

Yara Örtü Materyallerinde Aktif Ajan Olarak Kullanılmak Üzere Jelatin Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

Zehra GÜN GÖK¹

¹ Kırıkkale Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Yahşıhan, Kırıkkale, Türkiye.

e-posta: zzehragunok@gmail.com ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6426-0395>

Geliş Tarihi: 02.03.2021

Kabul Tarihi: 31.10.2021

Öz

Bu çalışmada, yara örtü materyallerinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilir jelatin kaplı gümüş nanopartiküller (J-AgNPs) sentezlemek için jelatin proteini hem indirgeme hem de kaplama ajanı olarak kullanılmıştır. J-AgNPs sentezi için, %1'lik jelatin çözeltisi ile belirli derişimde AgNO₃ çözeltisi karıştırılmış ve karışım 2 saat boyunca 100 °C'de inkübe edilmiştir. J-AgNPs komplekslerinin 300 ile 600 nm arasındaki absorban spektrasi UV-Vis spektrofotometre ile ölçülerek, gözlemlenen yüzey plazmon pikleri ile AgNPs oluşumu tespit edilmiştir. J-AgNPs'lerin sudaki kararlılıkları ve boyutları Zetasizer ile incelenmiştir. Sentezlenen bütün J-AgNPs gruplarının zeta potansiyeli pozitif çıkmış ve zeta-boyutlarının 116,3-170 nm aralığında olduğu bulunmuştur. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizleri ile J-AgNPs'lerin kimyasal yapısı incelenmiş ve AgNPs'lerin çevresinde jelatin bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemeleri ile sentezlenen J-AgNPs'lerin morfolojilerinin küresel formda olduğu anlaşılmış ve SEM görüntüleri üzerinden yapılan enerji dağılım spektrometresi (EDS) analizleri ile J-AgNPs'lerin yapısında karbon, azot ve gümüş varlığı kanıtlanmıştır. X-Işını difraktometresi (XRD) analizi ile jelatinin amorf yapısı ve J-AgNPs'lerde metalik gümüş varlığı gösterilmiştir. Termogravimetrik analiz (TGA) sonuçlarına göre, J-AgNPs'lerin termal olarak saf jelatine göre daha kararlı olduğu ve 900 °C'nin sonunda arta kalan miktarının gümüş varlığı ile arttığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler

Jelatin; Gümüş nanopartikül; Yeşil sentez; Karakterizasyon; Antibakteriyel ajan

Synthesis and Characterization of Gelatin Coated Silver Nanoparticles for Use as Active Agent in Wound Dressing Materials

Abstract

In this study, gelatin protein was used both as a reducing agent and as a coating agent to synthesize gelatin coated silver nanoparticles (J-AgNPs) that can be used as an antimicrobial agent in dressing materials. For the synthesis of J-AgNPs, 1% gelatin solution and AgNO₃ solution of certain concentration were mixed and the mixture was incubated at 100 °C for 2 hours. By measuring the absorbance spectra of J-AgNPs complexes between 300 and 600 nm with UV-Vis spectrophotometer, AgNPs formation were detected with the observation of surface plasmon peaks. Stability and dimensions of J-AgNPs in water were examined with Zetasizer. The zeta potential of all synthesized J-AgNPs groups were found to be positive and zeta-dimensions were found to be in the range 116.3-170 nm. The chemical structure of J-AgNPs was examined by fourier transform infrared spectrophotometer (FTIR) analysis and it was shown that there was gelatin around AgNPs. It was understood that the morphologies of J-AgNPs synthesized by scanning electron microscopy (SEM) examinations were in spherical form, and the presence of carbon, nitrogen and silver in the structure of J-AgNPs was proved by energy dispersion spectrometry (EDS) analyzes made on SEM images. The amorphous structure of gelatin and the presence of metallic silver in J-AgNPs were shown by X-Ray diffractometer (XRD) analysis. According to the thermogravimetric analysis (TGA) results, it was observed that J-AgNPs were thermally more stable than pure gelatin and the remaining amount at the end of 900 °C increased with the presence of silver.

Keywords

Gelatin; Silver nanoparticle; Green synthesis; Characterization; Antibacterial agent.

1. Giriş

Günümüzde, nanomalzemelerin hazırlanması ve çeşitli alanlarda kullanılması güncel araştırma konularıdır. Yenilikçi nanomalzemeler, özellikle tıp alanında, yeni sensörlerin yapımında ve çevresel teknolojilerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküller (AgNPs'ler), yüksek antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle ticari olarak en ilgi çeken nanomalzemeler arasındadır. AgNPs'ler, yapay kalp kapakları, vasküler kateterler ve endoprotezler gibi tıbbi cihazlara antibakteriyel aktivite eklemek için kullanılmaktadır (Chen *et al.* 2008; Rai *et al.* 2009; Chaloupka *et al.* 2010; Sivera *et al.* 2014). Ayrıca, AgNPs'ler tekstil endüstrisinde de yaygın olarak kullanılmakta, kumaşlar AgNPs'lerle modifiye edilip ve antibakteriyel özelliğe sahip çoraplar, iç çamaşırları ve tişörtler gibi tekstil ürünleri elde edilmektedir (Lee *et al.* 2003; Ravindra *et al.* 2010). Bunların yanı sıra, AgNPs'ler suyu dezenfekte etmek için filtre kartuşlarının modifikasyonu için de kullanılmaktadır (Jain and Pradeep 2003; Inyang *et al.* 2013).

AgNPs'ler tipik olarak, bir gümüş öncüsünün kimyasal veya fiziksel araçlar kullanılarak indirgenmesine dayanan ıslak indirgeme yöntemleriyle sentezlenmektedir. Gümüş iyonları, sodyum borohidrit gibi güçlü indirgeyici maddelerle olduğu kadar sitrat veya şekerler gibi hafif indirgeyicilerle de indirgenebilmektedir. Gümüş iyonlarının indirgenmesi ayrıca mikrodalgalar, ultrason veya gama radyasyonu kullanılarak da sağlanabilmektedir (Sharma *et al.* 2009). Yaygın olarak "yeşil" yöntemler olarak adlandırılan biyolojik malzemeler, bitkiler, algler, bakteriler veya mantarlardan elde edilen özütleri kullanarak AgNPs'lerin sentezlendiği yöntemler de rapor edilmiştir (Kvitek *et al.* 2008; Thakkar *et al.* 2010).

Güvenliği ve verimliliği en üst düzeye çıkarmak ve AgNPs'lerin medikal uygulamalarda genotoksitesini ve sitotoksitesini en aza indirmek için yeşil kimya ilkelerinin AgNPs'lerin sentezinde uygulanmasına yönelik bir ilgi artışı olmuştur. AgNPs'lerin yeşil sentezinde göz önünde bulundurulması gereken üç önemli faktör şunlardır:

(i) yeşil çözücülerin kullanımı, (ii) çevre dostu iyi huylu bir indirgeme ajanı kullanımı ve (iii) toksik olmayan bir materyalin stabilizatör olarak kullanılmasıdır. AgNPs hazırlamak için yeşil yöntemlerden biri polisakkarit yöntemidir. Bu yöntemde, su normalde çevre dostu iyi huylu bir çözücü olarak ve polisakkaritler kaplama ve indirgeme ajanı maddeler olarak kullanılmaktadır (Mohan *et al.* 2014). Raveendran *et al.* (2003), AgNPs sentezi için ilk yeşil sentez yöntemini bildirmişler ve bu yöntemde sırasıyla çözücü, kaplama maddesi ve indirgeme maddesi olarak su, nişasta-glikoz kullanmışlardır. Bu yöntemin modifikasyonuna dayanarak, AgNPs'lerin sentezi için, indirgeyici ajan olarak birçok farklı biyolojik madde (ipek serisin, jelatin, kitosan vb.) kullanılmasıyla AgNPs'lerin sentezlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Nate *et al.* 2018; Gün Gök *et al.* 2020; Lavanya *et al.* 2020).

AgNPs'lerin zamanla kümelenerek büyük agregalar halinde çökmesi, kullanım alanlarını sınırlandırmaktadır. Çünkü, AgNPs'lerin kümelenerek çökmesi ile aktif yüzey alanları azalmakta ve dolayısıyla antimikrobiyal veya katalitik aktiviteleri gibi benzersiz özelliklerinde önemli bir azalmaya neden olan büyük agregaların oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Bundan dolayı, AgNPs'lerin özelliklerini geliştirmek ve yeni uygulamalarda kullanımlarını kolaylaştırmak için bu partiküllerin stabilize edilmesi gerekmektedir. Modifikasyon/stabilizasyon, elektriksel bir çift katmandan kaynaklanan elektrostatik itme ile veya polimerlerin yüzey katmanlarından kaynaklanan sterik itme ile elde edilebilmektedir. Elektrostatik stabilizasyon, yük bariyerinin gücünü artıran yüklü moleküller kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Sterik stabilizasyon, polimerlerin partikül yüzeylerine adsorbe edilmesiyle gerçekleştirilebilmektedir. Nanopartiküllerin stabilizasyonu için poli (vinilalkol), polietilen glikol, poliakrilonitril, polimetilmetakrilat ve poli (laktik asit) yaygın olarak kullanılan sentetik polimerlerdir. Bunların yanı sıra, kitosan, polisakkaritler ve jelatin gibi doğal polimerlerin inorganik nanopartiküllerin stabilizasyonu için kullanılmaktadır (Sivera *et al.* 2014).

Jelatin, doğal olarak bol miktarda bulunan bir biyopolimerdir ve kolajene benzer biyouyumluluğa ve biyolojik olarak parçalanabilirliğe sahip olduğu bilinmektedir. Jelatin, deri, kas ve kemik gibi hayvan dokularından ekstraksiyon yoluyla kolaylıkla elde edilebilir. Doğal bolluğu ve fizyolojik ortamlarda biyolojik olarak parçalanabilirliği nedeniyle jelatin, gıda, kozmetik, farmasötik ve tıbbi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Uygulamasına bağlı olarak jelatin, filmler, mikro veya nanopartiküller ve yoğun veya gözenekli hidrojeller dahil olmak üzere birçok formda üretilebilir (Rujitanaroj *et al.* 2008; Jeong and Park 2014).

Jelatin, pozitif ve negatif yüklü ve ayrıca kararlı bir şekilde katlanmış hidrofobik alanlar içermektedir. Jelatin, sterik bir bariyer oluşturarak yüzeyleri stabilize edebilir. Bu nedenle, jelatinin ana işlevi bir stabilizatör olmasıdır (Akbulut *et al.* 2008). Bu özelliğinden dolayı da jelatin, gıda işleme, ilaç endüstrisi, fotoğrafçılık ve elektrokimya gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Darroudi *et al.* 2011).

Bu çalışmanın amacı, çevre dostu bir yöntemle, jelatinin hem indirgeme hem de kaplama ajanı olarak kullanılmasıyla, kararlı AgNPs'lerin sentezlenmesinin ve karakterizasyonunun yapılmasıdır. Bu çalışma kapsamında, 5 farklı derişimde J-AgNPs sentezlenmiştir. Sentezlenen AgNPs'lerin kimyasal, boyut, morfolojik, kristal ve termal özellikleri incelenmiştir. İleri çalışmalarımızda, bu çalışma ile sentezlenen ve karakterize edilen J-AgNPs'lerin antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri incelenecek ve polimerik yara örtüsü malzemeleri içerisinde kullanılma kapasitesine sahip J-AgNPs grupları belirlenecektir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Deneysel çalışmalarda kullanılan jelatin (G2625) ve gümüş nitrat Sigma-Aldrich'ten (Almanya) temin edilmiştir. 0,45 µm'lik filtreler Merck Millipore'dan (Almanya) satın alınmıştır.

2.2. J-AgNPs Sentezi

J-AgNPs sentezi için, 1 g jelatin 100 mL suya eklenmiş ve jelatinin çözünmesi için karışım 40 °C'de 2 saat boyunca karıştırılmıştır (Mohan *et al.* 2014). 100 mM'lık AgNO₃ çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltiden belirli miktar AgNO₃, %1'lik jelatin çözeltisine eklenmiş ve çözeltinin son hacmi distile su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır. Jelatin çözeltisi içerisindeki AgNO₃ miktarı 1, 3, 5, 10 ve 20 mM olarak ayarlanmıştır. Sonrasında, her bir çözelti 50 mL'lik bir erlene aktarılıp manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiş ve çözeltiler yüksek hızda (800 rpm) karıştırılarak ısıtılmış ve 100 °C'de iki saat boyunca inkübe edilmiştir (Luo *et al.* 2019). Jelatin-AgNO₃ karışımlarında gözlemlenen sarı-kahverengi renk değişimi, Ag (I) iyonunun Ag (0)'a indirgenmiş olduğunu göstermektedir (Yue *et al.* 2014). Bu renk değişiminden sonra çözeltiler 8 saat boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir. Sonrasında elde edilen J-AgNPs içeren çözeltiler 0,45 µm'lik filtrelerden geçirilerek saflaştırılmıştır. J-AgNPs örnekleri karakterizasyon çalışmaları için +4°C'de muhafaza edilmiştir.

2.3. Sentezlenen J-AgNPs'lerin Karakterizasyonu

Sentezlenen J-AgNPs çözeltilerinin 300 ile 600 nm arasındaki absorpsanları UV-Vis spektrofotometre (PowerWave XS2 Microplate Spectrophotometer, BioTek, ABD) ile ölçülerek yüzey plazmon rezonan pikleri tespit edilmiştir. Sonikartörde bir müddet karıştırıldıktan sonra, J-AgNPs'lerin zeta potansiyeli ve boyutları ZetaSizer (Malvern Instruments, Malvern, UK) ile ölçülerek bulunmuştur. Jelatinin indirgeme ajanı olarak kullanılmasıyla sentezlenen J-AgNPs'lerin ve orijinal jelatinin kimyasal yapıları FTIR (Vertex 70V, Bruker) ile belirlenmiştir. Kurutularak toz haline getirilen J-AgNPs'lerin altın ile kaplandıktan sonra morfolojileri ODTÜ Merkez Araştırma Laboratuvarında bulunan FESEM cihazı (QUANTA 400F Field Emission SEM) ile araştırılmıştır. FESEM görüntüleri üzerinden EDS analizi ile J-AgNPs'lerin yapısında bulunan elementler incelenmiştir. J-AgNPs'ler kurutulup toz haline getirilmesinden sonra, J-AgNPs'lerin kristal yapıları ODTÜ Merkez Araştırma Laboratuvarında XRD cihazı (Rigaku Ultima-IV brand) ile 0-90° tarama

aralığında incelenmiştir. Yine toz haline getirilen J-AgNPs'lerin ve orijinal jelatinin termal özellikleri 25-900 °C arasında TGA (PerkinElmer) ile belirlenmiştir.

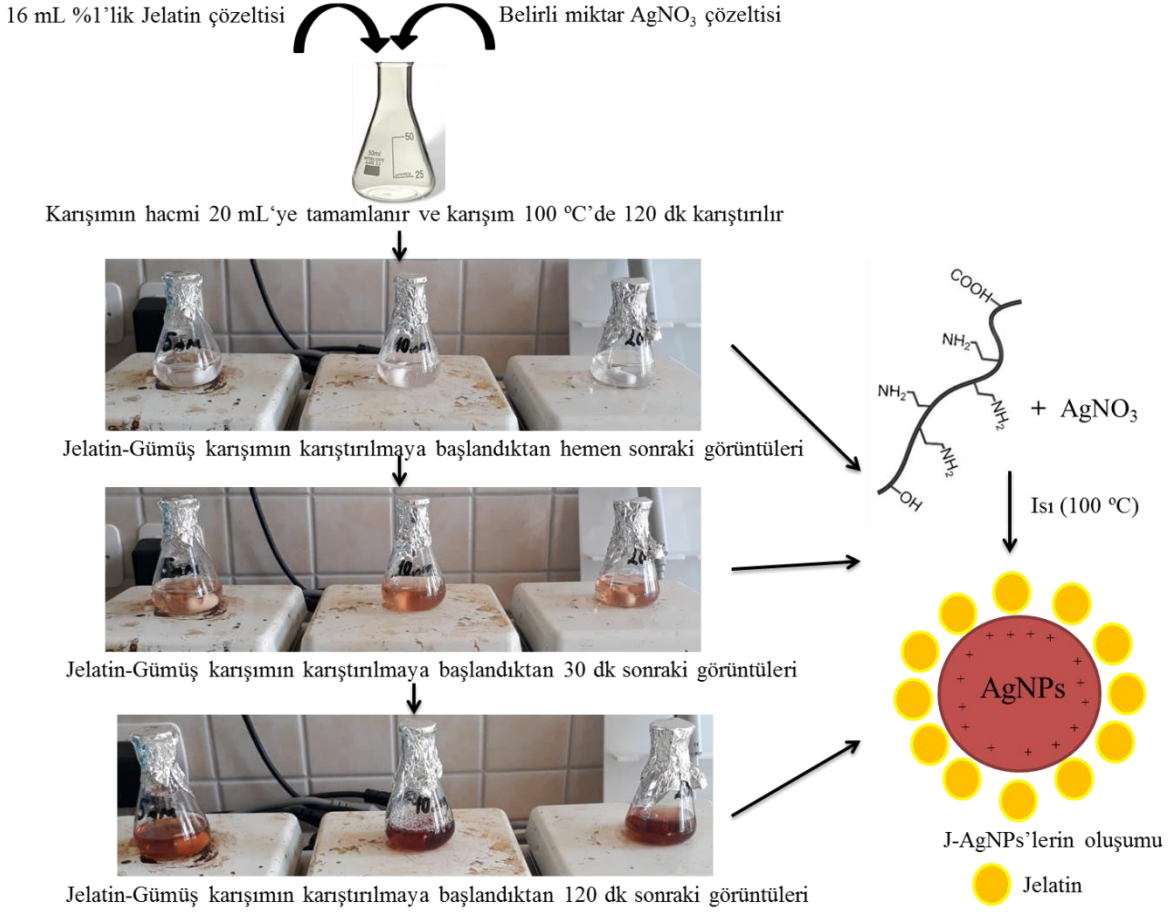
3. Bulgular ve Tartışma

3.1. J-AgNPs'lerin Sentezlenmesi

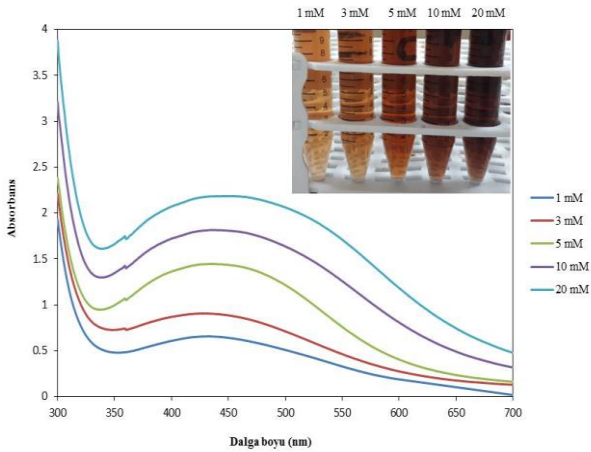
Literatürde bildirildiği gibi, AgNPs'ler deri, karaciğer, akciğer, beyin ve vasküler sistem dahil olmak üzere farklı dokulardan türetilen çeşitli memeli hücreleri için toksiktir (Dos Santos *et al.* 2014). Bu dezavantajların üstesinden gelmek için, biyopolimerlerden oluşan birçok biyo-uyumlu kaplama ve indirgeme ajanı, AgNPs'lerin oksidasyona, aglomerasyona ve çökelmeye karşı stabilitesini iyileştirmenin yanı sıra sitotoksiteyi azaltmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Luo *et al.* 2019). Bu çalışmada, jelatin çevre dostu, biyouyumlu ve gümüş iyonlarını indirgeme potansiyeline sahip fonksiyonel gruplara sahip olması nedeniyle AgNPs sentezi için indirgeyici ve stabilize edici bir madde olarak kullanılmıştır. J-AgNPs'lerin sentezlenme mekanizması Şekil 1'de verilmiştir. Belirli derişimde AgNO₃'ün %1'lik jelatin çözeltisiyle karıştırılması ve karışımın ısıtılmasıyla AgNPs'lerin sentezlenmeye başladığı renk değişimi ile görülmüştür. Jelatin ve AgNO₃ arasındaki reaksiyondaki Ag⁺/jelatin solüsyonlarının rengi, reaksiyon süresi arttıkça renksizden açık kahverengiye ve ardından koyu kahverengiye doğru değişimler göstermiş, bu da farklı partikül

boyutlarında jelatin kaplı AgNPs'lerin oluşumunu göstermektedir (Mohan *et al.* 2014).

Renk değişiminin yanı sıra, UV-Vis spektroskopisi, yoğun yüzey plazmon rezonansları nedeniyle metal NPs'lerin optik yanıtını karakterize etmek için kullanılan yöntemlerden biridir (Khanh *et al.* 2019). Sentezlenen J-AgNPs'lerin 300-600 nm arasındaki absorpsiyon spektrumları Şekil 2'de gösterilmektedir. 420 nm dalga boyunda gözlemlenen yüzey plazmon rezonans pikleri AgNPs'lerin sentezlendiğini göstermektedir çünkü AgNPs'ler sarı-kahverengi renge sahip 420-450 nm'de tipik absorpsiyon pikine sahip çözeltilerdir (Aramwit *et al.* 2014; Gün Gök *et al.* 2020). Tüm AgNO₃ konsantrasyonlarında (1, 3, 5, 20 ve 20 mM), farklı verimlerde J-AgNPs'lerin oluştuğu hem UV-Vis ölçümleriyle hem de renk değişimiyle gözlemlenmiştir. Jelatin, amino, hidroksil ve karboksil gibi polar birimlere sahiptir ve bundan dolayı, hidrofilik bir proteindir. Jelatin yapısında bulunan hidroksil gruplarının gümüş iyonları ile kompleksleşmesinin AgNPs'lerin bir araya toplanmasını veya çökmesini önlediği de düşünülmektedir (Shin *et al.* 2009). Bunun yanı sıra, jelatinin amino ve karboksilik grupları, AgNPs'lerin yüzey Ag atomları/iyonları ile koordine olmakta ve J-AgNPs'lerin biyolojik bir çözelti içinde aglomerasyona karşı stabilitesini artırmaktadır (Luo *et al.* 2019).



Şekil 1. Jelatin- AgNO_3 karışımın oluşturulması ve J-AgNPs'lerin oluşumunu gösteren şematik görüntü



Şekil 2. Sentezlenen J-AgNPs gruplarının UV-Vis spektrumları ve görüntüleri

3.2. J-AgNPs'lerin Boyutlarının ve Morfolojilerinin İncelenmesi

Sentezlenen J-AgNPs'lerin zeta potansiyelleri ve boyutları (Şekil 2 ve 3) Çizelge 1'de gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre tüm grupların zeta potansiyelinin pozitif olduğu anlaşılmaktadır. Bu sonuç, sentezlenen J-AgNPs'lerin pozitif yüzey yüküne sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu sonuçlar,

sentezlenen partiküllerin, pozitif yüzey yükleri sayesinde birbirini itmesi nedeniyle sıvı bir solüsyonda yüksek stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir (Gün Gök *et al.* 2021a). Ayrıca, pozitif zeta potansiyeli kaplama malzemesinin (jelatinin) stabilizatör etkisini de ortaya koymaktadır. Çünkü pozitif yüzey yükü her polimer zincirinin birbirini ittiği ve böylece çevreledikleri AgNPs'lerin bir araya gelerek kümelenmesini engellediği bilinmektedir (Farhadi *et al.* 2017; Seong *et al.* 2017). J-AgNPs'lerin hidrodinamik çapları incelendiğinde, Ag konsantrasyonu arttıkça hidrodinamik çapın önce azaldığı, sonrasında birbirine yakın olduğu görülmüştür.

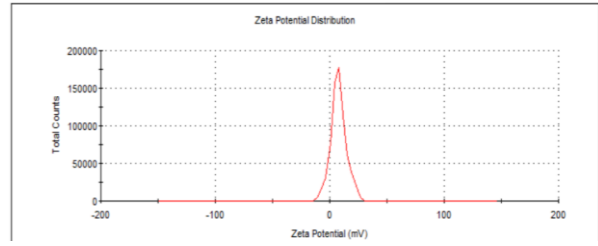
Çizelge 1. Sentezlenen J-AgNPs'lerin zeta potansiyeli ve boyutları

Örnekler	Zeta Potansiyeli (mV)	Boyut (nm)
1 mM J-AgNPs	7,70	170
3 mM J-AgNPs	7,76	124,4
5 mM J-AgNPs	8,24	116,3
10 mM J-AgNPs	7,33	125,1
20 mM J-AgNPs	7,57	139,5

Şekil 5'te jelatinin ve sentezlenen J-AgNPs'lerin FESEM görüntüleri verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde, elde edilen nanopartiküllerin küresel formda olduğu ve Ag derişiminin artması ile daha fazla AgNPs'nin görüntülediği tespit edilmiştir. Ayrıca SEM görüntülerinden, sentezlenen AgNPs'lerin herhangi bir kümelenme ya da aglomerasyon olmadan tekdüze bir dağılım gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu sonuçta stabilizatör olarak jelatinin etkisini ortaya koymaktadır. Şekil 6'da 10 mM J-AgNPs grubunun daha yüksek büyütmelede FESEM görüntüsü ve bunun yanı sıra FESEM görüntüsü üzerinden alınan EDS analizi verilmiştir. Yüksek büyütmeledeki FESEM görüntülerinden, J-AgNPs'lerin küresel görüntüsü ve düzgün dağılımı daha iyi anlaşılmaktadır. EDS analizinde J-AgNPs'lerin elementel olarak karbon, azot, oksijen ve gümüş içerdiği görülmektedir. AgNPs'lerin EDS spektrumu, Ag ve tüm beklenen elementlerin varlığını göstermektedir. Özellikle 3 keV'de güçlü sinyaller incelendiğinde, bunlar Ag atomlarına ait olduklarının ve jelatinin indirgeme ajanı olarak kullanılmasıyla oluşan metal AgNPs'lere ait olduğu belirlenmiştir (Anjum *et al.* 2017; Gün Gök *et al.* 2021b). Bunun yanı sıra, EDS analizi ile, sentezlenen J-AgNPs'lerin herhangi bir yabancı madde içermediği de gösterilmiştir. C, O ve N pikleri de jelatininin AgNPs sentezi sırasında kullanıldığının kanıtıdır.

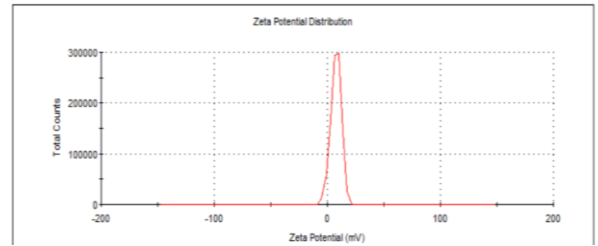
Zeta Potential (mV): 7,70
Zeta Deviation (mV): 6,75
Conductivity (mS/cm): 0,627
Result quality : Good

Peak 1: 7,70	100,0	6,75
Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Peak 3: 0,00	0,0	0,00



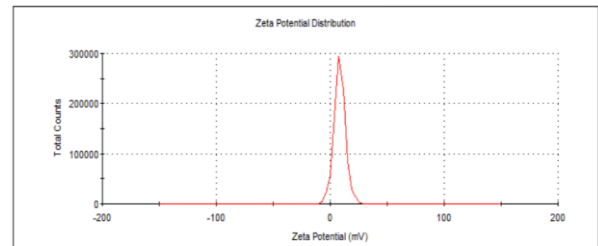
Zeta Potential (mV): 7,76
Zeta Deviation (mV): 4,54
Conductivity (mS/cm): 0,843
Result quality : Good

Peak 1: 7,76	100,0	4,54
Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Peak 3: 0,00	0,0	0,00



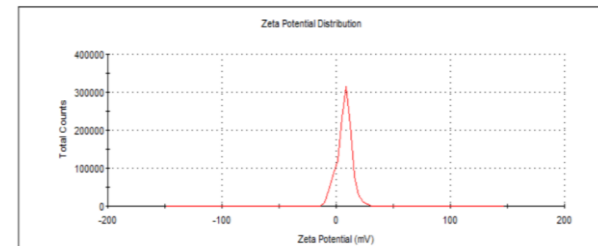
Zeta Potential (mV): 8,24
Zeta Deviation (mV): 5,17
Conductivity (mS/cm): 1,13
Result quality : Good

Peak 1: 8,24	100,0	5,17
Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Peak 3: 0,00	0,0	0,00



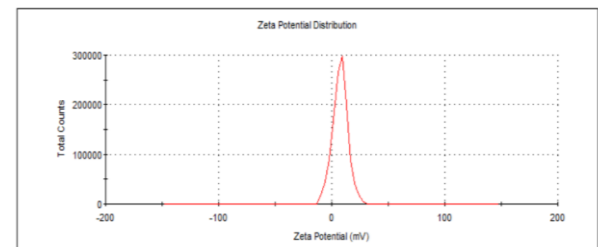
Zeta Potential (mV): 7,33
Zeta Deviation (mV): 6,42
Conductivity (mS/cm): 1,64
Result quality : Good

Peak 1: 7,33	100,0	6,42
Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Peak 3: 0,00	0,0	0,00

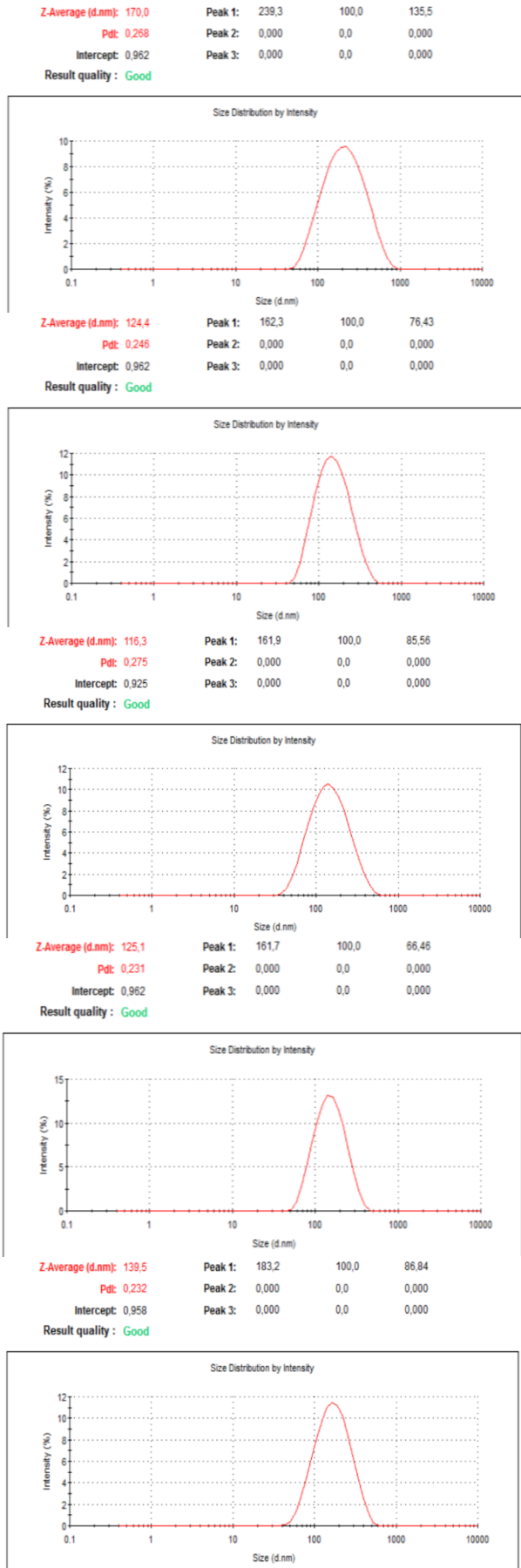


Zeta Potential (mV): 7,57
Zeta Deviation (mV): 6,73
Conductivity (mS/cm): 2,88
Result quality : Good

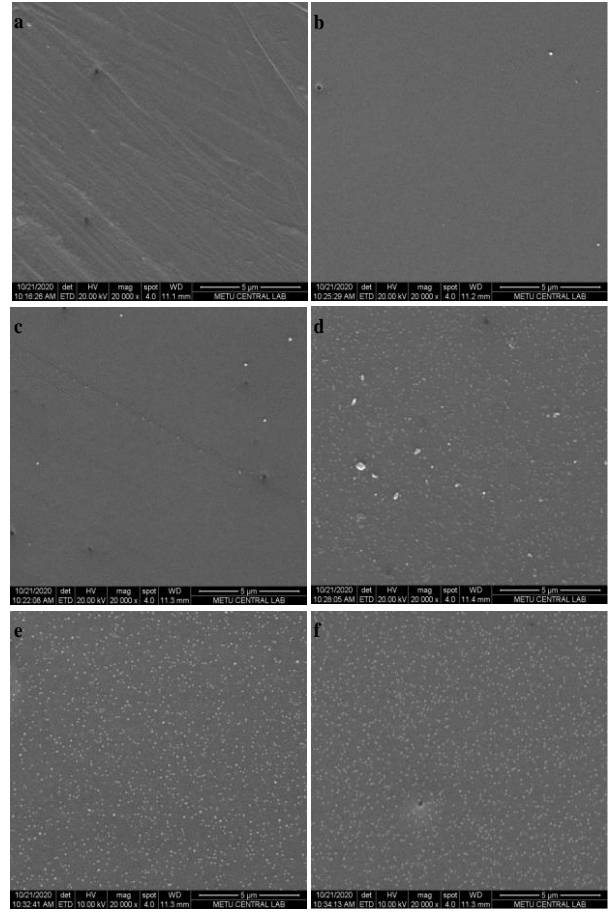
Peak 1: 7,57	100,0	6,73
Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Peak 3: 0,00	0,0	0,00



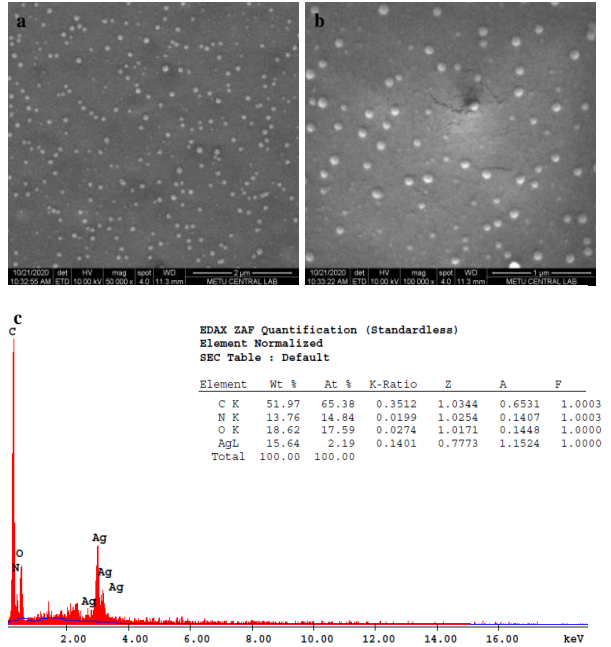
Şekil 3. J-AgNPs'lerin zeta-potansiyel dağılımları (üstten alta doğru: 1, 3, 5, 10 ve 20 mM J-AgNPs)



Şekil 4. J-AgNPs'lerin zeta-boyut dağılımları (üstten alta doğru: 1, 3, 5, 10 ve 20 mM J-AgNPs)



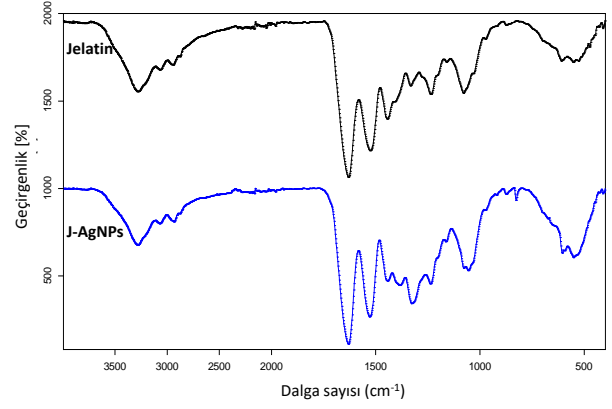
Şekil 5. Jelatinin (a) ve sentezlenen J-AgNPs'lerin FESEM görüntüleri (b: 1 mM, c: 3 mM, d: 5 mM, e: 10 mM ve f: 20 mM)



Şekil 6. 10 mM J-AgNPs grubun farklı büyütmelede FESEM görüntüleri (a, b) ve FESEM görüntüsü üzerinden elde edilen EDS analizi (c)

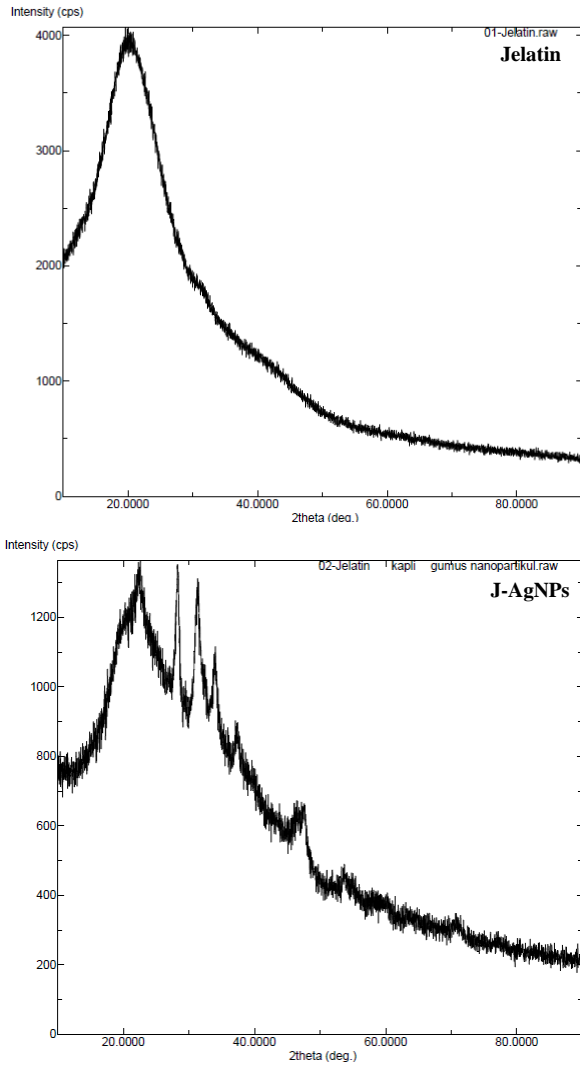
3.3. J-AgNPs'lerin Kimyasal ve Kristal Yapılarının İncelenmesi

J-AgNPs'lerin yüzey kimyası, AgNPs'lerin jelatin ile kaplandığını kanıtlamak için FTIR spektroskopisi kullanılarak araştırılmış ve Şekil 7'de jelatinin ve sentezlenen J-AgNPs'lerin FTIR spektrumları verilmiştir. Proteinler, amit bağları ile birbirine bağlanmış amino asitlerden oluşmaktadır. Polipeptit ve protein tekrar birimleri, dokuz karakteristik kızılötesi (IR) absorpsiyon bandına yol açmaktadır (amit A, B ve I-VII) (Kong and Yu 2007). Amid bantları, peptid bağının farklı titreşim modlarını temsil etmektedir. IR spektrumlarında jelatinin absorpsiyon bantları amit bandı bölgesinde yer almaktadır. Amit-I, COO gruplarının C=O gerilmeleri ile ilgilidir. Amit-II NH gruplarının titreşimini ve CN gruplarının gerilme titreşimlerini temsil etmekte ve Amit-III, bağlı amitin CN ve NH gruplarının düzlemindeki titreşimleri ile ilgilidir (Nur Hanani *et al.* 2011). Orijinal jelatinin FTIR spektrumuna baktığımızda, 1657 cm^{-1} 'deki bant, amid I'in kuvvetli C=O gerilmesine karşılık gelmektedir. 1527 cm^{-1} 'deki bant, amid II'nin NH bükülmesi ve CN gerilmesine ve 1236 cm^{-1} 'deki pik de amit III'ün NH bükülmesi ve CN gerilmesine atfedilmektedir. 1333-1444 cm^{-1} 'deki pikler ise metil grubunun simetrik ve asimetrik gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. 2870 ve 2959 cm^{-1} 'deki pikler, C-H gruplarından ve 3284 cm^{-1} 'deki geniş tepe O-H gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Mohan *et al.* 2014). Bu piklerin hepsi J-AgNPs'lerin spektrumunda da görülmüştür. Bu piklerin J-AgNPs'nin yapısında da olması jelatinin AgNPs'lerin çevresinde olduğunu kanıtlar. Bunun yanı sıra, jelatin spektrumundan farklı olarak, J-AgNPs spektrumunda 1385 cm^{-1} ve 827 cm^{-1} 'de sırasıyla karboksilat ve amin tuzu piklerinin oluştuğu görülmüştür (Gün Gök *et al.* 2020). Jelatinin gümüş ile karıştırılması ve ısıtılması ile açığa çıkan karboksilat grupları (COO^-) gümüşün AgNPs'lere indirgenmesinde görev almaktadır. FTIR analizi ile, gümüş iyonlarının jelatin tarafından AgNPs'lere indirgeme mekanizması aydınlatılmıştır.



Şekil 7. Jelatinin ve sentezlenen J-AgNPs'lerin (10 mM) FTIR spektrumları

Şekil 8'de jelatinin ve sentezlenen J-AgNPs'lerin XRD spektrumları verilmiştir. Jelatinin XRD spektrumuna baktığımızda, 15° ve 25° arasındaki geniş tepe, jelatinin amorf ve sarmal yapısından kaynaklanmaktadır (Luo *et al.* 2019). Bu geniş pik kaplama ajanı olarak jelatinin kullanıldığından dolayı J-AgNPs'lerin XRD spektrumunda da vardır. Ancak bu geniş tepe noktasının yanında, J-AgNPs'lerin XRD spektrumunda, 37.11°, 47.57°, 58.9° ve 70.7° değerlerinde dört kırınım zirvesi gözlemlenmiştir. Gözlemlenen XRD pikleri metalik gümüşün kristal yapısının (111), (200), (220) ve (311) kristalografik düzlemlerine karşılık gelmektedir (Mohan *et al.* 2014; Luo *et al.* 2019; Gün Gök *et al.* 2021a). Bu sonuçta, jelatin ile gümüşün AgNPs'lere indirgenişinin göstergesidir.

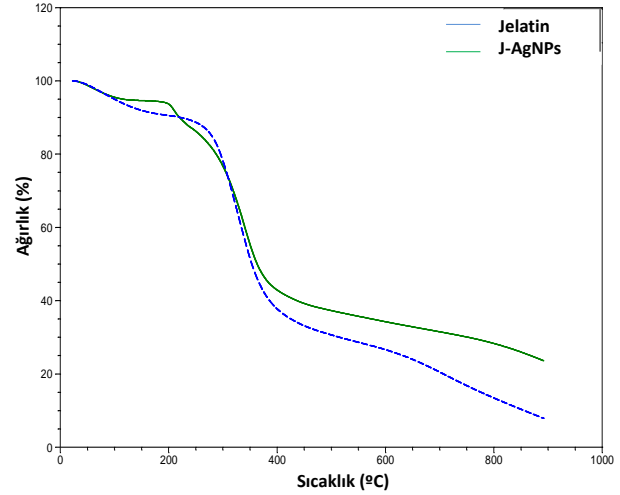


Şekil 8. Jelatinin ve sentezlenen J-AgNPs'lerin (10 mM) XRD spektrumları

3.4. J-AgNPs'lerin Termal Özellikleri

Orijinal jelatinin ve J-AgNPs'lerin termal özellikleri TGA ile incelenmiş ve elde edilen TGA termogramları Şekil 9'da verilmiştir. TGA sonuçlarına göre hem jelatin hem de J-AgNPs örnekleri 3 basamakta termal bozunmaya uğramıştır. Başlangıçta, jelatinin yapısında bulunan nemin buharlaşması nedeniyle 25-200 °C sıcaklıklarda saf jelatin ve J-AgNPs için ağırlığın %5-13'ü azalmıştır. İkinci termal bozunma adımı, 200-550 °C sıcaklık aralığında gerçekleşmiştir. Bu basamakta, polimer matris olarak kullanılan jelatinin termal ayrışmasına bağlı olarak, saf jelatin için yaklaşık 324 °C'lik ve J-AgNPs için 340 °C'lik bir maksimum ayrışma sıcaklığında büyük bozulma basamağı gözlemlenmiştir (Bang *et al.* 2019). 900 °C'nin sonunda arta kalan miktarlara baktığımızda ise, saf jelatin için %8 civarında iken, J-AgNPs örneği

için kalıntı miktarının %23 civarında olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak, jelatinin termal stabilitesi polimere AgNO₃ eklenmesiyle değiştiği görülmüştür. Ayrıca yapıdaki Ag nedeniyle 900 °C sonunda artan kalıntı miktarında artış olmuştur. Bizim bulgumuza benzer sonuçlar çeşitli kaplama ajanlarıyla AgNPs'lerin sentezlendiği diğer çalışmalarda da rapor edilmiştir (Goel *et al.* 2019; Gün Gök *et al.* 2021a).



Şekil 9. Jelatinin ve sentezlenen J-AgNPs'lerin (10 mM) TGA termogramları

4. Sonuç

Bu çalışmada, yeşil sentez yöntemiyle, jelatin polimerinin indirgeyici ve kaplama ajanı olarak kullanılmasıyla farklı derişimlerde J-AgNPs'ler başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Gümüş nitrat çözeltisinin konsantrasyonunun artmasıyla J-AgNPs oluşumun arttığı yapılan UV-Vis spektrofotometre analizleriyle belirlenmiştir. Sentezlenen J-AgNPs'lerin zeta-potansiyellerinin pozitif olduğu bulunmuştur, buda sentezlenen nanopartiküllerin sulu çözeltide kararlı olduğunu göstermektedir. Sentezlenen J-AgNPs'lerin zeta-boyutlarının 116,3-170 nm nm arasında değiştiği yapılan analizlerle bulunmuştur. Yapılan SEM analizleri ile J-AgNPs'lerin küresel formda olduğu görülmüş ve EDS analizi ile yapıdaki gümüş varlığı kanıtlanmıştır. FTIR analizlerine göre, jelatinin yapısında bulunan COOH gruplarının COO-'ye dönüştüğü gösterilmiş ve bu grupların gümüş iyonunun gümüş nanopartiküllere indirgenmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. XRD analizleri ile metalik

gümüşün kristalografik düzlemlerine karşılık gelen kırınım lar görülmüş ve jelatin ile gümüş iyonlarının AgNPs'lere indirgen di ğ i görülmüştür. TGA analizleri ile J-AgNPs'lerin orijinal jelatine göre termal kararlılı ğ ının arttı ğ ı ve AgNPs'lerin varlı ğ ı sayesinde 900 °C sonunda arta kalan miktarda artış oldu ğ u görülmüştür. İleri çalışmalarla antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri incelenecek olan J-AgNPs'lerin yara örtü materyallerinde biyoaktif ajan olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılacaktır.

Teřekkür

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi bünyesinde bulunan laboratuvarlarda gerçekteşirilmüştir. Desteklerinden dolayı Kırıkkale Üniversitesi teşekkür ederim.

5. Kaynaklar

- Akbulut, M., Reddy, N.K., Bechtloff, B., Koltzenburg, S., Vermont, J. and Prudhomme, R.K., 2008. Flow-induced conformational changes in gelatin structure and colloidal stabilization. *Langmuir*, **24**, 9636-9641. <https://doi.org/10.1021/la800487b>
- Anjum, S., Gupta, A., Sharma, D., Kumari, S., Sahariah, P., Bora, J., Bhan, S. and Gupta, B., 2017. Antimicrobial nature and healing behavior of plasma functionalized polyester sutures. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, **32(3)**, 263-279. <https://doi.org/10.1177/088391151666866>
- Aramwit, P., Bang, N., Ratanavaraporn, J. and Ekgasit, S., 2014. Green synthesis of silk sericin-capped silver nanoparticles and their potent anti-bacterial activity. *Nanoscale Research Letters*, **9**, 79. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-79>
- Bang, Y.J., Shankar, S. and Rhim, J.W., 2019. In situ synthesis of multi-functional gelatin/resorcinol/silver nanoparticles composite films. *Food Packaging and Shelf Life*, **22**, 100399. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100399>
- Chaloupka, K., Malam, Y. and Seifalian, A.M., 2010. Nanosilver as a new generation of nanoprod uct in biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, **28**, 580-588. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.07.006>
- Chen, X. and Schluesener, H.J., 2008. Nanosilver: a nanoprod uct in medical application. *Toxicology Letter*, **176**, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004>
- Darroudi, M., Ahmad, M.B., Abdullah, A.H. and Ibrahim, N.A., 2011. Green synthesis and characterization of gelatin-based and sugar-reduced silver nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, **6**, 569-574. <https://doi.org/0.2147/IJN.S16867>
- Dos Santos, C.A., Seckler, M.M., Ingle, A.P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., Gade, A., Rai, M., 2014. Silver nanoparticles: therapeutical uses, toxicity, and safety issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **103**, 1931-1944. <https://doi.org/10.1002/jps.24001>
- Farhadi, S., Ajerloo, B. and Mohammadi, A., 2017. Green Biosynthesis of Spherical Silver Nanoparticles by Using Date Palm (Phoenix Dactylifera) Fruit Extract and Study of Their Antibacterial and Catalytic Activities. *Acta Chimica Slovenica*, **64**, 129-143. <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2956>
- Goel, A., Meher, M.K., Gupta, P., Gulati, K., Pruthi, V. and Poluri, K.M., 2019. Microwave assisted κ -carrageenan capped silver nanocomposites for eradication of bacterial biofilms. *Carbohydrate Polymers*, **206**, 854-862. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.033>
- Gün Gök, Z., Günay, K., Arslan, M., Yi ğ ito ğ lu, M. and Vargel, İ., 2020. Coating of modified poly(ethylene terephthalate) fibers with sericin-capped silver nanoparticles for antimicrobial application. *Polymer Bulletin*, **77**, 1649-1665. <https://doi.org/10.1007/s00289-019-02820-0>
- Gün Gök, Z., Karayel, M. and Yi ğ ito ğ lu, M., 2021a. Synthesis of carrageenan coated silver nanoparticles by an easy green method and their characterization and antimicrobial activities. *Research on Chemical Intermediates*, <https://doi.org/10.1007/s11164-021-04399-6>
- Gün Gök, Z., Yi ğ ito ğ lu, M., Vargel, İ., şahin, Y. and Alçı ğ r, M.E., 2021b. Synthesis, characterization and wound healing ability of PET based nanofiber dressing material coated with silk sericin capped-silver nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, **259**, 124043. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.124043>
- Inyang, M., Gao, B., Wu, L., Yao, Y., Zhang, M. and Lin, L., 2013. Filtration of engineered nanoparticles in carbon-based fixed bed columns. *Chemical Engineering Journal*, **220**, 221-227. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.01.054>
- Jain, P. and Pradeep, T., 2005. Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter. *Biotechnology and*

- Bioengineering*, **90**, 59-63. <https://doi.org/10.1002/bit.20368>
- Khanh, L.L., Truc, N.T., Dat, N.T., Nghi, N.T.P., Toi, V., Hoai, N.T.T., Quyen, T.N., Loan, T.T.T. and Hiep, N.T., 2019. Gelatin-stabilized composites of silver nanoparticles and curcumin: characterization, antibacterial and antioxidant study. *Science and Technology of Advanced Materials*, **20**, 276-290. <https://doi.org/10.1080/14686996.2019.1585131>
- Kong, J. and Yu, S., 2007. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, **39**, 549-59. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>
- Lavanya, K., Kalaimurugan, D., Shivakumar, M.S. and Venkatesan, S., 2020. Gelatin Stabilized Silver Nanoparticle Provides Higher Antimicrobial Efficiency as Against Chemically Synthesized Silver Nanoparticle. *Journal of Cluster Science*, **31**, 265-275. <https://doi.org/10.1007/s10876-019-01644-2>
- Lee, H., Yeo, S. and Jeong, S., 2003. Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics. *Journal of Materials Science*, **8**, 2199-2204. <https://doi.org/10.1023/A:1023736416361>
- Luo, L.J., Lin, T.Y., Yao, C.H., Kuo, P.Y., Matsusaki, M., Harroun, S.G., Huang, C.C. and Lai, J.Y., 2019. Dual-functional gelatin-capped silver nanoparticles for antibacterial and antiangiogenic treatment of bacterial keratitis. *Journal of Colloid and Interface Science*, **536**, 112-126. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.10.041>
- Mohan, S., Oluwafemi, S.O., George, S.C., Jayachandran, V.P., Lewu, F.B., Songca, S.P., Kalarikkal, N. and Thomas, S., 2014. Completely green synthesis of dextrose reduced silver nanoparticles, its antimicrobial and sensing properties. *Carbohydrate Polymers*, **106**, 469-474. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.008>
- Naten, Z., Moloto, M.J., Mubiayi, P.K. and Sibiyi, P.N., 2018. Green synthesis of chitosan capped silver nanoparticles and their antimicrobial activity. *MRS Advances*, **3(42-43)**, 1-13. <https://doi.org/10.1557/adv.2018.368>
- Nur Hanani, Z.A., Roos, Y.H. and Kerry, J.P., 2011. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic analysis of biodegradable gelatin films immersed in water. International Congress on Engineering and Food, Proceedings, 1-4. <http://www.icef11.org/content/papers/aft/AFT988.pdf>
- Rai, M., Yadav, A. and Gade, A., 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, **27**, 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>
- Raveendran, P., Fu, J. and Wallen, S.L., 2003. Completely green synthesis and sta-bilization of metal nanoparticles. *Journal of American Chemical Society*, **125**, 13940-13941. <https://doi.org/10.1021/ja029267j>
- Ravindra, S., Murali Mohan, Y., Narayana Reddy, N. and Mohana Raju, K., 2010. Fabrication of antibacterial cotton fibres loaded with silver nanoparticles via "Green Approach." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **367**, 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.06.013>
- Rujitanaroj, P.O., Pimpha, N. and Supaphol, P., 2008. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. *Polymer*, **49**, 4723-4732. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.08.021>
- Seong, M. and Lee, D.G. 2017. Silver Nanoparticles Against Salmonella enterica Serotype Typhimurium: Role of Inner Membrane Dysfunction. *Current Microbiology*, **74(6)**, 661-670. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1235-9>
- 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**, 83-96. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002>
- Shin, Y., Bae, I.T. and Exarhos, G.J., 2009. "Green" approach for self-assembly of platinum nanoparticles into nanowires in aqueous glucose solutions. *Colloids Surface A*, **348**, 191-195. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.07.013>
- Sivera, M., Kvitek, L. Soukupova, J., Panacek, A., Prucek, R. Vecerova, R. and Zboril, R., 2014. Silver Nanoparticles Modified by Gelatin with Extraordinary pH Stability and Long-Term Antibacterial Activity. *Plos One*, **9**, 103675. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103675>
- Thakkar, K.N., Mhatre, S.S. and Parikh, R.Y., 2010. Biological synthesis of metallic nanoparticles.

Nanomedicine, **6**, 257-262.
<https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.07.002>

Yue, X., Lin, H., Yan, T., Zhang, D., Lin, H. and Chen, Y.,
2014. Synthesis of silver nanoparticles with sericin
and functional finishing to cotton fabrics. *Fibers and
Polymers*, **15**, 716-722.
<https://doi.org/10.1007/s12221-014-0716-8>