

YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**KARDES KABUKLARINDAN FARKLI YÖNTEMLERLE KOTOSAN
ÜRETİM VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Abdullah TAV

Polimer Mühendisliği Anabilim Dalı

Polimer Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2019

YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**KARDEŞ KABUKLARINDAN FARKLI YÖNTEMLERLE KOTOSAN
ÜRETİM VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Abdullah TAV
165101008**

Polimer Mühendisliği Anabilim Dalı

Polimer Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mithat ÇELEBİ

HAZİRAN 2019

YALOVA Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 165101008 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Abdullah TAV**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "**KARİDES KABUKLARINDAN FARKLI YÖNTEMLER İLE KİTOSAN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Dr. Öğr. Üyesi Mithat ÇELEBİ**
Yalova Üniversitesi



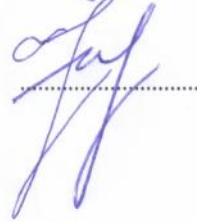
Jüri Üyeleri : **Dr. Öğr. Üyesi Mithat ÇELEBİ**
Yalova Üniversitesi



Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Arif KAYA
Yalova Üniversitesi



Dr. Öğr. Üyesi Z. Ömer ÖZDEMİR
Sağlık Bilimleri Üniversitesi



Teslim Tarihi : 16 Mayıs 2019
Savunma Tarihi : 21 Haziran 2019



Aileme,



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğimi eksik etmeyen, çalışmalarımın yardımcı olan değerli Danışman Hocam Dr. Ömer Üyesi Mithat ÇELEBİ'ye, zor zamanlarımda cesaretlendirip çalışmalarımın odaklanmamı sağlayan, Dr. Ömer Üyesi Mehmet Arif KAYA'ya, tecrübeleri ile çalışmalarımın yardımcı olan Dr. Arslan Gör. Mehmet Arslan'a, Yalova Üniv. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, laboratuvar çalışmalarımın yardımcı olan Arslan Gör. Mehmet MUDU, Arslan Gör. Reyhan ÖZDOĞAN ve Arslan Gör. Zühal YURTBAŞINA, laboratuvar çalışmalarımın her türlü desteğini eksik etmeyen Hakan Fatih TEKE ve Bilal BAL'a, hayatım boyunca aldığım her kararda, beni destekleyerek yalnız bırakmayan, hayat tecrübeleriyle beni her zaman yol gösteren, gösterdikleri anlayış, sevgi ve sabır için sevgili annem, babam ve kardeşime teşekkürlerimi sunuyorum.

Haziran 2019

Abdullah TAV
Polimer Mühendisi

Bu yüksek lisans tezi Yalova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje numarası: 2018/YL/0011) tarafından desteklenmiştir.



Ç NDEK LER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
Ç NDEK LER	ix
KISALTMALAR	xi
Ç ZELGE L STES	xiii
EK L L STES	xv
KAR DES KABUKLARINDAN FARKLI YÖNTEMLER LE K TOSAN	
ÜRET M VE KARAKTER ZASYONU	xvii
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xix
1. G R	1
1.1 Tezin Amacı	2
2.GENEL B LG LER.....	3
2.1 Kitosanın Tarihçesi	3
2.2 Kitin Kaynakları	6
2.3 Kitinden Kitosan Elde Etme Yöntemleri	7
2.3.1 Geleneksel yöntem	7
2.3.2 Mikrodalga enerjisi	8
2.3.3 Otoklav	8
2.3.4 Enzimatik yöntem	9
2.4 Kitosanın Karakteristik Özellikleri	9
2.4.1 Molekül a ırlı ı	10
2.4.2 Deasetilasyon derecesi	10
2.4.3 Kristalin özelli i.....	11
2.4.4 Yüzey alanı	11
2.4.5 Antimikrobiyal etkisi	11
2.4.5.1 Bakteri Hücre Zarı	12
2.4.5.2 Gram pozitif hücre zarı.....	12
2.4.5.3 Gram negatif bakteri hücre duvarı	12
2.4.5.4 Antimikrobiyal mekanizma.....	12
2.4.6 Çözünürlük.....	14
2.5 Kitosanın Proses Edilebilmesi.....	14
2.5.1 Çözücü döküm yöntemi	14
2.5.2.Daldırma ve sprey	15
2.5.3 Basınçla proses.....	16
2.5.4 Dondurarak kurutma	16
2.5.5 Harmanlama	16
2.5.6 Tabaka tabaka	17
2.5.7 3B modelleme ve filament	17
3. DENEYSEL YÖNTEM	19
3.1 Kullanılan Kimyasallar	19
3.2 Kullanılan Cihazlar	19
3.2.1 Fourier dönü ümlü infrared spektrumu (FT-IR).....	19
3.2.2 Viskozimetre ölçümü	19
3.2.3 Termogravimetrik analiz (TGA).....	19
3.2.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	20
3.2.4 EDS	20

3.2.5 Otoklav	20
3.2.6 Mikrodalga	20
3.3 Karakterizasyonlar	20
3.3.1 Çözünürlük	20
3.3.2 Viskozite	20
3.3.3 Nem	21
3.3.4 Kül tayini	21
3.3.5 Kitosanın deasetilasyon derecesinin belirlenmesi	21
3.3.5.1 FT-IR ile deasetilasyon derecesinin belirlenmesi	21
3.3.5.2 Titrasyon ile deasetilasyon derecesinin belirlenmesi	21
3.4 Kitosan Üretimi	22
3.4.1 Karides kabuklarının temizlenmesi	22
3.4.2 Demineralizasyon	22
3.4.3 Deproteinizasyon	22
3.4.4 Renk giderme	22
3.4.5 Deasetilasyon	22
4. DENEYSEL SONUÇLAR	25
4.1 Deasetilasyon Derecesi	25
4.2 FT-IR Sonuçları	27
4.3 Viskozite tayini	30
4.3 Kül tayini	31
4.3 Nem	32
4.4 Termogravimetrik analiz (TGA) sonuçları	32
4.7 Taramalı Elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri	33
4.7 EDS	36
5. SONUÇLAR	39
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇM	45

KISALTMALAR

DD	: Deasetilasyon derecesi
HCl	: Hidroklorik asit
HMWC	: Yüksek molekül a ırlıklı kitosan
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
FT-IR	: Fourier Dönü ümlü nfrared Spektrofotometre
EDS	: Enerji Da ılım Spektrometre
KOH	: Potasyum Hidroksit
LMWC	: Dü ük molekül a ırlıklı kitosan
MW	: Molekül a ırlı ı
NaOH	: Sodyum Hidroksit
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	: Termogravimetrik Analiz
XRD	: X I ınları Kırınımı





ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 :Türkiye'nin 2008-2017 yılları arasındaki karides tüketimi.....	6
Çizelge 4.1 : FT-IR ve titrasyon ile deasetilasyon derecesi tayini.....	29
Çizelge 4.2 : FT-IR ve titrasyon ile deasetilasyon derecesi literatür kıyaslanması....	29
Çizelge 4.3 : Brookfield viskozite değerleri.....	30
Çizelge 4.4 :TGA bozunma sıcaklıkları.....	32
Çizelge 4.5 :TGA kitosan bozunma sıcaklıkları ve kıyaslanması.....	32





EK L L STES

Sayfa

ekil 2.1 : a) Kitin b) Kitosan c) selüloz kimyasal yapısı	4
ekil 2.2 : 1999-2018 yılları arasında yayınlanan kitosan çalı maları	5
ekil 2.3 : Kitinin deasetilasyonu	7
ekil 2.4 : Kitosan üretim akı eması.....	9
ekil 2.5 : Mantarların hücre duvarı	13
ekil 3.1 : Kitosanın kimyasal yapısı	19
ekil 3.2 : Kitosanın üretim eması	23
ekil 4.1 : Kitosan sentezlenme a amaları FT-IR spektrumu	27
ekil 4.2 : Kitosanların farklı üretim yöntemleri ile FT-IR spektrumları..	27
ekil 4.3 :Klasik kitosanın absorbans piklerinden yararlanarak deasetilasyon derecesinin hesabı.....	28
ekil 4.4 : Kitosan TGA analizi.....	30
ekil 4.5 : Karides kabu u SEM görüntüsü.....	33
ekil 4.6 : Kitin SEM görüntüsü.....	34
ekil 4.7 : Kitosan SEM görüntüsü.....	35
ekil 4.8 : Karides kabu una EDS analizi.....	36
ekil 4.8 :Kitin EDS analizi	36
ekil 4.10 : Kitosan EDS analizi.....	37



KARIDES KABUKLARINDAN FARKLI YÖNTEMLER İLE KİTOSAN ÜRETİM VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Kitin selülozdan sonra dünyada en bol bulunan en bol polimerdir. Her yıl yaklaşık 10 milyar ton kitin doğada biyosentez yoluyla üretilmektedir. Kitin kabuklu deniz canlılarında, böceklerin dış iskelet yapısında ve mantarların hücre duvarında bulunur. Kitosan ise kitinin deasetilasyonu ile üretilir. Kitosan antibakteriyel, antifungal, biyouyumlu, biyobozunur ve toksik özellik göstermeyen doğal bir amino polisakarittir. Kitosan üretimi sırasındaki deasetilasyon işlemi kitosanın fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini belirler. Kitosanın özellikleri deasetilasyon derecesi, viskozitesi ve moleküler ağırlığından etkilenmektedir.

Bu çalışmada, karides kabuklarına demineralizasyon, deproteinizasyon ve depigmentasyon işlemleri uygulanarak kitin elde edildi. Kitin yüksek konsantrasyonlarda NaOH ile muamele edilerek klasik yöntem, basınç ve mikrodalga enerjisi gibi farklı yöntemler kullanılarak kitosan üretilti. Üretilen kitin ve kitosan polimerleri FT-IR, TGA, SEM ve EDS cihazları kullanılarak karakterize edildi.



PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN WITH DIFFERENT METHODS FROM SHELLS SHRIMP

SUMMARY

Chitin is the most second abundant polymer naturally occurring in the world after cellulose. Approximately 10 billion tons of chitin are produced in nature by biosynthesis for every year. Chitin is found in shellfish, exoskeletal structure of insects and cell wall of fungi. Chitosan is also produced by deacetylation of the chitin. Chitosan is an antibacterial, antifungal, biocompatible, biodegradable and non-toxic natural amino-polysaccharide. The deacetylation process during chitosan production changes the physicochemical and functional properties of chitosan. Properties of chitosan are affected by deacetylation degree, viscosity and molecular weight.

In this study, chitin was produced from shrimp shells after demineralization, deproteinization and depigmentation processes. The chitin was treated with high concentrations of NaOH to produce chitosan using different methods such as conventional method, pressure and microwave energy. The produced chitin and chitosan polymers were characterized by FT-IR, TGA, SEM and EDS.

1. G R

Kitin, selülozdan sonra dünyada en bol bulunan ikinci do al biyopolimeridir. Kitin ana elde edilme kaynakları deniz kabukluları, karides ve yengeçlerdir. Kitosan, genel olarak kitinin deasetilasyon i lemi sonucu olarak elde edilmektedir. Biyouyumluluk, biyobozunurluk ve dü ük toksik etkisi olmayan kitosan, benzersiz biyolojik özelliklere sahiptir. Kitosan, yaygın olarak yüksek katma de erli alanlarda kullanılmaktadır; kozmetik, gıda, katkı maddeleri, ilaç ta ıycıları ve eczacılık gibi alanlar örnek olarak gösterilebilir (Yao vd. 2012).

Kitosanın element bile imi sırasıyla -C (karbon) % 44.11, -H (hidrojen) % 6.84 ve -N (azot) % 7.97 yüzde oranlarıyla genel kimyasal yapısı olu maktadır. Ticari olarak ula ılabilir kitosanların deasetilasyon derecesi % 66-95 de erleri arasında bulunmakta, deasetilasyon derecesi serbest -NH₂ amin grupları üzerinden hesaplanmaktadır. Bu ise kitin ile kitosanı ayıran en belirgin farklılıktır (Paulino vd. 2006).

Birçok do al polimerin aksine kitosan amfoter karakteri olmakla beraber bu özelli i sayesinde çözelti halinde yada toz haldindeyken birçok avantaja sahiptir. Birçok bilinen polisakkaritin aksine kitosan sahip oldu u serbest amino grupları sayesinde pozitif yükle yüklenebilmektedir. Böylelikle birçok kompozit ve harman hazırlanmasına imkân sa lamaktadır. Örnek olarak üretilen malzemelerin kullanım alanı atık sularda a ır metalların uzakla tırılması ve sa lık alanında antimikrobiyal membranlarda kullanılmaktadır (Paulino vd. 2006).

Kitosan, yara pansumanı ve yara iyile mesi sürecinde etkili bir do al bir malzemedir. Kitin ise biyomedikal malzemelerin kaplamasında kullanılabilir fakat bu kullanım kısıtlıdır. Ayrıca kitosan ile kaplı standart ipek ve kâ ıt sargı bezleri, kitosan kaplı olmayanlara göre daha iyi sonuç vermektedir (Pokhrel, Yadav, ve Adhikari 2016).

Kitosan, çevre dostu, biyolojik olarak biyobozunur, biyouyumluluk, yüksek biyoaktivite, seçici geçirgenlik, iyon de i tirme, antimikrobiyal aktivite, yüksek emme kapasitesine gibi spesifik özellikleri mevcuttur. Tarım sektöründe ise tohum, yaprak, meyve ve sebze kaplanmasında kullanılır. Bitkilerin verimini artırmak ve bitkileri

mikroorganizmalara karşı korumak, bitkilerin büyümesini teşvik edici uygulamalarda kullanılabilir (Pokhrel, Yadav, ve Adhikari 2016).

Kitosan en kısa tanımıyla kimyasal veya enzimatik kitin deasetilasyonu ile üretilen doğal, güvenli ve ucuz bir biyopolimerdir. Neticesinde kitosan laktik asit, asetik asit gibi seyreltik asitlerde çözünebilmektedir (Anand vd. 2014).

Son 20 yılda, kitosan esaslı malzemelere büyük bir ilgi vardır (Domard ve Cartier 1989).

Bu biyopolimerlerin çeşitli endüstrilerde daha fazla kullanılmasının ve yer verilmesinin avantajları, imalat ileminin maliyeti ve tekniktir. Bu çalışmanın amacı basit ama etkili bir yöntemle kitosanın elde edilmesi hedeflenmektedir.

1.1 Tezin Amacı

Deniz ürünleri endüstrisi birçok ülkede kabul görmüş büyük bir pazardır. Bu pazarında çok büyük bölümünün kabuklu deniz canlıları olduğunu belirtmek mümkündür. Deniz ürünleri endüstrisinin genel çalışma tarzı budur; hasat edilen ürünleri temizlemek ve paketlemek üzerine yapılanmıştır. Temizleme sırasında, et kısımları ayıklandıktan sonra baş ve kabukları atık olarak ayrı toplanıp atılmaktadır. Bunun sonucundaki geri dönüşümlenmeyen ve kullanılmayan atıklar biyolojik olarak parçalanabilmesine rağmen, büyük miktarlarda atılmasından dolayı bozulma sürecini yavaşlatır ve çevre için büyük bir sorun teşkil eder. Küresel olarak incelendiğinde ise ciddi boyutlarda atık ile karşılaşılır (Islam, Khan, ve Alam 2017).

Bu tezin amacı atıkların geri kazanımını sağlayarak, yüksek katma değerli ürünlerin üretimini farklı yöntemler kullanarak gerçekleştirmektir.

2.GENEL B LG LER

2.1 Kitosanın Tarihçesi

1811'de Fransız bilim profesörü olan H. Braconnot, mantarı sıcak bir seyreltik alkali solüsyonu ile defalarca muamele ederek i lem sonunda beyaz fibroid olarak adlandırılan malzemeleri elde etmi tir (Yao et al. 2012).

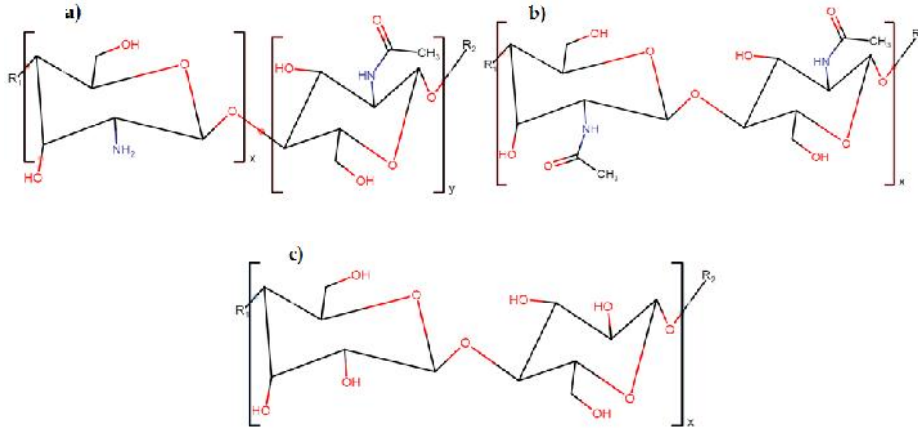
1823'te, ba ka bir Fransız bilim adamı olan A. Order, aynı maddeyi böceklerin kabuklarından elde etmi tir. Elde etti i bu kitin, selülozün bir türevi olarak adlandırmı tır. 1843 yılında, J. L. Lassaigne, kitinin azot içerdi ini ve bilinen selülozdan farklı oldu unu anlamı tır (Yao et al. 2012).

1878'de G. Ledderhose tarafından kitin içindeki glukozamin ve asetik asit hidrolizi ile tanımlanmı tır. 1894'te E. Gilson kitinlerin glukozamin içerdi ini kanıtlamı tır. Daha sonraki yıllarda ise yapılan ara tırmalarda N-asetil glukozamin polimerle mesinden kitinin olu tu u ispatlanmı ve literatüre kazandırılmı tır (Yao et al. 2012).

Üretim açısından 1859 yılında büyük ölçekte üretim denemeleri yapıldı. Endüstriyel ölçekte ise ilk olarak üretimi 1971 yılında Japonya'da yapılarak tescillenmi tir. Kitosan, - (1 4) -glikozidik ba larla ba lanan tekrar eden N-asetil-2-amino-2-D-glukopiranoz ve 2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoz ünitelerinden meydana gelen bir polisakkarittir (Yao vd. 2012).

1977'de Boston, ABD'de "1. Uluslararası Kitin ve Kitosan Konferansı" gerçekte tirildi ve bu konferanstan sonra bilimsel ve endüstriyel topluluklar tarafından yo un ilgi gördü (Dotto ve Filho. 2017).

Dünyada en bol ve do al olan bile ik, bitkilerden elde edilen selülozdur. Hayvanlardan elde edilen kitin, selülozu takip etmektedir. Her yıl yakla ık 10 milyar ton kitin do ada biyosentez ile üretilmektedir. Kitin protein haricinde dünyadaki en büyük içeri e sahip do al azot içeren organik bile iktir (de Britto vd. 2011). Kitin, kitosan ve selülozun kimyasal yapısı a a ıdaki ekilde ifade edilmi tir (Dutta vd., 2003).



ekil 2.1 : a) Kitin b) Kitosan c) selüloz kimyasal yapısı

Kitin kabuklular, böcekler, yumu akçalar ve mantarlardan elde edilir. Deniz mahsulleri endüstrisinden gelen atıklar olan karides ve yengeç kabukları kitosana dönü türülür. Hammaddesi neredeyse sıfır maliyete sahip atık kabukların geri kazandırılması ile üretilen kitosan ve kitosan türevlerinin ekonomik de eri yüksektir. Günümüzde kitosan ticari olarak Japonya, Hindistan, Çin, talya, Kanada, ili, Polonya, Norveç, ABD ve Brezilya'da üretilmektedir (Yao et al. 2012).

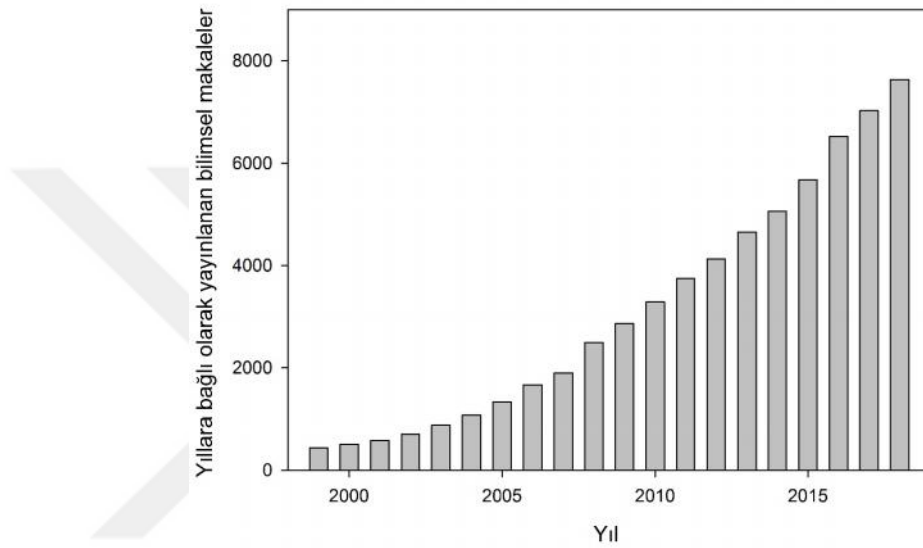
Toz kitosanın fiyatı belirleyen hususlar ise molekül a ırlı 1, fonksiyonel özelliklerine ve saflı a ba lı olarak de i mektedir. Örne in, kitosanın tarımsal kullanım fiyatı yakla ık 20 ABD Doları/kg'dır; su arıtması için yakla ık 30 ABD Doları / kg'dır; Gıda uygulamaları için 150 ABD Doları/kg; Laboratuvarda genel kullanım için 500 ABD Dolar/kg'dır. Yüksek saflıkta %99 kitosan (1 kg) fiyatı 1000 ila 1300 ABD Doları arasında de i kenlikler göstermektedir (Dotto ve Filho.; Yao vd. 2012).

Bu biyopolimerlerin çe itli endüstrilerde daha fazla kullanılmasının avantajları, imalat i leminin maliyeti ve tekniktir. Karides kabu undan kitin hazırlamada kullanılan ticari yöntem, sırasıyla mineralleri ve proteinleri çıkarmak için kuvvetli asit ve alkali i lemlerini içerir. Bununla birlikte, bu kimyasalların kullanılması ürünün depolimerle mesine neden olur ve bu nedenle moleküler a ırlık, viskozite ve deasetilasyon derecesi gibi özellikleri etkilenmektedir (Thomas vd. 2019).

Genel olarak, kabuklar kitin elde etmek için sırayla demineralizasyon, deproteinizasyon ve desasetilasyon a amalarından olu an 3'lü sıra takip edilerek üretilir. Kitosanın kalitesi, moleküler a ırlı 1, deasetilasyon derecesi ve kristallik gibi özellikleri dikkate alınarak de erlendirilir. Bu özellikler biyoyumluluk, biyo-yapı kanlık, çözünürlük gibi özelileri etkilemektedir. Kitosanın sayılan bu özellikleri

ve ilaveten biyolojik kaynaklı olması çe itli uygulamalara yönelik kimyasal ve fiziksel modifikasyonlar için mükemmel ve ilgi çekici bir malzeme haline gelmiştir (Dotto ve Filho, 2017).

Kitosan ile ilgili 2010 yılından 2018 yılları arasında 45,000'den fazla bilimsel makale ve yaklaşık olarak ise 20 farklı kitap basılmıştır. Kitosan ile ilgili 2004-2017 arasında yayınlanmış olan akademik yayınları ekil 2.2'de gösterilmiştir (Kenawy ve Chen 2017).



ekil 2.2 : 1999-2018 yılları arasında yayınlanan kitosan çalışmaları

Yıllık küresel deniz ürünleri atıklarının toplamı 540 metrik ton olarak gerçekleştirildiği tahmin edilmektedir. Kurutulmuş iskeletlerde kitin içeriği kabuklu türlere bağlı olarak % 5 ila % 42 arasında değişmektedir. Karides ve yengeç atıklarından elde edilen kitosan çok caziptir, çünkü bu kaynaklar yenilenebilir ve sıfır maliyete sahiptir (Dotto ve Filho, 2017). Gelenik deniz ürünlerinin yaklaşık % 45'ini karidesler oluşturmakta ve bu atıkların büyük çoğunluğunu ise karideslerin iskeletleri oluşturmaktadır. Bu atık, hammaddenin toplam miktarının % 50-70'ine tekabül eder (Dotto ve Filho, 2017). Türkiye'nin 2008-2017 arası toplam karides tüketimini göstermektedir. Düzenli ve kararlı bir tüketimin olduğu görülmektedir (TÜİK, 2019).

Çizelge 2.1 : Türkiye'nin 2008-2017 yılları karides tüketimi

Karides yıllık toplam tüketim (ton)	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Toplam (ton)	4668	4614	4705	4769	5038	4027	4416	3995	4500	4730

2.2 Kitin Kaynakları

Kitin, tabiatta elde edilebilme kaynaklarına göre üç şekilde sınıflandırılmı tır.

- 1- Eklem bacaklı kabuklar: Birincil kaynak olarak adlandırılmaktadır. Karides ve yengeçlerden %58-85 oranında kullanılırken, ikincil kaynak olarak gösterilebilecek böceklerden kaynak olarak kullanıldı ında ise %20-60 arasında de i en miktarlarda bulunabilmektedir. İkincil kaynaklara örnek olarak ise hamam böcekleri, sivrisinekler ve ipek böcekleri olarak gösterilebilir.
- 2- Yumu akçalar, yaklaşık olarak %3- 26 arasında bir kitine sahiptir.
- 3- Protozoanlar, tek hücreli canlılardır, az miktarda kitin içermektedirler.
- 4- *Coelenterates* %3-30 arasında kitin içeri ine sahiptir.
- 5- Deniz yosunu sadece ye il olan türlerinde kitin bulunmaktadır.
- 6- Mantarlar % 45 oranlara ula abilen oranda kitin içermektedir. Sadece birkaç çe it türü hariç hepsinde bulunmaktadır.
- 7- Tabiatta bulunan di er hayvanların özellikle eklem yerlerinde belli miktarlarda bulunmaktadır.

Tabiatta bulunan tüm kitinler, kendi ba ına bulunmazlar. Karma ık bile ikler, dokular ve bir iskelete ba lı olarak bulunurlar. Örne in böceklerin ve yumu akçaların dı iskeletlerinde, fenol ile çapraz ba lı bir biçimde proteinlerle beraber bulunmaktadır. Mantarlarda, bulunan kitinler ise selüloz gibi ba ka çe it polisakaritlerle kompleks olu turmaktadırlar (Dotto ve Filho. 2017).

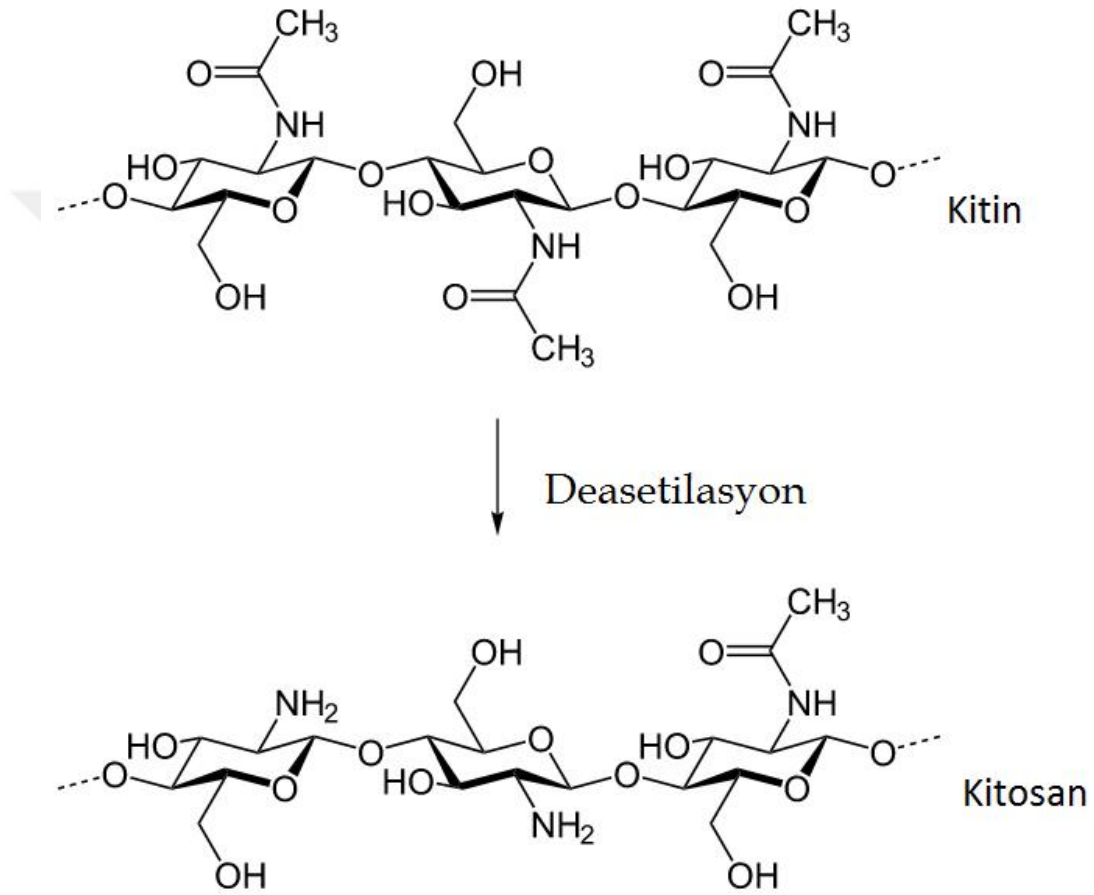
Kitinler, sahip oldukları hidrojen ba ları sebebiyle α , - ve -kitin olarak farklı yapıarda bulunabilirler. -Kitin iki adet antiparalel polisakkarit zinciri içerir. -kitin üçü arasında kıyaslandı ında en stabil olanıdır bu nedenle en büyük içeri e sahiptir. Ko ullar uygun oldu unda di er iki tip kitine -kitin dönü meye yatkındır. Bununla birlikte farklı konfigürasyonlar demek farklı fonksiyonlar demektir. -Kitin sahip oldu u yüksek stabilite sayesinde yüksek sertli e ihtiyaç duyulan kısımlarda örne in, eklem bacaklıların dı iskeletinde bulunmaktadır ve genellikle kabuk proteini veya inorganik bile ikerden meydana gelen kompleks yapıya sahiptir (Rudall 1963).

-Kitin iki tane paralel polisakkarit zinciri içerir. -Kitin, ikisi aynı yönde olan üç paralel polisakarit zinciri içerir. -Kitin ve -kitin genellikle yumu ak kısımlarda bulunmaktadır (Rudall 1963).

2.3 Kitinden Kitosan Elde Etme Yöntemleri

Kitinin dallanmış grubu olan asetil gruplarının % 100 koparılması teorik olarak mümkündür fakat uygulamada asetil gruplarının tamamının koparılması mümkün değildir. Kitosanı ana elde etme yöntemleri kimyasal ve enzimatik ikiye ayrılmaktadır (Czechowska-Biskup vd. 2012).

Kitinden asetil gruplarının koparılması ekil 2.3'te olarak gösterilmiştir (Morgana Maria 2015).



ekil 2.3 : Kitinin deasetilasyonu

2.3.1 Geleneksel yöntem

Günümüzde kabuklulardan kitin ekstraksiyonu genellikle kimyasal metotlar kullanılarak elde edilmekte olup en yaygın olarak tercih edilen yöntemler genellikle 3 a amalı olarak yapılmaktadır. Sırasıyla yapılan işlemler şu şekildedir; işlem görmemiş kabuklular üzerine ilk olarak deproteinizasyon bir alkali çözelti ile muamele edilir ve mineral giderme işlemi denilen asidik bir karışım ile beraber minerallerden

uzakla tırılır. Son a amada ihtiyaç duyulan durumlarda renk giderme i lemi yapılarak tamamlanır (Vilar Junior vd. 2016).

Kitinin sayılan birçok avantajının yanı sıra en önemli dezavantajı ise bilinen birçok çözücüde çözünmemesidir. Bu nedenle kitin modifiye edilerek kitosan elde edilir (Islam, Khan, ve Alam 2017).

Kimyasal yöntem daha çok tercih edilen bir yöntem olup enzimatik yöntemle göre daha ucuzdur. Kitinin çözünürlü ünü artıran faktör ise deasetilasyon derecesi olarak adlandırılmaktadır. Kısaca kitin, hidroksit çözelti yüksek sıcaklıkta maruz bırakılarak sahip oldu u asetil gruplarının koparılmasına dayanmaktadır. Deasetilasyon i lemi kitinin alkali ortamda yüksek sıcaklı a çıkılarak yapılır. Bu a ama çok hızlı gerçekleşmektedir ve %40-50 arasında deri ime sahip çözelti ve 130-150°C arasında de i en sıcaklıklarda 2 saat gibi bir sürede tamamlanabilmektedir (Anand vd. 2014).

Kitosanın temel olarak elde edilme akı eması ekil 2.4 gösterilmiştir (Yao et al. 2012).

Yukarıda bahsedilen termo-kimyasal yöntemle ilave olarak mikrodalga ve otoklav yöntemleride kitinden kitosan üretiminde kullanılmaktadır.

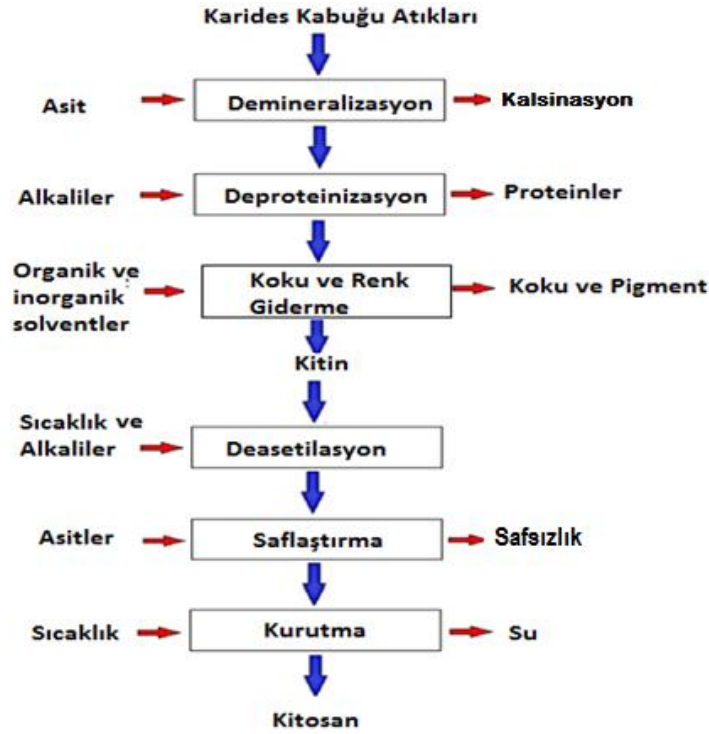
2.3.2 Mikrodalga enerjisi

Son yıllarda, mikrodalga kimyası, reaksiyon hızını geleneksel ısıtma sistemine göre hızlandırabilece i ve çok daha hızlı gerçekleşmesi ile önem kazanan bir yöntemdir. Buna ra men, biyoteknolojik proseslerin yerine ikame etmek zordur ve kullanım alanı kısıtlıdır. Son yıllarda kovalent ba larının immobilizasyonu için mikrodalga ı ınlarının kullanımı artmaktadır. Kitinden kitosana dönü türebilmek için mikrodalga kullanılmı tır. Geleneksel yöntemlere göre çok kısa sürelerde reaksiyonun tamamlanmasını sa lamaktadır. Mikrodalga ı ınımı basit ve hızlı bir metottur (Sahu vd., 2009).

2.3.3 Otoklav

Deasetilasyon i leminde istenilen de erlere ula abilmek, zorlu ko ullar altında mümkündür. Makul bir sürede, önemli bir bozulma olmadan seyreltik asitler içinde çözünmesi gerekmektedir. Kitinin deasetilasyonu için sınırlı sayıda yöntem ve teknik bulunmaktadır. Geleneksel yöntemlere ilave olarak otoklav yardımıyla yapılabilmektedir. Literatürde reaksiyon süresi de i tirerek 15 psi ve 120°C sıcaklıkta çe itli çalı malar mevcuttur. Yapılan çalı malarda daha homojen deasetilasyon

derecelerine sahip olarak stabil ürünler elde edilebilmektedir (Salman ula Ulaiwi, 2018).



ekil 2.4 : Kitosan üretim akı ması

2.3.4 Enzimatik yöntem

Deasetilaz enzimi ile kitin, sıcak konsantre alkali kullanmadan yapılabilmektedir. Enzimatik yöntemin avantajları çevre kirliliğini önlemesi, enerji tüketimini düşürmesi ve sıcak konsantre alkali ile işlenen üründe meydana gelen dengesiz deasetilasyon derecesi (DD) ve istenmeyen düşük molekül a rlıklı polimer probleminin üstesinden gelmesi olarak sıralanmaktadır. Enzim yöntemiyle oluşturulan ürün, sahip olduğu yeni fonksiyonel özellikler sayesinde farklı amaçlı malzemeler üretmek amacıyla kullanılabilir. Bununla birlikte, bu yöntemin düşük verim ve düşük enzim aktivitesi gibi bazı problemleri beraberinde getirir. Çünkü kitin bir morfolojiye sahip olduğundan doğal kitinler, deasetilaz için uygun bir substrat değildir. Bu nedenle, kitosanın endüstriyel üretiminde kitin deasetilaz enzimi kullanılmadan önce sayısız hazırlama yapılmasını gerektirir (Aljawish vd. 2015).

2.4 Kitosanın Karakteristik Özellikleri

Kitosan özellikleri kesinlikle kabukluların elde edilen kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Kitosanın kalitesini ve uygulama aralığını tanımlayan temel özellikler

moleküler a ırlı ı, deasetilasyon derecesi, kristalin, yüzey alanı ve parçacık boyutu olarak tanımlanmaktadır. Bu özellikler a a ıdaki bölümlerde ayrıntılı olarak anlatılmaktadır.

2.4.1 Moleküler a ırlı ı

Kitosan moleküler a ırlı ı (MW), biyopolimerin monomerik birimlerinin sayısı ile ili kili bir durum olup özellikleri (viskozite, çözünürlük) ve kitosan uygulamalarını etkiler. Genel olarak kitosanın moleküler a ırlı ı 20 ila 1200 kDa arasında de i mektedir. Kitosan, moleküler a ırlı ına göre u ekilde sınıflandırılır (Roberts ve Domszy 1982).

Dü ük moleküler a ırlıklı kitosan (LMWC) orta moleküler a ırlıklı kitosan (MMWC) ve yüksek moleküler a ırlıklı kitosan (HMWC) Kitosan MW ı ık saçılımı (light scattering) ve viskozite tayin yöntemi ile ölçülebilmektedir, ancak viskozimetrik yöntem en yaygın ve basit tayin yöntemidir (Roberts ve Domszy 1982).

Yapılan çalı malarda kitosanın moleküler a ırlı ının özellikleri ve uygulamaları üzerindeki etkisini do rudan etkili oldu u kanıtlamı tır. Dotto ve Fernandez-Pan'a göre LMWC'den elde edilen kitosan katkı ambalaj filmleri, depolama ve saklama ko ulları süresince papaya meyvesini ve balıklarını korumakta HMWC göre daha ba arılıdır (Dotto ve Filho. 2017).

2.4.2 Deasetilasyon derecesi

Deasetilasyon derecesi (DD) kitosanın özelliklerini ve uygulamalarını tanımlayan en önemli özellikler arasında bulunmaktadır. MW ile aynı ekilde DD, kitosanın özelliklerini ve uygulama alanlarını etkilemektedir (Dotto ve Filho. 2017).

Örne in, DD'deki artı lar kitosan polimerik zinciri üzerindeki serbest amino gruplarını artırır, sonuç olarak kitosan çözünürlü ü yükselmektedir. Deasetilasyon derecesi, Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), X-ı ını difraksiyonu (XRD) ve manyetik nükleer rezonans (NMR) gibi spektroskopik yöntemlerle tahmin edilebilir bu yöntemlere ilave olarak titrasyon yöntemi ile de tayin edilebilir. DD yükselmesi adsorbsiyon kapasitesini ve mekanik özelliklerini yükseltmektedir (Dotto ve Filho, 2017).

2.4.3 Kristalin özelli i

Kristallik özellik, polimerlerin karakteristik yapısını etkileyen önemli yapısal bir durumdur. Kitosanın supramoleküler yapısının incelendi inde selüloz ve selüloz türevlerinin sahip oldu u, lineer, yarı kristallinyapıya sahiptir. Hidrojen ba larıyla ba lananzincirler, mikrofiberleri olu tururlar. Mikrofiberlerin düzgün bir biçimde istiflenmesiye kristalin bölgeleri olu tururken, düzensiz olarak meydana gelen miktofiberler ise amorf bölgeleri olu turmaktadır. Kitosanda kristalin bölgeler yo un oldu unda hidrofobik bir karakter sergiler. Bu durumunun sonucu olarak kitosanın nem ve su absorpsiyon yetene i do rudan etkileneerek azalır (Ioelovich 2014).

2.4.4 Yüzey alanı

Kitosanın sahip oldu u katyonik aktivite bakır, kadmiyum, magnezyum gibi malzemeler ile kıyaslanabilmektedir. Bu sebepten dolayı yüzey alanının yükselmesi ile beraber katyonik etkisinin artması beklenmektedir. Yüzey alanının artması ile beraber nihai ürünlerin etkinli i beraberinde yükselmektedir. Ürün olarak bakıldı nda hidrojeller, ince filmler, nanofibriller gibi ürünlerde kullanılmaktadır. SEM ile parçacık boyutu tayini yapılabilmektedir (Ramakrishna vd., 2011).

2.4.5 Antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar faydalı ve patojenik olarak sınıflandırılabilir. Kalın ba ırsa n içerisindeki bakteriyel flora insanlar için faydalı olsa da, di er mikroorganizmalar insanlar için patojenik hastalıklara sebep olabilmektedir. Antimikrobiyal ajanlar ise bu tür çe it patojen mikroorganizmaları öldüren veya büyümelerini engelleyen maddelerdir. Mikroorganizmaların neden oldu u birçok hastalı n tedavisinde kullanılmaktadırlar. Antimikrobiyal ajanlar, hedefledikleri mikroorganizma türlerine göre sınıflandırılarak gruplandırılırlar. Bakterileri, mantarları ve virüsleri öldüren ajanlara sırasıyla bakteri öldürücü, mantar öldürücü ve virülaz ajanları denir. Bakterilerin, mantarların ve virüslerin büyümesini engelleyen ajanlara sırasıyla bakteriyostatik, fungistatik ve virüstatik ajanlar denilmektedir. Antimikrobiyal ajanlar kullanılarak yapılan klinik tedavisine ise kemoterapi denilmektedir (de Britto vd. 2011).

2.4.5.1 Bakteri Hücre Zarı

Bakterilerin hücre zarı, antibakteriyel maddelerin verimli ini etkileyen ana faktörler arasında en önemlisidir. Antibakteriyel maddelerin hücre içerisinde girmesini engelleyerek bariyer görevi görür. Hücre zarı hücrelerin membranı olarak da adlandırılmaktadır. Bakteriler kendi aralarında hücre zarının boyanabilme özelliklerine göre 2 ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar ise boyananlar gram pozitif, boyanamayanlar ise gram negatif olarak adlandırılmaktadır (Tachaboonyakiat 2017).

2.4.5.2 Gram pozitif hücre zarı

Gram pozitif hücre zarları genellikle gram pozitif hedefleyici antibakteriyel ajanların ana hedefi olma e iliminde olan kalın peptidoglikan çok katmanlı maddelerden oluşmaktadır. Bu katman çok güçlü s lam olmakla birlikte içerisinde yüksek miktarda su muhtevası bulundurmaktadır. Bu sayede hücre içerisine alı veri mümkün olmaktadır. Hücre alı veri i iyon farkı ise önemli bir parametre olmaktadır (Tachaboonyakiat 2017).

2.4.5.3 Gram negatif bakteri hücre duvarı

Gram negatif bakterilerin hücre zarı, gram pozitif bakterilere göre kimyasal olarak daha karma ık ve daha incedir. Peptidoglikan tabakasının dı kısmının üzerinde bir zar katmanı daha bulunur. Dı kısımda bulunan bu zar hücre içerisine geçmek isteyen antibiyotikleri engellemektedir (Tachaboonyakiat 2017) .

2.4.5.4 Antimikrobiyal mekanizma

Antibakteriyel etki ekli, farklı hücre yüzey özelliklerinden dolayı gram pozitif ve gram negatif bakteriler arasında farklılık gösteren karma ık bir i lemdir. Muhtemel antibakteriyel etki mekanizmaları;

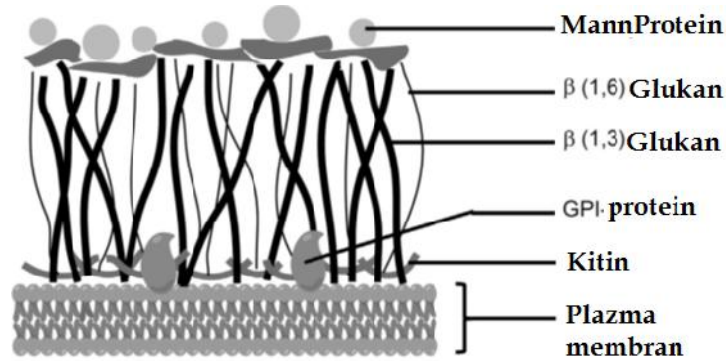
(1) bakteriyel hücre yüzeyinde polimerik bir zar olu turan yüksek MW'lı kitosan, hücrelerin içine giren besinleri önleyerek bakterileri öldürmesidir,

(2) dü ük MW'lı kitosan'ın hücre yüzeyindeki elektrostatik etkile imi bozarak ve hücrenin metabolizmasını bozmaktadır. Kitosanın MW arttıkça, genel olarak gram pozitif bakterilerine olan etkileri artar. Yüksek MW kitosan bakteri içine alan ve besin ta ınmasını engelleyen film tabakası olmaktadır. Öte yandan, gram negatif bakterilere kar ı antimikrobiyal aktiviteyi arttırmak için dü ük MW'ın kitosanın daha etkili oldu u gözlenmiştir. Gram negatif bakterilerin hücre yüzeyi, daha yüksek

hidrofiliklik gösterdi inden negatif yüklüdür ve pozitif yüklü kitosan yüzeye kolayca yapışabilmektedir (Tachaboonyakiat 2017).

Kitosanın, *S.aureus* gibi gram pozitif bakterilere etkileşimi negatif yüklüdür ve elektrostatik bir etkileşim ile bir araya gelmektedirler. Bu elektrostatik etkiyi ise *S. aureus* bakterisinin bakterisinin yüzeyinde bulunan *teichoic* asit ile meydana gelen etkileşiminden oluşmaktadır. *Teichoic* asitin azalması ile yüzeydeki olumsuz etkileşim kuvveti azalmaktadır. Benzer şekilde, kitosanın *E. Coli* gibi gram negatif bakteri ile etkileşimi LPS'nin negatif yükleri ile elektrostatik etkileşim olarak etkilemekte ve geçirgenlikte değişikliklere neden olmaktadır. Bu nedenle, gram pozitif bakteriler, kitosanın antibakteriyel etkisine karşı gram negatif olanlardan belirgin şekilde daha hassastır (Tachaboonyakiat 2017).

Mantarlar kimi zaman enfeksiyona neden olmaktadır. Enfeksiyon cilt yüzeyindeki mantarların kolonilemesi ve bir yaraya girmesinden oluşabilir. *Candida* mantarı bilinen en etkili fungal enfeksiyondur. Mantarlardaki hücre duvarları, çapraz bağlanmış polisakkaritler ve glikoproteinlerden oluşur. Mantar, hücre duvarlarındaki ana bileşenler, kitin, glukan ve glikoproteinlerdir. Her bileşenin miktarları, mantar türlerine bağlı olarak değişebilir. Öte yandan, bazı antifungal ajanlar, hücre duvarında bozulmalara neden olarak inhibitör görevi görmektedir. Birçok mantar spor yoluyla çoğalır, bu nedenle bazı antifungal ajanlar spor oluşumunu engeller baskılar (Tachaboonyakiat 2017).



ekil 2.5 : Mantarların hücre duvarı

Kitosanın mantar oluşumunu inhibe edeceği bilinmektedir. Pek çok sonuç göstermektedir ki, kitosanın mantarların hücre zarlarında bozulmaya neden olur. Antifungal mekanizmalardan biri, Ca^{2+} 'nin hücre zarı içinde yer değiştirmesine neden fungal yapının ölmesine sebep olur. Ayrıca, kitosan hücre, hücre yüzeyinde, sızıntılara, yüzey geçirgenliğindeki değişikliklere, metabolik bozukluklara ve

nihayetinde mantar hücresinin elektronegatif yüzey yapısının bozulmasına neden olmaktadır (Tachaboonyakiat 2017).

Virüsler, proteinler veya diğer makromoleküller ile çevrili nükleik asit içeren küçük partiküllerdir. Virüsün büyüklüğü 20 ila 300 nm arasındadır. Bu boyutu sayesinde bakterilerin geçmesini engellenen filtrelerden rahatlıkla geçebilmektedirler (Tachaboonyakiat 2017).

2.4.6 Çözünürlük

Kitosan random bir kopolimer olarak adlandırılmakta olup ve asetil gruplarının koparılmasına bağlı olarak çözünürlük parametresi değişmektedir. Kitosanının çözülebilir olabilmesi için en az %50 olmak üzere asetil gruplarının koparılması gerekmektedir. Kitosan asidik ortamda çözünürlüğü vardır. Kitosan bu şekilde asidik ortamda çözünürce pozitif yük ile yüklenir. Bu aynı zamanda pozitif yüklenen kitosan antimikrobiyal özellik kazanmaktadır (Ravindra, Krovvidi, ve Khan 1998).

Amin gruplarının varlığı kitosanın çözünürlük yeteneğini arttırmaktadır. Bu biyopolimer pH 6.0'ın altındaki seyreltik asit çözeltilerinde çözünür. Daha düşük pH değerlerinde ise, çözeltilde H^+ iyonları, $(NH_3)^+$ oluarak iyonlaşır. Diğer taraftan, 6.0'dan daha yüksek pH'ta deprotonlaşma meydana gelir ve kitosan çözünmez hale gelir. Kitosan için en uygun çözümler sırasıyla formik asit, asetik asit (en yaygın kullanılan) hidroklorik asit ve nitrik asittir. Kitosan sülfürik ve fosforik asitlerde çözünmezler ve depolimerizasyona neden olmaktadır. Bundan dolayı konsantre asit kullanmak uygun değildir. Kitosan ve kitosan esaslı malzemelerin çözünürlüğü; zaman, sıcaklık, DD, MW, parçacık büyüklüğü, asit türü ve konsantrasyonu, zamana bağlı olarak değişir (Ravindra, Krovvidi, ve Khan 1998).

2.5 Kitosanın Proses Edilebilmesi

2.5.1 Çözücü döküm yöntemi

Kitosan en önemli avantajlarından biri film oluşturma yeteneğidir. Çözücü döküm yöntemi kitosanı işlemde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Yapılan işlem, kitosan tozu ile çözülebilen bir asidik bir çözelti hazırlanarak başlanır ve oluşan çözelti daha sonra genellikle bir petri kabına dökülerek elde edilir. Çözelti daha sonra oda sıcaklığında veya bir etüv içerisinde belirli bir sıcaklıkta çözücü tamamen buharlaştıncaya kadar kurumaya bırakılır. Film oluşturma sırasında elektrostatik ve hidrojen bağı gibi polisakaritlerin yapısında önemli bir yere sahip olan yapıların

zincir dola malarının ve moleküller arası etkile imlerin sayesinde gerçekte ir. Bahsedilen zincirler arasındaki de i imler nedeniyle, kitosan filmleri genellikle kırılğan olur ve bu nedenle mekanik özelliklerinin iyile tirilmesi için plastikle tiricilerin eklenmesi gerekir. En yaygın kullanılan plastikle tiricilerin bazıları polioller (gliserol, sorbitol ve polietilen glikol), ekerler (glikoz) ve lipidler olarak sayılabilir. Çözelti ile döküm yöntemi laboratuvar ölçekli çalı malar hazırlamak için en yaygın kullanılan yöntemlerden arasında yer alır (Dotto ve Filho, 2017).

2.5.2.Daldırma ve sprey

Kaplamalar, ço unlukla yenilebilir bir aktif paketleme sistemi gerektiren uygulamalar için kullanılır. Bu sistemler genellikle ürünlerin tazeli inin korunmasında, yiyeceklerin bozulma sürecine neden olan mantarlara ve bakterilere kar ı antimikrobiyal aktivitelerinden yararlanarak yiyeceklerin raf ömrünün uzamasına yardımcı olur. Bu bakımdan, kitosan kaplamaların kullanımı, sebze ve meyvelerin korunmasında oldukça önemli olarak kabul edilir. Yapılan literatür ara tırmalarında daldırma ve püskürtme kaplama yöntemleri endüstride yaygın olarak kar ımıza çıkmaktadır (Dotto ve Filho. 2017).

Daldırma, gıda ürününün önceden hazırlanmı kitosan çözeltisi içerisine daldırılarak film olu turmasına, püskürtme yöntemi ise bir aerosol yararlanarak kullanılacak olan kitosan çözeltisi çözeltisinin toz haline getirilerek püskürtülmesi ile uygulanmaktadır. Lecete ve ark. uygulanan proseslerin farklı olmasından dolayı, son kaplama özelliklerini etkilendi i, kaplamaların farklı kalınlıkları ve kalınlı a ba lı olarak kaplama koruyucu özellikleri etkilendi i gösterilmi tir. Spesifik olarak daldırma numuneleri ile sprey numunelerin kaplama kalınlı ının daha yüksek olmasından dolayı daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip oldu unu gösterilmi tir. Buna kar ılık sprey numunelerin ise sebze ve meyvelerin sertli inin ve dokusunun daha iyi muhafaza etti i sonucuna varılmı tir. lave olarak uygulama prosesinin farkına bakılmaksızınlezzetleri kar ıla tırıldı ında kaplama yapılmayan ürünler ile kaplama yapılan ürünlere göre tadı biraz ek i olmaktadır. Bu durumun sebebi olarak kullanılan asit çözeltisinin bu ek i tadı olu turuyor olmasından kaynaklanır. Uygulanan her iki proses yöntemi gıdalarda olu abilecek bakteri ve mantar üremesini kontrol etti ine dair önemli sonuçlar elde edilmi olsa bile ek i tat olu masından dolayı dikkatle hazırlanmalıdır (Dotto ve Filho. 2017).

2.5.3 Basınçla proses

Bu prosesin tercih edilmesinin en önemli faydalarından birisi çözücü kullanmaksızın kitosan i lenebilir olmasıdır. Genellikle, termo mekanik i leme yöntemleri, termoplastik olan polimerler için uygundur fakat kitosan ise sıcaklık ko ulları altında erimeden bozuldu undan kitosan için bahsedilen bu i leme yöntemi uygun de ildir. Bununla birlikte kitosan için özel hazırlanan formülasyonlarının, gliserin gibi plastikle tiricilerden yararlanarak sıcaklık altında film olu tu u bilinmektedir. Bu hazırlanan karı ımlara pasta olarak adlandırılan, kitosanın plastikle tiriciler içerisinde olu turdu u dispersiyonudur. Homojen filmler elde edilmesinde tercih edilir. Bu yakla ım kitosan ile endüstriyel ölçekte i lenebilir ve uygulanabilir bir yöntemdir. Ayrıca kullanılan bu yöntemin bir dezavantajı ise kürlenme i leminden sonra kaplama filminin kahverengi bir renge sahip olmasıdır. Son üründe tüketicilerde olumsuz bir izlenim bırakmasıdır (Dotto ve Filho. 2017).

2.5.4 Dondurarak kurutma

Bu metot yalnızca ana çözücüsü su olan çözücüler için kullanır. Tipik bir i lemde sulu bir polimer çözeltisi veya süspansiyonu bir jet so utma ile sıvı azot veya kuru buz kullanılarak dondurulur. Donma hızı ise yapıları önemli bir biçimde etkiler. Donma hızı polimerin Brown difüzyonunu a tı ında, polimer buz kümeleri arasında süblimasyonuna ve vakum altında buz ayrı ır (Dotto ve Filho. 2017).

2.5.5 Harmanlama

Kitosan genellikle polimerler ile çözelti yoluyla veya ekstrüzyon yoluyla hazırlanan harmanlarda bir araya getirilebilir. Çözelti yoluyla ile hazırlanan harmanlama tekni inde genellikle laboratuvar ölçekli çalı malar için uygunken bu yöntem ile hazırlanan polimer çözeltisiyle yeni üstün özellikli filmler elde edilebilir. Gıda ve biyomedikal uygulamalar için kitosan ve jelatinin polimer harmanları tercih edilir. Ayrıca doku mühendisli i için üçlü polimer karı ımlarıkitosan, jelatin ve PHA (polihidroksialkanoat) ile hazırlanabilmektedir. Ambalaj kaplamaları için ise polisakkaritlerden özellikle yaygın tercih edilen pektin polimeri yapılan harmanları kullanılmaktadır. Çözücü ile harmanlama tekni inin sınırlayıcı yanlarıda bulunur bu sınırlayıcı durumların en ba ında dü ük miktar ile çalı mak gelir. Bu durumu a abilmek için ekstrüzyon i leme yöntemleri ile yapılan bir takım çalı malar bulunmaktadır (Dotto ve Filho. 2017).

Ekstrüzyon ile yapılan örnek çalı malar, kitosan/lignin harmanının (50/50) karı tırılarak boya giderilmesi amacıyla kullanılır. Termoplastik polimerler ile yapılan çalı malarda TPS ve kitosan ekstrüzyonu yapılan literatür çalı malarında bulunmaktadır. Bu çalı malarda yüksek dispersiyonlu, homojen bir yüzeye, yüksek esnekli e sahip ambalaj filmleri üretilebilir. Bununla birlikte kitosan için iyonik uyumla tırıcılar kullanarak, Poli(etilen) gibi polar olmayan polimerler daha uyumlu harmanlar yapılabilmektedir. Böylece konvansiyonel polimerler ile gelecekte yaygın kullanım alanına sahip olarak dahafazla kullanılabilir (Dotto ve Filho. 2017).

2.5.6 Tabaka tabaka

Layer by layer (LbL) tekni i, bir malzemeyi kontrollü bir ekilde i levsel hale getirmenin yüksek potansiyeli olan bir yoludur. Çünkü bu sayede çok farklı polimerlerin fonksiyonel özelliklerinden yararlanarak tabaka tabaka sıra ile bir araya getirilir. Çözünen kitosanın do al yapısı gere i katyonik yapıya sahip olur ve negatif yüklü olan polielektrolit ile etkile im olur. Esasında bu yöntemle yapılan uygulamalar, su arıtma sistemlerinin membranları üretilmektedir. Hazırlama yöntemi olarak substrat, kitosan çözeltisine daldırılır, yüzeyde çok ince bir film tabakası olu ması sa lanır. Olu an ince kitosan tabakası daha sonra iyon yüklenebilmesi için bir polianyonik çözeltiye daldırılır, böylece pozitif yüklü fonksiyonel kitosan grupları negatif yüklerle etkile ime girer ve bir üst tabaka olu ur. Bu tekni in ana avantajlarından birisi, katman sayısının belirli durumlara göre ayarlanabilmesi ve tekrarlanabilir olmasıdır (Dotto ve Filho. 2017).

2.5.7 3B modelleme ve filament

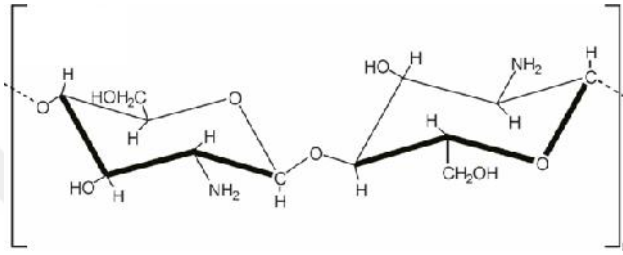
Son yıllarda, 3B baskı gibi hızlı protip üretme yöntemi ile zor olan çok karma ık yapıların üretimini kolayla tırmaktadır. Son yıllarda bu yöntem ile i leme önem kazanmaktadır. Bu alanda, özellikle biyomedikal uygulamalar için tercih edilebilmektedir. Bununla birlikte burada dikkat edilecek bir durum kitosanın termoplastik olmamasıdır. Uygun formülasyonların hazırlanması gerekmektedir (Dotto ve Filho. 2017).



3. DENEYSEL YÖNTEM

3.1 Kullanılan Kimyasallar

Yalova balıkçılar halinden karides kabuğu temin edildi. Ön yıkama işlemi yapıldıktan sonra 80°C etüvde bekletilerek kurutuldu. Kurutma işlemi tamamlandıktan bitki öütücü ile muamele edilerek toz haline getirilene kadar öütülür. Kullanmak üzere derin dondurucuya konularak -20°C muhafaza edildi.



ekil 3.1 : Kitosanın kimyasal yapısı

Kullanılan kimyasallar sırasıyla Sodyum hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (HCl), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve metanol Merck firmasından temin edilerek ilave bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.

3.2 Kullanılan Cihazlar

3.2.1 Fourier dönüşümlü infrared spektrumu (FT-IR)

FT-IR spektrumları ATR aparatına sahip PerkinElmer Spectrum 100 FT-IR cihazında 4000-650 cm⁻¹ aralığında 4cm⁻¹ çözünürlükte 16 kez taranarak elde edildi.

3.2.2 Viskozimetre ölçümü

Brookfield DV2 viskozitmetresi kullanılmıdır. Kitosan tozu ile hazırlanan çözeltilerinin viskoziteleri tayin edildi.

3.2.3 Termogravimetrik analiz (TGA)

Kitosanın termal dayanımları EXSTAR S II 6300 TG/DTA cihazında, N₂ ortamında 10°C/dk ısıtma oranıyla 20°C'den 800°C'ye çıkarılarak analiz edildi.

3.2.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Optik mikroskoplarda görüntünün elde edilmesinde ışık kullanılırken, elektron mikroskoplarında, ışık yerine elektron kullanılır. Elektronun dalga boyu, ışığa göre birkaç bin defa daha küçük olduğu için bu mikroskopla daha ayrıntılı görüntüler elde etmek mümkündür. SEM’de görüntü oluşumu temel olarak; elektron demetinin incelenen örneğin yüzeyiyle yaptığı fiziksel etkileşimlerin sonucunda ortaya çıkan sinyallerin toplanması ve incelenmesi prensibine dayanır. Üretilen malzemelerin morfolojisine (gözenek ve gözenek boyutu farklılıkları) gözlemlendi.

3.2.4 EDS

Kitosanın kimyasal bileşimini ve saflığını belirlemek için EDS analizi yapıldı. SEM cihazı kullanılarak kullanıldı.

3.2.5 Otoklav

Nüve OT 012 masa üstü buharlı otoklavlar, laboratuvarlarda kullanılan çeşitli malzemelerin basınçlı buhar ile sterilizasyon yapılabilmesi ve çeşitli reaksiyonların yapılabilmesi için tasarlanmıştır. Cihazın basit yapısı, mevcut bir su kaynağına ihtiyaç duymadan çalışması imkânı sunar. Deasetilasyon işlemi yapmak için kullanıldı.

3.2.6 Mikrodalga

Vestel MD 20 MB 20 lt hacimli mikrodalga fırın kullanılarak en düşük güç ayarında deasetilasyon işlemi yapmak için kullanıldı.

3.3 Karakterizasyonlar

3.3.1 Çözünürlük

Bilindiği üzere kitin ve kitosan birçok organik çözücüde çözünmezler. Kitosan ise pH 6.0 ve daha seyreltik olan seyreltik asit çözeltilerinde çözünürler. Laktik asit, asetik asit, formik asit ve hidroklorik asit ile çözünürlüğü kıyaslandı.

3.3.2 Viskozite

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kitosan örneklerinin asidik ortamdaki viskoziteleri tayin edildi.

3.3.3 Nem

Nem tayin edebilmek için, gravimetrik yöntemler kullanıldı. Alınan kitosan örnekleri, kurutmadan önce sonra tartılarak a ırlık farkı olup olmadığı gravimetrik olarak tayin edilir. Kurutma i lemi 65 °C yapılır (Islam, Khan, ve Alam 2017).

$$\% \text{Nem Miktar} = [\text{Kurutma işleminden önce tartılan(g)} - \text{Kurutmanın ardından tartılan(g)}] * 100$$

3.3.4 Kül tayini

Kitosan numunelerinin kül içeri i standart yöntemlere göre hesaplandı. Öncelikle 5g olarak tartılan kitosan numuleri yakılarak tamamen kömür ve katranımsı bir görünme getirilerek numune bir kül fırında önceden 600 °C'ye ısıtılarak 1 saat boyunca yakıldı. Kül fırınında yakıldıktan sonra 200 °C kadar so umasına izin verildi. Devamında havadan fazla etkilenmeden desikatöre hızlıca konuldu. Daha sonra numunenin oda sıcaklığı na kadar so umasına izin verildi. Numune ile kroze tartılarak sonuç de erlendirildi.

$$\% \text{Kül Miktarı} = \frac{\text{Kalan kül miktarı ağırlığı (g)}}{\text{Numunenin yanmadan önceki ağırlığı (g)}} * 100$$

3.3.5 Kitosanın deasetilasyon derecesinin belirlenmesi

3.3.5.1 FT-IR ile deasetilasyon derecesinin belirlenmesi

ki absorpsiyon band olan 1650 cm⁻¹ ve 1595cm⁻¹ bulunmaktadır bu pikler ile asetil band temsil edilir. Birincisi olan C=O asetil grubunu ve ikinci olan ise NH₂ grubunu temsil etmektedir. 1261 cm⁻¹'deki bant, amit III, asetil grubunu gösterir.

1149-1150 cm⁻¹'deki absorpsiyon tepe de erleri sırasıyla amid I ve II'ye verildi. IR tayfındaki kitosan karakteristik bantları sakkarit yapısını onaylar.

C3'teki 1419 cm⁻¹'dekitipik, OH ve CH bükülme titre iminin ortak katkısıdır.

Formülünden yararlanılarak hesaplanır.

$$\% DA = \frac{A_{1655}}{A_{3450}} * \frac{100}{1.33}$$

3.3.5.2 Titrasyon ile deasetilasyon derecesinin belirlenmesi

Toplam 0.200 g kitosan örne i, 20 mL 0.1 N HCl çözeltisi içinde çözülür. Çözünmü malzeme içerisine 25 mL distile su ilave edildi. 30 dk sonra 25 ml daha distile su ilave edilerek hazırlandı. 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre edildi. A a ıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

$$\% DA = 2.03 * \frac{v1 - v2}{m + 0.0042 * (v2 - v1)}$$

$v1 - v2$: 0.1 N NaOH hacim deęiřimi

m : Kitosan numunesinin ağırlığı

3.4 Kitosan Üretimi

3.4.1 Karides kabuklarının temizlenmesi

Yıkanan karides kabukları istenilen nem derecesine gelene kadar 80°C’de 48 saat süre kadar etüvde kurutuldu. Sonrasında ise öütülüp kullanıldı.

3.4.2 Demineralizasyon

Karides kabuklarının muhtevasında olan minarellerin giderilmesi için 1M HCl ile oda sıcaklığında gün boyu karıştırılarak işlem gerçekleştirildi. Asit ile karides kabuklarının etkileşimi sırasında ortamdan CO₂ çıkışı olmaktadır. Bir mekanik karıştırıcı ile devamlı bir karıştırma sağlanarak işlemin daha etkili olması sağlandı.

Süre tamamlandıktan sonra distile su ile yıkanarak nötr pH olana kadar yıkandı ve kurutulmak üzere süzöntü 60°C etüvde kuruyuncaya kadar bırakıldı.

3.4.3 Deproteinizasyon

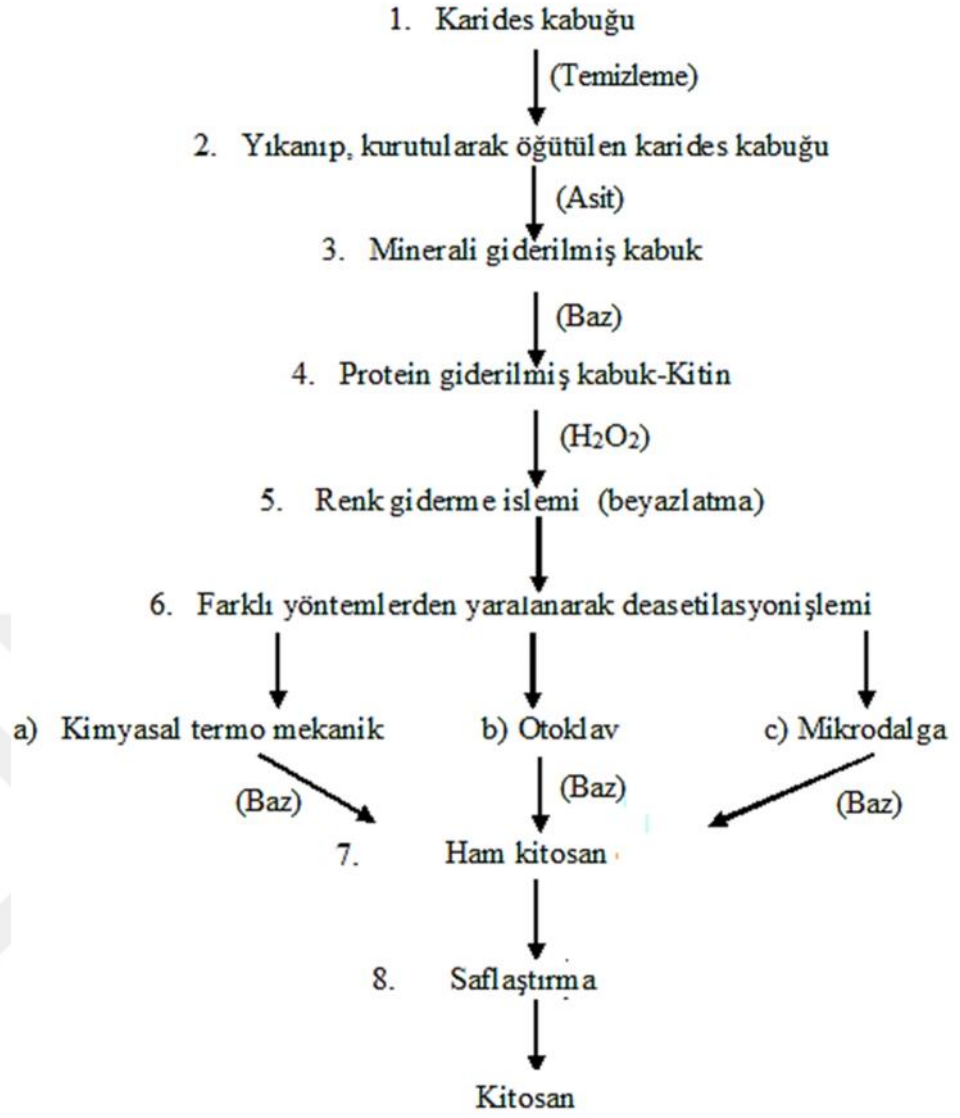
1N NaOH ile 80°C de 3 ile 4 saat 1/15 (w/v) oranında muamele edildi. Elde edilen süzöntü işlem sonrasında yıkanıp, nötr olana kadar yıkandı. İşlem sonucunda kitin elde edildi.

3.4.4 Renk giderme

Elde edilen kitinler koyu renklidir. İhtiyaç gereken durumlarda beyazlatma amacıyla H₂O₂ kullanılarak renk giderilmesi sağlandı.

3.4.5 Deasetilasyon

Takip edilen prosedürler sonucunda elde edilen kitinler kullanılarak 3 farklı yöntem ile kitosan elde edildi. İlk yöntemde 1/10 ya da 1/20 katı sıvı oranında deiyonize %40-50 NaOH çözeltisi kullanılarak deiyonize 70-120°C arası sıcaklıklarda 1-4 saat boyunca muamele edilerek gerçekleştirildi. İkinci yöntem ise otoklav kullanarak 15 Psi basınç ve 121°C de gerçekleştirildi. Sonuncu yöntem ise mikrodalgada en düşük güç ayarında 140W çalıştırılarak elde edildi. İşlemlerin sonucunda kitosanlar nötr pH olana kadar yıkandı ve etüvde kurutuldu.



ekil 3.2 : Kitosanın üretim eması



4. DENEYSEL SONUÇLAR

4.1 Deasetilasyon Derecesi

Kitinin kitosana dönüşüm sürecinde klasik olarak KOH ve NaOH kullanılır. Kitinin hazırlanan de i ik konsantrasyonlar, sıcaklıklar süre ve basınç kitosanın deasetilasyon derecesine etki etmektedir. Burada istenen kitindeki asetil gruplarının bir kısmı ya da tamamının koparılabilmesidir. Kitosan olarak sayılabilmesi en azından %50 oranında asetil grupların koparılması gerekmektedir (Dotto ve Filho, 2017). Deasetilasyon i leminin asıl amacı çözücülerde çözünmeyen kitinin, kitosana haline dönüşümünü sağlayabilmektir. Bu çalı mada deasetilasyon i leminin gerçekte tirilebilmesi için, termo kimyasal yöntem, otoklav ve mikrodalga enerjisi kullanıldı.

Muzzarelli ve ark. Yaptıkları çalı malarda yüksek sıcaklıklarda çalı manın deasetilasyon derecesini artırdı nı gösterdiler. Bununla birlikte yüksek sıcaklıklarda ve yüksek konsantrasyonlarda baz ile çalı mak önemli derecede kitosanın molekül a ırlı nın azalmasına neden olmaktadır. Molekül a ırlı nı etkileyen bir husus ise kitin elde edilmesinde kullanılan DM ve DP i lemleridir. Burada kullanılan alkali ve baz çözeltileri nihai üründe elde edilecek olan kitosanın viskozitesini ve molekül a ırlı nı etkiledi (Tokatlı ve Demirdöven 2018, Dotto ve Filho. 2017).

Yapılan çalı malarda 70°C 48 saat boyunca, 120°C 3 saat boyunca yapılan %50 NaOH 1/15 oranında alınarak çalı malar yapıldı.

Yaptı ımız çalı malarda daha yüksek verimli sonuçlar elde edebilmek için daha küçük tanecik boyutuna sahip kitinleri tercih edildi. Yaptı ımız literatür çalı malarında ise yüksek tanecik boyutlu kitin parçalarının i me süreleri daha fazladır ve bazın etkinli ini azaltmaktadır. Bu sebepten dolayı daha yüksek substrat alanına sahip malzemelerde daha iyi neticelerin elde edildi i görüldü (Tokatlı ve Demirdöven 2018). Yıllar içerisinde çe itli kimyasal yöntemler geli trilerek kitinin deasetilasyonu sa landı. En yaygın olarak kullanılan yöntem ise termo-kimyasal yöntemdir. Bu yöntemde %50 NaOH ve 100°C sıcaklıktan den az olmamak kaydı ile yapıldı. Fakat bu yöntemin dezavantajı uzun süre çalı ıldı nda molekül a ırlı nda dramatik dü ü ün meydana gelmesidir. Prosesi daha verimli hale getirebilmek için süreninin

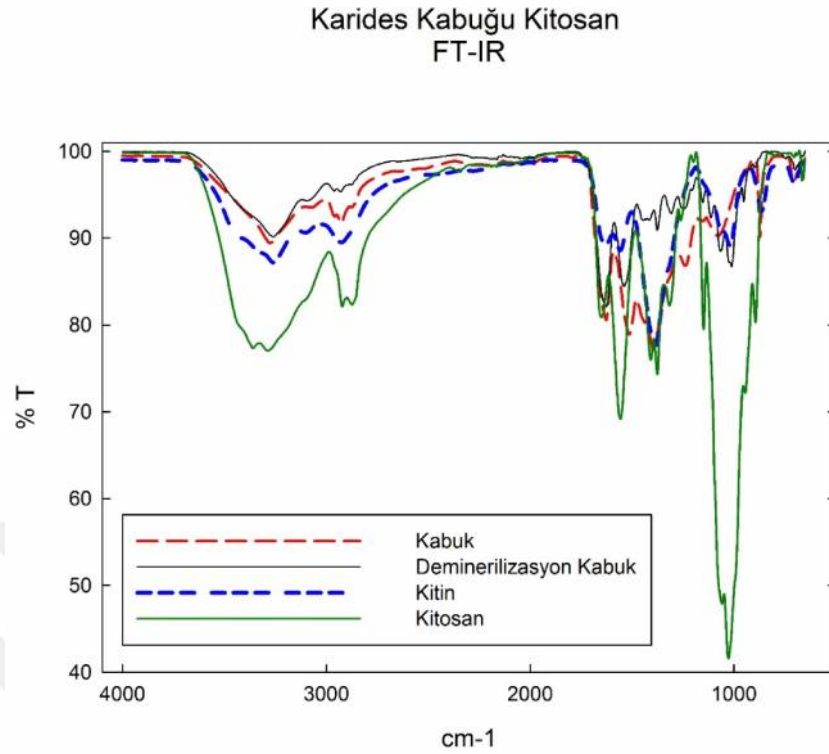
kısaltılması gerekmektedir. Pelletier ve ark. %10 NaOH yaptıkları çalı malarda alkali ko ullar altında makul basınç altında sıcaklı ı de i tirerek süre ile olan ili kisini incelendi. Yaptıkları çalı malarda ise 90 sn gibi kısa bir sürede deasetilasyon i lemini tamamlamı lardır (No vd. 2000).

Bizim laboratuvar çalı mamızda 121°C de 15 Psı basınç altında, %50 NaOH muamele edilerek 30dk-1 saat arasında çalı ılımı tır. Kullanılan katı sıvı oranı 1/10 oranında ayarlandı. 1/15-20 ile yapılan çalı malarda deasetilasyon derecesini artıran bir durum ortaya çıkmadı.

Bu çalı mada mikrodalga enerjisini kitosan üretimine olan etkisi incelendi. Bu yöntemin tercih edilmesinin amaçlardan birisi reaksiyonu daha kısa sürede tamamlayabilmektir. Bunun gerçekte mesini sa layan ise mikrodalga ı ınlarının do rudan biyokütle ile etkile ime girerek hızlıca ısıtmasına dayanmaktadır. Burada olan durum geleneksel ısıtmaya göre mikrodalgaya maruz kalan her zincir kendi erjisini üreterek daha uygun bir ısı da ılımı sa lamaktadır. Bu sayede enerjiden ve süreden tasarruf edilebilmektedir.

%50 NaOH, 1/20 oranında alınarak en dü ük seviyesi olan 140W ile çalı ılarak kitinden kitosan elde edildi.

4.2 FT-IR Sonuçları

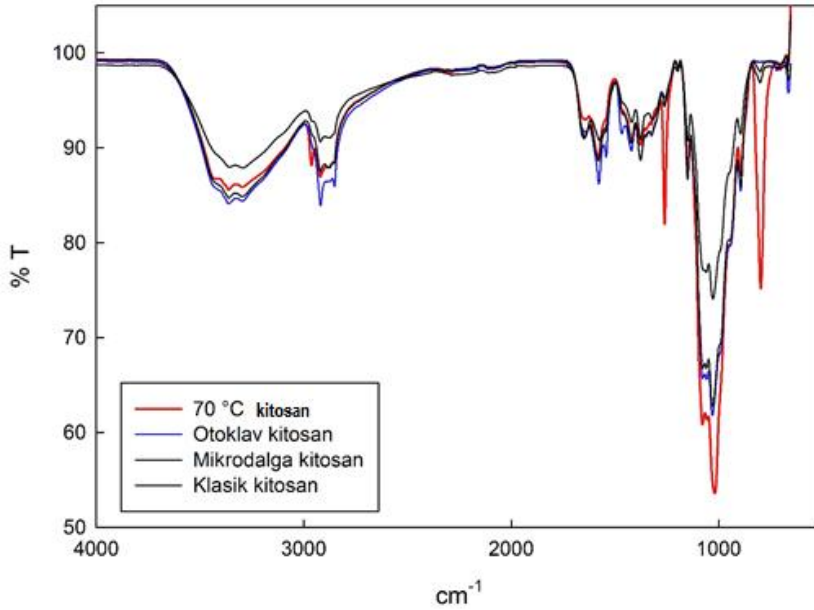


ekil 4.1 :Kitosan sentezlenme a amaları FT-IR spektrumu

Kitosan, iki karakteristik absorpsiyon band olan 1650 cm^{-1} ve 1595 cm^{-1} bulunmaktadır. Bu band asetil gruplarını temsil etmektedir. 2921 ve 2877 cm^{-1} -C-H simetrik absorpsiyon gerilme bandlarını temsil etmektedir ve polisakkaritlere özeldir. C=O asetil grubunu 1645 cm^{-1} amit I ve C-N amit III olan 1261 cm^{-1} -NH₂ temsil etmektedir. 1149 - 1150 cm^{-1} 'deki absorpsiyon band de erleri sırasıyla I ve II amdi olarak adlandırılır. CH₃'teki 1419 cm^{-1} 'deki, -OH ve -CH bükülme titre imini gösterir (Fernandes Queiroz vd. 2014).

Karides kabuklarından kitin ekstraksiyonu için yapılan i lemler sonucunda, uzakla tırılan protein ve mineral giderimi sonucunda % 10-20 arasında de i en verimler elde edildi. Literatür ile kıyaslandı nda kitin içerikleri ise % 10 olarak uyumludur (Tokatlı ve Demirdöven 2018).

Farklı üretim metodları kitosanların kıyaslanması



ekil 4.2 :Kitosanların farklı üretim yöntemleri ile FT-IR spektrumu

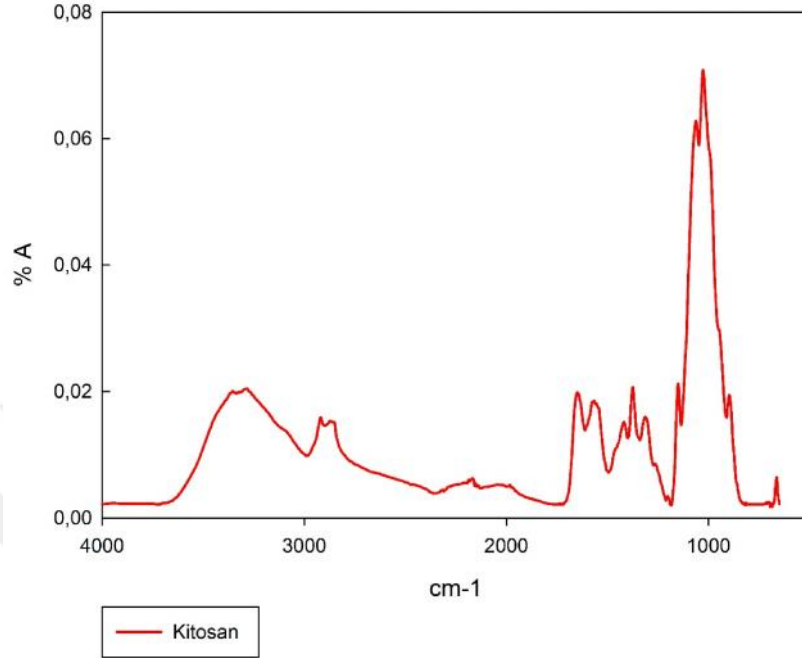
Elde edilen kitinlerin FT-IR analizlerinde, kitindeki asetamido gruplarını karakterize eden pikler 1655, 1553 ve 1310 cm⁻¹ de bandlar gözlemlenmiştir. Deasetilasyon sonucu elde edilen kitosanların FT-IR spektrumlarında, 3436 ve 3260 cm⁻¹'deki iki ayrı band, geniş bir band dönüşümü ve 1655 cm⁻¹'deki bant şiddetinin ise kitin ile kıyaslandığında azaldığı gözlemlenmiştir. Kitosanların FT-IR bandları ile birbirleri ve ticari kitosan ile uyumlu çıkmıştır. 70°C'de ve 48 saat boyunca çalışılarak yapılan kitosan dönüşüm oranı tam olarak sağlanamadı.

Kabuklardan ekstrakte edilen kitin, otoklavda 121°C'de, 1 saat gerçekleştirilen deasetilasyon işlemi sonucunda, karides kabuğundan yaklaşık olarak % 11 kitosan elde verimi elde edildi. Termo-kimyasal yöntemle 120°C'de 4 saat yapılan deasetilasyon işlemi sonucunda ise kitosan verimi % 8 olarak bulundu. Bu sonuçlar göstermektedir ki otoklav ile yapılan deasetilasyon işleminin verimi daha yüksektir (Tokatlı ve Demirdöven 2018, Salman ve Ulaiwi, 2018).

Mikrodalga enerjisi ile elde edilen kitosanın deasetilasyon derecesi düşük oldu. Literatür araştırmalarında mükemmel tekrarlanabilirlik ve basit olması sebebiyle büyük ölçekli üretim ve uygulamaları potansiyeli yüksektir. Yapılan çalışmalarda 140W güç ile çalışıldı, Sahu ve ark. 900W ile çalıştırlar. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile literatür sonucu kıyaslandığında bizim çalışmada %DA 49, Sahu ve ark. ise %DA 85

olarak gerçekle ti. Sonuçlar göstermektedir enerji optimizasyonu yapıldı ında deasetilasyon derecesinin artması gözlenmi tir (Sahu vd., 2009).

Kitosan Absorbans



ekil 4.3 : Klasik kitosanın absorbans bandlarından yararlanarak deasetilasyon derecesinin hesabı

ekil 4.3'te klasik kitosanın absorbans bandlarından yararlanarak a a ıdaki formüle göre deasetilasyon derecesi ($> C = O$) bandları ile $3000 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ bandlarının oranı ile hesaplandı.

$$\% DA = \frac{A_{1655}}{A_{3450}} * \frac{100}{1.33}$$

Buna göre; FT-IR spektrumlarındaki 1655 cm^{-1} ve 3450 cm^{-1} 'deki bandlarından yararlanılarak, termo-kimyasal (klasik kitosan), otoklav, mikrodalga ve 70°C sıcaklıkta çalı ılan, karides kabuklarından elde edilenkitinlerin deasetilasyon i lemi sonucunda kitosanın deasetilasyon dereceleri sırasıyla % 65-49-82-56 olarak hesaplandı. FT-IR spektrumlarındaki 1655 cm^{-1} ve 2878 cm^{-1} 'deki bandlarından yararlanılarak, Aynı yöntemle ticari kitosan ise % 70 olarak hesaplandı.Elde edilen deasetilasyon dereceleri yapılan i lemlerin farklı ı gz önüne alınarak de erlendirildi. Elde edilen deasetilasyon derecelerinin arttırılması mümkün olup, bunun için sıcaklık, süre, kullanılan NaOH deri imi ve katı/sıvı oranı ve çalı ılan ortamın basınç deasetilasyon derecesini etkilemektedir. Bu e itli parametreleri içeren bir

optimizasyon çalı ması yapılarak en uygun çalı ma ko ulları belirlenebilir (Tokatlı ve Demirdöven 2018,Salman ula Ulaiwi, 2018, Sahu vd., 2009).

Titrasyon ile yapılan deasetilasyon derecesinin tayini ise sırasıyla otoklav, mikrodalga, termo-kimyasal (klasik kitosan), ticari ve 70° çalı ılan numunlerin de erleri sırasıyla, % 95, 64, 77, 85 ve 71 olarak hesaplandı. Literatür ile uyumlu sonuçlar göstermektedir (He vd., 2016).

Çizelge 4.1: FT-IR ve titrasyon ile hesaplanan deasetilasyon dereceleri

Numuneler	FT-IR DD	Titrasyon (%) DD
Otoklav	82	95
Mikrodalga 70°C	49	64
Klasik kitosan	56	71
Ticari kitosan	65	77
	70	85

Kitosanın FT-IR ve titrasyon yöntemi ile literatür de erlerinin kıyaslanması Çizelge 4.2 ifade edildi.

Çizelge 4.2: FT-IR ve titrasyon ile deasetilasyon derecesi literatür kıyaslanması

Kitosan	FT-IR DD	Titrasyon (%) DD	Ref.
1	65	77	Bu tez çalı ması
2	76	76	(Czechowska-Biskup vd. 2012)
3	-	86	(Yuan vd. 2011)
4	84	78	(Depok, Indonesia vd. 2017)
5	81	70	(N,Varan. 2017)

4.3 Viskozite tayini

Numuneler % 1 laktik asit içerisinde hazırlanarak 25°C farklı hızlarda ölçülerek viskozitesi tayin edildi.

Çizelge 4.3: Brookfield viskozite de erleri

	Spindle No	Hız (rpm)	Viskozite (cps)
Otoklav kitosan			
Çözünürlük (% 1)	2	150	33
Çözünürlük (% 1)	2	200	44
Klasik kitosan			
Çözünürlük (% 1)	2	150	117
Çözünürlük (% 1)	2	200	87
M. Kitosan			
Çözünürlük (% 1)	2	150	55
Çözünürlük (% 1)	2	200	39

Üretim yöntemlerine göre viskozite de erlerinde farklılıklar bulundu. çözeltilerinin dinamik reolojik ölçümlerinin psödoplastik Newton olmayan davranı a i aret etti ini göstermi tir (El-Hefian vd 2009).

4.3 Kül tayini

Elde edilen sonuçlar do rultusunda kitosanın kül içeri i % 1,3 olarak hesaplandı. Kitosanın saflı ı, inorganik malzemelerin uzakla tırılmasına ba lı olarak kullanılan tekniklerin ve proses de i kenliklerine ba lı olarak de i ebilmektedir. Karides kabu unda belli ba lıca bulunan ba lıca minareller ise kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), sodyum (Na), potasyum (K) ve strongtium (Sr), olarak bulunmaktadır (Anand vd. 2014; Tokatlı ve Demirdöven 2018)

Deminerlizasyon i leminde ise asidik bir çözelti yardımıyla ve mekanik karı tırıcı beraberinde karı tırarak (CaCO₃) ortamdan CO₂ve tuz olarak uzakla ması sa landı. Karides kabu unda fazla miktarda kalsiyum karbonat (CaCO₃)bulunur ve yeteri kadar giderilemedi inde ise kül miktarı fazla olmaktadır (Al-Hassan 2016; Anand vd. 2014). Kitosan numunelerinin kül içeri i standart yönteme göre hesaplandı. Öncelikle 5g olarak tartılan kitosan numuleri bir bunsen beki ile yakılarak tamamen kömür ve katranımsı bir görünme getirildi. Numune bir kül fırında önceden 600°C'ye ısıtılarak 1 saat boyunca yakıldı. Son olarak yakma işleminin tamamlanan numune ile kroze tartılarak değerlendirildi.

$$\% \text{ Kül Miktarı} = \frac{\text{Kalan kül miktarı ağırlığı (g)}}{\text{Numunenin yanmadan önceki ağırlığı (g)}} * 100$$

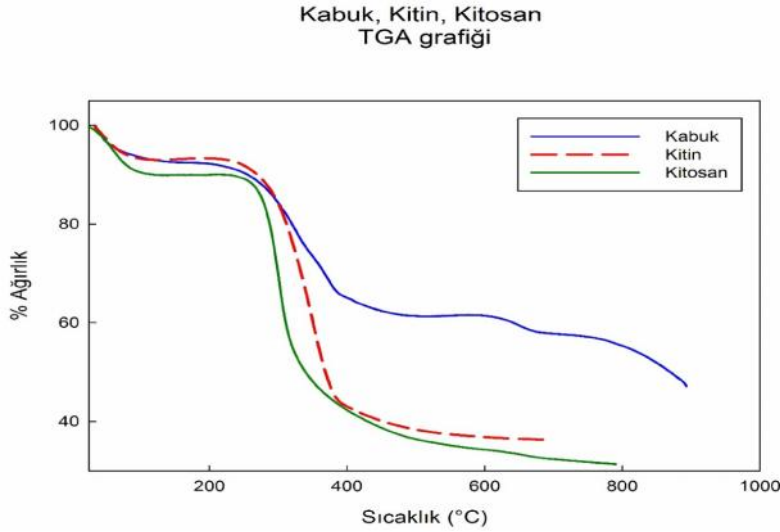
Elde edilen sonuç % 1.3 olarak hesaplandı.

4.3 Nem

Çalımlar sonucunda ürettiğimiz kitosanın nem içeriği %5 olarak hesaplandı.

4.4 Termogravimetrik analiz (TGA) sonuçları

Termogravimetrik analiz, malzemelerin sıcaklıkla beraber olarak kütle kaybını ölçerken, malzemenin saflığı, bozunma davranışı ve kimyasal kinetiği izlenebilmektedir. Karides kabuğunda 0-150°C arasında %10 yaklaşan miktarda nem bulunmaktadır. İkinci basamakta 250-400°C arasında gerçekleşmektedir. İkinci basamakta ise 600-750°C arasında gerçekleşmektedir. Literatür araştırmalarında ikinci basamağın oluşmasının sebebi olarak karides kabuğunda bulunan inorganik malzemelerden kaynaklanmaktadır ve özellikle yonun olarak bulunan CaCO_3 'ten kaynaklanmaktadır. CaCO_3 inorganik malzemesinin degradasyonu 800°C tamamlanmaktadır. Kitin ve kitosanda benzeri polisakkaritlerde ise bu inorganik yapı bulunmadığından için sadece 1 basamaklı termal degradasyon göstermektedir.



ekil 4.4 :Kitosan TGA analizi

Genel olarak , kabuk örneklerinde 60–100°C'de suyun buharlaşması ve 270–400°C'de glikoz bağlarının bozunmasından ve bağların kırılmasından kaynaklandığı düşünülen iki aşamalı kütle kaybı görüldü. Bununla birlikte 600-750°C aralığında ise minerallerin varlığından kaynaklanan 3. bir kırılma etresi bulundu. Karides kabukları 2 basamaklı, kitin ve kitosanın ise tek basamaklı bir termal bozunma sergilediği gözlemlendi. Ayrıca

kitinin, kitosana göre daha yüksek sıcaklıklara dayandı. ekil 4.4'te okunan e rilerin Çizelge 4.4'te rakamsal olarak ifade edildi.

Çizelge 4.4: TGA bozunma sıcaklıkları

Malzemleri	Birinci basamaklı termal bozunma başlangıç sıcaklığı (°C)	Birinci basamaklı bozunmanın sona erdiği sıcaklık (°C)	kinici basamaklı termal bozunmaya başlangıç sıcaklığı (°C)	kinici basamaklı termal bozunama sona erme sıcaklığı (°C)	Toplam kütle kaybı (%)
Kabuk	270	398	630	760	53.38
Kitin	278	410	-	-	64.21
Kitosan	266	380	-	-	68.27

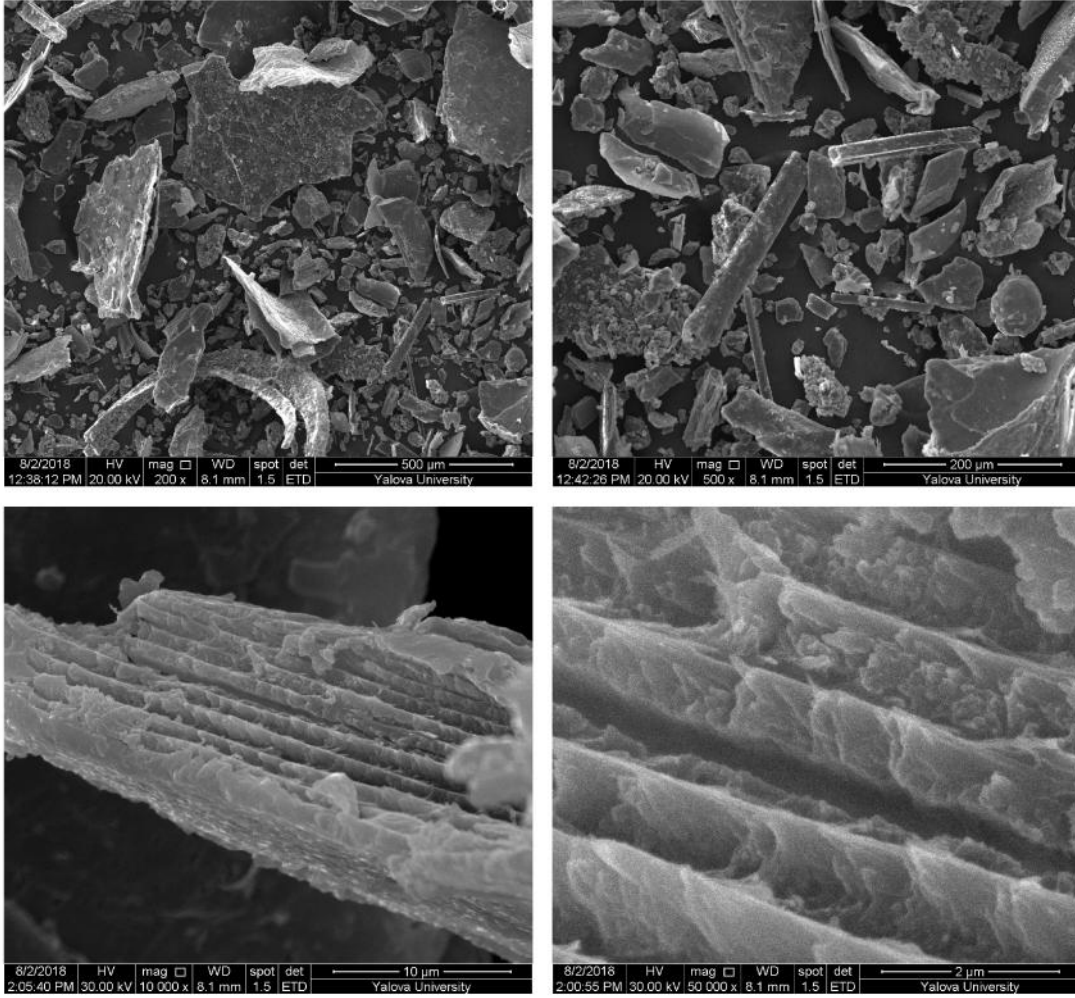
Çizelge 4.5: TGA kitosan bozunma sıcaklıkları ve literatür kıyaslanması

Kitosan	TGA (T _D °C)	Ref.
1	286	Bu tez çalışması
2	313	(Cardenas ve Miranda 2004)
3	310	(Dhawade ve Jagtap 2012)
4	287	(Liao, Hung, ve Lin 2004)
5	297	(Jana, Kumar Trivedi, ve Tallapragada 2015)
6	287	(Aliah ve Ansari 2017)

4.7 Taramalı Elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri

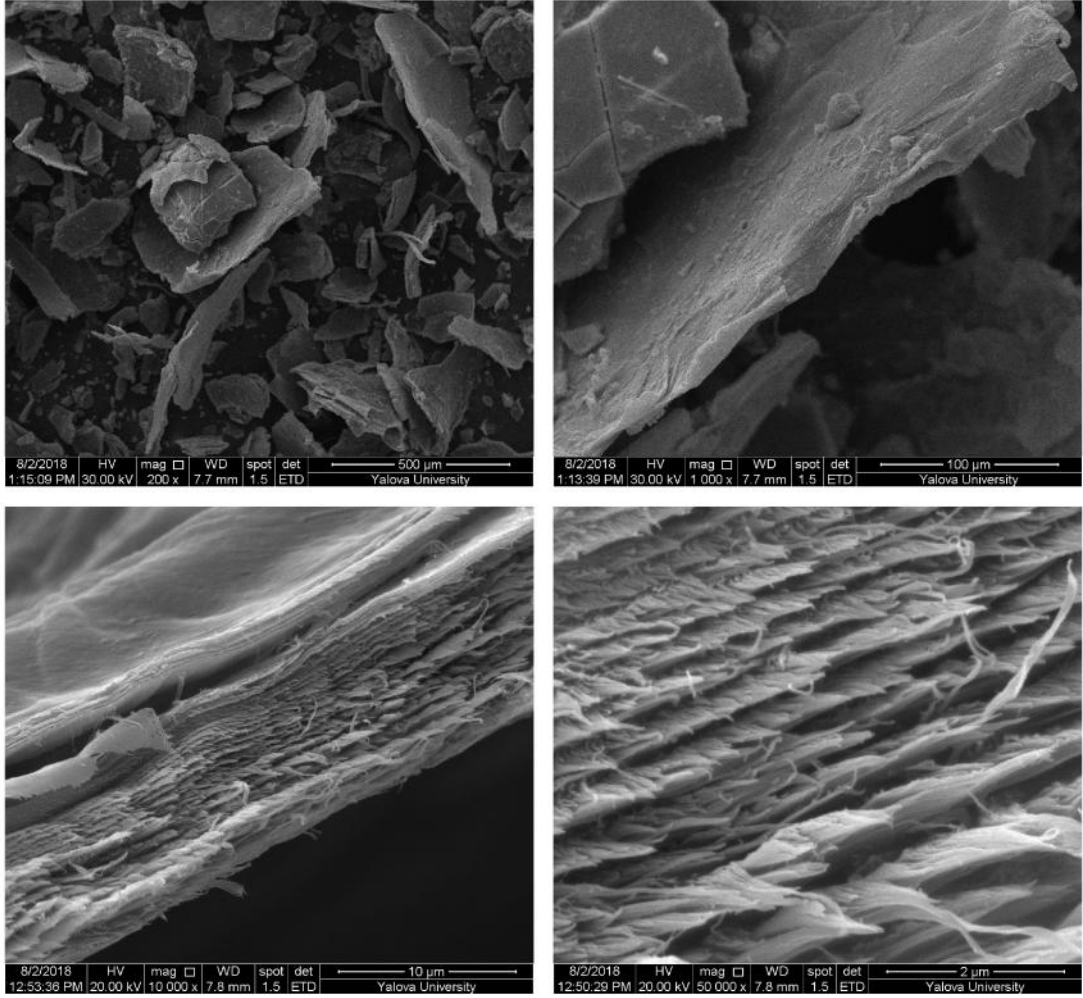
Taramalı elektron mikroskobu (SEM) karides kabuğu, kitin ve kitosanın yüzey görüntülerini ve morfolojisini incelemek amacıyla kullanıldı (Cui vd. 2018).

Karides kabukları, kompleks homojen olmayan bir yüzey ekil görüldü. Kitin ile karides kabukları kıyaslandığında kolayca fark edilen beyaz noktaların azalması, gözlemlendi. Bu deimin sebebi ise demineralizasyon işlemi sonucunda kabukta bulunan CaCO₃ ortamdan uzaklaştırılmasıdır. EDS sonuçlarında ise -Ca⁺² elementinin pikinin şiddetinin azalması yada yok CaCO₃ uzaklaştırıldı olarak yorumlanabilir (Cui vd. 2018).



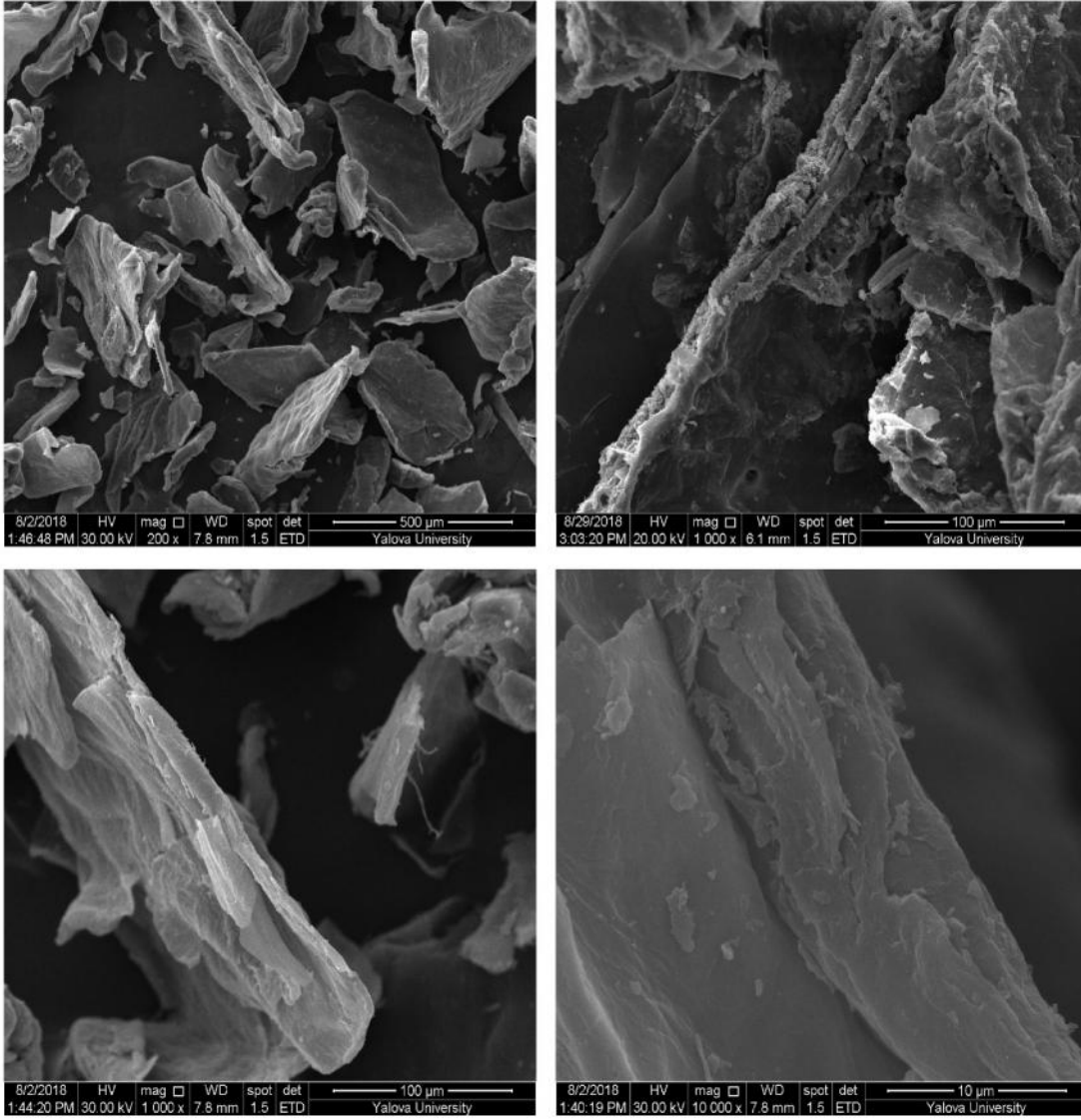
ekil 4.5 :Karides kabu u SEM görüntüsü

Kitin ile karides kabuklarının SEM görüntüleri kıyaslandı ında CaCO_3 ortamdanda uzakla tırılması ile uzakla tırılan kısımların yüzeyde çe itli bo lukları olu turuldu u görüldü. Kitinin, karides kabu una göre yüzeyinin daha düzgün olması ve daha lifli yapıya dönü tü ü görüldü.



ekil 4.6 :Kitinin SEM görüntüsü

Kitosanda yo un bir biçimde alkali çözelti kullanılması sonucu olarak daha pürüzsüz bir yüzey elde edildi. Kitinde görülen lifli yapılar kitosanda daha da belirgindir. Heterojen bir yüzey görünümüne sahip olan kitin yerini kitosana bırakmı tır. Kitosanın yüzey alanı homojendir. Yüzeyde meydana gelen bo luklar daha belirgindir, serbest yapılar elde edildi.

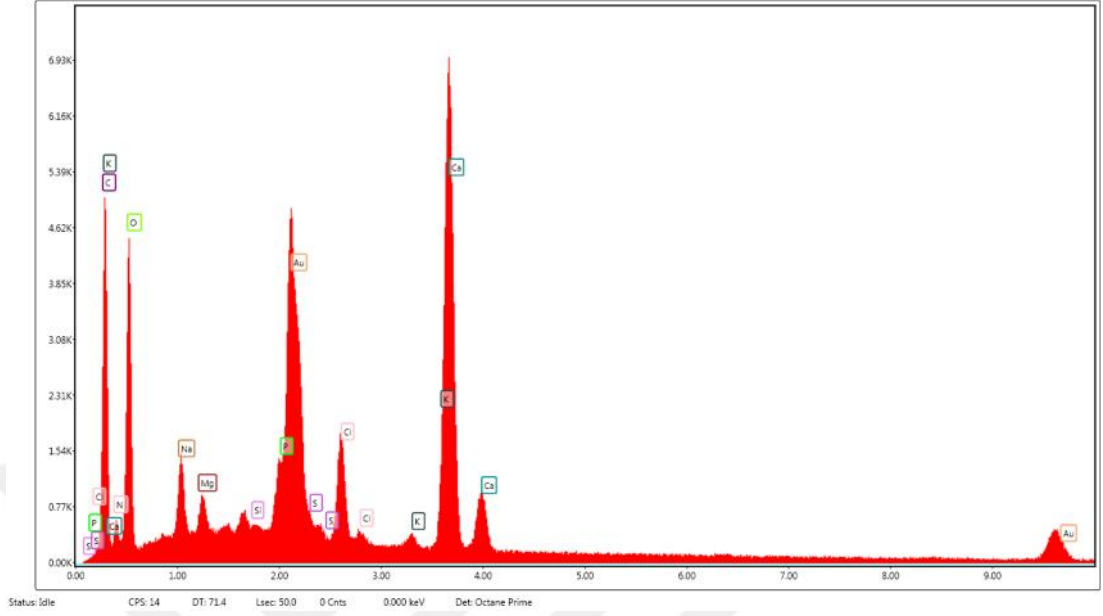


ekil 4.7 :Kitosan SEM görüntüsü

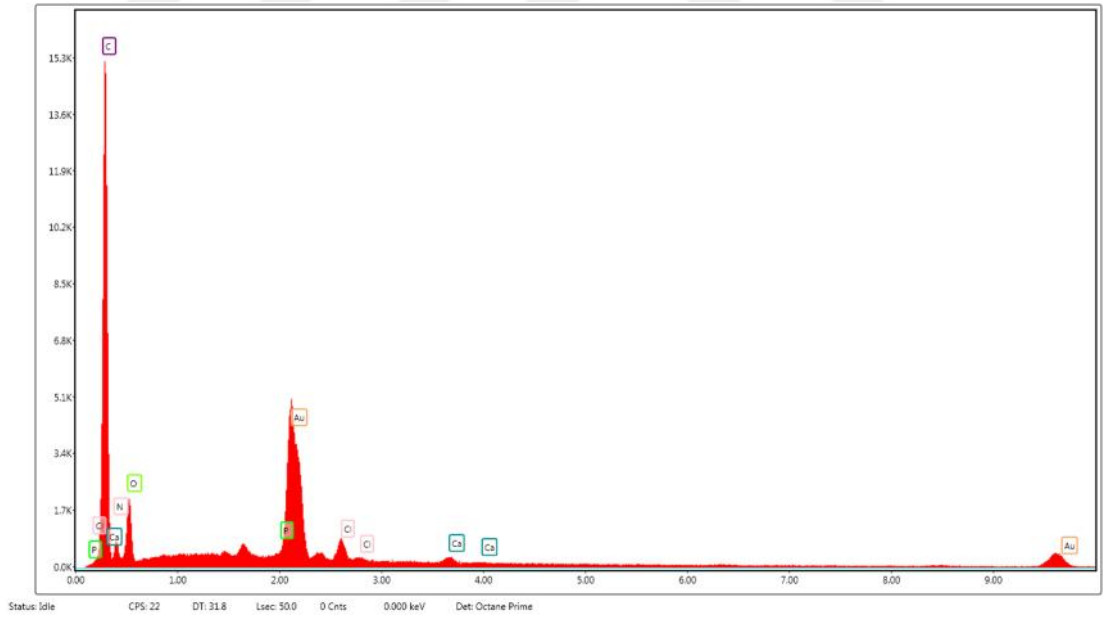
4.7 EDS

Karides ve kitosanın kimyasal bileimini de erlendirmek için kullanılan kantitatif bir de erlendirme yöntemidir. Numuneler SEM’de görüntülenebilmesi için altın kaplandı nda EDS analiz grafiklerinde sa ve orta kısımlarında -Au piklerine raslanmaktadır. Kitosanın kimyasal bile ini yüzde a ırlıkca -C (%72), -O (%23.78), -N (0.020) olarak bulundu. Yapılan çalı ma sonucunda görülmektedir ki mineral giderme i lemi ba arılı olmu ur, kabuk ile kitosan numneleri kıyaslandı nda belirgin olarak -Ca mineralinden ba lanarak -K, -Mg, -Na gibi minareller ba arılı bir biçimde giderildi. Karides kabu undan, kitosan do ru gidildikce inorganik malzeme

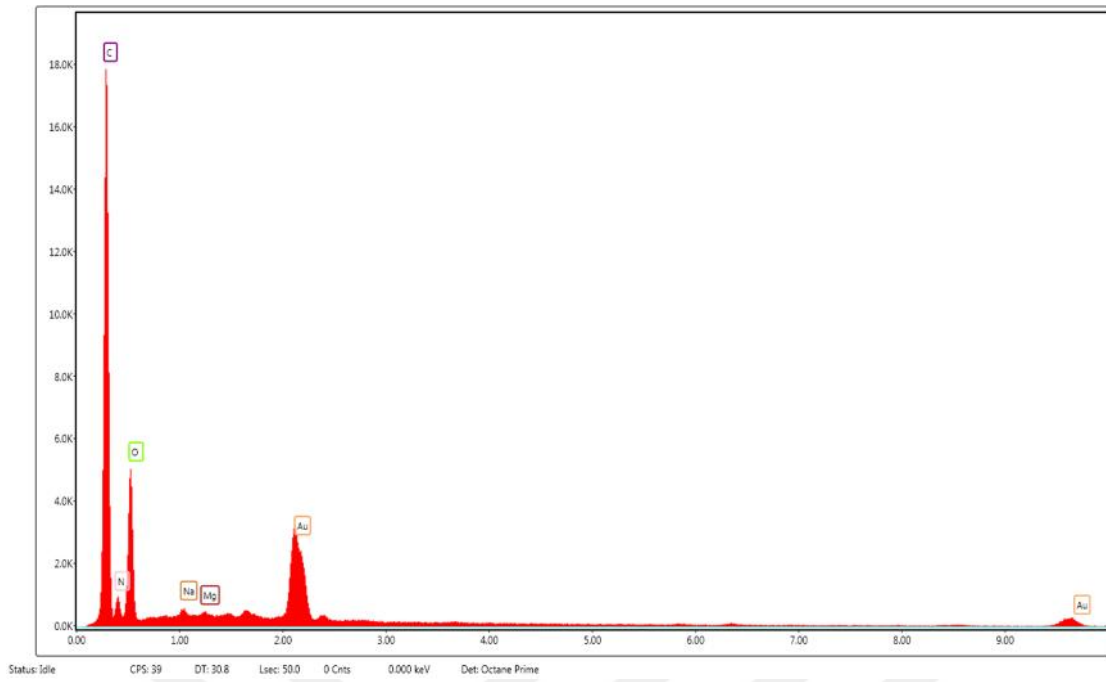
yo unlu u proseslerin ba arısına ba lı olarak azalmaktadır. Karides kabu u, kitin ve kitosan sırasıyla EDS analiz grafikleri ekil 4.8, 4.9 ve 4.10 gösterildi.



ekil 4.8: Karides kabu u na EDS analizi



ekil 4.9: Kitin EDS analizi



ekil 4.10:Kitosan EDS analizi

5. SONUÇLAR

Bu tez çalı mamda hiçbir ticari de eri olmayan karides atıkları kitin kayna ı olarak kullanılarak katma de eri yüksek kitosan elde edilmesi amacıyla farklı üretim metodları kullanıldı. Kabuklu canlılardan kitin elde edilerek üç farklı yöntemle deasetilasyonu gerçekleştirildi.

Tez çalı masından, daha spesifik olarak çıkarabilecek sonuçlar a a ıda verilmi tir:

- 1- Karides kabuklarından kitin ekstraksiyonu için yapılan i lemler sonucunda, uzakla tırılan protein ve mineral giderimi sonucunda % 10-20 arasında de i en verimler elde edildi.
- 2- Demineralizasyon i lemi sonunda elde edilen kitine kül tayini yapılmı tır. Elde sonuçların ortalaması % 1.3 hesaplandı.
- 3- Farklı kimyasal yöntemler ile kitosan üretilebildi i gösterildi Karides kabuklarından kitin ekstraksiyonu için yapılan çalı malarda, önce demineralizasyon sonra deproteinizasyon i lemleri uygulandı nda, uzakla tırılan mineralce protein içerikleri sırasıyla %65 ve %24; kazanılan kitin ise %11 olarak bulundu.
- 4- Sıcaklı ın ve reaksiyon süresinin artması ile beraber molekül a ırlı ı azaldı ı gözlemlendi.
- 5- Bu çalı mada laboratuvar ölçekli sistemden pilot ölçekli sisteme geçilebilecek olan çalı malara zemin hazırlandı.



KAYNAKLAR

- Al-Hassan, A A.**,(2016). "Utilization of Waste: Extraction and Characterization of Chitosan from Shrimp Byproducts". *Civil and Environmental Research*: 7.
- Aljawish, Abdulhadi vd.**,(2015). "Enzymatic Synthesis of Chitosan Derivatives and Their Potential Applications". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 112: 25-39.
- Aliah, N Noor, ve M N M Ansari.**(2017). "Thermal Analysis on Characterization of Polycaprolactone (PCL) – Chitosan Scaffold for Tissue Engineering". 6(2): 5.
- Anand, M. vd.**,(2014). "Extraction and Characterization of Chitosan from Marine Crab and Squilla Collected from the Gulf of Mannar Region, South India". *Journal of Chitin and Chitosan Science* 2(4): 280-87.
- Berger, J. vd.**,(2004). "Structure and Interactions in Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for Biomedical Applications". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57(1): 19-34.
- de Britto, Douglas, Rejane Celi Goy, Sergio Paulo Campana Filho, ve Odilio B. G. Assis.**,(2011). "Quaternary Salts of Chitosan: History, Antimicrobial Features, and Prospects". *International Journal of Carbohydrate Chemistry* 2011: 1-12.
- Cardenas, Galo, ve S. Patricia Miranda.**(2004). "Ftir And Tga Studies Of Chitosan Composite Films". *Journal of the Chilean Chemical Society* 49(4). http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-97072004000400005&lng=en&nrm=iso&tlng=en (15 Temmuz 2019).
- Cui, Luqing vd. 2018. "Preparation and Characterization of Chitosan Membranes". *RSC Advances* 8(50): 28433-39.
- Czechowska-Biskup, Renata vd.**(2012). "DETERMINATION OF DEGREE OF DEACETYLATION OF CHITOSAN - COMPARISON OF METHODS". : 16.
- Department of Biology, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia, Noverita D. Takarina, Aldila A. Nasrul, ve Alinda Nurmarina.** (2017). "Degree of Deacetylation of Chitosan Extracted from White Snapper (Lates Sp.) Scales Waste". *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences* 6(1): 16-19.
- Dhawade, Prerna P, ve Ramanand N Jagtap.**(2012). "Characterization of the Glass Transition Temperature of Chitosan and Its Oligomers by Temperature Modulated Differential Scanning Calorimetry". : 11.
- Domard, A., ve N. Cartier.**,(1989). "Glucosamine Oligomers: 1. Preparation and Characterization". *International Journal of Biological Macromolecules* 11(5): 297-302.
- Dotto, Guilherme Luiz, ve Sergio Paulo Campana Filho**(2017). "Frontiers in Biomaterials Volume 3: Chitosan Based Materials and Its Applications". : 334.
- Fernandes Queiroz, Moacir vd.** (2014). "Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation?" *Marine Drugs* 13(1): 141-58.
- Jana, Snehasis, Mahendra Kumar Trivedi, ve Rama Mohan Tallapragada.**(2015). "Characterization of Physicochemical and Thermal Properties of Chitosan and Sodium Alginate after Biofield Treatment". *Pharmaceutica Analytica*

- Acta 6(10). <https://www.omicsonline.org/open-access/characterization-of-physicochemical-and-thermal-properties-of-chitosanand-sodium-alginate-after-biofield-treatment-2153-2435-1000430.php?aid=62759> (15 Temmuz 2019).
- Islam, Sz, M Khan, ve AKM Newsad Alam.** ,(2017). “Production of Chitin and Chitosan from Shrimp Shell Wastes”. Journal of the Bangladesh Agricultural University 14(2): 253-59.
- Kamoun, Elbadawy A., El-Refaie S. Kenawy, ve Xin Chen.**,(2017). “A Review on Polymeric Hydrogel Membranes for Wound Dressing Applications: PVA-Based Hydrogel Dressings”. Journal of Advanced Research 8(3): 217-33.
- Liao, Shen-Kun, Chi-Chih Hung, ve Ming-Fung Lin.** (2004). “A Kinetic Study of Thermal Degradations of Chitosan/Polycaprolactam Blends”. Macromolecular Research 12(5): 466-73.
- N, Varan.**(2017). “The Use of Titration Technique and FTIR Bands to Determine the Deacetylation Degree of Chitosan Samples”. Journal of Textile Science & Engineering 07(02). <https://www.omicsgroup.org/journals/the-use-of->
- No, Hong Kyoon, Young In Cho, Hyeung Rak Kim, ve Samuel P. Meyers.**(2000). “Effective Deacetylation of Chitin under Conditions of 15 Psi/121 °C”. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(6): 2625-27.
- Paulino, Alexandre T., Julliana I. Simionato, Juliana C. Garcia, ve Jorge Nozaki.**(2006). “Characterization of Chitosan and Chitin Produced from Silkworm Crystals”. Carbohydrate Polymers 64(1): 98-103.
- Pokhrel, Shanta, Paras Nath Yadav, ve Rameshwar Adhikari.** (2016). “Applications of Chitin and Chitosan in Industry and Medical Science: A Review”. Nepal Journal of Science and Technology 16(1): 99-104.
- Ramakrishna, Seeram, Zuwei Ma, ve Takeshi Matsuura.**(2011). Polymer Membranes in Biotechnology: Preparation, Functionalization and Application. World Scientific.
- Ravindra, R., Kameswara R. Krovvidi, ve A. A. Khan.**(1998). “Solubility parameter of chitin and chitosan”. Carbohydrate Polymers 36(2): 121-27.
- Ray, M., K. Pal, A. Anis, ve A. K. Banthia.** (2010). “Development and Characterization of Chitosan-Based Polymeric Hydrogel Membranes”. Designed Monomers and Polymers 13(3): 193-206.
- Roberts, George A.F., ve Julian G. Domszy.** (1982). “Determination of the Viscometric Constants for Chitosan”. International Journal of Biological Macromolecules 4(6): 374-77.
- Rudall, K. M.**(1963). “The Chitin/Protein Complexes of Insect Cuticles”. İçinde Advances in Insect Physiology, ed. J. W. L. Beament, J. E. Treherne, ve V. B. Wigglesworth. Academic Press, 257-313. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065280608601770> (09 Mart 2019).
- Tachaboonyakiat, W.** 2017. “Antimicrobial Applications of Chitosan”. İçinde Chitosan Based Biomaterials Volume 2, Elsevier, 245-74. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081002285000092> (28 Nisan 2019).
- Thomas, Merin Sara vd. 2019.**Starch, Chitin and Chitosan Based Composites and Nanocomposites. Cham: Springer International Publishing. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-03158-9> (28 Nisan 2019).
- Tokath, Kader, ve Ashlan Demirdöven. 2018.** “Optimization of Chitin and Chitosan Production from Shrimp Wastes and Characterization”. Journal of Food Processing and Preservation 42(2): e13494.

Türkiye **statistik** **Kurumu** **(TÜ K)** (23 Nisan 2019).”http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005”

Vilar Junior, José Carlos, Daylin Rubio Ribeaux, Carlos Alberto Alves da Silva, ve Galba Maria De Campos-Takaki. 2016. “Physicochemical and Antibacterial Properties of Chitosan Extracted from Waste Shrimp Shells”. *International Journal of Microbiology* 2016: 1-7.

Yao, Kangde, Junjie Li, Fanglian Yao, ve Yuji Yin. (2012). “Functions and Applications”. : 512.

Yuan, Youling, Betsy M. Chesnutt, Warren O. Haggard, ve Joel D. Bumgardner. 2011. “Deacetylation of Chitosan: Material Characterization and in Vitro Evaluation via Albumin Adsorption and Pre-Osteoblastic Cell Cultures”. *Materials* 4(8): 1399-1416.





ÖZGEÇM



Ad Soyad: Abdullah TAV

Do um Yeri ve Tarihi: Wisconsin/ABD-16.05.1992

Adres: Esatpa a mah. Çalık sok. No: 2/5 Ata ehir/ STANBUL

E-Posta: abdtav@gmail.com

Lisans: Polimer Mühendisli i-Yalova Üniversitesi

TEZDEN TÜRET LEN YAYINLAR/SUNUMLAR

Abdullah Tav, Mithat Çelebi, Kabuklu Deniz Canlılarından Do al Polimer Üretimi,
4. Uluslar Arası Mühendislik, Mimarlık Ve Tasarım Kongresi, 23-24 Nisan 2019,
stanbul,Türkiye