



## Prunus avium kiraz yaprağı özütü ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi ve antimikrobiyal etkisinin incelenmesi

**Mehmet Fırat BARAN\***

Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,  
[mfiratbaran@gmail.com](mailto:mfiratbaran@gmail.com) ORCID: 0000-0001-8133-6670 Tel:05443204421

Geliş: 24.11.2018, Kabul Tarihi: 12.12.2018

### Öz

Çalışmada çevre dostu sentez yöntemi ile biyolojik kaynaktan (*Prunus avium* yaprak özütünden) yararlanarak AgNP'ler başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Ultraviyole/görünür ışık absorpsiyon spektrofotometresi (UV-vis), X-ışını kırınımı (XRD), termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz (TGA-DTA), Fourier transform infrared Spektroskopisi (FT-IR), taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve enerji dağılımlı X-ışını (EDAX) analizleri ile partiküller karakterize edilmiştir. Elde edilen bu partiküllerin mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisine bakıldı ve üremeleri üzerinde inhibe edici etki gösterdikleri tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Gümüş nanopartikül, SEM, XRD

\* Yazışmaların yapılacağı yazar

## Giriş

Nanoteknoloji, nano ölçekte metal ve metal oksit malzemelerin tasarlanması ve üretiminin incelenmesi sebebi ile 21 yüzyılın bilimleri arasında anahtar rolü oynamaktadır (Vishnukumar vd., 2018). Nano ölçekteki malzemelerin kullanım alanı oldukça yaygındır. Bunlar altın, gümüş, çinko, bakır, nikel, palladyum vs. olup medikal alanda, farmakolojide, optikte, elektronikte, yiyecek endüstrisinde, tekstilde, atık suların bioremidasyonunda ve tarımda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Board 2014;., Fernández vd., 2016; Azarang vd., 2014). Nanopartiküller farklı yöntemlerle sentezlenmektedirler. Bunlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerdir. Ancak fiziksel ve kimyasal yöntemler pahalı ve toksik kimyasallar içermesi sebebi ile dezavantajları yüksektir (Bhat vd. 2015; Geethalakshmi ve Sarada 2010). Biyolojik sentez oldukça ucuz, çevre dostu ve güvenli bir yöntemdir. Bu avantajları sayesinde daha fazla tercih edilmektedir (Latha vd., 2018). Biyolojik sentezde, bakteriler, funguslar, algler ve çeşitli bitkilerin farklı kaynaklarından yararlanılır (Nanda, vd., 2018). Çalışmada biyolojik sentez yöntemi kullanılarak atık durumundaki *Prunus avium* (kiraz) bitkisinin yaprak özütleri kullanılarak AgNP'ler sentezlenmiştir.

## Materyal ve Yöntem

### Bitki özütünün hazırlanması

*Prunus avium* bitkisinin yaprakları özüt hazırlamak için kullanılmıştır. Bitkinin yeşil yaprakları toplanmış ve bir dizi çeşme suyu ile yıkama işleminin ardından son olarak distile suyla yıkanarak oda ısısında kurutulmuştur. Kurutulmuş formdaki yaprakların boyutları küçültüldü ve 100 ml distile suda 5 dakika kaynatıldı. Ardından oda ısısında soğutuldu ve Whatman No.1 süzgeç kağıdı ile süzme işleminin ardından sentez için hazır hale getirildi.

### Gümüş nanopartiküllerin sentezi

1 mM  $AgNO_3$ 'ın sulu ortamı gümüş nanopartiküllerin sentezi için kullanılmıştır. Özüt ve çözelti 1:4 oranında karıştırıldı ve oda koşullarında bekletildi.

### UV-Vis. spektrofotometre ölçümü

$Ag^+ - Ag^0$  formuna indirgenmesinde SHIMADZU UV-3600 model UV-Vis. Spektrofotometre kullanılarak beşer dakikalık aralıklarla yapılan ölçümlerle gümüş nanopartiküllerin oluşumu gözlemlendi.

### FT-IR ölçümü

İndirgemeye katılan ve sorumlu olan fonksiyonel grupların değerlendirilmesi için Perkin elmer one model FTIR cihazı analizlerde kullanıldı.

### XRD analizi

RadB-DMAX II bilgisayar kontrollü X-ışını kırınım difraktometresi ile elde edilen nano partiküllerin X-ışınımı kırılım deseni ile kristal boyut analizi yapıldı.

### SEM ve EDAX analizi

Nanopartiküllerin görünümü ve gümüş element kompozisyonu EVO 40 LEQ Model cihaz ile yapıldı.

### Termogravimetrik ve differensiyel termal analiz (TGA-DTA)

Shimadzu TGA-60 H Model cihazı ile elde edilen AgNP'ler 25-900°C de TGA ve DTA sonuçları ile 10°C/dak ısıtma hızıyla  $N_2(g)$  atmosferinde 20 mL/dak akış hızıyla belirlendi.

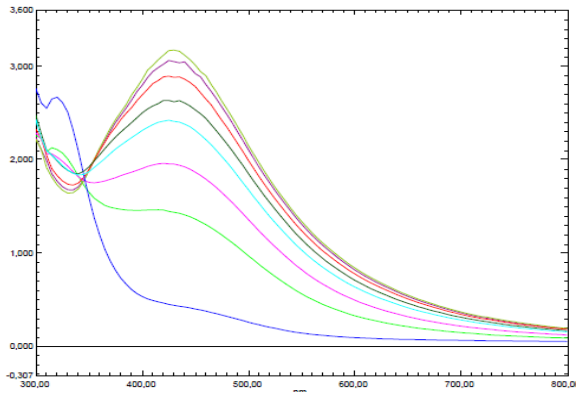
### Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi

Çalışmada antimikrobiyal aktivite hastane patojeni olan; gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, gram negatif *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterileri ve *Candida albicans* mayası üzerinde mikrodilüsyon yöntemi ile Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK) belirlenerek yapıldı. Çalışmada mikropilaka kuyucuklarına muller Hilton besiyeri, Mc Farland 0,5 konsantrasyona göre ayarlanmış

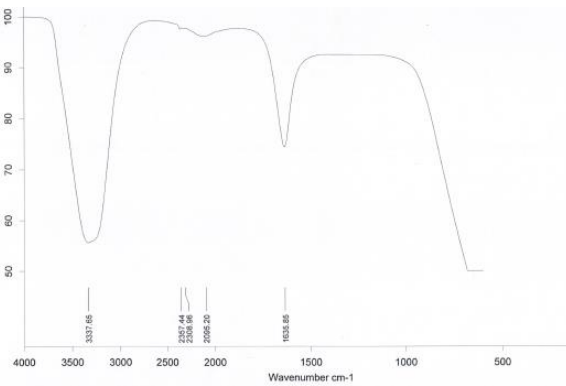
mikroorganizma solüsyonlarından ve AgNP çözeltisinden uygun miktarlarda eklenerek 37°C de inkübasyona bırakıldı ve sonrasında üremenin sonlandığı MİK belirlendi. Ayrıca karşılaştırma amaçlı *S.aureus*, *E.coli* ve *C.*

### Bulgular ve tartışma

Gümüş nanopartiküllerin oluşumu, plazma yüzeyindeki titreşimler meydana getirmesi ile çözeltinin rengini sarıdan kahverengiye doğru değiştirir bu durum nanopartiküllerin oluşumunu gösterir (Geethalakshmi ve Sarada 2010; Al-ogaidi vd., 2017). Çalışmada gözlemlenen renk değişimi ve UV-Vis. ölçümlerindeki 427 nm maksimum absorbansa sahip veriler bu oluşumu desteklemektedir (Şekil 1). Yeşil kahve ile yapılan çalışmada benzer absorbanslar görülmektedir (Wang vd. 2017).

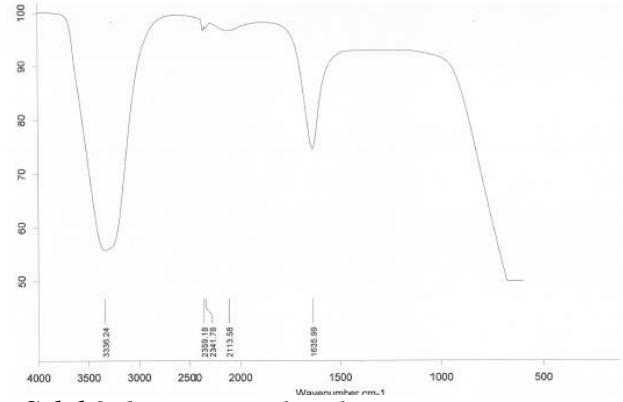


Şekil 1. Bitkisel kaynaklı sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis. spektrofotometresiyle AgNP'lerin oluşumu ve varlığının izlenmesi.



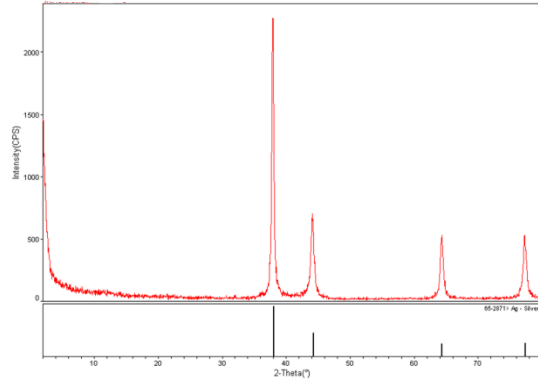
Şekil 2. a. FTIR analizi ile sentez öncesi indirgemede katılan foksiyonel grupların değerlendirilmesi.

*albicans* için verilen sıraya göre vankomisin, colistin ve flukanozol ticari antibiyotikleri ve 1 mM AgNO<sub>3</sub> 'ın sulu çözeltisi kullanıldı.

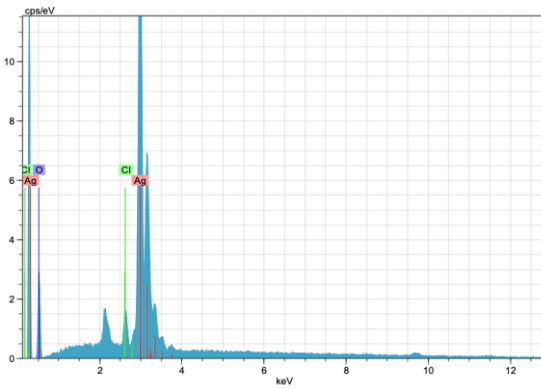
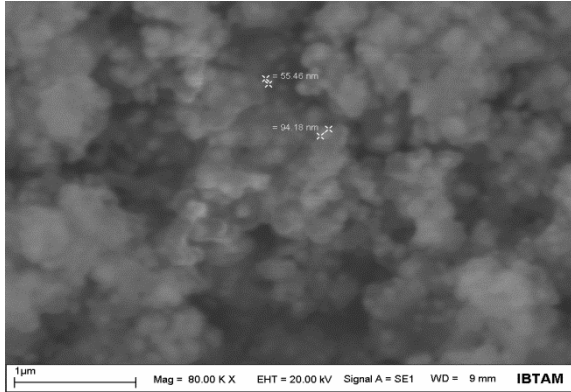
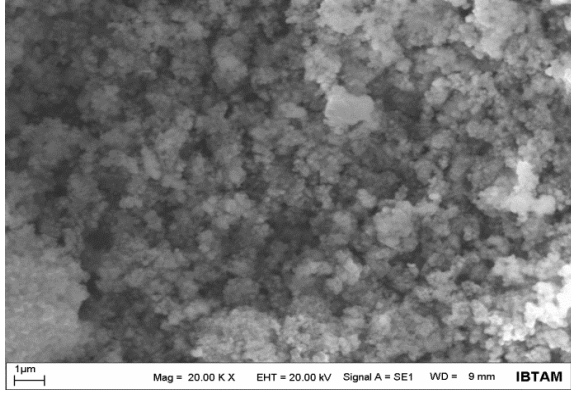


Şekil 2. b. FTIR analizi ile sentez sonrası indirgemede katılan foksiyonel grupların değerlendirilmesi.

Elde edilen AgNP'lerin X-ışınımı kırınımı değerlendirildi (Şekil 3.) ve 111, 200, 220 ve 311 deki gümüşe ait karakteristik pikler ( $2\theta$  da 37.97°, 44.11°, 64.36° ve 77.72° değerleri ile) gümüşün kristal yapısını gösterdi. *Sida cordifolia* bitki özütü ile yapılan sentez sonucu benzer veriler elde edildiği görülmüştür (Pallela vd., 2018).



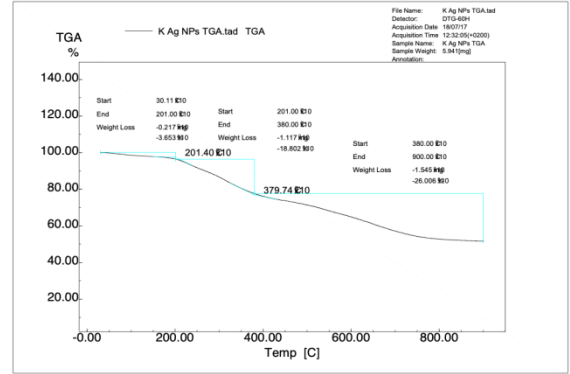
Şekil 3. Bitkisel kaynaklı sentezlenen AgNP'lerin XRD ile kristal yapısı ve gümüşe ait fazların değerlendirilmesi



Şekil 4. Bitkisel kaynaklı sentezlenen AgNP'lerin SEM/EDAX ile görünümü ve element kompozisyonu

AgNP'lerin SEM görüntüleri değerlendirildi ve küresel görünümde oldukları tespit edildi (Şekil 4). *Trianthema decandra* özütü ile partiküllerin ortalama 15 nm oldukları tespit edilmiştir (Geethalakshmi ve Sarada 2010). *Sterculia foetida* özütü ile 20-30 nm arasında değişen boyutlarda küresel görünümde nano partikülleri sentezlemiştir (Premkumar vd., 2018). Orkide özütü ile yapılan bir diğer çalışmada ise 15-40 nm arasında değişen küresel görünümlü AgNP'ler elde etmişlerdir (Gopinath vd., 2017).

TGA-DTA verilerinde nanopartiküllerin 25-201°C de kütle kaybının nereden olduğu 201-379 °C'de meydana gelen kütle kaybının ise özütten gelen fitokimyasalların sebep olduğu, 379-900°C de ise malzemenin bozulduğunu Şekil 5 de verilmiştir. Yapılan bir çalışmada PbO nanoparçacıklarının bozunma sıcaklıkları 50-800°C TGA verileri rapor edilmiştir (Yousefi vd., 2014).



Şekil 5. Bitkisel kaynaklı sentezlenen AgNP'lerin TGA –DTA bulguları

Son zamanlarda mikroorganizmalara karşı kullanılan antibiyotiklerin düzensiz kullanımı bu organizmaların direnç geliştirmesine neden olmuştur. Bu durum ticari olarak kullanılan ilaçların etkisinin zayıf iç kalmasına ya da hiç etki etmemesine neden olmaktadır. Alternatif antimikrobiyal ajanların aranması noktasında çevre dostu sentez ile elde edilen gümüş nanopartiküller anahtar rol oynayabilir. Çalışmada elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi değerlendirildi (Tablo 1.). Kullanılan antibiyotiklerden daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca 1 mM gümüş nitrat çözeltisinden de daha fazla antimikrobiyal etki göstermiştir. Yapılan çalışmada gram negatifler için 12.25 µg/ml ve gram pozitifler için 6.25 µg/ml konsantrasyonlarında etkili olduğunu rapor etmişlerdir (Pallela vd., 2018). Bir diğer çalışmada ise gram negatifler için 80-90 µg/ml gram pozitifler için ise 40-60 µg/ml olarak MİK değerlerini sonuç olarak bulmuşlardır (Patil vd., 2018). Başka bir

sentez çalışması sonrası antimikrobiyal etki ise negatif patojen için 10 µg/ml ve 7.5 µg/ml lik konsantrasyon ise pozitif mikroorganizmalar için MİK değerlerini vermişlerdir (Saravanakumar vd., 2018). Bir diğer çalışmada da sentezledikleri AgNP'lerin antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini görmüşlerdir (Premkumar vd., 2018).

Tablo 1. AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi µg/ml (MİK değerleri).

Organizma	AgNP	Antibiyotik	Gümüş Nitrat
<i>S. aureus</i> ATCC29213	0.0382	0,5	0,5
<i>E. coli</i> ATCC25922	0.1530	0,125	1
<i>C. albicans</i>	0.0191	0,5	0,5

## Kaynaklar

- Alsammarraie, F. K., Wang, W., Zhou, P., Mustapha, A., ve Lin, M. (2018) "Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities", *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 171, 398-405.
- Al-ogaidi, I., Salman, M. I., Mohammad, F I., Aguilar, Z., Al-ogaidi, M., Hadi, Y.A., Al-rhman ve R. M A. (2017) "Antibacterial and Cytotoxicity of Silver Nanoparticles Synthesized in Green and Black Tea", c. 5, sayı 1, ss. 39-45,
- Azarang M., A. Shuhaimi, Yousefi, R., Golsheikh, A. M. ve Sookhakian, M. (2014) "Synthesis and characterization of ZnO NPs/reduced graphene oxide nanocomposite prepared in gelatin medium as highly efficient photo-degradation of MB", *Ceram. Int.*, c. 40, sayı 7 part B, ss. 10217-10221,
- Bhat M. A., Nayak, B. K. ve Nanda, A. "Evaluation of Bactericidal Activity of

## Sonuç ve öneriler

Nanopartiküllerin çevre dostu sentez yöntemleri her geçen gün daha fazla ilgi görmektedir. Sentez de toksik kimyasallar içermemesi, üretimlerinin daha ucuz ve kolay olması biyolojik yöntemle sentezin büyük avantaj sağlamaktadır. Bizde bu durumları göz önüne alarak kiraz bitkisinin yapraklarından faydalandık ve ortalama 39.37 nm boyutlarda küresel biçimli AgNP'ler sentezledik. Elde edilen AgNP 'leri SEM/EDX, XRD, TGA-DTA, UV-vis ve FT-IR cihazlarıyla karakterize edildi. Sentezlenen nano partiküllerin antimikrobiyal etkisinin (MİK metodu ile) olduğunu gözlemledik. Bu çalışmada sentezlenen nanopartiküller, daha fazla geliştirilip medikal sanayide ve gıdaların daha uzun ömürlü olarak saklanması açısından antimikrobiyal etkisi ile katkı sağlayacaktır.

Biologically Synthesised Silver Nanoparticles from *Candida albicans* in Combination with Ciprofloxacin", *Mater. Today Proc.*, c. 2, sayı 9, ss. 4395-4401,

- Board R., (2014) "International Journal of Modern Engineering", c. 4, sayı 4, ss. 306-308,
- Francis S., Joseph, S., Koshy, E. P. ve Mathew, B. (2017) "Green synthesis and characterization of gold and silver nanoparticles using *Mussaenda glabrata* leaf extract and their environmental applications to dye degradation", *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 24:17347-17357.
- Fernandez, J. G., Fernandez-Baldo, A.M., Berni, E., Cami, G., Duran, N., Raba, J. and Sanz, M. I. (2016) "Production of silver nanoparticles using yeasts and evaluation of their antifungal activity against phyto pathogenic fungi", *Process Biochem.*, c. 51, sayı 9, ss. 1306-1313,
- Geethalakshmi R. ve Sarada, D. V. L. (2010) "23 Synthesis of plant-mediated

- silver nanoparticles using *Trianthema decandra* extract and evaluation of their anti microbial activities”, *Int. J. Eng. Sci. Technol.*, c. 2, sayı 5, ss. 970–975,
- Gopinath, K., Devi., N. P., Govindarajan, M., Bhagyaraj, K., Kumaraguru, S., Arumugam, A., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S and Benelli, G. (2017). “One-Pot Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using the Orchid Leaf Extracts of *Anoectochilus elatus*: Growth Inhibition Activity on Seven Microbial Pathogens”, *J. Clust. Sci.*, c. 28, sayı 3, ss. 1541–1550,
- Latha D., S. Sampurnam, C. Arulvasu, P. Prabu, Govindaraju, K. ve Narayanan, V. (2018). “Biosynthesis and characterization of gold nanoparticle from *Justicia adhatoda* and its catalytic activity”, *Mater. Today Proc.*, c. 5, sayı 2, ss. 8968–8972,
- Nanda A., Nayak, B. K. ve Krishnamoorthy, M. (2018) “Antimicrobial properties of biogenic silver nanoparticles synthesized from phylloplane fungus, *Aspergillus tamarii*”, *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, c. 16, sayı August, ss. 225–228,
- Pallela P. N. V. K., Ummey, S., Ruddaraju, L. K., Pammi, S. V. N. ve Yoon. S. G. (2018) “Ultra Small, mono dispersed green synthesized silver nanoparticles using aqueous extract of *Sida cordifolia* plant and investigation of antibacterial activity”, *Microb. Pathog.*, c. 124, sayı December 2017, ss. 63–69,
- Patil, M. P., Singh, R. D., Koli, P. B., Patil, K.T., Jagdale, B. S., Tipare, A. R. and Kim, G. D. (2018) “Antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized using *Madhuca longifolia* flower extract as a green resource”, *Microb. Pathog.*,
- Premkumar J., Sudhakar, T., Dhakal, A., Shrestha, J. B., Krishnakumar, S. ve Balashanmugam, P. “Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) from cinnamon against bacterial pathogens (2018).”, *Biocatal. Agric. Biotechnol.*,
- Saravanakumar K., Chelliah, R., Shanmugam, S., Varukattu, N. B., Oh, D.V., Kandasamy, K. and Wang, M. Y. (2018) “Green synthesis and characterization of biologically active nanosilver from seed extract of *Gardenia jasminoides* Ellis”, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 185 : 126–135
- Sreekanth T. V. M., Jung, M.-J. ve Eom. I.-Y. (2016) “Green synthesis of silver nanoparticles, decorated on graphene oxide nano sheets and their catalytic activity”, *Appl. Surf. Sci.*, 361:102–106.
- Vishnukumar P., Vivekanandhan, S., Misra, M. ve Mohanty A. K. (2018) “Recent advances and emerging opportunities in phytochemical synthesis of ZnO nanostructures”, *Mater. Sci. Semicond. Process.*, c. 80, sayı October 2017, ss. 143–161,
- Yousefi R., Zak, A. K., Sheini, F. J., Huang, N. M., Basirun, W. J. ve Sookhakian, M. (2014) “Synthesis and characterization of single crystal PbO nanoparticles in a gelatin medium”, *Ceram. Int.*, c. 40, sayı 8 PART A, ss. 11699–11703,
- Wang M., Zhang, W., Zheng, X. ve Zhu, P. (2017) “Antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles prepared by using an aqueous extract of green coffee bean as a reducing agent”, *RSC Adv.*, c. 7, sayı 20, ss. 12144–12149,

## Synthesis, characterization and antimicrobial applications of silver nanoparticles (AgNPs) with cherry (*Prunus avium*) leaf

### Extended abstract

In this study, AgNPs were successfully synthesized by using eco-friendly synthesis method from the biological source (*Prunus avium* leaf extract). Ultraviolet /visible light absorption spectrophotometer (UV-vis), X-ray diffraction (XRD) thermogravimetric and differential thermal analysis (TGA-DTA), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) scanning electron microscopy (SEM) and energy distribution. particles (EDAX) were characterized by particulates. The antimicrobial effect of these particles on microorganisms was investigated and it was determined that they had inhibitory effect on their reproduction. The UV-vis spectroscopy and X-ray analyses confirmed the formation of AgNPs. The formation of silver nanoparticles changes the color of the solution from yellow to brown by the formation of vibrations on the surface of the plasma, which indicates the formation of nanoparticles

The biogenic AgNPs showed the strong absorbance at 427 nm with surface plasmon resonance, and the average size of the AgNPs was estimated to be 39 nm when prepared at room temperature.

The average particle size was determined by using the Debye-Scherrer formula. Morphological structure of synthesized AgNPs and size of nanoparticles. It is

illuminated by SEM images. Images of the AgNPs were evaluated on SEM images and were found to be in global view. With the *Trianthema decandra* extract, the particles are seen to have an average of 15 nm. It gives information about degradation of nanoparticles in TGA-DTA data.

FT-IR spectroscopy analysis Hydroxyl and primary amide band were found to be the main functional groups involved in the reduction. The antibacterial activities of AgNPs against *S. aureus* (ATCC 25923) and *E. coli* (ATCC 25922) were analyzed by disc MIC method.

They were found to be moderately stable and had good antibacterial properties against Gram-positive Gram-negative as well as fungus microorganisms. A predetermined amount of silver nitrate solution (0.01 M) was added to freshly prepared *Prunus avium* extract solution containing 0.05 g grape seed extract in the total volume of the reaction solution of 100 mL. Nanotechnology In the pharmaceutical industry several applications including food packaging materials, personal care products It is used. Recently, the irregular use of antibiotics against microorganisms has caused these organisms to develop resistance. This situation causes the effects of the drugs used commercially to be weak or insufficient. Silver nanoparticles obtained by environmentally friendly synthesis can play a key role in the search for alternative antimicrobial agents. The antimicrobial activity of AgNPs obtained in the study was evaluated and they showed strong activity.

**Keywords:** *Silver nanoparticle, SEM, XRD.*