

Yengeç Kitininden Kitosan Üretimi

Meliha OKTAV BULUT¹, Ufuk ELİBÜYÜK

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Tekstil Mühendisliği Bölümü Batı Yerleşkesi
32260 Çünür/ISPARTA- Türkiye

(Geliş Tarihi/Received: 18/04/2017, Kabul Tarihi/Accepted: 06/11/2017)

ÖZ

Kitosan, doğada selülozdan sonra en çok bulunan kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilen suda çözünebilen bir aminopolisakkarittir. Günümüzde kitosan tekstilde, kozmetikte, tıbbi kullanımlarda, tarım alanlarında vb. sektörlerde kullanım alanı bulmuştur. Kitosanın çeşitli alanlarda değerlendirilmesiyle hem ekonomik açıdan kazanç hem de çevre kirliliği ve doğal döngü açısından oldukça büyük yarar sağlanmaktadır. Kitosan yapısı itibariyle antibakteriyel, antifungal etkilere sahip olmakla beraber gerek insan sağlığına gerekse de doğaya hiçbir zararı yoktur. Bu çalışmada kitin ve kitosanın özelliklerinden, kitosanın üretiminden ve son olarak yengeç kitininden farklı sürelerde üretilen kitosanların yıkama, sabit tartım ve asetilasyon dereceleri hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kitin, Kitosan, Kitosanın Özellikleri, Kitosan Üretimi

Production of Chitosan the Crab Chitin

ABSTRACT

Chitosan is a water-soluble amino polysaccharide obtained after deacetylation of chitin, which is most commonly found after cellulose in nature. Today, chitosan is used in textiles, cosmetics, medical uses, agricultural fields etc. sectors have found use. The evaluation of chitosan in various fields provides a great benefit in terms of economic profit as well as environmental pollution and natural cycle. With its chitosan structure, it has antibacterial, antifungal effects, and there is no harm to human health or nature. In this study, information about the characteristics of chitin and chitosan, the production of chitosan, and finally the rinsing, fixed weighing and acetylation ratios of chitosan produced at different times from the crab chitin were given.

Keywords: Chitin, Chitosan, Properties of Chitosan, Chitosan Production

1. Giriş

Kitin, selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir (Özbek, 2010). Kitin; algler, protozoonlar, böcekler, halkalı solucanlar, yumuşakçalar, eklembacaklılar, yuvarlak solucanlar, su yosunları, kılıççeneliler, knitliler ve mantarlar gibi canlıların yapısında bulunan uzun ve doğrusal yapıya sahip bir polisakkarittir (Geçer, vd., 2004). Kitin yalnızca ticari olarak deniz kabuklularının dış iskeletlerinden elde edilmektedir. Özellikle yengeç ve karides gibi canlıların kabukları, deniz kökenli gıda endüstrisinde atık olarak bulunduğu kolay ulaşılabilen bir kitin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Kitin, α kitin ve β kitin olmak üzere iki farklı

formdan oluşmaktadır. Deniz kabuklularının dış iskeletinde %15-40 oranında α kitin bulunur (Taşar, 2015).

Kitinin deasetillenmiş bir türevi olan kitosan, katyonik bir polisakkarittir ve β -(1,4)-2-asetoamido-2-deoksi-D-glikoz ve β -(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glikoz ünitelerinin bir kopolimeridir. Kitosan da yapı olarak selüloza benzemektedir ve selüloz gibi bir fiberdir. Kabuklu hayvanların ve mantarların hücre duvarlarında kendiliğinden bulunan bir bileşendir. Kabuklu hayvanların atıkları, kuru kütle temeli üzerinden % 14-35 kitosan içerir (Gökçe, 2008).

Kitin ve kitosan ilk defa 1811 yılında Fransız botanikçi ve kimyacı olan Henri Braconnot tarafından tanımlanmıştır (Muzzarelli vd., 2012). Braconnot, mantarlarda bulunan kitini sülfürik asitte çözmeye çalışmış ancak başarılı olamamıştır. 1894'deHoppe-Seyler, kitini potasyum hidroksit içerisinde 180°C'de işleme sokmuş (deasetilasyon) ve asetil içeriği azaltılmış bir ürün olan kitosanı elde etmiştir. 1934 yılında kitosandan film üretimi ve lif elde edilmesi konusunda olmak üzere iki patent alınmıştır. Aynı yıl, Clark ve Smith tarafından çok iyi oryante olmuş kitosan lifi üretimi de başarı ile gerçekleştirilmiştir (Guang, 2002). Kitin ve kitosan hakkındaki ilk kapsamlı yayın, 1977 yılında Muzarelli tarafından yapılmıştır ve daha sonra bu konuda çeşitli uluslararası sempozyumlar ve araştırmalar ile devam eden incelemeler günümüze kadar gelmiştir. Bu çok yönlü polimerlerin yeni uygulama alanlarını bulmaya ve uygulamaya yönelik akademik ve endüstriyel araştırmalar halen kapsamlı ve

yoğun bir şekilde devam etmektedir (Demir ve Seventekin, 2009; Olcay, 2015).

Bu çalışmada kitosanın özelliklerinden ve üretiminden bahsedilmiştir. Yengeç kitininden farklı sürelerde üretilen kitosanların yıkama işlemleri sonundaki pH dereceleri ölçülmüş, üretilen kitosan sabit tartıma getirilmiş ve titrasyon işlemine göre asetilasyon dereceleri belirlenmiştir.

2. Kitosanın Özellikleri ve Üretimi

2.1. Kitosanın özellikleri

Kitosan farklı viskozite, molekül ağırlığı (50-2000 kiloDalton) ve deasetilasyon derecelerine (% 40-98) sahiptir. Deasetilasyon derecesi, deasetilasyona uğramış N-asetil- D-glukozamin ünitelerinin sayısının toplam ünite sayısına göre miktarını gösterir. Kitosanın fizikokimyasal özellikleri deasetilasyon derecesi ve molekül ağırlığı ile değişmektedir (Kristl vd., 1993; Burkhanova vd., 2000).

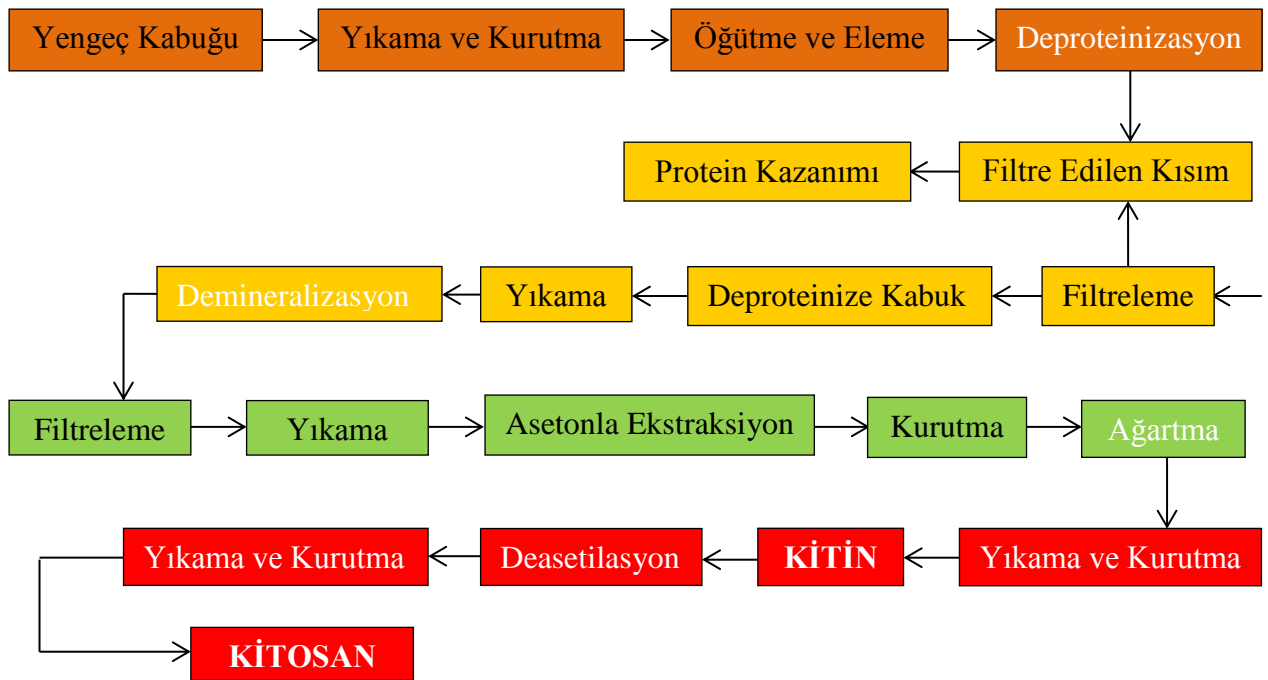
Kitosanın molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesi, kitinin kaynağına, izolasyon yöntemine, sodyum hidroksit ile işlem görme süresine, konsantrasyonuna ve işlem sırasındaki sıcaklığa bağlıdır (Guo vd., 2002; Nemtsev vd., 2002). Kitosan nötral ve alkali pH'da çözünmez, fakat glutamik asit, hidroklorik asit, laktik asit ve asetik asit gibi inorganik ve organik asitlerle suda çözünebilir formlara dönüşür. Asidik ortamda ise, çözünmeyi takiben polimerin amino grupları protonlanır böylece molekül pozitif yüklenir. Her glukozamin ünitesinde bir yük olduğundan kitosan yüksek yük mukavemetine sahip olup, negatif yüzeylerle güçlü bir şekilde etkileşir. Bir çok metal

iyonları ile kompleks oluşturur. Genel olarak, kitin ve kitosanın çözünürlüğü molekül ağırlığının artmasıyla azalmaktadır. Kitosanın pH 7'nin üzerindeki sulu çözeltilerde çözünmemesinin sebebi stabil kristal yapısından dolayıdır. Molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları boyunca esnemez bir kristal yapı ile karakterize olan kitinin deasetilasyon derecesi % 0 ve % 100 olduğunda en yüksek kristallik elde edilir (Illum,1998; Singla ve Chawla, 2001).

2.2. Kitosan üretimi

Kitosan, en bol kitin kaynakları olan yengeç (Dungeness yengeci), karides (Pasifik karidesi), istakoz ve kerevit kabuklarından

kolayca elde edilir. Denizcilik sektöründe bu kaynaklara ait atıklar yıllık 1,2 milyon tondan fazladır. Kabuklu deniz canlılarının yenilebilir kısımları ayrıldıktan sonra kalan bu atık miktarının sadece % 20'ye yakın bir kısmı değerlendirilebilmekte ve ürün olarak sunulabilmektedir. Ekstraksiyon ile atık kabuk kısımdan kitosanın geri kazanımı üzerine çalışmalar devam etse de ekstraksiyon prosesine ilişkin hala çok az bilgi edinilebilmiştir. Bilinen kitosan üretim prosesi, atık kabuklardan kitinin uzaklaştırılması ve kitinden kitosan üretimi şeklindedir. Kitosan üretimine ait proses akış seması Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Kabuklu deniz canlılarının kabuklarından kitosan üretimi prosesine ait akış şeması (Meyers vd., 1989; Gökçe, 2008)

3. Materyal ve Metot

3.1. Materyal

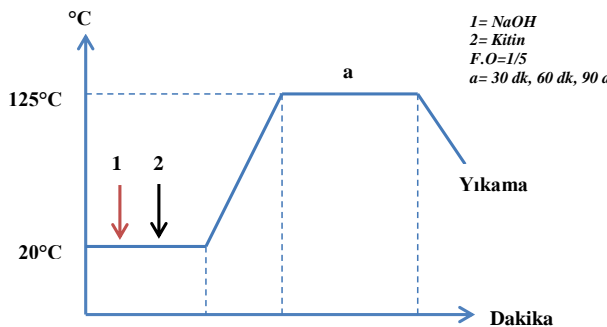
Çalışmada kullanılan materyaller Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Deneyde kullanılan materyaller ve kullanım amaçları

Kullanılan Materyal	Kullanım Amacı	Markası
Saflaştırılmış toz halde yengeç kabuğu kitini	Kitosan Üretimi	Sigma C7170
Sodyumhidroksit (Payet)	Deasetilasyon işlemi	Merck
Etüv	Kurutma işlemleri	FN500
Hassas terazi	Hassas ölçümler	Precisa XT320
pH metre	pH ölçmek	Hanna HI 221
Isıtıcı	Isıtma işlemleri	SH-3
Mekanik karıştırıcı	Karıştırma işlemleri	Heidolph RZR

3.2. Metot

25 gr yengeç kitini 90°C±5'de 3 saat kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra kitin desikatörde oda sıcaklığına getirilmiştir. Oda sıcaklığına gelen kitin 20°C'de farklı sürelerde deasetilasyon işlemine sokulmuştur (Şekil 2).



Şekil 2. Kitinden kitosan elde edilmesi

Farklı sürelerde deasetilasyon işlemi yapıldıktan sonra yıkama işlemi yapılmıştır. Kitosanların yıkama işleminden sonra pH dereceleri ölçülmüş ve pH dereceleri nötralize olan kadar yıkama işlemi devam etmiştir. Yıkama işlemi bittikten sonra farklı sürelerde elde edilen kitosanlar sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur.

Sabit tartım işleminden sonra da 0,1 M 30 ml HCl ile 0,3 g kitosan çözülmüş, 250 ml'lik balon jojeye titrasyon için aktarılmıştır. Çözeltiye 2 damla metil orange eklenmiş, çözelti rengi pembeye dönene kadar karıştırılmıştır. Karıştırılan çözeltiye 0,1 M NaOH eklenmiş ve renk pembeden turuncuya dönene kadar titrasyon işlemi yapılmıştır.

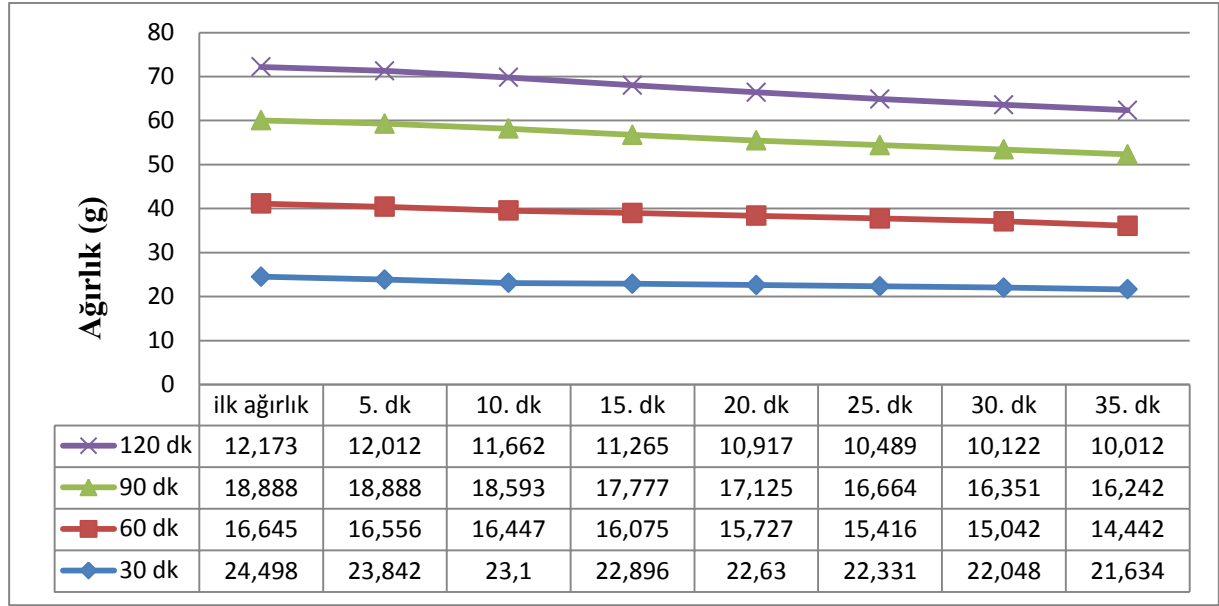
4. Bulgular

Farklı sürelerde elde edilen kitosanların yıkamalar sonunda pH dereceleri Tablo 2'de verilmiştir. Tablo 2 incelendiğinde üretilen kitosanların 5. Yıkama sonunda pH derecelerinin nötralize edildiği görülmüştür.

Tablo 2: Farklı sürelerde elde edilen kitosanların yıkamalar sonunda pH dereceleri

Yıkama No	30 dk	60 dk	90 dk	120 dk
	pH değerleri			
1	12,68	12,36	11,36	12,3
2	11,50	10,48	9,17	10,36
3	8,45	9,20	8,92	9,27
4	7,39	8,65	7,48	7,36
5	7,12	7,08	7,12	7,09

Farklı sürelerde (30 dk, 60 dk, 90 dk ve 120 dk) elde edilen kitosanların etüve (FN 500) sabit tartıma getirilmiştir. Sabit tartıma getirilmesi şekil 3'de verilmiştir.

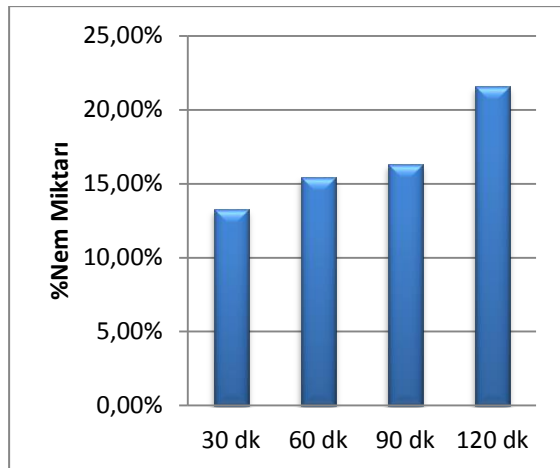


Şekil 3. Farklı sürelerde elde edilen kitosanların sabit tartım değerleri

Şekil 3'te verilen değerler sonucu farklı sürelerde elde edilen kitosan numunelerinin nem içeriklerine;

$$W(\%) = \left[\frac{M_w \cdot M_d}{M_d} \times 100 \right]$$

formülüne göre bakılmış ve bu değerler Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Farklı sürelerde elde edilen kitosanların içerisindeki nem miktarları

Nem içeriğine ve titrasyona göre değerleri hesaplanan farklı sürelerde elde edilen kitosan numunelerinin asit – baz titrasyon yöntemine göre asetilasyon derecelerine bakılmıştır. Numunelerin asetilasyon değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Farklı sürelerde elde edilen kitosanların asetilasyon dereceleri

Asetilasyon dereceleri	
30 dk	%67,01
60 dk	%69,01
90 dk	%71,12
120 dk	%74,14

Elde edilen kitosanların asetilasyon derecelerinin, kullanılan kimyasal ve uygulanan süre esas alındığında asetilasyon derecesi artan kitosanların viskozitesinin arttığı saptanmıştır. Literatürde Lin ve

ark.(2006) yaptığı çalışma ile Han ve ark. (2015) yaptığı çalışmalardaki asetilasyon derecelerine uygun olduğu görülmüştür. Çalışmada en iyi asetilasyon derecesine sahip olan kitosanın, 120 dk işlem görmüş olan kitosan olduğu görülmektedir.

5. Sonuç

Kitin ve kitosan günümüzde tıptan gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve fotoğrafçılıktan tekstil sektörüne kadar sayısız alanda kullanılabilir. Tekstilde kullanım alanları olarak; antimikrobiyel özellik kazandırması, yünlü kumaşlarda çekmezlik sağlama, reaktif boyamada tuz miktarını azaltması, pamuğun asit boyarmaddelerle boyanabilirlik kazanması, antistatik özellik kazandırması, deodorant maddesi olarak kullanılması vb. sayılabilir.

Bu çalışmada suda çözünmeyen kitinden suda çözünebilen kitosan elde edilmiş ve asetilasyon dereceleri saptanmıştır. En uygun koşullar olarak 120 dk işlem görmüş kitosan olarak belirlenmiştir.

6. Kaynaklar

Burkhanova, N.D., Yugai, S.M., Pulatova, K.P., Voropaeva, G.V., Rashidova, S.S., 2000. Structural Investigations of Chitin and its Deacetylation Products. *Chemistry of Natural Compounds*, 36, 352-355.

Geçer, A., Kavak, D., Salgın, U., Yıldız, N., Erol, M., Çalmlı, A., 2004. Kitin/Kitosan Lifler Üzerine Kalsiyum Fosfat Birikiminin İncelenmesi. 11. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, 2-5 Eylül, Eskişehir.

Gökçe, Y., 2008. Kitosan Nanoparçacıklarının Sentezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 81 s., Ankara.

Guang, W.Y., 2002. The Effect of Chitosan and its Derivatives on the Dyeability of Silk. Hong Kong Polytechnic University, Ph.D.Thesis,.100s., Hong Kong.

Guo, X.F., Kikuchi, K., Matahira, Y., Sakai, K., Ogawa, K., 2002. Water-Soluble Chitin of Low Degree of Deacetylation, *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 21, 149-161.

Han, Z., Zeng, Y., Lu, H., Zhang, L., 2015. Determination of the Degree of Acetylation and the Distribution of Acetyl Groups in Chitosan by HPLC Analysis of Nitrous Acid Degraded and PMP Labeled Products. *Carbohydrate Research*, 413(2), 75-84.

Illum, L., (1998). Chitosan and its Use as a Pharmaceutical Excipient, *Pharmaceutical Research*, 15, 1326-1331.

Kristl, J., Smid-Korbar, J., Strue, E., Schara, M., Rupprecht, H., 1993. Hydrocolloids and gels of chitosan as drug carriers, *International Journal of Pharmaceutics*, 99, 13-19.

Liu, D., Wei, Y., Yao, P., Jiang, L., 2006. Determination of the Degree of Acetylation of Chitosan by UV Spectrophotometry Using Dual Standards. *Carbohydrate Research*, 341(6), 782-785.

Meyers, S.P., No, H.K., Lee, K.S., 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste, *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry, 37, 575.
- Muzzarelli, R.A.A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., DeMarchis, M., Paoletti, M.G., 2012. Current Views on Fungal Chitin/Chitosan, Human Chitinases, Food Preservation, Glucans, Pectins and Inulin: A Tribute to Henri Braconnot, Precursor of the Carbohydrate Polymers Science, on the Chitin Bicentennial. Carbohydrate Polymers, 87, 995-1012.
- Nemtsev, S.V., Gamzazade, A.I., Rogozhin, S.V., Bykova, V.M., Bykov, V.P., 2002. Deacetylation of chitin under homogeneous conditions. Applied Biochemistry and Microbiology, 38 521-526.
- Özbek, E.N., 2010. Serbest Dişeti Grefti Verici Bölge İyileşmesi Üzerine Kitosan Filmin Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 62 s., Ankara.
- Singla, A.K., Chawla, M., 2001. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects-an update. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 53, 1047-1067.
- Taşar, C.Ö., 2015. Batık Kültürde Steril Olmayan Koşullarda Fungal Kitosan Üretimi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 83 s., Erzurum.