

TEKNOFEST
HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ
FESTİVALİ

ÇEVRE VE ENERJİ TEKNOLOJİLERİ
YARIŞMASI
PROJE DETAY RAPORU

TAKIM ADI: Crack Your ReCycle

PROJE ADI: Crack Your ReCycle

BAŞVURU ID: 317236

İçindekiler

1.Proje Özeti (Proje Tanımı)	3
2.Problem/Sorun:.....	3
3.Çözüm	4
4.Yöntem	4
4.1.Besiyeri hazırlama.....	4
4.2.Candida utilis (maya) eldesi	5
4.3.THP biyokütle prosesi	6
4.4.THP besiyeri.....	6
4.5.Fermantasyon	7
4.6.Çıtır ekmek üretimi ve analizler	7
4.7.Planlanan prototip.....	8
5.Yenilikçi (İnovatif) Yönü.....	8
6.Uygulanabilirlik.....	8
7.Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması	9
8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):.....	10
9. Riskler	10
10. Kaynakça	12
EK1-Yarışmalar/Çalışmalar	14
EK2-Laboratuvar çalışması.....	14
Şekil Dizini	
Şekil 4.1.1 Çözüm Şeması.....	4
Şekil 4.1.3 Prototip.....	4
Şekil 4.5.1 Fermantasyon prosesi.....	7
Şekil 4.7.1 Planlanan prototip	8
Tablo Dizini	
Tablo 4.1 Ürün Detayı.....	8
Tablo 7.1 Harcamalar ve Dönem Planı	9
Tablo 7.2 Malzeme Listesi	10
Tablo 9.1 Malzeme Fiyatları	11
Tablo 9.2 Risk matrisi	11

1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

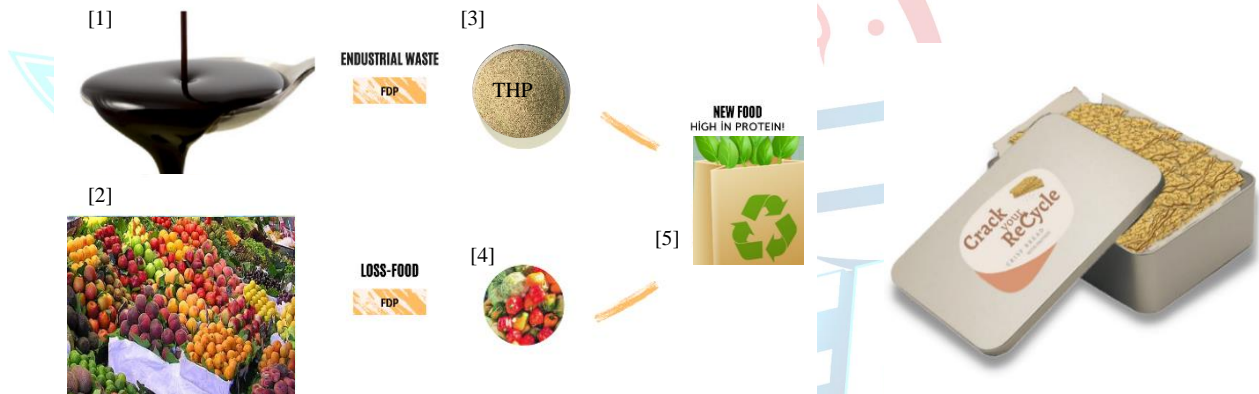
Dünyada evrensel problemlerden yetersiz beslenme, israf ve çevre kirliliğine çözüm getirecek projemiz kapsamında; Organik atıklar ve tarımsal atıklardan elde edilen mikroorganizmaların (algler, mayalar, bakteriler, küfler) uygun besiyerlerinde uygun koşullar altında çoğaltılarak, üremeleri sırasında oluşturdukları biyokütlelerin ürünü olan Tek Hücre Proteinleri (THP) elde edilecektir. Aynı zamanda insan tüketimi açısından güvenilir olmasına rağmen yanlış boyut, ağırlık, şekil, görünüş veya hasarlı paketlenme gibi nedenlerden dolayı tüketime sunulmayan, israf olan güvenli gıdalar israf olmaktan kurtarılacaktır. Kurtarılan gıdalar ile üretilen THP'ler birleştirilecek, protein açısından zengin gıdalar üretilenecektir. Üretmeyi planladığımız ilk ürünümüz protein açısından zenginleştirilecek olan THP'li çıtır ekmek olacaktır. THP üretiminde kullanacağımız organik atık şeker üretimi sonucunda meydana gelen şeker melasıdır. Şeker melasından izole edilen mikroorganizma olan *Candida utilis*'in (maya) uygun koşullar altında geliştirilmesi ve fermantasyon işlemi sonrasında oluşan biyokütle ürünü THP; israftan kurtarılabilecek olan un, tahıllı ürünler vb. gibi gıdalarla bir araya getirilerek bir ekmek hamuru oluşturulacaktır. Bu hamurun içerisine %8'i kadar THP eklenecek ve tostlama yöntemiyle pişirilecektir. Ekmek üretiminde 80 g buğday unu, 8 g THP, 10 ml su ve 1 g tuz, 1 g şeker kullanılacaktır.

2. Problem/Sorun:

Günümüzde dünyanın birçok bölgesinde ekmek hem temel gıda ihtiyacıdır hem de yaygın olarak tüketilmektedir. Ekmeğin hammaddesi olan buğday üretiminde 20 milyon tonluk son 10 yılın üretim ortalaması ile dünyada en fazla buğday üreten ilk 10 ülkeden biri olan Türkiye aynı zamanda kişi başı 121 kg ekmek tüketimi ile dünyada en çok ekmek tüketen ülkesidir. Ancak üretilen bu ekmeklerin her gün 6,14 milyonu israf olmaktadır. Ülkemiz israf edilen her ekmekle yaklaşık 700 milyon \$ fakirleşmekte, bu ekmeklerin hayvan yemi olarak kullanılması ise ekonomik açıdan israf olarak değerlendirilmektedir (Anonim, 2022) İsraf yalnızca bununla kalmamakta insan tüketimi açısından güvenilir olmasına rağmen yanlış boyut, ağırlık, şekil, görünüş veya hasarlı ve paketlenme gibi nedenlerden dolayı tüketime sunulmayan gıda ve gıda hammadde ürünleri de bulunmaktadır. Hammadde ve gıda kayıplarının yanında üretim esnasında enerji ve su kayıpları ve endüstriyel atık oluşumu çevremize zarar vermekte, ekonomik ve sosyal olarak tehdit oluşturmaktadır. Gittikçe azalan kaynaklarımız günden güne artan insan nüfusunun ihtiyacı olan gıdayı karşılayamayacak duruma gelmektedir. Gıda israfını azaltmaya yönelik çözümlere gıda bankacılığı örnek olarak verilebilir. Gıda bankacılığı yalnızca tüketimi güvenilir olan ancak israf olan gıdaları insanlara tekrar sunmaktadır, besinlerin besleyicilik değerini artırıcı herhangi bir işlem uygulamamaktadır. Uluslararası rakiplerimizden; etanol bazlı insana yönelik THP üretimi yapan ABD menşeli Amoco in US, Japonya'da Mitsubishi Petrokimya Co. ve İsviçre'de Exxon-Nestle Projesi'dir. Ancak üretilen THP'ler organik ve sanayi atıkları kullanılarak üretilmemektedir. Buna ek olarak yakın zamanda etanol fiyatının yükselmesi etanol bazlı THP üretimini sınırlayacağı söylenmektedir.

3. Çözüm

Yukarıda bahsedilen aynı zamanda evrensel de olan, israf ve çevre kirliliğine ve buna ek olarak yetersiz beslenme problemlerine çözüm getirmek için projemiz kapsamında; fabrikalardan toplanılacak organik atıklar ve çevremizi kirleten endüstriyel atıklardan elde edilen mikroorganizmalar (algler, mayalar, bakteriler, küfler) uygun besiyerlerinde uygun koşullar altında çoğaltılarak, üremeleri sırasında oluşturdukları biyokütlelerin ürünü olan THP'ler elde edilecektir. İnsan tüketimi açısından güvenilir olmasına rağmen tüketime sunulmayan, israf olan gıdalar israf olmaktan kurtarılacak ve üretilen THP'ler ile birleştirip protein açısından zengin insan tüketimine uygun güvenilir gıdalar üretilenektir. İsrاف olmaktan kurtarılan gıdaların kullanılması gıdaların yetiştirilmesi için kullanılan kaynakların da israf olmasının önüne geçecektir. THP üretimi sırasında atık maddelerin biyolojik oksijen ihtiyacı düşecek, karbon ayak izi azalacaktır. Üretilmesi planlanan prototip ise temel besin kaynağı ekmektir. Su aktivitesi düşük olması dolayısıyla raf ömrü uzun olan çıtır ekmek üretimi yapılarak hane içindeki israfın da azaltılması planlanmaktadır.



Şekil 4.1.1 Çözüm Şeması

Şekil 4.1.2 Prototip

[1] Anonim,2022*, [2] Anonim,2019, [3] Rotkovitz, M., 2021
[4] Yüzüncüyıl, K., 2019, [5] Anonim, 2021

4. Yöntem

THP'nin üretiminde kullanılması beklenen insan tüketimine en uygun olan mikroorganizma maya; *Candida utilis*'tir. *C. utilis* ABD Gıda ve İlaç İdaresi, İngiliz Gıda İdaresi ve NASA tarafından genel olarak insan tüketimi için güvenli olarak kabul edilen statüyü almıştır (Reference Module in Food Science, 2014). Maya eldesi için kullanılabilir hammadde; şeker melası, lignoselülozik atıklar, ahşap alkol, bira mayası ve sülfite likörü atıklarıdır. Projemizde organik bir gıda sanayi atığı olan şeker melası kullanılarak *Candida utilis* izole edilecektir.

4.1. Besiyeri hazırlama

İzolasyon için gerekli besiyerinde deproteinize edilmiş patates atık suyu kullanılacaktır. Deproteinize edilmiş patates atık suyu, nişasta fabrikasından alınacaktır. (Patates atık suyu deproteinize edilmemiş ise ; %3 NaOH ile 30 dakika boyunca kaynatılarak deproteinize

edilecek, ardından ürün soğutularak su ile durulanacak böylece alkali kalıntılar uzaklaştırılacaktır.) Kuru madde içeriği ağırlık yöntemiyle belirlendikten sonra toplam protein içeriği Kjeldahl yöntemi ile belirlenecek ve protein başına nitrojen dönüştürülecektir. İndirgeyici maddelerin içeriği dinitrosalisilik asit kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenecektir. Kimyasal oksijen talebi endeksi, dikromat yöntemi ile (Hach Lange analizörü ve küvet testleri LCK014) kullanılarak belirlenecektir.

4.2. *Candida utilis* (maya) eldesi

Tüm ortamlar *Candida utilis*'in pH aralığına göre (pH 4.5-5.0) ayarlanacaktır. Hammadde olarak şeker melası kullanılacaktır. 100 mL şeker melası 250 mL distile suyla seyreltilecek incelenen numuneden, petri kutusundaki hazırlanmış agarlı bir besiyerine tek koloni düşürme tekniği kullanılarak ekim yapılacaktır. Petri kutuları uygun koşullarda inkübasyona bırakılarak analiz örneklerinden aseptik koşullarda 25 g tartılmış, maya analizleri için 225 mL%1'lik (w/v) pepton çözeltisi ile maya analizleri için 225 mL tamponlanmış peptonlu su çözeltileri kullanılarak örnekler 2 dakika stomacher ile homojenize edilecektir. Homojenattan %1 peptonlu su ile ardışık seyreltiler hazırlanıp ve besiyerlerine aşılanacaktır. İlgili metotlara göre; ekimler iki paralel olarak yapılacaktır. Ekim yapılan besiyerleri maya ve maya gelişimi için sırasıyla 30°C'de 3 gün ve 25°C'de 5 gün boyunca inkübasyona bırakılıp inkübasyonu takiben gelişme görülen ve sayım aralığındaki besiyerlerinde toplam maya sayısı hesaplanacaktır. Besiyerinde gelişen tipik kolonilerden edilen izolatlar daha sonra tanılama testleri yapılması için gönderilmelidir (Sanger Dizi Analizi Yöntemi). Ardından liyofilizasyon yöntemi uygulanacaktır.

Elde edilen mayalardan mikroorganizma uygun bir besiyerinde geliştirildikten sonra kültürün koruyucu içeren bir sıvıda (steril süt, kan serumu veya bazı koruyucu maddelerle eşit oranda karıştırılarak) süspansiyonu yapıp bu süspansiyondan 0,1-0,2 mL aseptik koşullarda ve köpük oluşturmadan liyofilizasyon tüplerine aktarılacaktır. Tüpler içindeki pelet 0,2 mL Yeast Malt Broth (Bacto Difco) (YMB) bulunduran 5 mL 'lik deney tüplerine nakledilecek, pelet çözüldükten sonra eğik Yeast Malt Agar'a ekimleri yapıp 30°C'de inkübasyona bırakılacaktır. Her bir mikroorganizma ile deneye başlarken yatık agardaki bu kültürler içerisinde YMB bulunan 250 mL'lik erlenmayere ekim yapıp termostatlı bir çalkalayıcıda, 30 derecede 250 RPM 'de 24 saat inkübe edilecektir.

Liyofilizasyon yöntemi ile; Malt Extract Broth besi yeri içeren 50 mL erlenmayerlerde çalkalama kültür (shake flasks) olarak geliştirilen maya kültürleri (24 saat) ayrı ayrı santrifüj edilerek steril destile su içerisinde süspande edilmiş hazırlanan süspansiyonlar %2 inokulum olarak ilave edilecektir. İnokulum aşısı maddesi olarak kullanılacaktır ve 10 mL alınarak içerisinde 100'er mL YMB bulunduran 250 mL'lik erlenlelere ekim yapıp ve bu erlenler termostatlı çalkalayıcıda 30 derece 250 RPM 'de 72 saat inkübasyona bırakılacaktır. Ardından liyofilizasyon cihazına yerleştirilerek vakum altında birinci kurutma yapıldıktan sonra pamuklar içeriye itilip ampullerin boyun kısmı inceltilecektir. İkinci kurutma uygulandıktan sonra ampuller çapraz alev yardımıyla vakum altında kapatılacaktır. Muhafaza edilecek kültürler dondurma ve kurutmanın zararlı etkilerini önleyecek koruyucu özellikteki maddeler (kriyoprotektan) içeren sıvılarda süspansiyon haline getirilecektir. Ardından mekanik disintegrasyon yapılacaktır (Dynamühle Type kd5). Daha sonra elde

edilen mayalardan 0.5 g maya alınarak 5 mL su ile süspansiyon elde edilip 20 mL 1.25 M perklorik asit eklenerek süspansiyon 5 dakika boyunca mekanik inversiyon ile karıştırılacaktır. Ardından santrifüj edilerek süpernatantlar pürinler için analiz edilecektir. Böylece hücre duvarı ve nükleik asitlerinden arındırılmış mayalar elde edilecektir.

4.3. THP biyokütle prosesi

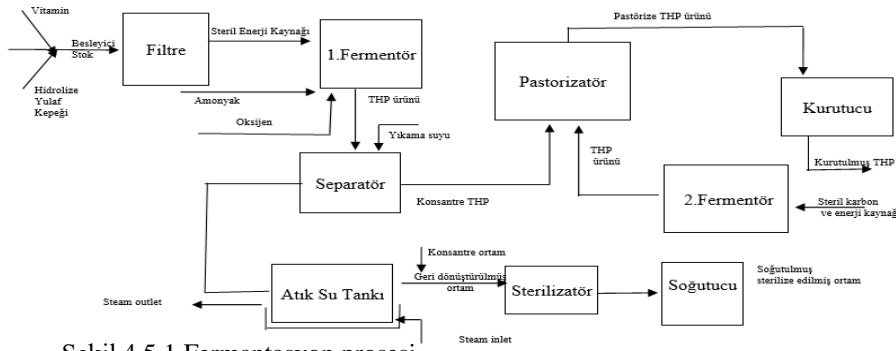
Şerit kaplama yöntemini takiben 30°C'de 48 saat boyunca katı patates dekstroz agar (PDA besiyeri, Merck, Almanya) ortamında rutin olarak inkübe edilecek olup tek koloni ekim yöntemi ile elde edilen hücreler 10 g/L maya özütü, 20 g/L pepton ve 20 g/L dekstroz içeren 500 mL sıvı maya özütü-pepton-dekstroz (YPD) ortamını aşlamak için kullanılacaktır. Kültürler daha sonra orbital bir çalkalayıcıda 250 RPM 'de ve 30 ° C'de 16 saat inkübe edilip optik yoğunluklar (OD), 2.13'lük bir OD'ye ulaşılan kadar bir Genesys 10s UV-Vis spektrofotometre (Varian Cary 100 Bio) kullanılarak 473 nm'de belirlenecektir. Bu kültür daha sonra toplu fermantasyonlar için bir aşı olarak kullanılacaktır. Toplu fermantasyonlar 4.5 L YPD ortamı içeren bir BioFlo/CelliGen 115 biyoreaktör kullanılarak gerçekleştirilecektir. Fermantasyonlar 30°C'de, 1 L/dakikalık bir havalandırma hızıyla ve 8 saat boyunca 300 RPM 'de bir OD=1.82'ye ulaşılan kadar sürekli karıştırılarak gerçekleştirilip daha sonra plastik şişelere aktarılacaktır. 16 ° C'de 30 dakika 1.400 x g'de santrifüjlenip, 50 mL'lik plastik tüplerde geri kazanılıp ve son olarak 1400 x g'de 16°C'de 15 dakika santrifüjlenecektir. Elde edilen pelet 3 kez ultra saf suyla yıkanıp, böylece THP biyokütlesi elde edilecektir.

4.4. THP besiyeri

Hidrolize edilmiş yulaf kepeği, buğday kepeği ve pirinç kabuğu kullanılacaktır. Yulaf kepeği, buğday kepeği ve pirinç kabuğunun hidrolizi: 6N HCL ve az miktarda fenol içeren bir tüpe vakum altında 110°C'de 22-24 saat gerçekleştirilecektir. Amino asit içeriği numunelerin Phenylthiocarbonyl (PTC) türevi kullanılarak HPLC ile belirlenecektir. Türevlendirme serbest amino asitlerin temel koşullar altında oda sıcaklığında kullanımdan önce taze hazırlanmış türev reaktif (Fenilizotiyosiyanat-PITC, su, etanol, Triethylamine, 1:1:7:1) ile reaksiyona sokulmasıyla gerçekleştirilecektir. HPLC analizleri, bir UV detektörü ile donatılmış bir Seri 4 sıvı kromatografi kullanılarak gerçekleştirilecektir. Ayırma, bir LiChroCART 250-4 Nucleosil 5 C18 kolonu (250x4.5 mm i.d., 5 um partikül boyutu) kullanılarak gerçekleştirilecektir. Saptama dalga boyu 254 nm olması planlanmaktadır.

4.5. Fermantasyon

Fermantasyon işleminin optimizasyon deneyleri, 10 litrelik çalışma hacmine sahip bir BioFlo 110 biyoreaktör (New Brunswick Scientific) kullanılarak gerçekleştirilecektir. beslemeli kesikli fermantasyon kullanılmalı planlanmaktadır. Bu aşamanın ardından THP'ler istenen formuna ulaşacaktır.



Şekil 4.5.1 Fermantasyon prosesi

4.6. Çıtır ekmek üretimi ve analizler

Nem analizi, protein tayini, nükleik asit tayini, kül tayini, duyusal analizler yapılacaktır. Proje kapsamında ekmek üretimi için un alınacaktır. Tüketime uygunluk analizi için unlar kruvazelerin içerisinde tartılacak ve ardından etüvde 105°C 'de 4 saat yakılacaktır. Yakılmadan ve yakıldıktan sonraki gramaj farkına bakılacaktır. Aynı şekilde hazırlanan unlar bu sefer 600°C'de kül fırınında yakılarak yakılmadan önce ve sonraki ağırlıkları karşılaştırılacaktır. Kjheldal analizi ile azot miktarı;unun içerisindeki azotu bağlayıp NaOH ile muammele edip meydana gelen madde miktarının hesaplanmasıyla protein tayini yapılacaktır,Un kalitesi düşme sayısı ile belirlenecek un ve su ile hazırlanmış sıcak jelin karıştırılmasından sonra oluşan jel içerisinde belli bir seviyeye kadar batması için saniye olarak geçen süre hesaplanacaktır. Hamur reolojisi ile unun hamurlaşma kalitesi belirlenecektir. Fiziksel ölçümler ortalama boy, en, kalınlık ve ağırlık ölçüm değerleri alınarak yapılacaktır. Bu değerler arasındaki farklılıklar incelenecektir. İncelemelerin ardından ekmek hamuru yapılacak ve %8'i kadar THP eklenerek ürün üretilecektir. Ürün üretildikten sonra raf ömrünün analizi için belirli periyotlarla, nem, peroksit, ransimat, pH ve yağ asitleri değerleri değerlendirilecektir. Metil esterlerine dönüştürülmüş yağ asidinin belirlenmesi için yağ asitleri bileşimi belirlenecek, aktif oksijen miktarı aktif oksijen miktarının belirlenmesi için analiz edilecektir, ürünün bozulma oranı ise ransimat testi ile tespit edilecek olup ransimat cihazını iletkenlik eğrisindeki kırılma noktasından hesaplanacaktır. Tüm bu analizler Türk Gıda Kodeksi'nin değerleri ile doğrulanacaktır. Ardından tadım testine geçilecektir. Duyusal analiz olarak adlandırılan bu analizde tadımcılara ürün sunulup ürünün rengi, parlaklığı, yüzey düzgünlüğü vb. gibi yüzey görünüm özellikleri; kesit yapısı, gözenek dağılımı, kabuk inceliği gibi kesit özellikleri; ısıriş, gevreklik, çigneme, lezzet gibi tadım özelliklerinin değerlendirmesi istenilecek ve ardından sonuçlar istatistiki olarak değerlendirilecektir.

4.7. Planlanan prototip

Tablo 4.1 Ürün Detayı

Besin Öğeleri	Besin Değeri	İçindekiler	Gram
Enerji	918.4 Kj 219.5 Kcal	Tam Buğday Unu	80 g
Yağ	15 g		
Lif	19g	THP	8 g
Protein	17g	Su	10 mL
Tuz	1g	Tuz	2 g
Şeker	1g		



Şekil 4.7.1 Planlanan prototip

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Günümüzde THP'ler daha çok hayvan beslemede katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. İnsan gıdalarında kullanımı yaygın olmamakla birlikte vejetaryen gıdalarının besleyicilik değerini arttırmak için kullanılmaktadır. Crack Your Recycle projesinin yenilikçi yönü THP üretiminde ve üretim sürecinde enerji kaynağı olarak hemen hemen her proste organik ve tarımsal atıklar kullanılacak olması ve israf olan ancak tüketimi güvenilir gıdaları kurtarmasıdır. Bu çalışmaya özgün olarak gerçekleştirilecek olan “gıda geri dönüşümü” literatürde var olan çalışmalarda yer almamaktadır. Bugüne kadar yapılan araştırmalarda bir eksik olarak ortaya çıkan gıda geri dönüşümü aynı zamanda maliyet açısından da fırsatlar yaratmaktadır. Yurt dışında popüler olan ve ülkemizde de tüketilmeye başlanan çıtır ekmecekler protein içeriği yüksek hale getirilecek olup yerli üretimle Türkiye'ye özgün bitkisel proteinlerden daha kaliteli, hayvansal kaynaklı gıdalara alternatif THP içerikli fonksiyonel gıda üretilecektir. Ürünümüz Türkiye'nin en çok satılan İsveç menşeli çıtır ekmeği Wasa ve uluslararası rakibimiz olan, Marlow Foods Ltd. (JV between RHM & ICI)'nin ürünü İngiltere menşeli 14 ülkede satılan bir et ikame ürünü olan Quorn'un mikoproteinli Speciality Breads Frozen British Sourdough Bread Rolls ekmecekleri ile karşılaştırılmıştır. İngiltere menşeli Quorn çıtır ekmecek üretmemektedir. Her 100 g için Wasa, Quorn ve üretilmesi planlanan Crack your ReCycle çıtır ekmeğinin içerdiği protein miktarı sırasıyla 8 g 9.9 g ve 17 g 'dır. Biyoprotein içeriği yalnızca üretilmesi planlanan Crack Your Recycle Çıtır ekmeğinde bulunacaktır. Gramaj/ fiyat performansı ise sırasıyla Wasa, Quorn ve üretilmesi planlanan Crack your ReCycle çıtır ekmeğine göre her 100 g için; 0,64\$, 0,75 \$, 0.35\$'dir. Her paket 360 gram olacak şekilde tasarlanmış olan çıtır ekmeğimiz ile diğer ekmeceklerin içerdiği proteinlerden daha kaliteli protein içeriğine sahip olarak yaklaşık %60 oranda daha ucuza %50 daha fazla protein içerikli ürün satışı yapması hedeflenmiştir.

6. Uygulanabilirlik

Günümüzde dünyanın birçok bölgesinde ekmecek hem temel gıda ihtiyacıdır hem de yaygın olarak tüketilmektedir. Ekmeğe ait global pazarın, 2024 yılına kadar 573,5 milyar \$'a ulaşacağı tahmin edilmektedir. Çıtır ekmeğinin ise 2016'da dünya çapındaki satışı 846.000.000 \$'ı bulmuş olup bu rakam yaklaşık 240.000.000 paket çıtır ekmeğe denk

gelmektedir. Fakat ekmek aynı zamanda dünya çapında en çok israf olan gıdalardan da biridir. Prototip ürünümüz olan çıtır ekmek su aktivitesi çok düşük, raf ömrü uzun ve muhafaza edilmesi hayli kolaydır. Aynı zamanda doğa dostudur ve protein açısından zengindir THP üretiminin toprağa ve iklime bağlı olmaması, üretim için büyük bir alana ihtiyaç duymaması, yüksek verimli olması ve düşük maliyetli üretime sahip olması dolayısıyla avantajlı bir sistemdir. Bu sistem proteine ihtiyaç duyan insanların, gıda israfının, gıda atıklarının ve endüstriyel atıkların olduğu her yerde uygulanabilir.

Proje uygulanabilirliğindeki risk: İnsanların mikrobiyolojik protein tüketimine önyargılı yaklaşması ürünün satışını engelleyebilir. Çözüm önerisi olarak insanların THP içerikli gıdaların tüketilebilir olduğunu kabullenme süreçlerinde THP, tüketmeye alışık oldukları mikroorganizmalardan olan mayalardan başlanılarak üretilmektedir.

Projemizin fikri mülkiyetini aldıktan sonra atacağımız ilk adım ticarileşebilmek adına anonim şirket kurmaktır. Ulusal ve global STK'lerle, belediyelerle yapılacak iş birlikleri ve yatırımcılarla birlikte projemiz hayata geçerken Türkiye'nin ve dünyanın hedef kitlemize uygun yerlerine şubeler açarak ve çeşitli markalarla teknoloji transferleri yaparak gün geçtikçe büyümeyi ve projemizi dünyaya duyurmayı hedefliyoruz.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Tablo 3'te görüldüğü üzere başlangıç ihtiyacımız olan miktar tahmini olarak 18 000 TL'dir. Ürünümüz atıklar ve israf olmaktan kurtarılacak güvenli gıdalardan oluştuğu için tahmini bütçe sadece laboratuvarda kullanılacak olan cihazları kimyasalları ve sarf malzemelerini içermektedir. Proje en az maliyetle üretim yapılacak şekilde hesaplanmıştır.

Ürün tasarımı ve çalışma planı hazır olduğu ve halihazırda bir laboratuvar çalışmamızın olması dolayısıyla zaman çizelgemiz üretim ve test süreçlerini içermektedir. Bu süreç THP üretimi, analizleri, THP ile gıdanın birleşimi ve duyu analizi ve test süreçlerini içermekte olup 15 ay sürmesi hesaplanmıştır. Çalışacağımız süre boyunca yapacağımız harcamaların hangi periyotlarda ne kadar yapıldığını ve hangi periyotta ne çalışacağımızı tablolarda görebilirsiniz.

Tablo 7.1 Harcamalar ve Dönem Planı

Gider Kaynağı		Maliyet (15 ay için)				Toplam								
		1. periyot	2. periyot	3. periyot	4. periyot									
Hammadde Alımı/Lojistik		400 ₺	600 ₺	1000 ₺	-	2000 ₺								
Ek Hizmet Bedeli		600 ₺	-	900 ₺	2500 ₺	4000 ₺								
Laboratuvar		1542,83 ₺	2432,56 ₺	2723,67 ₺	1576,82 ₺	12000 ₺								
						18000 ₺								
15 AY														
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. periyot (mikroorganizma izolesi ve testleri)		2. periyot (THP üretimi)		3. periyot (gıdayla THP birleşimi)			4. periyot (gerekli analizler ve testler)							

Tablo 7.2 Malzeme Listesi

<i>Patates Dekstroz Agar (PDA):</i> <i>Patates ekstraktı 4,0 g, Glikoz 20,0 g, Agar 15,0g, Distile su 1000,0 mL pH 5,6 ± 0,2</i>			
Kimyasallar	Perklorik Asit HClO ₄	Yeast Malt Agar	%3,5 ayarlı 0,1 N HCL Çözelti
	Tamponlanmış Peptonlu Su %50 Borik Asit Çöz. H ₃ BO ₃	Yeast Malt Broth Steril Süt	Triethylamine Derişik Sülfürik Asit
	Pepton Çözeltisi (Merck-107214)	Etanol, Su	Sodyum Hidroksit Çözelti
	1 Kısım Bakır Sülfat CuSO ₄ .5H ₂ O	10 kısım potasyum sülfat K ₂ SO ₄	
Hammaddeler	Deproteinize Patates Atık Su	Un	Hidrolize Edilmiş Yulaf Kepeği
Cihazlar	250 RPM Termostatlı Çalkalayıcı	Analitik Terazi	Etüv 70 °C
	Erlenmayer-250 mL	60°C Kurutma Fırın	Pilot Tipi Liyofilizatör
	300 RPM Orbital Çalkalayıcı	Separatör	Protein Analiz Cihaz
	Spektrofotometre (Genesys 10s UV-Vis)	Santrifüj	Kjeldahl Balon 750 mL
	New Brunswick BioFlo 110 Fermentör	Otoklav	Alüminyum Tartı Kap
	LiChroCART 250-4 Nucleosil 5 C18 Kolonu	Büret 50 mL	Çinko Taşı
	Kjeldahl Cihazı Yarı Otomatik Kd-200-A	Stomacher	Fenil İzotiyosiyanat-FITC
	Hach Lange Analizör	Ölçü Silindir	Dynomühle Type kd5
Cam ve Plastik Petri Kabı	Kriyoprotektan	500°C Kurutucu Kül Fırın	
Millipore Forseps Whatman GFF Filtre 25 mm	Küvet Testi (LCK014)	Azotsuz Filtre Kâğıdı	

8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

Projemiz hayvansal gıdalara alternatif bir protein kaynağı olacak olup, oldukça doyurucu olacaktır. Bu sebeple hedef kitemiz öncelikli olarak hayvansal kaynaklı proteine ulaşım zorluğu yaşayan ve günlük diyetlerinde yetersiz besin bulunan insanlardır. Ürünümüzün protein içeriği mikrobiyal ve bitkisel kaynaklı olması dolayısıyla vejetaryenler, veganlar, sporcular ve sağlıklı beslenmek isteyenler de hedef kitemize girmektedir. Buna ek olarak çitir ekmeğimizin yüksek protein içerikli olması nedeniyle; belli bir protein değeri içeren menülere sahip olması gereken toplu yaşam yerleri (okul, yurt ve hastane yemekhaneleri) ve beden gücü gerektiren çalışma koşullarına sahip olan ve çalışanlarına yüksek protein içerikli menüler sunması gereken iş yerleri fabrikalar da hedef kitemizde yer almaktadır

9. Riskler

THP'lerin üretileceği mikroorganizmalara bağlı olarak THP'lerin hücre duvarı ihtiva etmeleri sindirilebilirliği düşürür. Buna ek olarak THP'lerin nükleik asit içerikleri dolayısıyla tüketim sınırlamaları oluşabilir. Bir kişi günlük olarak %2'den fazla nükleik asit tüketmemelidir. Nükleik asit ve hücre duvarı çeşitli mekanik ve kimyasal metotlarla THP'den ayrıştırılabilir. THP, gıda endüstrisinde kullanılmak üzere BFA, FDA ve NASA tarafından onaylanmıştır. Gerekli proseslerden geçtikten sonra insan tüketimi açısından hiçbir sakınca içermemektedir. THP üretim maliyetini düşürmek için, biyolojik olarak parçalanabilen tarımsal endüstriyel yan ürünlerin ve atıkların bir besin kaynağı olarak

kullanılması esastır. Yeterli sermaye sağlanamaması durumunda çözüm olarak THP'lerin yeterli sermaye kazanılana kadar THP üreten firmalardan alınması önerisi sunulmuştur. Proje başlangıcında israf olmuş güvenilir gıda temini sağlanamayabilir, bu sorunun çözülmesi için gıda bankalarıyla anlaşma yapıp geçici bir süre lojistik sistemlerinin kullanılabilir. Gıda atığı, endüstriyel atıklar gibi atıkların eldesi için ise belediyelerin oluşturduğu atık toplama sistemlerinden faydalanabilir. İnsanların mikrobiyolojik protein tüketimine önyargılı yaklaşması ürünün satışını engelleyebilir. Çözüm önerisi olarak insanların THP içerikli gıdaların tüketilebilir olduğunu kabullenme süreçlerinde THP tüketmeye alışık oldukları mikroorganizmalardan olan mayalardan başlayarak üretilecektir.

Tablo 9.1 Malzeme Fiyatları

Gerekli Malzemeler	FİYAT
Ultra Saf Su	871,70 ₺
Agar	276,70 ₺
Pepton Suyu	234,20 ₺
Kjeldahl Analizi	436,93 ₺
Yeast extract-peptone-dextrose	2658,00 ₺
Gliserol	135,65₺
Chromo Select Agar	1495 ₺
H ₂ SO ₄	420,65 ₺
HCL	517 ₺
H ₃ BO ₃ Katalizör	120,68 ₺
CUSO ₄	120,10 ₺
K ₂ SO ₄	46,57 ₺
Yeast Malt Broth (YMB)	2.557 ₺
TOPLAM	9890,18₺

Çalıştığımız laboratuvarında projemiz için gerekli olan bütün cihazlar ve projede kullanılacak olan bazı kimyasallar bulunmaktadır. Dolayısıyla cihaz ihtiyacımız olmayıp bütçe Tablo 9.1'de verilen malzemelere harcanacaktır.

2 ay sürecek olan ilk periyotta mikroorganizmalarımızı izole ettikten sonra 2. periyot olarak tanımladığımız 3. ve 5. aylarda THP üretimi yapmayı planlıyoruz. 6. ve 9. aylarda ise ürünümüzü üretmeyi, THP'leri gıdayla birleştirmeyi amaçlıyoruz geri kalan 6 ayda ise gerekli analizler ve testler yapılarak ürün düzeltmeleri yapmayı planlamaktayız. İlk 15 ayın ardından ürünümüzü elde edildikten sonra projemizin fikri mülkiyet haklarını alıp ticarileşebilmek adına anonim şirket kurulması planlanmaktadır. Daha sonra Ulusal ve global STK'lerle, belediyelerle yapılacak iş birlikleri ve yatırımcılarla birlikte projemiz hayata geçerken Türkiye'nin ve dünyanın hedef kitlemize uygun yerlerine şubeler açarak ve çeşitli markalarla teknoloji transferleri yaparak gün geçtikçe büyümeyi ve projemizi dünyaya duyurmayı hedefliyoruz.

Tablo 9.2 Risk matrisi

Olasılık	1	2	3	4	5
1	1 Anlamsız	2 Düşük	3 Düşük	4 Düşük	5 Düşük
2	2 Düşük	4 Düşük	6 Düşük	8 Orta	10 Orta
3	3 Düşük	6 Düşük	9 Orta	12 Orta	15 Yüksek
4	4 Düşük	8 Orta	12 Orta	16 Yüksek	20 Yüksek
5	5 Düşük	10 Orta	15 Yüksek	20 Yüksek	25Tolere Edilemez

Anonim. 2022 Risk değerlendirme standartları. 5.05.2022 ,https://www.ktu.edu.tr/dosyalar/16_00_00_5d20f.pdf

1. THP'nin hücre duvarı ve nükleik asit ihtiva etmesi $\left\{ \begin{array}{l} \text{Olasılık değeri, 2} \\ \text{Etki değeri, 4} \end{array} \right\} \rightarrow \text{Etki matrisi: 8 Orta}$

2.Yeterli sermaye sağlanamaması	{Olasılık değeri, 3 Etki değeri, 4	→ Etki matrisi:12 Orta
3.İsraf olmuş güvenilir gıda temini sağlanamaması	{Olasılık değeri, 1 Etki değeri, 4	→ Etki matrisi: 4 Düşük
4.Mikrobiyolojik protein tüketimine önyargı	{Olasılık değeri, 3 Etki değeri, 5	→ Etki matrisi: 15 Yüksek

1.Gerekli proseslerin ardından hücre duvarı ve nükleik asit ihtiva etmesi: Wrobel vd. (2018)'in yaptığı bir çalışma sonucunda *Candida Utilis*'in hücre duvarlarının izolasyonu ve ilk saflaştırma işlemi sonucunda çalışılan hücre duvarı preparasyonlarının saflığı, literatürde açıklanan *Saccharomyces cerevisiae* orijinli β -glukan ticari preparasyonlarına benzerlik göstermiştir. *Saccharomyces cerevisiae* bir ekmekçilik mayasıdır. (hücre duvarı önemli bir β -glukan kaynağıdır.)

2.Yeterli sermaye sağlanamaması: Crack your ReCycle düşük maliyetle gerçekleştirilebilecek yenilikçi ve özgün bir projedir. Dolayısıyla yeterli sermaye sağlanamaması orta dereceli bir risktir.

3.İsraf olmuş güvenilir gıda temini sağlanamaması: Gıdanı Kurtar derneğiyle iletişim halinde olmamız dolayısıyla israf olmuş güvenilir gıda temininin riskinin düşük olduğunu öngörmekteyiz.

4.Mikrobiyolojik protein ülkemizde yaygın değildir. Tüketiciler önyargıyla karşılayabilir.

10. Kaynakça

- Aguilar-Uscanga, B., François J., M. (2003) A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letters in Applied Microbiology, 37(3), 268–274.
- Akman, M., (1980) THP (II. Elde edilişinde bakterilerin kullanılışı, THP'nin bazı sakıncaları ve yurdumuzda yapılan çalışmalar). Mikrobiyoloji Bülteni. 14(1980b), 241- 249
- Anonim, (2019) Gıda israfı: üretimin üçte biri tüketilmeden heba oluyor. Erişim tarihi: 15.05.2022
Erişim Adresi: <https://kanalfinans.com/haberler/gida-israfi-nasil-onlenir-sektorde-kayip-israf-fire-oranlari>.
- Anonim, 10 Packaging materials that are recyclable (don't discard), 2021 Erişim tarihi: 15.05.2022.
Erişim Adresi: <https://www.bizongo.com/blog/recyclable-packaging-materials>.
- Anonim, Risk değerlendirme standartları. 2022 Erişim tarihi: 5.05.2022. Erişim Adresi: https://www.ktu.edu.tr/dosyalar/16_00_00_5d20f.pdf.
- Anonim, TMOB; Toprak Mahsulleri Ofisi, Ekmek İsrafi ve Tüketici Alışkanlıklar, 2022. Erişim tarihi: 06.04.2022. Erişim adresi: <https://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/ekmek/tmobrosuryeni2.pdf>.
- Anonim, Melas, 2022*. Erişim Tarihi: 15.05.2022. Erişim adresi: <https://amasyaseker.com.tr/urunler/melas>.
- Anupama, R., P. (2000) Value-added food: single cell protein. Biotechnology Advances, 18(6), 459–479.
- Arslan, P., Saltık H., (1975) Yapay proteinler ve beslenmedeki önemi, Beslenme ve Diyet Dergisi 4 (2), 1-42.

- Bhalla, T.C., Mehta S. P. K., Bhatia, S. K., Pratush A., (2009) Microorganism for food and feed, In: Food Biotechnology Principles and Practices. Joshi, V. K., Singh., R. S. Biowaste Biotechnology Biotechnological Equipment 24(1),477-513, Banglore
- Demirel, R., Şentürk Demirel, D., (2018) Tek hücre proteinlerinin insan ve hayvan beslemede kullanımı. İğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 8(3), 327-336.
- Dimova,N., Iovkova, Z.S.,Brinkova, M.,Godjevargova, T.S.I., (2010) Production of candida biomass from hydrolysed agricultural. Biotechnology & Biotechnological Equipment 24(1),1577-1581.
- Hamad, S., Aleid,S.M.,Aljasass, F.Yousif, M., (2016) Production of single cell protein from candida utilis using date fruit syrup as substrate. Jokull Journal. 66(3), 58-75.
- Hedenskog, G., Mogren, H. (1973) Some methods for processing of single-cell protein. Biotechnology and Bioengineering, 15(1), 129–142.
- Katircioğlu, H., Aksöz, N., (2003) Tek hücre proteini, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1(8),34-49
- Kurcz,A.,Błażej, S., Kot,A.Wróbel,A.,B., (2018) Application of industrial wastes for the production of microbial single-cell protein by fodder yeast candida utilis. Waste and Biomass Valorization 9(1),57-64.
- Lin, J. C. M., Chastam, M. F., Strength, D. R. (1986) Sensory and nutritional evaluation of wheat bread supplemented with single cell protein from torula yeast (Candida utilis). Journal of Food Science, 51(3), 647-651.
- Litchfield, J. H., (2014) Opportunities and progress. Annual Review of Food Science and Technology 5 (2014), 23-37.
- Nasseri A.T, Rasoul-Amini, S., Morowvat M.H Ghasemi, Y., (2011) Single cell protein: production and process, American Journal of Food Technology 6(2), 1-13.
- Ritala, A., Häkkinen, S. T., Toivari, M., Wiebe, M. G. (2017) Single cell protein state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016. Frontiers in Microbiology, 8(2009), 1-18.
- Rotkovitz, M., (2021) What is torula yeast?. Web sayfası: <https://www.thespruceeats.com/what-is-torula-yeast-1664723>. Erişim tarihi: 15.05.2022
- Sancak, Y., C., İşleyici Ö., (1996) Gıda endüstrisinde mikroorganizmaların kullanılma alanları ve mikrobiyal gıda üretimi. V.V.O. Vet. fak. Derg.1(1-2), 110-116.
- Siegel, A., Lineback, D. R. (1976) Development, acceptability, and proximate analyses of high-protein, rice-based snacks for Thai children. Journal of food science, 41(5), 1184-1188.
- Spalvins, K., Zihare, L., Blumberga, D. (2018) Single cell protein production from waste biomass: comparison of various industrial by-products. energy procedia, 147(2018), 409–418.
- Trevelyan, W. E. (1977) Induction of autolytic breakdown of RNA in yeast by addition of ethanol and by drying/rehydration. Journal of the Science of Food and Agriculture, 28(6), 579–588.
- Yüzüncüyıl, K.,Bir gıda güvenliği tehditi olarak israf ve kayıp. 2019, Erişim adresi: 15.05.2022 Web sitesi:<https://www.sivilsayfalar.org/2019/02/25/bir-gida-guvenligi-tehditi-olarak-israf-ve-kayip/>.

11. Ekler

EK1-Yarışmalar/Çalışmalar

Takımın aynı projeye katıldığı yarışmalar
Hult Prize 2020-2021 Kampüs Finalleri- Ankara Üniversitesi
Hult Prize 2020-2021 Impact Summit- St. Petersburg ITMO Üniversitesi
Boğaziçi Dream Bigg
Take Off Uluslararası Girişim Zirvesi Başvurusu
Teknofest 2021 Havacılık, Uzay ve Teknoloji Festivali Çevre ve Enerji Teknolojileri Yarışması
Harada Accelerator 2021
Unam Nanoposter 2022

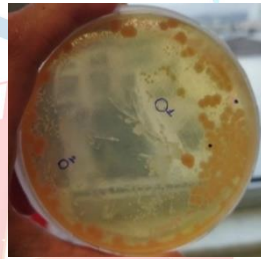
Takımın Çalıştığı Laboratuvar
Bilkent Üniversitesi-UNAM

EK2-Laboratuvar çalışması

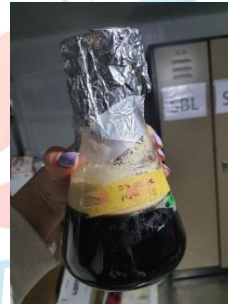
Laboratuvar çalışmamızdan çeşitli fotoğraflar aşağıda sunulmuştur. Çalışmamızda mikroorganizma izolesi ve testlerini içeren 1. periyottayız.



Yeast malt agar



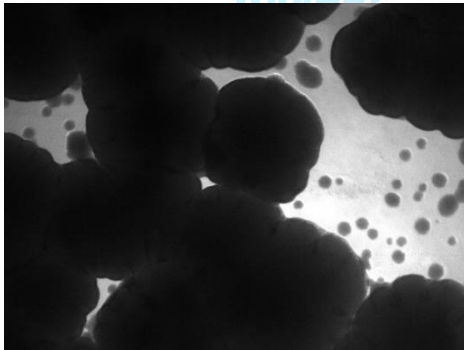
Streak yöntemi için koloni seçimi



Dilute edilmiş şeker melası



Maya inkübasyonu sonrası plate görünümü



Mayaların mikroskop görüntüsü



Cell dying



Mayaların PCR görüntüsü