



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

Galeodes araneoides (Pallas, 1772) (ARACHNIDA: SOLIFUGAE) TÜRÜNDEN
KİTİN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

DİLEK DEMİRTAŞ

EYLÜL 2024

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

Galeodes araneoides (Pallas, 1772) (ARACHNIDA: SOLIFUGAE) TÜRÜNDEN
KİTİN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

DİLEK DEMİRTAŞ

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Osman SEYYAR

Eylül 2024

Dilek DEMİRTAŞ tarafından **Prof. Dr. Osman SEYYAR** danışmanlığında hazırlanan **“*Galeodes araneoides* (Pallas, 1772) (Arachnida: Solifugae) 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 : Prof. Dr. Osman SEYYAR, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Kemal KURT, Gümüşhane 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...

Prof. Dr. Mustafa KARATEPE
MÜDÜR

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.

Dilek DEMİRTAŞ

ÖZET

Galeodes araneoides (Pallas, 1772) (ARACHNIDA: SOLIFUGAE) TÜRÜNDEN KİTİN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

DEMİRTAŞ, Dilek

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman

: Prof. Dr. Osman SEYYAR

Eylül 2024, 43 sayfa

Bu çalışmada, *Galeodes araneoides* türünden ilk kez kitin izole edilerek SEM, FTIR, XRD ve TGA cihazlarının kullanılması ile kitin karakterize edilmiştir. Elde edilen kitinin alfa formunda, termal bozunma sıcaklığının (DTGmax) 334°C, kristal indeksi (CrI) %51,14 olduğu hesaplanmış ve gözlemlenmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemesine göre yüzey morfolojisinin fiberli yapı gösterdiği ve çok sayıda por içerdiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre *Galeodes araneoides* türünün termal bozunma sıcaklığının değerinin diğer araknid gruplarında yapılan çalışmalara benzerlik göstermekle birlikte daha düşük olduğunu belirlenmiştir. Fizikokimyasal özellikleri ortaya konan bu böğü türünün alternatif bir kitin kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: *Galeodes areneoides*, kitin, karakterizasyon, araknid

SUMMARY

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CHITIN FROM *Galeodes araneoides*
(Pallas, 1772) (ARACHNIDA: SOLIFUGAE)

DEMİRTAŞ, Dilek
Niğde Ömer Halisdemir University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Osman SEYYAR

September 2024, 43 pages

In this thesis, chitin was isolated for the first time from *Galeodes araneoides* and characterized by using FTIR, SEM, TGA and XRD devices. It was calculated and observed that the obtained chitin was in alpha form, the thermal decomposition temperature (DTGmax) was 334°C and the crystal index (Crl) was 51.14%. According to the scanning electron microscopy (SEM) examination, it was observed that the surface morphology showed a fibrous structure and contained many pores. According to these results, it was determined that the value of the thermal decomposition temperature of *Galeodes araneoides* species was lower than other arachnid groups. It is thought that this solifugid species, whose physicochemical properties have been revealed, may be an alternative chitin source.

Keywords: *Galeodes araneoides*, chitin, characterization, arachnid.

ÖN SÖZ

Kitin, doğada en yaygın biyopolimerlerden biridir ve ilk olarak mantar hücre duvarında keşfedilmiş olup daha sonra eklem bacaklılardan izole edilmeye başlanılmıştır. Kitin hidrofobik olduğundan suda ve birçok organik çözücünde 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 birçok alanda kullanılabilmektedir. Bu çalışmada daha önce kitin izolasyonu yapılmamış bir canlı grubu olan böğülerin bir türünden kitin elde edilmiş ve 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. Osman SEYYAR'a, tez çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Hakan DEMİR'e ve laboratuvar çalışmalarımındaki katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Cihan DÜŞGÜN'e, ve bana maddi, manevi her türlü desteği sağlayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışmaya FMT 2022/14- LÜTEP numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
SUMMARY	vi
ÖN SÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR	xi
BÖLÜM I.....	1
GİRİŞ	1
1.1 Kitin Hakkında Genel Bilgiler	1
1.2 Böğüler Hakkında Genel Bilgiler	3
BÖLÜM II	6
MATERYAL VE METOT	6
2.1 Materyal	6
2.1.1 Laboratuvarıda kullanılan cihazlar	6
2.1.2 Analizlerde kullanılan cihazlar	7
2.1.2.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopu (FT-IR)	7
2.1.2.2 Termogravimetrik analizi (TGA)	8
2.1.2.3 XRD	8
2.1.2.4 SEM	9
2.1.3 Kullanılan cam kaplar ve diğır malzemeler	10
2.1.4 Cam ve plastik malzemelerin temizlenmesi	10
2.1.5 Kullanılan kimyasal maddeler	11
2.2 Metot	11
2.2.1 <i>Galeodes araneoides</i> türünden kitin izolasyonu.....	11
BÖLÜM III.....	14
BULGULAR VE TARTIŞMA	14
3.1 FT-IR Analizi.....	14
3.2 TGA Analizi	15
3.3 XRD Analizi	16
3.4 SEM Analizi	17

BÖLÜM IV	19
SONUÇLAR.....	19
KAYNAKLAR	20
ÖZ GEÇMİŞ	25



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kitin ve kitosanın kullanım alanları ve bazı uygulamalarda kullanım şekilleri.....	2
Şekil 1.2. Kitinin molekül yapısı	3
Şekil 1.3. <i>Galeodes araneoides</i> (Pallas, 1772) türünün genel görünüşü	4
Şekil 2.1. Bruker marka Vertex 70 model FTIR spektrometresi	7
Şekil 2.2. Linseis STA PT1600 marka TGA cihazı.....	8
Şekil 2.3. Panalytical marka empyrean model XRD	9
Şekil 2.4. Zeiss marka evo 40 model SEM.....	10
Şekil 2.5. <i>Galeodes araneoides</i> türünün dış iskeletinden kitin izolasyonunun genel bir şeması.....	12
Şekil 2.6. <i>Galeodes araneoides</i> türünün dış iskeletinden kitin izolasyon aşamaları. a- böğü örneklerinin kurutulması, b- böğü örneklerinin tartılması,c- HCl ile muamele, d- numunenin saf su ile süzülmesi, e-NaOH ile muamele, f- numunenin tekrar süzülmesi, g- kitin eldesi.	13
Şekil 3.1. <i>Galeodes araneoides</i> türünden izole edilen kitinin FT-IR spektrumları.....	15
Şekil 3.2. <i>Galeodes araneoides</i> türünden izole edilen kitinin TGA spektrumları.....	16
Şekil 3.3. <i>Galeodes araneoides</i> türünden izole edilen kitinin XRD spektrumları	17
Şekil 3.4. <i>Galeodes araneoides</i> türünden izole edilen kitinin SEM analizi	18

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
α	Alfa

Kısaltmalar	Açıklama
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
M	Molar
mL	Mililitre
mg	Miligram
kg	Kilogram
μ L	Mikrolitre
μ g	Mikrogram
nm	Nanometre
rpm	Dakikada Dönme Sayısı

BÖLÜM I

GİRİŞ

Kitin; dünya üzerinde selülozdan sonra biyopolimer yapısından dolayı doğa da ikinci en çok bulunan (Rinaudo, 2006) böceklerden (Ibitoye vd., 2018), deniz kabuklularının dış iskeletinden (Srinivasan vd., 2018), bazı fungus (Hassainia vd., 2018) ve alg (Rahman ve Halfar, 2014) türleri gibi canlılar tarafından üretilen doğal biyopolimerlerdendir. Kullanım alanlarının geniş oluşu ve türevlenebilirliği ile biyolojik açıdan uyumlu, toksik (zehirli) olmayan, çeşitli özellikleri sayesinde tıp, eczacılık, biyomedikal, endüstriyel, kozmetik ve ziraat gibi birçok sektörde kullanılmaktadır. Bu uygulama genişliği ile güçlü bir ekonomik değere sahiptir. Kitin de suda çözünme gözlenmez, yapısında bulunan amino gruplarından dolayı asidik çözeltilerde çözünebilen bir bileşiktir.

1.1 Kitin Hakkında Genel Bilgiler

Doğa da yaygın olarak bulunan en önemli biyopolimerlerden biri de kitin ve türevleridir. Kitin tekrar eden (β -(1 – 4)-poli-N-asetil-D-glukozamin) birimlerinden oluşan canlıların dış iskelet yapılarında bulunan lineer bir yapı amino polisakkaritidir. Selülozdan sonra gezegendeki en fazla bulunan ikinci doğal polisakkaritir (Azuma vd., 2015; Gopal vd., 2019). Kitin, “kiton” sözcüğünden türetilmiş olup yunanca zarf ve örtü anlamına gelmektedir ve ilk kez bu terimi mantarlar üzerinde yaptığı bir çalışmada Henri Braconnot kullanmıştır (Özel, 2013). Son yıllarda en çok çalışılan biyolojik makromoleküllerin başında kitin ve türevi olan kitosan gelmektedir (Aranaz vd., 2009). Kitinin bir türevi olan kitosan, biyolojik olarak uyumlu, toksik olmayan, çeşitli özellikleri sayesinde fen ve endüstrinin birçok alanında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Serbest amino gruplarının varlığı kitosan’ı doğal bir katyonik polimer yapar ve kitosan polimerinin kolayca türetilmesi için kimyasal işlevsellik sunar. Hem kitin hem de kitosan, sert ve kristalli polimerlerdir ve nötr pH’ ta su içinde güçlerine ve çözünmezliklerine katkıda bulunurlar. Asidik koşullarda kitin çözünmezken serbest amino gruplarının protonasyonu nedeniyle kitosan çözünebilir. Ticari amaçlar için kitin yıllık olarak selüloz miktarı kadar üretildiği tahmin edilmektedir (Demir, 2017; Seyyar, 2018).

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	Kirleticilere 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

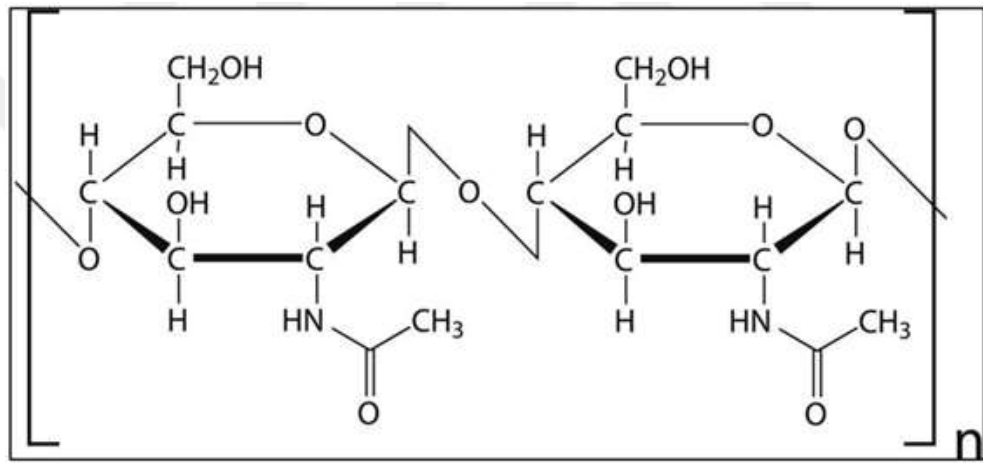
DD: Deasetilasyon derecesi; Mw: moleküler ağırlık

Şekil 1.1. Kitin ve kitosanın kullanım alanları ve bazı uygulamalarda kullanım şekilleri.

Yumuşakçalarda, eklembacaklıların dış iskeletlerinde, mantarların hücre duvarlarında 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, çoğunlukla omurgasız hayvanların vücutlarında bulunan bir biyopolimer olmasına rağmen son zamanlarda yapılan bir çalışma da,

omurgalı canlılarda da varlığı kaydedilmiştir (Tang vd., 2015). Son yapılan çalışmalar, dünyadaki tüm organizmaların %70'inden fazlasının yapısında kitin olduğunu göstermektedir.

Kitin formları doğada üç çeşittir ve bunlar: α , β ve γ formları. Kristal formlarından α anti-paralel, β paralel zincirler sergilerken γ kitin paralel aynı zamanda anti paralel zincir kombinasyonu şeklindedir (Rinaudo, 2006). Bu üç çeşit olan formlar düzenli ve kristal yapılar sergilemektedir (Roberts, 1992). Görüntülemeler sonucunda genellikle nanofibril ve gözenekli yapıya sahiptir (Kaya vd., 2017).



Şekil 1.2. Kitinin molekül yapısı

1.2 Böğüler Hakkında Genel Bilgiler

Arachnida (örümceğimsiler) sınıfının önemli takımlarından biri olan böğülerin (Solifugae), cins ve türlerin tanımlanmasına 1772 yılından itibaren başlamıştır. Dünya üzerinde günümüzde böğüler 12 familya, 141 cins ve 1111 tür ile temsil edilirler (Blick ve Harvey 2011, Karataş ve Uçak 2013). Kılırla kaplı vücutları, saldırgan davranışları ve iki segmentten oluşan oldukça büyük kelisteleriyle böğüler diğer araknidlerden kolayca ayırt edilebilirler (Snodgrass 1948, CloudsleyThompson 1958, Stoliczka 1869). Hayvanlar aleminde vücuduna oranla en büyük ağız parçalarına sahip canlılardandır (Roewer 1932, Snodgrass 1948). Uzun bacaklı türler daha hızlı hareket ederken kısa bacaklı türler daha yavaş hareket ederler. Geceleri daha aktif olan böğüler gündüzleri de aktivite gösterirler.

Böğüler üzerine yapılan çalışmalar Türkiye’de 1876 yılında başlamıştır (Pavesi 1876). Yapılan taksonomik çalışmalar Türkiye’den 6 familya ve 14 cinse ait 40 böğü türünün yayılış gösterdiğini bildirmektedir. Bunlar; Solpugidae’dir (1 tür), Rhagodidae (3 tür), Gylippidae (4 tür, 1 alttür), Karschiidae (4 tür), Daesiidae (8 tür) ve Galeodidae (20 tür) (Roewer 1933a-b, 1934, Harvey 2003, El-Hennawy 2007, Koç 2008, 2011, Erdek vd. 2010, Karataş ve Uçak 2013).

Böğülerde iki kısımdan oluşan vücut, prosoma (vücudun ön kısmı) ve opistosoma (vücudun arka kısmı) oluşmaktadır. Opistosoma kısımları segmentlerden oluştuğundan diğer araknidlerden daha ilkel bir vücut yapısına sahiptirler (Bernard 1896, Wharburton 1909, Roewer 1932, Cloudsley-Thompson 1958, Punzo 1998, Klann 2009).



Şekil 1.3. *Galeodes araneoides* (Pallas, 1772) türünün genel görünüşü

Böğülerin habitat tercihlerine abiyotik faktörler etki etmekte olup bunlar toprağın fiziksel özellikleri, sıcaklık, ışık alma süresi, bitki formasyonları, kayalık alanların varlığı v.b. faktörlerdir. Genellikle seyrek vejetasyona sahip kurak bölgeleri tercih ederler ve daha çok kurak habitatlar ve çöllerde yayılış gösterirler (Punzo 1998). Böğülerde çiftleşme davranışlarında erkek bireyler yaşam alanlarında dişi bireyleri ararlar ve bu arama davranışları aynı avlarını ararken gösterdikleri davranışlara oldukça benzerlik gösterir.

Bu tez çalışmanın amacı, bir böğü türü olan *Galeodes araneoides* (Pallas, 1772)'den dünyada ilk kez kitin izolasyonu yapmak ve elde edilen kitini FTIR, TGA, XRD ve SEM analizleri kullanılarak karakterize etmektir.



BÖLÜM II

MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

Bu tez çalışmasında kullanılan *Galeodes araneoides* türünün temini Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Araknoloji Müzesi (NOHUAM)'den karşılandı. Türün eldeki örneklerinden vücut büyüklüklerine göre 6 örnek alınıp laboratuvarda kitin eldesi için kullanıldı.

2.1.1 Laboratuvarda kullanılan cihazlar

Tez çalışması sırasında kullanılan cihazlar aşağıda sıralanmıştır.

pH metre: Deneylerde kullanılacak çözeltilerin pH ölçümleri Analitik Kimya araştırma laboratuvarında bulunan cam elektrotlu Hanna Instruments 8521 model pH metre kullanılmıştır.

Etüv: Cam, plastik malzemelerin kurutulması için 200°C sıcaklığa kadar ısıtılabilen Heraeus marka D-6540 model etüv kullanılmıştır.

Porselen havan: Kurutulan örneklerin öğütülmesinde kullanılmıştır.

Analitik Terazî: Tartımlar 0,1 mg duyarlılıktaki Shimadzu marka analitik terazî ile yapılmıştır.

Mikropipet: Çözelti hazırlama ve çözelti transfer işlemlerinde Analitik Kimya araştırma laboratuvarında bulunan 20-200 µL, 100-1000 µL ve 1000-5000 µL arasında ayarlanabilen mikropipetler kullanılmıştır.

Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı: Batch yönteminde karıştırma yaparken MS 300 HS maksimum 380°C olan maksimum çevirme hızı 1500 rpm 5 L olan seramik kaplı alüminyum tabla kullanıldı.

Distile Su Cihazı: Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Şimşek marka distile su cihazı çalışmada gereken tüm sulu çözeltilerin hazırlanmasındaki suyun elde edilmesinde kullanılmıştır.

Santrifüj Cihazı: Santrifüj işlemleri Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya araştırma laboratuvarında bulunan Nüve NF400 model santrifüj cihazları ile gerçekleştirilmiştir.

2.1.2 Analizlerde kullanılan cihazlar

2.1.2.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopu (FT-IR)

Galeodes araneoides türünden elde edilen kitinin infrared spektrumları, Bruker Marka Vertex 70 model FTIR Spektrometre 625-4000 cm^{-1} frekans aralığında ölçülmüştür. Ayrıca asetilasyon derecesi denklem kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 2.1. Bruker marka Vertex 70 model FTIR spektrometresi

2.1.2.2 Termogravimetrik analizi (TGA)

TGA, Linseis STA PT1600 analiz cihazı kullanılarak 10 ° C/ dk'lık bir ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir. Kitinin termal bozulmasına bağlı olarak TG ve DTG eğrilerinin elde edilmesi için kullanılmıştır.



Şekil 2.2. Linseis STA PT1600 marka TGA cihazı

2.1.2.3 XRD

Galeodes araneoides türünden elde edilen kitinin XRD spektrumları, Panalytical Marka empyrean model X- ışını difraktrometresi kullanılarak 40 kV, 30 mA ve $5^\circ < 2\theta < 45^\circ$ den kırılma aralığında kaydedilmiştir. İzole edilen kitinin kristallinite indeksi, aşağıdaki denklem kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{CrI (\%)} = [(I_{110} - I_{am})/I_{110}] \times 100$$

CrI: Kristallik indeksi

I₁₁₀: Kitin biyopolimerinin maksimum intensitesi,

I_{am}: Maksimum intensitiden bir önceki intensiti (Kitin biyopolimerinin amorf yapısının intensitesi)



Şekil 2.3. Panalytical marka empyrean model XRD

2.1.2.4 SEM

Galeodes araneoides örneklerinden izole edilen kitinin yüzey morfolojileri, Sputter Coater (Cressingto Auto 108) tarafından altın / paladyum ile kaplanarak SEM (Zeiss, Evo LS 10 marka) analiziyle SEM görüntüleri çekilmiştir



Şekil 2.4. Zeiss marka evo 40 model SEM

2.1.3 Kullanılan cam kaplar ve diğer malzemeler

Tez çalışması sırasında kullanılan cam kaplar ve diğer malzemeler aşağıda sıralanmıştır.

Payreks cam beher: Çözeltilerin aktarılmasında 10, 25, 50, 100, 150 mL’lik beherler kullanılmıştır.

Payreks cam balon joje: Çözeltilerin hazırlanmasında ve seyreltilmesinde 5, 10, 25, 50, 100, 250 mL’lik balon jojeler kullanılmıştır.

Buzdolabı: Hazırlanan çözeltilerin saklanması için kullanılmıştır.

2.1.4 Cam ve plastik malzemelerin temizlenmesi

Deneylerde kullanılan plastik ve cam malzemeler, deterjanlı sıcak su ile iyice yıkanarak, süzgeç kâğıdında kurutuldu. Saf su ile dikkatlice yıkanıp etüv içerisinde kurutuldu. Ağır

metal kirliliği içerebilen cam ve plastik malzemeler 6 M'lık nitrik asitte bir gece bekletilip içerisinde saf su bulunan üç ayrı kaptan geçirilmiştir. En son olarak etüvde 400C'de kurutuldu.

2.1.5 Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmalarda kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Bütün kimyasal maddeler tekrar saflaştırılmadan kullanılmıştır ve aşağıda sıralanmıştır.

Kitin: Geniş yüzey alanlı, büyük ve homojen dağılımlı gözeneğe sahip, asidik-bazik ortamlara ve organik çözücülere karşı dayanıklı olan kitin, metal iyonlarının ayırmasaflştırma ve zenginleştirilmesinde adsorban olarak kullanılmıştır.

HCl: Elusyon çözeltilerinin hazırlanmasında ve reçine temizleme işlemlerinde kullanılmıştır.

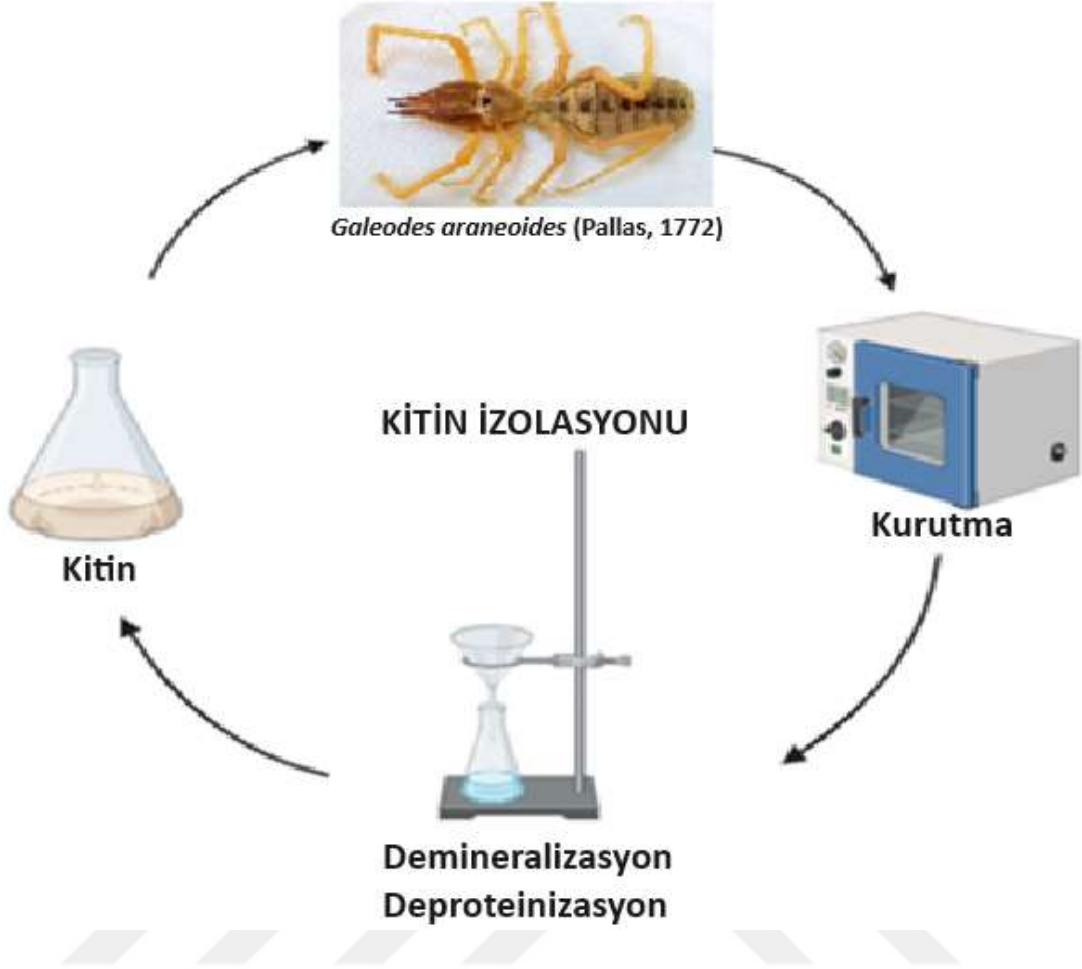
NaOH: Tampon ve yıkama çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

HNO₃: Cam malzemelerin yıkanmasında kullanılmıştır.

2.2 Metot

2.2.1 *Galeodes araneoides* türünden kitin izolasyonu

Galeodes araneoides türünden kitin izolasyonu aşamaları şekil 2.6 'da şematize edilmiştir.



Şekil 2.5. *Galeodes araneoides* türünün dış iskeletinden kitin izolasyonunun genel bir şeması.

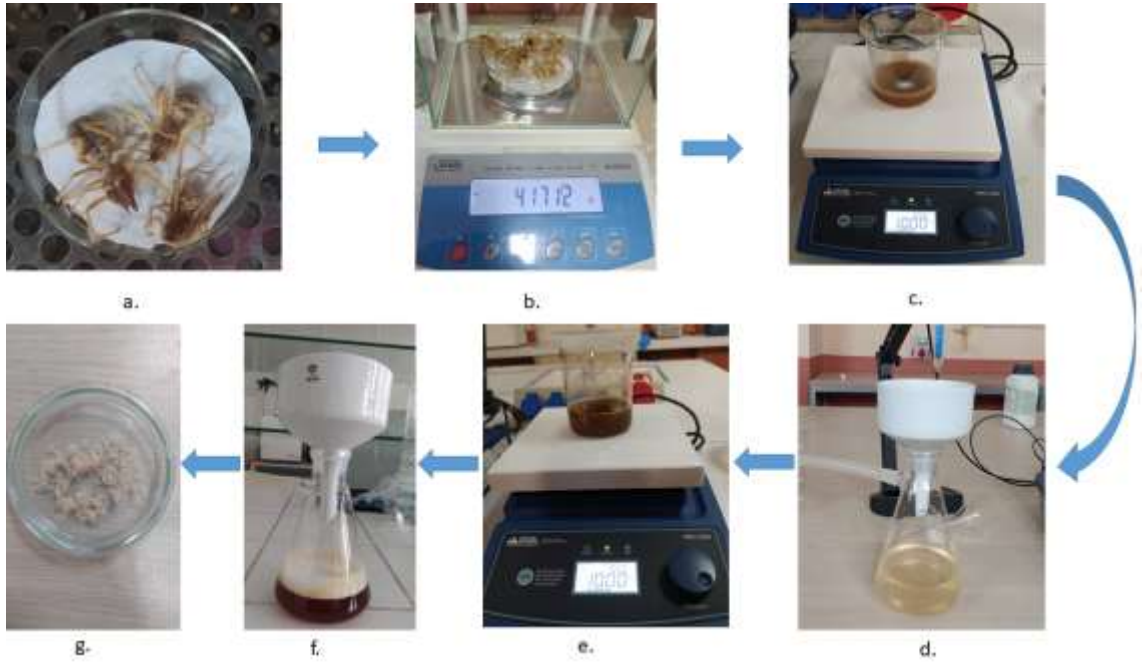
Aşağıdaki aşamalar yapılarak *Galeodes araneoides* türünden kitin izolasyonu yapıldı.

1. Materyal yıkandı, kuruması için 24 saat önce oda sıcaklığında daha sonra etüv de 30 °C 24 saat bekletildi. Kurutulma süresi sonunda kuru ağırlık tartımı yapıldı. Tartım sonucu alındıktan sonra örnekler homojenize olacak şekilde öğütüldü sonra 50 mL 2 molar HCl ile 1 saat manyetik karıştırıcıda 55 °C 1000 rpm’ de muamale edilerek demineralizasyonu sağlandı.

2. HCl çözeltisi çıkarılan ve saf su ile yıkanarak nötrleştirilerek beyaz renkli madde elde edildi.

3. Materyal daha sonra 50 mL 2 molar NaOH ile 50 °C 1000 rpm’de 18 saat muamale edilerek deproteinizasyonu yapıldı, ardından metanol, kloroform ve saf sudan 50 mL ile ekstraksiyon hazırlandı ve 1 saat manyetik karıştırıcıda bekletirdi. Süzmesi yapıldı ve 50 °C etüve 6 saat kurumaya bırakıldı.

4. Beyazlatılan materyalden kitin elde edildi. *Galeodes araneoides* türünden kitin eldesi için gerekli süreç Şekil 2.7’de verilmiştir.



Şekil 2.6. *Galeodes araneoides* türünün dış iskeletinden kitin izolasyon aşamaları. a- bögü örneklerinin kurutulması, b- bögü örneklerinin tartılması, c- HCl ile muamele, d- numunenin saf su ile süzülmesi, e- NaOH ile muamele, f- numunenin tekrar süzülmesi, g- kitin eldesi.

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

BÖLÜM III

BULGULAR VE TARTIŞMA

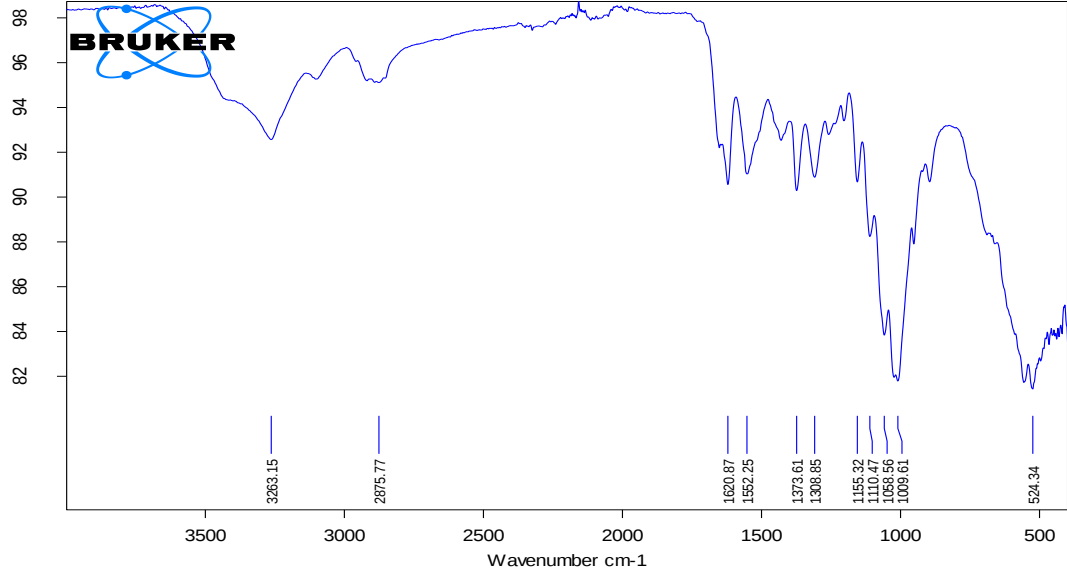
Galeodes araneoides türünde kitin ve izolasyonu yapılmış olup elde edilen kitinin FTIR, TGA, XRD ve SEM kullanılarak fizikokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Bu tez materyalini oluşturan bu böğü türünden kitin eldesi ve bunun karakterizasyonu ilk kez yapılmış olup türün sistematik bilgileri aşağıda verilmiştir.

Şube: Arthropoda (Eklembacaklılar)
Altşube: Chelicerata (Keliserli Hayvanlar)
Sınıf: Arachnida (Örümceğimsiler)
Takım: Araneae (Örümcekler)
Aile: Solifugae (Böğüler, Böğü)
Tür: *Galeodes araneoides* (Pallas, 1772)

3.1 FT-IR Analizi

Kitin, doğada α , β ve γ olmak üzere üç kristal formda bulunmaktadır (Mol vd., 2018). Alfa (α) kitin; yengeç, ıstakoz, karides ve diğer eklembacaklılarda bulunurken α kitinin aksine, saf β kitin daha az organizmada bulunmaktadır. γ formu en az görülen form olup alfa ailesinin bir varyantı olduğu bildirilmiştir. α ve β -kitinin FT-IR spektrumu ile ilgili bildirilen birçok çalışmadan bilindiği gibi, α formunun amid I bandı 1660 ve 1620 cm^{-1} 'de iki keskin pik bulunurken β formu sadece 1640 cm^{-1} civarında tek bir pik bulunmaktadır, bunun nedeni moleküller arasındaki hidrojen bağlarından kaynaklanmaktadır (Kaya vd., 2013).

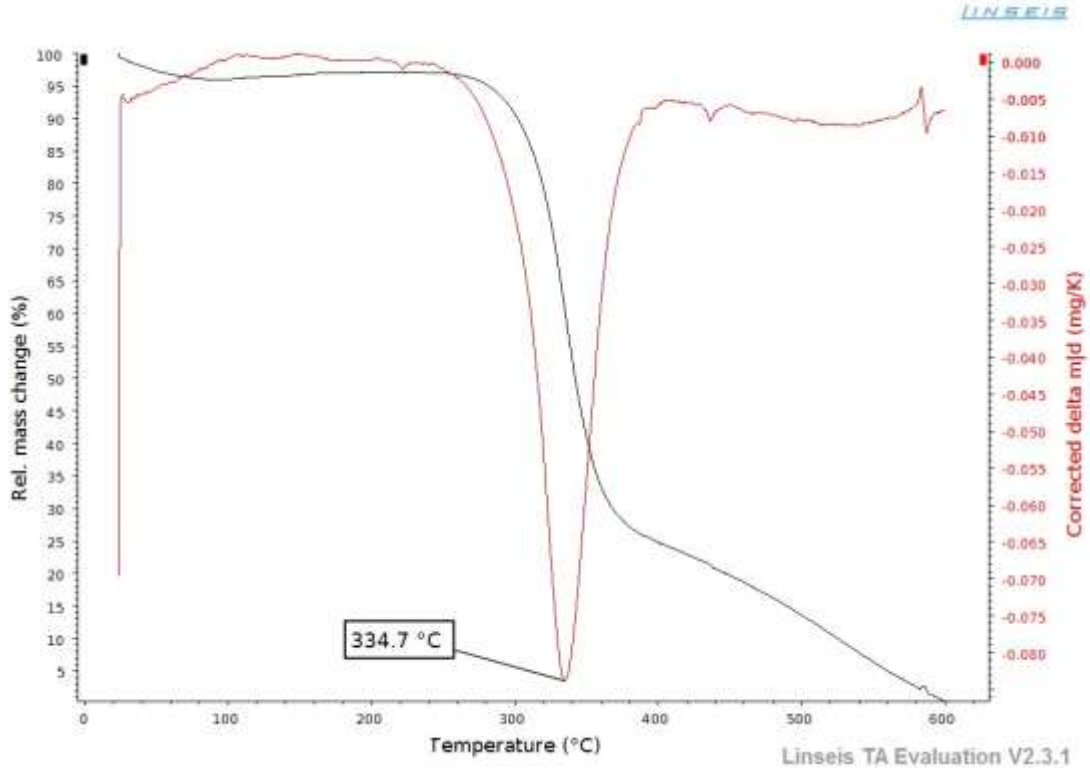
FT-IR, kitinin kimyasal yapısını ve hangi allomorfik şekile ait olduğunu belirlemek için kullanılmaktadır (Şekil.) *Galeodes araneoides* türünden kitinin doğru bir şekilde izole edilip edilmediğini belirlemek için FT-IR analizi yapılmıştır. FT-IR spektrumları incelendiğinde 1620 ve 1650 cm^{-1} piklerinin bulunması kitinin *Galeodes araneoides* türünden doğru bir şekilde izole edildiğini göstermektedir. Kitinin kristal formunun α yapıda olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 3.1. *Galeodes araneoides* türünden izole edilen kitinin FT-IR spektrumları

3.2 TGA Analizi

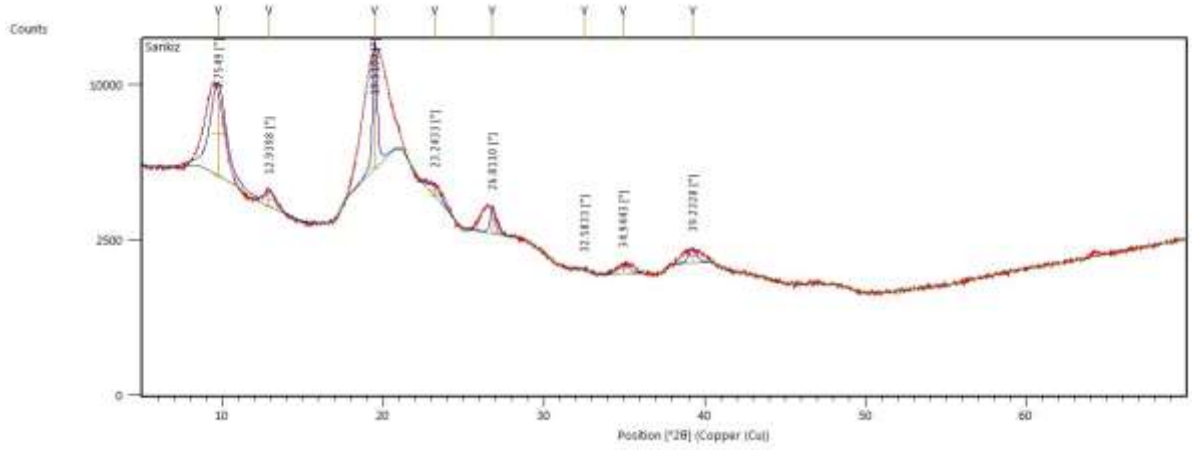
Kitinin saflığını ve hangi formda olduğunu belirlemek için TG / DTG analizleri kullanılmaktadır. Literatürdeki bazı çalışmalara göre, alfa kitinin maksimum bozunma sıcaklığı 350°C'den daha yüksek, beta kitin değeri ise 350°C'den daha düşüktür. Kitinin genellikle 300 ve 400°C arasındaki maksimum bozunma göstermektedir (Gonil ve Sajomsang, 2012). Kitinin bozunması ile ilgili önceki literatür raporlarına göre, burada α , β ve γ kitinin iki farklı aşamada degradasyonunu gözlemlenmiştir. İlk ağırlık kaybı, kitin zincirlerindeki hidrofilik gruplardan suyun buharlaşmasından kaynaklanmıştır. İkinci kütle kaybı ise polimerik yapının bozulmasına, sakkarit halka dehidrasyonuna ve asetillenmiş kitin birimlerinin bozulması şeklinde belirlenmiştir (Kaya vd., 2015). *Galeodes araneoides* (Pallas, 1772) türünde de literatür deki gibi iki aşamada kütle kaybı gerçekleşmiştir ve elde edilen kitinin maksimum bozunma sıcaklığı (DTGmax) 334°C olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç yakın grup olan diğer araknidlerden biraz daha düşüktür (Kaya et al., 2014; Seyyar&Demir, 2017).



Şekil 3.2. *Galeodes araneoides* türünden izole edilen kitinin TGA spektrumları

3.3 XRD Analizi

X ışını kırınım (XRD) analizi, kitin kristali derecesi için kullanılmaktadır. *G. araneoides*'dan izole edilen kitin izolatlarının XRD pikleri ve CrI değerleri Şekil'de gösterilmiştir. Kitin, XRD modellerinde 9° , 12° , 19° ve 26° 'de karakteristik kristal pikler gösterir (Sajomsang ve Gonil, 2010). Bu piklerden 19° civarında olan diğerlerine göre daha şiddetlidir. Bunlar kitin ve türevlerinin anlaşılmasında kullanılan karakteristik XRD pikleridir. *Galeodes araneoides* kitinin XRD analizinde de benzer piklerin olduğu görülmektedir. Bu keskin pikler 9.75° ve 19.51° aralığında görülmektedir ve literature uygunluk göstermektedir. Ayrıca Şekil 3.3' e bakıldığında 12.93° , 23.24° ve 26.81° 'te üç zayıf pikin daha olduğu görülmektedir.



Şekil 3.3. *Galeodes araneoides* türünden izole edilen kitinin XRD spektrumları

Galeodes araneoides 'dan elde edilen kitinin kristal index değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{CrI} = [(I_{110} - I_{am}) / I_{110}] \times 100$$

CrI: Kristallik indeksi

I₁₁₀: Kitin biyopolimerinin maksimum intensitesi,

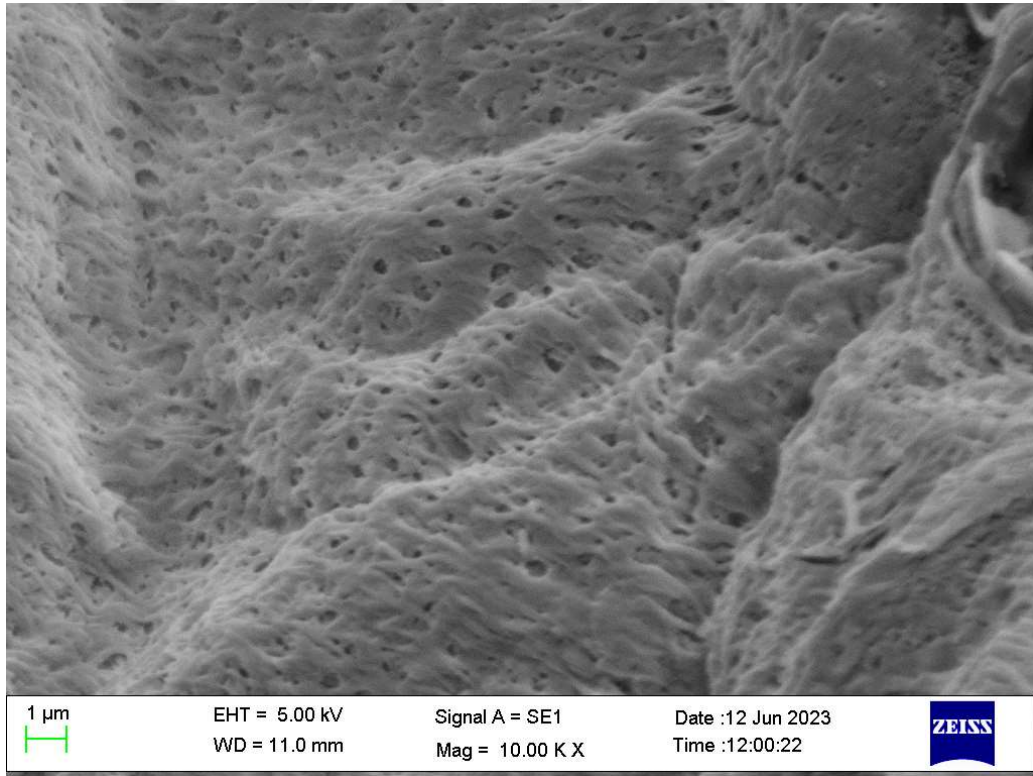
I_{am}: Maksimum intensitiden bir önceki intensite (Kitin biyopolimerinin amorf yapısının intensitesi)

Yapılan hesaplama göre *Galeodes araneoides* (Pallas, 1772)' tan elde edilen kitinin kristal index değeri (CrI) %51.14 olarak hesaplanmıştır. Bu değer diğer araknid gruplarından bir otbiçen türü olan *Phalangium opilio* 'da 89.17% , kurt örümcekleri olarak bilinen *Hogna radiata* 'da 58.9% ve *Geolycosa vultuosa* 'da ise 78.6% dır (Kaya et al., 2014; Seyyar&Demir, 2017). Bu durum yakın gruplar bile olsa farklı canlı gruplarında kristal indeks değerinin farklı olabileceğini göstermektedir.

3.4 SEM Analizi

Literatürdeki yapılan çalışmalarda kitin yüzeyinin canlı grubuna göre farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Bazı canlı gruplarından elde edilen kitin yüzeyinde hem nanofiber hem de nanopor görülürken, bazı grup canlıların ise sadece nanofiberler yapılarını içerdiği görülmüştür (Mol vd., 2018). Yine örümceklerden elde edilen kitinin

yüzey morfolojisi üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde *Chaetopelma olivaceum* türünde kitinin yüzeyinin iç içe geçen karmaşık liflerden olduğu ayrıca nanoporların (gözenekler) içerdiği (Yürtmen ve Seyyar, 2019) görülmüştür. *Geolycosa vultuosa* ve *Hogna radiata* türlerinden elde edilmiş kitinlerin yüzey morfolojilerinde fiber yapıda olup farklı boyutta nanoporlardan oluştuğu görülmüştür (Kaya vd., 2014b). Bunların yanısıra araknid gruplarından bir akrep türü olan *Mesobuthus gibbosus* (Brullé, 1832) türünün kitosan yüzey morfolojisi SEM ile incelendiğinde yoğun nanofiber ve porlardan oluştuğu bildirilmiştir (Kaya vd., 2016). Yine bir arkanid grubu olan otbiçenlere (Opiliones) ait bir tür olan *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 türünden izole edilen kitinin yüzey morfolojisinin nanofiber ve nanoporların birlikte görüldüğü yüzey morfolojisi gözlenmiştir (Seyyar ve Demir, 2020). Mevcut çalışmada bir böğü türü olan *Galeodes araneoides* (Pallas, 1772)' ten izole edilen kitinin yüzey morfolojisinin fiberli yapı gösterdiği ve çok sayıda por içerdiği gözlemlenmiştir (bkz. Şekil 3.5).



Şekil 3.4. *Galeodes araneoides* türünden izole edilen kitinin SEM analizi

BÖLÜM IV

SONUÇLAR

Kitin, doğada bulunan uzun zincirli bir biyopolimerdir ve daha çok karasal ve sucul eklembacaklıların dış iskeletlerinde bulunmaktadır. Kitin ve türevleri en çok gıda sektöründe kullanılan eklemcaklılarının artıklarından üretilmektedir ve bu kaynaklar son zamanlarda kitin ihtiyacını karşılayamamaktadır. Bu nedenle bilim insanları yeni kitin kaynakları oluşturabilmek için yaygın bazı eklembacaklıların kitini üzerine çalışmalarını yaygınlaştırmaktadırlar. Tez materyali olarak seçilen yaygın bir örümcek olan *Galeodes araneoides* türünde kitin izolasyonu yapılmış olup elde edilen kitinin FTIR, TGA, XRD ve SEM kullanılarak kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Bunun sonucunda *G. araneoides* türünden elde edilen kitinin FT-IR spektrumundan elde edilen bulgular, bu böğü türünden elde edilen kitinin 1620 ve 1550 cm⁻¹ pikler gösterdiğinden başarılı bir şekilde izole edildiği ve kitinin kristal formunun alfa formda olduğunu görülmüştür. Taramalı elektron mikroskobu ile elde edilen görüntülere bakıldığında kitin yüzeyinin fiberli yapı gösterdiği ve çok sayıda por içerdiği gözlemlenmiştir. Termogravimetrik analizler sonucunda ise elde edilen kitinin termal bozunma sıcaklığının (DTGmax) 334°C olduğu, bilinen birçok böcek, araknid ve kabuklu grublarında yer alan türlerden daha düşük olduğunu ortaya çıkarmıştır. *G.s araneoides* türünden elde edilen kitinin kristal indeksi %51,14 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda mevcut çalışmada elden edilen kitin α formunda olduğu anlaşılmış olup bu termal kararlılık değerinin diğer araknid gruplarında yapılan çalışmalara benzerlik göstermekle birlikte daha düşük olduğunu göstermektedir. Elde edilen ve karakterizasyonu yapılan kitin, *G. araneoides* türünden ilk kez izole edilmiş olup elde edilen bu kitin biyopolimeri, fizikokimsal özellikleri bakımından eczacılık, tıp, tekstil ve ziraat v.b. gibi endüstrinin pek çok alanında alternatif kitin kaynağı olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G. and Heras, Á., "Functional characterization of chitin and chitosan", **Current Chemical Biology**, 3(2), 203-230, 2009.

Babaşoğlu, A., Örümcekgiller (Arachnida), **Kültür Kitabevi**, Niğde, 1999.

Bayram, A. and Allahverdi, H., "Tarımsal ekosistemlerde örümceklerin habitat tercihleri üzerine", **Centre for Entomological Studies Miscellaneous Papers**, 58, 1-7, 1999.

Beccaloni, J., Arachnids, **University of California Press**, Berkeley Los Angeles, 2009.

Burakov, A.E., Galunin, E.V., Burakova, I.V., Kucheroval, A.E., Agarwal, S., Tkachev, A.G. and Gupta, V.K., "Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: A review", **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 148, 702-712, 2018.

Coşar, İ., Danışman, T. and Kartaler, M., "A new gnaphosid spider record from Turkey (Araneae: Gnaphosidae)", **Serket**, 15(4), 147-149, 2017.

Demir, Z., *Aculepeira ceropegia* (Walckenaer, 1802) (Araneae: Araneidae) Türünde Kitin ve Kitosan İzolasyonu ve Fizikokimyasal Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, **Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Niğde, s. 1-6, 2017.

Demir, Z. and Seyyar, O., "Isolation and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Aculepeira ceropegia* (Walckenaer, 1802)", **Acta Biologica Turcica**, 33(4), 252-257, 2020.

Demirsoy, A., Yaşamın Temel Kuralları Omurgasızlar= İnvertebrata Böcekler Dışında Cilt II / Kısım I, **Nadir Kitap**, Ankara, 1999.

Demirsoy, A., Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar=İnvertebrata -Böcekler Dışında- (6. Baskı), **Meteksan Baskı**, Ankara, 2005.

Doğaroğlu, Z.G., "Kadmiyum, kurşun ve çinko metallerinin marul (*Lactuca sativa* L.) tohumlarının çimlenme özellikleri üzerine etkisi", **Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi**, 23(2), 299-308, 2018.

Foelix, R.F., Biology of Spiders, **Oxford University Press**, London, UK, 2011.

Gonil, P. and Sajomsang, W., "Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles", **International Journal of Biological Macromolecules**, 51(4), 514-522, 2012.

Gündüz, T., Çevre Kimyası, **Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti.**, Ankara, 2012.

Hassainia, A., Satha, H. and Boufi, S., "Chitin from *Agaricus bisporus*: Extraction and characterization", **International Journal of Biological Macromolecules**, 117, 1334-1342, 2018.

Hawkeswood, T.J., Spiders of Australia: An Introduction to their Classification, Biology and Distribution, **Pensoft**, Moscow, Russia, 2003.

Kaya, M., Asan-Ozusaglam, M. and Erdogan, S., "Comparison of antimicrobial activities of newly obtained low molecular weight scorpion chitosan and medium molecular weight commercial chitosan", **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 121(6), 678-684, 2016.

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(4), 204-217, 2015.

Kaya, M., Baran, T., Saman, I., Asan Ozusaglam, M., Cakmak, Y.S. and Menteş, A., "Physicochemical characterization of chitin and chitosan obtained from resting eggs of

Ceriodaphnia quadrangula (Branchiopoda: Cladocera: Daphniidae)", **Journal of Crustacean Biology**, 34(2), 283-288, 2014a.

Kaya, M., Mujtaba, M., Ehrlich, H., Salaberria, A.M., Baran, T., Amemiya, C.T., Galli, R., Akyuz, L., Sargin, I. and Labidi, J., "On chemistry of γ -chitin", **Carbohydrate Polymers**, 176, 177-186, 2017.

Kaya, M., Sargin, I., Tozak, K.Ö., Baran, T., Erdogan, S. and Sezen, G., "Chitin extraction and characterization from *Daphnia magna* resting eggs", **International Journal of Biological Macromolecules**, 61, 459-464, 2013.

Kaya, M., Seyyar, O., Baran, T., Erdoğan, 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, 2014b.

Kaya, M., Seyyar, O., Baran, T. and Turkes, T., "Bat guano as new and attractive chitin and chitosan source", **Frontiers in Zoology**, 11(1), 1-10, 2014c.

Mafham, R. and Mafham, K.P., Spiders of the World, **Facts on File**, New York, 2002.

Mol, A., Kaya, M., Mujtaba, M. and Akyuz, B., "Extraction of high thermally stable and nanofibrous chitin from Cicada (Cicadoidea)", **Entomological Research**, 48(6), 480-489, 2018.

Muzzarelli, R.A.A., "Chitin and its derivatives: new trends of applied research", **Carbohydrate Polymers**, 3(1), 53-75, 1983.

Nguyen, T.A.H., Ngo, H.H., Guo, W.S., Zhang, J., Liang, S., Yue, Q.Y., Li, Q. and Nguyen, T.V., "Applicability of agricultural waste and by-products for adsorptive removal of heavy metals from wastewater", **Bioresource Technology**, 148, 574-585, 2013.

Nyffeler, M. and Benz, G., "Spiders in natural pest control: a review", *Journal of Applied Entomology*, 103(1-5), 321-339, 1987.

Özel, H., Kabuklu Deniz Ürünleri Atıklarından Endüstriyel Ölçekte Kitin-Kitosan Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 5-6, 2013.

Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V. and Jackson, R.B., Campbell Biology, *Pearson* Boston, USA, 2010.

Renge, V.C., Khedkar, S.V. and Pande, S.V., "Removal of heavy metals from wastewater using low cost adsorbents: a review", *Scientific Reviews and Chemical Communications*, 2(4), 580-584, 2012.

Rinaudo, M., "Chitin and chitosan: Properties and applications", *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603-632, 2006.

Roberts, G.A., Structure of chitin and chitosan, In: Chitin Chemistry, *Springer*, Netherland, 1992.

Roberts, M.J., Spiders of Great Britain and Northern Europe Collins, *Harley Books*, Cochester, 1995.

Sahni, V., Blackledge, T.A. and Dhinojwala, A., "A review on spider silk adhesion", *The Journal of Adhesion*, 87(6), 595-614, 2011.

Sajomsang, W. and Gonil, P., "Preparation and characterization of α -chitin from cicada sloughs", *Materials Science and Engineering: C*, 30(3), 357-363, 2010.

Seyyar, F., *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 (Opiliones) Türünden Kitin Eldesi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde, s. 1-3, 2018.

Seyyar, F. and Demir, H., "Extraction and physicochemical characterization of chitin from *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 (Arachnida: Opiliones)", *Acta Biologica Turcica*, 33(4), 258-263, 2020.

Tang, W.J., Fernandez, J.G., Sohn, J.J. and Amemiya, C.T., "Chitin is endogenously produced in vertebrates", *Current Biology*, 25(7), 897-900, 2015.

Tokareva, O., Jacobsen, M., Buehler, M., Wong, J. and Kaplan, D.L., "Structure–function–property–design interplay in biopolymers: Spider silk", *Acta biomaterialia*, 10(4), 1612-1626, 2014.

Varol, M.İ., Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Yer Örümceklerinin Ekolojisi ve Sistematığı, Doktora Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, s. 1-5, 2001.

Yürtmen, H. and Seyyar, O., "Chaetopelma olivaceum (C.L. Koch 1841) (Araneae: Theraphosidae) türünün kitin yapısının karakterizasyonu", *Journal*, 2019.

Zhang, M., Haga, A., Sekiguchi, H. and Hirano, S., "Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia", *International Journal of Biological Macromolecules*, 27(1), 99-105, 2000.

Zhao, Y., Park, R.D. and Muzzarelli, R.A.A., "Chitin deacetylases: properties and applications", *Marine Drugs*, 8(1), 24-46, 2010.

ÖZ GEÇMİŞ

Dilek DEMİRTAŞ tarihinde’da doğdu. İlkokulu, ortaokulu ve liseyi Bursa’da 2017-2021 ında Bilecik Şeyh sansı, 2020-2022 yıll

Ömer Halisdemir Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümünden Önlisansı tamamladı. 2021 yılında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilimdalı’nda yüksek lisans ve 2022 yılında Bor Meslek Yüksekokulu’nda Gıda Kalite Kontrolü ve Analizinde eğitime başlamış olup ve öğrenimine devam etmektedir. Orta derecede İngilizce bilmektedir.

