

# Metode sinteze i karakterizacije ZnO nanostruktura za biomedicinsku primjenu

---

Midenjak, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:716861>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-30**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**METODE SINTEZE I KARAKTERIZACIJE ZnO NANOSTRUKTURA ZA  
BIOMEDICINSKU PRIMJENU**

**ZAVRŠNI RAD**

**ANA MIDENJAK**

**Matični broj: 1115**

**Split, rujan 2020.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE**  
**KEMIJSKO INŽENJERSTVO**

**METODE SINTEZE I KARAKTERIZACIJE ZnO NANOSTRUKTURA ZA  
BIOMEDICINSKU PRIMJENU**

**ZAVRŠNI RAD**

**ANA MIDENJAK**

**Matični broj: 1115**

**Split, rujan 2020.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY**  
**CHEMICAL ENGINEERING**

**METHODS OF SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ZnO  
NANOSTRUCTURES FOR BIOMEDICAL APPLICATION**

**BACHELOR THESIS**

**ANA MIDENJAK**

**Parent number: 1115**

**Split, September 2020**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučiliste u Splitu

Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu

Kemijsko inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Tehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Kemijsko inženjerstvo

**Tema rada:** je prihvaćena na 28. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta.

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Magdy Lučić Lavčević

### METODE SINTEZE I KARAKTERIZACIJE ZnO NANOSTRUKTURA U BIOMEDICINSKOJ PRIMJENI

Ana Midenjak, 1115

**Sažetak:** Nanomaterijali se sve više primjenjuju u biomedicini, a među njima se posebno ističe cinkov oksid, zbog svojih kemijskih, fizikalnih i mehaničkih svojstava, kao i zbog zanimljivih struktura na mikro- i nanoskali različite funkcionalnosti. One pokazuju terapijsko djelovanje kod liječenja raka, dijabetesa, mikrobnih infekcija i rana, a primjenjive su i u dijagnostici oslikavanjem te kao senzori. Morfologije i svojstva tih struktura, a time i njihova funkcionalnost, ovise o tehnikama sinteze. Za kontrolu funkcionalnosti nadalje je potrebna mogućnost precizne morfološke karakterizacije. U radu je dan pregled metoda sinteze i morfološke karakterizacije ZnO, s naglaskom na opisu trodimenzionalnih poroznih hijerarhijskih ZnO struktura. Dan je primjer pripreme i karakterizacije takve strukture, putem elektronske mikroskopije i simultanih GIXRD/GISAXS mjerenja.

**Ključne riječi:** ZnO, nanostrukture, sinteza, karakterizacija

**Rad sadrži:** 31 stranica, 11 slika, 2 tablice, 59 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. prof. dr. sc. Ladislav Vrsalović - predsjednik
2. doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek - član
3. izv. prof. dr. sc. Magdy Lučić Lavčević- član mentor

**Datum obrane:** 28. rujna 2020.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen** u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 33

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## BACHELOR THESIS

**University of Split**

**Faculty of Chemistry and Technology Split**

**Chemical Engineering**

**Scientific area:** Tehnical sciences

**Scientific field:** Chemical engineering

**Thesis subject:** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 28

**Mentor:** PhD Magdy Lučić Lavčević associate professor

### **METHODS OF SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ZnO NANOSTRUCTURES FOR BIOMEDICAL APPLICATION**

Ana Midenjak, 1115

**Abstract:** Nanomaterials are increasingly used in biomedicine, and zinc oxide stands out among them, due to its chemical, physical and mechanical properties, as well as due to interesting structures on micro- and nanoscales of different functionalities. They show a therapeutic effect in the treatment of cancer, diabetes, microbial infections and wounds and are applicable in diagnostics by imaging and as sensors. The morphologies and properties of these structures, and thus their functionality, depend on the synthesis techniques. The possibility of precise morphological characterization is further required to control functionality. The paper gives an overview of the methods of synthesis and morphological characterization of ZnO, with an emphasis on the description of three - dimensional porous hierarchical ZnO structures. An example is given of the preparation and characterization of such a structure, by electron microscopy and simultaneous GIXRD / GISAXS measurements.

**Keywords:** ZnO, nanostructure, synthesis, characterization

**Thesis contains:** 31 pages, 11 pictures, 2 tables, 59 literary references.

**Original in:** Croatian

- |                                                   |              |
|---------------------------------------------------|--------------|
| 1. Ladislav Vrsalović, PhD, full professor        | chair person |
| 2. Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor   | member       |
| 3. Magdy Lučić Lavčević, PhD, associate professor | supervisor   |

**Defence date:** 28<sup>th</sup> of September, 2020

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 33

*Završni rad je izrađen u Zavodu za Fiziku, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Magdy Lučić Lavčević, u razdoblju od lipnja do rujna 2020. godine.*

*Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Magdy Lučić Lavčević na pomoći i savjetima pri izradi ovog završnog rada. Posebne zahvale idu mojoj obitelji i prijateljima koji su mi bili velika potpora kad je to bilo najpotrebnije.*

## **ZADATAK ZAVRŠNOG RADA**

Prikazati pregled metoda sinteze i karakterizacije nanostruktura cinkova oksida, koje se istražuju za biomedicinske primjene, korištenjem dostupne literature.

Posebno se osvrnuti na morfologiju i potencijal trodimenzionalnih poroznih hijerarhijskih ZnO struktura.

Analizirati primjer takve morfologije na uzorku cinkova oksida, sintetiziranom uz pomoć pirolize, metodama pretražne elektronske mikroskopije te simultanog raspršenja i difrakcije rentgenskih zraka pri malom kutu upada.

## **SAŽETAK**

Nanomaterijali se sve više primjenjuju u biomedicini, a među njima se posebno ističe cinkov oksid, zbog svojih kemijskih, fizikalnih i mehaničkih svojstava, kao i zbog zanimljivih struktura na mikro- i nanoskali različite funkcionalnosti. One pokazuju terapijsko djelovanje kod liječenja raka, dijabetesa, mikrobnih infekcija i rana, a primjenjive su i u dijagnostici oslikavanjem te kao senzori. Morfologije i svojstva tih struktura, a time i njihova funkcionalnost, ovise o tehnikama sinteze. Za kontrolu funkcionalnosti nadalje je potrebna mogućnost precizne morfološke karakterizacije. U radu je dan pregled metoda sinteze i morfološke karakterizacije ZnO, s naglaskom na opisu trodimenzionalnih poroznih hijerarhijskih ZnO struktura. Dan je primjer pripreme i karakterizacije takve strukture, putem elektronske mikroskopije i simultanih GIXRD / GISAXS mjerenja.

**Ključne riječi:** ZnO, nanostrukture, sinteza, karakterizacija

## **SUMMARY**

Nanomaterials are increasingly used in biomedicine and zinc oxide stands out among them, due to its chemical, physical and mechanical properties, as well as due to interesting structures on micro- and nanoscales of different functionalities. They show a therapeutic effect in the treatment of cancer, diabetes, microbial infections and wounds and are applicable in diagnostics by imaging and as sensors. The morphologies and properties of these structures, and thus their functionality, depend on the synthesis techniques. The possibility of precise morphological characterization is further required to control functionality. The paper gives an overview of the methods of synthesis and morphological characterization of ZnO, with an emphasis on the description of three - dimensional porous hierarchical ZnO structures. An example is given of the preparation and characterization of such a structure, by electron microscopy and simultaneous GIXRD / GISAXS measurements.

**Keywords:** ZnO, nanostructure, synthesis, characterization

# SADRŽAJ

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| <b>UVOD</b>                                                     | 1  |
| <b>1. OPĆI DIO</b>                                              | 5  |
| 1.1. Svojstva ZnO                                               | 5  |
| 1.2. Sinteza ZnO nanostruktura                                  | 6  |
| 1.2.1. Fizikalne metode                                         | 7  |
| 1.2.2. Kemijske metode                                          | 7  |
| 1.2.3. Biološke metode                                          | 8  |
| 1.2.4. Nekonvencionalne metode                                  | 8  |
| 1.3. Karakterizacija ZnO nanostruktura                          | 9  |
| 1.3.1. Elektronska mikroskopija                                 | 9  |
| 1.3.1.1. SEM (Pretražna elektronska mikroskopija)               | 10 |
| 1.3.1.2. TEM (Transmisijska elektronska mikroskopija)           | 12 |
| 1.3.2. XRD (Rentgenska difrakcija zraka)                        | 13 |
| 1.3.3. SAXS (Raspršenje rentgenskih zraka pri malom kutu upada) | 15 |
| 1.4. 3D strukture sa ZnO nanočesticama                          | 16 |
| 1.4.1. Morfologija 3D struktura                                 | 16 |
| 1.4.2. Konvencionalne metode generiranja                        | 17 |
| 1.4.3. Nekonvencionalne metode generiranja                      | 16 |
| 1.5. Primjeri primjene ZnO nanostruktura u području biomedicine | 18 |
| <b>2. MATERIJALI I METODE</b>                                   | 18 |
| 2.1. Priprema odabranih ZnO nanostruktura                       | 18 |
| 2.2. Karakterizacija ZnO filmova s nanočesticama                | 19 |

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| <b>3. REZULTATI I RASPRAVA .....</b> | <b>21</b> |
| 3.1. SEM mjerenja i analiza.....     | 21        |
| 3.2. GIXRD mjerenja i analiza .....  | 23        |
| 3.3. GISAXS mjerenja i analiza.....  | 25        |
| <b>4. ZAKLJUČAK .....</b>            | <b>26</b> |
| <b>5. LITERATURA.....</b>            | <b>27</b> |

## UVOD

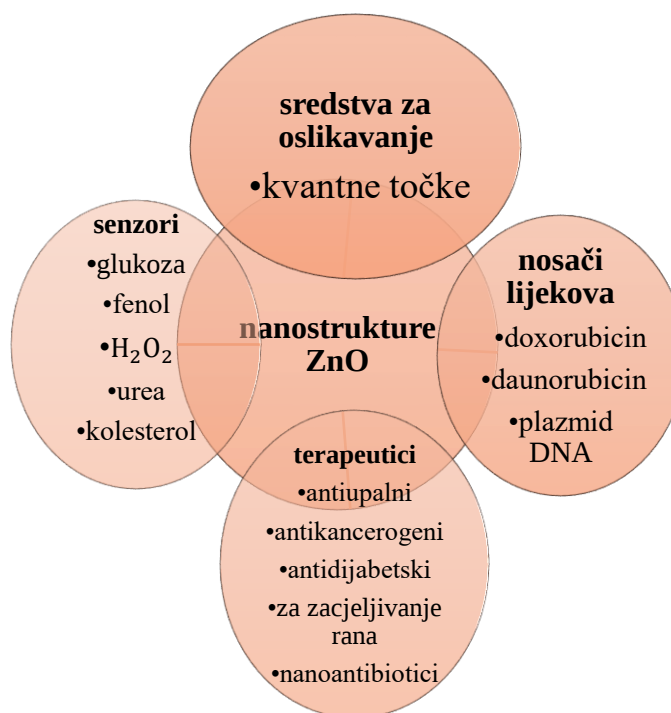
Lijekovi na bazi metala, većinom anorganski nanomaterijali, su proučavani kao sljedeća generacija nanomedicine.<sup>[1,2]</sup> Neki od ovih lijekova uključuju nanostrukture (često nazivane nanočesticama u širem smislu) željezovih oksida ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  or  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), titanijevog dioksida ( $\text{TiO}_2$ ), cerijeva dioksida ( $\text{CeO}_2$ ), bakrova oksida ( $\text{Cu}_2\text{O}$  ili  $\text{CuO}$ ), silicijeva oksida ( $\text{SiO}_2$ ), zlata, srebra, platine i cinkova oksida ( $\text{ZnO}$ ).<sup>[1-4]</sup> Nanoterapeutici na bazi metala imaju kontrolirane značajke kao što su veličina nanostrukture i poroznost koje su vrijedne za biomedicinsku primjenu kao lijekovi i za terapijsko djelovanje. Nanostrukture cinkova oksida se smatraju obećavajućim nanolijekovima na bazi metala, s obzirom na njihovu biokompatibilnost, selektivnost i visoki potencijal.<sup>[2,5,6]</sup> Naveliko se upotrebljavaju kod optičkih i kemijskih senzora te poluvodičkih i piezoelektričnih istraživanja.<sup>[7,8]</sup> Također imaju fotokatalitičku funkcionalnost, koja omogućava da se koriste u pročišćavanju i dezinfekciji.<sup>[9,10]</sup> Iako je  $\text{ZnO}$  kategoriziran kao siguran (GRAS, eng. *Generally Recognized As Safe*) od strane Agencije za hranu ili lijekove Sjedinjenih Američkih Država (US FDA, eng. *United States Food and Drug Administration*).<sup>[11]</sup> on ipak pokazuje neke toksične karakteristike.<sup>[12]</sup> Unatoč toksičnosti, nanočestice  $\text{ZnO}$  se koriste u farmaciji, kozmetici i medicini – prikaz u Tablici 1.<sup>[13]</sup> U farmaceutskoj industriji koristi se u obliku praška kao temelj za proizvodnju pudera, sapuna, paste za zube, masti, zubnih umetaka. Koristi se i u proizvodima za kosu i kožu, kremama, losionima sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja, mastima za opekline.

Tablica 1. Primjene ZnO u medicini, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji

| Kategorija              | Upotreba                                                                                                                                     | Reference |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Farmaceutska industrija | <ul style="list-style-type: none"> <li>•sapun</li> <li>•masti</li> <li>•zubni umetci</li> </ul>                                              | [14]      |
| Kozmetička industrija   | <ul style="list-style-type: none"> <li>•puderi</li> <li>•kreme</li> <li>•losioni sa zaštitnim faktorom</li> <li>•mast za opekline</li> </ul> | [14,15]   |
| Medicinska primjena     | <ul style="list-style-type: none"> <li>•kirurška/industrijska ljepila</li> <li>•punila</li> <li>•zaptivači</li> </ul>                        | [16]      |

Nanostrukture cinkova oksida su također proučavane kao nosači - podloge za lijekove i kao terapeutici u biomedicini, zahvaljujući svojoj biokompatibilnosti. Tako postoje mezoporozne strukture od cinkova i grafenova oksida s česticama titanovog dioksida za ciljani transport lijekova u crijevo.<sup>[17]</sup> Kao terapeutici, nanostrukture ZnO su razvijane za bakterijske infekcije, dijabetes, rane i upale.<sup>[18,19]</sup>

Za potrebe dijagnostike, nanostrukture ZnO su proučavane kao biosenzori. Primjer su nanožice za identifikaciju glukoze<sup>[21]</sup> i nanoštapovi za identifikaciju UV zračenja i vodika.<sup>[22]</sup> Shematski prikaz upotrebe nanostrukture dan je na Slici 1.<sup>[13]</sup>



Slika 1. Shematski prikaz primjene nanostrukture ZnO u biomedicine

Jedinstvena morfologija i struktura nanostrukture ZnO i njihovih sustava – mreža<sup>[22]</sup> većinom ovise o metodi sinteze. Od jednodimenzionalnih (1D) ZnO nanostrukture poznate su nanožice, nanoštapovi, nanopojasevi, nanočešljevi i nanoigle. Nanoplohe i nanolistovi su česti primjeri dvodimenzionalnih (2D) ZnO nanostrukture, a često se pojavljuje i u obliku trodimenzionalnih (3D) cvjetova i pahuljica. Nadalje, ZnO čestice mogu izgraditi 3D sustave - mreže, odnosno porozne hijerarhijske strukture.

U teorijskom dijelu rada, dan je pregled metoda sinteze i karakterizacije ZnO struktura. Veći dio tog opisa slijedi pregled metoda sinteze i karakterizacije ZnO nanostrukture, koji je iznesen u radu S.E. Jina i H.E. Jina.<sup>[13]</sup>

Metode sinteze su kategorizirane kao konvencionalne (fizikalne, kemijske, biološke metode) i nekonvencionalne (zasnovane na mikrofluidnom reaktoru). Također su opisane najčešće korištene metode za morfološku karakterizaciju nanočestica i struktura ZnO, kao što su difrakcija rentgenskih zraka (XRD, eng. *X-ray Duffraction*), pretražna elektronska mikroskopija (SEM, eng., *Scanning Electron Microscopy*), transmisijaska elektronska

mikroskopija (TEM, eng. *Transmission Electron Microscopy*) i raspršenje rentgenskih zraka pri malom kutu upada (SAXS, eng. *Small-angle X-ray scattering*).

Posebno su analizirane 3D porozne hijerarhijske strukture i metode njihove pripreme.

U eksperimentalnom dijelu sintetizirana je 3D porozna hijerarhijska ZnO mikrostruktura cvjetolikog oblika, a elemente strukture čine nanočestice, mikro / nanolatice i pore dimenzija na mikroskopskoj i nanoskopskoj skali. Ova, za primjenu u biomedicine vrlo perspektivna ZnO struktura, detaljno je karakterizirana SEM, XRD i SAXS metodama.

# 1. OPĆI DIO

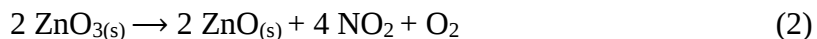
## 1.2. Svojstva ZnO

Cinkov oksid je anorganski spoj koji se pojavljuje kao bijeli prah netopljiv u vodi, ali se otapa u lužinama i kiselinama tj. ima amfoteran karakter. Ima dobra mehanička, kemijska, električna i optička svojstva, ovisno o njegovoj kristalnoj strukturi. U prirodi se nalazi kao cinkit, u obliku heksagonskih kristala. Kristalizira u tri forme: heksagonski (vurcit), kubični (cink-blenda) i kao kubični – struktura kamene soli. Prikazi strukture vurcita i njegove jedinične ćelije su na Slici 2.<sup>[20]</sup>

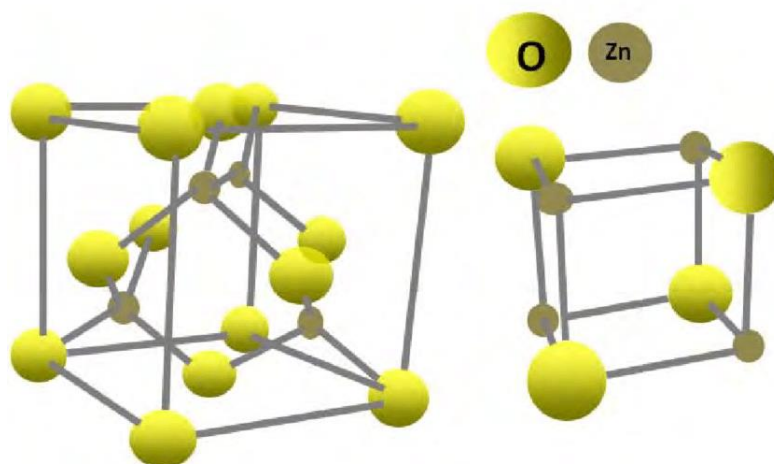
Cinkov oksid nastaje izgaranjem cinkove pare u struji zraka:



Ali se može dobiti i zagrijavanjem nitrata ili hidroksida:



Cinkov oksid ima široku zabranjenu vrpću (3.37 eV) i veliku slobodnu energiju vezanja (60 meV) što znači da lako reagira s većinom elemenata i kemijskih spojeva.



Slika 2. Struktura i jedinična ćelija vurcita

## 1.2. Sinteza ZnO nanostruktura

Metode sinteze nanostruktura ZnO mogu biti konvencionalne ili nekonvencionalne. Dok se fizikalne, kemijske i biološke metode ubrajaju u konvencionalne metode, sinteza u mikrofluidnom reaktoru smatra se nekonvencionalnom. Prednosti i nedostaci navedenih metoda sinteza prikazane su u Tablici 2. <sup>[13]</sup>

Tablica 2. Metode sinteze nanočestica ZnO

| Metode sinteze                     |                                                                                                                                                                                                                                      | Prednosti                                                                                                                                                                                                         | Nedostaci                                                                                                                              |
|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fizikalne metode                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• upotreba plazme</li><li>• termičko isparavanje</li><li>• fizičko taloženje iz parne faze</li><li>• sonifikacija</li><li>• laserska ablacija</li></ul>                                        | <ul style="list-style-type: none"><li>• niski troškovi</li><li>• jednostavnost postupka</li><li>• bez katalizatora</li><li>• proizvodnja u industrijskim razmjerima</li></ul>                                     | <ul style="list-style-type: none"><li>• kontrola parametara</li></ul>                                                                  |
| Kemijske metode                    | <ul style="list-style-type: none"><li>• upotreba mikroemulzije</li><li>• sol-gel postupak</li><li>• precipitacija</li><li>• hidrotermalna metoda</li><li>• solvotermalna metoda</li><li>• kemijsko taloženje iz parne faze</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• niski troškovi</li><li>• jednostavni uređaji</li><li>• lako modificiranje parametara</li><li>• proizvodnja u industrijskim razmjerima</li><li>• ušteda energije</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• upotreba surfaktanata</li><li>• visoka cijena prekursora</li></ul>                             |
| Biološke metode (“zelena” sinteza) | <ul style="list-style-type: none"><li>• upotreba ekstrakcije biljaka</li><li>• upotreba mikroorganizama</li><li>• biotehniološka metoda</li><li>• biokemijska metoda</li></ul>                                                       | <ul style="list-style-type: none"><li>• alternativa kemijskim metodama</li><li>• ekološke metode</li><li>• jeftina organska otapala</li><li>• netoksičnost</li></ul>                                              | <ul style="list-style-type: none"><li>• stabilnost nanočestica</li><li>• antimikrobna aktivnost</li><li>• nepoznat mehanizam</li></ul> |
| Sinteza u mikrofluidnom reaktoru   | <ul style="list-style-type: none"><li>• uz kontinuirani protok</li><li>• uz nekontinuirani protok</li><li>• uz polukontinuirani protok</li></ul>                                                                                     | <ul style="list-style-type: none"><li>• visokovrijedni dodani proizvodi</li><li>• netoksičnost</li></ul>                                                                                                          | <ul style="list-style-type: none"><li>• kontrola parametara</li></ul>                                                                  |

### 1.2.1. Fizikalne metode

Fizikalne metode uključuju korištenje plazme, fizičko taloženje iz parne faze, termičko isparavanje, sonifikaciju i lasersku ablaciju. Ovi procesi su kemijski čisti i tehnički jednostavni, što ih zapravo čini idealnim za industrijsku proizvodnju.<sup>[21,22,23,24]</sup>

### 1.2.2. Kemijske metode

Kemijske metode uključuju upotrebu mikroemulzije, sol-gel postupak, hidrotermalnu metodu, solvotermalnu metodu, precipitaciju i kemijsko taloženje iz parne faze.<sup>[20,23]</sup> Za dobivanje nanostrukture najčešće se koriste mokre kemijske metode. Tijekom provedbe ovih sinteza u industriji, unatoč toksičnosti se koriste stabilizatori, kako bi kontrolirali veličinu čestica i spriječili aglomeraciju. TEA (triethylamin), oleinska kiselina, tioglicerol i polietilen-glikol su primjeri stabilizatora.<sup>[25]</sup> U mikroemulziji stabilizatori su korišteni kako bi generirali termodinamičke stabilne kapljice iz nemješljivih faza ugljikovodika i vode.

Precipitacija ZnO nanostrukture izvodi se iz cinkova nitrata i cinkova sulfata u reakciji sa natrijevim hidroksidom.<sup>[25]</sup> Također je izvedena korištenjem kiselinom katalizirane esterifikacije cinkova acetata u mješavini 1-pentanolu i m-ksilenu.<sup>[26]</sup>

Hidrotermalna i solvotermalna tehnika uključuju sintezu u zagrijanim vodenim i nevodenim uvjetima.<sup>[27]</sup> Parametri navedenih tehnika utječu na strukturu, morfologiju i grupiranje dobivenih nanočestica ZnO. Tako su hidrotermalnom sintezom dobivene zelene fotoluminescentne nanočestice ZnO.<sup>[28]</sup> Kemijsko taloženje iz pare je jednostavna i uspješna metoda za dobivanje nanočestica ZnO, ali uzrokuje nehomogeni rast struktura.

### 1.2.3. Biološke metode

Biološke metode su obećavajuće alternative za fizikalne i kemijske metode, jer su ekološki prihvatljivije.<sup>[29]</sup> Mikroorganizmi (alge, gljivice, bakterije, fagi, kvasci), DNA, proteini i biljni ekstrakti su opsežno proučavani za sintezu nanostrukture ZnO.<sup>[30,31]</sup> Unatoč tome, biološke metode još nisu u potpunosti istražene i shvaćene. Nanostrukture cinkova oksida mogu biti sintetizirane u odgovarajućim mikroorganizmima koristeći raznovrsne enzime i biokemijske puteve. Za sintezu ZnO nanostrukture u obliku štapova, kocki i iglica korištene su bakterije poput *Bacillus megaterium*, *Halomonas elongata*, *Sphingobacterium thalpophilum* te *Staphylococcus aureus*. Za sintezu sferičnih nanočestica (veličine 25 nm - 61 nm) korištene su gljivice poput *Aspergillus niger* i *Candida albicans*. Ove nanočestice su korištene za antimikrobne primjene i sintezu steroidnog pirazolina. Od kvasaca koji mogu sintetizirati nanostrukture ZnO ističu se *Pichia kudriavzevii* i *Pichia fermentas*. Dobivene su nanostrukture ZnO (10 nm - 61 nm) korištene za antimikrobnu upotrebu. Od algi, *Chlamydomonas reinhardtii* i *Sargassum muticum* su korištene za sintezu i dobiveni su nanoštapovi / nanocvijetovi. Ekstrakti biljaka su privlačni za korištenje kod biološke sinteze metalnih nanostrukture zbog prisutnosti flavonoida, terpenoida i polisaharida.<sup>[23]</sup> *Calotropis procera* (ekstrakt lista), *Matricaria chamomilla* (cvijet) / *Olea europaea* L. (list) / *Lycopersicon esculentum* M. (ekstrakt ploda), *Pelargonium graveolens* i *Thymus vulgaris* (ekstrakt lista) su korištene za sintezu ZnO nanočestica i ZnO-Ag nanokompozita. Nanočestice ZnO sintetizirane iz ekstrakta biljaka su korištene za fotokatalitičku degradaciju bojila i antimikrobnu primjenu.

### 1.2.4. Nekonvencionalne metode (u mikrofluidnom reaktoru)

Mikrofluidni reaktor je umanjeni, nekonvencionalni uređaj za sintezu. Mikrofluidni reaktor kontrolira protok u reakcijskom okolišu dopuštajući tako bolju kontrolu reakcije. Budući da su reaktanti koji se miješaju u mikro-dimenzijama, važnu ulogu za strujanje ima viskoznost, čak veću nego inercijske sile (nizak Reynolds-ov broj  $< 10^2$ ).<sup>[32,33]</sup> Zato se miješanje odvija putem difuzije i laminarnog strujanja. Potrebna je čvrsta kontrola reakcijske

temperature tijekom sinteze nanostrukture. U mikrokanalnom ili mikrofluidnom rektoru, reakcije su kontrolirane sa reducensima i metalnim solima na niskoj temperaturi (15-20°C). Dinamični prekursori su formirani redukcijom nakon miješanja reaktanata. Nukleacija i rast nanostrukture događa se pri višoj temperaturi (80-90°C). Kako bi se proizvele visokokvalitetne nanostrukture s visokim kristalnosti i uskom distribucijom veličina, svaki korak u procesu generacije nanostrukture bi trebao biti kontroliran kroz mali vremenski period i prekinut dolaskom do željenog stadija. Mikrofluidni reaktori imaju nekoliko prednosti u sintezi nanostrukture kao što su mali reaktivni volumen, selektivnost, ekološka prihvatljivost, malo vrijeme reakcije.<sup>[34]</sup> Ovi sustavi su korišteni u industriji za optimizaciju reakcije. Kontrola protoka (kontinuirani ili polukontinuirani) posebice mijenja uvjete reakcije (temperatura, vrijeme, koncentracija) u rektoru kako bi se proizveli visokovrijedni proizvodi sa poboljšanim svojstvima. Metalni oksidi, poluvodiči i kvantne točke su proizvodi sinteze u mikrofluidnom rektoru kao i nanostrukture cinkova oksida.

### **1.3. Karakterizacija ZnO nanostrukture**

Karakterizacija je potrebna kako bi se identificirale značajke nanomaterijala sa ZnO nanostrukturama. Metode za određivanje morfologije u širem smislu - kristalnosti, veličine, oblika i rasporeda strukturnih elemenata, karakteristika površine, specifične površine i poroznosti - uključuju SEM, TEM, XRD i SAXS.

#### **1.3.1. Elektronska mikroskopija**

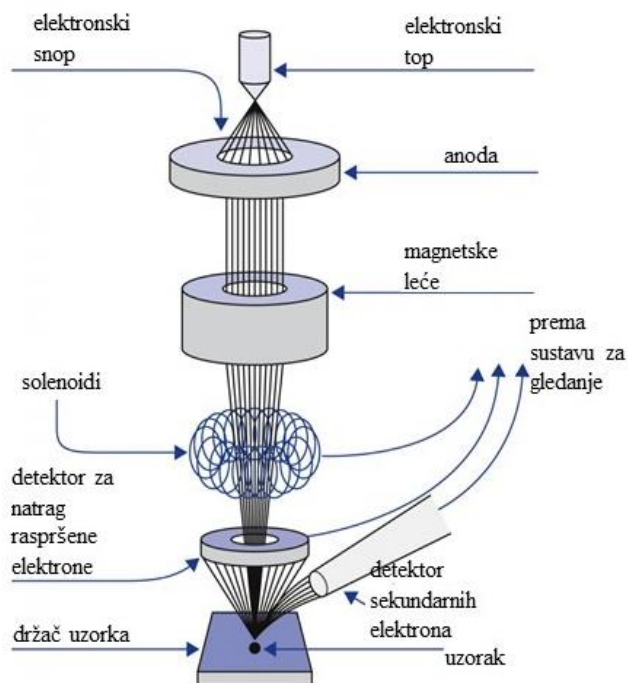
Elektronski mikroskop je naziv za mikroskop koji umjesto svjetlosti upotrebljava snop elektrona. Temelji se na spoznaji sa početka dvadesetog stoljeća, kad je otkriveno da se elektroni ubrzani u vakuumu ponašaju kao svjetlost. Elektrone usmjerava fokusirajuće elektromagnetsko polje. Valna duljina elektrona puno manja od valne duljine fotona vidljive svjetlosti. Zbog te činjenice granica razlučivosti elektronskog mikroskopa je od 0,1 nm do 0,5 nm, dok se kod svjetlosnog kreće od 200 nm do 350 nm. Razlikuju se dva oblika

elektronskog mikroskopa: SEM (pretražni elektronski mikroskop) i TEM (transmisijski elektronski mikroskop).

### 1.3.1.1. SEM (Pretražna elektronska mikroskopija)

SEM je visoko rezolucijska metoda za procjenu čestica po veličini i distribuciji veličina, obliku, agregaciji, disperziji (Cryo-SEM metoda) i kristalnosti (EBSD metoda *electron backscattered diffraction*).<sup>[36]</sup> Koristi se za analizu organskih, anorganskih, bioloških, i raznih kompleksnih materijala. Analiza uključuje i određivanje oblika nanostruktura - nanocijevi, nanopahuljica, nanoštapova, nanovlakana ili bilo kojeg drugog oblika. Za rad SEM-a potreban je vakuum ( $10^{-2}$  Pa pa sve do  $10^{-8}$  Pa, ovisno o namjeni). Osnove rada sastoje se od pretraživanja površine ispitivanog uzorka vrlo preciznim fokusiranim snopom elektrona. Snop elektrona pobuđuje (izbija) elektrone u sastavu atoma uzorka. Signali energija elektrona proizašlih iz uzorka se mjere specijalnim detektorima te se uz pomoć mikroprocesora stvara se trodimenzionalna slika, jedinstvena za element koji se nalazi u uzorku. Signali zapravo dolaze od upadnih elektrona koji se vraćaju kao primarno raspršeni prema natrag ili kao sekundarno raspršeni. Sekundarno raspršeni se većinom koriste za istraživanje površina, a to su zapravo elektroni atoma koji su izbačeni uslijed međudjelovanja s elektronima iz snopa. Oni se lakše detektiraju jer su brojniji i manjih energija. Kontrast u slici sekundarnih elektrona uzrokovan je prvenstveno reljefom površine uzorka. Vrhovi su sjajni, a doline tamne pa je dobivena slika ona koja bi se zapravo dobila vizualno. Primarni elektroni iz snopa imaju veliku energiju, od 50 eV do energije određene naponom ubrzanja elektrona iz snopa. To uzrokuje degradaciju rezolucije slike. Kontrast u slikama primarnih elektrona uzrokovan je razlikama u prosječnom atomskom broju, jer visoki atomski broj odbija više elektrona i stvara svjetlije površine na slici. Takve slike je teže interpretirati, ali daju značajne informacije o sastavu uzorka budući da postotak elektrona raspršenih prema natrag ovisi o rednom broju atoma. Uz pomoć tih podataka, modernim tehnikama se može napraviti analiza reljefa površine ili odrediti kemijski sastav ako se svakom elementu pridruži druga boja. SEM uređaji se sastoje od nekoliko dijelova (Slika 3.)<sup>[37]</sup> kao što su elektronska kolona koja stvara elektrona, komora za uzorke gdje snop elektrona pada na uzorak, detektori koji skupljaju signale od međudjelovanja uzorka i snopa

i sustav za gledanje koji pretvara signale u vidljivu sliku. Elektronska komora se nalazi na vrhu kolone. U njoj elektrostatsko polje usmjerava elektrone koji se emitiraju iz malog dijela površine elektrode, kroz mali otvor na takozvanom Wehnelt-ovom cilindru. Elektronski top ubrzava elektrone prema uzorku energijama od nekoliko stotina do nekoliko desetaka tisuća volti. Postoji nekoliko vrsta elektronskih topova: volfram, LaB<sub>6</sub> (lantan heksaborid) ili emisiju poljem elektrona. Elektroni se emitiraju iz elektronskog topa kao divergirajući snop. Sustav magnetskih leća i otvora unutar kolone čine ga ponovno konvergentnim. Sustav elektromagneta se nalazi blizu samoga dna kolone. Oni usmjeravaju snop prema zadnjoj leći koja ga fokusira na što manju točku na površini uzorka. Snop elektrona izlazi iz kolone i ulazi u komoru s uzorcima. U komori se nalazi držač uzoraka, koji omogućuje upravljanje uzorcima, ladica koja je hermetički zabrtvljena i služi za umetanje i uklanjanje uzoraka, ulazni konektori za umetanje raznih detektora signala i drugih pomoćnih uređaja. Elektroni u SEM uređajima formiraju stvarnu virtualnu sliku, dobivenu iz signala emitiranih iz uzorka.

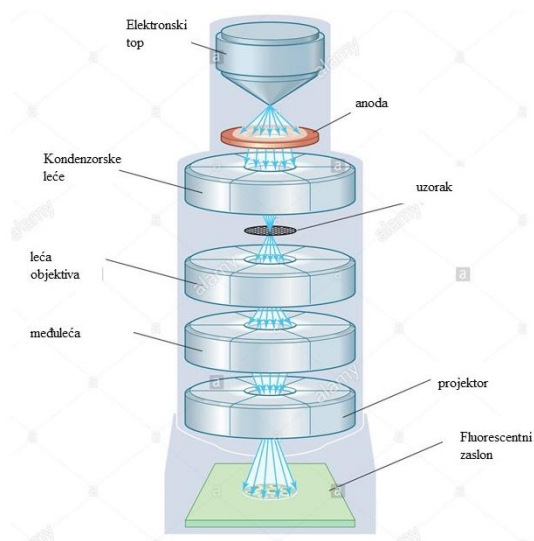


Slika 3. Osnovni dijelovi pretražnog elektronskog mikroskopa (SEM)

Raznovrsne nanostrukture ZnO su pronađene SEM analizom, uključujući sferične čestice, nanočešljevi, nanoštapovi, nanovlakna i nanožice. Zbog velikih prednosti pretražnih elektronskih mikroskopa, kao što su visoka rezolucija ili sposobnost da objekti različite “visine” na površini uzorka ostanu u fokusu, postali su nezamjenjiv alat u širokom opsegu znanstvenih i tehnoloških operacija.<sup>[38]</sup>

### 1.3.1.2. TEM (Transmisijska elektronska mikroskopija)

Ovom se metodom mjeri veličina te potvrđuju oblici nanostrukture s većom rezolucijom od SEM-a.<sup>[36,37]</sup> Agregacija, disperzija (atmosferski TEM) i kristalna struktura također mogu biti utvrđeni TEM-om pa se koristi za kompleksnu vizualizaciju anorganskih, organskih, bioloških i kompleksnih nanomaterijala. Primjerice, TEM je korišten za prikaz nukleacije i rasta ZnO nanostrukture u tekućem mediju. Ludi i Niederberger su koristili TEM kako bi prikazali nukleaciju i rast ZnO nanočestica, oblika heksagonske piramide i oleinskom kiselinom-stabiliziranim, oblika stošca, ZnO nanokristala u tekućem mediju.<sup>[39]</sup> Na Slici 4. prikazani su dijelovi transmisijskog elektronskog mikroskopa.<sup>[40]</sup>



Slika 4. Dijelovi transmisijskog elektronskog mikroskopa

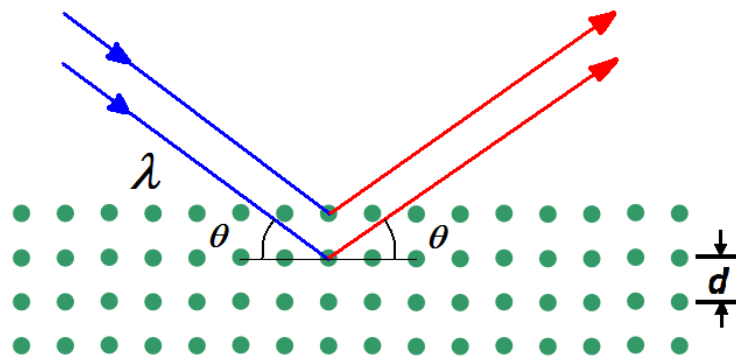
### 1.3.2. XRD (Rentgenska difrakcija zraka)

XRD se koristi za određivanje kristalne strukture materijala i to za kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Omogućava određivanje parametara elementarne ćelje, mjerenja veličine kristalita, otkrivanja defekata u strukturi, utvrđivanja prisutnosti onečišćenja, određivanje faznih prijelaza anorganskih, organskih ili kompleksnih kristalnih struktura.<sup>[41]</sup> Rentgensko zračenje je vrsta elektromagnetskog zračenja visokih frekvencija i energija. Valna duljina je oko 0,15 nm što je red veličine razmaka između atoma kristala. Zbog toga se kristalni uzorci ponašaju kao optička rešetka za rentgensko zračenje što je prvi primijetio Max von Laue. Kada zrake vidljive svjetlosti padnu na optičku rešetku dolazi do difrakcije ili raspršenja svjetlosti. Kada rentgenska zraka padne na neki kristalni uzorak, ona predaje svoju energiju elektronskom omotaču kristala, a atomi potom zrače rentgensko zračenje iste valne duljine u svim smjerovima. Dolazi do interferencije, kao i kod vidljive svjetlosti. Intenzitet raspršenog rentgenskog zračenja ovisi o kutu otklona od primarnog snopa. Što je veći kut otklona intenzitet je manji, a amplituda je proporcionalna broju elektrona u elektronskom omotaču. Kvalitativna rentgenska analiza zasniva se na Braggovom objašnjenju pojave maksimuma na difraktogramu. William Henry Bragg i njegov sin William Lawrence Bragg su tumačili da se rentgensko zračenje reflektira od ekvidistantnih ploha. To su plohe u kristalu koje su iste energijske razine i sve su međusobno jednako udaljene. Pomak u fazi  $x$ , mora biti cjelobrojni višekratnik valne duljine  $\lambda$ , da bi došlo do pozitivne interferencije među zrakama. Pomak u fazi se može trigonometrijski povezati sa međuplošnim razmakom ekvidistantnih ploha,  $d$ , preko difrakcijskog kuta  $\theta$ , a dana je jednadžbama (4) i (5) :

$$2x = n\lambda \quad (4)$$

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (5)$$

Prikaz je na Slici 5.<sup>[42]</sup>



Slika 5. Difrakcija rentgenskog zračenja (Braggov zakon)

Rentgenskom difrakcijskom analizom se može identificirati analizirani uzorak jer je dobiveni difraktogram specifičan za svaki pojedini kristal. Dvije različite tvari ne mogu dati isti difraktogram. Za ZnO, čista heksagonska vurtitna struktura je identificirana prema difrakcijskim maksimumima uz Miller-Bravais-ove indekse: (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112) i (201). Moguće je analizirati naprezanje rešetke u nanostrukturama i veličina nanostruktura iz proširenja difrakcijskih maksimuma Debye-Scherrerovom metodom.<sup>[43,44]</sup>

### 1.3.3. SAXS (Raspršenje rentgenskih zraka pri malom kutu upada)

Difrakcijske tehnike se koriste za određivanje kristalne (dakle atomske) strukture, a tehnikama raspršenja rentgenskog zračenja pri malom kutu upada se istražuju fluktuacije elektronske gustoće na ljestvicama od jednog do nekoliko stotina nanometara, što omogućava procjenu dimenzija raspršujućih objekata, neovisno o njihovoj strukturi. Za određivanje srednje veličine raspršujućih objekata je potrebno da oni budu u okolini drugačije elektronske gustoće. Raspršenje može biti na nanočesticama, ali i na nanoporama. Tako se određuje veličina koja je potrebna za razliku u elektronskoj gustoći između dviju faza.

Za karakterizaciju (XRD i SAXS tipa) ZnO uzoraka koje su rentgenskim zrakama analizirani u ovom radu, korištena je tzv. refleksijska geometrija mjerenja, koja će biti opisana u Eksperimentalnom dijelu. Zbog potreba takvog postava, nije korišteno zračenje iz laboratorijske rentgenske cijevi, već rentgensko zračenje sinkrotronskog izvora (često se naziva i X-zračenjem.). Mjerenja su izvedena u sinkrotronskom istraživačkom središtu "ELETTRA".<sup>[45]</sup>

To je elektronski sinkrotron od 2 GeV. Elektroni se u elektronskom sinkrotronu gibaju veoma velikom brzinom pri čemu su, posredstvom elektromagneta, ograničeni na kružnu stazu. Podvrgnuti gibanju „u prstenu“, s velikom centripetalnom akceleracijom, elektroni zrače energiju. Sinkrotronsko zračenje ima veoma veliki intenzitet i visoki stupanj kolimacije. U prsten kojim kruže elektroni uključuju se dodatne magnetske strukture kako bi se dobili još učinkovitiji izvori rentgenskih zraka. Takve su naprave magnetski "wiggleri", unutar kojih se snop elektrona periodično zakreće. U "wiggleru" se, zapravo, upotrebom jačeg lokalnog magnetskog polja, elektronski snop prisiljava na stazu manjeg polumjera zakrivljenosti. Učinak "wigglera" na zračenje je povećanje kritične energije i pomicanje cjelokupnog spektra zračenja prema većoj energiji. Zračenja iz mnogih polova se skupljaju u jedan uski snop, za jedan eksperiment. Magnetski "wiggler" isporučuje fotone energije do 25 keV. Rentgenske zrake se na udaljenosti oko 20 m od izvora ograničavaju pukotinama te nastaje snop željenog presjeka.

Sveobuhvatna analiza nanostrukturiranih materijala (čestica, filmova, itd.) je osobito važna za primjene. Kako bi se optimiziralo ponašanje materijala, ključno je analizirati parametre koji detaljno opisuju njihovu morfologiju (koja obuhvaća i kristalnu strukturu).

Eksperimenti difrakcije i raspršenja mogu se izvoditi i u drugačijoj geometriji gdje upadni snop pada na površinu uzorka pod vrlo malim kutom.<sup>[46]</sup> Takva je geometrija mjerenja nazvana GI (eng. *Grazing incidence*) geometrijom pa XRD i SAXS tehnike postaju GIXRD i GISAXS. Za ova mjerenja je potreban uski, monokromatski snop rentgenskih zraka visokog sjaja i intenziteta. Te uvjete ne zadovoljava obična, laboratorijska rentgenska cijev pa se koriste sinkrotronski izvori rentgenskog zračenja.

## 1.4. 3D strukture sa ZnO nanočesticama

Nanostrukture ZnO mogu formirati 3D mreže sa poroznošću na više razina. Pore su definirane IUPAC-om (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) po veličini: mikropore ( < 2 nm), mezopore ( 2-50 nm) i makropore ( > 50 nm).

Mikropore su također znane kao “nanopore”. Poroznost na više razina je najčešće bimodalna (mikro-mezo, mezo-mikro, mikro-makro) ili trimodalna (mikro-mezo-makro ili mezo-mezo-makro). Hijerarhijski porozni strukturirani materijali su visokoporozni, višerazinski i imaju veliku specifičnu površinu i nisku gustoću.

### 1.4.1. Morfologija 3D struktura

Napredak u izradi nanomaterijala od metalnih oksida daje mogućnost dizajniranja novih nanostrukture. Izrada nanostrukture nije nužno usmjerena na praktičnu primjenu, ali nanostrukture poluvodičkih oksida treba postupno prilagoditi mikrostrukturnim svojstvima koja su potrebna za određenu primjenu npr. fotoanode u bojnom-senzibiliziranim solarnim ćelijama (*dye-sensitized solar cells DSC*) trebaju imati mezoporoznu strukturu s kontroliranom hrapavošću površine, debljinom, specifičnom površinom i veličinom pora.<sup>[9]</sup>

### 1.4.2. Konvencionalne metode generiranja

Hijerarhijski porozni materijali mogu biti generirani korištenjem raznih metoda, koje se dijele u 4 kategorije: osnovne (temeljene na šabloniranju surfaktantima, sol-gel kontroli i naknadnim tretmanima), kemijske (temeljene na šabloniranju u emulziji, odvajanju faza, zeolizaciji, samoformaciji) kemijske povezane s repliciranjem (temeljene na šabloniranju koloidima, temeljene na šabloniranju polimerima i bioinspiriranim procesiranjem), fizikalno-kemijske (temeljene na upotrebi superkritičnih fluida, sušenja smrzavanjem i selektivnog ispiranja).<sup>[47]</sup>

### 1.4.3. Nekonvencionalne metode generiranja

Kod ovih metoda koriste se biotemplati ili samoorganizacija. Biotemplati koriste biološku strukturu ili repliciraju morfološke i funkcionalne karakteristike bioloških vrsta kako bi stvorili skupinu ili niz anorganskih nanomaterijala. Proteini, biopolimeri i mikroorganizmi se koriste kao biotemplati za uspostavljanje potrebne morfologije. Nakon što su nanomaterijali sintetizirani biotemplati se trebaju ukloniti. Kao biotemplat upotrebljavan je albumin.<sup>[48]</sup> Želatina je upotrebljavana kao biotemplat kako bi se postigla željena kristalna struktura korištenjem biomimikrije - zajedno sa hidrotermalnom sintezom zvjezdolikih nanočestica ZnO uspostavljena je samoorganizacija nanoštapova.<sup>[49]</sup> Krajnji produkt je uspješno izvodio fotokatalitičku degradaciju metiloranž bojila pri UV zračenju. Među prirodnim materijalima, kao biotemplati za sintezu ZnO nanočestica zanimljive su membrane ljuske jajeta, riže, stabljika banana.<sup>[50,51,52]</sup> Generacija putem samoorganizacije uključuje formiranje organizirane strukture ili po uzorku na ionsku, kovalentnu, metalnu, vodikovu ili koordinatnu vezu. Ove veze su izgrađene od slabijih interakcija kao što su Van der Waalsove ili Casimir-ove ;  $\pi$ - $\pi$  i hidrofobne, koloidne, kapilarne, magnetske, električne, optičke sile. Ovaj pristup predstavlja “pametnu” generaciju temeljenu na svojstvima materijala. U literaturi je opisana samoorganizacija 3D mreže od nanočestica i agregata Zn na silicijskoj pločici<sup>[53]</sup> i samoorganizaciju ZnO lamela dobivenih hidrotermalnom sintezom.<sup>[49]</sup>

U ovom radu sintetizirane su 3D hijerarhijske strukture s tri elementa hijerarhije: mikrocvijet, mikro / nano latica i nanočestica (sferičnog oblika). Prisutna je mezo- i mikroporoznost. Mezoporozna morfologija je postignuta pirolizom – neka vrsta “šablone” je startni materijal koji se pirolizom transformira u ZnO, a pri transformaciji nastaju nanopore.<sup>[55]</sup>

## **1.5. Primjene ZnO nanostruktura u području biomedicine**

Nanočestice ZnO su proučavane za biomedicinsku primjenu jer pokazuju antikancerogena, antidijabetska, antimikrobna, antiupalna i svojstva pri zacjeljivanju rana.<sup>[1,2,5]</sup> Također su korišteni kao sredstva za oslikavanje putem kvantnih točaka<sup>[56]</sup> i kao biomedicinski dijagnostički ili analitički senzori.<sup>[17,57]</sup>

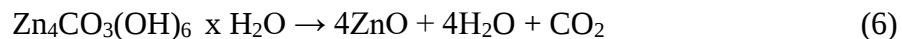
3D porozne strukture imaju širok raspon primjene, zbog svoje arhitekture.<sup>[58]</sup> Ističe se dokazana antimikrobna aktivnost. Za velik dio primjena u biomedicini važna je i mogućnost kontrole kvasivosti površina, koja je kod ovih struktura podesiva kontroliranjem morfologije.

## **2. MATERIJALI I METODE**

### **2.1. Priprema odabranih ZnO nanostruktura**

ZnO uzorci s mikro / nanostrukturama dobiveni su metodom koja se sastoji iz dva koraka.<sup>[55]</sup> U prvom su staklene podloge uronjene u boce s otopinom cink - nitrat heksahidrata i uree u deioniziranoj vodi, u koncentracijama od 0,05 M i 1,0 M. Vrijednost pH od 4 postignuta je dodavanjem dušikove kiseline. Otopine su grijane 6 sati na temperaturi od 353 K. Tako su na podlogama formirani filmovi prekursora cinkova oksida, tj. filmovi cinkova karbonata hidroksid hidrata,  $\text{Zn}_4\text{CO}_3(\text{OH})_6 \times \text{H}_2\text{O}$ .

U drugom koraku nastaje ZnO film - pirolitičkom transformacijom prekursor  $\text{Zn}_4\text{CO}_3(\text{OH})_6 \times \text{H}_2\text{O}$  pretvara se u ZnO, prema sljedećoj reakciji:

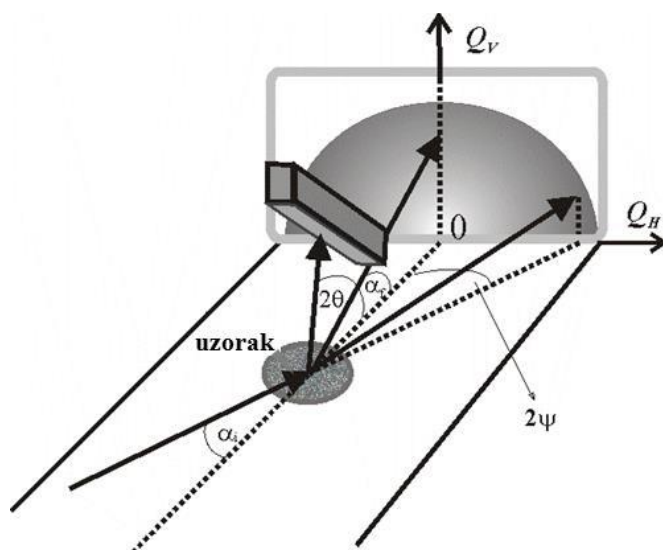


Termička obrada je izvedena na 573 K.

## 2.2. Karakterizacija ZnO filmova s nanočesticama

Uvid u opće morfologije pripremljenih filmova napravljen je (u realnom prostoru) pomoću pretražnog elektronskog mikroskopa FE-SEM Jeol 7000F.

Analiza morfologije ZnO flmova zasnovana je na simultanim mjerenjima difrakcije i raspršenja rentgenskih zraka pri malim kutevima upada (GIXRD / GISAXS)<sup>[46]</sup> (Primjedba: difrakcija se bilježi pri velikim kutovima, a raspršenje će se mjeriti pri malim kutovima). Uvid u morfologiju uzoraka putem ovih metoda dobiva se analizom u takozvanom recipročnom prostoru, tj. prostoru valnih vektora. Dobiva se, dakle, indirektnim putem. Prikaz eksperimentalnog postava za izvođenje GIXRD / GISAXS mjerenja dan je na Slici 6.<sup>[55]</sup>



**Slika 6.** Eksperimentalni postav za simultana GIXRD/GISAXS mjerenja

$\alpha_i$  je upadni kut rentgenskih zraka,  $\alpha_f$  je njihov izlazni kut raspršenja u ravnini refleksije (vertikalnoj ravnini),  $2\psi$  je kut raspršenja u horizontalnoj ravnini, a  $2\theta$  je kut difrakcije.

Mjerenja su izvođena pri malim upadnim kutovima ( $\alpha_i$ ) rentgenskih zraka, tj. pri kutovima koji su malo veći od takozvanog kritičnog kuta za totalnu refleksiju. Pri tom kutu rendgenske

zrake, naime, upravo ulaze u uzorak. Kritični kut za ZnO određen je eksperimentalno za svaki uzorak. Ovakva geometrija mjerenja, pri kojoj rendgenske zrake ulaze u uzorak pod malim upadnim kutom, omogućava mjerenja difrakcije i raspršenja, koja ne bi bila ostvariva mjerenjem u transmisijskoj geometriji. Naime, rendgenske zrake se u klasičnoj, transmisijskoj geometriji velikim dijelom apsorbiraju u uzorku i u podlozi. Mjerenja su izvršena korištenjem sinkrotronskog izvora rendgenskog zračenja, kako bi se koristio izvrsno kolimiran snop izuzetnog intenziteta, što je vrlo važno za ovu geometriju mjerenja. Valna duljina rendgenskih zraka iznosila je 0,1554 nm, a dimenzije snopa rendgenskih zraka bile su 4 mm x 0,150 mm (horizontalno x vertikalno).

Difrakcijska mjerenja zabilježena su jednodimenzionalnim položajnim detektorom, koji je obuhvatio kutni raspon ( $2\theta$ ) od  $25^0$  do  $45^0$ . Identificiranje kristalne faze pojedinog uzorka izvedeno je usporedbom mjerenih intenziteta difrakcije s podacima (JCPD kartica broj 01-075-9187) za standardne polikristalne praškaste uzorke cinkova oksida.

Za mjerenja raspršenja korišten je dvodimenzionalni CCD detektor (prema engl. *Charge Coupled Device*), postavljen okomito na upadni snop. Dva glavna smjera, horizontalni (paralelan s ravninom uzorka) i vertikalni (okomit na ravninu uzorka), predstavljeni su valnim vektorima  $\mathbf{Q}_H$  i  $\mathbf{Q}_V$ . Moduli ovih vektora određeni su valnom duljinom rendgenskih zraka, kutom upada rendgenskih zraka na uzorak ( $\alpha_i$ ), kutom izlaza rendgenskih zraka ( $\alpha_f$ ) te kutom raspršenja zraka u ravnini uzorka ( $2\psi$ ):

$$Q_H = 2\pi\lambda^{-1} \cos \alpha_f \sin \psi \quad (7)$$

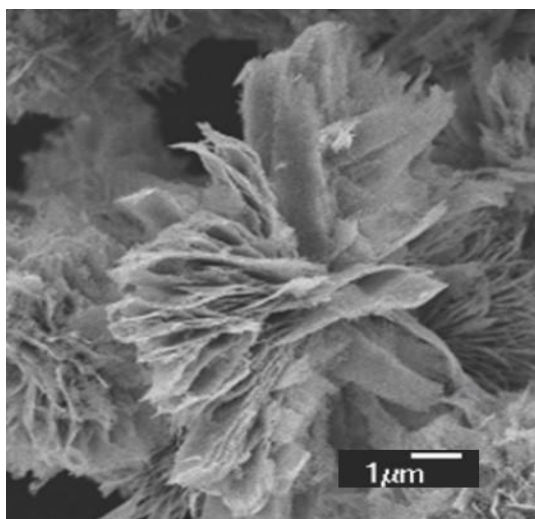
$$Q_V = 2\pi\lambda^{-1} (\sin \alpha_i + \sin \alpha_f) \quad (8)$$

### 3. REZULTATI I RASPRAVA

#### 3.1. SEM mjerenja i analiza

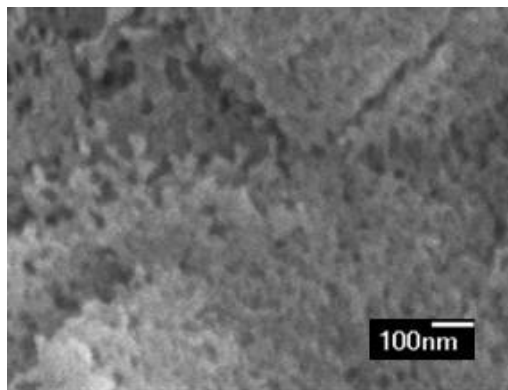
Opći prikazi morfologije uzorka analiziranog pretražnim elektronskim mikroskopom dani su na sljedećim slikama.

Na Slici 7 je FESEM snimka dijela površine uzorka na kojoj se vidi jedna od mikrostrukture u obliku cvijeta. Cvjetolike strukture uglavnom imaju latice postavljene zrakasto, poput zvijezde, promjer im iznosi nekoliko  $\mu\text{m}$ . Latice su plohe nanometarske debljine.



**Slika 7.** SEM snimka uzorka sa hijerarhijskim strukturama (cvjetolikim mikro-nanostrukturama), napravljena pri povećanju od 5 000 puta.

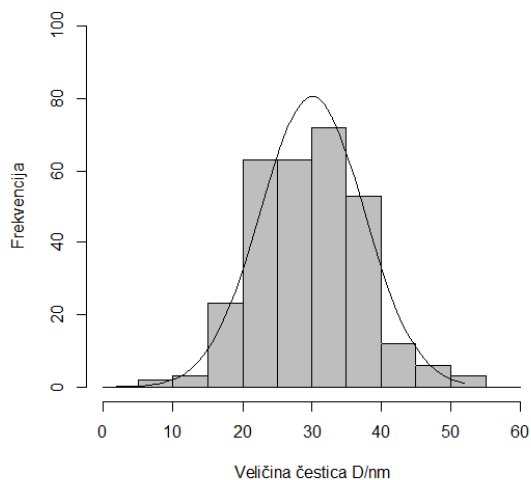
Na sljedećoj slici je jedna od nanoskopskih snimki napravljenih na ovom uzorku.



**Slika 8.** Nanoskopska SEM snimka dijela jedne latice uzorka sa mikrocvtjetovima, napravljena pri povećanju od 50 000 puta

Pri puno većem povećanju jasno se vidi da su latice nanostrukturirane na specifičan način: sastavljene su od čestica nanometarske veličine koje formiraju trodimenzionalni porozni sustav. Neke su sferne, a neke elipsoidnog oblika.

Histogram procijenjenih promjera nanočestica u ovom uzorku dan je na Slici 9 (Histogram je rađen pomoću više nanoskopskih snimki).



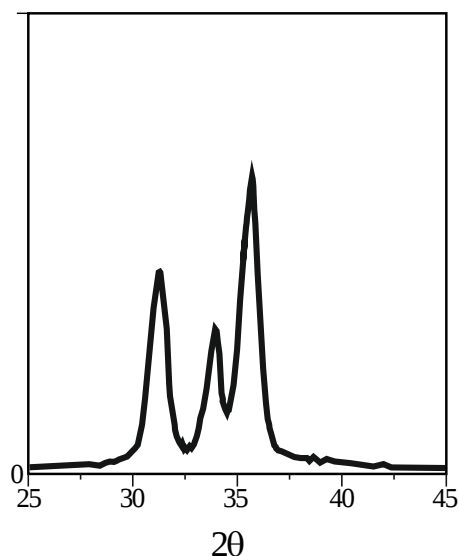
**Slika 9.** Histogram procijenjenih veličina ZnO nanočestica u laticama cvjetova, s Gaussovom raspodjelom čestica po veličini.

Kako je pokazano histogramom, procijenjeno je da se veličine čestica kreću uglavnom između 10 nm i 50 nm. Za veličinu pojedine čestice uzet je promjer u slučaju približno sferne čestice, odnosno veća dijagonala u slučaju elipsoidne čestice.

Srednje vrijednosti raspodjela čestica po veličini u uzorcima, procijenjene su prilagodbom podataka iz histograma Gaussovoj raspodjelnoj funkciji. Procijenjena srednja veličina nanočestica u uzorku iznosi 30 nm.

### 3.2. GIXRD mjerenja i analiza

Pomoću snimljene GIXRD krivulje, prikazane na Slici 10. ispitana je kristalografska struktura uzorka.



**Slika 10.** Difrakcijske linije uzorka;  $2\theta$  je kut difrakcije

Tri snimljene difrakcijske linije odgovaraju kristalitima heksagonalne strukture, tipa vurcita, i redom odgovaraju kristalografskim ravninama (100), (002) i (101). Relativni intenziteti linija kod uzoraka pokazuju razlike, ali ne upućuju na jako različite stupnjeve kristalografske orijentacije u uzorku. To ukazuje da je značajan dio monokristalnih domena (kristalita) ZnO u ovom uzorku pretežno nasumično orijentiran.

Širenje difrakcijskih linija otkriva da su monokristalne domene nanometarskih dimenzija pa se nadalje zovu nanokristali.

Prosječna veličina nanokristala može se izračunati iz širine profila difrakcijskih linija, koristeći Debye-Scherrerove jednadžbu:<sup>[59]</sup>

$$L = \frac{K \lambda}{\Delta \cos \theta} \quad (9)$$

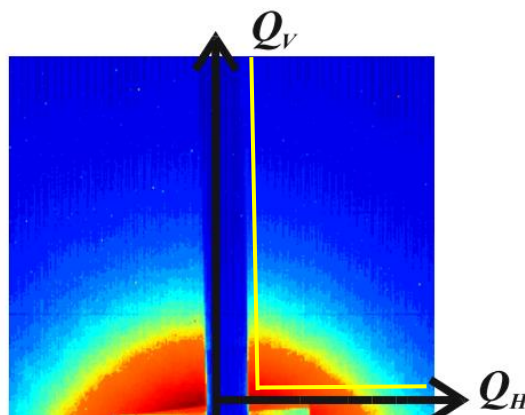
U njoj je  $K$  Scherrerova konstantna, koja ovisi o obliku i raspodjeli po veličini kristala ( $K \approx 1$ ),  $\lambda$  je valna duljina rentgenskog zračenja ( $\lambda = 0,1554$  nm),  $\theta$  je Braggov kut, a  $\Delta$  je širina linije, izražena u radijanima te izmjerena na visini, na kojoj je vrijednost intenziteta jednaka polovici.

Kod izračunavanja veličine, u obzir je uzeto i instrumentalno širenje linija od  $0,3^\circ$ . Izračun Debye-Scherrerovom formulom je, zapravo, procjena veličine nanokristala usrednjene za praktički čitav snimljeni volumen uzorka. Standardno se uzima da odstupanja od srednje vrijednosti mogu biti i do 20 %. U okviru te pogreške, dobivene izračunate srednje veličine nanokristala (između 20 nm i 30 nm) dobivene GID analizom su usporedive s veličinama nanočestica procijenjenima SEM analizom. Dakle, vrlo je vjerojatno da su nanočestice u velikom broju nanokristali ili sastavljene od par njih.

Nanoskopska SEM analiza pokazuje da je cvjetolika 3D struktura porozna, na mikro- i nanoskali, ali ne omogućava kvantitativnu procjenu poroznosti. Makroporoznost je svojstvena ovoj strukturi, zbog rasporeda latica cvijeta i raspored cvijetova u uzorku može dovesti do ovakvog tipa poroznosti. Nanoporoznost (standardni naziv je mezoporoznost) je dio unutarnje strukture latica – ovisi o rasporedu nanočestica u latici. Pri procjeni mezoporoznosti pomogla nam je SAXS analiza.

### 3.3. GISAXS mjerenja i analiza

SEM snimka je pokazala da se radi o sustavu čestica i pora nanometarske veličine. 2D GISAXS mape raspršenih intenziteta tih uzoraka prikazane su na Slici 11.



Slika 11. 2D GISAXS mapa intenziteta raspršenih na uzorku

Maksimum raspršenih intenziteta je u smjeru refleksijske ravnine ( $Q_H = 0$ ), koja je okomita na površinu uzorka. Prisutnost raspršenja rentgenskih zraka u području malih kutova na mapama upućuje na postojanje nanoheterogenosti u gustoći elektrona. Iz snimljene mape raspršenja može se odrediti veličinu tih netheterogenosti uzduž dva smjera, horizontalnog i vertikalnog. Smjerove predstavljaju vektori  $\mathbf{Q}_H$  i  $\mathbf{Q}_V$ . Analiziraju se rezovi duž tih smjerova (primjeri rezova označeni su na slici crnim crtama), koji daju grafove ovisnosti raspršenog intenziteta o vektorima  $\mathbf{Q}_H$  ili  $\mathbf{Q}_V$ . Softverska obrada krivulja raspršenja korištena je za određivanje raspodjele veličine raspršivača. Prema toj raspodjeli, pod pretpostavkom približno sfernog oblika raspršivača, dobivena je prosječna vrijednost promjera od 12 nm, koja odgovara prosječnoj vrijednosti veličine nanokristala u uzorku. Kako nanokristali ne mogu biti veći od nanočestica (čestice se, naime mogu sastojati od jednog ili više nanokristala), ovaj rezultat pokazuje da objekti koji raspršuju zračenje nisu nanočestice, već nanopore unutar latica cvijeta. Formiranje nanopora u laticama dešava se tijekom pirolize, odnosno pretvorbe prekursora u ZnO.

#### 4. ZAKLJUČAK

Dan je pregled metoda sinteze i karakterizacije nanostruktura cinkova oksida, koje se istražuju za biomedicinske primjene, s naglaskom na trodimenzionalne porozne hijerarhijske ZnO mikro/nano strukture.

Analiziran je uzorak cinkova oksida s morfologijom takvih karakteristika, dobiven sintezom od dva koraka, pri kojoj se mezoporoznost postiže pirolitičkom pretvorbom početnog materijala u cinkov oksid.

Precizna karakterizacija uzorka izvršena je uz pomoć elektronske mikroskopije i metode simultanog raspršenja i difrakcije rentgenskih zraka pri malom kutu upada.

Utvrđeni su elementi hijerarhijske strukture (mikrocvijet, mikro / nano latica, nanočestica) te mikro- i mezoporoznost. Valja naglasiti da su dimenzije nanopora utvrđene pomoću SAXS metode.

## 5. LITERATURA

- [1] G. Bisht, S. Rayamajhi, ZnO Nanoparticles: A Promising Anticancer Agent, *Nanobiomedicine* **3** (2016) 9.
- [2] S. Elshama, M. Abdallah, Zinc Oxide Nanoparticles: Therapeutic Benefits and Toxicological Hazards, *Open Nanomed. J.* **5** (2018) 16.
- [3] S. Bharti, S. Singh, Metal Based Drugs: Current Use and Future Potential, *Der. Pharm. Lett.* **1** (2009) 39.
- [4] D. Theile, Under-Reported Aspects of Platinum Drug Pharmacology, *Molecules* **22** (2017) 382.
- [5] M. Martínez-Carmona, Y. Gun'ko, M. Vallet-Regí, ZnO Nanostructures for Drug Delivery and Theranostic Applications, *Nanomaterials* **8** (2018) 268.
- [6] H.-M. Xiong, ZnO Nanoparticles Applied to Bioimaging and Drug Delivery, *Adv. Mater* **25** (2013) 5329.
- [7] C. Wiegand, U.-C. Hipler, S. Boldt, J. Strehle, U. Wollina, Skin-protective effects of a zinc oxide-functionalized textile and its relevance for atopic dermatitis, *Clin. Cosmet Investig. Derm.* **6** (2013) 115.
- [8] X. Yu, T.J. Marks, A. Facchetti, Metal oxides for optoelectronic applications, *Nat. Mater.* **15** (2016) 383.
- [9] X. Cheng, Y. Tang, W. Liu, Efficient Dye-Sensitized Solar Cells Based on Nanoflower-like ZnO Photoelectrode, *Molecules* **22** (2017) 1284.
- [10] A. Ramirez-Canon, M. Medina-Llamas, M. Vezzoli, D. Mattia, Multiscale design of ZnO nanostructured photocatalysts, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20** (2018) 6648.
- [11] E. Munchow, M.T. Albuquerque, B. Zero, K. Kamocki, E. Piva, R. Gregory, M. Bottino, Development and characterization of novel ZnO-loaded electrospun membranes for periodontal regeneration, *Dent. Mater.* **31** (2015) 1038.
- [12] T. Gu, C. Yao, K. Zhang, C. Li, L. Ding, Y. Huang, M. Wu, Y. Wang, Toxic effects of zinc oxide nanoparticles combined with vitamin C and casein phosphopeptides on gastric epithelium cells and the intestinal absorption of mice, *Rsc. Adv.* **8** (2018) 26078.
- [13] S.-E. Jin, H.-E. Jin, Synthesis, Characterization, and Three-Dimensional Structure Generation of Zinc Oxide-Based Nanomedicine for Biomedical Applications, *Pharmaceutics* **11** (2019) 575.
- [14] H. Bouwmeester, M. van der Zande, M.A. Jepson, Effects of food-borne nanomaterials on gastrointestinal tissues and microbiota, *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* **10** (2018) e1481.

- [15] P.C. Balaure, A.M. Holban, A.M. Grumezescu, G.D. Mogosanu, T.A. Bălceanu, M.S. Stan, A. Dinischiotu, A. Volceanov, L. Mogoantă, In vitro and in vivo studies of novel fabricated bioactive dressings based on collagen and zinc oxide 3D scaffolds, *Int. J. Pharm.* **557** (2019) 199.
- [16] P.M. Sabura Begum, K.K. Mohammed Yusuf, R. Joseph, Preparation and Use of Nano Zinc Oxide in Neoprene Rubber. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* **57** (2018) 1083.
- [17] M. Zamani, M. Rostami, M. Aghajanzadeh, H. Kheiri Manjili, K. Rostamizadeh, H. Danafar, Mesoporous titanium dioxide@ zinc oxide–graphene oxide nanocarriers for colon-specific drug delivery, *J.Mater.Sci.* **53** (2018) 1634.
- [18] P.K.Mishra, H. Mishra, A.Ekielski, S. Talegaonkar, B. Vaidya, Zinc oxide nanoparticles: A promising nanomaterial for biomedical applications, *Drug Discov. Today* **22** (2017) 1825.
- [19] K. McNamara, S.A.M. Tofail, Nanoparticles in biomedical applications. *Adv. Phys. X* **2** (2017) 54.
- [20] [URL:https://www.researchgate.net/publication/271324604\\_Luminescence\\_Properties\\_of\\_ZnO\\_Nanostructures\\_and\\_Their\\_Implementation\\_as\\_White\\_Light\\_Emitting\\_Diodes\\_LEDs/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/271324604_Luminescence_Properties_of_ZnO_Nanostructures_and_Their_Implementation_as_White_Light_Emitting_Diodes_LEDs/figures?lo=1) (24.9.2020)
- [21] W.Khan, M. Ajmal, F. Khan, N. Huda, S.-D. Kim, Induced Photonic Response of ZnO Nanorods Grown on Oxygen Plasma-Treated Seed Crystallites, *Nanomaterials* **8** (2018) 371.
- [22] R. Ahmad, N. Tripathy, J.-H. Park, Y.-B. Hahn, A comprehensive biosensor integrated with a ZnO nanorod FET array for selective detection of glucose, cholesterol and urea, *Chem Comm.* **51** (2015) 11968.
- [23] Z. Sharifalhoseini, M. Entezari, M. Shahidi, Synergistic effect of low and high intensity ultrasonic irradiation on the direct growth of ZnO nanostructures on the galvanized steel surface: Investigation of the corrosion behavior, *Ultrason. Sonochem.* **44** (2018) 388.
- [24] H. Zeng, W. Cai, Y. Li, J. Hu, P. Liu, Composition/Structural Evolution and Optical Properties of ZnO/Zn Nanoparticles by Laser Ablation in Liquid Media, *J. Phys. Chem. B*, **109** (2005) 18260.
- [25] A. Naveed Ul Haq, A. Nadhman, I. Ullah, G. Mustafa, M. Yasinzai, I. Khan, Synthesis Approaches of Zinc Oxide Nanoparticles: The Dilemma of Ecotoxicity, *J. Nanomater* **2017** (2017) 14.
- [26] M.M. Demir, R. Munoz-Espi, I. Lieberwirth, G. Wegner, Precipitation of monodisperse ZnO nanocrystals via acid-catalyzed esterification of zinc acetate, *J. Mater Chem.* **16** (2006) 2940.
- [27] J. Wang, Y. Song, Microfluidic Synthesis of Nanohybrids, *Small* **13** (2017) 1604084.

- [28] P.M. Anesh, M.A. Vanoja, Synthesis of ZnO nanoparticles by hydrothermal method u M. Jayaraj, u Z. Gaburro and S. Cabrini (ur.), Nanophotonic Mater. IV, Proc. of SPIE Vol. **6639** (2007) 66390J
- [29] H. Agarwal, S. Menon, V. Kumar, R. Shanmugam, Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route, Chem. Biol. Interact **60** (2018) 286.
- [30] R. Ishwarya, B. Vaseeharan, S. Kalyani, B. Banumathi, M. Govindarajan, N. Alharbi, S.N. Km, M. Al-anbr, J. Kaled, G. Benelli, Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ulva lactuca* sea weed extract and its evaluation of photocatalytic, antibiofilm and larvicidal activity: Impact on mosquito morphology and biofilm architecture, J. Photochem. Photobiol. B **178** (2017) 249.
- [31] A. Raja, S. Ashokkumar, R. Pavithra Marthandam, J. Jayachandiran, C.P. Khatiwada, K. Kaviyarasu, R. Ganapathi Raman, M. Swaminathan, Eco-friendly preparation of zinc oxide nanoparticles using *Tabernaemontana divaricata* and its photocatalytic and antimicrobial activity, J. Photochem. Photobiol. B **181** (2018) 53.
- [32] A.J. deMello, Control and detection of chemical reactions in microfluidic systems, Nature **442** (2006) 394.
- [33] D. Janasek, K. Franzke, A. Manz, Scaling and the design of miniaturized chemical-analysis systems, Nature **442** (2006) 374.
- [34] K.S. Elvira, X.C. i Solvas, R.C.R. Wootton, A.J. deMello, The past, present and potential for microfluidic reactor technology in chemical synthesis, Nat. Chem. **5** (2013) 905.
- [35] OECD: Physical-Chemical Decision Framework to Inform Decisions for Risk Assessment of Manufactured Nanomaterials; Organization for Economic Co-operation and Development, MONO **90** (2019)12
- [36] K. Rasmussen, H. Rauscher, A. Mech, J. Riego Sintes, D. Gilliland, M. Gonzalez, P. Kearns, K. Moss, M. Visser, M. Groenewold, Physico-chemical properties of manufactured nanomaterials-Characterisation and relevant methods. An outlook based on the OECD Testing Programme, Regul. Toxicol. Pharmacol. **92** (2018) 8.
- [37] [URL:https://www.monospektra.com/positioning/applications/drives-positioning-systems-electron-microscopes/](https://www.monospektra.com/positioning/applications/drives-positioning-systems-electron-microscopes/) (24.9.2020)
- [38] G. Mršić, S. Žugaj, Analiza GSR čestica upotrebom elektronskog mikroskopa (SEM/EDX), Policija i sigurnost **16** (2007) 179.
- [39] B. Ludi, M. Niederberger, Zinc oxide nanoparticles: Chemical mechanisms and classical and non-classical crystallization, Dalton Trans. **42** (2013) 12554
- [40] [URL:https://www.alamy.com/stock-photo-the-components-of-a-transmission-electron-microscope-tem-24898253.html](https://www.alamy.com/stock-photo-the-components-of-a-transmission-electron-microscope-tem-24898253.html) (24.9.2020.)

- [41] J. Macan, Vježbe iz kolegija Struktura i svojstva anorganskih nemetalnih materijala, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Zagreb 2006.
- [42] [URL:https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/58/Bragg%27s\\_Law.PNG](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/58/Bragg%27s_Law.PNG) 24.9.2020.
- [43] P. Bindu, S. Thomas, Estimation of lattice strain in ZnO nanoparticles: X-ray peak profile analysis, *J. App. Phys.* **8** (2014) 123.
- [44] N. Abdullayeva, C.T. Altaf, M. Mintas, A. Ozer, M. Sankir, H. Kurt, N.D. Sankir, Investigation of Strain Effects on Photoelectrochemical Performance of Flexible ZnO Electrodes, *Sci. Rep* **9** (2019) 11006.
- [45] H. Amenitsch, S. Bernstorff, and P. Laggner, High-flux beam-line for small-angle X-ray scattering at ELETTRA, *Review of Scientific Instruments* **6** (1995) 1624.
- [46] M. Lučić Lavčević, A. Turković, The measurements of particle/crystallite size in nanostructured TiO<sub>2</sub> films by SAXS/WAXD method, *Scr. Mater.* **46** (2002) 501.
- [47] X.-Y. Yang, L.-H. Chen, Y. Li, J. C. Rooke, C. Sanchez, B.-L. Su, Hierarchically porous materials: Synthesis strategies and structure design, *Chem. Soc. Rev.* **46** (2017) 481.
- [48] T. Prakash, J. Rajan, D. Sathya Raj, S. Kumar, N. Donato, D. Spadaro, G. Neri, Sensing properties of ZnO nanoparticles synthesized by using albumen as a biotemplate for acetic acid monitoring in aqueous mixture, *Sens. Actuators B Chem.* **176** (2013) 560.
- [49] K.-M. Fang, Z.-Z. Wang, M. Zhang, A.-J. Wang, Z.-Y. Meng, J.-J. Feng, Gelatin-assisted Hydrothermal Synthesis of Single Crystalline ZnO Nanostars and Their Photocatalytic Properties, *J. Colloid Interface Sci.* **402** (2013) 68.
- [50] R. Camaratta, J. Orozco-Messana, C. Bergmann, Synthesis of ZnO through biomimetization of eggshell membranes using different precursors and its characterization, *Ceram Int.* **41** (2015) 14826.
- [51] D. Ramimoghadam, M. Hussein, Y.H. Taufiq- Yap, Hydrothermal synthesis of zinc oxide nanoparticles using rice as soft biotemplate, *Chem. Cent. J.* **7** (2013) 136.
- [52] A. Upneja, G. Dou, C. Gopu, C.A. Johnson, A. Newman, A. Suleimenov, J.L. Goldfarb, Sustainable waste mitigation: Biotemplated nanostructured ZnO for photocatalytic water treatment via extraction of biofuels from hydrothermal carbonization of banana stalk, *RSC Adv.* **6** (2016) 92813.
- [53] S.-E. Jin, H.-E. Jin, Synthesis, Characterization, and Three-Dimensional Structure Generation of Zinc Oxide-Based Nanomedicine for Biomedical Applications, *Pharmaceutics* **11** (2019) 575.
- [54] I. Levchenko, K. Bazaka, M. Keidar, S. Xu, J. Fang, Hierarchical Multicomponent Inorganic Metamaterials: Intrinsically Driven Self-Assembly at the Nanoscale. *Adv. Mater.* **30** (2018) 1702226.

- [55] M. Lučić Lavčević, P. Dubček, S. Bernstorff, L. Šilović, Grazing-incidence small-angle X-ray scattering view of vertically ordered ZnO nanowires, *J. Nanomater.* **2013** (2013) 381519.
- [56] C.T. Matea, T. Mocan, F. Tabaran, T. Pop, O. Mosteanu, C. Puia, C. Iancu, L. Mocan, Quantum dots in imaging, drug delivery and sensor applications, *Int. J. Nanomed.* **12** (2017) 5421.
- [57] J.Jiang, J. Pi, J.Cai, The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications *Bioinorg. Chem. Appl.* **2018** (2018) 18.
- [58] S.-E. Jin, J.E Jin, W. Hwang, S.W. Hong, Photocatalytic antibacterial application of zinc oxide nanoparticles and self-assembled networks under dual UV irradiation for enhanced disinfection. *Int. J. Nanomed.* **14** (2019) 1737.
- [59] B. D. Cullity, S. R. Stock, *Elements of X-Ray Diffraction*, Prentice Hall, New York, 2001.