

Modelovanje alkoholne fermentacije gustog soka šećerne repe primenom veštačkih neuronskih mreža

Aleksandar I. Jokić, Jovana A. Grahovac, Jelena M. Dodić, Siniša N. Dodić, Stevan D. Popov, Zoltan Z. Zavargo, Damjan G. Vučurović

Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, Srbija

Izvod

U ovom radu ispitivana je proizvodnja bioetanola šaržnim postupkom uz primenu suspendovanih ćelija kvasca *Saccharomyces cerevisiae* kao proizvodnog mikroorganizma iz gustog soka, koji se dobija kao međuproizvod tehnologije prerade šećerne repe. Prikazani rezultati ukazuju da je moguće skratiti trajanje fermentacije podloga na bazi gustog soka sa početnim sadržajem šećera u opsegu 5–15 g kg⁻¹ bez negativnog uticaja na prinos etanola. Tokom fermentacije podlogâ na bazi gustog soka sa početnim sadržajem šećera 20 i 25 g kg⁻¹ utvrđen je značajan porast sadržaja etanola tokom ukupnog trajanja procesa pa je nakon 48 h postignut sadržaj etanola od 12,51 i 10,95 dm³ m⁻³, redom. Pored toga, cilj rada je bio ispitivanje mogućnosti primene veštačkih neuronskih mreža za predviđanje rezultata fermentacije i definisanje njihove optimalne topologije. Korišćena je nerelevantna neuronska mreža sa jednim skrivenim slojem za testiranje hipoteze. Pri proračunu neuronskih mreža ulazi su početni sadržaj šećera i vreme dok su izlazne veličine broj ćelija kvasca, sadržaj etanola i sadržaj šećera. Utvrđena je optimalna topologija mreže koju čini ulazni sloj sa dva neurona, izlazni sa jednim neuronom dok je variranjem utvrđeno da je optimalan broj neurona u skrivenom sloju devet. Dobijene vrednosti koeficijenta determinacije, koje iznose 0,9997, 0,9997 i 0,9999, ukazuju na veoma dobro slaganje eksperimentalnih i podataka dobijenih neuronskim mrežama u posmatranom opsegu početnih sadržaja šećera i vremena trajanja fermentacije podloga na bazi gustog soka šećerne repe za sadržaj etanola, broj ćelija kvasca i sadržaj šećera, redom.

Ključne reči: bioetanol; gusti sok; šećerna repa; neuronske mreže.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Interesovanje za etanol kao zamenu za fosilne izvore energije je u porastu zbog težnje da se smanji negativan uticaj na životnu sredinu i postigne energetska sigurnost. Usled viška šećera na svetskom tržištu Evropska Unija je smanjila subvencije za proizvodnju rafinisanog šećera sa ciljem sprečavanja izvoza šećera na druga tržišta [1]. Stoga je većina postojećih šećerana u Evropi otpočela koproizvodnju etanola u dodatno izgrađenim rafinerijama [2]. Koncept koproizvodnje šećera i etanola predstavlja atraktivnu opciju, budući da omogućava fleksibilnost u smislu variranja proizvedenih količina šećera i etanola u zavisnosti od uslova koji vladaju na tržištu [3]. Šema proizvodnje šećera i etanola iz šećerne repe zavisi od većeg broja faktora, kao što su odabrani odnos proizvodnje šećera i etanola, izbor polazne sirovine za proizvodnju etanola (ekstrakcioni sok, retki sok, gusti sok, melasa ili izluženi rezanci šećerne repe), cena sirovine i proizvoda itd. Gusti sok je relativno čist međuproizvod tehnologije prerade šećerne repe. Visok sadržaj fermentabilnih šećera (oko 55–65%) i mineralnih

materija kao i stabilnost tokom čuvanja u dužem vremenskom periodu čine gusti sok pogodnom sirovinom za proizvodnju etanola [4,5].

Jedna od najbitnijih faza u definisanju biohemijskih procesa je njihovo modelovanje i optimizacija sa ciljem povećanja efikasnosti [6]. U literaturi najčešće se navode koncept neuronskih mreža i metoda odzivnih površina. Metoda odzivnih površina korišćena je za modelovanje mikrofiltracije suspenzija kvasca [7], optimizaciju alkoholne fermentacije ekstrakcionog soka šećerne repe [2], optimizaciju proizvodnje biodizela [8]. Iako metoda odzivnih površina ima svoje prednosti teško je reći da ona može da se primeni na sve biotehnoške procese i operacije [9–11]. Koncept neuronskih mreža nije nov, ali se interesovanje za njega povećalo tokom poslednjih godina [12] i najpopularniji je za primene u biotehnologiji [6]. Osnovni razlog ovog povećanog interesovanja je sposobnost predviđanja, ali i prilagodljivost modela baziranih na neuronskim mrežama [13,14]. Prednosti modelovanja primenom neuronskih mreža su: dovoljno je poznavati podatke o vrednostima ulaznih i izlaznih parametara i model dobijen adekvatnim treningom mreže se može uspešno generalizovati te stoga omogućava precizno predviđanje vrednosti izlaza za novi set ulaznih podataka [15]. Ovi razlozi doveli su do sve veće primene neuronskih mreža u različitim in-

NAUČNI RAD

UDK 663.541:663:519.7

Hem. Ind. 66 (2) 211–221 (2012)

doi: 10.2298/HEMIND110805085J

Prepiska: J. Grahovac, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija.

E-pošta: johana@uns.ac.rs

Rad primljen: 5. avgust, 2011.

Rad prihvaćen: 24. oktobar, 2011.

ženjerskim disciplinama uključujući i biotehnoške procese [16].

Cilj ovog rada je odabir optimalne arhitekture neuronske mreže i njena primena u modelovanju procesa alkoholne fermentacije podloga na bazi gustog soka kao međuproizvoda tehnologije prerade šećerne repe.

EKSPERIMENTALNI DEO

Proizvodni mikroorganizam

Pekarski kvasac u formi svežeg kvasca (Alltech, Senta, Srbija) suspendovan je u maloj količini hranljive podloge, a nakon toga odmah primenjen za inokulaciju. Primenjena je količina inokuluma, koja obezbeđuje koncentraciju ćelija kvasca od 10^8 cfu/ml u zasejanoj hranljivoj podlozi (približno 3 g suve materije kvasca po 1000 ml hranljive podloge).

Hranljive podloge

Za pripremu hranljivih podloga primenjen je gusti sok iz procesa prerade šećerne repe u tri domaće fabrike šećera. Navedeni supstrat je razblaživan destilovanom vodom do postizanja početnog sadržaja šećera u opsegu $5\text{--}25$ g kg^{-1} , u zavisnosti od ogleda. Vrednost pH hranljive podloge je korigovana na 5,0 dodatkom 10% sumporne kiseline. Sterilizacija pripremljenih hranljivih podloga je izvedena u autoklavu pri temperaturi od 121 °C i pritisku od 2,2 bar u trajanju od 30 min.

Uslovi fermentacije

Eksperimenti su izvedeni u laboratorijskom bioreaktoru (*Wouff*-ova boca) ukupne zapremine 2 l (radna zapremina 1,5 l). Bioreaktor je opremljen vranjem, nastavkom ispunjenim sterilnim parafinskim uljem, koji obezbeđuje anaerobne uslove, omogućava otpuštanje nastalog CO_2 , a sprečava kontaminaciju i gubitke etanola isparavanjem. Fermentacija hranljive podloge u trajanju od 48 h, uključujući i vreme potrebno za suspendovanje inokuluma, je izvedena šaržnim postupkom pod anaerobnim uslovima, pri temperaturi od 30 °C i brzini mešanja 200 obrt/min, koja je obezbeđena postavljanjem bioreaktora na mikrobiološku laboratorijsku tresilicu u termostatu.

Analitičke metode

Analiza primenjenog gustog soka je izvršena u skladu sa uobičajenom praksom laboratorijske kontrole procesa proizvodnje fabrika šećera [17].

Uzorci kultivacione tečnosti su radi potrebnih analiza uzimani u aseptičnim uslovima u definisanim vremenskim intervalima.

Broj ćelija kvasca u fermentacionoj tečnosti je određivan brojanjem u *Neubauer*-ovim komorama pri uvećanju 400 puta uz primenu optičkog mikroskopa (Wild M20, Heerbrugg, Gais, Switzerland). Vijabilnost ćelija je potvrđena tehnikom bojenja sa metilensko-plavim [18].

Vrednost pH je merena staklenom elektrodom pomoću laboratorijskog multiparametarskog analizatora Consort C863 (Consort, Turnhout, Belgium).

Uzorci hranljivih podloga i fermentacionih tečnosti su centrifugirani pri 4000 obrt/min u trajanju od 15 min. Nakon toga je sadržaj saharoze i redukujućih šećera (suma glukoze i fruktoze) određivan u supernatantu (Jasco, Inc, Easton, MD, USA, pumpa PU-980, detektor RI-930, uzorkivač AS-950, 20 μl injekciona petlja, kolona KS-801, eluent: voda sa protkom od 0,6 ml/min, vreme elucije 30 min). Ukupan sadržaj šećera je izražen kao zbir sadržaja saharoze i redukujućih šećera.

Sadržaj etanola je određivan direktno u uzorcima kultivacione tečnosti gasnom hromatografijom, primenom uređaja HP 5890 Series II GC (Agilent Technologies Inc, Santa Clara, USA) opremljenog plameno-jonizujućim detektorom i kolonom Carbowax 20 M, pri 85 °C i sa helijumom kao gasom nosačem. Temperatura injektora i detektora je održavana na 150 °C.

Obrada podataka primenom neuronske mreže

Radi njihove primene za modelovanje procesa alkoholne fermentacije gustog soka, eksperimentalni podaci su podeljeni u tri grupe: podaci za učenje, podaci za proveru i podaci za testiranje neuronske mreže [19]. Za proračune je primenjen softverski paket MATLAB, Neural Network Toolbox.

Modeli dobijeni primenom metodologije neuronskih mreža tipično imaju veliku prediktivnu tačnost na skupu primera za učenje, a značajno nižu na novim, nepoznatim primerima podataka, ili testnom skupu podataka. Da bi se izbegla prekomerna specijalizacija modela, primenjuje se postupak ranog zaustavljanja obučavanja mreže, koji je inkorporiran u postupak učenja. Tokom obučavanja neuronske mreže odabrane konfiguracije sinaptičke težine pojedinih neurona se menjaju sa ciljem minimizacije srednje kvadratne greške podataka namenjenih za učenje, istovremeno se računa srednja kvadratna greška podataka za proveru i kada ona počne da raste obučavanje mreže se zaustavlja [20]. Pri proračunu neuronskih mreža ulazi su početni sadržaj šećera i vreme dok su izlazne veličine broj ćelija kvasca, sadržaj etanola i sadržaj šećera. Kao merilo adekvatnosti reprodukovanja eksperimentalnih rezultata u ovom radu korišćena je srednja kvadratna greška (*MSE*):

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n (P_{ij} - P_j)^2 \quad (1)$$

gde su: P_{ij} – vrednost dobijena proračunom neuronskih mreža, P_j – eksperimentalna vrednost i n – broj eksperimenata. Za najbolje poklapanje *MSE* teži 0, kada se proračunate vrednosti u potpunosti poklapaju sa eksperimentalnim vrednostima.

Pre početka obučavanja neuronske mreže eksperimentalni podaci se mogu normalizovati kako bi se iz-

begle velike razlike u specifičnim jačinama sinapsi pojedinih nezavisno promenljivih odnosno eksperimentalnih faktora [21]. Pri normalizaciji podataka korišćena je sledeća jednačina:

$$y_{\text{norm}} = (1 - \Delta^U - \Delta^L) \frac{y - y^{\text{min}}}{y^{\text{max}} - y^{\text{min}}} + \Delta^L \quad (2)$$

gde su: y_{norm} , y^{max} i y^{min} – normalizovana, maksimalna i minimalna vrednost zavisno promenljive, Δ^U i Δ^L – male vrednosti margina koje daju ograničenu ekstrapolacionu sposobnost mreže. U ovom radu vrednosti za Δ^U i Δ^L su 0,01 tako da su se normalizovane vrednosti eksperimentalnih podataka kretale između 0,01 i 0,99.

REZULTATI I DISKUSIJA

Alkoholna fermentacija gustog soka

Gusti sok se dobija višestepenim uparavanjem retkog soka šećerne repe do postizanja sadržaja suve materije od oko 65–70% [1]. U gustom soku koji je primenjen za istraživanja u ovom radu utvrđen je nešto niži sadržaj suve materije u odnosu na uobičajene vrednosti (tabela 1) dok je sadržaj saharoze u okviru uobičajenog opsega koji iznosi 55–65% [4]. Preliminarna istraživanja su ukazala da je sadržaj azota u gustom soku dovoljan za potrebe metaboličke aktivnosti proizvodnog mikroorganizma uključujući rast i produkciju etanola i da ovaj nutrijent ne predstavlja limitirajući faktor procesa fermentacije u primenjenim eksperimentalnim uslovima (rezultati nisu prikazani).

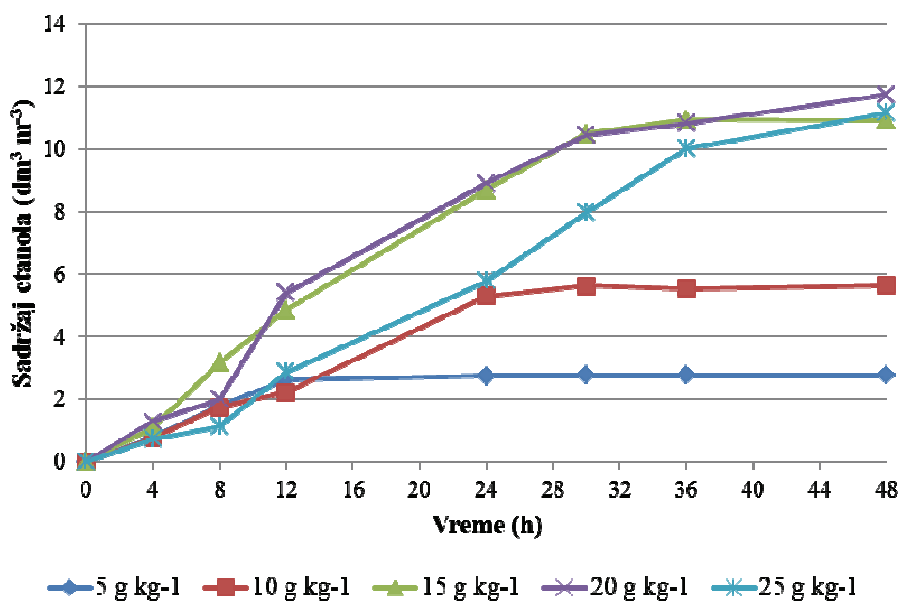
Koncentracija supstrata je značajan faktor fermentacije. Visoke koncentracije supstrata inhibiraju rast i

produkciju etanola, a mogu i da izmene metabolizam proizvodnog mikroorganizma. Do značajne inhibicije supstratom dolazi pri sadržaju šećera u opsegu 5–25 g kg⁻¹ dok do potpune inhibicije rasta dolazi pri sadržaju šećera od 40 g kg⁻¹ [22,23]. Ispitivani opseg početnog sadržaja šećera u podlogama na bazi gustog soka je definisan u skladu sa navedenim literaturnim podacima.

Tabela 1. Sastav gustog soka
Table 1. Composition of thick juice

Komponenta	Sadržaj, %
Saharosa	56,20
Redukujući šećeri	0,502
Suva materija	62,61
Ukupan azot	0,156
Pepeo	1,94

Rezultati prikazani na slici 1 ukazuju na izražen porast sadržaja etanola u toku prvih 12 h fermentacije do vrednosti od 2,93, 3,57, 4,75, 3,02 i 2,87 dm³ m⁻³ u tečnostima na bazi ekstrakcionog soka sa početnim sadržajima šećera 5, 10, 15, 20 i 25 g kg⁻¹, redom (slika 1). Činjenica da je do 12-tog časa procesa sadržaj etanola brže rastao srazmerno početnom sadržaju šećera u podlozi važi u opsegu 5–15 g kg⁻¹. U fermentacionim tečnostima sa početnim sadržajem šećera 20 i 25 g kg⁻¹, produkcija etanola u prvih 12 h procesa je sporija, što ukazuje na inhibitorno dejstvo visokih koncentracija supstrata. U daljem toku fermentacije tečnosti sa početnom koncentracijom šećera 5 g kg⁻¹, sadržaj etanola je stagnirao kao posledica iscrpljenja supstrata. Sadržaj etanola je do 24 h fermentacije porastao na vrednost



Slika 1. Promena sadržaja etanola tokom fermentacije podloga na bazi gustog soka.
Figure 1. Ethanol content during fermentation of media based on thick juice.

5,64 i 8,67 dm³ m⁻³, dok je u daljem toku zabeležen blagi porast sadržaja ovog proizvoda metabolizma kvasca do vrednosti 6,37 i 9,32 dm³ m⁻³ na kraju fermentacije tečnosti sa početnim sadržajem šećera 10 i 15 g kg⁻¹, redom. Prikazani rezultati ukazuju da je moguće skratiti trajanje fermentacije podloga na bazi gustog soka sa početnim sadržajem šećera u opsegu 5–15 g kg⁻¹ bez negativnog uticaja na prinos etanola. U fermentacionim tečnostima sa početnim sadržajem šećera 20 i 25 g kg⁻¹, tokom celokupnog trajanja procesa je zabeležen značajan rast sadržaja etanola, koji po isteku 48 h fermentacije iznosi 12,51 i 10,95 dm³ m⁻³, redom. Niži sadržaj etanola u fermentisanoj podlozi sa početnim sadržajem šećera 25 g kg⁻¹ u odnosu na podlogu sa startnih 20 g kg⁻¹ šećera ukazuje na značajno inhibitorno dejstvo visokih koncentracija supstrata.

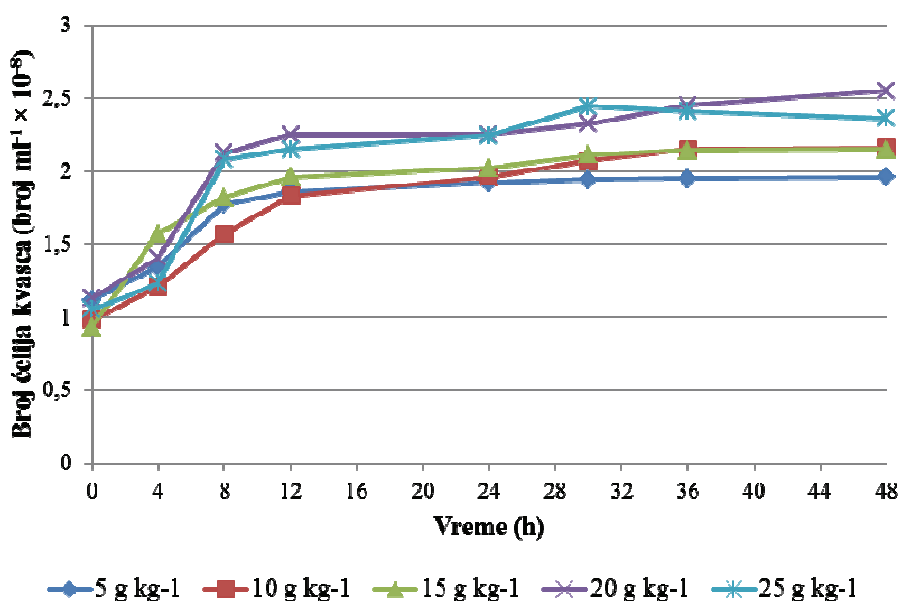
Budući da su rast ćelija kvasca i produkcija etanola povezani fenomeni, na osnovu rezultata promene sadržaja etanola očekivan je značajan porast broja ćelija kvasca u toku prvih 12 časova fermentacije što se može zapaziti na slici 2. U tom trenutku broj ćelija kvasca u fermentacionim tečnostima na bazi gustog soka sa početnim sadržajem šećera 5, 10, 15, 20 i 25 g kg⁻¹ iznosi 186, 183, 196, 225 i 215 miliona ćelija ml⁻¹, redom. U daljem toku procesa, broj ćelija kvasca se blago povećavao pa je po isteku 48-og časa fermentacije iznosio 196, 216, 215, 255 i 236 miliona ćelija ml⁻¹, u tečnostima sa početnim sadržajem šećera 5, 10, 15, 20 i 25 g kg⁻¹, redom. Bitno je uočiti da je tokom ukupnog trajanja procesa najveći broj ćelija kvasca zabeležen u fermentacionoj tečnosti sa početnim sadržajem šećera od 20 g kg⁻¹. Mala zavisnost broja ćelija kvasca od početnog sadržaja šećera tokom fermentacije je u skladu sa rezultatima drugih autora [24].

Rezultati prikazani na slici 3 ukazuju da je ukupan sadržaj šećera u fermentacionoj tečnosti sa početnim sadržajem šećera 5 g kg⁻¹ zanemarljivo mali već nakon 12 h trajanja procesa ($\approx 0,2$ g kg⁻¹). Preostali sadržaj šećera u fermentacionim tečnostima sa početnim sadržajem 10 i 15 g kg⁻¹ je manji od 1 g kg⁻¹ nakon 30 h fermentacije. U podlogama sa početnim sadržajem 20 i 25 g kg⁻¹, ukupan sadržaj šećera opada tokom celokupnog trajanja procesa. U fermentacionoj tečnosti sa početnih 20 g kg⁻¹ šećera po isteku 48 h gotovo celokupna količina šećera je potrošena pa njegov sadržaj iznosi $\approx 0,1$ g kg⁻¹ za razliku od fermentacione tečnosti sa početnim sadržajem šećera 25 g kg⁻¹ u kojoj po isteku 48 h zaostaje značajna količina neutrošenog šećera od $\approx 7,5$ g kg⁻¹. Količina šećera koju proizvodni mikroorganizam ne utroši tokom trajanja fermentacije, nakon izdvajanja etanola destilacijom, ostaje u otpadnoj džibri i predstavlja gubitak sa stanovišta tehnologije etanola i veliko organsko opterećenje ovog efluenta koje u značajnoj meri doprinosi narušavanju kvaliteta životne sredine u koju se odlaže.

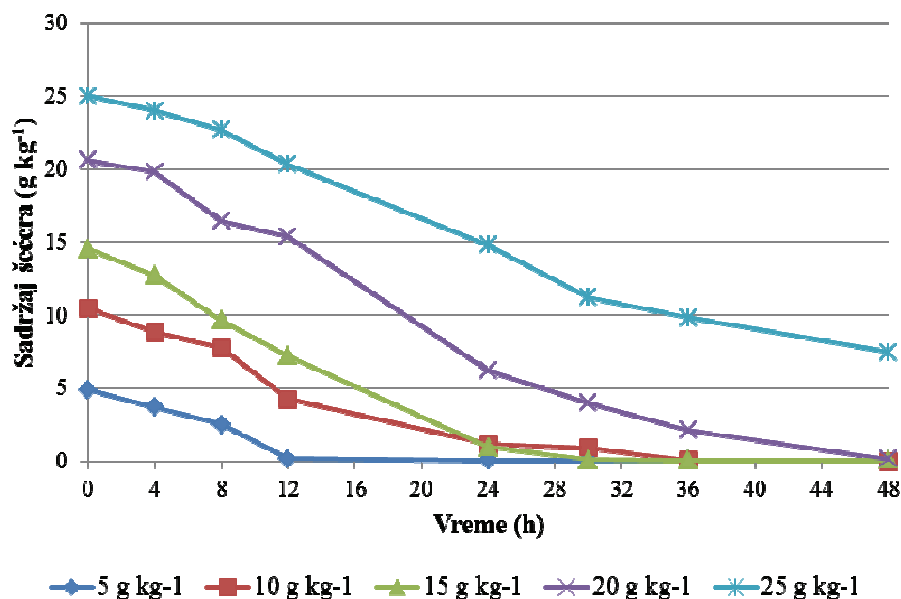
Određivanje optimalne arhitekture neuronske mreže

Primena koncepta neuronskih mreža na određeni problem nema konkretna pravila za odabir optimalne arhitekture neuronske mreže. Iskustveno se pokazalo da je za opisivanje problema primene ovog koncepta na modelovanje biohemijskih procesa najčešće korišćena *feed forward* mreža sa *back propagation* algoritmom koje čine tri osnovna sloja: ulazni, skriveni i izlazni.

Uobičajeni postupak je da se prvo odredi broj neurona u svakom od slojeva mreže. Izbor broja neurona u ulaznom sloju definisan je brojem nezavisno promenljivih faktora koji su varirani tokom eksperimentalnog



Slika 2. Promena broja ćelija kvasca tokom fermentacije podloga na bazi gustog soka.
Figure 2. Yeast cell number during fermentation of media based on thick juice.



Slika 3. Promena sadržaja šećera tokom fermentacije podloga na bazi gustog soka.
Figure 3. Sugar content during fermentation of media based on thick juice .

postupka. U ovom radu za ulazne neurone odabrani su faktori: vreme trajanja fermentacije i početni sadržaj šećera, tako da ulazni sloj ima dva neurona. Izlazni sloj imao je jedan neuron, vrednost sadržaja etanola, broj ćelija kvasca i sadržaj šećera, odnosno njihovu promenu tokom vremena u mreži obučavanoj za posmatrani odziv. Broj neurona u skrivenom sloju određuje se iskustveno ili primenom postupka probe i greške [21].

Uobičajeno je da se u postupku ispitivanja uticaja promene broja neurona u skrivenom sloju primene sledeće preporuke koje omogućuju odabir opsega variranja njihovog broja:

$$nm = \sqrt{n+m} + a \quad (3)$$

$$\frac{N}{TW} \geq 1 \quad (4)$$

gde su: n i m – broj ulaznih promenljivih i broj izlaznih promenljivih, a – parametar koji varira od 1 do 10, N – ukupan broj tačaka koje se koriste u modelovanju i TW – ukupan broj sinaptičkih težina u neuronskoj mreži.

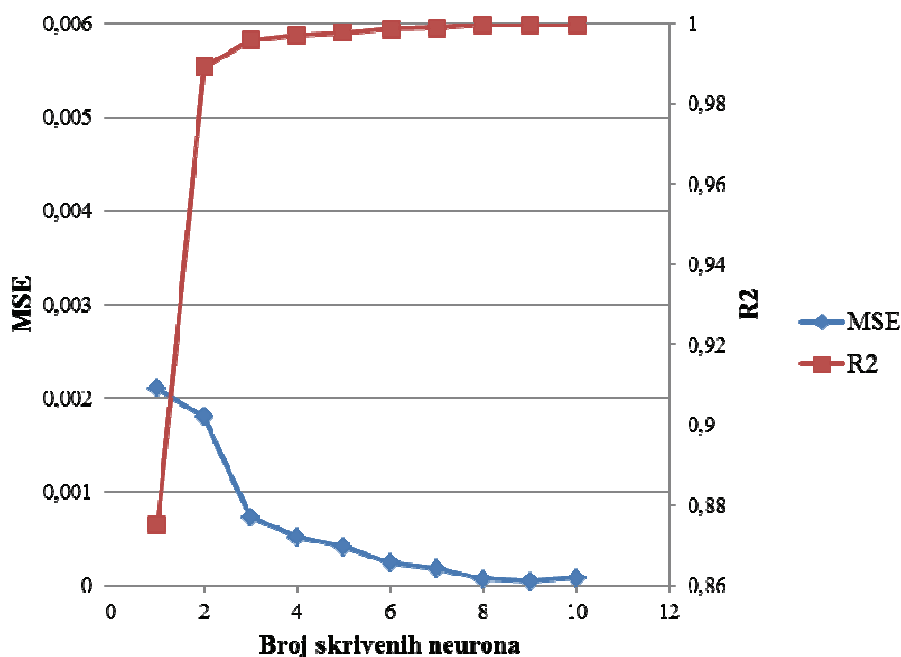
Primenom ovih preporuka dobijeni broj neurona u skrivenom sloju variran je od 1 do 10, uz zadovoljen traženi uslov da je odnos N/TW veći od jedan (1,17). Rezultati promene srednje kvadratne greške, MSE , i koeficijenta determinacije, R^2 , sa promenom broja neurona u skrivenom sloju za promenu sadržaja etanola, broja ćelija kvasca i sadržaja šećera prikazani su na slikama 4–6, redom.

Kao što se i očekivalo porast broja neurona u skrivenom sloju dovodi do poboljšanja prediktabilnih osobina neuronske mreže za sva tri posmatrana odziva. Sa porastom broja neurona srednja kvadratna greška opada i ima najniže vrednosti pri broju neurona 9. Vrednost

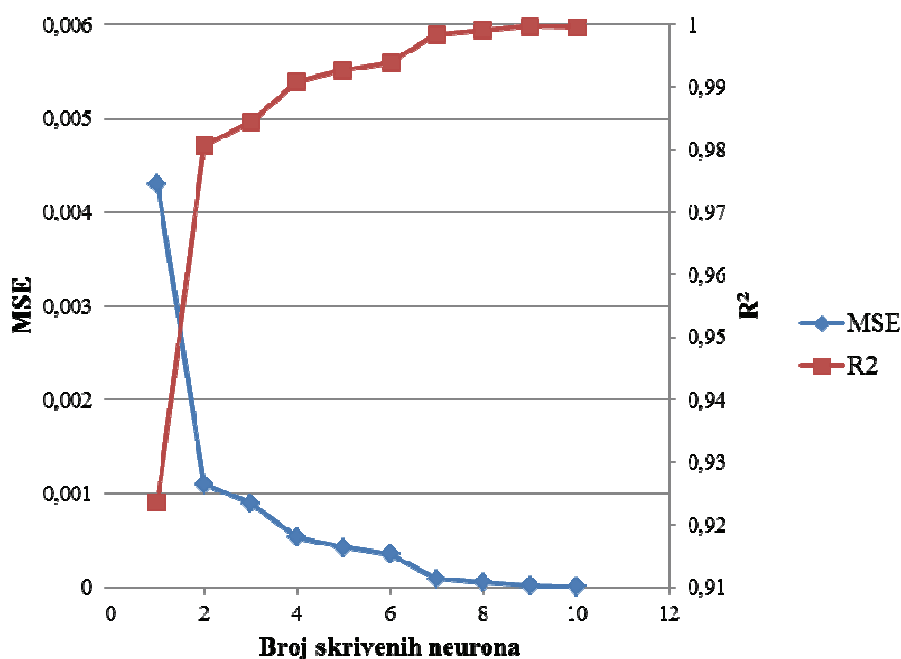
srednje kvadratne greške, MSE , iznosi $4,69 \times 10^{-5}$, $1,43 \times 10^{-5}$ i $2,82 \times 10^{-6}$ za sadržaj etanola, broj ćelija kvasca i sadržaj šećera, redom. Dalje povećanje broja neurona ne doprinosi poboljšanju predikcije mreže tako da se može usvojiti arhitektura mreže sa jednim skrivenim slojem u kom se nalazi devet neurona. Sa druge strane koeficijent determinacije koji pokazuje linearnu vezu između eksperimentalno i računski dobijenih podataka ima visoke vrednosti (više od 0,9997 za sva tri posmatrana odziva) pri odabranom broju neurona.

Nakon odabira broja skrivenih neurona u mreži, sledeći korak je izbor algoritma za učenje. Izbor ovog algoritma neuronske mreže kojim se podešavaju jačine odnosno težine sinapsi između pojedinih neurona zavisi od njihove primene usled razlika u nelinearnosti posmatranih problema. U korištenom softverskom paketu postoji više definisanih algoritama za učenje, a u ovom radu korištene su dva u literaturi najzastupljenija algoritma [25]: metoda konjugovanih gradijenata (*trainscg*) i *Levenberg–Marquardt* metoda (*trainlm*). Uticaj primenjenih algoritama za učenje na performanse neuronske mreže prikazan je na slici 7. Primenom metode konjugovanih gradijenata dobijene su više vrednosti srednje kvadratne greške za sve odzive. Iz tog razloga izabran je algoritam *Levenberg–Marquardt*.

Sledeći korak u obučavanju mreže je izbor stepena brzine učenja (*learning rate*) i koeficijenta momenta (*momentum coefficient*) za izabrani algoritam. Stepenu učenja se bira da mu vrednost bude između 0 i 0,9. On određuje veličinu koraka kojom se neuronska mreža približava optimalnoj odnosno minimalnoj srednjoj kvadratnoj grešci. Izbor vrednosti za stepenu učenja je od presudne važnosti. Ako se uzme prevelika vrednost, vrlo lako se izbegavaju lokalni minimumi, ali sistem tada



Slika 4. Promena srednje kvadratne greške i koeficijenta deteminacije neuronske mreže za promenu sadržaja etanola.
Figure 4. Mean square error and coefficient of determination for change of ethanol content.

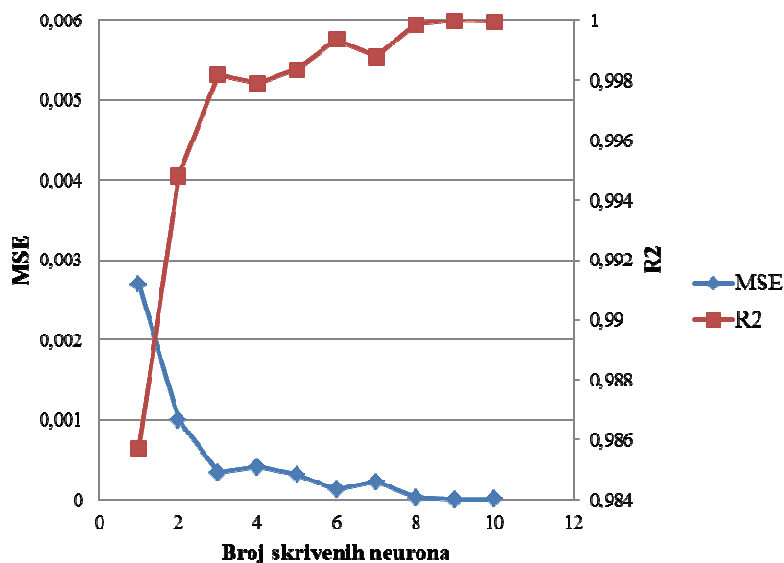


Slika 5. Promena srednje kvadratne greške i koeficijenta deteminacije neuronske mreže za promenu broja ćelija kvasca.
Figure 5. Mean square error and coefficient of determination for change of yeast cell number.

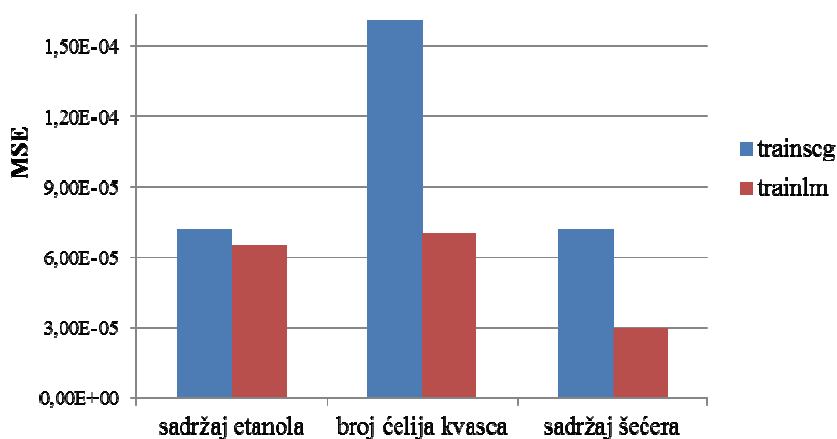
može upasti u režim oscilacija tako što će skakati preko globalnog minimuma, ali ga nikad neće otkriti. Sa druge strane, ako izaberemo suviše malu vrednost za stepen učenja, mreža može pogrešno identifikovati lokalni minimum i ostati u stanju koje nije optimalno.

Promene srednje kvadratne greške obučavane neuronske mreže tokom variranja stepena brzine učenja i koeficijenta momente prikazane su na slikama 8 i 9.

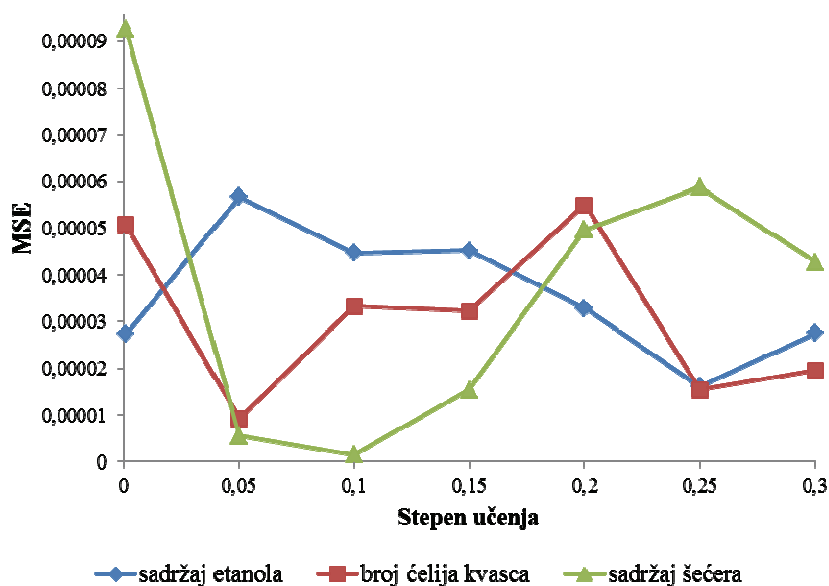
Stepen brzine učenja variran je od 0,001 do 0,3 sa korakom 0,05. Promena srednje kvadratne greške za sadržaj etanola ukazuje na postepeni pad njene vrednosti do izbora brzine učenja od 0,25 koji je ujedno i optimalna vrednost za ovaj odziv (slika 8). Srednja kvadratna greška za broj ćelija kvasca najmanja je za brzinu učenja 0,1 dok je za sadržaj šećera ta vrednost 0,05. Pri višim vrednostima od pomenutih za oba odziva uočen



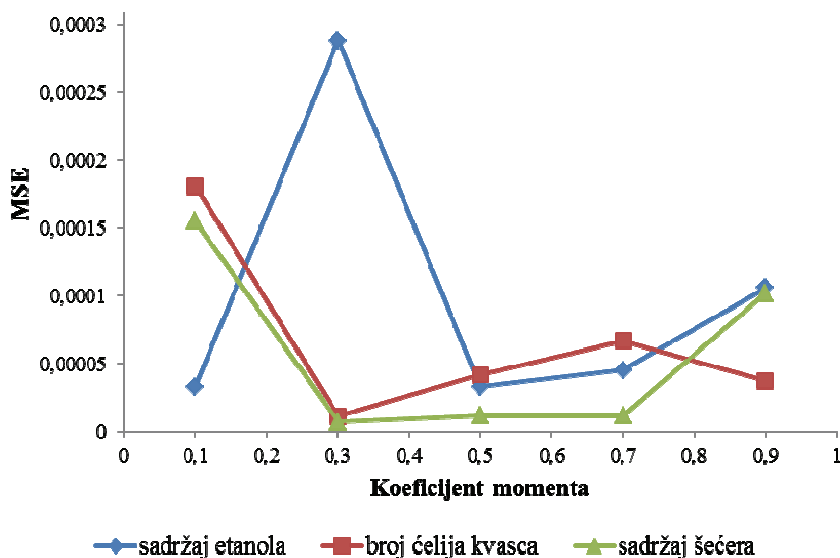
Slika 6. Promena srednje kvadratne greške i koeficijenta determinacije neuronske mreže za promenu sadržaja šećera.
Figure 6. Mean square error and coefficient of determination for change of sugar content.



Slika 7. Promena srednje kvadratne greške u funkciji primenjenog algoritma za učenje
Figure 7. Mean square error as function of training function.



Slika 8. Promena srednje kvadratne greške sa promenom stepena brzine učenja.
Figure 8. Mean square error as function of learning rate.

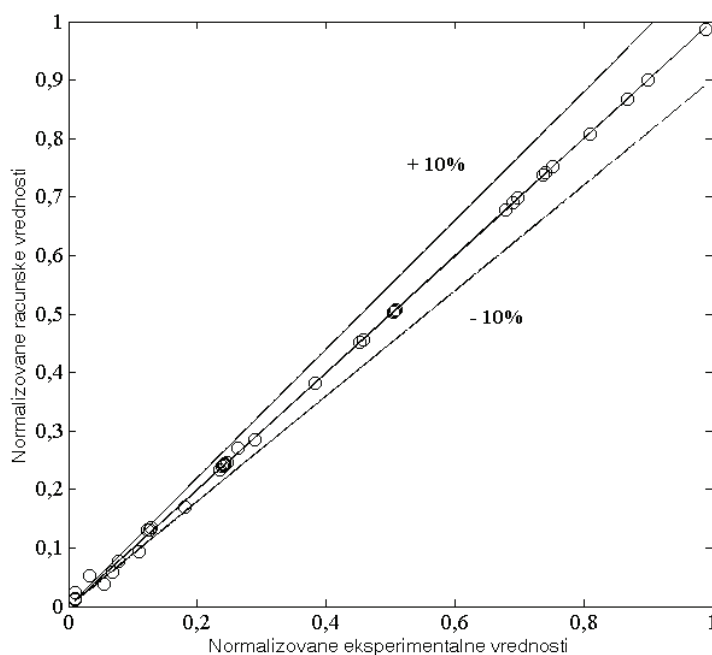


Slika 9. Promena srednje kvadratne greške sa promenom koeficijenta momenta.
Figure 9. Mean square error as function of momentum coefficient.

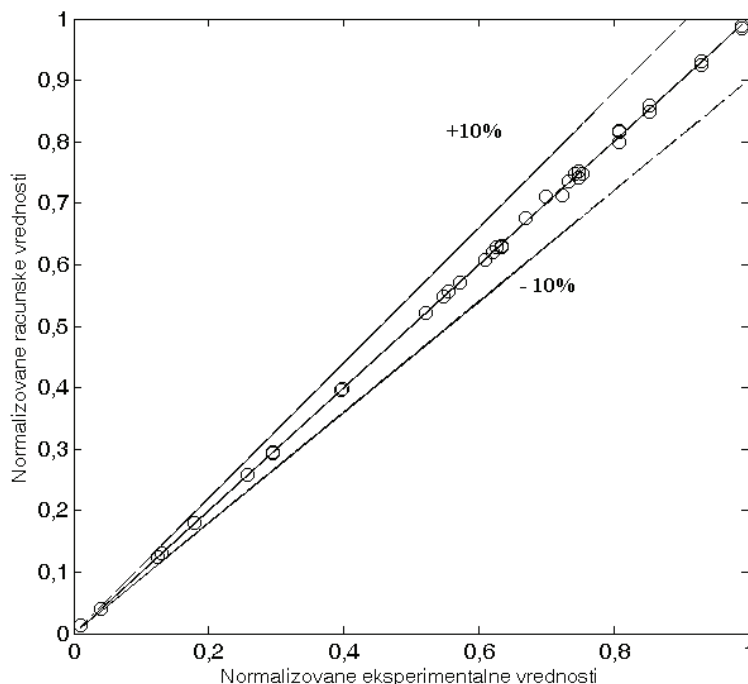
je rast srednje kvadratne greške kao što se može videti sa slike 5. Ova razlika se može objasniti postojanjem veće nelinearnosti u podacima dobijenim za sadržaj etanola. Koeficijent momenta variran je od 0,1 do 0,9 sa korakom 0,2. Kao i kod variranja stepena brzine učenja uočene promene srednje kvadratne greške manje su za predviđanje broja ćelija kvasca i sadržaja šećera u poređenju sa predviđanjima za sadržaj etanola (slika 9). Optimalna vrednost koeficijenta momenta neuronske mreže sa izabranim algoritmom za učenje je 0,3 za broj ćelija kvasca i sadržaj šećera dok je za sadržaj etanola izabrani koeficijent momenta 0,5.

Kao i što je pretpostavljeno tokom obučavanja neuronske mreže na eksperimentalnim podacima, model neuronske mreže (ANN) na adekvatan način prikazuje promene sadržaja etanola, broja ćelija kvasca i sadržaja šećera tokom fermentacije podloga na bazi gustog soka.

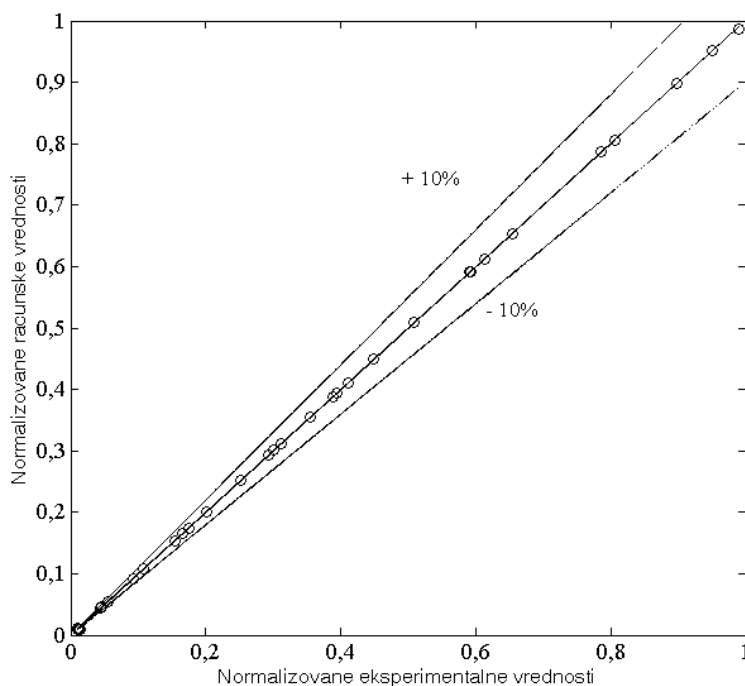
Rezultati adekvatnosti obučene mreže najbolje se mogu prikazati primenom mreže na gupu eksperimentalnih podataka određenih za njeno testiranje. Na slikama 10–12 prikazani su rezultati predviđanja neuronske mreže za sve posmatrane odzive odnosno sadržaj etanola, broj ćelija kvasca i sadržaj šećera, redom.



Slika 10. Rezultati modelovanja grupe podataka za testiranje neuronske mreže za sadržaj etanola.
Figure 10. Parity plot for testing data of selected ANN for ethanol content.



Slika 11. Rezultati modelovanja grupe podataka za testiranje neuronske mreže za broj ćelija kvasca.
Figure 11. Parity plot for testing data of selected ANN for yeast cell number.



Slika 12. Rezultati modelovanja grupe podataka za testiranje neuronske mreže za sadržaj šećera.
Figure 12. Parity plot for testing data of selected ANN for sugar content.

Dobijene vrednosti koeficijenta determinacije ukazuju na veoma dobro slaganje eksperimentalnih i podataka dobijenih neuronskim mrežama u posmatranom opsegu početnih sadržaja šećera i vremena trajanja fermentacije podloga na bazi gustog soka šećerne repe (0,9997, 0,9997 i 0,9999) za sadržaj etanola, broj ćelija kvasca i sadržaj šećera, redom.

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata ovog rada može se zaključiti da je moguće skraćivanje trajanja fermentacije podloga na bazi gustog soka sa početnim sadržajem šećera u opsegu 5–15 g kg⁻¹ bez negativnog uticaja na prinos etanola. Niži sadržaj etanola u fermentisanoj podlozi sa po-

četnim sadržajem šećera 25 g kg⁻¹ u odnosu na podlogu sa startnih 20 g kg⁻¹ šećera ukazuje na značajno inhibirano dejstvo visokih koncentracija supstrata. Eksperimentalni rezultati promene sadržaja etanola, broja ćelija kvasca i sadržaja šećera mogu se na adekvatan način aproksimovati rezultatima dobijenim na osnovu koncepta neuronskih mreža. Optimalna konfiguracija odnosno topologija obučavane neuronske mreže ista je za sve ispitivane odzive. Broj skrivenih neurona iznosi 9 u jednom skrivenom sloju, dok mreža ima 2 ulazna i 1 izlazni neuron. Najbolji rezultati se dobijaju primenom *Levenberg–Marquardt (trainlm)* algoritma za učenje.

Zahvalnica

Realizaciju ovog rada podržalo je Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije u okviru projekta TR 31002.

LITERATURA

- [1] D. Krajnc, P. Glavič, Assessment of different strategies for the co-production of bioethanol and beet sugar, *Chem. Eng. Res. Des.* **87** (2009) 1217–1231.
- [2] S. Popov, J. Ranković, J. Dodić, S. Dodić, A. Jokić, bioethanol production from raw juice as intermediate of sugar beet processing: A response surface methodology approach, *Food. Technol. Biotechnol.* **48** (2010) 376–383.
- [3] J. Grahovac, J. Dodić, S. Dodić, S. Popov, A. Jokić, Z. Zavargo, Optimisation of bioethanol production from intermediates of sugar beet processing by response surface methodology, *Biomass Bioenerg.* (2011), doi: 10.1016/j.biombioe.2011.07.016.
- [4] A. Hinková, Z. Bubník, Sugar beet as a raw material for bioethanol production. *Czech. J. Food Sci.* **19** (2001) 224–234.
- [5] J. Ranković, J. Dodić, S. Dodić, S. Popov, Bioethanol production from intermediate products of sugar beet processing with different types of *Saccharomyces cerevisiae*, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* **15** (2009) 13–16.
- [6] M. Basri, R.N.Z.R. Abd Rahman, A. Ebrahimpour, A.B. Salleh, E.R. Gunawan, M.B. Abd Rahman, Comparison of estimation capabilities of response surface lipase-catalyzed synthesis of palm-based wax ester, *BMS Biotechnol.* **7:53** (2007).
- [7] A. Jokić, Z. Zavargo, Z. Šereš, M. Tekić, The effect of turbulence promoter on cross-flow microfiltration of yeast suspensions: A response surface methodology approach, *J. Membr. Sci.* **350** (2010) 269–278.
- [8] G. Vicente, A. Coteron, M. Martinez, J. Aracil, Application of the factorial design of experiments and response surface methodology to optimize biodiesel production, *Ind. Crops Prod. B* **8** (1998) 29–35.
- [9] M. Andersson, P. Adlercreutz, Evaluation of simple enzyme kinetics by response surface modeling, *Biotechnol. Tech.* **13** (1999) 903–907.
- [10] Q.K. Beg, R.K. Saxena, R. Gupta, Kinetic constants determination for an alkaline protease from *Bacillus mojavensis* using response surface methodology, *Biotechnol. Bioeng.* **78** (2002) 289–295.
- [11] S.P.J.N. Senanayake, F. Shahidi, Lipase-catalyzed incorporation of docosahexaenoic acid (DHA) into borage oil: optimization using response surface methodology, *Food Chem.* **11** (2002) 115–123.
- [12] Y.R. Chen, M. Nguyen, B. Park, Neural network with principal component analysis for poultry carcass classification, *J. Food Process Eng.* **21** (1998) 351–367.
- [13] S. Ibrić, Z. Djurić, J. Parojić, J. Petrović, Artificial intelligence in pharmaceutical product formulation: neural computing, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* **15** (2009) 227–236.
- [14] G. Cybenko, Approximations by superimpositions of a Sigmoid function, *Math. Cont. Signal Systems* **2** (1989) 303–314.
- [15] M. Desai, B.K. Vaidya, R.S. Singhal, S.S. Bhagwat, Use of an artificial neural network in modeling yeast biomass and yield of β -glucan, *Process Biochem.* **40** (2005) 1617–1626.
- [16] A. Jokić, Z. Zavargo, J. Gyura, S. Radivojević, Z. Šereš, An artificial neural network approach to prediction of sugar beet yield and quality in Serbia, in: *Sugar beet crops: growth, fertilization and Yield*, C.T. Hertsburg (Ed.), Nova Science Publisher, Inc. New York, 2010, pp. 153–166.
- [17] M. Milić, V. Karadžić, S. Obradović, Metode za laboratorijsku kontrolu procesa proizvodnje fabrika šećera, Novi Sad, 1992.
- [18] V.R. McDonald, Direct microscopic technique to detect viable yeast cells in pasteurised orange drink, *J. Food Sci.* **28** (1963) 135–139.
- [19] W.R. Bowen, M.G. Jones, H.N.S. Yousef, Prediction of the rate of cross-flow membrane ultrafiltration of colloid – a neural network approach, *Chem. Eng. Sci.* **53** (1998) 3793–3802.
- [20] H.R. Maier, G.C. Dandy. Neural networks for the prediction and forecasting of water resources variables: a review of modelling issues and applications, *Environ. Modell. Softw.* **15** (2000) 101–124.
- [21] B. Sarkar, A. Sengupta, S. De, S. DasGupta, Prediction of permeate flux during electric field enhanced cross-flow ultrafiltration – A neural network approach, *Sep. Purif. Technol.* **65** (2009) 260–268.
- [22] R. Thatipamala, S. Rohani, G.A. Hill, Effects of high product and substrate inhibitions on the kinetics and biomass and product yields during ethanol batch fermentations, *Biotechnol. Bioeng.* **40** (1992) 289–297.
- [23] M. Ergun, S.F. Mutlu, Application of a statistical technique to the production of ethanol from sugar beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae*, *Bioresource Technol.* **73** (2000) 251–255.
- [24] S. Govindaswamy, L.M. Vane, Kinetics of growth and ethanol production on different carbon substrates using genetically engineered xylose-fermenting yeast, *Bioresource Technol.* **98** (2007) 677–685.
- [25] S. Chellam, Artificial neural network model for transient crossflow microfiltration of polydispersed suspensions, *J. Membr. Sci.* **258** (2005) 35–42.

SUMMARY

ARTIFICIAL NEURAL NETWORK APPROACH TO MODELLING OF ALCOHOLIC FERMENTATION OF THICK JUICE FROM SUGAR BEET PROCESSING

Aleksandar I. Jokić, Jovana A. Grahovac, Jelena M. Dodić, Zoltan Z. Zavargo, Siniša N. Dodić, Stevan D. Popov, Damjan G. Vučurović

University of Novi Sad, Faculty of Technology, Novi Sad, Serbia

(Scientific paper)

In this paper the bioethanol production in batch culture by free *Saccharomyces cerevisiae* cells from thick juice as intermediate product of sugar beet processing was examined. The obtained results suggest that it is possible to decrease fermentation time for the cultivation medium based on thick juice with starting sugar content of 5–15 g kg⁻¹. For the fermentation of cultivation medium based on thick juice with starting sugar content of 20 and 25 g kg⁻¹ significant increase in ethanol content was attained during the whole fermentation process, resulting in 12.51 and 10.95 dm³ m⁻³ ethanol contents after 48 h, respectively. Other goals of this work were to investigate the possibilities for experimental results prediction using artificial neural networks (ANNs) and to find its optimal topology. A feed-forward back-propagation artificial neural network was used to test the hypothesis. As input variables fermentation time and starting sugar content were used. Neural networks had one output value, ethanol content, yeast cell number or sugar content. There was one hidden layer and the optimal number of neurons was found to be nine for all selected network outputs. In this study, transfer function was tansig and the selected learning rule was Levenberg–Marquardt. Results suggest that artificial neural networks are good prediction tool for selected network outputs. It was found that experimental results are in very good agreement with computed ones. The coefficient of determination (the *R*-squared) was found to be 0.9997, 0.9997 and 0.9999 for ethanol content, yeast cell number and sugar content, respectively.

Keywords: Bioethanol • Thick juice • Sugar beet • Neural networks