

F. SEYYAR, 2018

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PHALANGIUM OPILIO LINNAEUS, 1758 (OPILIONES) TÜRÜNDEN KİTİN
ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

FATMA SEYYAR

Ağustos 2018

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PHALANGIUM OPILIO LINNAEUS, 1758 (OPILIONES) TÜRÜNDEN KİTİN
ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

FATMA SEYYAR

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Hakan DEMİR

Ağustos 2018

Fatma SEYYAR tarafından **Prof. Dr. Hakan DEMİR** danışmanlığında hazırlanan "**Phalangium opilio Linnaeus, 1758 (Opiliones) Türünden Kitin Eldesi ve Karakterizasyonu**" isimli bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Hakan DEMİR, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Yavuz SÜRME, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Musa KAR, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT

MÜDÜR V.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Fatma SEYYAR



ÖZET

PHALANGIUM OPILIO LINNAEUS, 1758 (OPILIONES) TÜRÜNDEN KİTİN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

SEYYAR, Fatma

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman

: Prof. Dr. Hakan DEMİR

Ağustos 2018, 27 sayfa

Kitin, teknolojinin birçok alanında yüksek kullanım potansiyeline sahip bir biyomateryaldir. Eklembacaklıların dış iskeletlerinin, mantarların hücre duvarlarının ve deniz omurgasızlarının kabuklarının temel yapısında bulunmaktadır. Ayrıca, selülozdan sonra doğada en bol bulunan ikinci biyopolimerdir. Fakat yapısında azot taşıyan biyopolimer düşünüldüğünde kitin en çok bulunan biyopolimerdir. Son yıllarda deniz kabukluları ve mantarlar dışında böcekler, araknidler, mercan ve kabukluların yumurtaları ve hatta yarası guanosu alternatif kitin kaynakları olarak önerilebilmektedir. Bu çalışmayla bir otbiçen olan *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünün dış iskeletinden ilk kez kitin elde edilmiş ve FTIR, SEM, TGA ve XRD değerlerine bakılarak kitinin karakterizasyonu yapılmıştır. Elde edilen kitinin termal kararlılığının yüksek, nanofiber ve nanopor yüzeyli ve alfa formda olduğu görülmüş ve alternatif bir kitin kaynağı olabileceği önerilmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Phalangium opilio*, Kitin, Opiliones

SUMMARY

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CHITIN FROM *PHALANGIUM OPILIO* LINNAEUS, 1758 (OPILIONES)

SEYYAR, Fatma

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor

: Prof. Hakan DEMİR

August 2018, 27 pages

Chitin is a biomaterial which has a high potential of use in many areas of technology. It is found as a structural material in the outer skeletons of arthropods, the cell walls of mushrooms and the shells of marine invertebrates. It is also the second most abundant biopolymer in nature after cellulose. But when considered the biopolymers with nitrogen in their structure, chitin is the most abundant biopolymer. In recent years, apart from crustaceans and mushrooms, of arachnids, corals and crustacean eggs and even bat guanosu have been proposed as alternative chitin sources. In this study, it was firstly extracted chitin from external skeleton of an opilionid species, *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758, and the isolated chitin was characterized by FTIR, SEM, TGA and XRD. The obtained chitin has been found to have high thermal stability, nanofiber and nanoporous surface and alpha form, and it is suggested that it can be an alternative chitin source.

Keywords: *Phalangium opilio*, Chitin, Opiliones

ÖN SÖZ

Kitin, doğada en yaygın biyopolimerlerden biri olup yapısal olarak selüloza benzer. İlk olarak mantar hücre duvarında keşfedilmiş daha sonra böceklerden izole edilmeye başlanılmıştır. Doğada yoğun olarak, kabuklu su canlılarında ve böcek, myrapod ve araknidlerin dış iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarının yapısında bulunmaktadır. Kitin hidrofobik olduğundan suda ve birçok organik çözücüde çözünmeyen bir polisakkarittir. Bu yüzden ticari olarak ve bilimsel çalışmalarda kitinin deasetilasyonu sonucu kolayca elde edilebilen ve toz, jel, film ve fiber gibi değişik formlara dönüştürülebilen kitosan kullanılmaktadır. Dolayısıyla günümüzde doğal kitin ve bunun türevi olan kitosan tıptan gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan tekstile kadar bir çok alanda kullanılabilir. Bu çalışmada daha önce kitin izolasyonu bir otbiçen türünden kitin elde edilerek karakterizasyonu yapılmıştır. Bu şekilde yeni kitin kaynaklarının keşfedilmesi daha üstün özellikli kitin ve kitosan eldesinin araştırılması, bu alandaki çalışmalara yön verecek ve farklı bakış açıları kazandıracaktır.

Tez çalışmamın yürütülmesinde bana her türlü desteği sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hakan DEMİR'e, materyal temini konusundaki yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Kemal KURT'a, laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Yavuz SÜRME'ye ve bana maddi, manevi her türlü desteği sağlayan eşime ve öğrencularıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
ÖN SÖZ.....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMALAR.....	ix
BÖLÜM I GİRİŞ.....	1
1.1 Kitin ve Kitosan Hakkında Genel Bilgiler.....	1
1.2 Kitin ve Kitosanın Bazı Biyolojik Özellikleri ve Kullanım Alanları.....	2
1.3 Otbiçenlerin Genel Özellikleri.....	4
BÖLÜM II LİTERATÜR ÖZETİ.....	8
BÖLÜM III MATERYAL VE METOD.....	13
3.1 Analizler.....	15
BÖLÜM IV BULGULAR, TARTIŞMA VE SONUÇ.....	16
4.1 FT-IR analizi.....	17
4.2 TGA analizi.....	18
4.3 XRD analizi.....	19
4.4 SEM analizi.....	19
KAYNAKLAR.....	22
ÖZ GEÇMİŞ.....	27

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kitin, Kitosan ve Selülozun Kimyasal Formülleri.....	1
Şekil 1.2. Kitin ve kitosanın kullanım alanları ve bazı uygulamalarda kullanım şekilleri...4	
Şekil 1.3. Bir otbiçenin dış morfolojisi.....	5
Şekil 1.4. <i>Phalangium opilio</i> Linnaeus, 1758 türünün genel görünüşü.....	7
Şekil 3.1. <i>Phalangium opilio</i> Linnaeus, 1758 türüne ait örnekler.....	13
Şekil 3.2. <i>Phalangium opilio</i> Linnaeus, 1758 türünden kitin eldesi.....	14
Şekil 3.3. Kitin karakterizasyonunda kullandığımız cihazlar.....	15
Şekil 4.1. <i>Phalangium opilio</i> Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin FT-IR spektrasi.....	17
Şekil 4.2. <i>Phalangium opilio</i> Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin TGA analizi.....	18
Şekil 4.3. <i>Phalangium opilio</i> Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin XRD analizi.....	19
Şekil 4.4. <i>Phalangium opilio</i> Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin SEM ile elde edilmiş yüzey morfolojisi.....	20

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrad Derece
%	Yüzde
β	Beta
α	Alfa

Kısaltmalar

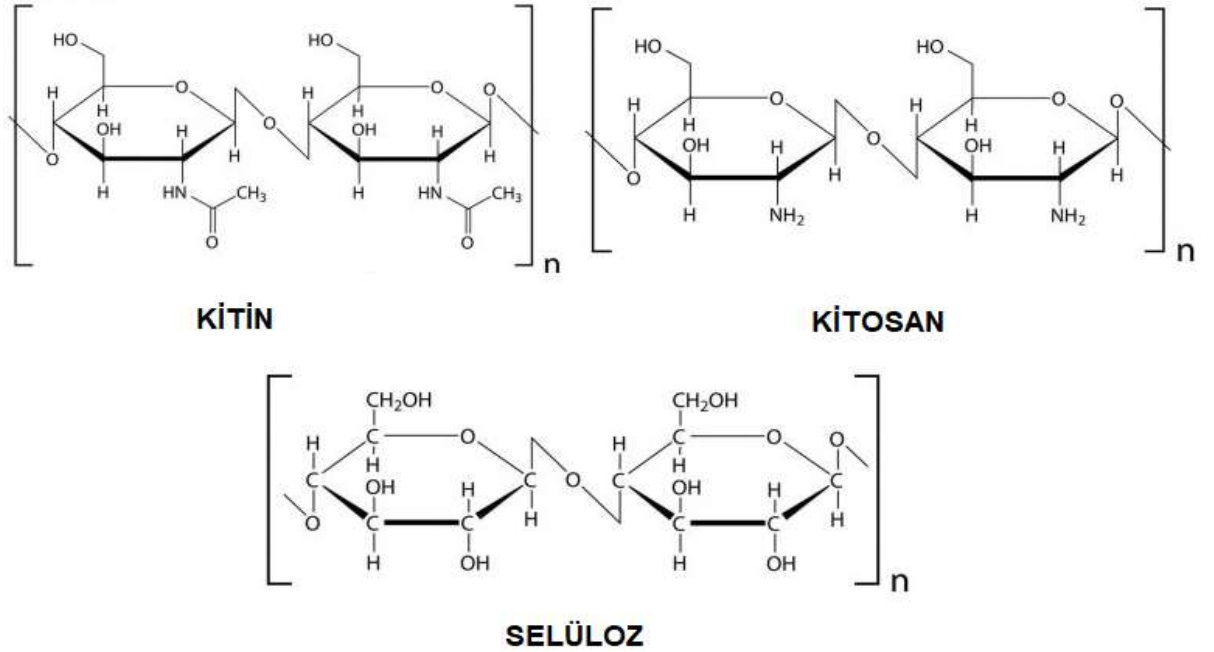
Kısaltmalar	Açıklama
cm	Santimetre
CrI	Kristalinite
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HCl	Hidroklorik Asit
mm	Milimetre
nm	Nanometre
NaOH	Sodyum Hidroksit
Ph	Hidrojen Potansiyeli
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	Termal Gravimetrik Analizi
XRD	X-ışını Kırınımı Yöntemi

BÖLÜM I

GİRİŞ

1.1 Kitin ve Kitosan Hakkında Genel Bilgiler

Kitin, zırh anlamına gelen yunanca “kiton” kelimesinden türetilmiştir. İlk olarak 1811 yılında mantarlardan elde edilmiş olup daha sonra 1830 lu yıllarda ise böceklerden izole edilmiştir. Kitin, doğada yaygın bulunan bir biyopolimer olup yapısal olarak selüloza benzerdir. Son zamanların en çok çalışılan biyolojik makromolekülleri kitin ve bunun bir türevi olan kitosandır. Doğada çok yaygın olarak bulunan ve bir aminopolisakkarit olan kitinin, ticari amaçlar için yıllık selüloz kadar üretildiği tahmin edilmektedir. Kitin ve kitosanın; biyobozunur olması, doğal olması, çevre kirliliğine neden olmaması, bitki ve hayvan dokuları için uyumlu olması ve toksik etkisinin olmaması gibi nedenlerden dolayı endüstri alanında oldukça yaygın bir şekilde tercih edilir. (Aranaz vd., 2009).



Şekil 1.1. Kitin, Kitosan ve Selülozun Kimyasal Formülleri

Eklembacıkların dış iskeletlerinin, mantarların hücre duvarlarının ve deniz omurgasızlarının kabuklarının temel yapısında bol miktarda bulunmaktadır. Ayrıca, yarası guanosu, böcek ve kabuklu yumurtaları vb. gibi doğal yapılarda kitin bulunmaktadır (Kaya vd., 2014c). Kitin, genellikle omurgasız hayvanların vücutlarında

bulunan bir biyopolimer olmasına karşın son zamanlarda yapılan bir çalışma da omurgalı canlılarda da varlığı kaydedilmiştir (Tang vd., 2015). Yapılan bu çalışmalar göstermektedir ki; dünyadaki tüm canlıların %70'inden fazlasının yapısında kitin bulunmaktadır.

Kitin, suda ve birçok organik çözücüde çözünmeyen hidrofobik bir polisakkarittir. Kitinin deasetilasyonu sonucu kitosan bileşikleri oluşur. Kitosan fonksiyonel bir amino grubunun bulunması açısından ilginç polisakkaritlerdir, çünkü bu durumda kitosanan istenilen özelliklerin kazandırılabilir ve belirli biyolojik özellikler için modifiye edilebilir. Kitin ve kitosan bir çok özelliğinden dolayı farklı bilim dalları tarafından büyük ilgi görmektedir. Özellikle tıp, eczacılık, gıda, kozmetik, su arıtımı, veterinerlik ve diğer birçok mühendislik dallarında uygulama şansı bulmaktadır (Aranaz vd., 2009; Arbia vd., 2013; Benhabiles vd., 2012; Brunner vd., 2009; Chien vd., 2016; Coma vd., 2002).

1.2 Kitin ve Kitosanın Bazı Biyolojik Özellikleri ve Kullanım Alanları

Biyouyumluluk: Kitin ve türevi olan kitosan canlı dokuları için çok uyumludur, fakat bu uyumluğun derecesi preparasyon metoduna, molekül ağırlığına ve deasetilasyon derecesine bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

Biyolojik olarak parçalanabilirliği: Kitin ve türevi olan kitosan memelilerde doğal olarak bulunmamakla birlikte; lizozim, papain, pepsin vb. enzimlerle canlı içinde parçalanabilmektedir. Lizozim, kitin ve kitosanın parçalanmasında önemli bir rol oynar ve moleküldeki asetil grupların dağılımı ve zincirlerin uzunluğu biyolojik olarak parçalanabilirliğini etkileyen en önemli faktörlerden bir kaçıdır.

Hemostatik: Kitosan hemostatik özelliğe sahiptir. Hemostatik mekanizması klasik pıhtılaşma yolundan bağımsızdır ve eritrosit hücre membranı ile kitosan arasındaki etkileşmeye bağlıdır (Rao ve Sharma, 1997). Kitosanın antikoagulant aktivitesi pozitif elektrik yükü ile ilgilidir çünkü kırmızı kan hücresi membranları negatif yüklüdür ve kitosan daha çok etkilidir. Kitosanın moleküler ağırlığı aynı zamanda kırmızı kan hücreleriyle bağ yapmasını veya pıhtılaşmasında etkilidir.

Ağrı kesici etkisi: Kitin ve türevi olan kitosanın her ikisi de ağrı kesici etkiye sahiptirler. Bazı araştırmacılara göre, kitosanın kitinden daha fazla ağrı kesici özelliği vardır ve kitosanın ağrı kesici özelliği yaralı bölgeye salınan iyonları absorbe etmesi ile ilgilidir.

Antitümör aktivitesi: Kitosan ve türevlerinin antitümör aktivitesinin olduğunu rapor edilmiştir. alışmalar, farelerde yapılan deneylerde, düşük moleköl ağırlıklı kitosanın akciğer karsinomasına karşı önemli derecede antimetastazik etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir.

Antimikrobiyal aktivite: Kitin, kitosan ve bunların türevlerinin mantar, bira mayası, bakteri gibi mikroorganizmalara karşı olan antimikrobiyal aktiviteleri son zamanlarda önemli derecede dikkati çekmektedir. Kitosanın patojen mikroorganizmalar üzerine etkisi çeşitli araştırmacılar tarafından ele alınmıştır. Yapılan bir çalışmada, kitosanın %1-1,5 gibi yüksek konsantrasyonlarda *Staphylococcus aureus*, % 0,5-1 konsantrasyonlarda *Escherichia coli* üzerinde tam inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir (Wang, 1992).

Antioksidatif aktivite: Kitosanın farklı oksijen radikallerine karşı, deasetilasyon derecesine bağlı olmak üzere hidroksil, alkalın ve süperoksit radikallerde bulunan zararlı gazların dışarı atılmasında etkili olduğu görölmüştür.

Kitin ve kitosanın endüstri ve teknolojinin birçok dalında kullanım alanları mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda Şekil 1.2’de verilmiştir. Son zamanlarda kitin ve onun bir türevi olan kitosan üzerine gerçekleştirilen çalışmaların hız kazanması ve bu alanda yeni uygulama sahalarının keşfedilmesiyle bu biyopolimere olan ihtiyaç giderek artmaktadır ve yeni kitin kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Yara iyileştirmelerde	Yüksek DD kitosan kitin üzerinden tercih edilir	
İlaç verme sistemleri	Yüksek DD ve Mw	
Gene transferi	DD? 80	
İskelet (doku mühendisliğinde)	DD yaklaşık 85 (iyi yapı ve tomurcuklanma) Yüksek Mw	
Hücre hareketsizliği	Kitosan kitin üzerinden tercih edilir (yüksek DD)	
Enzim hareketsizliği	Enzime, hareketsizlik metoduna ve reaksiyona bağlıdır Düşük kül içeriği	
	Tutunma	Kitin nötr veya a yüklü proteinler
	Kovalent	Kitosan, - yüklü protein yüksek DD
	Kapsülleme	Kitosan-Yüksek Mw ve DD
Besin katkı maddesi	Yüksek DD VE Mw	
Besin koruma	Yüksek DD, Minimum-düşük Mw	
Emülsiyon ajanı	Düşük Mw, Yüksek vizikozite	
Atık su ile muamele	Kirlenmeye ve suyun pH, iyonik kuvveti gibi şartlara bağlıdır. Genellikle kitin üzerinden elde edilen kitosan tercih edilir. Yüksek DD ve düşük kristalite önemlidir	
Metal indirgenme	Metal indirgenme kitosanın karakterine bağlıdır Yüksek DD ve düşük Mw	
	Morfoloji ve Mw bağlı	

DD: Deasetilasyon derecesi; Mw: moleküler ağırlık

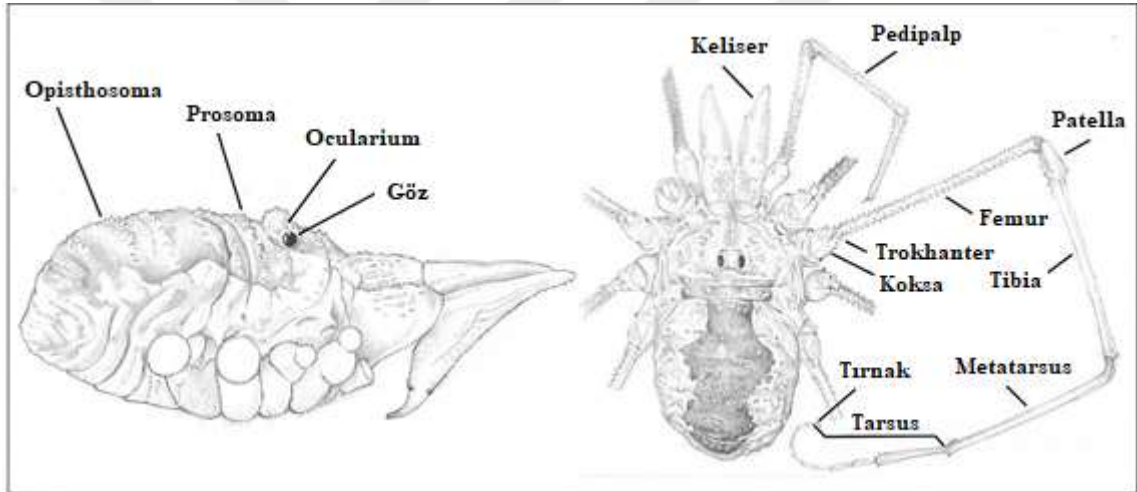
Şekil 1.2. Kitin ve kitosanın kullanım alanları ve bazı uygulamalarda kullanım şekilleri.

Otbiçenlerin Genel Özellikleri

Eklembacaklılar şubesinin örümceğimsiler (Arachnida) sınıfına dahil olan otbiçenler (Opiliones) takımı, tür sayısı bakımından örümcekler ve kenelerden sonra gelen üçüncü büyük takımdır. Şimdiye kadar dünya üzerinde yayılış gösteren 6125 türü tespit edilmiştir (Kury 2012).

Otbiçenler orman, çayır, fundalık ve tarım arazileri gibi çok farklı habitatlarda uyum sağlamış karasal araknidlerdir. Bu yaşam alanlarındaki, toprak, taş, kaya ve ağaç kabuklarının altında, döküntü içlerinde ve bitkilerin üstünde yaşamsal faaliyetlerini sürdürürler. Günümüzde otbiçenler diğer karasal araknidler gibi kara ekosistemlerinde yaşayan böcekler ve diğer eklembacaklıların etkili predatörü olarak bilinirler. Böylece doğal ekosistemlerin dengeli bir şekilde sürdürebilirliğine katkı sağlarlar (Çorak 2010).

Otbiçenler diğer araknid gruplarından, vücutlarının tek parça olması (prosoma ve opisthosoma birbiriyle birleşmiştir), opisthosomanın segmentli yapı göstermesi, bir çift gözlerinin bir çıkıntı (ocularium) üzerinde yerleşmiş olması, koku bezlerinin olması fakat zehir ve ağ bezlerinin olmaması gibi özellikleriyle ayrılırlar (Hillyard ve Sankey 1990) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Bir otbiçenin dış morfolojisi ((<https://ohioline.osu.edu/factsheet/ent-68>) sitesinden alınarak revize edilmiştir, 24.07.2018)

Otbiçenlerin zehir bezleri olmadığından kendilerini savunmak için vücutlarının ön tarafında bulunan koku bezlerinden yararlanırlar. Vücudun ön tarafında salgının çıkmasını sağlayan bir çift delik yer alır. Otbiçenleri elimizle tuttuğumuzda bu deliklerden sıvı halde salgının damladığını görürüz. Bu salgyya bazı insanlar hasas olup bazen alerjik rahatsızlıklara yolaçabilir (Kurt 2005). Otbiçenlerin besinlerini; diğer otbiçenler ve araknidler, küçük salyangozlar, böcekler, tesbih böcekleri, yer solucanları ve çeşitli omurgasız hayvanların ölmüş artıkları oluşturur. Bazı otbiçen grupları ise herbivordur ve meyve artıkları, muz ve mantarlarla beslenirler.

Sindirim sisteminin ön kısmı dar bir boru şeklindedir. Orta bağırsaktan kese şeklinde büyük kör bağırsaklar ayrılır. Arka bağırsak kısa bir tüp şeklinde olup anüse bağlanır (Çorak 2010).

Dolaşım sistemi; kalp ve kalten çıkan ön ve arka aortlarından oluşur. Kalp, bir ya da iki çift ostiyumlu kısa boru şeklindedir. Ön aort damarı orta bağırsağın ön-dorsal yüzeyinden yemek borusu, merkezi sinir sistemi ve büyük sinirlerin etrafına doğru uzanır. Arka aort ise orta bağırsağın dorsal yüzeyinden arka kısma doğru uzanır (Pinto-da-Rocha vd., 2007).

Malpigi tüpleri bulunmadığından boşaltım üçüncü ve dördüncü çift koksaların dip kısmından açıklığı bulunan bir çift koksal bez ile yapılır. (Çorak 2010).

Trake solunum sistemi görülür. Stigmalar ikinci abdominal sternitin yan tarafından dışarıya açılır. (Hillyard and Sankey 1990).

Sinir sistemi, bir beyin ile yutak altı gangliyon kümesinden oluşur. Duyu organları, prosomanın ön ve orta kısmında bulunan ve ocularium denen bir tümsek üzerinde yerleşen iyi gelişmiş bir çift göz, duyu kılları ve lir organından ibarettir. Ses çıkarma organı (stridülasyon) sadece birkaç türde bulunur (Çorak 2010).

Otbiçenler ayrı eşeylidirler. Her iki eşeyde de genital açıklık son bacak çiftinin arasındadır. Bu delikten erkeklerde boru şeklinde uzun bir penis, dişilerde ise bir yumurta koyma borusu (ovipositor) uzanır. Yumurtalık yarım halka şeklindedir. Buradan geniş bir uterus içeren, dar bir yumurta kanalı ayrılır. Testis de yumurtalık gibi yarım halka şeklindedir. Sperm kanalları bir çifttir. Bunlar birçok kıvrım yaptıktan sonra birbirleriyle birleşir (Kurt 2005). Penis genital açıklıktan dışarı uzanır ve yapısal özellikleri bakımından tür teşhisinde kullanılan önemli bir karakterdir (Hillyard and Sankey 1990). İç döllenme görülür. Yumurtalar küçük olup 0,5 mm çapındadır. Dişiler bir üreme dönemi sonunda 20-600 kadar yumurtayı çeşitli habitatlara bırakırlar. Yumurtalardan çıkan yavrular anneye benzer ve 5-7 kez deri değiştirdikten sonra ergin hale gelirler. Yaşam döngüleri genellikle bir yıllıktır. Phalangiidae ve Leiobunidae familyasının üyelerinin yumurtalarından ilkbahar aylarında yavrular çıkar, daha sonra yumurtadan çıkan yavrular birkaç kez deri değiştirdikten sonra yaz aylarında veya sonbahar aylarında eşeyssel

olgunluğa erişirler. Bu sürenin sonunda birçok birey yumurta bırakır ve ölü. Böylece tipik bir otbiçenin yaşam süresi yumurta koyduktan sonra 5-6 ay sürer. Bazı türler ise farklı bir yaşam döngüsüne sahiptirler. Bu türler Haziran ve Temmuz ayının başında yumurtalarını bırakırlar ve yazın sonuna doğru yumurtadan yavrular çıkar. Ergin olmayan bireyler kışı kar altında geçirirler. Bir sonraki yılın ilkbahar ve yaz aylarında erginliğe ulaşırlar.

Tez materyali olan *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türü, Opiliones takımının Phalangidae familyasına ait bir türüdür. Ülkemizde yaygın olarak bulunan daha çok otluk alanlarda yaşamını sürdüren bir türdür. Bu türün tez materyali olarak seçilmesindeki en büyük nedenler, ülkemizde yaygın olması ve araziden kolay temin edilebilmesidir.



Şekil 1.4. *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünün genel görünüşü ((<https://www.naturespot.org.uk/species/phalangium-opilio>), 24.06.2018)

Bu tez çalışmanın amacı, bir otbiçen türü olan *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758'dan dünyada ilk kez kitin izolasyonu yapmak ve elde edilen kitini FTIR, TGA, XRD ve SEM analizleri kullanılarak karakterize etmektir.

BÖLÜM II

LİTERATÜR ÖZETİ

Kitin ve türevleri üzerine birçok çalışmanın yapıldığı önemli bir biyopolimerdir ve günümüzde, biyoloji, endüstri, biyomedikal ve tarımsal uygulamalarda kullanıldığından dolayı ekonomik ve ticari değere sahiptir. Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde yeni kitin kaynakları bulmak ve kitin ve kitosanın yeni uygulama alanlarını belirlemek üzerine çalışmaların yoğunlaştığı görülmektedir. Genellikle, deniz ürünleri endüstrisinde en fazla atık ürüne sahip olan yengeç ve karides en önemli ticari kitin kaynaklarıdır. Ancak, bu geleneksel kitin kaynaklarına her mevsim yeterli miktarda ulaşamama durumu ve daha nitelikli kitin arayışı böcek ve araknid gruplarından kitin eldesini ön plana çıkarmıştır (Gonil ve Sajomsang, 2012).

Kitin eldesi için daha çok deniz kabuklularının atıklarından kuvvetli asit ve baz uygulamalarına dayandığından bunların yoğun kullanımları zaman süreci içerisinde çevreye zararlı olabilmektedir. Bu yüzden, alternatif biyolojik metodlar üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bunlar daha çok enzim ya da doğrudan mikroorganizma aracılığı ile kitin izolasyonunu gerçekleştirmek üzerinedir (Simpson vd., 1994; Synowiecki vd., 2003).

Kitinin doğada α , β ve γ olmak üzere 3 formda bulunmasına rağmen en çok α formda bulunur. Shushizadeh vd., (2015), *Sepia pharaonis* türünden elde ettiği kitin ile β formdaki kitine yeni bir kaynak organizma kazandırmışlardır. β ve α formlardaki kitinin özelliklerini kıyaslamak için Hajji vd. (2014) üç farklı sucul organizmayla çalışmışlardır. Yengeç ve karides kabuğundan (*Carcinus mediterraneus*, *Penaeus kerathurus*), elde edilen α kitin ile ve mürekkep balığından (*Sepia officinalis*) elde edilen β kitinin yapılarındaki fark ^{13}C NMR, FT-IR ve XRD ile karakterize edilmiştir. ^{13}C NMR analizi sonucunda α kitinler C3 ve C5 karbon sinyallerinde ayrılırken, β kitinde bu sinyaller birleşerek tek bir rezonans oluşturmuştur. XRD analizi, α kitinin β kitinden daha kristalin yapıya sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, kitinin özelliğinin organizma grubuna göre değiştiğini göstermektedir.

Şimdiye kadar çok sayıda mercanın üyesi olduğu Cnidaria şubesinin kitin içerip içermediği hakkında hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki bu eksikliği gidermek için Bo vd. (2012), Akdeniz Siyah mercanı olan *Parantipathes larix* (Esper, 1792)'in iskelet yapısını kitin izolasyonu için kullanmışlardır. Birçok teknik 5 (13C NMR, FT-IR, Raman, NEXAFS (Yakın Kenar X-ışını Soğurma İnce Yapısı), Morgan-Elson analizi ve Calcofluor White boyama) kullanılarak izole edilen kitin analiz edilmiştir. İlk kez bu çalışma ile mercanların saplarında kitin olduğu ispatlanmıştır.

George vd., (2011), tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus flavus*, *Botryodiplodia theobromae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium* spp. ve *Phoma* spp. mantar türleri seçilmiştir. NaOH ve asetik asit kullanarak mantarlardan kitosan ekstre edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre *Aspergillus flavus*'dan 57 mg/g, *Cladosporium cladosporioides*'dan 25.2 mg/g ve *Phoma* spp. türünden 31.1 mg/g kitosan izole edilirken, *Fusarium* spp. ve *Botryodiplodia theobromae* mantarlarından kitosan elde edilememiştir. Kitosan FTIR spektroskopisi ile analiz edilmiştir. FTIR spektrumlarında 3000 cm⁻¹ ve 3500 cm⁻¹ geniş bantlar gözlenirken, 2885 cm⁻¹, 1650 cm⁻¹, 1589 cm⁻¹, 1326 cm⁻¹ ve 1080 cm⁻¹ değerleri civarında da zayıf pikler kaydedilmiştir.

Limam vd., (2011), tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Parapenaeus longirostris* ve *Squilla mantis* türlerinden izole edilen kitin daha yararlı çözünen olan kitosana dönüştürülmüştür. Bu ürünlerin, antimikrobiyal ve anti-fungal özellikleri gibi biyolojik aktiviteleri de belirlenmiştir. Üretilen kitin ve kitosanın FTIR ile karakterize edildiği çalışmada spektrumda 1552 cm⁻¹ ile 1652 cm⁻¹'de pik verdiği gözlenmiştir.

Thirunavukkarasu vd., (2011), tarafından yapılan çalışmada *Oratosquilla quinquentata* ve *Oratosquilla nepa* türleri seçilmiştir. 20'Ger g örneğin kullanıldığı çalışmada *O. quinquentata*, *O. nepa* türlerinde sırasıyla 2.125 g ve 2.145 g kitin izole edilmiştir ve kitin verimleri % 10.625 ve % 10.725 olarak belirlenmiştir. FTIR spektrumlarında *O. quinquentata* 569.00 cm⁻¹, 1070.77 cm⁻¹, 1370.41 cm⁻¹, 1555.02 cm⁻¹ ve 1656.82 cm⁻¹'de, *O. nepa* ise 529.15 cm⁻¹, 695.23 cm⁻¹, 897.35 cm⁻¹, 1028.95 cm⁻¹, 1200 cm⁻¹, 1324.28 cm⁻¹, 1371.11 cm⁻¹ ve 1634.55 cm⁻¹'de bantlar gözlenmiştir.

İsa vd., (2012), tarafından yürütülen çalışmada yengeç, kerevit, karides ve salyangozdan demineralizasyon ve deproteinizasyon aşamaları sonrasında kitin elde edilmiştir. En fazla

kitin % 8.15 oranıyla karidesten, daha sonra yengeçten % 7.80, kerevitten % 2.88, salyangozdan ise % 0.44 oranında kitin izole edilmiştir. Yengeçte % 4.16 protein, % 1.30 yağ, % 74.12 karbonhidrat bulunduğu tespit edilmiştir. İzole edilen kitinler XRD ve SEM ile karakterize edilmiştir. SEM mikrofotografılarında karides ve yengeçten izole edilen kitinde fibriler ve granüler yapı gözlenmiştir. Kerevitin kitin yüzeyi paralel bir iplik oluşturacak şekilde liflerden oluştuğu belirlenmiştir. XRD analizi farklı kaynaklardan izole edilen kitinlerde, farklı tepe noktaları ve farklı kristal derecelerinin olduğunu göstermiştir.

Liu vd., (2012), tarafından yapılan çalışmada *Holotrichia parallela* türü böcekten kitin izolasyonu için 1 M HCl ve 1 M NaOH çözeltilerinin ardından renksizleştirme işlemi için % 1 potasyum permanganat çözeltisi kullanılmıştır. Bu türden % 15 oranında kitin izole edilmiştir. izole edilen kitin XRD, SEM ve elemental analiz teknikleri ile karakterize edilmiştir. Kitinin deasetilasyon derecesi % 93.1 olarak hesaplanmıştır. XRD sonuçlarında 9.2° ve 19.1° iki güçlü pik, 12.6°, 22.9° ve 26.2° üç zayıf pik kaydedilmiştir. Kitinin kristalitesi % 89.05 olarak belirlenmiştir. FTIR spektrumunda ise alfa kitin için karakteristik olan 1.654 cm⁻¹, 1.560 cm⁻¹ ve 1.310 cm⁻¹ bantları kaydedilmiştir.

Kitin doğada selülozdan sonra en çok bulunan ikinci polimerdir. Deniz kabuklularının atıkları kitin olarak bilinen ve doğada kendiliğinden oluşan bu biyopolimerin en önemli kaynağını oluşturmaktadır. Kitin ve türevleri, fizikokimyasal özellikleri bakımından diğer biyopolimerlerden farklı olup, çok çeşitli alanda kullanılmaktadır. Kitin deasetilasyon işlemi sonrasında kitosan adı verilen başka bir değerli polimere dönüşür. Bu çalışmada, deniz kabukluları atıklarından büyük ölçekte kitin ve kitosan elde edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sırasında önce demineralizasyon ve deproteinizasyon aşamaları sonucunda büyük ölçekte kitin elde edilmiştir. Daha sonra elde edilen kitin, 90°C ve 120 °C sıcaklıklarda 1 ve 3 saat boyunca gerçekleştirilen deasetilasyon işlemi sonucu kitosana dönüştürülmüştür. Ayrıca, büyük ölçekli üretimde kullanılan reaktörler, kurutucu gibi ekipmanların tasarımları ve bunların yanısıra tesis yerleşim planı bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilmiştir. Kitosan üretimi sırasında 120 °C ve 1 saatlik işlemin kitosan üretimi için en uygun olduğu görülmüş ve süre arttırmanın sadece elde edilen kitosanın molekül ağırlığını etkilediği sonucuna ulaşılmıştır (Özel vd., 2013).

Abdulkarim vd., (2013)'nin yaptığı çalışmada midye kabuğunun kitin içeriği belirlenmiştir. Midye kabuğundan izole edilen kitin ve kitosan, FTIR ve elemental analiz ile karakterize edilmiştir. Kitosan için FTIR spektrumları 3447 cm⁻¹ ve 1477 cm⁻¹'de karakteristik bant vermiştir. Midye kabuğunun, % 51.62 mineral içeriğe, % 21.32 kitin içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Deasetilasyon derecesi % 60.66 olarak hesaplanmıştır.

Kaya vd., (2013) tarafından yapılan çalışmada alternatif kitin kaynağı olarak *Daphnia magna* yumurtasının (resting eggs) kitin içeriği tespit edilmiştir. Kitin verimi % 18-21 olarak belirlenmiştir. FTIR, element analizi, TGA, XRD ve SEM çalışmaları ile karakterize edilen kitinin alfa kitin karakterinde olduğu açığa çıkmıştır. Başka bir çalışmada, *Gammarus argaeus* kitin izolasyonu için araştırılmıştır. *G. argaeus*'dan izole edilen kitin FTIR, TGA, XRD ve SEM analiz teknikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Bütün bu analizler *G. argaeus*'dan izole kitinin alfa formunda olduğunu göstermiştir. *G. argaeus*'un kuru ağırlık üzerinden % 11-12 kitin içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. İzole edilen alfa kitinin SEM çekimleri nanofibriller (11-55 nm) ve gözenekli (yaklaşık 150 nm) bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir.

Mantarların hücre duvarları, böceklerin ve diğer artropodların dış iskeletleri, krustase kabuklarının temel yapısal bileşeni olan kitini parçalama yeteneğine sahip kitinaz enzimleri hem bitki patojeni olan mantarlara karşı fungusit hem de zararlı böceklerle karşı insektisit olarak biyolojik amaçlı kullanılabilir. Bu çalışmada ülkemizdeki çeşitli kültür ve yabani bitkilerin toprak üstü aksamı veya kök rizosferinden izole edilen bakteri kültürlerinden, tütünde yapılan aşırı duyarlılık test sonuçlarında bitki patojeni olmadıkları teyit edilen 158 izolat seçilip patojen fungus olarak sebzelerde kök çürüklüğüne neden olan *Fusarium culmorum*'a karşı antifungal aktivite testi yapılmıştır. Antifungal aktiviteye sahip olan 31 izolata kitinaz enzimi aktivitesi testi yapılarak içlerinden en yüksek aktivite gösteren *Pseudomonas fluorescens* MF-1 ve *Bacillus subtilis* TV-125A izolatu seçilmiştir. Bu iki izolatu ürettikleri kitinaz enzimi amonyum sülfat çöktürmesi metoduyla kısmi saflaştırılmıştır. Kısmi saflaştırılan enzimlere optimum pH ve optimum sıcaklık analizleri yapılmıştır. Sonuç olarak *Pseudomonas fluorescens* MF-1 izolatu % 0-20 çöktürme aralığında %30,8 verimle 23,34 kat ve *Bacillus subtilis* TV-125A izolatından % 0-20 çöktürme aralığında % 15,7 verimle 22,34 kat kısmi saflaştırma yapılmış ve saflaştırılan enzimlerdeki optimum aktivite pH 4,0'de ve 50oC sıcaklıkta

gözlenmiştir. *Pseudomonas fluorescens* MF-1 izolatu pH 11,0'de % 36 aktivitesini korurken, *Bacillus subtilis* TV-125A izolatu aktivitesinin % 71'ini koruduğu saptanmıştır. Ayrıca *Pseudomonas fluorescens* MF-1 izolatının 80oC'de % 50 aktivitesini korurken, *Bacillus subtilis* TV-125A izolatının ise % 42 aktivitesini koruduğu belirlenmiştir (Şenol vd., 2014).

Kaya vd. (2014) yılında yeni bir kitin kaynağı olarak yarasa gübresinden kitin elde etmişlerdir. Bu bilinen kitin elde etme yöntemlerinin dışında daha az masrafla kitin elde etme yöntemi olup bu alanda çalışan bilim insanlarının ilgisi çekmiştir.

Literatürdeki çalışmalar kitin ve kitosanının günümüzde halen popüler bir konu olduğu ve çalışmaların bu alanda hızla devam ettiği göstermektedir. Ülkemizde özellikle son yıllarda Kaya ve arkadaşları, bu alanda çok sayıda değerli çalışmalar yaparak ülkemiz araştırmacılarının bu alana ilgisini çekme yönünde önemli katkılar sağlamışlardır.

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOD

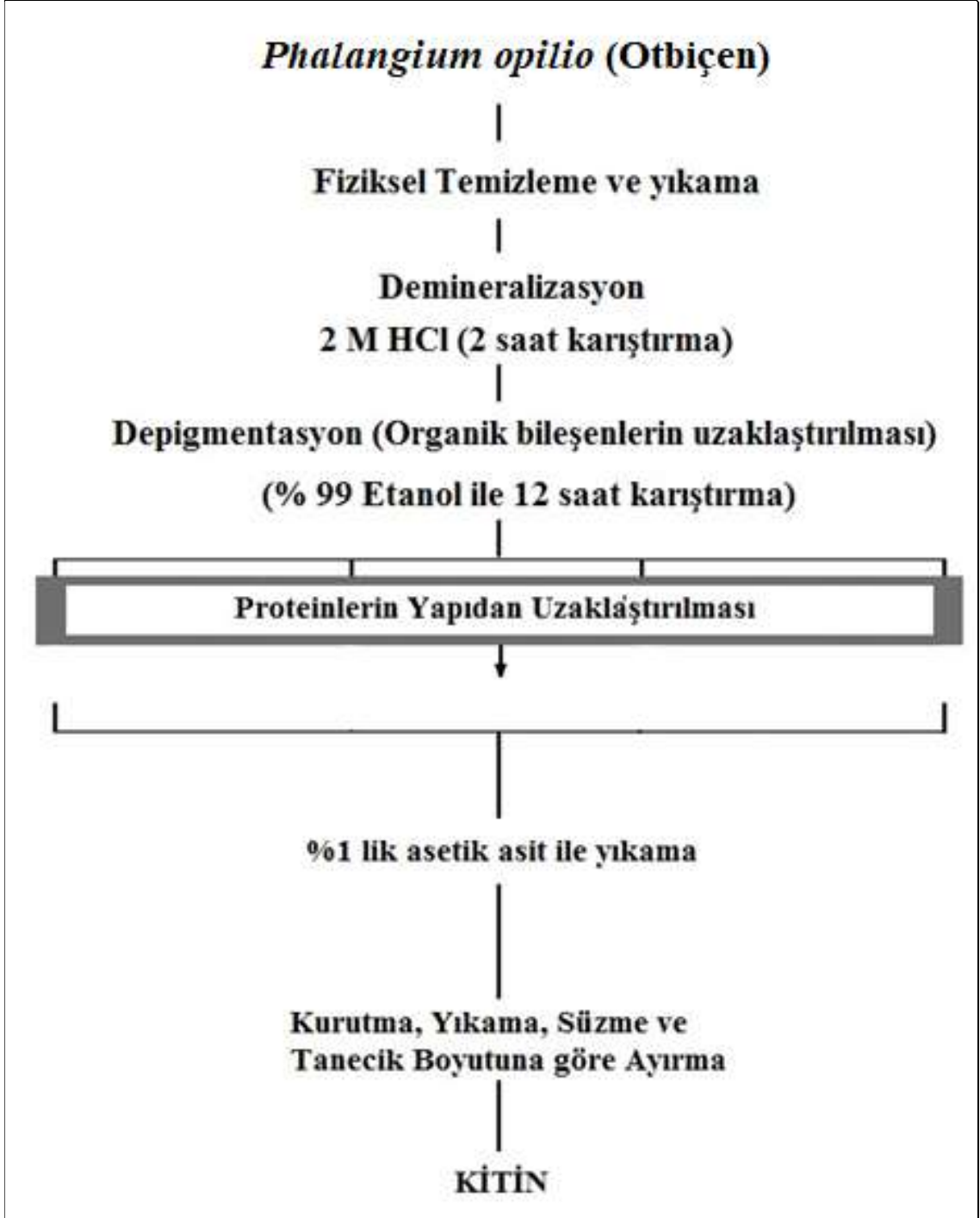
Bu tez çalışmasında kullanılan *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türüne ait örnekler, genellikle ülkemizde bu canlılar üzerine uzmanlaşmış olan Doç. Dr. Kemal KURT'un kişisel koleksiyonundan temin edilmiştir. Elde edilen bu otbiçen türüne ait örnekler, laboratuvarında aşağıdaki aşamalardan geçirilerek kitin eldesi gerçekleştirilmiştir.

1. Demineralizasyon için yıkanarak öğütülen örnekler HCl ile muamale edildi.
2. Depigmentasyon için HCl çözeltisinden çıkarılan ve yıkanarak nötralleştirilen örnekler yapılarında bulunan organik bileşikler ve pigmentlerin uzaklaştırılması için etanol ile yaklaşık 12 saat karıştırıldı ve sonrasında saf su ile yıkandı.
3. Deproteinizasyon için eldeki numune NaOH ile muamale edildi ve ardından aseton ile ekstraksiyonu yapılarak kurumaya bırakıldı. Kitin elde edildi.



Şekil 3.1. *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türüne ait örnekler

Phalangium opilio Linnaeus, 1758 türünden kitin eldesi için gerekli süreç Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.2. *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden kitin eldesi

Elde edilen kitinin karakterizasyonunu belirlemek için Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı’nda FTIR, TGA, XRD ve SEM analizleri yaptırıldı.

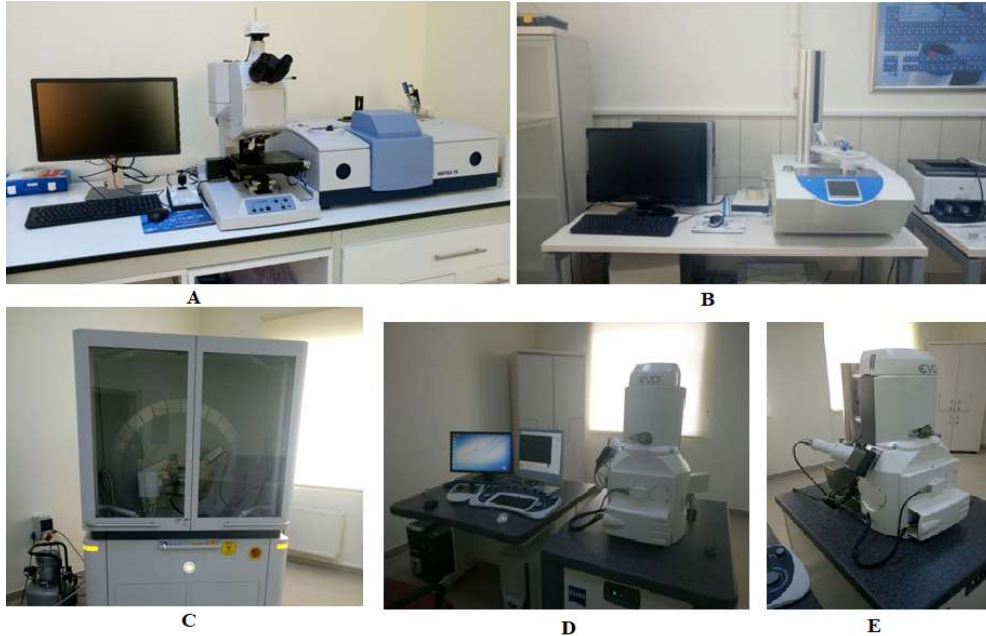
3.1 Analizler

FTIR analizi için *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden elde edilen kitinin infrared spektrumları, Bruker Marka Vertex 70 model FTIR Spektrometre 4000-625 cm frekans aralığında ölçüldü ve asetilasyon derecesi, denklem kullanılarak hesaplandı.

TGA analizi için Linseis STA PT1600 analiz cihazı kullanıldı ve bu işlem 10 ° C/ dk'lık bir ısıtma hızında gerçekleştirildi. Kitinin termal bozulmasına bağlı olarak TG ve DTG eğrilerinin elde edildi.

XRD analizi için Panalytical Marka empyrean model XRD cihazı kullanıldı. Elde edilen kitin XRD spektrumları, Rigaku D max 2000 sisteminde 45 ° için 5 ° 2 0 aralığında ölçüldü ve elde edilen kitinin Kristal index değeri Crl hesaplandı.

SEM analizi için elde edilen kitinden daha net görüntü elde etmek için numunelerin yüzeyi Sputter Coater (Cressingto Auto 108) marka cihaz ile altınla kaplandı ve sonrasında yüzey morfolojisini incelemek için EVO LS 10 ZEISS marka cihaz kullanılarak fotoğrafları çekildi.



Şekil 3.3. Kitin karakterizasyonunda kullandığımız cihazlar. Bruker Marka Vertex 70 model FTIR Spektrometresi (A), Linseis STA PT1600 marka TGA cihazı (B), Panalytical Marka empyrean model XRD (C), Zeiss Marka evo 40 model SEM (D), EDX Marka Edax (E)

BÖLÜM IV

BULGULAR, TARTIŞMA VE SONUÇ

Phalangium opilio Linnaeus, 1758 türünde kitin eldesi yapılmış ve elde edilen kitinin FTIR, TGA, XRD ve SEM kullanılarak fizikokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışmada otbiçenlerden ve bu türden ilk kez kitin eldesi yapılmış ve bu kitin karakterize edilmiştir. Çalışılan türün sistematik kategorisi aşağıda verilmiştir:

Şube: Arthropoda (Eklembacaklılar)

Altşube: Chelicerata (Keliserli Hayvanlar)

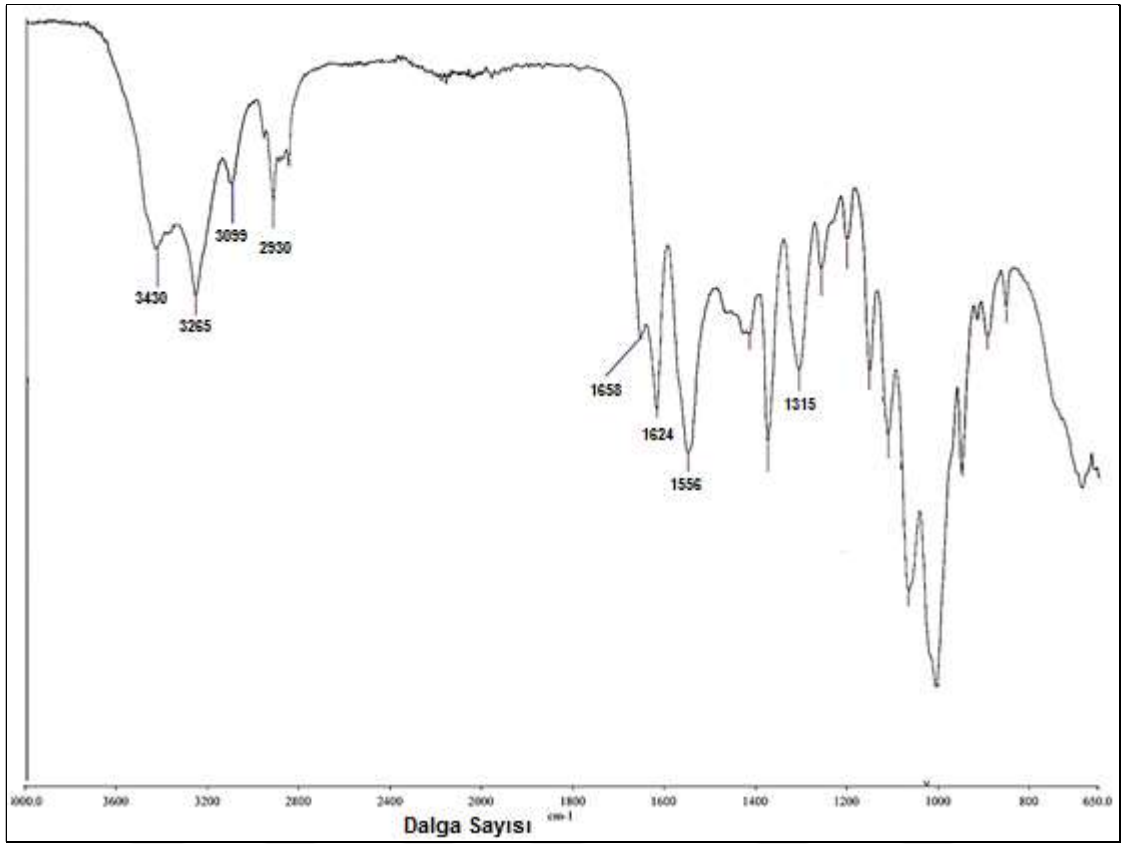
Sınıf: Arachnida (Örümceğimsiler)

Takım: Opiliones (Otbiçenler)

Aile: Phalangiidae

Tür: *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758

4.1 FT-IR analizi

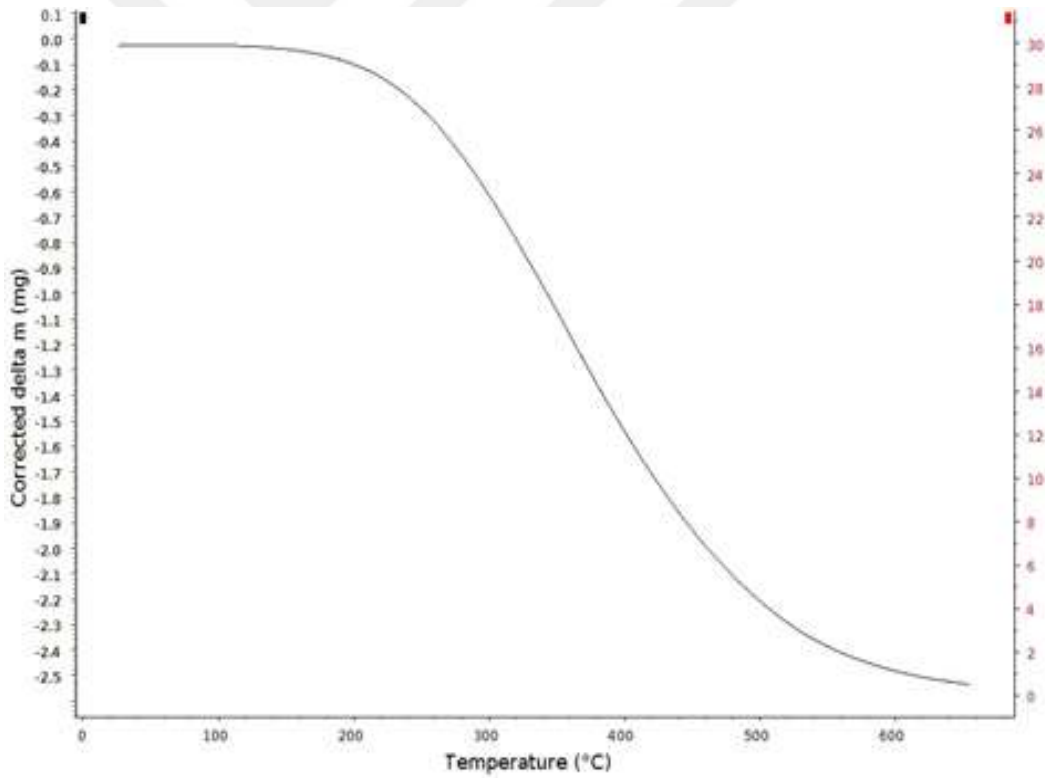


Şekil 4.1. *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin FT-IR spektrarı

Phalangium opilio Linnaeus, 1758 türünden elde edilen kitinin FT-IR analizi sonucunda elde edilen spektrumlar Şekil 4.1’ de verilmiştir. Spektrumlardan da görüldüğü gibi kitinin belirli karakteristik pikleri vardır ve spektrumlarda bu pikler açıkça görülmektedir. 3400 cm^{-1} ile 3200 cm^{-1} bölgesinde yer alan bu pikler, kitinin yapısında da bulunan –O–H, –N–H gruplarına ait gerilme titreşimleri ve moleküller arası hidrojen bağlarına ait gerilme titreşimlerine ait piklerdir. 1556 ve 1315 cm^{-1} de görülen iki pik, sırasıyla amid II (–N–H) bükülme ve amid III (–C–N) gerilme pikleridir. Kitine ait spektrumda 1624 cm^{-1} de görülen pik amid I gerilimine, 1658 cm^{-1} ’de görülen pik ise yapıda bulunan –C=O (karbonil) grubuna ait spesifik gerilme pikleridir. Literatüre göre ikiye ayrılmış amide I bandı kitinin alfa formda olduğunu işaret etmektedir. Bölünmemiş (tek) amide I bandı ise kitinin beta formda olduğunu gösterir (Jang vd., 2004a). Kitinin deasetilasyonu sonrasında 1556 cm^{-1} de görülen pik, yeni oluşan NH_2 gruplarına ait bükülme pikleridir. Tüm bu sonuçlar bu otbiçen türünden kitinin oldukça başarılı bir şekilde elde edildiğini kanıtlamaktadır.

4.2 TGA analizi

Termogravimetrik analiz elde edilen malzemenin sıcaklığa olan dayanımını öğrenmede yaygın olarak kullanılmaktadır (Dutta vd., 2004). Mevcut çalışmada da *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden elde edilen kitinin sıcaklıkla olan bozulmalarını ortaya koymak için TGA analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar kitinin sıcaklık etkisi altında iki basamakta kütle kaybı yaşadığını göstermektedir. İlk basamakta 100°C civarındaki kütle kayıpları yapıdan uzaklaşan sudan kaynaklanmaktadır. İkinci basamakta gözlenen önemli kütle kayıpları ise kitinin bozulmaya başladığını göstermektedir (Şekil 4.2a). Literatür taraması sonucu farklı organizmalardan izole edilen kitinlerin de mevcut çalışmadaki gibi iki farklı basamakta kütle kaybı gözlenmiştir (Jang vd., 2004b., Juarez-de la Rosa vd., 2011; Sajomsang ve Gonil 2010). Bu sonuçlarda mevcut çalışmada *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden kitinin başarılı bir şekilde üretildiğini göstermektedir.

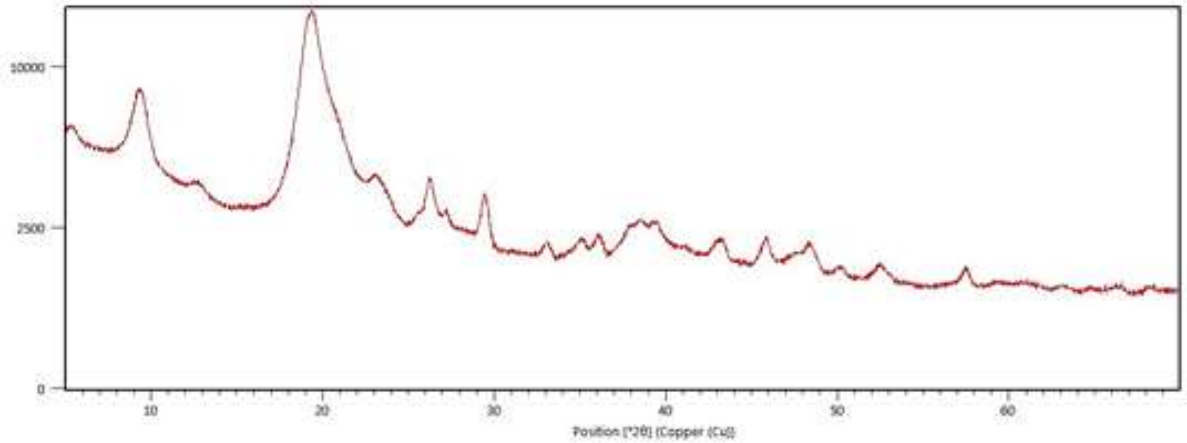


Şekil 4.2. *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin TGA analizi

4.3 XRD analizi

Phalangium opilio Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin XRD analiz sonuçları Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Literatüre bakıldığında kitin ve türevlerinin XRD analizleri sonucu 9° ve 19° civarında iki keskin pik gözlenmiştir (Jang vd., 2004a., Liu vd., 2012; Sajomsang ve Gonil 2010). Bu piklerden 19° civarında olan 9° civarında olana göre daha şiddetlidir. Bunlar kitin ve türevlerinin anlaşılmasında kullanılan karakteristik XRD pikleridir.

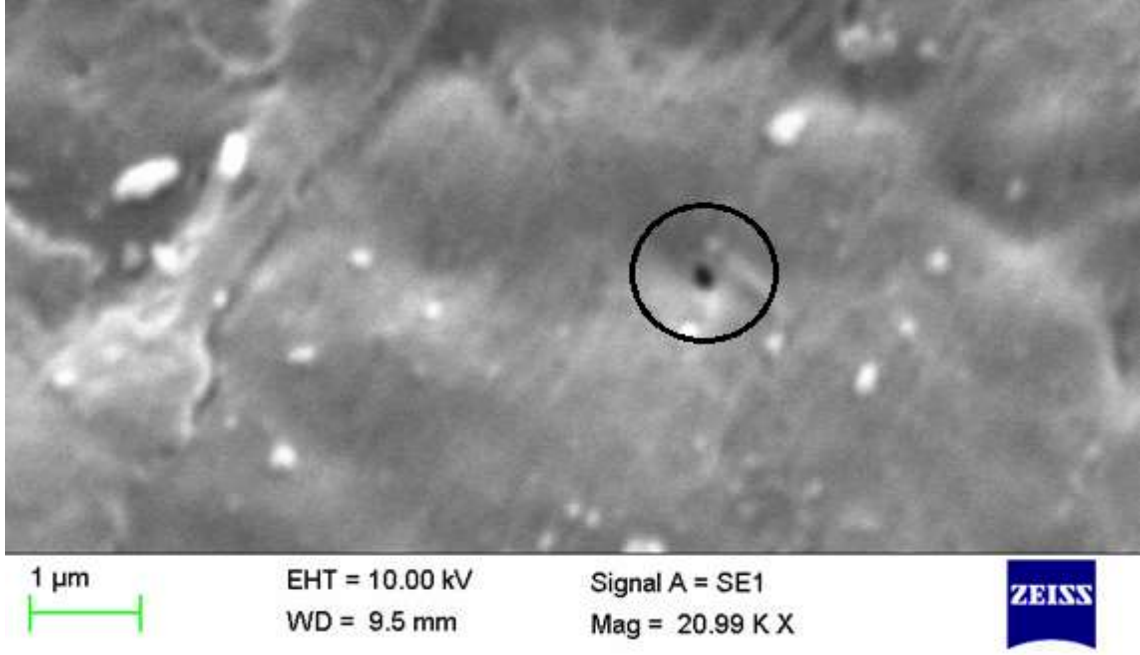
Kitinin XRD analizi sonucu 9.31° ve 19.38° ’de iki keskin pik ile birlikte 12.78° , 23° ve 26.2° ’de üç de zayıf pik gözlenmiştir. Bu pikler literatürde tanımlanan kitin pikleri ile oldukça benzerlik göstermektedir (Jang vd., 2004b). Ayrıca elde edilen kitinin kristaline indeks değerleri hesaplanmış ve %69.6 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.3. *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin XRD analizi

4.4 SEM analizi

Phalangium opilio Linnaeus, 1758 türünden saflaştırılan kitinin yüzey morfolojisi SEM ile görüntülenmiştir (Şekil 4.4). Kitinin yüzeyinin ince nanofiberlerden oluştuğu ve görülmektedir. Ayrıca, Şekil 4.4’de kitinin yüzeyinde nanofiberlerin yanı sıra azda olsa nanoporların (gözeneklerin) olduğuda görülmektedir.



Şekil 4.4. *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin SEM ile elde edilmiş yüzey morfolojisi

Literatür çalışmalarına bakıldığında kitinin yüzeyinin canlı grubuna göre farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde daha çok mantarlardan elde edilen kitin in morfolojisinde nanofiber ve porların görülmediği ve kitin yüzeyinin düz olduğu gözlemlenmiştir (Yen ve Mau 2007a, b). Bazı canlı gruplarından elde edilen kitinin yüzey morfolojisinin sadece nanofiber yapıda olduğu, diğer bazı grup canlılarda ise kitin yüzeyinin hem nanofiber hem de nanoporlar içerdiği yapılan çalışmalarda görülmüştür (Kaya vd., 2013). Çok az canlı grubunda ise nanofiber, nanopor ve mikroporların birlikte bulunduğu kitin yüzeyi de gözlemlenmiştir (Kaya vd., 2014c). Ayrıca, Kaya ve Baran (2015) yaptıkları çalışmalarında sadece nanoporların bulunduğu kitin yüzeyinin varlığını da ortaya koymuşlardır.

Şuana kadar ülkemizde ve dünyada araknid grularından sadece örümcekler ve akrelerin birkaç türü üzerinden kitin çalışmaları yapılmıştır. Bunlardan, bir akrep türü olan *Mesobuthus gibbosus* (Brullé, 1832) türünün kitosan yüzey morfolojisi SEM ile incelendiğinde yoğun nanofiber ve porlardan oluştuğu bildirilmiştir (Kaya vd., 2015). Ayrıca, ülkemizde iki farklı örümcek türünden (*Geolycosa vultuosa* ve *Hogna radiata*) kitin izolasyonu yapılmış farklı yüzey morfolojilerine sahip olduğu ortaya konmuştur (Kaya vd., 2014c). Bu iki türden, *G. vultuosa*'dan elde edilen kitinin yüzeyinin nanofiberler, nanoporlar ve mikroporları birlikte bulunduğu gözlemlenmiştir. *H. radiata*

kitininin yüzey morfolojisinin ise nanofiber ve nanoporları birlikte bulundurduğu görülmektedir. Mevcut çalışmada da, *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin yüzey morfolojisinde *H. radiata*'da olduğu gibi nanofiber ve nanoporların birlikte görüldüğü yüzey gözlenmiştir.

Doğada, selüloz ile birlikte oldukça yaygın olarak bulunan maddelerden birisi olan kitin kabuklu su ürünlerinin (karides, yengeç vs.) ana bileşenidir. Ayrıca, böceklerin iskelet yapılarında oldukça yoğun miktarda kitin bulunmaktadır. Kitin maddesinden yola çıkarak çeşitli basit kimyasal yöntemlerle farklı moleküller de elde edilebilmektedir. Bunlardan en çok dikkat çekenini ise kitosan maddesidir. Gerek kitin, gerekse de kitosan biyopolimerlerinin oldukça geniş bir kullanım alanı bulunmakta ve bu alanlar gün geçtikçe artmaya devam etmektedir. Atık suların temizlenmesinden, kozmetik ve ilaç sanayisine kadar geniş bir spektrumda kullanım alanı bulunan bu maddelerin geliştirilmesi ve farklı türlerden elde edilen kitin ve kitosan maddelerinin karakterizasyonu, uygun kullanım alanlarına yönelik daha uygun kitin ve kitosan üretimi için oldukça önemlidir.

Sonuç olarak bu çalışma, *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden elde edilen kitinin, FTIR, XRD, TGA ve SEM analizleriyle karakterizasyonunu ve bazı fizikokimyasal özelliklerini ortaya koyan bir araştırmadır. FTIR spektrumundan elde edilen bulgular, bu otbiçen türünden elde edilen kitinin alfa formda olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Taramalı elektron mikroskobu ile elde edilen görüntüler kitin yüzeyinin ince nanofiber ve nadir nanoporların oluşturduğu yapıda olduğunu göstermektedir. Termogravimetrik analizler sonucunda ise elde edilen kitinin termal kararlılığının, bilinen birçok böcek ve kabuklularinkinden yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır. Elde edilen ve karakterizasyonu yapılan kitin otbiçenlerden ve bu türünden ilk kez yapılmış olup elde edilen bu biyomateryal özellikleri bakımından eczacılık, tıp, tekstil ve ziraat v.b. gibi endüstrinin pek çok alanına alternatif kitin kaynağı olarak önerilebilir.

KAYNAKLAR

Abdulkarim, A., Tijani, M.I., Abdulsalam, S., Muhammad, A.J. and Ameh, A.O., “Extraction and characterisation of chitin and chitosan from mussel shell”, *Civil and Environmental Research* 3(2), 108-114, 2013.

Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G. and Heras, A., “Functional characterization of chitin and chitosan”, *Current Chemical Biology* 3, 203-230, 2009.

Arbia, W., Arbia, L., Adour, L. and Amrane, A., “Chitin extraction from crustacean shells using biological methods - a review”, *Food Technology and Biotechnology* 51, 12-25, 2013.

Benhabiles, M., Salah, R., Lounici, H., Drouiche, N., Goosen, M. and Mameri, N., “Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste”, *Food Hydrocolloids* 29, 48-56, 2012.

Bo, M., Bavestrello, G., Kurek, D., Paasch, S., Brunner, E., Born, R., Galli, R., Stelling, A.L., Sivkov, V.N., Petrova, O.V., Vyalikhg, D., Kummer, K., Molodtsovi, S.L., Nowakj, D., Nowakj, J. and Ehrlich, H. “Isolation and identification of chitin in black coral 212 *Paranthipates larix* (Anthozoa: Cnidaria)”. *Int J Biol Macromol.* 51, 129–137, 2012.

Brunner, E., Ehrlich, H., Schupp, P., Hedrich, R., Hunoldt, S., Kammer, M., Machill, S., Paasch, S., Bazhenov, V.V., Kurek, D.V., Arnold, T., Brockmann, S., Ruhnow, M. and Born, R., “Chitin-based scaffolds are an integral part of the skeleton of the marine demosponge *Ianthella basta*”, *Journal of Structural Biology* 168, 539-547, 2009.

Brunner, E., Richthammer, P., Ehrlich, H., Paasch, S., Simon, P., Ueberlein, S. and van Pee, K.H., “Chitin-Based Organic Networks: An Integral Part of Cell Wall Biosilica in the Diatom *Thalassiosira pseudonana*”, *Angewandte Chemie-International Edition* 48, 9724-9727, 2009b.

Chien, R.-C., Yen, M.-T. and Mau, J.-L., “Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells”, *Carbohydrate Polymers* 138, 259-264, 2016.

Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F. and Deschamps, A., “Edible antimicrobial films based on chitosan matrix”, *Journal of Food Science* 67, 1162-1169, 2002.

Çorak, İ., Antalya ili otbiçenlerin sistematığı ve biyoekolojisi (Arachnida: Opiliones). Doktora Tezi, *Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kırıkkale, 131, 2010.

Gonil, P. and Sajomsang W., “Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles.” *Int J Biol Macromol.* 51(4):514–522, 2012.

Hajji, S., Younes, I., Ghorbel-Bellaaj, O., Hajji, R., Rinaudo, M., Nasri, M. and Jellouli, K., “Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources”. *Int. J. Biol. Macromol.*, 65, 298–306, 2014.

Hillyard, P.D. and Sankey, J.H.P., Harvestmen: Keys and Notes for the Identification of the Species, *Linnean Society of London*, Editör, E.J. Brill, 120 , London, 1990.

Ifuku, S., Nomura, R., Morimoto, M. and Saimoto, H., “Preparation of chitin nanofibers from mushrooms”, *Materials* 4, 1417-1425, 2011.

Isa, M.T., Ameh, A.O., Gabriel, J.O. and Adama, K.K., “Extraction and characterization of chitin from nigerian sources”, *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies* 73-81, 2012.

Jang, M.K., Kong, B.G., Jeong, Y.I., Lee, C.H. and Nah, J.W., “Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources”, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 42, 3423-3432, 2004.

Juarez-de la Rosa, B.A., Quintana, P., Ardisson, P.L., Yanez-Limon, J.M. and Alvarado-Gil, J.J., “Effects of thermal treatments on the structure of two black coral species chitinous exoskeleton”, *Journal of Materials Science* 47, 990-998, 2011.

Kaya, M., Bağrıaçık, N., Seyyar, O. and Baran, T., “Comparison of chitin structures derived from three common wasp species (*Vespa crabro* Linnaeus, 1758, *Vespa orientalis* Linnaeus, 1771 and *Vespula germanica* (Fabricius, 1793))”, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 89, 204-217, 2015a.

Kaya, M. and Baran, T., “Description of a new surface morphology for chitin extracted from wings of cockroach (*Periplaneta americana*)”, *International Journal of Biological Macromolecules* 75C, 7-12, 2015.

Kaya, M., Baran, T., Mentés, A., Asaroglu, M., Sezen, G. and Tozak, K.O., “Extraction and characterization of α -chitin and chitosan from six different aquatic invertebrates”, *Food Biophysics* 9, 145-157, 2014a.

Kaya, M., Baublys, V., Can, E., Satkauskiene, I., Bitim, B., Tubelyte, V. and Baran, T., “Comparison of physicochemical properties of chitins isolated from an insect (*Melolontha melolontha*) and a crustacean species (*Oniscus asellus*)”, *Zoomorphology* 133, 285-293, 2014b.

Kaya, M., Baublys, V., Sargin, I., Satkauskiene, I., Paulauskas, A., Akyuz, B., Bulut, E., Tubelyte, V., Baran, T. and Seyyar, O., “How taxonomic relations affect the physicochemical properties of chitin”, *Food Biophysics* 11, 10-19, 2016.

Kaya, M., Lelesius, E., Nagrockaite, R., Sargin, I., Arslan, G., Mol, A., Baran, T., Can, E. and Bitim, B., “Differentiations of chitin content and surface morphologies of chitins extracted from male and female grasshopper species”, *PloS One* 10, e0115531, 1-14, 2015b.

Kaya, M., Seyyar, O., Baran, T., Erdogan, S. and Kar, M., “A physicochemical characterization of fully acetylated chitin structure isolated from two spider species: With new surface morphology”, *International Journal of Biological Macromolecules* 65, 553-558, 2014c.

Kaya, M., Seyyar, O., Baran, T. and Türkeş, T., “Bat guano as new and attractive chitin and chitosan source”, *Frontiers in Zoology* 11:59 doi:10.1186/s12983-014-0059-8, 2014.

Kaya, M., Tozak, K. Ö., Baran, T., Sezen, G. and Sargin, I., “Natural porous and nano fiber chitin structure from *Gammarus argaeus* (Gammaridae Crustacea)” *EXCLI Journal* 12, 503–510, 2013.

Kurt, K., Niğde ili ve çevresinde yayılış gösteren Opiliones (Otbiçen)’in (Familya: Gagrellidae, Phalangiidae, Ischyropsalididae) sistematığı. Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde, s.83, 2005.

Kury, A.B., “A synopsis of catalogs and checklists of harvestmen (Arachnida, Opiliones),” *Zootaxa*, 3184, 35–58, 2012.

Limam, Z., Selmi, S., Sadok, S. and Abed, A., “Extraction and characterization of chitin and chitosan from crustacean by-products: Biological and physicochemical properties”, *African Journal of Biotechnology* 10(4), 640-647, 2011.

Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Jiang, C. and Yang, Q., “Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky”, *Molecules* 17, 4604-4611, 2012.

Pinto-da-Rocha, R., Machado, G. and Giribet, G., Harvestmen: The Biology of the Opiliones. *Harvard University Press*, 597, England, 2007.

Rao, S.B. and Sharma, C.P., Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and hemostatic potential, *J. Biomed. Mater. Res.*, 34, 21-28., 1997

Sajomsang, W. and Gonil, P., “Preparation and characterization of α -chitin from cicada sloughs”, *Materials Science and Engineering: C* 30, 357-363, 2010.

Simpson, B., Gagne, N. and Simpson, M., “Bioprocessing of chitin and chitosan”, *Fisheries Processing: Biotechnological applications, (Ed. A.M. Martin) Chapman and Hall, London* 155-203, 1994.

Synowiecki, J., Al-khatteb, A. and Nadia, A., “Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43, 145-171, 2003.

Thirunavukkarasu, N., Dhinamala, K. and Inbaraj, R.M., “Production of chitin from two marine stomatopods *Oratosquilla* spp. (Crustacea)”, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 3(1), 353-359, 2011.

Yen, M.-T. and Mau, J.-L., “Physico-chemical characterization of fungal chitosan from shiitake stipes”, *LWT - Food Science and Technology* 40, 472-479 (2007a).

Yen M.-T. and Mau J.-L., “Selected physical properties of chitin prepared from shiitake stipes,” *Food Science and Technology*, vol. 40, no. 3, 558–563, 2007b.

Yen, M. and Mau, J., “Preparation of fungal chitin and chitosan from shiitake stipes”, *Fungal Science* 21(1, 2), 1–11, 2006.

Wang, G.H., “Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan.” *J. Food Protect*, 55: 916-919., 1992

ÖZ GEÇMİŞ

Fatma SEYYAR, 30.04.1981 yılında Adana’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Adana iline bağlı Çelemlı Köyü’nde tamamladı. Lise öğrenimini Mustafabeyli Lisesi’nde tamamladı. 1990 yılında girmeye hak kazandığı Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi (Niğde Üniversitesi) Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2003 yılında mezun oldu. 2016 yılının Eylül ayında başladığı Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir. Evli ve üç çocuk annesidir.



