

Biyoproses Çalışmalarında Deneysel Tasarım Yönteminin Uygulanması

Meryem Sena AKKUŞ*¹ , Sema KARABUDAK*² 

*Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara, 06010, Türkiye

Derleme Makalesi, Geliş Tarihi: 10.10.2020, Kabul Tarihi: 23.11.2020

Özet

Deneysel tasarım yöntemleri yapılan deneylerin maliyetlerini düşüren, sonuçların güvenilirliğini artıran, az deneyle istenen hedefe kısa sürede ulaştırılan tekniklerdir. Biyolojik proses çalışmalarında istenen hedefe yönelik, hedefi doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Uygun deneysel tasarım yöntemiyle gerçeğe en yakın ve hassas sonuca ulaşmak mümkündür. Yapılan bu çalışmada literatürde yaygın olarak kullanılan deneysel tasarım yöntemlerinden tam faktöriyel dizaynı, Taguchi metodu, Box–Behnken tasarımı, merkezi kompozit tasarımı ve Plackett–Burman tasarım yöntemlerinin biyoproseslerde en uygun değer koşullarına nasıl ulaştığını ve bu çalışmalarda deneysel tasarım yöntemlerinin uygulama örnekleri hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel tasarım yöntemleri, Proses optimizasyonu, Biyoproses.

Application of Experimental Design Method in Bioprocess Studies

Abstract

Experimental design methods are the techniques that reduce the costs of the experiments performed, increase the reliability of the results, and reach the desired goal in a short time with less experimentation. In the work of biological processes, there are many factors aimed at the desired goal, that affect the target directly or indirectly. It is possible to reach the most accurate and accurate result with the appropriate experimental design method. In this study, information is given about how the full factorial design, Taguchi method, Box-Behnken design, central composite design, and Plackett-Burman design methods, which are among the widely used experimental design methods in the literature, reach the most appropriate value conditions in implementations and application examples of these methods in bioprocess studies.

Keywords: Experimental design methods, Process optimization, Bioprocess.

¹Sorumlu yazar msaakkus@ybu.edu.tr, ²skarabudak@ybu.edu.tr

1. GİRİŞ

Deneyel tasarım, deneysel sonuçların analizinden sonra deneyde etkili olan parametrelerden bazıları seçerek, ilgilenilen bir yanıt üzerine etkilerini tespit etmek için kontrollü bir şekilde değiştirildiği bir süreç analiz şeklidir. Bu analiz süreci çeşitli bağımsız faktörlerin bağımlı bir faktör üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için de kullanılmasını mümkün kılmaktadır (Keskin Gündoğdu vd., 2016). Simülasyon deneylerinin dikkatli bir şekilde planlanması ve tasarlanması, modelin girdilerindeki değişikliklerin çıktuları üzerindeki etkilerini tahmin etmenin etkili yollarını sunarak, zamandan ve emekten tasarruf sağlamak için yardımcı olmaktadır. Deney tasarım yöntemleri birçok alanda uygulanabilmekle birlikte, biyolojik çalışmalarda kullanımı daha yaygındır. Biyoteknolojik prosesler, prosesin performansı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilecek çok sayıda değişkeni, besleme malzemesi özelliği ve hammadde özelliği bulunması sebebiyle oldukça karmaşıktır. Deneyel tasarım yöntemleriyle deneye etki eden birçok faktörün değişik seviyeleri, aynı anda incelenmekte ve bir faktörün durumu, diğer faktör veya faktörlerin değişik seviyelerinde ele alınabilmektedir. Bu çalışmada biyolojik proseslerin tasarım aşamasında yaygın olarak kullanılan deney tasarım yöntemleri tartışılmıştır.

2. DENEY TASARIMI

Tarafsız, hassas ve iyi organize edilmiş bir deney tasarlamak için deneyin planlama aşamasında bilimsel bir yaklaşım gereklidir (Özkan vd., 2019). Klasik deney tasarımı yaklaşımlarından olan Tek seferde tek faktör yöntemi (one factor at a time), pek çok ürünün ve analitik yöntemin geliştirilmesi ve optimizasyonunda kullanılmıştır. Bu yaklaşımda faktörlerden biri uygun bir aralıkta (veya seviyelerde) değiştirilirken diğer değişkenler sabit tutulmaktadır (Ghanem vd., 2009). Ancak bu yaklaşımda, deneye etki eden ilgili tüm değişkenlerin birleşik etkisini görmek mümkün olmamaktadır. Tek seferde tek faktörün araştırıldığı bu yöntem uygulama zamanı açısından verimli olmamakla birlikte optimum seviyeleri tespit etmek için bir dizi deney gerektirmektedir. Üstelik bu yöntemin sonuçlarının güvenilirliği düşüktür ve hata oranı yüksektir (Alshehria vd., 2016). Bununla birlikte, istatistiksel bir deneysel tasarım yöntemiyle prosese etki eden tüm parametreleri optimize ederek tek seferde tek faktör metodunun eksikliklerinin üstesinden gelmek mümkündür. İstatistiksel deney tasarım yöntemleri bir veya daha fazla ölçülebilir girdi değişkenleri arasındaki regresyon modelini deneysel olarak tanımlamaktadır. Bu

yöntemler ortam koşullarının optimizasyonu, verimi artırma, yapılan deney sayısı ve maliyetini düşürme bakımından büyük avantajlar sağlamaktadır (Özkan vd., 2019). Bu metodların etkin kullanımı ile prosesin kontrol edilmesi kolay olmaktadır. Birçok deney tasarım modeli bulunmakla birlikte bu modeller birkaç ortak adımdan oluşmaktadır. Bu ortak adımlar Şekil 1'de verilmiştir (Jacyna vd., 2019).



Şekil 1. Deney tasarımı modeli metodolojisine göre deney tasarımı (Jacyna vd, 2019'dan uyarlanmıştır)

Deneyel bir plan oluşturmak için bu adımları takip etmek, planlanan çalışmanın daha verimli olmasına yardımcı olabilir. Yapılacak araştırma yeni veya iyi bilinmeyen bir sistemse, prosedürün ilk aşaması, istenen yanıtları (örneğin; ürün verimi ve verimlilik) etkileyebilecek faktörlerin seçimi olmalıdır. Bu faktörlerin kontrol edilmesi kolay olmalı (örneğin konsantrasyon, sıcaklık, akış hızı) ve ayrıca test edilecek aralıkları önceden belirlenmelidir. Bazı deneylerde bu aralıkları belirlemek için bir dizi tarama testi yapılır. Yapılan test deneylerinin sonuçları değerlendirilerek, yalnızca verilen süreci etkileyen en önemli parametreler seçilir ve çalışma aralığı belirlenir. Ayrıca bu durum önemli sayıda deneyin yapılmasını da engelleyecektir. Deneyin bir sonraki adımı gözlemlenecek parametreleri ve değerlerinin karşılaması gereken kriterleri yani yanıtları belirlemektir. Bu aşamada, deneye etki eden en önemli parametreler de belirlenebilir. Hem faktörler hem de yanıtlar belirlendikten sonra uygun deney planı seçilir. Alınmak istenen bilginin ayrıntısı, maliyet ve süreye bağlı olarak, uygun deney tasarım yöntemlerinden biri seçilir (Jacyna vd., 2019).

Seçilen yöntemle rasgeleleştirme kullanılarak, kontrolsüz değişkenlerin elde edilen sonuçlar üzerindeki

etkisini en aza indirmek amaçlanır. Araştırma planında bazı deneysel noktalar için tekrarların dahil edilmesi, incelenen örneğin rastgele hatalardan nasıl etkilendiğini belirlemeye yardımcı olacaktır. Özetle, deney tasarımı ve optimizasyonu yaklaşımında, araştırmanın dikkatli bir şekilde planlanması, bir ölçüm verisi matrisi elde etmek için planlanan deneylerin yapılması, deney sonuçlarının istatistiksel analizi ve yorumlanması ile bilimsel süreç tamamlanır.

3. BİYOPROSESLERDE DENEY TASARIMI

Son yirmi yılda önemi ve değeri anlaşılan biyoteknoloji "Biyolojik kökenli ham maddelerden aşı, gıda gibi yeni ürünler üretmek için mühendislik ve biyolojik bilim ilkelerinin uygulanması" olarak tanımlanabilir. Başka bir deyişle, "Canlı organizma / ürünü veya ürünlerinin insan sağlığını ve insan çevresini değiştirmek veya iyileştirmek için kullanılması"dır (Verma vd., 2011). Biyoteknolojinin birçok uygulama alanı olmakla birlikte bunların başında sanayi ve laboratuvar ölçekli üretim ve çalışmalar gelmektedir. Biyoteknolojik çalışmaların birçoğunda substrat canlı organizmalar tarafından ürüne dönüştürülmektedir.

Biyoproses, bir biyoreaktörde enzim, mikroorganizmalar, bitki hücreleri veya hayvan hücreleri gibi biyokatalizörlerin farmasötik, yiyecek, ve yakıt gibi ürünlerin üretiminde kullanıldığı deneysel bir süreçtir (Singh, 2015).

Biyoproses teknolojileri, hem birden çok parametrenin ayarlanmasını hem de mühendislik ilkelerinin uygulanmasını engelleyen komplikasyonları içerdikleri için etkili problem çözme yöntemlerini gerektirmektedir (Lee vd., 2006).

Bir biyoprosese yapılan herhangi bir girişim, belirli çıktıları etkileyen veya etkilemeyen çok sayıda etkileşimli ve etkileşimsiz faktörlerle sonuçlanır. Örneğin, büyüme faktörleri, vitaminler ve mikrobiyal stres faktörleri gibi ortam koşullarının değiştirilmesi organizmada değişimlere yol açmaktadır. Bu durum deneyde amaçlanan sonucu doğrudan etkilemektedir. Bu karmaşayı gidermek için sisteme uygun deneysel yasarım yöntemlerinden birisi seçilerek gerçek koşullara uygun optimizasyon yapılabilir.

3.1. Tarama Tasarımları

Deneysel tasarımının temel amacı, planlanan bir çalışmadan elde edilecek bilgi miktarını en üst düzeye çıkarırken, deney sayısını ve dolayısıyla elde edilen veri miktarını en aza indirmeye çalışmaktır. Bu tür deneysel

tasarımlar, süreci etkileyen faktörleri aramaya ve bazı durumlarda çalışılan parametreler arasında meydana gelen etkileşimleri fark etmeye odaklanacaktır. Tarama amaçlı en popüler deneysel tasarım yöntemleri Faktöriyel Tasarımlardır. Bu tasarım yöntem, deneylerdeki faktörlerin aynı anda değiştiği temeline dayanır. Bu tasarımda iki ya da daha fazla faktörün ana etkilerini ve birbirleriyle etkileşimlerinin etkilerini aynı anda araştırmak için kullanılan bir yöntemdir (Özkan vd., 2019). Faktöriyel tasarımlardan yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisi tam faktöriyel deney tasarımıdır. Tam faktöriyel deney tasarımının çok boyutlu bir yöntem olması sebebiyle proseslerin maliyetlerinin azaltılması, kalitenin artırılması sağlanabilmektedir. Tam faktöriyel yöntemine göre deney sayısı Eşitlik 1'de verilmiştir.

$$N = n^k \quad (1)$$

Eşitlik 1'de verilen N deney sayısını, n seviye sayısını, k faktör sayısını göstermektedir (Zümrüt, 2009).

Deneysel tasarımda incelenen parametreler arasındaki etkileşimlerin ihmal edilebilir ya da toplam deney sayısının çok yüksek olduğu durumlarda kısmi faktöriyel tasarım yaklaşımı uygulanabilmektedir.

En basit tarama yöntemlerinden biri olan Plackett-Burman Tasarımı (PBD) iki seviyeli kısmi faktöriyel tasarım yöntemidir. Biyolojik örneklerin kararlı olmaması, çevreden kolayca etkilenmesi ve ayrıca biyoproseslerde gerçekleşen biyokimyasal ve fizikokimyasal değişiklikler Plackett-Burman tasarımının uygulanmasını popüler hale gelmiştir (Jacynavd., 2019).

Plackett-Burman tasarımından deney sonuçlarına bağlı çeşitli faktörlerin etkilerini tanımlamak için Eşitlik 2'de verilen denklem kullanılır.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i \chi_i \quad (2)$$

Eşitlik 2'de verilen Y yanıt, β_0 sabit, β_i doğrusal katsayıyı, X_i seçilen faktör derecelerini göstermektedir. Bu yöntemle deneysel sonuçların varyans analizinde, ANOVA testiyle anlamlı faktörler seçilir (Plackett vd., 1946; Wang vd., 2009).

3.2. Optimizasyon Dizayını

Faktöriyel Tasarımlar genelde değişken seçiminde kullanırken, optimum parametre değerlerine ulaşmak için Yanıt Yüzey Yöntemi kullanılır. Bu yöntem sadece

optimum koşulları belirlemekle kalmayıp, aynı zamanda bir süreci tasarlamak için gerekli bilgileri de verecektir. Yanıt Yüzey Yöntemi, özel deneysel tasarımları Taylor birinci ve ikinci dereceden denklemlerle birleştiren optimum koşulları belirlemeye yönelik bilimsel bir yaklaşımdır. Bu yöntemde, yanıtı (verim, safsızlık seviyesi vb.) tanımlayan Taylor genişleme eğrisinin yüzeyi belirlenir. Ayrıca bu yöntemde değişkenlerin sayısı önemlidir. Değişken sayısı arttıkça tasarımların gerektirdiği deney sayısı da katlanarak artmaktadır. Faktörler ve yanıtlar arasında elde edilen ilişkilerin grafiksel gösterimi, Yanıt Yüzey Yöntemi'nin diğer bir avantajıdır. Yanıt Yüzey Yöntemi'nin temeli olan Taylor denklemi Eşitlik 3'te verilmiştir.

$$Y=A+B \cdot X_1+C \cdot X_2+\dots\dots\dots+H \cdot X_1^2+I X_2^2+\dots\dots\dots+M \cdot X_1 \cdot X_2+N \cdot X_1 \cdot X_3+\dots\dots\dots \quad (3)$$

Eşitlik 3'teki A,B,C...denklem terimlerinin katsayılarını, X_1 ; değişken 1 için doğrusal terim, X_2 ; değişken 2 için doğrusal terimi, X_1^2 ; değişken 1 için doğrusal olmayan kare terimi, X_2^2 ;değişken 2 için doğrusal olmayan kare terimini, $X_1 \cdot X_2$; değişken 1 ve değişken 2 için etkileşim terimini, $X_1 \cdot X_3$; değişken 1 ve değişken 3 için etkileşim terimini göstermektedir (Geiger, 2014; Jacynavd., 2019).

Optimizasyon tasarımında yaygın kullanılan diğer bir yöntem, Merkezi Kompozit Tasarımıdır (MKT). Bu yöntemde aksel noktalar (α) ve merkez noktalar olmak üzere iki faktöriyel nokta bulunur. Yöntemin iki faktöriyel noktası, deneydeki bir faktörün + (en yüksek) veya - (en düşük) düzeyleridir. Aksel noktalar Eşitlik 4'te verilen denklemle belirlenir. Eşitlikte verilen k değeri bağımsız değişken sayısını ifade etmektedir (Türk, 2016).

$$\alpha = 2k/4 \quad (4)$$

Merkez noktalar ise deneysel hatayı tahmin etmek için tekrar edilen noktalardır. Sonuç olarak MKT'de her bir parametrenin beş düzeyi vardır. Bunlar +1 ve -1 faktöriyel noktalar + α ve - α aksel noktalar, 0 olarak ifade edilen merkez noktasıdır. MKT yöntemi uygulanarak elde edilen sonuçlar karesel model kullanılarak değerlendirilir (Eşitlik (5)).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} \chi_i \chi_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} \chi_i^2 \quad (5)$$

Bu model n tane değişkenin lineer etkilerini, karesel etkilerini ve aralarındaki etkileşimi dikkate almaktadır. Burada verilen Y yanıt, β_0 sabit katsayıyı, β_i lineer katsayı, β_{ij} , i ve j değişkenleri arasındaki etkileşim

etkisini ve k faktör sayısını tarif etmektedir. En küçük kareler yönteminde ise regresyon analizi ile de ikinci derece modeldeki katsayılar tahmin edilerek regresyon denklemi oluşturulur. Oluşturulan denklemle de yanıtlar için tahmini sonuçlar elde edilerek, tahminlerin doğruluğu, modelin deney tasarımı için yeterliliği kontrol edilir (Türk, 2016).

Deneysel çalışmada gözlemlenecek yanıtı etkileyen faktörleri sistematik olarak doğrusal, üssel ve ikili etkilerinin incelendiği bir yaklaşım olan yüzey yanıt metoduna alternatif olan diğer bir yöntem Box-Behnken tasarımıdır. Bu yöntemde, minimum (-1), orta (0) ve maksimum (+1) olmak üzere her bir değişkenin eşit aralıkta üç farklı seviyede ölçümü yapılarak yanıt değişkenindeki değişim incelenmektedir (Arslan vd., 2018). Bu tasarımlarda 1. ve 2. dereceden model katsayılarının etkili bir şekilde kestirimi yapılabilir. Aynı sayıda faktörün olduğu deney için, MKT'ye göre daha az nokta içerdiğinden bu yöntem daha ekonomiktir. Fakat içinde faktöriyel tasarım bulundurmadığı için ardışık sıralı denemeler için uygun olmadığı, yani yapılmış bir faktöriyel tasarımdaki denemelerle birleştirilemeyeceği unutulmamalıdır. Ayrıca bu tasarımda eksen noktaları bulunmadığı için faktör seviyelerinin alt ve üst limitlerinin dışına çıkılması mümkün değildir (Demir vd., 2017).

Taguchi metodu, bir deney tasarım yöntemi olmasının ötesinde özellikle yüksek kalitede sistem tasarımı için son derece faydalı bir tekniktir. Bu yöntemde faktörler arasındaki etkileşimler belirli ölçüde ihmal edilir. Taguchi Deney Tasarımı yönteminde elde edilen deney sonuçları sinyal/gürültü (S/N) oranına çevrilerek değerlendirilmektedir. Sinyal değeri sistemin verdiği ve ölçülmek istenen gerçek değeri, gürültü değeri ise ölçülen faktör içerisindeki istenmeyen faktörlerin etkisini temsil etmektedir. Sinyal/gürültü oranının hesaplamasında deneyler sonucunda ulaşılmaması hedeflenen yanıtın özelliği önemlidir. Buna göre düşük değer iyi (yaklaşımın amacı en düşük değere ulaşmak), yüksek değer iyi (yaklaşımın amacı en yüksek değere ulaşmak) ve nominal değer iyi (yaklaşımın amacı ortalama bir değere ulaşmak) olmak üzere her üç yaklaşıma göre S/N hesaplaması yapılır. Seçilen yaklaşıma göre yapılan hesaplamada büyük olan S/N değeri deney tasarımı için en iyi performansı göstermektedir (İç vd., 2016).

En küçük en iyi olduğu durumda;

$$S/N = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i^2 \right) \quad (6)$$

En büyük en iyi olduğu durumda;

$$S/N = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2} \right) \quad (7)$$

Nominal en iyi olduğu durumda:

$$S/N = -10 \log \left(\frac{\bar{y}^2}{S^2} \right) \quad (8)$$

$$\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i \quad (9)$$

$$S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \quad (10)$$

Eşitliklerde y_i ; performans yanıtını, i gözlem değerini, n ; deneme test sayısını, \bar{y} ; ortalama değeri, S^2 ; gözlem değerlerinin varyansını ifade etmektedir. Ayrıca varyans analizi ANOVA testi ile yapılır. Faktörlerin proses üzerine etkileri istatistiksel olarak ortaya konulur (Yang vd., 1998).

Hem S/N oranı, hem de varyans analizi değerlendirerek faktörlerin, prosesi optimum performansa ulaştırarak kombinasyonu belirlenir. Bu tasarımı diğer deney tasarımlarından ayıran önemli bir unsur da faktörlerin birbirinden bağımsız olarak değerlendirilebilir olmasıdır (Savaşkan vd., 2010).

Son olarak, deney tasarım yöntemlerinden birisi olan Plackett-Burman yaklaşımıyla çok sayıdaki faktörlerden hangilerinin yanıt üzerinde etkisinin olduğu tespit edilmektedir. Bu tasarımın avantajı diğer tasarım yöntemlerine göre daha az sayıda deneme gerektirmesi olup, dezavantajı ise yapılarının karmaşık olmasıdır. Bu tasarım iki seviyeli kesirli faktöriyel tasarımlardan oluşmaktadır.

N sayıda deneyde, $k=N-1$ değişken olduğunda ve deney sayısı N'nin 4 'ün katı olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Plackett-Burman tasarımları kübik olup, geometrik olmayan tasarımlar olarak adlandırılmaktadır (Karşoğlu vd., 2015).

4. BİYOPROSES ÇALIŞMALARINDA DENEYSEL TASARIM YÖNTEMLERİNİN UYGULAMALARI

Biyoproseslerde gerçekleştirilen işlemin verimliliği, performansı, ürün kalitesi gibi istenen hedefi direk veya dolaylı olarak etkileyen çok sayıda değişken bulunmaktadır. Klasik deney tasarımı yaklaşımlarından en çok uygulanan tek seferde tek faktör yöntemi ile optimum değere ulaşmak ekonomik olmamakla birlikte sonuçların hassasiyeti düşük olmakta ve deneysel süreç oldukça zaman almaktadır. Günümüzde bu olumsuzlukları gidermek için deneysel tasarım yöntemleri uygulanmaktadır. Bu yöntemle klasik yöntemle göre daha az sayıda deneyle, birçok değişkenin etkisi aynı anda görülebilmektedir. Elde edilen verilerin işlenmesiyle seçilen değişkenlerin optimum değerlerinde istenen amaca ulaşmanın mümkün olduğu görülmektedir.

Literatürde deneysel tasarım yöntemlerinin uygulandığı biyoproses çalışmaları incelendiğinde büyük bir çoğunluğunda organizmanın ürettiği besiyerinin bileşimi, biyokütle miktarı, ortam sıcaklığı ve pH'ın optimize edildiği görülmektedir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan deneysel tasarım yöntemlerinden tam faktöriyel dizaynı, Taguchi metodu, Box-Behnken tasarımı, merkezi kompozit tasarımı ve Plackett-Burman tasarımının uygulandığı bazı biyolojik proses çalışmalarının listesi Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'den de görüldüğü gibi yapılan biyoproses çalışmalarında çok geniş bir yelpazede işlemler yapılmaktadır. Örneğin; canlıların ürettiği bazı enzimlerin üretimi, laktik asit üretimi, biyohidrojen üretimi, mikrobiyal canlıların metabolit ürünlerinin verimliliği, biosurfaktant üretim koşullarının belirlenmesi gibi birçok biyoteknolojik uygulamada çeşitli deneysel tasarım yöntemlerinin uygulandığı ve istenen hedefe ulaşıldığı görülmektedir.

Tablo 1. Biyoproses çalışmalarında kullanılan deneysel tasarım yöntemlerinin uygulama örnekleri

Proses	Kullanılan deneysel tasarım yöntemi	Faktörler	Yanıt	Referans
Biyosüpfaktant üretimi	Tam faktöriyel dizayn	Pepton konsantrasyonu, maya konsantrasyonu, amonyum sülfat derişimi, üre derişimi (amonyum sülfat ve maya özütü önemli ölçüde etkilemiştir. ΔST (yüzey gerilimi farkı) ve EI (emülsifikasyon indeksi) proses için bağımlı değişken olarak tespit edilmiştir.	0.5 g/L maya özütü kullanarak ΔST için 20.9 mNm ⁻¹ ve EI için % 73.1	(Fontes vd., 2010)
Bijinensis species Laktik asit üretimi	Tam faktöriyel dizayn	Sıcaklık, pH, çalkalama hızı, enzim konsantrasyonu, tampon konsantrasyonu, yüzey aktif madde tipi, yüzey aktif madde konsantrasyonu	Statik koşullar altında yağsız süt ortamındaki Lb22b suşu, peynir altı suyuna göre 2.30 kat daha fazla laktik asit üretmiştir.	(Tari vd., 2010)
Biyohidrojen üretimi	Tam faktöriyel dizayn	Ortam pH'ı ve sıcaklık	Maksimum verim ve hidrojen üretim oranları sırasıyla 308 mL H ₂ / g substrat ve 11.5 mL / saat bulunmuştur.	(Wang vd., 2009)
<i>Aspergillus oryzae</i> CBS 819.72 tarafından α -amilaz üretimi	Taguchi metodu	MgSO ₄ , KH ₂ PO ₄ , üre, soya küspesi hidrolizatı, kazeinik asit hidrolizat, gliserol, (NH ₄) ₂ SO ₄ , CoCl ₂ derişimleri	α -amilaz üretimi 151.1 U/mL'ye ulaşmıştır.	(Kammoun vd., 2008)
İnek gübresinin anaerobik fermantasyonu ile hidrojen üretimi	Taguchi metodu	Çalkalama hızı, pH, sıcaklık, substrat konsantrasyonu, K ₂ HPO ₄ derişimi	Sıcaklık ve pH'nın hidrojen üretimi için etkin parametre olduğu anlaşılmıştır.	(Wang vd., 2013)
<i>Bacillus licheniformis</i> KBR6 tarafından tanaz üretimi	Taguchi metodu	Sıcaklık, pH, tanik asit konsantrasyonu, fosfat konsantrasyonu, nitrojen konsantrasyonu, Mg ²⁺ iyon konsantrasyonu	Üretilen maksimum tanaz 0.43 U/mL'ye ulaşmıştır.	(Mohapatra vd., 2009)
Biyooetanol fermantasyon verimi	Box–Behnken Tasarımı	<i>S. cerevisiae</i> inokulum oranı, <i>S. cerevisiae</i> şeker konsantrasyonu, Fermantasyon süresi	Biyooetanol verimi (20 g/ L, % 2 inokulum, aşıda, 2 günlük sürede) tüketilen şeker göre % 45.55 ve verimlilik 0.19 kg / m ³ h	(Coban vd., 2012)

			değerdedir.	
Mısır kepeğinden <i>Trichosporon oleaginosus</i> ATCC20509 kullanılarak mikrobiyal lipit üretimi	Box–Behnken Tasarımı	Biyokütle miktarı, asit yüklemesi ve ön işlem süresi	En yüksek şeker verimine 0.53 g / g mısır kepeği hidrolizatlarından 30 dakika süreyle% 5 katı yüklemesi ve% 1 asit yüklemesi ön işlem koşulunda elde edildi.	(Lee vd., 2017)
<i>Aspergillus niger</i> kullanılarak pektinaz üretimi için biyoproses optimizasyonu	Box–Behnken Tasarımı	Enzim konsantrasyonu, (NH ₄) ₂ SO ₄ , K ₂ HPO ₄ , MgSO ₄ .5H ₂ O, KCl ve FeSO ₄ .5H ₂ O derişimleri	109.63 U / mL pektinaz üretimi gerçekleştirilmiştir.	(El Enshasy vd., 2018)
<i>Trichoderma virens</i> tarafından kitinaz üretimi	Merkezi Kompozit Tasarımı	Başlangıç pH değerleri, kitin, amonyum sülfat ve metanol konsantrasyonları	Tasarımdan elde edilen verilen öngörülen değer 0.1495 U/mL kitinazdır. Bu parametreler laboratuvarında test edilmiş ve elde edilen nihai kitinaz konsantrasyonu 0.1471U/mL bulunmuştur.	(Wasli vd., 2009)
Tarımsal Atıktan <i>Trichoderma Reesei</i> RutC30 Kullanarak Selülaz Üretimi	Merkezi Kompozit Tasarımı	Sıcaklık, substrat konsantrasyonu, indüktör konsantrasyonu, pH, inokulum yaşı ve çalkalama hızı	Modelden tahmin edilen maksimum selülaz üretimi 10.50 U / mL'dir	(Muthuvelayudham vd., 2010)
İnek dışkısından <i>Bacillus halodurans</i> IND18 tarafından karboksimetilselülaz üretimi	Merkezi Kompozit Tasarımı	Substratın pH'ı, pepton derişimi ve sodyum dihidrojen fosfat derişimi konsantrasyonu	Optimum koşullarda 4210 IU/g enzim aktivitesinin model tahmini deneysel olarak 4140 IU/g olarak doğrulanmıştır.	(Vijayaraghavan vd., 2016)
<i>Azadirachta indica</i> kültüründe hücre büyümesi ve azadirachtin üretimi için optimizasyon	Plackett–Burman Tasarımı	Glikoz derişimi, nitrat derişimi, fosfat konsantrasyonu, MgSO ₄ .7H ₂ O derişimi, inokulum seviyesi	Maksimum kuru hücre ağırlığı ve azadirachtin üretimi sırasıyla 21.2 g/L ve 2.65 mg/g olarak gerçekleştirilmiştir.	(Prakash vd., 2005)
<i>S.cerevisiae</i> tarafından önceden işlenmiş buğday samanı hidrolizatından etanol üretimi	Plackett–Burman Tasarımı	Substrat konsantrasyonu, Tween 80 konsantrasyonu, β-glukozidaz dozu, selülaz derişimi, hidroliz süresi, çalkalama hızı	Optimum koşullar altında etanol verimi 0.45 g/L/saat ile 16.4 g/L etanol konsantrasyonu elde edilmiştir.	(Singh vd., 2012)

<p><i>Candida famata</i>'nın rekombinant suşu tarafından flavin mononükleotid üretimi</p>	<p>Plackett–Burman Tasarımı</p>	<p>Sakkaroz, üre, maya miktarları, KH_2PO_4, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot \text{NH}_2\text{O}$, $\text{BeSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaF, KH_2PO_4, $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{BeSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ derişimleri</p>	<p>Maksimum flavin mononükleotid üretimi olarak 133.7 mg/L belirlenmiştir</p>	<p>(Yatsyshyn vd., 2010)</p>
---	---------------------------------	--	---	------------------------------

5. SONUÇLAR ve TARTIŞMALAR

Yapılacak olan çalışmada ya da bir üretimde maliyeti azaltan, kaliteyi arttıran, sonuçların güvenilirliğinin yüksek olmasını sağlayan bilimsel bir yaklaşım olan deney tasarım yöntemlerinin uygulanması önem arz etmektedir. Amaçlanan hedefi etkileyen birçok bilinen ve bilinmeyen faktörlerin etki ettiği karmaşık biyolojik proseslerde en hassas ve en kısa sürede sonuca ulaşmanın, sisteme uygun deneysel tasarım yöntemlerinden biri veya birkaçını birlikte uygulayarak mümkün olduğu görülmüştür. Bu çalışmada yaygın kullanılan deneysel tasarım yöntemleri ve bu yöntemlerin biyoproses çalışmalarında uygulamaları hakkında bilgi verilmiştir.

KAYNAKLAR

Alshehria, A.N., Ghanem, K.M., Al-Garni, S.M. 2016. Application of a five level central composite design to optimize operating conditions for electricity generation in a microbial fuel cell, *Journal of Taibah University for Science*, 10(6), 797-804.

Arslan, A., Topkaya, E., Bingöl, D., Veli, S. 2018. Removal of anionic surfactant sodium dodecyl sulfate from aqueous solutions by O₃/UV/H₂O₂ advanced oxidation process: Process optimization with response surface methodology approach, *Sustainable Environment Research*, 28(2), 65-71.

Coban, I., Sargin, S., Celiktas, M.S., Yesil-Celiktas, O. 2012. Bioethanol production from raffinate phase of supercritical CO₂ extracted *Stevia rebaudiana* leaves, *Bioresource technology*, 120, 52-59.

Demir, Ö., Aksu, B., Özsoy, Y. 2017. İlaç formülasyonu geliştirilmesinde deney tasarımı (doe) seçimi ve kullanımı.

El Enshasy, H.A., Elsayed, E.A., Suhaimi, N., Abd Malek, R., Esawy, M. 2018. Bioprocess optimization for pectinase production using *Aspergillus niger* in a submerged cultivation system, *BMC biotechnology*, 18(1), 71.

Fontes, G.C., Fonseca Amaral, P.F., Nele, M., Zarur Coelho, M.A. 2010. Factorial design to optimize biosurfactant production by *Yarrowia lipolytica*, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010.

Geiger, E.O. (2014). Statistical methods for fermentation optimization *Fermentation and Biochemical Engineering Handbook* (pp. 415-422): Elsevier.

Ghanem, K.M., Al-Garni, S.M., Al-Shehri, A.N. 2009. Statistical optimization of cultural conditions by response surface methodology for phenol degradation by a novel *Aspergillus flavus* isolate, *African Journal of Biotechnology*, 8(15).

İç, Y.T., Duran, H., Keçeci, B., Emreçan, İ., Bilgiç, B. 2016. Çok yanıtli Taguchi eniyilemesine yönelik bir bilgisayar uygulamasının geliştirilmesi, *Politeknik Dergisi*, 19(3), 311-323.

Jacyna, J., Kordalewska, M., Markuszewski, M.J. 2019. Design of Experiments in metabolomics-related studies: An overview, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 164, 598-606.

Kammoun, R., Naili, B., Bejar, S. 2008. Application of a statistical design to the optimization of parameters and culture medium for α -amylase production by *Aspergillus oryzae* CBS 819.72 grown on gruel (wheat

grinding by-product), *Bioresource technology*, 99(13), 5602-5609.

Karslıoğlu, Z., Baray, A., Özçakar, N. 2015. PVC tesisat bağlantı parçaları üretiminde fire probleminin çözümünde Plackett-Burman deney tasarımı yaklaşımı, İstanbul Üniversitesi İşletme Fakültesi İşletme İktisadi Enstitüsü Yönetim Dergisi, 26(79), 180-207.

Keskin Gündoğdu, T., Deniz, I., Çalışkan, G., Şahin, E.S., Azbar, N. 2016. Experimental design methods for bioengineering applications, *Critical reviews in biotechnology*, 36(2), 368-388.

Lee, J.-E., Vadlani, P.V., Faubion, J. 2017. Corn bran bioprocessing: Development of an integrated process for microbial lipids production, *Bioresource Technology*, 243, 196-203.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.065>

Lee, K.-M., Gilmore, D.F. 2006. Statistical experimental design for bioprocess modeling and optimization analysis, *Applied biochemistry and biotechnology*, 135(2), 101-115.

Mohapatra, P.D., Maity, C., Rao, R., Pati, B., Mondal, K. 2009. Tannase production by *Bacillus licheniformis* KBR6: Optimization of submerged culture conditions by Taguchi DOE methodology, *Food Research International*, 42(4), 430-435.

Muthuvelayudham, R., Viruthagiri, T. 2010. Application of central composite design based response surface methodology in parameter optimization and on cellulase production using agricultural waste, *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, 3(2), 97-104.

Özkan, G., Akkuş, M.S., Özkan, G. 2019. The effects of operating conditions on hydrogen production from sodium borohydride using Box-Wilson optimization technique, *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(20), 9811-9816.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.12.134>

Plackett, R.L., Burman, J.P. 1946. The design of optimum multifactorial experiments, *Biometrika*, 33(4), 305-325.

Prakash, G., Srivastava, A.K. 2005. Statistical media optimization for cell growth and azadirachtin production in *Azadirachta indica* (A. Juss) suspension cultures, *Process Biochemistry*, 40(12), 3795-3800.

Savaşkan, M., Taptık, Y., Ürgen, M. 2010. Deney tasarımı yöntemi ile matkap uçlarında performans optimizasyonu, *İTÜ Dergisi*, 3(6), 117-128.

Singh, A., Bishnoi, N.R. 2012. Enzymatic hydrolysis optimization of microwave alkali pretreated wheat straw and ethanol production by yeast, *Bioresource Technology*, 108, 94-101.

Singh, R. 2015. Chapter 3-Hybrid Membrane Systems–Applications and Case Studies, *Membrane Technology and Engineering for Water Purification (Second Edition)*, Publisher: Elsevier Science & Technology Books. Pages 179, 281.

Tari, C., Ustok, F.I., Harsa, S. 2010. Production of food grade β -galactosidase from artisanal yogurt strains, *Food Biotechnology*, 24(1), 78-94.

Türk, T. 2016. Merkezi Kompozit Tasarımı Kullanılarak Bakır Cürufundan Arsenik Liçinin İncelenmesi, *Yerbilimleri Dergisi*, 37(3), 193-202.

Verma, A.S., Agrahari, S., Rastogi, S., Singh, A. 2011. Biotechnology in the realm of history, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(3), 321.

Vijayaraghavan, P., Prakash Vincent, S.G., Dhillon, G.S. 2016. Solid-substrate bioprocessing of cow dung for the production of carboxymethyl cellulase by *Bacillus halodurans* IND18, *Waste Management*, 48, 513-520.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.10.004>

Wang, J., Wan, W. 2009. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: a review, *International journal of hydrogen energy*, 34(1), 235-244.

Wang, K.-S., Chen, J.-H., Huang, Y.-H., Huang, S.-L. 2013. Integrated Taguchi method and response surface methodology to confirm hydrogen production by anaerobic fermentation of cow manure, *International journal of hydrogen energy*, 38(1), 45-53.

Wasli, A.S., Salleh, M.M., Abd-Aziz, S., Hassan, O., Mahadi, N.M. 2009. Medium optimization for chitinase production from *Trichoderma virens* using central composite design, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 14(6), 781-787.

Yang, W.p., Tarng, Y. 1998. Design optimization of cutting parameters for turning operations based on the Taguchi method, *Journal of materials processing technology*, 84(1-3), 122-129.

Yatsyshyn, V.Y., Fedorovych, D.V., Sibirny, A.A. 2010. Medium optimization for production of flavin mononucleotide by the recombinant strain of the yeast *Candida famata* using statistical designs, *Biochemical Engineering Journal*, 49(1), 52-60.

Zümrüt, Z. (2009). *Tam Faktöriyel Deney Tasarımı Tekniği İle Hidroksiapatit Kaplı Titanyum İmplant Malzemelerin Mekanik Özellikleri Üzerine Parametrelerin Etkisi*. Fen Bilimleri Enstitüsü.