

# TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

PROJE KATEGORİSİ

KATEGORİ: BİYOTEKNOLOJİ PROJE KATEGORİSİ

TAKIM ADI: BIOTICO

PROJE ADI: ORGANİK ATIKLARDAN TEMİZ

TEKNOLOJİLERLE ENZİM ÜRETİMİ

BAŞVURU ID: #7497

DANIŞMAN ADI: Prof. Dr. Dilek KAZAN

## 1. PROJE ÖZETİ

Endüstriyel enzimler, tekstil, deterjan, gıda ve ilaç endüstrisinde kullanılan oldukça önemli maddelerdir. Bu enzimlerin önemli biyokatalizörlerin başında gelmesinin sebebi, geniş bir substrat aralığının olması, aşırı sıcaklıklara, pH ve organik çözücülere karşı kararlılık gösterebilme yetenekleridir (1). Bunlardan biriside lipolitik enzimler, diğer bir deyişle lipazlardır.

Lipazlar, deterjan sektöründe tekstil sektöründe kumaş terbiyesinde ve kumaş ağartılmasında, yüzey aktif madde olarak deterjanların formülasyonlarında, gıda sektöründe ise emülgatör olarak emülgatör olarak sıklıkla kullanılan maddelerin başında gelmektedir (2). Ayrıca kanser tedavisinde kullanılan paclitaxel, yüksek tansiyon için kullanılan doxazosin, kolesterol ve kandaki lipitlerin tedavisinde kullanılan ezetimibe, antienflamatuar olarak kullanılan naproksen ve ketoprofen, lipazların rasemik ve prokiral esterleri hidrolizlenmesi reaksiyonlarının katalizi sonucunda üretilmektedir (3). Buna ek olarak, lipazlar hem sulu hem de organik çözücülerde birçok reaksiyonu gerçekleştiren önemli biyokatalizörler arasında yer almaktadır (4).

Enzimlerin üretim proseslerinde karşılaşılan en önemli sorun, enzimlerin üretim maliyetidir. Biyoproseslerin büyük maliyetini ise kullanılan karbon kaynakları oluşturmaktadır (5). Dolayısıyla, biyomühendislik prensipleriyle yeşil üretim teknolojilerinin birlikte kullanıldığı prosesler büyük önem kazanmıştır. Sürdürülebilir ve ekonomik proseslerin geliştirilmesi, operasyonel maliyetlerin düşürülmesine bağlıdır.

Projemiz, kahve atığı gibi yüksek potansiyele sahip organik atıkların enzim üretiminde hammadde olarak kullanılacağı biyoproseslerin geliştirilmesi ve dışarıdan ithal edilen enzimlerin yerli ve ucuz olarak endüstriyel ölçekli üretimidir.

İlk aşamada besiyerinde bulunması gereken karbon ve azot kaynağı olarak kahve atığının mikroorganizmalar tarafından kullanılması sağlanacak ve proses maliyeti düşürülerek, lipaz enzimi laboratuvar ölçekli üretilmektedir. İşlem sonrası çıkan posanın kompostlama maddesi olarak kullanılabilirliği incelenecektir. Bu sayede, önerilen proje biyorafineri konseptinde modellenecek ve sıfır atık projesine destek verecektir.

## 2. PROBLEM

Dünya genelinde, her yıl 1,5 milyar ton organik atık ortaya çıkmaktadır (6). Bunlardan birisi de kullanılmış kahve atığıdır. Kahve küresel pazardaki en büyük metalden biridir. Dünyada yıllık kahve tüketimi yaklaşık 10 milyon tonken, Türkiye’de 250 bin tondur (7). Buna ek olarak, kahve atığı kompost olarak kullanılmadığında çöpe atılmakta ve düzenli atık depolama alanlarına gönderilmektedir. Çöpe atılan her ton kahve atığı ise bozduğunda 2470 m<sup>3</sup> CO<sub>2</sub> ve 340 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub> emisyonuna sebep olmaktadır (8). Ayrıca bertaraf maliyeti yüksek olan kahve atıkları, zengin yağ içeriği nedeniyle de yer altı sularını kirletmektedir (9).

Buna ek olarak, 1000’e yakın kimyasal madde ile işlem gören kumaş üretimi için tekstil sektöründe her yıl yaklaşık 9 milyar metreküp su ve 75 trilyon kilowatt elektrik harcanmaktadır (10). Bu israfın büyük bir kısmı ise, kumaş terbiyesi için yapılmaktadır. Üstelik, tekstil sektörü, yapılan kimyasal işlemler yüzünden solunum yolu hastalıklarına sebep olan en riskli iş kollarından biridir (11). Tekstil sektöründeki bu problemleri çözmek için kumaş terbiyesinin her adımında kullanılabilen biyolojik katalizörlere, yani enzimlere, olan talep her geçen artmaktadır.

Fakat enzimlerin üretim maliyetleri fazla olduğu için ülkemizde yeterli sayıda yerli üretici bulunmamaktadır. Tekstil, deterjan ve gıda sektöründeki üretim yapan fabrikalar bu talebi karşılamak için ithal enzim kullanmaktadır. Sanayi Bakanı'mızın açıklamasına göre, 2020 yılında 150 milyon dolar değerinde enzim ithal edilmiştir (12).

### 3. ÇÖZÜM

Lipolitik enzimler üstün biyolojik özellikleri sahip olduğu için kumaş terbiyesinde, deterjan üretiminde, gıda ve hayvan yemlerinin işlenmesinde, kozmetik, ilaç ve kimyasal maddelerin sentezlenmesinde ve kâğıt üretimi gibi birçok endüstriyel proseste kullanılırlar (13).

Kimyasallara göre, sanayilerde uygulanan endüstriyel işlemleri, yüksek aktivite ile kısa sürede gerçekleştirirler. Birçok sektörde geniş kullanım alanı ile su ve enerji israfını önlerler. Toksik değildir ve bozunurken doğaya zarar vermezler. (14)

Literatüre göre, lipaz üretimi için bir organik azot kaynağının ve yağlar, yağ asitleri gibi lipidik karbon kaynağının bulunması yeterlidir (15). Lipaz üretimini etkileyen faktörlerden biri de karbon kaynağıdır (16).

Projemiz, sıfır atık projesine destek vermek üzere, kahve atıklarından endüstriyel enzimlerin üretilmesidir. Yapmış olduğumuz ön analizler sonucunda, kahve atığının %10-15 yağ, %35-40 şeker ve %6,5-9,5 protein içerdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, içerik olarak besi yerinde bulunması istenilen karbon ve azot kaynağı olarak protein içeren kahve atığı, besi yeri olarak kullanılarak proses maliyeti düşürülecek ve katma değeri yüksek lipaz enzimine dönüştürülecektir.

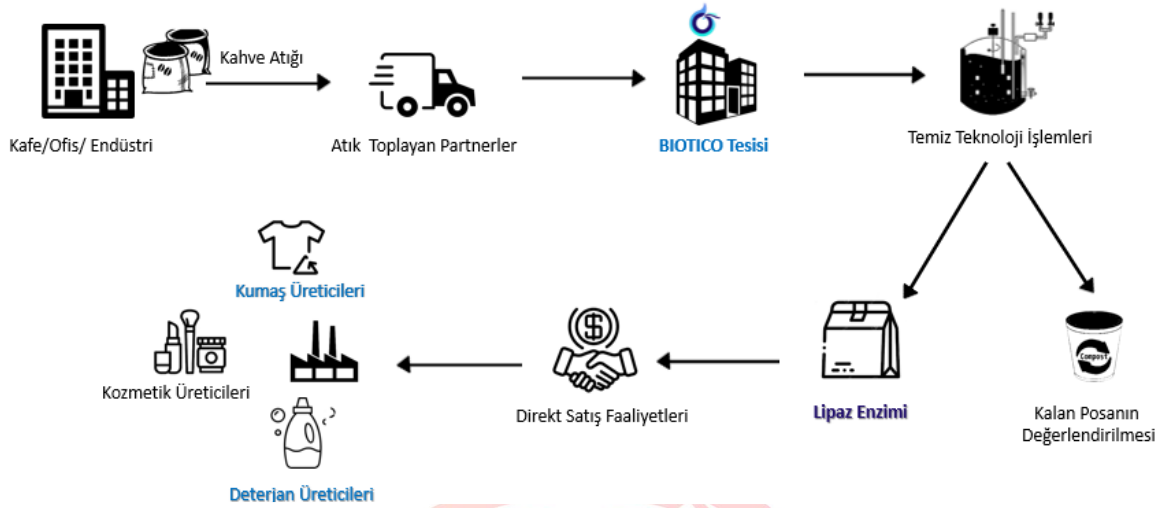
Projemiz sayesinde, kahve atığı gibi yüksek potansiyele sahip organik atıklar hammadde olarak kullanılacak ve ithal edilen enzimler yeşil teknoloji ile yerli olarak üretilecektir. Kahve atığının biyoproseste kullanımını sonunda ortaya çıkacak posa ise kompost haline getirilerek dolgu malzemesi ve kompost gübre olarak kullanım potansiyeli incelenecektir. Ayrıca, geliştirmekte olduğumuz proje sayesinde oluşan atık miktarını ve bu atıkların yaydığı sera gazını engellemek, yerli üretime teşvik ederek dışa bağımlılığı azaltmak ve biyoteknolojik kalkınmaya destek olmak, sanayiye ve ülkeye sağlanacak önemli hizmetlerdir.

### 4. YÖNTEM



**Şekil 4.1.** BIOTICO Ekibinin Kahve Atıklarından Ürettiği Laboratuvar Ölçekli Lipaz Enzimi

Ekibimiz yüksek lisans öğrencileri ve akademisyenlerden oluşmaktadır. Bu sayede, üniversitemiz bünyesinde, kahve atıklarından laboratuvar ölçekli lipaz enzimi üretimini gerçekleştirmiş ve patent alma sürecine girmiş bulunmaktayız.



Şekil 4.2. BIOTICO Ekibinin Geliştirdiği Operasyon Zinciri

### Kahve Atıklarından Lipaz Enzimi Üretimi Hacminin Artırılma Çalışması

Kafe, ofis, restoran ve fabrika gibi yerlerden organik atık toplayan şirketler ile anlaşılacak ve anlaşılan çözüm ortaklarını topladığı kahve atığı, BIOTICO tesisinde fermantasyon teknolojisiyle lipaz enzimine dönüştürülecektir. İşlem sonucunda çıkacak organik içeriği alınmış kahve telvesi kompost maddesi olarak değerlendirilecektir.

Erlen boyutunda gerçekleştirilen üretim optimizasyonu sonrası, ölçek büyütme çalışması gerçekleştirilerek, 3 litrelik reaktörde üretim yürütülecektir. Bu adımda çözünmüş oksijen konsantrasyonunun üretime etkisi, farklı miktarda hava besleme ve karıştırma hızları denenerek, 3 litrelik reaktörde optimum üretim koşulları belirlenecektir. Ardından üretilen enzimlerin optimum çalışma sıcaklığı, pH değeri ve kararlılığı belirlenecektir.

### Enzimlerin Aktivitesinin ve Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Enzimlerin aktiviteleri, uygun aktivite tayin analiz yöntemleri kullanılarak tespit edilecektir. Birim lipaz aktivitesi (U), belirlenen analiz koşulları altında 1 dakika süre içinde, 1 umol p-nitrofenili serbest bırakan enzim miktarı olarak tanımlanacaktır. Tüm aktivite deneyleri bağımsız olarak üç kez gerçekleştirilecek ve sonuçların ortalama değerleri alınarak standart sapmaları ile birlikte hesaplanacaktır.

Protein konsantrasyonu ise standart olarak sığır serum albumini kullanılarak Coomassie Blue G-250 bağlama yöntemi ile ölçülecektir. Üretilen enzimin endüstriyel kullanılabilirlik performansının denemesi için özel lekeli kumaşlar üzerinde yıkama testleri yapılacaktır.

### Üretim Sonucu Çıkan Posanın Değerlendirilmesi

Son olarak mikroorganizmalar tarafından organik içeriği kullanılan, kahve atığı posasının kompost olarak kullanılması incelenecektir. Ayrıca kahve atığı kullanarak farklı ürünler üreten firmalar ile iletişime geçilerek, üretim sonrası elde edilen posanın diğer ürünlerin üretiminde kullanılabilme potansiyeli incelenecektir.

Projemiz sonlandığında TRL 7 seviyesine ilerlenmesi hedeflenmektedir. Bu anlamda gereken ürün-saha doğrulaması, ürünün nihai ve en kaliteli hale getirilip potansiyel müşterilere sunulması gerçekleştirilecektir.

## 5. YENİLİKÇİ (İNOVATİF) YÖNÜ

Enzimler katma değeri yüksek ürünlerden biridir. Literatürde belirtilen enzimlerin üretim yöntemlerinde genellikle azot kaynağı olarak maya ekstraktı ve pepton; ana karbon kaynağı olarak zeytinyağı kullanılmaktadır (17). Her yıl ivme kazanarak büyüyen enzim sektöründe ise mevcutta geliştirilen enzim üretim prosedürleri kapsamında ayçiçek, soya, fındık, susam, yer fıstığı ve palmye yağları gibi bitkisel yağlar da yoğun olarak kullanılmaktadır.

Fakat bahsedilen bütün yağlar, gıda olarak da tüketilmektedir. Bu nedenle, biyoproseslerde gıda temelli hammaddelerin kullanılması sürdürülebilir prosesler geliştirilmesi açısından uygun değildir. Kullanılan yağların derişimleri (%1-%2) dikkate alındığında, lipaz gibi enzimlerin üretiminde karbon kaynağı olarak yağ içeriği yüksek hammadde kaynağı seçmek oldukça önemlidir. Üstelik, birçok kimyasalın ve organik gıda maddelerinin kullanılmadan, kahve atığı ve suyun kullanılmasıyla, operasyonel maliyet yaklaşık %30 oranında düşürülecektir.

Buna ek olarak, Türkiye’de yer alan şirketler genellikle tedarikçi olarak yer almakta olup burada formülize ederek satmakta; yerli üretim hedefi ile kurulan şirketler ise ulusal ihtiyaç kapasitesini karşılayamamaktadır.

Bununla birlikte, dünyada yıllık 10 milyon tondan fazla kahve tüketilmesine rağmen kahve atığını kullanarak ürün üreten şirketlerin sayısı beklenenin oldukça altındadır. Globalde kahve atığını kullanarak ürün üreten şirketler genellikle bardak, yakıt kütükleri; ülkemizde ise pipet ve kompost gübre üretmektedir. Bu ürünler karbon ayak izini azaltmak için etkili olsa da sıfır atık konseptine tamamen uymamaktadır. Kullanıldıktan sonra atılan ürünler, karbon ve azot içermeye devam ettiği için doğada risk ve kirlilik oluşturmaya devam etmektedir.

Belirtilen proje sayesinde, biyomühendislik prensipleri ile yeşil teknoloji entegre edilerek, kahve atığı mikroorganizmalar aracılığıyla endüstriyel enzimlere dönüştürülecektir. Organik içeriği mikroorganizmalar tarafından kullanılan kahve atığı posasının, pipet, bardak gibi ürünlerin üretiminde kompost maddesi olarak kullanımı değerlendirilecek ve sıfır atık konsepti desteklenecektir. Buna ek olarak, endüstriyel atık olarak yüksek miktarda açığa çıkan zengin içeriğe sahip kahve atığının literatürde henüz enzimlerin üretilmesinde kullanılmadığı tespit edilmiş ve patent sürecine girilmiştir.

Çalışmamızdaki en önemli katma değerler; ilaç, deterjan ve gıda başta olmak üzere birçok sanayinin ihtiyaç duyduğu bu ticari mikrobiyal enzimlerin üretim maliyetini düşürmek, kahve telve atığı gibi organik atıkların geri dönüşümünü sağlamak, kaynak azaltması yaparak sıfır atık projesine destek olmak ve geliştirmeyi hedeflediğimiz proses sayesinde yerli üretimi teşvik ederek dışa bağımlılığımızı azaltmaktır.

## 6. UYGULANABİLİRLİK

Günümüzde, her alanda olduğu gibi, biyoteknoloji alanında da her geçen gün yerli üretimin önemi artmaktadır. Özellikle Covid-19 pandemisi sonrasında, ülkelerin kendi üretim proseslerini geliştirmelerinin önemi daha fazla anlaşılmıştır. İş fikrimiz sayesinde, organik hammadde kaynaklarından biri olan kahve telvesi atığının kullanılmasıyla, dışa bağımlılığımıza sebep olan lipaz gibi enzimler endüstriyel ölçekte üretilecektir.

Laboratuvar ölçekli ürettiğimiz ve endüstriyel ölçekte üretmeyi hedeflediğimiz enzimler, kimyasal katalizörlerin aksine, çevre dostu yapıya, düşük rafinaj maliyetine ve proses güvenliğine sahiptir. Ayrıca reaksiyonları, kimyasal reaksiyonlardan 100 milyon-10 milyar kat daha hızlı arttırmakta ve kaynaklar etkin ve verimli kullanımını sağlayarak enerji tasarrufu

sağlamaktadır. Üstelik, yenilenebilir doğal kaynaklardan üretilmeleri ve biyobozunur olmaları nedeniyle hava, su ve toprak kirliliğini engellemektedir.

Atıkların geri dönüştürülmesi ise gıda maddesi olarak kullanılacak doğal maddelerin tüketimini azaltır, kaynakların ekonomik olarak kullanılmasını sağlar, su ve enerji tasarrufu sağlar, atık toplayıcılara istihdam sunar ve atıkları katma değerli ürünlere dönüştürerek ülke ekonomisinin güçlenmesine yardımcı olur. Böylece, insan sağlığına zarar verecek çöp atıklara engel olur ve sera gazı emisyonlarını engelleyerek çevre korunmasına katkı sağlar. Geri dönüştürülen her ton kahve atığı sayesinde 2470 m<sup>3</sup> CO<sub>2</sub> ve 340 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub> önlenir.

## 7. TAHMİNİ MALİYET VE PROJE ZAMAN PLANLAMASI

Proje takvimi zaman çizelgesinde özetlenmiş ve iş paketlerinin açıklaması tablo altında verilmiştir.

**Tablo 7.1.** İş Planı Çizelgesi

İ.P No.1: Üretimde Kullanılacak Üretici Mikroorganizmadan Çalışma Bankalarının Hazırlanması												
Ara Faaliyetler	Kas-21	Ara-21	Oca-22	Şub-22	Mar-22	Nis-22	May-22	Haz-22	Tem-22	Agu-22	Eyl-22	Eki-22
2.1) Canlı hücre sayısının belirlenmesi												
2.2) Hücrelerin saflığının belirlenmesi												
2.3) Ana çalışma bankalarının hazırlanması												
İ.P No.2: Kahve Atıklarından Enzim Üretimi Prosesinin Gerçekleştirilmesi ve Optimizasyonu												
Ara Faaliyetler	Kas-21	Ara-21	Oca-22	Şub-22	Mar-22	Nis-22	May-22	Haz-22	Tem-22	Agu-22	Eyl-22	Eki-22
2.1) Farklı katı-sıvı oranlarının, pH ve sıcaklık aralıklarında enzim üretiminin laboratuvar ölçekli olarak optimize edilmesi												
2.2) Üretim kapasitesini artırma için çalışma hacmini artırma denemesi												
İ.P No.3: Enzimin karakterize edilmesi ve MSDS dokümanlarının hazırlanması												
Ara Faaliyetler	Kas-21	Ara-21	Oca-22	Şub-22	Mar-22	Nis-22	May-22	Haz-22	Tem-22	Agu-22	Eyl-22	Eki-22
3.1) Üretilen lipaz enziminin optimum çalışma parametrelerinin belirlenmesi												
3.2) Özel yıkama testleri denemeleri												
3.3) Oluşan ürünlerin kullanılabilirliği ve posanın değerlendirilerek sıfır atık prosesinin uygulanması												

**İş Paketi 1:** Prosesine uygun olarak, üretimde kullanılacak mikroorganizmadan, çalışma bankalarının hazırlanması sağlanacaktır. Bu aşamada, mikroorganizmanın, güvenli olarak, uzun süre korunmasını sağlamak oldukça önemlidir. Bu nedenle, çalışma bankaları he ay yenilenecek ve oluşturulan yeni çalışma bankalarının stabilitesi ve saflığı kontrol edilecektir.



**Şekil 7.1.** Çalışma Bankalarının Hazırlanma Süreci

**İş Paketi 2:** Ardından proses optimizasyonu için kahve atığı belli sıcaklık aralıklarında, farklı tampon çözeltiler aracılığıyla, her sefer, sadece, bir parametre değiştirilerek, istatistiksel deney uygulamalarıyla, optimum üretim koşulları belirlenecektir. Optimizasyon Plackett–Burman ve yüzey yanıt yöntemi kullanılarak gerçekleştirilecektir. Erlen düzeyinde gerçekleştirilen optimizasyon sonunda, ölçek büyütme çalışması gerçekleştirilecek ve 3 litrelik reaktörde üretim gerçekleştirilecektir. Üretilen enzimin teknik özelliklerini belirlemek için farklı sıcaklık ve pH

aralığında spesifik aktivitesi analiz edilecektir.

**İş Paketi 3:** Üretilen enzimlerin optimum sıcaklık, pH değerleri, sıcaklık ve pH kararlılıkları belirlenecektir. Enzimlerin aktiviteleri, uygun aktivite analiz yöntemleri kullanılarak belirlenecektir. Lipaz aktivitesi Yalcın ve arkadaşları (Yalcın vd., 2014) tarafından açıklanan yöntem kullanılarak belirlenecektir. Bir birim lipaz aktivitesi (U), analiz koşulları altında 1 dakika süreyle 1 umol p-nitrofenili serbest bırakan enzim miktarı olarak tanımlanır. Tüm aktivite deneyleri bağımsız olarak üç kez gerçekleştirilecek ve sonuçların ortalama değerleri alınarak, standart sapmalar ile birlikte hesaplanacaktır. Protein, standart olarak sığır serum albumini kullanılarak Coomassie Blue G-250 bağlama yöntemi ile ölçülecektir. Özel lekeli kumaşlar üzerinde yıkama testleri yapılacak ve ürünün verimliliği test edilecektir. Son olarak ise şeker ve yağ içeriği alınan kahve atığının kalan posasının kompost olarak kullanılması ile bitkilerin büyümesine etkisi gözlenecektir. Ayrıca kahve atığı kullanarak farklı ürünler üreten firmalar ile iletişime geçilerek, üretim sonrası elde edilen posa, firmalara verilerek presleme yöntemi ile pipet gibi katı ürünlerin oluşturulma potansiyeli incelenecektir.

**Tablo 7.2.** Enzim Üretimi İçin Elzem Cihazlar

İş Paketi		Proje Geneli				
Gider S.No	Alet/Teçhizat/ Yazılım/Yayın Adı	Adet	Kapasite	Teknik Özellik	Birim Fiyatı (TL)	Toplam Tutar (TL)
	ETÜV	1	48 L	Kurutucu, 5-80°C, 125 güne kadar veri kaydı, iç yüzey yapısı: eloksal kaplı alüminyum, 230 V-50 Hz.	5.900	5.900
	Hava Üflemeli Çalkalamalı İnkübatör	1	30 L	Sıcaklık çalışma sınırları 5°C ile 60°C Kullanılır hacim sıcaklığını gösteren termometre elektronik, rakamsal göstergeli ve 0,1°C hassasiyetle okunur tiptedir.	14.800	14.800
					<b>Toplam</b>	<b>20.700</b>

**Tablo 7.3.** Proje Kapsamında Kullanılacak Sarf Malzeme ve Kimyasallar

Malzeme Adı	Proje Faaliyetlerindeki Kullanım Amacı	Miktarı ve Birimi	Birim Fiyatı (TL)	Toplam Tutarı (TL)
Cam Erlen Dereceli - 100 ml	2. ve 3. iş paketindeki hücre büyütme, erlen düzeyinde üretimin gerçekleştirilmesi ve bazı çözeltilerin ısıtıcı karıştırıcıda karıştırılması Hacim: 100 ml	10.0 adet	15	150
Cam Erlen Dereceli - 250 ml	2. ve 3. iş paketindeki hücre büyütme, erlen düzeyinde üretimin gerçekleştirilmesi ve bazı çözeltilerin ısıtıcı karıştırıcıda karıştırılması Hacim: 250 ml	10.0 adet	25	250
Cam Erlen Dereceli - 500 ml	2. ve 3. iş paketindeki hücre büyütme, erlen düzeyinde üretimin gerçekleştirilmesi ve bazı çözeltilerin ısıtıcı karıştırıcıda karıştırılması Hacim: 500 ml	10.0 adet	30	300
Cam Erlen Dereceli - 1000 ml	2. ve 3. iş paketindeki hücre büyütme, erlen düzeyinde üretimin gerçekleştirilmesi ve bazı çözeltilerin ısıtıcı karıştırıcıda karıştırılması Hacim: 1000 ml	9.0 adet	55	495
Vidalı Kapaklı Falkon Tüpü - 50 ml	Solüsyonların stoklanması ve santrifüj kullanımında sıvının koyulması	50.0 adet	65	3.250

Vidalı Kapaklı Falkon Tüpü - 15 ml	Solüsyonların stoklanması ve santrifüj kullanımında sıvının koyulması	50.0 adet	50	2.500
Plastik Petri Kutusu	Önkültür ve hücre büyütme çalışmalarının büyütülmesi (1 paket 500 adet içermektedir)	2.0 paket	475	950
Pipet Ucu	Laboratuvar deneylerinin her aşamasında ölçülü sıvı aktarımı için gereklidir. (1 paket 500 adet içermektedir.)	10.0 paket	55	550
Dereceli Cam Mezür - 10ml	Kullanılacak sıvıların hacminin ölçülmesi için kullanılır.	4.0 adet	15	60
Dereceli Cam Mezür - 25ml	Kullanılacak sıvıların hacminin ölçülmesi için kullanılır.	4.0 adet	30	120
Dereceli Cam Mezür - 100 ml	Kullanılacak sıvıların hacminin ölçülmesi için kullanılır.	4.0 adet	30	120
Dereceli Cam Mezür - 250ml	Kullanılacak sıvıların hacminin ölçülmesi için kullanılır.	4.0 adet	55	220
Dereceli Cam Mezür - 500ml	Kullanılacak sıvıların hacminin ölçülmesi için kullanılır.	4.0 adet	100	400
Dereceli Cam Mezür - 1000ml	Kullanılacak sıvıların hacminin ölçülmesi için kullanılır.	4.0 adet	165	660
Borosilikat Cam - Şeffaf - Vidalı Kapaklı Şişe - 250 ml	Solüsyonların hazırlanması ve sterilizasyonu	10.0 adet	30	300
Borosilikat Cam - Şeffaf - Vidalı Kapaklı Şişe - 500 ml	Solüsyonların hazırlanması ve sterilizasyonu	10.0 adet	35	350
Borosilikat Cam - Şeffaf - Vidalı Kapaklı Şişe - 1000 ml	Solüsyonların hazırlanması ve sterilizasyonu	10.0 adet	50	500
Borosilikat Cam - Şeffaf - Vidalı Kapaklı Şişe - 2000 ml	Solüsyonların hazırlanması ve sterilizasyonu	10.0 adet	110	1.100
Yeast Extract (500 gr)	Hücre büyütme ve ön kültür çalışması	2.0 kutu	160	320
Tryptone (500 gr)	Hücre büyütme ve ön kültür çalışması	2.0 kutu	360	720
Agar (500 gr)	Hücre büyütme ve ön kültür çalışması	2.0 kutu	485	970
Teknik Alkol - 5 L	sterilizasyon amaçlı sıvı	2.0 kutu	135	270
Bradford's Reagent Reaktif - 1L	Protein ölçüm çalışması için boyar madde	1.0 kutu	892	892
Sodyum Hidroksit	Bazik ortam sağlanması amaçlı	1.0 kutu	505	505
3,5-Dinitrosalicilic acid (100 gr)	Seker tayini için boyar madde	1.0 kutu	1.170	1.170
Asetik Asit %80lik 500 ml	Asidik ortam sağlanması	2.0 şişe	25	50
Hidroklorik Asit (%30 - 33) - 1 L	Asidik ortam sağlanması	2.0 şişe	40	80
Spektrofotometre Küveti	Spektrofotometrik analizde kullanım (1 paket 90 adet içermektedir.)	10.0 paket	90	900
Pepton (500 gr)	Ön kültür ve hücre büyütme amaçlı	1.0 kutu	638	638
Malt Ekstraktı (500 gr)	Ön kültür ve hücre büyütme amaçlı	1.0 kutu	1.030	1.030
Nutrient Broth (500 gr)	Ön kültür ve hücre büyütme amaçlı	1.0 kutu	1.040	1.040
Magnezyum Sülfat - 5 kg	Ön kültür ve hücre büyütme amaçlı	2.0 kutu	120	240
Sodyum Klorür - 5 kg	Ön kültür ve hücre büyütme amaçlı	2.0 kutu	360	720
Mini santrifüj tüpü - 1,5 ml	Çalışma bankalarının derin dondurucuda saklanması (Her paket 10 adet içermektedir.)	15.0 paket	96	1.440
Mini santrifüj tüpü - 2 ml	Çalışma bankalarının derin dondurucuda saklanması (Her paket 10 adet içermektedir.)	15.0 paket	96	1.440
<b>Toplam</b>			<b>24.700</b>	

**Tablo 7.4.** Tahmini Proje Bütçesinin Toplam Dağılımı

Maliyet Kalemi	2021	2022	TOPLAM (TL)
	II. Dönem	I. Dönem	
Alet/Teçhizat/Yazılım/Yayın	10.350	10.350	20.700
Yurtiçi Danışmanlık ve Hizmet Alım	12.500	12.500	25.000
Malzeme	12.350	12.350	24.700
<b>Toplam Maliyet</b>	<b>35.200</b>	<b>35.200</b>	<b>70.400</b>



## 8. PROJE FİKRİNİN HEDEF KİTLESİ

Biyoteknolojik uygulamaların artmasıyla, enzim sektörü gelişmeye açık, büyük bir pazar haline gelmiştir. 2020'de 10 milyar \$ değerinde olan endüstriyel enzim pazarının %7,5 yıllık bileşik büyüme oranı (CAGR) ile 2026'ya kadar 15,4 milyar \$'a ulaşacağı tahmin edilmektedir (18). Ülkemizde ise, Sanayi Bakanımızın açıklamalarına göre, 2020 yılında 150 milyon \$ enzim ithal edilmiştir (11).

Üretmekte olduğumuz laboratuvar ölçekli mikrobiyal lipazlar, tekstil sektöründe kumaş terbiyesinde ve kumaş ağartılmasında, yüzey aktif madde olarak deterjanların formülasyonlarında, gıda sektöründe atıkların yok edilmesi için yapılan biyoremediasyon işleminde, yağlı atıkları temizlemekte, atık suların arıtmında, polyester atıkları indirgemekte, fabrika gazlarının temizlenmesinde, meyve sularından pişirilmiş hazır gıdalara kadar geniş bir ürün yelpazesinin üretiminde kullanılmaktadır (19). Ayrıca bitki ve mikroorganizmalardan elde edilen yağların kimyasal olarak kullanımı sonucu oluşan biyodizel, alternatif bir enerji kaynağıdır. Biyodizel üretimi için yağların kısa zincirli alkol esterlerine dönüşümünde, çevreye zararlı kimyasalların kullanılması yerine, lipazlar kullanılarak basit ve ekonomik bir transesterifikasyon reaksiyonu gerçekleştirilebilir (20). Son olarak, özellikle farklı ilaç ara maddelerinin ve son ürünlerin üretiminde kullanılması ve yüzey aktif ajan üretilebilmesi sebebi ile yerli ve milli ilaç üretimine katkı sağlar.

Yukarıda bahsedildiği gibi, lipaz enzimi tekstil sektöründen ilaç sanayisine kadar birçok sektörde farklı amaçlarla kullanılan ve doğrudan ihtiyaç duyulan bir enzimdir. Dolayısıyla ürün bazlı B2B iş modeline sahip olacak iş fikrimiz, geniş bir müşteri segmentine sahiptir.

Öte yandan, globalde 2018 yılında 210 milyon \$ değerinde olan tekstil sektöründe kullanılan enzimlerin pazarının %3,98 CAGR ile 2026 yılına kadar 285 milyon \$'a ulaşacağı tahmin edilmektedir (21). Ayrıca Türkiye'nin tekstil sektörü dünya sıralamasında ilk 10 ülke arasında olması müşteri sayımızı ve pazarımızın büyüklüğünü göstermektedir (22).

Problem tarafında belirtilmiş olan tekstil sektörünün ihtiyaçları ve enzim kullanım oranları değerlendirilerek tekstil sektöründeki kumaş üreticileri ilk müşteri hedefi kitlesi olarak belirlenmiştir.

Buna ek olarak, projemiz kapsamında, ürün yelpazesi yalnızca kahve atığı ile sınırlı değildir. İlerleyen süreçte farklı organik atıkların işlenmesi ile proteaz, amilaz gibi diğer enzimlerin üretimini üzerine gerçekleştirdiğimiz ön denemeleri de ticarileştirme için harekete geçeceğiz.

## 9. RİSKLER

Risk 1: Ana risklerden biri kahve bileşenlerinin varlığında enzim aktivitesinin belirlenmesidir.

Çözüm: Enzim diyalize edilecek ve ardından aktivite tahlili uygulanacaktır.

Risk 2: Yeni markaların bilinirliklerinin olmaması nedeniyle piyasaya giriş yaşarken problem yaşanmasıdır.

Çözüm: Kahve atıklarının hammadde olarak kullanılması ile endüstriyel enzim üretiminin operasyonel maliyeti düşürülmüş ve yerli üretim teşvik edilmiş olacaktır. Dünya sanayi öncesi döneme göre yaklaşık 1 °C ısınmıştır. Sera gazı emisyonlarının azaltılması için yapılan

çalışmaların sayısı artmazsa 2050 yılında gıda, su ve yaşam alanında yıkıcı etkilere sebep olacak 1,5 °C iklim değişikliği sınırı aşılabacaktır. Bu yüzden şirketler sürdürülebilir kalkınma hedeflerine, geçtiğimiz her yıl daha da odaklanmakta ve üretimlerini karbon nötr hale getirmek ve atıklarını dönüştürmek için çalışmalar yürütmektedir. Dolayısıyla, ilk etapta dağıtılması hedeflenen ücretsiz numunelerin, muadilleri ile aynı performansı gösterdiği kanıtlandıktan sonra ve müşterilerin üretilen ürünü almalarının kendi pazarlama stratejilerine nasıl bir değer kattığı ortaya sunulacaktır. Satılan her ürün için ürünü satın alacak şirketin dolaylı yoldan önlemiş olduğu sera gazı emisyonu da şirketlere rapor olarak sunulacak ve şirketin pazarlama içeriklerinde kullanılacaktır.

## 10. KAYNAKLAR

1. Hasan, F., Shah, A. A., Hameed, A. (2006) Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235–251. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
2. Divakar, S., Manohar, B. (2007) Use of lipases in the industrial production of esters. In *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications* (sayfa, 283–300). Dordrecht: Springer Netherlands. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
3. Anand, N., Kapoor, M., Ahmad, K., Koul, S., Parshad, R., Manhas, K.S., Sharma, R.L., Qazi, G.N., Taneja, S.C., 2007. “Arthrobacter sp.: a lipase of choice for the kinetic resolution of racemic arylazetidinone precursors of taxanoid side chains”, *Tetrahedron: Asymmetry*, 18(9), 1059-69. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
4. Jaeger, K.E., Eggert, T., 2002. “Lipases for biotechnology”, *Current opinion in biotechnology*, 13(4), sayfa,390-97. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
5. Gupta, R., Gupta, N., Rathi, P., 2004. “Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties”, *Applied Microbiology And Biotechnology*, 64(6), 763-81. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
6. Food Loss and Food Waste. (2021). Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021, from <http://www.fao.org/food-loss-and-food-waste/flw-data>
7. International Coffee Organization (ICO). 2020. “Coffee Market Report- June 2020”; International Coffee Organization: London, UK. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
8. Corro, G., Pal, U., Cebada, S., 2014. “Enhanced biogas production from coffee pulp through deligninocellulosic photocatalytic pretreatment”, *Energy Science & Engineering*, 2(4), 177-87. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
9. Janu, E.M., Kamaruddin, M.A. & Norashiddin, F.A. Coffee processing wastewater treatment: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Appl Water Sci* 10, 11 (2020). Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
10. Önöz, E. (2008). İstanbul Teknik Üniversitesi Enerji Enstitüsü Tekstil Sanayinde Enerji Verimliliği Ve Enerji Verimli Motor Sistemleri Yüksek Lisans Tezi Elk. Müh. Evren Önöz Anabilim Dalı: Enerji Bilim Ve Teknoloji Programı: Enerji Bilim Ve Teknoloji. <https://Polen.İtu.Edu.Tr/Bitstream/11527/12751/1/301031042.Pdf> Son erişim tarihi :

13 Haziran 2021

11. (2021). Retrieved from <https://www.dunya.com/e-mercek/livzym-biyoteknoloji-enzimde-150-milyon-dolarlik-ithalati-onleyecek-haberi-603076> Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
12. Barros, M., Fleuri, L. F., MacEdo, G. A. (2010) Seed lipases: Sources, applications and properties - A review. Brazilian Journal of Chemical Engineering. Assoc. Brasileira de Eng. Quimica / Braz. Soc. Chem. Eng Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
13. Tan, T., Lu, J., Nie., K., Deng, L., Wang, F. (2010) Biodiesel production with immobilized lipase: A review. Biotechnology Advances. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
14. Immanuel, G., Esakkiraj, P., Jebadhas, A., Iyapparaj, P., Palavesam, A., 2008. "Investigation of lipase production by milk isolate *Serratia rubidaea*" Food Technology and Biotechnology, 46(1), 60-65. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
15. Esra Büyük, MSc Thesis, 2020., Purification and characterization of lipase produced by *Cryptococcus* strains isolated from petroleum sludge: Assesment of its application in industry . Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
16. Marketsandmarkets.com. 2020. Industrial Enzymes Market Growth & Trends | Size and Share Covid-19 Impact on Industrial Enzymes Market | MarketsandMarkets. [online] Available at:<<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/industrial-enzymes-market-237327836.html>> Son erişim tarihi: 20 Mayıs 2021
17. Guerrand, D. (2017) Lipases industrial applications: Focus on food and agroindustries. In OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids (Vol. 24, p. D403). EDP Sciences. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
18. Balcão, V.M., Paiva, A.L., Malcata, F.X., 1996. "Bioreactors with immobilized lipases: state of the art", Enzyme and Microbial Technology, 18(6), 392-416. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
19. Kumar, S., Mathur, A., Singh, V., Nandy, S., Khare, S.K., Negi, S., 2012. "Bioremediation of waste cooking oil using a novel lipase produced by *Penicillium chrysogenum* SNP5 grown in solid medium containing waste grease", Bioresource Technology, 120, 300-4. Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021
20. Textile Enzymes Market Size | Forecast - 2026 | Verified Market Research. (2021). Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021, from <https://www.verifiedmarketresearch.com/product/textile-enzymes-market/>
21. (Uludağ İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, 2018) İstanbul Teknik Üniversitesi Enerji Enstitüsü Tekstil Sanayinde Enerji Verimliliği Ve Enerji Verimli Motor Sistemleri Yüksek Lisans Tezi Elk. Müh. Evren Önöz Anabilim Dalı: Enerji Bilim Ve Teknoloji Programı: Enerji Bilim Ve Teknoloji. <https://polen.itu.edu.tr/bitstream/11527/12751/1/301031042.pdf>, Son erişim tarihi : 13 Haziran 2021,

