

Eustigmaeus absens (Acari: Stigmaeidae) türünden elde edilen kitin ve Ag-dekore edilmiş kitin nanokompozit: İzolasyonu, karakterizasyonu ve antibakteriyel aktivitesi

Şifanur UĞURLU¹ , Bülent ÇAĞLAR^{2,5} , Tuğrul DORUK³ , Salih DOĞAN⁴ 

¹Department of Nanoscience and Nanotechnology, Institute of Science and Technology, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Türkiye

²Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Arts, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Türkiye

³Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Sciences, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye

⁴Department of Biology, Faculty of Sciences and Arts, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Türkiye

⁵Sorumlu yazar / Corresponding author: bcaglar@erzincan.edu.tr

Geliş: 11 Haziran 2023

Received: 11 June 2023

Kabul: 18 Haziran 2023

Accepted: 18 June 2023

Online erişim: 31 Temmuz 2023

Available online: 31 July 2023

ÖZET: *Eustigmaeus absens* Doğan (Acari: Stigmaeidae) akar türünden kimyasal yöntemle 3D kitin elde edildi ve elde edilen kitin üzerine gümüş nanoparçacıkları dekore edildi. Elde edilen kitinler seyreltilmiş toplam yansıma-fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (ATR-FTIR), taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-ışını spektrometresi (EDX) ve geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizleriyle karakterize edildi ve antibakteriyel aktiviteleri değerlendirildi. Elde edilen kitinin yapısında karbon (C), azot (N), oksijen (O) elementlerinin yer aldığı, eser miktarda kalsiyum (Ca) elementinin bulunduğu belirlendi. ATR-FTIR analiziyle α -kitin için karakteristik olan amid-I ve amid-II bantları gözlemlendi. SEM görüntüleri kitin yüzeyinin makro gözenekler, mikro gözenekler ve kesik nanoliflerden oluştuğunu açığa çıkardı. TEM analizleri gümüş nanoparçacıkların boyutlarının 6-20 nm arasında değiştiğini gösterdi. Stereo mikroskop ve faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobundan alınan görüntülerle organizmanın üç boyutlu yapısını bozmadan kitinin elde edildiğini gösterdi. Ayrıca gümüş nanoparçacıklı kitinin *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite sergilediği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Akar, 3D kitin, gümüş-kitin nanokompozit, SEM, TEM, FTIR, antibakteriyel aktivite.

Zoobank: <https://zoobank.org/203D72D5-9722-4357-8F74-3CC75A208AA1>

Chitin and Ag-decorated chitin nanocomposite obtained from *Eustigmaeus absens* (Acari: Stigmaeidae): Isolation, characterization and antibacterial activity

ABSTRACT: 3D chitin was obtained from the mite species *Eustigmaeus absens* Doğan (Acari: Stigmaeidae) by chemical method and silver nanoparticles were decorated on the obtained chitin. The resulting chitins were characterized by using attenuated total reflectance-Fourier Transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR), scanning electron microscope (SEM), energy dispersive X-ray spectrometry (EDX) and transmission electron microscopy (TEM) and their antibacterial activities were evaluated. It was determined that the obtained chitin from *E. absens* contains carbon (C), nitrogen (N), oxygen (O) elements and trace amount of calcium (Ca) element. The characteristic amide-I and amide-II bands for α -chitin were observed by ATR-FTIR analysis. SEM images revealed that the surface of the chitin consists of macropores, micropores and broken nanofibers. TEM analysis showed that the sizes of silver nanoparticles differed between 6-20 nm. Images taken from the stereo microscope and the phase-contrast equipped light microscope showed that the chitin was obtained without disturbing the 3D structure of the organism. In addition, it was defined that silver nanoparticle decorated chitin exhibited antibacterial activities against the bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Keywords: Mite, 3D chitin, silver-chitin nanocomposite, SEM, TEM, FTIR, antibacterial activity.

GİRİŞ

Kitin, Yunanca zırh anlamına gelen “kiton” kelimesinden gelmektedir ve ilk kez Fransız bilim insanı Henri Braconnot tarafından 1811 yılında mantardan keşfedilmiştir. Daha sonra 1823’de Fransız bilim insanı Odier, böcek kutikulasını potasyum hidroksit ile muamele ederek böceklerde kitini keşfetmiştir (Koçer, 2015). Kitin, tabiatta selülozdan sonra en bol bulunan; sert, beyaz, elastik olmayan, azotlu bir biyopolimerdir ve canlıların %70’inden fazlasının yapısında bulunmaktadır (Kumar, 2000). Kitin,

yengeç, karides ve istakoz gibi birçok organizmanın dış kabuklarından, mantarların ve alglerin hücre duvarlarından, mercan, sünger ve böceklerin ise dış iskeletlerinden izole edilebilmektedir (Çakmak ve Koç Bilican, 2021). Kitin hidrofobik yapıdadır ve güçlü hidrojen bağları içerir. Bu sebeple her türlü çözücüde çözünmez. Mineral asitlerin seyreltik çözeltileriyle birleşen hekzafloroaseton, kloroalkoller ve hekzafloroizopropanol ile %5-8 lityum klorür içeren dimetilasetamit gibi toksik özelliği yüksek olan çözücülerde çözünür (Koçer, 2015). Doğada çok yaygın olarak bulunan ve bir aminopolisakkarit olan kitinin,

ticari amaçlarla selüloz kadar üretildiği düşünülmektedir. Kitin, biyolojik olarak parçalanabilmesi, doğal bir kaynak olması ve çevre kirliliğine sebebiyet vermemesi, hem hayvan hem de bitki dokuları için uygun olması, toksik etkisinin olmaması, biyolojik olarak fonksiyonel bir bileşik olması, molekül yapısının dönüştürülebilmesi nedeniyle endüstriyel alanda aktif bir şekilde kullanılmaktadır (Seyyar ve Demir, 2020). Bu özelliklerin sonucu olarak kozmetikte, atık su arıtımında, ameliyat ipliği imalatında, yenilebilir biyofilm üretiminde, sağlıklı zayıflama haplarında ve kontrollü ilaç salınımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Kitin ayrıca antimikrobiyal, antioksidan, antitümör ve antikanser çalışmalarında da yer almaktadır (Kaya vd., 2014a).

Eustigmaeus absens Doğan (Şekil 1) Stigmaeidae familyasında yer almakta ve sadece Türkiye'den bilinmektedir. Trombidiformes takımının Raphignathoidea üst familyasında yer alan bu familya raphignatoidlerin en zengin grubu olup, oldukça geniş bir yayılış göstermektedir. Türlerinin çoğu Nearktik, Palearktik, Oryantal, Afrotropikal ve Avustralya bölgelerinden kaydedilmiştir (Fan ve Zhang, 2005; Doğan ve Doğan, 2020). Stigmaeid akarlar günümüzde 33 cins ve 600'den fazla türle temsil edilmektedir (Fan vd., 2016, 2019; Doğan ve Doğan, 2020). Şu ana kadar Türkiye'den bu familyanın 11 cinsi tespit edilmiş olup, *Eustigmaeus* (Berlese) cinsinden 28 türün kaydı/tanımı verilmiştir (Doğan, 2019; Doğan ve Doğan, 2020).



Şekil 1. *Eustigmaeus absens* (dişi). Dorsal görünüm.

Eustigmaeus absens ilk defa Doğan (2005) tarafından Erzurum'dan tanımlanmış daha sonra Kelkit (Dönel ve Doğan, 2011) ve Harşit Vadilerinden (Dilkaraoğlu vd., 2016) kaydı verilmiştir. Şu ana kadar sadece ülkemizden bilinen ve bazı katalog ve kontrol listelerinde (Doğan, 2007, 2019; Erman vd., 2007; Fan vd., 2016) geçen bu tür,

histerozoma plağının 5 çift kıl taşımasıyla cinsin diğer türlerinden ayrılmaktadır. Ayrıca III. bacağın trokanterinde bir kıl bulunması ve sırt plaklarının çokgenimsi desenlere sahip olmasıyla yakın türlerden kolayca ayırt edilebilir (Doğan, 2005). Yaşama alanı olarak daha çok nemli ve çimenli yosunları tercih eden bu türün beslenme şekli bilinmemekle birlikte, cinsin diğer çoğu üyesi gibi predatör olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada; *Eustigmaeus absens* türünden kimyasal yöntemle kitin elde edildi, elde edilen kitin gümüş nanoparçacıklarla dekore edilerek kitin-nanokompozit sentezlendi. Daha sonra kitinin ve gümüş (Ag)-dekore edilmiş kitin-nanokompozitin yapısal ve morfolojik özellikleri aydınlatıldı ve bunların *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktiviteleri araştırıldı. Bu çalışma ile daha önce kitin eldesi ile ilgili üzerinde hiç çalışılmamış olan *E. absens* türünün kitin özellikleri açığa çıkarılarak sonraki çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Eustigmaeus absens Doğan örneklerinden elde edilen kitin, çalışmanın ana materyalini oluşturmaktadır. Çalışma süresince kullanılan malzemelere aşağıda yer verilmiştir.

Kullanılan kimyasal malzemeler

- Laktik asit, akar örneklerinin ağartılması ve temizlenmesinde %60 saflıkta kullanıldı.
- Hoyer eriyiği; 50 ml saf su, 200 g kloralhidrat, 20 ml gliserin ve 30 g kristal arap zamkı karıştırılarak elde edildi. Akarların preparasyon işleminde kullanıldı.
- Değiştirilmiş Hoyer eriyiği, kitinlerin preparatını yapmak için saf suyla %50 seyreltilmiş Hoyer kullanıldı.
- AgNO₃, elde edilen kitinler üzerinde gümüş nanopartiküller büyütme için 10 mM kullanıldı.
- Etil alkol, akarların elde edilmesi aşamasında %70 saflıkta, muhafaza edilmesinde %95 saflıkta kullanıldı.
- HCl, kitin eldesi aşamasında akarların yapısında bulunan minerallerin uzaklaştırılması için 0,1 M, 0,5 M, 1 M, 1,5 M ve 2 M kullanıldı.
- Kloroform-metanol-su karışımı, organizmanın yapısındaki lipitlerin uzaklaştırılması için kullanıldı.
- NaOH, akarların yapısında bulunan proteinlerin uzaklaştırılması için 0,1 M, 0,5 M, 1 M, 1,5 M ve 2 M kullanıldı.
- Saf su, akarların partiküllerinden arındırılmasında ve elde edilen kitinlerin sıralı işlemler yapılana dek muhafaza edilmesinde kullanıldı.

Kullanılan cihazlar

- Akarların ayıklanması Leica EZ4 stereo mikroskopta yapıldı.

- Preparatları yapılan akar örneklerinin teşhisi için Leica DM500 model ışık mikroskobu kullanıldı.
- Elde edilen kitinler JSON-100 markalı etüvde kurutuldu.
- Tartım işlemleri için Ohaus markalı hassas terazi kullanıldı.
- Elde edilen kitinlerin morfolojik görüntüleri Nikon SMZ25 stereo mikroskoba entegre DS-Ri2 model dijital kamera aracılığı ile alındı.
- Kitinlerin preparatları DM 4000B model faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobunda incelendi.
- Elde edilen kitinlerin üzerine gümüş nanopartiküllerin dekore edilmesi için 8 watt gücünde 6 adet UVA lambalı Luzchem LZC-4X fotoreaktör kullanıldı.
- Elde edilen kitinlerin ayrıntılı yüzey morfolojisi hakkında bilgi sağlamak için Quanta FEG 450-FEI alan emisyon kaynaklı taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve HITACHI HT-7700 geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanıldı.
- Kitinlerin element analizi enerji dağılımlı X-ışını spektrofotometresiyle (EDX) ile belirlendi.
- Kitinlerin ATR-FTIR spektrumları Thermo Nicolet 6700 spektrometresiyle kaydedildi.

Akarların eldesi, preparasyonu ve teşhisi

Bu çalışmada, daha önce FBA-2019-642 numaralı proje kapsamında Sansa Boğazi'ndan toplanan *Eustigmaeus absens* örnekleri kullanıldı. *E. absens* türünün Sansa Boğazi'nin sınırları içinde, bir akarsu yakınlarında (39°33'30,9''K 40°07'11,4''D) nemli, çimenli ve yosunlu alanlarda yaşadığı belirlendi. Araziye naylon torbalara konularak etiketlenip, laboratuvara getirilen örnekler birleştirilmiş Berlese-Tullgren hunilerinden oluşan ayıklama düzeneğine yerleştirildi. Işık kaynağı en az 7 gün süreyle açık bırakıldı. Berlese-Tullgren hunilerinin alt tarafına yerleştirilen ve içinde %70'lik etil alkol içeren toplama şişelerine biriktirilen organizmalar Petri kaplarına boşaltıldıktan sonra stereo mikroskop altında ayıklandı.

Akarların eldesi ve preparasyonu konusunda Walter ve Krantz (2009)'un eserinden yararlanıldı. Tür teşhisi için örneklerin ağartılması ve temizlenmesinde %60'lık laktik asit çözeltisi kullanıldı. Ağartılmış örneklerin daimi preparatları Hoyer ortamında yapıldı. Teşhis işlemleri Doğan (2005) ve Fan ve Zhang (2005)'e göre gerçekleştirildi. Teşhis işlemleri tamamlandıktan sonra akar örnekleri kitin eldesi için sayılarak, etiketlenip %96'lık etil alkol içinde ve -24°C'de muhafaza edildi.

Kitin eldesi

Kitin eldesi aşamasında organizmanın yapısındaki mineralleri uzaklaştırmak için HCl çözeltisi kullanıldı (Majtán vd., 2007; Liu vd., 2012; Kim vd., 2017; Çakmak ve Koç Bilican, 2021). *Eustigmaeus absens* için uygun HCl çözelti derişimini belirlemek amacıyla, 0,1 M, 0,5 M, 1,0 M, 1,5 M ve 2,0 M HCl çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan bu farklı

derişimlerdeki asitler 0,5 mL olacak şekilde saklama tüplerine konuldu. Aynı derişime sahip asitlerin farklı sürelerde işleme tabi tutulması amacıyla her bir çözeltiden iki saklama tüpü oluşturuldu. Bir sonraki aşamada, %96'lık etil alkolde muhafaza edilen numuneler, Petri kaplarına dökülüp, partiküllerinden arındırılana kadar saf su ile yıkandı. Yıkanan numuneler sayılıp, her biri eşit sayıda olacak şekilde 10 gruba ayrıldı. Bu işlem sayesinde hazırlanan farklı derişimlerdeki asitler içine eşit sayıda numune konulması sağlandı. Partiküllerinden arındırılan ve sayılan numuneler, içinde farklı derişimlerde HCl çözeltisi bulunan saklama tüplerine konuldu. HCl çözeltisi içindeki numuneler 60°C etüvde 6 ve 8 saat süreyle bekletildi. Etüvden çıkarılan örnekler nötr pH değerine ulaşana kadar saf su ile birkaç kez yıkandı. Her yıkama işleminden sonra pH kâğıdı ile kontrol edilip nötr pH değerine ulaşana kadar bu işlem tekrar edildi. Sonrasında her tüpte kaç numune olduğu sayıldı. Sayma işlemi sayesinde, örneklerin hangi derişimlerde ve hangi sürede zarar gördüğü tespit edildi. Nötr pH değerine ulaşan ve sayılan numuneler, sıradaki aşama uygulanana kadar saf suda 4°C'de buzdolabında muhafaza edildi.

HCl çözeltisinde işlem gören numunelerin, yapısında bulunan proteinlerin giderilmesi için NaOH kullanıldı (Kaya vd., 2014b; Seyyar ve Demir, 2020; Çakmak ve Koç Bilican, 2021). *E. absens* için uygun NaOH derişimini belirlemek amacıyla, 0,1 M, 0,5 M, 1,0 M, 1,5 M ve 2,0 M derişimlerde NaOH çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan farklı derişimlerdeki bu bazlar 0,5 mL olacak şekilde saklama tüplerine konuldu. Aynı derişime sahip bazların farklı sürelerde işleme tabi tutulması amacıyla her bir çözeltiden iki saklama tüpü oluşturuldu. Hazırlanan farklı derişimlerdeki bazların her birine saf su ile yıkayıp partiküllerinden arındırılmış *E. absens* numuneleri koyuldu. Numuneler, 80°C etüvde 8 ve 11 saat bekletildi. Etüvden çıkarılan numuneler nötr pH değerine ulaşana kadar saf su ile yıkandı. Sonrasında her tüpte kaç numune olduğu sayıldı. Nötr pH değerine ulaşan ve sayılan numuneler, sıradaki aşama uygulanana kadar saf suda 4°C'de buzdolabında muhafaza edildi.

Eustigmaeus absens'in yapısındaki yağları uzaklaştırmak için kloroform-metanol-su karışımı, hacimce 1:2:4 oranında olacak şekilde hazırlandı (Kaya vd., 2014b). Numuneler, belirlenen orandaki karışıma koyularak, oda sıcaklığında 30 dk. süreyle bekletildi. Karışımdan çıkarılan numuneler nötr pH değerine ulaşana kadar saf su ile yıkandı. Gerekli analizler yapılana kadar saf su içinde 4°C'de buzdolabında muhafaza edildi.

Elde edilen kitinler; FTIR, TEM, SEM ve EDX analizlerinin alınması, ışık ve stereo mikroskopta görüntü alınımı, antibakteriyel aktivite ve kitinlerin dekorasyon işleminin yapımı için kurutulmadan saf su içinde 4°C'de buzdolabında muhafaza edildi. FTIR analizi için kitinler ölçüm alınmadan önce 3 gün 60°C'de kurutuldu.

Kitin üzerine gümüş nanoparçacıklarının dekorasyonu

Buzdolabında saf su içinde muhafaza edilen kitinler, dört farklı Petriye eşit sayıda konuldu. Kitin numunelerinin üzerine, kitinleri kapatacak şekilde 10 mM gümüş nitrat

(AgNO₃) çözeltisi eklendi (Hong vd., 2006; Guin vd., 2007). Daha sonra 4 Petri kabı fotoreaktörde ultraviyole A (UVA) ışınları (365 nm) altına konuldu. Birinci Petri UVA ışınlarına 30 dk., ikinci Petri 1 saat, üçüncü Petri 2 saat ve dördüncü Petri 3 saat maruz bırakıldı.

Kitinin antibakteriyel aktivitesinin incelenmesi

Antibakteriyel aktivite deneyleri bir Gram-negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922) ve bir Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) bakteri türü üzerine gerçekleştirildi. Bakteriler Luria-Bertani sıvı besiyeri içerisinde 37 °C'de, 150 rpm'de 18 saat inkübe edilerek ön kültürleri hazırlandı. Bu kültürlerden OD₆₀₀ değerleri *E. coli* ATCC 25922 için 0,4, *S. aureus* ATCC 29213 için 0,25 olacak şekilde taze besiyeri içerisinde dilüsyonları hazırlandı. Hazırlanan bu dilüsyonlardaki bakteri sayısı yaklaşık olarak 1,5 x 10⁸/mL'dir. Kültürün 1 mL'si Eppendorf tüplere aktararak santrifüj (13.000 rpm, 2 dk.) edildi. Üst faz uzaklaştırılarak pelet steril fizyolojik tuzlu su (% 0,9 NaCl) ile 1 kez yıkandı. Bakteriler 10⁸ cfu/mL olacak şekilde steril fizyolojik tuzlu su içerisinde sulandırıldı ve böylece bakteriyel çalışma solüsyonları hazırlanmış oldu. Steril inokülasyon çubuğu bakteri çalışma solüsyonlarına daldırıldıktan sonra (yaklaşık 100 µL) bakteriler, Petri kaplarında bulunan LB agar besiyeri üzerine her noktasına eşit olacak şekilde yayıldı. Steril agar delici (cork borer) kullanılarak agar yüzeyinde 7 mm kuyular açıldı. Kuyuların içerisine aktivitesine bakılacak maddelerden 100 µL (100 µM) ilave edildi. Petri kapları 37 °C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından kontrol (K) (çözücü), saf kitin (A) ve gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitin (C) maddelerinin bulunduğu kuyuların etrafındaki inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü. Ayrıca kültürden seri sulandırma yapılarak canlı hücre sayımı yapıldı. Canlı hücre sayıları üç tekrarın ortalaması alınarak hesaplandı.

Kitin numunelerinin karakterizasyonu

Elde edilen numunelerin yapısal ve morfolojik özellikleri Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu-enerji dağılımlı X-ışını analizi (SEM-EDX) ve geçirimli elektron mikroskobu (TEM) teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

Elde edilen kitinler, 3 gün 60°C etüvde kurutulduktan sonra FTIR analizlerinin gerçekleştirilmesi için iki farklı teknığe tabii tutuldu. İlk teknikte toz haldeki kitinler ile KBr (Potasyum bromür) homojenlik sağlanana kadar öğütüldü. Daha sonra bu karışım yaklaşık 10.000 psi'lik basınç altında sıkıştırılarak saydam bir disk hazırlandı. Elde edilen disk nemden uzak tutularak spektroskopi cihazında ölçümü alındı. Diğer teknikte ise KBr ile pelet hazırlanmadan IR cihazının elmas yüzeyine toz haldeki kitinler sıkıştırılarak ATR tekniği ile ölçüm alındı (Madejová, 2003). Farklı iki teknikten elde edilen analiz sonuçlarına bakıldığında, ATR tekniği ile elde edilen piklerin, pelet hazırlanarak elde edilen piklere göre daha net olduğu görüldü.

Elde edilen kitinlerin SEM ve EDX analizleri gerçekleştirilirken, kitinlerin farklı kısımlarının birbirine yapışmasını engellemek için numuneler kurutulmadan kullanıldı. Ana-

lizlerden önce şu hazırlıklar yapıldı: Karbon bant 2-3 mm büyüklüğünde kesilip staba yapıştırıldı. Saf su içinde buz dolabında muhafaza edilen kitinlerden analizleri yapılacak olan numuneler, alkole alındı. Alkole alınan numuneler pipet yardımıyla stab üzerine yerleştirildi. Alkolün saf suya göre daha hızlı buharlaşma özelliği kullanılarak stab üzerinde sıvı birikmesi engellendi. Böylelikle numunelerin karbon banda yapışması sağlandı. SEM, EDX analizlerinden önce numunelerden daha iyi görüntü elde etmek için numuneler altın ile kaplandı. Altın ile kaplanan numuneler SEM cihazına yerleştirildi ve kitinin farklı kısımlarından, farklı büyütmede görüntüler alındı (Kaya vd., 2014b, 2017).

Numunelerin Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) görüntüleri, 120 kV'luk bir hızlanma voltajı altında HITACHI HT-7700 elektron mikroskobu ile alındı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kitinin stereo mikroskop görüntülerinin değerlendirilmesi

Eustigmaeus absens'in kimyasal muamele görmemiş halinin üstten görüntüsü Şekil 2a'da ve yapısındaki mineralerin, proteinlerin ve yağların uzaklaştırılması işlemlerine tabii tutulduktan sonra elde edilen kitinin üstten görüntüsü Şekil 2b'de verilmiştir. Şekil 3'te ise yine *E. absens*'in işlemsiz ve işlemliler hallerinin lateral görüntüsü verilmektedir.



Şekil 2. *Eustigmaeus absens*'in üstten görünümü (a) işlemsiz (b) işlemliler.

İşlemsiz *E. absens*'in yapısında; mineral, protein ve yağlar mevcut olduğundan stereo mikroskop görüntüsünün renkli ve vücuttaki ağı yapıların içlerinin nokta desenli olduğu anlaşılmaktadır. Yapısındaki mineral, yağ ve protein uzaklaştırma işlemlerine tabii tutulduktan sonra iç yapısının yok edilmesi sonucu stereo mikroskop görüntüsünün şeffaf olduğu görülmektedir. Görüntülerden anlaşılacağı üzere, yapılan işlemler organizmanın vücut içeriğini yok ederek kitin eldesinin sağlandığını göstermektedir.



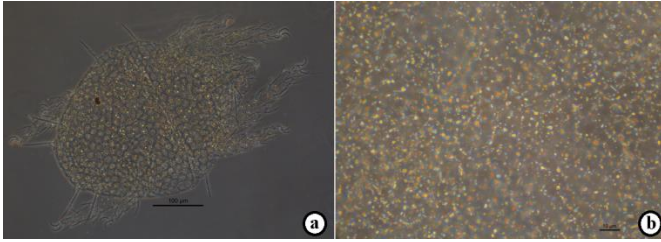
Şekil 3. *Eustigmaeus absens*'in yandan görünümü (a) işlemsiz (b) işlemliler.

Kitinin faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobu görüntülerinin değerlendirilmesi

Elde edilen kitinin aşırı derecede şeffaf olması nedeniyle ışık mikroskobundaki görüntülerde parlama meydana gelmiştir. Aslında bu durum, elde edilen kitinde kalıntı olmadığını, *E. absens*'in içeriğinin (yapısındaki mineral, yağ ve protein türlerinin) başarılı bir şekilde uzaklaştırıldığını morfolojik olarak ispatlamaktadır. Çalışmalar, *Trachytes pauperior* (Acari: Mesostigmata) türünden elde edilen kitin dışında hiçbir kitinin ışık mikroskobu görüntüsünün alınmadığını göstermektedir (Çakmak ve Koç Bilican, 2021).

Gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobu görüntülerinin değerlendirilmesi

Gümüş nanoparçacıklarının dekore edildiği kitinin, faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobundaki görüntüsü Şekil 4'te verilmiştir. Görüntülerdeki sarı, mavi, turuncu ve beyaz renkli noktalar gümüş nanoparçacıklarını göstermektedir. Elde edilen görüntüler gümüş nanoparçacıklarının kitin yüzeyinde homojen bir dağılım sergilediğini göstermektedir.



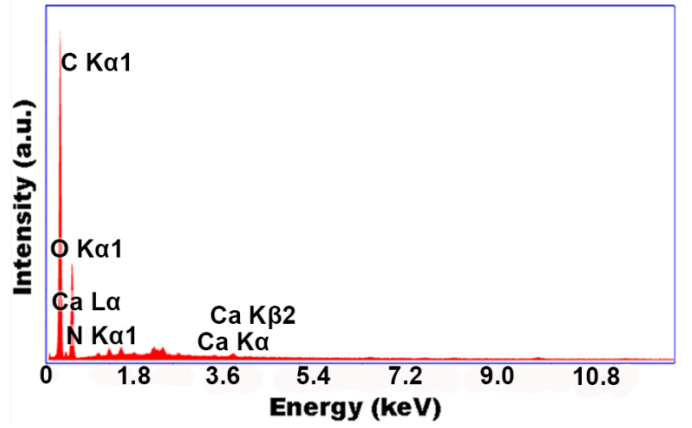
Şekil 4. Gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobu görüntüleri (a) genel görünüm, (b) gümüş nanoparçacıkların yakından görünümü.

Yapılan çalışmalara bakıldığında, daha önce kitin üzerine gümüş nanoparçacıkların dekore edilmediği görülmektedir. Bu çalışma ile kitin üzerine ilk kez gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş ve ışık mikroskobunda görüntüsü alınmıştır.

Kitinin SEM-EDX verilerinin değerlendirilmesi

Eustigmaeus absens'ten elde edilen kitinin EDX spektrumu Şekil 5'te, kütlece ve atomik element yüzdeleri Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre elde edilen kitinin yapısında ağırlıklı olarak karbon (C), oksijen (O) ve azot (N) elementlerinin bulunduğu ve eser miktarda kalsiyum (Ca) elementinin yer aldığı görülmektedir. C, N ve O elementlerinin varlığı kitinin protein yapısında olduğunu gösterirken, eser miktarda Ca elementinin dışındaki farklı elementlere rastlanmaması elde edilen kitinin neredeyse %100 saflıkla elde edildiğini göstermektedir. Akarlarda diğer eklem-bacaklılarda olduğu gibi kutikula tabakası farklı gruplara göre değişik derecelerde sertleşmiştir yani sklerotize olmuştur (sklerotizasyon). Sertleşmede kitin lifleri protein yapısındaki bir matriks içine gömülerek hem sağlam hem de esnek bir karışım oluşturur. Ayrıca bu yapıya kalsiyum ve diğer inorganik tuzların eklenmesi ile sertliğin derecesi artmıştır (Doğan ve Ayyıldız, 2023). Çalışma

kapsamında elde edilen kitindeki kalsiyumun varlığı bunu desteklemektedir.



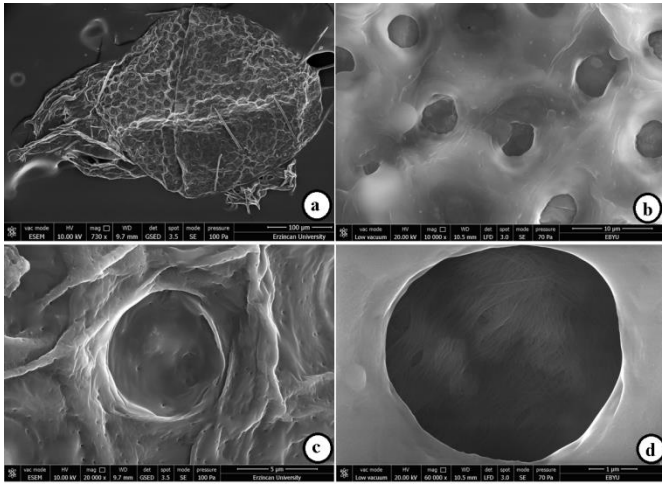
Şekil 5. *Eustigmaeus absens* kitininin EDX spektrumu.

Tablo 1. *Eustigmaeus absens* kitininin element analiz verileri.

	C	N	O	Ca
Kütle (%)	56,04	8,7	35,05	0,21
Atomik (%)	62,35	8,3	29,27	0,07

E. absens'ten elde edilen kitinin SEM görüntüleri Şekil 6'da verilmiştir. Kitinin yüzeyi incelendiğinde, makro gözenekler, mikro gözenekler ve yüzeyin tamamında kesik nanolifler görülmektedir. Makro gözeneklere daha yakından bakıldığında, kesintisiz nanoliflerin bir araya gelerek farklı boyutlarda gözenekler oluşturduğu anlaşılmaktadır.

Literatüre bakıldığında, kitin yüzeyinin canlı gruplarına göre farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Mantarlardan elde edilen kitinin yüzey morfolojisinde genellikle nanolifli yapıların, gözeneklerin görülmediği ve yüzey morfolojisinin düz olduğu anlaşılmaktadır (Yen ve Mau, 2007). Karides (Crustacea: Malacostraca) kabuğundan elde edilen kitin yüzeyinin pürüzsüz ve çok sayıda gözeneğe sahip olduğu bilinmektedir (Abdel-Rahman vd., 2015). Öte yandan *Ariolimax californicus* (Gastropoda: Stylommatophora) sümüklüböceğinden elde edilen kitinde lifli yüzey morfolojisi görülürken (Montroni vd., 2019), *Hogna radiata* ve *Geolycosa vultuosa* (Arachnida: Araneae) adındaki farklı iki örümcekte elde edilen kitinlerde makro ve mikro gözeneklerle birlikte nanoliflere rastlanmıştır. (Kaya vd., 2014b). Farklı eklem-bacaklılardan elde edilen kitinlerde de farklı boyutlarda gözenekler, kesik nanolifler ve pürüzsüz lifler görülmüştür (Sajomsang ve Gonil, 2010; Kaya vd., 2017; Seyyar ve Demir, 2020). *Vespa crabro* (Hexapoda: Hymenoptera) yaban arısından elde edilen kitinde ise gözeneklere ve liflere ek olarak balık pulu şeklinde nano lifli yapılar görülmüştür (Kaya vd., 2016). *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodida) sert kene türünden elde edilen kitinin yüzey morfolojisinde iç içe karışık lifler gözlenmiştir (Kaya vd., 2015). *Trachytes pauperior* akar türünden elde edilen kitinin yüzey morfolojisinin de nanolifler ve gözeneklere sahip olduğu görülmüştür (Çakmak ve Koç Bilican, 2021).



Şekil 6. *Eustigmaeus absens* kitininin SEM görüntüsü: (a) kitinin genel görüntüsü, (b) makro gözenekler, (c) makro gözenekler ve çevresindeki mikro gözenekler, (d) makro gözeneklerin yakından görünümü.

Akarların yaşam şekli ile derinin yapısı arasında sıkı bir ilişki vardır. Deride katlanmalar, kırışıklıklar, çizgilenmeler, ağısı yapılar, küçük yumrular, tümsekler, çöküntüler ve gözenekler bulunabilir. Çalışma sonucunda elde edilen görüntüler ayrıntılı olarak incelendiğinde; kitinsli lifli yapının kesik kesik olduğu, bazı kısımlarda paralel bazı kısımlarda çapraz dizayn edildiği görülmüştür. Bu durum literatürle uyum içindedir (Sajomsang ve Gonil, 2010; Kaya vd., 2014b; Kaya vd., 2015; Kaya vd., 2017; Seyyar ve Demir, 2020; Çakmak ve Koç Bilican, 2021).

Derideki bazı epidermis hücreleri salgı yapacak şekilde özelleşmiştir. Bunların bağlandığı kanallar, vücut ve bacaklar üzerinde değişik şekillerde olan gözeneklerle sonlanır. Gözenek açıklıkları yuvarlak veya elips şeklinde olabilir (Doğan ve Ayyıldız, 2023). Çalışma kapsamında görüntüleri alınan gözeneklerin yuvarlağa yakın olduğu anlaşılmaktadır. Akarlarda dermal bezlerin işlevleri hala tam olarak bilinmemekle birlikte salgı ürünlerinin semio-kimyasal üretimiyle ilişkili olabileceği ve dehidrasyona karşı koruma sağlayabileceği düşünülmektedir (Doğan ve Ayyıldız, 2023).

Gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin SEM-EDX verilerinin değerlendirilmesi

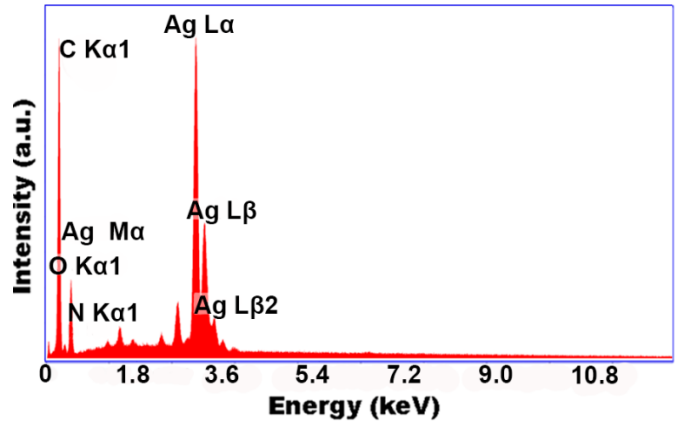
E. absens'ten elde edilen ve üzerinde gümüş nanoparçacıkların dekore edildiği kitinin SEM-EDX spektrumu Şekil 7 ve 8'de, kütlece ve atomik element yüzdeleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin element analiz verileri.

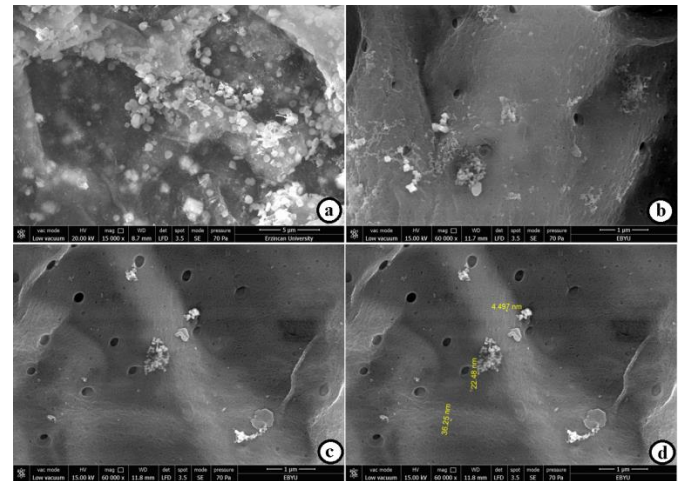
	C	N	O	Ag
Kütle (%)	31,67	4,79	23,17	40,37
Atomik (%)	54,92	7,12	30,17	7,79

Kitinin protein yapısından kaynaklanan C, O ve N elementlerine ilaveten başarılı bir dekorasyon işlemi ispatlayan Ag elementinin varlığı gözlenmiştir. Bu elementlere

ilaveten başka elementlerin tespit edilmemesi Ag nanoparçacıklarının saf olarak elde edilen kitinin üzerine dekore edildiğini ispatlamaktadır. Buna ilaveten gümüşün metalik halde olduğu ve farklı tuz yapılarının bulunmadığını göstermektedir.



Şekil 7. Gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin EDX spektrumu.



Şekil 8. Gümüş nanoparçacıklı kitinin SEM görüntüleri.

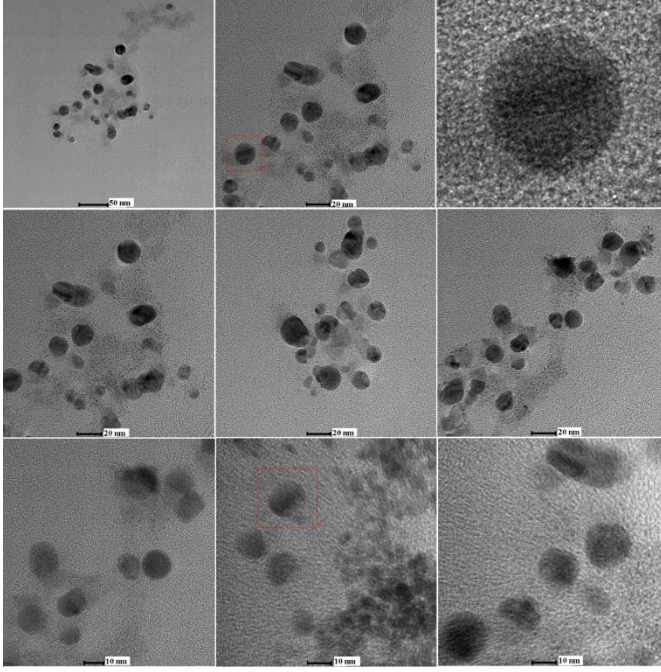
SEM görüntüleri sonucunda kitin üzerine dekore edilen gümüşlerin, kitin yüzeyinin tamamında farklı aralıklarla buldukları görülmüştür (Şekil 8a-d). Gümüşlerin boyutları ölçüldüğünde, 4 nm ile 37 nm arasında farklılıklar gösterdiği anlaşılmaktadır (Şekil 8d).

Gümüş nanoparçacıklı kitinin TEM verilerinin değerlendirilmesi

E. absens'ten elde edilip üzerine gümüş nanoparçacıkların dekore edildiği kitinin TEM görüntüleri Şekil 9'da verilmiştir.

TEM görüntülerinde görüldüğü gibi numunenin kitin bölümü şeffaf görünümde olup, gümüş nanopartiküllerin ise kitin üzerine dekore olduğu açık bir şekilde anlaşılmaktadır. Gümüş nanoparçacıklarının kitin yüzeyindeki dağılımı bazı bölgelerde kısmi yığılmalar şeklinde olmakla beraber nispeten homojen dağılım sergilediği görülmektedir. Dekore olan gümüş nanoparçacıkları küresel yapıya sahip olup parçacık çapları 6 ile 20 nm arasında değişim göstermektedir. Yapılan çalışmalara bakıldığında elde edilen hiçbir kitinin ve kitin yüzeyine dekore olmuş gümüş nanoparçacıklarının TEM görüntülerinin alınmadığı

görülmüştür. Bu çalışma ile gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin ilk kez TEM görüntüsü alınmıştır. Kitin yüzeyindeki gümüş nanoparçacıkların boyutunun literatürdeki farklı platformlar yüzeyine dekore olmuş gümüş nanoparçacıklarının boyutlarıyla uyum içerisinde olup, oldukça küçük nanoparçacık çapına sahip olduğu tespit edilmiştir (Kim vd., 2005; Nazeruddin vd., 2014; Xu vd., 2014; Niu vd., 2020). Bilindiği gibi nanoyapıların parçacık boyutu küçüldükçe mikrobiyal aktivitesinde artış gözlenmektedir (Nazeruddin vd., 2014). Çalışmamızdaki gümüş nanoparçacıklarının da küçük boyutta olması antibakteriyel aktivite için avantajlı bir durumdur.



Şekil 9. Gümüş nanoparçacıklı kitinin TEM görüntüleri.

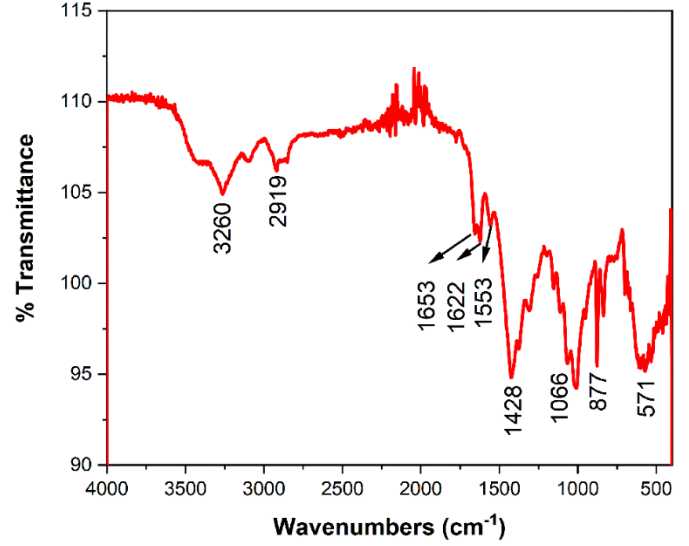
Kitininin ATR-FTIR verilerinin değerlendirilmesi

Eustigmaeus absens türünden elde edilen kitinin ATR-FTIR spektrumu Şekil 10'da, önemli karakteristik titreşim bantları ve dalga sayıları ise Tablo 3'te verilmiştir.

FTIR kitinin protein yapısının moleküler konformasyonunu araştırmak için kullanılan en önemli tekniklerden birisidir (Shao vd., 1999; Nimmen vd., 2008). Moleküler konformasyonun tayininde protein yapısında bulunan amid gruplarına ait amid-I, amid-II ve amid-III bantları olarak adlandırılan ve 1200-1700 cm^{-1} aralığında gelen titreşim pikleri esas alınır. Amid-I bantları C=O gerilmesinden kaynaklanır ve genellikle 1590-1700 cm^{-1} aralığında gözlenir. Amid-I bandının ikili pik halinde görülmesi kitinin alfa formda olduğunu ifade ederken, tek pik halinde görülen amid-I bandı ise kitinin beta formda olduğunu ifade eder (Jang vd., 2004). Amid-II bandı ise N-H ve C-N eğilme titreşimleri ve amid-III bandı ise C-H eğilme titreşimlerinden meydana gelir ve 1460-1590 cm^{-1} aralığında gözlenirler (Koperska vd., 2014).

E. absens kitininin ATR-FTIR spektrumunda 3260, 2919, 1653, 1622, 1553, 1371, 1306, 1066 ve 1010 cm^{-1} 'de pikler gözlenmiştir. 3260 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik protein yapısındaki N-H gerilme titreşiminden kaynaklanırken, 2919 ve 2854 cm^{-1} 'de gözlemlenen pikler ise sırasıyla

asimetrik ve simetrik alifatik C-H gerilme titreşimine karşılık gelir. 1653 ve 1622 cm^{-1} 'de gözlenen IR pikleri amid-I bandını ifade etmektedir. Amid-I bandının ikiye ayrılmış şekilde gözlenmesi kitinin alfa formda olduğunu göstermektedir (Jang vd., 2004). 1553 cm^{-1} 'de gözlenen pik amid-II bandının varlığını gösterirken, 1371 cm^{-1} de gözlenen pik C-H eğilmesini, 1306 cm^{-1} amid-III bandının varlığını, 1066 cm^{-1} C-O-C gerilmesini, 1010 cm^{-1} C-O eğilmesini ifade etmektedir.



Şekil 10. *Eustigmaeus absens*'ten elde edilen kitinin ATR-FTIR spektrumu.

Tablo 3. *Eustigmaeus absens*'ten elde edilen kitinin ATR-FTIR titreşim bantları.

Dalga Sayısı (cm^{-1})	Titreşim Türü
3260	N-H gerilme
2919	Alifatik C-H gerilme
1653	Amid-I bandı (C=O gerilme)
1622	Amid-I bandı (C=O gerilme)
1553	Amid-II bandı (N-H eğilme, C-N eğilme)
1371	C-H eğilmesi
1306	Amid-III bandı (C-H eğilme)
1066	C-O-C gerilmesi
1010	C-O eğilmesi

Böcekler (Hexapoda) üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera) türünden elde edilen kitinin amid-I bandı 1620-1654 cm^{-1} 'de ikili pik halinde ve amid-II bandı 1542 cm^{-1} 'de (Kaya vd., 2014a); *Blattella germanica* (Blattodea), *Anoplotrupes stercorosus* (Coleoptera), *Blaps tibialis* (Coleoptera), *Cetonia aurata* (Coleoptera), *Geotrupes stercorarius* (Coleoptera), *Calliphora vicina* (Diptera), *Coreus marginatus* (Hemiptera), *Lygaeus equestris* (Hemiptera), *Pyrrhocoris ap-*

terus (Hemiptera), *Bombus lapidarius* (Hymenoptera), *Formica clara* (Hymenoptera), *Cordulia aenea* (Odonata), *Libellula quadrimaculata* (Odonata) türlerinden elde edilen kitinlerin amid-I bantları 1620-1654 cm⁻¹'de ikili pik halinde ve amid-II bantları 1553 cm⁻¹'de gözlenmiştir (Kaya vd., 2014a; Kaya vd., 2015). Örümceklerden (Araneae) *Hogna radiata* ve *Geolycosa vultuosa*'dan elde edilen kitinlerin amid-I bantları 1619-1654 cm⁻¹'de ikili pik halinde ve amid-II bantları 1542 cm⁻¹'de (Kaya vd., 2014b), *Argiope bruennichi*, *Chaetopelma olivaceum* türlerinden elde edilen kitinlerin amid-I bantları 1620-1654 cm⁻¹'de ikili pik halinde ve amid-II bantları 1553 cm⁻¹'de gözlenmiştir (Kaya vd., 2015). Akarlardan (Acari) *Ixodes ricinus*'dan (Ixodida) elde edilen kitinin amid I bandı 1620-1654 cm⁻¹'de ikili pik halinde ve amid-II bandı 1553 cm⁻¹'de (Kaya vd., 2015) ve *Trachytes pauperior*'dan (Mesostigmata) elde edilen kitinin amid-I bandı 1621-1651 cm⁻¹'de ikili pik halinde ve amid-II bandı 1556 cm⁻¹'de gözlenmiştir (Çakmak ve Koç Bilican, 2021). Buna ilaveten bu çalışmalarda, kitine ait N-H gerilmesi, alifatik C-H gerilmeleri, C-H eğilmeleri, Amid-III bandı, C-O-C gerilmesi ve C-O eğilmesini karşılık gelen IR piklerinin değerlerinin çalışmamızla uyumlu olduğu görülmüştür. Elde edilen kitinlerin hepsinin alfa forma sahip olduğu tespit edilmiştir (Kaya vd., 2014a, b; Kaya vd., 2015; Çakmak ve Koç Bilican, 2021). Tüm bunlar, çalışma kapsamında elde edilen kitinin yüksek saflıkta olduğunu ortaya koymaktadır.

Kitinin asetilasyon derecesinin değerlendirilmesi

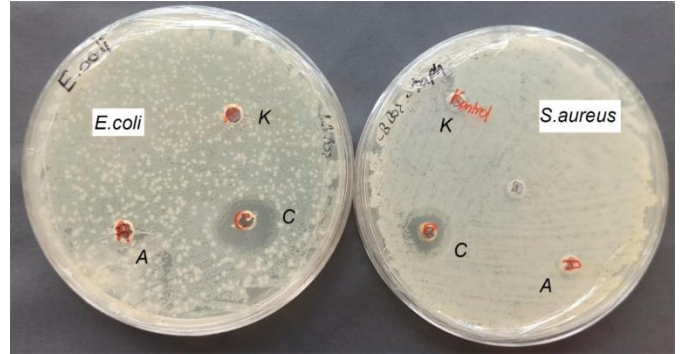
Asetilasyon derecesi (AD), çeşitli organizmalardan elde edilen kitinin saflığını ortaya koyan önemli bir parametredir ve NMR, XRD, elemental analiz ve FTIR analizlerinden hesaplanmaktadır (Majtán vd., 2007; Yen vd., 2009; Kaya vd., 2014a; Kaya vd., 2015). FTIR'dan hesaplanan AD değeri, 1655⁻¹ ve 3450⁻¹ 'deki IR piklerinin absorbans değerlerinin kullanılması ile aşağıdaki eşitlikten bulunur:

$$\text{Asetilasyon derecesi (AD): } (A_{1655} / A_{3450}) \times 100$$

Bu çalışmada elde edilen kitinin AD değeri, yukarıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve %117 bulunmuştur. Yapılan çalışmalara bakıldığında; *Blattella germanica*'dan (Hexapoda: Blattodea) elde edilen kitinin AD değeri elemental analiz ile hesaplandığında %94,5 bulunurken FTIR ile hesaplandığında %127, *Cetonia aurata*'dan (Hexapoda: Coleoptera) elde edilen kitin AD değeri elemental analiz ile hesaplandığında %70,1 bulunurken FTIR ile hesaplandığında %128, *Coreus marginatus*'tan (Hexapoda: Hemiptera) elde edilen kitinin AD değeri elemental analiz ile hesaplandığında %79,1 bulunurken FTIR ile hesaplandığında %150 bulunmuştur (Kaya vd., 2015). Tüm bunlar, *Eustigmaeus absens*'ten elde edilen kitinin AD değerinin literatürle uyum içinde olduğunu ve elde edilen kitinin yüksek saflık gösterdiğini desteklemektedir. Literatürde, FTIR ile hesaplanan AD değerinin elemental analiz ile hesaplanan AD değerine göre daha yüksek çıktığı ve bu değer çoğunlukla %100'ün üzerinde olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Majtán vd., 2007; Yen vd., 2009; Kaya vd., 2014a; Kaya vd., 2015). Bu durum elemental analiz analizinin kantitatif, FTIR analizinin ise yarı kantitatif olmasından kaynaklanmaktadır.

Kitin ve gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin antibakteriyel aktivite verilerinin değerlendirilmesi

Petri kaplarındaki inhibisyon zonları incelendiğinde (Şekil 11) kontrol ve saf kitin her iki bakteriye karşı antibakteriyel aktivite göstermemesine rağmen gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitine ait kuyularda *E. coli* ATCC 25922 için 15 mm, *S. aureus* ATCC 29213 için 11 mm çapında etkinlik zonları tespit edilmiş olup gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin her iki mikroorganizmaya karşı antibakteriyel aktivitesinin bulunduğu anlaşılmıştır. Literatürde önerilen olası mekanizma göz önüne alınarak, gümüş nanoparçacıkların inkübasyonu sırasında Ag⁺ iyonları ekilen kuyucuklarda kademeli olarak dağılır ve ardından bu Ag⁺ iyonları bakteri hücre duvarına yapışır ve metabolik aktiviteyi bozar. Böylece hücre zarının deformasyonuna bağlı olarak zar geçirgenliğinin artmasıyla beraber gerek Ag⁺ iyonları gerekse gümüş nanoparçacıkları bakteri hücrelerine difüze olarak DNA hasarına sebep olurlar (Slavin vd., 2017; Doğan, 2022; Poudel ve Kim, 2023).

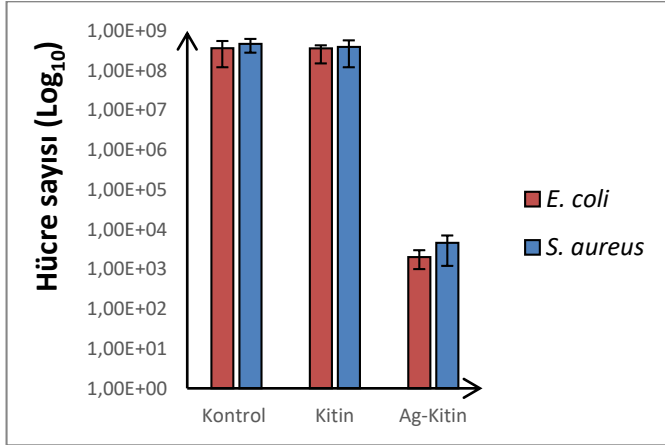


Şekil 11. Saf kitin ve gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213'e karşı antibakteriyel aktivitelerinin kuyu difüzyon görüntüleri. K (Kontrol), A (Kitin), C (Gümüş nanoparçacıklı kitin).

Gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin, Gram-negatif (*E. coli* ATCC 25922) bakterinin antibakteriyel aktivitesinin Gram-pozitif (*S. aureus* ATCC 29213) bakteriye karşı olan antibakteriyel aktiviteden daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum Gram-negatif (*E. coli* ATCC 25922) bakterideki negatif yüke sahip yapılar pozitif yüklü Ag⁺ iyonlarını elektrostatik olarak çekerek bakteri hücrelerine difüzyonlarını ve hücreye alınımını arttırarak daha fazla hasara sebep olmalarıyla ilişkilendirilebilir (Slavin vd., 2017; Doğan, 2022).

Maddelerin antibakteriyel aktiviteleri ayrıca sıvı besiyeri ortamında da test edilmiştir. Bunun için yukarıda bahsedildiği gibi bakteri çalışma solüsyonları hazırlanmıştır. Solüsyonların 500 µL'si steril Eppendorf tüpüne aktarılmış ve üstlerine kimyasallar konsantrasyonları 100 µM olacak şekilde ilave edilmiştir. Eppendorf tüpler 37 °C'de, 150 rpm'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürden seri sulandırma yapılarak canlı hücre sayımı yapılmıştır. Canlı hücre sayıları üç deneyin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Kontrol (çözücü), saf kitin (A) ve gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitin (C) 100µM konsantrasyonları ile yapılan deneylerde elde edilen canlı bakteri sayısındaki azalma grafikleri Şekil

12'de verilmiştir. Şekil 12'de görüldüğü gibi saf kitin gerek Gram-negatif (*E. coli* ATCC 25922) gerekse Gram-pozitif (*S. aureus* ATCC 29213) bakterisine karşı ihmal edilecek bir antibakteriyel aktivite sergilerken, gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitin canlı bakteri sayısında her iki bakteri için logaritmik olarak yaklaşık 105 inhibisyona sebebiyet verdiği anlaşılmıştır. Bu sonuçlara göre gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin hem *E. coli* ATCC 25922 hem de *S. aureus* ATCC 29213 bakteri türleri üzerine antibakteriyel aktivitesi tespit edilmiştir.



Şekil 12. Saf kitin ve gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213'e karşı bakteri sayısındaki azalma grafikleri.

Gümüş nanoparçacıklarının antibakteriyel özellikleri geçmişten günümüze çok uzun yıllardır bilinmekte olup literatürde birçok araştırma grubu tarafından da çalışılmıştır (Doğan, 2022). Gümüş nanoparçacıklarının şekilleri ve boyutları bu nanoparçacıkların antibakteriyel özelliklerini önemli ölçüde etkileyen parametrelerdendir. Literatürde verildiği gibi daha küçük boyutlu gümüş nanoparçacıklarının bakterinin membranından geçişinin kolay olması ve Ag⁺ iyonlarının ortama salınımının daha kolay olmasından ötürü küçük boyuta sahip gümüş nanoparçacıklar büyük nanoparçacıklara nispeten daha iyi antibakteriyel etki sergilemektedir (Valgas vd., 2007; Kanmani ve Lim, 2013; Acharya vd., 2018; Premkumar vd., 2018; Sharma vd., 2019). Buna ilaveten literatürde yapılan çalışmalarda farklı şekillere sahip olan (küresel, kübik, üçgen, altıgen ve nanoçubuk) gümüş nanoparçacıklarının da farklı antibakteriyel aktivite sergiledikleri tespit edilmiştir (Doğan, 2022). Mevcut çalışmada gümüş nanoparçacıkların boyutunun 6-20 nm arasında farklılık gösterdiği ve küresel şekilde olduğu belirlenmiştir. Gümüş nanoparçacıkların oldukça küçük boyutlanması antibakteriyel aktivitesini artırdığı anlaşılmaktadır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile ilk defa, bir akar türü olan *Eustigmaeus absens*'in 3 boyutlu yapısı korunarak başarılı bir şekilde kitin elde edilmiş, elde edilen kitin üzerine gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş ve hem kitin hem de gümüş nanoparçacıklı kitinlerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri; stereo mikroskop, faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobu, SEM, EDX, ATR-FTIR ve TEM teknikleri kullanılarak ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Bu numunelerin

ayrıca antibakteriyel aktivitelerinin değerlendirilmesi de yapılmıştır.

Araştırma sonucunda, FTIR ve EDX analizlerinden yola çıkarak; *E. absens*'ten kitin eldesi için en uygun HCl çözelti derişiminin 1,5 M ve HCl çözeltisinde işlem görme süresi 6 saat, NaOH derişimi 1,0 M ve NaOH çözeltisinde işlem görme süresi ise 8 saat olarak belirlenmiştir. Kitin üzerine gümüş nanoparçacıklarının dekorasyonu için SEM ve TEM analizleri sonuçlarından faydalanılarak, 10 mM AgNO₃ çözeltisi içindeki kitinlerin UVA ışınları altında bekleme süresi 1 saat olarak belirlenmiştir.

Yapılan FTIR analizi ile elde edilen kitinin alfa formda olduğu ve yapılan diğer çalışmalarla oldukça uyumlu pikler sergilediği gözlemlenmiştir (Zhang vd., 2000; Paulino vd., 2006; Majtán vd., 2007; Sajomsang ve Gonil, 2010; Liu vd., 2012; Kaya vd., 2014a; Kim vd., 2017). Gözlemlenen piklerin keskinliği elde edilen kitinin saf olduğunu kanıtlamaktadır. EDX verileri ile kitinin saf olarak elde edildiği desteklenmiştir. Elde edilen kitinin asetilasyon derecesinin %117 bulunması da kitin saflığını yansıtmaktadır. Yapılan SEM, TEM, stereo mikroskop, faz-kontrast donanımlı ışık mikroskobu analizleri ile kitinin ve gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin yüzey özellikleri incelenmiş ve elde edilen yüzey morfolojisinin literatürle benzerlik gösterdiği ortaya konmuştur (Yen vd., 2009; Kaya vd., 2015; Ibitoye vd., 2018; Çakmak ve Koç Bilican, 2021). Yapılan antibakteriyel aktivite çalışmaları gümüş nanoparçacıkları dekore edilmiş kitinin hem *E. coli* ATCC 25922 hem *S. aureus* ATCC 29213 bakterilerine karşı etkili olduğunu göstermiştir.

Literatür, kitin eldesinin daha çok makro organizmalardan yapıldığını, akarlardan kitin eldesi ile ilgili sadece dört çalışmanın (Sobotnik vd., 2008; Choi vd., 2016; Kaya vd., 2015; Çakmak ve Koç Bilican, 2021) mevcut olduğunu göstermektedir. Akarların mikro boyutta olması ve elde edilmelerinin zahmetli oluşu akarlar üzerindeki çalışmaları kaçınılmaz hale getirmektedir. Bu çalışma ile daha önce üzerinde hiç çalışılmamış bir akar türünden elde edilen kitin verileri bu alanda ve temel bilimler düzeyinde literatür eksikliğini bir ölçüde giderecek ve katkı sağlayacak niteliktedir.

Çalışmada kullanılan yöntemler kitinin ve gümüş nanoparçacıklı kitinin antibakteriyel, görüntüleme ve yapısal analizleriyle sınırlıdır. Akarlardan elde edilen kitinin optik, termik ve mekanik özelliklerinin açığa çıkarılması literatüre yeni bilgiler sağlayacaktır. Ayrıca mevcut çalışmada kullanılan akar türünün farklı evrelerinde ve dahil olduğu familyanın (Stigmaeidae) diğer üyelerinde kitin eldesi çalışmaları yapılarak, kitin özelliklerinin daha ayrıntılı ve karşılaştırmalı olarak açığa çıkarılması sağlanabilir.

Kitinin doğal bir kaynak olması, biyolojik olarak parçalanabilmesi, toksik olmaması, antimikrobiyal ve antioksidan oluşu tarım, tıp, gıda endüstrisi, tekstil ve kozmetik gibi alanlarda kullanımını sağlar. Bu çalışma sonucu elde edilen saf ve gümüş nanoparçacıklı kitin bahsi geçen alanlarda kullanılabilir.

Yazar katkıları

Şifanur Uğurlu: Veri toplama, metodoloji, araştırma, görselleştirme, yazma-taslak metin. **Bülent Çağlar:** Dene-tim, metodoloji, yazma-inceleme ve düzeltme. **Tuğrul Doruk:** Metodoloji, yazma-inceleme ve düzeltme. **Salih Doğan:** Kavramsallaştırma, metodoloji, araştırma, yöne-tim, danışmanlık, denetim, doğrulama, veri iyileştirme, yazma-inceleme ve düzeltme.

Bu çalışma, ilk yazarın yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Etik onay beyanı

Çalışmanın yürütülmesi ve yayına hazırlanması sürecinde tüm etik kurallara en yüksek standartlarda uyulmuştur; ayrıca bu çalışmada etik kurul onay belgesine gerek yok-tur.

Fon sağlayıcılar

Bu çalışmada, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilim-sel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen FBA-2019-642 numaralı proje kapsamında toplanan akar materyalleri kullanılmıştır.

Çıkar ilişkisi

Çalışmanın yürütülmesi ve yayımlanması süresince taraf-lar arasında herhangi bir kişisel çıkar çakışması veya rekabet ilişkisi bulunmamaktadır.

Teşekkür

Maddi desteklerinden dolayı Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Abdel-Rahman, R.M., Hrdina, R., Abdel-Mohsen, A.M., Fou-da, M.M., Soliman, A.Y., Mohamed, F.K. and Pinto, T.D. 2015. Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80: 107-120.
doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.06.027

Acharya, D., Singha, K.M., Pandey, P., Mohanta, B., Rajku-mari, J. and Singha, L.P. 2018. Shape dependent physi-cal mutilation and lethal effects of silver nanoparticles on bacteria. *Scientific Reports*, 8: 201.
doi: 10.1038/s41598-017-18590-6

Choi, J.P., Lee, S.M., Choi, H.I., Kim, M.H., Jeon, S.G., Jang, M.H. and Kim, Y.K. 2016. House dust mite-derived chi-tin enhances Th2 cell response to inhaled allergens, mainly via a TNF- α -dependent pathway. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 8 (4): 362-374.
doi: 10.4168/aa.2016.8.4.362

Çakmak, E. and Bilican, B.K. 2021. Isolation and character-ization of 3D chitin from a mite species *Trachytes pau-perior* (Parasitiformes: Uropodina). *Acarological Stud-ies*, 3 (2): 66-72.

doi: 10.47121/acarolstud.908554

Dilkaraoğlu, S., Doğan, S., Erman, O., Sevsay, S. and Adil, S. 2016. Stigmaeid mites (Acari: Raphignathoidea: Stig-maeidae) of Harşit Valley and Örumcek Forests (Tur-key). *Erzincan University Journal of Science and Tech-nology*, 9: 10-72.
doi: 10.18185/eufbed.18373

Doğan, G. 2022. Biosynthesis of silver nanoparticles using cinnamon and clove extracts and investigation of anti-bacterial activity. Unpublished MSc thesis. Gebze Technical University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Gebze, Türkiye, 72 pp. [In Turkish]

Doğan, S. 2005. *Eustigmaeus* mites from Turkey (Acari: Stigmaeidae). *Journal of Natural History*, 39: 835-861.
doi: 10.1080/00222930400001558

Doğan, S. 2007. Checklist of raphignathoid mites (Acari: Raphignathoidea) of Turkey. *Zootaxa*, 1454: 1-26.
doi: 10.11646/zootaxa.1454.1.1

Doğan, S. 2019. Raphignathoidea (Acari: Trombidiformes) of Turkey: A review of progress on the systematics, with an updated checklist. *Acarological Studies*, 1 (2): 129-151.

Doğan, S. and Ayyıldız, N. 2023. Akarların morfolojisi. In: Genel akaroloji, Baskıda. [In Turkish]

Doğan, S. and Doğan, S. 2020. Newly recorded stigmaeid mites (Acariformes: Raphignathoidea: Stigmaeidae) for the fauna of Turkey. *Acarological Studies*, 2 (2): 94-118. [In Turkish]
doi: 10.47121/acarolstud.696796

Dönel, G. and Doğan, S. 2011. The stigmaeid mites (Acari: Stigmaeidae) of Kelkit Valley (Turkey). *Zootaxa*, 2942: 1-56.
doi: 10.11646/zootaxa.2942.1.1

Erman, O., Özkan, M., Ayyıldız, N. and Doğan, S. 2007. Checklist of the mites (Arachnida: Acari) of Turkey. Second supplement. *Zootaxa*, 1532: 1-21.
doi: 10.11646/zootaxa.1532.1.1

Fan, Q.-H., Flechtmann, C.H.W. and De Moraes, D.J. 2016. Annotated catalogue of Stigmaeidae (Acari: Prostigma-ta), with a pictorial key to genera. *Zootaxa*, 4176: 1-199.
doi: 10.11646/zootaxa.4176.1.1

Fan, Q.-H., Flechtmann, C.H.W. and De Moraes, D.J. 2019. Emendations and updates to "Annotated catalogue of Stigmaeidae (Acari: Prostigmata), with a pictorial key to genera". *Zootaxa*, 4647 (1): 88-103.
doi: 10.11646/zootaxa.4647.1.9

Fan, Q.-H. and Zhang, Z.-Q. 2005. Raphignathoidea (Acari: Prostigmata). *Fauna of New Zealand*, 52: 1-400.

Guin, D., Manorama, S.V., Latha, J.N.L. and Singh, S. 2007. Photoreduction of silver on bare and colloidal TiO₂ nanoparticles/nanotubes: synthesis, characterization,

- and tested for antibacterial outcome. The Journal of Physical Chemistry, 111 (36): 13393-13397.
doi: [10.1021/jp072646k](https://doi.org/10.1021/jp072646k)
- Hong, K.H., Park, J.L., Sul, I.H., Youk, J.H. and Kang, T.J. 2006. Preparation of antimicrobial poly (vinyl alcohol) nanofibers containing silver nanoparticles. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 44 (17): 2468-2474.
doi: [10.1002/polb.20913](https://doi.org/10.1002/polb.20913)
- Ibitoye, E.B., Lokman, I.H., Hezme, M.N.M., Goh, Y.M., Zuki, A.B.Z. and Jimoh, A.A. 2018. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket. Biomedical Materials, 13 (2): 025009.
doi: [10.1088/1748-605X/aa9dde](https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa9dde)
- Jang, M.K., Kong, B.G., Jeong, Y.I., Lee, C.H. and 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: 3423-3432.
doi: [10.1002/pola.20176](https://doi.org/10.1002/pola.20176)
- Kaya, M., Baran, T., Erdoğan, S., Menteş, A., Özüsağlam, M.A. and Çakmak, Y.S. 2014a. Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). Materials Science and Engineering, 45: 72-81.
doi: [10.1016/j.msec.2014.09.004](https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.09.004)
- Kaya, M., Baublys, V., Sargin, I., Šatkauskienė, I., Paulauskas, A., Akyuz, B., Bulut, E., Tubelytė, V., Baran, T., Seyyar, O., Kabalak, M. and Yurtmen, H. 2015. How taxonomic relations affect the physicochemical properties of chitin. Food Biophysics, 11 (1): 10-19.
doi: [10.1007/s11483-015-9404-5](https://doi.org/10.1007/s11483-015-9404-5)
- Kaya, M., Sargin, I., Sabeckis, I., Noreikaite, D., Erdonmez, D., Salaberria, A.M., Labidi, J., Baublys, V. and Tubelytė, V. 2017. Biological, mechanical, optical and physicochemical properties of natural chitin films obtained from the dorsal pronotum and the wing of cockroach. Carbohydrate Polymers, 163: 162-169.
doi: [10.1016/j.carbpol.2017.01.022](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.022)
- Kaya, M., Seyyar, O., Baran, T., Erdoğan, S. and Kar, M. 2014b. A physicochemical characterization of fully acetylated chitin structure isolated from two spider species: With new surface morphology. International Journal of Biological Macromolecules, 65: 553-558.
doi: [10.1016/j.ijbiomac.2014.02.010](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.010)
- Kaya, M., Sofi, K., Sargin, I. and 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.
doi: [10.1016/j.carbpol.2016.03.010](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.010)
- Kanmani, P. and Lim, S.T., 2013. Synthesis and structural characterization of silver nanoparticles using bacterial exopolysaccharide and its antimicrobial activity against food and multidrug resistant pathogens. Process Biochemistry, 48 (7): 1099-1106.
doi: [10.1016/j.procbio.2013.05.011](https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.05.011)
- Kim, M.-W., Song, Y.-S., Han, Y.S., Jo, Y.H., Choi, M.H., Park, Y.-K., Kang, S.H., Kim, S.-A., Choi, C. and Jung, W.-J. 2017. Production of chitin and chitosan from the exoskeleton of adult two-spotted field crickets (*Gryllus bimaculatus*). Entomological Research, 47 (5): 279-285.
doi: [10.1111/1748-5967.12239](https://doi.org/10.1111/1748-5967.12239)
- Kim, Y.H., Lee, D.K. and Kang, Y.S. 2005. Synthesis and characterization of Ag and Ag-SiO₂ nanoparticles. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 257-258: 273-276.
doi: [10.1016/j.colsurfa.2004.07.035](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.07.035)
- Koçer, İ. 2015. Synthesis and characterization of chitosan by different methods. Unpublished MSc thesis. Hacettepe University Graduate School of Science and Engineering, Ankara, Türkiye, 80 pp. [In Turkish]
- Koperska, M.A., Pawcenis, D., Bagniak, J., Zaitz, M.M., Misori, M., Łojewski, T. and Łojewska, J. 2014. Degradation markers of fibroin in silk through infrared spectroscopy. Polymer Degradation and Stability, 105: 185-196.
doi: [10.1016/j.polyimdegstab.2014.04.008](https://doi.org/10.1016/j.polyimdegstab.2014.04.008)
- Kumar, M.N.V. 2000. A review of chitin and chitosan applications. Reactive and Functional Polymers, 46 (1): 1-27.
doi: [10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)
- Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Jiang, C. and Yang, Q. 2012. Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. Molecules, 17 (4): 4604-4611.
doi: [10.3390/molecules17044604](https://doi.org/10.3390/molecules17044604)
- Madejová, J. 2003. FTIR techniques in clay mineral studies. Vibrational Spectroscopy, 31 (1): 1-10.
doi: [10.1016/S0924-2031\(02\)00065-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(02)00065-6)
- Majtán, J., Bíliková, K., Markovič, O., Gróf, J., Kogan, G. and Šimúth, J. 2007. Isolation and characterization of chitin from bumblebee (*Bombus terrestris*). International Journal of Biological Macromolecules, 40 (3): 237-241.
doi: [10.1016/j.ijbiomac.2006.07.010](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.07.010)
- Montroni, D., Zhang, X., Leonard, J., Kaya, M., Amemiya, C., Falini, G. and Rolandi, M. 2019. Structural characterization of the buccal mass of *Ariolimax californicus* (Gastropoda; Stylommatophora). PloS One, 14 (8): e0212249.
doi: [10.1371/journal.pone.0212249](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212249)
- Nazeruddin, G.M., Prasad, N.R., Waghmare, S.R., Garadkar, K.M. and Mulla, I.S. 2014. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using *Azadirachta indica* leaf extract and its anti-microbial activity. Journal of Alloys and Compounds, 583: 272-277.
doi: [10.1016/j.jallcom.2013.07.111](https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2013.07.111)

- Niu, X., Zhang, W., Huang, Y., Wang, L., Li, Z. and Sun, W. 2020. An electrochemical sensing platform amplified with a Au@Ag nanoparticle-decorated three-dimensional N-doped graphene aerogel for ultrasensitive determination of baicalein. *New Journal of Chemistry*, 44 (37): 15975-15982.
doi: [10.1039/D0NJ03827J](https://doi.org/10.1039/D0NJ03827J)
- Nimmen, E.V., Clerck, K.D., Verschuren, J., Gellynck, K., Gheysens, T., Mertens, J. and Langenhove, L.V. 2008. FT-IR spectroscopy of spider and silkworm silks Part I. Different sampling techniques. *Vibrational Spectroscopy*, 46 (1): 63-68.
doi: [10.1016/j.vibspec.2007.10.003](https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2007.10.003)
- Paulino, A.T., Simionato, J.I., Garcia, J.C. and Nozaki, J. 2006. Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. *Carbohydrate polymers*, 64 (1): 98-103.
doi: [10.1016/j.carbpol.2005.10.032](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.10.032)
- Poudel, M.B. and Kim, A.A. 2023. Silver nanoparticles decorated TiO₂ nanoflakes for antibacterial properties. *Inorganic Chemistry Communications*, 152: 110675.
doi: [10.1016/j.inoche.2023.110675](https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110675)
- Premkumar, J., Sudhakar, T., Dhakal, A., Shrestha, J.B., Krishnakumar, S. and Balashanmugam, P. 2018. Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) from cinnamon against bacterial pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 15: 311-316.
doi: [10.1016/j.bcab.2018.06.005](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.005)
- Sajomsang, W. and Gonil, P. 2010. Preparation and characterization of α -chitin from cicada sloughs. *Materials Science and Engineering*, 30 (3): 357-363.
doi: [10.1016/j.msec.2009.11.014](https://doi.org/10.1016/j.msec.2009.11.014)
- Seyyar, F. and Demir, H. 2020. Extraction and physico-chemical characterization of chitin from *Phalangium opilio* Linnaeus, 1758 (Arachnida: Opiliones). *Acta Biologica Turcica*, 33 (4): 258-263.
- Shao, Z., Vollrath, F., Sirichaisit J. and Young, R.J. 1999. Analysis of spider silk in native and supercontracted states using Raman spectroscopy. *Polymer*, 40 (10): 2493-2500.
doi: [10.1016/S0032-3861\(98\)00475-3](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00475-3)
- Sharma, V.K., Yngard, R.A. and Lin, Y. 2009. Silver nanoparticles, Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145 (1-2): 83-96.
doi: [10.1016/j.cis.2008.09.002](https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002)
- Slavin, Y.N., Asnis, J., Häfeli, U.O. and Bach, H. 2017. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15: 65.
doi: [10.1186/s12951-017-0308-z](https://doi.org/10.1186/s12951-017-0308-z)
- Sobotnik, J., Kudlikova-Krizkova, I., Vancova, M., Munzbergova, Z. and Hubert, J. 2008. Chitin in the peritrophic membrane of *Acarus siro* (Acari: Acaridae) as a target for novel acaricides. *Journal of Economic Entomology*, 101 (3): 1028-1033.
doi: [10.1093/jee/101.3.1028](https://doi.org/10.1093/jee/101.3.1028)
- Valgas, C., de Souza, S.M., Smânia, E.F.A and Smânia Jr, A. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38: 369-380.
doi: [0.1590/S1517-83822007000200034](https://doi.org/0.1590/S1517-83822007000200034)
- Walter, D.E. and Krantz, G.W. 2009. Collecting, rearing and preparing specimens. In: *A manual of acarology*. Third edition. Krantz, G.W. and Walter, D.E. (Eds). Texas Tech University Press, Texas, USA, 83-96.
- Xu, L., Zhang, D., Ming, L., Jiao, Y. and Chen, F. 2014. Synergistic effect of interfacial lattice Ag⁺ and Ag⁰ clusters in enhancing the photocatalytic performance of TiO₂. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16 (36): 19358-19364.
doi: [10.1039/C4CP02658F](https://doi.org/10.1039/C4CP02658F)
- Yen, M.-T. and Mau, J.-L. 2007. Selected physical properties of chitin prepared from shiitake stipes. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (3): 558-563.
doi: [10.1016/j.lwt.2005.10.008](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.10.008)
- Yen, M.-T., Yang, J.-H. and Mau, J.-L. 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 75 (1): 15-21.
doi: [10.1016/j.carbpol.2008.06.006](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.06.006)
- Zhang, M., Haga, A., Sekiguchi, H. and Hirano, S. 2000. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia. *International Journal of Biological Macromolecules*, 27 (1): 99-105.
doi: [10.1016/S0141-8130\(99\)00123-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(99)00123-3)

Alan editörü: Adem Keskin

Akran değerlendirme: Üç hakem tarafından yapılmıştır.

Citation: Uğurlu, Ş., Çağlar, B., Doruk, T. and Doğan, S. 2023. Chitin and Ag-decorated chitin nanocomposite obtained from *Eustigmaeus absens* (Acari: Stigmaeidae): Isolation, characterization and antibacterial activity. *Acarological Studies*, 5 (2): 69-80. [In Turkish]