



Gümüş nanomalzeme sentezi ve antimikrobiyal uygulamaları

Mehmet Fırat BARAN*

1.Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler bölümü
mfiratbaran@gmail.com Orcid: 0000-0001-8133-6670 Tel:05443204421

Abdurrahman SAYDUT

2.Dicle Üniversitesi, Mühendislik fakültesi, Maden Müh.Bölümü
saydut@dicle.edu.tr.Orcid: 0000-0002-6112-9209 Tel:05327727563

Adil UMAZ*

3.Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler bölümü
adilumaz@gmail.com. Orcid: 0000-0003-2438-5454 Tel:05464922930

Geliş: 29.01.2019, Kabul Tarihi: 15.02.2019

Öz

Çevre dostu sentez yöntemlerinin her geçen gün daha etkin olması ve nanopartiküllerin (NP'lerin) kullanım alanlarının yaygınlığı bu yöntemlere olan ilginin oldukça artmasına neden olmaktadır. Biz atık durumunda ki zeytin yapraklarından elde ettiğimiz özüt ile gümüş nano partikülleri (AgNP'leri) basit, ucuz ve çevre dostu bir yöntemle sentezledik. Bu partiküllerin Ultraviyole ve Görünür Işık Absorpsiyon Spektroskopisi (UV-Vis.), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), X-Işınları Kırınım Cihazı (XRD), Taramalı Elektron Mikroskopu- Enerji Yayılımlı X-ışını (SEM-EDX) ve Termo Gravimetrik (TGA-DTA) analizleri kullanılarak karakterizasyon işlemi yapılmıştır. Antibiyotik dirençliliği günümüz dünyasının ciddi sorunlarından biri bu sebeple elde edilen partiküllerin patojen gram pozitif Staphylococcus aureus ATCC 29213, gram negatif Escherichia coli ATCC 25922 suşları ve Candida albicans mayası üzerinde etkili bir anti-mikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. AgNP'lerin MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri sırası 0.112, 0.028, ve 0.007 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Çevre Dostu, Gümüş nanopartikül, SEM-EDX, XRD, TGA-DTA

* Yazışmaların yapılacağı yazar

Giriş

Nano partiküller geniş yüzey alanları ve iyi bir iletkenlik özelliği gösterirler (Sreekanth vd., 2016). Nanopartiküller biomedikal, farmakoloji, bioremidasyon, gıda, kozmetik, tarımsal uygulamalar gibi bir çok alanda yaygın olarak kullanılırlar (El-Batal vd., 2018), (Umamaheswari vd., 2018). Kimyasal fiziksel ve biyolojik yöntemler gibi çeşitli yöntemler ile sentezlenirler. Ancak çevre dostu ve kolay olması gibi avantajlarından dolayı biyolojik yöntemler daha fazla tercih ediliyor (Swamy vd., 2015), (Singh vd., 2017). Biyolojik yöntemler ile sentezde bakteri, alg, fungus ve bitkisel kaynaklar kullanılmaktadır (Owaid vd., 2015).

Biz bu bilgiler ışığında mardin derik bölgesine ait yeşil zeytin yapraklarından elde ettiğimiz özüt ile AgNP'leri çevre dostu, basit ve ucuz bir yöntemle sentezledik. Elde ettiğimiz bu partiküllerin anti-mikrobiyal aktivitesini inceledik.

Materyal ve Yöntem

Mardin bölgesine ait zeytin yaprakları toplandı. Musluk suyu ve ardından distile su ile yıkama işlemi yapıldı. Oda ısısında kurutuldu. Özüt için partikül boyutu küçültüldü. 20 gr yaprak 500 ml distile su ile karıştırıldı ve kaynatıldı. Oda ısısında soğutuldu ardından süzme işlemine tabi tutuldu. 1 mM AgNO₃ (gümüş nitrat) çözeltisi hazırlandı. 1:3 oranında gümüş nitrat çözeltisi ve özüt karıştırıldı oda koşullarında herhangi bir fiziksel etkiye maruz



Şekil 1. Yeşil Zeytin yaprağının görüntüsü

kalmadan renk değişimi incelendi. Buna bağlı olarak nanopartiküllerin oluşumu ve varlığını izlemek için Agilent Cary 60 model UV- Vis. Spektrofotometre belirli aralıklarla ölçümler alındı. Aynı zamandan indirgemede rol oynayan fonksiyonel grupları değerlendirmek için Agilent Cary 360 model cihazı kullanılarak FTIR analizi yapıldı. Karakterizasyon işlemlerinin devamı için sulu örnek 9000 rpm de 20 dk santrifüj edildi. Alta meydana gelen çökelti bir seri distile su ile yıkama işleminin ardından 70 °C de kurutuldu. Bu numuneden SEM-EDX ve XRD analizleri incelendi. Bu nanopartiküllerin bozunma sıcaklıklarını değerlendirmek için Shimadzu DTG-60 H marka model cihaz ile AgNP'lerin 30-900 °C de TGA ve DTA verileri 10 °C dak⁻¹ ısıtma hızıyla N₂ (g) atmosferinde 20 mL dak⁻¹ akış hızı ile analiz edildi.

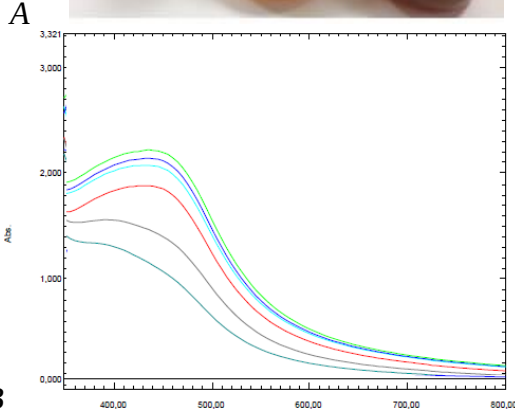
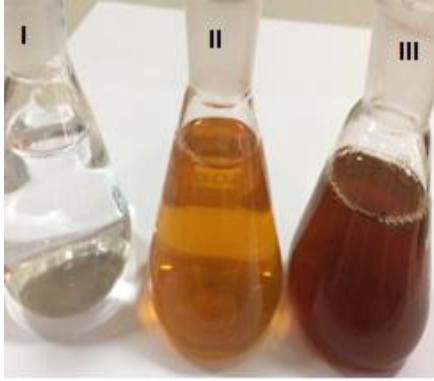
Bu partiküllerin antimikrobiyal etkisi MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) Mikro dilusyon yöntemi ile incelendi. Mikro plaklara müller Hilton besiyeri ve AgNP'ler içeren konsantrasyonu belirlenmiş çözeltiden eklendi. Üzerine Mac Farland standardına göre bulanıklığı 0.5 ayarlanmış bakteri (S.aureus ATCC 29213 ve E.coli ATCC 25922) ve maya (C. albicans) çözeltilerinden konuldu. Karşılaştırma ve kontrol için ticari antibiyotikler olan Vankomisin, Colistin ve flukanazol ve 1 mM AgNO₃ çözeltisi kullanıldı.

Bulgular ve Tartışma

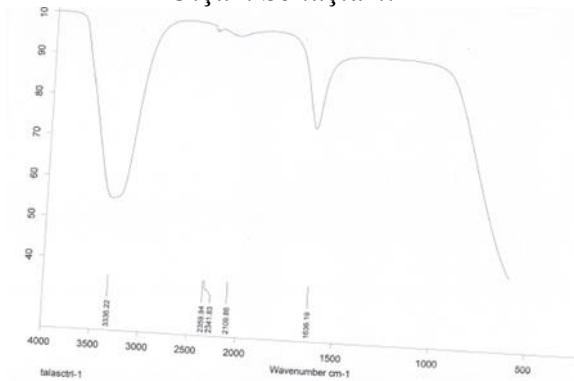
Karakterizasyon Verilerinin İncelemesi

1:3 oranında karıştırılan yaprak özütü ve 1 mM AgNO₃ çözeltisinin 5-30 dakika arasında yapılan gözlemlerde plazma yüzeyindeki titreşimlerden kaynaklı AgNP'lerin oluştuğu ve buna bağlı olarak periyodik UV-Vis. ölçümlerinde AgNP'lerin oluşumu gösteren ve 468 nm maksimum absorbansa sahip pikler incelenmiştir (Şekil 2). Bazı araştırmacılar benzer bulguları değerlendirmişlerdir (Kumar vd., 2017), (Saravanakumar vd., 2018).

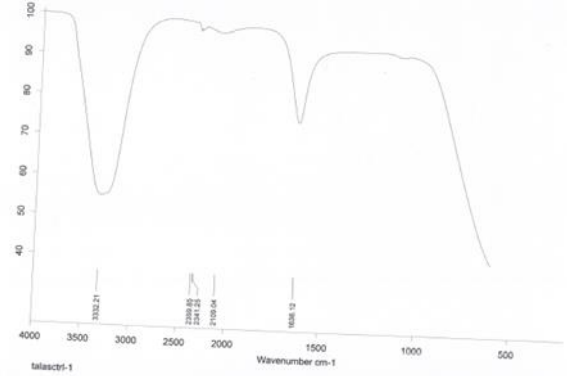
FTIR sonucunda görüldüğü gibi bitki özütü ve AgNP'lerin sonucu karşılaştırıldığında bağlanmanın 3336 cm^{-1} pikin serbest sudan, alkol ve fenol gruplarına bağlı-OH, $1635\text{--}1634\text{ cm}^{-1}$, 2109 cm^{-1} C≡C alkin veya C-N grubuna ait olabileceği ve 1636 cm^{-1} 'deki pikin ise I amid bandına ait olduğu düşünülmektedir (Şekil 2).



B Şekil 2. A.I. 1 mM AgNO₃ çözeltisi, II. Yaprak özütü, III. Sentez sonucu renk değişimi. B. UV-Vis. Spektrofotometre Ölçüm Sonuçları.

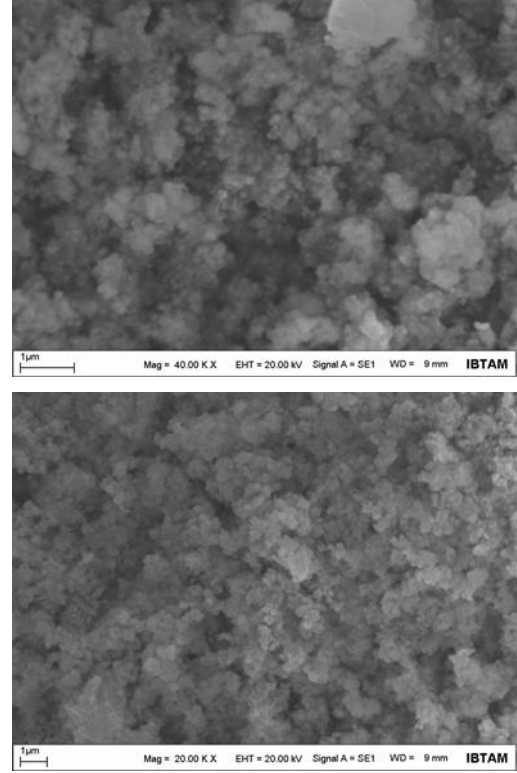


Şekil 3. a. FTIR analizi ile sentez öncesi indirgemede katılan fonksiyonel grupların değerlendirilmesi.



Şekil 3. b. FTIR analizi ile sentez sonrası indirgemede katılan fonksiyonel grupların değerlendirilmesi.

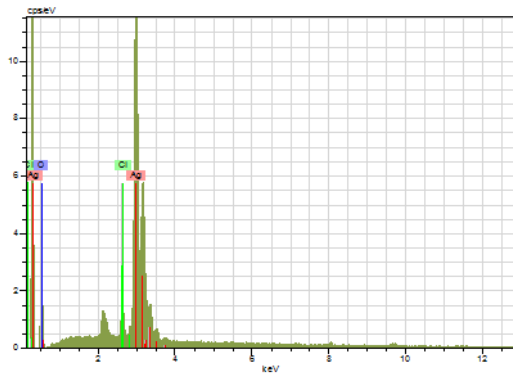
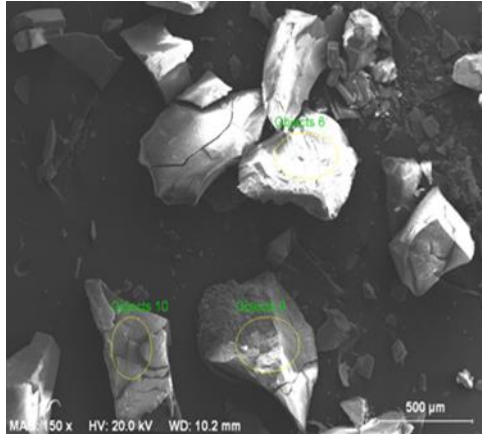
SEM sonuçları bize AgNP'lerin küresel görünümlü olduğunu göstermektedir (Şekil 4).



Şekil 4. SEM görüntüleri ile AgNP'lerin morfolojik yapıları.

EDX analiz verileri ise bize elde edilen AgNP'lerin gümüşe ait element kompozisyonunu vermektedir (Şekil 5). Gümüşe ait mevcut pikler bize elde ettiğimiz malzeminin büyük oranda gümüş içerikte olduğunu göstermektedir. Benzer çalışmalarda EDX verileri bu durumu

desteklemektedir (Ali vd., 2015), (Dubey vd., 2010)

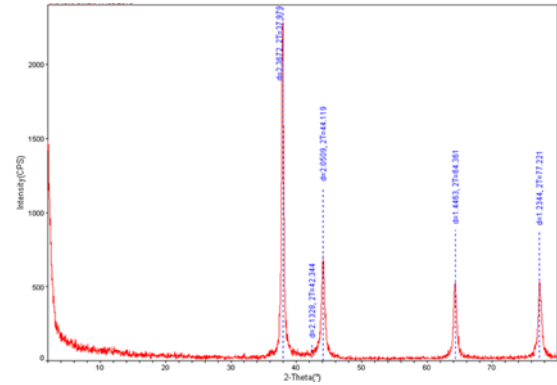


Şekil 5. Bitkisel kaynaklı sentezlenen AgNP'lerin EDAX ile element kompozisyonu.

XRD sonuçlarında (111), (200), (220) ve (311) de bulunan piklerin 2θ da sırası ile 37.97, 44.11, 64.36, ve 77.22 değerleri ile gümüşe ait olduğu görülmüştür (Şekil 5). Benzer çalışmalar bu piklerin gümüşe ait olduğu değerlendirilmiştir (Swamy vd., 2015), (Yasin vd., 2013). Bu bilgiler ışığında Debye-Scherrer eşitliği kullanılarak elde edilen AgNP'lerin kristal partikül boyutu hesaplanmış ve 23.73 nm olarak bulunmuştur.

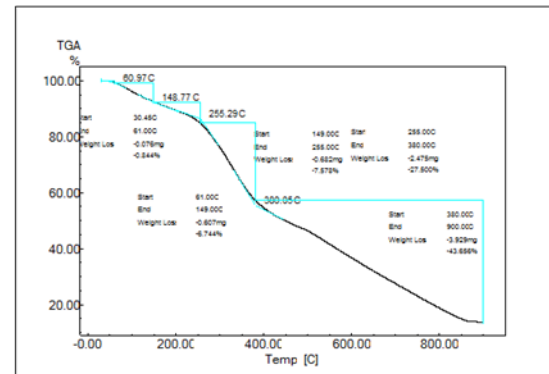
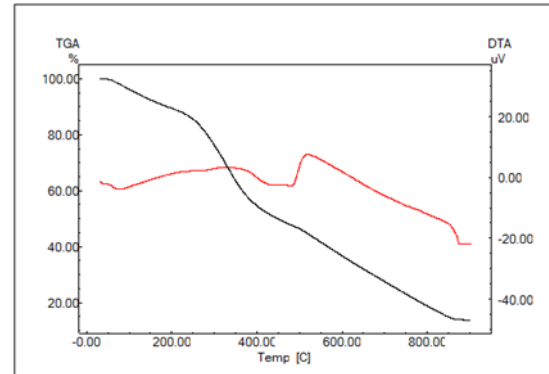
$$D = K\lambda / (\beta \cos\theta)$$

Benzer çalışmada bu eşitlik kullanılarak kristal partikül boyutu 18 nm olarak bulunmuştur (Vastrad, 2016).



Şekil 6. XRD analiz verileri

TGA eğrisi, sıcaklığın karşısında AgNP'ler kütle kaybını belirtir ve DTA eğrisinde de bozunmanın her kademesinde en yüksek ayrışma sıcaklığını belirtir (Şekil 7) (Baran M vd., 2018).



Şekil 7. TGA-DTA Analiz Sonucu Verileri

30-60 °C de kütle kaybının nemden kaynaklandığını, 60-148 °C de ki kütle kaybının hidratlaşmış sudan kaynaklandığını, 148-300 °C yeşil zeytin bitki özütünden gelen fitokimyasallardan meydana geldiğini ve 300-900 °C de ise organik yapının bozulduğunu şekil 5. de ki verilerde görülmektedir.

AgNP'lerin Anti-mikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi

Elde edilen AgNP'lerin patojen gram pozitif *S. aureus* ATCC 29213, gram negatif *E. coli* ATCC 25922 suşları ve *C. albicans* mayası üzerinde ticari antibiyotikler ve sentez aşamasında kullanılan gümüş nitrat çözeltisi ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bunlara nazaran daha düşük konsantrasyonlarda etkili bir anti-mikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür (Tablo 1). Yapılan benzer bir çalışmada *S. aureus* için $0.03 \cdot \text{g mL}^{-1}$, 0.013g mL^{-1} MİK değerleri olarak bulunmuştur (Ahmed vd., 2018).

Tablo 1. Sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) (mg mL^{-1}), gümüş nitrat çözeltisi ve vankomisin, flukonazol, colistin antibiyotiklerinin *S. aureus*, *S. Albicans* ve *E. coli* mikroorganizmaları üzerinde ki MIC değerleri.

Organizma	AgNP ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Antibiyotik ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Gümüş Nitrat ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
-----------	-----------------------------------	--	--

<i>S. Aureus</i> (ATCC29213)	0,1125	0,5	0,5
<i>E. coli</i> ATCC25922	0,0281	0,125	1
<i>C. albicans</i>	0,0281	0,125	1

Sonuç ve Öneriler

Çevre dostu, ucuz ve kolay bir yöntemle başarılı bir şekilde AgNP'ler sentezlenmiştir. Elde edilen bu partiküllerin 468 nm maksimum absorbansa sahip, 23.73 nm kristal boyuta sahip ve küresel görünümde olduğu tespit edilmiştir. Bu nano partiküllerin güçlü bir anti-mikrobiyal aktivite gösterdiği incelenmiş olup, anti mikrobiyal ajan arayışına geliştirilerek büyük katkı sağlayabilir. Aynı zamanda AgNP'lerin geniş kullanım yelpazesi düşünüldüğünde kozmetik, gıda endüstrisi, kataliz çalışmaları, bioremediasyon gibi birçok alanda bu ürünler kullanılabilir.

Kaynaklar

- Ahmed, S.W., Anwar, H., Shama, Siddiqui, A., Shah, M.R., Ahmed, A., Ali, S.A., 2018. Synthesis and chemosensing of nitrofurazone using olive oil based silver nanoparticles (O-AgNPs). *Sensors Actuators, B Chem.*
- Ali, K., Ahmed, B., Dwivedi, S., Saquib, Q., Al-Khedhairi, A.A., Musarrat, J., 2015. Microwave accelerated green synthesis of stable silver nanoparticles with Eucalyptus globulus leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activity on clinical isolates. *PLoS One* 10, 1–20.
- Baran M, F., Duz M, Z., Uzan, S., Dolak, brahim, Celik K, S., Kilinc, E., 2018. Removal of Hg(II) from Aqueous Solution by *Bacillus subtilis* ATCC 6051 (B1). *J. Bioprocess. Biotech.* 08, 1–7.
- Dubey, S.P., Lahtinen, M., Sillanpaa, M., 2010. Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa*. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 364, 34–41.
- El-Batal, A.I., Al-Hazmi, N.E., Mosallam, F.M., El-Sayyad, G.S., 2018. Biogenic synthesis of copper nanoparticles by natural polysaccharides and *Pleurotus ostreatus* fermented fenugreek using gamma rays with antioxidant and antimicrobial potential towards some wound pathogens. *Microb. Pathog.* 118, 159–169.
- Kumar, V., Singh, D.K., Mohan, S., Gundampati, R.K., Hasan, S.H., 2017. Photoinduced green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Physalis angulata* and its antibacterial and antioxidant activity. *J. Environ. Chem. Eng.* 5, 744–756.
- Owaid, M.N., Raman, J., Lakshmanan, H., Al-Saeedi, S.S.S., Sabaratnam, V., Ali Abed, I., 2015. Mycosynthesis of silver nanoparticles by *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* and its inhibitory effects against *Candida* sp. *Mater. Lett.* 153, 186–190.
- Saravanakumar, K., Chelliah, R., Shanmugam, S., Varukattu, N.B., Oh, D.H., Kathiresan, K., Wang, M.H., 2018. Green synthesis and characterization of biologically active nanosilver from seed extract of *Gardenia jasminoides* Ellis. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*

- Singh, A.K., Tiwari, R., Kumar, V., Singh, P., Riyazat Khadim, S.K., Tiwari, A., Srivastava, V., Hasan, S.H., Asthana, R.K., 2017. Photo-induced biosynthesis of silver nanoparticles from aqueous extract of *Dunaliella salina* and their anticancer potential. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 166, 202–211.
- Sreekanth, T.V.M., Jung, M.-J., Eom, I.-Y., 2016. Green synthesis of silver nanoparticles, decorated on graphene oxide nanosheets and their catalytic activity. *Appl. Surf. Sci.*
- Swamy, M.K., Akhtar, M.S., Mohanty, S.K., Sinniah, U.R., 2015. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using fruit extract of *Momordica cymbalaria* and assessment of their in vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 151, 939–944.
- Umamaheswari, C., Lakshmanan, A., Nagarajan, N.S., 2018. Green synthesis, characterization and catalytic degradation studies of gold nanoparticles against congo red and methyl orange. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 178, 33–39.
- Vastrad, J., 2016. Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Tridax Procumbens* 7, 2–6.
- Yasin, S., Liu, L., Yao, J., 2013. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Bamboo Leaves Extract and Their Antimicrobial Activity. *J. Fiber Bioeng. Informatics* 1, 77–84.

Teşekkür

Mardin artuklu üniversitesi bilimsel araştırma projesi (BAP) birimine MAÜ.BAP.18.SHMYO.032 nolu projeye desteğinden dolayı teşekkür ederiz.

Silver nanomaterial synthesis and antimicrobial applications

Extended abstract

The increasing use of nanoparticles is increasing the importance of synthesis of these particles. There are different synthesis methods. Methods of synthesis with biological sources are advantageous against other methods. Ease of operation, cheapness and lack of toxic chemicals are the main reasons for this. In this study, we successfully synthesized silver nanoparticles (AgNPs) using green olive leaf extract from Mardin Derik region. UV-Vis for monitoring the formation and presence of AgNPs. Spectrophotometer. We have values with a maximum peak of 468 nm. This data shows us the formation of the AgNPs with the resonances that are caused by the vibrations on the plasma surface. In this case, FTIR analysis of the liquid medium was performed. The groups participating in the reduction were evaluated. The AgNPs in the liquid medium were then precipitated using an ultra centrifuge. After a series of washes, dried for further characterization data. In the data obtained by XRD analysis, values of 37.97, 44.11, 64.36, and 77.22, respectively, of the peaks found in (111), (200), (220) and (311) show the elemental silver. In the SEM results, AgNPs were examined globally. In the EDX results, the peaks of the silver element show us a high percentage of silver. In TGA-DTA analysis, the decay temperature values of AgNPs were investigated.

The anti-microbial effects of the obtained AgNPs were evaluated by MIC (Minimum Inhibition Concentration) method. In this study, the inhibitory effect on the pathogen gram positive *S. aureus* ATCC 29213, gram negative *E. coli* ATCC 25922 strains and *C. albicans* yeast are significant. The antimicrobial effect of silver nitrate solution used in antibiotic and synthesis stages was compared with the same method. Compared to these, the anti-microbial effect of AgNPs showed lower concentrations.

As a result, AgNPs have been successfully synthesized in a short time with an environmentally friendly, cheap and simple method. In today's world, many people lose their lives due to hospital pathogens, and it can shed light on the search for anti-microbial agents to break the resistance they gain for these pathogens. Considering the use of AgNPs in many other areas, it is an important issue to consider in such a cheap, easy and environmentally friendly way. It is also possible to improve the method by varying concentration, temperature, pH and physical properties. Another important problem in today's world is waste. Wastewater can be treated with such a cheap method. It may increase the retention times by delaying the degradation of foods.

Keywords: *Eco-friendly, Silver nanoparticle, SEM-EDX, XRD, TGA-DTA*