



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***PLAXIPHORA AURATA*'NİN FARKLI VÜCUT YAPILARINDAN KİTİN
İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed Nebi TOMRUK

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Murat KAYA**

AKSARAY, 2021

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 182330408 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Muhammed Nebi TOMRUK tarafından hazırlanan “**PLAXIPHORA AURATA’ NIN FARKLI VÜCUT YAPILARINDAN KİTİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Murat KAYA

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKMAK

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. SERKAN GÜL

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 18/08/2021

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Muhammed Nebi TOMRUK

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans bitirme tezi olarak hazırladığım bu çalışmanın yürütülmesinde, çalışmama danışmanlık eden hocam Prof. Dr. Murat KAYA'ya yüksek lisans süresi boyunca benden yardım ve bilgi birikimini esirgemeyen, akademik tecrübelerinden ve fikirlerinden faydalandığım, her zaman bana göstermiş olduğu anlayış, manevi destek, hoşgörü, sabır ve yardımları için içtenlikle çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans süresince aynı laboratuvarı paylaştığım Ar. Gör. Behlül Koç Bilican, Ar. Gör. Bahar Akyüz Yılmaz ve Dr. Öğr. Üyesi Emel Çakmak'a destekleri, bilgi ve yardımları için teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde Danimarka Doğa Tarihi Müzesi koleksiyondan örnek sağlayan ve desteğini esirgemeyen Dr. Martin Vinther Sørensen'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansım süresince beraber ortak çalışmalar yaptığımız, birbirimizden desteğimizi, bilgilerimizi ve yardımlarımızı esirgemediğimiz grup arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her konuda bana güvenen, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, büyük sabır gösteren ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme en içten teşekkür ederim

Muhammed Nebi TOMRUK

AKSARAY, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1 Kitin Tarihçe.....	1
1.2 Kitin Fiziko-kimyasal Özellikleri	1
1.3 Kitin Bulunduran Canlılar ve Uygulama Alanları	2
1.4 Polyplacophora	2
1.5 <i>Plaxiphora aurata</i>	3
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM	6
3.1 Örneklerin Temini	6
3.2 Kitin İzolasyonu	6
3.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	6
3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopu (FT-IR)	6
3.5 Thermogravimetrik Analiz (TGA)	6
3.6 Element Analizi (EA)	7
3.7 Kitin İçeriği	7
3.8 X-Işınları Difraksiyonu (XRD)	7
3.9 <i>Plaxiphora aurata</i> Örnekleri	8
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	9
4.1 Kitin İçeriği	9
4.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	9
4.3 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopu (FT-IR)	10
4.4 Thermogravimetrik Analiz (TGA)	14
4.5 Elemental Analiz (EA)	15
4.6 X-Işınları Difraksiyonu (XRD)	16
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	18
KAYNAKÇA.....	19
ÖZGEÇMİŞ.....	25

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PLAXIPHORA AURATA' NİN FARKLI VÜCUT YAPILARINDAN KİTİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Muhammed Nebi TOMRUK

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat KAYA

ÖZET

Mollusca filumunun kitin çalışmaları çoğunlukla çift kabuklu gastropod ve kafadanbaçaklılara odaklanmıştır. Polyplacophora eski yumuşakça grubu olmasına rağmen, bu organizmaların kitin üzerine çok az çalışma yapılmıştır. Bu az sayıdaki çalışmalarda incelenen vucut kısımlarına bağlı olarak kitin tiplerinin (alfa veya beta) ilişkin sonuçlar verilmiştir. Bu çalışmada bu tartışmayı çözmek için bir kiton türünün (*Plaxiphora aurata*) üç farklı vucut kısmından (iskelet, kuşak ve radula) kitinin 3D yapısını koruyarak inceledik. TGA ve FTIR sonuçlarımıza göre kiton iskeletin ve kuşağın tipik sinyali beta kitin, radulanın ise tespit edilen sinyali alfa ve bata kitinin tipik sinyaller arasında olduğu görülmektedir. Tüm kitonun gövdesinin kuru ağırlığının kitin içeriği %27,82 olarak kaydedilmiştir. Ayrıca kitinin özelliklerini açıklamak için XRD, SEM ve elementel analiz yapılmıştır. Elde edilen verilere göre kitonlardan izole edilen kitinin nono fiber yapısından dolayı gıda, kozmetik, medikal ve biyomühendislik alanlarında kullanım potansiyeline sahiptir. Ayrıca yüksek kitin içeriği nedeni ile ticari kitine alternatif olarak değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: *Plaxiphora aurata*, Kitin, Kiton, Karakterizasyon, İzolasyon.

Ağustos, 2021; 25 Sayfa

M.Sc. THESIS

**INSOLATION AND CHARACTERIZATION OF CHITIN FROM
DIFFERENT BODY STRUCTURES OF *PLAXIPHORA AURATA***

Muhammed Nebi TOMRUK

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Prof. Dr. Murat KAYA

ABSTRACT

Chitin studies of the Molluska phylum have mostly focused on bivalve gastropods and cephalopods. Although Polyplacophora is an ancient group of mollusks, little work has been done on chitin of these organisms. These few studies provide results for chitin types (alpha or beta) depending on the body parts examined. In this study, we examined the 3D structure of the chitin from three different body parts (skeleton, girdle and radula) of a chiton species (*Plaxiphora aurata*) to resolve this controversy. According to our TGA and FTIR results, it is seen that the typical signal of the chiton skeleton and belt is beta chitin, while the detected signal of the radula is among the typical signals of alpha and bata chitin. The chitin content of the dry weight of the body of the whole chiton was recorded as 27.82%. In addition, XRD, SEM and elemental analysis were performed to explain the features of the chitin. According to the data obtained, chitin isolated from chitons has a potential for use in the fields of food, cosmetics, medical and bioengineering due to its nono fiber structure. In addition, due to its high chitin content, it can be considered as an alternative to commercial chitin.

Keywords: *Plaxiphora aurata*, Chitin, Chiton, Characterization, Isolation.

July, 2021; 25 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kitin, kitosan ve selüloz yapıları	1
Şekil 1.2. <i>Plaxiphora aurata</i> 'nın dorsal ve ventral kısımları	3
Şekil 3.1. Kitin ekstraksiyonu için kullanılan malzemeler: A, B) <i>Plaxiphora aurata</i> 'nın dorsal ve ventral kısımları, C) kuşak, D) iskelet ve E) radula....	8
Şekil 4.1. Kitin izolatlarının SEM görüntüleri A) iskelet, B) kuşak ve C) radula	10
Şekil 4.2. <i>Plaxiphora aurata</i> 'dan izole edilen kitinlerin FTIR sonuçları iskelet, radula ve kuşak.....	11
Şekil 4.3. a) iskelet, b) radula ve c) kuşak kitinlerin FTIR amid bantları.....	12
Şekil 4.4. İzole edilen kitinlerin TGA / DTG'si iskelet, kuşak ve radula için A) TGA, B) DTG	15
Şekil 4.5. <i>P. aurata</i> 'nın iskelet ve kuşağından izole edilen kitinlerin XRD pikleri	17

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. <i>Plaxiphora aurata</i> gövde parçalarından (iskelet, kabuk plakarı ve radula) elde edilen kitinin Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektrumları	13
Çizelge 4.2. <i>Plaxiphora aurata</i> iskeleti, kuşak ve radula kitin elemental analiz sonuçları. Elemental analizden (EA) hesaplanan deasetilasyon derecesi (DA)	16

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
C	Karbon
CaCO₃	Kalsiyum Karbonat
cm	Santimetre
CrI	Kristalin İndeks
DA	Asetilasyon Derecesi
DTG_{max}	Maksimum Bozunm Sıcaklığı
EA	Elementel Analiz
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopu
g	Gram
GlcNAc	N-Asetilglukozamin
H	Hidrojen
H₃PO₄	Fosforik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
M	Molar
N	Azot
NaOH	Sodyum Hidroksit
Phe-NH₂	Fenilalanin
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	Termoğrafimetric Analiz
Θ	Teta
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama

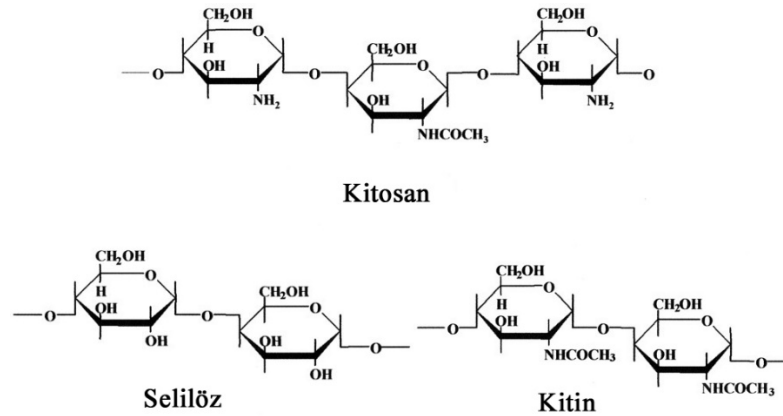
1. GİRİŞ

1.1 Kitin Tarihçe

Kitin 1811 yılında Fransız doğabilimler tarihi profesörü Henri Braconnot tarafından mantarlar üzerinde yaptığı araştırmalar sonucunda tanımlanmıştır. 1822 yılında ise Odier böceklerden kitin varlığını belirlemiştir (Muzzarelli, 1977). Bu dönemden günümüze dünyadaki birçok bilim adamının bu etkileyici materyal üzerinde yoğun çalışmaları ivme kazanmıştır. Bu çalışmalarda kitinin mantar, böcekler ve deniz kabuklularından geri kazanılması, kitinin özelliklerini aydınlatmak için birçok prosedür ve tekniğin ortaya çıkarılması, kitin kimyasal türevlendirilmesi, kitin için potansiyel uygulama alanlarının araştırılması gibi alanlarda çalışılmıştır (Khor, 2014).

1.2 Kitin Fiziko Kimyasal Özellikleri

Kitin (β -(1 – 4)-poli-N-asetil-D-glukozamin) canlıların dış iskelet yapılarında bulunan bir yapı amino polisakkaritidir. Selülozdan sonra gezegendeki en fazla bulunan ikinci polisakkaritir (Azuma vd., 2015; Gopal vd., 2019). Yapısı bakımından birbirine benzerdir ancak kitinin glüköz ünitesinin 2-C pozisyonunda hidroksil grubu yerine bir asetamid grubunun bulunması bakımından farklıdır (Şekil 1.1). Ayrıca kitinin 3 farklı formu vardır alfa kitin (α), beta kitin (β), ve gama kitin (γ) (Palpandi vd., 2009; Jang vd., 2004).



Şekil 1.1. Kitin, kitosan ve selüloz yapıları

1.3 Kitin Bulunduran Canlılar ve Uygulama Alanları

Kitin Porifera, Coelenterata, Nematoda, Annelida, Molluska, Arthropoda, Echinodermata, Chordata, Tardigrada, Diatom, Bryozoa gibi omurgasız canlıların vücut yapısında bulunur (Wysokowski vd., 2015; Goldberg vd., 1994; Hallmann vd., 1999; Purschke vd., 2002; Furuhashi vd., 2009; Wysokowski vd., 2014; Martínez vd., 2014; Fabritius vd., 2011; Sannasi vd., 1970; Wagner vd., 1993; Greven vd., 2016; Brunner vd., 2009; Kaya ve Baran, 2015). Ayrıca Crustacea, Anthozoa gibi kabuklu canlıların dış iskelet yapısında ve mantarların hücre duvarında bulunur (Majtán vd., 2007; Ai vd., 2008; Bo vd., 2012; Mian vd., 1982; Ifuku vd., 2011).

Kitin genellikle karides, yengeç, istakoz gibi bol bulunan ve kolay elde edilebilen kaynaklardan izole edilmektedir. Kitin, sahip olduğu non-toksik, biyobozunur, biyoyumlu, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olması nedeniyle omurgasız canlılarda pek çok kez çalışılmıştır (Jayakumar vd., 2010, 2011). Bu özelliklerinden dolayı tıp, ziraat, eczacılık, tarım, kozmetik, tekstil, gıda endüstrisi, biyomedikal ve biyomühendislik gibi geniş uygulama alanlarına sahiptir (Zhang vd., 2005a; Zhang vd., 2005b; Jayakumar vd., 2010).

Kitin doğada α (alfa), β (beta), ve γ (gama) olmak üzere üç farklı kristal yapıda bulunur (Jang vd., 2004). Kitinin en bol bulunan kristal formu α formudur genellikle Artropoda, Tardigrada, Rotifera, Porifera, Bryozoa, Anthozoa şubelerinde ve mantarların hücre duvarında bulunur (Kaya vd., 2014a). β formu ise Molluska şubesine ait canlılarda (Bivalvia, Caudofoveata, Cephalopoda, Monoplacophora, Scaphopoda, Solenogastres) bulunur (Wysokowski vd., 2014). γ formu ise kelebeklerin kokon yapılarında bulunur (Kaya vd., 2017; Purkayastha ve Sarkar, 2020).

1.4 Polyplacophora

Kitonlar Polyplacophora olarak bilinen molluskanın alt bir filumdur (Murdoch, 1982; Sirenko, 2004). Vücut yapıları 300 milyon yıldan fazla bir süredir korunduğu için yaşayan fosiller olarak bilinir (Sigwart, 2009). Bu taksonda 940'tan fazla canlı türü ve yaklaşık 430 fosil bulunmasına rağmen bu taksona ait herhangi bir türe ilişkin ayrıntılı bir kitin çalışması bulunmamaktadır (Beesley, 1998; Okusu vd., 2003; Appeltans vd., 2011; Dell'Angelo vd., 2018).

1.5 *Plaxiphora aurata*

P. aurata, (Şekil 1.2) Polyplacophora filumunun bir alt türüdür. Dünya çapında geniş bir dağılım göstermektedir. Denizel ve karasal ekosistemlerde yaşarlar. Genellikle pek çoğu deniz diplerinde (6000-20000 fit) sert kayaların üzerine yapışarak ya da gelgit ve gelgit altı bölgelerde yaşarlar. Ayrıca birçok deniz ve kara canlısı için önemli bir besin kaynağıdır.

P. aurata gövdeleri genellikle yumuşaktır ve sert dış iskelet ile kaplıdır. Bu canlıların büyüklükleri 2,5 cm ile 20 cm ye kadar değişebilmektedir. Vücut yapıları 3 bölgeden oluşur: baş, ayak ve iç organlar kitlesi (manto ve manto boşluğu bölgesi) manto, kalsiyum karbonattan (CaCO_3) ve proteinlerden oluşan bir kabuk salgılar sırt kısmında bulunan kabuk 8 tabakadan oluşur (Hyman, 1967; Beesley, 1998; Okusu vd., 2003; Sigwart ve Schwabe, 2017). Ayrıca besinlerin alımı için radula denilen diş yapılarına ve iyi gelişmiş sindirim borusu, ağız, anüs, sindirim bezlerine sahiptir (Brooker ve Shaw, 2012). Ayakları toprağı kazma, sürünme, avlarını yakalama işini göreceğ biçimde farklılaşmıştır. Otçul, etçil veya parazittik beslenirler (Sigwart ve Schwabe, 2017).



Şekil 1.2. *Plaxiphora aurata*'nın dorsal ve ventral kısımları.

Bu tez çalışmasında Polyplacophora'nın bir alt türü olan *P. aurata*'nın 3 farklı yapısından izole edilmiş kitin yapılarının fizikokimyasal özellikleri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskobu (FTIR), Thermogravimetrik Analiz (TGA), X-Işınlari Difraksiyonu (XRD) ve Element Analizi (EA) testleri ile incenmiş ve buna ek olarak kitin içeriğı hesaplanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kitin doğada selülozdan sonra en bol bulunan biyopolimerdir. Genellikle deniz ürünleri endüstrisinde atık ürün olan yengeç ve karides gibi kabuklu deniz canlılarından ticari kitin kaynağı olarak elde edilir. Non-toksik, biyouyumlu, biyobozunur ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı günümüzde endüstri, tarım, tıp, kozmetik, tekstil, biyomedikal ve biyomühendislik uygulamaları gibi geniş bir uygulama alanlarına sahiptir (Zhang vd., 2005b; Jayakumar vd., 2010; Gonil ve Sajomsang, 2012). Ancak kitin kaynaklarının mevsimsel bulunma, bazı çevresel kirlilikler ve yersiz kitin kaynağı gibi problemlerden dolayı yeni kitin kaynak arayışı bulunmaktadır. Bu problemleri ortadan kaldırmak için Arthropodlar, yumuşakçalar ve mantarlardan kitin varlığı hakkında raporlar bildirilmiş ve ham kitin kaynağı olarak önerilmiştir (Roncero, 2002; Furuhashi vd., 2009; Kaya vd., 2014b).

Kitin üzerine yapılan çalışmalarda kitinin doğada α , β ve γ olmak üzere üç farklı formda olduğu rapor edilmiş (Blackwell, 1969; Kaya vd., 2017).

Kitinin metal katyonlar, anyonlar, radyonüklidler, boyalar, fenol ve diğer çeşitli kirletici maddeler gibi çeşitli su ve atık su kirleticilerinin etkili ve verimli bir şekilde uzaklaştırılması için düşük maliyetli bir biyo-emici madde olarak kullanıldığını bildirmektedir (Bhatnagar ve Sillanpää, 2009).

Mohan vd. (2019) Deniz salyangozundan kitin izole edilmiş ve karakterizasyonu yapılmış kitinin verimi, kül ve nem içeriği %21,65, %1,2 ve %6,50 olarak bulunmuş ve moleküler ağırlığı 25 kDa olarak hesaplanmıştır. Ayrıca XRD ile kristalizesinin indeks değeri (CrI) %82,13 olduğu bildirilmiştir. FTIR analizi ile kitin bantlarının yaklaşık olarak 1730 ve 1628 cm'de iki bant gösterdiği ve asetilasyon derecesinin %80 olduğu gözlenmiş ayrıca SEM ile izole edilen kitinin düzensiz düzenlenmiş yoğun nanolif ile yüzeyinde düzenli olarak yoğun gözenekler gözlemlenmiştir. Maksimum termal bozulma (DTGmax) kitin için sıcaklık 380°C olarak bildirmiştir. Bu nedenle, yapılan çalışmada deniz salyangozu kabuğundan izole edilen kitinin doku mühendisliği, tekstil, yara örtüsü, biyosensör ve ağır metal adsorban gelişimi için kullanılabileceği önerilebilir olduğunu vurgulamıştır (Mohan vd., 2019).

Da Silva Lucas vd. (2021) yenilebilir böcek olan *Tenebrio molitor* (un kurdu) tarafından kütiküllerinden enzimatik deproteinizasyon ile kitin, deasetilasyonun ile

kitosan elde dilmiş ayrıca fizikokimyasal özellikleri DSC, FTIR, XRD, TGA, FE-SEM karakterize edilmiş, un solucanının kütikül içeriği kuru ağırlık yüzdesinden elde edilen kitin %70,9 olarak bulunmuş kitin dan sonra elde edilen kitosan ise %45,1 ve genel verimi %31,9 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada ilk kez un kurdunda kitin analizi yapılmış ve kitin varlığı ispatlanmıştır (Da Silva Lucas vd., 2021).

Kitin mantarlarda hücre duvarında bulunur mantarların kolay fermantasyonu ve her türlü gıda atıklarında düşük maliyetli ile hızlı büyüyen organizmalardır. Farklı mantarların hücre duvarı, kitin için önemli kaynaklardan biridir. Salehinik vd. (2021) yaptıkları çalışmada mantarlardan kitin üretim oranını iyileştirmek için optimum koşullarda yetiştirilebilen *Mucor indicus*'tan kitin ekstraksiyonu yapılmış. Kitin içeri göstergesi olan *N*-asetil glukozamin (GlcNAc) içeriğinin 2,5 g/l H₃PO₄ olduğu belirlenmiş ve FTIR ile üretilen kitin nano liflerin %10 dan daha düşük bir deasetilasyon derecesine sahip olduğunu belirlenmiş, ayrıca FE-SEM ile 28 nm'lik bir ortalama çap olduğu gözlemlenmiş ve XRD ile nanofiberlerin kristallik indeksinin %82 olduğunu belirtmiştir (Salehinik vd., 2021).

Hidrojeller mekanik özellikleri, parçalanabilirliği ve enjekte edilebilirliği özelliklerinden dolayı ilaç endüstrisinde çokça talep görmektedir. Yapılan çalışmada kitinin 4-amino-DL-fenilalanin (Phe-NH₂) ile çapraz bağlama ile kitin hidrojel sistemi geliştirilmiş ayrıca bu kitin hidrojellerin %95'e varan bir iyileştirme etkinliği olduğu belirtilmiş ve üstün biyouyumlulukları ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri özellikleri ile kitin hidrojeller sıçan kemik kök hücre denenmiş ve sıçan kök hücre çoğalmasını ve 3 boyutlu yapı destek görevi olarak taşıdığı belirtilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmanın doku rejeneratif tıp için kullanabilirliği önerilmiştir (Yang vd., 2021).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin Temini

Plaxiphora aurata (Mollusca: Polyplacophora: Mopaliidae), 11 Kasım 1914'te Yeni Zelanda, Auckland yakınlarındaki Port Ross'ta toplandı ve daha sonra NHMD-269485 katalog numarası altında Danimarka Doğa Tarihi Müzesi koleksiyonlarında saklanmış ve buradan temin edilmiştir.

3.2 Kitin İzolasyonu

51.54 g örnek (*P. aurata* 6 adet) distile su ile üzerinde kirlilik kalmayacak şekilde yıkanarak etüvde 30°C 2 gün kuruyana kadar inkübe edildi. Örneklerin, 3 boyutlu yapısının korunması için uygulanan işlemler son derece sert olmayan koşullarda gerçekleştirilmiştir. Canlının yapısındaki minerallerin uzaklaştırılması (demineralizasyon) için 24 saat boyunca 1 M HCl asit çözeltisinde ara ara karıştırılarak bekletilmiştir. Bu işlem sonunda örnekler nötral pH ya gelene kadar distile su ile yıkanmıştır. Ardından deproteinizasyon işlemi için 1 M NaOH çözeltisine alınarak 100°C sıcaklıkta 12 saat ara ara karıştırılarak muamele edilmiştir. Bu işlem sonunda kitin örnekleri yine nötral pH ya gelene kadar distile su ile yıkanmıştır. Etüvde 30°C 2 gün kuruyana kadar inkübe edildi. Kuruyan örnekler tartılarak, canlının % kitin oranı hesaplanmıştır. Kitin örnekleri, yapılacak analizlere kadar %70'lik metanolde +4°C'de saklanmıştır.

3.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

P. aurata'dan elde edilen 3 farklı kitin yapılarının yüzey morfolojisi ZEISS LS-10 markalı taramalı elektron mikroskobu kullanılarak analiz edilmiştir. Analizden önce, kitin örnekleri Gatan Precision Etching Coating System (PECS) ile altınla kaplanmıştır.

3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskobu (FTIR)

P. aurata'dan izole edilen kitin yapıları IR spektrumları, 4000-625 cm⁻¹ frekans aralığında bir Perkin Elmer FTIR Spektrometresi ile kaydedildi. Bu yöntem ile kitin örneklerinin fonksiyonel gurupları belirlenmiştir.

3.5 Thermogravimetrik Analiz (TGA)

İzole edilen 3 farklı kitin yapılarının termal bozunumu EXSTAR S11 7300 cihaz sistemi ile yapılmıştır. Bu sistem sıcaklığının 10°C /dak ısıtma hızı ile 20 ve 700°C aralığında ölçümleri yapılarak sıcaklığa bağlı bozunma dereceleri ölçülmüştür.

3.6 Element Analizi (EA)

Element analizi, Thermo Flash 2000 kullanılarak yapıldı. Kitin örneklerinin asetilasyon derecesi (DA) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Buradaki C/ N'nin karbonun nitrojene oranı (w/w) olduğu bu formül kullanılarak hesaplanmıştır (Xu vd., 1996).

$$DA = [(C/N - 5.14) / 1.72] \times 100 \quad (3.1)$$

C= Kitin örneğinde bulunan karbon element miktarı

N= Kitin örneğinde bulunan azot element miktarı

3.7 Kitin İçeriği

P. aurata ekstre edilmeden önce distile su ile üzerindeki kirlilikler uzaklaştırılarak ardından 25°C de kurutulup tartıldı ve ekstre edildi daha sonra ekstre edilmiş kitin oda koşullarında kurutulup tartılarak kitin içeri hesaplanmıştır. Kitin içeriği (% W), aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$W1\% = ((W1 - W2)) / W1 \times 100. \quad (3.2)$$

W₁= Ham madde ağırlığı

W₂= Son ürün ağırlığı

3.8 XRD

İzole edilmiş kitin ekstrelerinin XRD spektrumlarını belirlemek için Rigaku Miniflex 600 cihaz sistemi kullanılmıştır. Bu sistem 40 Kv, 15 mA ve 2θ da 2°C ila 45°C aralığında tarama açısı ile ölçüm yapar. Örneklerin sahip olduğu CrI değeri aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır (Al Sagheer vd., 2009).

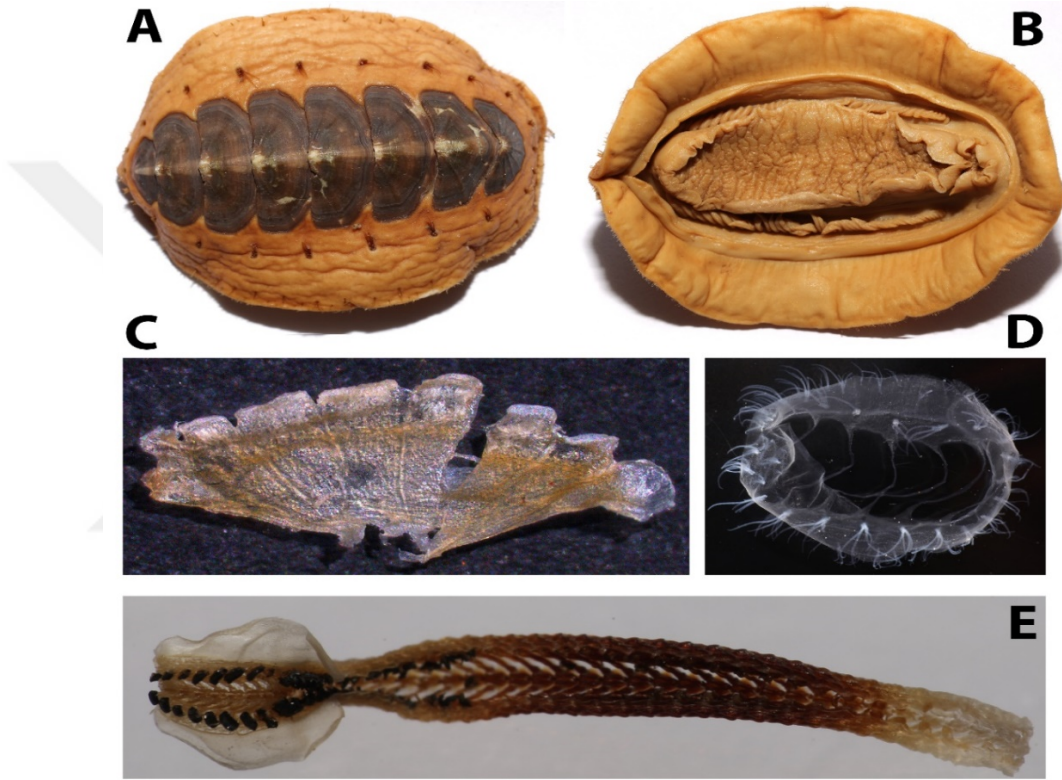
$$CrI_{110} = \left[\frac{(I_{110} - I_{am})}{I_{110}} \right] \times 100. \quad (3.3)$$

I₁₁₀ = ≈ 2θ daki en yüksek yoğunluk

I_{am} = 2θ ≈ 16°'de amorf dağılım yoğunluğu

3.9 *Plaxiphora aurata* Örnekleri

P.aurata'nın dorsal ve ventral kısımları profesyonel makro kamera ile fotograflamıştır. Elde edilen kitin gövde parçaları, kamera takılı (LEICA DFC295) LEICA Z6 APO mikroskobunda fotoğraflandı. Üç boyutlu kitin yapıları Şekil 3.1'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Kitin ekstraksiyonu için kullanılan malzemeler: A, B) *P. aurata*'nın dorsal ve ventral kısımları, C) kuşak, D) iskelet ve E) radula.

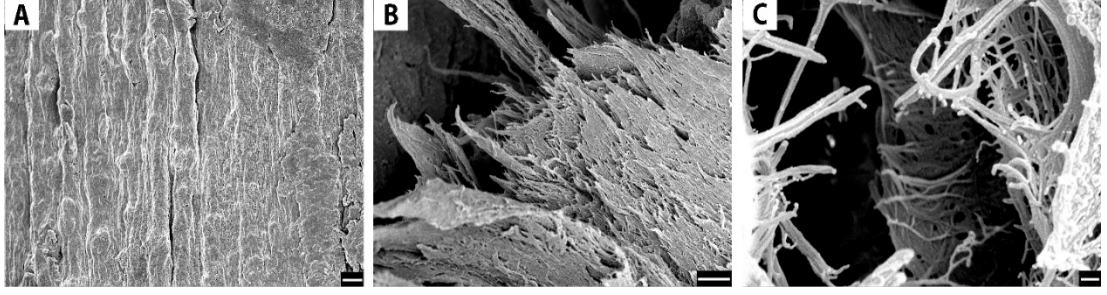
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Kitin İçeriği

P. aurata vücut kısımlarının kitin içeriği kuru bazda ağırlıkça %27,82 olarak hesaplandı. Bu da yengeç kabuğundaki kitinden çok daha yüksek (ağırlıkça %16,73) ve karides kabuklarında (ağırlıkça %29,4) içeriklerle karşılaştırılabilir (Rogers, 2013; Abdou vd., 2008). Bununla birlikte, çift kabuklu deniz kabukları gibi diğer yumuşakçalarla karşılaştırıldığında, kitin içerikleri genellikle bizim çalışmamıza kıyasla oldukça düşük görünmektedir (Furuhashi vd., 2009; Agbaje vd., 2018). Furuhashi vd. (2009) en yüksek kitin içeriğine sahip grubun, Polyplacophora kuşağında gözlemlediklerimize daha yakın kitin değerlerine sahip olan Cephalopoda olduğunu belirtmiştir. Örneğin, kalamardan elde edilen β -kitin içeriği %25,5 ile %38 arasında değişmektedir (Cuong vd., 2016). Kalamardan elde edilen kitin ile karşılaştırıldığında, Bryozoa'dan elde edilen kitin %13,3, Mantar'dan elde edilen kitin %2,4 ve Böcek'ten elde edilen kitin ise %10,8'dir bu çalışmada elde edilen kitin bu türlerdeki kitin içeriklerinden çok daha yüksektir (Kaya vd., 2016).

4.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

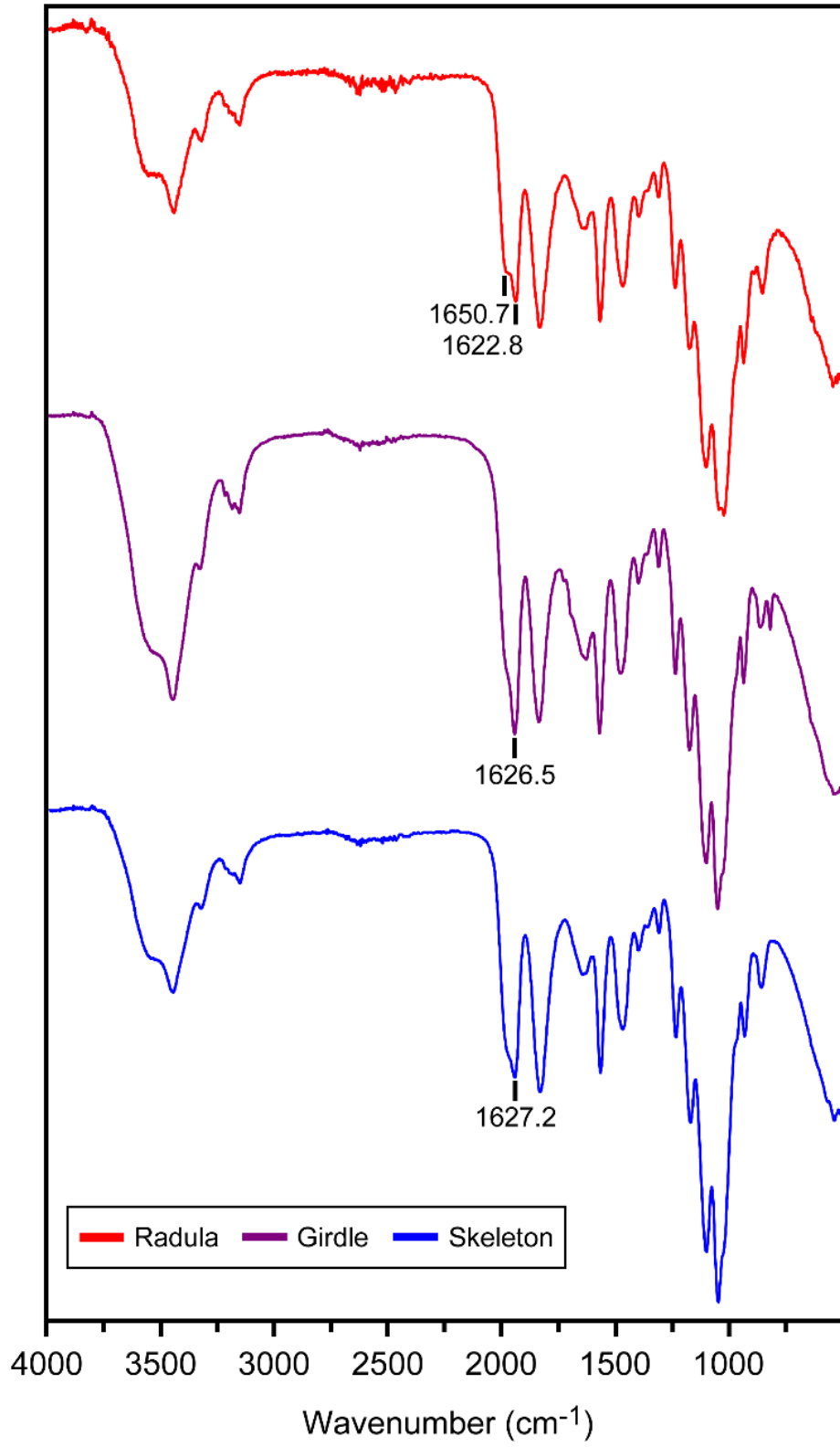
P. aurata'nın üç farklı vücut kısmından (iskelet, kuşak ve radula) elde edilen kitin izolatlarının yüzey morfolojisi incelendi. İskeletin yüzeyinin sert ve pürüzsüz olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, kuşak ve raduladan alınan kitin izolatları, berrak nanoliflere sahipti (Şekil 4.1). Bu nedenle, kuşağın hem yüzeyi hem de radula kitinleri benzer morfolojiye sahipti. Çeşitli organizmalardan saflaştırılan kitin izolatlarının yüzey morfolojisi, pürüzsüz (lifsiz ve gözeneksiz), yalnızca lifli, yalnızca gözenekli veya hem lifli hem de gözenekli gibi farklı görünümlere sahip olabilir (Kaya vd., 2014c). *P. aurata*'da iskeletten kitin pürüzsüz olarak kategorize edilebilir ve kuşaklardan ve raduladan diğer kitin izolatları sadece lifli olarak sınıflandırılabilir. *Ariolimax californicus* sümüklüböceği radulasından da benzer bir lifli yüzey morfolojisi bildirilmiştir (Montroni vd., 2019). Öte yandan, bryozoan ve böcek kitini yüzeyde gözenek ve lifler göstermektedir (Kaya vd., 2015). Literatürde yapılan çalışmalarda, α -kitinin daha belirsiz ve daha küçük nanofiber gösterirken β -kitin gözenekli nanolifler içerdiği belirtilmiştir (Ifuku vd., 2011; Mushi vd., 2014; Lavall vd., 2007; Kaya vd., 2016).



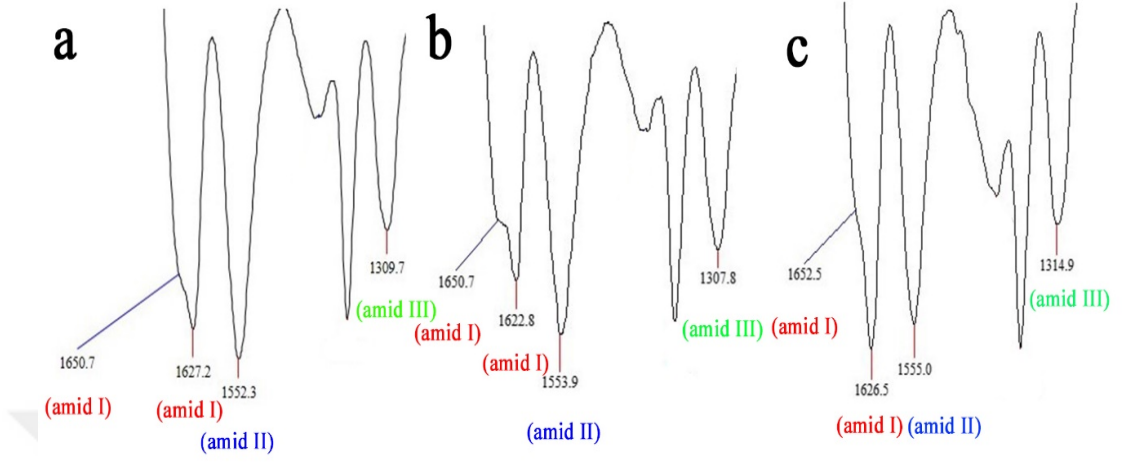
Şekil 4.1. Kitin izolatlarının SEM görüntüleri A) iskelet, B) kuşak ve C) radula.

4.3 Fourier Dönüştürülmüş Kızılötesi Spektroskopu (FTIR)

P. aurata'nın 3 farklı vücut bölgesinden (iskelet, radula, kuşak) izole edilen kitinler için FTIR bantları Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 'de ayrıca FTIR spektrumları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. FTIR spektrumları kitin için 3 önemli amid bandına karşılık gelir bu bantları C=O Amid I, N-H Amid II ve C-N Amid III olduğu, ayrıca amid bantları sırasıyla 1660, 1550 ve 1310 cm^{-1} olarak tanımlanmıştır. FTIR spektrumları Amid I için iki tepe noktası, Amid II ve Amid III tek tepe noktasına karşılık gelmektedir. Amid bandlarının tepe noktaları kitin formları arasındaki farkları yapılan çalışmada belirtmiştir (Jang vd., 2004; Liu vd., 2012). Bu çalışmada ise *P. aurata* dan izole edilen kitinlerin pikleri sırasıyla iskelet için FTIR pikleri iskelet için 1627 cm^{-1} (amid I), 1552 cm^{-1} (amid II) olarak kaydedilmiş, kuşak için ise 1627 cm^{-1} (amid I), 1555 cm^{-1} (amid II) olarak gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1). Bu sonuç açıkça izole edilen kitinlerin β -kitin varlığını göstermektedir. Ancak radula da kitin tespiti ile ilgili olarak 1650 cm^{-1} (amid I) ve 1622 cm^{-1} (amid I) olmak üzere biri keskin diğeri soluk olmak üzere iki bant tespit edilmiştir (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3). Bununla birlikte, TGA sonuçları ile karşılaştırıldığında (radula için 350,5°C), ikinci hafif tepe noktasının tartışmalı olduğunu düşündürmektedir. Spektral değerlendirmede 1540 cm^{-1} 'de bantların olmaması, protein kalıntısı olmadığını kanıtlamaktadır. Weaver vd. (2011) kitonlar üzerine yaptıkları çalışmada radula'da α -kitin varlığını göstermiştir. Montroni vd. (2019) muz salyangozunun (*Ariolimax californicus*) üzerine yaptıkları çalışmada bukkal kütlelerini karakterize etmiş ve radulanın β -kitin özelliklerini taşıdığı gösterilmiştir. Yapılan bu çelişkili çalışmalarda radula için kesin bir kitin formuna belirlenmemiştir.



Şekil 4.2. *P. aurata*'dan izole edilen kitinlerin FTIR sonuçları iskelet radula ve kuşak.



Şekil 4.3. a) İskelet b) radula c) kuşak kitinlerin FTIR amid bantları.

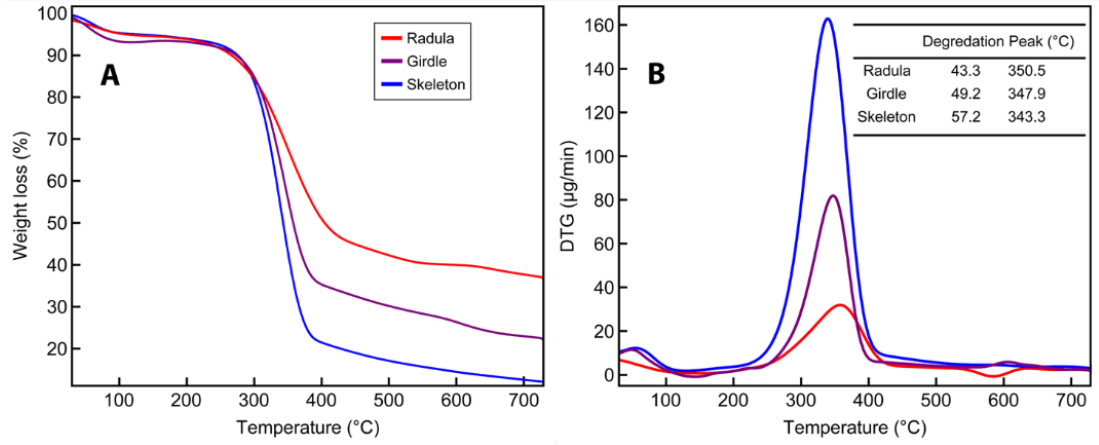
Çizelge 4.1. *P. aurata* gövde parçalarından (iskelet, kuşak ve radula) elde edilen kitinin Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektrumları

Fonksiyonel grup ve vibrasyon modları	Sınıflandırma	Dalga numarası (cm-1) frekansı		
		İskelet kitini	Kabuk plakası kitini	Radula kitini
O–H gerilmesi	-	3416	3398	3119
N–H gerilmesi	-	3269-3108	3267-3111	3260-3104
CH₃ ve asimetrik CH₂ bükülmesi	Alifatik bileşikler	3916	3916	3916
Simetrik CH₃ bükülmesi	Alifatik bileşikler	2874	2874	3877
C=O ikincil amid gerilimi	Amid I			1650
C=O ikincil amid gerilimi	Amid I	1627	1627	1622
N-H bandı ve C-N gerilimi	Amid II	1552	1555	1553
CH₂ ucu ve CH₃ deformasyonu	Alifatik bileşikler	1421	1415	1423
CH bandı, CH₃ simetrik deformasyonu	-	1374	1376	1374
CH₂ sallanması	Amid III, protein bileşenleri	1309	1314	1307
Asimetrik oksijen gerilim köprüsü	-	1152	1152	1149
Asimetrik aynı evreli halka gerilim modu	-	1109	1111	1111
Aynı evreli halka C-O-C asimetrik gerilimi	Sakkarit halkaları	1063	1062	1063
Aynı evreli halka C-O simetrik gerilimi	-	1025	1027	1011
CH₃ sallanması	Zincir boyu	950	951	952
CH halk gerilimi	Sakkarit halkaları	900	903	899

4.4 Thermogravimetrik Analiz (TGA)

TGA analizi belirlenen sıcaklık aralığında, artan sıcaklığa göre materyallerin bozulma oranını gösterir, dolayısıyla malzemelerin stabilizesini ortaya koyar. Mevcut çalışmada üretilen 3 farklı kitinin TGA analizleri incelendiğinde biyopolimer yapı özelliklerinden dolayı düşük bozulma sıcaklıklarına sahip oldukları görülmektedir. Kitin için belirlenen bozulma sıcaklığı 300-400°C arasındadır (Hong vd., 2007). Özellikle maksimum bozulmanın gerçekleştiği sıcaklık çok önemlidir. Örneğin α kitin için bu değer yüksek (350°C'den fazla) iken beta kitin için düşüktür (350°C'den az) (Ifuku ve Saimoto, 2012; Nagahama vd., 2008). Bu değerler iskelet için 343,3°C, kuşak için 347,9°C ve radula için ise 350,5°C olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.4). Literatüre bakıldığında Arthropoda, Bryozoa, Porifera ve mantarlardan izole edilen α kitinlerin termal kararlılığı 350°C'den yüksek iken Molluska'ya ait canlılardan izole edilen β kitin için bu değer 350°C'den daha düşük olarak gözlenmiştir. TGA sonucuna dayanarak iskelet ve kuşaktan elde edilen kitinlerin β kitin olduğunu gösterirken, radula dan izole edilen kitinin DTGmax değeri kritik bir noktada olduğunu göstermektedir. Bu nedenle radula kitini için TGA analiz sonucuna dayanarak, α ya da β olarak kesin bir şey söylemek zordur.

Üç farklı vücut parçasından izole edilen kitin, sıcaklıktaki bozulma oranında önemli bir fark gösterdi. İskelet kitin için, 150-700°C arasında karbonhidrat yapısının bozulmasına bağlı olarak suyun 25-150°C ile %56,3 arasında buharlaşmasına bağlı olarak %2,77 oranında bir bozulma olmuştur, bu nedenle sonuç olarak %40,93 kül kalmıştır. Kuşak kitinin sonucuna bakarsak, hem suyun buharlaşmasından (%5,4) hem de polisakkarit yapısından (%70,19) dolayı bir kütle kaybı vardı, bu da başlangıçtaki kül miktarının %24,31'inin kül kaldığı anlamına geliyor.



Şekil 4.4. İzole edilen kitinlerin TGA / DTG'si iskelet, kuşak ve radula için A) TGA, B) DTG.

4.5 Elementel Analiz (EA)

P. aurata'nın 3 farklı vucut bölgesinden elde edilen kitin örneklerinin EA sonuçları Çizelge 4.2 'de verilmiştir. Kitinlerin içerdikleri karbon (C), hidrojen (H), ve azot (N) oranları sırasıyla iskelet kitini için 42.4, 6.1, 5.9, radula için 31.8, 4.5, 4.9 ve kuşak kitini için 32.1, 4.2, 4 olarak kaydedilmiştir. Literatürde saf kitinin %6,89 oranında N içerdiği ve asetilasyon derecesi (DA) değerinin %100 olduğu kabul edilmektedir. Ancak N değeri tamamen asetile edilmiş bir kitin için hesaplanan teorik değerden (%6,89) daha düşük ise protein kalıntısı, fazla ise mineral kalıntısı olduğunu gösterir (Majtán vd., 2007; Gonil ve Sajomsang, 2012; Sajomsang ve Gonil, 2010; Liu vd., 2012). Bu çalışmada ise ekstrakte edilen kitin örneklerinin N içeriği %6,89'dan daha az bulundu, bu da tamamen asetilenmiş kitin için minimum bir protein kalıntısı olduğu gösterir. *P. aurata* iskeleti, radula ve kuşak için element analizi ile belirlenen ve malzeme ve yöntem bölümünde verilen formüle göre hesaplanan DA değerleri *P. aurata* iskelet, radula ve kabuk plakası sırasıyla %118,9, %78,4, %167,7 olarak hesaplanmıştır. Kaya vd. (2014a) göre DA değerinin %100'den fazla olması durumunda, yapıda mineral artıkları düşük olması durumunda ise protein kalıntılarının olduğunu gösterir (Kaya vd., 2014a). Buna göre kabuk plakası kitininde DA (%167,7) yapıda tamamen giderilmeyen mineral olduğu, radula da ise DA (%78,4) protein kalıntısının olduğu göstermiştir. İskelet kitinin DA (%118,9) değeri ise %100'e yakın bir değer olduğunu bununda saflığının diğer kitinler kısımlarına göre fazla olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada olduğu gibi diğer bazı

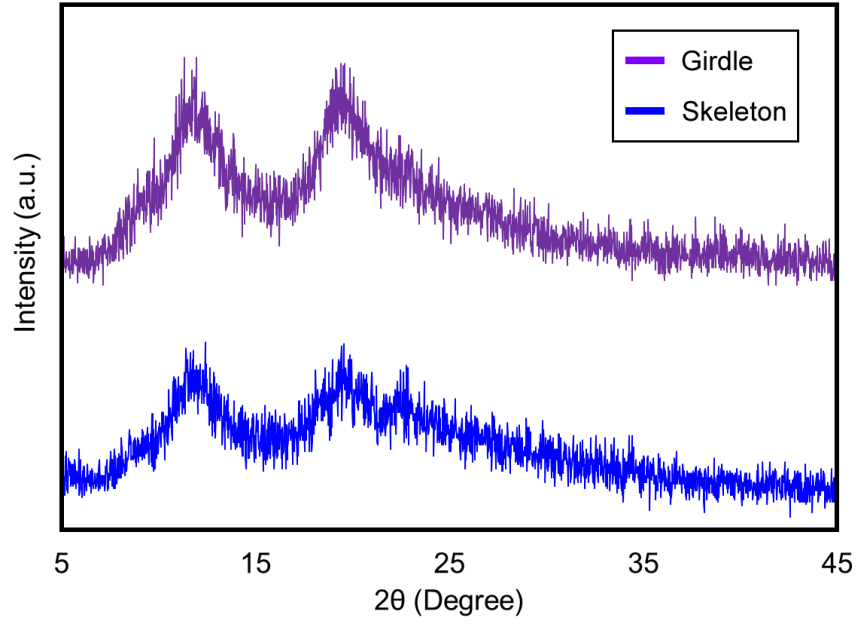
çalışmalarda ise yaban arısı kitinin DA değeri %132,5, Karides kitinin DA değeri %237,2, ham yengeç kitini DA değeri %151,7 olduğu görülmektedir (Majtán vd., 2007; Yen vd., 2009). Bu sonuçlara göre ekstrakte ettiğimiz kitin DA değerleri saf olarak kabul edilebilir.

Çizelge 4.2. *Plaxiphora aurata* iskeleti, kuşak ve raduladan kitin elementel analiz sonuçları. Elementel analizden (EA) hesaplanan deasetilasyon derecesi (DA).

Numune adı	İçerik %					DA%
	N	C	H	S	C/N	
Plaxiphora aurata Radula	4,9	31,8	4,5	-	6.4	78.47
Plaxiphora aurata Kabuk plakası	4	32,13	4,2	0,09	8	167.7
Plaxiphora aurata İskelet	5,9	42,4	6,1	-	7.1	118.9

4.6 XRD

P. aurata'dan izole edilen kitin izolatlarının XRD pikleri ve CrI değerleri Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Kitinin karakteristikleri olan iki parçanın kitin izolatları için sırasıyla 2θ'da 11 ve 20 θ civarında iki ana pik kaydedilmiştir (Cárdenas vd., 2004). Kiton kuşağı ve iskeletin CrI'si sırasıyla %23,22 ve %32,94 olarak gözlemlenmiştir. Bu CrI indeksleri şimdiye kadar rapor edilen en düşük değerlerdir. Daha önce yapılan çalışmalarda α kitin'in CrI değerleri %70'i aşarken, β kitin değeri genellikle %50 ile %60 arasındadır. Ancak bu çalışmada, bu iki kiton parçasından elde edilen kitin izolatları, daha önce α-kitin için rapor edilenden oldukça düşüktür (Kaya vd., 2017). Bu nedenle, kiton kitin kristalliyi, mürekkepbalığı ve kalamar kalemlerinin kitin izolatlarından farklıdır (Fan vd., 2008; Weaver vd., 2011; Kaya vd., 2017).



Şekil 4.5. *P. aurata*'nın iskelet ve kuşağından izole edilen kitinlerin XRD pikleri.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ilk defa bir kiton türü olan *P.aurata*'nın 3 boyutlu yapısı korunarak kitin izole edilmiş ve 3 farklı bölgede (iskelet, radula, kuşak) kitin varlığı ispatlanmış ve bu bölgelerde bulunan kitinlerin fizikokimyasal yapısı analitik cihazlar (FTIR, SEM, TGA, EA ve XRD) kullanılarak belirlenmiştir. Bu testler sonucunda *P.aurata*'nın farklı yapılarının hangi kitin formda olduğu belirlenmiş ve kitin saflığı ile toplam kitin içeriği hesaplanmıştır. *P. aurata* kitinlerinin saf kitin ile karşılaştırılarak kitinler arasındaki temel farklılıklar açıklanmıştır. Bu çalışma kitonların kitin için alternatif bir kaynak olup olamayacağını incelemektedir. Kiton *P. aurata*'nın iskeleti, kuşağı ve radulasının üç boyutlu yapısı korunarak kitin ekstraksiyonu yapılmıştır. Analizlerimiz, kafadanbacaklılar, karıdanbacaklılar ve çift kabuklular gibi diğer yumuşakçalara ek olarak, kitonların, %27,82'lik önemli bir vücut kitin içeriğine sahip olduğunu göstermektedir; bu kitonların aslında alternatif bir kitin kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışma aynı zamanda kitonlarda bulunan kitin tipine ilişkin daha önce bildirilen belirsizlikleri de netleştirilmiştir. Kitonların iskeleti ve kuşağının bir β kitinden oluştuğu, oysa radulanın α ve β kitin arasında bir ara madde içerdiği açıkça ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca asetilasyon derecesi değeri iskelet kitininin saflığının kitonun diğer kısımlarına göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, iskeletin yüzey yapısı, şeffaf nanoliflerden oluşan kuşak ve radula ile karşılaştırıldığında sert ve pürüzsüz olarak gözlemlenmiştir. TGA analizlerinin sonuçları karşılaştırıldığında, kuşaktan ve iskeletten belirlenen DTGmax değerleri β kitin ile uyumluyken, radula için sonuç belirsiz kaldırmıştır. Sonuç olarak, bulgularımızın kitonlardaki kitin miktarı ve türü ile ilgili önceki belirsizlikleri ortadan kaldırmaya yardımcı olacağını umuyoruz.

KAYNAKÇA

- Abdou, E. S., Nagy, K. S., ve Elsabee, M. Z. 2008. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources, *Bioresource technology*, 99(5), 1359-1367.
- Agbaje, O. B. A., Shir, I. B., Zax, D. B., Schmidt, A., ve Jacob, D. E. 2018. Biomacromolecules within bivalve shells: Is chitin abundant, *Acta biomaterialia*, 80, 176-187.
- Ai, H., Wang, F., Yang, Q., Zhu, F., ve Lei, C. 2008. Preparation and biological activities of chitosan from the larvae of housefly, *Musca domestica*, *Carbohydrate polymers*, 72(3), 419-423.
- Al Sagheer, F. A., Al-Sughayer, M. A., Muslim, S., ve Elsabee, M. Z. 2009. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf, *Carbohydrate polymers*, 77(2), 410-419.
- Alabaraoye, E., Achilonu, M., ve Hester, R. 2018. Biopolymer (Chitin) from various marine seashell wastes: isolation and characterization, *Journal of Polymers and the Environment*, 26(6), 2207-2218.
- Appeltans, W., Decock, W., Vanhoorne, B., Hernandez, F., Bouchet, P., Boxshall, G., ve Costello, M. J. 2011. The World Register of Marine Species: an authoritative, open-access web-resource for all marine species..
- Azuma, K., Izumi, R., Osaki, T., Ifuku, S., Morimoto, M., Saimoto, H., Minami, S. ve Okamoto, Y., 2015. Chitin, chitosan, and its derivatives for wound healing: old and new materials, *Journal of functional biomaterials*, 6, 1, 104-142.
- Beesley, P. L. 1998. Mollusca: the southern synthesis, Australian Government Publishing Service; CSIRO.
- Bhatnagar, A. ve Sillanpää, M., 2009. Applications of chitin-and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater a short review, *Advances in colloid and Interface science*, 152, 1-2, 26-38.
- Blackwell, J., 1969. Structure of β -chitin or parallel chain systems of poly- β -(1 $\rightarrow$ 4)-N-acetyl-D-glucosamine, *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 7, 3, 281-298.
- Bo, M., Bavestrello, G., Kurek, D., Paasch, S., Brunner, E., Born, R., Galli, R., Stelling, A.L., Sivkov, V.N. ve Petrova, O.V., 2012. Isolation and identification of chitin in the black coral *Parantipathes larix* (Anthozoa: Cnidaria), *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 1-2, 129-137.
- Brooker, L. R., ve Shaw, J. A. 2012. The chiton radula: a unique model for biomineralization studies, *Advanced topics in biomineralization*, 1, 65-84.

- Brunner, E., Richthammer, P., Ehrlich, H., Paasch, S., Simon, P., Ueberlein, S. ve Van Pée, K.H., 2009. Chitin-based organic networks: an integral part of cell wall biosilica in the diatom *Thalassiosira pseudonana*, *Angewandte Chemie International Edition*, 48, 51, 9724-9727.
- Cárdenas, G., Cabrera, G., Taboada, E. ve Miranda, S.P., 2004. Chitin characterization by SEM, FTIR, XRD, and ¹³C cross polarization/mass angle spinning NMR, *Journal of Applied Polymer Science*, 93, 4, 1876-1885.
- Cuong, H. N., Minh, N. C., Van Hoa, N., ve Trung, T. S. 2016. Preparation and characterization of high purity β -chitin from squid pens (*Loligo chensis*), *International journal of biological macromolecules*, 93, 442-447.
- Da Silva Lucas, A. J., Oreste, E. Q., Costa, H. L. G., López, H. M., Saad, C. D. M., ve Prentice, C. 2021. Extraction, physicochemical characterization, and morphological properties of chitin and chitosan from cuticles of edible insects, *Food Chemistry*, 343, 128550.
- Dell'Angelo, B., Renda, W., Sosso, M. ve Giacobbe, S., 2018. 138 years later: new data on *Callistochiton* (*Allerchiton*) *pachylasmae* (Monterosato, 1879) from its type locality, the Strait of Messina, *Archiv für Molluskenkunde*, 147, 2, 215-221.
- Fabritius, H., Sachs, C., Raabe, D., Nikolov, S., Friák, M., ve Neugebauer, J. 2011. Chitin in the exoskeletons of arthropoda: From ancient design to novel materials science, In *Chitin* (pp. 35-60). Springer, Dordrecht.
- Fan, Y., Saito, T. ve Isogai, A., 2008. Preparation of chitin nanofibers from squid pen β -chitin by simple mechanical treatment under acid conditions, *Biomacromolecules*, 9, 7, 1919-1923.
- Furuhashi, T., Beran, A., Blazso, M., Czegeny, Z., Schwarzing, C., ve Steiner, G. 2009. Pyrolysis GC/MS and IR spectroscopy in chitin analysis of molluscan shells, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(1), 93-103.
- Goldberg, W. M., Hopkins, T. L., Holl, S. M., Schaefer, J., Kramer, K. J., Morgan, T. D., ve Kim, K. 1994. Chemical composition of the sclerotized black coral skeleton (*Coelenterata: Antipatharia*): a comparison of two species, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 107(4), 633-643.
- Gonil, P. ve Sajomsang, W., 2012. Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles, *International journal of biological macromolecules*, 51, 4, 514-522.
- Gopal, J., Muthu, M., Dhakshanamurthy, T., Kim, K. J., Hasan, N., Kwon, S. J., ve Chun, S. 2019. Sustainable ecofriendly phytoextract mediated one pot green recovery of chitosan, *Scientific reports*, 9(1), 1-12.

- Greven, H., Kaya, M. ve Baran, T., 2016. The presence of α -chitin in Tardigrada with comments on chitin in the Ecdysozoa, *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 264, 11-16.
- Hallmann, J., Rodriguez-Kábana, R. ve Kloepper, J., 1999. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control, *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 4, 551-560.
- Hong, P. Z., Li, S. D., Ou, C. Y., Li, C. P., Yang, L., ve Zhang, C. H. 2007. Thermogravimetric analysis of chitosan, *Journal of applied polymer science*, 105(2), 547-551.
- Hyman, L.H., 1967. *The Invertebrates V. 6 Mollusca I: Aplacophora, Polyplacophora, Monoplacophora, Gastropoda, the Coelomate Bilateria*, New York : McGraw-Hill, 1967.
- Ifuku, S., Nomura, R., Morimoto, M., ve Saimoto, H. 2011. Preparation of chitin nanofibers from mushrooms, *Materials*, 4(8), 1417-1425.
- Ifuku, S. ve Saimoto, H., 2012. Chitin nanofibers: preparations, modifications, and applications, *Nanoscale*, 4, 11, 3308-3318
- Jang, M.-K., Kong, B.-G., Jeong, Y.-I., Lee, C. H. ve Nah, J.-W., 2004. Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 42, 14, 3423-3432.
- Jayakumar, R., Chennazhi, K., Srinivasan, S., Nair, S.V., Furuike, T. ve Tamura, H., 2011. Chitin scaffolds in tissue engineering, *International journal of molecular sciences*, 12, 3, 1876-1887.
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Nair, S. ve Tamura, H., 2010. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications, *Biotechnology advances*, 28, 1, 142-150.
- Kaya, M., Baran, T., Menten, A., Asaroglu, M., Sezen, G. ve Tozak, K.O., 2014a. Extraction and characterization of α -chitin and chitosan from six different aquatic invertebrates, *Food biophysics*, 9, 2, 145-157.
- Kaya, M., Baran, T., Erdoğan, S., Menteş, A., Özüsağlam, M.A. ve Çakmak, Y.S., 2014b. Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*), *Materials Science and Engineering: C*, 45, 72-81.
- Kaya, M., ve Baran, T. 2015. Description of a new surface morphology for chitin extracted from wings of cockroach (*Periplaneta americana*), *International journal of biological macromolecules*, 75, 7-12.

- Kaya, M., Baublys, V., Šatkauskienė, I., Akyuz, B., Bulut, E. ve Tubelytė, V., 2015. First chitin extraction from *Plumatella repens* (Bryozoa) with comparison to chitins of insect and fungal origin, *International journal of biological macromolecules*, 79, 126-132.
- Kaya, M., Karaarslan, M., Baran, T., Can, E., Ekemen, G., Bitim, B., ve Duman, F. 2014c. The quick extraction of chitin from an epizoic crustacean species (*Chelonibia patula*). *Natural product research*, 28(23), 2186-2190.
- Kaya, M., Mujtaba, M., Ehrlich, H., Salaberria, A.M., Baran, T., Amemiya, C.T., Galli, R., Akyuz, L., Sargin, I. ve Labidi, J., 2017. On chemistry of γ -chitin, *Carbohydrate polymers*, 176, 177-186..
- Kaya, M., Sofi, K., Sargin, I., ve Mujtaba, M. 2016. Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp), *Carbohydrate polymers*, 145, 64-70.
- Khor, E., 2014. *Chitin: fulfilling a biomaterials promise*, Elsevier.
- Lavall, R. L., Assis, O. B., ve Campana-Filho, S. P. 2007. β -Chitin from the pens of *Loligo* sp.: Extraction and characterization, *Bioresource Technology*, 98(13), 2465-2472.
- Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Jiang, C. ve Yang, Q., 2012. Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky, *Molecules*, 17, 4, 4604-4611.
- Majtán, J., Bíliková, K., Markovič, O., Gróf, J., Kogan, G. ve Šimúth, J., 2007. Isolation and characterization of chitin from bumblebee (*Bombus terrestris*), *International journal of biological macromolecules*, 40, 3, 237-241.
- Martínez, J.P., Falomir, M.P. ve Gozalbo, D. 2014. Chitin: A Structural Biopolysaccharide with Multiple Applications, In *eLS*, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.).
- Mian, I., Godoy, G., Shelby, R., Rodriguez-Kabana, R. ve Morgan-Jones, G., 1982. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil, *Nematropica*, 12, 1, 71-84.
- Mohan, K., Ravichandran, S., Muralisankar, T., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., Rajeevgandhi, C., Rajan, D.K. ve Seedeve, P., 2019. Extraction and characterization of chitin from sea snail *Conus inscriptus* (Reeve, 1843), *International journal of biological macromolecules*, 126, 555-560.
- Montroni, D., Zhang, X., Leonard, J., Kaya, M., Amemiya, C., Falini, G., ve Rolandi, M. 2019. Structural characterization of the buccal mass of *Ariolimax californicus* (Gastropoda; Stylommatophora), *PloS one*, 14(8), e0212249.

- Murdoch, R., 1982. A new species of Plaxiphora (Mollusca: Polyplacophora) from southern New Zealand, *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 16, 2, 175-178.
- Mushi, N. E., Butchosa, N., Salajkova, M., Zhou, Q., ve Berglund, L. A. 2014. Nanostructured membranes based on native chitin nanofibers prepared by mild process, *Carbohydrate polymers*, 112, 255-263.
- Muzzarelli, R.A., 1977. Chitin, Elsevier.
- Nagahama, H., Jayakumar, R., Koiwa, S., Furuike, T. ve Tamura, H., 2008. Novel biodegradable chitin membranes for tissue engineering applications, *Carbohydrate polymers*, 73, 2, 295-302.
- Okusu, A., Schwabe, E., Eernisse, D.J. ve Giribet, G., 2003. Towards a phylogeny of chitons (Mollusca, Polyplacophora) based on combined analysis of five molecular loci, *Organisms Diversity & Evolution*, 3, 4, 281-302.
- Palpandi, C., Shanmugam, V., ve Shanmugam, A. 2009. Extraction of chitin and chitosan from shell and operculum of mangrove gastropod *Nerita* (Dostia) *crepidularia* Lamarck, *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(5), 198-205.
- Purkayastha, D., ve Sarkar, S. 2020. Physicochemical structure analysis of chitin extracted from pupa exuviae and dead imago of Wild Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*), *Journal of Polymers and the Environment*, 28(2), 445-457.
- Purschke, G., 2002. On the ground pattern of Annelida, *Organisms Diversity & Evolution*, 2, 3, 181-196.
- Rogers, R. 2013. Preparation of High Purity, High Molecular-Weight Chitin from Ionic Liquids for Use as an Adsorbate for the Extraction of Uranium from Seawater (No. DOE/NEUP-11-3123), Univ. of Alabama.
- Roncero, C. 2002. The genetic complexity of chitin synthesis in fungi, *Current genetics*, 41(6), 367-378.
- Sajomsang, W. ve Gonil, P., 2010. Preparation and characterization of α -chitin from cicada sloughs, *Materials Science and Engineering: C*, 30, 3, 357-363.
- Salehinik, F., Behzad, T., Zamani, A., ve Bahrami, B. 2021. Extraction and characterization of fungal chitin nanofibers from *Mucor indicus* cultured in optimized medium conditions, *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 1126-1134.
- Sannasi, A. ve Hermann, H., 1970. Chitin in the cephalochordata, *Branchisotoma floridae*, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 26, 4, 351-352.

- Sigwart, J. D. 2009. The deep-sea chiton *Nierstraszella* (Mollusca: Polyplacophora: Lepidopleurida) in the Indo-West Pacific: taxonomy, morphology and a bizarre ectosymbiont, *Journal of Natural History*, 43(7-8), 447-468.
- Sigwart, J., ve Schwabe, E. 2017. Anatomy of the many feeding types in polyplacophoran molluscs, *Invertebrate Zoology*, 14(2), 205-216
- Sirenko, B., 2004. The ancient origin and persistence of chitons (Mollusca, Polyplacophora) that live and feed on deep submerged land plant matter (xylophages), *Bollettino Malacologico*, 5, 111-116.
- Wagner, G., Lo, J., Laine, R. ve Almeder, M., 1993. Chitin in the epidermal cuticle of a vertebrate (*Paralipophrys trigloides*, Blenniidae, Teleostei), *Experientia*, 49, 4, 317-319.
- Weaver, P. G., Doguzhaeva, L. A., Lawver, D. R., Tacker, R. C., Ciampaglio, C. N., Crate, J. M., ve Zheng, W. 2011. Characterization of organics consistent with β -chitin preserved in the Late Eocene cuttlefish *Mississippia mississippiensis*, *PLoS One*, 6(11), e28195.
- Wysokowski, M., Petrenko, I., Stelling, A.L., Stawski, D., Jesionowski, T. ve Ehrlich, H., 2015. Poriferan chitin as a versatile template for extreme biomimetics, *Polymers*, 7, 2, 235-265.
- Wysokowski, M., Zatoń, M., Bazhenov, V.V., Behm, T., Ehrlich, A., Stelling, A.L., Hog, M. ve Ehrlich, H., 2014. Identification of chitin in 200-million-year-old gastropod egg capsules Identification Of Chitin In Fossils, *Paleobiology*, 40, 4, 529-540.
- Xu, J., McCarthy, S.P., Gross, R.A. ve Kaplan, D.L., 1996. Chitosan film acylation and effects on biodegradability, *Macromolecules*, 29, 10, 3436-3440.
- Yang, X., Yang, H., Jiang, X., Yang, B., Zhu, K., Lai, N. C. H., ve Zhang, L. 2021. Injectable chitin hydrogels with self-healing property and biodegradability as stem cell carriers, *Carbohydrate Polymers*, 256, 117574.
- Yen, M.-T., Yang, J.-H. ve Mau, J.-L., 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells, *Carbohydrate Polymers*, 75, 1, 15-21.
- Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y. ve Sheng, J., 2005a. Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats, *European polymer journal*, 41, 3, 423-432.
- Zhang, Y., Lim, C.T., Ramakrishna, S. ve Huang, Z.-M., 2005b. Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16, 10, 933-946.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Muhammed Nebi TOMRUK

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2013-2017

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2018-2021

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Muhammed Nebi Tomruk, Emel Çakmak, Murat Kaya First Detailed Chitin Study Of Chiton Body Parts (Mollusca: Polyplacophora: Chitonida)., “3. International New York Cultural Interaction And Academic Studies Congress”, (2021), s. 12

Proje ve Yayınlar

1. Kaya, M., Sargin, I., Aylanc, V., Tomruk, M. N., Gevrek, S., Karatoprak, I., ve Bulut, E. 2016. Comparison of bovine serum albumin adsorption capacities of α -chitin isolated from an insect and β -chitin from cuttlebone. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 38, 146-156.
2. Meltem Asan Ozusaglam, Ayse Gunyakti, Cagatay Yetim, Seda Gevrek, Muhammed Nebi Tomruk, Bahar Mergen, Investigation of Antimicrobial Activity of Persea americana Fruit Extracts and Their Potential Use as Alternative to Sodium Benzoate as Food Preservative against Fish Pathogens., "2nd International Congress on the World of Technology and Advanced Materials (WITAM 2016)", (2016).

Sertifika

HPLC & GC, Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi