ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇİNKO OKSİTİN ANTİBAKTERİYEL ETKİSİ

Türkan AKYÜZ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2017

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Türkan AKYÜZ tarafından hazırlanan "Çinko Oksitin Antibakteriyel Etkisi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Muhammed Bora AKIN

Jüri Üyeleri :

Yrd. Doç. Dr. Muhammed Bora AKIN
Çankırı Karatekin Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Özlem DOĞAN AYDENİZ
Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Oğuz AYDEMİR
Çankırı Karatekin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım**.**

Doç. Dr. Tamer KEÇELİ

Enstitü Müdürü V.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇİNKO OKSİTİN ANTİBAKTERİYEL ETKİSİ

Türkan AKYÜZ

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Muhammed Bora AKIN

Bu yüksek lisans çalışmasının amacı, farklı boyut, morfoloji ve spesifik yüzey alanlarına sahip ZnO kristallerinin laboratuvarda üretilmesi ve bu kristallerin antibakteriyel etkisinin *S. aureus, L. monocytogenes* ve S. Enteriditis bakteri kolonileri üzerinde Taguchi metodu kullanılarak incelenmesidir. Farklı boyut, morfoloji ve spesifik yüzey alanlarına sahip ZnO kristallerinin söz konusu bakteriler üzerine etkili olduğu görülmüş ve karşılaştırmalı sonuçlar verilmiştir. Farklı özelliklere sahip ZnO kristallerinin etkilerinin değişik olduğu görülmüştür.

2017, 60 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: ZnO, antibakteriyel aktivite, *S. aureus, L. monocytogenes*, S. Enteriditis

ABSTRACT

MSc. Thesis

ANTIBACTERIAL EFFECT OF ZINC OXIDE

Türkan AKYÜZ

Cankiri Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Dr.. Muhammed Bora AKIN

The aim of this graduate study is to produce ZnO crystals with different size, morphology and specific surface areas in laboratory and to investigate the antibacterial effect of its on bacterial colonies of *S. aureus, L. monocytogenes* and S. Enteriditis by using Taguchi method. ZnO crystals with different size, morphology and specific surface areas were found to be effective on the bacteria in question and comparative results were given. The effects of ZnO crystals with different properties were found to altered.

2017, 53 pages

KEY WORDS: ZnO, antibacterial activity, *S. aureus, L. monocytogenes,* S. Enteriditis

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

"Çinko Oksitin Antibakteriyel Etkisi" adlı bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsüne "Yüksek Lisans Tezi" olarak sunulmuştur. Çok çeşitli alanlarda kullanılan çinko oksitin mikroorganizmaları inhibe edici etkiye de sahip olduğu yapılan birçok çalışma ile kanıtlanmışır, bu çalışmada ise farklı organizmalar üzerinde farklı özelliklere sahip çinko oksitin nasıl bir etki gösterdiği incelenmiştir. Bu araştırmanın amacı; *S. aureus, L. monocytogenes* ve S. Enteriditis bakterilerinin üzerine, laboratuvarda üretilen boyut, morfoloji ve spesifik yüzey alanları değişik ZnO kristallerinin antibakteriyel etkisinin incelenmesidir. İnceleme için Taguchi deneysel tasarım yöntemi kullanılmıştır.

Çalışma süresince desteğini ve ilgisini esirgemeyen, sınırsız sabır ve anlayış gösteren değerli danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Muhammed Bora AKIN'a çok teşekkür ederim. Deney aşamasında bilgi ve tecrübelerini paylaşan değerli hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Oğuz AYDEMİR ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Deniz BAŞ'a, çalışmam süresince bana her konuda destek olan Arş. Gör. Vedat Arda KÜÇÜK'e ve Gıda Müh. Ahmet GÜLMEN'e, laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımını esirgemeyen Uzman Haluk KORUCU'ya teşekkürlerimi sunarım. Lisansüstü eğitime başladığım günden beri her konuda anlayış gösteren sevgili eşime ve aileme de ayrıca teşekkür ederim.

Çalışmaya "MF060515L22" numaralı "Çinko Oksitin Antibakteriyel Etkisi" isimli projeye maddi destek veren Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Türkan AKYÜZ
Çankırı, Mayıs 2017

İÇİNDEKİLER

SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
1.1.Çinko Oksit 4
1.1.1.ZnO Kullanım Alanları **6**
1.1.2.ZnO Üretim Yöntemleri **8**
1.1.2.1.Geleneksel yöntemler **8**
1.1.2.2.Küçük ölçekli prosesler **10**
1.1.2.2.1. Hidrotermal sentez yöntemi **10**
1.1.2.2.2. Sol-Jel yöntemi **11**
1.1.2.2.3. Islak kimyasal sentez yöntemi **12**
1.1.2.2.4. Elektrokimyasal çöktürme yöntemi **12**
1.1.2.2.5. Kimyasal buhar biriktirme yöntemi **13**
1.1.2.2.6. Solvotermal sentez yöntemi **13**
1.1.2.2.7. Kimyasal çöktürme yöntemi **13**
1.2. Antibakteriyel Aktivite 16
1.2.1. Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemleri **16**
1.2.1.1.Disk difüzyon testi **16**
1.2.1.2.Dilüsyon yöntemi **17**
1.2.2.Mikroorganizmalar **18**
1.3.Taguchi Deney Tasarımı 20
2. KURAMSAL TEMELLER **25**
2.1. ZnO'in Antibakteriyel Etkisi 25
2.2. ZnO Partikül Özelliklerinin Antibakteriyel Aktiviteye Etkisi 27
2.3. Antibakteriyel Uygulamalar 28
3. MATERYAL VE METOT **31**
3.1. Materyal 32
3.2. Metod 33
3.2.1. ZnO'in Üretilmesi **34**
3.2.1.1. ZnO kristalizasyon çalışmaları **34**
3.2.2. Antibakteriyel Aktivite Tayini **39**
4. BULGULAR **43**
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **46**
KAYNAKLAR **48**
ÖZGEÇMİŞ **51**

SİMGELER DİZİNİ

ATCC	: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
ANOVA	: Varyans Analizi (ANalysis Of VAriance)
BET	: Brunauer-Emmet-Teller
CFU	: Koloni oluşturan birim
CMI-15	: Karboksimetil inülin (Karboksilasyon derecesi 1,5)
ÇN	: Çinko nitrat hekzahidrat
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
FESEM	: Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu
GRAS	: Genel olarak güvenilir kabul edilen (Generally recognized as safe)
HDPE	: Yüksek yoğunluklu polietilen
HepG2	: Karaciğer kanseri hücresi
HMT	: Hekzametilen tetramin
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
MCF-7	: Göğüs kanseri hücresi
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
PEG	: Polietilenglikol
PP	: Polipropilen
PS	: Polistiren
PVC	: Polivinil klorür
PVP	: Poli-N-vinil-2-pirolidon
QD	: Kuantum noktası
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
TG	: Tiyogliserol
UV	: Ultra-viyole
XRD	: X-Ray Kırınımı
VPA-4VIm	: Vinilfosfonik asit – 4 vinilimidazol kopolimeri
ZnO	: Çinko oksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. ZnO partiküllerinin antimikrobiyal aktivite mekanizması (Espitia et al. 2012)3
Şekil 1.2. Gram-negatif bakterilerin nano boyuttaki ZnO partikülü ile etkileşimi (Dutta et al. 2012) 4
Şekil 1.3. Çinko oksitin sahip olabileceği üç farklı kristal yapı (Özgür et al. 2005) 5
Şekil 1.4. Çinko oksitin hekzagonal wurtzite kristal yapısı (Depaz 2007) 6
Şekil 1.5. ZnO'in vulkanizasyon işlemindeki görevi (Babapour 2013), ... 6
Şekil 1.6. ZnO'in toz haldeki görünümü 7
Şekil 1.7. Varistörlerde ZnO kullanımı (URL-2). 8
Şekil 1.8. Fransız prosesinin gerçekleştiği dikey fırınlar (URL-4) 9
Şekil 1.9. Amerikan prosesinin gerçekleştiği döner fırınlar 10
Şekil 1.10. Sol-jel yöntemi ile ürün eldesi (URL-5) 12
Şekil 1.11. Kimyasal buhar biriktirme sistemi (Akbaş 2015) 13
Şekil 1.12. Kristalizasyon basamakları (Dölen 2002). 14
Şekil 1.13. Kristallerin oluşumu 14
Şekil 1.14. Çekirdeklenme türlerini gösteren şema 15
Şekil 1.15. Disk difüzyon testi uygulanmış bir agar (URL-3) 17
Şekil 1.16. Tüp dilüsyon yönteminin uygulaması 18
Şekil 1.17. Agar dilüsyon yönteminin uygulaması 18
Şekil 1.18. *S. aures'*un Baird-Parker Agar üzerindeki görüntüsü (URL-3) 18
Şekil 1.19. Fraser Broth ve PALCAM Agar üzerinde *L. monocytogenes* üremesi (URL-3) 19
Şekil 1.20. Brilliant Green Agar üzerinde Salmonella Enteriditis görüntüsü (URL-3) 19
Şekil 3.1. ZnO kristalizasyonu akım şeması 35
Şekil 3.2. ZnO reaksiyonu 35
Şekil 3.3. Kristalizasyon deney sistemi 36
Şekil 3.4. ZnO partiküllerinin boyut analizinde kullanılan değerlendirme parametreleri 36
Şekil 3.5. 50 ppm 8/1 VPA-4VIm varlığında üretilen ZnO kristallerine ait SEM görüntüsü (Sinterlenmeden önce) 38
Şekil 3.6.Katkı kullanılmadan üretilen ZnO kristallerine ait SEM görüntüsü 38
Şekil 3.7. 10 ppm CMI-15 varlığında üretilen ZnO kristallerine ait SEM görüntüsü 39
Şekil 3.8. Antibakteriyel aktivite tayininde izlenen adımlar 41
Şekil 4.1. Taguchi deney tasarımına göre ortaya çıkan ana-etki grafikleri: 1, 2 ve 3 numaralı faktörlere ait seviyeler 45
Şekil 4.2. Taguchi deney tasarımına göre ortaya çıkan sinyal/gürültü oranı grafikleri: 1, 2 ve 3 numaralı faktörlere ait seviyeler 45
Şekil 5.1. Kullanılan ZnO kristal şekilleri 46

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Çinko oksitin özellikleri (Akın 2011) 5
Tablo 3.1. Mikroorganizmalar ve geliştirildikleri besiyerleri 32
Tablo 3.2. Deney faktörleri ve seviyeleri 33
Tablo 3.3. Taguchi L9 Deney Tasarımı 34
Tablo 3.4. Deneylerde kullanılmak üzere üretilen ZnO partiküllerine ait özellikler 39
Tablo 4.1. Taguchi L9 Deney Tasarımına göre deney sonuçları 43
Tablo 4.2. Taguchi L9 Deney Tasarımına göre hesaplanan sinyal/gürültü oranı yanıt tablosu 44
Tablo 4.3. Taguchi L9 Deney Tasarımına göre hesaplanan ortalama değerler yanıt tablosu 44
Tablo 4.4. Varyans Analizi Tablosu 44

1. GİRİŞ

Mikroorganizmaların büyük bir kısmı (bakteriler, virüsler, küfler, parazitler vb.) bulaşıcı salgın hastalıklara yol açmaktadır. *Enterococcus, Staphylococcus*, ve *Streptococcus* gibi bakterilerin dünya çapında çok ciddi salgınlara yol açtığı düşünülmektedir (Hirota et al. 2010). Teknolojik, ekonomik, kültürel gelişmelerin etkisiyle mikroorganizmalar da genetik değişimlere uğramaktadır. Mikroorganizmaların kullanılmakta olan antibiyotiklere karşı direncinin arttığı da bilinmektedir. Bu nedenle mikroorganizmalarla mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi gerekliliği doğmaktadır. Metal oksitlerin kullanımı da bu yöntemlerden biri olmakla beraber aynı zamanda metal oksitlerin değişik uygulamalara sahip olmaları da bir avantaj oluşturmaktadır (Frederickson, Koh, and Bush 2005). Bir maddenin bakterileri öldürücü ya da gelişimlerini durdurucu etkisi "antibakteriyel etki" olarak ifade edilmektedir.

Antibakteriyel özellik gösteren birçok inorganik materyal bulunmaktadır. Gümüş (Ag), titanyum (Ti), çinko (Zn), magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca) bunların başında gelmektedir. Bu maddelerin antibakteriyel özelliklerinin yanı sıra toksik olmamaları, aksine insan sağlığı için olumlu etkiler göstermeleri çok çeşitli alanlarda kullanılmalarını sağlamaktadır. Zn metali insanlar ve diğer canlılar için önemli ve yaşamsal elementlerden biridir; gelişme, deri bütünlüğünün sağlanması, yumurta olgunlaşması, bağışıklık sistemi, yara iyileşmesi ve karbonhidrat, yağ, protein, nükleik asit sentezi gibi çeşitli metabolik prosesler için gereklidir. Zn yetersizliği, gelişim bozuklukları, cinsiyet ve iskeletin gelişememesi, açık yerlerde deri iltihabı, ishal, kellik, iştah azalması ve davranışlarda değişikliklere yol açmaktadır (WHO 1996).

Metal oksit partiküllerinin, organik antibakteriyel ajanlara göre en önemli üstünlükleri işleme sırasında, yüksek sıcaklık ve basınçta daha dayanıklı olmaları, düşük konsantrasyonlarda bile etkili olmaları ve uzun raf ömrüne sahip olmalarıdır (Raghupathi, Koodali, and Manna 2011) (Polat and Fenercioğlu 2014). Bunlar arasında çinko oksit (ZnO), son yıllarda sıkça kullanılan bir antibakteriyel malzemedir (Rosi and Mirkin 2005) (Sun et al. 2014). ZnO, Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından GRAS (Güvenli olarak kabul edilen) olarak tabir edilen güvenilir katkı maddeleri

listesinde bulunan beş çinko bileşiğinden biri olmasından dolayı ZnO tercih edilen maddeler arasında yer almaktadır (Premanathan et al. 2011).

ZnO'in antibakteriyel etki mekanizması ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda üç temel teori ortaya çıkmıştır:

1.Reaktif Oksijen Türleri (ROS) Üretimi: ZnO'in sulu süspansiyonları, çoğunlukla hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve serbest O_2 gibi reaktif oksijen türlerinin miktarını artırırlar. ZnO'in antibakteriyel etkisinin H_2O_2'in mikroorganizmalar üzerinde yarattığı stresten kaynaklandığı düşünülmektedir (Ohira et al. 2008). ROS üretimin bakteri hücreleri üzerindeki etkisi ölüme bile yol açabilmektedir (Sirelkhatim et al. 2015). ZnO partiküllerinden ROS oluşumu aşağıda gösterilmiştir:

$$ZnO + h\nu \rightarrow e^- + h^+$$

$$h^+ + H_2O \rightarrow {}^{\bullet}OH + H^+$$

$$e^- + O_2 \rightarrow {}^{\bullet}O_2^-$$

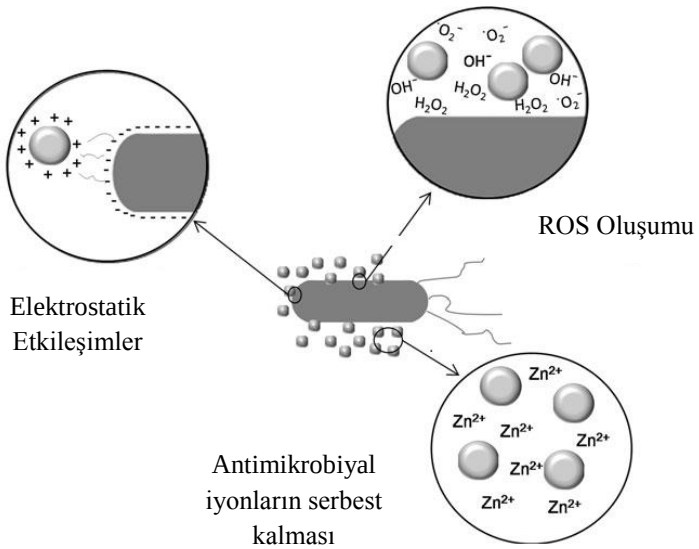
$${}^{\bullet}O_2 + H^+ \rightarrow HO_2^{\bullet}$$

$$HO_2^{\bullet} + H^+ + e^- \rightarrow H_2O_2$$

ZnO, UV ve görünür ışığa maruz kaldığında elektron boşlukları (e^-, h^+) oluşur. Bu boşluk ZnO süspansiyonunda yer alan H_2O molekülünü OH^- ve H^+ şeklinde parçalar. Çözünmüş oksijen molekülleri süperoksit radikal anyonlarına ($^{\bullet}O_2^-$) dönüşür. Bu anyon H^+ ile reaksiyona girerek $HO_2^{\bullet}$ radikalini oluşturur, daha sonra elektronlarla çarpışarak HO_2^- anyonu üretirler. Sonrasında hidrojen iyonlarıyla reaksiyona girerek H_2O_2 molekülünü oluşturur (Padmavathy and Vijayaraghavan 2008).

2. Elektrostatik Etkileşimler: ZnO partikülleri, bakteri hücre membranına elektrostatik kuvvetlerin etkisiyle bağlanırlar. Bu arada oluşan reaktif oksijen türleri oksidatif stresi artırarak hücresel yapılara büyük hasar vererek hücre ölümüne yol açmaktadır (Kaya, 2016).

3. Zn^{+2} İyonlarının Serbest Kalması: Zn^{+2} iyonları, aminoasit ve enzim yapısında ciddi hasara yola açarak, hücre duvarında mekanik hasara yol açarak bakteri hücrelerini yok etmede önemli etkiye sahiptir (Song et al. 2010; Sirelkhatim et al. 2015).



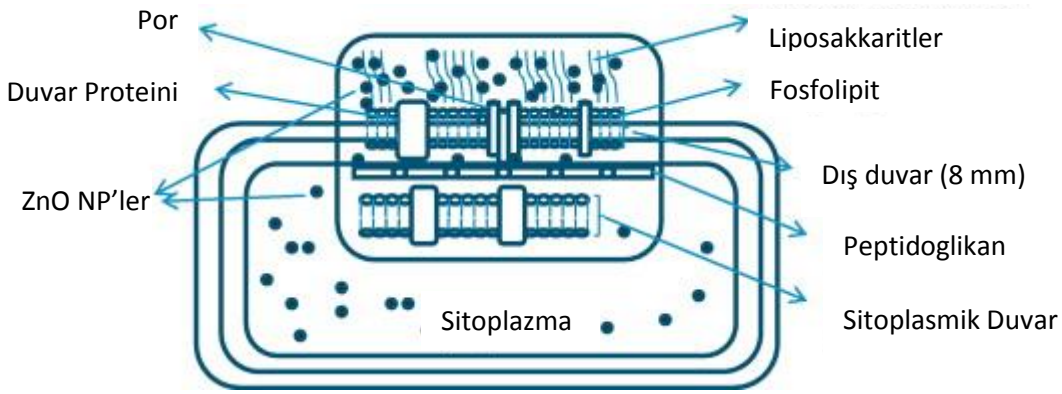
Şekil 1.1. ZnO partiküllerinin antimikrobiyal aktivite mekanizması (Espitia et al. 2012)

Bakteriler hücre duvarlarının kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre Gram-negatif ve Gram-pozitif olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Gram-pozitif bakteriler, gram boyama prosedüründen geçtikten sonra, mikroskop altında mavi-siyah, mor renk alan bakterilerdir. Bu rengin sebebi gram-pozitif bakterilerin hücre duvarlarının gram boyama işleminde kullanılan kristal viyole/iyot karışımını tutmasıdır. Gram-negatif bakteriler ise gram boyama prosedürü sırasında kristal viyole boyasını tutmayan, işlem sonunda kırmızı-pembe renk alan bakterilerdir.

Gram-negatif bakterilerin reaktif oksijen türlerine hassasiyeti Gram-pozitif bakterilere kıyasla daha azdır. Her iki hücre duvarının farklı polaritelere sahip olması bu durumun sebeplerinden biridir; Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı kıyasla daha az negatif yüke sahiptir. Böylece serbest radikaller, süperoksit ve peroksit iyonları hücreye daha iyi nüfuz eder, hücreyi kolaylıkla hasara uğratır ve hücre ölümüne neden olur (Espitia et al. 2012). Bu durumun diğer bir sebebi de her iki hücre yapısındaki yapısal farklılıklardır (Şekil 1.2). Gram-negatif bakterilerde üç tabakalı bir hücre duvarı yapısı içermektedir:

- En dışta membran proteini, gözenekler (porlar), fosfolipidler ve lipopolisakkaritler
- Orta tabakada peptidoglikan
- En alt tabakada ise sitoplazmik membran (%40 fosfolipid, %60 protein) yer almaktadır.

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının ZnO partikülleri ile elektrostatik olarak etkileşmesinin sebebi en dış tabakada yer alan lipopolisakkaritlerdir. Elektrostatik etkileşim sonucunda hücre duvarı bozunmaya başlar, iyon yayılımı gerçekleşir ve hücre çözülmesiyle sonuçlanır (Dutta et al. 2012).



Şekil 1.2. Gram-negatif bakterilerin nano boyuttaki ZnO partikülü ile etkileşimi (Dutta et al. 2012)

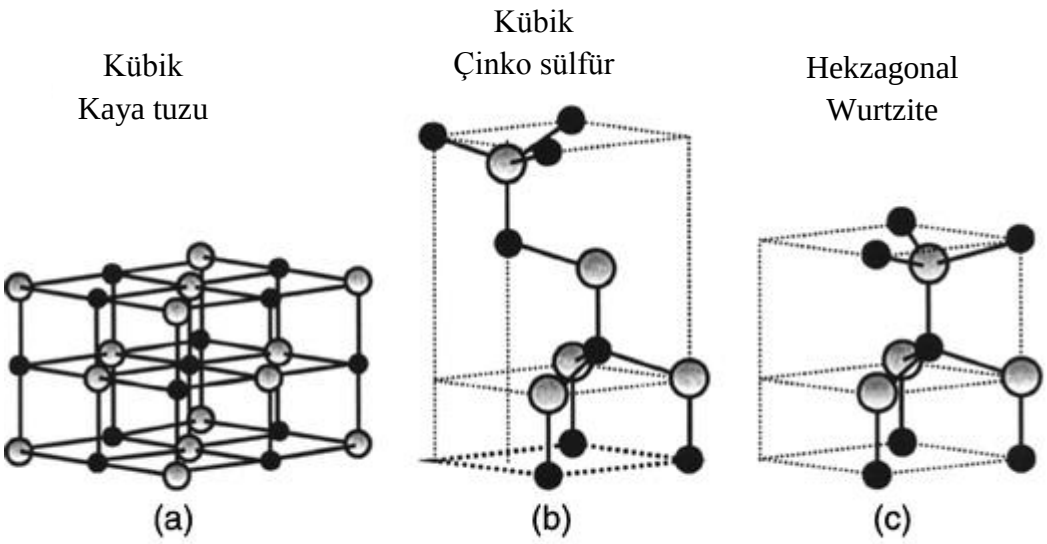
1.1. Çinko Oksit

Çinko oksit (ZnO); asit ve alkalide çözünen, ancak su ve alkolde çözünmeyen, beyaz pudra görünümlü inorganik bir bileşiktir. Yapısında çinko (Zn) ve oksijen (O) atomları bulunduran hekzagonal wurtzite kristal yapıda (Şekil 1.4) bir metal oksittir ve kimyasal formülü ZnO şeklindedir. Geleneksel yöntemle çinko buharının yanması ile elde edilen bir inorganik bileşiktir (Akın 2011). Bu inorganik bileşik yüksek kırılma indisi, yüksek ısı iletkenliği, yüksek erime noktası, düşük genleşme katsayısına sahip olması, antibakteriyel etki göstermesi gibi kendine has özellikleri sebebiyle endüstride birçok alanda kullanılmaktadır. Tablo 1.1'de ZnO'e ait fiziksel ve kimyasal özellikler görülmektedir.

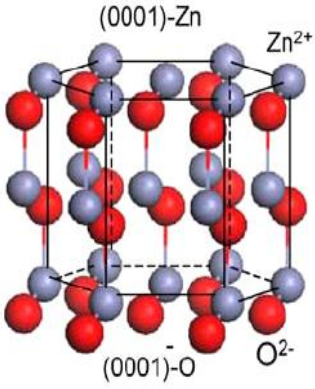
Tablo 1.1. Çinko oksitin özellikleri (Akın 2011)

Molekül Formülü	ZnO
Görünüşü	Beyaz Toz
Molekül Ağırlığı	81,4084 g/mol
Yoğunluğu	5,606 g/cm^3, katı
Erime Noktası	1975 $^{\circ}$C
Sudaki Çözünürlüğü	Çözünmez
Termal İletkenlik	0,13 W/cm×K

Güneş pili ve gaz sensörleri gibi ileri teknoloji ürünlerinde kullanıldığı gibi dolgu malzemesi olarak tekstil sanayi, direnç kazandırma özelliği nedeniyle seramik ve cam sanayi, aktivatör olarak lastik sanayi, antiseptik ve kurutucu özelliği sayesinde ilaç sanayi gibi geleneksel alanlarda da kullanılmaktadır. Gıda sektöründe de gıda kaynaklı patojenlere karşı koruyucu amaçlı ve gıda ambalaj sanayiinde mikrobiyel bulaşmayı önleyici amaçla kullanılmaktadır (Belaidi et al. 2009; Zong et al. 2010; Frederickson, Koh, and Bush 2005). Nano boyuttaki ZnO partiküllerinin sahip olduğu daha fazla yüzey alanı ile daha iyi antibakteriyel etki gösterdiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.



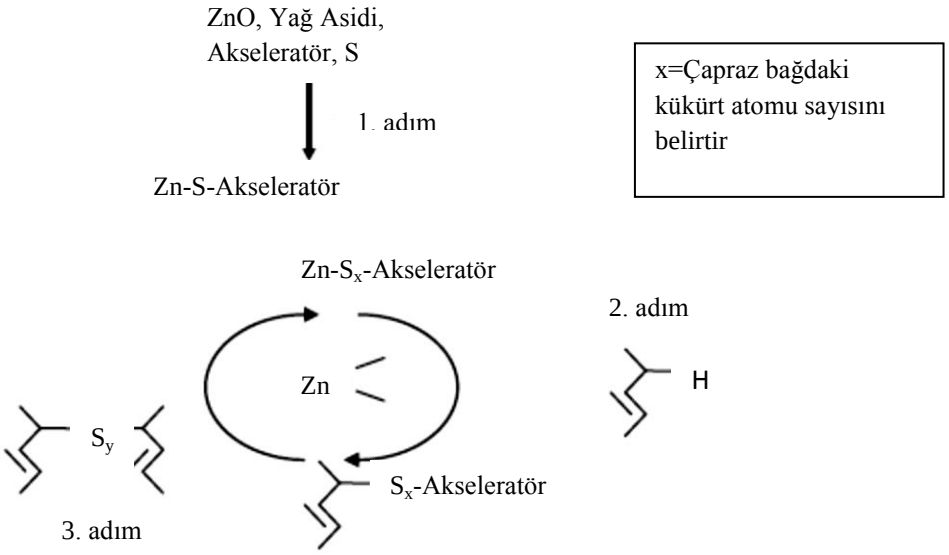
Şekil 1.3. Çinko oksitin sahip olabileceği üç farklı kristal yapı (Özgür et al. 2005)



Şekil 1.4. Çinko oksitin hekzagonal wurtzite kristal yapısı (Depaz 2007)

1.1.1. ZnO kullanım alanları

ZnO kullanımında ilk sırayı lastik sanayi almaktadır. ZnO lastiklerin kükürtle (S) sertleştirilmesi işleminde (vulkanizasyon) aktivatör olarak kullanılır. ZnO katılması ayrıca lastikteki ısı birikimini azaltmakta, lastiğin dayanım süresini uzatmakta ve metalik aksam ve lastik arasındaki bağlanmayı kolaylaştırıcı bir etki sağlamaktadır. Amerikan prosesi ile elde edilen ZnO'in lastik sanayinde kullanımı tercih edilmektedir (Heideman 2004).



Şekil 1.5. ZnO'in vulkanizasyon işlemindeki görevi (Babapour 2013),

Seramik ve beton sanayinde de kullanımı yaygındır. Yüksek ısı kapasitesi, termal iletkenlik ve yüksek erime sıcaklığı gibi özelliklere sahip olması ZnO'in bu alanlarda tercih nedenidir. ZnO'in sır, emaye ve seramik üretiminde kullanılması, bu

malzemelerin erime sıcaklığı ve optik özellikleri açısından olumlu etki göstermektedir (Porter 1991). Beton üretiminde kullanıldığında, betonun suya karşı direncini arttırmaktadır (Klingshirn 2007).

ZnO polimerlere eklendiğinde ısıya dayanaklılık, mekanik dayanıklılık, ateşe ve suya karşı dayanıklılık kazandırma gibi etkiler sağlar. ZnO katkılı polipropilen (PP) ve yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) mığferlerde, stadyum koltuklarında, yalıtım malzemelerinde, fiber optik kablolarda kullanılmaktadır (Hong et al. 2007).

Fransız Prosesi ile üretilmiş olan ZnO beyaz renk verme özelliğinden dolayı renklendirici olarak da kullanılmaktadır (Moezzi, McDonagh, and Cortie 2012). Çinko beyazı olarak da adlandırılan ZnO, kıvam verici özellikte olması, UV ışınlarına karşı dayanıklı olması sebebiyle boyanın solmasını önlemesi, küflenmeyi önlemesi bu bileşiği boya sektöründe cazip hale getirmektedir.

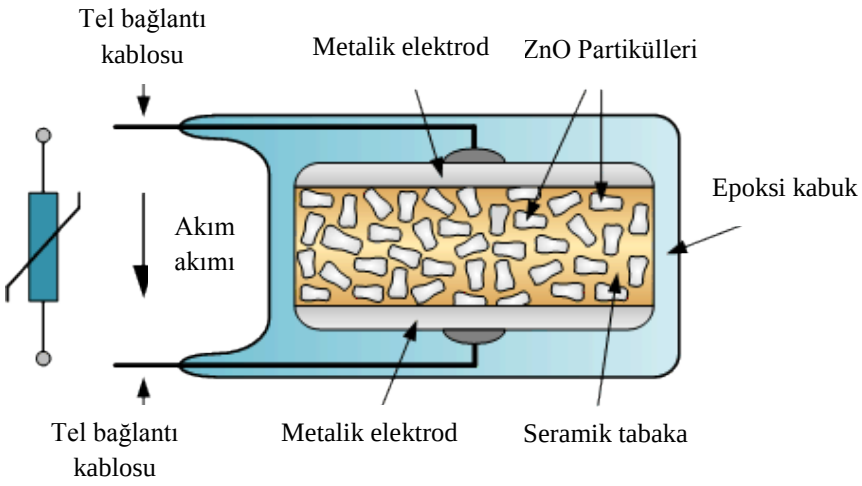


Şekil 1.6. ZnO'in toz haldeki görünümü

ZnO'in diğer bir kullanımı pencerelerde enerji koruma amacıyla uygulanmasıdır. ZnO, Al, Ga gibi elementlerle birlikte uygulandığında elektriksel iletkenliği düşmekte, böylece UV ışınları yansıtma özelliği kazanmaktadır (Moezzi, McDonagh, and Cortie 2012).

Nemlendiriciler, makyaj malzemeleri, kremler, losyonlar, pudralar gibi kozmetik ürünleri ZnO kullanılarak üretilirler. Bu konuda ZnO'in kozmetik ürünlerin deriye tutunmasını sağlayıcı etkisinden faydalanılmaktadır (Moezzi, McDonagh, and Cortie 2012). Yarayı iyileştirme özelliğinden ve antimikrobiyel etkisinden dolayı ZnO medikal kremlerde de kullanılmaktadır. Diş tedavilerinde de antibakteriyel etkisinden faydalanmak amacıyla ZnO ve türevleri kullanılmaktadır (Aydin Sevinç, Berdan Hanley, and Luke 2010).

Devreyi geçici aşırı gerilimlere karşı korumak (yani gerilim dalgalanmalarını söndürmek), böylece devrenin aşırı voltaj değişimlerinden dolayı zarar görmesini engellemek için kullanılan varistörlerin ana maddesini de ZnO oluşturmaktadır (Imai and Sato 1993).



Şekil 1.7. Varistörlerde ZnO kullanımı (URL-2).

Zn^{+2} minerali tüm organizmalar için temel besin kaynağı olmasından gübre ve hayvan yemi üretiminde ZnO kullanımı oldukça yaygın bir uygulamadır (Moezzi, McDonagh, and Cortie 2012).

1.1.2. ZnO üretim yöntemleri

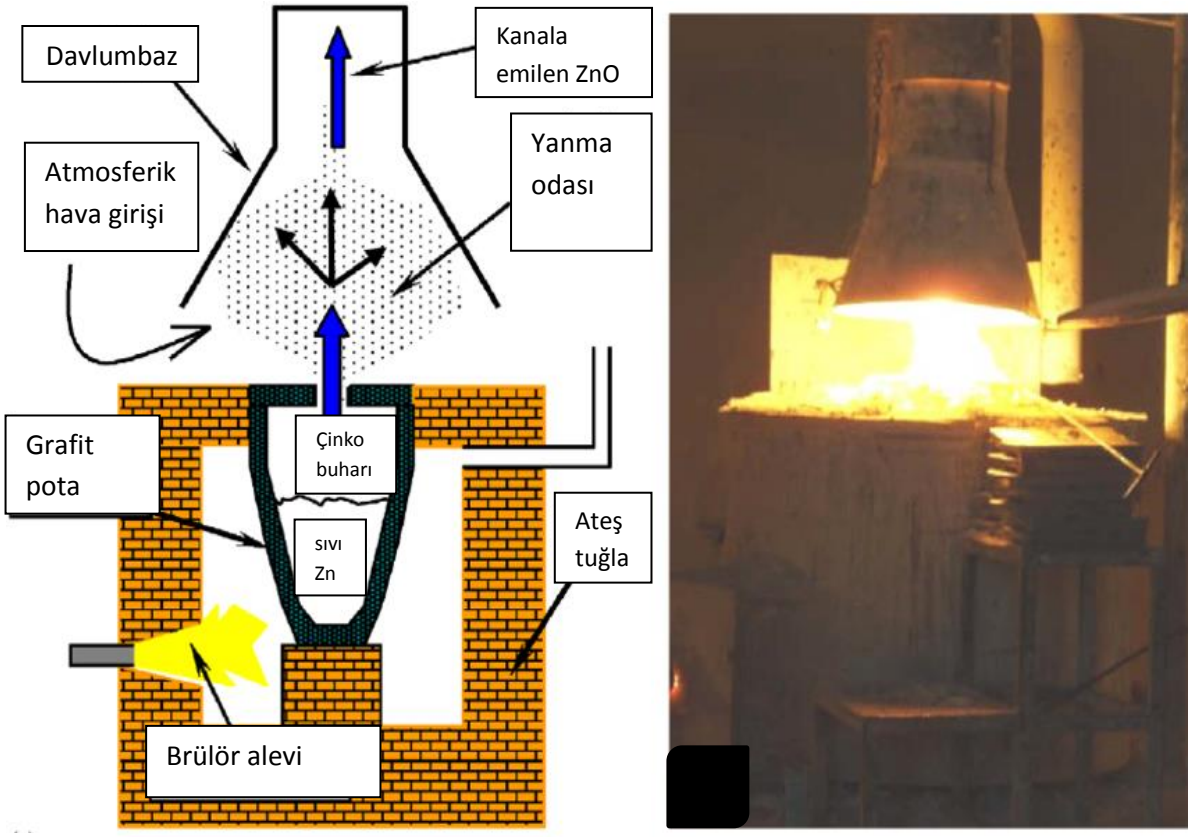
ZnO elde etmek için uygulanılan birçok yöntem bulunmaktadır. Bunların en öne çıkanları hidrotermal sentez (Yu & Yu 2008), kimyasal buhar biriktirme (Sönmezoğlu, Mehmed, & Seçkin, 2016), sol-jel (Ivanova, Harizanova, Koutzarova, & Vertruyen, 2010), termal ayrışma (Özbay and Gülce 2014), elektrokimyasal çöktürme (Avşar), kimyasal çöktürme yöntemleri olarak sayılabilir (Akın 2011). Bu yöntemler arasında kimyasal çöktürme yöntemi düşük maliyetli ve kolay uygulanabilir bir yöntem olması ve bunun yanı sıra üretim sıcaklığının diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha düşük olması nedeniyle tercih edilmektedir.

1.1.2.1. Geleneksel yöntemler

Dünyada çeşitli alanlarda tonlarca ZnO kullanımı gerçekleşmektedir. Bu yüksek miktarların karşılanması temelde iki tip prosesle gerçekleşmektedir:

Fransız Prosesi: 1840 yılında Fransa'da Le Clair çinko metalini havayla yakarak ZnO üretti. Bu yöntem günümüzde Fransız Prosesi (İndirekt Proses) olarak bilinmektedir. Proses dikey fırınlarda gerçekleşir. Çinko metali eritilir, buharlaştırılır ve çinko buharı hava ile oksitlenerek ZnO elde edilir. ZnO kristallerinin şekil ve boyutu, oksidasyon koşullarıyla kontrol edilebilir. Yanma olayından sonra ZnO, ZnO/hava karışımından ZnO partiküllerinin boyutlarına göre sınıflandığı bölmelerde çöktürülür. Fransız prosesi ile yüksek saflıkta, parlak ve beyaz ZnO partikülleri elde edilir (URL-1).

Elektrikli buharlaştırıcı, yatay fırınlar ve içten yanmalı döner fırınlar kullanarak da bu yöntemle ZnO üretmek mümkündür (Akın 2011).



Şekil 1.8. Fransız prosesinin gerçekleştiği dikey fırınlar (URL-4)

Amerikan Prosesi: 1851 yılında Amerika'da ZnO üretimi amacıyla Ameran Prosesi (Direkt Proses) adı verilen proses geliştirilmiştir. Zn cevherinin direkt olarak oksitlendirilmesi yoluyla çinko oksit üretilir. Zn cevheri kömürle karıştırılır ve döner fırınlarda oksitlendirilmesi sağlanır (URL-1).



Şekil 1.9. Amerikan prosesinin gerçekleştiği döner fırınlar

Geleneksel yöntemler kullanılarak ZnO elde etmek oldukça karmaşık ve pahalı yöntemlerdir. Ayrıca yanma işlemleri 1000 °C'nin üzerinde gerçekleştiğinden pratikte kullanımı oldukça zordur. Bu nedenle daha çok ticari olarak kullanılacak çinko oksit üretmek amacı ile tercih edilmektedirler.

1.1.2.2. Küçük ölçekli prosesler

Küçük ölçekli prosesler, üretim sırasında istenilen üstün özelliği elde etmek amacı doğrultusunda geleneksel üretimle kıyaslandığında oldukça düşük miktarlara sahip üretimlerdir.

1.1.2.2.1. Hidrotermal sentez yöntemi

Hidrotermal sentez, maddeleri çözmek ve kristallendirmek için yüksek sıcaklık (500 °C) altında sulu çözeltilerinin kullanılması işlemidir (Yu and Yu 2008). Hidrotermal işlemde belirli sıcaklıkta atmosferik basınç altında kararlı olmayan fazlar, yüksek basınç sonucu düşen serbest oluşum enerjisi ile kararlı hale getirilirler.

Hidrotermal yöntem ile metal oksit sentezinde yaygın olarak kabul edilen iki farklı mekanizma bulunmaktadır. Bu mekanizmalar direkt dönüşüm ve çözünme-çökelme olarak adlandırılmaktadır. Direkt dönüşüm mekanizması çözelti içerisinde dağıtılan başlangıç bileşenlerinin doğrudan polimorfik veya kimyasal faz dönüşümüne uğramasını içermektedir. Çözünme-çökelme mekanizması ise başlangıç bileşenlerinin öncelikle hazırlanan çözelti içerisinde çözünmesini, sonrasında aşırı doygunluğa ulaşmasını takiben çökelmesini kapsamaktadır.

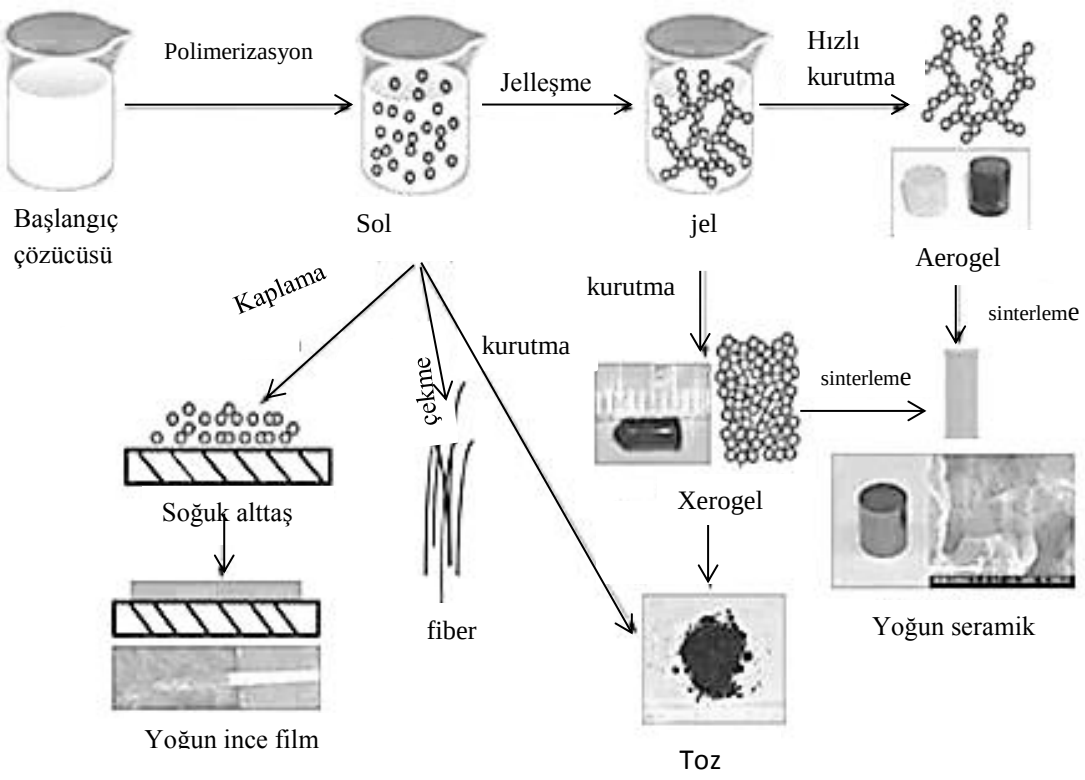
Hidrotermal sentez yöntemi ile parametreler değiştirilerek şekil ve boyut kontrolü mümkündür. Daha yavaş artış gösteren sistem içi doygunluk oranı ile oluşan kristallerin

büyüme davranışı ve şekli daha hassas bir biçimde incelenebilmektedir. Bu yöntemin diğer bir avantajı ise tek basamakta ZnO elde edebilmektir (Özer 2006).

1.1.2.2.2. Sol-Jel yöntemi

Sol–jel yöntemi; metal alkoksit, su ve alkol içeren çözeltiler ile çalışan kimyasal bir yöntemdir. Yöntem, adını "solüsyon" ve "jelleşme" kelimelerinin kısaltılmasından almıştır. Hidroliz, kondenzasyon, jelleşme ve oksidasyon basamaklarından oluşmaktadır. Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları solün viskozitesini jel yapı oluşana kadar düşürür. Daha sonra sol üzerinde yoğunlaşma reaksiyonları oluşur ve jelleşme işlemi parçalı kümelerde polimer ya da partiküllerin topaklaşmasıyla başlar. Oluşan jel ısıtılarak bünyesindeki çözücüler uzaklaştırılır (Toygun, Köneçoğlu, and Kalpaklı 2013).

Bu metodun en önemli avantajlarından birisi; istenilen özelliklere (sertlik, optik saydamlık, kimyasal dayanıklılık, gözeneklilik ve kimyasal direnç vb.) sahip homojen inorganik oksit malzemeler, oda sıcaklığında elde edilebilmektedirler. Kontrol edilebilir şekil ve boyutlarda ürün elde edilmesi ise diğer bir avantajdır (Toygun, Köneçoğlu, and Kalpaklı 2013).



Şekil 1.10. Sol-jel yöntemi ile ürün eldesi (URL-5)

1.1.2.2.3. Islak kimyasal sentez yöntemi

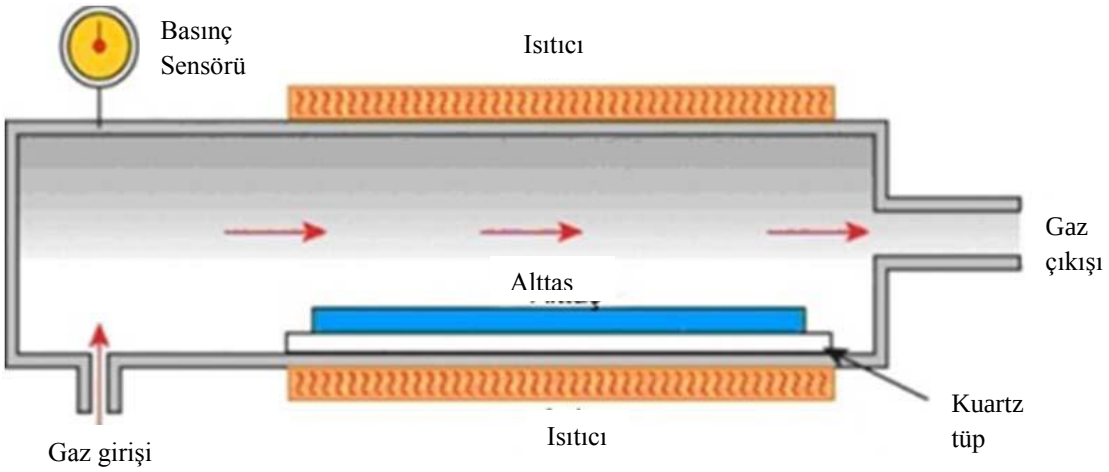
Çinko karbonat ($ZnCO_3$) veya çinko hidroksit ($Zn(OH)_2$) gibi Zn tuzlarının sulu çözeltilerinden Zn^{2+} çökeltisi elde edilir. Bu çökelti filtre edilir, yıkanır, kurutulur ve 800 ^oC'de kalsine edilir (Özer 2006).

1.1.2.2.4. Elektrokimyasal çöktürme yöntemi

Bu yöntemle ZnO üretimi, sulu çözeltiden veya sıvı tuz banyosundan metallerin elektroliz yöntemi ile ayrıştırılmasıyla yapılmaktadır. Metod, elementel haldeki metalin okside olmasını ve çözeltiye geçen metal iyonlarının katotta indirgenmesini içermektedir. Kolay uygulanabilir olması, düşük ekipman maliyetine sahip olması ve bu metod kullanılarak geniş yüzey alanına sahip ince filmler elde edilebilmesi bu yöntemin avantajları arasında yer almaktadır (Avşar).

1.1.2.2.5. Kimyasal buhar biriktirme yöntemi

Kimyasal buhar biriktirme yöntemi, kapalı bir alan içerisine kimyasal gazların salınmasıyla ortamda meydana gelen kimyasal reaksiyon sonucu alttaş üzerinde ince film oluşturma yöntemidir. Kimyasal gazların ortama girmesiyle yüzeyde bir gaz bulutu oluşur, bu gaz bulutu içerisinde oluşan kimyasal reaksiyonlar sonucunda yüzey üzerinde kümelenmeler oluşur ve bunlar birleşerek sürekli oluşan bir ince film haline gelir. Bu yöntem sayesinde yüksek saflıkta, çok kaliteli ince filmler elde edilebilmektedir (Akbaş 2015).



Şekil 1.11. Kimyasal buhar biriktirme sistemi (Akbaş 2015)

1.1.2.2.6. Solvotermal sentez yöntemi

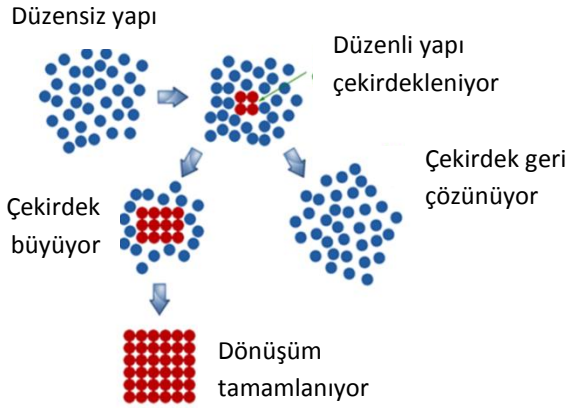
Çinko tuzlarının bir alkol çözeltisi içerisinde çözünerek Zn iyonlarının çöktürülmesi esasına dayanmaktadır. Zn^{2+} iyonları yüksek sıcaklık ve basınçta kalsine edilerek ZnO elde edilmektedir. Hidrotermal sentez yönteminden farkı çözücü olarak alkol kullanılmasıdır (Özer 2006).

1.1.2.2.7. Kimyasal çöktürme yöntemi

İki çözeltinin tepkimeye girmesi sonucunda istenilen maddenin kristalizasyon ile çöktürülmesi esasına dayanmaktadır. Kimyasal çöktürme tekniklerinde genellikle organik ya da inorganik tuzlar kullanılır. Çözeltiye kimyasal çöktürücü ilavesi ya da sıcaklık veya basınçtaki bir değişim çözünürlük sınırını azaltarak çökelmeye sebep olabilir. Çökme, çekirdeklenme ve büyüme ile gelişir.

Bu yöntemin avantajlarını; düşük sıcaklıkta ve sulu ortamda üretim, farklı reaktanlarla üretim, pH kontrolü ve katkılar sayesinde kristalin şekil ve boyutunun kontrol edilebilmesi olarak sayılabilir (Akın 2011).

Kimyasal çöktürme yönteminin esası kristalizasyon işlemine dayanmaktadır. Kristalizasyon bir çözücünün içinde çözünmüş kimyasal bir bileşiğin belirli koşullar altında çöktürülmesi yoluyla katı ve sıvı fazlarının birbirinden ayırılmasını sağlayan işlemin adıdır. Kristalizasyon işlemi, Çekirdeklenme ve Kristal Büyümesi olmak üzere iki aşamada gerçekleşmektedir (Şekil 1.12).



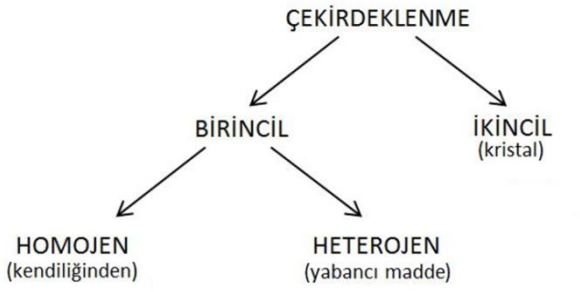
Şekil 1.12. Kristalizasyon basamakları (Dölen 2002).

Çekirdek, çözeltideki taneciklerin yeniden çözünmeyen ve büyüyerek bir kristal oluşturabilen en küçük birliğidir. Kristal çekirdekleri molekül, atom veya iyon gibi çok çeşitli türdeki taneciklerden oluşabilir. Çözelti içinde serbestçe hareket eden bu taneciklerin birbirleri ile çarpışmaları sonucunda genellikle hızla dağılan bir kümeleşme ortaya çıkar. Yeni bir fazın oluşumunu başlatmaya yeterli olabilecek sayıda taneciğin bir araya gelmesi sonucu oluşan yığına embriyo adı verilir. Aşırı doygunluğun yeterli düzeyde olması durumunda embriyo çözelti ile termodinamik denge içinde bulunabilecek bir büyüklüğe kadar büyüyebilir ve oluşan taneciğe çekirdek adı verilir. Şekil 1.13'te de görüldüğü gibi çekirdek kararsız bir denge durumudur; tanecik kaybederse çözünür ve tanecik kazanırsa bir kristal oluşturmak üzere büyür (Dölen 2002).

Küme ↔ Embriyo ↔ **Çekirdek** → Kristal

Şekil 1.13. Kristallerin oluşumu

Kristalizasyon işleminin ilk basamağı olan çekirdeklenme, homojen bir faz içinde yeni bir faza ilişkin çok küçük cisimciklerin doğuşu olarak tanımlanmaktadır. Yeterli sayıdaki atom kendiliğinden katı üretmek için kümeleştiğinde oluşur.



Şekil 1.14. Çekirdeklenme türlerini gösteren şema

Birincil Çekirdeklenme**,** çekirdeklenmenin en basit şeklidir. Kristalizasyonun başlaması için ortamda herhangi bi katı maddenin olmadığı durumda gerçekleşir. Çekirdek, tekrar erimeden kristalin büyüyebilmesi için belirli yarıçapa ulaşabilmesi için gerekli aktivasyon enerjisinin dışarıdan sağlanmış olması zorunludur. Bu enerjinin çözeltinin kendi içinden veya yabancı bir yüzey tarafından karşılanması durumuna göre birincil çekirdeklenme iki şekilde gerçekleşmektedir.

Homojen çekirdeklenme, ortamda herhangi bir katı yüzey olmadan çekirdeklenmenin başlaması şeklinde tanımlanır. İçinde çekirdek görevi yapabilecek parçacıklar bulunmayan homojen bir çözeltide kararlı çekirdeklenmeye ilişkin aktivasyon enerjisi, çözeltinin kendi içeriğinden karşılanmalıdır. Bu durum da yüksek enerji gereksinimi olduğundan pratikte nadiren meydana gelir.

Heterojen çekirdeklenme, bir katı yüzeyin katalizör işlevi görerek çekirdeklenmeyi başlatmasıyla oluşur. Çözeltinin bulunduğu kabın duvarları veya çözelti içinde katı halde bulunan bileşikler, çekirdek olarak görev yaparlar. Heterojen çekirdeklenmenin bir katı madde üzerinde meydana gelmesinin nedeni, bu durumda kararlı bir çekirdek oluşturmak için gerekli yüzey enerjisinin, çekirdeğin saf sıvı içerisinde kendi kendine oluşmasından (homojen çekirdeklenme) daha düşük olmasıdır (Dölen 2002).

İkincil Çekirdeklenme**,** çözeltideki büyük kristallerin etkisi ile çekirdek oluşumu olarak tanımlanır. İkincil çekirdeklenme aşırı doymuş çözeltinin büyüyen bir kristalin yüzeyine hızla sürtünmesi veya çözeltideki kristallerin birbirleri ile çarpışması sonucunda embriyo veya çekirdeklerin kopması sonucu ortaya çıkar. Çözeltinin karıştırılmasının şiddetinden etkilenir (Dölen 2002).

Oluşan bir çekirdek kristallenme süreci içinde çözelti içindeki molekülleri çekerek bunları belirli bir zaman dilimi içinde kristal örgüsünün içine yerleştirir. Bu olay kristal büyümesi olarak adlandırılır ve kristalizasyon işleminin ikinci basamağını oluşturur.

Kristalin tane büyüklüğü, birim zamanda oluşan çekirdek sayısı ve kristallerin büyüme hızına bağlıdır. Oluşan çekirdek sayısı ne kadar fazla ise, birincil taneler o kadar ince taneli bir yapı oluşur. Kristal büyüme hızının çok büyük olması halinde ise ilk oluşan çekirdekler büyüyerek tüm yapıyı kaplayacağından yeni çekirdek oluşumuna zaman kalmamakta ve yapı daha kaba taneli olmaktadır (Dölen 2002).

1.2. Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel aktivite, bir maddenin bakterileri öldürücü ya da gelişimlerini durdurucu etkisi olarak ifade edilir. ZnO'in antibakteriyel aktivitesini birçok faktör etkileyebilmektedir. Partikül büyüklüğü, yüzey alanı, ortamda başka bir antimikrobiyel ajanın olup olmadığı bunların başında gelmektedir.

1.2.1. Antibakteriyel aktivite tayin yöntemleri

Antibakteriyel aktiviteyi ölçmek amacıyla antibakteriyel duyarlılık testleri uygulanır. Bu testler iki grupta toplanır:

1.2.1.1. Disk difüzyon testi

Disk difüzyon, en eski ve en sık kullanılan antibakteriyel duyarlılık testi yöntemlerinden biridir. Patojen bakterilerin çoğunu test etmeye uygundur. Ayrıca, birçok antibakteriyel ajanın test edilmesi için uygundur ve özel bir donanıma ihtiyaç yoktur. Belirli bir miktar antibakteriyel madde emdirilmiş kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakları yüzeyine yerleştirilir. Diskler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken inoküle edilen mikroorganizma da çoğalmaya

başlar. Belirli bir inkübasyon süresi sonunda disk çevresinde bakterilerin üremediği Şekil 1.15 de görüldüğü gibi dairesel bir inhibisyon alanı (zon) oluşur. Mikroorganizma antibakteriyel maddeye ne kadar duyarlı ise disk etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm şeklinde ölçülerek, standart zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan antibakteriyel maddelere karşı duyarlılık durumu belirlenir (Gülay 2002).

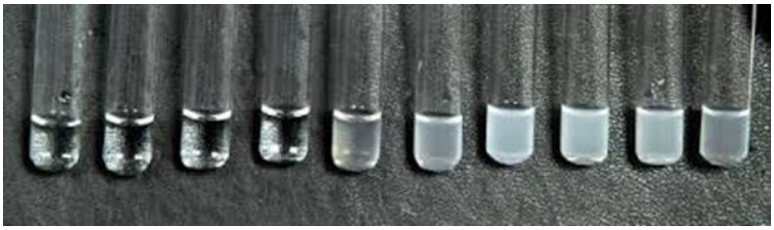


Şekil 1.15. Disk difüzyon testi uygulanmış bir agar (URL-3)

1.2.1.2. Dilüsyon yöntemi

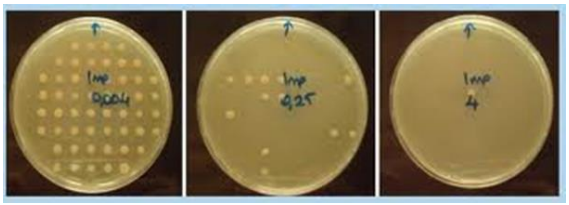
Dilüsyon testleri, bir antibakteriyel ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır. Dilüsyon testleri "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır.

Tüp Dilüsyon Yöntemi**:** Test edilecek olan antibakteriyel madde önce özel çözücüsü içinde hazırlanır ve takiben sıvı besiyerinde iki kat azalan sulandırmaları yapılır. Mikroorganizmanın standart bir inokülumu ($1x10^6$ CFU/mL) hazırlanıp, antibakteriyel ajanın çeşitli dilüsyonlarını içeren her bir tüpe eşit miktarlarda eklenir. Ayrıca antibakteriyel madde içermeyen, üremenin göstergesi olan kontrol tüpüne de eklenir. Bakteri inoküle edilmemiş, sadece besiyeri konmuş bir tüp de besiyeri kontrolü olarak hazırlanır. Besiyerleri 35 ºC'de bir gecelik inkübasyondan sonra bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Bakterinin üremesini önleyen, gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilir (Gülay 2002).



Şekil 1.16. Tüp dilüsyon yönteminin uygulaması

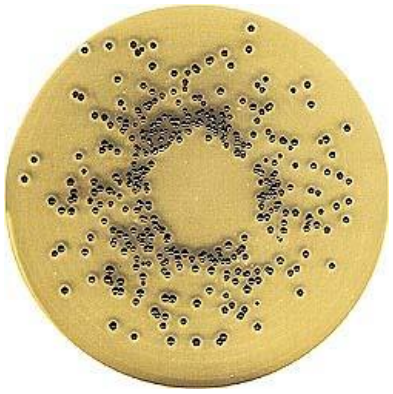
Agar Dilüsyon Yöntemi**:** Agar dilüsyon yönteminin prensipleri tüp dilüsyon yöntemiyle aynıdır. Tek fark, agar dilüsyon yönteminde antibakteriyel madde sulandırmalarının agar içine konması ve petri plaklarına dökülmesidir. Böylece her plakta antibakteriyel maddenin farklı konsantrasyonları bulunur (Gülay 2002).



Şekil 1.17. Agar dilüsyon yönteminin uygulaması

1.2.2. Mikroorganizmalar

S. aureus: *S. aureus* doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunu örten mukoz dokuda yer alır. Deride, apseli yaralarda, sivilce ve çıbanlarda yoğun olarak bulunmaktadır. Bu nedenle gıdalarda, gıda işletmelerinde bu bakteriye rastlanması hijyen eksikliğinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Gram pozitif ve fakültatif anaerob bir bakteridir. Optimum gelişme sıcaklıkları 30 – 37 ^{o}C'dir. (Akçelik 2000).



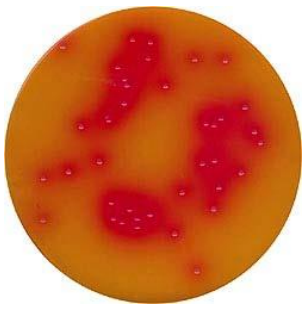
Şekil 1.18. *S. aures'*un Baird-Parker Agar üzerindeki görüntüsü (URL-3)

L. monocytogenes: *Listeria monocytogenes* çevreye geniş ölçüde yayılabilen buzdolabı sıcaklığında gelişebilen, soğutma, dondurma, ısıtma ve kurutma işlemleri gibi olumsuz koşullar altında bile canlılığını koruyabilen halk sağlığı açısından önemli bir patojendir. Listeriozis denilen hastalığa neden olmaktadırlar. *L. monocytogenes*, Gram pozitif, fakültatif anaerobik, kapsülsüz ve sporsuz bir bakteridir. Optimum gelişme sıcaklığı genellikle 35-37 ^{o}C olup, suşlar 1-45 ^{o}C gibi geniş bir sıcaklık aralığında da gelişme gösterebilirler. Listeria analizi için standartlarda belirlenen yöntemler gereğince sırasıyla ön zenginleştirme, zenginleştirme, selektif katı besiyerine ekim, kolonilerin incelenmesi, ve identifikasyon için biyokimyasal testler yapılır (Akçelik 2000).



Şekil 1.19. Fraser Broth ve PALCAM Agar üzerinde *L. monocytogenes* üremesi (URL-3)

S. Enteriditis: Salmonella, tifo, paratifo ve gıda zehirlenmesine yol açabilen, çubuksu, Gram negatif, fakültatif anaerob bir bakteri cinsidir. Optimum gelişme sıcaklığı 37 ^{o}C'dir. Salmonella'nın klasik yöntemle tayininde ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme, biyokimyasal testler ve serolojik doğrulama aşamaları vardır ve bu tayin 7 gün sürmektedir.



Şekil 1.20. Brilliant Green Agar üzerinde Salmonella Enteriditis görüntüsü (URL-3)

1.3. Taguchi Deney Tasarımı

Taguchi metodu, 1986 yılında Genichi Taguchi tarafından geliştirilen daha az sayıda deneyle en etkili sonuca ulaşmayı hedefleyen deney tasarım yöntemidir. Taguchi yöntemi bir işlemi etkileyen farklı faktörlerin farklı seviyeleri arasında en iyi kombinasyonu belirlemek için uygulanabilecek yöntemlerden birisidir. Her bir faktörün, her bir seviyesini içeren tüm kombinasyonlar için oldukça fazla deneysel çalışma yapılması gereken durumlarda ortogonal dizi tabloları kullanılarak çok daha az sayıda deneysel çalışmayla zaman ve malşyet tasarrufu sağlayarak sonuca ulaşmak mümkündür (İç and Yildirim 2012).

Taguchi deneysel tasarım metodunda geliştirilen metodoloji üç temel kavramdan oluşur bunlar; sistem tasarımı, parametre tasarımı ve tolerans tasarımıdır (Gökçe and Taşgetiren 2009).

Sistem tasarımı: Bu adımda eldeki konuyla ilgili bütün bilgiler değerlendirilir, aynı zamanda mevcut teknolojik yenilikler araştırılır ve sistemde kullanılabilirliği değerlendirilir. Bu adımda amaç en az maliyetle en iyi ürün tasarımını sağlamaktır. Bu adımda pazar belirlenmesi, gerekli teknik ve mühendislik bilgilerinin edinilmesi, kullanılacak makine, ekipman ve malzeme gibi bileşenlerin belirlenmesi gibi işlemler yapılmaktadır (Çeber 2010).

Parametre tasarımı: Bu adımda üretilecek olan ürünün ya da geliştirilecek olan ürünün özelliklerinin en iyi seviyeye getirilebilmesi için üretimde kullanılan parametrelerin optimize edilmesi sağlanır. Ürün parametre tasarımı, ürün parametrelerinin, malzeme değerlerinin, malzeme boyutlarının, ölçülerin, işlem değerlerinin tasarımıdır. Parametrelere en iyi seviyeler seçilir. Parametre tasarımında amaç kontrol edilemeyen faktörlerin ürün üzerindeki etkilerini en aza indirmek ve böylece üründe ortaya çıkabilecek varyansları en aza indirerek ürünün maliyetini en aza düşürmektir (Baynal and Gencel 2015).

Tolerans tasarımı: Tolerans tasarımı, parametre tasarımı aşamasında yapılan çalışmaların yetersiz kalması durumunda uygulanmaktadır. Bu aşamada gözlenen değerlerden faydalanılarak ürünün hedef değerden sapma göstermesinin getirdiği kayıplar bulunur ve bu sapmalar azaltılır (Gökçe and Taşgetiren 2009).

Taguchi metodu, aşağıdaki adımları izleyerek uygulanmaktadır (Çeber 2010):

1. Problemin Tanımlanması,

2. Amacın Belirlenmesi,

3. Performans Karakteristiğinin Seçilmesi,

4. Performans Karakteristiğini Etkileyen Faktörlerin Seçilmesi,

5. Faktörlerin Düzeylerinin Seçilmesi,

6. Deney Tasarımının Seçilmesi,

7. Deneylerin Yapılması,

8. Verilerin Analizi,

9. Sonuçların Yorumlanması.

Bu adımların izlenmesi sonucunda ürün için en iyi sonuçların elde edileceği deneye parametreleri belirlenebilmekte ve denyde ele alınan faktörlerin kalite üzerindeki etkisi tahmin edilebilmektedir.

Taguchi deney tasarımında elde edilen deney sonuçları sinyal/gürültü (S/N) oranına dönüştürülerek yorumlanmaktadır. Sinyal değeri sistemin verdiği ve ölçülmek istenen gerçek değeri, gürültü faktörü ise ölçülen değer içerisindeki istenmeyen değerleri temsil eder. Sinyal/gürültü oranı üç şekilde değerlendirilmektedir:

(1) Ulaşmak istediğimiz sonuç en küçük olduğunda en iyidir durumunda kullanılan formül:

$$\frac{Sinyal}{Gürültü} = -10.log\left[\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(y_i^2)\right] \quad (1.1)$$

(2) Ulaşmak istediğimiz sonuç en büyük olduğunda en iyidir durumunda kullanılan formül:

$$\frac{Sinyal}{Gürültü} = -10.log\left[\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left(\frac{1}{y_i^2}\right)\right] \quad (1.2)$$

(3) Ulaşmak istediğimiz sonuç nominal olduğunda en iyidir durumunda kullanılan formül:

$$\frac{Sinyal}{Gürültü} = -10.log\left[\frac{y_{ort}^2}{s^2}\right] \quad (1.3)$$

Bu denklemlerde y performans karakteristiğini, s varyansı, i deney sırasını, n toplam deney sayısını ifade etmektedir (Küçük 2016, Şimşek 2014).

Değerlendirmede hangi durum ele alınırsa alınsın sonuç olarak deneyde ele alınan faktör seviyeleri içerisinde en yüksek S/N oranına sahip olan değer en iyi performansı vermektedir (Savaşkan 2015).

Bunun yanı sıra varyans analizi (ANOVA) ile hangi proses üzerinde hangi faktörlerin ne derecede önemli oldukları istatistiksel olarak ortaya konulur. ANOVA, parametrelerin sonuç üzerindeki etkisini tespit etmek için kullanılan yöntemdir ve temelde değişkenliğin değil, faktörlerin ve bu faktörlerin seviyelerinin yol açtığı değişimin ölçülmesidir (Savaşkan 2015). Hem S/N oranı, hem de varyans analizi yardımı ile de faktörlerin, prosesi en verimli hale getirecek kombinasyonu tespit edilir.

Bu çalışmanın amacı, laboratuvar ortamında "kimyasal çöktürme yöntemi" ile üretilmiş farklı özelliklere sahip üç tip ZnO kristalinin *S. aureus, L. monocytogenes,* S. Enteriditis bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkisini "disk difüzyon metodu" kullanılarak incelemektir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. ZnO'in Antibakteriyel Etkisi

Bu konudaki ilk ve temel oluşturabilecek çalışmaları Sawai ve arkadaşları yapmıştır. ZnO'in *E. coli* üzerindeki antibakteriyel etkisini ve H_2O_2'in antibakteriyel etki mekanizmasındaki rolünü araştırmışlardır. Bu çalışmada ZnO ve H_2O_2 ayrı ayrı farklı konsantrasyonlarda farklı sürelerde uygulanmıştır. H_2O_2 konsantrasyonu arttıkça öldürme etkisinin arttığı tespit edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda ZnO ve H_2O_2'in benzer etkiler gösterdiği gözlenmiştir. Bu da ZnO'in antibakteriyel etkisinin H_2O_2 üretme mekanizmasından kaynaklandığı görüşünü doğrulamaktadır. ZnO bakteri hücre membranına nüfuz ettiğinde H_2O_2 üretilmeye başlamaktadır (Sawai et al. 1998).

Sawai ve arkadaşları 1996 yılında metal oksitlerin ürettiği aktif oksijen türlerinin varlığını ispatlamak için bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada metal oksit olarak magnezyum oksit (MgO), kalsiyum oksit (CaO) ve çinko oksit (ZnO) kullanmışlardır. Üretilen oksijeni belirlemek için "oksijen elektrot analizi" ve "kimyasal ışıldama analizi" kullanılmıştır. Oksijen elekrot analizi ile ZnO tozlarından H_2O_2 üretildiği belirlenmiştir. Kimyasal ışıldama yöntemi ile her üç metal oksit tozundan da aktif oksijen üretildiği belirlenmiştir. Kimyasal ışıldama analizinde etkiye direnç sıralaması CaO, MgO ve ZnO şeklinde belirlenmiştir; bu sıralama antibakteriyel etki sıralaması ile de uyum göstermektedir. Bu durumdan antibakteriyel etkinin sebeplerinden birisinin de üretilen aktif oksijen olduğu anlaşılmaktadır (Sawai et al. 1996).

Zhang ve arkadaşları, ZnO nanopartiküllerinin $ZnCl_2$ ve H_2O_2 varlığında antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. $1{,}25\times10^{-3}$ M konsantrasyondaki ZnO süspansiyonu bakteri koloni sayısında bir azalma sağlarken $ZnCl_2$ antibakteriyel etki göstermemiştir. H_2O_2 ise bakteri sayısında % 100 azalma sağlamıştır (Zhang et al. 2010).

Yamamoto, farklı büyüklükteki ZnO partiküllerinin *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki etkisini araştırmıştır. Partikül büyüklüğü 0,1-0,8 μm arasında değişen ZnO tozları 1400 °C'ye ısıtılan ZnO'in ezilmesiyle hazırlanmıştır. Antibakteriyel aktivite ise elektriksel iletkenliğin ölçülmesi ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda partikül büyüklüğü azaldıkça antibakteriyel aktivitenin arttığı tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni de

partikül büyüklüğü azaldıkça mikrororganizmalarla temas eden ZnO yüzey alanının artması olarak açıklanmıştır. Aynı şekilde ZnO yüzeyinden üretilen H_2O_2 miktarının artması olarak da açıklanabilir. ZnO partikül büyüklüğünün etkisinin *S. aureus* üzerinde daha az olduğu gözlemlenmiştir. Bunun sebebi de her iki bakteri hücre yüzeyinin kimyasal kompozisyonu ve yapısının farklı olmasına dayandırılmıştır. *E. coli* hücre yüzeyinde lipid A, lipopolisakkarit ve peptidoglukandan oluşan 3 katman bulunurken *S. aureus* hücre yüzeyinde sadece peptidoglukan tabakası bulunmaktadır (Yamamoto 2001).

Sirelkhatim ve arkadaşları, 700 ºC'de 1 saat süren Fransız Prosesi ile üretilmiş olan 800 nm boyutundaki ZnO nanopartiküllerinin *E.coli*'ye karşı antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmadaki esas amaç antibakteriyel etki mekanizmasını incelemek ve ZnO nanopartiküllerinin gıda kaynaklı hastalıklara karşı mücadele amaçlı ve gıda ambalaj sektöründe kullanılabilirliğini değerlendirmektir. Antibakteriyel aktiviteyi belirlemek için "tüp dilüsyon yöntemi" uygulanmıştır. ZnO konsantrasyonu arttıkça bakteri inhibisyonunun arttığı gözlenmiştir. FESEM (alan emisyon taramalı elektron mikroskobu) görüntülerinde ZnO nanopartiküllerinin hücre membranının içine nüfuz etmediği ama bakteriyel büyümenin inhibe edildiği görülmüştür. ZnO'in antibakteriyel etkisinin ROS (Reaktif Oksijen Türleri) üretimiyle doğrudan ilşkili olduğu anlaşılmıştır. ZnO nanopartiküllerinin toksik etkisinin sadece mikroorganizmalar için geçerli olduğu, gıda güvenliği açısından kullanılabilir olduğu anlaşılmıştır (Sirelkhatim et al. 2015).

Dutta ve arkadaşları, ıslak kimyasal yöntemle üretilmiş Tiyogliserol (TG) katkılı ZnO'in Gram-negatif bir bakteri olan *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. ZnO ve TG katkılı ZnO 8-55 mg/100 mL olacak şekilde uygulanmıştır. ZnO nanopartiküllerinin antibakteriyel etkisinin üretilen ROS'tan kaynaklandığını doğrulamak için çalışmalar histidin antioksidanı varlığında yapılmıştır. Histidin, hidroksil radikallerinin ve serbest oksijenin temizleyicisi olduğu ve antibakteriyel etki göstermediği bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda histidin miktarı azaldıkça antibakteriyel etkinin arttığı gözlemlenmiştir (Dutta et al. 2012).

2.2. ZnO Partikül Özelliklerinin Antibakteriyel Aktiviteye Etkisi

Yamamoto'nun yapmış olduğu çalışmada 1400 °C'de 3 saat süre ile ezilen ZnO materyalinin farklı partikül büyüklüklerinin *E.coli* ve *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Partikül büyüklükleri 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 ve 0,8 μm olarak seçilmiştir. Antibakteriyel aktivite, bakteriyel büyümeye bağlı olarak elektriksel iletkenlikteki değişimin ölçülmesiyle bulunmuştur. Partikül büyüklüğü azaldıkça antibakteriyel aktivitenin arttığı sonucuna ulaşılmıştır (Yamamoto 2001).

Ohira ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada spesifik kristal yapısına sahip ZnO çinko klorür, tri-ethanol amin ve tiyo-üre'nin karıştırılmasıyla oluşan sulu çözelti şeklinde elde edilmiş ve *E.coli* ve *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel etkisi ticari ZnO ile kıyaslanarak incelenmiştir. ZnO konsantrasyonu arttıkça her iki ZnO için de antibakteriyel etkinin arttığı gözlenmiştir. Ticari ZnO'in antibakteriyel etkisinin çok daha güçlü olduğu belirlenmiştir, bunun sebebinin de yüzey alanı ile ilgili olduğu düşünülmüştür (Ohira et al. 2008).

Jalal ve arkadaşları gliserol içerisine disperse edilerek hazırlanmış ZnO nano akışkanının *E. coli* üzerindeki antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Çözücü olarak amonyum sitrat görev yapmıştır. Çinko asetat ve sodyum hidroksitin oda sıcaklığında karıştırılıp mikrodalga (2,45 GHz, 850 W) aracılığıyla ısıtılması ile hazırlanan ZnO'in antimikrobiyel etkisi disk dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Mikrodalga ile ısıtma yöntemi, uygulanabilirliğinin kolay olması, verimli bir yöntem olması ve çevreye zarar vermemesi gibi avantajlar taşır. 0,125; 0,25; ve 0,5 g/dm^3 konsantrasyona sahip ZnO dispersiyonu kullanılmıştır. Bu çalışmada düşük konsantrasyonda uygulanan ZnO nanoakışkanının engelleme etkisinin çok az olduğu gözlenmiştir. Konsantrasyon ve uygulama süresi arttıkça kullanılan ZnO'in çok iyi bir antibakteriyel ajan olduğu gözlenmiştir. Amonyum sitrat da antibakteriyel etkiyi destekleyici özelliğe sahiptir (Jalal, Goharshadi et al. 2010).

Zhang ve arkadaşları çinko oksitin partikül büyüklüğü ve konsantrasyonunun çinko oksitin sahip olduğu antibakteriyel aktivitesinin üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Hedef mikroorganizma olarak *E. coli* seçilmiştir. Yapılan deneyler ZnO partikül konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel aktivitenin arttığını, partikül büyüklüğü arttıkça

antibakteriyel aktivitenin azaldığını göstermiştir. En fazla partikül büyüklüğüne sahip ZnO (2417 nm) kullanıldığında antibakteriyel aktivitenin yok denecek kadar az olduğu gözlenmiştir (Zhang et al. 2007).

2.3. Antibakteriyel Uygulamalar

Selvam ve Sundrarajan, Poly-N-vinyl-2-pyrrolidone (PVP) ve ZnO ile kaplanmış pamuklu kumaşlarda bu maddelerin antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada kullanılan ZnO, kimyasal çöktürme metodu ile üretilmiştir. Elde edilen ZnO, pamuklu kumaşlara pad-dry-cure yöntemi ile kaplanmıştır. Pad-dry-cure yöntemi, emdirme-kurutma-kondenzasyon sırasıyla yapılan bir kumaş yöntemidir. Antibakteriyel aktivite testi PVP ve ZnO ile modifiye edilmiş PVP için ayrı ayrı uygulanmıştır. ZnO konsantrasyonu 5, 10, 15 ve 20 mg/L olacak şekilde kullanılmıştır. ZnO ile modifiye edilmiş PVP'nin çok daha iyi antibakteriyel aktivite gösterdiği; 20 mg/L konsantrasyonda ZnO kullanıldığında %100 bakteriyel azalma sağlandığı gözlenmiştir (Selvam and Sundrarajan 2012).

Selvam ve arkadaşları pamuklu kumaşlar üzerine uygulanmış ZnO, TiO_2 ve AgO nanopartiküllerinin antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. Deneyler *S. aureus* ve *E. coli* ile yapılmıştır. Yapılan çalışmalar en güçlü antibakteriyel etkiyi (%100 azalma ile) ZnO'in gösterdiğini ortaya koymuştur. TiO_2 ve AgO ise bakteri sayısında %90 ve %85 azalma sağlamışlardır (Selvam et al. 2012).

Rajendran ve arkadaşları, ıslak kimyasal metodla elde edilmiş olan çinko oksiti pamuklu dokuma kumaş üzerine uygulayarak *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. ZnO uygulanmamış kumaşlarda yapılan deneylerde bakteri sayısında hiçbir azalma görülmezken ZnO ile kaplanmış kumaşların kullanıldığı deneylerde % 94,16 düzeyinde azalma görülmüştür. Bu kumaşlar on kez yıkandığında bile ZnO'in bu etkisinin devam ettiği fakat on yıkamadan daha fazlasında bakteri sayısındaki azalma miktarının düştüğü gözlenmiştir (Rajendra et al. 2010).

Azam ve arkadaşları sol-jel metoduyla elde edilmiş olan ZnO, CuO, ve Fe_2O_3'in antibakteriyel etkisini Gram-negatif *E. coli* ve *P. aeruginosa* ve Gram-positif *S. aureus, B. subtilis* bakteriler üzerinde incelemişlerdir. Antibakteriyel aktivite ölçümü disk

difüzyon metodu ile yapılmıştır XRD ve TEM sonuçlarından ZnO nanopartiküllerinin CuO ve Fe_2O_3'e göre daha küçük partikül boyutuna sahip olduğu anlaşılmıştır. En güçlü bakteriyel etki ZnO tarafından *B. subtilis* (25 mm inhibisyon zonu oluşumu ile) üzerinde görülmüştür; CuO 21 mm, Fe_2O_3 ise 15 mm zon oluşumuna sebep olmuştur. *E. coli* bakterisi etrafında oluşan inhibisyon zon çapı ZnO, CuO, ve Fe_2O_3 için sırasıyla 19, 15, ve 3 mm'dir. *P. aeruginosa* ve *S. aureus* için de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre en güçlü antibakteriyel etkiyi ZnO göstermektedir (Oves 2012).

Adams ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TiO_2, SiO_2 ve ZnO'in *E. coli* ve *B. subtilis* üzerindeki antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Antibakteriyel aktivite ölçümü her bir metal oksitin 10, 50, 100, 500, 1000, 2000 ve 5000 ppm konsantrasyonu için yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda en güçlü antibakteriyel etkiyi ZnO'in gösterdiği, en az etkiyi ise SiO_2'in gösterdiği saptanmıştır (Adams, Lyon, and Alvarez 2006).

Yamamoto ve arkadaşları, MgO-ZnO katı çözeltisini 1400 °C'de 3 h hava varlığında ısıtma yoluyla hazırlamışlar ve bu çözeltideki farklı ZnO oranları için antibakteriyel aktiviteyi *E. coli* ve *S. aureus* için ölçmüşlerdir. Antibakteriyel aktivite, bakteriyel gelişmeye bağlı olarak elektriksel iletkenliğin ölçülmesi metodu ile belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonunda çözeltideki ZnO miktarı arttıkça antibakteriyel etkinin azaldığı gözlenmiştir (Yamamoto, Sawai, and Sasamoto 2000).

Vasanthi ve arkadaşları, sprey piroliz yöntemiyle üretilmiş Sn katkılı çinko oksitin *E. coli* üzerindeki antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Deneyler farklı oranlarda (% 0-10) Sn içeren her bir örnek için 600 nm'de ki optik yoğunluk ölçülerek yapılmıştır. Sonuçta Sn oranı arttıkça antibakteriyel etkinin de arttığı gözlemlenmiştir (Vasanthi et al. 2013).

Li ve arkadaşları, Kitosan (CS), Ag^+ ve ZnO karışımdan olan filmleri hazırlamışlar ve *B. subtilis, E. coli, S. aureus, Penicillium, Aspergillus, Rhizopus* organizmaları üzerindeki antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmalar, CS/Ag^+/ZnO karışımının CS/Ag^+ ve CS/ZnO karışımına göre çok daha güçlü bir antibakteriyel etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu karışım medikal uygulamalarda ve gıda ambalajlama sanayinde kullanılabilir (Li et al. 2010).

Liu ve Kim, kitosan, polietilenglikol (PEG), ZnO ve Ag^+ materyallerinden oluşan nanokompozitlerin 4 farklı bakteri (*E. coli, P. aeruginosa, S. aureus,* ve *B. subtilis*) üzerindeki antibakteriyel etkilerini disk difüzyon yöntemi ile incelemişlerdir. En güçlü antibakteriyel etkiyi kitosan/PEG/ZnO/Ag^+'dan oluşan nanokompozit göstermiştir. Karışımdaki Ag^+ ve ZnO oranı arttıkça antibakteriyel etkinin de arttığı gözlemlenmiştir (Liu and Kim 2012).

Rekha ve arkadaşları, saf ZnO ve Mn katkılı ZnO'in antibakteriyel etkisini *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Shigella dysenteriae, Salmonella typhi, Pseudomonas aeruginosa, B. subtilis* ve *S. aureus* mikroorganizmaları açısından incelemişlerdir. Katkı olarak kullanılan manganezin bileşim içindeki oranı arttıkça antibakteriyel aktivitenin de arttığı (koloni atrafında oluşan zon çapı ölçülerek belirlenmiştir) gözlenmiştir (Rekha et al. 2010).

Jin ve arkadaşları, ZnO'i üç farklı formda hazırlamışlar ve bu formların gıda kaynaklı patojenler olan *Listeria monocytogenes,* Salmonella Enteritidis, ve *Escherichia coli O157:H7* üzerindeki antibakteriyel etkilerini agar difüzyon metodunu kullanarak incelemişlerdir. Deneyler kültür ortamı ve sıvı yumurta akı ortamında yapılmıştır. ZnO kuantum noktalar (QD) tozu, Polistiren (PS) ZnO QD nanokompozit film ve Polivinilprolidon (PVP) kaplı ZnO QD olmak üzere üç şekilde uygulanmıştır. Her üç mikroorganizma için de ZnO-PVP uygulamasının daha etkili olduğu, ZnO konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel aktivitenin arttığı gözlenmiştir. ZnO-PS filminin bakteriyel büyüme üzerinde etkili olmadığı elde edilen sonuçlardan biridir. Bunun sebebi olarak da çinko oksitin nanokompozit film içerisinde serbest kalıp agar içinde difüze olamaması gösterilmiştir (Jin et al. 2009).

Li ve arkadaşları, ZnO ile kaplanmış polivinilkloritin (PVC) gıda kaynaklı patojenler (*E. coli, S. aureus, Aspergillus flavus ve Penicillium citrinum*) üzerindeki antibakteriyel etkisini agar difüzyon metodu ile incelemişlerdir. Deneyler sonucunda kaplama kullanılan ZnO nanopartikül miktarı arttıkça bakteriler etrafında oluşan inhibisyon zon çapının da arttığı, *S. aureus* üzerindeki etkinin *E. coli'*ye kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Kontrol amaçlı kullanılan boş PVC filmin herhangi bir antimikrobiyel etki göstermediği saptanmıştır. *A. flavus* ve *P. citrinum* üzerinde öldürücü etki

göstermemiştir; ortamda UV ışımasının olmayışı ya da kullanılan ZnO miktarının yetersiz gelmesi bu duruma sebep olarak gösterilebilir (Li et al. 2009).

Tayel ve arkadaşları, ZnO'in antibakteriyel etkisini gıda kaynaklı patojenler olan *Salmonella typhimurium* ve *S. aureus* bakterileri için disk difüzyon yöntemi ile araştırmışlardır. Yapılan deneyler ZnO partikül büyüklüğü küçüldükçe ve ZnO konsantrasyonu arttıkça bakteri etrafında oluşan inhibisyon zon çapının arttığını; antibakteriyel aktivitenin arttığını göstermiştir (Tayel et al. 2011).

Fang ve arkadaşları, oral enfeksiyonlara sebep olan altı patojen bakteri (*Streptococcus mutans, S. mutans, Actinomyces viscosus, Lactobacillus casei, Staphylococcus aureus ve Candida albicans*) üzerinde etkili olan antibakteriyel ajanlar üzerinde çalışmışlardır. Antibakteriyel ajan olarak iki farklı ZnO kompleksi, magnezyum hipoklorit ve üç farklı Ag^{+} içeren bileşik kullanmışlardır. Antibakteriyel aktiviteyi belirlemek için dilüsyon yöntemi seçilmiştir. Yapılan deneyler kullanılan bütün inorganik materyallerin antibakteriyel etki gösterdiğini fakat Ag^{+} ve Zn^{+2} içeren komplekslerin çok daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu ispatlamıştır (Fang et al. 2006).

Uygulamada birçok alanda ve birden çok amaçla kullanılan ZnO çağın hastalığı olan kanser üzerindeki etkisi de merak konusu olmuştur. Wahab ve ark. ZnO HepG2 (karaciğer kanseri) ve MCF-7 (göğüs kanseri) kanser hücreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kullanılan ZnO konsatrasyonu 2,5-5 μg/mL seviyesinde iken hücreler üzerinde herhangi bir etki görülmezken konsantrasyon 10–25 μg/mL seviyesine çıktığında kanser hücrelerinin hasara uğradığı ve büyümelerinin durduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile ZnO'in kanser tedavisinde kullanılacak ilaçlarda yer alabilecek daha ucuz bir inorganik materyal olduğu ispatlanmıştır (Wahab et al. 2014).

Queiroz ve arkadaşları diş kanal tedavisinde kullanılacak dolgu maddesi olarak çinko oksit ve diğer üç maddeyi antibakteriyel etkinlik açısından incelemişlerdir. Hedef mikroorganizma olarak *Kocuria rhizophila, Enterococcus faecalis, Streptococcus mutans, E. coli* ve *S. aureus* bakterileri seçilmiş ve disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar en güçlü antibakteriyel etkiyi ZnO ve öjenol dolgu maddesinin *K. Rhizopila*'ya (32,67 mm) karşı gösterdiğini ortaya koymuştur (Queiroz et al. 2009).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

ZnO üretiminde kullanılan çinko nitrat hekzahidrat ($Zn(NO_3)_2.6H_2O$) ve hekzametilen tetramin (HMT-$C_6H_{12}N_4$) Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir. Üretim sırasında krisitallerin çeşitlendirilmesi amacıyla Vinilfosfonik asit-4-vinilimidazol kopolimeri 8/1 (VPA-4Vlm 8/1) ve Karboksimetil inulin (CMI-15) katkı maddeleri olarak kullanılmıştır. Her iki madde de daha önceden üretilmiş şekilde temin edilmiştir.

Kristalizasyon deneyleri yapılırken saf su cihazı, su banyosu (Polyscience), manyetik karıştırıcılı ısıtıcı (Heidolph), süzme işlemi için vakum pompası (KNF), elde edilen kristallerin kurutulması için vakum etüvü (DAIHAN WOV-70), sinterleme işlemi için kül fırını kullanılmıştır.

ZnO'in antibakteriyel aktivitesini tespit etmek için kullanılan mikroorganizmalar; *S. aureus* (ATCC 25923), *L. monocytogenes* (ATCC 15313) ve S. Enteriditis (ATCC 13076)) suşları saf kültür olarak (Microbiologist) temin edilmiştir.

Mueller-Hilton Agar (Biolife), Nutrient Broth (Merck), Mc Farland No 0.5 antibakteriyel aktivite tayini için kullanılan kimyasal malzemelerdir. Kullanılan mikroorganizmalar ve geliştirilmeleri için kullanılan besiyeri ortamları Tablo 3.1'de görüldüğü gibidir.

Tablo 3.1. Mikroorganizmalar ve geliştirildikleri besiyerleri

Mikroorganizma Adı	**Kullanılan Besiyerin Adı**		
S. aureus	Baird Parker (Salubris-Hazır)		
L. monocytogenes	Fraser Broth (Difco™-Toz)	PALCAM Agar (Difco™-Toz)	
S. Enteriditis	Tamponlanmış Peptonlu Su (Merck-Toz)	Selenit Sistin Broth (Salubris-Hazır)	Brillant Green Agar (Salubris-Hazır)

Toz besiyerleri hazırlanırken saf su kullanılmış ve otoklavda (HICLAVE HG-80) 121 ºC'de 15 dk sterilize edilmiştir. Hazır olarak temin edilen besiyerleri 4 ºC'de muhafaza edilmiştir. İnkübatör olarak memmert IN 110^{PLUS} cihazı kullanılmıştır.

3.2. Metod

Deney planlaması yapılırken Taguchi deney tasarımı metodu kullanılarak optimizasyon amaçlanmıştır. Deney planı olarak L9 ortogonal dizini kullanılmıştır. Bu sayede tam faktöriyel deney tasarımına göre deney sayısının azaltılmaktadır. Optimum konsantrasyon, ZnO kristali ve hedef bakteri tespit edilmektedir. Ayrıca ana etki grafikleri ve istatik yöntemlerinin kullanılması ile deney sonrası elde edilen verilerin değerlendirilmesi kolaylaşmaktadır. Taguchi deney tasarımı uygulamasında bütün hesaplamalar ve grafik çizimleri için Minitab programından faydalanılmıştır.

Taguchi deneysel tasarımı yapılırken kullanılan faktörler:

- ZnO tipi
- ZnO konsantrasyonu
- Hedef mikroorganizmadır.

Her faktör için üç seviye ile çalışılmış olup Taguchi deneysel tasarımı özeti Tablo 3.2'de verilmektedir.

Tablo 3.2. Deney faktörleri ve seviyeleri

FAKTÖRLER	**1. SEVİYE**	**2. SEVİYE**	**3. SEVİYE**
ZnO Tipi	Numune 1	Numune 2	Numune 3
ZnO Konsantrasyonu	0.1 mg/mL	0.075 mg/mL	0.05 mg/mL
Hedef Mikroorganizma	*L. monocytogenes*	*S. aureus*	S. Enteriditis

Tablo 3.3. de Taguchi L9 ortoganal dizinine göre yapılmış deney tasarımı görülmektedir. Toplamda dokuz deney üç tekrarla yapılarak güvenilirliği sağlanmıştır.

Tablo 3.3. Taguchi L9 Deney Tasarımı

FAKTÖRLER VE SEVİYELERİ			
	A	**B**	**C**
Deney	**ZnO Tipi**	**ZnO Konsantrasyonu**	**Hedef Mikroorganizma**
1	1	1	1
2	1	2	2
3	1	3	3
4	2	1	2
5	2	2	3
6	2	3	1
7	3	1	3
8	3	2	1
9	3	3	2

Yapılan çalışma iki aşamadan oluşmaktadır:

- ZnO partiküllerinin üretilmesi ve karakterizasyonu
- Antibakteriyel aktivite tayin çalışmaları

3.2.1. ZnO'in Üretilmesi

Kullanılacak ZnO, kimyasal çöktürme yöntemiyle elde edilmiştir. Üç farklı yapıda ZnO üretilmiştir:

Numune 1 – ZnO partikülleri, 95 °C'de 50 ppm 8/1 VPA-4VIm kopolimeri varlığında üretimiş ve 600°C'de 3 h sinterlenmiştir.

Numune 2 – ZnO partikülleri, herhangi bir katkı kullanılmaksızın 95 °C'de üretilmiştir. Sinterlenmemiştir.

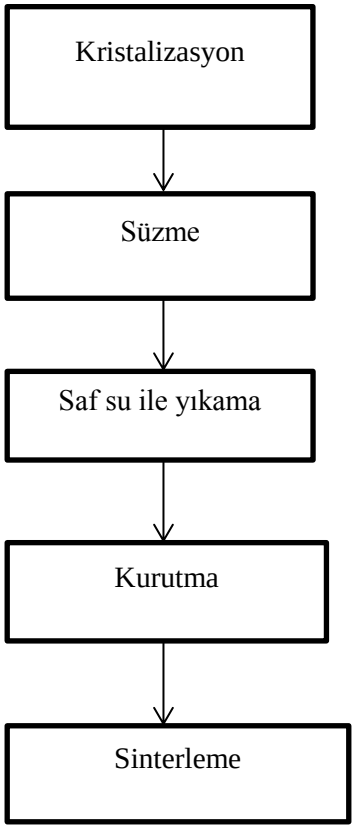
Numune 3 – ZnO partikülleri, 10 ppm CMI-15 varlığında 95 °C'de üretilmiş ve 600 °C'de 3 h sinterlenmiştir.

Üretilen ZnO partiküllerine ait özellikler Tablo 3.4'te görülmektedir

3.2.1.1. ZnO kristalizasyon çalışmaları

Kristalizasyon proseslerinin tamamında 1 L hacimli çift cidarlı cam reaktör kullanılmıştır. Reaksiyonlar 95 ºC'de gerçekleştirilmiştir. HMT ve çinko nitrat (ÇN) çözeltileri eşmolar olacak şekilde karıştırılmış olup ve karışma sonrasında reaktör içerisinde molariteleri 0,03 M olacak şekilde hazırlanmıştır. Deneylere ilk olarak ÇN

çözeltisinin reaktöre eklenmesiyle başlanmıştır ve reaksiyon 90 dakika sonunda sonlandırılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. ZnO kristalizasyonu akım şeması

Deneyler sonucunda elde edilen kristaller 0,22 μm gözenekli membrandan süzülmüş ve saf su ile yıkanmıştır. Elde edilen çökelti vakum etüvünde 60 °C'de 48 saat kurutulmuştur.

$(CH_2)6N_4 + 6H_2O \rightarrow 6HCHO + 4NH_3$

$NH_3 + H_2O \rightarrow NH_4^+ + OH^-$

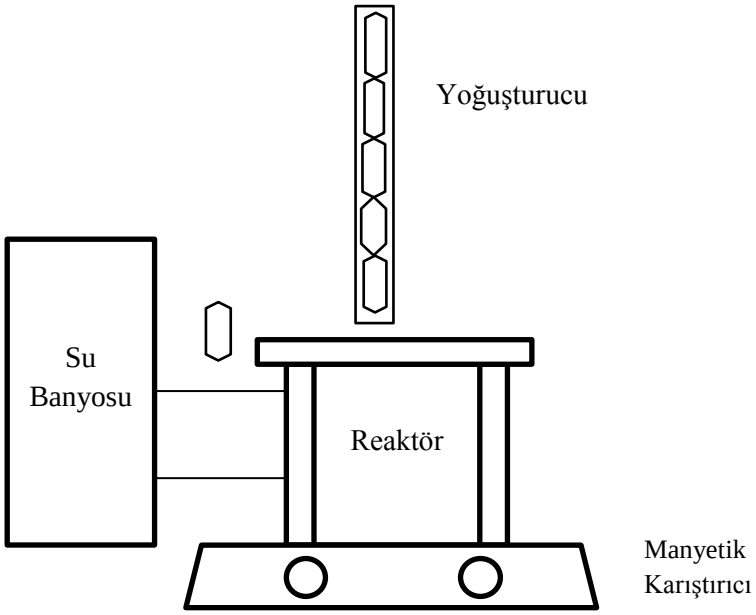
$Zn^{+2} + 2OH^- \rightarrow ZnO + H_2O$

$2Zn(NO_3)_2 + (CH_2)_6N_4 + 8\ H_2O \rightarrow\ 2ZnO \downarrow\ + 4NH_4NO_3 + 6\ HCHO$

Şekil 3.2. ZnO reaksiyonu

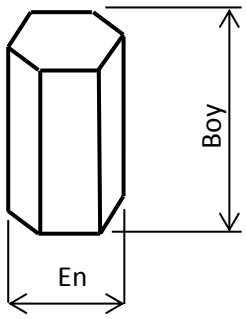
Katkı kullanılan ZnO kristalizayonu deneylerinde ZnO partikülleri elde edildikten sonra 600 °C'de 3 saat sinterleme işlemi uygulanmıştır. Sinterleme, gözenekli yapıya sahip tozların spesifik yüzey alanının küçülmesi, partikül temas noktalarının büyümesi ve

buna bağlı olarak gözenek şeklinin değişmesine ve gözenek hacminin küçülmesine neden olan ısıl işlem olarak ifade edilmektedir. Yapılan çalışmalarda gözenek ve spesifik yüzey alanı boyutunun düşmesi istenmemekte ancak kullanılan polimerlerin oluşan ZnO yapıdan uzaklaştırılması için de gerek duyulan bir işlemdir.



Şekil 3.3. Kristalizasyon deney sistemi

Elde edilen ZnO kristalleri elektron tarama mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. SEM görüntüleri incelediğinde elde edilen ZnO kristallerinin hekzagonal yapıya sahip olduğu görülmektedir. SEM görüntülerinden örnek kristal çizimi baz alınarak Şekil 3.4'te görüldüğü şekilde en ve boy değerleri ölçümü yapılmıştır.



Şekil 3.4. ZnO partiküllerinin boyut analizinde kullanılan değerlendirme parametreleri

Ölçümler sonucunda elde edilen kristaller için sonuçlar:

N1 – 50 ppm 8/1 VPA-4VIm varlığında 95 °C'de üretilen ZnO için ortalama boy değeri 1880 nm; minimum boyut değeri 589 nm, maksimum boyut değeri 3440 nm olarak ölçülmüştür. Ortalama en değeri 1334 nm; minimum boyut değeri 625 nm, maksimum boyut değeri 2340 nm olarak ölçülmüştür (Akın 2011).

N2 – Katkı kullanılmaksızın 95 °C'de üretilen ZnO için ortalama boy değeri 1812 nm, ortalama en değeri ise 199 nm olarak hesaplanmıştır (Akın 2011).

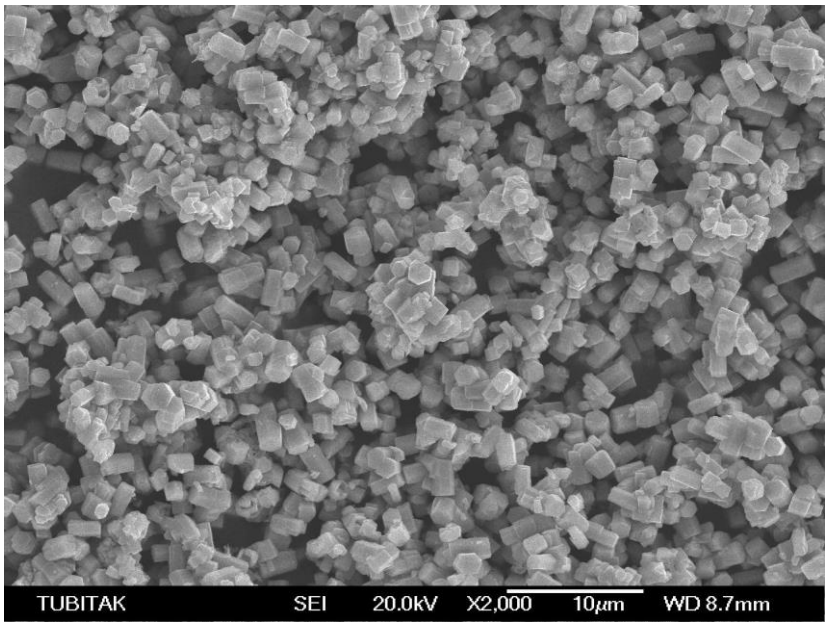
N3 – 10 ppm CMI-15 varlığında 95 °C'de üretilen ZnO için hesaplanan ortalama boy değeri 1360 nm; minimum boyut 492 nm, maksimum boyut ise 3064 nm olarak ölçülmüştür. Ortalama en değeri 282 nm; minimum boyut 106 nm, maksimum boyut ise 786 nm olarak hesaplanmıştır (Akın 2011).

Spesifik yüzey alanları, Brunauer-Emmet-Teller (BET) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen kristaller için hesaplanan BET yüzey alanları aşağıdaki gibidir:

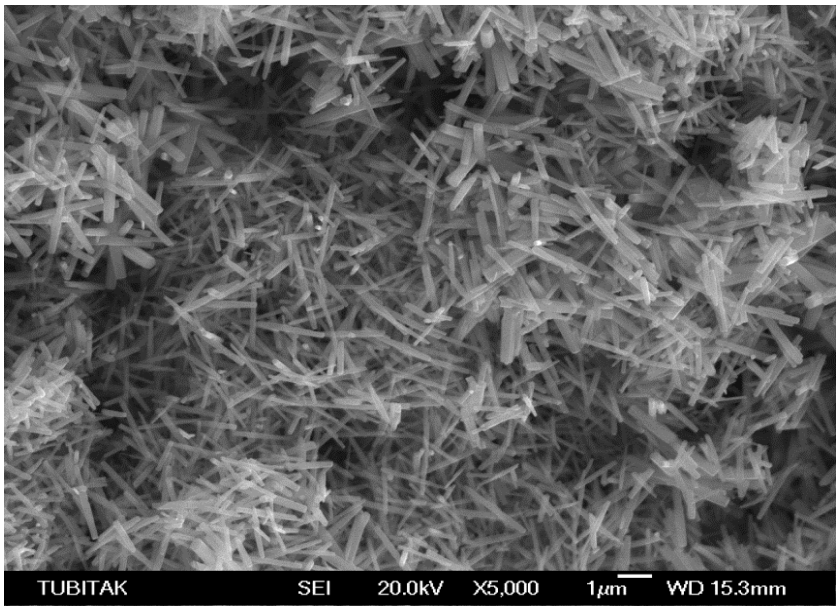
N1 – 50 ppm 8/1 VPA-4VIm varlığında 95 °C'de üretilen ZnO için 3,65 m^2/g

N2 – Katkı kullanılmaksızın 95 °C'de üretilen ZnO için 2,5 m^2/g

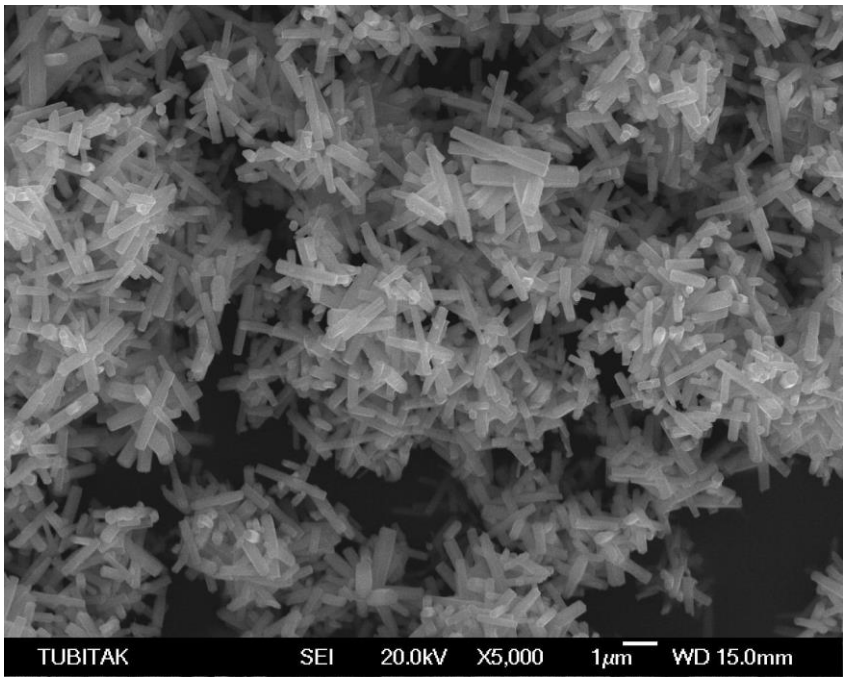
N3 – 10 ppm CMI-15 varlığında 95 °C'de üretilen ZnO için 3,0 m^2/g



Şekil 3.5. 50 ppm 8/1 VPA-4VIm varlığında üretilen ZnO kristallerine ait SEM görüntüsü (Sinterlenmeden önce)



Şekil 3.6.Katkı kullanılmadan üretilen ZnO kristallerine ait SEM görüntüsü



Şekil 3.7. 10 ppm CMI-15 varlığında üretilen ZnO kristallerine ait SEM görüntüsü

Tablo 3.4'te antibakteriyel aktivite deneylerinde kullanılmak üzere üretilen üç farklı tipte ZnO'a ait özellikler görülmektedir. Morfolojik olarak üç tip ZnO partikülü de hekzagonal yapıda olsa da boyut ve yüzey alanı açısından farklılıklar göstermektedir.

Tablo 3.4. Deneylerde kullanılmak üzere üretilen ZnO partiküllerine ait özellikler

	En×Boy (nm)	**En/Boy**	**BET Spesifik Yüzey Alanı (m^2/g)**	**Morfoloji**
Numune 1	1334×1880	0,7096	3,65	Hekzagonal
Numune 2	199×1812	0,1098	2,5	Hekzagonal
Numune 3	282×1360	0,2074	3	Hekzagonal

3.2.2. Antibakteriyel aktivite tayini

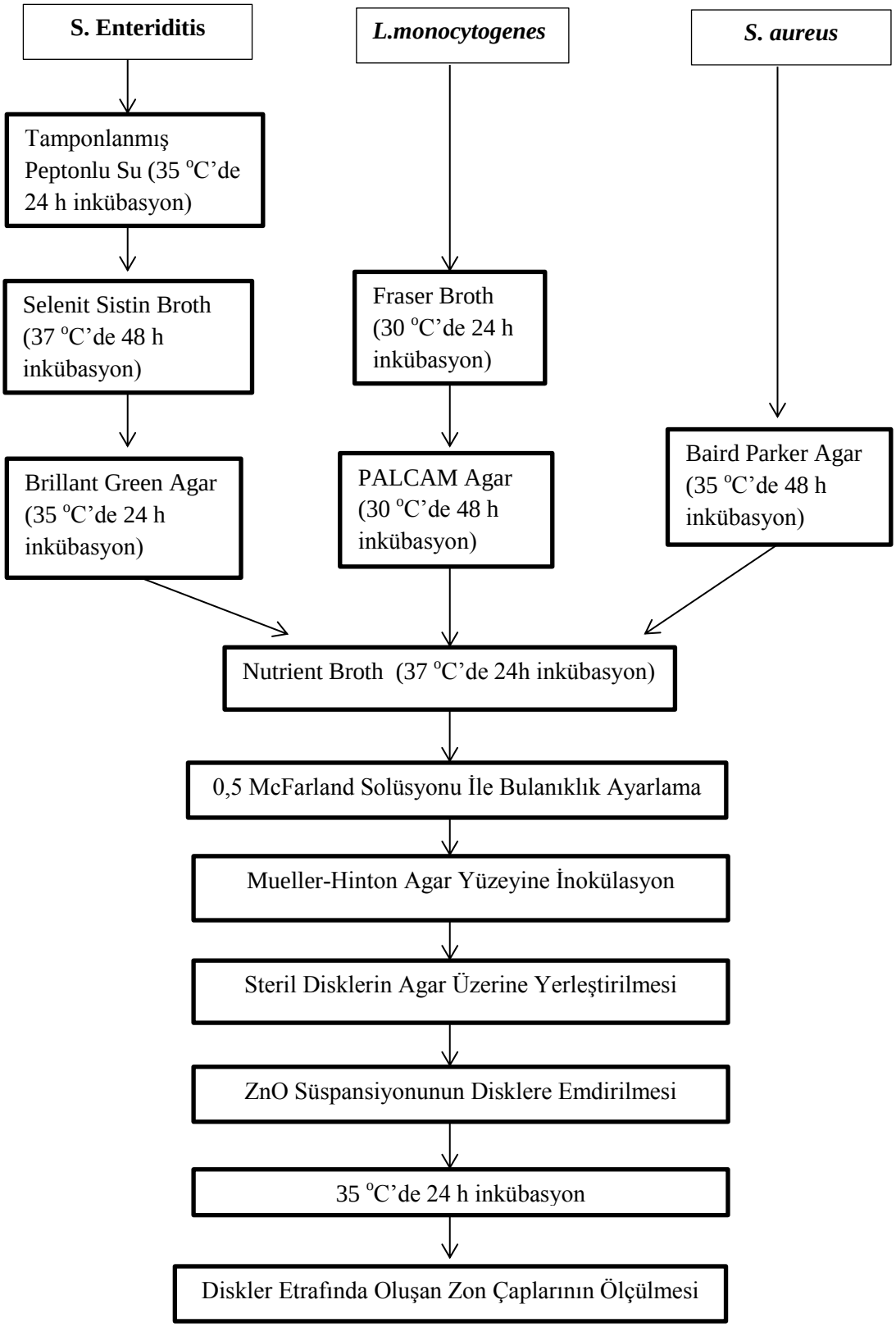
Antibakteriyel aktivite tayini için her mikroorganizma kendine has besiyeri ortamında geliştirilerek aktive edilmiştir.

S. aureus bakterileri Baird Parker Agar besiyerinde 35 ^{o}C'de 48 h saat inkübe edilmiştir. Agar üzerinde oluşan siyah-gri, parlak, düzgün koloniler seçilmiştir.

L. monocytogenes bakterileri için Fraser Broth besiyerinde 30 ^{o}C'de 24 h inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemi yapılmıştır. Daha sonra hazırlanan PALCAM Agar besiyerine sürme işlemi yapılıp 30^{o}C'de 48 h saat inkübe edilmiştir.

S. Enteriditis bakterileri, Tamponlanmış Peptonlu Su içerisinde 35 ^{o}C'de 24 h saat inkübe edilmiştir. Daha sonra Selenit Broth besiyerine 1 ml inokülasyon yapılarak 35 ^{o}C'de 24 h inkübe edilmiştir. Brillant Green Agar besiyerine sürme işlemi yapılarak 37 ^{o}C'de 48 h inkübe edilmiştir. Oluşan şeffaf, düzgün koloniler seçilmiştir. Selenit Broth ve Brillant Green agar besiyerleri, hazır olarak temin edilmiştir.

Kendine has ortamlarda geliştirilen mikroorganizmalar, antibakteriyel aktivite tayini için Nutrient Broth besiyerine inoküle edilirler. Bir öze yardımıyla seçilen düzgün koloniler broth ortama aktarılır, 37 ^{o}C'de inkübe edilir (Akçelik M. 2000).



Şekil 3.8. Antibakteriyel aktivite tayininde izlenen adımlar

Antibakteriyel aktivite testlerinde standart 0,5 McFarland solüsyonu (10^8 mikroorganizma/mL) kullanılır. McFarland standartları, bir sıvı besiyerinde bulunan bakteri sayısını belirlemek amacıyla geliştirilmiştir. McFarland'ın baryum klorür ($BaCl_2$) ve sülfürik asit (H_2SO_4) kullanarak geliştirdiği standart bulanıklık tüpleri, sıvı bir besiyerine ekilen bakterinin miktarına eşdeğer bulanıklık derecelerini içerir. McFarland standardı ile karşılaştırılacak bakteri süspansiyonu iyi bir ışık altında beyaz zeminde yer alan siyah bantlar üzerinde karşılaştırılır. Bakteri süspansiyonunun yer aldığı tüp ve McFarland tüpünün bulanıklığı eşit ise süspansiyonda hedeflenen bakteri sayısı elde edilmiş olduğu kabul edilir. Bulanıklık eşit değil ise bakteri süspansiyonuna bakteri ilave ederek veya süspansiyon seyreltilerek bulanıklığın eşitlenmesi sağlanır (URL-4).

Bu süspansiyondan alınan örnek Mueller-Hinton Agar yüzeyine inoküle edilmiştir. Bunun için steril bir eküvyon, ayarlanmış inoküluma daldırılmış ve fazla sıvının akması için eküvyon, tüpün iç üst duvarına bastırılarak birkaç kez döndürülmüştür. Mueller-Hinton Agar plağının yüzeyi tamamı üç kez çizilerek ekim yapılmıştır. Eşit bir inokülasyon elde etmek için her çizimden sonra plak 60 ° döndürülmüştür. 6 mm çapındaki steril diskler pens aracılığıyla aseptik koşullar sağlanarak agar üzerine yerleştirilmiştir. Bu işlem yapılırken, oluşacak zonların birbiri üzerine gelmemesi için diskler arasında 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık olmasına dikkat edilmiştir. ZnO süspansiyonu mikropipet (100 µL) yardımıyla diske emdirilmiştir. Kontrol amaçlı bir adet boş disk ve sadece saf su emdirilmiş disk de agar üzerine ayrıca yerleştirilmiştir. Daha sonra besiyerleri 24 saat süreyle 35 ºC'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan inhibisyon zonları cetvel yardımıyla ölçülürek antibakteriyel aktivite belirlenmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmanın özeti olarak Tablo 4.1'de tüm deney sonuçları verilmektedir. Yorumların yapılabilmesi için söz konusu tablo tek başına yeterli değildir. Yorumlar için istatistiksel bazı hesaplamalara da ihtiyaç duyulmaktadır. Taguchi deney tasarımı ile yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin yorumlanması amacı ile yapılan hesaplamalar ve grafik çizimleri için Minitab 17 programından faydalanılmıştır.

Tablo 4.1. Taguchi L9 Deney Tasarımına göre deney sonuçları

FAKTÖRLER VE SEVİYELERİ							
	A	**B**	**C**	**Tekrar Sayısı**			
Deney	**ZnO Tipi**	**[ZnO] (mg/mL)**	**Hedef Mikroorganizma**	**1 (mm)**	**2 (mm)**	**3 (mm)**	**Ortalama Değer (mm)**
1	N1	0,1	*L. monocytogenes*	28	32	24	28
2	N1	0,075	*S.aureus*	24	26	18	22,7
3	N1	0,05	S.Enteriditis	12	8	10	10
4	N2	0,1	*S. aureus*	34	28	28	30
5	N2	0,075	S.Enteriditis	14	10	16	13,3
6	N2	0,05	*L.monocytogenes*	16	18	20	18
7	N3	0,1	S. Enteriditis	14	16	20	16,7
8	N3	0,075	*L.monocytogenes*	18	12	22	17,3
9	N3	0,05	*S.aureus*	24	20	22	22

Bu çalışmada "en büyük değer en iyidir" durumunda kullanılan (1.2) numaralı eşitlik tercih edilmiştir. Minitab 17 programı kullanılarak elde edilen değerler Tablo 4.4'te verilmektedir. Bu tablodaki "delta", seviyeler arasındaki en büyük ve en küçük değerin farkını; "rank" değeri ise bu farkların sıralamasını ifade etmektedir. Bu sıralamaya göre sonucu en çok etkileyen faktörün hangisi olduğu belirlenebilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda her üç faktörün de sonuç üzerinde etkili olduğu görülmektedir.

Her iki çizelgede elde edilen yanıtlara bakıldığında A faktörü için 2. seviyenin (N2); B faktörü için 1. seviyenin (0,1 g/mL konsantrasyon); C faktörü için 2. seviyenin (*S. aureus*) en etkili seviyeler olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 4.2. Taguchi L9 Deney Tasarımına göre hesaplanan sinyal/gürültü oranı yanıt tablosu

Seviye	A (ZnO Tipi)	B (ZnO Konsantrasyonu)	C (Hedef Mikroorganizma)
1	25,35	**27,65**	26,27
2	**25,71**	24,79	**27,84**
3	25,35	23,98	22,31
Delta	0,35	3,66	5,53
Rank	3	2	1

Tablo 4.3. Taguchi L9 Deney Tasarımına göre hesaplanan ortalama değerler yanıt tablosu

Seviye	A (ZnO Tipi)	B (ZnO Konsantrasyonu)	C (Hedef Mikroorganizma)
1	20,23	**24,90**	21,10
2	**20,43**	17,77	**24,90**
3	18,67	16,67	13,33
Delta	1,77	8,23	11,57
Rank	3	2	1

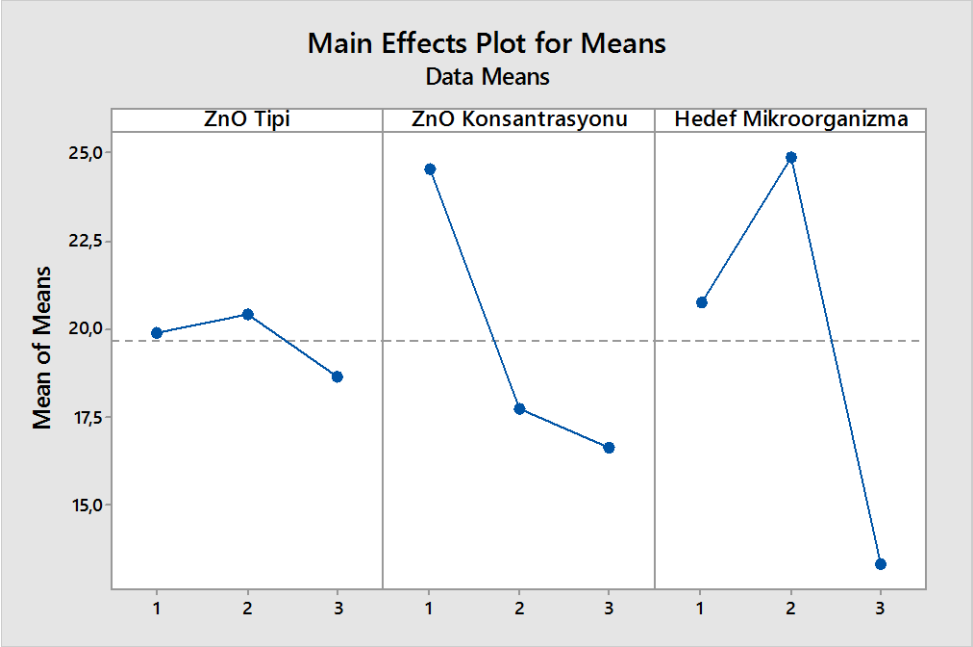
Faktörlerin yanıt üzerindeki etkisini araştırmak için hipotez testi yapılmıştır. Hipotez testine göre sıfır hipotezi, H_0 faktörlerin yanıt üzerinde etkisiz olduğunu alternatif olan H_1 hipotezi ise faktörlerin yanıt üzerinde etkili olduğunu ifade etmektedir. Hipotez testi için Minitab programı yardımıyla P değerleri hesaplanmıştır. %95 güven seviyesinde P değerinin 0,05'ten büyük olduğu durumda H_0 hipotezi, aksi durumda ise H_1 hipotezi geçerli kabul edilmiştir.

Tablo 4.4. Varyans Analizi Tablosu

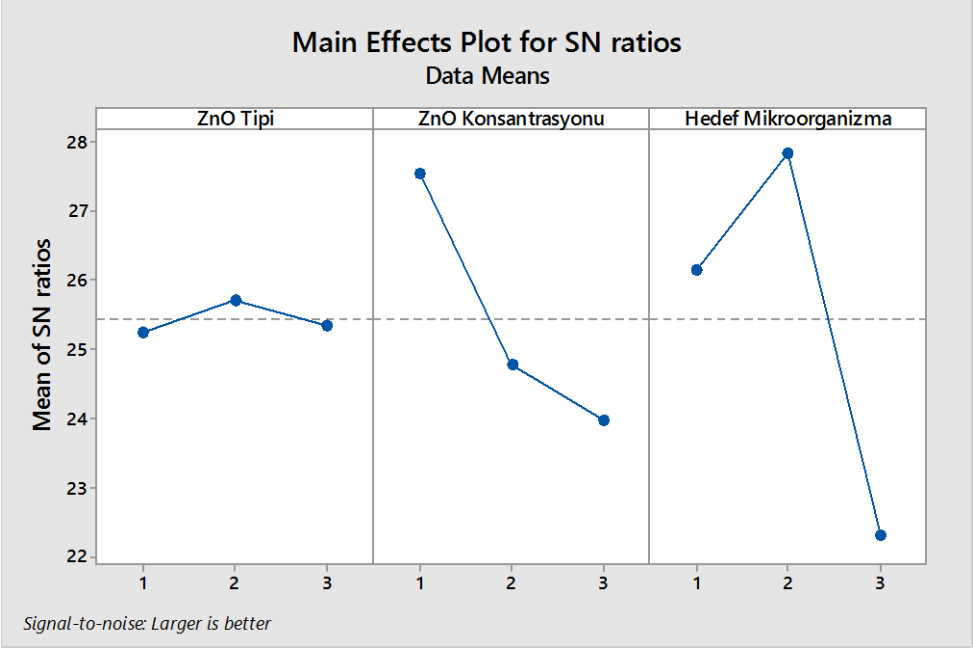
	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri	Serbestlik Derecesi
ZnO Tipi	5,62	2,81	0,71	0,584	2
ZnO Konsantrasyonu	119,882	59,94	15,23	0,062	2
Hedef Mikroorganizma	208,549	104,274	26,50	0,036	2

Hesaplanan P değerleri; ZnO partikülü için 0,584; ZnO konsantrasyonu için 0,062; Hedef mikroorganizma için ise 0,036 şeklindedir (Tablo 4.4). Bu durumda sonucu etkileyen en önemli faktörün hedef mikroorganizma olduğu görülmektedir. ZnO partiküllerine karşı en hassas olan bakterinin *S. aureus* olduğu görülmektedir. En dayanıklı bakteri ise S. Enteriditis olmaktadır. ZnO konsantrasyonunun etkisi için P değeri sınıra yakın bir değer olmakla beraber, sonuç üzerinde etkili olduğu Şekil 4.1 ve

Şekil 4.2'deki grafiklerden de anlaşılmaktadır. Beklendiği üzere ZnO konsantrasyonunun bakteri kolonisi etrafında oluşan inhibisyon zon çapını arttırıcı bir etki bırakmaktadır.



Şekil 4.1. Taguchi deney tasarımına göre ortaya çıkan ana-etki grafikleri: 1, 2 ve 3 numaralı faktörlere ait seviyeler



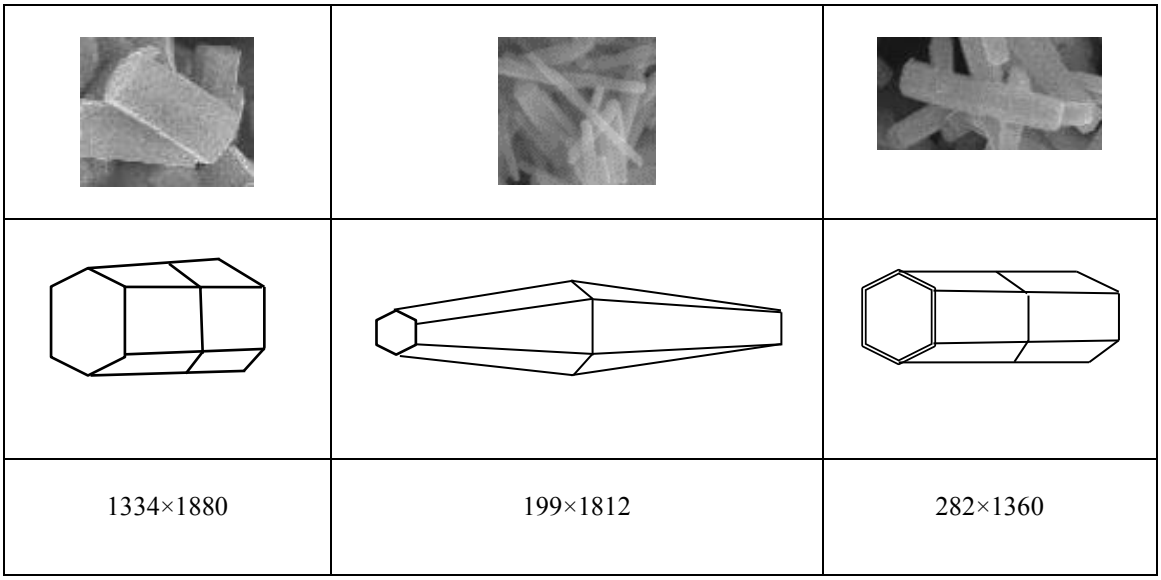
Şekil 4.2. Taguchi deney tasarımına göre ortaya çıkan sinyal/gürültü oranı grafikleri: 1, 2 ve 3 numaralı faktörlere ait seviyeler

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan deneylerin istatiksel sonuçları incelendiğinde en güçlü antibakteriyel etkinin N2 örneğinin 0,1 mg/mL konsantrasyonda *S. aureus* bakterisi için kullanılmasıyla elde edildiği görülmektedir.

Deney sonuçları incelendiğinde ZnO konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma kolonileri etrafında oluşan inhibisyon zonu çapının da arttığı açıkça görülmektedir.

Çinko oksitin morfolojisi, kristal boyutu ve yüzey alanı antibakteriyel aktiviteyi etkileyen önemli faktörler arasındadır. Daha önce yapılmış olan çalışmalar ZnO kristallerinin boyutunun ve yüzey alanının antibakteriyel aktivite üzerine etkili olduğunu göstermektedir; partikül boyutu küçüldükçe ve yüzey alanı arttıkça antibakteriyel etki artmaktadır (Yamamoto 2001; Tayel et al. 2011; Raghupathi, Koodali, and Manna 2011). Bu çalışmada ise 0,1098 ile en küçük en/boy oranına sahip olan N2 örneğinin en güçlü etkiyi gösterdiği görülmektedir. Şekil 5.1'de her üç ZnO kristaline ait SEM görüntüleri ve morfolojileri görülmektedir. N2'nin sahip olduğu şeklin ZnO partiküllerinin hücre duvarı ile daha kolay etkileşime girmesini sağlayan bir faktör olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 5.3. Kullanılan ZnO kristal şekilleri

Yapılan deneyler sonucunda en güçlü antibakteriyel etkinin *S. aureus* bakterisi üzerinde, en az etkinin ise S. Enteriditis bakterisi üzerinde gerçekleştiği görülmektedir. *S. aureus*, Gram pozitif, S. Enteriditis ise Gram negatif bir bakteridir ve bu mikroorganizmaların ZnO'in antibakteriyel etkisine karşı hassasiyet farkı da bu durumdan kaynaklanmaktadır. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre yapısındaki farklılık bu etkinin sebebi olarak gösterilmektedir.

Yapılan deneyler ve istatiksel çalışmalar ile en fazla antibakteriyel duyarlılığa sahip olan *S. aureus* üzerinde en etkili olan ZnO tipinin N3 (0,05 mg/mL ile 22 mm zon oluşumu) olarak kodlanmış olan tip olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla N2 (0,1 mg/mL ile 30 mm zon oluşumu) ve N1 (0,075 mg/mL ile 22,7 mm zon oluşumu) izlemektedir.

Antibakteriyel duyarlılık sıralamasında ikinci sırada yer alan *L. monocytogenes* üzerinde etkili olan ZnO tipinin yine N2 (0,05 mg/mL ile 18 mm zon oluşumu) olduğu görülmektedir. Bunu 0,1 g/mL konsantrasyonda 28 mm zon oluşumu ile N1 ve 0,075 mg/mL konsantrasyonda 17,3 mm zon oluşumu ile N3 izlemektedir.

En fazla direnç gösteren mikroorganizmanın ise S. Enteriditis olduğu görülmektedir. N2 (0,075 mg/mL ile 13,3 mm zon oluşumu) ve N3'ün (0,1 mg/mL ile 16,7 mm zon oluşumu) S. Enteriditis üzerinde yaklaşık olarak aynı etkiyi gösterdiği gözlemlenmektedir. En az etkiyi ise 0,05 mg/mL kullanıldığında 10 mm inhibisyon zonu oluşumuna sebep olan N1 göstermiştir.

ZnO'in mikroorganizmalar üzerinde öldürücü ya da gelişmelerini yavaşlatıcı etki göstermesi, ROS üretimi ve ZnO ile hücre duvarı arasında oluşan elektrostatik etkileşimler sayesinde olmaktadır. ZnO suda çözünebilen bir madde olmadığından Zn^{+2} iyonlarının aktif hale geçerek antibakteriyel etki göstermesinin söz konusu olmadığı yapılan çalışmalarla da ispatlanmıştır (Song et al. 2010; Sirelkhatim et al. 2015).

KAYNAKLAR

Adams, Laura K, Delina Y Lyon, and Pedro JJ Alvarez. 2006. 'Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO 2, SiO 2, and ZnO water suspensions', *Water research*, 40: 3527-32.

Akbaş, Ahmet Muhammed. 2015. 'Çinko-Oksit (Zno) İnce Filmlerin Sentezlenmesi ve Fotovoltaik Özelliklerinin İncelenmesi'.

Akçelik M., Çakır İ., Doğan H.B., Gürgün V., Halkman A.K., Kaleli D., Kuleaşan H., Özkaya D. F., Tunail N., Tükel Ç. 2000. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları* (Ankara Üniversitesi: Ankara).

Akçelik, Mustafa. Ayhan, K. Çakır, İ. Doğan, H.B. Gürgün, V. Halkman, A. K. Kaleli, D. Kuleaşan, H. Özkaya, D. F. Tunail, N. ve Tükel, Ç. 2000. *Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları.* (Ankara Üniversitesi: Ankara).

Akın, Muhammed Bora. 2011. 'Çinko oksit kristalizasyonunun polielektrolitlerle kontrolü', YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.

Avşar, Cemre. 'Gözenekli Çinko Oksit Elektrotların Elektrodepozisyonu ve Gözenekli Çinko Oksit Filmlerin Karakterizasyonu'.

Aydin Sevinç, Berdan Hanley, and Luke. 2010. 'Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles', *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 94: 22-31.

Babapour, Arta. 2013. 'Doğal Kauçuk Bütadiene Kauçuk Esaslı Silecek Malzemelerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu', Hacettepe Üniversitesi.

Baynal, Kasım, and İlknur Gencel. 2015. 'Taguchi yönteminin gıda sektöründe çok yanıtlı problemin eniyilemesinde uygulanması', *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19: 107-21.

Belaidi, A, Th Dittrich, D Kieven, J Tornow, K Schwarzburg, M Kunst, N Allsop, M-Ch Lux-Steiner, and S Gavrilov. 2009. 'ZnO-nanorod arrays for solar cells with extremely thin sulfidic absorber', *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 93: 1033-36.

Çeber, Yasemin. 2010. 'Hata türü ve etkileri analizi yönteminin (FMEA) üretim sektöründe uygulanması', DEÜ Sosyal Bilimleri Enstitüsü.

Depaz, Michael. 2007. 'Processing and characterization of zinc oxide thin films', University of South Florida

Dölen, Dr. Emre. 2002. *Analitik kimyaya giriş* (Marmara Üniversitesi).

Dutta, RK, Bhavani P Nenavathu, Mahesh K Gangishetty, and AVR Reddy. 2012. 'Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94: 143-50.

Espitia, Paula Judith Perez, Nilda de Fátima Ferreira Soares, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Nélio José de Andrade, Renato Souza Cruz, and Eber Antonio Alves Medeiros. 2012. 'Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications', *Food and Bioprocess Technology*, 5: 1447-64.

Fang, Ming, Ji-Hua Chen, Xiu-Li Xu, Pei-Hong Yang, and Hartmut F Hildebrand. 2006. 'Antibacterial activities of inorganic agents on six bacteria associated with oral infections by two susceptibility tests', *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27: 513-17.

Frederickson, Christopher J, Jae-Young Koh, and Ashley I Bush. 2005. 'The neurobiology of zinc in health and disease', *Nature Reviews Neuroscience*, 6: 449-62.

Gökçe, B, and S Taşgetiren. 2009. 'Design of experiment for quality', *Technol Res: EJMT*, 1: 71-83.

Gülay, Zeynep. 2002. 'Antibiyotik duyarl| l| k testlerinin yorumu', *Tur Toraks Der*, 3: 75-88.

Heideman, Geert. 2004. *Reduced zinc oxide levels in sulphur vulcanisation of rubber compounds: mechanistic aspects of the role of activators and multifunctional additives* (University of Twente).

Hirota, Ken, Maiko Sugimoto, Masaki Kato, Kazuhiko Tsukagoshi, Tooru Tanigawa, and Hiroshi Sugimoto. 2010. 'Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions', *Ceramics international*, 36: 497-506.

Hong, RY, LL Chen, JH Li, HZ Li, Y Zheng, and J Ding. 2007. 'Preparation and application of polystyrene-grafted ZnO nanoparticles', *Polymers for Advanced Technologies*, 18: 901-09.

İç, Yusuf Tansel, and Sebla Yildirim. 2012. 'Çok Kriterli Karar Verme Yöntemleriyle Birlikte Taguchi Yöntemini Kullanarak Bir Ürünün Tasariminin Geliştirilmesi', *Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 27.

Imai, Osamu, and Ritsu Sato. 1993. "Process for manufacturing a voltage non-linear resistor and a zinc oxide material to be used therefor." In.: Google Patents.

Jin, T, D Sun, JY Su, H Zhang, and H-J Sue. 2009. 'Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against Listeria monocytogenes, Salmonella Enteritidis, and Escherichia coli O157: H7', *Journal of food science*, 74: M46-M52.

Klingshirn, C. 2007. 'ZnO: From basics towards applications', *physica status solidi (b)*, 244: 3027-73.

Li, Li-Hua, Jian-Cheng Deng, Hui-Ren Deng, Zi-Ling Liu, and Xiao-Li Li. 2010. 'Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films', *Chemical Engineering Journal*, 160: 378-82.

Li, Xihong, Yage Xing, Yunhong Jiang, Yulong Ding, and Weili Li. 2009. 'Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens', *International journal of food science & technology*, 44: 2161-68.

Liu, Yangshuo, and Hyung-Il Kim. 2012. 'Characterization and antibacterial properties of genipin-crosslinked chitosan/poly (ethylene glycol)/ZnO/Ag nanocomposites', *Carbohydrate polymers*, 89: 111-16.

Moezzi, Amir, Andrew M McDonagh, and Michael B Cortie. 2012. 'Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications', *Chemical Engineering Journal*, 185: 1-22.

Ohira, Toshiaki, Osamu Yamamoto, Yasuhiro Iida, and Zenbe-e Nakagawa. 2008. 'Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation', *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19: 1407-12.

Oves, Mohammad. 2012. 'Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study', *IJNM*.

Özbay, Emre, and Handan Gülce. 2014. 'Çinko oksit nanopartikülleri sentezi ve karakterizasyonu', *Selcuk University Journal of Engineering, Science and Technology*, 2: 1-5.

Özer, M. Ozan. 2006. 'Şekil ve boyut kontrollü çinko oksit tozunun solvotermal yöntemle sentezlenmesi. ', Anadolu Üniversitesi.

Özgür, Ü, Ya I Alivov, Chunli Liu, A Teke, MAn Reshchikov, S Doğan, VCSJ Avrutin, S-J Cho, and H Morkoc. 2005. 'A comprehensive review of ZnO materials and devices', *Journal of applied physics*, 98: 11.

Padmavathy, Nagarajan, and Rajagopalan Vijayaraghavan. 2008. 'Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study', *Science and Technology of Advanced Materials*, 9: 035004.

Polat, Süleyman, and Hasan Fenercioğlu. 2014. 'Gıda Ambalajlamasında Nanoteknoloji Uygulamaları: İnorganik Nanopartiküllerin Kullanımı', *Gıda Dergisi*, 39.

Porter, Frank C. 1991. *Zinc handbook: properties, processing, and use in design* (CRC Press).

Premanathan, Mariappan, Krishnamoorthy Karthikeyan, Kadarkaraithangam Jeyasubramanian, and Govindasamy Manivannan. 2011. 'Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation', *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7: 184-92.

Queiroz, Alexandra Mussolino de, Paulo Nelson Filho, Léa Assed Bezerra da Silva, Sada Assed, Raquel Assed Bezerra da Silva, and Izabel Yoko Ito. 2009. 'Antibacterial activity of root canal filling materials for primary teeth: zinc oxide and eugenol cement, Calen paste thickened with zinc oxide, Sealapex and EndoREZ', *Brazilian dental journal*, 20: 290-96.

Raghupathi, Krishna R, Ranjit T Koodali, and Adhar C Manna. 2011. 'Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles', *Langmuir*, 27: 4020-28.

Rajendra, R, C Balakumar, HA Mohammed Ahammed, S Jayakumar, K Vaideki, and E Rajesh. 2010. 'Use of zinc oxide nano particles for production of antimicrobial textiles', *International Journal of Engineering, Science and Technology*, 2: 202-08.

Rekha, K, M Nirmala, Manjula G Nair, and A Anukaliani. 2010. 'Structural, optical, photocatalytic and antibacterial activity of zinc oxide and manganese doped zinc oxide nanoparticles', *Physica B: Condensed Matter*, 405: 3180-85.

Savaşkan, Metin. 2015. 'Deney Tasarımı Yöntemlerinin Karşılaştırmalı Kullanımı İle İnce Sert Seramik Kaplı Matkap Uçlarının Performans Değerlendirmesi Ve Optimizasyonu', Fen Bilimleri Enstitüsü.

Sawai, Jun, Emiko Kawada, Fumio Kanou, Hideo Igarashi, Atsushi Hashimoto, Takao Kokugan, and Masaru Shimizu. 1996. 'Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity', *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 29: 627-33.

Sawai, Jun, Shinobu Shoji, Hideo Igarashi, Atsushi Hashimoto, Takao Kokugan, Masaru Shimizu, and Hiromitsu Kojima. 1998. 'Hydrogen peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry', *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 86: 521-22.

Selvam, S, R Rajiv Gandhi, J Suresh, S Gowri, S Ravikumar, and M Sundrarajan. 2012. 'Antibacterial effect of novel synthesized sulfated β-cyclodextrin crosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with ZnO, TiO 2 and Ag nanoparticles coating', *International journal of pharmaceutics*, 434: 366-74.

Selvam, Samayanan, and Mahalingam Sundrarajan. 2012. 'Functionalization of cotton fabric with PVP/ZnO nanoparticles for improved reactive dyeability and antibacterial activity', *Carbohydrate polymers*, 87: 1419-24.

Sirelkhatim, Amna, Shahrom Mahmud, Azman Seeni, Noor Haida Mohamad Kaus, Ling Chuo Ann, Siti Khadijah Mohd Bakhori, Habsah Hasan, and Dasmawati Mohamad. 2015. 'Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism', *Nano-Micro Letters*, 7: 219-42.

Song, Wenhua, Jinyang Zhang, Jing Guo, Jinhua Zhang, Feng Ding, Liying Li, and Zengtian Sun. 2010. 'Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles', *Toxicology letters*, 199: 389-97.

Tayel, Ahmed A, WAEL F EL-TRAS, Shaaban Moussa, ASHRAF F EL-BAZ, Hoda Mahrous, Mohammed F Salem, and Leon Brimer. 2011. 'Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens', *Journal of Food Safety*, 31: 211-18.

Toygun, Şafak, Gülhan Köneçoğlu, and Yasemen Kalpaklı. 2013. 'General principles of sol-gel', *Sigma*, 31: 456-76.

Vasanthi, M, K Ravichandran, N Jabena Begum, G Muruganantham, S Snega, A Panneerselvam, and P Kavitha. 2013. 'Influence of Sn doping level on antibacterial activity and certain physical properties of ZnO films deposited using a simplified spray pyrolysis technique', *Superlattices and Microstructures*, 55: 180-90.

Wahab, Rizwan, Maqsood A Siddiqui, Quaiser Saquib, Sourabh Dwivedi, Javed Ahmad, Javed Musarrat, Abdulaziz A Al-Khedhairy, and Hyung-Shik Shin. 2014. 'ZnO nanoparticles induced oxidative stress and apoptosis in HepG2 and MCF-7 cancer cells and their antibacterial activity', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 117: 267-76.

WHO. 1996. *Trace elements in human nutrition and health* (World Health Organization).

Yamamoto, Osamu. 2001. 'Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide', *International Journal of Inorganic Materials*, 3: 643-46.

Yamamoto, Osamu, Jun Sawai, and Tadashi Sasamoto. 2000. 'Change in antibacterial characteristics with doping amount of ZnO in MgO–ZnO solid solution', *International Journal of Inorganic Materials*, 2: 451-54.

Yu, Jiaguo, and Xiaoxiao Yu. 2008. 'Hydrothermal synthesis and photocatalytic activity of zinc oxide hollow spheres', *Environmental science & technology*, 42: 4902-07.

Zhang, Lingling, Yunhong Jiang, Yulong Ding, Nikolaos Daskalakis, Lars Jeuken, Malcolm Povey, Alex J O'Neill, and David W York. 2010. 'Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against E. coli', *Journal of Nanoparticle Research*, 12: 1625-36.

Zhang, Lingling, Yunhong Jiang, Yulong Ding, Malcolm Povey, and David York. 2007. 'Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids)', *Journal of Nanoparticle Research*, 9: 479-89.

Zong, Ying, Yali Cao, Dianzeng Jia, Shujuan Bao, and Yi Lu. 2010. 'Facile synthesis of Ag/ZnO nanorods using Ag/C cables as templates and their gas-sensing properties', *Materials Letters*, 64: 243-45.

URL-1. 'www.zinc.org, Erişim Tarihi: 03.04.2017.'.

URL-2. 'http://www.electronics-tutorials.ws/resistor/varistor.html'. Erişim Tarihi: 11.05.2017.
URL-3. 'http://www.mikrobiyoloji.org.'. Erişim Tarihi: 28.04.2017.
URL-4. 'https://www.researchgate.net/figure/223297596_fig1_Fig-1-a-Schematic-of-French-process-furnace-and-b-furnace-in-operation'. Erişim Tarihi: 20.05.2017.
URL-5. 'https://yusufbilgen.wordpress.com/2015/01/16/ince-film-teknikleri/'. Erişim Tarihi: 20.05.2017.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Türkan Akyüz
Doğum Yeri	: Çankırı
Doğum Tarihi	: 14.07.1982
Medeni Hali	: Evli
Yabancı Dili	: İngilizce
Adres	: Aksu Mah. Zübeyde Hanım Cad. Kıbır Apt. No:3 Çankırı
Tel	: 0 543 334 56 73
E-posta	: turkanozakyuz@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise	: Çankırı Süleyman Demirel Fen Lisesi 1997-2000
Lisans	: Ankara Üniversitesi/Mühendislik Fakültesi/Gıda Mühendisliği 2000-2004
Yüksek Lisans	: Çankırı Karatekin Üniversitesi/Mühendislik Fakültesi/Kimya Mühendisliği 2013-2017

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

- Aytaç Süt Fabrikası 2004-2007
- Celal Ayhan Kutu Mat. ve Amb. San. Tic. Ltd. Şti 2008-2010
- A.G.A. Yemekçilik Gıda İnşaat Taahhüt Turizm Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti. 2015-2017