

**ZEYTUN YARPAĞININ EKSTRAKTI VASİTƏSİLƏ Ag
NANOHISSƏCİKLƏRİNİN SİNTEZİ****A.F.CƏFƏROVA, V.N.RAMAZANLI*****Bakı Dövlət Universiteti******cafarova.97@list.ru******vefa_ramazanli@hotmail.com***

Təqdim olunan tədqiqat işində gümüş nanohissəcikləri bioloji yolla sintez edilmişdir və onların xarakteristikası öyrənilmişdir. Gümüş nanohissəcikləri zeytun yarpaqlarından alınan ekstraktıda sintez edilmişdir. Bu üsulla alınan nanohissəciklərin UV-vis spektrometri və skan elektron mikroskopunda (SEM) ölçülərinə və formalarına baxılmışdır. Zeytun yarpağının ekstraktından alınan gümüş nanohissəciklərinin udma spektri 440-458 nm olmuşdur.

Açar sözlər: gümüş nanohissəcikləri, bioloji sintez, bitki ekstraktı, udma spektri, elektron mikroskopu.

Məlumdur ki, nanotexnologiya müxtəlif məqsədlərə xidmət edən və yeni funksional xüsusiyyətlərə malik olan nanoölçülü materialların əldə olunma texnologiyası haqqında elmdir. Son illərdə bitki ekstraktlarından istifadə etməklə, nanohissəciklərin sintezinə əsaslanan fito nanobiotexnologiya istiqaməti nanotexnologiyanın yeni bir sahəsi kimi nanotexnoloqların geniş marağına səbəb olmuşdur (Griffin, 2017). Yaşıl sintez adlanan bu üsul klassik üsullara nisbətən, ekoloji cəhətdən daha təmiz olub, daha az maliyyə xərcləri tələb edir. Bu üsulla əsasən, müxtəlif metal nanohissəciklərinin (daha çox Au, Ag, Pt, Pd) sintezini həyata keçirirlər və bu proses birbaşa bitki ekstraktlarının istifadəsinə əsaslandığı üçün daha qısa müddətdə baş verir. Hal-hazırda aparılan araşdırmalar bir çox bitki ekstraktının müxtəlif metal nanohissəciklərinin sintezində istifadə olunması fikrini təsdiq etmişdir. Bunların arasında gümüş nanohissəcikləri yüksək keçiricilik və katalitik xüsusiyyətlərinə görə, xüsusən də, bioaktivliyi sayəsində tədqiqatçıların marağına səbəb olmuşdur. Gümüş və onun duzları antibakterial, anti-oksüdant təsirə malik olmaqla yanaşı, həm də daha az toksikliyə malikdir (K.Chaloupka, et al., 2010,). Hal-hazırda gümüş nanohissəciklərdən yara, xroniki xoraya səbəb olan infeksiyaların müalicəsində antibakterial agent qismində istifadəsi nəzərdə tutulur (J.Chastre *Clin. Microbiol. Infect.*, 2008). Antibakterial xüsusiyyətlərlə yanaşı, optik xüsusiyyətlərinə görə, görüntülərin alınmasında da böyük rola malik olan gümüş nanohissəcik-

ləri yüksək keçiriciliyi səbəbindən bir sıra elektronik qurğuların hazırlanmasında da istifadə olunur.

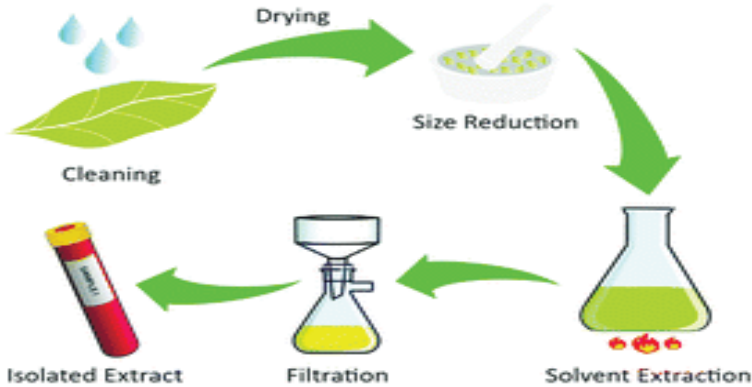
Gümüş nanohissəciklərin sintezinə dair elektrokimyəvi, fotokimyəvi, gümüş ionlarının reduksiyası, istilik buxarlanması kimi bir sıra fiziki və kimyəvi sintez üsulları mövcuddur (C.M.Sorensen, J. Colloid Interface 2005). Ancaq ənənəvi fiziki, kimyəvi sintez zamanı istifadə olunan toksik reduksiyaedici və stabilizasiya agentləri hesabına ekoloji və bioloji riskləri artırır. Metal nanohissəcikləri istehsal etmək üçün ekoloji cəhətdən təmiz bir metodologiyaya əsaslanan bioloji və ya yaşıl-kimyəvi sintez metodu, fiziki və kimyəvi sintezlə müqayisədə reduksiyaedici agentlərin minimal istifadəsi səbəbindən daha üstün olur. Bu məqsədlə, reduksiyaedici və həlledici agentlərlə yanaşı, yenilə bilən və toksik olmayan materiallardan istifadə edilməsi, yaşıl sintez strategiyasının əsas məsələlərindən biridir. Daha əvvəllər, bakteriya, göbələk kimi mikroorqanizmlərdən istifadə etməklə, gümüş nanohissəciklərinin yaşıl sintezinə dair müxtəlif yanaşmalar təklif edilmişdir (D.Mandal et al., 2006). Lakin mikrobial kulturanın çoxmərhələli saflaşdırılması problemi də daxil olmaqla, metodun tətbiqində bir çox çətinliklər nəzərə çarpırdı. Hal-hazırda bitki ekstraktlarından metal nanohissəciklərin sintezi üçün reduksiyaedici və stabilizasiya agent qismində istifadə etməklə, ekoloji cəhətdən daha təmiz nəticələr almaq mümkündür. Bitkilərin müxtəlif orqanlarında toplanan fenollar, flavonoid, likopen, karotinoid kimi bir sıra maddələr reduksiyaedici agent qismində çıxış edirlər. Bitki ekstraktlarında bu proses mikroorqanizmlərə nisbətən daha sürətli baş verir və daha sabit formalı nanohissəciklər sintez olunur (D.Philip, et al., 2011). Bu metodun tətbiqi ilə yüksək biouyğunlaşma qabiliyyətinə malik, toksik olmayan nanohissəciklər sintez etmək mümkündür. Alınan nanohissəciklərin forma və ölçüsünə mühitin pH-ı dəyişdirməklə, nəzarət etmək mümkündür (Gardea-Torresedey et al., 2003).

Geniş spektrli xassələrə malik olan gümüşün istifadəsi qədim tarixə malikdir. Qədim dövrlərdə gümüş sikkələrdən Roma və Yunan mədəniyyətində suyu təmizləmək üçün istifadə etmişlər. XIX əsrdən etibarən, bakteriyaların inkişafını dayandırmaq, yaratdıqları infeksiyanı təmizləmək məqsədilə gümüşü müxtəlif formalarda istifadə etmişlər. Gümüş, Ag^0 , Ag^+ , Ag^{+2} və Ag^{+3} olmaqla 4 formada istifadə oluna bilər. Ag^{+2} və Ag^{+3} sulu mühidə qeyri-sabit formada olduqları halda, Ag^+ isə sərbəst vəziyyətdəki forması hesab olunur (Wijnhoven, 2009). Hissəciyin ölçüsünün 10 nm-dən kiçik olması, səth sahəsinin daha da genişlənməsi, antifungal təsirinin artması ilə nəticələnir. Ag^+ -nin antimikrobial təsir mexanizmi, tətbiq olunduğu mikroorqanizm hüceyrəsi tərəfindən, ionların udulması, hüceyrə içərisində toplanması, sitoplazmatik membranın büzüşməsi və ya sitoplazmanın hüceyrə divarı tərəfindən içəriyə doğru çəkilməsi şəklində izah olunur. Gümüş nanohissəciklərinin toksikliyinə öyrənilməsinə həsr olunmuş tədqiqatlar göstərir ki, onlar gümüşün duzlarına nisbətən daha az toksikliyə malikdir.

Material və metodlar

Gümüş nanohissəciklərini müxtəlif üsullarla sintez etmək olur. Bu üsullara kimyəvi, elektrokimyəvi üsullar aiddir. Təcrübələrimizdə Ag nanohissəcikləri gümüşün nitrat duzundan ($AgNO_3$) istifadə etməklə alınmışdır. Tədqiqat zamanı reduksiyaedici agent qismində istifadə edilmiş zeytun bitkisi tarixən qida və dərman vasitəsi kimi istifadə olunmuşdur. Tibbdə tətbiqinə dair ilk rəsmi məlumat, zeytun yarpağı ekstraktının qızdırma və malyariyanın müalicəsinə effektiv dərəcədə təsir göstərdiyi zaman-1854-cü ildə verilmişdir (Hanbury, 1854). Zeytun yarpağı ekstraktında bakteriyalara, göbələklərə qarşı güclü antibakterial təsirə malik olan, eyni zamanda antioksidant xassəli, iltihab əleyhinə istifadə olunan birləşmələrə rast gəlinir (Furneri et al.,2002). Zeytun yarpağında aşkar olunan ən aktiv birləşmələrin oleuropein və onun törəmələri-hidroksitirozol, tirozol olduğu bildirilir (Farag et al., 2003). Reduksiyaedici və stabilləşdirici agent qismində isti maye halında olan zeytun yarpağı ekstraktından istifadə edərək, sintez olunan gümüş nanohissəciklərinin dərman preparatlarına davamlı bakterial izolyatlara qarşı antibakterial aktivliyə malik olması müəyyən edilmişdir. Ekstraktın konsentrasiyası, pH, temperatur və Ag nanohissəciklərin ölçüsünün prosesin gedişinə təsiri araşdırılmışdır. Müəyyən edilmişdir ki, mühitdə temperaturun artması ilə gümüş nanohissəciklərinin sintez sürəti də artmışdır (Chandran et al., 2006).

Tədqiqat obyektini olaraq, Oleaceae fəsiləsindən olan zeytun bitkisinin yarpaqlarından istifadə edilmişdir. Təcrübəmizdə ilk olaraq, zeytun yarpağını distillə suyunda yuduq, xırda hissələrə doğradıq, daha sonra isə 2.0 q zeytun yarpağını 100 ml distillə suyunda 15 dəqiqə müddətində qaynatdıq. Aldığımız ekstraktın üzərinə $AgNO_3$ məhlulu əlavə edilir. Bunun üçün $AgNO_3$ duzunun distillə suyunda $2 \cdot 10^{-2}$ M məhlulu hazırlanmış, ekstraktın üzərinə əlavə edilərək, 200ml-lik termostatik kolbada maqnit qarışdırıcı üzərində qaynadılmışdır. Alınan məhlul soyudularaq, otaq temperaturunda saxlanılmışdır. Bu təcrübələr Bakı Dövlət Universitetinin Nanoaraşdırmalar laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir (Cəfərova, 2020).



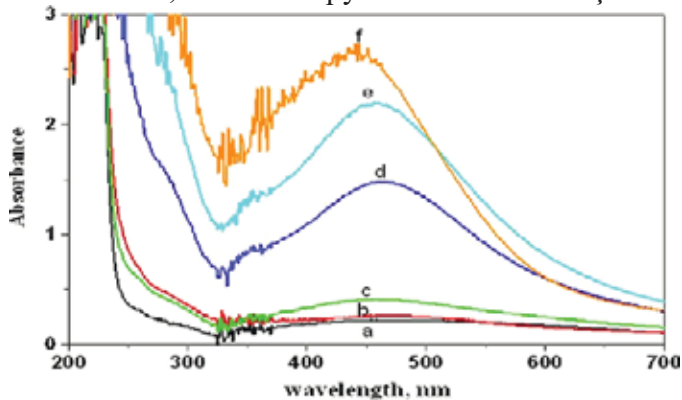
Şək. 1. Bitki ekstraktının alınması.

Bitki ekstraktının alınması əsasən iki üsulla həyata keçirilir. Əsasən, lətli struktura malik olan bitki hissələrindən onları həvəngdəstədə döymək üsulu ilə ekstraktını (homogenatını) alırlar. Bildiyimiz kimi, zeytun bitkisinin yarpağı nisbətən bərk struktura malik olduğu üçün qeyd etdiyimiz üsul ilə homogenatını almaq mümkün olmur. Bu məqsədlə başqa bir alternativ variantdan istifadə olunur. Belə ki, zeytun yarpağını təmiz şəkildə yuyub, quruladıqdan sonra, onu xırda hissələrə ayıraraq, ölçülərini kiçildirlər. Daha sonra isə həmin hissələr distillə suyunda, müəyyən temperatura qədər qızdırılır. Proses məhlulun rənginin sarımtıl-yaşıl rəng alıncaya qədər davam edir. Ən sonda alınan məhlul filtr kağızından süzülərək, ekstrakt əldə olunur. Bu metod zeytun yarpağından ekstrakt almağın ən əlverişli yolu hesab olunur.

Nəticələr və onların müzakirəsi

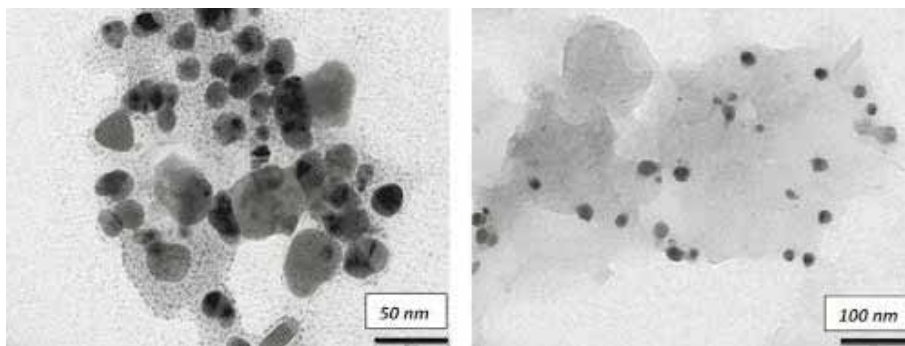
UV-vis spektroskopiya. Sintez olunan gümüş nanohissəciklərin təbiəti UV-vis spektroskopiya, skan elektron mikroskopu (TEM) və s. ilə tədqiq olunur. Bu üsulların tətbiqi ilə hissəciklərin ölçüsü, forması, səth sahəsi haqqında müəyyən məlumatlar əldə etmək mümkündür. Məsələn, hissəciklərin ölçüsü və morfologiyasını TEM, SEM, AQM ilə təyin etmək mümkündür. Nümunədəki hissəciklərin hansı ölçüdə paylanması müəyyən etmək üçün UV-vis spektroskopiya üsulundan istifadə edirlər. UV-vis spektroskopiya işıq selinin nümunədən keçdikdən sonra udulmasına əsaslanır. Işığın intensivliyinin azalması absorbsiyanın artmasını göstərir. Müxtəlif molekul və hissəciklər müxtəlif dalğa uzunluqlu işıq selini udur. Absorbsiya olunan dalğanın uzunluğunu bilməklə biz hissəciyin ölçüsü haqqında məlumat əldə etmiş oluruq (Al-Warthan et al, 2010).

İlk olaraq, hazırladığımız məhlulun UV-vis udma spektri çəkilmişdir və udma spektrinin bitki konsentrasiyasından asılılığı müşahidə edilmişdir. Məhlulun konsentrasiyası artdıqca, udma spektrinin piki aydın görünür. Bu pikin maksimumu 458 nm, minimum qiyməti 441 nm olmuşdur.



Qrafik 1. Zeytun yarpağı ekstraktının müxtəlif konsentrasiyalarında (burada a, b, c, d və f - 0,2, 0,5, 3, 5 və 7 ml qiymətlərinə müvafiqdir) sintez edilmiş gümüş nanohissəciklərinin UV-vis spektri

Skən Elektron Mikroskopu. Gümüş nanohissəciklərinin ölçüləri SEM-də müəyyən edilmişdir. Bunun üçün aldığımız məhluldan 1 damla götürərək, elektron mikroskopunun nümunə preparatı üzərində otaq temperaturunda buxarlandırılır. 24 saatdan sonra SEM şəkilləri çəkilmişdir. Kimyəvi reaksiya zamanı alınan Ag nanohissəciklərinin ölçüləri 50-100 nm intervalında dəyişilmişdir. Formaları isə əsasən sferik, bəzi hallarda ellipsoidal olmuşdur.



Şək. 2. Sintez olunmuş gümüş nanohissəciklərinin SEM-də görüntüsü.

Bu təcrübələrdən belə nəticəyə gəlmək olar ki:

1. Zeytun bitkisinin yarpaqlarından alınan ekstrakt da gümüş nanohissəcikləri sintez oluna bilər
2. Sintez olunan gümüş nanohissəciklərinin ölçüləri kiçik olur və ekstraktın konsentrasiyasından asılı olur.

ƏDƏBİYYAT

1. Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.-H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang C.-Y., Kim Y.-K., Lee Y.-S., Jeong D.H., Cho M.-H., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.* 3, 95–101.
2. Roy N., Barik A., 2010. Green synthesis of silver nanoparticle from the unexploited weed resources. *Inter. J. Nanotechnol. Appl.* 4, 95–101.
3. Benavente-García O., Castillo J., Lorente J., Ortun̄o A., Del Rio J.A., 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.* 68, 457–462.
4. Chen J.Y., Wang D.L., Xi J.F., Au L., Siekkinen A., Warsen A., Li Z.Y., Zhang H., Xia Y.N. and Li X.D., *Nano Lett.*, 2007, 7, 1318 —1322
5. Aziz N.H., Farag S.E., Mousa L.A., Abo-Zaid M.A., 1998. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios* 93, 43–54.
6. Korbekandi I.S.H “Silver Nanoparticles,” *Deliv. Nanoparticles*, 2012.
7. Kaviya S., Santhanalakshmi J., and Viswanathan B. Green synthesis of silver nanoparticles using *Polyalthia longifolia* leaf extract along with D-sorbitol: Study of antibacterial activity, *J. Nanotechnol.*, pp. 1–5, 2011.
8. Kaur P. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *Int. Nano Lett.*, vol. 2, no. 1, p. 32, 2012.
9. Morones J.R. et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, vol. 16, no. 10, pp. 2346–2353, 2005.

10. Chaloupka K., Malam Y., and Seifalian A.M. Nanosilver as a new generation of nano-product in biomedical applications. *Trends Biotechnol.*, vol. 28, no. 11, pp. 580–588, 2010.
11. Pal S., Tak Y.K., and Song J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, vol. 290, no. 42, pp. 1712–1720, 2015.
12. Marambio-Jones C. and Hoek E.M.V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J. Nanoparticle Res.*, vol. 12, no. 5, pp. 1531–1551, 2010.
13. Sondi and B. Salopek-Sondi, “Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 275, no. 1, pp. 177–182, 2004.
14. Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z.S., and Chen G. Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discov. Today*, vol. 20, no. 5, pp. 595–601, 2015.
15. Kholoud M.M. et al., Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arab. J. Chem*, vol. 3, pp. 135–140, 2010.
16. Sotiriou G.A. and Pratsinis S.E., “Antibacterial activity of nanosilver ions and particles,.” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, pp. 5649–5654, 2010.
17. Singh P., Kim Y.J., Zhang D., and Yang D.C. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends Biotechnol.*, vol. 34, no. 7, pp. 588–599, 2016.
18. Okafor F., Janen A., Kukhtareva T., Edwards V., and Curley M. Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 10, no. 10, pp. 5221–5238, 2013.
19. Abou El-Nour K.M.M., Eftaiha A., Al-Warthan A., and Ammar R.A.A. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arab. J. Chem.*, vol. 3, no. 3, pp. 135–140, 2010.
20. Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z.S., and Chen G. Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discov. Today*, vol. 20, no. 5, pp. 595–601, 2015.
21. Franci G. et al. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules*, vol. 20, no. 5, pp. 8856–8874, 2015.
22. Chernousova S. and Epple M. Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 52, no. 6, pp. 1636–1653, 2013.
23. Mittal A.K., Bhaumik J., Kumar S., and Banerjee U.C. Biosynthesis of silver nanoparticles: Elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 415, pp. 39–47, 2014.
24. Abbasi Z., Feizi S., Taghipour E., and Ghadam P. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of dried *Juglans regia* green husk and examination of its biological properties. pp. 1–10, 2017.

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ПОМОЩЬЮ ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ОЛИВЫ

А.Ф.ДЖАФАРОВА, В.Н.РАМАЗАНЛЫ

РЕЗЮМЕ

В представленной исследовательской работе наночастицы серебра были биологически синтезированы и изучены их характеристика. Наночастицы серебра были синтезированы в экстракте, полученном из листьев оливы. Размеры и формы наночастиц, полученных этим методом были исследованы с помощью УФ-вид спектрометра

и сканирующего электронного микроскопа (СЭМ). Спектр поглощения наночастиц серебра полученных из экстракта листьев оливы, составлял 440-458 нм.

Ключевые слова: наночастицы серебра, биологический синтез, растительный экстракт, спектр поглощения, электронный микроскоп.

SYNTHESIS OF Ag NANOPARTICLES USING OLIVE LEAF EXTRACT

A.F.CEFEROVA, V.N.RAMAZANLI

SUMMARY

In the present research silver nanoparticles were synthesized biologically and their properties were examined. Silver nanoparticles were synthesized using olive leaf extract. The sizes and shapes of the nanoparticles obtained by this method were examined by UV-vis spectrometer and scanning electron microscope. The absorption spectrum of silver nanoparticles obtained from olive leaf extract was 440-458 nm.

Key words: silver nanoparticles, biological synthesis, plant extract, absorption spectrum, electron microscope.