

**Tasarlanmış Şekle Sahip Çinko Oksit (ZnO)  
Partiküllerinin Üretimi ve *in-vitro* Toksisitesinin  
Değerlendirilmesi**

Uğur Can ÖZÖĞÜT  
Yüksek Lisans Tezi

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Aralık 2013

**Bu tez çalışması Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Mühendislik Araştırma Destek Grubu (Proje No: 109M585) ve Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı (Proje No : 1101F020) tarafından desteklenmiştir.**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

**Uğur Can ÖZÖĞÜT’ün “Tasarlanmış Şekle Sahip Çinko Oksit (ZnO) Partiküllerinin Üretimi ve *in-vitro* Toksisitesinin Değerlendirilmesi” başlıklı Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 20.12.2013 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.**

|                              | <b><u>Adı Soyadı</u></b>         | <b>İmza</b>  |
|------------------------------|----------------------------------|--------------|
| <b>Üye (Tez Danışmanı) :</b> | <b>Prof. Dr. ENDER SUVACI</b>    | <b>.....</b> |
| <b>Üye :</b>                 | <b>Doç. Dr. EMEL ÖZEL</b>        | <b>.....</b> |
| <b>Üye :</b>                 | <b>Doç. Dr. A. TANSU KOPARAL</b> | <b>.....</b> |

**Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun  
..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.**

**Enstitü Müdürü**

**ÖZET**  
**Yüksek Lisans Tezi**  
**TASARLANMIŞ ŞEKLE SAHİP ÇİNKO OKSİT (ZnO)**  
**PARTİKÜLLERİNİN ÜRETİMİ VE *İN-VİTRO* TOKSİSİTESİNİN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uğur Can ÖZÖĞÜT**  
**Anadolu Üniversitesi**  
**Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Ender SUVACI**  
**2013, 98 Sayfa**

Nano partiküllerin, kozmetik sektöründe özellikle deri ile teması bulunan güneş kremi gibi ürünlerde kullanımı gittikçe artmaktadır. Nanopartiküllerin kullanımı getirdiği üstün özelliklerle beraber toksikoloji gibi dezavantajları da beraberinde getirmektedir. Çinko oksit partikülleri de sahip olduğu fiziksel UV koruma özelliğinden dolayı tercih edilmektedir. Bu çalışmada nano birincil tanelere sahip mikron boyutlu plaka şekilli çinko oksit tozlarının üretim yöntemi, sentez koşulları ve getirdiği nihai özellikleri detaylı olarak incelenmiştir. Yaklaşık 2-10µm boyutlara sahip nano kalınlığa sahip transparan Çinko Gliserolat kompleksi elde edilmiştir. Sentezlenen tozların tane boyut dağılımı ve sinterlenme davranışı incelenmiştir. Aynı zamanda üretim miktarını artırma çalışması yapılmıştır. Plaka şekilli ZnO ile nano boyutlu ZnO tozları karşılaştırılmalı olarak TIG-114 (fibroblast) hücrelerinde *in-vitro* sitotoksosite (MTT) ve genotoksosite (KOMET) testleri uygulanmış ve plaka şekilli tozlarının nano boyutlu ZnO tozlarına göre daha az toksik olduğu görülmüştür. Plaka şekilli ZnO partikülleri mikroemülsiyon formülasyonuna dönüştürülmüş ve UV-görünür spektrumları incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çinko Oksit, güneş kremi, plaka, toksisite

**ABSTRACT**  
**Master of Science Thesis**  
**SYNTHESIS OF ZINC OXIDE (ZnO) PARTICLES WITH DESIGNED**  
**MORPHOLOGY AND EVALUATING THEIR *IN-VITRO* TOXICITY**

**Uğur Can ÖZÖĞÜT**  
**Anadolu University**  
**Graduate School of Sciences**  
**Materials Science and Engineering Program**

**Supervisor: Prof. Dr. Ender SUVACI**  
**2013, 98 Pages**

Nano particles in contact with the skin, especially in the cosmetics industry is increasingly used in products such as sunscreen. The use of nanoparticles, brings together cutting-edge features such as toxicology brings disadvantages. The zinc oxide particles is preferred because of its physical properties of the UV protection. In this study, producing method of micron-size plate-shaped zinc oxide with primary nanoparticules, and the synthesis conditions of the final properties were examined in detail. Zinc Glycerolate complex has a dimensions of about 2-10  $\mu\text{m}$  with in the nano thickness transparent structure was obtained. Particle size distribution of the synthesized powders and sintering behavior was investigated. Study was carried out at the same time to increase the amount of production. In-vitro cytotoxicity (MTT) and genotoxicity (KOMET) tests on between plate-shaped particles synthesized ZnO and nano sized ZnO are examined on TIG-114 (fibroblast) cells. Toxicity results show that plate shaped ZnO particules are less toxic than nano sized ZnO. Microemulsion formulations made in the region of the application of powders and UV-Vis transmittance of these formulations were measured.

**Keywords:** Zinc oxide, sunscreen , plate-shaped, toxicity

## TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen ve proje tabanlı çalışmanın önemini bana aşıl原因, disiplinli ve düzenli çalışmanın önemini anlamamı sağlayan danışmanım Prof. Dr. Ender Suvacı'ya teşekkür ederim.

Değerli yorumları ve toksisite çalışmalarının gerçekleşmesini sağlayan Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. A. Tansu Koparal' a teşekkür ederim.

Mikroemülsiyon çalışmalarındaki katkılarından dolayı Eczacılık Bölümü Öğretim Üyeleri Yard. Doç. Dr. Murat Sami Berkman ve Doç. Dr. Erol Şener'e teşekkür ederim.

TÜBİTAK ve BAP projelerinde beraber çalıştığım ve rapor günlerinde acı tatlı birçok anıyı paylaştığım ve ilk zamanlarda bana yol gösteren değerli arkadaşım Güneş Alp Yakaboylu'na, değerli yorumları ve idealist görüşleriyle çalışmalarımıza katkı yapan Utku Şahan' a, toksisite testlerini gerçekleştiren ve Yunusemre Kampüsünde ikinci adresimin olmasını sağlayan toksikoloji alanındaki rehberlerim Hatice Genç ve Banu Barutca'ya, hem yorumlarıyla hem de yurtdışı maceramızda neşe kaynağımız Gamze İmamoğlu'na sonsuz teşekkür ederim.

Günlük hayatımın büyük bölümünü geçirdiğim ve çalışmanın çekilir hale gelmesini sağlayan ofis arkadaşlarım, lisans bitirme çalışmasından bu yana beraber çinko oksit çalıştığımız Gözde Tuncolu'ya, bilimsel bilgisine güvendiğim Cem Açıksarı'ya, en son aramıza katılan ama eğlenceli muhabbetler yaptığım çekirgem Burcu Ceren Dabak'a, sinterleme konusundaki yardımları için Şükrü Can'a çok teşekkür ederim. Sizin desteğiniz ve yorumlarınızla bu tez şekillendi, emeğiniz ödenemez. Ofisimizde her zaman iyi kalbi ve nezaketiyle bana yardımcı olan, bilimsel

Çalışma disiplini örnek almaya alıştığım Araç. Gör. Yasemin elik'e çok teşekkür ederim.

Türkiye'de bilimsel çalışmanın yapılabilineceği ender yerlerden olan lisans eğitimimi de aldığım Anadolu Üniversitesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği bölümüne teşekkür ederim.

alışmalarımdaki ve Eskişehir'deki en büyük moral kaynağım yakın arkadaşlarım Aygl Kıvılcım'a, Yağmur Deniz'e, Melih zatal'a, M. Ülkü Parlak'a, Ahmet Vatan'a, znur Karakaya'ya ve Hande Benli'ye teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve her türlü desteği esirgemeyen annem ve babama ve ablama sonsuz teşekkür ederim. Sizin desteğiniz, sabrınız ve inancınız olmasaydı bugün bu aşamada olmam mümkün olmazdı.

Uğur Can zt  
Aralık 2013

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZET .....                                                                                                       | iii |
| ABSTRACT.....                                                                                                    | i   |
| v                                                                                                                |     |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                                | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                                            | x   |
| TABLOLAR DİZİNİ.....                                                                                             | xiv |
| <br>                                                                                                             |     |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                                    | 1   |
| 2. ÇİNKO OKSİT : YAPISI, ÖZELLİKLERİ VE KULLANIMI .....                                                          | 3   |
| 2.1. Piezoelektrik Özellikler.....                                                                               | 4   |
| 2.2. Elektriksel Özellikler.....                                                                                 | 5   |
| 2.3. Optik Özellikler.....                                                                                       | 6   |
| <br>                                                                                                             |     |
| 3. NANOPARTİKÜLLERİN GÜNEŞ KREMLERİNDE KULLANIMI .....                                                           | 7   |
| 4. NANOPARTİKÜLLERİN GÜNEŞ KREMLERİNDE KULLANIMINDA<br>KARŞILAŞILAN PROBLEMLER .....                             | 11  |
| 4.1. Topaklanma (KontROLSÜZ Aglomerasyon).....                                                                   | 11  |
| 4.2. Toksikoloji .....                                                                                           | 11  |
| <br>                                                                                                             |     |
| 5. PROBLEMLERİ ÇÖZMEYE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR .....                                                                 | 14  |
| 6. AMAÇ .....                                                                                                    | 16  |
| <br>                                                                                                             |     |
| 7. DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....                                                                                     | 17  |
| 7.1. Plaka Şekilli ZnO Partiküllerinin Sentezi .....                                                             | 17  |
| 7.2. Sentezlenen Plaka Şekilli ZnO Partiküllerinin Karakterizasyonu.....                                         | 19  |
| 7.3. Sentezlenen Plaka Şekilli ZnO Partiküllerinin Sinterlenmesi.....                                            | 20  |
| 7.4. <i>İn-vitro</i> Çalışmalarında Kullanılan Nano Boyutlu ZnO (Z-1)<br>Tozunun Karakterizasyonu.....           | 21  |
| 7.5. Nano Boyutlu ZnO (Z-1) ve Plaka Şekilli ZnO (Z-plaka)<br>Tozlarının <i>in-vitro</i> Toksisite Testleri..... | 22  |

|                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 7.5.1. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan yöntem ve gereçler .....                              | 22 |
| 7.5.2. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan TIG-114 hücreleri .....                               | 22 |
| 7.5.3. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan aletler ve cihazlar .....                             | 22 |
| 7.5.4. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler .....                               | 23 |
| 7.5.5. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan sarf malzemeler.....                                  | 23 |
| 7.5.6. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan araç ve gerecin hazırlanması.....                     | 23 |
| 7.5.7. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan test maddelerinin dozlarının hazırlanması.....        | 24 |
| 7.5.8. <i>İn-vitro</i> toksisite çalışmalarında kullanılan hücreler ve hücrelerin testler için hazırlanması..... | 24 |
| 7.5.9. Mitokondriyal aktiviteye dayalı MTT ölçümü .....                                                          | 25 |
| 7.5.10. Komet (Tek hücreli jel elektroforezi) genotoksisite testi .....                                          | 26 |
| 7.5.11. TIG 114 hücrelerine UV-A uygulanması .....                                                               | 28 |
| 7.6. Sentezlenen Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Mikroemülsiyon Formülasyonuna Dönüştürülmesi.....               | 29 |

## **8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....31**

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 8.1. Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Sentez Sıcaklığı ve Süresinin Faz Gelişimi ile Tane Morfolojisi Üzerindeki Etkisi .....                                | 31 |
| 8.2. Plaka Şekli ZnO Tozlarının Büyük Miktarlarda Solvotermal Yöntem ile Sentezi.....                                                                       | 45 |
| 8.3. Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Tane Boyut Dağılımı .....                                                                                              | 48 |
| 8.4. Sentezlenen Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Sinterlenmesi.....                                                                                         | 52 |
| 8.5. Sentezlenen Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Nano Boyutlu ZnO (<100 nm) Tozuyla Karşılaştırmalı Olarak Yapılan <i>in-vitro</i> Toksisite Testleri ..... | 64 |
| 8.5.1. <i>İn-vitro</i> çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ZnO tozunun karakterizasyon çalışmaları .....                                                    | 64 |
| 8.5.2. Ticari ZnO < 100 nm (Z-1) tozunun UV-A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi .....                             | 67 |



|                                                                                                                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 8.5.3. Plaka şekilli ZnO tozunun ( <i>Z-Plaka</i> ) UV-A uygulanmadan<br>TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi .....                                               | 68        |
| 8.5.4. Ticari ZnO < 100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO tozlarının UV-<br>A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin<br>karşılaştırılması.....                          | 69        |
| 8.5.5. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) tozunun 10 dakika UV-A<br>muamelesiyle TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin<br>belirlenmesi .....                                              | 70        |
| 8.5.6. Plaka şekilli ZnO ( <i>Z-plaka</i> ) tozunun 10 dakika UV-A<br>muamelesiyle TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin<br>belirlenmesi .....                                  | 72        |
| 8.5.7. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO ( <i>Z-plaka</i> )<br>tozlarının 10 dakika UV-A Uygulanan TIG-114 hücreleri üzerindeki<br>sitotoksik etkisinin karşılaştırılması ..... | 73        |
| 8.5.8. Hücre kültürü yöntemi ile ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka<br>şekilli ZnO ( <i>Z-plaka</i> ) tozlarının UV'siz <i>in-vitro</i> genotoksisite<br>çalışmaları.....                    | 74        |
| 8.5.9. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO ( <i>Z-plaka</i> )<br>tozlarının UV-A uygulanarak elde edilen <i>in-vitro</i> genotoksisite<br>sonuçları .....                         | 80        |
| 8.6. Sentezlenen Plaka Şekilli ZnO Tozlarının Güneş Kremi<br>Formülasyonuna Dönüştürülmesi.....                                                                                             | 87        |
| <b>9. GENEL DEĞERLENDİRME .....</b>                                                                                                                                                         | <b>92</b> |
| <b>KAYNAKÇA .....</b>                                                                                                                                                                       | <b>94</b> |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1. ZnO kristal yapıların gösterimi: a) kübik kayatuzu, b) kübik çinko sülfid, c) hegzagonal würtzit (gri küreler Zn, siyah küreler ise O atomlarını ifade etmektedir) .....                                                                                                                           | 3  |
| 2.2. a) Tetrahedral yapıda koordine olmuş katyon ve anyondan oluşan kristal birimin piezoelektrik davranışı, b) Hacimsel ve nano-kemer yapılı ZnO'nun piezoelektrik sabitlerinin karşılaştırılması, c) ZnO nano-kemer mikroyapısı.....                                                                  | 5  |
| 3.1. UVA ve UVB ışınlarının deriye penetrasyonu .....                                                                                                                                                                                                                                                   | 9  |
| 4.1. Nanopartiküllerin deriye penetrasyon yollarının şematik gösterimi.....                                                                                                                                                                                                                             | 12 |
| 7.1. Solvotermal yöntem ile plaka şekilli ZnO toz sentezinde kullanılan deneysel akım şeması .....                                                                                                                                                                                                      | 18 |
| 7.2. Komet deneyi ile genotoksisite analizinde kullanılan önemli parametreler.....                                                                                                                                                                                                                      | 28 |
| 7.3. Kuyruk özelliklerine göre hücrelerin gruplandırılması. ....                                                                                                                                                                                                                                        | 28 |
| 7.4. Transpore™ yöntemi ile UV-Visible Spectrophotometer ölçümünün şematik gösterimi .....                                                                                                                                                                                                              | 30 |
| 8.1. Sentez sıcaklığının faz dönüşümüne etkisi: Sırasıyla 160°C, 200°C, 240°C, 260°C sıcaklıklarda, devamında da 260°C sıcaklıkta 30 dakika ve 60 dakika sonlarında alınan numunelere ait XRD grafikleri.....                                                                                           | 32 |
| 8.2. Literatürde a) Remias ve arkadaşlarının 2009 yılında ve b) Das ve arkadaşlarının 2010 yılında ortaya koydukları çinko gliserolat kompleksine ait (adapte edilen) ve c) bu çalışmada 260°C sıcaklıkta, 1 saat solvotermal sentez sonucu elde edilen Zn-gliserin kompleksine ait XRD grafikleri..... | 33 |
| 8.3. Solvotermal sentez yönteminde gliserin çözücüsünün ticari ZnO tozu ile 260°C sıcaklıkta, 1 saat süreyle reaksiyonu sonucu elde edilen tozlara ait (Çinko Gliserolat Kompleksi) FTIR spektrumu.....                                                                                                 | 34 |
| 8.4. Ticari ZnO tozu ve gliserin çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilen solvotermal sentez çalışmasında a) 160°C, b) 200°C, c) 240°C, d) 260°C e) 260°C 30 dakika ve f) 260°C 60 dakika sonlarında kesikli olarak alınan numunelere ait SEM görüntüleri .....                                           | 38 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 8.5. Plaka şekilli Zn-Gly kompleksine ait (TG) sıcaklıkla ağırlıkça kayıp grafiği .....                                                                                                                                                                                                                        | 40 |
| 8.6. Solvothermal sentez yöntemi ile elde edilen çinko gliserolat kompleksi tozlarının 350°C’de 1.5 saat süreyle kalsinasyonu sonucu üretilen ZnO tozlarının XRD grafiği .....                                                                                                                                 | 41 |
| 8.7. Üretilen nano boyutlu (~ 30 nm) birincil ZnO tanelerinin kontrollü olarak bir araya gelmesiyle oluşan mikron boyutlu (2-10 µm) tasarlanmış hegzagonal şekle sahip plakaların SEM görüntüleri a) Kalsinasyon öncesi, b) Kalsinasyon sonrası .....                                                          | 42 |
| 8.8. Nano birincil tanelere sahip plaka şekilli ZnO partiküllerine ait geçirimli elektron mikroskobu (TEM) görüntüleri .....                                                                                                                                                                                   | 43 |
| 8.9. Yüksek miktarda plaka şekilli ZnO tozlarının üretiminin akış şeması ve tasarlanan sıcaklık ve hız kontrollü reaktör .....                                                                                                                                                                                 | 45 |
| 8.10. Sıcaklık ve hız kontrollü reaktörde yapılan gliserin ortamındaki sıcaklık zaman grafiği .....                                                                                                                                                                                                            | 46 |
| 8.11. Sıcaklık ve hız kontrollü reaktörde üretilen plaka şekilli ZnO tozlarının SEM görüntüsü .....                                                                                                                                                                                                            | 47 |
| 8.12. Farklı dağıtıcılar yardımıyla dağıtılan plaka şekilli ZnO tozlarına ait tane boyut dağılımı grafiği 1) Ultrasonik Banyo Karıştırma - Su Dağıtıcı, 2) Ultrasonik Banyo Karıştırma - Propanol Dağıtıcı, 3) Ultrasonik Tip Karıştırma - Su Dağıtıcı, 4) Ultrasonik Tip Karıştırma - Propanol Dağıtıcı ..... | 48 |
| 8.13. Plaka şekilli ZnO partiküllerinin su dağıtıcı ortamında a) ultrasonik banyo, b-c) ultrasonik tip ile dağıtılması sonundaki SEM görüntüleri .....                                                                                                                                                         | 51 |
| 8.14. Plaka şekilli ZnO partiküllerinin a)500, b)600, c)700, d)800, e)900, f)1000, g)1100 °C sıcaklıklarda kalsinasyonu sonunda çekilen SEM görüntüleri .....                                                                                                                                                  | 56 |
| 8.15. Plaka şekilli ZnO partiküllerine ait TMA grafiği .....                                                                                                                                                                                                                                                   | 59 |
| 8.16. Plaka şekilli ZnO partiküllerinin a) Bağlayıcı giderme, b) 1100 °C 2 saat, c) 1200 °C 2 saat, d) 1200 °C 4 saat ve e) 1100 °C 4 saat sinterleme sonrası kırık yüzey SEM görüntüleri .....                                                                                                                | 63 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 8.17. <i>İn-vitro</i> çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ticari toza ait SEM görüntüsü.....                                                                                                                                                                                                     | 65 |
| 8.18. <i>İn-vitro</i> çalışmalarında kullanılan ticari nano boyutlu Z-1 kodlu tozun XRD grafiği.....                                                                                                                                                                                             | 66 |
| 8.19. Ticari, ZnO tozunun (Z-1 kodlu) farklı konsantrasyonlarının, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p<0,05$ .....                                      | 67 |
| 8.20. Plaka şekilli ZnO tozunun (Z- Plaka) farklı konsantrasyonlarının, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p<0,05$ .....                                 | 68 |
| 8.21. Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarının UV-A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin karşılaştırılması. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p<0,05$ .....                                     | 70 |
| 8.22. Ticari ZnO tozunun (Z-1 kodlu) farklı konsantrasyonlarının UV'siz ve 10 dakika UV-A muamelesiyle, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p<0,05$ ..... | 71 |
| 8.23. Plaka şekilli ZnO tozunun farklı konsantrasyonlarının UV'siz ve 10 dakika UV-A muamelesiyle, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p<0,05$ .....      | 73 |
| 8.24. Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarının UV-A uygulanan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin karşılaştırılması. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p<0,05$ .....                                        | 74 |
| 8.25. Negatif ve pozitif kontrolün TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) Hücre kültür besiyeri, b) $10 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$ .....                                                                                             | 75 |

|                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 8.26. Z-1 kodlu ticari ZnO tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10 µg/ml, b) 20 µg/ml, c) 40 µg/ml .....             | 77 |
| 8.27. Z-Plaka ZnO tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10 µg/ml, b) 20 µg/ml, c) 40 µg/ml .....                      | 79 |
| 8.28. Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO ( <i>Z-plaka</i> ) tozlarının TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu kuyruktaki % DNA yoğunluğu değerlerinin karşılaştırması .....  | 80 |
| 8.29. Kontrol gruplarının komet görüntüleri. a-) Negatif Kontrol (UV-A Uygulanmadan), b-) UV-A Kontrol c-) Pozitif Kontrol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....                             | 82 |
| 8.30. Z-1 kodlu ZnO (<100 nm) tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV-A muamelesiyle oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10 µg/ml, b) 20 µg/ml, c) 40 µg/ml .....      | 83 |
| 8.31. Plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV-A muamelesi ile oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10 µg/ml, b) 20 µg/ml, c) 40 µg/ml ..... | 85 |
| 8.32. Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO ( <i>Z-plaka</i> ) tozlarının TIG-114 hücreleri üzerinde UV varlığında oluşturduğu kuyruktaki % DNA yoğunluğu değerlerinin karşılaştırması .....  | 86 |
| 8.33. Çinko Oksit miktarı 5 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV- Visible Spektrumu.....                                                                                      | 89 |
| 8.34. Çinko Oksit miktarı 1 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV-Visible Spektrumu.....                                                                                       | 89 |
| 8.35. Çinko Oksit miktarı 2 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV-Visible Spektrumu.....                                                                                       | 90 |
| 8.36. Çinko Oksit miktarı 0.5 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV-Visible Spektrumu.....                                                                                     | 90 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1. Çinko Oksit'in temel fiziksel özellikleri .....                                                                                             | 4  |
| 3.1. Güneş kremi içeriklerinin karşılaştırılması .....                                                                                           | 10 |
| 8.1. Farklı dağıtıcılar yardımıyla dağıtılan plaka şekilli ZnO tozlarına ait tane boyut dağılımı değerleri.....                                  | 49 |
| 8.2. Farklı sıcaklıklarda kalsine edilmiş plaka şekilli ZnO tozlarına ait birincil tane boyutu değerleri .....                                   | 52 |
| 8.3. Plaka şekilli çinko oksit partiküllerinin pelet boyutları ve hesaplanan yüzde yaş yoğunluk değerleri (Bağlayıcı uzaklaştırma öncesi) .....  | 57 |
| 8.4. Plaka şekilli çinko oksit partiküllerinin pelet boyutları ve hesaplanan yüzde yaş yoğunluk değerleri (Bağlayıcı uzaklaştırma sonrası) ..... | 58 |
| 8.5. Plaka şekilli çinko oksit peletlerinin sinterlenme rejimleri .....                                                                          | 59 |
| 8.6. Plaka şekilli ZnO partiküllerinin sinterlenme sonrası teorik ve yaş yoğunluk değerleri.....                                                 | 60 |
| 8.7. <i>İn-vitro</i> çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ZnO tozuna ait genel bilgiler.....                                                      | 64 |
| 8.8. <i>İn-vitro</i> çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ZnO tozuna ait yüzey alanı ve hesaplanan ortalama tane boyutu .....                     | 65 |
| 8.9. Ticari nano boyutlu ZnO (Z-1 kodlu) tozuna ait XRF analizi sonucu ve elementlerin/bileşiklerin ağırlıkça yüzdeleri .....                    | 66 |
| 8.10. Z-1 kodlu (< 100 nm) ZnO tozuna ait UV'siz genotoksisite analiz sonuçları.....                                                             | 76 |
| 8.11. Z-plaka UV'siz in-vitro genotoksisite sonuçları.....                                                                                       | 78 |
| 8.12. Z-1 kodlu (<100 nm) ZnO tozuna ait UV'li genotoksisite analiz sonuçları.....                                                               | 83 |
| 8.13. Plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarına ait UV'li genotoksisite analiz sonuçları .....                                                       | 84 |
| 8.14. Mikroemülsiyon formülasyon değerleri .....                                                                                                 | 87 |
| 8.15. Mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılan çinko oksit tozlarının yüzey alanları ve hesaplanan ortalama tane boyutları.....              | 91 |

## 1. GİRİŞ

Nanoteknoloji ve nano malzeme uygulamaları, son yıllarda insanların yaşam standardını yükseltebilmek amacıyla farklı sektörlerde çok sayıda uygulamalarda kullanılarak, dünya üzerinde hızlı bir şekilde büyümeye devam etmektedir. Nanometre ölçeğinde malzemelerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri, atomların ve moleküllerin ya da yığın (bulk) haldeki malzemenin özelliklerinden temel olarak farklı olmaktadır. Bunların başında elektriksel, mekanik, kimyasal ve optik özellikler gelmektedir. Malzeme özelliklerindeki değişimler, nanometre seviyesindeki malzemelerin sahip oldukları yüksek yüzey alanları (yüzey alanının hacme oranı), değişen elektronik yapıları ve bu boyut aralığında kuantum etkilerinin baskın olmaya başlaması ile açıklanmaktadır. Bu özelliklerden dolayı elektronik, optik, ilaç gelişimi, biyosensörler, görüntüleme gibi endüstriler ve ayrıca güneş kremleri, tekstil, kozmetik, spor ve aksesuarlar gibi tüketici ürünleri de nanoteknolojinin kapsamı içerisine girmektedir (Grassian 2008, Rao ve ark., 2002, Balshaw ve ark., 2004).

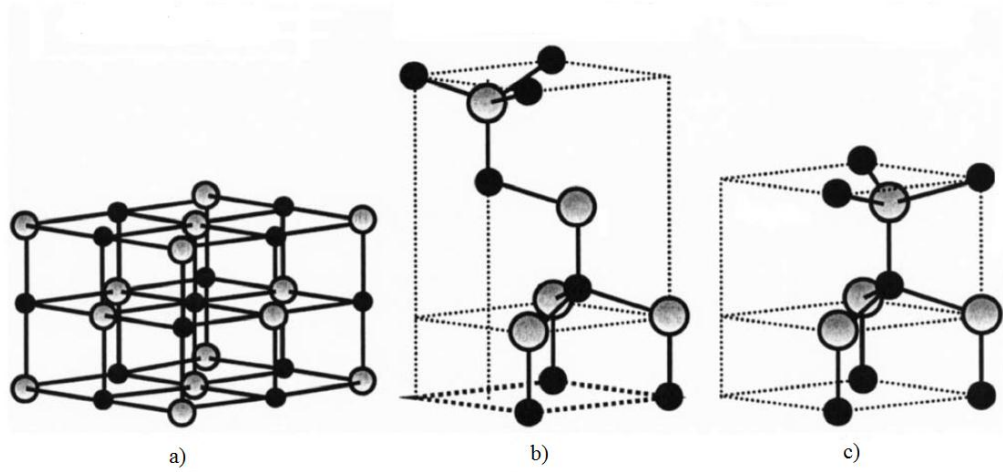
Gelişen nanoteknoloji endüstrisi ve yapılan bilimsel çalışmalar detaylı olarak incelendiğinde, nanoboyutlu tozların en fazla kullanıldığı ve ilerleyen dönemlerde de kullanılması planlanan sektörlerden birisinin kozmetik sektörü olduğu görülmektedir. Kozmetik sektöründe öne çıkan nano partiküllerden biri çinko oksit (ZnO) yapısıdır. ZnO 'in eşsiz band aralık değeri sayesinde UV ışınını absorblama özellikleri bulunmaktadır. ZnO dermatolojik açıdan insan vücudu ile uyumlu olması, hatta koruyucu/iyileştirici, kaşınma giderici ve kızarıklık giderici özelliklerinin yanında birde UV ışını absorblama özelliğı nedeniyle kozmetik sektöründe özellikle güneş kremi süspansiyonlarında kullanılmaktadır. Ayrıca nano boyuta indirildiklerinde şeffaf oldukları ve estetik bir görünüm sağladıkları için de yaygın olarak tercih edilmektedirler. Ancak nano boyuta inildikçe artan yüzey enerjisi, partiküllerin kontrolsüz şekilde birbirleri ile aglomere (topaklanma) olması sonucunda kullanılmak istenen bölgede beklenen özellikleri gösterememesine neden olabilir. Ayrıca

şeffaflık sağlamak üzere boyutları azaltılan nano tozların deriden penetre edilebilmeleri de olasıdır. İşte bu nedenlerle nano boyutlu tozların kontrollü ve güvenli olarak üretilmesi gündeme gelmiş ve literatürde bu konuda yeni yaklaşımlar ortaya koyulması gereği doğmuştur. Bu çalışmada nano boyutlu tozların özelliklerini kaybetmeden bu sorunların giderilmesi amacıyla şekil ve boyut kontrolüne dayanan nano birincil tanelere sahip mikron boyutlu ZnO plakalarının üretilmesi için sentez parametreleri, üretilen plaka şekilli çinko oksit tozlarının tane boyut dağılımı, sinterlenme davranışı gibi özellikleri, *in-vitro* sitotoksikite ve genotoksikite testleri ve güneş kremi uygulama alanı için mikroemülsiyon formülasyonu yapılarak UV absorbe etme özellikleri incelenmiştir.



## 2. ÇİNKO OKSİT : YAPISI, ÖZELLİKLERİ VE KULLANIMI

Çinko oksit (ZnO), 2A grubu metalik çinkonun (Zn) bir oksididir. Piezoelektrik, yarı iletken ve optik özellikleri (morötesi absorplama, düşük kırınım indisi gibi) bir arada gösterebilen nadir malzemelerden biridir. Tablo 2.1’de çinko oksitin temel fiziksel özellikleri (Steiner 2004). II ve VI grubu ikili bileşik yarıiletkenlerin, ya kübik çinko sülfür ya da her anyonun bir tetrahedron’un köşesindeki dört katyon tarafından çevrilen hekzagonal würtzit yapıda kristalize olduğu bilinir. Tetrahedral koordinasyon tipik kovalent bağlı  $sp^3$ ’tür, fakat bu malzemeler aynı zamanda önemli bir iyonik karaktere sahiptir. ZnO iyonikliği, kovalent ve iyonik yarıiletkenler arasında olan bir II-VI grubu bileşik yarıiletkenidir. ZnO’nun kristal yapısı Şekil 2.1’de gösterildiği gibi würtzit (a), çinkosülfür (zincblende) (b) ve kayatuzu (c)’dur. ZnO çevre şartlarında termodinamik olarak kararlı hali olan würtzit fazındadır. ZnO’nin 300 K’deki latis parametreleri  $a = 0.32495$  nm ve  $c = 0.52069$  nm’dir.  $a/c$  oranına bakıldığında çinko oksit 1.602’lik oran ile ideal sıkı paket hekzagonal yapısına (1.633) yakındır.



**Şekil 2.1.** ZnO kristal yapıların gösterimi: a) kübik kayatuzu, b) kübik çinko sülfür, c) hekzagonal würtzit (gri küreler Zn, siyah küreler ise O atomlarını ifade etmektedir) (Özgür ve ark. 2005)

**Tablo 2.1.** Çinko Oksit'in temel fiziksel özellikleri (Steiner 2004).

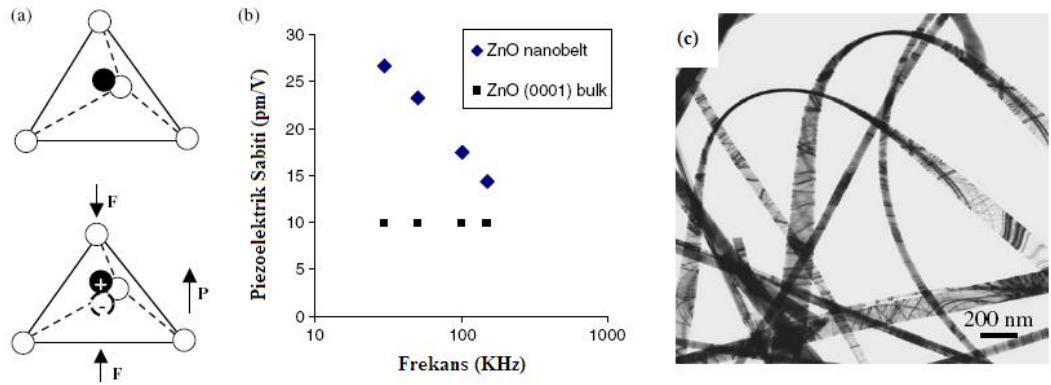
| Özellikler                         |                             |
|------------------------------------|-----------------------------|
| Latis sabitleri (T = 300 K)        |                             |
| $a_0$                              | 0,32469 nm                  |
| $c_0$                              | 0,52069 nm                  |
| Yoğunluk                           | 5,606 g/cm <sup>3</sup>     |
| Ergime noktası                     | 2248 K                      |
| Dielektrik sabiti                  | 8,66                        |
| Enerji boşluğu                     | 3,37 eV                     |
| Taşıyıcı konsantrasyonu            | $< 10^6 \text{ cm}^{-3}$    |
| Uyarım (aktivasyon) enerjisi       | 60 meV                      |
| Etkin elektron kütlesi             | 0,24                        |
| Elektron hareketliliği (T = 300 K) | 200 cm <sup>2</sup> /V.s    |
| Etkin boşluk kütlesi               | 0,59                        |
| Boşluk hareketliliği (T = 300 K)   | 5 - 50 cm <sup>2</sup> /V.s |

## 2.1. Piezoelektrik Özellikler

Çinko oksit yapısının önemli özelliklerden biri olan piezoelektrik etki; basınç algılama, akustik dalga üretimi, akustik-optik modülatörler gibi farklı uygulama alanları altında kapsamlı bir şekilde incelenmiştir ve halen bu alanda uygulama örnekleri vardır.

Çinko oksit yapısındaki piezoelektrik davranış, çinko ve oksijen atomlarının tetrahedral yapıda bağlanarak oluşturduğu kristal yapısından kaynaklanmaktadır. Bu gibi merkezi simetriye sahip olmayan kristal yapısında, pozitif ve negatif yük merkezleri, harici basınç kaynaklı latis deformasyonları ile değiştirilebilmektedir (Şekil 3.3-a). Deformasyon, bölgesel kutup oluşumu ile sonuçlanarak, tüm kristal yapısında makroskopik dipol momentlerin oluşmasına sebebiyet verir. Tetrahedral bağlanma ile oluşan yarı iletkenler arasında ZnO elektro-mekanik kutuplanmayı sağlayan yüksek bir piezoelektrik tensöre sahiptir. Farklı ZnO yapılarının piezoelektrik davranışının incelenmesi gelecekteki potansiyel nano-elektromekanik sistemlerin geliştirilebilmesi

açısından önemlidir. Şekil 2.2’de ZnO nano-kemerin (nanobelt) (0001) yüzeyinin piezoelektrik davranışı atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında ZnO nano-kemer yapısının etkin piezoelektrik sabitinin hacimsel (bulk) ZnO’ dan çok daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Hacimsel ZnO’ in piezoelektrik sabiti 9.93 pm/V olarak ölçülürken, aynı frekans aralığında ZnO nano-kemerin piezoelektrik sabiti 14.3-26.7 pm/V arasında değişmektedir (Fan ve ark. 2005).



**Şekil 2.2.** a) Tetrahedral yapıda koordine olmuş katyon ve anyondan oluşan kristal birimin piezoelektrik davranışı, b) Hacimsel ve nano-kemer yapıları ZnO’ nun piezoelektrik sabitlerinin karşılaştırılması, c) ZnO nano-kemer mikroyapısı (Fan ve ark. 2005)

## 2.2. Elektriksel Özellikler

Çinko oksit yapılarının elektriksel özellikleri, gelecekte nanoelektronik alanındaki uygulamalar için çok önemlidir. Elektriksel geçirgenlik (permittivity) ZnO’ nun fiziksel yapısına bağlı olarak, örneğin nanotel, nanoçubuk olmasına göre, değişkenlikler göstermektedir. Yani ZnO elektriksel açıdan yalıtkandan iletkenliğe kadar çok farklı özellikler gösterebilen bir malzemedir.

ZnO’ nun doğrusal olmayan akım-voltaj ( $I$ - $V$ ) özelliği ilk kez Matsuoka tarafından 1968 yılında keşfedilmiştir. Bu özellik değişen voltaj değerlerine karşılık oluşan akım değerinin yani malzemenin direncinin değişmesidir. Varistör etkisi olarak adlandırılan bu özelliğin keşfi ile günümüzde elektronik devreler, voltaj değişimlerine karşı ZnO varistörler sayesinde korunmaktadır

(Fan ve ark. 2005). Anizotropik kristal yapısına sahip olması sonucunda ZnO' nun yönlerle bağıli elektriksel özellikleri de değişim göstermektedir. Kristalin elektriksel direnci iyonik bağıli a-yönünde 3  $\Omega\text{cm}$  olarak ölçülürken, kovalent bağıli c-yönünde 8.1  $\Omega\text{cm}$  olarak ölçülmüştür (Steele 1991).

### 2.3. Optik Özellikler

ZnO, 3.37 eV' luk bir bant aralığına ve 60 meV gibi GaN (25 meV) ile karşılaştırıldığında çok daha yüksek uyarım (aktivasyon) enerjisine sahiptir. Bu nedenle çinko oksit, az enerji harcanarak etkin bir emisyon değeri elde edilebilmesi nedeniyle mavi-morötesi ışıık aralığında kullanılan fotonik malzemeler arasında önemli bir role sahiptir. Ayrıca band aralığı sayesinde güneşten gelen morötesi ışınlarını absorplama da çok uygun bir malzemedir. ZnO' nun bir diğer optik özelliği ise yüksek kırınım indisidir ( $\sim 2.0$ ). Elmaştan hemen sonra gelen kırınım indisi ( $\sim 2.41$ ) nedeniyle beyazlaştırmacı pigmentler ve kozmetik uygulamalarda morötesi koruyucular içerisinde etkin bir kullanıma sahiptir (Wang 2004).

### 3. NANOPARTİKÜLLERİN GÜNEŞ KREMLERİNDE KULLANIMI

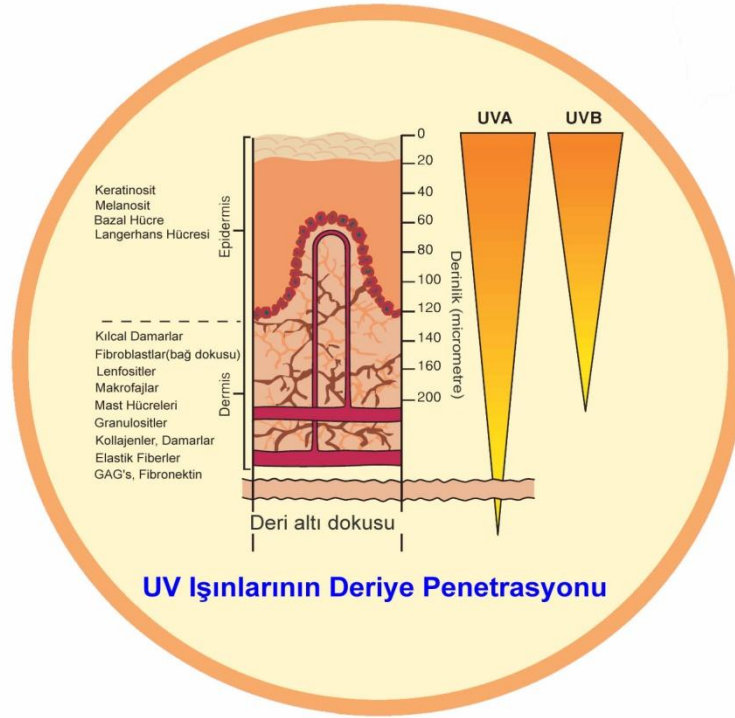
Güneş kremi içerikleri iki ana başlıkta incelenmektedir: Bunlar, kimyasal ve fizikseldir. Kimyasal (organik) güneş kremi içerikleri güneşin yaydığı UV ışınlarını absorblama sırasında yapısında güneş ışınlarına maruz kaldıklarında yapılarında meydana gelen kimyasal reaksiyon ile UV ışınlarını absorblarlar. Ancak bu durum deri üzerinde bazı problemlere yol açabilmektedir. Absorblama mekanizması kimyasal reaksiyonlar sonucunda olduğu için UV ışık altında oluşan bu reaksiyonlar deride kızarıklık, kaşıntı, yara gibi problemler doğurabilmektedir. Fiziksel (inorganik) güneş kremi içeriklerinin en bilinen örnekleri yukarıda da belirtildiği şekilde ZnO ve TiO<sub>2</sub>' dir. Bu tarz inorganik yapılar kimyasal reaksiyonlar olmadan UV ışınlarını absorblayarak ya da saçarak koruma yapmaktadırlar. İnorganik UV absorblayıcılar (TiO<sub>2</sub> ve ZnO) güneş kremi etkin maddelerinde aranan birçok özelliğe sahiptirler. Bunların bazıları; uzun yıllardır genel olarak kullanılıyor olmaları (ki güvenilir kabul edilmeleri) ve geniş spektrum absorpsiyonu özellikleridir. Çinko oksit ve titanyum dioksit tüm bu özellikleri barındırmalarının yanı sıra, uzun süre güneş ışınlarına maruz kalmaları durumunda bile etkilerinin azalmaması gibi önemli bir özelliğe de sahiptirler. Bunlara ek olarak ZnO tahriş etmeyen yapısından ve de kan durdurucu özelliğinden dolayı UV bloklama özelliklerine ek olarak tedavi edici uygulamalarda da kullanılabilmektedir (Innes ve ark. 2002).

UV ışınları güneş ışınlarının 100 nm- 400 nm dalgaboyu aralığındaki ışınlarıdır. Bu aralıktaki ışınlar kendi aralarında da dalgaboyuna göre 3'e ayrılırlar; (McKINLAY ve ark., 1987) UVC (100–280 nm), UVB (280–315 nm) ve UVA (315–400 nm). UVC ozon tabakası tarafından tamamen absorblanır. UVB, ozon tarafından 25 kat azalacak şekilde absorblanır; UVA ise 5 kat azalacak şekilde absorblanır (Gueymard ve ark. 2002). Bu nedenle yeryüzüne ulaşan güneş ışığı içinde UVA, UVB'ye göre 1000 kat daha yoğun olarak bulunur. UVA ışınları derinin alt tabakasına etki ettikleri için, bronzlaşma etkisini geliştirirler. UVB ışınları ise güneş yanığına veya

kızarmaya neden olmaktadır. Üstelik bu ışınlar derideki hücrelerde, bağ dokusunda ve deri damarlarında güneşten kaynaklanan hasarların başlıca sebebidir. Şekil 3.1’de UVA ve UVB ’nin deriye etkisi gösterilmektedir (EPA Raporu). Her ne kadar uzun yıllar UVA ışını daha zararlı olarak bilinse de son yıllarda yapılan araştırmalar UVB ışınlarının daha zararlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle de UVA ışının absorblanmasının yanı sıra UVB’nin absorblanması da sağlık açısından çok önemlidir. Bu açıdan değerlendirildiğinde ideal bir güneş kreminin bu tür UV absorblayıcıları bünyesinde bulundurması gerektiği açıktır. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (The Food and Drug Administration) tarafından hazırlanan dünyada kullanılan güneş krem içeriklerinin UV ışınlarından koruma özelliklerinin karşılaştırıldığı Tablo 3.1’de görüldüğü gibi hem UVA hem de UVB bölgesinde koruma sağlayan tek malzeme çinko oksittir (FDA Raporu). Bunun yanında titanyum oksit UVA bölgesinde yarı koruma UVB bölgesinde ise tam koruma sağlamaktadır. Bu nedenlerle ZnO ve TiO<sub>2</sub>, güneş kremleri için önemli hammaddelerdir. Buna paralel olarak Avustralya hükümetinin bir kuruluşu olan The Australian Therapeutic Goods Administration (TGA) tarafından hazırlanan bir yayında, Avustralya’da listelenmiş olan 1200 güneş kreminin %70 ’inin titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) ve %30’unun çinko oksit (ZnO) içerdiği açıklanmıştır (FAUNCE ve ark., 2005).

Güneş kremleri 200 nm’nin altındaki ZnO ve TiO<sub>2</sub> tozlarının %5 ile %25 arasında değişen konsantrasyonlarda formüle edilmesi ile üretilmektedir. Yapılan çalışmalarda ZnO konsantrasyonu arttıkça, elde edilen krem koruyuculuk özelliğinin arttığı gözlenmiştir (Osterwalder ve ark. 2004). Ancak ZnO ve TiO<sub>2</sub> gibi inorganik yapıların kırınım indislerinin değerlerinin büyük olmasından mikron veya mikron altı (1 mikrometre ile 100 nm arasında) boyutlarda bu UV absorblayıcılar kozmetik uygulamalar açısından sıkıntı doğurur. Beyazlık etkisi diye adlandırılan problem, tozun uygulandığı yerde beyaz lekeler bırakarak estetik açıdan sorunlar yaratan bir problemdir. Bu nedenle çok iyi UV absorblama özelliği göstermelerine rağmen istenilen miktarda ZnO ve TiO<sub>2</sub> kozmetik uygulamalarda kullanılamamaktadır. Bu

beyazlık etkisine rağmen Diffey ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada inorganik güneş kremlerinin organik güneş kremlerine göre 1.5 kat daha fazla SPF (güneş koruma faktörü) gösterdiğini tespit etmişlerdir (Stokes ve ark. 1997). Bu deneysel çalışma altında devam edilen bir sonraki aşamada beyazlık etkisini, deriye sürülme süresi arttırılıp şeffaf olana kadar ince film haline getirilip beyazlık etkisi ortadan kaldırma çalışmaları denenmiş ve bu çalışmada da güneşten korunmanın etkisinin kötüye gittiği görülmüştür (Stokes ve ark. 1997). Endüstriyel ve akademik alanda fark edildiği üzere, kullanıcılar beyazlık etkisinden dolayı organik içerikli UV absorblayıcılara yönelmiştir. Güneş kremi formulatorleri sınırlı miktarda inorganik tozları güneş kreminde ilave edebilirler ve organik yapı ile harmanlayabilmektedirler. Bu yüzden üstün ve güvenli UV koruma sağlamak için inorganik yapıların minimum beyazlık etkisine ve maksimum şeffaflığa sahip olarak üretilmesi hedeflenmektedir.



**Şekil 3.1.** UVA ve UVB ışınlarnın deriye penetrasyonu.(EPA Raporu)

**Tablo 3.1.** Güneş kremi içeriklerinin karşılaştırılması (FDA Raporu).

| Güneş Kremi İçerikleri   | Işıktan Koruma Miktarı |     | Kimyasal / Fiziksel |
|--------------------------|------------------------|-----|---------------------|
|                          | UVA                    | UVB |                     |
| Aminobenzoic acid (PABA) | ○                      | ●   | K                   |
| Avobenzene               | ●                      | ◐   | K                   |
| Cinoxate                 | ◐                      | ●   | K                   |
| Dioxybenzone             | ◐                      | ●   | K                   |
| Homosalate               | ○                      | ●   | K                   |
| Menthyl anthranilate     | ◐                      | ●   | K                   |
| Octocrylene              | ◐                      | ●   | K                   |
| Octyl methoxycinnamate   | ◐                      | ●   | K                   |
| Octyl salicylate         | ○                      | ●   | K                   |
| Oxybenzone               | ◐                      | ●   | K                   |
| Padimate O               | ○                      | ●   | K                   |
| Phenylbenzimidazole      | ○                      | ●   | K                   |
| Sulisobenzene            | ◐                      | ●   | K                   |
| Titanyum Dioksit         | ◐                      | ●   | F                   |
| Trolamine salicylate     | ○                      | ●   | K                   |
| Çinko Oksit              | ●                      | ●   | F                   |

Koruma Seviyesi: ● = mükemmel    ◐ = iyi    ◑ = sınırlı    ○ = minimum

Nanoboyutlu çinko oksit tozlarının kullanımı ile güneş kremlerinde istenmeyen beyaz renk etkisi giderilerek, şeffaf bir görünüm oluşturulabilir. Yapılan bir çalışmada ZnO tozlarının değişik tane boyutlarında ağırlıkça %10 olacak şekilde isostearyl benzoate içerisinde hazırlanan süspansiyonlarının beyazlık indeksleri ölçülmüştür (Innes ve ark. 2002). Bu çalışmaya göre beyazlık etkisinin azaltılması için 50 nm ve daha düşük boyutlu tozların kullanımına ihtiyaç olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tane boyutunun düşmesiyle birlikte oksit tanelerin yüzey alanları arttığı için nano boyutlu partiküllerin UV ışınlarını absorblama kapasiteleri mikron veya mikron altı partiküllere göre daha da yüksektir. Ancak nanoboyuta inildikçe, mikron boyutta karşılaşılmayan ve ya hissedilmeyen bazı sorunlar ortaya çıkabilmektedir.



## **4. NANOPARTİKÜLLERİN GÜNEŞ KREMLERİNDE KULLANIMINDA KARŞILAŞILAN PROBLEMLER**

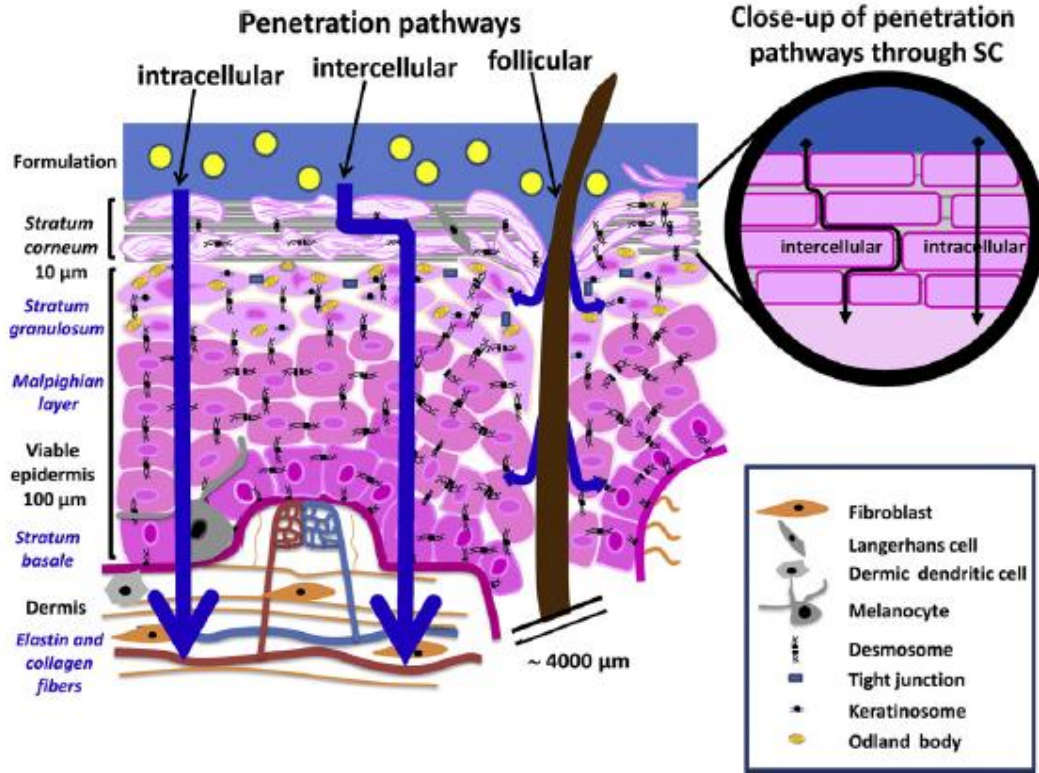
### **4.1. Topaklanma (Kontrolsüz Aglomerasyon)**

Nano boyutlu yapılar sahip oldukları yüksek yüzey enerjileri sebebiyle birbirleri ile kontrolsüz bir araya gelme yani topaklanma eğilimindedirler. Bu kontrolsüz bir araya gelmelerinden dolayı nano boyutlu ve birbirlerinden ayrı iken sahip oldukları özellikler, rastgele bir araya gelip (genellikle mikron boyutta) topak oluşturdıklarında gözlemlenmeyebilir (Zhu ve ark. 2002). Bu sorunun varlığı nano boyutlu partiküllerin özelliklerini etkin şekilde sergilemesini önlediği kadar bu partiküllerin değişik ürünlerde kullanımını da güçleştirmektedir.

### **4.2. Toksikoloji**

Nano boyutlu tozların insan derisine direkt uygulamalarında veya dolaylı olarak insana temas edecek olan uygulamalarında temel olarak iki önemli sorunla karşılaşmaktadır. Bu sorunların bir tanesi nano boyutlu tozların insan derisinden nüfuz ederek kana karışması ve toksik özellikleri olanların insan üzerinde beklenmedik olumsuz sonuçlar doğurmasıdır. Deri insan vücudu üzerinde bulunan ve dış ortamla daimi temas halinde olan, insan vücuduna ait en büyük organdır. Stratum korneum, epidermis ve dermis olmak üzere üç tabakadan oluşur. Derinin görevi iç katmanda bulunan hücreleri mekanik, kimyasal etkiler, ısı, ışık gibi tehlikelerden korumaktır. Ancak bunun yanında nanopartiküllerin insan vücuduna girebilmelerini sağlayacak büyük bir kapı/yol da sunmaktadır. Deriye penetrasyon üç farklı şekilde olabilir (Şekil 4.1). Bunlardan ilki hücreler arası (intercellular) penetrasyondur. Bu penetrasyonda nano yapılar derideki kıl kökü harici diğer boşluklardan yararlanarak iç yapıya doğru ilerlemektedir. İkinci yol hücre içi (intracellular) penetrasyondur. Bu yolla nano partikül zamanla hücre yapısına difüze olarak yapıya sızmaktadır. Son yol ise vücudumuzu kaplayan kıl, tüy gibi yapıların

köklerinden deriye ve daha sonra iç yapıya geçirir (follicular). Kıl kökünün çapının yaklaşık 80-200 nm arası olmasından dolayı nano boyutlu yapıların kolayca geçmesine imkan sağlar . Vogt ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada nano boyutlu yapıların boyutlarına göre kıl köklerinden penetrasyonu incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda 40 nm boyutundaki yapıların kıl kökünü kullanarak yaklaşık olarak 500 – 600 mikrometre derinliğe kadar ilerlediği görülmektedir (Vogt ve ark. 2006). Bu nedenle de özellikle kremlerde kullanılacak kimyasalların deriye nüfuz etmeyecek şekilde tasarlanması gerekmektedir. (Shukla ve ark. 2010).



Şekil 4.1. Nanopartiküllerin deriye penetrasyon yollarının şematik gösterimi

Derinin diğer bir görevi de UV'nin zararlı ışınlarından iç hücre tabakasını korumaktır. Ancak UV ışınımı stratum korneum tabakasındaki lipid yapıda meydana getirdiği biyofizyolojik ve morfolojik değişiklikler sebebiyle derinin koruyucu fonksiyonuna zarar vermektedir (Labouta 2012). Bu nedenle güneşin zararlı ışınlarından vücudu korumak son derece önemlidir. Bu sebeple

kullanılan güneş kremlerinin bu koruyucu etkisi içeriklerinde bulunan  $\text{TiO}_2$  ve  $\text{ZnO}$  gibi fotokatalitik etki gösteren bir takım inorganik kimyasal bileşiklerle sağlanır (Popov ve ark. 2011). Nano boyutlu tozlarda karşılaşılan toksisite ile ilgili bir diğer sorun da bu tozların fotokatalitik özellik sergilemesi sonucu ortaya çıkmaktadır ki bu durumda nano boyutlu yapıların yüzeylerinde oluşan serbest radikaller (nano boyutlu yapılarda mikron boyutlulara göre çok daha fazla oluşturulacağından) canlı hücre yapılarına zarar verebilmektedirler. Güneş kremi, nemlendirici gibi uygulamalarda sıklıkla kullanılan nano boyutlu  $\text{ZnO}$  ve  $\text{TiO}_2$ 'nin fotokatalitik özelliğinden dolayı yüzeyinde oluşan radikaller (deri içine de nüfuz edebileceklerinden) deri içerisinde zamanla hücrelere zarar vermeye başlayabilmektedirler (Yang ve ark. 2009).  $\text{TiO}_2$  ve  $\text{ZnO}$  sistemlerde radikal oluşumu olasılığının ve 40 nm altındaki nano boyutlu tanelerin deri altına penetre etme olasılıklarının yüksek olması nano boyutlu  $\text{TiO}_2$  ve  $\text{ZnO}$  in güneş kremlerinde güvenli kullanımı için yeni yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

## 5. PROBLEMLERİ ÇÖZMEYE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR

Yukarıda sunulan nano boyutlu yapılarla gelen problemlere getirilen yaklaşımlar incelendiğinde kontrolsüz aglomerasyonu önlemek amacıyla nano boyutlu yapılara genellikle organik veya polimerik kaplamalar uygulanmakta ve partikülün çapı genişletilerek penetrasyon olabilecek sınırlar aşılmakta ve böylelikle nano boyutlu tozların hem topaklanmaları önlenmekte hem de deriden nüfuz etme şansı azaltılarak tozlar güvenli hale getirilmektedir (Gupta ve ark. 2005). Ancak bu yöntemde temel nano yapının yüzeyi kaplanarak, yüzeyde meydana gelebilecek olan bazı reaksiyonlar engellenerek gerçekleştiği için yapının etkin özellikler göstermesini de engellemektedir.

Nanoboyutlu çinko oksit tozlarının yüksek yüzey alanları ve kimyasal reaktivitelerinden dolayı daha toksik etki gösterdikleri ve canlı hücrelere daha kolay geçtikleri düşünülmektedir. Ayrıca nanoboyutlu çinko oksit tozları fotokatalitik özellik gösterdikleri için UV ışınları ile etkileşimlerinde serbest radikal ( $\text{OH}$ ,  $\text{O}^{2-}$ ,  $\text{NO}$ ) oluşumuna sebep olurlar (Theogaraj ve ark. 2007; Long ve ark. 2006; Long ve ark., 2007; Dunford ve ark. 1997; Gurr ve ark. 2005; Brayner 2008). Düşük fotokatalitik etkinin istendiği kozmetik gibi uygulamalar için radikal oluşumunu azaltmak amacıyla bazı çalışmalarda titanyum dioksit tozları, silika ve alümina gibi malzemelerle kaplanmaktadır. Kaplamanın etkisiyle fotokatalitik etkinin ve dolayısıyla radikal oluşumunun büyük oranda azaltıldığı düşünülmektedir (Warheit 2004; Nohynek ve ark. 2007). Ancak bu yaklaşımda halen nano boyutlu tozların deriden penetre etmelerine yönelik bir çözüm geliştirilmemiştir.

Nano yapıların toksik özelliklerinin önüne geçmek amacıyla düşünülen ikinci bir durum ise tozları büyüklüğünü belirli bir seviyenin üzerinde tutmak olarak düşünülmüştür. Böylece nano boyutlu yapılar deriden penetre olamayacak kadar büyük olacak ve toksik özellikleri ortadan kalkacaktır. Yukarıda da belirtildiği gibi yaklaşık 50 nm ve altında çapa sahip yapıların deriden geçişlerinin mümkün oldukları görülmüştür. Ancak belirli büyüklüklerin üzerine çıkıldığında hem bazı özelliklerin kaybedilmesi hem de ZnO gibi tozların yüksek kırınım indisinden kaynaklanan opaklık değerinin

artmasından dolayı, estetik açıdan istenmeyen beyazlık etkisi denilen, uygulanan yerde beyaz lekeler oluşturan bir sorunu ortaya çıkılmaktadır.

Bu problemlere çözüm olarak önerilen yapının şekil kontrollü nano birincil tanelere sahip mikron boyutlu tasarlanmış bir yapı olduğu anlaşılmıştır. Bu konuyla ilgili ön çalışma, ilk olarak grubumuz bir yüksek lisans tezi (Özer 2006) olarak gerçekleştirilmiştir. Ön çalışmada farklı iki çözücüyle (gliserin ve metanol) çinko nitrat solvotermal şartlarda reaksiyona sokulmuştur ve sonuçta bazı durumlarda plaka şekilli metal-organik kompleksleri elde edilmiştir. Bu plakaların kalsinasyonu ile da mikron boyutlu 20-40 nm boyutlu ZnO plakalar elde edilmiştir. Bu ön çalışmaya ek olarak yine bir yüksek lisans tezi (Yılmazoğlu 2009) olarak gliserin ortamında 2-10 µm boyutlu plaka şekilli ZnO partiküllerinin üretimi mümkün olmuş, plaka şekilli ZnO tozlarının sentez sıcaklığı, süresi ve yıkama koşulları incelenmiştir.

## 6. AMAÇ

Nanopartiküllerin güneş kremi uygulamalarında kullanılmasında karşılaşılan problemler incelendiğinde, kullanılan metal oksit partiküllerinin nano boyutta olmasından dolayı getirdiği sorunlar olduğu görülmektedir. Bu problemlere çözüm olarak literatürde bir takım çözüm önerileri sunulmuş ancak bütün problemleri tek seferde çözecek bir çözüm bulunamamıştır. Bu yüzden toksik olmayan, esnetik kaygılardan dolayı beyazlık etkisi bırakmayacak, nano birincil tanelere sahip mikron boyutlu tasarlanmış yapılara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyaç göz önünde bulundurularak bir önceki bölümde de bahsedildiği gibi grubumuzda çalışmalar yapılmıştır.

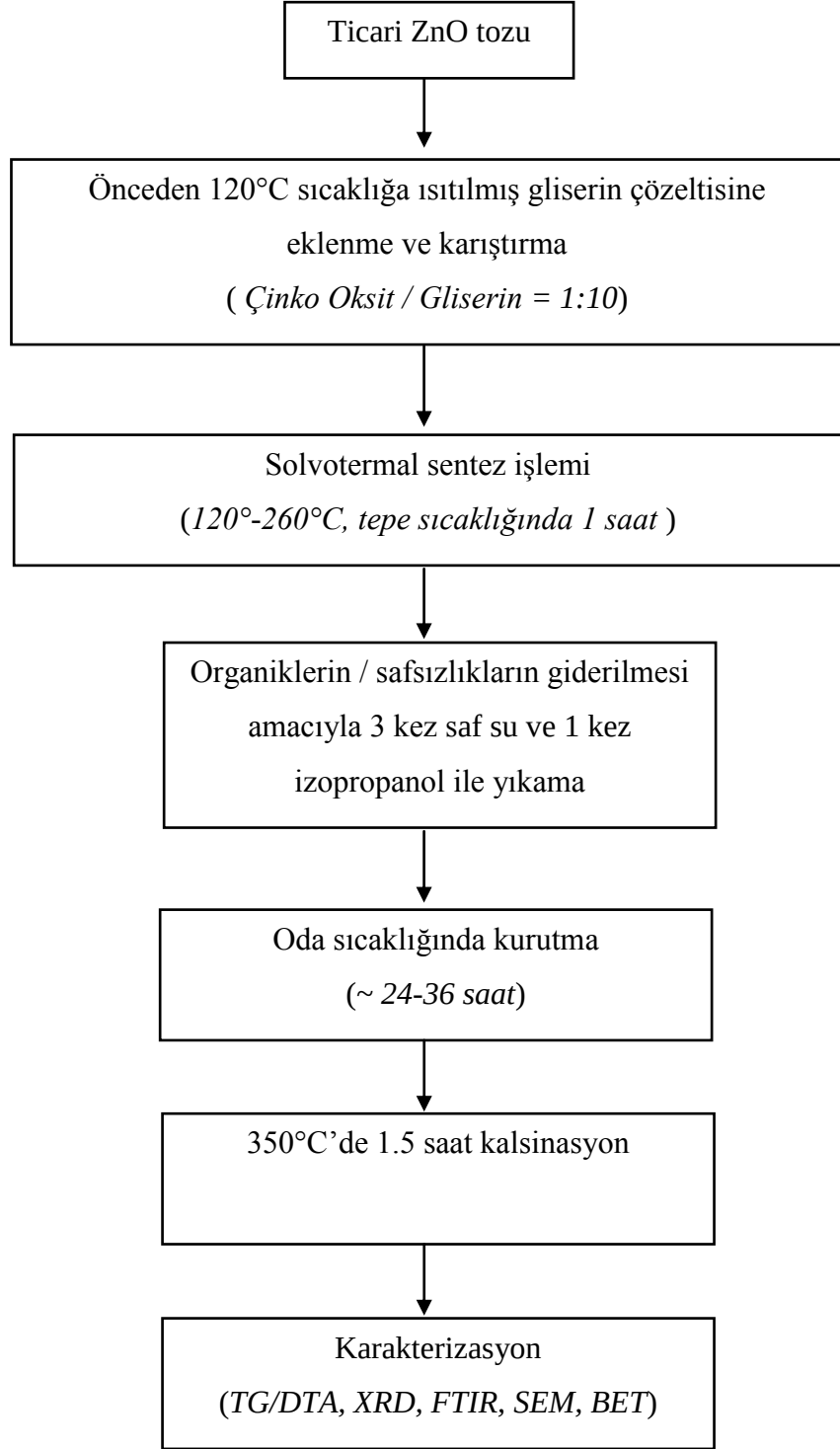
Bu çalışmada ise plaka şekilli ZnO partiküllerinin sentez parametreleri (sentez sıcaklığı ve süresi) ve özelliklerinin (tane boyut dağılımı, sinterlenme davranışı) detaylı olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Bunlara ek olarak yüksek miktarlarda plaka şekilli ZnO tozlarının verim yükseltme ve güneş kremi uygulama alanı için mikroemülsiyon formülasyon çalışması amaçlar arasındadır.

## 7. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

### 7.1. Plaka Şekilli ZnO Partiküllerinin Sentezi

Nano boyutlu ZnO birincil tanelerden oluşan mikron boyutlu tasarlanmış plakaların oluşturulması amacıyla solvotermal yöntem kullanılarak deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bu deneysel çalışmaların özetlendiği akış şeması Şekil 7.1’de verilmiştir. Deneysel çalışmalarda başlangıç tozu olarak çinko oksit (ZnO, Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Çözücü-kontrollü yaklaşım ile gerçekleştirilen bu deneylerde organik yapıda ve üç-dişli (tridentate) ligand olan gliserin (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, Detsan, Eskişehir) çözücü olarak kullanılmıştır. Sentez çalışmalarında çinko oksit, gliserin molce oranı (1:10) kullanılmıştır.

Solvotermal sentez işleminin birinci basamağında sistemde çözücü olarak görev alan gerekli miktarda (150 g) ve molaritede gliserin 120°C sıcaklığa ısıtıcı manyetik karıştırıcı (Barnstead Thermolyne, Cimarec, A.B.D.) ile ısıtılmıştır. Isıtma işlemi ile eş zamanlı olarak mekanik karıştırıcı (Heidolph, RZR 2020, Almanya) ile karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık 120°C’ye ulaştığında gerekli miktarda (15 g) çinko oksit sisteme ilave edilmiş ve elde edilen çözelti (~ 5°C/dakika ısıtma hızı ile) 260°C’ye ısıtılmıştır. Farklı sıcaklıklarda ve farklı sürelerle solvotermal sentez gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sentez sıcaklığı ve sentez süresi gibi süreç parametreleri değiştirilerek, toz özellikleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sentez işlemleri sonrası safsızlıklar ile sistemde kalan gliserinin uzaklaştırılması amacıyla 3 kez saf su ve 1 kez izopropanol (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O, Merck, Darmstadt, Almanya) ile karıştırılarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi sonrası solvotermal sentez yöntemi ile sentezlenen tozlar oda sıcaklığında portatif çeker ocakta kurutulmuştur.



Şekil 7.1. Solvotermal yöntem ile plaka şekilli ZnO toz sentezinde kullanılan deneysel akım şeması



## 7.2. Sentezlenen Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Karakterizasyonu

Sentezlenen tozların kararlı çinko oksit kristal formuna dönüşümü için gerekli kalsinasyon eğrisinin oluşturulması amacıyla termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz (TG/DTA, Netzsch, STA 409 PG, Almanya) teknikleri kullanılmıştır. TG/DTA analiz sonuçlarına göre solvotermal sentez yöntemi ile üretilen tozlar 350°C sıcaklığında 1.5 saat süreyle rulolu fırında (Nannetti, İtalya) kalsine edilmiştir.

Solvotermal yöntemle sentezlenen ve ardından kalsine edilen tozların faz analizi x-ışını difraktometresinde (XRD, Rigaku, Rint 2200, Japonya) Cu K $\alpha$  ışınımları kullanılarak 10° ile 70° aralığında ve 2°/dk tarama hızı ile gerçekleştirildi. Tozların yapıları içerisindeki bağların belirlenmesi ve yapıları hakkında daha fazla bilgi edinilmesi amacıyla Fourier dönüşümü infrared spektroskopisi (FTIR, Bruker, Tensor 27, Almanya) çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda 0.0004 g toz, 0.1996 g potasyum bromür (KBr, Sigma Aldrich, Taufkirchen, Almanya) tozu ile karıştırılarak yarı şeffaf FTIR peletleri hazırlanmıştır. Tozların ortalama tane boyutu, tane boyut dağılımı ve morfolojisi taramalı elektron mikroskoplarında (SEM, Zeiss, EVO 50 EP, Almanya) ikincil elektron dedektörü kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca Anadolu Üniversitesi Elektron Mikroskobu grubunun desteği ile bazı tozların detaylı olarak incelemesi geçirimli elektron mikroskobu (TEM, Jeol, JEM 2100F, Japonya) ile gerçekleştirilmiştir. Üretilen tozların spesifik yüzey alanı (SSA), Brunauer-Emmett-Teller (BET, QuantaChrome Instruments, Autosorb-1, A.B.D.) metodu temel alınarak spesifik yüzey alanı ölçüm cihazı<sup>9</sup> ile ölçüldü. BET analizi öncesinde ise 200°C sıcaklıkta 2 saat süreyle tozların nemleri vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ölçümlerde ise adsorbe edici gaz olarak azot (N<sub>2</sub>) kullanılmıştır.

Bütün tozların küresel şekle ve aynı tane boyutuna sahip oldukları varsayılarak, tozların spesifik yüzey alanlarından eşdeğer küresel çapları ilişkili formül (Eşitlik 1) kullanılarak hesaplandı. Bu eşitlikte d, eşdeğer küresel çapı,

S, tozun spesifik yüzey alanını ve  $\rho$ , tozun teorik yoğunluğunu ifade etmektedir.

$$d = \frac{6}{S \cdot \rho} \quad (1)$$

Üretilen tozların birincil tane boyutları ise XRD sonuçları üzerinden ve pik genişliklerine göre Scherrer eşitliği (Eşitlik 2) kullanılarak hesaplanmıştır. Bu eşitlikte D, birincil tane boyutunu,  $\lambda$ , Cu K $\alpha$  ışınının dalgaboyunu (1.542 Å),  $\beta$ , anataza ait (101) pikinin yarı yüksekliğindeki tam genişliği (FWHM) ve  $\theta$  ise (101) pikinin olduğu açıyı temsil etmektedir.

$$D = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (2)$$

Sentezlenen plaka şekilli ZnO partiküllerinin tane boyut dağılımı farklı dağıtıcı ortamlarında dağıtılarak tane boyut analizi cihazı (Malvern Mastersizer, İngiltere) kullanılarak yapılmıştır.

### 7.3. Sentezlenen Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Sinterlenmesi

Sentezlenen plaka şekilli ZnO tozlarının son ürün özelliklerinin ölçülmesi amacıyla sinterleme çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada tane boyutu ve yoğunluğun sıcaklık ile değişimi incelenmiştir.

Preslenen malzemelerin yaş yoğunlukları  $d=m/V$  formülü yardımıyla hesaplanmıştır. Elde edilen peletlerin çap ve yükseklikleri otomatik kumpas yardımıyla ölçülmüş ve hacimi hesaplanmıştır. Peletlerin kütlesi de 4 dijital hassas terazi ile ölçülmüştür. Elde edilen yoğunluk değerleri, tozun teorik yoğunluğuna bölünmüş ve 100 ile çarpılarak %'ce yaş yoğunluk değerleri hesaplanmıştır. Sinterlenmiş numunelerin teorik yoğunluğu ise Arşimet tekniği ile belirlenmiştir. Malzemenin yoğunluğu aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır

(Eşitlik 3). Burada  $\rho$  malzemenin yoğunluğu,  $\rho_{Su}$  ise suyun ölçüm yapılan sıcaklıktaki yoğunluğudur.

$$\rho = \frac{m_{kuru}}{m_{askıda} - m_{yaş}} \times \rho_{Su} \quad (3)$$

Preslenen numunelerinin sinterlenme sıcaklığının belirlenmesi amacıyla TMA (Thermal Mechanical Analyzer, Shimadzu, Japonya) cihazı kullanılmıştır. TMA cihazı için preslenen numune 1x1 mm olacak şekilde küp haline getirilmiş 1300°C tepe sıcaklığına 10°C/dk ısıtma hızı koşullarında ölçüm yapılmıştır.

#### **7.4. *İn-vitro* Çalışmalarında Kullanılan Nano Boyutlu ZnO (Z-1) Tozunun Karakterizasyonu**

İn-vitro çalışmalarında kullanılan nano boyutlu ZnO (Z-1) tozunun toksisite yorumlarının daha iyi yapılabilmesi amacıyla morfoloji ve tane boyutu analizi amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM), faz analizi amacıyla x-ışınları difraktometresi (XRD), aktif yüzey alanı ölçümü için BET cihazı kullanılmıştır. Kantitatif olarak element analizi için ise x-ışınları floresans (Rigaku, ZSX Primus) analiz cihazı kullanılmıştır. Bu çalışma ile birlikte özellikle saflık bilgisi net olarak üretici firma tarafından belirtilmeyen ticari nano boyutlu ZnO (Z-1 kodlu) tozunun yüzdece saflık oranının ve içerdiği safsızlıkların belirlenmesi hedeflenmiştir. XRF analizleri öncesinde 0.7 g ticari toz ile 7.0 g lityum tetraborat tozu tartılmış ve havanda öğütülerek karıştırılmıştır. Ardından platin kroze içerisine yerleştirilerek 15 dakika süreyle 950-1000°C arasında eritiş gerçekleştirilmiş ve devamında platin tabla üzerinde hızlı soğutularak XRF numuneleri analiz için hazırlanmıştır.

### **7.5. Nano Boyutlu ZnO (Z-1) ve Plaka Şekilli ZnO (Z-plaka) Tozlarının *in-vitro* Toksisite Testleri**

TÜBİTAK 109M585 nolu proje çalışma grubunun yaptığı çalışmada, hem ticari nano boyutlu ZnO hem de sentezlenen plaka şekilli ZnO *in-vitro* sitotoksisite ve genotoksisite çalışmaları gerçekleştirilmiş ve toz özellikleri ile toksisite değerleri arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar Anadolu Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### **7.5.1. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan yöntem ve gereçler**

Bu çalışmada, hem ticari hem de sentezlenen tozların *in-vitro* sitotoksisite ve genotoksisite çalışmaları gerçekleştirilmiş ve toz özellikleri ile toksisite değerleri arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır.

#### **7.5.2. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan TIG-114 hücreleri**

TIG-114 hücreleri, insan deri fibroblast primer kültür hücreleridir. Bu hücreler JCRB (Japanese Collection of Research Bioresources) hücre bankasından temin edilerek laboratuvarımızda yetiştirilmişlerdir.

#### **7.5.3. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan aletler ve cihazlar**

Steril kabin (Heraus), CO<sub>2</sub> inkübatörü (Heraus), ELISA cihazı (Bio-Tek), Otoklav, Soğutmalı santrifüj (Heraus), Floresan ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus), Inverted mikroskop (Olympus), Sıvı azot tankı, Elektroforez tankı ve güç kaynağı (Thermo), Su banyosu (Clifton), 12 kanallı mikropipet (Eppendorf), Dağıtıcı Pipet (Eppendorf).

#### **7.5.4. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler**

Teknik Alkol, MTT (Applichem), Fetal Bovine Serum, Eagle's Minimum Essential Medium (Sigma), Fetal Bovine Serum (Sigma), Penicilin-Streptomycin (Sigma), Trypsin-EDTA Solution (10X) (Sigma), Sodyum Bikarbonat (Sigma), Dimethyl Sulfoxide (Riedel de Haen), Dimethyl Sulfoxide (Sigma), Etanol (Riedel de Haen), MTT (Sigma), KCl (Merck), NaCl (Merck), CaCl (Merck), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck), EDTA (Merck), Tris Base (Bazik), Tris HCl (Sigma), NaOH (Sigma), Metanol (Riedel de Haen), Agaroz (Sigma), düşük erime noktalı agaroz (Sigma), Ethidium Bromide (Sigma), Triton X-100 (Sigma), Sıvı Azot.

#### **7.5.5. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan sarf malzemeler**

25 ve 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklar, 96 ve 6 kuyucuklu plakalar (TPP), cam mezürler, cam pipetler (1, 2, 5 ve 10 ml hacminde), enjektörler (10, 20 ve 50 ml hacminde), 100, 250, 500, 1000 ml'lik Durham şişeler, 10 ml'lik tek kullanımlık pipetler, Steril polipropilen santrifüj tüpleri (15 ve 50' ml hacminde), steril filtreler, Thoma Lamı, PES membran filtreler (0,2 mikron çapında), lam, lamel, otoklav ve sterilizatör sıcak hava bantları, mavi, sarı ve beyaz otomatik pipet uçları ve eppendorf tüpleri.

#### **7.5.6. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan araç ve gerecin hazırlanması**

Çalışmalarda kullanılan cam ve plastik malzemeler ile sıvı solüsyonlar alüminyum folyolara sarılı olarak otoklavda 121 °C, 1.5 atm/Hg basınçta 20 dakika, cam ve metal malzemeler ise, alüminyum folyolara sarılı olarak sterilizatörde 180°C'de 2 saat süre ile steril edilerek kullanılmıştır. Kullanılan bazı sıvı kimyasallar 0,22 µm aralıklı PES membran filtreden geçirilmek sureti ile steril edilerek kullanılmıştır.

#### **7.5.7. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan test maddelerinin dozlarının hazırlanması**

Test maddeleri olarak kullanılan nano boyutlu ZnO (Z-1) ve plaka şekilli ZnO tozlarının hücrelerin büyümesi ve gelişimi için kullanılan besiyerinde çözülerek 1000 µg/ml’lık ana stok dozu hazırlanmıştır. Daha sonra bu ana stoktan dilüsyon yolu ile 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml, 50 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bu hazırlanan konsantrasyonlar, literatür taramaları ve deneysel ön çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. Bu çalışmada negatif kontrol olarak hücre besiyeri içeriğinde bulunan ultra saf su 1 µl /ml olacak şekilde kullanılmıştır. Test edilen tozların konsantrasyonları her deney öncesinde taze olarak hazırlanmıştır.

#### **7.5.8. *İn-vitro* toksisite çalışmalarında kullanılan hücreler ve hücrelerin testler için hazırlanması**

Ticari nano boyutlu ZnO (Z-1) ve plaka şekilli ZnO tozlarının yapı aydınlatma çalışmalarının tamamlanmasından sonra elde edilen bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla TIG 114 Hücreleri %1 Non Essential Amino Acid solüsyonu içeren % 10 Fetal Sığır serumlu (FBS) Minimum Essential Eagle Medium, besi ortamının konulduğu flasklarda, 37°C’de ve % 5 CO<sub>2</sub> içeren CO<sub>2</sub> inkübatöründe kültüre edilmişlerdir. Deney için yeterli sayıya ulaşan hücreler, thoma lamı ile sayılarak MTT testi için 96 kuyucuklu plakalara her kuyucuğa 2x10<sup>4</sup> hücre gelecek şekilde ekilmişlerdir. Komet deneyi için 6 kuyucuklu plakalara her kuyucukta 8x10<sup>5</sup> hücre olacak şekilde ekilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından besiyerleri uzaklaştırılarak nano boyutlu ZnO (Z-1) ve plaka şekilli ZnO tozlarının literatür taraması ve ön deneme çalışmaları sonucunda elde edilen uygun konsantrasyonları hücrelere uygulanarak MTT ve Komet testleri yapılmıştır.

### 7.5.9. Mitokondriyal aktiviteye dayalı MTT ölçümü

Nano boyutlu test maddelerinin TIG-114 hücreleri üzerinde sitotoksik etkilerini belirlemek amacı ile MTT testi uygulanmıştır. Hücreler %1 Non Essential Amino Acid solüsyonu içeren % 10 Fetal Sığır serumlu (FBS) Minimum Essential Eagle Medium, besi ortamının konulduğu flasklarda, 37°C'de ve % 5 CO<sub>2</sub> içeren CO<sub>2</sub> inkübatöründe kültüre edilmişlerdir. Deney için yeterli sayıya ulaşan TIG 114 hücreleri, thoma lamı ile sayılarak 96 kuyucuklu plakalara her kuyucuğa 2x10<sup>4</sup> hücre gelecek şekilde ekilmişlerdir. 24 saatlik inkübasyon süresinin ardından besiyerleri uzaklaştırılarak hücrelerin üzerine test maddelerinin ön deneme çalışmaları sonucunda elde edilen uygun konsantrasyonlarını içeren taze besiyerleri ilave edilerek CO<sub>2</sub> inkübatöründe inkübe edilmişlerdir. Test maddeleri ile 24 saat muamele edilen hücrelerden inkübasyon süresi sonunda besiyerleri uzaklaştırılarak MTT ilavesi yapılmıştır. Hücreler 5 mg/ml MTT stok solüsyonu ile 2 saat CO<sub>2</sub> inkübatöründe inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda MTT içeren besiyerleri kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır. Canlı hücreler tarafından oluşturulan formazan tuzlarının çözünmesi için her bir kuyucuğa 100 µl DMSO ilave edilip, 5 dakika beklendikten sonra plakalardaki hücrelerin optik dansiteleri 570 nm dalga boyunda ELx808 Absorbance Microplate Reader (Bio-tek, USA) cihazında okutulmuştur. Test maddeleri ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı % 100 olarak kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları % olarak ifade edilmiştir. Negatif kontrol olarak ultra saf su kullanılmış ve hücreler için gerekli olan besi ortamı ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Deneyler 3 kez ve 8 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler için SPSS programı kullanılmıştır. Elde edilen verilerin anlamlılıkları tek yönlü ANOVA ile post-hoc olarak Tukey testi uygulanarak belirlenmiştir. Anlamlılık değeri olarak  $p < 0.05$  olarak kabul edilmiştir.

#### 7.5.10. Komet (Tek hücreli jel elektroforezi) genotoksisite testi

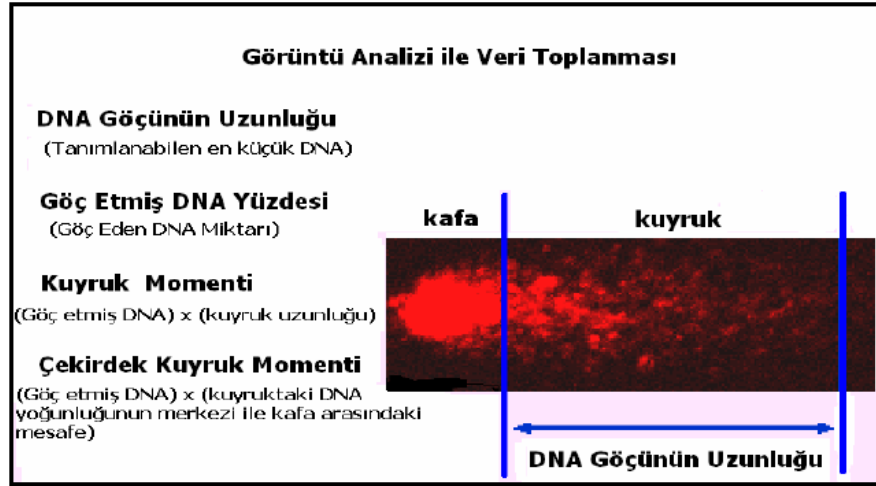
Komet yönteminde, ilk olarak hücrelerin üzerinde yürüyeceği lamaların hazırlanması gerekir. Bu amaçla lamalar %1'lik normal erime noktalı agaroz ile kaplanmıştır.

TIG-114 hücreleri Minimum Essential Eagle Medium, % 10 Fetal Sığır serumu (FBS) içeren besi ortamının konulduğu flasklarda, 37°C'de ve % 5 CO<sub>2</sub> içeren CO<sub>2</sub> inkübatöründe kültüre edilmişlerdir. Deney için yeterli sayıya ulaşan TIG-114 hücreleri, thoma lamı ile sayılarak 6 kuyucuklu plakalara her kuyucuğa 8x10<sup>5</sup> hücre gelecek şekilde ekilmişlerdir. 24 saatlik inkübasyonun ardından besiyerleri uzaklaştırılarak ticari nano boyutlu ZnO ve (Z-1) ve plaka şekilli ZnO tozlarının uygun konsantrasyonları hücreler ile 24 saat muamele edilmişlerdir. Bu deneyde kullanılan konsantrasyonlar 10, 20 ve 40 µg/ml'lik konsantrasyonlardır. Bu deneyde pozitif kontrol olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 µM) kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise hücre kültür medyumunu kullanılmıştır. 24 saat maddelerle hücrenin muamalesinden sonra hücreler, Tripsin-edta ile kaldırılıp thoma lamı ile sayılmıştır. Her bir dozdan eşit sayıda hücre alınarak ayrı ayrı santrifüj edildikten sonra, eppendorflar tüpler içerisinde üzerlerine PBS (Phosphate buffer solution) eklenerek hücreler süspansiyon haline getirilmiştir. Süspansiyon haldeki hücrelerden 20 µl alınarak 80 µl % 1'lik düşük erime noktasına sahip agaroz ile karıştırılmış ve lam üzerine ince bir tabaka halinde yayılarak donması için + 4°C'de 30 dakika kadar bekletilmiştir. Daha sonra hücreler NaCl, Tris, EDTA, DMSO (dimetil sülfoksit) ve Trion-X içeren pH 10'daki parçalama solüsyonu içerisinde 1 saat bekletilmiş ardından da distile su ile yıkandıktan sonra şartlandırma için 20-40 dk arasında yüksek alkali özellikteki elektroforez çözeltisi içerisinde tutulmuştur. Şartlandırma işleminin ardından lamalar elektroforez tankında 25 V 300 mA 25 dk. (1 V/cm) elektrik akımına maruz bırakılarak hücre çekirdeklerinin göç etmeleri sağlanmıştır. Elektroforez işleminin ardından lamalar 3 kez, 5'er dakika süreyle nötralizasyon çözeltisinde bekletilmiş ve distile su ile yıkandıktan sonra kurumaları için oda sıcaklığında bekletilmiştir. İşlemler ışıktan kaynaklı DNA



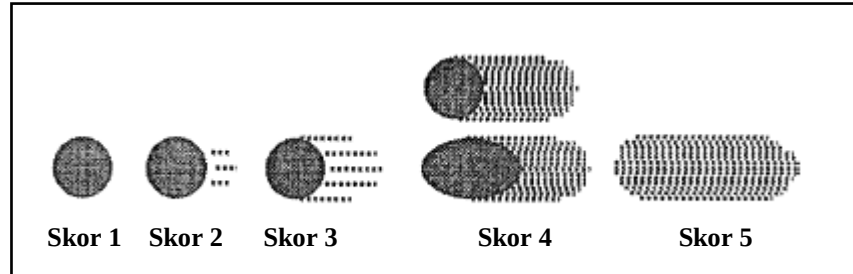
hasarını önlemek amacıyla karanlık bir ortamda gerçekleştirilmiş ve kullanılan tüm çözeltilerinin ısısının + 4°C’de olmasına dikkat edilmiştir. Elektroforez işlemi de serin ve karanlık bir ortamda gerçekleştirilmiştir. Kuruyarak boyamaya hazır hale getirilen lamalar floresan bir boya olan EtBr (Etidyum bromür) 5 µg/ml olacak şekilde boyanmıştır.

Lamlar boyandıktan sonra her doz için paralel olarak hazırlanan iki preparattan rastgele seçilen 25 hücre 40X büyütme, 515-560 nm eksitasyon filtreli 100 W civa lambalı, bilgisayar destekli BX-50 floresan ataçmanlı mikroskopta, BS200ProP Komet Deney analiz programı kullanılarak kalitatif olarak incelenmiştir. Kumarevel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (Başaran ve ark. 2004) komet analiz programlarından elde edilen parametreler içerisinde doza bağlı genotoksisiteyi belirlemek için kullanılması gereken en anlamlı parametrelerin kuyruk momenti, kuyruktaki % DNA ve çekirdek kuyruk momenti (olive tail moment) olduğu ortaya konulmuştur. Bundan dolayı elde edilen sonuçlar bu parametrelerden kuyruktaki % DNA değerleri temel alınarak değerlendirilmiştir. Bu değerlerin artması, genotoksik etkinin oluştuğunun önemli bir işaretidir. Şekil 7.2’de bu parametreler ile ilgili bilgiler yer almaktadır (Kumaravel ve ark. 2006). Bu çalışmada, analiz sistemi kullanılarak elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerleri tablolar halinde sunulmuştur. Ayrıca kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerlerinin, kontrole göre değişim değerleri yüzdece hesaplanarak tablolarda gösterilmiştir.



**Şekil 7.2.** Komet deneyi ile genotoksisite analizinde kullanılan önemli parametreler (Kumaravel ve ark. 2009).

DNA hasarının kalitatif olarak inceleme için hücelere ait resimler 20x büyütme ile BX-50 floresan ataçmanlı mikroskopta incelenerek görsel değerlendirme ile her lamdan rastgele 25 hücre sayılarak (Tice ve ark. 2000; Shukla ve ark. 2011) ve kuyruk oluşturma oranlarına göre 5 gruba ayrılan hücreler (Kumaravel ve ark. 2009) değerlendirilmiştir (Şekil 7.3).



**Şekil 7.3.** Kuyruk özelliklerine göre hücrelerin gruplandırılması (KUMARAVEL ve ark., 2009).

#### 7.5.11. TIG 114 hücrelerine UV-A uygulanması

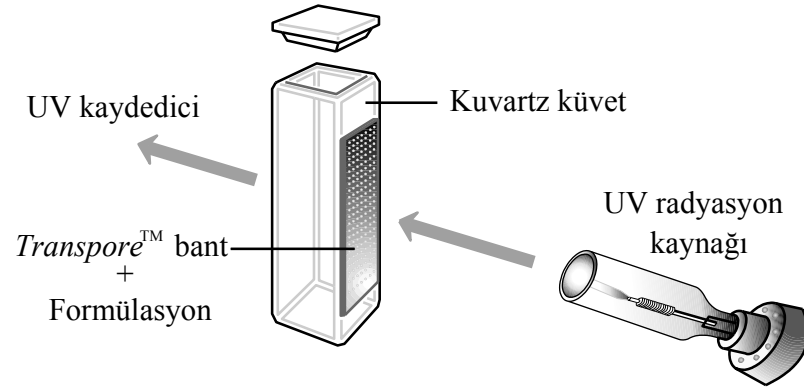
Test edilecek olan ZnO (Z-1) ve plaka şekilli ZnO tozlarının UV-A varlığında TIG 114 hücreleri üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkisini belirlemek amacı ile TIG 114 hücrelerine UV-A uygulanmıştır. 2010 yılında Tiano ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 20 cm yükseklikten ve 15

dakika süresince UV-A ışınına maruz kalmanın Fransa Riviera (Nice) eyaletinde öğlen saatlerinde 90 dakika güneş ışığına maruz kalmaya eşit olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma referans alınarak, gerçekleştirilen UV-A çalışmalarında maddeler hücrelere verildikten sonra 10 dakika UV-A (9W) ile muamele edilmişlerdir. Daha sonra hücreler 24 saat inkübasyona bırakılıp, besiyerleri hücrelerden uzaklaştırılarak MTT ve komet testleri uygulanmıştır.

#### **7.6. Sentezlenen Plaka Şekilli ZnO Partiküllerinin Mikroemülsiyon Formülasyonuna Dönüştürülmesi**

Güneşten koruyucu sistem formülasyonu için taşıyıcı sistem olarak dış fazı yağ olan mikroemülsiyon taşıyıcı sistem hazırlanmıştır. Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında, yağlı faz olarak Miglyol 840, yüzey etken madde olarak ABILEM 90, yardımcı yüzey etken madde olarak izopropil alkol ve sulu faz olarak distile su kullanılmıştır. Mikroemülsiyon taşıyıcı sistem içerisinde farklı boyutlara sahip ZnO partikülleri kullanılmıştır. Bunlar <100 nm ve mikron altı tane boyutuna sahip ticari ZnO tozları ve plaka şekilli ZnO partikülleridir.

Güneş ışınlarını filtre edici formülasyonların etkinlikleri, *in vitro* ortamda çeşitli yöntemlerle değerlendirilmektedir. Diffey ve Robson'ın 1989 yılında önerdiği Transpore™ test, uygulaması oldukça kolay ve sık kullanılan yöntemlerden birisidir. Transpore™ bant, kuvarz küvetler üzerine yapıştırılır ve  $2.0 \text{ mg.cm}^{-2}$  formülasyon homojen olarak yüzeye sürülür. Uygulamadan sonra yaklaşık 15 dakika kurumaya bırakılır. Transpore™ bantı yapıştırılmış referansa karşı, UV spektrofotometresi (UV-Visible Spectrophotometer, Cary, A.B.D.) ile 290-400 nm aralığında spektrum alınarak analiz gerçekleştirilir. Şekil 7.4'te şematik gösterimi bulunan Transpore™ yöntemi kullanılarak, çeşitli oranlarda hazırlanan mikroemülsiyonların 290-400 nm dalga boyları arasında UV absorbe etme özellikleri ölçülmüştür.

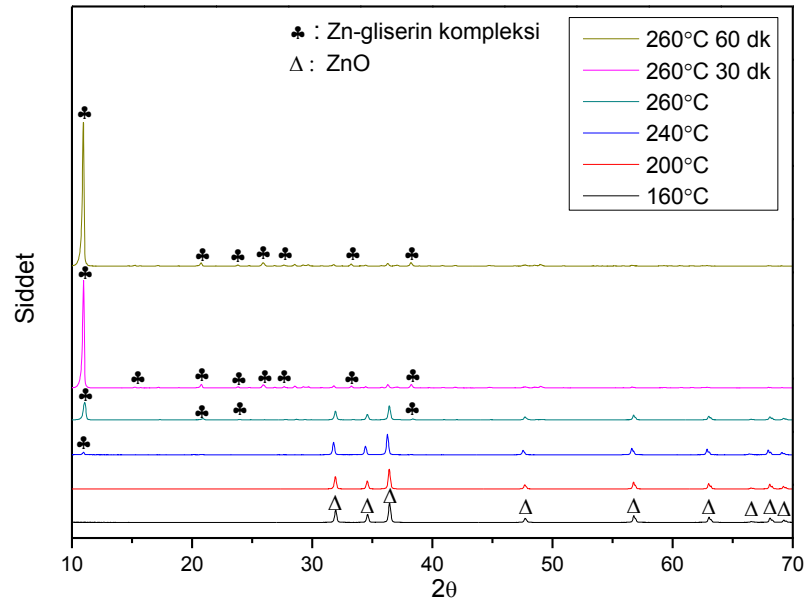


**Şekil 7.4.** Transpore™ yöntemi ile UV-Visible Spectrophotometer ölçümünün şematik gösterimi

## 8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 8.1. Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Sentez Sıcaklığı ve Süresinin Faz Gelişimi ile Tane Morfolojisi Üzerindeki Etkisi

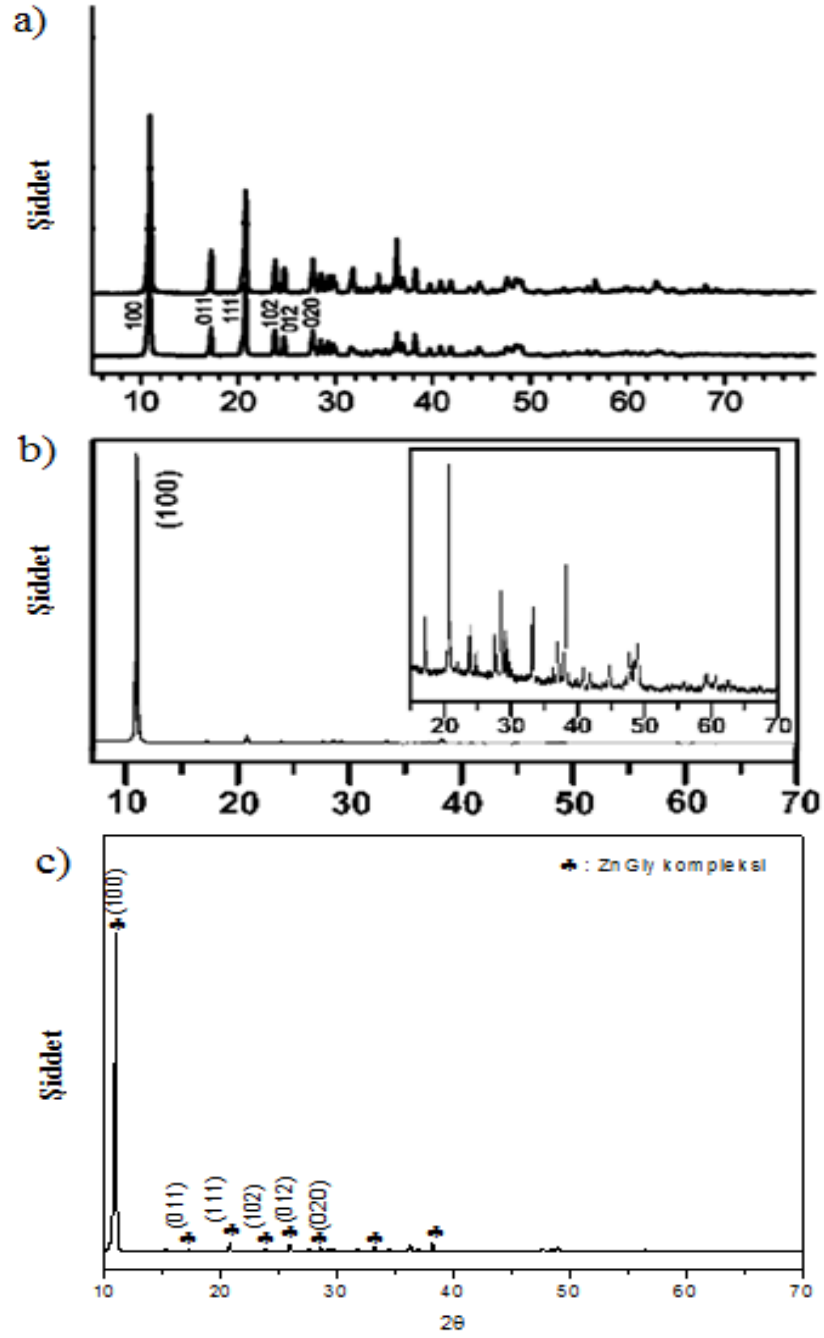
Sentez sıcaklığının öncelikle faz gelişimi üzerindeki etkisinin incelenmesi ve sentez mekanizmasının yorumlanması amacıyla gerçekleştirilen solvotermal sentez çalışmalarında sırasıyla 160°C, 200°C, 240°C ve 260°C sıcaklıklarda kesikli olarak numuneler alınmıştır. Ayrıca solvotermal sentez işleminin gerçekleştirildiği tepe sıcaklığı olan 260°C’de 30 dakika ve 1 saat sonlarında da numuneler alınmıştır. Alınan numuneler yıkanmış ve ardından oda sıcaklığında kurutulmuştur. Şekil 8.1’de farklı sıcaklıklarda alınan numunelere ait XRD grafikleri gösterilmiştir. 160°C ve 200°C sıcaklıklarda alınan numunelerin XRD grafikleri incelendiğinde tüm piklerin ZnO formuna ait referans XRD piklerine (PDF#00-036-1451) karşılık geldiği belirlenmiştir. Dolayısıyla başlangıç çinko kaynağı olan ticari ZnO tozunun bu sıcaklıklarda kimyasal olarak dönüşüme uğramadığı ve gliserin çözücüsü ile reaksiyona girmediği gözlenmiştir. Sentez sıcaklığı 240°C’ye ulaştığında ise bu piklerin haricinde 11° civarında yeni bir pik oluşumu gözlenmiştir. Bu sonuca göre gliserin ile ZnO tozunun bu sıcaklıkta reaksiyona girmeye başladığı görülmektedir. Devamında 260°C sıcaklıkta ve bu sıcaklıkta farklı sürelerde alınan numunelere ait XRD grafikleri değerlendirildiğinde ise ticari ZnO tozunun gliserin çözücüsü ile reaksiyonu sonucu tamamen yeni bir yapının oluştuğu belirlenmiştir. Solvotermal sentez sonrası elde edilen tozlara ait XRD grafiği incelendiğinde, piklerin herhangi bir referans XRD grafiğine ait pikler ile uyuşmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak burada çinko katyonu ( $Zn^{+2}$ ) ile gliserin ( $C_3H_5(OH)_3$ ) sisteminin yüksek kristallığe sahip yeni bir Zn-gliserin kompleks yapısı (çinko gliserolat, vb.) oluşturduğu düşünülmektedir.



**Şekil 8.1.** Sentez sıcaklığının faz dönüşümüne etkisi: Sırasıyla 160°C, 200°C, 240°C, 260°C sıcaklıklarda, devamında da 260°C sıcaklıkta 30 dakika ve 60 dakika sonlarında alınan numunelere ait XRD grafikleri

Literatür detaylı olarak incelendiğinde, 2009 yılında Remias ve arkadaşlarının gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada (Remias ve ark. 2009) çinko oksit ve gliserin çözücüsü kullanılarak hazırlanan karışımın teflon-astarlı paslanmaz çelik bir otoklavda 150°C sıcaklıkta, 24 saat süreyle reaksiyonu sonucunda çinko gliserolat kompleksi elde edilmiştir. 2010 yılında Das ve Khushalani tarafından gerçekleştirilen diğer bir bilimsel çalışmada (Das ve ark. 2010) ise çinko klorür ( $ZnCl_2$ ), sodyum hidroksit ve gliserin çözücüsü kullanılarak bir karışım hazırlanmıştır. Bu karışımın 190°C sıcaklıkta 5 saat süreyle reflux edilmesi sonucu benzer şekilde çinko gliserolat yapısı elde edildiği gözlenmektedir. Bu iki çalışmada gösterilen çinko gliserolat yapılarına ait XRD grafikleri ile bu çalışmada 260°C sıcaklıkta 1 saat süreyle solvotermal sentez sonucunda elde edilen tozlara ait XRD grafiği (Şekil 8.2) birbirleriyle uyushmaktadır. Literatürde gösterilen çinko gliserolat yapılarına ait XRD grafikleri değerlendirildiğinde, bu yapıya ait belirleyici ve yüksek şiddete sahip temel XRD pikinin 11° civarında olduğu açıkça görülmektedir (Şekil 8.2-a ve Şekil 8.2-b). Ayrıca bu grafiklerde 17° ile 50° arasında düşük şiddete sahip

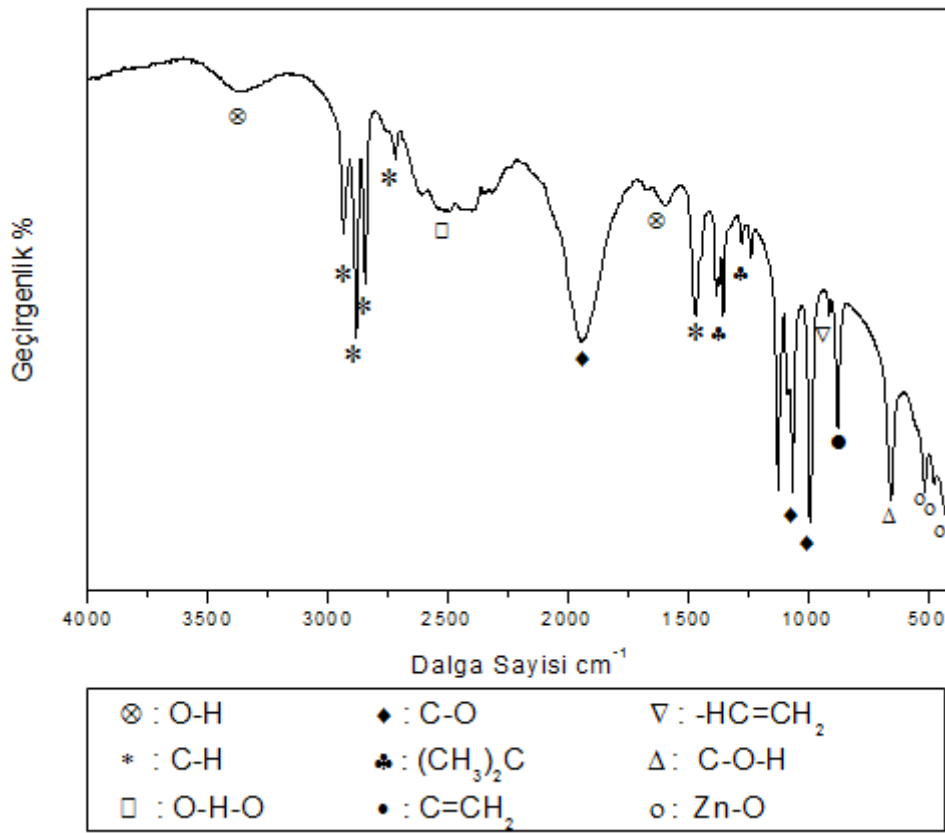
piklerin olduğu ve bunların da çinko gliserolat kompleksinin XRD deseniyle örtüştüğü gözlenmektedir.



**Şekil 8.2.** Literatürde a) Remias ve arkadaşlarının 2009 yılında ve b) Das ve arkadaşlarının 2010 yılında ortaya koydukları çinko gliserolat kompleksine ait (adapte edilen) ve c) bu çalışmada 260°C sıcaklıkta, 1 saat solvotermal sentez sonucu elde edilen Zn-gliserin kompleksine ait XRD grafikleri

Bunlara bağılı olarak bu çalışmada gerçekleştirilen solvotermal sentez sonucu elde edilen ara bileşiğin çinko gliserolat kompleksi olduğu düşünülmektedir (Şekil 8.2-c).

Ticari ZnO başlangıç çinko kaynağı kullanılarak gerçekleştirilen solvotermal sentez sonucunda elde edilen çinko gliserolat kompleksinin yapısı hakkında daha fazla bilgi edinmek amacıyla FTIR spektroskopisi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Şekil 8.3'te sentez sonrası elde edilen bu komplekse ait FTIR spektroskopi sonucu sunulmuştur.



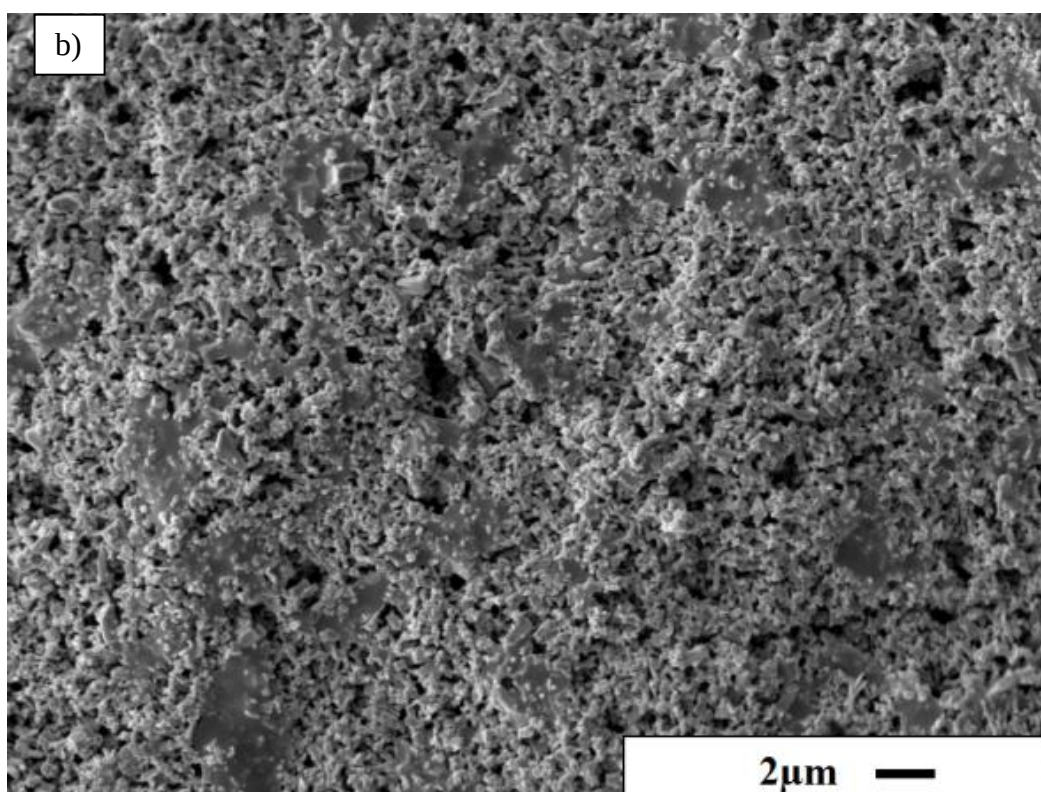
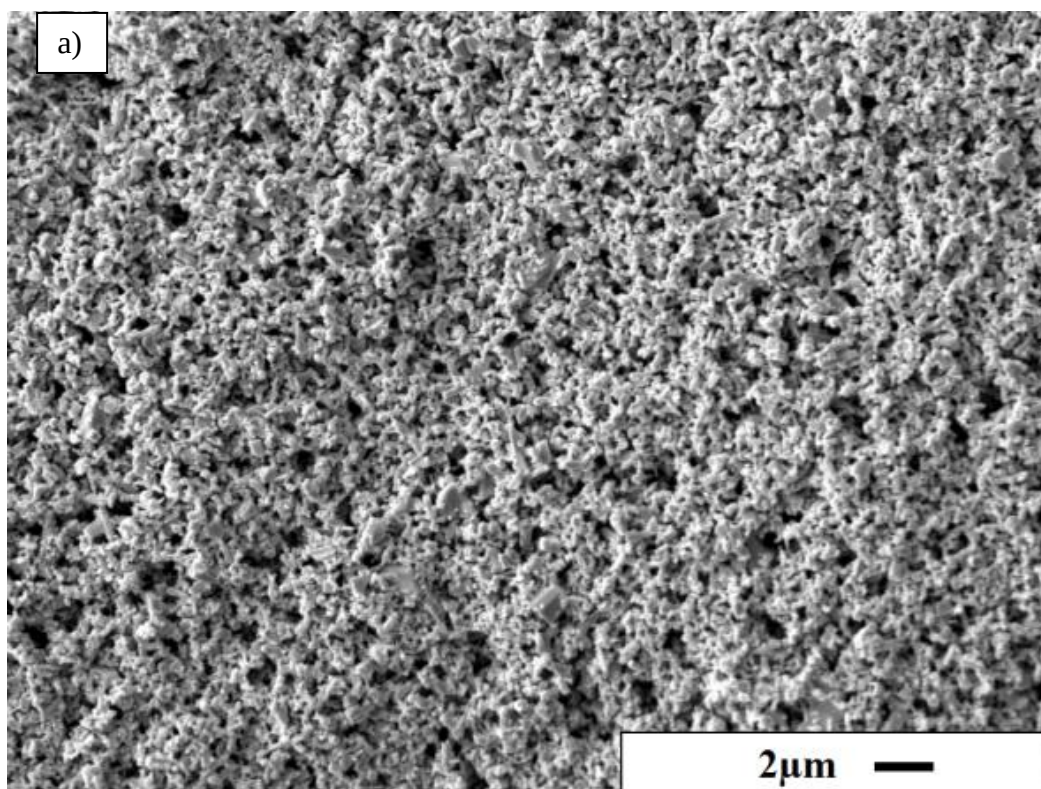
**Şekil 8.3.** Solvotermal sentez yönteminde gliserin çözücüsünün ticari ZnO tozu ile 260°C sıcaklıkta, 1 saat süreyle reaksiyonu sonucu elde edilen tozlara ait (Çinko Gliserolat Kompleksi) FTIR spektrumu

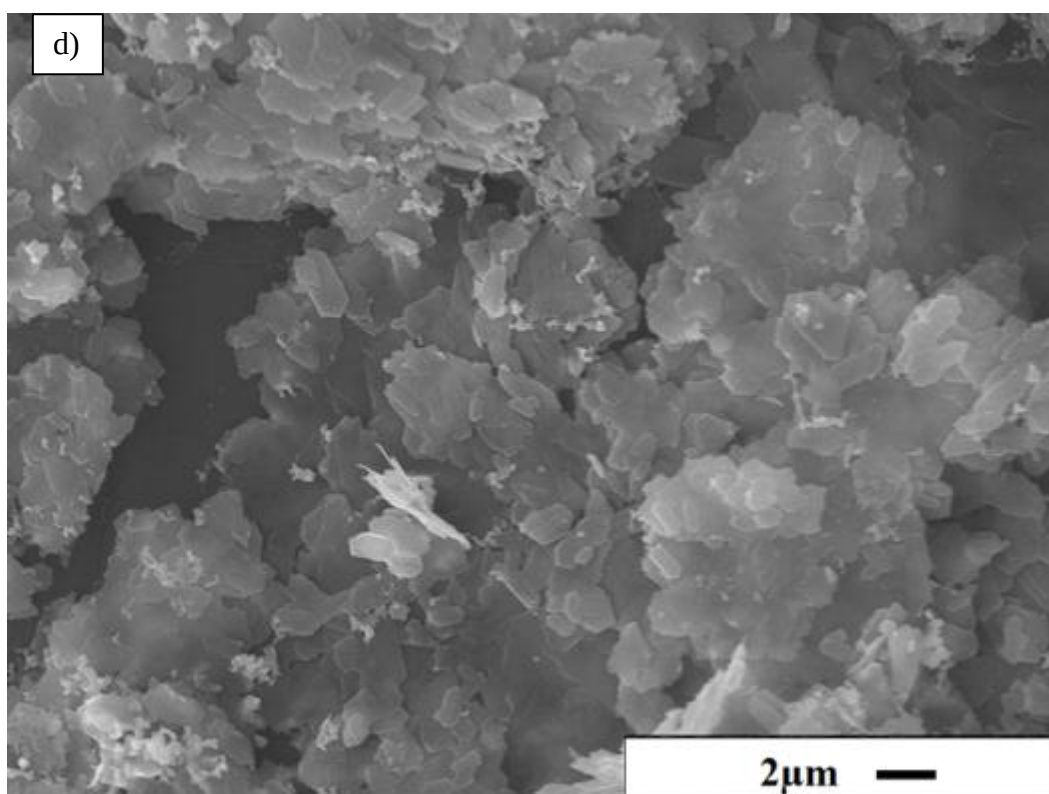
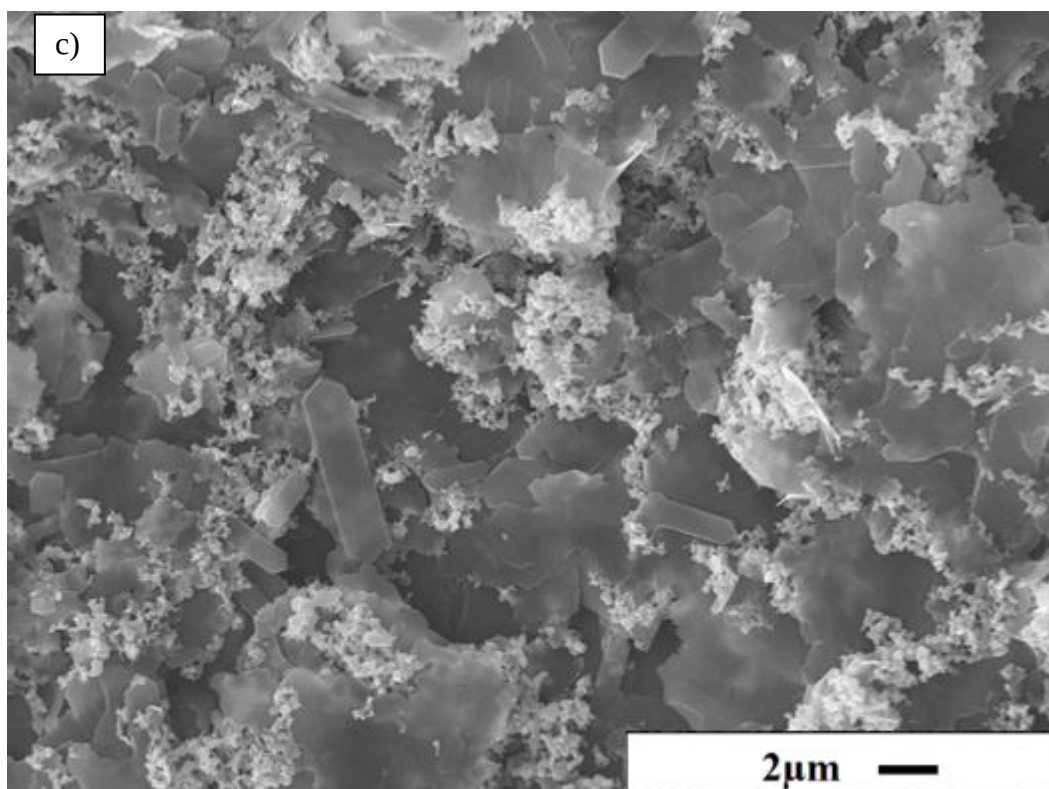
3100 ile 3600  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyları arasındaki geniş absorbsiyon pikinin O-H gerilme titreşimine karşılık geldiği belirlenmiştir. Bununla birlikte 1640  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyunda gözlenen absorbsiyon pikinin de O-H eğilme titreşimini



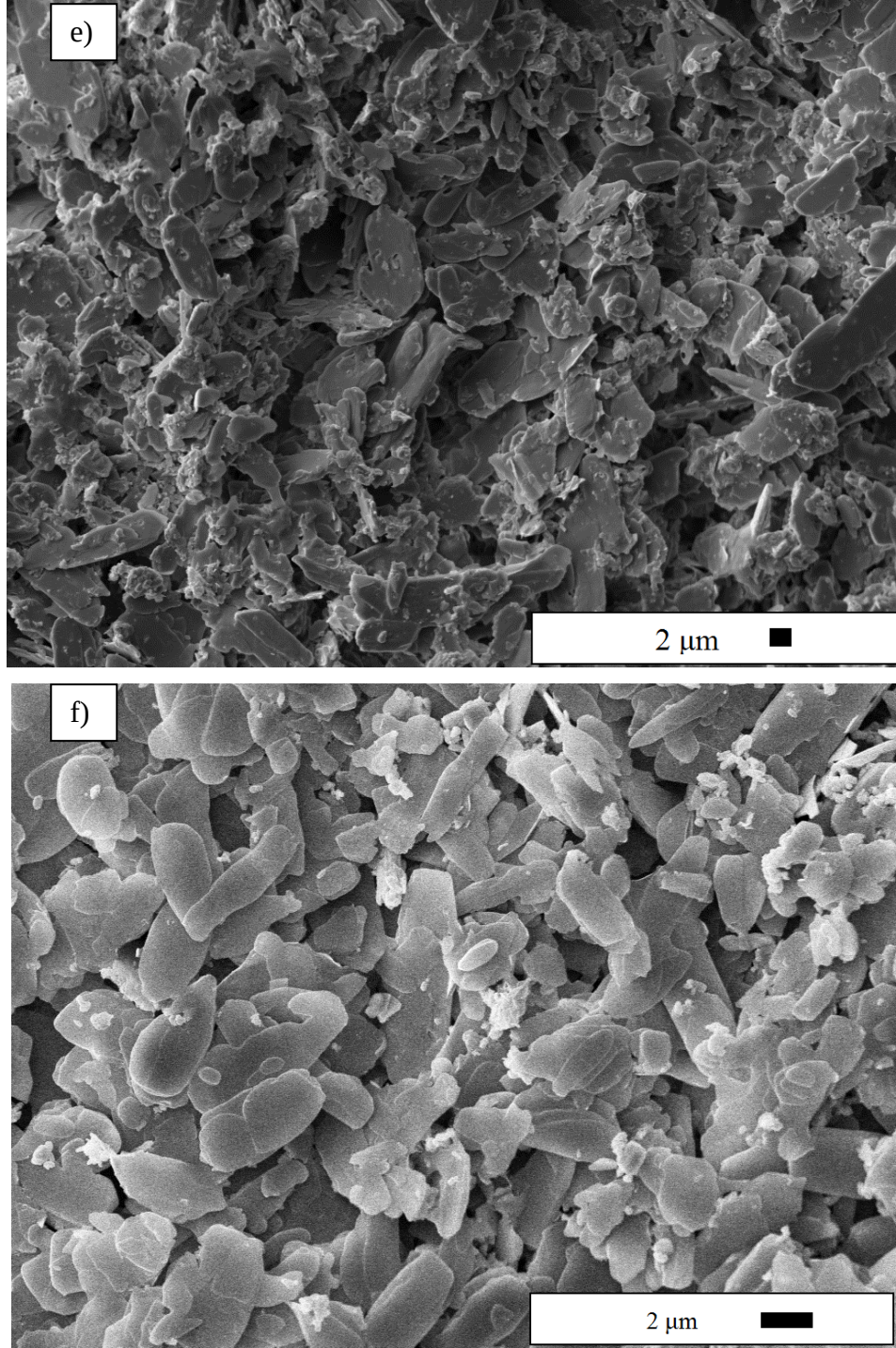
tanımladığı tespit edilmiştir. C-H gerilme bandına karşılık gelen absorbsiyon piklerinin ise sırasıyla 2932, 2880, 2847, 2716 ve 1462  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboylarında yer aldığı gözlenmiştir. C-O gerilme titreşimini tanımlayan absorbsiyon piklerinin 1945, 1110 ve 1063  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboylarında olduğu görülmektedir. Çinko gliserolat yapısını tanımlayıcı diğer absorbsiyon piklerinin ise 2580 (O-H-O gerilme), 1382-1349 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C, metil grubu), 987 (-HC=CH<sub>2</sub>, vinil grubu), 870 (>C=CH<sub>2</sub>, metilen grubu), 645 (C-O-H, alkol grubu) ve 551-419  $\text{cm}^{-1}$  (Zn-O) dalgaboylarında yer aldığı belirlenmiştir (Remias ve ark. 2009; Das ve ark. 2010; Coates ve ark. 2000). 551 ve 419  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyu aralığındaki titreşimlerin ise Zn-O gerilme bandını temsil ettiği bilinmektedir. Sonuç olarak, literatür ile tamamen destekli olarak bu çalışmada elde edilen FTIR spektroskopisi bu yapıda özellikle Zn-O, O-H, C-H, O-H-O ve C-O bağlarının olduğunu açıkça ortaya koymuştur. Böylelikle XRD analiz sonuçları ile tutarlı şekilde çinko gliserolat kompleksinin kimyasal yapısının elde edildiği gösterilmektedir.

Sentez sıcaklığı ve sentez süresinin faz gelişimi üzerindeki etkilerinin detaylı olarak değerlendirilmesinin ardından, bu iki sentez parametresinin tane morfolojisi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM) çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda 160°C, 200°C, 240°C, 260°C sıcaklıklarda ve tepe sıcaklığı olan 260°C sıcaklıkta sırasıyla 30 dakika ve 60 dakika sonlarında kesikli olarak numuneler alınmıştır. Şekil 8.4'te farklı sıcaklıklarda ve devamında farklı sentez sürelerinde alınan numunelere ait SEM görüntüleri sunulmuştur. 160°C ve 200°C sıcaklıklarda alınan numunelerin SEM görüntüleri incelendiğinde başlangıç çinko kaynağı olarak kullanılan, eşeksenli morfolojiye sahip ticari ZnO tozunun morfolojisinin değişmediği gözlenmiştir (Şekil 8.4-a ve Şekil 8.4-b). Dolayısıyla 120°C ile 200°C sıcaklıkları arasında ZnO tozunun gliserin ile henüz reaksiyona girmediği belirtilebilir. 240°C sentez sıcaklığında alınan numunelere ait SEM görüntüleri değerlendirildiğinde ise nanometre seviyesinde kalınlığa sahip (transparan) plaka morfolojisine sahip, mikron boyutlu yapıların oluşmaya başladığı açıkça görülmektedir (Şekil 8.4-c).





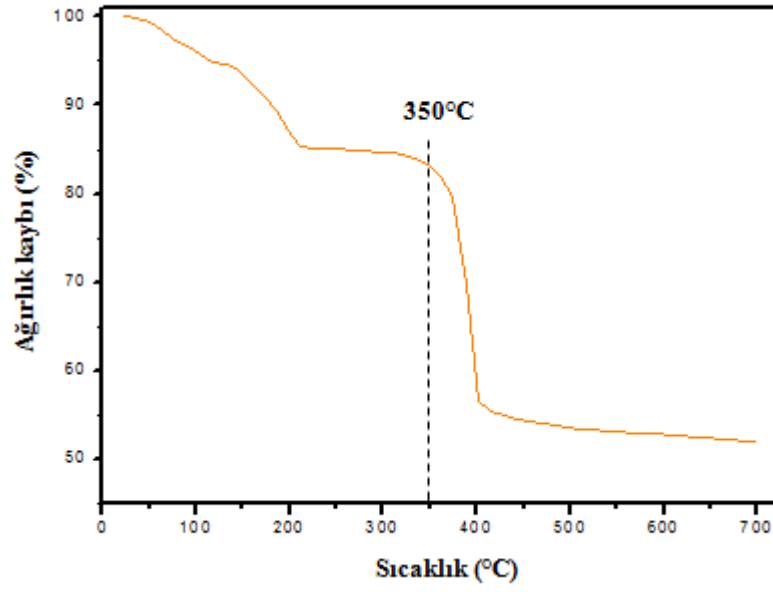




**Şekil 8.4.** Ticari ZnO tozu ve gliserin çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilen solvotermal sentez çalışmasında a) 160°C, b) 200°C, c) 240°C, d) 260°C e) 260°C 30 dakika ve f) 260°C 60 dakika sonlarında kesikli olarak alınan numunelere ait SEM görüntüleri

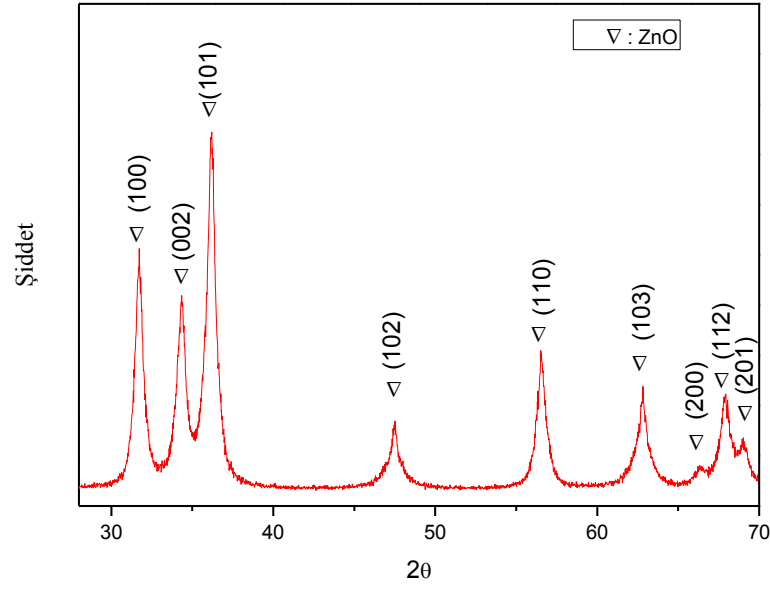
Ayrıca plaka morfolojisine sahip olan bu yapıların hegzagonal şekilde büyüme eğiliminde olduğu da gözlenmiştir. Fakat bu yapıların haricinde bu sıcaklıkta sistemde halen reaksiyona girmemiş eşeksenli ZnO partiküllerinin de bulunduğu belirtilmelidir. Ancak bu sıcaklıktan sonra sistemde homojen olarak dağılmış plaka yapılarının öne çıkmaya başladığı gözlenmiştir. 260°C sentez sıcaklığında ZnO tozu ile gliserin çözücüsünün reaksiyonu sonucu oluşan mikron boyutlu plaka yapıları elde edilmiştir (Şekil 8.4-d). Dolayısıyla plaka morfolojisinin elde edilebilmesi için gerekli olan sentez sıcaklığının 260°C olduğu bu çalışma ile tespit edilmiştir. Bu sıcaklıkta gerçekleştirilen sentez çalışmasında 30 dakika ve 60 dakika sürelerin sonunda alınan numunelere ait SEM görüntüleri incelendiğinde ise plaka yapılarının büyüme eğiliminde oldukları, fakat morfolojilerinde herhangi bir değişim olmadığı görülmektedir (Şekil 8.4-e ve Şekil 8.4-f). Sonuç olarak sentez süresinin de plaka yapılarının homojen olarak büyümeleri ve ayrıca yüksek kristallığe sahip çinko gliserolat kompleksinin elde edilmesi açısından önemli olduğu tespit edilmiştir.

Sentez sıcaklığı ve süresinin faz gelişimi ile tane morfolojisi üzerindeki etkilerinin ortaya konulmasının ardından optimum koşullar temel alınarak gerçekleştirilen solvotermal sentez çalışmaları sonucunda elde edilen çinko gliserolat kompleksindeki tozlar, Şekil 8.5'te gösterilen TG/DTA eğrisine göre 350°C'de 1.5 saat süreyle kalsine edilmiştir. Kalsinasyon işlemi sonucunda elde edilen tozlara ait XRD grafiği Şekil 8.6'da gösterilmiştir. Kalsinasyon sonrası tozların tamamen çinko oksit (ZnO) kristal formunda kristalleştikleri net olarak ortaya konulmuştur. Dolayısıyla çinko gliserolat yapısındaki tozların wurtzite kristal yapısında, kararlı ZnO formuna dönüştürülmesi için gerekli olan kalsinasyon sıcaklığı için 350°C'nin yeterli olduğu görülmektedir.



**Şekil 8.5.** Plaka şekilli Zn-Gly kompleksine ait (TG) sıcaklıkla ağırlıkça kayıp grafiği.

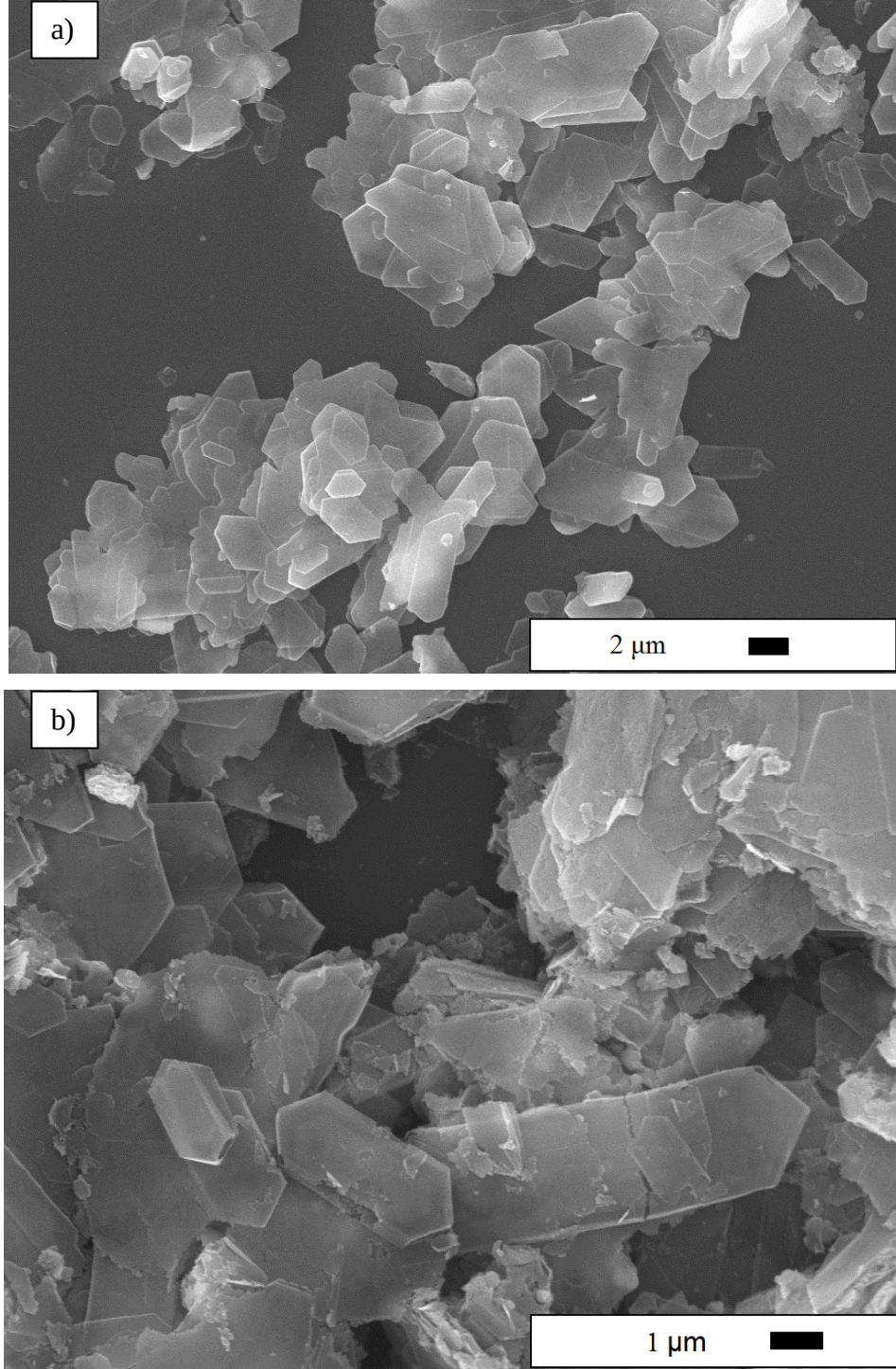
Bu tozların primer (birincil) tane boyutları ise Şekil 8.6’da gösterilen XRD sonucu üzerinden, yarı pik yüksekliğindeki tam genişlik değeri temel alınarak ve Scherrer eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır. XRD analizi sonucunda elde edilen veriler kullanılarak ZnO partiküllerinin birincil tane boyutu 46.27 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca ZnO tozlarının spesifik yüzey alanı, spesifik yüzey alanı ölçme cihazı kullanılarak  $\sim 25 \text{ m}^2/\text{g}$  olarak belirlenmiştir.



**Şekil 8.6.** Solvotermal sentez yöntemi ile elde edilen çinko gliserolat kompleksi tozlarının 350°C’de 1.5 saat süreyle kalsinasyonu sonucu üretilen ZnO tozlarının XRD grafiği

Bütün tozların küresel şekle ve aynı tane boyutuna sahip oldukları varsayılarak, tozların spesifik yüzey alanlarından eşdeğer küresel çapları ilişkili formül (Eşitlik 6.1) kullanılarak hesaplandı. Bu eşitlik yardımıyla partiküllerinin ortalama birincil tane boyutu ise 30.6 nm olarak hesaplanmıştır. Ayrıca elde edilen ZnO tozlarının morfolojilerinin net olarak belirlenmesi ve daha detaylı bilgi edinilmesi amacıyla yüksek büyütmelemlerde alınan SEM görüntüleri Şekil 8.7’de gösterilmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde nano boyutlu (~ 29 nm) birincil ZnO tanelerinin kontrollü bir araya gelmesiyle oluşan mikron boyutlu hegzagonal (tasarlanmış) şekle sahip plakaların elde edildiği net olarak ortaya konulmuştur. Hegzagonal şekle sahip plakaların ortalama uzunluklarının ise 2 µm ile 10 µm arasında değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca SEM görüntülerinde göre üst üste gelen plaka şekilli yapılarda bir alttaki plaka yapısının net olarak görülebildiği tespit edilmiştir. Bu da açıkça üretilen ZnO plakaların kalınlıklarının nano boyut seviyesinde olduğuna işaret etmektedir. Sonuç olarak, bu çalışmada literatürden farklı olarak hedeflendiği üzere nano boyutlu birincil tanelerden oluşan çok kristalli, tasarlanmış hegzagonal şekle sahip mikron boyutlu ZnO tozlarının üretimi mümkün olmuştur.

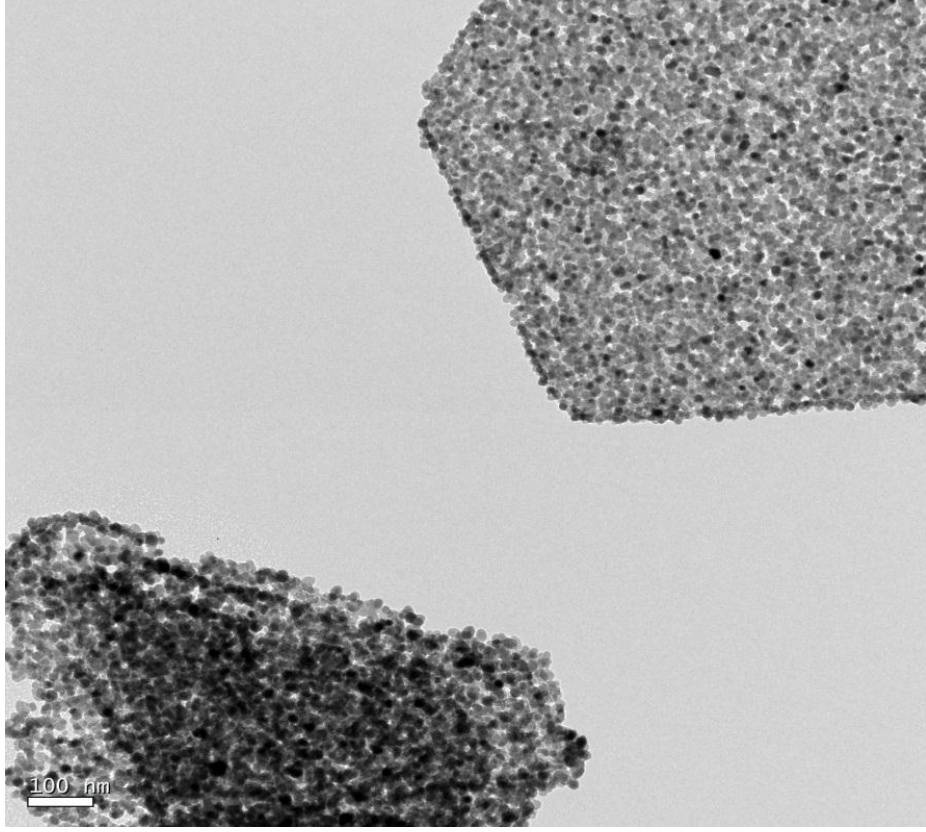




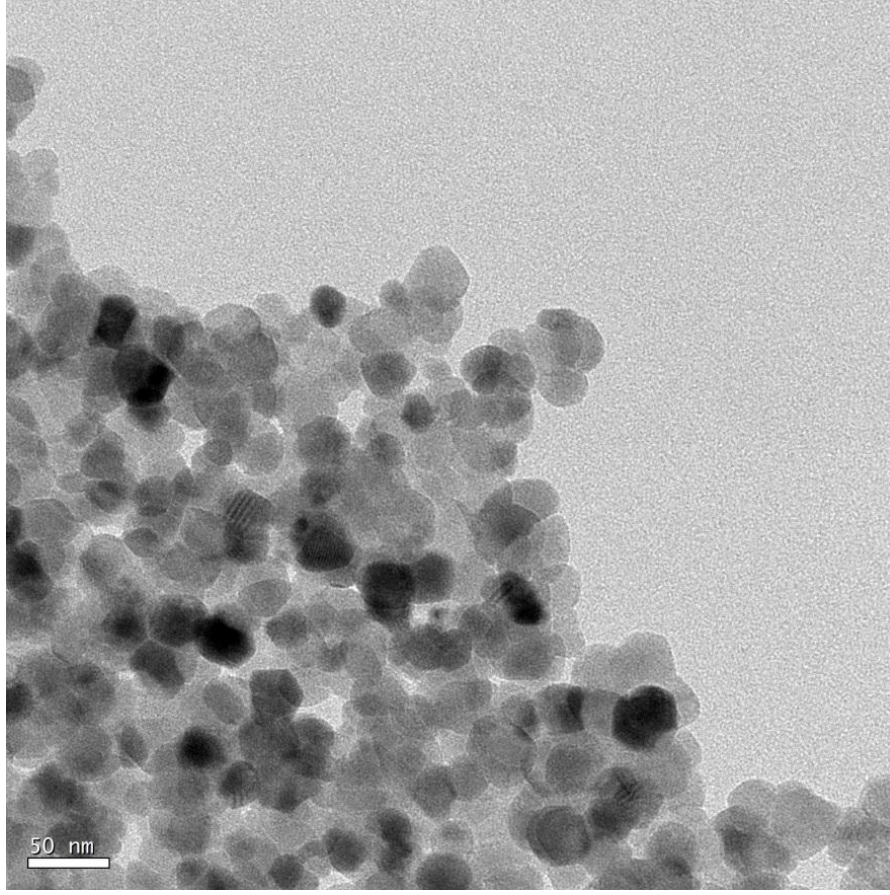
**Şekil 8.7.** Üretilen nano boyutlu ( $\sim 30$  nm) birincil ZnO tanelerinin kontrollü olarak bir araya gelmesiyle oluşan mikron boyutlu (2-10  $\mu\text{m}$ ) tasarlanmış hegzagonal şekle sahip plakaların SEM görüntüleri a) Kalsinasyon öncesi, b) Kalsinasyon sonrası



Nano birincil tanelere sahip plaka şekilli ZnO partiküllerinin morfolojilerinin detaylı olarak incelenmesi amacıyla Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 8.8’de yaklaşık ~30 nm birincil tanelere sahip olduğu net olarak görülmektedir.



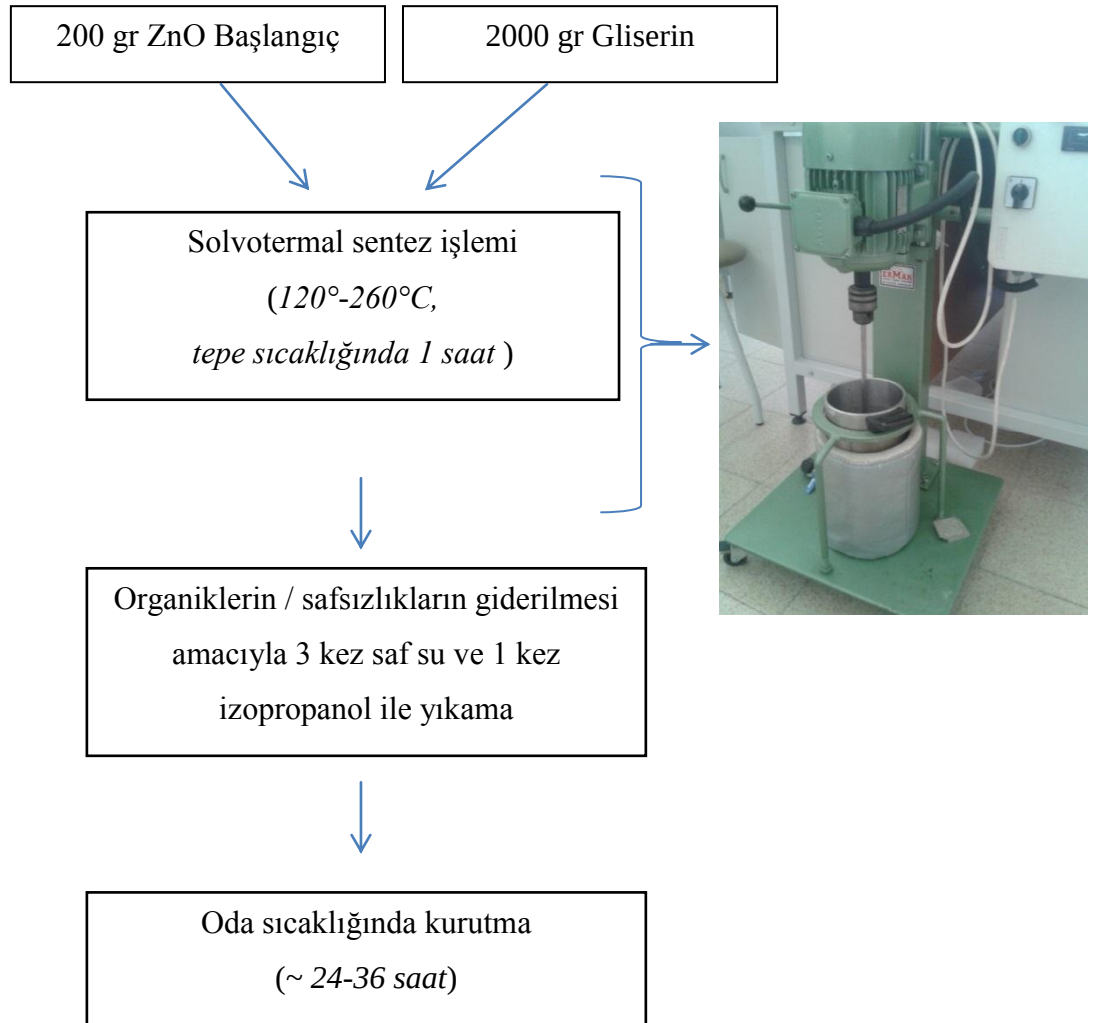
**Şekil 8.8.** Nano birincil tanelere sahip plaka şekilli ZnO partiküllerine ait geçirimli elektron mikroskobu (TEM) görüntüleri.



**Şekil 8.8.**(Devamı) Nano birincil tanelere sahip plaka şekilli ZnO partiküllerine ait geçirimli elektron mikroskobu (TEM) görüntüleri.

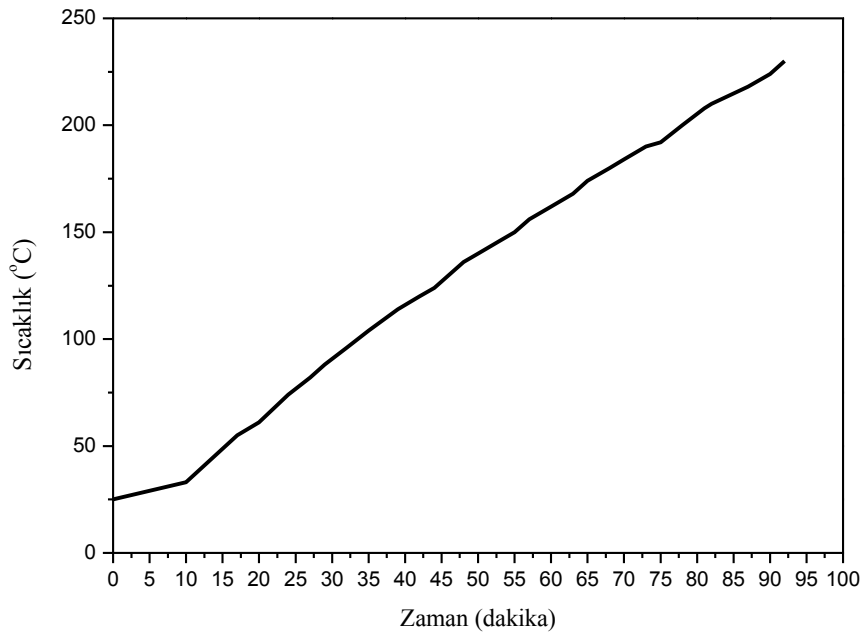
## 8.2. Plaka Şekilli ZnO Tozlarının Büyük Miktarlarda Solvotermal Yöntem ile Sentezi

Sentez parametreleri incelenen ve üretimi mümkün olan plaka şekilli ZnO tozlarının yüksek miktarlarda üretilmesi amacıyla da çalışmalar yapılmıştır. Şekil 8.9'da görüldüğü gibi 1:10 (ZnO:Gliserin) oranı değiştirilmeden miktarlar artırılarak sentez çalışmaları yapılmıştır.



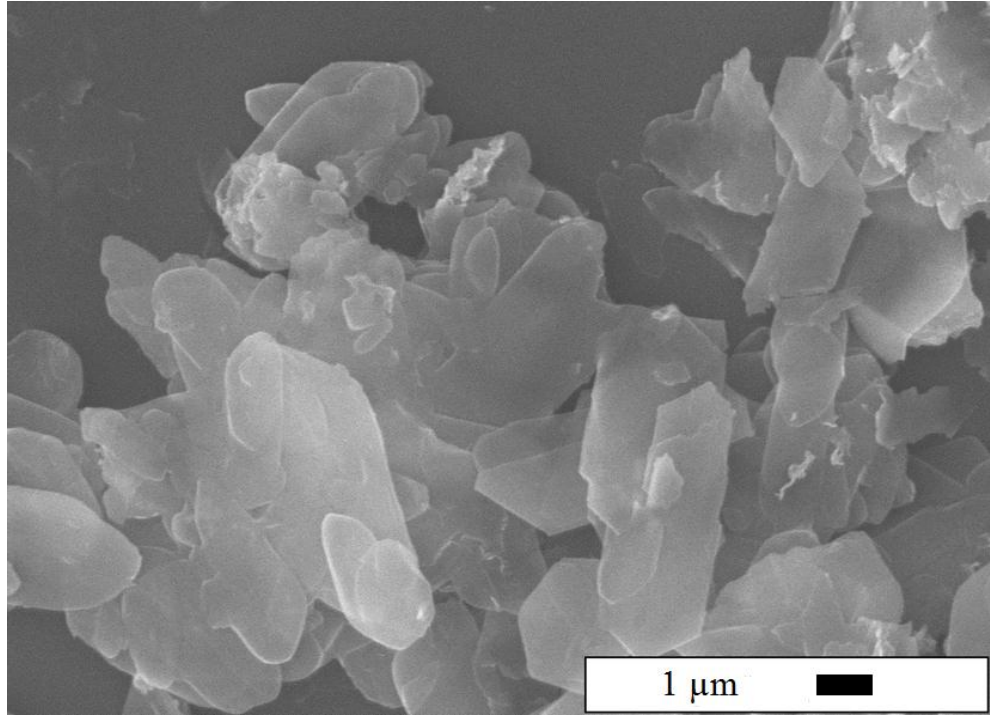
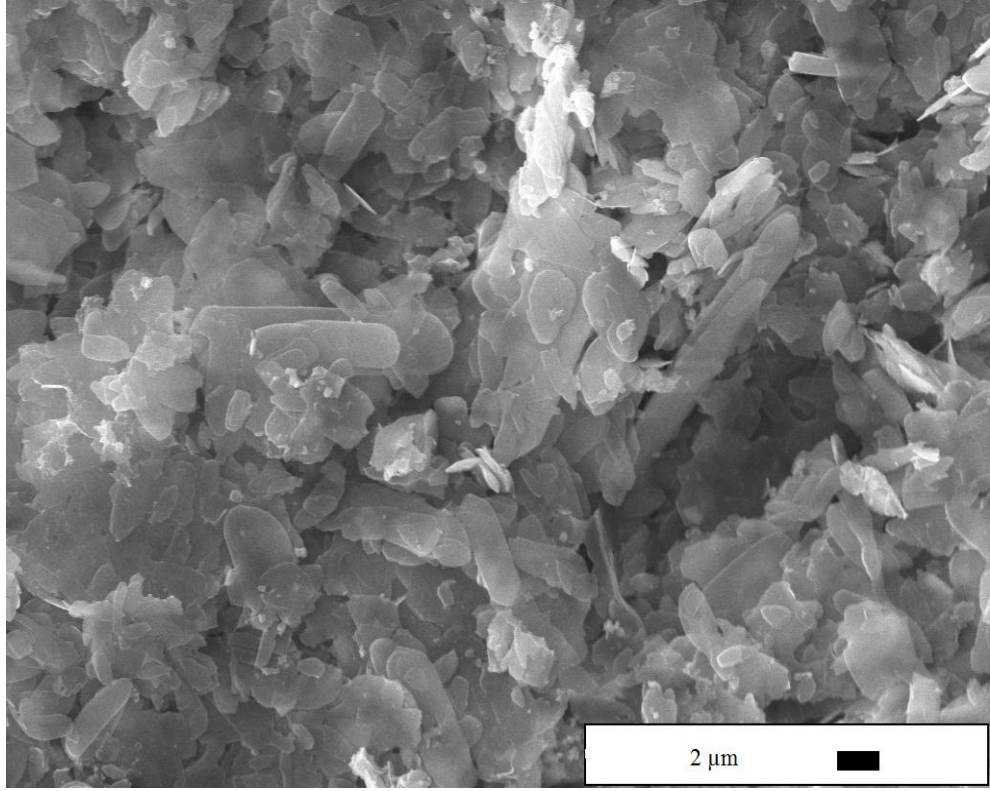
Şekil 8.9. Yüksek miktarda plaka şekilli ZnO tozlarının üretiminin akış şeması ve tasarlanan sıcaklık ve hız kontrollü reaktör.

Beher sisteminde plaka şekilli ZnO yaklaşık 7.2 gr üretilir. Bu çalışma için özel tasarlanan sıcaklık ve hız kontrollü reaktörde solvotermal yöntem ile miktarın yaklaşık 120 grama çıkarılması mümkün olmuştur. Sıcaklık ve hız kontrollü reaktörde bulunan çelik hazne ve çelik hazneyi ısıtan battaniye sistemi beher sistemine göre ısınması daha uzun sürmektedir. Sistemin gliserin ile yapılan sıcaklık zaman grafiği Şekil 8.10’da gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde sistemin 260 °C tepe sıcaklığına çıkması yaklaşık 100 dakika sürdüğü görülmektedir.



**Şekil 8.10.** Sıcaklık ve hız kontrollü reaktörde yapılan gliserin ortamındaki sıcaklık zaman grafiği

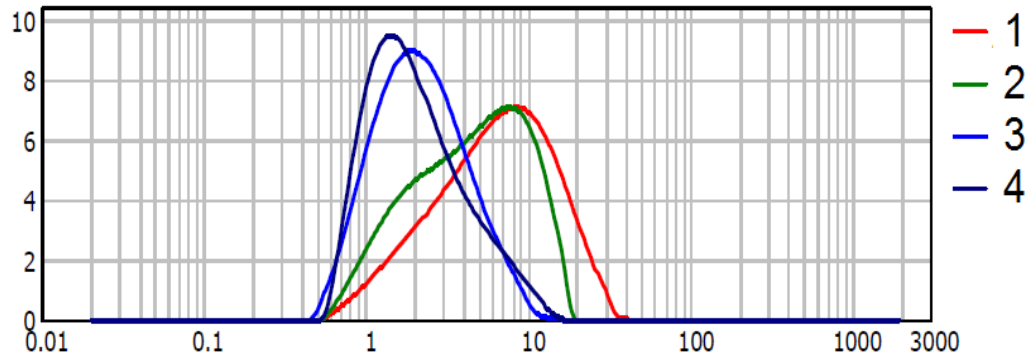
Sıcaklık ve hız kontrollü reaktörde yapılan yüksek miktarlarda plaka şekilli ZnO tozlarının üretimi sonunda elde edilen tozların morfoloji ve faz analizi çalışmaları yapılmıştır. Şekil 8.11’deki SEM görüntüleri incelendiğinde beher sisteminde olduğu gibi 2-10 µm uzunluğa sahip nano birincil tanelere sahip plaka şekilli ZnO tozları görülmektedir.



**Şekil 8.11.** Sıcaklık ve hız kontrollü reaktörde üretilen plaka şekilli ZnO tozlarının SEM görüntüsü.

### 8.3. Plaka Şekilli ZnO Partiküllerinin Tane Boyut Dağılımı

Nano birincil tanelere sahip mikron boyutlu plaka şekilli ZnO partiküllerinin uygun dağıtıcı ortamında tane boyut analizinin belirlenmesi amacıyla su ve izopropil alkol ortamında; aynı zamanda karıştırma ve ultrasonik dağıtıcı yardımıyla dağıtılan süspansiyonun Tane Boyut Dağılımı cihazı (Malvern Particle Sizer) kullanılarak tane boyut dağılımı ölçülmüştür.



(Şekil 8.12, Tablo 8.1)

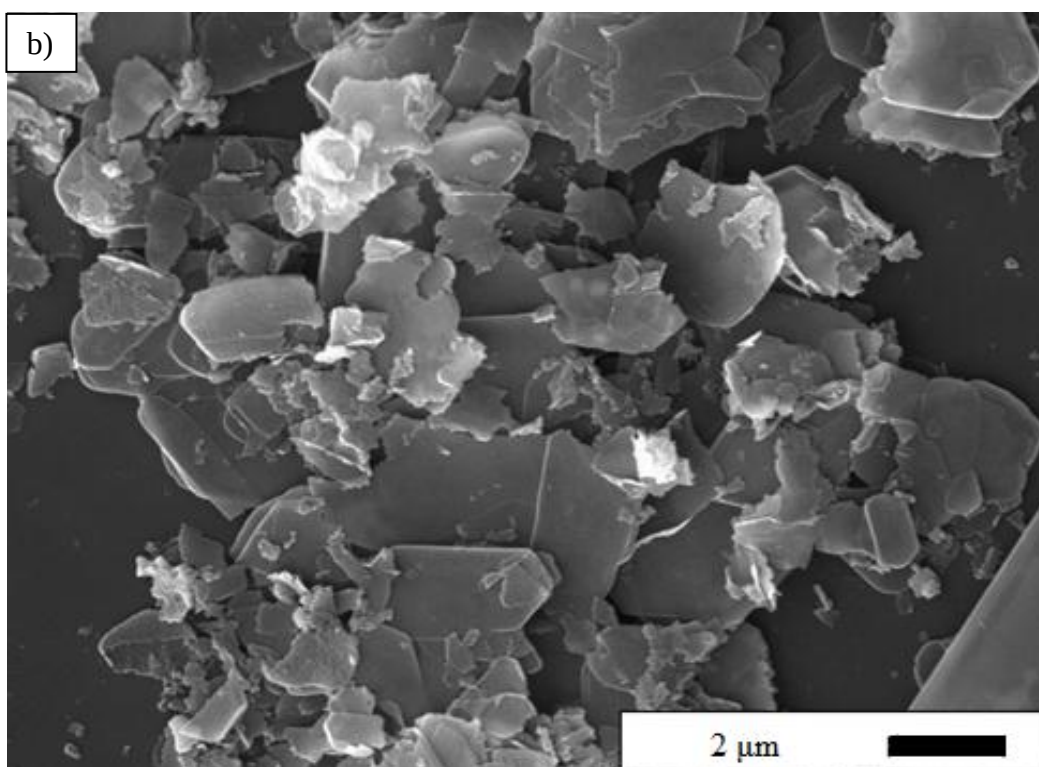
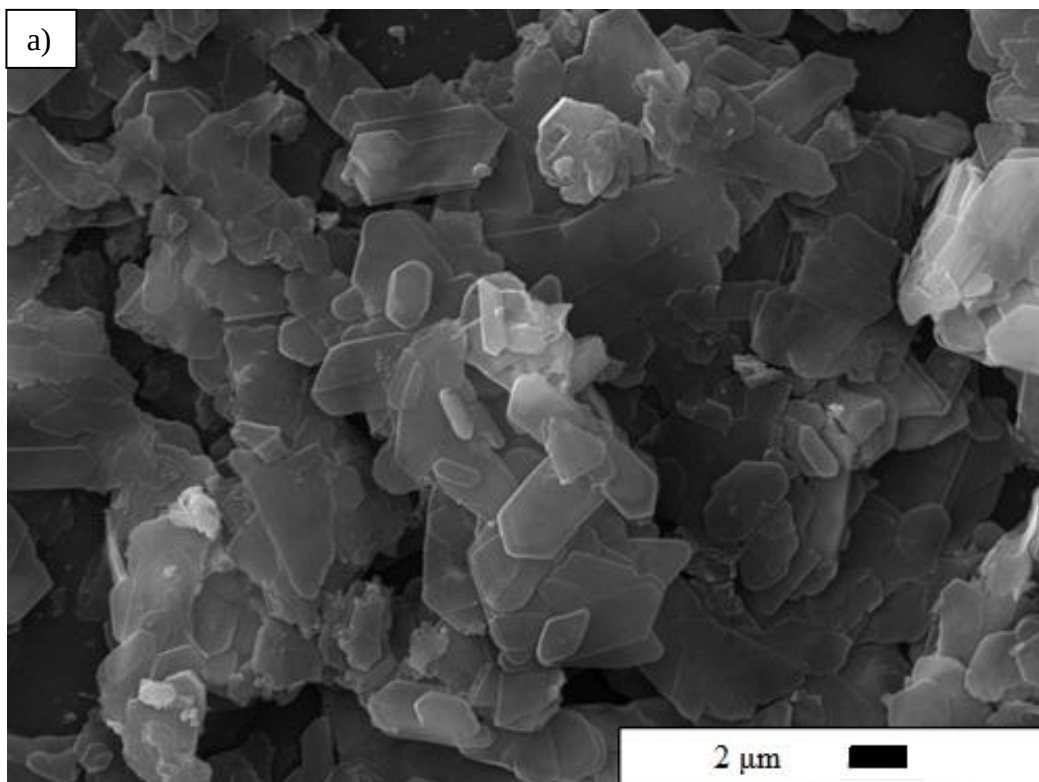
**Şekil 8.12.** Farklı dağıtıcılar yardımıyla dağıtılan plaka şekilli ZnO tozlarına ait tane boyut dağılımı grafiği 1) Ultrasonik Banyo Karıştırma - Su Dağıtıcı, 2) Ultrasonik Banyo Karıştırma - Propanol Dağıtıcı, 3) Ultrasonik Tip Karıştırma - Su Dağıtıcı, 4) Ultrasonik Tip Karıştırma - Propanol Dağıtıcı.

**Tablo 8.1.** Farklı dağıtıcılar yardımıyla dağıtılan plaka şekilli ZnO tozlarına ait tane boyut dağılımı değerleri

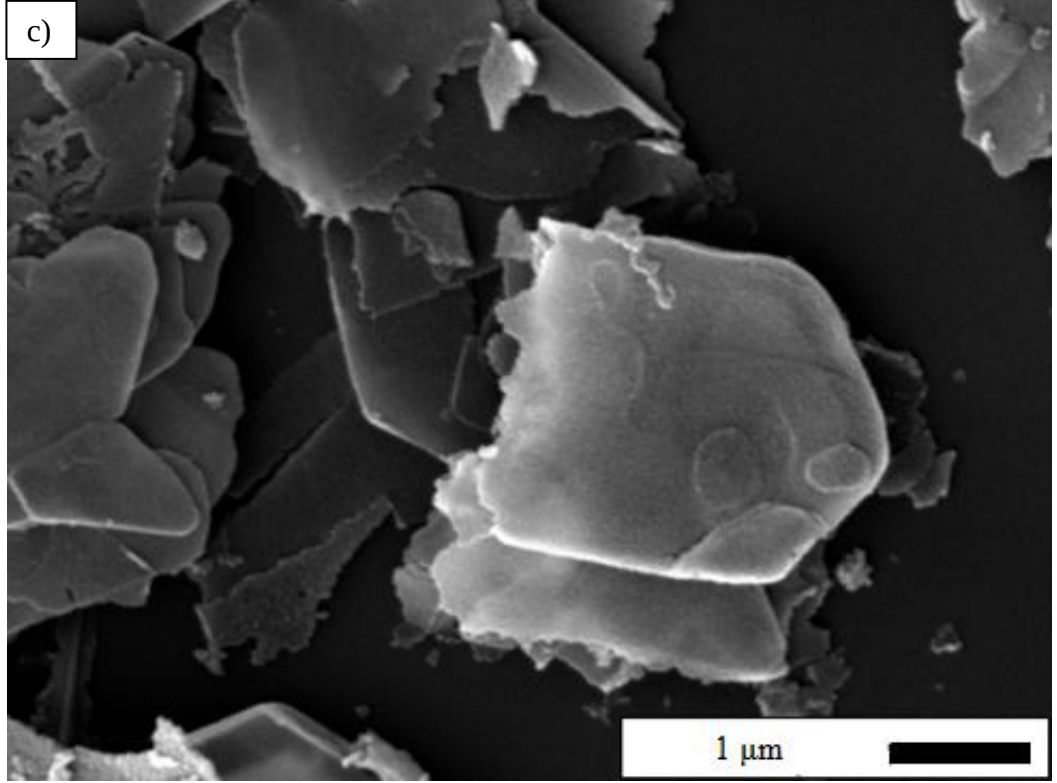
|                                                | d(0.1) | d(0.5) | d(0.9) |
|------------------------------------------------|--------|--------|--------|
| U. Banyo Karıştırma - İzopropil Alkol Dağıtıcı | 1.350  | 4.636  | 11.588 |
| U. Tip Karıştırma – İzopropil Alkol Dağıtıcı   | 0.908  | 1.825  | 5.411  |
| U. Banyo Karıştırma - Su Dağıtıcı              | 1.836  | 6.558  | 17.138 |
| U. Tip Karıştırma – Su Dağıtıcı                | 0.937  | 2.081  | 5.097  |

Tane boyut dağılımı d<sub>50</sub> değerleri incelendiğinde plaka şekilli ZnO partiküllerinin izopropil alkol ortamında suya göre çok daha iyi dağılma özelliğine sahip olduğu görülmektedir. Ultrasonik banyo ve ultrasonik tip arasındaki tane boyut dağılımındaki farkın plakaların ultrasonik tipin gücüyle kırıldığı düşünülmektedir. Bunun incelenmesi amacıyla ultrasonik banyo ve ultrasonik tip ile dağıtılmış tozların SEM görüntüleri incelenmiştir. (Şekil 8.13)









**Şekil 8.13.** Plaka şekilli ZnO partiküllerinin su dağıtıcı ortamında a) ultrasonik banyo, b-c) ultrasonik tip ile dağıtılması sonundaki SEM görüntüleri.

SEM görüntüleri incelendiğinde ultrasonik banyo dağıtıcısında herhangi bir morfoloji bozulması olmazken, ultrasonik tip dağıtıcının gücünden dolayı plaka morfoloji bazı bölgelerden kırılmalara uğramış ancak birincil tanelerin bir arada bulunduğu kontrollü aglomerasyon formu bozulmamıştır.

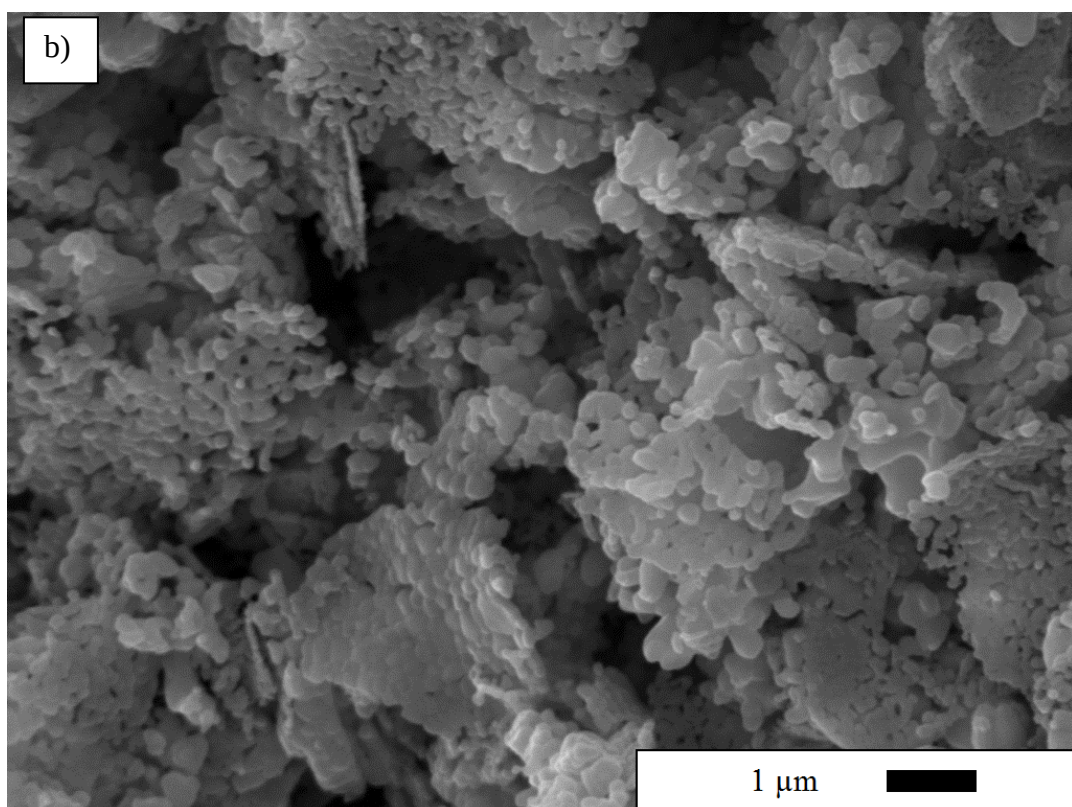
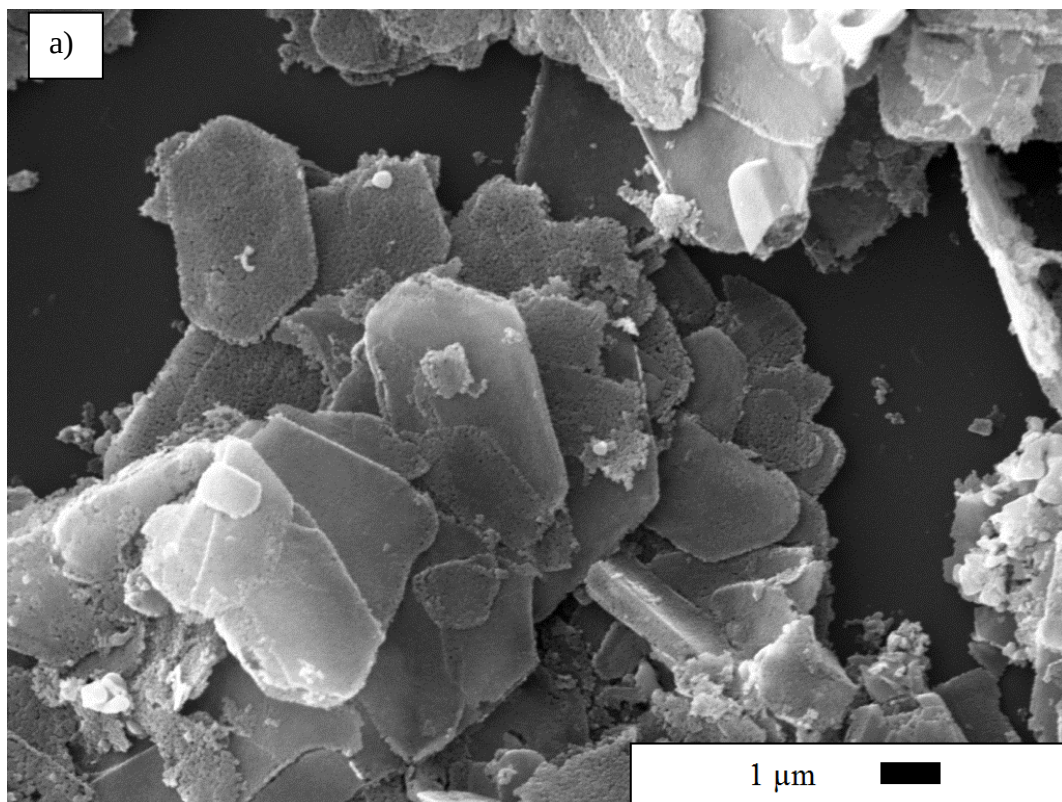
#### 8.4. Sentezlenen Plaka Şekilli ZnO Partiküllerinin Sinterlenmesi

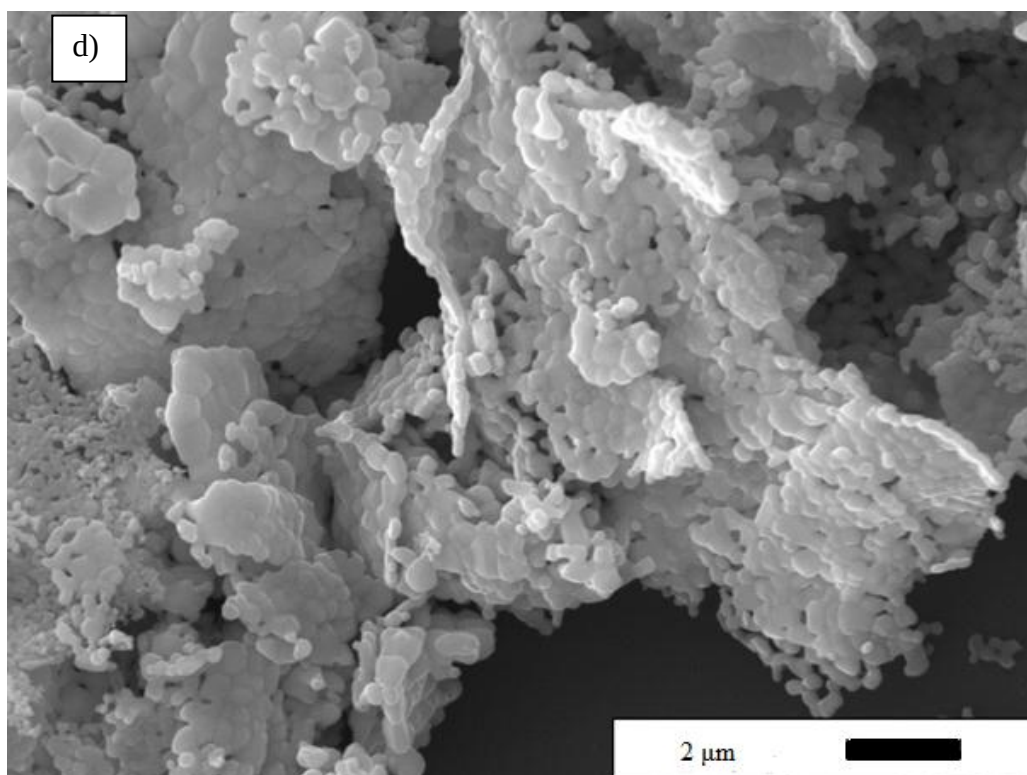
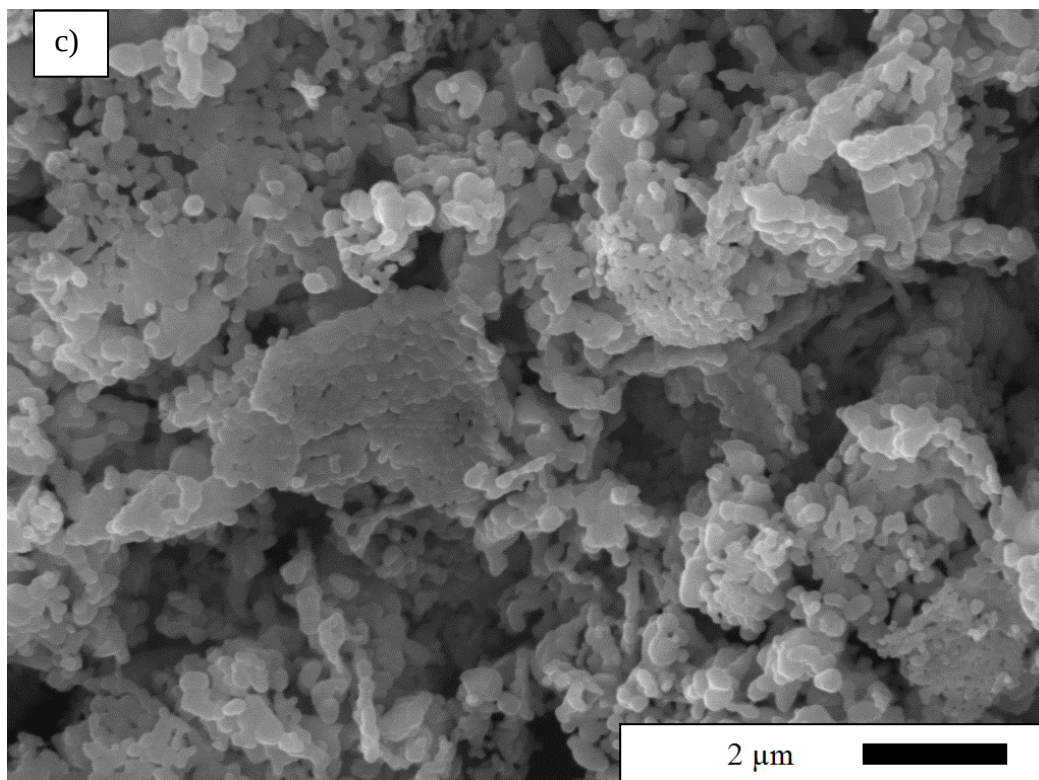
Solvotermal sentez yöntemiyle üretilen nano birincil tanelere sahip mikron boyutlu plaka şekilli ZnO partiküllerinin yüksek sıcaklardaki tane büyümesi davranışının incelenmesi amacıyla toz halinde 500, 600, 700, 800, 900, 1000 ve 1100 °C sıcaklıklarda kalsine edilmiştir. Kalsinasyon sonrasında yapılan XRD sonuçlarından Scherrer eşitliği kullanılarak hesaplanan birincil tane boyutu tabloda verilmiştir.

**Tablo 8.2.** Farklı sıcaklıklarda kalsine edilmiş plaka şekilli ZnO tozlarına ait birincil tane boyutu değerleri

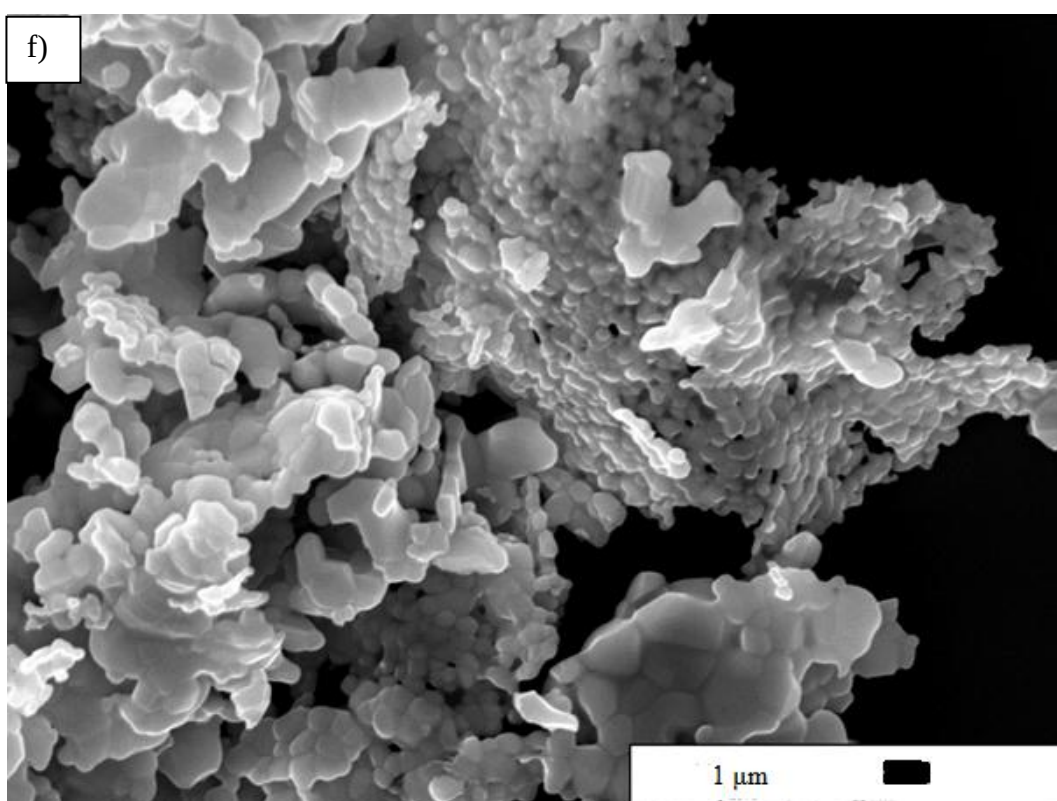
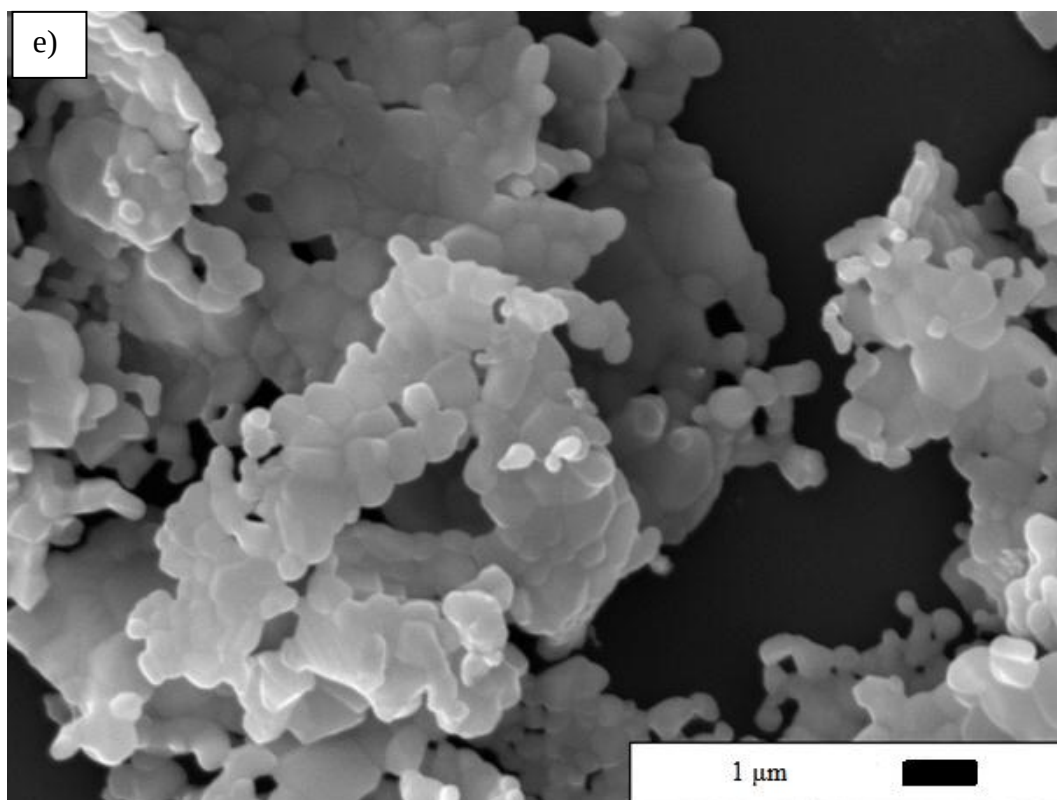
|                    | <b>Birincil Tane Boyutu</b> |
|--------------------|-----------------------------|
| Başlangıç ZnO Tozu | 114.9 nm                    |
| Plaka Şekilli ZnO  | 46.27 nm                    |
| 500 °C             | 75.42 nm                    |
| 600 °C             | 94.0 nm                     |
| 700 °C             | 114.8 nm                    |
| 800 °C             | 132.17 nm                   |
| 900 °C             | 139.19 nm                   |
| 1000 °C            | 146.54 nm                   |
| 1100 °C            | 156.45 nm                   |

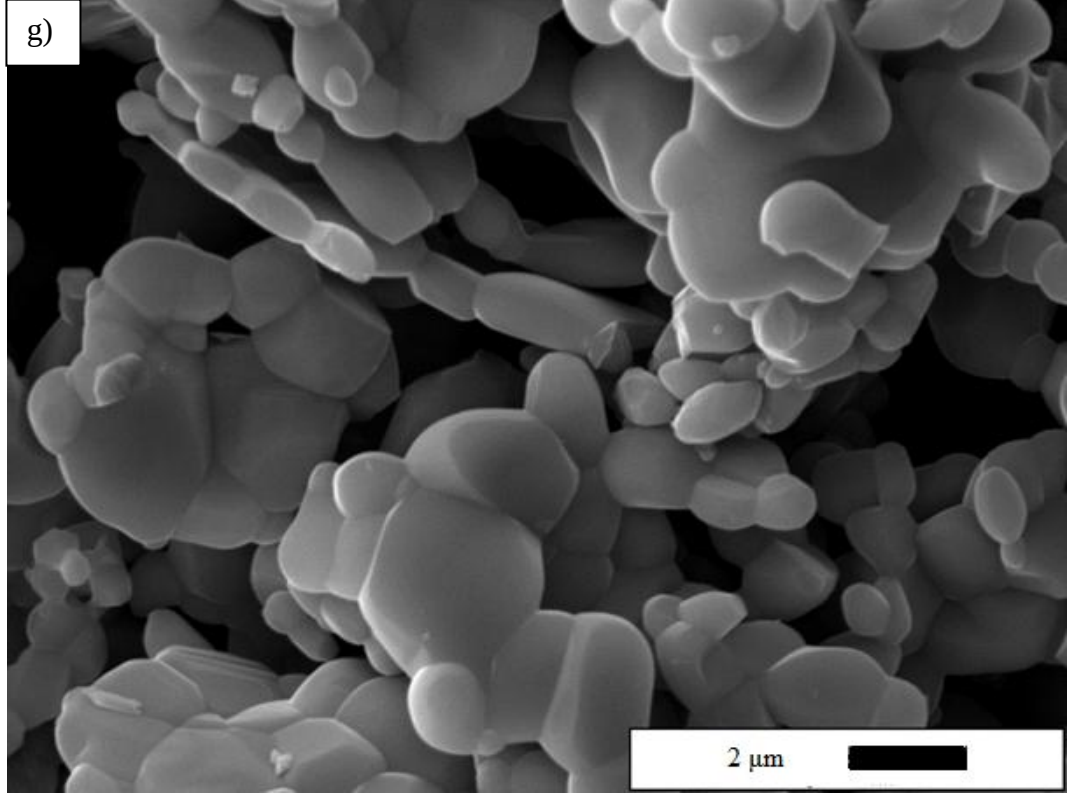
Tablo 8.2’de verilen tane boyut sonuçları incelendiğinde kalsinasyon sıcaklığı artışıyla birlikte tane boyutundaki artış gözlenmektedir. Tane boyutundaki artışın morfolojiye olan etkisinin incelenmesi amacıyla çekilen taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 8.14’te gösterilmiştir.











**Şekil 8.14.** Plaka şekilli ZnO partiküllerinin a)500, b)600, c)700, d)800, e)900, f)1000, g)1100 °C sıcaklıklarda kalsinasyonu sonunda çekilen SEM görüntüleri.

SEM görüntüleri incelendiğinde ZnO partiküllerinin 350°C normal kalsinasyon sıcaklığının üstündeki 500°C sıcaklıkta plaka yapısının korunmasına rağmen yapının düzenli olmadığı, 800 °C sıcaklıktan sonra tane büyümesi gözlemlenmektedir. Bununla beraber 1000 ve 1100 °C de plaka şeklinin bozulduğu küresel içiçe geçmiş taneler görülmektedir. Aynı zamanda tanelerin tane sınırlarıyla belirgin bir şekilde ayrıldığı da görülmektedir.

Plaka şekilli ZnO tozlarının toz halinde yüksek sıcaklıktaki tane boyutu artışı davranışının incelenmesi ardından bu tozlar pelet basılarak sinterlenme davranışı incelenmiştir. Plaka şekilli ZnO tozları % 4 oranında PEG-PVA bağlayıcı ile birlikte 2 gram peletler şeklinde basılmıştır. 2 gramlık pelet numuneler 1°C/dk ısıtma hızıyla 600°C’de 3 saat boyunca bağlayıcı uzaklaştırma (binder burn out) işlemine tabi tutulmuştur. Pelet numunelere ait ağırlık ve boyut bilgileri Tablo 8.3-4’te verilmiştir.

**Tablo 8.3.** Plaka şekilli çinko oksit partiküllerinin pelet boyutları ve hesaplanan yüzde yaş yoğunluk değerleri (Bağlayıcı uzaklaştırma öncesi)

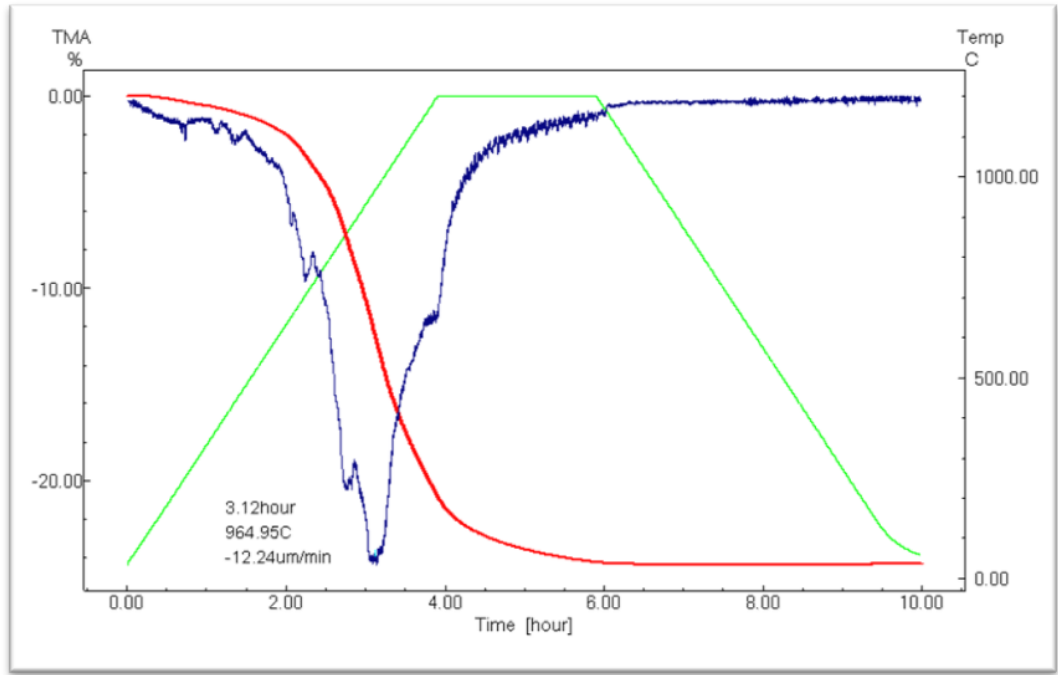
| <b>Bağlayıcı Uzaklaştırma Öncesi</b> |                     |                 |                      |                         |
|--------------------------------------|---------------------|-----------------|----------------------|-------------------------|
| <b>Numune No</b>                     | <b>Ağırlık (gr)</b> | <b>Çap (mm)</b> | <b>Kalınlık (mm)</b> | <b>Yaş Yoğunluk (%)</b> |
| 1                                    | 1,892               | 13,1            | 3,95                 | 63,4247                 |
| 2                                    | 1,9537              | 13,09           | 4,07                 | 63,6592                 |
| 3                                    | 1,8876              | 13,11           | 3,94                 | 63,3411                 |
| 4                                    | 1,8816              | 13,11           | 3,88                 | 64,1162                 |
| 5                                    | 1,8567              | 13,09           | 3,97                 | 62,0225                 |
| 6                                    | 1,8597              | 13,1            | 4,01                 | 61,4092                 |
| 7                                    | 1,8688              | 13,09           | 4,05                 | 61,1936                 |
| 8                                    | 1,8767              | 13,09           | 4,06                 | 61,3009                 |
| 9                                    | 1,881               | 13,09           | 4                    | 62,363                  |

**Tablo 8.4.** Plaka şekilli çinko oksit partiküllerinin pelet boyutları ve hesaplanan yüzde yaş yoğunluk değerleri (Bağlayıcı uzaklaştırma sonrası)

| <b>Bağlayıcı Uzaklaştırma Sonrası</b> |                     |                 |                      |                     |
|---------------------------------------|---------------------|-----------------|----------------------|---------------------|
| <b>Numune No</b>                      | <b>Ağırlık (gr)</b> | <b>Çap (mm)</b> | <b>Kalınlık (mm)</b> | <b>Yaş Yoğunluk</b> |
| <b>1</b>                              | 1,7788              | 12,91           | 3,9                  | 62,1852             |
| <b>2</b>                              | 1,8238              | 12,91           | 4,03                 | 61,7017             |
| <b>3</b>                              | 1,7723              | 12,92           | 3,9                  | 61,8621             |
| <b>4</b>                              | 1,7661              | 12,98           | 3,88                 | 61,392              |
| <b>5</b>                              | 1,7522              | 12,91           | 3,9                  | 61,2553             |
| <b>6</b>                              | 1,7628              | 12,92           | 3,95                 | 60,7517             |
| <b>7</b>                              | 1,7729              | 12,92           | 3,98                 | 60,6392             |
| <b>8</b>                              | 1,7818              | 12,93           | 4                    | 60,5451             |
| <b>9</b>                              | 1,7721              | 12,96           | 3,96                 | 60,5425             |

Pres basılan 1 numaralı pelet numunesi plaka şekilli ZnO partiküllerinin sinterlenme sıcaklığının belirlenmesi amacıyla TMA cihazında analiz edilmiştir. Şekil 8.15'teki TMA grafiği incelendiğinde 4 saat sonunda 964.65 °C sıcaklıkta 12.24 µm/min boyutsal küçülmeye uğradığı görülmektedir.





**Şekil 8.15.** Plaka şekilli ZnO partiküllerine ait TMA grafiği

Bağlayıcı giderme işlemi sonunda pelet numuneler tabloda belirtilen sıcaklık rejimlerinde kutu fırında sinterlenmiştir (Tablo 8.5). Sinterlenen numunelerin yüzde yoğunluk değerleri Tablo 8.6’da verilmiştir.

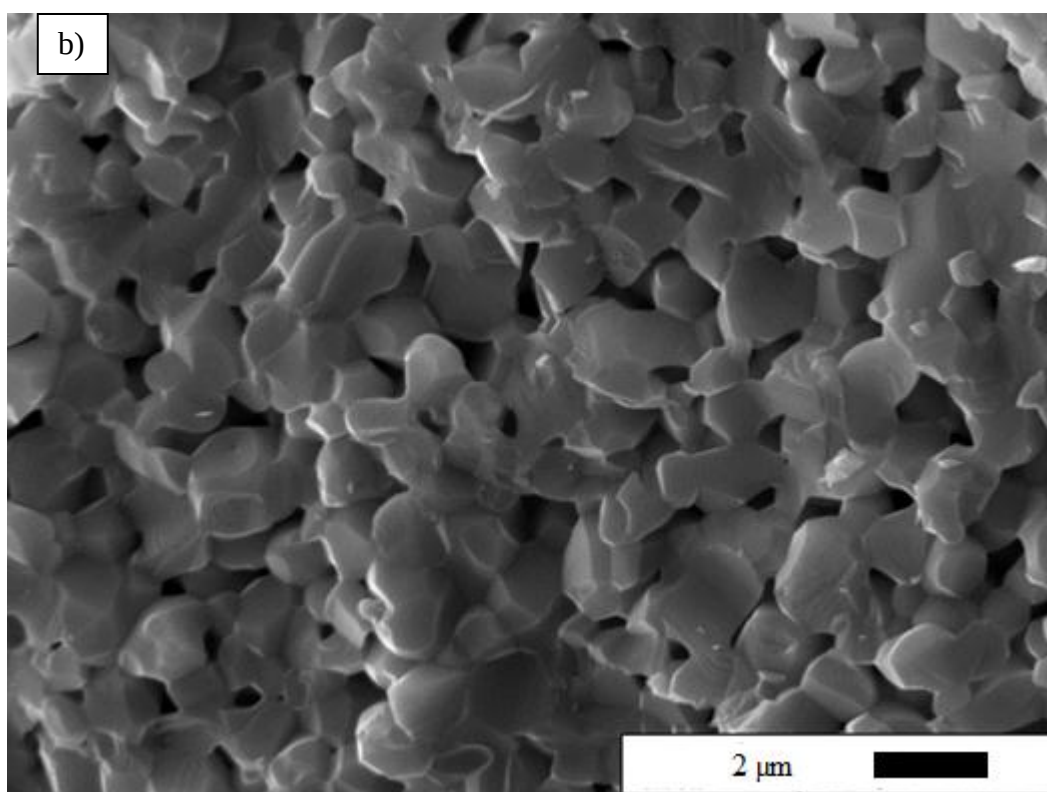
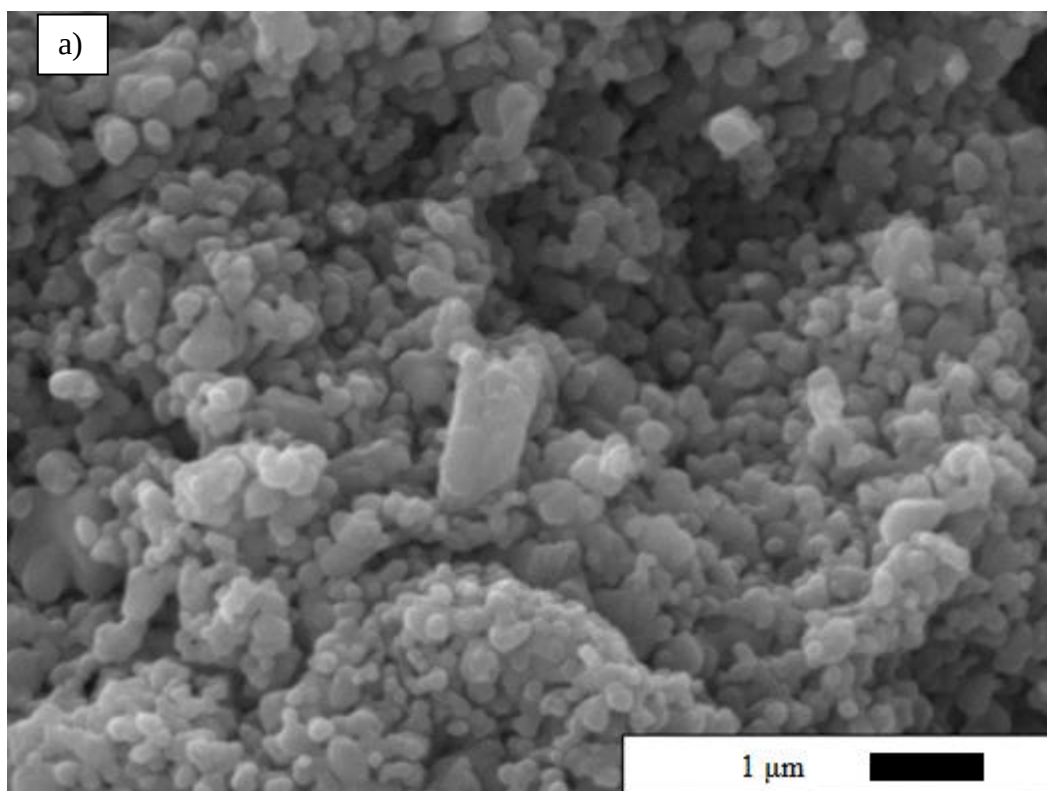
**Tablo 8.5.** Plaka şekilli çinko oksit peletlerinin sinterlenme rejimleri

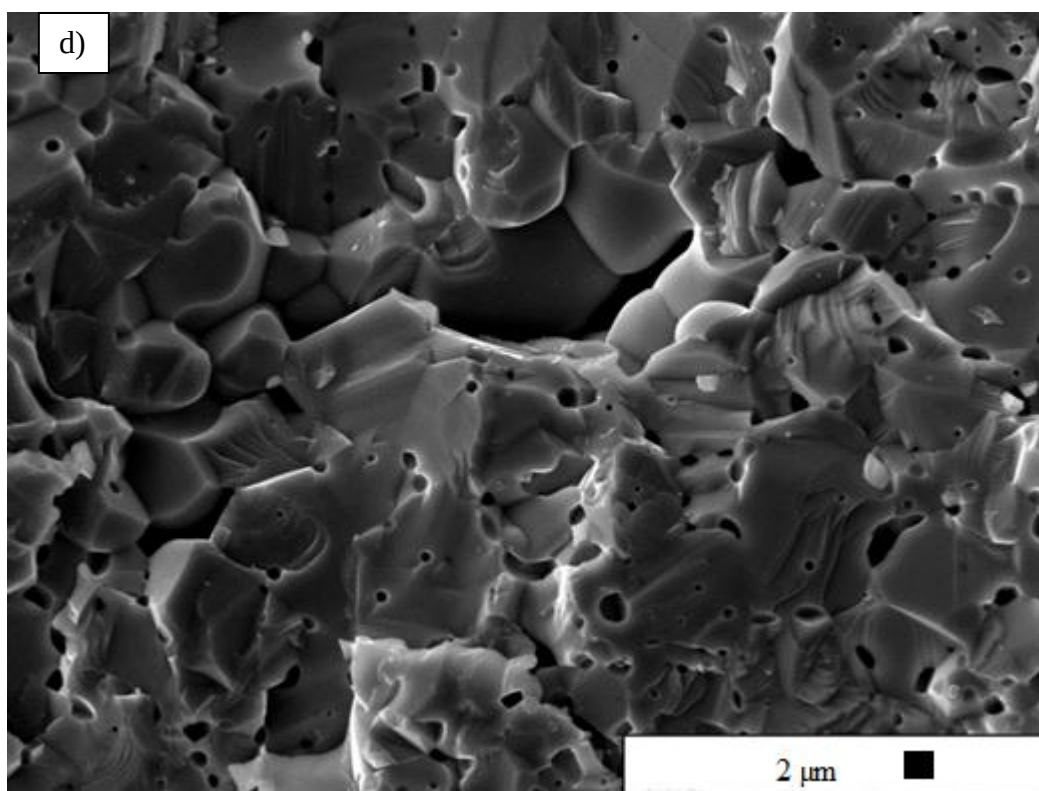
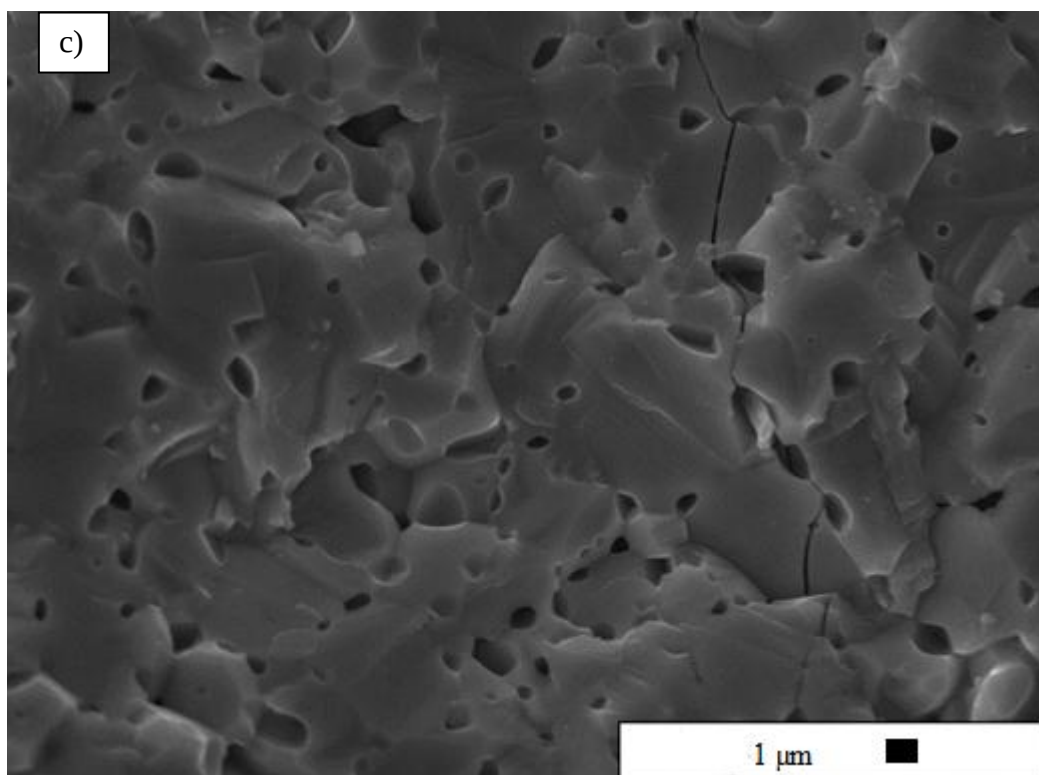
| Numune No | Sıcaklık Hızı | Sıcaklık | Bekleme Süresi |
|-----------|---------------|----------|----------------|
| 2         | 5°C/dk        | 1100 °C  | 2 saat         |
| 3         | 5°C/dk        | 1100 °C  | 2 saat         |
| 4         | 5°C/dk        | 1200 °C  | 2 saat         |
| 5         | 5°C/dk        | 1200 °C  | 2 saat         |
| 6         | 5°C/dk        | 1200 °C  | 4 saat         |
| 7         | 5°C/dk        | 1200 °C  | 4 saat         |
| 8         | 5°C/dk        | 1100 °C  | 4 saat         |
| 9         | 5°C/dk        | 1100 °C  | 4 saat         |

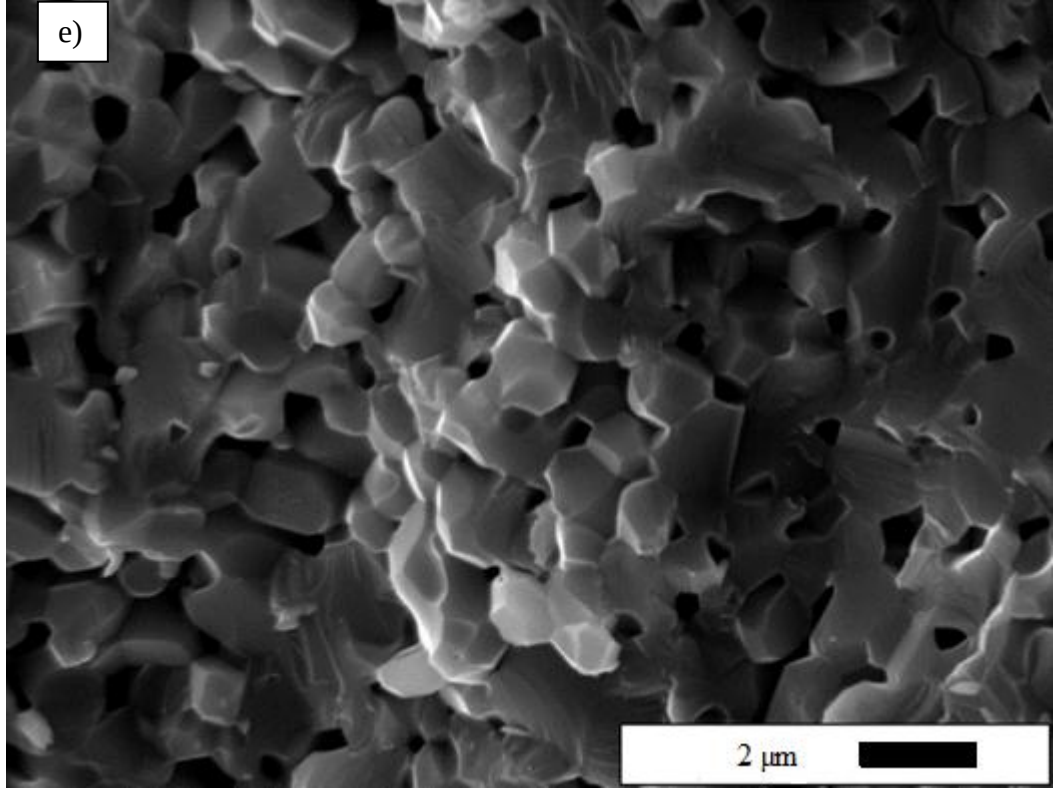
**Tablo 8.6.** Plaka şekilli ZnO partiküllerinin sinterlenme sonrası teorik ve yaş yoğunluk değerleri

| Sinterleme Sonrası |              |          |               |                  |                     |
|--------------------|--------------|----------|---------------|------------------|---------------------|
| Numune No          | Ağırlık (gr) | Çap (mm) | Kalınlık (mm) | Yaş Yoğunluk (%) | Teorik Yoğunluk (%) |
| 2                  | 1,7663       | 11,46    | 3,49          | 87,5683          | 91,93326            |
| 3                  | 1,8147       | 11,70    | 3,65          | 82,5311          | 86,40995            |
| 4                  | 1,7574       | 11,38    | 3,35          | 92,0489          | 94,34348            |
| 5                  | 1,7464       | 11,33    | 3,43          | 90,1295          | 93,05941            |
| 6                  | 1,7560       | 11,29    | 3,43          | 91,2683          | 92,81276            |
| 7                  | 1,7665       | 11,25    | 3,54          | 89,5948          | 91,61766            |
| 8                  | 1,7757       | 11,30    | 3,58          | 88,2687          | 92,36957            |
| 9                  | 1,7645       | 11,50    | 3,55          | 85,4033          | 89,04377            |

Sinterlenme sıcaklığı ve süresi üzerine yapılan bu çalışma sonunda hesaplanan yüzde yoğunluk değerlerine bakıldığında plaka şekilli ZnO partiküllerininin 1200 °C sıcaklıkta 2 saat süreyle sinterleme sonucunda ulaştıkları görülmektedir. Şekil 8.16’da gösterilen SEM fotoğrafları incelendiğinde farklı sinterlenme sıcaklık ve sürelerinde olmasına rağmen yapıda gözenekler görülmektedir. Bu gözenekli yapının da yüzde yoğunluk değerini düşürdüğü düşünülmektedir. Özgür Özer’in 2010 yılında yaptığı çalışmada çeşitli katkı maddeleri kullanarak ( $\text{SnO}_2$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ) yüzde yoğunluk değerinin yükseltildiği görülmektedir.







**Şekil 8.16.** Plaka şekilli ZnO partiküllerinin a) Bağlayıcı giderme, b) 1100 °C 2 saat, c) 1200 °C 2 saat, d) 1200 °C 4 saat ve e) 1100 °C 4 saat sinterleme sonrası kırık yüzey SEM görüntüleri

### 8.5. Sentezlenen Plaka Şekli ZnO Partiküllerinin Nano Boyutlu ZnO (<100 nm) Tozuyla Karşılaştırmalı Olarak Yapılan *in-vitro* Toksisite Testleri

Bu bölümde yapılan açıklamalar karşılaştırma içerdiği için nano boyutlu (<100 nm) ticari ZnO tozu (Z-1) olarak, sentezlenen plaka şekilli ZnO tozları ise (Z-plaka) olarak kodlanmıştır.

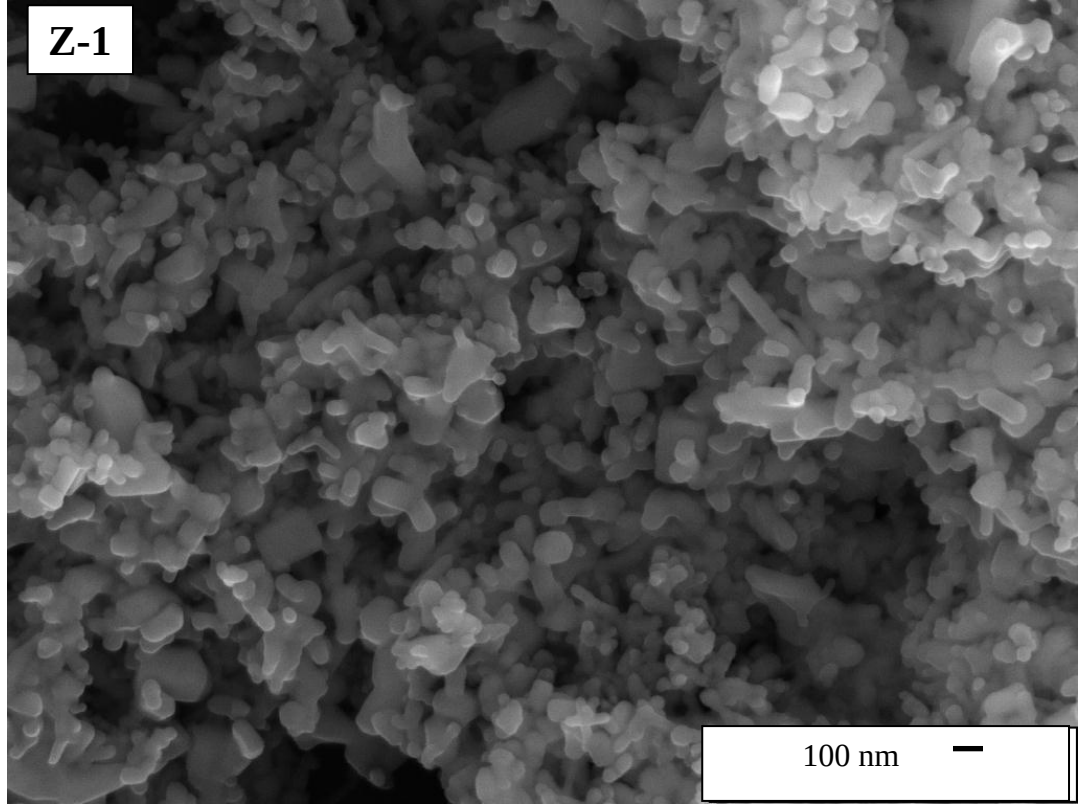
#### 8.5.1. *In-vitro* çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ZnO tozunun karakterizasyon çalışmaları

*In-vitro* toksisite testlerinde kullanılan nano boyutlu Z-1 kodlu ZnO tozunun toksisite sonuçlarının daha iyi yorumlanması amacıyla karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Ticari Z-1 kodlu ZnO tozuna ait üretici firma bilgileri Tablo 8.7’de verilmiştir.

**Tablo 8.7.** *In-vitro* çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ZnO tozuna ait genel bilgiler

| Kodu                   | Kompozisyonu | Kristal Formu | Saflığı (%) | Tane Boyutu (nm) |
|------------------------|--------------|---------------|-------------|------------------|
| Z-1<br>(Sigma Aldrich) | ZnO          | -             | -           | < 100            |

Ticari nano boyutlu ZnO tozunun şekilleri ile birlikte ortalama tane boyutlarının belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu ile alınan görüntü Şekil 8.17’de görülmektedir. Analiz sonucu incelendiğinde kullanılan ticari tozun eşeksiz tanelerden oluştuğu belirlenmiştir. Görüntü analiz programı (ImageJ 1.43u) yardımıyla SEM görüntüsü incelendiğinde Z-1 kodlu ticari tozun ortalama tane boyutlarının sırasıyla ~ 86 nm olduğu tespit edilmiştir. Ancak SEM görüntüsünden de görüldüğü üzere, tozlarda belli oranlarda topaklanmalar gözlenmektedir. Bu nedenle primer tane boyutu yerine aktif yüzey alanlarına bakılması, bu tozun *in-vitro* sonuçlarının daha doğru analiz edilmesini sağlayacağından tozun spesifik yüzey alanı da ölçülmüştür.



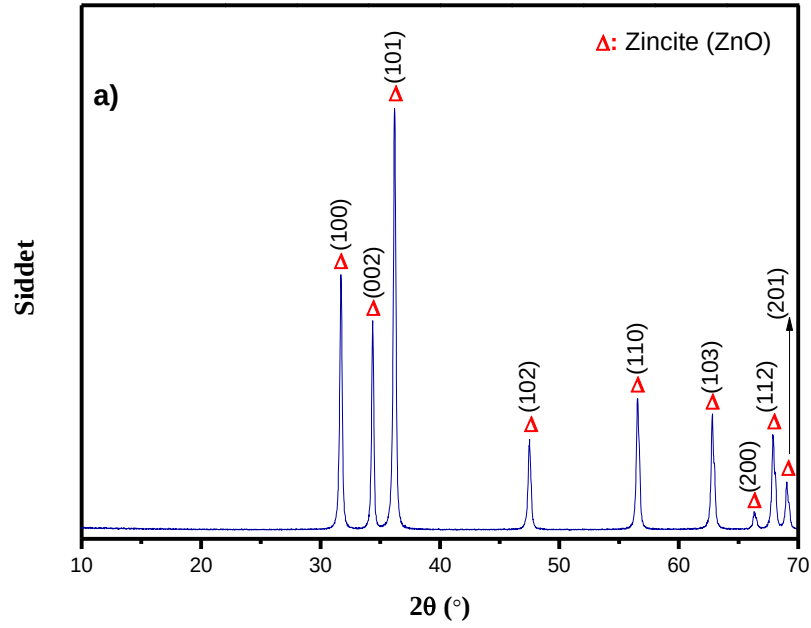
**Şekil 8.17.** *İn-vitro* çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ticari toza ait SEM görüntüsü

Tablo 8.8’de ticari tozların spesifik yüzey alanları ile birlikte tüm tozların yukarıdaki eşitlik ile hesaplanan ortalama tane boyutları gösterilmiştir. Z-1 kodlu ticari toz için yüzey alanlarından hesaplanan ortalama tane boyutu ile şirket tarafından belirtilen tane boyutunun tutarlı olduğu görülmektedir.

**Tablo 8.8.** *İn-vitro* çalışmalarında kullanılan Z-1 kodlu ZnO tozuna ait yüzey alanı ve hesaplanan ortalama tane boyutu

| Kodu | Spesifik Yüzey Alanı (m <sup>2</sup> /g) | Hesaplanan Ortalama Tane Boyutu (nm) |
|------|------------------------------------------|--------------------------------------|
| Z-1  | 13.1                                     | 81.7                                 |

Şekil 8.18’de ticari nano boyutlu ZnO tozunun XRD grafiği görülmektedir. Bu sonuçlar incelendiğinde Z-1 kodlu ticari ZnO tozunun tamamen zincite fazında olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 8.18.** *İn-vitro* çalışmalarında kullanılan ticari nano boyutlu Z-1 kodlu tozun XRD grafiği

Ticari tozların karakterizasyon çalışmalarında son aşama ise x-ışınları floresans (XRF) tekniği ile kantitatif olarak element analizini kapsamaktadır. Tablo 8.9’da ticari nano boyutlu ZnO (Z-1 kodlu) tozunun XRF analizi sonucu gösterilmiştir.

**Tablo 8.9.** Ticari nano boyutlu ZnO (Z-1 kodlu) tozuna ait XRF analizi sonucu ve elementlerin/bileşiklerin ağırlıkça yüzdeleri

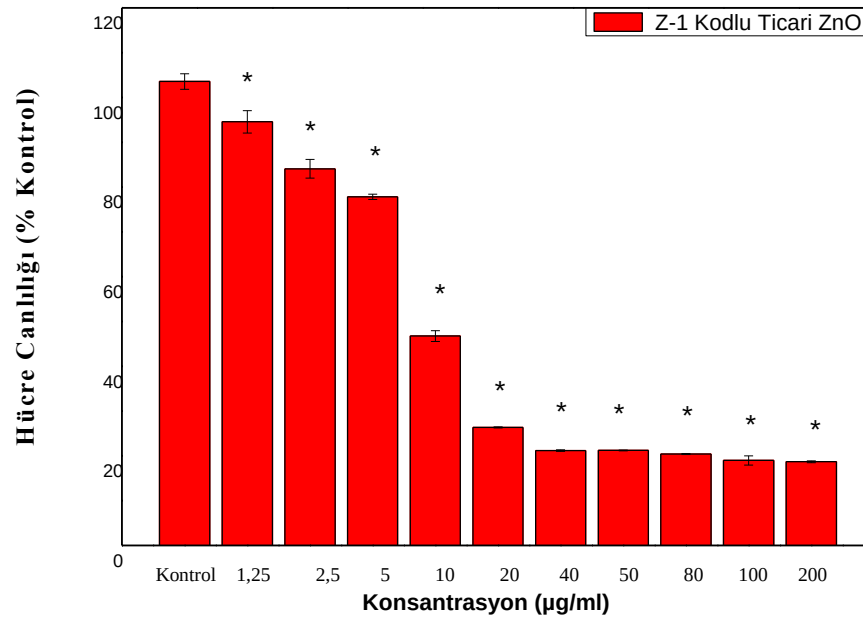
| Bileşik/Element       | ZnO     | MgO    | Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | SiO <sub>2</sub> | Cl     | K <sub>2</sub> O | CaO    | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> |
|-----------------------|---------|--------|--------------------------------|------------------|--------|------------------|--------|--------------------------------|
| Ağırlıkça yüzdesi (%) | 98.9251 | 0.0856 | 0.1906                         | 0.2949           | 0.3047 | 0.065            | 0.0411 | 0.0929                         |

Bu sonuç ile birlikte ticari ZnO tozunun yüksek saflıkta ve ağırlıkça % 98.9 saflık oranına sahip olduğu belirlenmiştir. İçerisinde Mg, Al, Si, K, Ca ve Fe elementlerinin ağırlıkça çok düşük yüzdelerde bulunduğu ortaya konularak, en yüksek safsızlık oranının ağırlıkça % 0.3 değeri ile klor (Cl) elementine ait olduğu tespit edilmiştir.



### 8.5.2. Ticari ZnO < 100 nm (Z-1) tozunun UV-A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi

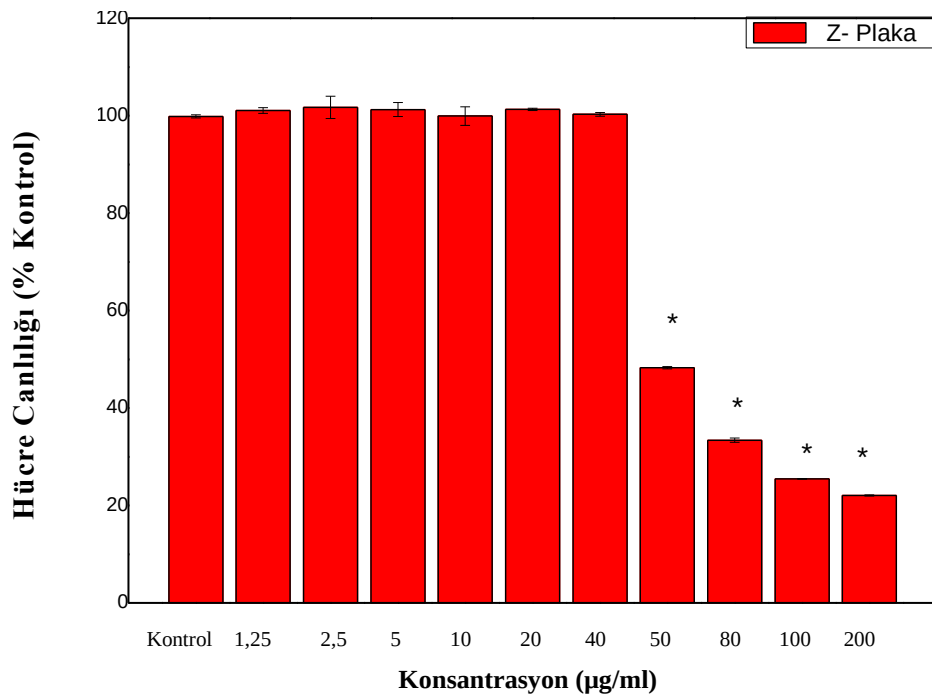
Ticari nano boyutlu Z-1 kodlu ZnO tozlarının TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksikite testlerinin sonuçları Şekil 8.19'da görülmektedir. TIG-114 hücreleriyle yapılan 24 saatlik MTT test çalışmaları sonucunda, uygulanan Z-1 maddesinin 1,25 µg/ml'lik konsantrasyonunun % 6 oranında, 2,5 µg/ml'lik konsantrasyonunun % 16 oranında, 5 µg/ml'lik konsantrasyonunun % 23 oranında ve 10 µg/ml konsantrasyonunun ise % 54 oranında hücre sayısını azalttığı görülmektedir. 20 µg/ml ve üzeri konsantrasyonlarda sitotoksikite değerleri birbirine yakın olup ortalama % 75 civarında olduğu görülmektedir. Tüm konsantrasyonların toksisite sonuçları, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir.



**Şekil 8.19.** Ticari, ZnO tozunun (Z-1 kodlu) farklı konsantrasyonlarının, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (\*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$

### 8.5.3. Plaka şekilli ZnO tozunun (Z-Plaka) UV-A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi

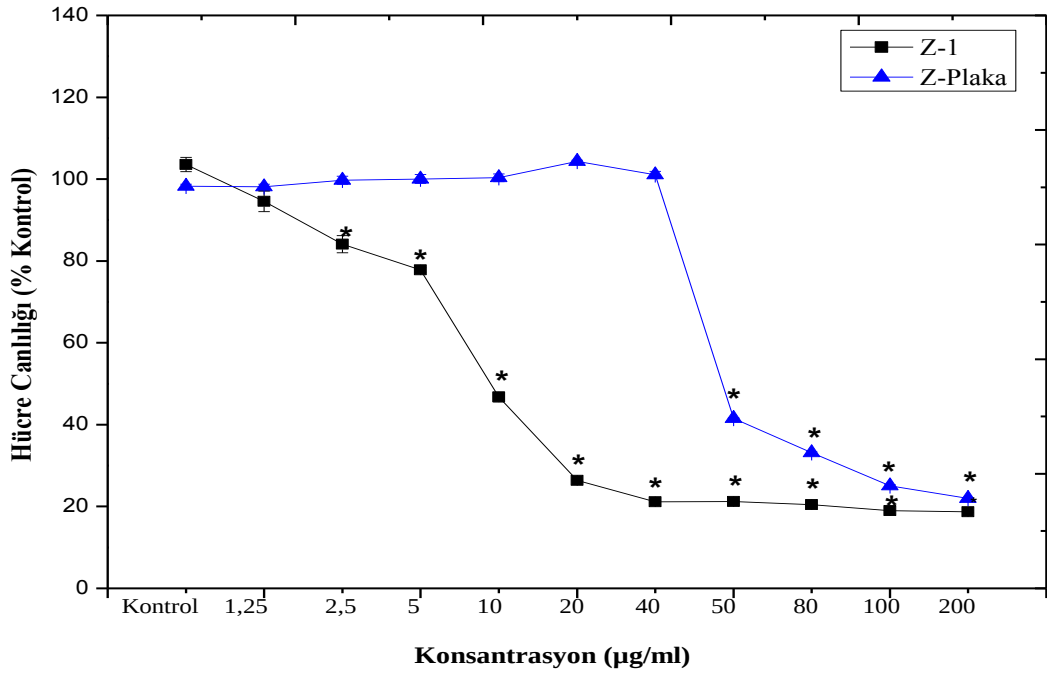
Plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozunun TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksikite testlerinin sonuçları Şekil 8.20’de görülmektedir. UV uygulamaksızın TIG-114 hücreleriyle yapılan 24 saatlik MTT test çalışmaları sonucunda, uygulanan Z-plaka maddesinin 1,25-2,5-5-10-20-40 µg/ml’lik konsantrasyonlarında sitotoksik etkisinin olmadığı görülmektedir. 50 µg/ml’lik konsantrasyonda sitotoksik etkinin arttığı ve hücre canlılığında %60 oranında azalma olduğu görülmektedir. 80 µg/ml’lik konsantrasyonda hücre canlılığındaki azalma % 70 iken 100 ve 200 µg/ml’lik konsantrasyonlarda hücre canlılığı yaklaşık % 80 oranında azalmıştır.



**Şekil 8.20.** Plaka şekilli ZnO tozunun (Z- Plaka) farklı konsantrasyonlarının, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (\*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$

#### **8.5.4. Ticari ZnO < 100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO tozlarının UV-A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin karşılaştırılması**

Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarının UV-A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması Şekil 8.21’de görülmektedir. UV uygulamaksızın TIG-114 hücreleriyle yapılan 24 saatlik MTT test çalışmaları sonucunda, uygulanan Z-plaka maddesinin 1,25-2,5-5-10-20-40 µg/ml’lik konsantrasyonlarında sitotoksik etkisinin olmadığı görülmektedir. Z-1 kodlu tozda aynı konsantrasyonlarda, konsantrasyona bağlı olarak toksisite giderek artmaktadır. 1,25 µg/ml’lik konsantrasyonda sitotoksik etkinin %10 2,5 ve 5 µg/ml’lik konsantrasyonlarda hücre canlılığındaki azalma ortalama % 20, 10 µg/ml’lik konsantrasyonda hücre canlılığındaki azalma % 50 oranında azalmıştır. 20-40-50-80-100 ve 200 µg/ml’lik konsantrasyonlarda ise hücre canlılığındaki azalma ortalama % 80 civarındadır. Z-plaka maddesinde ise 50 µg/ml’lik konsantrasyonda toksisite % 60, 80 µg/ml’lik konsantrasyonda toksisite % 65, 100 ve 200 µg/ml’lik konsantrasyonlarda ise toksisite ortalama % 80 civarındadır. Tüm uygulamalarda elde edilen sitotoksik sonuçlarında Z-1 ve Z-çubuk kodlu ZnO tozları tüm konsantrasyonlarda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterirken Z-plaka kodlu ZnO tozunda sadece 50-80-100-200 µg/ml’lik konsantrasyonlar kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir.

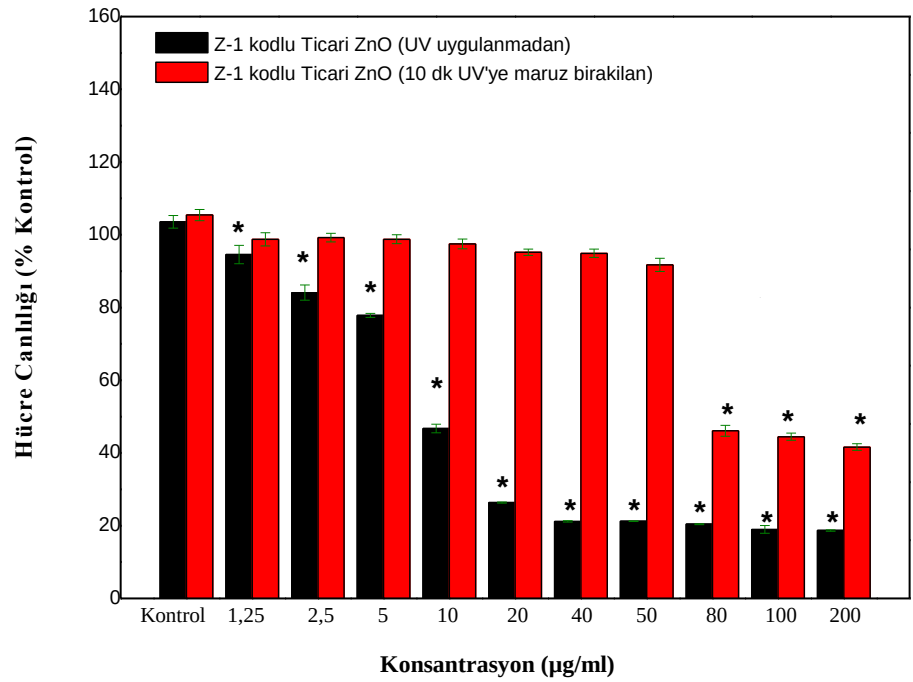


**Şekil 8.21.** Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO (*Z-plaka*) tozlarının UV-A uygulanmadan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin karşılaştırılması. (\*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$

#### 8.5.5. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) tozunun 10 dakika UV-A muamelesiyle TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi

Ticari ZnO tozunun (Z-1 kodlu) 10 dakika UV-A muamelesiyle TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksikite testlerinin sonuçları Şekil 8.22’de görülmektedir. Aynı grafikte Z-1’in UV olmadan TIG-114 hücreleri üzerine olan etkilerine ait veriler UV varlığındaki etkilerine ait verileri değerlendirmek amacıyla yer almaktadır. UV uygulamaksızın TIG-114 hücreleriyle yapılan 24 saatlik MTT test çalışmaları sonucunda, uygulanan Z-1 maddesinin 1,25 µg/ml’lik konsantrasyonunun % 6 oranında, 2,5 µg/ml’lik konsantrasyonunun % 16 oranında, 5 µg/ml’lik konsantrasyonunun % 23 oranında ve 10 µg/ml konsantrasyonunun ise % 54 oranında hücre sayısını azalttığı görülmektedir. 20 µg/ml ve üzeri konsantrasyonlarda sitotoksikite değerleri birbirine yakın olup

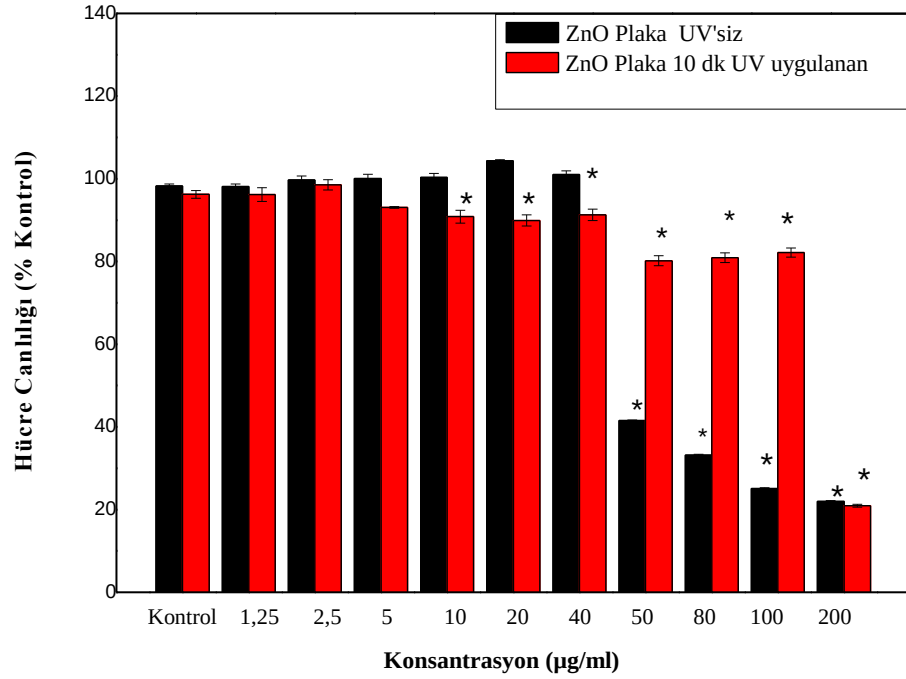
ortalama % 75 civarında olduğu görülmektedir. 10 dakika UV-A muamelesi ile hücrede 1,25-2,5-5-10-20-40 ve 50 µg/ml'lik konsantrasyonların toksik etkileri birbirine benzer ve çok az orandadır. 80–100 ve 200 µg/ml'lik konsantrasyonların toksik etkileri ise benzerdir ve % 50 civarındadır. UV-A muamelesiyle hücreler bir direnç göstermiş olup canlı hücre sayısındaki azalma UV'siz muameleye göre artış gözlenmiştir. UV-A uygulanmadan elde edilen sitoksisite sonuçları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. Fakat UV-A uygulamasında ise sadece 80–100 ve 200 µg/ml'lik konsantrasyonların sonuçları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir.



**Şekil 8.22.** Ticari ZnO tozunun (Z-1 kodlu) farklı konsantrasyonlarının UV'siz ve 10 dakika UV-A muamelesiyle, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (\*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$

#### **8.5.6. Plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozunun 10 dakika UV-A muamelesiyle TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi**

Plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozunun UV'siz, 10 dakika UV-A muamelesiyle TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksikite testlerinin sonuçları Şekil 8.23'de görülmektedir. UV uygulamaksızın TIG-114 hücreleriyle yapılan 24 saatlik MTT test çalışmaları sonucunda, uygulanan Z-plaka maddesinin 1,25-2,5-5-10-20-40 µg/ml'lik konsantrasyonlarında sitotoksik etkisinin olmadığı görülmektedir. 50 µg/ml'lik konsantrasyonda sitotoksik etkinin arttığı ve hücre canlılığında %60 oranında azalma olduğu gözlenmiştir. 80 µg/ml'lik konsantrasyonda hücre canlılığındaki azalma % 70 iken 100 ve 200 µg/ml'lik konsantrasyonlarda hücre canlılığı % 80 oranında azalmıştır. 10 dakika UV-A muamelesiyle elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında 1,25-2,5-5-10-20-40-50-80-100 µg/ml'lik konsantrasyonlarda hücre canlılığının azalmadığı sadece en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığının % 80 oranında azaldığı görülmüştür. Tüm uygulamalarda elde edilen sitotoksikite sonuçları sadece yüksek konsantrasyonlarda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir.

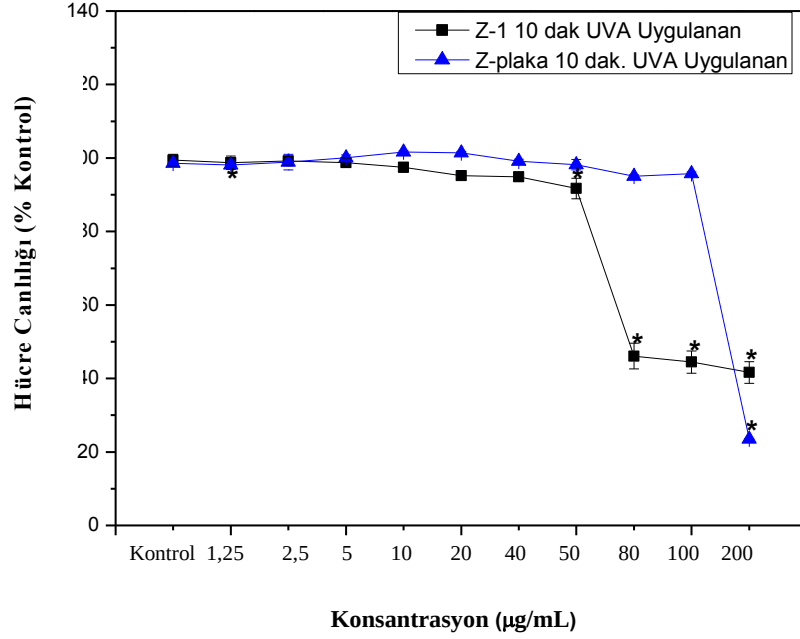


**Şekil 8.23.** Plaka şekilli ZnO tozunun farklı konsantrasyonlarının UV'siz ve 10 dakika UV-A muamelesiyle, 24 saatlik MTT testi sonucunda TIG-114 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. (\*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$

#### 8.5.7. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarının 10 dakika UV-A Uygulanan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin karşılaştırılması

Z-1 ve Z-plaka ZnO tozlarının UV-A uygulanan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması Şekil 8.24'de görülmektedir. Yapılan 24 saatlik MTT test çalışmaları sonucunda, uygulanan Z-plaka maddesinin 1,25-100 µg/ml'lik konsantrasyon arasında sitotoksik etkisinin olmadığı görülmektedir. En yüksek doz olan 200 µg/ml'lik dozda, hücre canlılığı %77 oranında azalmıştır. Z-1 kodlu ticari ZnO tozu 80 µg/ml'lik konsantrasyona kadar hücre canlılığını yaklaşık % 6 oranında düşürdüğü saptanmıştır. 80-100 ve 200 µg/ml'lik konsantrasyonlarda ise hücre canlılığı yaklaşık % 55 oranında azaldığı gözlenmiştir. Tüm uygulamalarda elde edilen sitotoksik değerleri Z-1 kodlu ticari ZnO nano tozun 80-100 ve 200 µg/ml'lik konsantrasyonları ve Z-plaka kodlu ZnO tozunda ise sadece 200

$\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir.



**Şekil 8.24.** Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO (*Z-plaka*) tozlarının UV-A uygulanan TIG-114 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin karşılaştırılması. (\*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$

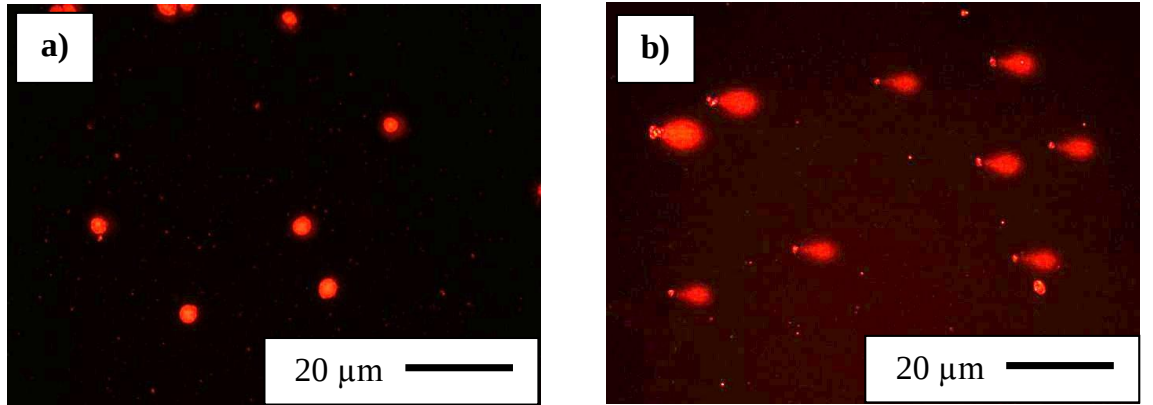
#### 8.5.8. Hücre kültürü yöntemi ile ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO (*Z-plaka*) tozlarının UV'siz *in-vitro* genotoksisite çalışmaları

Ticari eş eksenli ZnO (Z-1) ve plaka şekilli ZnO (Z-Plaka) UV'siz *in-vitro* genotoksisite çalışmaları Komet (Tek hücreli jel elektroforezi) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen deney sonuçları kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, BS200ProP Komet deney analiz programı kullanılarak elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerleri tablolar halinde sunulmuştur. Ayrıca kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerlerinin, kontrole göre değişim değerleri yüzdece hesaplanarak tablolarda gösterilmiştir.



#### 8.5.8.1. Negatif ve pozitif kontrolün UV'siz *in-vitro* genotoksisite sonuçları

Proje kapsamında ticari olarak alınan ve tasarlanmış tozların *in-vitro* komet deneyi çalışmalarında negatif kontrol olarak hücre kültür medyumunu (MEM, % 10 FBS), pozitif kontrol olarak ise 10  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmıştır. Negatif kontrolde herhangi bir genotoksik etkinin olmadığı pozitif kontrolde ise kontrole göre büyük oranda genotoksik etkinin olduğu hem analiz sonuçları hem de kuyruk hasarı skorlamasına göre belirlenmiştir. Kuyruk uzunluğu negatif kontrolde 6.3  $\mu$ m iken, pozitif kontrolde 39.4  $\mu$ m olarak ölçülmüştür. Kuyruktaki % DNA ölçümüne göre bu oran (-) kontrolde % 66.5 iken, (+) kontrolde bu oran 82.3 olarak ölçülmüştür. Kuyruktaki DNA yüzdesi negatif kontrole göre pozitif kontrolde % 23 oranında artmıştır. Kuyruk momenti (-) kontrolde 9.7 olarak hesaplanırken (+) kontrolde ise 34.5 olarak ölçülmüştür. Kuyruk momenti negatif kontrole göre pozitif kontrolde % 256 oranında artmıştır. Negatif ve pozitif kontrolün etkisiyle hücre üzerinde meydana gelen genotoksik etkiyi gösteren hücre görüntüleri Şekil 8.25'te sunulmuştur. Daha önce belirtilen kalitatif incelemedeki skorlama işlemine göre morfolojik olarak görülen etki (-) kontrolde skor 1 iken, (+) kontroldeki skor ise 4 olarak belirlenmiştir.



**Şekil 8.25.** Negatif ve pozitif kontrolün TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) Hücre kültür besiyeri, b) 10  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

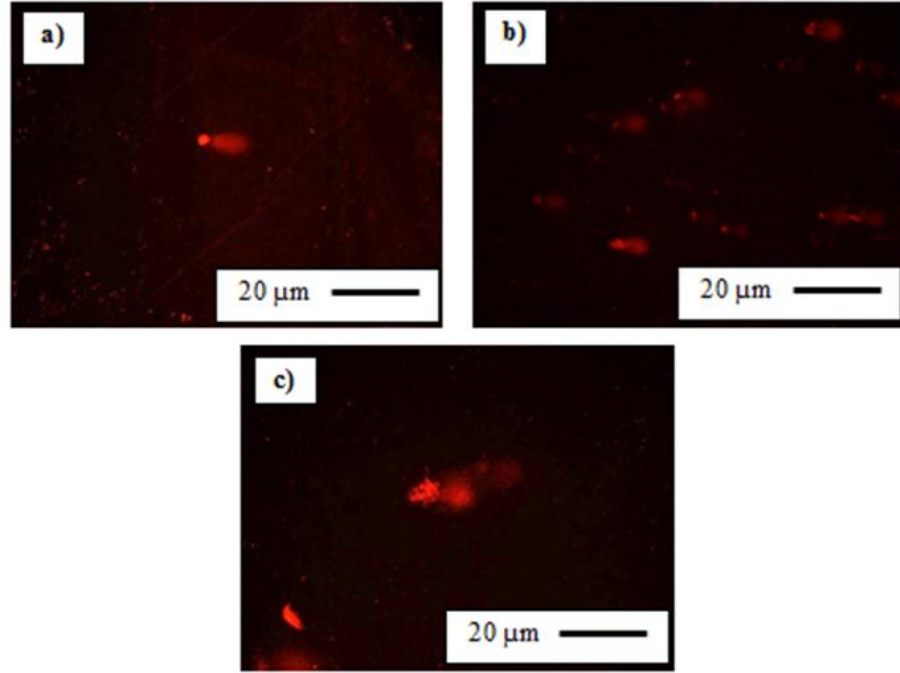
#### 8.5.8.2. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) tozunun UV'siz *in-vitro* genotoksisite sonuçları

Z-1 kodlu ZnO tozu kullanılarak gerçekleştirilen *in-vitro* genotoksisite sonuçlarına göre, artan konsantrasyona bağlı olarak genotoksisitenin arttığı gözlenmektedir. Analiz sisteminden elde edilen verilere göre kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerlerinin kontrole göre anlamlı oranda artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 8.10). Kuyruk uzunluğu kontrolde 6.3 µm iken, tüm konsantrasyonlarda (10, 20, 40 µg/ml) ise bu oran ortalama 6 kat artmıştır. Kuyruktaki % DNA değişimlerinin kontrole göre artışı ise 10 µg/ml'lik konsantrasyon için % 18.5, 20 µg/ml'lik konsantrasyon için % 27 ve 40 µg/ml'lik konsantrasyon için bu oran % 44.3'dür. Kuyruk uzunluğundaki değişim değerleri ile benzer şekilde kuyruk momentinin değişimi de kontrole göre ortalama 3 kat artmıştır. Daha önce yapılan MTT sonuçlarına göre Z-1 kodlu, nano boyutlu ZnO tozunun sitotoksik olduğu, ayrıca komet deneyi sonucunda elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değişim değerleri bu tozların genotoksik etkiye de sahip olduğunu göstermiştir.

**Tablo 8.10.** Z-1 kodlu (< 100 nm) ZnO tozuna ait UV'siz genotoksisite analiz sonuçları

|                                                   | Kuyruk uzunluğu<br>(tail length) | Kuyruktaki %<br>DNA(Percent DNA in tail) | Kuyruk momenti<br>(Tail moment) | Kuyruktaki % DNA'daki<br>değişim (%) | Kuyruk momentindeki<br>değişim (%) |
|---------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| Kontrol                                           | 6.3 µm                           | 66.5                                     | 9.7                             |                                      |                                    |
| 10µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>(+ kontrol) | 39.4 µm                          | 82.3                                     | 34.5                            |                                      |                                    |
| 10 µg/ml                                          | 33.8 µm                          | 78.8                                     | 29.26                           | 18.5                                 | 200                                |
| 20 µg/ml                                          | 42.2 µm                          | 84.4                                     | 39.89                           | 27                                   | 311                                |
| 40 µg/ml                                          | 55.1 µm                          | 96                                       | 45.33                           | 44.3                                 | 367                                |

Z-1 kodlu ZnO tozunun etkisiyle hücre üzerinde meydana gelen genotoksik etkiye ait hücre görüntüleri Şekil 8.26'da gösterilmiştir. Kalitatif olarak incelemedeki skorlama işlemine göre morfolojik olarak görülen etki 10 µg/ml'lık konsantrasyon için skor 3, 20 µg/ml ve 40 µg/ml'lık konsantrasyonlar için skor 4 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 8.26. Z-1 kodlu ticari ZnO tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10 µg/ml, b) 20 µg/ml, c) 40 µg/ml

#### 8.5.8.3. Plaka şekilli ZnO tozunun (Z-plaka) UV'siz *in-vitro* genotoksisite sonuçları

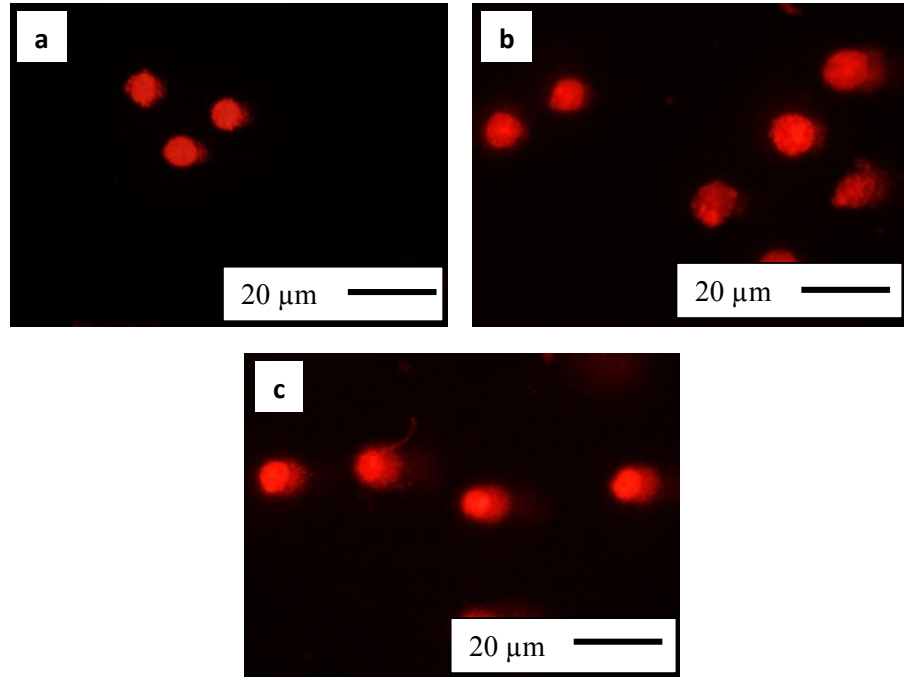
Plaka şekilli ZnO tozu (Z-plaka) kullanılarak gerçekleştirilen *in-vitro* genotoksisite sonuçlarına göre, artan konsantrasyona bağlı olarak genotoksisitenin arttığı gözlenmektedir. Analiz sisteminden elde edilen verilere göre kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve momenti değerlerinin kontrole göre anlamlı oranda artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 8.11). Kuyruk uzunluğu kontrolde 6.3µm iken, tüm konsantrasyonlarda (10, 20, 40 µg/ml) ise bu oran konsantrasyona bağlı olarak artış göstermiştir. Kuyruktaki % DNA değişimlerinin kontrole göre artışı ise 10 µg/ml'lık konsantrasyon için % 10.26,

20 µg/ml’lik konsantrasyon için % 14.2 ve 40 µg/ml’lik konsantrasyon için bu oran % 30.23’tür. Kuyruk momentinin değişimi de kontrole göre ortalama 3 kat artmıştır. Plaka şekilli ZnO tozunun komet deneyi sonucunda elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değişim değerleri bu tozların genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

**Tablo 8.11.** Z-plaka UV’siz *in-vitro* genotoksosite sonuçları

|                                                    | Kuyruk uzunluğu<br>(tail length) | Kuyruktaki % DNA<br>(Percent DNA in tail) | Kuyruk momenti<br>(Tail moment) | Kuyruktaki % DNA’daki değişim (%) | Kuyruk momentindeki değişim (%) |
|----------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| <b>Kontrol</b>                                     | 15,18 µm                         | 74,30                                     | 11,09                           |                                   |                                 |
| <b>10µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (+ kontrol)</b> | 46,56 µm                         | 88,78                                     | 41,33                           |                                   |                                 |
| <b>10 µg/ml</b>                                    | 39.67 µm                         | 89,73                                     | 35,87                           | 20,77                             | 223,44                          |
| <b>20 µg/ml</b>                                    | 56.63 µm                         | 96,67                                     | 55,68                           | 60,68                             | 402,07                          |
| <b>40 µg/ml</b>                                    | 61.48 µm                         | 99,46                                     | 58,18                           | 33,86                             | 424,62                          |

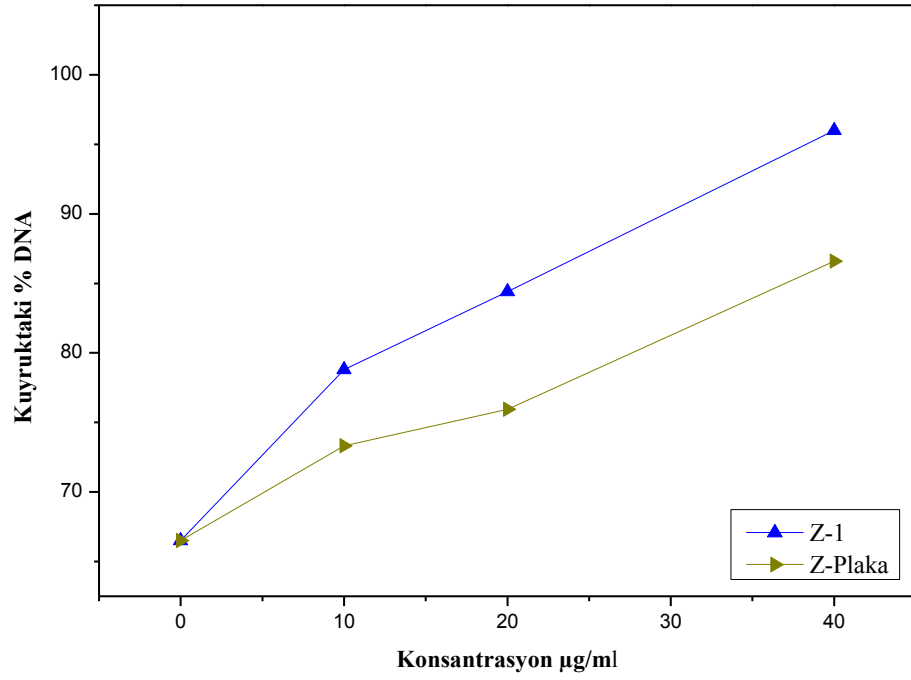
Tasarlanmış plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozunun etkisiyle hücre üzerinde meydana gelen genotoksik etkiye ait hücre görüntüleri Şekil 8.27’de gösterilmiştir. Kalitatif olarak incelemedeki skorlama işlemine göre morfolojik olarak görülen etki 10 µg/ml’lik konsantrasyon için skor 2, 20 µg/ml ve 40 µg/ml’lik konsantrasyonlar için skor 3 olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 8.27.** Z-Plaka ZnO tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10 µg/ml, b) 20 µg/ml, c) 40 µg/ml

#### **8.5.8.4. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka şekilli (Z-plaka) ZnO tozlarının UV'siz *in-vitro* genotoksisite sonuçlarının karşılaştırılması**

Nano boyutlu Z-1 kodlu ve plaka şekilli Z-plaka kodlu ZnO tozlarının *in-vitro* genotoksisite değerlendirmeleri, kuyruktaki % DNA yoğunluğu (% DNA in tail) parametreleri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Şekil 8.28'de tozların TIG-114 hücreleri üzerinde oluşturduğu kuyruktaki % DNA yoğunluğu değerlerinin karşılaştırması gösterilmiştir. Tüm tozların 10 µg/ml ve 20 µg/ml'lik konsantrasyonlardaki kuyruktaki % DNA değerleri karşılaştırıldığında, Z-plaka uygulanan tüm dozlarda Z-1 tozuna göre TIG 114 hücreleri üzerinde daha az genotoksik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.



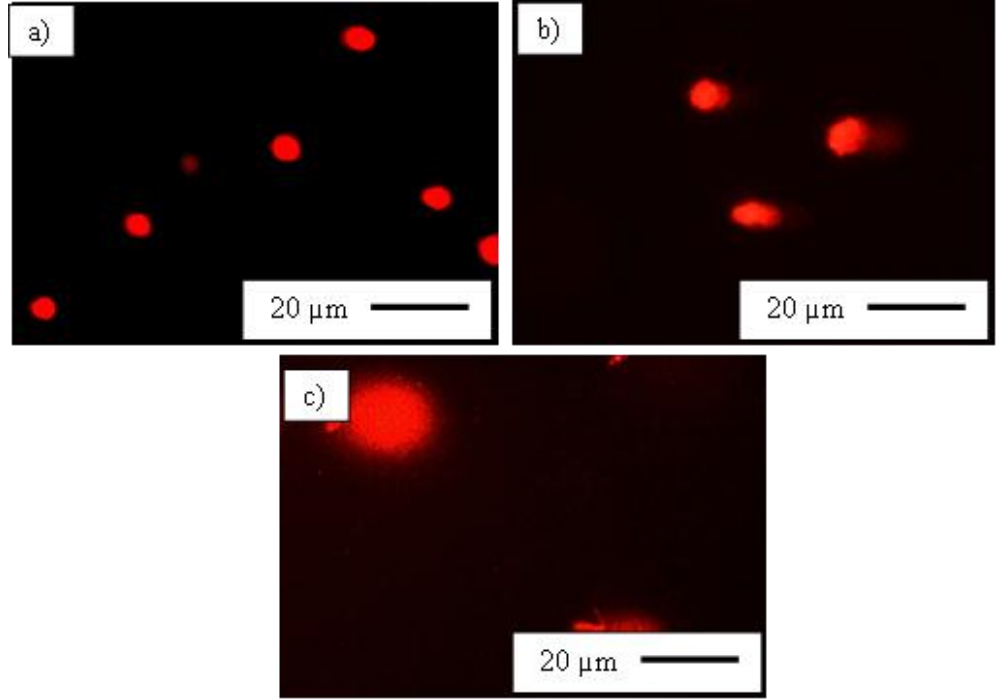
**Şekil 8.28.** Z-1 kodlu ZnO ve plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarının TIG-114 hücreleri üzerinde UV yokluğunda oluşturduğu kuyruktaki % DNA yoğunluğu değerlerinin karşılaştırması

#### **8.5.9. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarının UV-A uygulanarak elde edilen *in-vitro* genotoksisite sonuçları**

Nano boyutlu Z-1 kodlu ve plaka şekilli ZnO (Z-Plaka) tozlarının UV’li *in-vitro* genotoksisite çalışmaları Komet (Tek hücreli jel elektroforezi) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen deney sonuçları kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, BS200ProP Komet Deney analiz programı kullanılarak elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerleri tablolar halinde sunulmuştur. Ayrıca kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerlerinin, kontrole göre değişim değerleri yüzdece hesaplanarak tablolarda gösterilmiştir.

#### 8.5.9.1. Negatif ve pozitif kontrolün UV-A uygulanarak elde edilen *in-vitro* genotoksisite sonuçları

UV-A uygulanarak gerçekleştirilen *in-vitro* komet deneyi çalışmalarında negatif kontrol olarak hücre kültür medyumunu (MEM, % 10 FBS), pozitif kontrol olarak ise 10  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmıştır. Negatif kontrolde herhangi bir genotoksik etkinin olmadığı pozitif kontrolde ise kontrole göre büyük oranda genotoksik etkinin olduğu hem analiz sonuçları hem de kuyruk hasarı skorlamasına göre belirlenmiştir. Kuyruk uzunluğu negatif kontrolde 15,18  $\mu$ m iken, pozitif kontrolde 46,56  $\mu$ m olarak ölçülmüştür. Kuyruktaki % DNA ölçümüne göre bu oran (-) kontrolde % 74,30 iken, (+) kontrolde bu oran 88,78 olarak ölçülmüştür. Kuyruktaki DNA yüzdesi negatif kontrole göre pozitif kontrolde % 19,49 oranında artmıştır. Kuyruk momenti (-) kontrolde 9.7 olarak hesaplanırken (+) kontrolde ise 34.5 olarak ölçülmüştür. Kuyruk momenti negatif kontrole göre pozitif kontrolde % 272 oranında artmıştır. Negatif ve pozitif kontrolün etkisiyle hücre üzerinde meydana gelen genotoksik etkiyi gösteren hücre görüntüleri Şekil 8.29'da sunulmuştur. Kalitatif incelemedeki skorlama işlemine göre morfolojik olarak görülen etki (-) kontrolde skor 1 iken, (+) kontroldeki skor ise 4 olarak belirlenmiştir.



**Şekil 8.29.** Kontrol gruplarının komet görüntüleri. a-) Negatif Kontrol (UV-A Uygulanmadan), b-) UV-A Kontrol c-) Pozitif Kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

#### 8.5.9.2. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) tozunun UV-A uygulanarak elde edilen *in-vitro* genotoksisite sonuçları

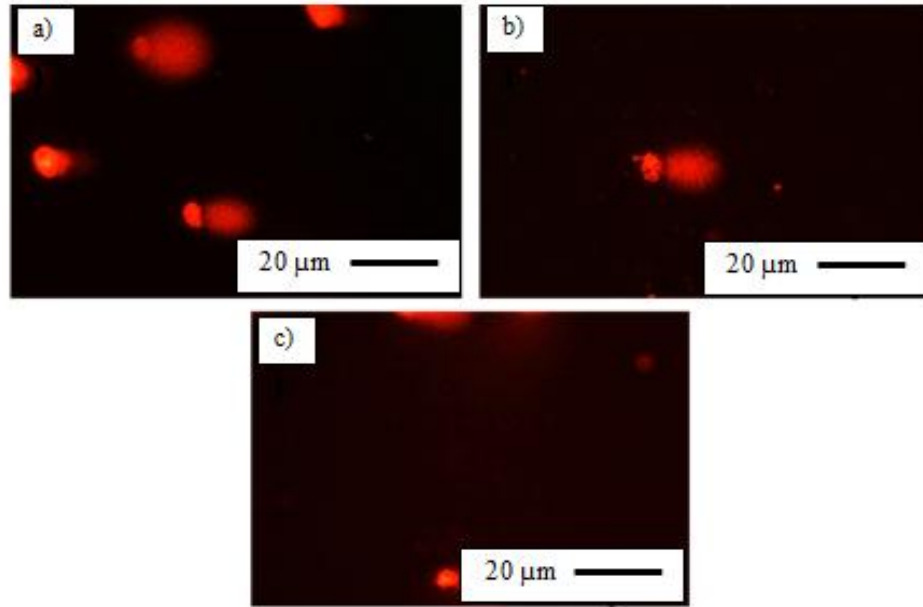
Ticari ZnO tozu kullanılarak gerçekleştirilen *in-vitro* genotoksisite sonuçlarına göre, artan konsantrasyona bağlı olarak genotoksisitenin arttığı gözlenmektedir. Analiz sisteminden elde edilen verilere göre kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve momenti değerlerinin kontrole göre anlamlı oranda artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 8.12). Kuyruk uzunluğu kontrolde 15,18 µm iken, tüm konsantrasyonlarda (10, 20, 40 µg/ml) ise bu oran ortalama 3-4 kat artmıştır. Kuyruktaki % DNA değişimlerinin kontrole göre artışı ise 10 µg/ml'lik konsantrasyon için % 23.05, 20 µg/ml'lik konsantrasyon için % 23.08 ve 40 µg/ml'lik konsantrasyon için bu oran % 33.98'dir. Kuyruk momentinin değişimi de kontrole göre ortalama 5 kat artmıştır. Z-1 nano tozunun komet deneyi sonucunda elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momentini değişim değerleri bu tozların genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir.



**Tablo 8.12.** Z-1 kodlu (<100 nm) ZnO tozuna ait UV’li genotoksisite analiz sonuçları

|                                                               | Kuyruk uzunluğu<br>(tail length) | Kuyruktaki % DNA<br>(Percent DNA in tail) | Kuyruk momenti<br>(Tail moment) | Kuyruktaki % DNA’daki değişim<br>(%) | Kuyruk momentindeki değişim<br>(%) |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| Kontrol                                                       | 15,18 $\mu\text{m}$              | 74,30                                     | 11,09                           | 23,05                                | 319                                |
| 10 $\mu\text{M}$ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>(+ kontrol) | 46,56 $\mu\text{m}$              | 88,78                                     | 41,33                           |                                      |                                    |
| 10 $\mu\text{g/ml}$                                           | 54,57 $\mu\text{m}$              | 91,43                                     | 49,89                           | 23,05                                | 319                                |
| 20 $\mu\text{g/ml}$                                           | 55,89 $\mu\text{m}$              | 91,45                                     | 51,03                           | 23,08                                | 328                                |
| 40 $\mu\text{g/ml}$                                           | 64,4 $\mu\text{m}$               | 99,55                                     | 64,11                           | 33,98                                | 438                                |

Z-1 kodlu ZnO tozunun etkisiyle hücre üzerinde meydana gelen genotoksik etkiye ait hücre görüntüleri Şekil 8.30’da gösterilmiştir. Kalitatif olarak incelemedeki skora göre morfolojik olarak görülen etki 10 ve 20  $\mu\text{g/ml}$ ’lık konsantrasyonlar için skor 3, 40  $\mu\text{g/ml}$ ’lık konsantrasyonlar için skor 4 olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 8.30.** Z-1 kodlu ZnO (<100 nm) tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV-A muamelesiyle oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10  $\mu\text{g/ml}$ , b) 20  $\mu\text{g/ml}$ , c) 40  $\mu\text{g/ml}$

### 8.5.9.3. Plaka şekilli ZnO tozunun (Z-plaka) UV-A uygulanarak elde edilen *in-vitro* genotoksisite sonuçları

Plaka şekilli ZnO tozu kullanılarak gerçekleştirilen UV’li *in-vitro* genotoksisite sonuçlarına göre, artan konsantrasyona bağlı olarak genotoksisitenin arttığı gözlenmektedir. Analiz sisteminden elde edilen verilere göre kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değerlerinin kontrole göre anlamlı oranda artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 8.13). Kuyruk uzunluğu kontrolde 15,18  $\mu\text{m}$  iken, tüm konsantrasyonlarda (10, 20, 40  $\mu\text{g/ml}$ ) ise bu oran ortalama 2-3 kat artmıştır. Kuyruktaki % DNA değişimlerinin kontrole göre artışı ise 10  $\mu\text{g/ml}$ ’lik konsantrasyon için % 3,2  $\mu\text{g/ml}$ ’lik konsantrasyon için % 20,8 ve 40  $\mu\text{g/ml}$ ’lik konsantrasyon için bu oran % 21,4’tür. Kuyruk uzunluğundaki değişim değerleri ile benzer şekilde kuyruk momentinin değişimi de kontrole göre ortalama 2 kat artmıştır.

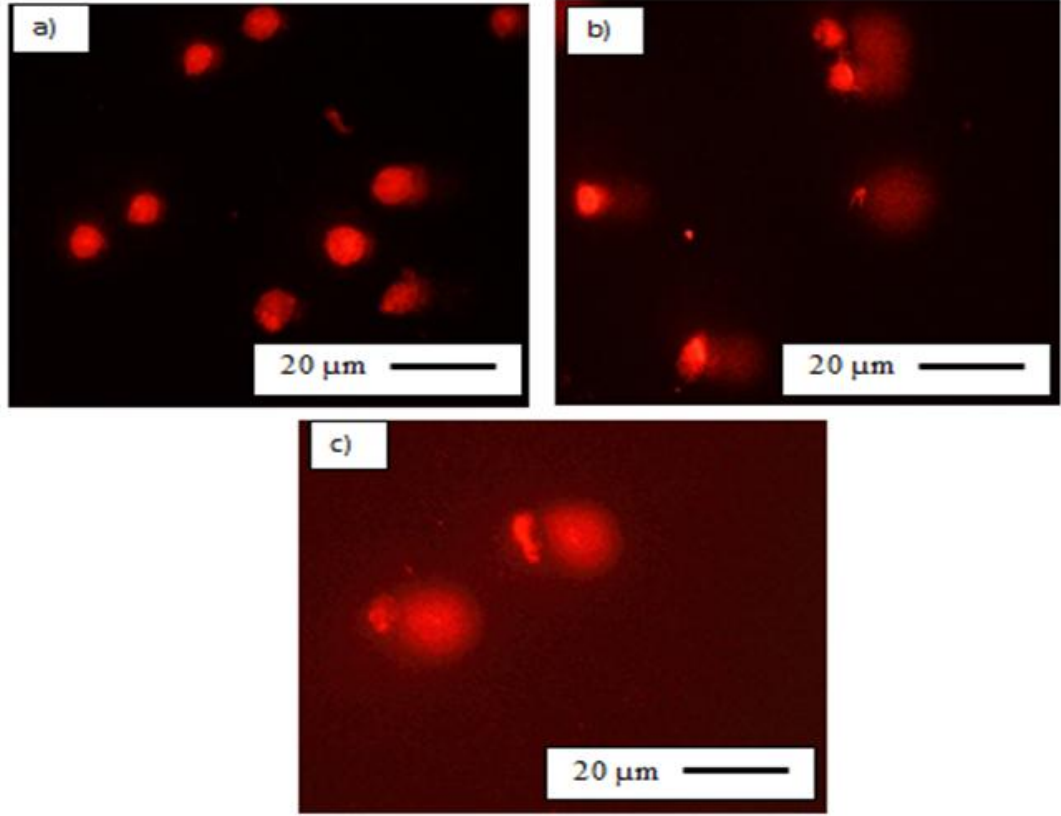
Plaka şekilli ZnO (Z-Plaka) tozunun komet deneyi sonucunda elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruktaki % DNA ve kuyruk momenti değişim değerleri Z-plakanın genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

**Tablo 8.13.** Plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarına ait UV’li genotoksisite analiz sonuçları

|                                                               | Kuyruk uzunluğu<br>(tail length) | Kuyruktaki<br>% DNA<br>(Percent DNA in tail) | Kuyruk momenti<br>(Tail moment) | Kuyruktaki<br>% DNA’daki<br>değişim<br>(%) | Kuyruk momentindeki<br>değişim<br>(%) |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|
| Kontrol                                                       | 15,18 $\mu\text{m}$              | 77,30                                        | 11,09                           |                                            |                                       |
| 10 $\mu\text{M}$ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>(+ kontrol) | 46,56 $\mu\text{m}$              | 88,78                                        | 41,33                           |                                            |                                       |
| 10 $\mu\text{g/ml}$                                           | 38,8 $\mu\text{m}$               | 76,73                                        | 29,77                           | 3,2                                        | 150                                   |
| 20 $\mu\text{g/ml}$                                           | 45,79 $\mu\text{m}$              | 89,82                                        | 42,75                           | 20,8                                       | 259                                   |
| 40 $\mu\text{g/ml}$                                           | 67,51 $\mu\text{m}$              | 90,21                                        | 58,87                           | 21,4                                       | 430                                   |

Plaka şekilli (Z-plaka) ZnO tozunun etkisiyle hücre üzerinde meydana gelen genotoksik etkiye ait hücre görüntüleri Şekil 8.31’de gösterilmiştir. Kalitatif olarak yapılan skorelama işlemine göre morfolojik olarak görülen etki

10 µg/ml’lık konsantrasyon için skor 2, 20 ve 40 µg/ml’lık konsantrasyonlar için skor 3 olarak tespit edilmiştir.

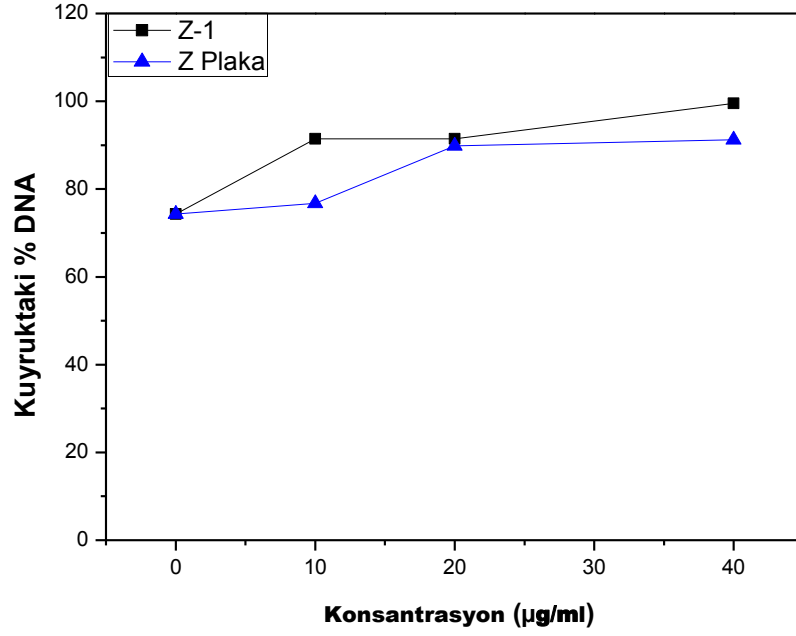


**Şekil 8.31.** Plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozunun TIG-114 hücreleri üzerinde UV-A muamelesi ile oluşturduğu genotoksik etkinin morfolojik görüntüleri. a) 10 µg/ml, b) 20 µg/ml, c) 40 µg/ml

#### **8.5.9.4. Ticari ZnO <100 nm (Z-1) ve plaka şekilli ZnO (Z-plaka) tozlarının UV’li *in-vitro* genotoksisite sonuçlarının karşılaştırılması**

Nano boyutlu Z-1 kodlu ve plaka şekilli Z-plaka kodlu ZnO tozlarının *in-vitro* genotoksisite değerlendirmeleri, kuyruktaki % DNA yoğunluğu (% DNA in tail) parametreleri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Şekil 8.32’de tüm tozların TIG-114 hücreleri üzerinde oluşturduğu kuyruktaki % DNA yoğunluğu değerlerinin karşılaştırması gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre uygulanan 2 tozun da artan konsantrasyona bağımlı olarak genotoksik etkilerinin de arttığı gözlenmiştir. UV’siz komet testinde elde edilen sonuçlara

göre, uygulanan tüm dozlarda en az genotoksik etkiye sahip Z-plakanın UV'li komet testi sonuçlarında sadece 10 µg/ml'lik konsantrasyonda Z-1 tozuna göre düşük genotoksik etki gösterdiği saptanmıştır.



**Şekil 8.32.** Z-1 kodlu ZnOve plaka şekilli ZnO (*Z-plaka*) tozlarının TIG-114 hücreleri üzerinde UV varlığında oluşturduğu kuyruktaki % DNA yoğunluğu değerlerinin karşılaştırması

## 8.6. Sentezlenen Plaka Şekli ZnO Tozlarının Güneş Kremi Formülasyonuna Dönüştürülmesi

Yapılan *in-vitro* toksisite çalışmalarında plaka şekilli ZnO tozlarının sitotoksik olmadığı, sadece yüksek konsantrasyonlarda genotoksik olduğu görülmüştür. Güneş kremi gibi uygulamalarda kullanılan metal oksit partiküllerinin toksik olmaması güvenli olma açısından büyük önem taşımaktadır.

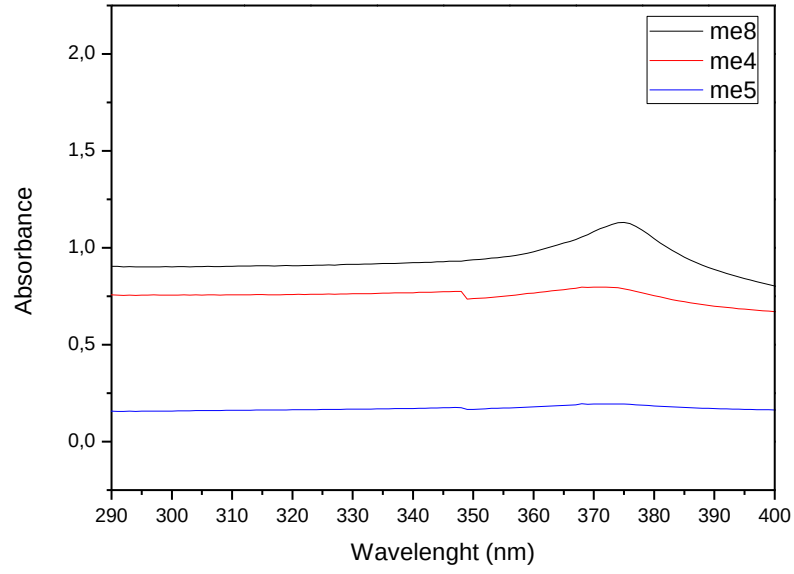
Bu çalışmada deneysel çalışmalarda verildiği gibi sentezlenen plaka şekilli ZnO tozları, farklı tane boyutlarına sahip (<100 nm ve mikron altı) ZnO tozlarıyla karşılaştırmalı olarak mikroemülsiyon formülasyonu yapılmıştır. Mikroemülsiyon formülasyon miktarları Tablo 8.14’te verilmiştir.

**Tablo 8.14.** Mikroemülsiyon formülasyon değerleri

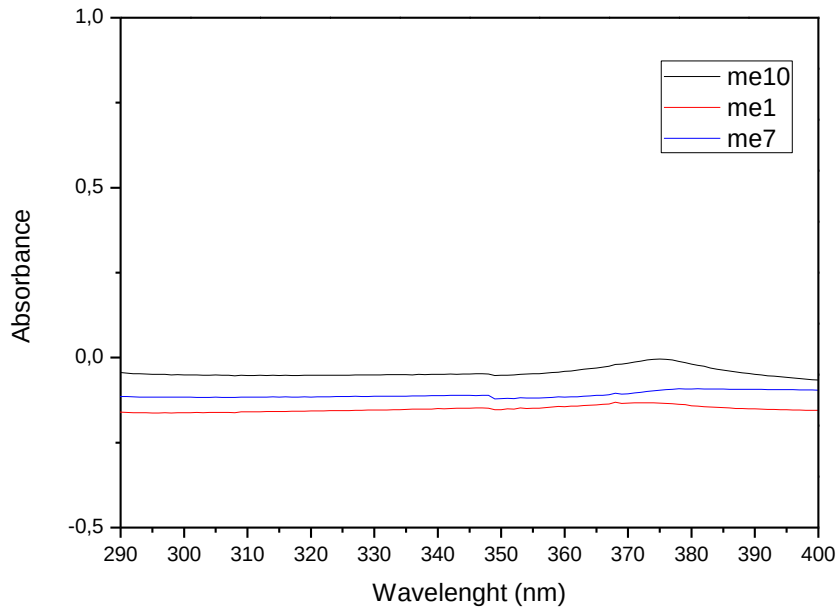
| Numune Kodu | İçerik        |                         |                                  |         | Katkı Maddesi               |
|-------------|---------------|-------------------------|----------------------------------|---------|-----------------------------|
| ME1         | 5 gr Yağ Fazı | 21 gr Yüzey Etken Madde | 21 gr Yardımcı Yüzey Etken Madde | 2 gr Su | 1 gr Plaka ZnO              |
| ME2         | 5 gr Yağ Fazı | 21 gr Yüzey Etken Madde | 21 gr Yardımcı Yüzey Etken Madde | 2 gr Su | 2 gr Plaka ZnO              |
| ME3         | 5 gr Yağ Fazı | 21 gr Yüzey Etken Madde | 21 gr Yardımcı Yüzey Etken Madde | 2 gr Su | 0.5 gr Plaka ZnO            |
| ME4         | 5 gr Yağ Fazı | 21 gr Yüzey Etken Madde | 21 gr Yardımcı Yüzey Etken Madde | 2 gr Su | 5 gr Plaka ZnO              |
| ME5         | 5 gr Yağ Fazı | 21 gr Yüzey Etken Madde | 21 gr Yardımcı Yüzey Etken Madde | 2 gr Su | 5 gr Mikron Altı Ticari ZnO |

|      |                  |                               |                                        |            |                                     |
|------|------------------|-------------------------------|----------------------------------------|------------|-------------------------------------|
| ME6  | 5 gr Yağ<br>Fazı | 21 gr Yüzey<br>Etken<br>Madde | 21 gr Yardımcı<br>Yüzey Etken<br>Madde | 2 gr<br>Su | 2 gr Mikron<br>Altı Ticari<br>ZnO   |
| ME7  | 5 gr Yağ<br>Fazı | 21 gr Yüzey<br>Etken<br>Madde | 21 gr Yardımcı<br>Yüzey Etken<br>Madde | 2 gr<br>Su | 1 gr Mikron<br>Altı Ticari<br>ZnO   |
| ME8  | 5 gr Yağ<br>Fazı | 21 gr Yüzey<br>Etken<br>Madde | 21 gr Yardımcı<br>Yüzey Etken<br>Madde | 2 gr<br>Su | 5 gr <100 nm<br>Ticari ZnO          |
| ME9  | 5 gr Yağ<br>Fazı | 21 gr Yüzey<br>Etken<br>Madde | 21 gr Yardımcı<br>Yüzey Etken<br>Madde | 2 gr<br>Su | 2 gr <100 nm<br>Ticari ZnO          |
| ME10 | 5 gr Yağ<br>Fazı | 21 gr Yüzey<br>Etken<br>Madde | 21 gr Yardımcı<br>Yüzey Etken<br>Madde | 2 gr<br>Su | 1 gr <100 nm<br>Ticari ZnO          |
| ME11 | 5 gr Yağ<br>Fazı | 21 gr Yüzey<br>Etken<br>Madde | 21 gr Yardımcı<br>Yüzey Etken<br>Madde | 2 gr<br>Su | 0.5 gr <100<br>nm Ticari ZnO        |
| ME12 | 5 gr Yağ<br>Fazı | 21 gr Yüzey<br>Etken<br>Madde | 21 gr Yardımcı<br>Yüzey Etken<br>Madde | 2 gr<br>Su | 0.5 gr Mikron<br>Altı Ticari<br>ZnO |

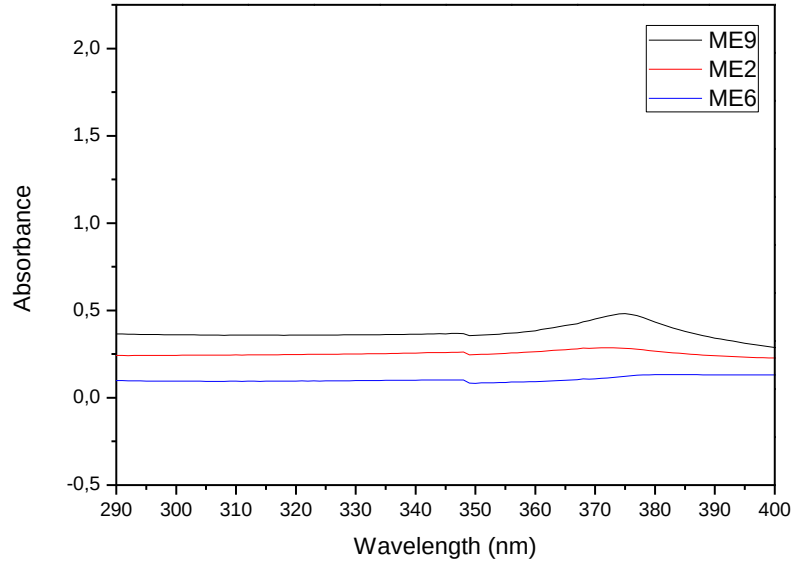
Mikroemülsiyon formülasyonları 0.5, 1, 2, 5 gram miktarlarında, çinko oksit katkı maddesi ile hazırlanmış ve UV görünür bölge dalga boyu aralığında aynı miktarlarda çinko oksit içeren mikroemülsiyonların absorbe etme özellikleri karşılaştırılmıştır. UV görünür bölge dalga boyları karşılaştırması Transpore™ yöntemi ile yapılmıştır.(Şekil 8.33-36) Bu yöntem güneş kreminin deriye uygulanmasını simüle eden bir yöntemdir.



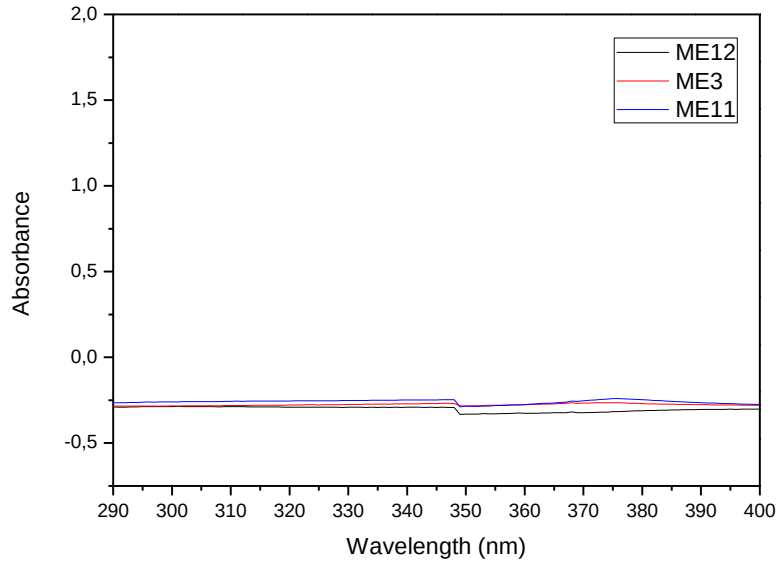
**Şekil 8.33.** Çinko Oksit miktarı 5 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV-Visible Spektrumu



**Şekil 8.34.** Çinko Oksit miktarı 1 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV-Visible Spektrumu



**Şekil 8.35.** Çinko Oksit miktarı 2 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV-Visible Spektrumu



**Şekil 8.36.** Çinko Oksit miktarı 0.5 gram olan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait UV-Visible Spektrumu

Farklı tane boyutuna sahip olan tozların karşılaştırmasında önemli bir faktör de yüzey alanlarıdır. Deneysel çalışmalarda anlatıldığı üzere BET yüzey alan ölçer cihazı ile ölçülen yüzey alanları Tablo 8.15'te sunulmuştur.



**Tablo 8.15.** Mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılan çinko oksit tozlarının yüzey alanları ve hesaplanan ortalama tane boyutları

|                                       | Spesifik Yüzey Alanı (m <sup>2</sup> /g) |
|---------------------------------------|------------------------------------------|
| <b>&lt;100 nm Ticari Çinko Oksit</b>  | 13.1                                     |
| <b>Mikron Altı Ticari Çinko Oksit</b> | 3.7                                      |
| <b>Plaka Şekilli Çinko Oksit</b>      | 25                                       |

Mikroemülsiyon formülasyonlarının UV-Visible absorbe özelliklerinin yorumlanması için miktar farklılıkları karşılaştırılması yanında farklı tane boyutuna sahip çinko oksit tozlarının yüzey alanları da hesaba katılmalıdır. Tablo 8.8’de gösterilen yüzey alanı değerleri incelendiğinde plaka şekilli çinko oksit tozlarının yüzey alanının <100 nm ve mikron altı çinko oksit tozlarına göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Nano boyutlu çinko oksit tozlarının absorbe özelliğinin plaka şekilli çinko oksit tozlarına göre daha yüksek olmasına rağmen yüzey alanı üzerinden yorumlanacak olunursa plaka şekilli çinko oksit formülasyonlarının yüksek miktarlarda üstünlük sağlayacağı düşünülmektedir. Bununla beraber Şekil 8.21’de görülen 5 gramlık formülasyonlarda mikron altı çinko oksit tozuna göre plaka şekilli çinko oksit tozunun absorbe özelliğinin yüksek olması bu tezi desteklemektedir. Güneş kremi formülasyonlarında çinko oksit tozlarının kullanımında son yıllarda dikkat çekilen özelliğin deriye penetre olmayan (<50 nm) ve toksik olmamasıdır

## 9. GENEL DEĞERLENDİRME

Bu çalışmada, solvothermal sentez yöntemiyle nano birincil tanelere sahip mikron boyutlu plaka şekilli çinko oksit partikülleri üretilmiştir. Sentez parametreleri olan sentez sıcaklığı ve süresi incelenmiş ve 260°C sıcaklıkta 1 saat olarak belirlenmiştir. Sentez sonucunda bir metal-organik kompleks olan çinko gliserolat kompleksinin üretimi mümkün olmuş, sonuçlar literatürdeki yapılarla karşılaştırılmıştır. Plaka şeklinde sahip olan çinko gliserolat kompleksi partikülleri, rulolu fırın ile kalsinasyonu sonucunda plaka yapısı bozulmadan yüksek krsitalliğe sahip çinko oksit partikülleri elde edilmiştir. Bu plaka şekilli çinko oksit partikülleri yaklaşık ~2-10 µm boyutlara sahip ve SEM fotoğraflarındaki transparan görünümü ve TEM analizleri sonucunda nano kalınlığa sahip olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada aynı zamanda plaka şekilli çinko oksit partiküllerinin üretim miktarının artırılması amacıyla scale-up çalışması yapılmış ve üretim miktarının yaklaşık 15 katına çıkarılması mümkün olmuştur.

Üretilen plaka şekilli çinko oksit tozlarının sahip olduğu fiziksel özelliklerin incelenmesi amacıyla tane boyut dağılımı ve sinterlenme davranışı incelenmiştir. Farklı dağıtıcı ortam ve dağıtıcı cihazlar kullanılarak gerçekleştirilen tane boyut dağılımı analizlerinde plaka şekilli çinko oksit partiküllerinin izopropil alkol içerisinde en iyi dağılımı gösterdiği görülmektedir. Bununla beraber yapılan toz sinterleme çalışmasında plaka morfolojisinin 500°C sıcaklıktan sonra bozulmaya başladığı, 900°C sıcaklıktan sonra ise tane sınırlarının artık görülmeye başladığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda pelet sinterleme çalışmalarında en yüksek yoğunluk değerinin 1200°C sıcaklıkta 2 saat süreyle yapılan çalışmada olduğu görülmektedir.

TÜBİTAK çalışma grubunun yaptığı *in-vitro* toksikoloji testleriyle Z-1 kodlu ZnO nano tozunun plaka şekilli ZnO tozuna göre sitotoksik etkisinin daha fazla olduğu gözlenmektedir. Z-plaka'nın 40 µg/ml'lik konsantrasyona

kadar hücre canlılığı üzerinde etkisi olmadığı, 50 µg/ml'lik konsantrasyonda ise hücre canlılığını %60 oranında düşürdüğü gözlenmiştir. Z-plaka'nın 50 µg/ml konsantrasyonunda hücre canlılığındaki bu ani düşüş Z-plakanın sahip olduğu farklı şekil etkisinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Şekil etkisine bağlı olarak hücre yüzeyi ile etkileşime giren ZnO plaka miktarında meydana gelen artış hücrenin ortamla olan metabolik etkileşimini engelliyor olabilir, bu da hücre sayısında ani bir düşüşe sebep olabildiği düşünülmektedir. Z-plaka'nın komet testinde uygulanan dozlarında sitotoksik etki göstermemesine karşın, genotoksik etkiye sahip olduğu fakat ticari ZnO tozuna göre genotoksik etkisinin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir.

Aynı zamanda kozmetik sektöründe kullanılan güneş kremi uygulamasından yola çıkılarak yapılan bu çalışmada üretilen plaka şekilli çinko oksit partiküllerinin mikroemülsiyon formülasyon çalışmaları ve bu formülasyonların UV-Görünür Spektrumları incelenmiştir. UV görünür bölge dalga boyları sonuçları piyasadaki nano boyutlu çinko oksit tozlarına göre karşılaştırılmış ve plaka şekilli çinko oksit tozlarının sahip olduğu yüksek yüzey alanı sayesinde yüksek miktarlarda içeren formülasyonlarda üstünlük sağlayacağı düşünülmüştür.

## KAYNAKÇA

- Balshaw, A. (2004), *National Nanotechnology Girişimi; Royal Society Report*, UK.
- Başaran, A.A. (2004), *Farmakognozide tek hücre jel elektroforezi uygulamaları*, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiri Kitabı, Eskişehir.
- Brayner, R. (2008), “The toxicological impact of nanoparticles,” *Nanotoday (Elsevier)* **3**, (1-2), 48-55.
- Das, J. ve Khushalani, D. (2010), “Nonhydrolytic route for synthesis of ZnO and its use as a recyclable photocatalyst,” *J. Phys. Chem. C*, **114**, 2544-2550.
- Das, J., Evans, I.R. ve Khushalani, D. (2009), “Zinc glycolate: A Precursor to ZnO,” *Inorganic Chemistry*, **48**, 3508-3510.
- Dunford, R., Salinaro, A., Cai, L., Serpone, N., Horikoshi, S., Hidaka, H., and Knowland, J. (1997), Chemical oxidation and DNA damage catalysed by inorganic sunscreen ingredients, *FEBS Letters*, **418**, 87-90.
- Fan, Z. ve Lu, J.G. (2005), “Zinc Oxide Nanostructures: Synthesis and Properties”, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **5**, 1561-1573.
- Faunce, T., Murray, K., Nasu, H., Bowman, D. (2008), “Sunscreen safety : The precautionary Principle,” *the Australian Goods Administration and Nanotechnology in Suncreens*.
- Innes B., Tsuzuki T., Dawkins, H., Dunlop, J., Trotter, G., Nearn, M., McCornick, P.G. (2002), “Nanotechnology and the Cosmetic Chemistry,”
- Grassian, V.H. (2008), “When size really matters: Size-dependent properties and surface chemistry of metal and metal oxide nanoparticles in gas and liquid phase environments,” *J. Phys. Chem. C*, **112**, 18303-18313.
- Gueymard, C.A., Myers, D., Emery, K. (2002), “Proposed reference irradiance spectra for solar energy systems testing,” *Solar Energy*, **73**, 443-467.

- Gupta, A.K., Gupta, M. (2005), "Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles," *Biomaterials*, **26**, 1565-1573.
- Gurr, J.R., Wang, A.S., Chen, C.H., Jan, K.Y. (2005), "Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells," *Toxicology*, **213**, 66–73.
- Kumaravel, T.S., Vilhar, B., Faux, S.P. ve Jha, A.N. (2009), "Comet assay measurements: a perspective," *Cell Biol. Toxicol.*, **25**, 53-64.
- Kumaravel, T.S. ve Jha, A.N. (2006), "Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals," *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **605**, 1-2, 7-16.
- Labouta, H. I., Schneider, M. (2012), "Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **5**, 153-164.
- Long, T.C., Saleh, N., Tilton, R.D., Lowry, G.V., Veronesi, B. (2006), "Titanium Dioxide (P25) Produces Reactive Oxygen Species in Immortalized Brain Microglia (BV2): Implications for Nanoparticle Neurotoxicity," *Environmental Science and Technology*, 40, **14**, 4346-4352.
- Long, T.C., Tajuba, J., Sama, P., Saleh, N., Swartz, C., Parker, J., Hester, S., Lowry, G.V., Veronesi, B. (2007), "Nanosize Titanium Dioxide Stimulates Reactive Oxygen Species in Brain Microglia and Damages Neurons in Vitro," *Environmental Health Perspectives*, 115, **11**, 1631-1637.
- Mckinlay, A.F., Diffley B.L. (1987), "A reference action spectrum for ultraviolet induced erythema in human skin," *CIEJ*, **6**, 17-22.

- Nohynek, G.J., Lademann, J., Ribaud, C., Roberts, M.S. (2007), "Grey Goo on the Skin Nanotechnology, Cosmetic, and Sunscreen Safety," *Critical Reviews in Toxicology*, **37**, **3**, 251-277.
- Osterwalder, U., Mongiat, S., Herzog, B. (2004). "In vitro and in vivo assessment of UVA protection of sunscreens with traditional actives ZnO and avobenzone and new UV absorbers MBBT and BEMT," *Journal of the American Academy of Dermatology*, **50**, 135.
- Özer, O. (2006), Şekil ve Boyut Kontrollü Çinko Oksit Tozunun Solvotermal Yöntemle Sentezlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Eskişehir*.
- Özgür U., Allivov, Y., Liu, C., Teke, A., Reshchikov, M. A., Doğan, S., Avrutin, V., Cho, S. J., Morkoç, H., (2005), "A comprehensive review of ZnO materials and devices," *Journal Of Applied Physcs*, **98**, 298-301.
- Popov, P., Priezzhev A.V., Lademann J., Myllyl R. (2011), "Alteration of skinlight-scattering and absorption properties by application of sunscreen nanoparticles: A Monte Carlo study", *Journal of Quantitative Spectroscopy&Radiative Transfer*, **112**, 1891–1897.
- Rao, C.N.R., Kulkarni, G.U., Thomas, P.J. ve Edwards, P.P. (2002), "Size-dependent chemistry: Properties of nanocrystals," *Chem. Eur. J.*, **8**,1, 28-35.
- Remias, R., Kukovecz, A., Daranyi, M., Kozma, G., Varga, S., Konya, Z. ve Kiricsi, I. (2009), "Synthesis of zinc glycerolate microstacks from a ZnO nanorod sacrificial template," *Eur. J. Inorg. Chem.*, **24**, 3622-3627.
- Steiner, T. (2004), *Nanostructures for Optoelectronic Applications*, Artech House Inc., London.
- Steele B.C.H. (1991), *Electronic Ceramics*, Elsevier Science Publishing Co., London.
- Stokes, R., Diffey, B.L. (1997), "How well are sunscreen users protected," *Photodemotal Photoimmunal Photomed.*

- Shukla, R.K., Sharma, V., Pandey, A.K., Singh, S., Sultana, S. ve Dhawan, A. (2011), "ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells," *Toxicology in Vitro*, **25**, 1, 231-241.
- Theogaraj, E., Riley, S., Hughes, L., Maier, M., Kirkland, D. (2007), "An investigation of the photo-clastogenic potential of ultrafine titanium dioxide particles," *Mutation Research*, **634**, 205-219.
- Tiano, L., Armeni, T., Venditti, E., Barucca, G., Mincarelli, L., Damiani, E. (2010), "Modifird TiO<sub>2</sub> particles differentially affect human skin fibroblast exposed to UVA light," *Free Radical Biology & Medicine*, **49**, 408-415.
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J-C. ve Sasaki, Y.F. (2000), "Single cell/gel comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing," *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **35**, 206-221.
- Shukla, R.K., Sharma, V., Pandey, A.K., Singh, S., Sultana, S. ve Dhawan, A. (2011), "ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells," *Toxicology in Vitro*, **25**, 1, 231-241.
- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., Xi, Z. (2009), "Comparative study of cytotoxicity oxidative stres and genotoxicity induced by four typical nanomaterials:therole of particle size, shape and composition," *Journal of Applied Toxicology*, **29**, 69-78.
- Yılmazoğlu, A.G. (2009), *Süreç parametrelerinin çok kristalli plaka şekilli ZnO tanelerinin oluşumuna etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, İleri Teknolojiler – Nanoteknoloji, Eskişehir.
- Vogt, A., Combadiere, B., Hadam, S., Stieler, K.M., Lademann, J., Schaefer, H., Autran, B., Sterry, W., Blume-Peytavi, U. (2006), "40 nm, but not 750 or 1,500 nm, Nanoparticles Enter Epidermal CD1a+ Cells after Transcutaneous Application on Human Skin," *Journal of Applied Toxicology*, **32**, 69-78.

- Wang, Z.L. (2004), "Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications", *J. Phys.: Condens. Matter.*, **16**, 829-858.
- Warheit, D. B. (2009), *Nanoparticles: Health impacts*, Materials Today, **7**, 32-35.
- Zhu, H.Y. (2002), "Novel Composites of TiO<sub>2</sub> (Anatase) and Silicate Nanoparticles," *Chem. Mater.*, **14**, 2, 5037-5044.