CUPRESSUS ARİZONİCA (MAVİ SERVİ) BİTKİ ÖZÜTÜ İLE ZNO NANO PARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

[1]Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR, [1]Ebru ORTADOĞULU, [1*]Burak ERDEMİR, [2]Mine AYDIN KURÇ, [3]Ali ÖZER

[1] Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Davutpaşa Yerleşkesi, Esenler, İstanbul, 34220, Türkiye

[2] Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, 59000, Türkiye

[3] Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Sivas, 58140, Türkiye

mozgurme@hotmail.com

* ebruortadogulu@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, kimyasal ve yeşil sentez ile ZnO nanopartiküllerin sentezlenmesi, karakterize edilmesi ve ayrıca antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasıdır. Bu çalışmada, CA bitkisinin yaprak ve kozalaklarının su ve etanol ekstreleri ve çinko asetat tuzu kullanılarak hem kimyasal hem de yeşil sentez yöntemleri ile ZnO nanopartikül sentezi gerçekleştirilmiştir [1,2]. Üretilen çinko oksit nanopartiküller (ZnONPs) UV–Vis absorpsiyon spektroskopisi, FT-IR, TEM ve SEM analizleri ile karakterize edilmiştir. CA bitki ekstraktı kullanarak ZnONPs'in yeşil sentezi kimyasal yöntemlere bir alternatif olabilir ve elde edilen ZnONPs, biyomedikal, kozmetik endüstrileri, biyoteknoloji, sensörler, tıbbi, kataliz, optik cihaz, kaplamalar, ilaç sanayi, suların arıtılması ve ayrıca elektronik cihazlar gibi uygulama alanlarında kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Çinko oksit, nano partikül, cupressus arizonica, mavi servi, yeşil sentez, kimyasal sentez, SEM, UV-VIS, TEM, antibakteriyel aktivite

GİRİŞ

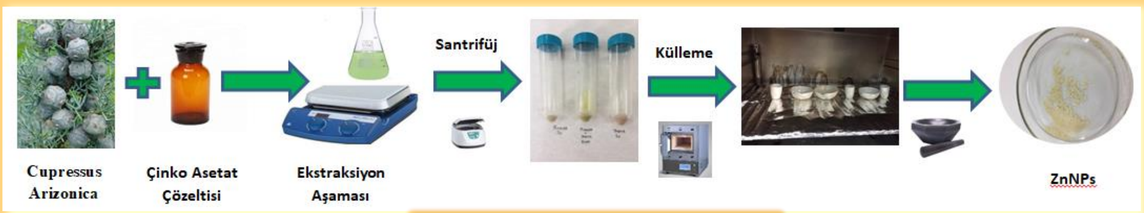
Nanoyapılı metal oksitler, birçok teknolojide büyük ilgi görmektedir ve metal oksit nanoparçacıkları arasında, çinko oksit (ZnO) son zamanlarda benzersiz özellikleri ve geniş uygulamaları nedeniyle dikkat çekmektedir. Cupressus arizonica (CA, Mavi servi) ağacının dal ve yapraklarından elde edilen uçucu yağ tanen ve servi kafuru içerir ve çok faydalı olup haricen kullanılır. Servi yaprağı sürgünü ve kozalağı çay, tentür, eterik yağ ve natürel ilaç yapımında kullanılır. Bu çalışmada ayrıca CA bitkisinin yaprak ve kozalaklarının su ve alkol ekstreleri ve bu ekstrelerden elde edilen ZnONP' lerin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek çalışılmıştır [3].

DENEYSEL

Kimyasal ve yeşil sentez yöntemleri ile ZnO nanopartikül sentezi gerçekleştirilmiştir. Yeşil sentez yönteminde ise Cupressus arizonica (CA) bitkisine ait ekstrakt kullanılarak ZnNP sentezi gerçekleştirildi. Cupressus arizonica (CA) Yıldız Teknik Üniversitesinden toplandı. Deiyonize su ile yıkandı. Temizlenmiş numuneler blender yardımı ile küçük parçalar haline getirildi. 50 g doğranmış CA tartıldı ve üzerine 300 mL alkol/damıtılmış su içeren 500 mL'lik beher kabına aktarıldı. Manyetik karıştırıcıda 80°C'de 60 dakika boyunca kaynatıldı. Ekstrakt 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi ve Whatman filtre kağıdından süzüldü.

Kimyasal sentez aşamasında 50 mL Sitrik asit üzerine 50 ml Zn-Ac ilave edildi. NaOH ile pH=12 olacak şekilde ayarlanıp 2 saat karıştırıldı ve santrifüjlendikten sonra kalsine edilerek sentezlendi. Aynı çalışma sitrik asit ilave edilmeden tekrarlandı.

Bitki ekstraktından 50 mL alınarak sıcaklık 60°C ye getirildi. Üzerine 50 mL Zn-Ac çözeltisi damla damla yaklaşık 60 dakikalık bir süre karıştırılarak ilave edildi. 2M NaOH ile pH=12'ye ayarlandıktan sonra 3 saat karıştırılmaya devam edildi. 1 gece buzdolabında bekletildikten karışım 4000 rpm'de 4 dakika 2 defa santrifüjlendi. 60°C de vakum etüvünde,150°C etüvde kurutuldu. Ayrıca 400°C de fırında küllendi (Şekil 1 ve Şekil 2).

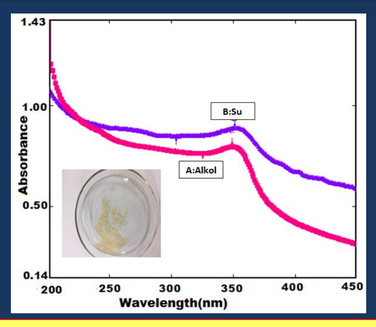


Şekil 1. Biyosentez Aşamaları



Şekil 2. (A) Cupressus arizonica (Mavi servi)bitkisi (B) Mavi servi bitkisi yapraklarının etanol ve kozalaklarının distile su ileelde edilen ekstraktı ve (C ve D) Sentezlenen ZnONPs'e ait görseller

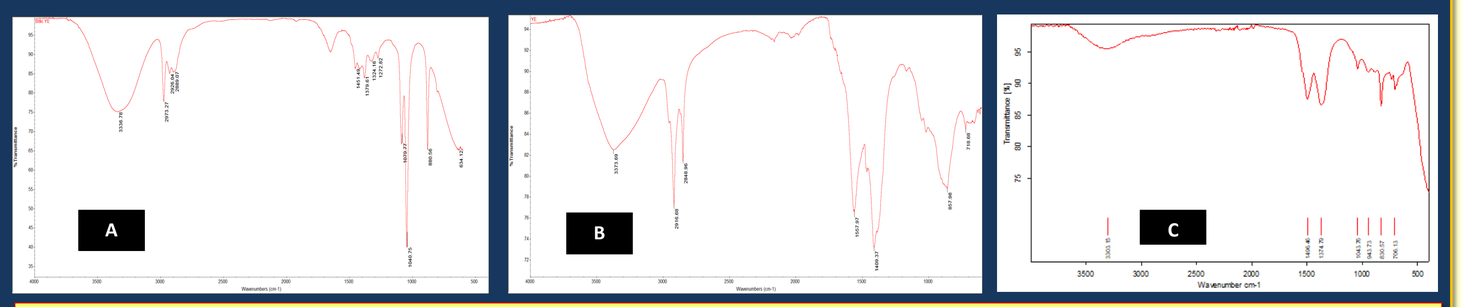
UV-VIS Spectra



Şekil 3. Biyosentez ile Sentezlenen ZnONPs'e ait UV-VIS Spektrumları

ZnONPs'in sentezinin hangi bağlar üzerinden yürüdüğünü belirleyebilmek amacıyla CA (kozalak + yaprak)'nın alkollü ekstraktının 400 ila 4000 cm^{-1} aralığında alınan FT-IR spektrumunda (**Şekil 4A**)3336, 2973,2926,2889,1451,1379,1070,1040,880,634cm^{-1} dalgaboylarında absorpsiyon bandları gözlenmiştir.Sentezlenen ZnONPs'in FT-IR spektrumunda gözlenen pikler sırasıyla 3373,2916,2848,1557,1409,857cm^{-1}'de olup(**Fig4B**), 400°C'de 2saat küllenen ZnONPs'in FT-IR spektrumunda ise 3303, 1496,1374,830,400-500 cm^{-1}'de gözlenmektedir. 400°C'de 2saat küllenen ZnONPs'in FT-IR spektrumunda 3000 - 3600 cm^{-1} dalga sayısını aralığındaki bandın zayıfladığı ve 400-500cm^{-1}'deki bandın kuvvetlendiği görülmüştür.

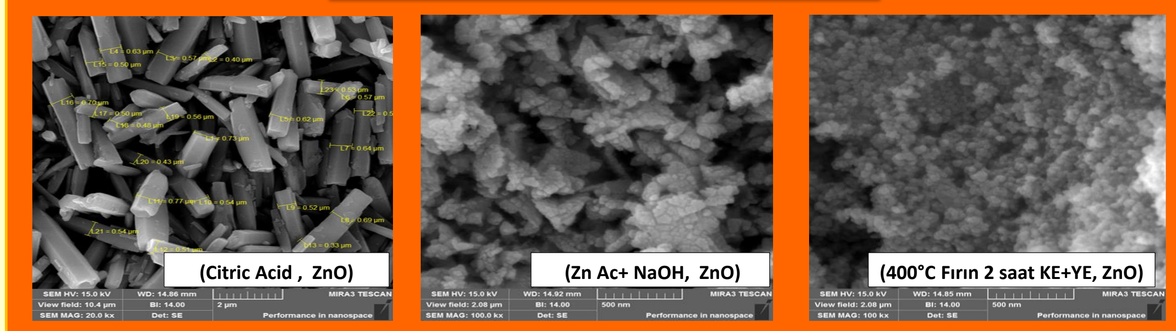
FTIR Spectra



Şekil 4. Cupressus Arizonica bitkisinin kozalak + yaprak karışımının **(A)** Etanollü ekstraktının (**B**) Biyosentez ile sentezlenen (**C**) 400°C de küllenen ZnO'ya ait FT-IR Spektrumları

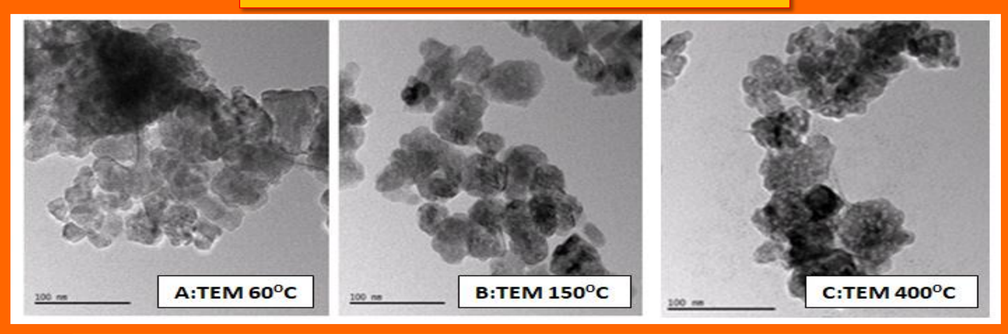
400-500cm^{-1}'de görülen band Zn-O gerilme titreşimlerini temsil etmektedir(**Fig4C**). FT-IR spektrumlarındaki bu yapısal değişiklikler, ZnONP'lerin oluşmasında ve stabilizasyonunda bitki ekstresi içindeki moleküllerin yer aldığını göstermektedir. Bu veriler literatürde verilen sonuçlara benzerlik göstermektedir [4].

SEM



Şekil 5. Kimyasal sentez ile **(A)** Sitrik Asit **(B)** NaOH **(C)** Biyosentez ile sentezlenen ZnONPs'e ait 500 nm ölçekte alınan SEM Görüntüleri

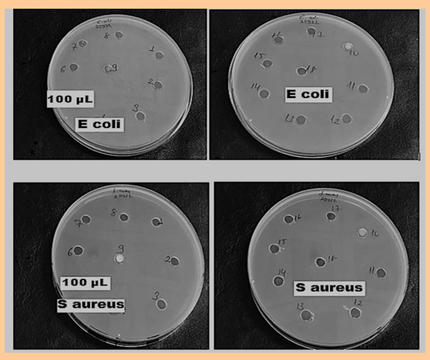
TEM



Şekil 6. Farklı kalsinasyon sıcaklıklarında elde edilen ZnONP'lerin 100 nm ölçekte alınan TEM görüntüleri

ANTİBAKTERİYEL ANALİZİ

Çalışmamızda, Mavi servi bitkisinin hem yaprak ve kozalaklarının ayrı ayrı sulu ve alkollü ortamda elde edilen ekstraktları(ys,ks,ye , ke ve ke+ye) hemde bu ekstraktlar ile elde edilen ZnO nanopartiküllerin sulu çözeltilerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek çalışılmıştır [5]. Antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi için; gram pozitif bakterilerden Staphylococcus aureus (ATCC 43300) ve gram negatif bakterilerden ise Escherichia coli (ATCC 25922) standart suşları kullanılmıştır. Mikroorganizmalara karşı oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek üremeleri değerlendirilmiştir.



NUMUNE NO	NUMUNE ADI	KOŞULLAR	S.Aureus İnhibisyon zone (mm)	E. Coli İnhibisyon zone (mm)
1	Zn-Ac NaOH	Kimyasal Sentez	0	10
2	KE - ZnONP	Yeşil Sentez	0	11
3	YE- ZnONP	Yeşil Sentez	11	11
4	YS - ZnONP	Yeşil Sentez	0	0
5	YS - ZnONP	60°C Vakum 4 Saat	0	11
6	KS- ZnONP	60°C Vakum 4 Saat	0	11
7	KE+YE	60°C Vakum 4 Saat	10	10
8	KE - ZnONP	150°C Etüv 6 Saat	11	0
9	YE- ZnONP	150°C Etüv 6 Saat	0	0
10	YS -ZnONP	150°C Etüv 6 Saat	0	10
11	KS- ZnONP	150°C Etüv 6 Saat	0	0
12	YS - ZnONP	400°C Fırın 2 Saat	0	11
13	KE -ZnONP	400°C Fırın 2 Saat	0	11
14	YE- ZnONP	400°C Fırın 2 Saat	11	10
15	KS- ZnONP	400°C Fırın 2 Saat	0	0

Tablo 1. Disk difüzyon yöntemi ile elde edilen İnhibisyon zone çapları(mm).

SONUÇLAR

Biyosentez için optimum çalışma koşulları; Zn-Ac/CA oranı:1:1, tepkime sıcaklığı:60°C, reaksiyon süresi:180 dakika ve pH :12. olarak saptandı.

UV-VIS: Biyosentez ile sentezlenen ZnONPs'in UV-Vis analizleri yapılmış ve 370-380 nm aralığında elde edilen pikler ZnONP oluşumunu göstermektedir (Şekil 3).

FTIR: FTIR spektrumları Şekil 4'te verilmiştir. Spektrumlardan görüldüğü gibi üretilen materyallerin tümü benzer yapıya sahiptir. Üretilen tüm maddelerin FTIR spektrumlarında 470 cm^{-1}de şiddetli bir bant gözlenmiştir. Literatürde verilen ZnO'ya ait FTIR spektrumları incelendiğinde, elde edilen FTIR spektrumlarının literatürde verilen spektrumlar ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Literatürde bu absorpsiyon bandının Zn-O bağının karekteristik titreşimine ait olduğu bildirilmiştir [6]. **SEM:** Biyosentez ve kimyasal sentezde farklı şekil ve boyutlarda ZnONPs oluştuğu görülmüştür. Sitrik aside ait sentezde Hegzagonal yapı (460 nm çap, NaOH ile yapılan sentezde 140 nm boyutta ve biyosentezde ise 41-97,5 nm boyutta partiküller elde edilmiştir (Şekil 5).

TEM: Farklı sıcaklıklarda (60°C Vakum,150°C Etüv ve 400ºC Fırın) kalsine edilen ZnONPs'in tipik bir morfolojileri olmadığından saymak mümkün olmamıştır ancak kalsinasyon sıcaklığının artmasıyla (sıcaklık 60°C dan 150°C ve 400°C'e geçtikçe) partikül boyutunun büyüdüğü ve boyutun 20 nm den 50 nm'ye çıktığı saptanmıştır (Şekil 6).

ANTİBAKTERİYAL: Mavi servinin kozalak ve yapraklarının sulu ortamdaki ekstrakları ve elde edilen ZnONPs'in sulu ekstraktında antimikrobiyal aktivite gözlenmemiş, ancak yaprakların ve yaprak+kozalak karışımının etanollü ekstraktından elde edilen ZnONPs'in sulu ekstraktının her iki bakteri türüne karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmalara yaprak+kozalak karışımının etanollü ekstraktı ile devam edilmiştir. Sonuçlar Tablo 1 ve Şekil 7 de gösterilmiştir.

REFERANSLAR

1) Arığ E., Nanoyapıda Çinko Oksit Partiküllerinin Üretimi Ve Karakterizasyonu, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi , İstanbul, 2010

2) Diler E., Sulu Ortamda Bulunan Azo Boyar Maddelerinin Fotokatalitik Oksidasyon Yöntemi İle Parçalanması Ve Kinetik Parametrelerinin Belirlenmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi ,Adana, 2010.

3)Topçuolu E., Boyar Maddelerin Çeşitli Adsorbanlarla Adsorpsiyonunun İncelenmesi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi , Aralık, 2016.

4) Srinivasa Rao, N. and Basaveswara Rao, M.V., *Am. J. Mater. Sci* , 5, 66-68, 2015