikleri; ISE ve IAE gibi etkinlik kriterleri hesaplamış ve karşılaştırılmıştır. Ayrıca peynir altı suyunun mikroorganizma kullanılarak kesikli olarak işletilen bir biyoreaktörde tekrar kullanılabilir hale gelen bir ürününün oluşturulması sağlanmıştır. Bunun için aerobik fermentasyon gerçekleştirilerek optimum koşullar belirlenmiştir. Bundan sonraki aşamada biyoreaktörün dinamik analizi gerçekleştirilmiştir. Sistemde kullanılacak pompaların kalibrasyonları yapılarak ve eş zamanlı olarak kontrol algoritmaları ile ortamın seçilen çıkış değişkenlerinin kontrolu değerlendirilmiştir.

Peynir altı suyunun mikroorganizma kullanılarak kesikli olarak işletilen bir biyoreaktörde tekrar kullanılabilir hale gelen bir ürününün oluşturulması sağlanması açısından aerobik fermentasyon gerçekleştirilerek optimum koşulların belirlenmesi gerekmektedir.

Bu nedenle kullanılacak kontrol yöntemi için model parametrelerini belirlemek üzere yapılan çalışmanın sonucuna göre bir kontrol programı oluşturulmuştur. Bu programın düzgün çalışmasını sağlamak üzere su deneyleri ile uygun katsayı ve ağırlık faktörünün seçilmesi için deneysel denemeler gerçekleştirilmiştir.

Daha sonraki aşamada biyoreaktörün dinamik analizi gerçekleştirilmiştir. Sistemde kullanılacak pompaların kalibrasyonları yapılarak ve eş zamanlı olarak kontrol algoritmaları ile ortamın seçilen çıkış değişkenlerinin kontrolu değerlendirilmiştir.

Kullanılacak kontrol yöntemlerinin karşılaştırılması, uygun yöntem hakkkında değerlendirilme yapılması çalışmanın amacına yönelik yorumlanması gerekmiştir. Programların düzgün çalışmasını sağlamak üzere su deneyleri ile uygun katsayı seçiminin ön değerlendirilmesi açısından deneysel denemeler gerçekleştirilmiştir. Bundan sonraki aşamada yapılan tüm deneysel çalışmalarda elde edilen ürünlerin mikrobiyolojik analizleri ve protein tayinleri yapılarak karşılaştırılmıştır. Yapılan deneylere ilişkin sonuçlar ilgili bölümler altında değerlendirildiğinden, bu başlık altında yapılan değerlendirme genel bir bakış açısı ile yapılmıştır.

Peynir altı suyu kullanılarak kefir tipi içecek üretimine yönelik bu çalışma ile; çevre kirliliğinin azaltılması yönünde fayda sağlanacağı, farklı damak tatlarına uygun bir içecek eldesinin mümkün olduğu, enerji tüketiminin azaltılmasına fayda sağlanacağı, kontrol etkinliklerinin karşılaştırılması sonucunda STPID kontrolun GPC kontrola göre daha iyi performans sağladığı söylenebilir.

Ayrıca, son yıllarda yapılan çalışmalar içerisinde proses kontrol üzerinde bir çalışma olmaması dikkat çekici olmakla birlikte bu tez çalışmasının önemini ortaya koymaktadır.

6.2 Öneriler

GPC ve STPID kontroldan başka fuzzy kontrol, GMV kontrol gibi kontrol yöntemleri uygulanabilir. Model paarametresi tahminleri için farklı optimizasyon yöntemleri kullanılarak karşılaştırma imkanı sağlanabilir. Çözünmüş oksijen, sıcaklık gibi parametreler için on-line kontrol çalışması yapılabilir. Ayrıca elde edilecek ürün sonuçlarını ölçmek üzere uygun yöntemleri ile yoğunluk, toplam katı madde gibi parametreler değerlendirilebilir. Farklı bir reaktör sistemi kullanılarak, farklı

zamanlarda alınan numuneler için parametrelerin deney süresince değişimi karşılaştırılabilir.

Kontrol algoritmalarında kullanılan sistem modelleri açısından değerlendirilecek olursa, fuzzy model gibi modellerin de kullanılması söz konusu olabilir.

Model parametrelerinin tahmini için de Bierman, En Küçük Kareler Yöntemi gibi klasik yöntemlerin dışında genetik algoritma gibi yöntemler de kullanılabilir.

Kullanılan malzemeler açısından bakıldığında, pastörize üzüm suyu yerine laboratuar ortamında hazırlanmış ve sterillenmiş üzüm suyu kullanılabilir. Pastörize üzüm suyu ile farklı üzüm cinslerinden laboratuar ortamında hazırlanmış üzüm sularının kullanıldığı çeşitli besi ortamları yaratılarak sonuç ürünün detaylı araştırılması üzerine çalışılabilir.

Benzer şekilde Türkiye' nin farklı yörelerinden farklı mevsimlerde, farklı hayvanlardan elde edilen süt çeşitlerinin besi ortamı üzerine yaratacağı etkinin sonuç ürün üzerine etkisinin araştırılması gerçekleştirilebilir.

Hayvansal menşeili olmayan soya sütü gibi sütlerin besi ortamına ilavesinin etkileri araştırılabilir. Hayvansal ve bitkisel menşeili süt karışımlarının karışım oranları üzerinde bir araştırma yapılabilir. Ayrıca süt alerjisi olan hastalar için de alternatif olabilecek şekilde proteinin ayrılmasına yönelik çalışma yapılabilir.

Farklı meyve şekerleri kullanımı ile ürünün tadında, alkol oranı bakımından etki yaratılabilinir. Şeker kamışı yada şeker pancarından elde edilen şeker ile de gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR

Aloys, N. and Angeline, N. 2009. Traditional fermented foods and beverages in Burundi. Food Research International, Vol. 42: pp. 588-594.

Alpbaz, M., Hapoğlu, H., Özkan, G. and Altuntaş, S. 2006. Application of self-tuning PID control to a reactor of limestone slurry titrated with sulfuric acid. Chemical Engineering Journal, Vol. 116: pp. 19-24.

Alpkent, Z. ve Küçükçetin, A. 2000. Farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen Kefirlerin duyusal. fiziksel. kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı, Editör: Mehmet Demirci, pp. 363-373. Tekirdağ.

Altınten, A. 2007. Generalized Predictive Control Applied to a pH Neutralization Process. Computers and Chemical Engineering, Vol. 31: pp. 1199-1204.

Altınten, A., Ketevanlioğlu, F., Erdoğan,. S., Hapoğlu, H. and Alpbaz, M. 2008. Self-tuning PID control of jacketed batc/h polystyrene reactor using genetic algorithm. Chemical Engineering Journal, Vol. 138: pp. 490-497.

Angula, L., Lopez, E. and Lema, C. 1993. Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-west of Spain). Journal of Dairy Research, Vol. 60: pp. 263-267.

Anonymous. 1962. Determination of the total nitrogen content of milk by the Kjeldahl method. International Dairy Federation, Standard No: 20.

Anonim. 1976. Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri. T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı. Gıda İşleri Genel Müdürlüğü, No: 65, Ankara.

Anonymous. 1988. Science and Technology of Fermented Milks. Bulletin of IDF, 227.

Anonymous. 1998. Proceedings of the Second International Whey Conference. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

Anonymous. 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Editör: A.K. Halkman, Ankara.

Anonim. 2001. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği. Sayı: 24512, Tebliğ No: 2001/21.

Anonim. 2002. Çiğ İnek Sütü Standartı. TS 1018. Necatibey Cad. No. 112, Bakanlıklar, Ankara.

Anonim. 2009. Web Sitesi. http://cygm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/gida/moduller/gidalarda_ham_protein_tayini.pdf, Erişim Tarihi: 25.12.2009.

Anonim. 2010a. Web Sitesi. http://www.merck-chemicals.com.tr/, Erişim Tarihi: 23.05.2010.

Anonim. 2010b. Web sitesi. http://www.dairyscience.info/enumeration-of-lactococcal-bacteriophages/plaque-formation.html, Erişim Tarihi: 23.05.2010

Anonim. 2010c. Web sitesi. http://tr.wikipedia.org/wiki/Fermantasyon, Erişim Tarihi: 23.05.2010

Assadi, M.M., Pourahmad, R. and Moazami, N. 2000. Use of isolated kefir starter cultures in kefir production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 16: pp. 541-543.

Aström, K.J. and Wittenmark, B. 1973. On Self-Tunning Regulators. Automatica, Vol. 9: pp. 185-199.

Aström, K.J., Borrison, U., Ljung, L. and Wittenmark, B. 1997. Theory and Application of Self-Tuning Regulators. Automatica, Vol. 13: pp. 457-476.

Atlas, R.M. 1997. Handbook of microbiological media. Second edition. CRC Pres. Inc., Edited by Lawrence C. Parks.

Beshkova,D.M., Simova, E.D., Simov, Z.I., Frengova, G.I. and Spasov, Z.N. 2002. Pure Cultures for Making Kefir. Food Microbiology, Vol. 19: pp. 537-544.

Bierman, G.J. 1976. Measurement Updating Using the U-D Factorisation. Automatica, Vol. 12: pp. 375-382.

Dragone, G., Mussatto, S.I., Oliveira, J. M. and Teixeira, J. A. 2009. Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. Food Chemistry, Vol. 112: pp. 929–935.

Bakırcı, İ. ve Kavaz, A. 2006. Peynir Altı Suyunun Değerlendirilme Olanakları. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006. Bolu.

Ben-Hassan, R.M. and Ghaly, A.E. 1994. Continuous propagation of *Kluyveromyces fragilis I* cheese whey for pollution potential production. Appl. Bioche. Bioteychnology, Vol. 47: pp. 89-105.

Chen, H.C., Wang, S.Y. and Chen, M.J. 2008. Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. Food Microbiology, Vol. 25: pp. 492-501.

Clarke, D.M., Mohtadi, C. and Tuffs, P.S. 1987. Generalized Predictive Control – Part 2. Extensions and Interpretations. Automatica, Vol. 23: pp. 149-160.

Clarke, D.M. and Mohtadi, C. 1989. Properties of Generalized Predictive Control. Automatica, Vol. 25: pp. 137-160.

Engel, G., Krusch, U. and Teuber, M. 1986. Microbiological composition of kefir. I. Yeasts. Milchwissenschaft, Vol. 41: pp. 418-421.

Gadaga, T.H., Mutukumira, A.N. and Narvhus, J.A. 2001. Growth characteristics of *Candida kefyr* and two strains of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from Zimbabwean naturally fermented milk. International Journal of Food Microbiology, Vol. 70: pp. 11–19.

Gallo, L.I., Pilosof, A.M.R. and Jagus, R.J. 2007. Effective control of Listeria innocua by combination of nisin. pH and low temperature in liquid cheese whey. Food Control, Vol. 18: pp. 1086-1092.

Garcia-Fontan, M.C.G., Martinez, S., Franco, I. and Carballo, J. 2005. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk using a commercial starter culture. International Dairy Journal, Vol. 41: pp. 418-421.

Garrote, G.L., Abraham, A.G. and Antoni. G.D. 1997. Preservation of kefir grains. a comparative study. Lebensm.-Wiss. U.-Technology, Vol. 30: pp. 77-84.

Garrote, G.L., Abraham, A.G. and Antoni, G.L. 1998. Characteristics of Kefir prepared with different grain: milk ratios. Journal of dairy Research, Vol. 65 (1): pp. 149-154.

Garrote, G.L., Abraham, A.G. and De-Antoni, G.L. 2001. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. Journal of Dairy Research, Vol. 68: pp. 39-652.

Ghaly, A.E., Kamal, M. and Correia, L.R. 2005. Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. Biosource Technology, Vol. 96: pp. 1143–1152.

Gönül, M., Altuğ, T., Boyacıoğlu, D. ve Noka, Ü. 1996. Gıda Analizleri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Çoğaltma Yayınları No:84, Bornova, İzmir.

Grba, S., Tomas, V.S., Stanzer, D., Vahcic, N. and Skrlin, A. 2002. Selection of yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and biomass production on whey. Chem.Biochem.Eng.Q., Vol. 16: pp. 13-16.

Gürsel, A., Gürsoy, A., Ergül, E. ve Erdoğdu, N.G. 1990. Sütlere uygulanan farklı ısı işlemi koşullarının kefir kalitesi üzerine araştırmalar. Tr. Journal of Veterinary and Animal Sciences, Vol. 14 (1): pp. 166-177.

Gürsel, A., Sezgin, E., Atamer, M., Koçak, C., Yetişemeyen, A. ve Gürsoy, A. 2007. Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ders Notu, Ankara.

Güzel-Seydim, Z.B., Wyffels,. J.T., Seydim, A.C. and Greene, A.K. 2005. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. International Journal of Dairy Technology, Vol. 58 (1): pp. 25-29.

Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K. and Taş, T. 2006. Determination of antimutagenic properties of acetone extracted fermented milks and changes in their total fatty acid profiles including conjugated linoleic acids. International Journal of Dairy Technology, Vol. 59 (3): pp. 209-215.

Halkman, A.K. ve Ayhan, K. 2000. Gıdaların mikrobiyolojik analizi 2. Mikroorganizma sayımı. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd.Şti., 2. basım., 513s., Ankara.

Hapoğlu, H. 1993. Self- Tunning Control of Packed Distillation Columns. Dept. Of Chem. Eng., University College of Swansea, Ph. D. Thesis.

Huang, C.C., Su, C.Y. and Yu, W.H. 2000. Self-tuning pH control in Dyeing. Textile Res.J., Vol. 70-3: pp. 195-200.

Irigoyen, A., Akana, I., Castiella, M., Torre, P. and Ibanez, F.C. 2005. Microbiological. physicocahemical and sensory characteristics of kefir during storage. Food Chemistry, Vol. 90: pp. 613-620.

Kahvecioğlu, A. 1999. Kendinden Ayarlamalı PID Kontrolun *Saccharomyces cerevisae* Üretilen Bir Biyoreaktöre Uygulanması ve Optimum Kontrol

Parametrelerinin Bulunması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi. Ankara.

Kanska, Y., Jia, L. and Chiu, M.S. 2008. Self-tuning PID controllers based on the Lyapunov approach. Chemical Engineering Science, Vol. 63: pp. 2732-2740.

Kaptan, N. ve Gürsel, A. 1983. Laboratuvar ve ev koşullarında yapılan kefirin bazı özellikleri üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı, Vol. 3 (1-4): pp. 68-75.

Karagözlü, C. ve Kavas, G. 2000. Alkollü fermente süt içecekleri: Kefir ve kımızın özellikleri ve insan beslenmesindeki önemi. Gıda, Vol. 6: pp. 86-93.

Karagözlü, C. 2003. Kefir – Probiotic Fermanted Milk Product. 50 th Anniversary of The University of Food Technology HIFFI. Collection of Scientific Works of the HIFFI Plovdiv– ISSN 0477-0250 UFTA Academic Publising House. Plovdiv – Bulgaria, 15 – 17 Oct. 2003, Vol. (L)50-2: pp. 404-409.

Karagözlü, N., Karagözlü, C. and Ergönül, B. 2007. Survival characteristic of *E. coli* O157:H7. *S. typhimurium* and *Stap. aureus* during kefir fermentation. Czech Journal of Food Science, Vol. 25 (4): pp. 202-207.

Korovkina, L.N., Patkul, G.M. and Maslow, A.N. 1978. Effect of Milk Fermentation Temperature on Biochemical Properties and Consistency of Kefir. XX. Int.Dairy. Congr., pp. 841-842.

Kosikowski, F. V. 1982. Whey and Whey Foods. In Cheese and Fermented Milk Foods. Edwards Brothers Inc., pp. 446-469.

Kuo, C.Y. and Lin, C.W. 1999. Taiwanese kefir grains: their growth. microbial and chemical composition of fermented milk. Australian Journal of Dairy Technology, Vol. 54: pp. 19-23.

Kourkoutas, Y., Psarianos, C., Koutinas, A.A., Kanellaki, M., Banat, I.M. and Marchant, R. 2002. Continuous Whey fermentation using kefir yeast immobilized on delignified cellulosic material. J. Agric. Food Chem., Vol. 50-9: pp. 2543-2547.

Kurmann, J.A., Rasic, J.L. and Kroger, M. 1992. Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products. Published by Van Nostrand Reinhold, NewYork, pp. 156-161.

Libudzisz, Z. and Piatkiewicz, A. 1990. Kefir production in Poland. Dairy Industries International, Vol. 55 (7): pp. 20-22.

Lin, C.W., Chen, H.L. and Liu, J.R. 1999. Identification and characterization of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir grains in Taiwan. Australian Journal of Dairy Technology, Vol. 54: pp. 14-18.

Lucey, A.J. 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. Food Hydrocolloids, Vol. 15: pp. 603-608.

Malbaša, R.V., Milanovic′, S.D., Lončar, E.S., Djuric′, M.S., Caric′, M.D., Iličic′, M.D. and Kolarov, L. 2009. Milk-based beverages obtained by Kombucha application. Food Chemistry, Vol. 112: pp. 178-184.

Marshall, V.M. 1984. Flavour development in fermented milks. Advances in The Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented milk. Eds. Davies. F.L.. Law. B.M. Elsevier Applied Science, pp. 153-186. London.

Marshall, W.M. and Cole, W. 1985. Methods For Making Kefir and Fernented Milks Based On Kefir.J. Dairy Res., Vol. 52: pp. 451-456.

Marshall, V.M. 1993. Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. Journal of the Society of Dairy Technology, Vol. 46: pp. 49-56.

Metcalf & Eddy, Inc., Tchobanoglous, G. and Burton, F.L. 1991. Wastewater Engineering. McGraw-Hill International Editions, 3rd Ed., pp. 1334, Singapore.

Muir, D.D., Tamime, A.Y. and Wszolek, M . 1999. Comparison of the sensory profiles of kefir. buttermilk and yogurt. International Journal of Dairy Technology, Vol. 52 (4): pp. 129-134.

Munack, A. and Thoma, M. 1986. Application of Modern Control for Biotechnological Process. IEE Proceedings, Vol. 133 (5): pp. 194-198.

Otles, S. and Cagindi, O. 2003. Kefir: A probiotic dairy- composition. nutritional and therapeutic aspects. Journal of Nutrition 2, Vol. 829: pp. 54-59.

Ozmihci, S. and Kaygi, F. 2008. Ethanol production from cheese whey powder solution in a packed column bioreactor at different hydraulic residence times. Biochemical Engineering Journal, Vol. 42: pp. 180-185.

Özer, B., Atasoy, A.F. and Özer, D. 2000. İki Aşamalı Fermentasyon ve Starter Kullanımı ile Kefir Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Editör: Mehmet Demirci, pp. 354-362, Tekirdağ.

Paraskevopoulou, A., Athanasiadis, I., Blekas, G., Koutinas, A.A., Kanellaki, M. and Kiosseoglov, V. 2003. Influence of polysaccharide addition on stability of a cheese whey kefir-milk mixture. Food Hydrocolloids, Vol. 17-5: pp. 615-620.

Pedro, M.R., Guimaraes, J., Teixeira, A. and Domingues, L. 2010. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. Biotechnology Advances, Vol. 28: pp. 375-384.

Petsas, I., Psarianos, K., Bekatorov, A., Koutinas, A.A., Banat, I.M. and Marchant, R. 2002. Improvement of kefir yeast by mutation with N-methyl-N-nitrosoguanidine. Journal Biotechnology Letters, Vol. 24-7: pp. 557-560.

Rea, M.C., Lennartsson, T., Dillon, P., Drinan, F.D., Reville, W.J., Heapes, M. and Cogan, T.M. 1996. Irish kefir-like grains: their structure. microbial composition and fermentation kinetics. Journal of Applied Bacteriology, Vol. 81: pp. 83-84.

Rohm, H., Eliskases-Lechner, F. and Braver, M. 1992. Diversity of yeasts in selected dairy products. The Journal of Applied Bacteriology, Vol. 72: pp. 370-376.

Rossı, J. and Gobbetti, M. 1992. Multistarter for making Kefir by continuous process. Annali di Microbiologia ed Enzimologia. Dairy Science Abstract (3909), Vol. 41 (2): pp. 223-226.

Sarkar, S. 2008. Biotechnological innovations in kefir production: a review. British Food Journal, Vol. 110 (3): pp. 283-295.

Shuler, M.L. and Kargı, F. 1992. Biyoproses Engineering Basic Concepts. Prentice Hall, New Jersey.

Sienkiewicz, T. and Riedel, C.L. 1990. Whey and Whey utilization. Verlag Th. Mann. Gelsenkirchen-Buer.

Simova, E., Beshkova, D., Angelov,. A., Hiristozova, T.,Frengova. G. and Spasov, Z. 2002. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, Vol. 28: pp. 1-6.

Simova, E., Simov, Z., Beshkova, D., Frengova, G., Dimitrov, Z. and Spasov, Z. 2006. Amino acid profiles of lactic acid bacteria. isolated from kefir grains and kefir starter made from them. International Journal of Food Microbiology, Vol. 107: pp. 112-123.

Smithers, G.W., Ballard, F.J., Copelan, A.D., De Silva, K.J., Dionysius, D.A., Francis, G.L., Goddard, C., Grieve, P.A., McIntosh, G.H., Mitchell, I.R., Pearce, R.J. and Regester, G.O. 1996. New Opportunities From The Isolation and Utilization of Whey Proteins. Journal of Dairy Science, Vol. 79 (8): pp. 1454-1459.

Soderström, T. and Stoica, P. 1989. System Identification. Prentice Hall, New Jersey.

Steinsholt, K. and Calbert, H.E. 1960. A rapid colorimetric method for determination of lactic acid in milk and milk products. Milchwissenscahft, Vol. 15: pp. 7-10.

Stephanopoulos, G. 1984. Chemical Process Control. Prentice Hall, New Jersey.

Tada, S., Katakura, Y., Ninomiya, K. and Shioya,. S. 2007. Fed-batch coculture of *Lactobacillus kefiranofaciens* with *Saccharomyces cerevisiae* for effective production of kefiran. Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 103 (6): pp. 557-562.

Takizawa, S., Kojima, S., Tamura, S., Fujinaga, S., Benno, Y. and Nakase, T. 1998. The composition of the Lactobacillus flora in kefir grains. Systematic Applied Microbiology, Vol. 21: pp. 21-127.

Tan, K.K., Huang, S. and Ferdous, R. 2002. Robust self-tuning PID controller for nonlinear systems. Journalof Process Control, Vol. 12: pp. 753-761.

Tango, M.S.A. and Ghaly, A.E. 1999. Effect of temperature on lactic acid production from cheese whey using *Lactobacillus helveticus* under batch conditions. Biomass and Bioenergy, Vol. 16: pp. 61-78.

Tekinşen, O.C. 1997. Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, 2. Basım, pp. 75-101, Konya.

Thompson, J.K., Johnston, D.E., Murphy, R.J. and Collins, M.A. 1990. Characteristics of a milk fermentation from rural Northern Irelandwhich resembles kefir. Irish Journal of Food Science Technology, Vol. 14: pp. 35-49.

Toba, T., Arihara, K. and Adachi, S. 1987. Comparative study of polysaccharides from kefir grains. an encapsulated homofermentative *Lactobacillus* species and *Lactobacillus kefir*. Milcwissenschaft, Vol. 42: pp. 565-568.

Wellstead, P.E. and Zarrop, M.B. 1991. Self-Tunning System Control and Signal Processing. John Wiley and Sons, Great Britain.

Witthuhn, R.C., Schoeman, T. and Britz, T.J. 2004. Isolation and characterisation of the microbial population of different South African kefir grains. International Journal of Dairy Technology, Vol. 57: pp. 33-37.

Witthuhn, R.C., Schoeman, T. and Britz, T.J. 2005. Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. International Dairy Journal, Vol. 15: pp. 383-389.

Wójtowski, J., Danków, R., Skrzyper, R. and Fahr, R.D. 2003. The Fatty Acid Profile in Kefirs From Sheep. Goat and Cow Milk. Milchwissenschaf, Vol. 58 (11/12): pp. 633-636.

Wszolek, M., Tamime, A.Y., Muir, D.D. and Barclay, M.N.I. 2001. Properties of kefir made in Scotland and poland using bovine, caprone and ovine milk with different starter cultures. Lebensm.-Wiss. Technology, Vol. 34: pp. 251-261.

Yerlikaya, O., Kınık, Ö. and Akbulut, N. 2010. Peynir Altı Suyunun Fonksiyonel Özellikleri ve Peynir altı Suyu Kullanılarak Üretilen Yeni Nesil Süt Ürünleri. Gıda, Vol. 35(4): pp. 289-296.

Yıldırım, Z. ve Yıldırım, M. 2000. Probiyotik özellik gösteren bifidobakteriler. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı, Editör: Mehmet Demirci, pp. 266-271, Tekirdağ.

Yılmaz, L., Yılsay, T., Özcan, T. and Akpınar, B.A. 2003. Meyve Aromalı Kefir Üretimi. Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu, pp. 485-490.

Yılsay, T.Ö. ve Kurdal, E. 2000. Probiyotik Süt Ürünlerinin Beslenme ve Sağlık Üzerindeki Etkisi. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu.

Yöney, Z. 1978. İçme sütü teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 674, Ankara.

Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y. and Aslım, B. 2004. Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefirs with natural probiotic. Lebensm.-Wiss.u.-Technology, Vol. 37 (2004): pp. 663-667.

EKLER

EK 1 Genelleştirilmiş Tahmin Edici Kontrol (GPC) için Visidaq Programı

EK 2 Genelleştirilmiş Tahmin Edici Kontrol (GPC) için Visidaq Programının Pre-Task Konfigürasyonu

EK 3 Genelleştirilmiş Tahmin Edici Kontrol (GPC) için Matlab Programı

EK 4 Self-Tuning PID Kontrol için Matlab Programı

EK 5 Bierman Algoritması için Matlab Programı

EK 6 MRS Agar Malzeme Güvenlik Bilgi Formu

EK 7 M 17 Agar Malzeme Güvenlik Bilgi Formu

EK 8 YGC Agar Malzeme Güvenlik Bilgi Formu

EK 1 GENELLEŞTİRİLMİŞ TAHMİN EDİCİ KONTROL (GPC) İÇİN VisiDAQ PROGRAMI

```
public INCR as integer
public S0S0S0.S1S1S1.S2S2S2.T1T1T1.T2T2T2.T3T3T3.AABB.AAIK.BBBB as single
public AKCKC.AKIKI.AKDKD.PVAL.AIVAL.DVAL.AKAT.STIME as single
public AKATS.AKATI.AKATD.ATTBIR.ATTIKI.ATTUC as single
public AIAE.AISE.TOPISE.TOPIAE.TT as single
public STPM1.STP as single
public KI.KC.KD as single
public ER.ERRM1.ERRM2.ATT.ATTM1.ATTM2 as single
public AKIS.AKISHES.AKISTOP as single


dim pHT as Tag
dim sıcaklıkT as Tag
dim ısıtıcıT as Tag
dim pompaT as Tag
dim STTT as Tag
dim pH as single
dim sıcaklık as single
dim ısıtıcı as single
dim pompa as single
dim STT as single


Sub SCR1()


set sıcaklıkT = GetTag("TASK1". "SOC5")
set pHT = GetTag("TASK1". "AI3")
set STTT  = GetTag("DISP1". "NCTL1")
```

```
set ısıtıcıT = GetTag("TASK1". "SOC1")
set pompaT = GetTag("TASK1". "SOC4")
'ERRM2=ERRM1
'ERRM1=ER
'ER =pH-3.5
T1T1T1=0.00000001
T2T2T2=0.0
T3T3T3=0.0


STIME=1.0
STPM1=STP


TT=1
KC=0.168
KI=61.277
KD=13.631


AKAT=1.0
AABB=-0.5227851
AAIK=0.1826556
BBBB=0.0046153


S0S0S0=(T1T1T1-AABB+1)/BBBB
S1S1S1=(T2T2T2-AAIK+AABB)/BBBB
S2S2S2=(T3T3T3+AAIK)/BBBB
AKCKC=(S0S0S0-S1S1S1-3*S2S2S2)/2.0
AKIKI=(S0S0S0+S1S1S1+S2S2S2)/STIME
AKDKD=S2S2S2/STIME
```

```
PVAL=AKCKC
AIVAL=PVAL/AKIKI
DVAL=AKDKD/PVAL
AKATS=PVAL
AKATI=AIVAL
AKATD=DVAL


INCR=INCR+1
pH = pHT.Array(2)


ERRM2=ERRM1
ERRM1=ER
ER =pH-3.5


sıcaklık = sıcaklıkT.Array(0)


ATILI=AASI-1.0
FFLBB=AASB-AASI
FFLBI=AASI-AASU
FFLIB=FFLBI-ATILI*FFLBB
SCAL=BBSB*BBSB+ALAM
GTGBB=BBSB/SCAL


YBIR=YIKI
YIKI=YUC
YUC=YDORT
YDORT=YBES
```

```
WBIR=WIKI
WIKI=WUC
WUC=WDORT
WDORT=WBES


YBES=pH
WBES=4.86


AKO7=ANAKO
HFB=FFLBB*YBES+FFLBI*YDORT
HFB=HFB-FFLBB*WBES-FFLBI*WDORT
STP=GTGBB*HFB
STP=(1.0)*STP
ANAKO=AKO7+STP


'ATTBIR=(AKATS*(1+(AKAT*TT)/(AKATI*2.0)+AKATD/(AKAT*TT)))*ER
'ATTIKI=(-AKATS*(1+(2.0*AKATD/(AKAT*TT))-
(AKAT*TT)/(2.0*AKATI)))*ERRM1
'ATTUC=(AKATS*(AKATD/(AKAT*TT)))*ERRM2
'ATT=(0.0008)*(ATTBIR+ATTIKI+ATTUC)
'STP=STPM1+ATT
'STPM1=STP
'Performans kriterlerinin hesaplanması
AIAE=ABS(ER)
AISE=ER*ER
TOPISE=TOPISE+AISE
TOPIAE=TOPIAE+AIAE
```

```
'ATT=KC*ER
'ATT=(KC+(KI+TT/2)+KD/TT)*ER
'ATTM1=((KI*TT/2)-(2*KD/TT)-KC)*ERRM1
'ATTM2=KD*ERRM2/TT
'STP=STPM1+ATT
'MSGBOX"ssgset="& STP
IF STP> 10 THEN STP=10
IF STP<=3 THEN STP=4



'STPM1=ısıtıcı
POMPA=STP
AKISHES=0.283*POMPA-0.916
AKISTOP=AKIS+AKISHES
AKIS=AKISTOP
'MSGBOX"POMPA="& POMPA

outputf 0, ısıtıcı
outputf 1, pompa
outputf 2, TOPIAE
outputf 3, TOPISE
outputf 4, AKISTOP
outputf 5, ER


End Sub
```

EK 2 GENELLEŞTİRİLMİŞ TAHMİN EDİCİ KONTROL (GPC) İÇİN VisiDAQ PROGRAMININ PRE-TASK KONFİGÜRASYONU

```
public INCR as integer
public S0S0S0, S1S1S1, S2S2S2, T1T1T1, T2T2T2, T3T3T3, AABB, AAIK, BBBB as
single
public AKCKC,AKIKI,AKDKD,PVAL,AIVAL,DVAL,AKAT,STIME as single
public AKATS,AKATI,AKATD,ATTBIR,ATTIKI,ATTUC as single
public AIAE,AISE,TOPISE,TOPIAE,TT as single
public STPM1,STP as single
public KI,KC,KD as single
public ER,ERRM1,ERRM2,ATT,ATTM1,ATTM2 as single
public AKIS,AKISHES,AKISTOP as single


Sub PRE_TASK1()


INCR=0.0
TT=1
YBIR=pH
YIKI=pH
YUC= pH
YDORT= pH
YBES= pH


WBES=4.86
WDORT=4.86
WUC=4.86
WIKI=4.86
WBIR=4.86
```

ALAM=1.0

ANAKO=10.0

BBSB=0.00006496159

AASI=-0.9327404

AASU=-0.0001324910

'STP=5

'STPM1=5.0

STPM1=5.0

'pompa=4.0

'pompa=STP

AKIS=0.0

ER=0.0

TOPISE=0.0

TOPIAE=0.0

End Sub

EK 3 GENELLEŞTİRİLMİŞ TAHMİN EDİCİ KONTROL (GPC) İÇİN MATLAB PROGRAMI

```
STIME=1.0;%GPCCONT.m Script file name Deltt is sampling time
AAS=zeros(1,10);
BBS=zeros(1,10);
AAS(1)=-0.9327404;
AAS(2)=-0.000132491;
AAS(3)=0.0;
AAS(4)=0.0;
BBS(1)=0.00006496159*200.0;
BBS(2)=0.0;
NAAS=2;
NBBS=1;
NIKI=6;
NUNU=4;
ALWS=0.0;
ALAM=0.01;
NTAL=NAAS+NBBS+1;
NSAY=NAAS+NBBS+1;
ZZZZ=0;
for I=NAAS:-1:1;
   AAS(I+1)=AAS(I);
end
AAS(1)=1.0;
NES=NIKI-1;
NFS=NAAS+1;
NGS=NES+NBBS;
ATIL=zeros(1,10);
ATIL(1)=1.0;
for I=2:NAAS+1;
   ATIL(I)=AAS(I)-AAS(I-1);
end
```

```
FFL=zeros(1,10);
for I=1:NFS
   FFL(1,I)=AAS(I)-AAS(I+1);
end
EEL=zeros(1,10);
EEL(1)=1.0;
for J=1:NIKI-1;
   EEL(J+1)=FFL(J,1);
   for I=1,NFS;
      FFL(J+1,I)=FFL(J,I+1)-ATIL(I+1)*FFL(J,1);
   end
end
GDIA=zeros(1,10);
for J=1:NIKI;
   GDIA(J)=0.0;
   JKL=J;
   for I=1:JKL;
      GDIA(J)=BBS(I)*EEL(J-I+1)+GDIA(J);
   end
end
GSTEP=zeros(1,10);
for J=1:NIKI-1;
   GSTEP(J)=0.0;
   JKL=J;
   for I=1:JKL;
      GSTEP(J)=BBS(I)*EEL(J-I+1)+GSTEP(J);
   end
end
GZ=[];
for J=1:NUNU;
   for I=J:NIKI;
      GZ(I,J)=GSTEP(I-J+1);
```

```
   end
end
GTG=[];
GTG(NUNU,NIKI)=0.0;
if NUNU==1;
   SCAL=0.;
   for I=1:NIKI;
      SCAL=SCAL+GZ(I,1)*GZ(I,1);
   end
   SCAL=SCAL+ALAM;
   for I=1,NIKI;
      GTG(1,I)=GZ(I,1)/SCAL;
   end
elseif NUNU>1;
   GTG=GZ'/(GZ*GZ'+ALAM*eye(NIKI,NIKI));
else
end
TOPISE=0.0;
TOPIAE=0.0;
wwww=[5.83 5.83 5.83 5.83];  %constant set values
yyyy=[5.83 5.83 5.83 5.83]; % steady-state input values
eeee=[0.0 0.0 0.0 0.0]; %steady-state error values
uuuu=[10.0 10.0 10.0 10.0]; %steady-state manipulating variable first value
NITERA=100; % iteration Number
y=zeros(1,NITERA);
w=zeros(1,NITERA);
ZAMAN=zeros(1,NITERA);
U=zeros(1,NITERA);
YINPUT=zeros(1,NITERA);
UMANIP=zeros(1,10);
%YENIOKU(NITERA)=0.6;
for KK=1:NITERA;
```

```
%YINPUT(KK)=YENIOKU(NITERA); %YENI OKUNAN DEĞER BURAYA GELECEK
bdelta=BBS(NBBS)*(uuuu(NSAY-1)-uuuu(NSAY-2));
YINPUT(KK)= yyyy(NSAY-1)+bdelta-AAS(NAAS)*(yyyy(NSAY-1)-yyyy(NSAY-2))...
   -AAS(NAAS+1)*(yyyy(NSAY-2)-yyyy(NSAY-3));
yyyy(NSAY)=YINPUT(KK);
eeee(NSAY)=wwww(NSAY)-yyyy(NSAY);
HF=zeros(1,10);
WMF=zeros(1,10);
for IWW=1:NIKI;
   HF(IWW)=0.0;
for JWW=1:NFS;
   HF(IWW)=HF(IWW)+FFL(IWW,JWW)*yyyy(NSAY-JWW+1);
end
HF(IWW)=GDIA(IWW)*(uuuu(NSAY)-uuuu(NSAY-1))+HF(IWW);
end
for IWW=2:NIKI;
   wwww(IWW)=ALWS*wwww(IWW-1)+(1.0-ALWS)*wwww(NSAY);
end
for IWW=1,NIKI;
   WMF(IWW)=wwww(IWW)-HF(IWW);
end
DELCON=0.0;
for JWW=1:NIKI;
   DELCON=DELCON+GTG(1,JWW)*WMF(JWW);
end
   STP=(1.0/1.0)*DELCON;
  UMANIP(KK)=uuuu(NSAY-1)+STP;
   if UMANIP(KK)<=0;
      UMANIP(KK)=0;
   end
```

```
        for JK=1:NSAY-1;
        uuuu(JK)=uuuu(JK+1);
        eeee(JK)=eeee(JK+1);
        wwww(JK)=wwww(JK+1);
        yyyy(JK)=yyyy(JK+1);
        end
        uuuu(NSAY)=UMANIP(KK);

        if KK<20
           wwww(NSAY)=5.83;
        elseif KK>=20
           wwww(NSAY)=6.09;
        else
        end
    y(KK)=yyyy(NSAY);
    w(KK)=wwww(NSAY);
    ZAMAN(KK)=KK*STIME;
    U(KK)=UMANIP(KK); %BURADAKİ U POMPAYA GİDECEK
    %YENIOKU(NITERA)=0.4*U(KK);
    AIAE=abs(eeee(NSAY));
    AISE=eeee(NSAY)*eeee(NSAY);
    TOPISE=TOPISE+AISE;
    TOPIAE=TOPIAE+AIAE;
end
```

EK 4 SELF-TUNING PID KONTROL İÇİN MATLAB PROGRAM

```
STIME=1.0;%PIDCONT.m Script file name Deltt is sampling time
AKAT=1.0;
AABB=-0.9327404;
AAIK=-0.000132491;
BBBB= 0.00006496159*200.0;
T1T1T1=0.2;
T3T3T3=0.0;
T2T2T2=0.0;
TOPISE=0.0;
TOPIAE=0.0;
%KC=1.0;
%TI=1.0;
%TD=0.1;
www=[5.83 5.83 5.83];  %constant set values
yyy=[5.83 5.83 5.83]; % steady-state input values
eee=[0.0 0.0 0.0]; %steady-state error values
uuu=[10.0 10.0 10.0]; %steady-state manipulating variable first value
NITERA=100; % iteration Number
KC=((T2T2T2-T1T1T1+3*T3T3T3+2*AAIK+2*AABB-1)/(-2*BBBB));
TD=(-2*STIME*(T3T3T3+AAIK))/(T2T2T2-
T1T1T1+3*T3T3T3+2*AAIK+2*AABB-1);
TI=(STIME*(-AABB-AAIK-2*T3T3T3-T2T2T2))/(T2T2T2-T1T1T1+3*T3T3T3+...
   2*AAIK+2*AABB-1);
if KC<0.0
   KC=0.0;
end
if TD<0.0
   TD=0.0;
end
SOSOSO=KC+(KC*STIME/(2*TI))+(KC*TD/STIME);
```

```
if TI<0.0
   S1S1S1=0.0;
elseif TI>0.0
S1S1S1=(KC*STIME/(2*TI))-KC-(2*KC*TD/STIME);
else
   S1S1S1=0.0;
end
S2S2S2=KC*TD/STIME;


%YENIOKU(NITERA)=0.6;
for KK=1:NITERA;
   %YINPUT(KK)=YENIOKU(NITERA); %YENI OKUNAN DEĞER BURAYA
GELECEK
   bdelta=BBBB*(uuu(3)-uuu(2));
   YINPUT(KK)= yyy(3)+bdelta-AABB*(yyy(3)-yyy(2))-AAIK*(yyy(2)-yyy(1));
   yyy(3)=YINPUT(KK);
   eee(3)=www(3)-yyy(3);
   UMANIP(KK)=uuu(3)-(SOSOSO*(www(3)-yyy(3))...
         +S1S1S1*(www(2)-yyy(2))...
         +S2S2S2*(www(1)-yyy(1)));
      if UMANIP(KK)<=0;
         UMANIP(KK)=0;
      end
      uuu(1)=uuu(2);
      uuu(2)=uuu(3);
      uuu(3)=UMANIP(KK);
      eee(1)=eee(2);
      eee(2)=eee(3);
      www(1)=www(2);
      www(2)=www(3);
      yyy(1)=yyy(2);
```

```
        yyy(2)=yyy(3);
        if KK<20
            www(3)=5.83;
        elseif KK>=20
            www(3)=6.09;
        else
        end
    y(KK)=yyy(3);
    w(KK)=www(3);
    ZAMAN(KK)=KK*STIME;
    U(KK)=UMANIP(KK); %BURADAKİ U POMPAYA GİDECEK
    %YENIOKU(NITERA)=0.4*U(KK);
    AIAE=abs(eee(3));
    AISE=eee(3)*eee(3);
    TOPISE=TOPISE+AISE;
    TOPIAE=TOPIAE+AIAE;
end
```

EK 5 BIERMAN ALGORİTMASI İÇİN MATLAB PROGRAMI

```
STIME=1.0;%BIERMAN.m Script file name Deltt is sampling time
AAS=zeros(1,10);
BBS=zeros(1,10);
yyyy=zeros(1,10);
uuuu=zeros(1,10);
xxxx=zeros(1,10);
FIT=zeros(1,10);
CCCC=zeros(1,10);
NSAY=5;
NAAS=2;
NBBS=1;
ALPHA=1000.0;
NTAL=NAAS+NBBS+1;
zzzz=0.0;
TpHBAZ=[0.0 4.86 0.0
     5.0 5.43 20.0
    10.0 5.45 10.0
    15.0 5.38 10.0
    20.0 5.31 10.0
    25.0 5.58 20.0
    30.0 5.58 10.0
    35.0 5.62 20.0
    40.0 5.61 10.0
    45.0 5.60 10.0
    50.0 5.62 20.0
    55.0 5.74 20.0
    60.0 5.83 20.0
    65.0 5.83 10.0
    70.0 5.92 20.0
    75.0 5.97 20.0
```

```
   80.0 6.03 20.0
   85.0 6.09 20.0
   90.0 6.09 10.0
   95.0 6.08 10.0];
ASEMTI=(TpHBAZ(:,1))';
ASEMPH=(TpHBAZ(:,2))';
ASEMBA=(TpHBAZ(:,3))';
C=[ASEMTI',ASEMPH',ASEMBA',];
save resultBIERMAN1.mat C
NITERA=20-NSAY-1;%iteration number number of data equal 20
PPPP=[];
PPPP(NTAL,NTAL)=ALPHA;
param=[];
param(NITERA,NAAS+NBBS)=0.0;
for LJK=1:NTAL;
    PPPP(LJK,LJK)=ALPHA;
end
for KZ=1:NSAY-1;
   yyyy(KZ)=ASEMPH(KZ);
   uuuu(KZ)=ASEMBA(KZ);
end
for KK=1:NITERA;
   for JK=1:NSAY-1;
      uuuu(JK)=uuuu(JK+1);
      yyyy(JK)=yyyy(JK+1);
   end
   uuuu(NSAY)=ASEMBA(KK+NSAY+1);
   yyyy(NSAY)=ASEMPH(KK+NSAY+1);
   for IZ=1:NAAS;
      xxxx(IZ)=-(yyyy(NSAY-IZ+1)-yyyy(NSAY-IZ));
   end
   for IZZ=NAAS+1:NTAL-1;
```

```
   xxxx(IZZ)=uuuu(NSAY-IZZ+NAAS)-uuuu(NSAY-IZZ+NAAS-1);
end
xxxx(NTAL)=1;
zzzz=yyyy(NSAY)-yyyy(NSAY-1);
RRRR=1.0+PPPP(1,1)*xxxx(1)*xxxx(1);
for JH=1:NTAL;
   zzzz=zzzz-xxxx(JH)*FIT(JH);
end
for JP=NTAL:-1:2;
   JPSON=JP-1;
   for KT=1:JPSON;
      xxxx(JP)=xxxx(JP)+PPPP(KT,JP)*xxxx(KT);
   end
   CCCC(JP)=PPPP(JP,JP)*xxxx(JP);
end
CCCC(1)=PPPP(1,1)*xxxx(1);
ALPHA=CCCC(1)*xxxx(1)+RRRR;
GAMMA=1.0/ALPHA;
PPPP(1,1)=GAMMA*PPPP(1,1)*RRRR;
for JU=2:NTAL;
   BETA=ALPHA;
   ALPHA=ALPHA+CCCC(JU)*xxxx(JU);
   PLA=-xxxx(JU)*GAMMA;
   GAMMA=1.0/ALPHA;
   PPPP(JU,JU)=BETA*GAMMA*PPPP(JU,JU);
   for IS=1:JU-1;
      BETA=PPPP(IS,JU);
      PPPP(IS,JU)=BETA+CCCC(IS)*PLA;
      PPPP(IS,JU)=PPPP(IS,JU)/0.998;
      CCCC(IS)=CCCC(IS)+CCCC(JU)*BETA;
   end
end
```

```
    zzzz=zzzz*GAMMA;
    for JG=1:NTAL;
      FIT(JG)=FIT(JG)+CCCC(JG)*zzzz;
    end
      TRACE=0;
      for JF=1:NTAL;
        TRACE=TRACE+PPPP(JF,JF);
      end
      if TRACE<0.003;
        for IE=1:NTAL;
          PPPP(IE,IE)=250;
        end
      end
      for ID=1:NAAS;
        AAS(ID)=FIT(ID);
      end
      for IC=NAAS+1:NTAL-1;
        BBS(IC-NAAS)=FIT(IC);
      end
      for IB=1:NAAS;
    param(KK,IB)=FIT(IB);
      end
      for IA=NAAS+1:NTAL-1;
        param(KK,IA)=FIT(IA);
      end
end
```

EK 6 MRS AGAR MALZEME GÜVENLİK BİLGİ FORMU

MERCK

Safety Data Sheet

According to EC Directive 91/155/EEC

Date of issue: 30.11.2004
Supersedes edition of 15.12.2001

1. Identification of the substance/preparation and of the company/undertaking

Identification of the product

Catalogue No.: 110660

Product name: MRS agar Lactobacillus agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE for microbiology

Use of the substance/preparation

Biochemical research/analysis

Company/undertaking identification

Company: Merck KGaA * 64271 Darmstadt * Germany * Phone: +49 6151 72-0

Emergency telephone No.: Please contact the regional Merck representation in your country.

2. Composition/information on ingredients

Mixture of inorganic and organic compounds.
Preparation for culture media.

Hazardous ingredients:

Name according to EC Directives:				
CAS-No.	*EC No.*	*EC-Index-No.*	*Classification*	*Content:*
Ammonium citrate				
3012-65-5	221-146-3		Xi; R36	≥ 1 - < 10 %

(Full text of R-Phrases in heading 16)

3. Hazards identification

No hazardous product as specified in Directive 67/548/EEC.

4. First aid measures

After inhalation: fresh air.
After skin contact: wash off with plenty of water. Remove contaminated clothing.
After eye contact: rinse out with plenty of water with the eyelid held wide open.
After swallowing: make victim drink plenty of water. Consult doctor if feeling unwell.

5. Fire-fighting measures

Suitable extinguishing media:
In adaption to materials stored in the immediate neighbourhood.

Special risks:
Preparation with combustible ingredients. Development of hazardous combustion gases or vapours possible in the event of fire.

Special protective equipment for fire fighting:
Do not stay in dangerous zone without self-contained breathing apparatus.

Other information:
Prevent fire-fighting water from entering surface water or groundwater.

6. Accidental release measures

Person-related precautionary measures:
Avoid generation of dusts; do not inhale dusts.

Environmental-protection measures:
Do not allow to enter sewerage system.

Procedures for cleaning / absorption:
Take up dry. Forward for disposal. Clean up affected area.

7. Handling and storage

Handling:

Protect from light.
No further requirements.

Storage:

Tightly closed. Dry. Cool (+2°C to +8°C).

8. Exposure controls/personal protection

Personal protective equipment:

Protective clothing should be selected specifically for the working place, depending on concentration and quantity of the hazardous substances handled. The resistance of the protective clothing to chemicals should be ascertained with the respective supplier.

Respiratory protection: required when dusts are generated.

Eye protection: required

Hand protection:

In full contact:

Glove material:	nitrile rubber
Layer thickness:	0.11 mm
Breakthrough time:	> 480 Min.

In splash contact:

Glove material:	nitrile rubber
Layer thickness:	0.11 mm
Breakthrough time:	> 480 Min.

The protective gloves to be used must comply with the specifications of EC directive 89/686/EEC and the resultant standard EN374, for example KCL 741 Dermatril® L (full contact), 741 Dermatril® L (splash contact). The breakthrough times stated above were determined by KCL in laboratory tests acc. to EN374 with samples of the recommended glove types.
This recommendation applies only to the product stated in the safety data sheet and supplied by us as well as to the purpose specified by us. When dissolving in or mixing with other substances and under conditions deviating from those stated in EN374 please contact the supplier of CE-approved gloves (e.g. KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Internet: www.kcl.de).

Industrial hygiene:
Change contaminated clothing. Wash hands after working with substance.

9. Physical and chemical properties

Form:		granulate		
Colour:		beige		
Odour:		peptone-like		
pH value				
at 66.24 g/l H_2O		(25 °C)	5.5-5.9	(after autoclaving)
Melting point			not available	
Boiling point			not available	
Ignition temperature			not available	
Flash point			not available	
Explosion limits	lower		not available	
	upper		not available	
Density			not available	
Bulk density			600 kg/m^3	
Solubility in				
water		(100 °C)	66.24 g/l	

10. Stability and reactivity

Conditions to be avoided

none

Substances to be avoided

no information available

Hazardous decomposition products

no information available

11. Toxicological information

Acute toxicity

Quantitative data on the toxicity of this product are not available.

Further toxicological information

Property that must be anticipated on the basis of the components of the preparation:
After swallowing of large amounts: diarrhoea.

Other notes:
The following applies to ammonium salts in general: after swallowing: local irritation symptoms, nausea, vomiting, diarrhoea. Systemic effect: after the uptake of very large qantities: drop in blood pressure, collapse, CNS disorders, spasms, narcotic conditions, respiratory paralysis, haemolysis.

Further data

Further hazardous properties cannot be excluded but unlikely when the product is handled appropriately.
The product should be handled with the care usual when dealing with chemicals.

12. Ecological information

Ecotoxic effects:
Quantitative data on the ecological effect of this product are not available.

Further ecologic data:
The following applies to ammonium ions in general: biological effects: fish: toxic as from 0.3 mg/l ; nourishment for fish: toxic as from 0.3 mg/l .

No ecological problems are to be expected when the product is handled and used with due care and attention.

13. Disposal considerations

Product:

Chemicals must be disposed of in compliance with the respective national regulations. Under www.retrologistik.de you will find country- and substance-specific information as well as contact partners.

Packaging:

Merck product packaging must be disposed of in compliance with the country-specific regulations or must be passed to a packaging return system. Under www.retrologistik.de you will find special information on the respective national conditions as well as contact partners.

14. Transport information

Not subject to transport regulations.

15. Regulatory information

Labelling according to EC Directives

Symbol: —

R-phrases: —

S-phrases: —

16. Other information

Text of any R phrases referred to under heading 2:

36 Irritating to eyes.

Reason for alteration

Chapter 1:change in product name.
Chapter 7: storage conditions.
Chapter 8: personal protective equipment.
Chapter 9: change/addition in physical/chemical properties.

General update.

Regional representation:

This information is given on the authorised Safety Data Sheet for your country.

The information contained herein is based on the present state of our knowledge. It characterizes the product with regard to the appropriate safety precautions. It does not represent a guarantee of the properties of the product.

EK 7 M 17 AGAR MALZEME GÜVENLİK BİLGİ FORMU

Merck KGaA - Frankfurter Straße 250 - 64293 Darmstadt - Germany -

Date: 11.06.2011
Division/Dept.: EQ-R Safety Data
Care of: Carlos Nussbaum
Phone: +49615172-2775
Fax: +49615172-90775
E-Mail: carlos.nussbaum@merck.de

Catalogue No.	115108
Product name	M 17 agar acc. to TERZAGHI for microbiology

This item is not a hazardous substance and does not contain hazardous ingredients, substances with Community workplace exposure limits or substances of very high concern (SVHC) above their respective disclosure limits. Hence a safety data sheet is not required according to Regulation (EC) No. 1907/2006 (REACH) and also not available in this case.

The information has been generated by EDP and bears no signature.

EK 8 YGC AGAR MALZEME GÜVENLİK BİLGİ FORMU

Merck KGaA - Frankfurter Straße 250 - 64293 Darmstadt - Germany -

Date 14.07.2011
Division/Dept. EQ-R Safety Data
Care of: Carlos Nussbaum
Phone: +49615172-2775
Fax: +49615172-90775
E-Mail: carlos.nussbaum@merck.de

Catalogue No.	116000
Product name	YGC agar Yeast extract glucose chloramphenicol agar FIL-IDF for microbiology

This item is not a hazardous substance and does not contain hazardous ingredients, substances with Community workplace exposure limits or substances of very high concern (SVHC) above their respective disclosure limits. Hence a safety data sheet is not required according to Regulation (EC) No. 1907/2006 (REACH) and also not available in this case.

The information has been generated by EDP and bears no signature.

Merck KGaA
Frankfurter Straße 250 64293 Darmstadt
PO-Box 64271 Darmstadt
Phone: +49 6151 72-0 / Fax +49 6151 72-2000
www.merck.de

Partnership limited by shares
Commercial Register AG Darmstadt HRB 6164
Registered Office: Darmstadt
Chairman of the Supervisory Board: Rolf Krebs

Executive Board and General Partners :
Karl-Ludwig Kley (Chairman),
Kai Beckmann, Stefan Oschmann, Bernd Reckmann, Matthias Zachert

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Semin ALTUNTAŞ
Doğum Yeri : Samsun
Doğum Tarihi : 19.08.1975
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce, Almanca

Eğitim Durumu
Lise : Özel Ar Lisesi (1989-1993)
Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü (1994-1999)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı (1999-2002)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl :
Çevre ve Orman Bakanlığı, Ankara İl Çevre ve Orman Müdürlüğü (2002-2010)
Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Avrupa Birliği Yatırımları Dairesi Başkanlığı (2010- Halen)

Yayınları (SCI ve diğer) :
Altuntaş, S., Özkan, G., Hapoğlu, H. and Alpbaz, M. 2006. Application of Self-Tuning PID Control to a Reactor of Limestone Surry Titrated with Sulfuric Acid. Chemical Engineering Journal, Vol. 116: pp. 19-24.

Altuntaş, S., Ertunç, S., Hapoğlu, H. and Alpbaz, M. 2011. Discrete-Time Modelling of The Cheese Whey Drink Production and Servo Control of pH. University of Ordu Journal of Science and Technology, Vol. 1: pp. 15-22.