

**T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CP-Tİ YÜZEYİNDE AG, CU VE ZN KATKILI TiO₂-BAZLI
NANOTÜP YAPILARININ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU
VE BİYOUYUMLULUK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : GİZEM CİHAN
ORCID :
Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / / 2021

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : PROF. DR. EMİNE YALÇIN
ORCID :

**Şubat 2021
GİRESUN**

**T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CP-Tİ YÜZEYİNDE AG, CU VE ZN KATKILI TiO₂-BAZLI
NANOTÜP YAPILARININ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU
VE BİYOUYUMLULUK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM CİHAN

Enstitü Anabilim Dalı

:

BİYOLOJİ

Bu tez 19/02/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Doç. Dr.
Salih DURDU
Jüri Başkanı**

**Dr. Öğretim Üyesi
Fatih KUTLUER
Üye**

**Prof. Dr.
Emine YALÇIN
Üye**

**Doç. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Gizem CİHAN

19/02/2021

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilimsel alandaki kıymetli birikimlerini büyük bir fedakârlık ile paylaşan danışmanım Sayın Prof. Dr. Emine YALÇIN'a,

Engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Doç. Dr. Salih DURDU ve Sayın Prof. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU'na,

Proje çalışmalarını birlikte yürüttüğüm ve yardımlarını esirgemeyen Muharrem SANCAK'a ,

Eğitimim sırasında ellerini her daim omuzumda hissettiğim, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamızın yürütülmesinde “TUBITAK MAG - 118M766” nolu projeyle maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
TABLolar LİSTESİ	VI
ÖZET.....	VII
SUMMARY	VIII
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1 Biyomateryallerin Sınıflandırılması	5
2.2. Biyomateryallerin Karakterizasyonu	7
2.2.1. Biyolojik Karakterizasyon.....	7
2.2.2. Fiziksel Karakterizasyon	9
2.2.3. Kimyasal Karakterizasyon.....	10
2.3. Titanyum	12
2.3.1. Mekanik Özellikler	13
2.3.2. Biyolojik Özellikler	14
2.3.3. Yüzey Modifikasyonu	16
2.4. Anodizasyon.....	19
2.5. Termal Buharlaştırma	20
2.6. Antibakteriyel Yüzeyler	21
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM	24
3.1. Numune Hazırlama	24
3.2. AO Yöntemiyle Nanotüp Kaplamaların Üretimi.....	24

3.3. SEM Analizleri	25
3.4. EDX Analizleri.....	25
3.5. FTIR Analizleri.....	25
3.6. AFM Analizleri.....	25
3.7. Temas Açısı Ölçümleri	25
3.8. Antibakteriyel Analizler.....	26
 BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	27
4.1. SEM Analizleri	27
4.2. EDX Analizleri.....	34
4.3. FTIR Analizleri.....	36
4.4. AFM Analizleri.....	37
4.5. Temas Açısı Ölçümleri	42
4.6. Antibakteriyel Analizler	48
 BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
 KAYNAKLAR.....	56
 ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AO	: Anodik oksidasyon
Cp-Ti	: Saf Titanyum
Gr (-)	: Gram Negatif
Gr (+)	: Gram Pozitif
TB	: Termal Buharlaştırma
TiO ₂	: Titanyum Oksit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Vroman Etkisi	8
Şekil 2.2. Düşük ve yüksek temas açıları.....	12
Şekil 2.3. Saf titanyum üzerinde büyütülen filmin özellikleri	14
Şekil 2.4. Yüzey modifikasyonunun amacı.....	18
Şekil 2.5. Sabit anodizasyon voltajında nanotüp oluşumunun gösterimi.....	17
Şekil 3.1. AO kaplamaların üretim şematizması.....	24
Şekil 4.1. SEM Analizleri. (a) cp-Ti (b) cp-Ti-50V	29
Şekil 4.2. Ag ile kaplanan yüzeylerin SEM analizleri	30
Şekil 4.3. Cu ile kaplanan yüzeylerin SEM analizleri... ..	31
Şekil 4.4. Zn ile kaplanan yüzeylerin SEM analizleri.....	32
Şekil 4.5. Cp-Ti- Zn- 1nm Yüzeyinde elektron ve atomik dağılım görüntüsü.....	34
Şekil 4.6. Cp-Ti- Zn- 3nm Yüzeyinde elektron ve atomik dağılım görüntüsü.....	35
Şekil 4.7. Cp-Ti- Zn- 5nm Yüzeyinde elektron ve atomik dağılım görüntüsü.....	36
Şekil 4.8. Cp-Ti ve Cp-Ti-50V yüzeylerin FTIR spektraları	37
Şekil 4.9. Anotlanmış Cp-Ti yüzeylerinin AFM analizi	38
Şekil 4.10. TB yöntemi ile Ag kaplanan yüzeylerin AFM analizi.....	39
Şekil 4.11. TB yöntemi ile Zn kaplanan yüzeylerin AFM analizi	40
Şekil 4.12. TB yöntemi ile Cu kaplanan yüzeylerin AFM analizi	41
Şekil 4.13. Cp-Ti ve Cp-Ti 50V temas açısı görüntüleri	42
Şekil 4.14. Ag kaplı yüzeylerin su ile temas açısı.....	43
Şekil 4.15. Ag kaplı yüzeylerin su ile temas açısı dereceleri.....	44
Şekil 4.16. Cu kaplı yüzeylerin su ile temas açısı.....	45
Şekil 4.17. Cu kaplı yüzeylerin su ile temas açısı dereceleri	45
Şekil 4.18. Zn kaplı yüzeylerin su ile temas açısı	46
Şekil 4.19. Zn kaplı yüzeylerin su ile temas açısı dereceleri	47
Şekil 4.20. <i>E. coli</i> 'nin yüzeyler üzerindeki canlılığı.....	51
Şekil 4.21. <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> 'un yüzeyler üzerindeki aktif koloni sayıları	52
Şekil 4.22. <i>S aureus</i> 'un yüzeyler üzerindeki canlılığı.....	53

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Biyomalzemelerin doku ile etkileşimlerine göre gruplandırılmaları ve örnekleri	5
Tablo 2.2. Biyomalzeme türleri ve kullanıldığı medical uygulama örnekleri	6
Tablo 2.3. Alaşımsız titanyumun fiziksel özelliklerinin özeti	13
Tablo 2.4. Titanyum ve alaşım implantları için yüzey modifikasyon yöntemlerine genel bakış	18
Tablo 4.1. Test edilen tüm yüzeylerin Sa değerleri.....	33

CP-Tİ YÜZEYİNDE AG, CU VE ZN KATKILI TİO₂-BAZLI NANOTÜP YAPILARININ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOUYUMLULUK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Titanyum (Cp-Ti) korozyona karşı dirençli ve dokular tarafından kabul edilebilirliği yüksek olan bir biyomalzemedir. Bu çalışmada titanyum yüzeyi farklı yöntemlerle modifiye edilmiş, yüzeyde farklı özellikte antibakteriyel kaplamalar oluşturulmuş ve bu yolla biyouyumluluğunun artırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla, ticari olarak temin edilen titanyum yüzeyine 50V anodik oksidasyon işlemi uygulanmış, anodize yüzeylerde termal buharlaştırma yöntemi ile antibakteriyel özellikte Ag, Cu ve Zn metalleri biriktirilmiştir. Modifiye Cp-Ti yüzeylerinin karakterizasyon çalışmaları temas açısı ölçümleri, taramalı elektron mikroskobu ve atomik kuvvet mikroskobu analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Ag, Cu ve Zn ile kaplanması sonrasında yüzeylerin antibakteriyel etkinlikleri *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı test edilmiştir.

Elektron mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucunda, anodizasyon işlemi ile Cp-Ti yüzeyinde belirgin ve düzenli nanotübüler yapının olduğu gözlenmiştir. Yüzeydeki nanotübüler yapılar çeşitli ajanlar için bağlanma bölgeleri oluşturmaktadır ve termal buharlaştırma ile yüzeyde Ag, Cu ve Zn metallerinin biriktirilmesi sonucunda nanotübüler yapıların belirsizleşmeye başladığı belirlenmiştir. Atomik kuvvet mikroskobu analizleri ile anodize yüzeylerin girintili-çukuntulu-pürüzlü bir yüzeye sahip olduğu, Ag, Cu ve Zn ile kaplanan yüzeylerde pürüzlülük değerlerinin anodize olmamış yüzeye kıyasla önemli derecede arttığı saptanmıştır. Temas açısı ölçümleri sonucunda Cp-Ti yüzeylerinin su ile temas açısının 79.2°, anodik oksidasyonla üretilen Cp-Ti örneklerinde ise 140.2° olduğu belirlenmiştir. Ag ve Cu kaplı yüzeylerin temas açılarının anodize olmamış Cp-Ti yüzeylerden yüksek, anodize yüzeylerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Anodizasyon işleminin Cp-Ti yüzeylerine önemli derecede antibakteriyel özellik kazandırdığı, yüzeylerin Ag, Cu ve Zn ile kaplanması sonrasında *S. aureus* ve *E. coli* 'ye karşı bakteriyosidal etkinin daha da kuvvetlendiği saptanmıştır. En belirgin antibakteriyel aktivite 5 nm Ag kaplı yüzeylerle elde edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile biyomalzeme olarak kullanılan Cp-Ti yüzeylerinin çeşitli modifikasyon yöntemleri ile yüzey özelliklerinin ve antibakteriyel etkinliklerinin geliştirilebileceği ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Anodik oksidasyon, antibakteriyel aktivite, biyomalzeme, termal buharlaştırma, titanyum

FABRICATION, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF BIO COMPATIBILITY PROPERTIES OF AG, CU AND ZN DOPED TiO₂-BASED NANOTUBES ON CP-Ti SURFACE

SUMMARY

Titanium (Cp-Ti) is a biomaterial that is resistant to corrosion and has high tissue acceptance. In this study, the surface of titanium was modified with different methods, antibacterial coatings with different properties were formed on the surface and thus it was aimed to increase its biocompatibility. For this purpose, 50V anodic oxidation process was applied to the commercially available titanium surface, and antibacterial Ag, Cu and Zn metals were deposited on the anodized surfaces by thermal evaporation method. Characterization studies of modified Cp-Ti surfaces were carried out by contact angle measurements, scanning electron microscopy and atomic force microscope analysis. After coating with Ag, Cu and Zn, the antibacterial activities of the surfaces were tested against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

As a result of the electron microscope examinations, it was observed that a distinct and regular nanotubular structure was formed on the Cp-Ti surface with the anodization process. Nanotubular structures on the surface form binding sites for various agents and it was determined that nanotubular structures began to disappear as a result of the deposition of Ag, Cu and Zn metals on the surface by thermal evaporation. With atomic force microscopy analysis, it was determined that the anodized surfaces have a recessed-protruding-rough surface, and the roughness values on the surfaces coated with Ag, Cu and Zn increased significantly compared to the non-anodized surface. As a result of the contact angle measurements, it was determined that the contact angle of the Cp-Ti and anodized surfaces with water were 79.2° and 140.2° , respectively. The contact angles of Ag and Cu coated surfaces were higher than unanodized Cp-Ti surfaces and lower than anodized surfaces. It has been determined that the anodization process gives the Cp-Ti surfaces a significant antibacterial feature, and after the surfaces are coated with Ag, Cu and Zn, the bacteriocidal effect against *S. aureus* and *E. coli* becomes stronger. The most prominent antibacterial activity was obtained with 5 nm Ag coated surfaces.

As a result, it was revealed that the surface properties and antibacterial activities of Cp-Ti surfaces used as biomaterials can be improved by various modification methods.

Keywords: Anodic oxidation, antibacterial activity, biomaterial, thermal evaporation, titanium

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Biyomalzemeler, yaygın olarak tıpta ve diş hekimliğinde kullanılan, sürekli veya periyodik olarak canlı dokularla temas eden yapılardır. Diş implantları başta olmak üzere eklem replasmanları, kalça ve kardiyovasküler onarım amaçlı kullanılan malzemeler de gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Bu biyomateryaller her yıl artan sayıda insan için yaşam kalitesini iyileştirmektedir. Biyomalzemeler fizyolojik ortam içinde verimli ve güvenilir bir şekilde kullanılabilmelidir. Biyomalzemelerin tasarımı ve seçimi amaçlanan tıbbi uygulamaya bağlı olarak da değişmektedir ve bu amaçla polimerler, metaller, kompozit malzemeler ve seramikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde mevcut olan biyomalzemelerin çoğu, tek başına veya farklı kategorideki materyallerinin kombinasyonu halinde geliştirilmiştir. İyi tasarlanmış bir biyomateryal, diğer vücut organları üzerinde toksik etki göstermeden asıl amacına hizmet etmeli, kanserojen, pirojen, alerjen olmamalı ve yüksek biyouyumluluk sergilemelidir [1-3]. Biyouyumluluk bir biyomalzemenin dokularla etkileştiğinde biyolojik, kimyasal ve fiziksel olarak uyumlu olması ve canlı ortamlardaki reaksiyonlara karşı uygun cevap oluşturma özelliğidir. Biyomateryaller, canlı dokuya implante edildiğinde çeşitli doku tepkilerine maruz kalmaktadır. İmmün reaksiyon, enfeksiyon ve iltihaplanma başlıca gözlenen konakçı tepkileridir. Bir biyomateryalin in vivo'da etkili ve verimli bir şekilde çalışması için yüksek derecede biyouyumlu olmalıdır. Bununla birlikte kolay şekil alabilmesi, korozyona dirençli olması ve sterilizasyon koşullarına karşı dayanıklı olması biyomalzemelerde aranan diğer özelliklerdendir [4,5]. Bazı metaller, mükemmel mekanik özellikleri ve iyi biyouyumlulukları nedeniyle biyomateryal olarak kullanılmaktadır. Metalik implantlar kemik plakaları ve vidaları, spinal fiksasyon cihazları ve diş implantları, total kalça ve diz eklemleri, vasküler stentler ve ortodontik ark tellerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Metalik yapıdaki biyomalzemelerin temel dezavantajı, in-vivo ortamda korozyon eğiliminin yüksek olmasıdır. Korozyon sonucunda implant yapısından malzemenin ayrılmakta, implant zayıflamakta, korozyon ürünleri çevre dokular ve organlar üzerinde toksik etki oluşmaktadır [5,6].

Saf titanyum (Cp-Ti) yaygın olarak kullanılan korozyona dirençli ve biyolojik olarak inert yapıda bir biyomalzemedir. Bu özelliği ile insan vücuduna yerleştirildiklerinde değişmeden kalmakta ve insan dokuları tarafından iyi tolere edilebilmektedir. Yüzeyinde oluşan oksit filmi (TiO_2) titanyum yapıdaki malzemelerin yüksek biyoyumluluk sergilemesini sağlamaktadır. Bu oksit tabaka, hava ile temas halinde kendiliğinden büyüyen, oksijenin ortamdan difüzyonunu engelleyen ve korozyon direnci sağlayan güçlü ve stabil bir tabakadır [7,8]. Üstün biyoyumlulukları, mükemmel korozyon direncinden ve kemik dokusuna yakın bir mekanik davranış sergilemesini sağlayan elastik modül ve düşük yoğunluğu nedeniyle titanyum ve alaşımlarının biyomateryal olarak kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Yapay kemiklerde, eklemlerde ve diş implantlarında sert doku replasmanı olarak yaygın olarak kullanılırlar. Titanyum malzemelerinin düşük sertliğinden dolayı zayıf sürtünme yorulma direnci ve zayıf tribolojik özellikleri daha geniş kullanımını sınırlamaktadır. Zayıf tribolojik davranışlar, yüksek sürtünme katsayısı ve düşük aşınma direnci implanttan kan dolaşımına aşınan kalıntıların salınmasına yol açarak çevredeki dokuda iltihaplanmaya yol açması ve kemik erimesine neden olmaktadır. Sonuçta implantın gevşemesi ve dolayısıyla implantın belirli sürelerle değiştirilmesi gerekmektedir [9,10]. Titanyum bazlı implantların dezavantajlarını elimine etmek ve yüzeyi özelliklerini daha da iyileştirmek için çeşitli modifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Yüzey topoğrafyasında değişim ve oksit tabakasını düzenlemek için sol-jel yöntemi ve anodik oksidasyon gibi uygulamalar yapılabilirken antibakteriyel ajanlarla kaplı yüzeylerin oluşturulmasında mikro ark oksidasyonu, plazma püskürtme, iyon ışını destekli biriktirme ve termal buharlaştırma gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bunların arasında anodik oksidasyon yöntemi ekonomik oluşu, kontrol edilebilirliği ve yüzeyde oluşan topoğrafik yapıların boyutunun ve şeklinin istenen ölçülerde hazırlanmasına imkan sağlaması ile ön plana çıkmaktadır [11,12]. Anodik oksidasyon, bir metal substrat üzerinde bir oksit filminin üretimi için kullanılan elektrokimyasal bir yöntemdir. Anodik oksidasyon (AO), uygulanan yüzeylerin korozyon direncini ve aşınma direncini arttırmakta ve yüzey pürüzlülüğünü düzenlemektedir. Bu yöntemle yüzeyde oluşan farklı boyutlarda nanotübüler yapılar in vivo da substrata güçlü bir şekilde yapışmayı sağlamaktadır. Anodize olan yüzeylerin korozyon direncinin ve biyoyumluluğunun arttığı ve

yüzeye hücre yapışmasının indüklendiği de rapor edilmektedir [13,15]. Termal Buharlaştırma (TB) titanyum yüzeylerine uygulanan diğer bir modifikasyon yöntemidir. Bu yöntem yüzeylerin çeşitli ajanlarla kaplanmasına imkan sağlamaktadır. Başarılı bir implantasyon ve enfeksiyon oluşmaması için implant yüzeylerinin antibakteriyel özellikte olması oldukça önemlidir. Vankomisin, gentamisin, kobalt, gümüş, çinko gibi metaller ile kaplanan yüzeylerin antibakteriyel aktivitesi artmaktadır [16]. Ayrıca TB yöntemi ile üretilen malzemelerde elde edilen yoğun kaplama yapısı yüzeyin aşınma ve sürtünmeye karşı dirençli olmasını da sağlamaktadır [17]. TB yöntemi ile kaplanan çeşitli implant yüzeylerinin biyouyumluluğunun iyileştiği, pürüzlü ve homojen bir yüzeyin elde edildiği, Ag gibi antibakteriyel ajanlarla yüzeyin rahatlıkla kaplanabildiği rapor edilmiştir [18-20]. Cp-Ti yüzeyleri biyoinert olduğundan dolayı canlı sistemlerde biyoaktif olarak düşük özellik sergilemekte ve yüzey modifikasyonuna ihtiyaç duymaktadır. Literatürde biyoaktif cp-Ti yüzeyleri elde etmek için çok çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Fakat AO ve TB yöntemlerinin birlikte kullanıldığı biyoaktif, biyouyumlu ve antibakteriyel cp-Ti yüzeylerin oluşturulduğu kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, literatürde ilk kez AO ve TB yöntemleri biraraya getirilerek cp-Ti üzerine dubleks antibakteriyel yapıda biyoaktif ve biyouyumlu yüzeyler üretilmiştir. Bu amaçla ilk aşamada cp-Ti yüzeyi 50 V potansiyel ve 1 saat süreyle AO işlemine tabi tutulmuş ve yüzeyde nanotübüler yapıların oluşumu sağlanmıştır. Sonrasında ise morfoloji değişmeden yüzeyin kristalinitesini artırmak için yüzeye 1 saat süreyle ısıtma işlemi uygulanmıştır. İkinci aşamada ise; TB yöntemi ile nanotübüler yüzeylerde Ag, Cu ve Zn metali biriktirilmiş ve antibakteriyel yüzeylerin oluşumu hedeflenmiştir. Tüm yüzeyler SEM, AFM ve EDX analizleri ile karakterize edilmiştir. Bu karakterizasyon yöntemleri ile yüzey topoğrafyasındaki ve malzemenin kimyasal bileşimindeki değişimler araştırılmıştır. Cp-Ti yüzeyinde anodik oksidasyon ve termal buharlaştırma yöntemleri birlikte kullanılarak Ag, Cu ve Zn kaplı antibakteriyel tabakalarının oluşturulması literatürde bir ilktir. Tüm örneklerin temas açısı ölçümleri alınarak yüzey ıslanabilirliğindeki değişimler de araştırılmıştır. Ag, Cu ve Zn kaplı yüzeylerin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı bakteriyosidal etkileri araştırılarak yüzeylerin antibakteriyel özelliklerindeki değişimler araştırılmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

İnsan vücudu yapısından dolayı sağlık sorunları ile savaşılan canlı bir organizmadır. Organizmanın savunma ve koruma sistemlerinin yetersiz kaldığı zamanlarda organizmada ciddi kayıplar oluşmaktadır. Doku ya da organların çeşitli nedenlerle işlevini kaybetmesi sonucunda biyomalzemeler kullanılmaktadır. Biyomalzemeler, canlı sistemde doku ve organların görevlerini kısmen ya da tamamen yerine getirmek için tasarlanmış olup implante edilebilen materyallerdir [21,22].

Son yıllarda özellikle mühendislik ve tıp alanındaki teknolojik gelişmelere bağlı olarak vücudun doğal dokularını yeniden yapılandırmaya yönelik biyomateryallerin geliştirildiği görülmektedir [5]. Biyomalzeme bilimi bilimsel anlamda yeni bir alan olması ile birlikte tarihi açıdan çok eski bir geçmişe sahiptir. İlk implantasyonun mayalar tarafından yapıldığı bilinmekte, 19. yy'da vücut içi implantların kullanımında artış olduğu rapor edilmektedir. 1880 yılında fildişinden protezler yapılmış, 1938 yılında ilk metal protez vitalyum üretilmiştir. 1950 yıllarında kan damarlarının değişimi, 1960 yıllarında kalça protezleri, 1970 yıllarında ameliyat ipliği gibi birçok biyomateryal kullanılmaya başlanmıştır. Son zamanlarda polimer, seramik ve metaller vücutta onarım ve yenilenme için kullanılmaktadır [23].

Biyomateryaller, sadece implant olarak değil aynı zamanda vücut dışına yerleştirilen ama vücutla bağlantı halinde bulunan cihazlarda ve materyallerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Geliştirilen biyomateryaller, yüz ve çene cerrahisinde, ortopedik uygulamalarda, yapay kalp parçalarında, bel kemiği enstrümantasyonlarında, vidalarda, çivilerde, metal parçalarda, fiksator tellerinde, açılı plaklarda, kalça plaklarında, anatomik plaklarda ve vücuda yerleştirilebilir cihazlarda da kullanım alanı bulmaktadır [24]. Biyomalzemeler, işlevini yitirmiş dokuların görevini üstlenirken aynı zamanda insan vücudunda istenmeyen tepkimelerin oluşumuna da yol açabilmektedir. Kireçlenme, hücre toksisitesi, pıhtılaşma, enfeksiyon, kan uyumsuzluğu ve korozyona bağlı toksisite bu tepkimelerden bazılarıdır [25].

Biyomateryallerin vücutta herhangi bir inflamasyona neden olmaması ve vücuda uygun cevaplar vermesi gerekmektedir. Vücut dokusunda biyolojik, kimyasal ve fiziksel olarak sağlanan optimum uyum biyouyumluluk olarak tanımlanmaktadır. Geliştirilen biyomateryalin biyouyumluluk özellikte olması vücut için önemli bir faktördür. Materyallerin biyouyumlu olması için canlının fizyolojik ortamı tarafından kabul edilmesi gereklidir. Biyouyumlu malzemeler uygulanma esnasında vücut sistemine uygun cevap oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu sayede biyomateryal kendisini çevreleyen dokularda anormal bir değişime sebep olmamaktadır. Biyouyumluluk statik bir durum değildir, dinamik ve devam eden bir durumdur. Vücuttaki yaşam şartlarının değişimi, vücut ve materyal arasındaki cevaba dinamizm kazandırmaktadır. Bu değişim ile başlangıçta biyouyumlu olan materyal zamanla uyumluluğunu kaybedebilmektedir [26,27].

2.1. Biyomateryellerin Sınıflandırılması

iyomateryaller doku ile arasındaki uyuma göre sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.1). Biyoaktif materyaller, canlı organizmanın yumuşak dokusu ya da kemik ile kimyasal etkileşim kurabilmektedir. Biyobozunur materyaller, biyolojik bozunma sonucunda doku ile yer değiştirebilmektedir. Biyoinert materyaller ise doku ile mekanik bağ gerçekleştirmekte ve bu bağ sayesinde biyoinert materyal ile doku arasında herhangi bir değişim yaşanmadan bir arada bulunmaları sağlanmaktadır.

Tablo 2.1. Biyomalzemelerin doku ile etkileşimlerine göre gruplandırılmaları ve örnekleri [28].

Biyomateryal Tipi	Doku ile Etkileşimi	Biyomateryal Örnekleri
Biyoaktif Materyal	Kimyasal Etkileşim	Cam Seramikler, HA
Biyobozunur Materyal	Yer Değiştirme	TCP (trikalsiyum fosfat)
Biyoinert Materyal	Mekanik Etkileşim	Al, Zr, Ti oksitler

İdeal bir biyomateryal; karsinogenik, toksik ve mutajenik olmamalı, alerjik etki göstermemeli, korozyona dirençli olmalı, steril edilebilir, işlenebilir, kan ile uyumlu, fiziksel hareketlere uygun (dayanıklı, elastik vb.), ucuz ve üretimi kolay olmalıdır.

Günümüzde kullanılan biyomateryaller malzeme türüne göre genel olarak metalik, seramik ve polimerik olarak sınıflandırılmaktadır. Her bir gruba ait biyomalzemeler medikal uygulamalarda çeşitli avantaja ve dezavantaja sahiptir. Biyomalzeme türleri ve kullanıldığı medikal uygulama örnekleri Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. Biyomalzeme türleri ve kullanıldığı medikal uygulama örnekleri [29].

	UYGULAMA ALANI	MALZEME TÜRÜ
İSKELET SİSTEMİ	Eklemler	Ti, Ti-Al-V Alaşımları
	Kemik dolgu maddesi	Poli metil metakrilat (PMMA)
	Kemikte oluşan şekil bozuklukları	Hidroksiapatit
	Diş implantları	Titanyum, Titanyum, Alüminyum Oksit
	Yapay tendon ve bağlar	Poli (etilen teraftalat), Teflon
KALP-DAMAR SİSTEMİ	Kataterler	Poliüretan, Silikon kauçuk, Teflon
	Kan damarı protezleri	Poliüretan, Poli (etilen teraftalat), Teflon
	Kalp kapakçıkları	Karbon, Paslanmaz çelik
DUYU ORGANLARI	Göz içi lensler	Hidrojeller, PMMA, silikon kauçuk
	Kornea bandajı	Hidrojeller, Kollajen
	Kontakt lensler	Hidrojeller, Silikon-akrilat
ORGANLAR	Yapay kalp	Poliüretan

Metalik biyomalzemeler kas ve iskelet sistemine en iyi uyum gösteren materyallerdir. Paslanmaz, dayanıklı, korozyona karşı dirençsiz ve biyouyumluluk özellikleri oldukça düşüktür. Günümüzde metalik biyomalzemelerin eklem protezlerinde, kemik yenileme malzemelerinde, kalça plaklarında, kataterde, kalp kapakçığında, fiksator tellerde, vidalarda ve çivilerde kullanıldığı bilinmektedir [30]. Biyoseramikler, kimyasal olarak inert, korozyona dirençli, elektrik ve ısı geçirgenlikleri az olduklarından biyouyumlulukları yüksek ve oldukça kırılğan yapıya sahip malzemelerdir. Genellikle diş implantları ve kalça yuvalarında

biyomalzeme olarak kullanılmaktadır [31]. Polimerik biyomateryaller ise kolay üretilen, geniş kullanım alanı olan ancak sterilizasyon koşullarına dayanıksız yapılardır. Yapay kan damarları, kalça yuvalarında kullanılan malzemeler ve ameliyat iplikleri polimerik yapıdadır.

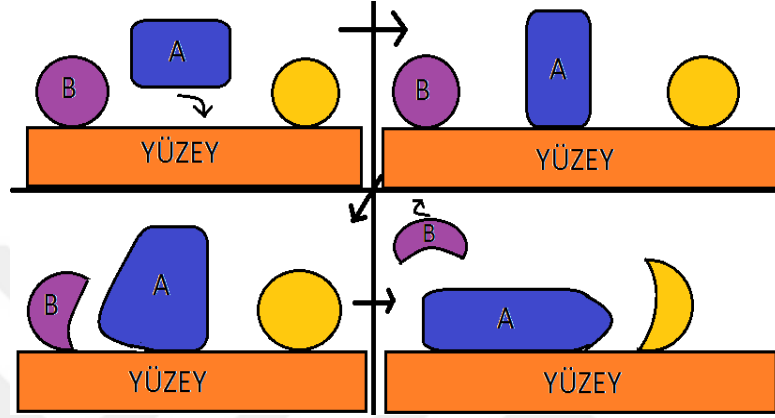
2.2. Biyomateryallerin Karakterizasyonu

Geliştirilen bir biyomalzeme canlı sistemlere yerleştirilmeden önce özellikle yüzey karakterizasyonu yapılmalı ve toksisite testlerine tabii tutulmalıdır. Biyomalzemenin canlı sistemlerle etkileşimini değerlendirebilmek için fiziksel, kimyasal ve biyolojik testler uygulanmaktadır. Bu analizlerle biyomalzemenin canlı ortamlardaki davranışı ve oluşturabileceği yan etkileri de değerlendirilebilmektedir.

2.2.1. Biyolojik Karakterizasyon

Biyomalzemelere uygulanan biyolojik analizler özellikle çevre dokularla etkileşimin ve oluşturabilecek muhtemel toksisitenin belirlenmesinde önemli bir role sahiptir. Hemolitik aktivite, kan proteinleri adezyonu ve pıhtılaşma testi, sitotoksisite ve genotoksisite testleri biyomalzemelere uygulanan başlıca biyolojik analizlerdir. Hemoliz testi biyomalzemelerin kan ile etkileştiğinde hemolitik aktiviteye neden olup olmadığının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Kırmızı kan hücrelerinin çeşitli nedenlerden dolayı parçalanması sonucunda içindeki maddelerin dışarı çıkması olayına hemoliz adı verilir. İmplant üzerine kan hücreleri yapışması durumunda hemoliz ve tıkanma gözlenebilmektedir. Biyomalzeme yüzey yükünün modifikasyonu ile eritrositlerin yüzeye yapışması azaltılabilmektedir [32,33]. Kan proteinleri adezyonu testi biyomateryal yüzeyindeki biyoyumluluğun tespit edilmesinde önemli yere sahiptir. Doku/kanla ile temasta bulunan biyomalzeme yüzeyinde protein adezyonu sonra da hücre adezyonu gözlenmektedir. Kan ile temas eden biyomalzeme yüzeyinde ilk adezyonu gerçekleştiren proteinler küçük molekül ağırlığına sahiptirler ve genellikle fibrinojen ilk adezyona uğrayan proteindir [34]. Daha sonra albümin-globulin gibi büyük proteinler yüzeye yapışmakta ve yüzeyle arasında güçlü bir çekim oluşturmaktadır. Bu çekim daha önce bağlanan küçük

yapıdaki proteinin yüzeyden ayrılmasına neden olmaktadır (Şekil 2. 1) [35]. Bu durum Vroman ve Adams (1960) tarafından Vroman etkisi olarak isimlendirilmiştir [36]. Protein adezyonu hücrelerin yüzeye yerleşmesinde önemli bir basamaktır ve bu nedenle protein adezyon testi biyomalzemelerin biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde önemli bir kriterdir.



Şekil 2.1. Vroman etkisi; A. Yüzeye ilk yerleşen küçük proteinler, B. Küçük proteinlerin yüzeyden ayrılmasına neden olan büyük proteinler [35]

Sitotoksikite testleri canlı hücredeki toksik etki oranının belirlenmesi için kullanılan test metodudur. Tetrazolyum tuzları ile yapılan testler; en sık kullanılan sitotoksikite testidir. Tetrazolyum tuzları elektron alarak indirgenirler ve formazan adı verilen maddeye dönüşürken renk değişikliğine neden olurlar. Renk değişim reaksiyonlarına sadece canlı hücrelerde rastlanmaktadır. Biyomalzemelerin hücre kültüründe canlı hücreler ile etkileşimi sonrasında ölçülen renk değişimi hücre canlılığı hakkında bilgi vermekte ve azalan hücre canlılığı biyomalzemenin toksisitesine işaret etmektedir. Tetrazolyum tuzları ile yapılan analizler dışında laktat dehidrogenaz testi, alamar mavisi floresans testi, ATP biyoluminesans testi ve gerçek zamanlı (real time) biyoluminesans testleri sitotoksikitenin belirlenmesinde kullanılmaktadır[37-40].

Bir biyomalzemenin sitotoksik etki ve genotoksik etkisi göstermemesi biyouyumluluğunu arttıran önemli bir faktördür. Biyomalzemelerin potansiyel genotoksik etkileri de Ames, Comet, kardeş kromatit değişim testi ve mikronukleus testleri ile araştırılmaktadır. Salmonella/Mikrozom mutajenite (Ames) testi,

biyomalzemelerin ve çeşitli kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılmasında kullanılan, karsinojen/mutajen etkisi en iyi bilinen, test parametreleri açısından standartlığı en iyi olan ve kimyasallarla geçerliliği en fazla kabul edilmiş bakteriyel test sistemlerinden biridir [41-48]. Comet Testi ise DNA çift ve tek zincir kırıklarının tespiti için kullanılan güvenilir, hızlı ve hassas bir yöntemdir. Memeli hücresinde çeşitli ajanların indüklediği onarım bozukluğu ve DNA hasarını belirlemeyi amaçlayan çalışmalarda kullanılmaktadır [41,49-57]. Kardeş kromatidlerdeki kırığı ve yer değiştirmeyi saptayan kardeş kromatid değişim testi (KKD) ve yine kromozom kırığı ya da mitotik anormalliklerin tespitinde kullanılan mikronukleus (MN) testi genotoksisite analizlerinde kullanılan diğer testlerdir. KKD, metafaz evresindeki kromozomların kardeş kromatidleri arasındaki değişim sonucunda meydana gelmektedir. KKD frekansının artışına neden olan kimyasal bir madde replikasyon mekanizmasını etkiler ve DNA hasarı oluşturabilmektedir [158,59]. MN testi, fiziksel ve kimyasal ajanların anöjenik ve klastojenik etkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. MN'ler hücre bölünmesi sırasında, kimyasalların etkisi ile kromozomda meydana gelen kırıklıklar ve interfaz evresinde sitoplazmada görülen küçük çekirdeklerdir [60]. Biyomalzeme ile etkileşen hücrelerde MN ve KKD sıklığının artması sitotoksik ve genotoksik etkiye işaret etmektedir.

2.2.2. Fiziksel Karakterizasyon

Biyomalzemenin özellikle yüzey özelliklerinin karakterizasyonunda fiziksel testler oldukça kullanışlıdır. Taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve X-ışını kırınımı (XRD) analizleri gibi pek çok yöntem biyomalzemelerin karakterizasyonunda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

XRD, malzemelerin hem yapısının hem de bileşiminin karakterizasyonu için kullanılan güçlü bir tekniktir. X-ışını Kırınım cihazıyla malzemelerin, ince filmlerin ve polimerlerin nitel ve nicel incelemeleri yapılabilir [40]. Biyomalzemelerin kalitatif ve kantitatif bileşiminin, kristalit boyutunun ve kristallik derecesinin araştırılmasına imkan sağlayan XRD yöntemi pek çok çalışmada da kullanılmıştır. Kandić ve ark. [61] ve Veselinović ve ark. [62] biyokompozit malzemelerin kalitatif ve kantitatif bileşiminin, kristalit boyutunun ve kristallik derecesinin XRD ile

aydınlatılabildiğini ve bu özelliklerin kompozitlerin kalitesi ve kemik dokusu onarımındaki uygulamaları üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

SEM, malzemelerin mikroyapısını ve morfolojisini görüntülemenin yaygın yöntemlerinden biridir. SEM'de, düşük enerjili bir elektron ışını malzemeye yayılarak numunenin yüzeyinin taranmasını sağlamaktadır. Işın materyale ulaşır girdikçe birkaç farklı etkileşim meydana gelir ve bu da numune yüzeyinden veya yakınında foton ve elektron emisyonuna yol açar [63]. Malzemelerin karakterizasyonu için X-ışını haritalama, ikincil elektron görüntüleme, geri saçılmış elektron görüntüleme, elektron kanal oluşturma gibi farklı SEM modları mevcuttur [64].

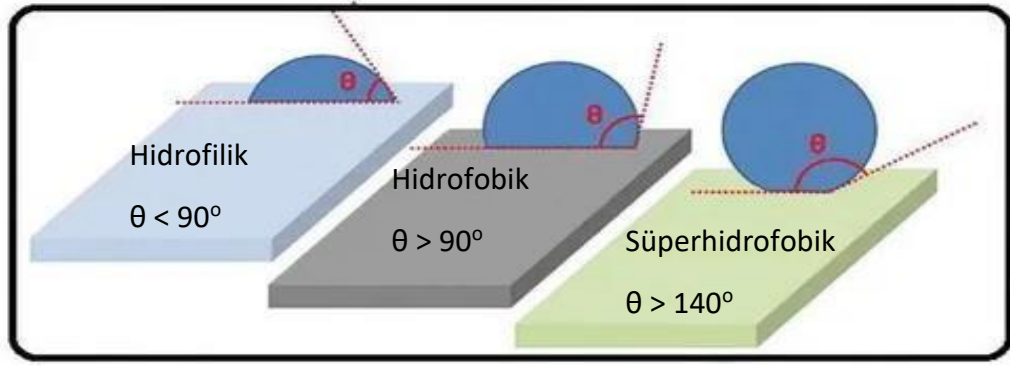
AFM, hemen hemen her türlü yüzeyin (sert veya yumuşak, yalıtımlı veya iletken, sentetik veya doğal) görüntülenmesine ve analiz edilmesine imkan sağlamaktadır. AFM görüntüsü, nanometre veya angstrom ölçeğindeki uzamsal çözünürlüklerle yüzeyin üç boyutlu özelliklerini ortaya koymaktadır [65]. Atomik boyutlara kadar sivriltilmiş bir iğne ucu yardımıyla, yüzeyin üç boyutlu görüntülenmesini yüksek çözünürlükte sağlar. Görüntüleme, iğne ucu ve yüzey arasındaki temas ile gerçekleştirilmektedir [64].

2.2.3. Kimyasal Karakterizasyon

Biyomalzemelerin kimyasal karakterizasyonunda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Kızılötesi (IR), Raman ve X-ışını fotoelektron spektroskopisi, nükleer manyetik rezonans, kütle spektrometresi, temas açısı ölçümleri bu analizlerden bazılarıdır. IR spektroskopisi, bileşiklerin tanımlanması ve kimyasal yapı analizi için yaygın olarak kullanılan bir optik tekniktir. Özellikle kompozitlerin kristalizasyonunun ve konformasyonunun araştırılmasında kullanılmaktadır [40]. Bir molekül içindeki çeşitli fonksiyonel gruplar, çeşitli frekanslarda IR radyasyonunu emerek, bir molekülde belirli kimyasal fonksiyonel grupların varlığı veya yokluğu hakkında bilgi vermektedir. IR spektrumlar, bir malzemenin içerisinde IR radyasyonu ışını geçirilerek elde edilmektedir. En yaygın IR cihazı türü, yüksek sinyal-gürültü oranı,

kolay kullanımı ve nispeten düşük maliyeti nedeniyle Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektrometresidir [64]. FTIR spektroskopisi, araştırmacılar tarafından dental kompozitlerde dönüşüm derecesinin ve polimerizasyon sürecinin araştırılması için kullanılmaktadır [66-68]. Ayrıca, biyomalzemeleri karakterize etmek için, yayıflatılmış toplam yansıma FTIR (ATR-FTIR) spektroskopisi adı verilen özel bir teknik de kullanılmaktadır. ATR-FTIR'ın temel avantajı, herhangi bir ön işlem kullanmadan veya hazırlama prosedürleri sırasında numuneyi tahrip etmeden doğrudan değerlendirmenin yapılabilirliğidir [69]. Raman spektrumları malzemede kimyasal ve moleküler yapılar ile malzemelerin konformasyonu hakkında bilgi sağlamaktadır. Örneğin biyomalzeme yapısındaki C-C, C-S, N=N, S-S ve C=C grupları güçlü Raman bandları oluşturmakta ve biyomalzeme yapısında bu grupların tespiti mümkün olmaktadır. X-ışını spektroskopisi (XPS) bir biyomalzeme yapısındaki kimyasal elementlerinin saptanması, miktarlarının belirlenmesini sağlayan, karakteristik x-ışınının kullanıldığı bir yöntemdir [64]. XPS, biyomoleküllerin işlevselliğinin ve spesifik adsorpsiyonunun veya çeşitli yüzeylere bağlanmasının araştırılmasına, tıbbi veya dental uygulamalar için biyosensör geliştirilmesine de katkıda bulunmaktadır. XPS, diş implantları ile sert doku arasındaki etkileşimleri belirleyen mekanizmaların anlaşılması dahil olmak üzere restoratif diş hekimliğinde sert diş dokusunun analizine de uygulanmıştır [70,71].

Temas açısı ölçümleri bir yüzeyin ıslanabilirliği, hidrofilik ya da hidrofobik karakteri hakkında bilgi sağlayan bir karakterizasyon yöntemidir. Temas açısı ölçümleri aynı zamanda serbest yüzey enerjisi, ara yüzey gerilimi ve yüzey gerilimi, yüzey heterojenliği, sıvı emilimi, yüzey temizliği, yüzeyde sıvının yayılması, emülsiyon kararlılığı gibi özelliklerin de araştırılmasına imkan sağlamaktadır [72]. Katı yüzeylerin bir sıvı ile temas ettiği durumda bir temas açısı oluşmaktadır (Şekil 2.2). Temas açısının büyüklüğüne bağlı olarak yüzeyler hidrofilik, hidrofobik, süper hidrofilik ya da hidrofobik olarak karakterize edilmektedir. Temas açısı 90°'den büyük olanlar hidrofobik, 90°'den düşük olanlar hidrofilik, 140 °'den büyükler süper hidrofobik, temas açısı 0° dereceye yakın olanlar ise süper hidrofilik yüzeyler olarak sınıflandırılmaktadır [73].



Şekil 2.2. Düşük ve yüksek temas açıları [74]

Temas açısı, yüzeyin hidrofilikliğini belirleyen nicel bir değerdir. Yüzey daha hidrofilik hale geldikçe temas açısı azalmaktadır. Temas açısı ayrıca bir numune yüzeyinin homojenlik veya heterojenlik miktarını da gösterebilmekte, yüzey enerjisi hakkında bilgi sağlamaktadır. Katı yüzeyler, düşük ve yüksek enerjili yüzeyler olarak iki grupta kategorize edilmektedir. 100 dyn / cm'den daha az yüzey gerilimine sahip polimerik malzemeler ve organik bileşikler düşük enerjili, 200-500 dyn/cm aralığında yüzey gerilimine sahip metalik ve inorganik yüzeyler ise yüksek enerjili malzemeler olarak sınıflandırılmaktadır [63,65]. Yapılan çalışmalarda hidrofilik yüzeylerin hücre yapışmasının arttırdığı bildirilmiştir. Ruardy ve ark. [75], insan fibroblast hücrelerinin yüzey özelliklerini değiştirerek hidrofilik yüzeyin hücre yayılmasında ve yapışmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Georgi ve ark. [76], hidrofilikliğin hücre çoğalmasında artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

2.3. Titanyum

Teknolojisi 20. yüzyılın yarısında geliştirilen titanyum medikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan metallerden biridir. Korozyona dirençli ve güçlü bir metal olmasının yanı sıra, 4.50 g/cm³ nispi yoğunluğa sahip olan çok hafif bir metaldir. Bu yoğunluk derecesi titanyuma mükemmel bir dayanıklılık sağlamaktadır. Korozyona karşı paslanmaz çelik kadar dayanıklı bir yapıya sahiptir ve tuzlu suyun aşırı aşındırıcılığına karşı da oldukça dayanıklıdır. Titanyum 1668 °C'lik bir erime noktasına sahiptir. Mükemmel korozyon direnci, yüksek mukavemet ve düşük

yoğunluğu sahip olması nedeniyle kimya, mühendislik ve havacılık endüstrilerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [77]. Günümüzde teknolojik gelişmelerle titanyum ve alaşımları, insanın günlük yaşamında kullanılan çok çeşitli ürün formlarında üretilmektedir. Titanyum, dövme döküm olabilir ya da toz metalurjisi teknikleriyle yapılabilir ve tutturucular, difüzyon bağlama ya da kaynak lehimleme yapıştırıcıları kullanılarak birleştirilebilir [78]. Ticari saflıkta (CP) titanyum olarak bilinen alaşımsız titanyum, korozyona en dirençli ama en zayıf metal türüdür [79].

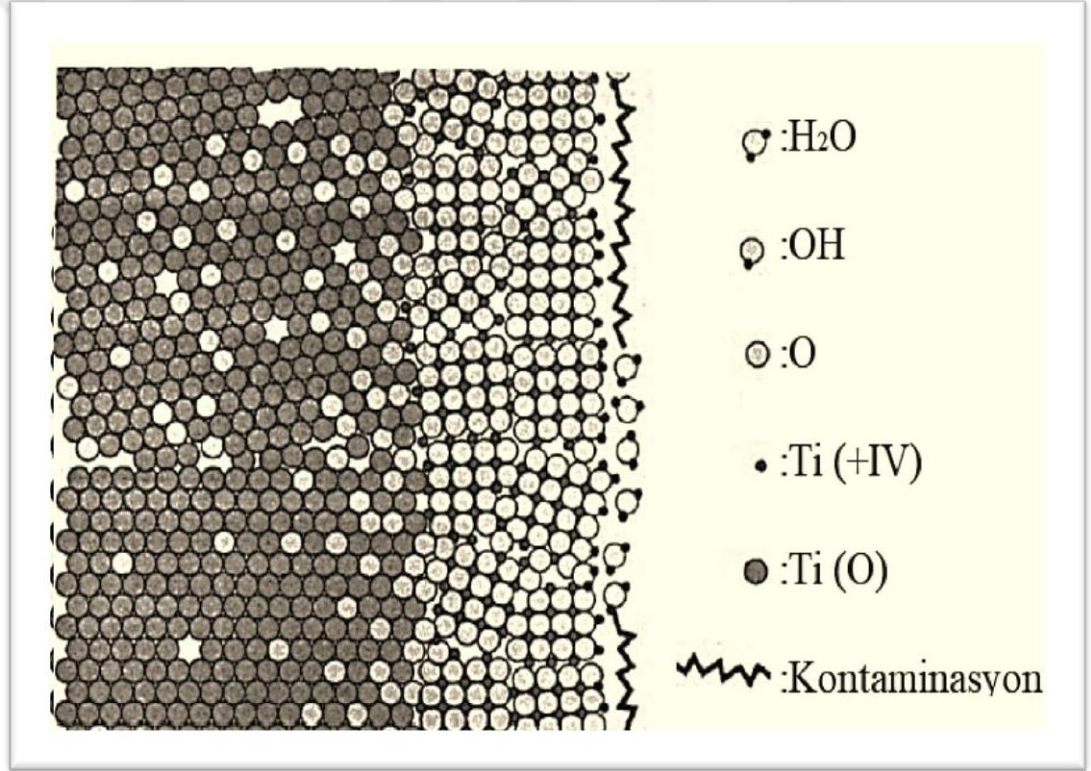
Tablo 2.3. Alaşımsız titanyumun fiziksel özelliklerinin özeti [80].

ÖZELLİK	DEĞER
Atom Numarası	22
Atom Ağırlığı (g/mol)	47,90
Yoğunluk (g cm ⁻³)	4,54
20°C’de termal genleşme katsayısı (K ⁻¹)	8,4*10 ⁻⁶
Termal İletkenlik (W/(mK))	19,2
Erime Sıcaklığı (°C)	1668
Kaynama Sıcaklığı (tahmini) (°C)	3260
Dönüşüm Sıcaklığı (°C)	882,5
Elektriksel Direnç Yüksek Saflık (μΩ cm)	42
Elektriksel Direnç Ticari Saflık (μΩ cm)	55
Esneklik Modülü (GPa)	105
Verim Gücü (MPa)	692
Nihai Güç (MPa)	785

2.3.1. Mekanik özellikler

Titanyum bazlı implantların havaya maruz kalması sonucunda yüzey üzerinde kendiliğinden doğal bir oksit filminin büyüdüğü bilinmektedir. Titanyum yapıdaki implantların yüzeyinde meydana gelen oksit tabakasının, titanyum oksit (TiO₂)’ye benzediği ve paslanmalara karşı güçlü mukavemet özelliğinin bu koruyucu oksit tabakası ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Titanyumun ve diğer çoğu titanyum alaşımının mükemmel kimyasal inert özelliği, korozyon direnci, yeniden

pasifleştirme yeteneği ve yüksek biyouyumluluğu tipik olarak sadece birkaç nanometre kalınlığındaki titanyum oksit filmin kimyasal stabilitesinden ve yapısından kaynaklanmaktadır. Amorf veya nanokristalin yapıdaki oksit film tabakası 3–7 nm kalınlığında oluşmakta ve çeşitli yüzey modifikasyon yöntemleri ile oksit tabakasının özellikleri değiştirilebilmektedir. TiO_2/Ti arayüzündeki O/Ti konsantrasyon oranı 2'den 1'e doğru kademeli olarak değişmektedir. Ti katyonları ile hidroksit arasındaki su bağı, yüzeyde zayıf bir şekilde bağlanmış su tabakasına yol açmaktadır. Saf titanyum üzerinde oda sıcaklığında büyütülen filmlerin özellikleri şematik olarak şekil 2.3'de gösterilmiş ve aşağıdaki gibi özetlenmiştir [81-83].



Şekil 2.3. Saf titanyum üzerinde büyütülen filmin özellikleri [83].

2.3.2. Biyolojik özellikler

Titanyum, yüksek özgül mukavemeti ve düşük elastik modülü nedeniyle ortopedide çok umut vericidir. Saf titanyumun elastik modülü yaklaşık 15×10^6 psi dir.

Titanyum, düşük sertliğinden dolayı düşük aşınma ve aşınma direncine sahiptir [84]. Yüksek biyouyumluluk sergileyen titanyumun yoğunluğunun düşük olması hafif olmasına neden olmakta ve pek çok implant uygulamalarına imkan sağlamaktadır. Kimyasal olarak inert oluşu vücutta biyokimyasal tepkimelere katılma ihtimalini de azaltmaktadır. Manyetik özellikte olmadığı için Manyetik Rezonans (MR) analileri için de uygundur. Allerjik özelliğinin düşük olması da vücutta immunojenik reaksiyonların oluşma potansiyelini de azaltmaktadır. Titanyum ve titanyum bazlı alaşımların yüksek dayanım ve kırılma tokluğu dental ve ortopedik implantlarda kullanımını da yaygınlaştırmaktadır [85,86].

Titanyum yüksek korozyon direnci ve iyi biyouyumluluk özelliği sayesinde medikal uygulamalarda tercih edilmektedir. Canlı sistemlerde kullanılan biyomalzemeler korozyona karşı dirençli olmalıdır. Titanyum ve alaşımlarının çevre koşullarına göre korozyona uğrama hızı değişkendir. Canlı içine yerleştirilen materyaller ilk olarak kan ve interstisyel sıvılar gibi vücut sıvıları ile temas etmektedir. Kan plazmasındaki klor iyon konsantrasyonu 113 mEq/L ve interstisyel sıvıdaki konsantrasyonu 117 mEq/L'dir [87]. Klor iyonlarının bu konsantrasyonu metalik malzemelerin aşındırılmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte vücut sıvılarında korozyonu hızlandırmaya neden olan amino asitler ve proteinler de bulunmaktadır [88, 89]. Metalik maddeler vücut sıvıları tarafından aşındırılırsa, metal iyonları vücut sıvısına karışmaktadır. Metal iyonlar in vivo olarak enzimler ve proteinler gibi biyomoleküllerle birleşerek alerji ve toksisiteye neden olabilmektedir. Hille [90], canlı organizmadaki aşındırıcı kuvvetlere dirençli olması, ana dokudaki reaksiyonların tolere edilebilirliği ve dayanım sınırının yüksek olması nedeniyle titanyumun implant malzemesi olarak güvenilir ve yaygın bir şekilde kullanılabileceğini rapor etmiştir [91].

In vivoda titanyum yüzeyine biyolojik sıvılardan protein adsorpsiyonu gerçekleşmektedir. Albümin, laminin V, glikozaminoglikanlar, kollajenaz, fibronektin ve fibrinojen dahil olmak üzere pek çok proteinin titanyum yüzeyine adsorbe olduğu belirlenmiştir. Malzemeler vücuda yerleştirildikten sonra, su ve iyonlarla etkileşimden sonraki ilk reaksiyon spesifik olmayan protein adsorpsiyonudur. Canlı ortamlarda implant yüzeyine protein adsorpsiyonunu hücre adezyonu takip etmektedir. Titanyum yüzeyler hücre büyümesini ve farklılaşmasını

da önemli derecede desteklemektedir. Osteoprojenitör hücrelerin implant bölgesine göç ettiği ve kemik yapan osteoblastlara farklılaştığı genel olarak kabul edilir [92,93]. Titanyum ve alaşımları, canlı dokular tarafından iyi tolere edilen ve osseointegrasyonu teşvik edebilen materyallerdir. Fakat biyoinert özellikleri nedeniyle kemik dokusu ile kimyasal bir bağ oluşturmadıkları için yüzey modifikasyonları kullanılmaktadır. İmplant yüzeyinin modifikasyonu ile kemiğin implanta doğrudan teması, kemik iletkenliğinin veya biyoaktivitesinin iyileşmesi, kemik dokusu ile yüzey arasındaki osseointegrasyon sağlanabilir [94]. Bununla birlikte titanyum yüzeyindeki modifikasyonlar ile hidrofiliği artırarak biyolojik ortama uyumu daha iyi hale getirilebilmektedir [95]. Yüzeyde oluşturulacak antibakteriyel bir tabaka ile implant enfeksiyonunun önüne de geçilebilmektedir. Bakterileri öldürmek veya yapışmasını engellemek için yüzeyde yapılan değişiklikler implantın biyolojik uyumluluğunu, ömrünü, hastanın yaşam kalitesini arttırmakta, çevre dokularda oluşabilecek enfeksiyonu da azaltmaktadır [90,96,97].

2.3.3. Yüzey Modifikasyonu

Korozyona karşı düşük direnci nedeni ile titanyum bazlı implantların canlı ortamda oluşturabileceği istenmeyen tepkilere karşı malzeme yüzeyini iyileştirmek için çeşitli modifikasyon yöntemleri uygulanmaktadır. Bu yöntemlerde yüzeyde yeni fonksiyonel grupların eklenmesi ya da mevcut grupların çıkarılması, farklı topografya ve bileşimlerin oluşturulması hedeflenmektedir (Şekil 2.4).

Doku mühendisliğinde yüzeyin mezogözenekliliği, yüzey topografyası ve kimyası hücre yapışmasında önemli bir faktördür. Biyomalzemelerin makro yapısı genelde kemik büyümesinde ve damarlaşma sürecinde görev almaktadır. Biyomateryal için oluşturulan hücresel reaksiyon tek bir özellikten etkilenmeyip birden fazla yüzey özelliğinden etkilenmektedir [99].



Şekil 2.4. Yüzey modifikasyonunun amacı [98].

Biyomateryaller tasarlanırken yüzeyin kimyasal bileşimi göz önünde bulundurulması gereken önemli bir faktördür. Canlı dokular ile biyomateryalin etkileşimi biyomateryal üzerinde gerçekleşmektedir. Materyal yüzeyindeki temas biyomolekülün çekimine, maruziyete ve biyomateryal türüne göre değişmektedir [100]. Yüzey modifikasyonu, canlı ortamdaki hücreler ve proteinlerin yüzey ile temasını düzenlemenin en doğrudan yoludur. Malzeme yüzeyinde bulunan fonksiyonel gruplar değiştirilerek yüzey elektrik yükleri, serbest enerji ve yüzey ıslanabilirliğini de istenilen ölçüde değiştirilebilmektedir. Yüzey kimyasındaki bu tür değişiklikler ile materyal yüzeyinde trombosit yapışmasının ve protein adsorpsiyonunun kontrol edilebileceği ve kan uyumluluğunun artırılabilceği rapor edilmektedir [99,101]. Modifikasyondaki temel amaç biyoyumluluğu, antibakteriyel özelliği, aşınma direncini ve korozyon direncini en iyi hale getirmektir. Bir biyomalzeme vücuda yerleştirildiğinde çeşitli biyolojik reaksiyonlar meydana gelmektedir. Oluşacak biyolojik reaksiyonlar, yüzey pürüzlülüğü, yüzey topografyası, yüzey kimyası ve esas olarak değişen yüzey enerjisi gibi yüzey özelliklerine bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir [99]. Titanyum ve titanyum alaşımlarının mevcut özelliklerini daha da güçlendirmek ve biyoyumluluğu arttırmak için çok çeşitli modifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler mekanik, kimyasal ve fiziksel olmak üzere üç sınıfta toplanmaktadır (Tablo 2.4).

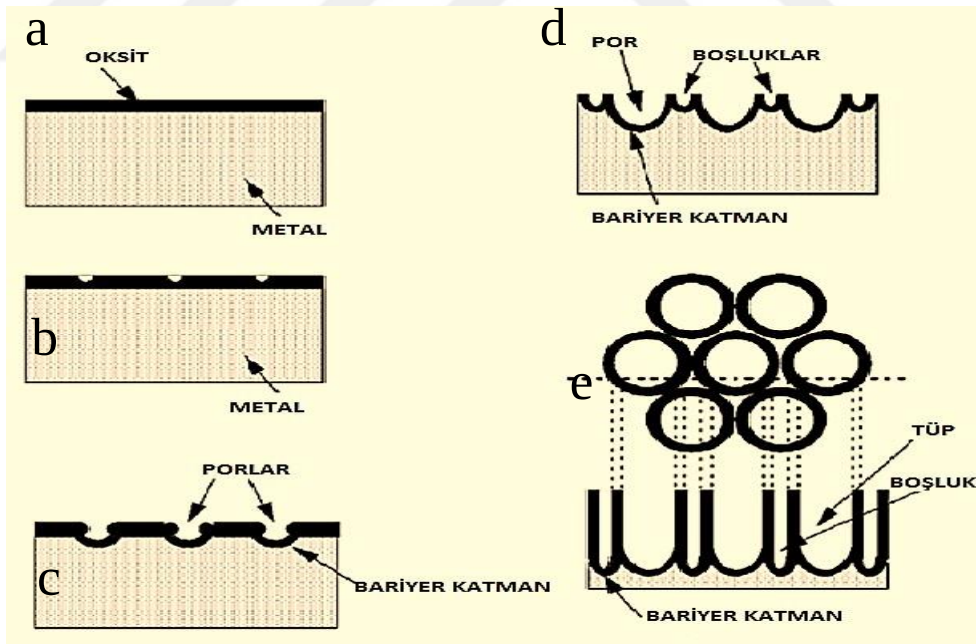
Tablo 2.4. Titanyum ve alaşım implantları için yüzey modifikasyon yöntemlerine genel bakış [81].

Yüzey modifikasyon Yöntemleri	Değiştirilmiş Tabaka	Amaç
Mekanik Yöntemler		
Parlatma, İşleme, Kumlama, Taşlama	Çıkarma işlemi ile oluşturulan pürüzlü ya da pürüzsüz yüzey.	Spesifik yüzey üretmek; yüzeyi temizlemek ve pürüzlendirmek; yapıştırmayı iyileştirmek.
Kimyasal Yöntemler		
Kimyasal Tedavi	<10 nm yüzey oksit tabakası ~1 µm sodyum titanat jeli	Oksit pullarını ve kontaminasyonu gidermek ve biyouyumluluğu, biyoaktiviteyi veya kemik iletkenliğini geliştirmek
Hidrojen peroksit tedavisi	~5 nm yoğun iç oksit ve gözenekli dış tabaka	Biyoyumluluğu, biyoaktiviteyi veya kemik iletkenliğini iyileştirilmek
Sol-jel	Kalsiyum fosfat, TiO ₂ ve silika gibi ~10 µm ince film	Biyoyumluluğu, biyoaktiviteyi veya kemik iletkenliğini iyileştirilmek
Anodik Oksidasyon	~ 10 nm - 40 µm TiO ₂ tabakası, adsorpsiyonu ve elektrolit anyonlarının dahil edilmesi	Spesifik yüzey topografyaları üretmek; korozyon direncini geliştirmek; biyouyumluluğu, biyoaktiviteyi veya kemik iletkenliğini iyileştirmek
CVD	~ 1 µm TiN, TiC, TiCN, elmas ve elmas benzeri karbon ince film	Aşınma direncini, korozyon direncini ve kan uyumluluğunu geliştirmek
Biyokimyasal yöntemler	Silanize titanya fotokimyası ile modifikasyon, kendiliğinden birleştirilmiş tek tabakalar, protein direnci vb.	Yüzeye sabitlenmiş peptitler, proteinler veya büyüme faktörleri aracılığıyla spesifik hücre ve doku tepkisini indüklemek
Fiziksel yöntemler		
PVD	Titanyum, HA, kalsiyum silikat, Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ , TiO gibi ~30 ila ~200 µm'lik kaplamalar	Aşınma direncini, korozyon direncini ve biyolojik özellikleri iyileştirmek
İyon implantasyonu ve biriktirme	~1 µm TiN, TiC, TiCN, elmas ve elmas benzeri karbon ince film	Aşınma direncini, korozyon direncini ve kan uyumluluğunu geliştirmek

Canlı sistemlerle etkileşim özellikle biyomalzeme yüzeyinde gerçekteştiği için modifikasyon yöntemlerinde ana hedef yüzey özelliklerinin geliştirilmesidir. Bu nedenle titanyum bazlı implantların yüzeyindeki oksit tabakanın karakteriştiği çeşitli modifikasyon yöntemleri kullanılarak istenilen özellikte değiştirilebilmektedir.

2.4. Anodizasyon

Metal bir yüzey üzerinde dekoratif ya da koruyucu bir oksit filmi oluşturmak için elektrolitik işlem olan anodizasyon yöntemi kullanılmaktadır. Anotlama tipik olarak, dünya atmosferine maruz kalan herhangi bir metal yüzeyde oluşan oksit tabakasının hem yoğunluğunu hem de kalınlığını arttırmaktadır. Oksit tabakasını oluşturmak için, anodizasyondan geçen iletken parça DC güç kaynağının pozitif terminaline bağlanmakta ve anot görevi gördüğü bir elektrolitik banyoya yerleştirilmektedir. Sisteme DC gücü uygulandığında, elektronlar elektrolitten anoda gider ve elektrolit banyosundaki yüzey oksijen iyonlarına maruz kalır [102]. Oksidin lokalize çözünmesi nedeniyle oluşan küçük çukurlar, gözenek oluşturuca merkezler olarak işlev görür ve bu çukurlar yüzey üzerinde homojen olarak artan gözenek yoğunluğu ile gözeneklere dönüşmektedir. Gözenek büyümesi, gözenek tabanındaki oksit tabakasının içe doğru hareketiyle oluşmaktadır. Metalden oksit/elektrolit arayüzüne geçen Ti^{4+} iyonları HF elektrolitinde çözünmektedir (Şekil 2.5.) [103].



Şekil 2.5. Sabit anodizasyon voltajında nanotüp oluşumunun gösterimi. (a) Oksit tabakası oluşumu, (b) çukur oluşumu, (c) çukurların gözeneklere büyümesi, (d) oksidasyon ve alan destekli çözünme, (e) nanotüpler [104].

Anodizasyon sonrasında Ti yüzey alanını genişleterek oluşturulan nanotübüler yapı, reaktif bölgeler oluşturarak kemik hücrelerinin yapışması için gerekli olan proteinin etkinliğini artırmaktadır [105]. Anodizasyon işlemi, termal oksitleme işleminden sonra en sık kullanılan yöntemdir. İşlem parametrelerinin ve kaplama kalınlığını kontrol edilebilir olması, düşük sıcaklıkta çalışılabilirliği, çevreye zarar vermeden yürütülebilmesi, homojen tabakaların oluşması, düşük maliyetli ve geniş alanda uygulanabilen filmlerin oluşturulabilmesi anodik oksidasyonun avantajlarıdır. Ancak oksitlenmiş tabakanın belirli kalınlığı geçememesi ve yayılma bölgesinin oluşmaması bu yöntemin dikkat edilmesi gereken dezavantajlarıdır.

Anodik oksidasyon sonrasında yüzeyde oluşan nanotübüler yapılar ve bu yapıların biyoyumumluluğu artırıcı özellikleri pek çok çalışmada da gösterilmiştir. Kıcır (2013), 20 V anodizasyon sonrasında oluşan TiO_2 nanotüp yapısının hücre yapışmasını arttırdığını bildirmiştir [106]. Wang ve arkadaşları (2019), mikro öğütme ve anodik oksidasyon kombinasyonu ile üretilen TiO_2 nanotüp yapılarının hidrofiliği ve korozyon direncini arttırdığını, osteoblastlar üzerinde olumlu etkisi olduğunu rapor etmişlerdir [107]. Li ve arkadaşları [13] anodik oksidasyon uygulanan Cp-Ti yüzeylerde kemik benzeri apatit yapıların oluştuğunu, hücre adezyonunun ve yüzeyde hücre proliferasyonunun arttığını gözlemlemişlerdir ve artan biyoyumumluluğun anodizasyon sonrasında yüzeyde oluşan nanoyapılar ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

2.5. Termal Buharlaştırma

Termal Buharlaştırma (TB) yöntemi katı bir kaynağın vakum altında atomizasyonu ya da buharlaştırması ile kaplama oluşturmak için malzeme yüzeyine iyonik ya da atomsal olarak biriktirme prosesidir [108]. Genellikle 10^{-5} - 10^{-6} torr vakum altında buharlaştırma işlemi yapılmaktadır. Kullanılan buhar fazı indüksiyonla, rezistanla ya da elektron bombardımanı ile elde edilmektedir. Buharlaştırma sonucunda üretilen materyallerin yüzeyindeki yoğun kaplama yapısı sürtünmeye ve aşınmaya karşı dirençli olmasını sağlamaktadır [17]. TB yöntemi ile kaplanan materyaller

mükemmel yapışma özelliğine sahiptir. Vakum ortamının kontrollü olması ve saf kaynak kullanımı sonucunda yüksek saflıkta birikimler elde edilmektedir. Düşük sıcaklıkta yapılan bu proses sertlik kaybını önlemektedir. Malzemelere yapılan kaplamalar sökülerek tekrar yapılabilmektedir [109-111].

Başarılı bir implantasyon için enfeksiyon oluşumunun önlenmesi ve yüzeylerin antibakteriyel özellikte olması oldukça önemlidir. TB yöntemi farklı yüzeylerin antibakteriyel ajanlarla kaplanmasına da imkan sağlamaktadır. TB yöntemi ile kaplanan çeşitli implant yüzeylerinin biyouyumluluğunun iyileştiği, pürüzlü ve homojen bir yüzeyin elde edildiği, Ag gibi antibakteriyel ajanlarla yüzeyin rahatlıkla kaplanabildiği rapor edilmiştir [18-20]. Literatürde, TB yöntemi kullanılarak yapılan kaplamaların dayanıklılığının arttığını rapor eden çalışmalar bulunmaktadır. Ceschini ve ark. (2007), TB yöntemi kullanarak titanyum alaşımına yaptığı kaplamanın sürtünmeyi ve aşınmanın önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir [112]. Durdu [113], TB yöntemi oluşturulan Cu kaplı titanyum yüzeylerin antibakteriyel özellik kazandığını ve biyouyumluluğunun arttığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Sarraf ve ark. [18] titanyum alaşım yüzeyinin termal buharlaştırma ile modifikasyonu sonrasında antibakteriyel kaplamalı pürüzlü bir özelliğe sahip olduğunu ve yüzeyde osteointegrasyonun arttığını belirtmişlerdir.

2.6. Antibakteriyel Yüzeyler

Bakteriler yapısında bulunan uzantılar ile çok çeşitli yüzeylere yapışabilmektedirler. Yüzeye bakterinin yapışması antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gösteren bir biyofilm tabakasının oluşmasına neden olmaktadır [114-116]. Biyofilmin polimerik koruyucu yapısı bakterileri dış etkenlere karşı korunmaktadır [105]. Dış plağı, doğal diş ve diş implantlarına özgü bir biyofilmdir ve bu plak bakterilerin yerleşmesine ve yaşamasına olanak sağlamaktadır [117]. Biyomalzeme yüzeylerinin kimyasal bileşimi, yükü, ıslanabilirliği ve pürüzlülük gibi özellikleri bakterilerle etkileşimi etkileyen faktörlerdir. Tıbbi implantların yüzeyinde biyofilm oluşumunun ve bakteri enfeksiyonunun engellenmesi oldukça zordur. Bu nedenle, mikroorganizmaları etkili bir şekilde öldüren ve mikrobiyal kolonizasyonu önleyen bir yüzey oluşturmak için yüzeyin modifiye edilmesi oldukça önemlidir. İmplant yüzeylerin anti-bakteriyel

özellik kazanması için çeşitli kaplama yöntemleri geliştirilmiştir. Bir yüzeyin antibakteriyel aktivitesi, dayanıklı bir kaplama içerisine bakteri öldürücü elementler eklenerek indüklenebilmektedir [118]. Bu kapsamda çok çeşitli antibakteriyel yüzeyler farklı antibakteriyel ajanlar ile kaplanarak elde edilmektedir. Bu antibakteriyel ajanlar arasında metaller önemli bir yere sahiptir. Titanyum yüzeylerine antibakteriyel özellik kazandırmak için çeşitli metallerle yüzeyin kaplanması sağlanmış ve özellikle Ag, Cu ve Zn gibi metallerle kaplı yüzeylerin önemli derecede bakteriyel enfeksiyonlara karşı dirençli olduğu saptanmıştır.

Biyomalzeme yüzeyini Ag gibi metallerle kaplamak için plazma püskürtme, iyon ışını destekli biriktirme, magnetron püskürtme, mikro ark oksidasyonu ve sol-jel teknolojisi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Ag kaplı yüzeylerin antibakteriyel özellik kazanması literatürde de araştırılmıştır. Durdu ve arkadaşları (2017), Ag kaplı biyoseramik yüzeylerde bakteriyel adezyonun %35,8 azaldığını, Bai ve arkadaşarı ise (2012), Ag katkılı hidroksiapatit kaplamaların yüzeye yapışan *S. aureus*'un canlılığında önemli bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir [119,120]. Ag kaplı yüzeylerin antibakteriyel özelliği Ag iyonlarının bakteriler üzerindeki toksik etkisi ile yakından ilişkilidir. Ag, bakteri hücreesindeki moleküllere ait amino, fosfat, karboksil ve tiyol gibi gruplara bağlanarak hücredeki biyokimyasal reaksiyonlarda inhibisyona neden olarak bakteriyosidal etki göstermektedir [121]. Benzer şekilde Cu kaplı yüzeylerde de antibakteriyel özellik gelişmekte ve implant yüzeyinde bakteriyel enfeksiyon azalmaktadır. Cu kaplı yüzeylerle yapılan bir çalışmada yüzeyin metal ile kaplanması sonrasında yüzeye adeze olan *B. subtilis*, *S. aureus* ve *E. coli* türlerin canlılığında önemli bir azalma olduğu bildirilmiştir [122]. Cu kaplı yüzeylerin antimikrobiyal özelliği Cu metalinin bakteriler üzerindeki biyosidal etkisi ile açıklanabilir. Cu metali bakterilerde DNA yapısını ve protein sentezini bozarak bakteriler üzerinde öldürücü etki göstermektedir [105]. Ayrıca bakır, DNA replikasyonuna müdahale ederek ve hücre zarlarını bozarak gram pozitif ve gram negatif bakteriler dahil olmak üzere geniş bir bakteri yelpazesine karşı mükemmel antibakteriyel özellik sergilemektedir [124-126].

Yüzeylerin çeşitli metaller ile kaplanarak antibakteriyel özelliğin arttırılmasında tercih edilen diğer bir metal de Zn'dir. Zn kaplı yüzeylerin geniş spektrumlu bir antibakteriyel özellik sergilediği pek çok çalışma ile ortaya konmuştur. Arunachalam

ve arkadaşları (2015), Zn katkılı TiO₂ ince filmlerin bakteriyel büyümede inhibisyona ve yüksek oranda antibakteriyel aktiviteye neden olduğuna işaret etmişlerdir [127]. Zn iyonları ve bakteri hücre duvarı arasındaki etkileşim sonucu hücre zarının yapısında değişiklik, taşıyıcı proteinlerde denatürasyon ve zar geçirgenliğinde değişim meydana gelmektedir [128,129]. Tüm bu etkilerin kümülatif bir sonucu olarak Zn metali bakteriler üzerinde toksik etki sergilemekte ve Zn kaplı implant yüzeyi antibakteriyel özellik kazanmaktadır. Literatürde hem TB yöntemi hemde farklı yöntemler kullanılarak Cp-Ti bazlı antibakteriyel yüzeylerin elde edildiği çalışmalar mevcuttur. Ewald ve arkadaşları TB yöntemi ile yüzeyinde Ag biriktirilen titanyumun *Staphylococcus epidermis* ve *Klebsiella pneumoniae* adezyonunu azalttığını ve insan epitel hücreleri ve osteoblastlar üzerinde sitotoksik etkisinin bulunmadığını rapor etmişlerdir [130]. Ueda ve arkadaşları (2020), iki aşamalı termal oksidasyon yöntemi kullanarak dental implant materyallerine (CP Ti, Ti-6Al-4 V ve Ti-6Al-7Nb) TiO₂ katmanlarının başarılı bir şekilde oluşturduğunu ve antibakteriyel etki gösterdiklerini bildirmişlerdir [131]. Chen ve arkadaşları (2019), flor ve oksijen iki bazlı yüzey modifikasyonu yöntemi kullanarak ürettiği titanyumun uzun süre antibakteriyel özellik ve hücre uyumu sağladığını bildirmişlerdir [132].

Bu çalışmada TB yöntemi ile Ag, Cu ve Zn metalleri ile kaplanan Cp-Ti yüzeylerinin Gr (+) *Staphylococcus aureus* ve Gr (-) *Escherichia coli* bakterilerine karşı bakteriyosidal etkileri araştırılmış ve yüzeylerin antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada iki farklı bakteri türü kullanarak yüzeylerin Gr (+) ve Gr (-) bakterilere karşı seçici olup olmadığı da test edilmiştir.

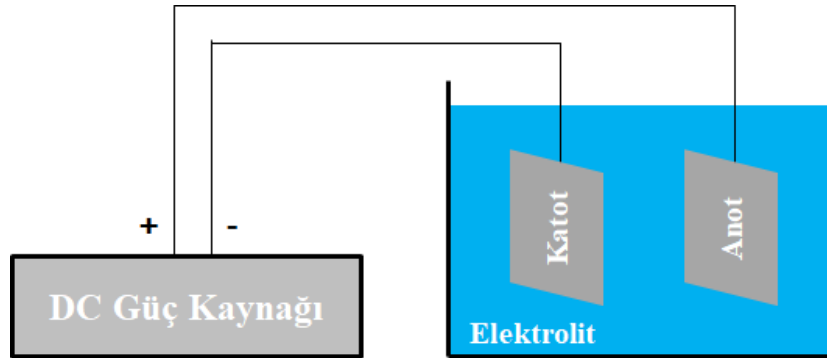
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Numune Hazırlama

AO kaplamaların üretimi için sertifikalı olarak temin edilen 1mm kalınlığındaki cp-Ti levhalar 1cmx1cm boyutlarında hazırlanmıştır. Numuneler 1 saat süreyle ısıtılma işlemine tabi tutulup mikroyapısal olarak homojenize edilmiştir. AO kaplamaların üretimine başlamadan önce uygun boyutlara küçültülen cp-Ti levhaların tüm yüzeyleri zımpara/parlatma makinesiyle sırasıyla 180, 240, 400, 800, 1000 ve 2000 nolu zımparalar ile hazırlanmış ve sonrasında saf su ile yıkanıp, ultrasonik banyoda etanol/aseton karışımı ile temizlenerek ılık hava altında kurutulmuş ve desikatörde kaplanıncaya kadar bekletilmiştir.

3.2. AO Yöntemiyle Nanotüp Kaplamaların Üretimi

AO yöntemiyle nanotüp kaplamalar GW-Instek PSU 400 model DC güç kaynağı kullanılarak üretilmiştir. Numuneler Etilen glikol-bazlı NH_4F çözeltisi içerisine daldırılarak akım ve süre değerleri sabitlenerek 20V potansiyel değeri 1 saat süreyle uygulanarak nanotüp kaplamalar üretilmiştir. AO prosesi boyunca Ti alaşımı numuneler anot ve Pt elektrot katot olarak görev almaktadır (Şekil 3.1.).



Sonrasında ise AO sonrası yüzeyler amorf yapıda olduğu için kristalinite ve mekanik özellikleri artırmak için morfolojiyi değiştirmeden 450 °C’de 1 saatlik ısıtılma işlemine tabi tutulmuştur.

3.3 SEM Analizleri

AO yöntemiyle üretilen kaplamaların yüzey morfolojilerini gözlemlemek amacıyla SEM (Taramalı elektron mikroskobu, Hitachi SU1510) analizi gerçekleştirilmiştir. Yüzey görüntüleri 20000X büyütmede alınmıştır.

3.4. EDX Analizleri

Numunelerin yüzey ve kesit morfolojileri SEM (Hitachi SU1510) ile analiz edildi. Yüzeydeki element kompozisyonu ve miktarları, SEM'e bağlı EDX ile araştırıldı.

3.5. FTIR Analizleri

Karakteristik bant ve faz yapısı, oda sıcaklığında 4000 ila 450cm⁻¹ dalga sayısı aralığında ATR FT IR (JASCO FT / IR 6600) ile değerlendirildi.

3.6. AFM Analizleri

AO yöntemiyle üretilen kaplamaların yüzeyinin topografik haritasını çıkarmak için AFM (atomik kuvvet mikroskobu, Nanosurf C3000) analizi gerçekleştirilmiştir. Taramalar TAP190 cantilever kullanılarak 25µm x 25µm alanında gerçekleştirilmiştir.

3.7. Temas Açısı Ölçümleri

Yüzeylerin ortalama temas açıları gibi ıslanabilirlik özellikleri, temas açısı gonyometresi (Dataphysics OCA 15EC) aracılığıyla oda sıcaklığında sabit damla

tekniki kullanılarak araştırıldı. Ortalama temas ölçümleri, bir video kamera ve görüntü analiz yazılımına bağlı bir ışık mikroskobu aracılığıyla gerçekleştirildi. Temas açısı değerleri, 1µL damıtılmış su damlacıklarının yüzeylere temas etmesini takiben bir dakika sonra tüm kaplamalar için ölçülmüştür.

3.8. Antibakteriyel Analizler

Bakteri adezyon deneyleri Gr (+) ve Gr (-) mikroorganizmalar ile gerçekleştirilecektir. Bu amaçla *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* mikroorganizmaları kullanılacaktır. Bakteri stok kültürlerinden 5 ml steril besiyeri kullanılarak bakteri süspansiyonu hazırlanacaktır. Elde edilen süspansiyonun bulanıklığı densitometre cihazı yardımıyla 0.5 McFarland standartlarına (150x10⁶ CFU) göre ayarlanacaktır. Hazırlanan süspansiyonun 100 µl'si kanlı agar yüzeyine homojen bir şekilde yayılacak proje kapsamında hazırlanan kaplama yüzeyleri (0.5 cm²) besiyeri ile temas edecek şekilde yerleştirilecektir. Petriler 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılacak süre sonunda besi yeri yüzeyinden alınan kaplamalar, yapışmayan bakterilerin uzaklaştırılması için 15 ml serum fizyolojik ile nazikçe yıkanacak ve her bir örnek 2 ml serum fizyolojik içeren cam tüp içerisine atılacaktır. Örnek yüzeyine yapışan bakterilerin sıvı içerisine geçmesini sağlamak için 35 kHz frekansında ultrasonik titreşim 5 dakika boyunca uygulanacaktır. Sonrasında tüp içerisinden 100 µl sıvı kanlı agar yüzeyine yayılacak ve 37°C'de mikro aerobik ortamda gerçekleştirilen 48 saatlik inkübasyonun ardından besiyerinde oluşan koloniler (Koloni sayıcı / Stuart) sayılacak ve toplam bakteri sayısı "CFU" cinsinden hesaplanmıştır.

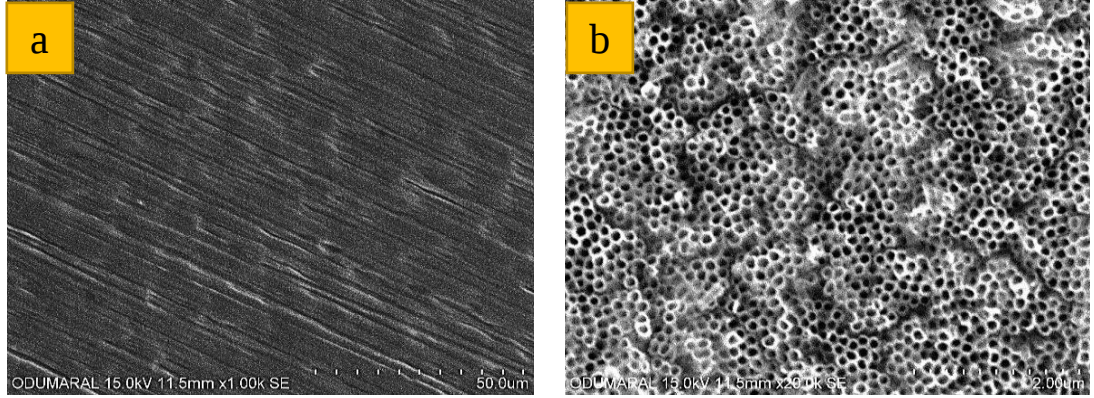
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Cp-Ti yüzeyi AO ve TB gibi farklı yöntemlerle modifiye edilmiş, yüzey özelliklerindeki değişim araştırılmış ve yüzeylerin *E. coli* ve *S. aureus* türlerinin canlılığı üzerine etkileri de incelenmiştir. İlk olarak Cp-Ti yüzeyi AO yöntemi ile modifiye edilmiş ve sonrasında TB yöntemi kullanılarak yüzeyde Cu, Zn ve Ag tabakaları oluşturulmuştur. 50 V anodik oksidasyon uygulama sonrasında elde edilen yüzey Cp-Ti-50V olarak kodlanmıştır. Termal buharlaştırma yöntemi ile Ag kaplanan yüzeyler tabaka kalınlığına göre Cp-Ti-Ag-1nm, Cp-Ti-Ag-3nm ve Cp-Ti-Ag-5nm olarak kodlanmıştır. Benzer şekilde Zn kaplı yüzeyler Cp-Ti-Zn-1nm, Cp-Ti-Zn-3nm, Cp-Ti-Zn-5nm olarak; Cu kaplı yüzeyler ise Cp-Ti-Cu-1nm, Cp-Ti-Cu-3nm ve Cp-Ti-Cu-5nm olarak kodlanmıştır. Her bir uygulama sonrasında yüzeydeki morfolojik değişimler SEM ve AFM analizleri ile karakterize edilmiştir. Yüzeylerin su ile yaptığı temas açısı ölçümleri alınarak yüzeylerin ıslanabilirliğindeki (hidrofilik/hidrofobik özellikleri) değişim araştırılmıştır. TB yöntemi ile Ag, Cu ve Zn kaplanan yüzeylerin antibakteriyel etkisi *E. coli* ve *S. aureus* türleri kullanılarak belirlenmiş ve yüzeylerin Gr (+) ve Gr (-) bakterilere karşı seçici özellikte olup olmadığı da değerlendirilmiştir.

4.1. SEM Analizleri

Bu çalışmada Cp-Ti yüzeyi farklı yöntemlerle modifiye edilmiş ve yüzey özellikleri SEM analizleri ile karakterize edilmiştir. Anodize olmamış yüzey ile 50V anodik oksidasyon uygulanan yüzeyin SEM görüntüleri Şekil 4.1.'te verilmiştir. Anotlanmamış cp-Ti yüzeyi ile anodik oksidasyonla üretilen yüzey karşılaştırıldığında, oksidasyon sonucunda belirgin nanotübüler yapının oluştuğu gözlemlenmiştir. Anodik oksidasyon ile titanyum yüzeyinde oluşan nanotübüler yapının düzenli şekilde yayıldığı gözlenmiştir.

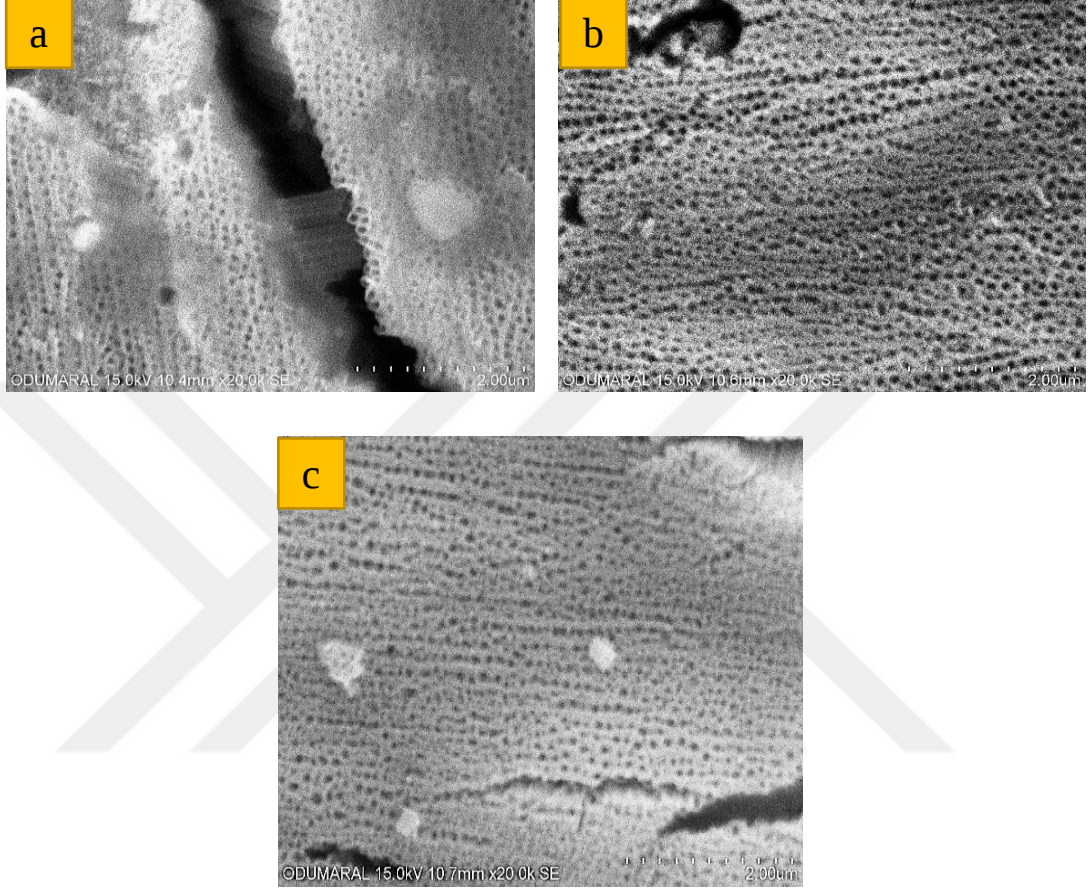
Anodik oksidasyonda kullanılan NH_4F elektroliti içerisindeki flor iyonları O^{2-} ile yarışarak TiF_6^{2-} kompleksi oluşumuna ve yüzeyde çözölmeye neden olmaktadır. Düşük iyonik çapa sahip olan flor iyonu, uygulanan gerilim ile TiO_2 tabakası içine girerek ilerlemekte böylece titanyum yüzeyinde içe doğru büyüyen gözenekler meydana gelmektedir. Kısaca ortamda F^- iyonunun varlığı, lokalize çözünme nedeniyle çukur/tüp oluşumuna neden olmaktadır ve bu çukurlar nanotübüler yapının oluşumunu açıklamaktadır. Nanotübüler yapı uygulanan elektrolitin konsantrasyonu, elektrolitin cinsi, akım yoğunluğu, sıcaklık ve voltaj gibi parametrelere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [133,134]. Nanotüp yapı, anodize olmamış yüzeylere kıyasla daha geniş yüzey alanı sağlamaktadır. Literatürde de bulgularımızı destekler nitelikte anodizasyon sonrası Cp-Ti yüzeyinde nanotübüler yapıların oluşumu rapor edilmektedir. Dikova ve arkadaşları [135] Cp-Ti yüzeyini anodizasyon sonrasında SEM analizleri ile karakterize etmiş ve yüzeyde oluşan farklı şekil ve boyuta sahip nanotübüler yapıların ortalama iç çapının yaklaşık 121 nm olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 7 saatlik anodizasyon işlemi sonrasında Cp-Ti'nin yüzeyinin % 70-80'inin nanotübüler morfolojiye sahip oksit tabakası ile ve geri kalan % 20-30'sinin ise nanorodlarla kaplandığını rapor etmişlerdir. Öztürk [136] 10 V'de 10 dakika anotlanan titanyum yüzeyinde iyi tanımlanmış boru şeklindeki yapı ve nanotüplerin oluştuğunu, 10 dakikalık anodizasyon süresinin üzerinde ise bu yapılarda bozulmanın oluştuğunu ifade etmiştir. Singh ve arkadaşları [137] anodizasyon işlemi sonrasında Cp-Ti yüzeylerinde uygulanan voltaja bağlı olarak çeşitli değişimler olduğunu rapor etmişlerdir. 10 V'luk anodik oksidasyon sonrasında Cp-Ti yüzeyinde oluşan tübüler yapıların belirsiz olduğunu, 30 dakika 15 V'luk uygulama ile boyut ve şekil bakımından oldukça tekdüze ve belirgin tübüler yapıları oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Benzer bir çalışmada ise 10 V'luk anodizasyon işleminin nanotübüler yapının oluşumunu başlattığı, 20 V'luk anodizasyonda düzenli ve belirgin nanotübüler yapıların gözlemlendiğini, 30 V'da ise düzenli olmayan dağınık bir nanotübüler yapının oluştuğu rapor edilmiştir [106].



Şekil 4.1. SEM Analizleri. (a) cp-Ti (b) cp-Ti-50V

Çalışmanın devamında anodik oksidasyonla üretilen nanotübüler yüzeyler TB yöntemi kullanılarak Ag ile kaplanmıştır. Farklı kalınlıklarda Ag ile kaplı Cp-Ti yüzeylerin SEM analizleri Şekil 4.2.'da verilmiştir. Yüzeydeki nanotübüler yapılar Ag gibi ajanlar için saklama/bağlanma bölgeleri oluşturmaktadır ve TB işlemi ile yüzeyde Ag birikmesi sonucunda nanotübüler yapıların yavaş yavaş belirsizleşmeye başladığı ve çok az bir değişim olduğu gözlenmiştir. Ag kaplama işlemi sonrasında nanotüp yapılarının tamamen kapanmadığı fakat kaplama kalınlığı arttıkça nanotübüler yapılardaki değişimin de arttığı belirlenmiştir. Yüzeyin Ag ile kaplanması pürüzlülük değerlerini de önemli derecede etkilemektedir. SEM analizlerinden diğerlerine kıyasla Cp-Ti-Ag-3nm yüzeylerinin Ag ile daha az kaplandığı belirlenmiştir. Bu sonuç Sa değerlerini de desteklemektedir. Sa değeri incelendiğinde en yüksek pürüzlülük oranının Cp-Ti-Ag-3nm ye ait olduğu gözlenmektedir. Cp-Ti-Ag-5nm kaplamada gözenekler diğerlerine kıyasla SEM'de daha pürüzsüz görünmektedir. Sa değerine bakıldığında Cp-Ti-Ag-5nm için pürüzlülük değerinin düştüğü saptanmıştır (Tablo 3.1). Literatürde de pek çok çalışmada farklı yöntemlerle Ag ile kaplanan Cp-Ti yüzeyindeki değişimler SEM analizleri ile ortaya konmuştur. Yetim [138], sol-jel yöntemi ile elde ettiği Ag-kaplı titanyum yüzeylerin morfolojisinde önemli değişimler olmadığını, işlem görmemiş yüzeyle benzer morfolojiye sahip olduğunu, yüzeyde oluşan Ag tabakasının korozyona karşı direnci arttırdığını belirtmiştir. Durdu ve arkadaşları [139] mikroark oksidasyon yöntemi ile yüzeyinde Ag biriktirilen Cp-Ti yüzeylerini SEM ile analiz etmişlerdir ve işlem görmemiş yüzeye kıyasla daha homojen bir yapının oluştuğunu,

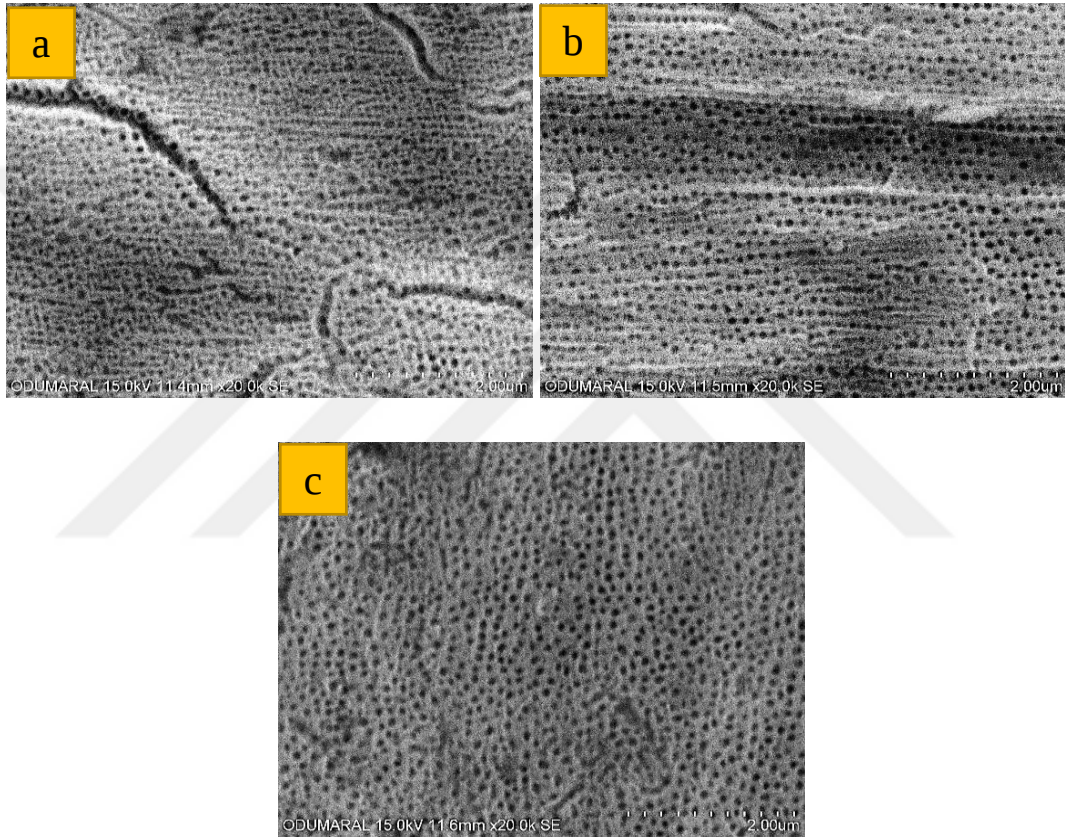
mikro-gözeneklerin belirginleştğini ve nano-Ag tabakasının yüzey morfolojisi üzerinde olumlu etki sağladığını rapor etmişlerdir.



Şekil 4.2. Ag ile kaplanan yüzeylerin SEM analizleri a. Cp-Ti-Ag-1nm, b. Cp-Ti-Ag-3nm, c.Cp-Ti-Ag-5nm

Farklı kalınlıklarda Cu ile kaplı Cp-Ti yüzeylerinin SEM görüntüleri Şekil 4.3.'de verilmiştir. Ag kaplı yüzeylerde olduğu gibi yüzeyinde Cu biriktirilen yüzeylerde de nanotübüler yapılarda çok az bir değişim gözlenmiştir. Fakat bu değişimlerin diğer yüzeylere kıyasla daha düşük düzeyde kaldığı gözlenmiştir. Cp-Ti-Cu-5nm kaplamanın diğerlerine kıyasla gözeneklerinin daha küçük ve pürüzsüz olduğu SEM görüntülerinde görülmektedir. Bu durumu AFM analizinden elde edilen Sa değerleri de desteklemektedir. Cp-Ti-Cu-5nm'nin Sa değeri diğerlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 4.1). Farklı yöntemler kullanılarak Cu ile kaplanan titanyum yüzeylerin karakterizasyonu pek çok çalışma ile de ortaya konmuştur. Rokosz ve arkadaşları [140] plazma elektrolitik oksidasyon yöntemi ile elde ettikleri

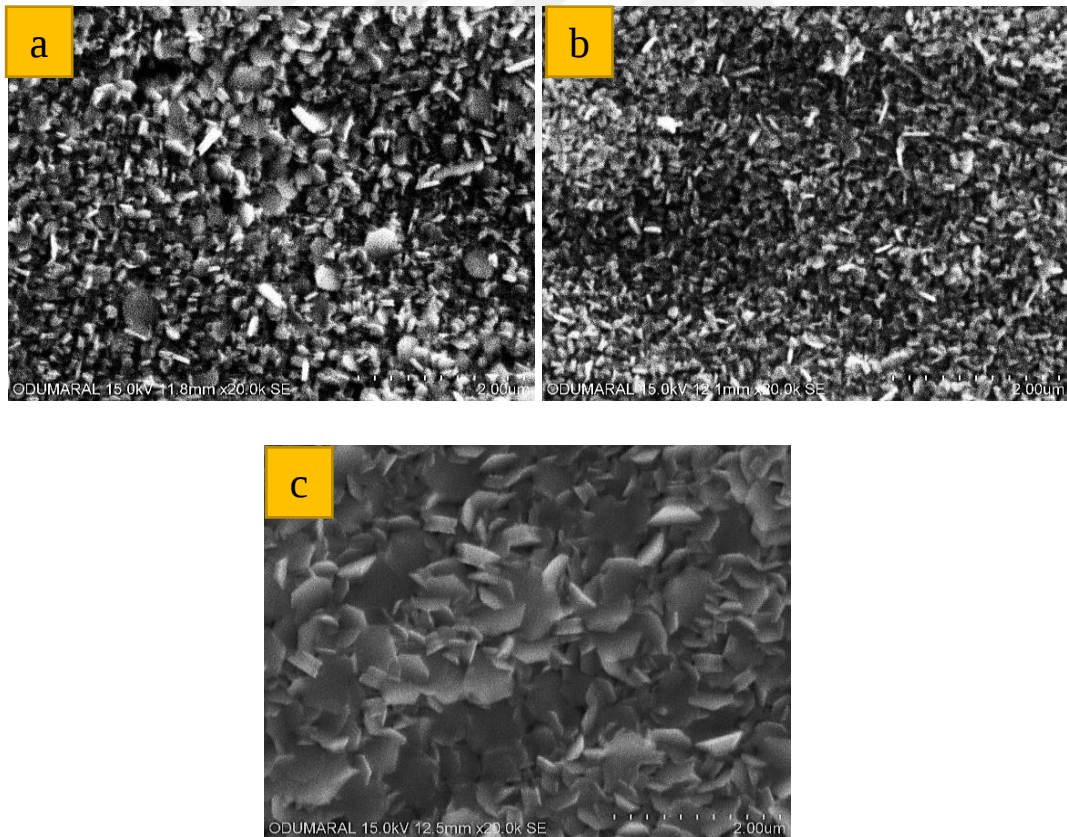
Cu kaplı titanyum yüzeylerde, SEM analizi sonucunda belirgin değişimler olduğunu ve elektrolit çözeltisindeki Cu konsantrasyonuna bağlı olarak yüzeyde çatlaklar oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Durdu [113] termal buharlaştırma yöntem ile Cp-Ti yüzeyinde Cu-bazlı bir antibakteriyel kaplama oluşturmuş ve SEM analizinden yüzeyde oluşan 5nm kalınlığındaki Cu tabakasının tüm yüzeyi kaplamadığını ve yüzeyde çok fazla bir değişim olmadığını rapor etmiştir.



Şekil 4.3. Cu ile kaplanan yüzeylerin SEM analizleri a. Cp-Ti-Cu-1nm, b. Cp-Ti-Cu-3nm, c.Cp-Ti-Cu-5nm

TB yöntemi kullanılarak yüzeyinde Zn biriktirilen Cp-Ti yüzeylerin SEM analizleri Şekil 4.4’de verilmiştir. Zn kaplı yüzeylerde diğer kaplı yüzeylere kıyasla morfolojik yapıda önemli değişim saptanmıştır. Yüzeyde anodik oksidasyon sonrasında oluşan nanotübüler yapının Zn kaplaması sonrasında tamamen kaybolduğu, kaplama kalınlığı arttıkça bu değişimin daha da belirginleştiği saptanmıştır. Ag ve Cu kaplı yüzeylerden farklı olarak Cp-Ti-Zn-1nm, Cp-Ti-Zn-3nm ve Cp-Ti-Zn-5nm

yüzeylerin kenarları keskin kütlelere sahip bir morfoloji sergilediği de gözlenmiştir. Yapılan kaplama sonucunda Zn metali tüp morfolojilerini kapattığı görülmüştür. Sa değerleri incelendiğinde tüm yüzeylerin benzer pürüzlülük oranlarına sahip olduğu (144,21nm-185,72nm) saptanmıştır. Ayrıca Cp-Ti-Zn-5nm yüzeylerin pürüzlülüğünün diğerlerine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Zn kaplama sonrasında Cp-Ti yüzeyinde belirgin değişimlerin olduğunu rapor eden çalışma bulgularımızı destekler niteliktedir. Liang ve arkadaşları [141] iyon implantasyonu ile Zn-kaplı titanyum yüzeylerin homojen ve dağıtılmış granüler bir yapıya sahip olduğunu, işlem görmemiş yüzeyin ise küçük çatlaklar içeren pürüzsüz bir görüntüye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte biriktirme süresinin artması ile birlikte dağılmış granüler kütleler arasındaki boşluklar arttığını, granül yapıların kenarlarının çok daha keskin hale geldiğini rapor etmişlerdir.



Şekil 4.4. Zn ile kaplanan yüzeylerin SEM analizleri a.Cp-Ti-Zn-1nm, b. Cp-Ti-Zn-3nm, c.Cp-Ti-Zn-5nm

Cp-Ti ve tüm kaplamaların yüzey profillerinin aritmetik ortalama yüksekliğinin bir ölçüsü olan Sa değerleri Tablo 4.1.'de verilmiştir. Cu ve Ag kaplı yüzeylerde kaplama kalınlığının 1nm'den 3 nm'ye arttırılması ile Sa değerlerinin ve yüzey pürüzlülüğünün arttığı belirlenmiştir. Her iki kaplama türünde kalınlığın 3 nm'den 5 nm'ye arttırılması ile Sa değerlerinde ve yüzey pürüzlülüğünde yeniden azalma eğilimi gözlenmiştir. Zn kaplı yüzeylerde ise artan kaplama kalınlığına bağlı olarak Sa değerlerinde bir dalgalanma gözlenmiş, çok fazla bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Sem analizleri de bu sonucu doğrulamaktadır ve Zn kaplı yüzeylerin pürüzlülüğü SEM görüntülerinde de benzer bir profil çizmektedir. Bununla birlikte Zn kaplı yüzeyler arasında en yüksek pürüzlülük Cp-Ti-Zn-5nm ile elde edilmiştir.

Tablo 4.1. Test edilen tüm yüzeylerin Sa değerleri

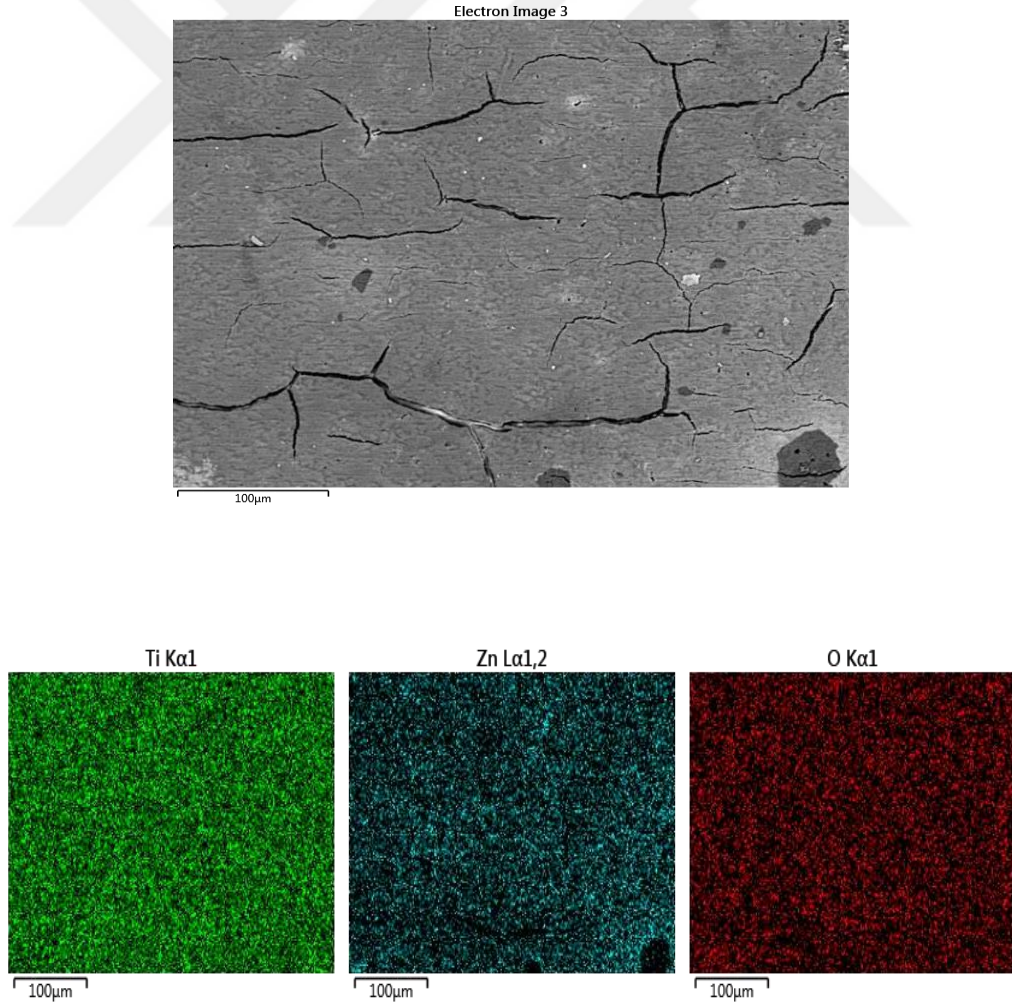
NUMUNE	Sa (nm)
Cp-Ti	10,67 nm
Cp-Ti-50 V	53,17 nm
Cp-Ti-Cu-1nm	211,54 nm
Cp-Ti-Cu-3nm	252,22 nm
Cp-Ti-Cu-5nm	136,45 nm
Cp-Ti-Ag-1nm	170,7 nm
Cp-Ti-Ag-3nm	210,51 nm
Cp-Ti-Ag-5nm	55,158 nm
Cp-Ti-Zn-1nm	160,09 nm
Cp-Ti-Zn-3nm	144,21 nm
Cp-Ti-Zn-5nm	185,72 nm

Bulgularımızı destekler nitelikte çeşitli yüzey modifikasyon yöntemlerinin biyomalzemelerin yüzey pürüzlülüğünde değişime neden olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. Thor ve arkadaşları [139] hidroksiapatit kaplama, kumlama ve hidroflorik asitle işleme gibi çeşitli modifikasyon yöntemlerinin, titanyum yüzeylerinin Sa değerlerinde değişime neden olduğunu ve yüzey pürüzlülüğünde artış olduğunu rapor etmişlerdir. Yüzey pürüzlülüğünde ve topografideki değişiklikler biyomalzeme yüzeyinin in vivoda hücrelerle etkileşimini indükleyebileceği [143] ya da azaltabileceği [144] pek çok çalışma ile ortaya

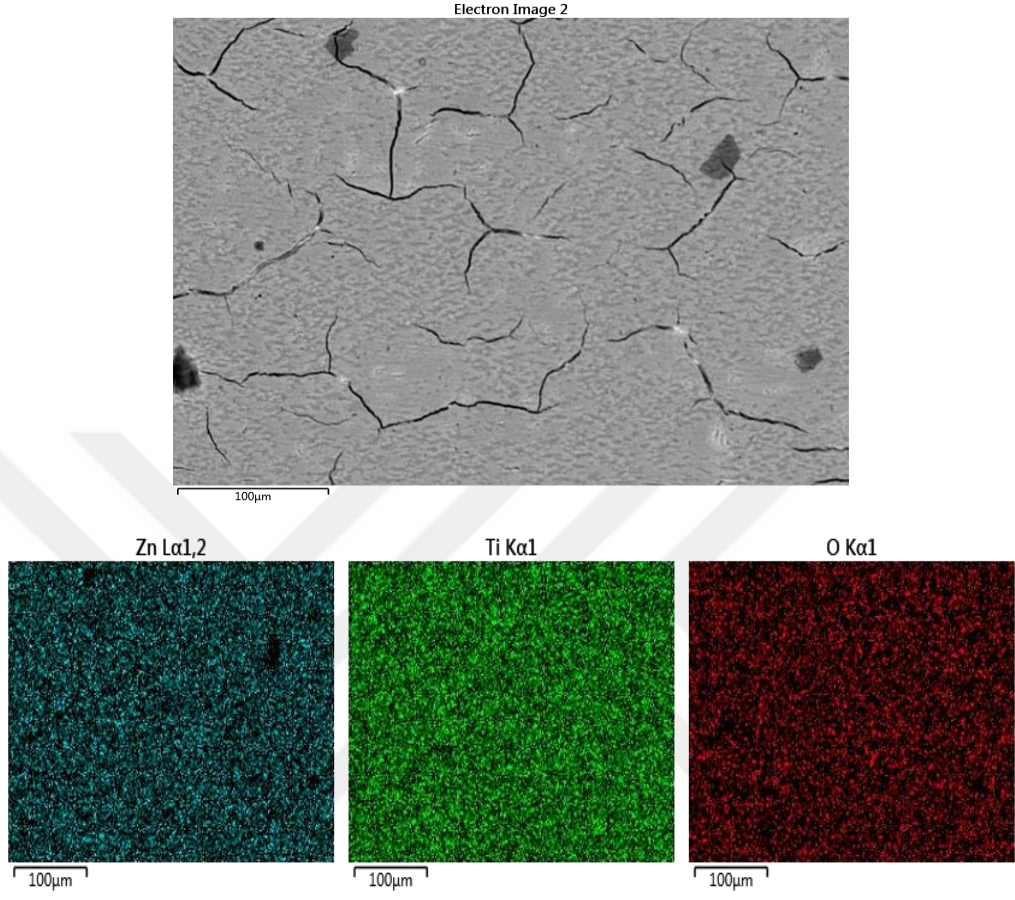
konmuştur. Bu sonuçlar yüzey pürüzlülüğü yanında pek çok parametrenin de biyomalzemelerin hücreler ile etkileşimi üzerinde etkisi olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte yüzey pürüzlülüğü biyomalzeme yüzeyinin anti-bakteriyel özelliğinde de değişimlere neden olabilmektedir.

4.2. EDX Analizleri

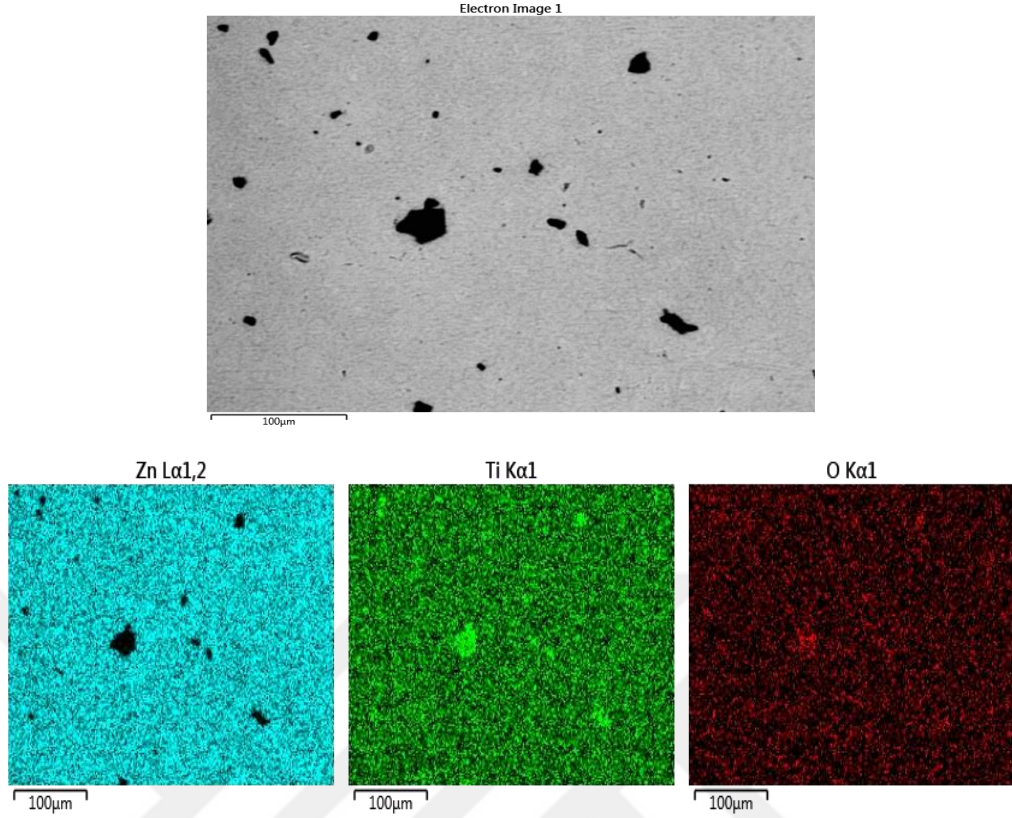
TB yüzeyinde 1nm, 3nm ve 5nm'lik çinko kaplamaların EDX dağılım sonuçları sırasıyla Şekil 4.5., Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.'de verilmektedir. Tespit edilen Ti, O ve Zn elementleri yüzey boyunca homojen bir şekilde dağılmaktadır. Yüzeydeki titanyum altlık malzemeden ve oksit tabakadan gelmektedir. Oksijen yüzeydeki oksit yapıdan, Zn oluşumu ise termal buharlaştırma yöntemi ile çinko yapıdan oluşmaktadır.



Şekil 4.5. Cp-Ti- Zn- 1nm Yüzeyinde elektron ve atomik dağılım görüntüsü



Şekil 4.6. Cp-Ti- Zn- 3nm Yüzeyinde elektron ve atomik dağılım görüntüsü

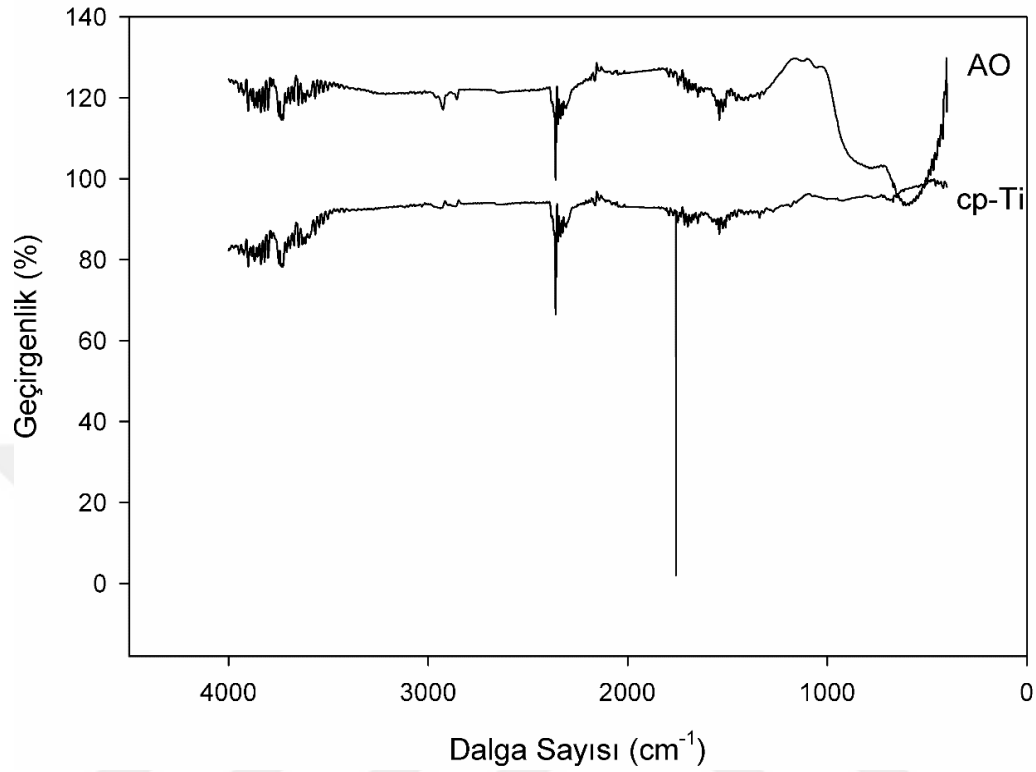


Şekil 4.7. Cp-Ti- Zn- 5nm Yüzeyinde elektron ve atomik dağılım görüntüsü

4.3. FTIR Analizleri

AO yöntemiyle cp-Ti yüzeylerinde üretilen nanotüp yapıların fonksiyonel grupları ve faz yapıları $450-4000\text{ cm}^{-1}$ aralığında ATR FTIR (Jasco FTIR 6600) cihazıyla tespit edilmektedir. Şekil 4.8.'de cp-Ti ve cp-Ti-50V yüzeylere ait FTIR eğrileri gösterilmektedir. TiO_2 nanotüp yapısının FT-IR spektrumu çeşitli karakteristik tepeler göstermiştir. Bu spektrumda, 3454.5 cm^{-1} 'deki geniş pik aralığı absorpsiyon bandı, gerilmeyle ve 1631.8 cm^{-1} 'deki OH'nin bükülme titreşimini havadaki nemden gelmektedir. 690.52 cm^{-1} 'deki yoğun tepe noktası, TiO_2 'nin karakteristik tepe noktası olan Ti-O gerilim bandını göstermektedir [145-147].

Yukarıda belirtilen karakteristik pikler nanotüp yapılarının TiO_2 varlığını göstermektedir. Cp-Ti yüzeyinde karakteristik pikler görülmezken, cp-Ti- 50v yüzeyde bu pikler net bir şekilde görülmektedir. FTIR analizinde geniş pikler amorf yapıyı işaret ederken, keskin pikler kristal yapıyı göstermektedir.

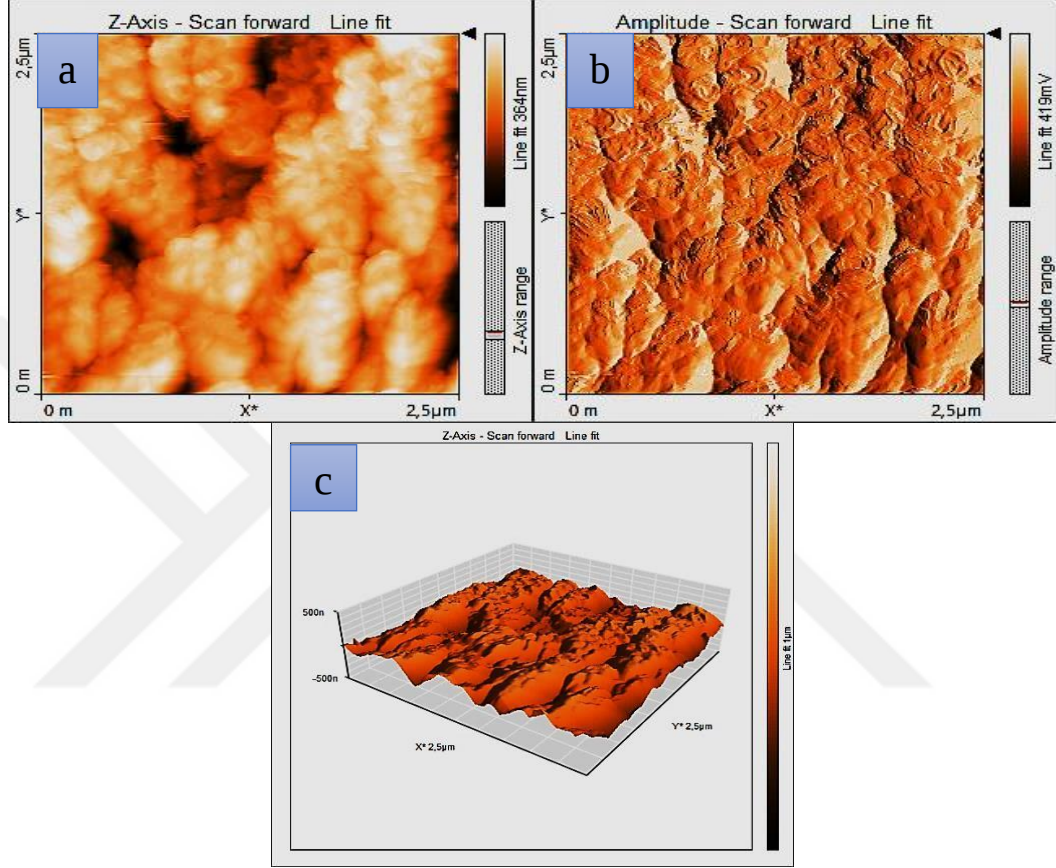


Şekil 4.8. Cp-Ti ve 50V potansiyelde üretilen nanotüp yüzeylerin FTIR spektraları

4.4. AFM Analizleri

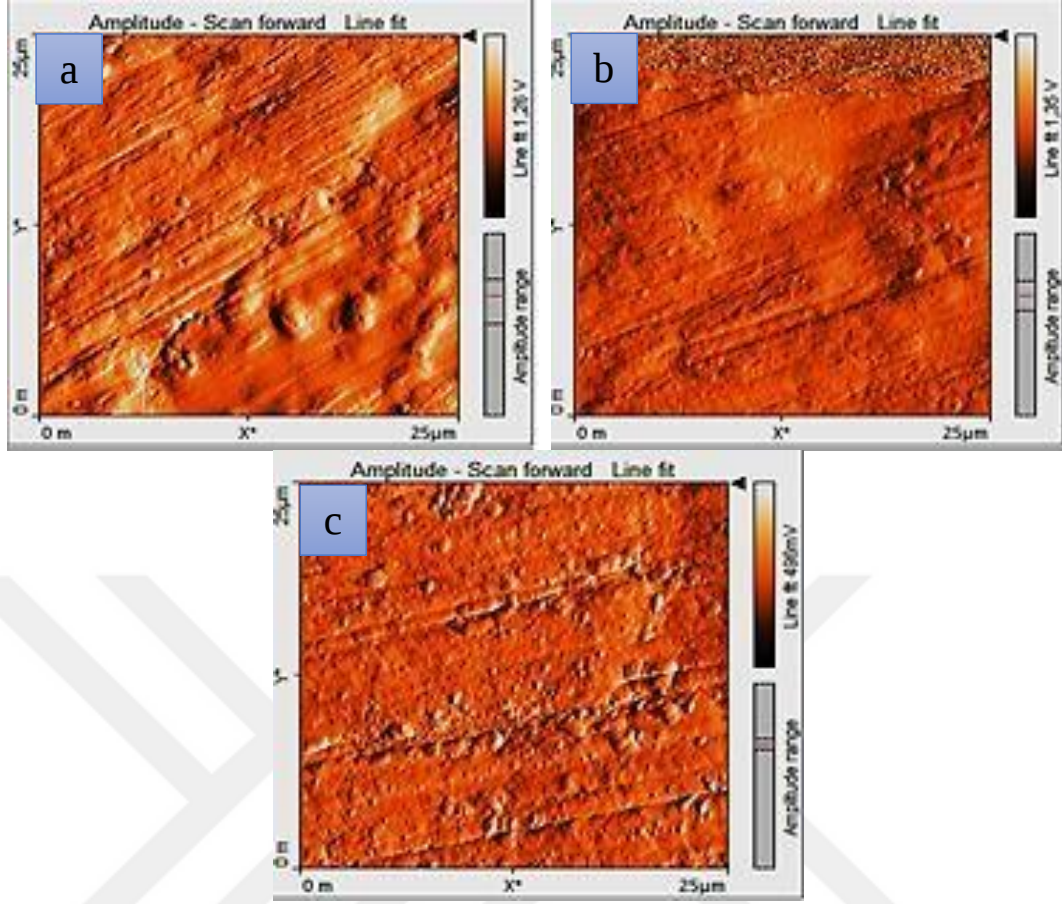
Anodik oksidasyon yapılan Cp-Ti yüzeylerinin AFM ile elde edilen yüzey görüntüleri Şekil 4.9.'de verilmiştir. 50V geriliminde, 60 dk süre ile uygulanan anodik oksidasyon sonrasında Cp-Ti yüzeyinde pürüzlü ve homojen bir yüzey gözlemlenmiştir. Cp-Ti'nin oksijene maruz kalması sonrasında yüzeyde düz bir oksit tabakası oluşmaktadır. HF ve NH₄F gibi flor (F) içeren elektrolitler kullanıldığı anodik oksidasyon işlemiyle düz titanyum dioksit tabakasının yerini titanyum dioksit nanotüpleri almaktadır. Flor içeren çözeltilerde oksitlenme işlemi, F iyonları O²⁻ ile yarışarak yüzeyde TiF₆²⁻ kompleksinin oluşumuna ve yüzeyde çözülmeye neden olmaktadır. Uygulanan voltaj ile oluşan gerilim sayesinde düşük iyonik çaptaki F

iyonu, TiO_2 tabakası içine girerek içe doğru büyüyen tübüler yapının oluşumunu sağlamaktadır. Girintili-çukuntulu bir özelliğe sahip olan nanotübüler yapı yüksek yüzey alanı sağlamaktadır [133].



Şekil 4.9. Anotlanmış Cp-Ti yüzeylerinin AFM analizi a. nanotüp yapısı, b. nanotüp yapısının yüzeysel görüntüsü, c. nanotüp yapısının topografik görüntüsü

Çalışmanın devamında anodize Cp-Ti yüzeyleri TB yöntemi kullanılarak farklı metal yapılar ile kaplanmıştır. Uygulama süresine bağlı olarak farklı kalınlıklarda Ag ile kaplanan Cp-Ti yüzeylerinin AFM görüntüleri Şekil 4.10’de verilmiştir. Ag kaplamaların S_a değerleri incelendiğinde, Cp-Ti-Ag-5nm yüzeyinin diğer Ag kaplı yüzeylere kıyasla daha pürüzsüz olduğu tespit edilmiştir.



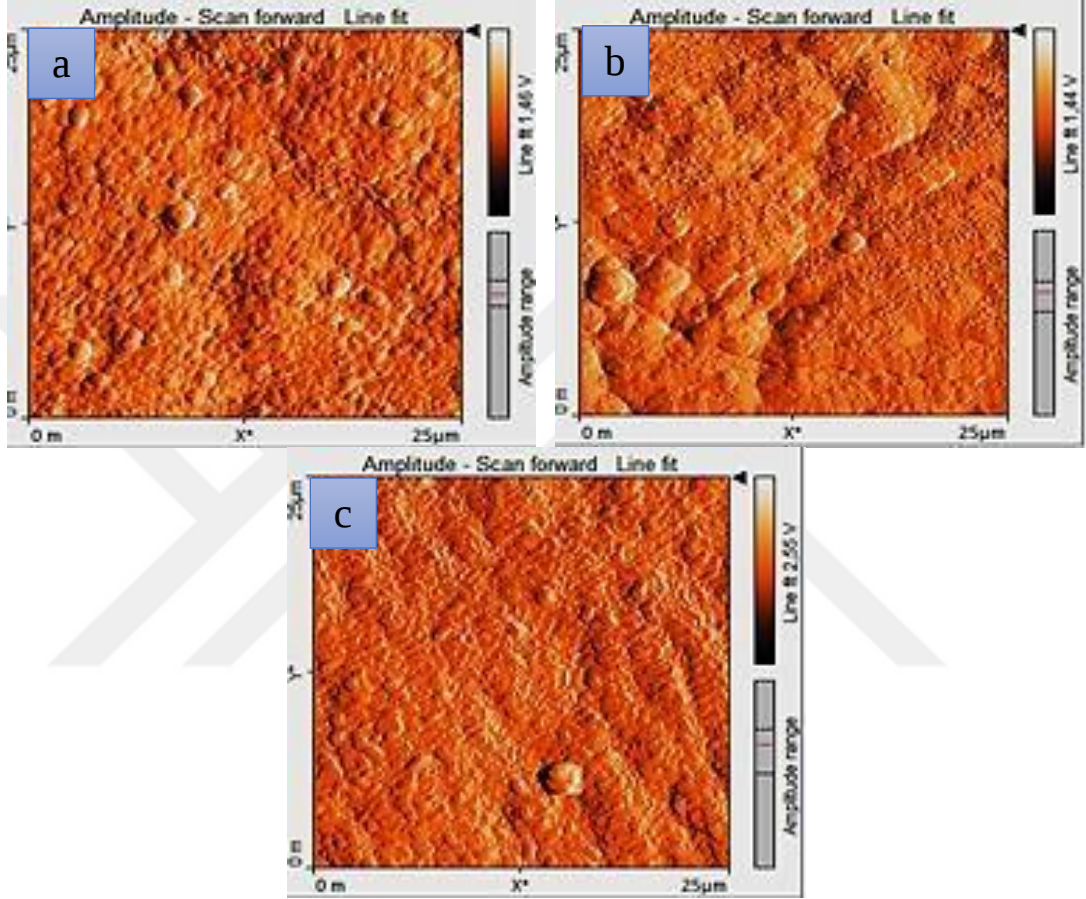
Şekil 4.10. TB yöntemi ile Ag kaplanan yüzeylerin AFM analizi a.Cp-Ti-Ag-1nm, b.Cp-Ti-Ag-3nm, c.Cp-Ti-Ag-5nm

Anodize Cp-Ti yüzeyleri TB yöntemi kullanılarak Zn ile kaplanmış ve AFM analizleri Şekli 4.11.'de verilmiştir. Sa değerleri incelendiğinde Cp-Ti-Zn-3nm yüzeylerinin diğer Zn kaplı yüzeylere kıyasla daha pürüzsüz olduğu tespit edilmiştir.

TB yöntemi kullanılarak Cu ile kaplanmış yüzeylerin AFM analizleri Şekli 4.12.'de verilmiştir. Sa değerleri incelendiğinde Cu kaplı yüzeyler arasında en yüksek pürüzlülüğe sahip yüzeyin Cp-Ti-Cu-3nm yüzeyleri olduğu belirlenmiştir.

Literatürde pek çok çalışmada farklı yöntemler kullanılarak modifiye edilmiş Cp-Ti yüzeylerinin AFM analizleri ile karakterizasyonu rapor edilmektedir. Marques ve arkadaşları [148] plazma elektrolitik oksidasyon yöntemi ile yüzeyinde gümüş, kalsiyum ve fosfor biriktirilmiş Cp-Ti yüzeylerinin topoğrafyasını AFM ile analiz etmişler ve sonuç olarak tüm kaplı yüzeylerin pürüzlü bir yapıya sahip olduğunu, özellikle Ag kaplı yüzeylerin antibakteriyel aktivite sergilediğini rapor etmişlerdir.

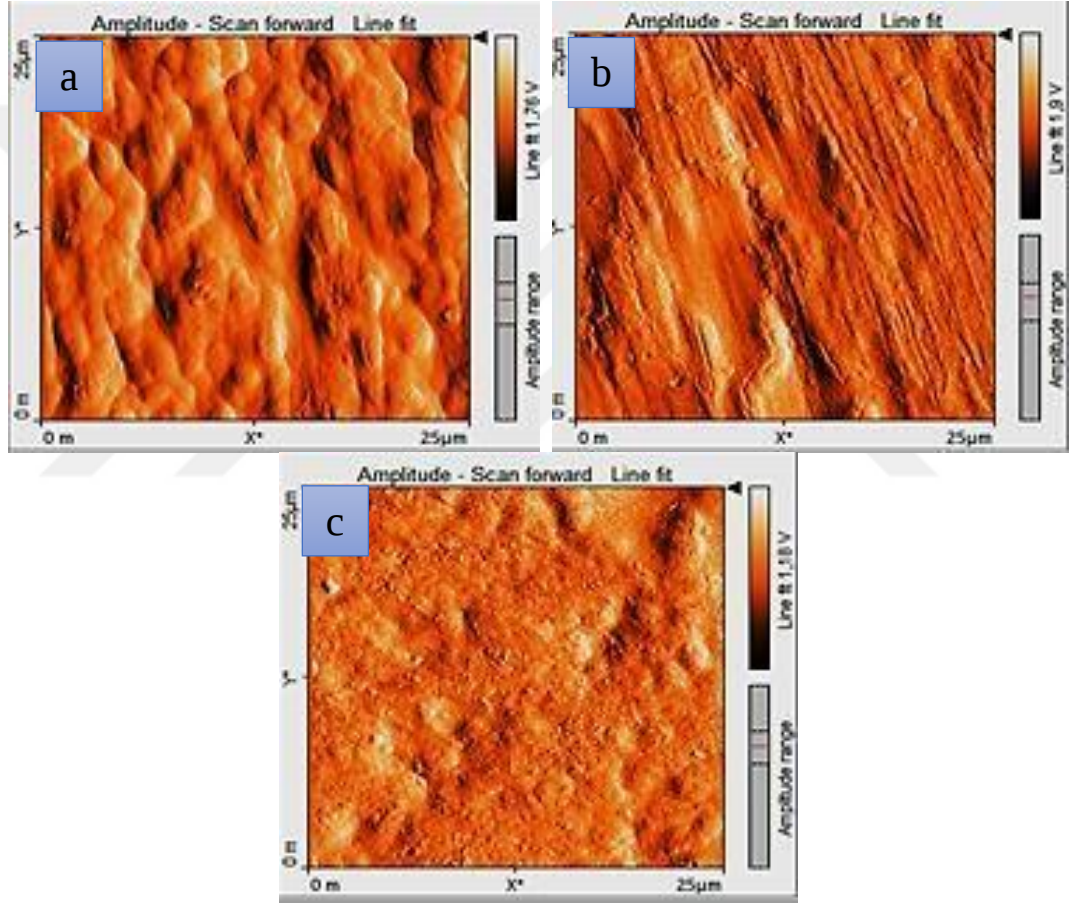
Wojcieszak ve arkadaşları [149] magnetron püskürtme yöntemi ile hazırladıkları Ti-Ag bazlı yüzeylerin AFM analizi sonucunda çatlaksız, çok homojen ve yaklaşık 15 nm yüksekliğinde, RMS değerinin ise 2,7 nm'ye eşit olduğunu bulmuşlardır.



Şekil 4.11. TB yöntemi ile Zn kaplanan yüzeylerin AFM analizi a.Cp-Ti-Zn-1nm, b.Cp-Ti-Zn-3nm, c.Cp-Ti-Zn-5nm

Başka bir çalışmada Fang ve arkadaşları [150] plazma daldırma iyon implantasyon yöntemi ile Zn kaplı Ti yüzeyi elde etmişlerdir ve AFM probu ile ölçülen yüzey pürüzlülüğünün artan uygulama süresi ile kademeli olarak arttığı, Zn implantasyon ile yüzeyde çok daha yoğun nano ölçekli özellikler oluşturulduğunu rapor etmişlerdir. Literatürde Cp-Ti yüzeylerinin farklı metal iyonları ile kaplanması sonrasında yüzey pürüzlülüğünde artış olduğunu belirten çalışmaların yanında

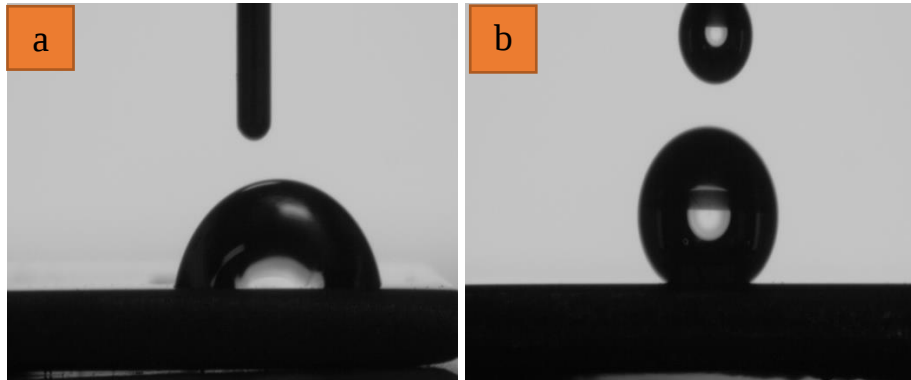
pürüzlülükte herhangi bir değişim olmadığını raporlayan çalışmalarda mevcuttur. Durdu [113], mikroark oksidasyon ve termal buharlaştırma yöntemleri kullanarak sentezledikleri Cu kaplı Cp-Ti yüzeylerinin karakterizasyonu sonrasında işlem görmemiş ve Cu kaplı yüzeylerinin pürüzlülük değerlerini sırasıyla 1.10 ve 1.16 nm olarak elde etmiş ve yüzey pürüzlülüğünde önemli ölçüde bir değişim olmadığını rapor etmişlerdir.



Şekil 4.12. TB yöntemi ile Cu kaplanan yüzeylerin AFM analizi a.Cp-Ti-Cu-1nm, b.Cp-Ti-Cu-3nm, c.Cp-Ti-Cu-5nm

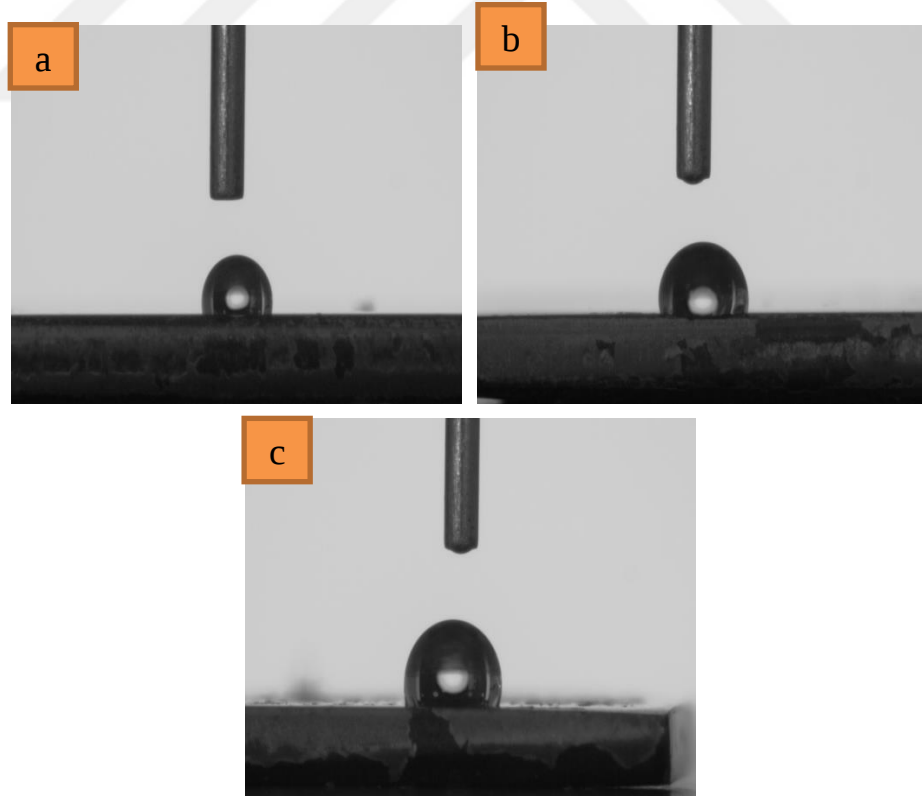
4.5. Temas Açısı Ölçümleri

Cp-Ti ve yüzeyi AO yöntemi ile modifiye edilen Cp-Ti kaplamaların temas açıları Şekil 4.13. 'de verilmiştir. Temas açısı ölçümleri sonrasında Cp-Ti yüzeylerinin su ile temas açısının 79.2° , anodik oksidasyonla üretilen cp-Ti-50V örneklerinde ise 140.2° olduğu belirlenmiştir. Bu artış anodik oksidasyon sonrasında yüzeyde gerçekleşen değişimlerle ilişkilendirilebilir. Temas açısında gözlenen azalma hidrofilikliğin azalmasına işaret etmektedir. Bu durum anodizasyon sonrasında yüzeyde oluşan nanotübüler ve pürüzlü yapının ıslanabilirliği düşürmesi ile açıklanabilir. TiO_2 yüzeylerdeki Ti-OH grupları yüzeyi polar haline getirmekte, anodizasyon ile oluşan nanotübüler yapı polariteyi azaltmaktadır ve yüzeyin hidrofilitesi düşmektedir. Benzer şekilde Liang ve arkadaşları [151] anodize olmuş cp-Ti yüzeylerinin SEM analizi ile mikro girintili, çıkıntılı yapıya sahip olduğunu ve yüzey ıslanabilirliğinin önemli derecede değiştiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca 60 V'luk bir anodizasyon sonrasında süperhidrofobik yüzeylerin oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Shokuhfar ve arkadaşları, osteoblastlar ile amorf kristal olan titanyum dioksitin arasındaki etkileşimi analiz ederek yüksek yüzey ıslatılabilirliklerinin, hücre yayılımı üzerinde daha büyük etkiye sahip olan kristaliniteden kaynaklandığı bildirmişlerdir [152].

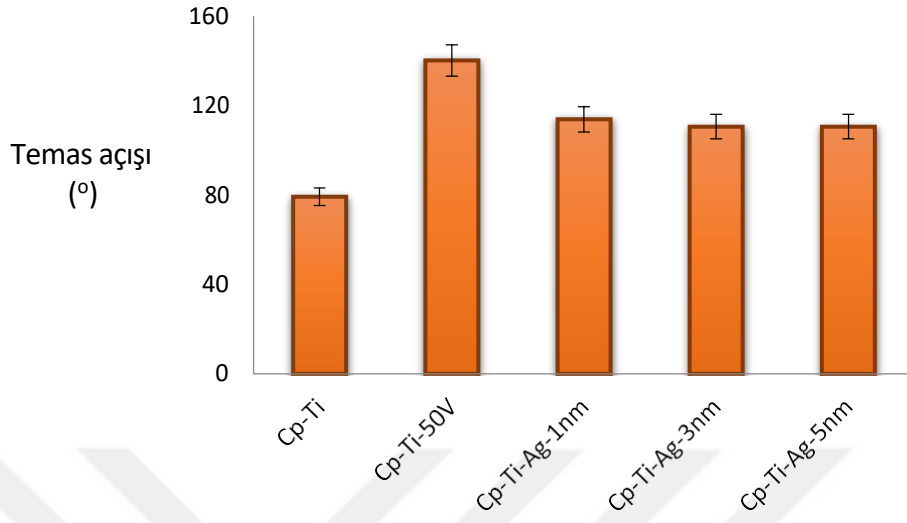


Şekil 4.13. Cp-Ti ve Cp-Ti 50V temas açısı görüntüleri

TB yöntemi kullanılarak 1nm, 3nm ve 5nm Ag kaplı cp-Ti yüzeylerin temas açıları Şekil 4.14. ve Şekil 4.15.'te verilmiştir. Ag kaplı yüzeylerin temas açılarının anodize olmamış cp-Ti yüzeylerden yüksek ancak anodize Cp-Ti-50V yüzeylerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. En düşük temas açısı Cp-Ti-Ag-3nm ve Cp-Ti-Ag-5nm yüzeyleri ile elde edilmiştir. Cp-Ti-Ag-1nm, Cp-Ti-Ag-3nm ve Cp-Ti-Ag-5nm yüzeyler için su ile temas açısı sırasıyla 113.88° , 110.55° ve 110.56° olarak bulunmuştur. Anodize yüzeye kıyasla Ag kaplı yüzeylerde temas açılarında gözlenen azalma, nanotübüler yapılarda Ag birikmesi sonucunda yüzeyin girintili çıkıntılı yapısının nanotabaka yapıya dönüşmeye başlaması ile ilişkilendirilebilir. Benzer şekilde Shivaram ve arkadaşları [153] nanotübüler yapıya sahip TiO_2 yüzeylerin su ile yaptığı temas açısını $18.1 \pm 1.8^\circ$, Ag kaplı TiO_2 yüzeylerde ise $14.7 \pm 2.3^\circ$ olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca düşük temas açısının yüksek yüzey enerjisi ile sonuçlandığını ve bu durumun daha iyi ıslanabilirliğe ve yüksek hücre-malzeme etkileşimine neden olduğunu da rapor etmişlerdir.

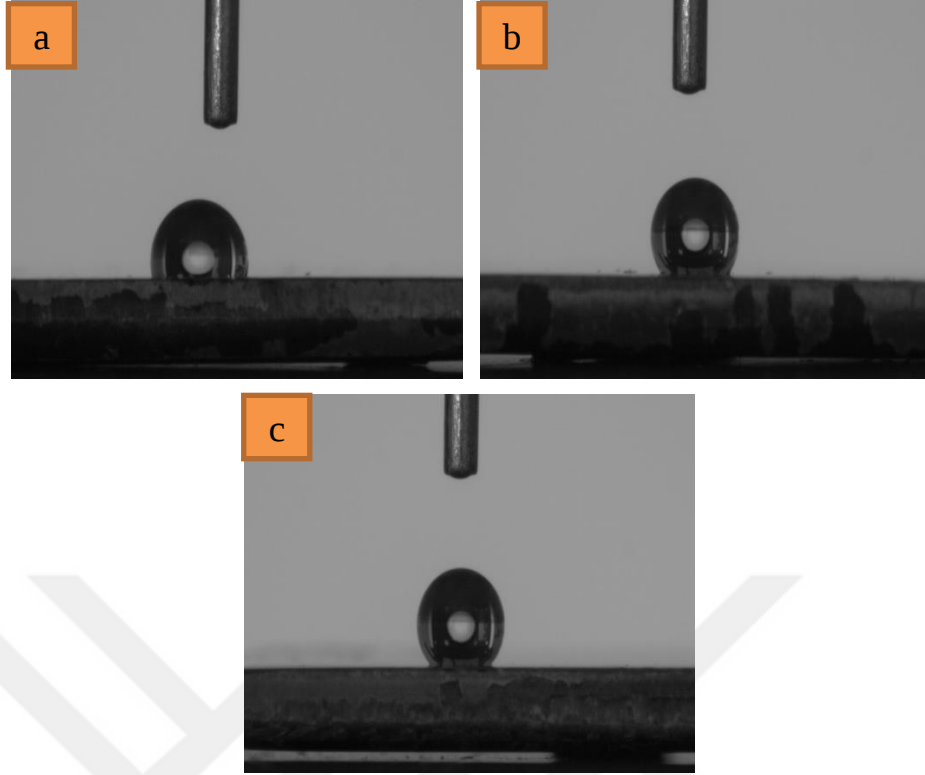


Şekil 4.14. Ag kaplı yüzeylerin su ile temas açısı a.Cp-Ti-Ag-1nm, b.Cp-Ti-Ag-3nm, c.Cp-Ti-Ag-5nm

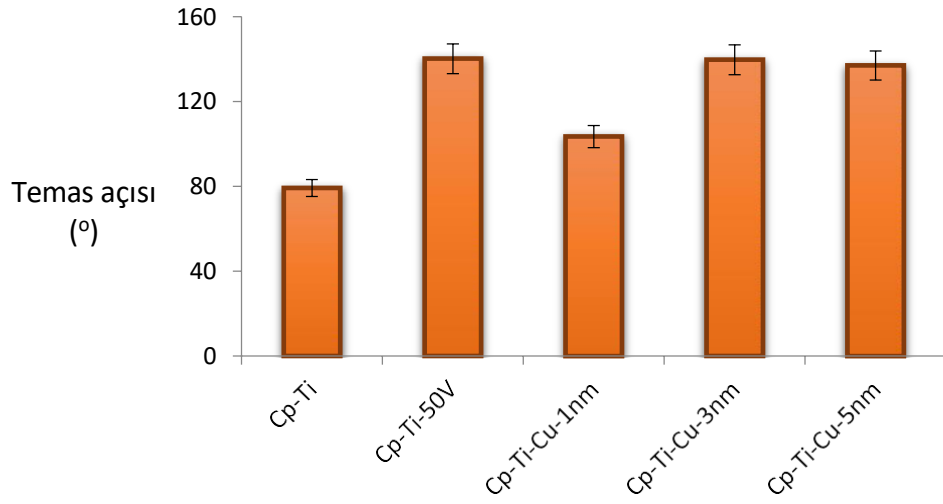


Şekil 4.15. Ag kaplı yüzeylerin su ile temas açısı dereceleri a.Cp-Ti-Ag-1nm, b.Cp-Ti-Ag-3nm, c.Cp-Ti-Ag-5nm

TB yöntemi ile 1nm, 3nm ve 5nm Cu kaplı Cp-Ti yüzeylerin temas açıları Şekil 4.16. ve Şekil 4.17.'de verilmiştir. Ag kaplı yüzeylerde olduğu gibi Cu kaplı yüzeylerde de anodize olmamış yüzeylerden yüksek, Cp-Ti-50V yüzeylerde elde edilen temas açılarından daha düşük değerler elde edilmiştir. Cu kaplı yüzeyler arasında en düşük temas açısı Cp-Ti-Cu-1nm yüzey ile elde edilmiştir. Cp-Ti-Cu-3nm ve Cp-Ti-Cu-5nm yüzeylerin temas açılarının birbirine yakın düzeyde olduğu (sırasıyla 139.71° ve 137.03°) belirlenmiştir. Temas açılarında gözlenen bu değişim TB ile Cu kaplanan yüzeylerin morfolojisinde ve topoğrafyasındaki değişim ile açıklanabilir. Cu ile kaplanan titanyum yüzeylerin temas açılarındaki değişimi rapor eden benzer çalışmalar bulunmaktadır. Durdu [113], TB yöntemi ile yüzeyinde Cu biriktirilen titanyum yüzeylerin temas açılarının azaldığını ve mikroark oksidasyonu ile yüzeyi modifiye edilen titanyum yüzeylere kıyasla daha hidrofilik karakterde olduğunu rapor etmiştir.

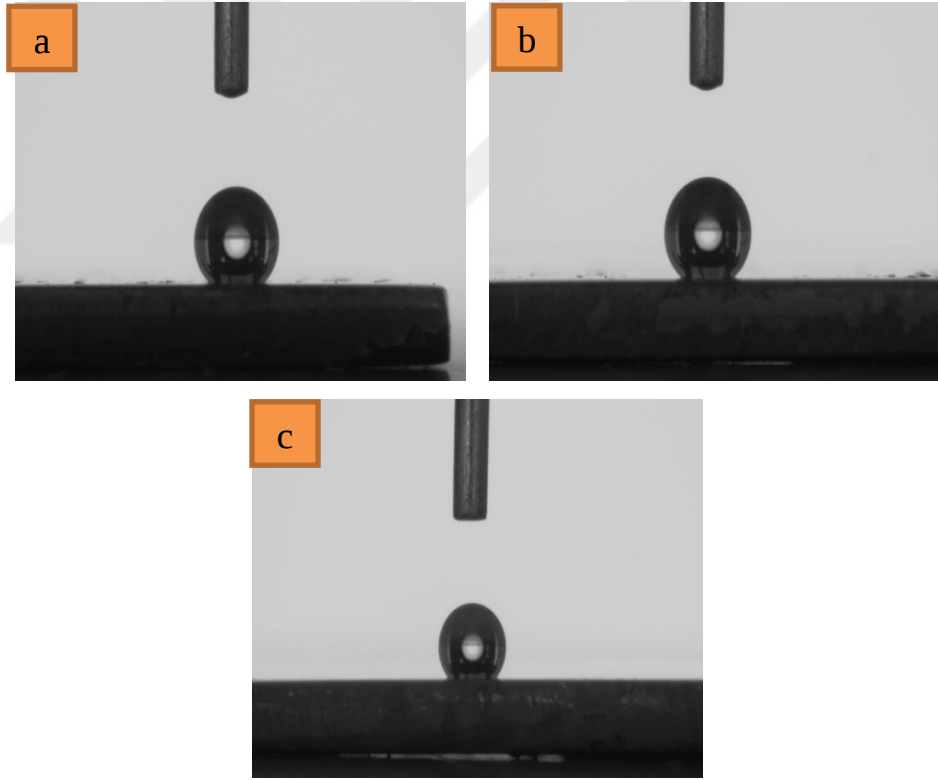


Şekil 4.16. Cu kaplı yüzeylerin su ile temas açısı a.Cp-Ti-Cu-1nm, b.Cp-Ti-Cu-3nm, c.Cp-Ti-Cu-5nm

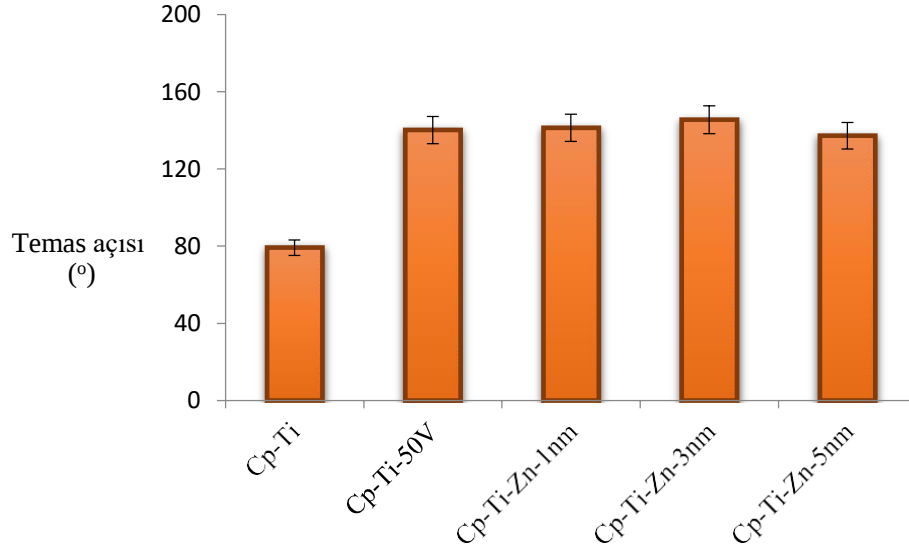


Şekil 4.17. Cu kaplı yüzeylerin su ile temas açısı dereceleri a.Cp-Ti-Cu-1nm, b.Cp-Ti-Cu-3nm, c.Cp-Ti-Cu-5nm

Cp-Ti-Zn-1nm, Cp-Ti-Zn-3nm ve Cp-Ti-Zn-5nm yüzeylerin temas açıları Şekil 4.18. ve Şekil 4.19.'da verilmiştir. Cp-Ti-Zn-1nm ve Cp-Ti-Zn-3nm yüzeyler, Cp-Ti-50V yüzeye kıyasla yüksek bir temas açısı verirken, Cp-Ti-Zn-5nm daha düşük bir temas açısı sağlamıştır. Temas açılarındaki bu değişimler yüzey morfolojisinin değişimi ile alakalıdır. Bununla birlikte Ag, Cu ve Zn kaplı yüzeylerdeki temas açıları anodize yüzeylere daha yakın bir değer elde edilirken, işlem görmemiş Cp-Ti yüzeylere kıyasla önemli derecede artış gözlenmiştir. Zn kaplı titanyum yüzeylerin ıslanabilirlik özelliklerindeki değişim literatürdeki benzer çalışmalarla da desteklenmiştir. Shen ve arkadaşları [154], spin-kaplama yöntemi ile Zn kaplı titanyum yüzeylerin karakterizasyonu sonrasında işlem görmemiş yüzeylere kıyasla kaplama işlemi sonrasında temas açısının arttığını rapor etmişlerdir.



Şekil 4.18. Zn kaplı yüzeylerin su ile temas açısı a.Cp-Ti-Zn-1nm, b.Cp-Ti-Zn-3nm, c.Cp-Ti-Zn-5nm



Şekil 4.19. Zn kaplı yüzeylerin su ile temas açısı dereceleri a.Cp-Ti-Zn-1nm, b.Cp-Ti-Zn-3nm, c.Cp-Ti-Zn-5nm

Ag, Cu ve Zn kaplı yüzeyler birbirleri ile kıyaslandığında en yüksek temas açıları Zn kaplı yüzeyler ile elde edilmiştir. Kısaca Zn kaplı yüzeylerin ıslanabilirliği diğer yüzeylere kıyasla daha düşüktür. Yüzeylerin su ile yaptığı temas açıları sıralaması Zn Cu> Ag şeklindedir.

AO uygulanmış yüzeyler ile kıyaslandığında Zn kaplı yüzeyler hariç diğer yüzeylerin temas açılarında azalma gözlenmiştir. Morfolojik olarak benzer yapıda olmalarına rağmen Ag ve Cu kaplı yüzeylerin temas açılarındaki azalma yüzey polaritesindeki değişim ile ilişkilidir. Bu sonuç, morfolojik olarak benzer özellik sergileyen yüzeylerin hidrofilik/hidrofobik karakterlerinin farklı olmasının yüzey kimyasına bağlı olduğunu göstermektedir. Bu bulgumuzu destekleyen bir çalışmada, Cu kaplı yüzeylerin işlem görmemiş titanyum yüzeylere kıyasla morfoloji olarak benzer olmalarına rağmen daha fazla hidrofilik karakterde olduğu rapor edilmiştir [113]. Başka bir çalışmada ise Li ve arkadaşları TiO₂-nanopartikül bazlı yüzeylerin Ag ile kaplanması sonrasında temas açılarındaki azalma ve yüzey hidrofilitesinde artış olduğunu rapor etmişlerdir [155]. Yüzeylerin düşük temas açıları iyi ıslanabilirliğe ve yüksek yüzey enerjisine işaret etmektedir. Yüksek yüzey enerjisine sahip

hidrofilik yüzeylerde hücre adezyonu, hücre proliferasyonu ve biyouyumluluk artmakta ve implantasyonda önemli avantajlar elde edilmektedir [156].

4.6. Antibakteriyel Analizler

Tüm kaplama yüzeylerin antibakteriyel aktiviteleri koloni sayma yöntemi ile *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* kullanılarak araştırılmıştır. *Micrococcaceae* familyasında bulunan *Staphylococcus* türleri insanlarda burun, el, ağız ve derilerde her zaman rastlanmaktadır. Özellikle deride oluşan yara ve sivilcelerde bulunmaktadır. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus cinsi* içinde yer alan gram pozitif bir bakteridir. Üreme sıcaklığı insanlarda optimum 35-37°C’de iken gıdalarda 6.7-45.6°C olan bakteridir [157]. *S. aureus* intoksikasyon tipi zehirlenmelere neden olan enterotoksin hastalıklara neden olmaktadır. En yaygın görülen hastalık tipi gastroenterittir. Zehirlenme durumları toksinin gıda ile birlikte tüketilmesi sonucunda gerçekleşmektedir [158]. *Enterobacteriaceae* familyasında bulunan *Escherichia coli* ise gram negatif bir bakteridir [159]. *E.coli* insan gibi çoğu sıcakkanlı hayvanın bağırsağında bulunmaktadır. Menenjit septisemi, ishale yol açan enfeksiyonlar, idrar yolları enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıklarda rol oynamaktadır [157].

Re-kültürasyon sonrasında *E. coli*’nin koloni canlılığındaki değişim Şekil 4.20. ve 4.21.’de görülmektedir. Anodik işlem uygulanmış Cp-Ti-50V’un anozide olmamış Cp-Ti yüzeyine kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite sergilediği belirlenmiştir. Cp-Ti-Cu-5nm yüzeylerde *E.coli* canlılığı Cp-Ti yüzeylere kıyasla %32 oranda azalmıştır. Cp-Ti-50V yüzeyler ile kıyaslandığında ise bu oran %45.6 olarak saptanmıştır. Bu durumda Cp-Ti-5nm yüzeyin anodize yüzeye göre daha fazla antibakteriyel özellikte olduğu bulunmuştur. Kaplama kalınlığının artması ile antibakteriyel aktivitenin de önemli derecede arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.17.). Re-kültürasyon sonrasında *S. aureus*’un koloni canlılığındaki değişimler Şekil 4.21. ve 4.22.’de verilmiştir. *E. coli* gibi *S.aureus*’da da anodizasyon işlemi yüzeylerin antibakteriyel özelliğini arttırmıştır. *S.aureus*’un koloni canlılığı Cp-Ti-Cu-5nm yüzeylerde Cp-Ti yüzeylere göre %24.5 azalma gösterirken bu oran Cp-Ti-50V

yüzeylerde %31.9 olarak saptanmıştır. Cu kaplı yüzeylerin sergilediği antibakteriyel aktivite, Cu metalinin mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisi ile açıklanabilir.

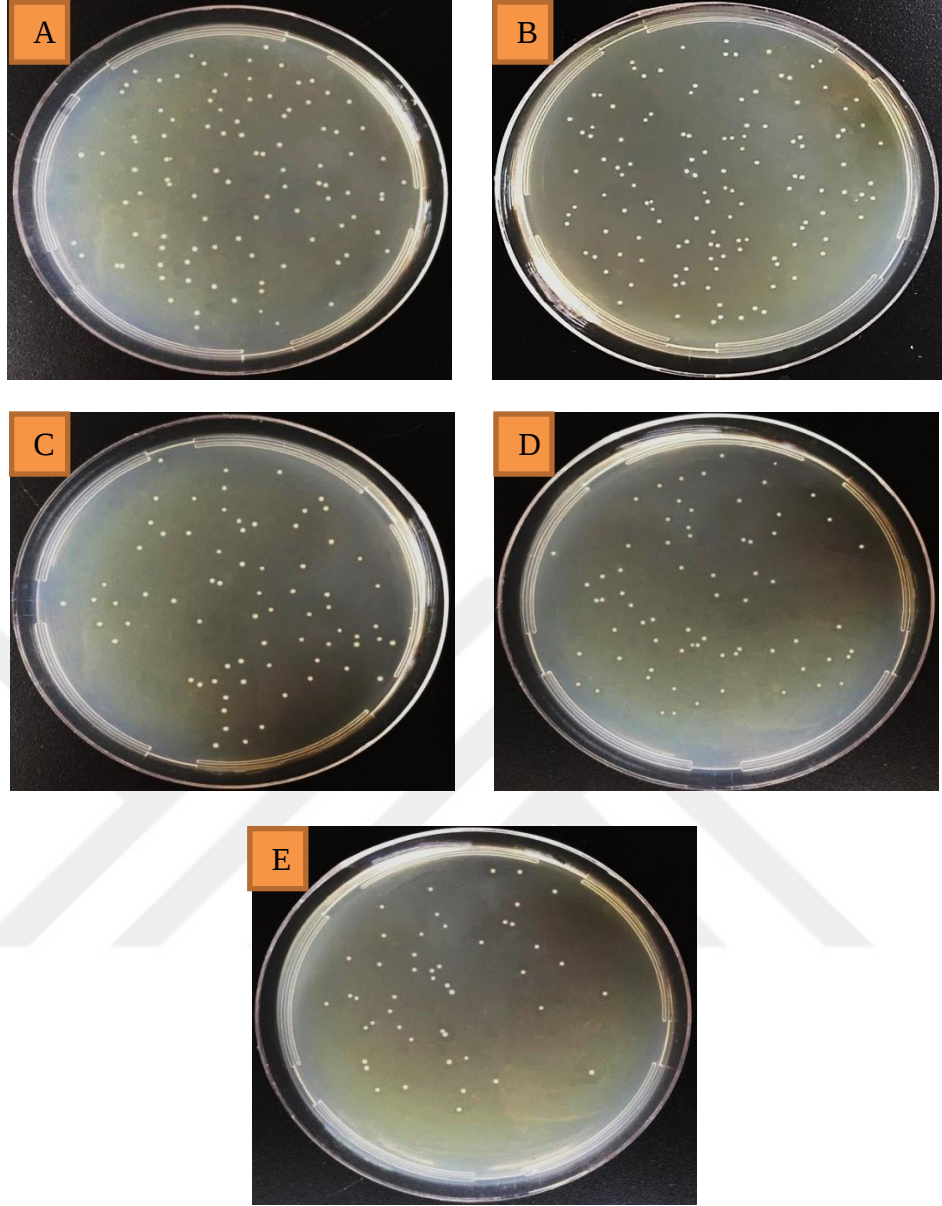
Cu kaplı yüzeylerde bakteri kaplanmış yüzeylere temas ettiğinde; çoğalma ve hareket kısıtlanır ve hücre ölümü meydana gelir [160]. Literatürde Cu kaplı yüzeylerin antibakteriyel aktivite sergilediği pek çok çalışma ile rapor edilmiştir. Durdu (2019), mikroark oksidasyonu ile Cu biriktirilen yüzeylerin antibakteriyel aktivite üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu ve kaplama kalınlığının artırılması ile antibakteriyel aktivitenin de arttığını bildirmiştir [113].

Cp-Ti-50V yüzeyinin TB yöntemi ile Ag kaplanması sonrasında yüzeylerin önemli derecede antibakteriyel özellik kazandığı belirlenmiştir. Ag kaplı yüzeyler arasında *E. coli*'ye karşı en yüksek antibakteriyel aktivite 5 nm Ag kaplı yüzeyler ile elde edilmiştir. Cp-Ti-Ag-5nm yüzeyde *E. coli* canlılığı Cp-Ti ve Cp-Ti-50V yüzeylerine kıyasla sırası ile 2.08 ve 2.6 kat azalmıştır. Koloni canlılığında gözlenen bu azalma Ag kaplı yüzeylerin antibakteriyel özelliğinin güçlendiğini göstermektedir. Benzer sonuç *S. aureus* canlılığında da gözlenmiş ve Ag kaplama sonrasında yüzeylere adeze olan bakterilerin canlılığında önemli bir azalma saptanmıştır. *S. aureus*'a karşı en belirgin antibakteriyel aktivite Cp-Ti-Ag-5nm yüzeyi ile elde edilmiştir. Yüzeylerin Ag ile kaplanması sonrasında bakteriyel koloni inhibisyonundaki azalma, Ag'nin bakteri hücrelerindeki toksik etkileri ile açıklanabilir. Ag iyonlarının bakteri hücresi ile etkileşiminden sonra bakterideki protein molekülleri denatüre olur ve DNA sentezi bloke edilir [161,162]. Ayrıca, pozitif yüklü Ag iyonları ile negatif yüklü bakteri hücreleri arasındaki elektrostatik etkileşim de bakterisidal etkiden sorumludur [163]. Bakteri hücresindeki bu etkilerin bir sonucu olarak hücre döngüsü bozulur ve proliferasyon azalmakta, bu da koloni oluşumunun azalmasına neden olmaktadır. Literatürde yapılmış benzer çalışmalarda da Ag kaplı yüzeylerin antibakteriyel aktivite sergilediği bildirilmiştir. Durdu ve arkadaşları (2018), mikroark oksidasyon yöntemi kullanarak yüzeyde biriktirilen Ag tabakasının gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite sergilediğini rapor etmişlerdir [139].

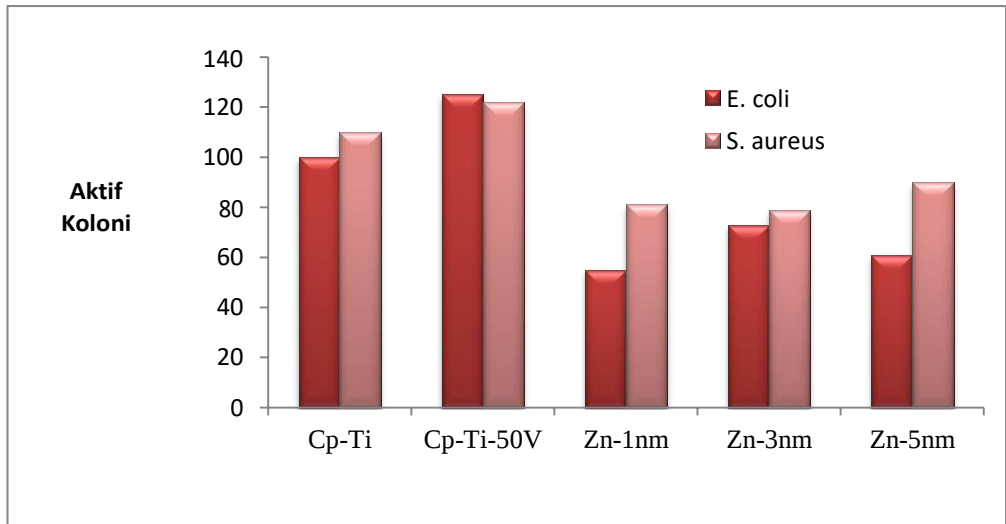
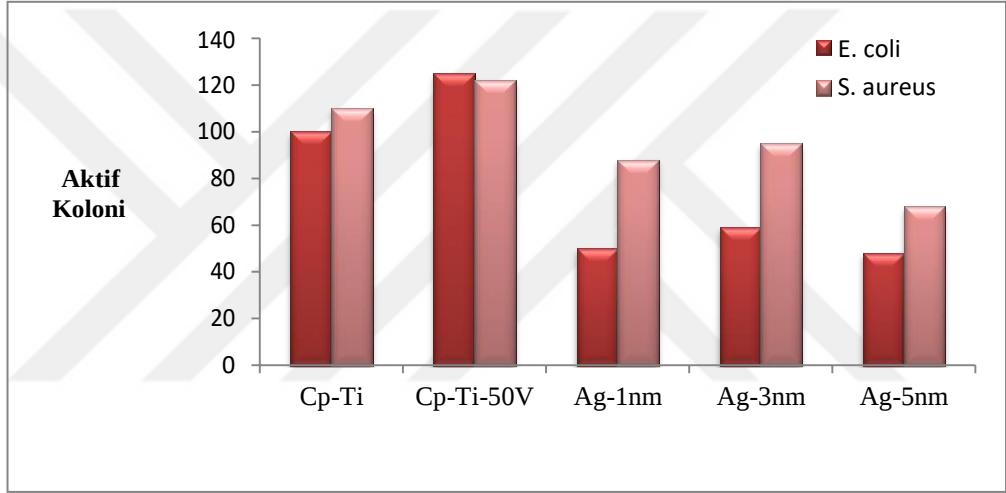
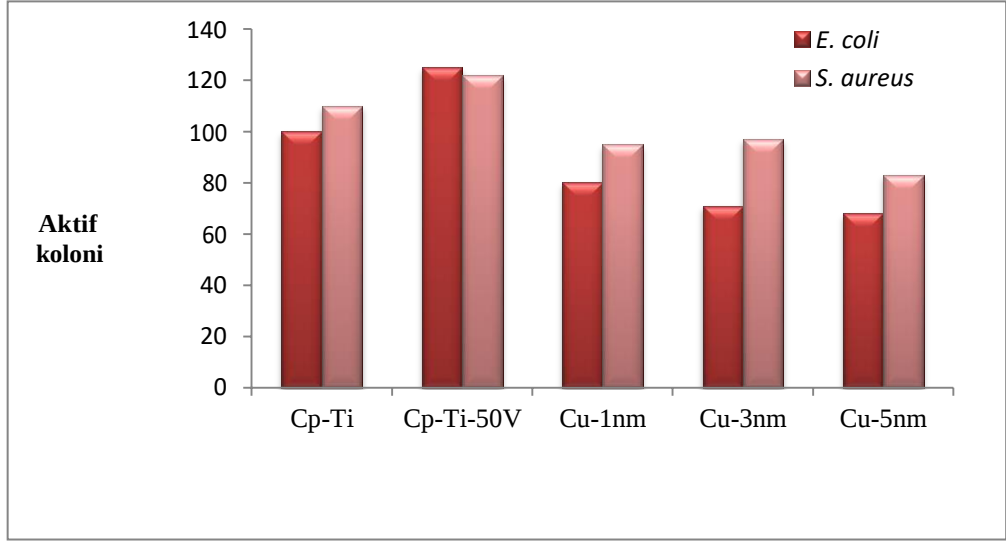
TB yöntemi ile yüzeylerin Zn ile kaplanması sonrasında *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı önemli antibakteriyel bir aktivite oluştuğu belirlenmiştir. Farklı kalınlıkta Zn kaplı

yüzeyler arasında *E. coli*'ye karşı en güçlü antibakteriyel aktivite Cp-Ti-Zn-1nm yüzeyi ile elde edilmiştir ve *E. coli* canlılığında Cp-Ti yüzeylere göre %45, Cp-Ti-50V yüzeylere göre ise %70 azalma saptanmıştır. *S. aureus*' a karşı test edine yüzeyler arasında en güçlü inhibe edici etki Cp-Ti-Zn-3nm ile elde edilmiş, bu kaplama Cp-Ti ve Cp-Ti-50V yüzeylerine kıyasla sırası ile %28.1 ve %35.2 daha etkili bir antibakteriyel etki göstermiştir (Şekil 4.21).

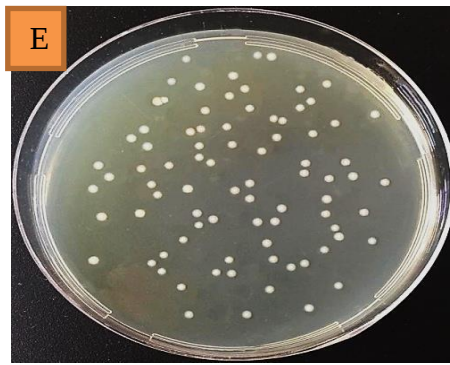
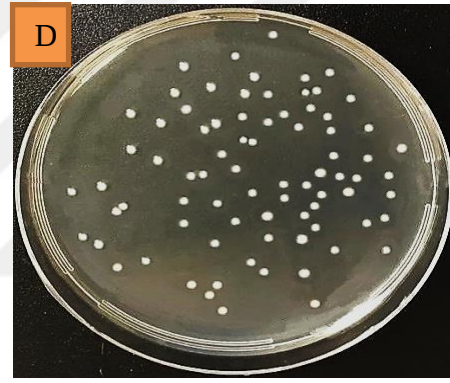
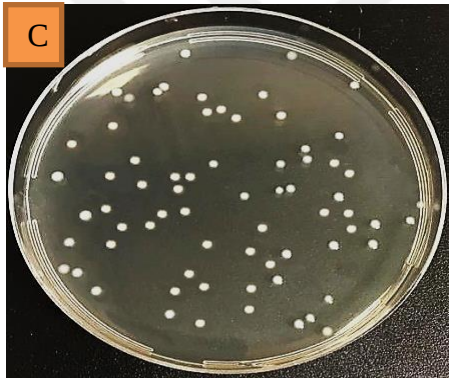
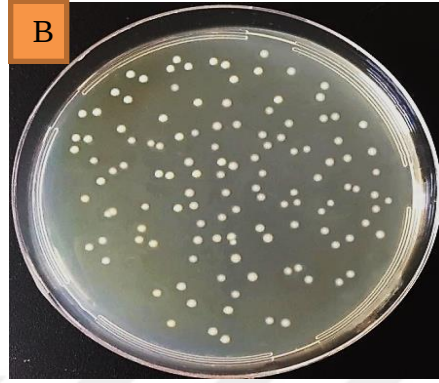
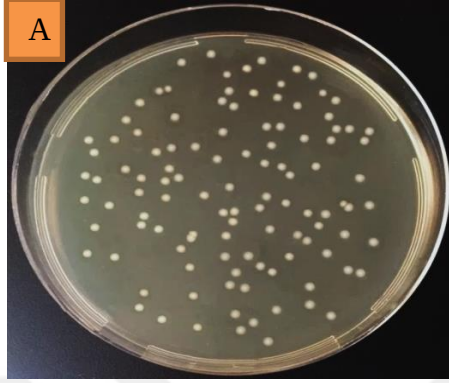
Zn kaplı yüzeylerin sergilediği antibakteriyel aktivite, Zn metalinin toksisitesi ile ilişkilidir. Zn, reaktif oksijen türleri oluşturarak ve bakteriyel büyümeyi inhibe ederek antibakteriyel özellik sergilemektedir [164-166]. Literatürde Zn kaplı yüzeylerin bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisini gösteren pek çok çalışma vardır. Hu ve arkadaşları (2012), Zn dahil edilmiş TiO₂ yüzeylerin hem gram negatif hemde gram pozitif bakterileri inhibe etme konusunda iyi bir yetenek sergilediklerini rapor etmişlerdir [167]. Zn katkılı TiO₂ materyalinin antibakteriyel etkisinin gram pozitif bakteriler üzerinde gram negatif bakterilere göre daha önemli olduğu sonucuna varabiliriz. Bu iki bakteri türüne karşı aktivite farklılığı, hücre yüzeylerinin farklı yapıları ve kimyasal bileşimi ile açıklanabilir.



Şekil 4.20. *E. coli*'nin yüzeyler üzerindeki canlılığı. A. Cp-Ti, B. cp-Ti-50V, C. cp-Ti-Cu-5nm, D. Cp-Ti-Zn-1 nm, E. Cp-Ti-Ag-5nm



Şekil 4.21. *E. coli* ve *S. aureus*'un yüzeyler üzerindeki aktif koloni sayıları



Şekil 4.22. *S. aureus*'un yüzeyler üzerindeki canlılığı. A. Cp-Ti B. Cp-Ti-50V C. Cp-Ti-Ag-5nm D. Cp-Ti-Zn-3nm E. Cp-Ti-Cu-5nm

Sonuç olarak; Ag, Cu ve Zn bazlı yüzeyler gram negatif bakterilerdeki antibakteriyel aktivitesi daha yüksektir. Bu durum bakterilerin hücre yapısındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarı, peptidoglikan tabakasını kaplayan bir dış zara sahip olması nedeniyle gram pozitif bakterilerden farklıdır. Bakteriye zarar verebilecek dış maddenin varlığı düşünüldüğünde bakterinin hayatta kalmasına da yardımcı olur [168]. Selahattin ve arkadaşları gram pozitif bakterilerin daha yüksek duyarlılığının, hücre duvarı yapısı, hücre fizyolojisi, metabolizması veya temas derecesindeki farklılıklarla yakından ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [169].

Yapılan deneylerin sonucunda *E.coli* ve *S.aureus* için antibakteriyel aktivite sıralaması $Ag > Zn > Cu$ şeklindedir. Bu durumda bakteriler için en toksik metal Ag'dir. Ag belirli bir dozda insan vücudu için zararsız bir etkiye sahiptir. Ancak bakteriler için etkisi ölümcüldür. Ruparelia ve arkadaşları (2008), gram pozitif *Staphylococcus aureus*'un hem bakır nanopartiküllere hem de gümüş nanopartiküllere gram negatif *Escherichia coli*'ye göre daha dirençli olduğunu bildirmiştir [126]. Wang ve arkadaşları (2014), Zn katkılı TiO_2 materyalinin antibakteriyel etkisinin gram pozitif bakteriler üzerinde gram negatif bakterilere göre daha önemli etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir [170].

BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Biyomalzemeler, insan vücudunda işlevini yitirmiş doku ve organların görevini üstlenmek ya da desteklemek için kullanılmaktadır. Titanyum ve alaşımlarının kimyasal olarak inert olması, dayanıklı ve yüksek biyouyumluluğa sahip olması biyomalzeme olarak kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Mükemmel korozyon direnci, yüksek mukavemet ve düşük yoğunluğu sahip olması nedeniyle kimya, mühendislik ve havacılık endüstrilerinde yaygın bir şekilde kullanılan titanyum insanın günlük yaşamında kullanılan çok çeşitli ürün formlarında üretilmektedir. Medikal uygulamalarda sıkça kullanılan titanyumun yüzey özellikleri çeşitli modifikasyon yöntemleri ile de iyileştirilebilmektedir.

Bu çalışmada Cp-Ti yüzeyi anodizasyon tekniğiyle modifiye edilmiş ve yüzeyde nanotübüler yapı oluşturulmuştur. TB yöntemi ile yüzeyde biriktirilen Ag, Cu ve Zn tabakaları ile antibakteriyel bir yüzey elde edilmiştir. Uygulanan modifikasyon yöntemleri ile yüzey topoğrafyasında değişimler gözlenmiş ve bu değişimler AFM ve SEM analizleri ile aydınlatılmıştır. Biyomalzeme yüzeyinin ıslanabilirliği biyolojik ortam ile uyumluluğu sağlayarak implant-hücre etkileşimini düzenlemektedir. Yüzey ıslanabilirliğindeki değişimleri belirlemek için tüm yüzeylerin su ile temas açısı ölçümleri alınmış ve modifikasyon yöntemlerinin yüzey ıslanabilirliğini de önemli derecede etkilediği tespit edilmiştir. Ag, Cu ve Zn kaplanan yüzeyler, Cp-Ti yüzeylere kıyasla *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerinin canlılığında azalmaya neden olarak önemli antibakteriyel etkinlik sergilemişlerdir.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde, modifikasyon yöntemlerinin biyomalzeme yüzeyinde istenilen özelliklerin oluşturulmasında önemli bir role sahip olduğu, biyomalzeme yüzeyinin Ag, Cu ve Zn gibi metallerle kaplanması sonucu yüksek antibakteriyel özelliğin oluşturulabileceği belirlenmiştir. Bu sonuç, nanoteknoloji ve imalat yöntemlerindeki gelişmelere bağlı olarak biyomalzemelere uygulanan yüzey modifikasyon yöntemlerinin yüksek biyouyumluluğa sahip ve yüksek performanslı antibakteriyel yüzeye sahip biyomalzemelerin geliştirilmesine imkan sağladığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1]. Raghavendra, G. M., Varaprasad, K., & Jayaramudu, T., Biomaterials: design, development and biomedical applications. In Nanotechnology applications for tissue engineering (pp. 21-44). William Andrew Publishing, 2015.
- [2]. Yoruc, ABH & Sener, BC. Biomaterials. In: Prof. Kara S, editor. A roadmap of biomedical engineers and milestones, ISBN: 978-953-51-0609-8, 2012.
- [3]. Williams, D. F., Tissue-biomaterial interactions, J. Mater. Sci., 22(10), 3421-3445, 1987.
- [4]. Güven, S. Y., & Cetin, H., Metalik biyomalzemeler ve implantlar. "S.D.Ü. 15. Yıl Mühendislik Mimarlık Sempozyumu" (s. 175-181), 2007.
- [5]. Güven, S. Y., Ortopedik malzemelerin biyouyumlulukları ve mekanik Özelliklerine göre seçimi, "In 2nd National Design and Manufacturing Congress" (pp. 472-484), Balıkesir, 2010.
- [6]. Oldani, C., & Dominguez, A., Titanium as a Biomaterial for Implants. Recent advances in arthroplasty, 218, 149-162, 2012.
- [7]. Van Noort, R., Titanium: the implant material for today, J. Mater. Sci., Vol.22 (pp. 3801-3811), 1987.
- [8]. Li, P., Kangasniemi, I. & De Groot, K. Hydroxyapatite Induction by a Gel-Derived Titania on a Titanium Substrate, Journal of the Ceramic Society, Vol.77, No.5, (pp. 1307-1312), 1994.
- [9]. Fraczek, T., Olejnik, M. & Tokarz, A. Evaluations of plasma nitriding efficiency of titanium alloys for medical applications. Metalurgija, 48(2) 83-8, 2009.
- [10]. Freese, H., Volas, M.G. & Wood, J.R., In: Brunette D.M., Tengvall P., Textor M., Thomsen P. (eds.) Titanium in Medicine, (p25-51), Berlin, 2001.
- [11]. Havıtcıoğlu, H., İmplant malzemelerinin yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi. TOTBİD Derg., 10(2), 178-183, 2011.
- [12]. Al-Swayih, A. A., The Electrochemical Behavior of Titanium Improved by Nanotubular Oxide Formed by Anodization for Biomaterial Applications: A Review. Orient. J. Chem., 32(6), 2841, 2016.

- [13]. Li, B., Li, Y., Li, J., Fu, X., Li, H., Wang, H., ... & Li, C., Influence of nanostructures on the biological properties of Ti implants after anodic oxidation, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 25(1), 199-205, 2014.
- [14]. Yu, W., Qiu, J., Xu, L., & Zhang, F., Corrosion behaviors of TiO₂ nanotube layers on titanium in Hank's solution. *Biomed. Mater.*, 4, 065012, 2009.
- [15]. Mohan, L., Anandan, C., & Rajendran, N., Electrochemical behaviour and bioactivity of self-organized TiO₂ nanotube arrays on Ti-6Al-4V in Hanks' solution for biomedical applications. *Electrochim. Acta*, 155, 411, 2015.
- [16]. Zhao, L., Chu, P. K., Zhang, Y., & Wu, Z., Antibacterial coatings on titanium implants. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Applied Biomaterials*, 91(1), 470-480, 2009.
- [17]. Mattox, D M., *Handbook of Physical Vapor Deposition (PVD) Processing: Film formation, adhesion, surface preparation and contamination control.* Westwood, N.J.: Noyes Publications, 1998.
- [18]. Sarraf, M., Dabbagh, A., Razak, B. A., Nasiri-Tabrizi, B., Hosseini, H. R. M., Saber-Samandari, S., & Sukiman, N. L., Silver oxide nanoparticles-decorated tantalum nanotubes for enhanced antibacterial activity and osseointegration of Ti6Al4V. *Mater. Design*, 154, 28-40, 2018.
- [19]. Trivedi, P., Srivastava, S., Jayaganthan, R., Chandra, R., & Roy, P., Characterization and in vitro biocompatibility study of Ti-Si-N nanocomposite coatings developed by using physical vapor deposition. *Appl. Surf. Sci.*, 293, 143-150, 2014.
- [20]. Zalilah, U., & Mahmoodian, R., Comparative study on microstructure, crystallite size and lattice strain of as-deposited and thermal treatment silver silicon nitride coating on Ti6Al4V alloy. In *IOP Conf Ser. Mater. Sci. Eng.*, 210, 9, 2017.
- [21]. Enderle, J.D., Blanchard M.S.& Bronzino D.J., *Introduction To Biomedical Engineering*, 2012.
- [22]. Park, J.B., *Biomaterials An Introduction*, Plenum Press, N.Y., 1979.
- [23]. Gür, A.K. & Taşkın, M., *Metalik Biyomalzemeler ve Biyouyum*, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları :4, 2004.
- [24]. Gümüşderelioğlu, M., Tıbbın geleceği biyomateryaller, *Bil. Tek. Derg.*, 2-4, 2002.
- [25]. Pasinli, A., *Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler.* Mak. Tek. Elekt. Derg., 4(2), 25-34, 2004.

- [26]. Kenneth RSJ. Biocompatibility of dental materials. Dent Clin North Am 51:747-760, 2007.
- [27]. Wataha, J. C., Principles of biocompatibility for dental practitioners. The Jour. Prosth. Dent., 86(2), 203-209, 2001.
- [28]. <http://docshare02.docshare.tips/files/30765/307654779.pdf> (Erişim tarihi: 03/11/2020)
- [29]. <http://docplayer.biz.tr/2204036-Biyouyumluluk-ve-dokulardabiyouyumluluk-ziya-gokhan-bozkurt-19913444.html> 22/12/2020 (Erişim tarihi: 03/11/2020)
- [30]. Bulut, M. & Karakurt, L., Seramikler. TOTBİD Dergisi, 10(2):87–95, 2011.
- [31]. Çal, B. & Gündüz, O., Biyoseramiklerin kaplama yöntemlerinin karşılaştırılması, Yüzey İşlemler, 70, 12-26, 2010.
- [32]. Nagaoka, S., Mori, Y., Tanzawa, H., Kikuchi, Y., İnagaki, F., Yokota, Y. & Noishiki, Y., Hydrated dynamic surfaces. ASAIO Journal, 10, 76-78, 1987.
- [33]. Fournier, R.L., Solute transport in biological systems. In Basic Transport Phenomena in Biomedical Engineering; Taylor & Francis: Philadelphia, PA, 27-28, 1999.
- [34]. Dee, K.C., Puleo, D.A. & Bizios, R., Protein – surface interactions. In Tissue – Biomaterials Interactions; John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, 3, 45-49, 2002.
- [35]. Latour, RA., Biomaterials: Protein – Surface Interactions. In: Wnek G, Bowlin G, editors. The Encyclopedia of Biomaterials and Bioengineering. Taylor & Francis; New York, 2005.
- [36]. Vroman, L. & Adams, A.L., Findings with the recording ellipsometer suggesting rapid solid interfaces. Surf. Sci., 16, 438-446, 1969.
- [37]. Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L., Cell viability assays. Assay Guidance Manual [Internet], 2016.
- [38]. Biocompare.com. <http://www.biocompare.com/EditorialArticles/117892-Cell-Proliferation-Assays/> [Access date: November 05, 2012]
- [39]. ATCC. <http://www.atcc.org/attachments/2273.pdf> [Access date: November 14, 2012]

- [40]. Koçer, B., Al-montmorillonit/Poli (metil metakrilat) nanokompozitlerinin sentezi ve karakterizasyonu, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.
- [41]. W.N. Choy, "Genetic toxicology and cancer risk assessment", Marcel Dekker, New York, 29-187, 2001.
- [42]. McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E., & Ames, B. N., Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(12), 5135-5139, 1975.
- [43]. Maron, D. M., & Ames, B. N., Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113(3-4), 173-215, 1983.
- [44]. Ramel, C., Alekperov, U. K., Ames, B. N., Kada, T., & Wattenberg, L. W., Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis: Report by ICPEMC expert group on antimutagens and desmutagens. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 168(1), 47-65, 1986.
- [45]. Victorin, K., Busk, L., & Ahlborg, U. G., Retinol (vitamin A) inhibits the mutagenicity of o-aminoazotoluene activated by liver microsomes from several species in the Ames test. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 179(1), 41-48, 1987.
- [46]. Jung, R., Engelhart, G., Herbolt, B., Jäckh, R., & Müller, W., Collaborative study of mutagenicity with Salmonella typhimurium TA102. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 278(4), 265-270, 1992.
- [47]. Jarvis, A. S., Honeycutt, M. E., McFarland, V. A., Bulich, A. A., & Bounds, H. C., A comparison of the Ames assay and Mutatox in assessing the mutagenic potential of contaminated dredged sediment, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 33(2), 193-200, 1996.
- [48]. Mortelmans, K., & Zeiger, E., The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*, 455(1-2), 29-60, 2000.
- [49]. Ostling, G., & Johanson, K. J., Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 123(1), 291-298, 1984.
- [50]. McKelvey-Martin, V. J., Green, M. H. L., Schmezer, P., Pool-Zobel, B. L., De Meo, M. P., & Collins, A., The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 288(1), 47-63, 1993.

- [51]. Fairbairn, D. W., Olive, P. L., & O'Neill, K. L., The comet assay: a comprehensive review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 339(1), 37-59, 1995.
- [52]. Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L., A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.*, 175(1), 184-191, 1988.
- [53]. Kassie, F., Parzefall, W., & Knasmüller, S., Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 463(1), 13-31, 2000.
- [54]. Tice, R. R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., ... & Sasaki, Y. F., Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and molecular mutagenesis*, 35(3), 206-221, 2000.
- [55]. Olive, P. L., & Banáth, J. P., The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature protocols*, 1(1), 23, 2006.
- [56]. Dinçer, Y., & Kankaya, S., DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay/Comet Assay for Determining of DNA Damage. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bil. Derg.*, 30(4), 1365, 2010.
- [57]. ŞEKEROĞLU, Z. A., ŞEKEROĞLU, V., & KOLÖREN, Z., The in vitro alkaline comet assay in genetic toxicology. *J. Appl. Biol. Sci.*, 5(1), 49-54, 2011.
- [58]. Montoro, A., Soriano, J. M., Barquinero, J. F., Almonacid, M., Verdú, G., Sahuquillo, V., ... & Sebastià, N., Assessment in vitro of cytogenetic and genotoxic effects of propolis on human lymphocytes. *Food Chem. Toxicol.*, 50(2), 216-221, 2012.
- [59]. Beg, T., Siddique, Y. H., Ara, G., Gupta, M., & Afzal, J., Protective action of EGCG against anticancer drugs MMS and CP., *Int. J. Pharmacol.*, 6(2), 1-7, 2009.
- [60]. Fenech, M., Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature protocols*, 2(5), 1084, 2007.
- [61]. Kandić, L., Mitrić, M., & Ignjatović, N., XRD analysis of calcium phosphate and biocomposite calcium phosphate/bioresorbable polymer. In *Materials science forum* (Vol. 518, pp. 507-512). Trans Tech Publications Ltd., 2006.
- [62]. Veselinović, L., Karanović, L., Stojanović, Z., Bračko, I., Marković, S., Ignjatović, N., & Uskoković, D., Crystal structure of cobalt-substituted calcium hydroxyapatite nanopowders prepared by hydrothermal processing. *J. Appl. Crystallogr.*, 43(2), 320-327, 2010.

- [63]. Sampath Kumar, T.S., Physical and chemical characterization of biomaterials A2. In: Bandyopadhyay, A., Bose, S. (Eds.), Characterization of Biomaterials. Academic Press, Oxford, Chapter 2, 2013.
- [64]. Bandyopadhyay, A., & Bose, S. (Eds.), Characterization of biomaterials. Newnes, 2013.
- [65]. Agrawal, C.M., Ong, J.L., Appleford, M.R. & Mani, G., Introduction to Biomaterials: Basic Theory with Engineering Applications. Cambridge University Press, Cambridge, 2013.
- [66]. Ahuja, S., & Scypinski, S. (Eds.), Handbook of modern pharmaceutical analysis. Academic press, 2010.
- [67]. de Araujo, L. O. F., Barreto, O., de Mendonça, A. A. M., & França, R., Assessment of the degree of conversion in light-curing orthodontic resins with various viscosities. Appl. Adhes. Sci., 3(1), 1-7, 2015.
- [68]. Moraes, L. G. P., Rocha, R. S. F., Menegazzo, L. M., Araújo, E. B. D., Yukimito, K., & Moraes, J. C. S., Infrared spectroscopy: a tool for determination of the degree of conversion in dental composites. J. Appl. Oral Sci., 16(2), 145-149, 2008.
- [69]. Durner, J., Obermaier, J., Draenert, M., & Ilie, N., Correlation of the degree of conversion with the amount of elutable substances in nano-hybrid dental composites. Dent. Mater., 28(11), 1146-1153, 2012.
- [70]. Artyushkova, K., & Atanassov, P., X-Ray Photoelectron Spectroscopy for Characterization of Bionanocomposite Functional Materials for Energy-Harvesting Technologies. Chem.Phys.Chem., 14(10), 2071-2080, 2013.
- [71]. McArthur, S. L., Mishra, G., & Easton, C. D., Applications of XPS in biology and biointerface analysis. In Surface analysis and techniques in biology (pp. 9-36). Springer, Cham, 2014.
- [72]. <https://merlab.metu.edu.tr/tr/gonyometre-optik-temas-acisiyuzey-gerilimi-olcum-cihaz-tayg> (Erişim tarihi: 15/11/2020)
- [73]. <http://depo.btu.edu.tr/dosyalar/kimyamuh/Dosyalar/1-YGTAO.pdf> (Erişim tarihi: 15/11/2020)
- [74]. <https://www.intechopen.com/books/recent-applications-in-sol-gel-synthesis/sol-gel-applications-in-textile-finishing-processes>. (Erişim tarihi: 15/11/2020)
- [75]. Ruardy, T. G., Schakenraad, J. M., Van der Mei, H. C., & Busscher, H. J., Adhesion and spreading of human skin fibroblasts on physicochemically

characterized gradient surfaces. J. Biomed. Mater. Res., 29(11), 1415-1423, 1995.

- [76]. Altankov, G., Grinnell, F., & Groth, T. (1996). Studies on the biocompatibility of materials: Fibroblast reorganization of substratum-bound fibronectin on surfaces varying in wettability. Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials, 30(3), 385-391, 1996.
- [77]. Bolton, W., & Higgins, R. A., Materials for engineers and technicians. Routledge, 2020.
- [78]. Metals Handbook Volume 2. Properties and Selection: Nonferrous Alloys and Special Purpose Materials. ASM International, USA.
- [79]. Lütjering, G., and Williams, J. C., Engineering Materials and Process: Titanium (2nd Edition). Springer, 2007.
- [80]. Collings, E. W., The physical metallurgy of titanium alloys. Metals Park Ohio, 3., 1984.
- [81]. Liu, X., Chu, P. K., & Ding, C., Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. Mater. Sci. Eng.: R: Reports, 47(3-4), 49-121, 2004.
- [82]. Williams, D. F., Titanium for medical applications. In Titanium in medicine (pp. 13-24). Springer, Berlin, Heidelberg, 2001.
- [83]. Textor, M., Sittig, C., Frauchiger, V., Tosatti, S., & Brunette, D. M., Properties and biological significance of natural oxide films on titanium and its alloys. In Titanium in medicine (pp. 171-230). Springer, Berlin, Heidelberg, 2001.
- [84]. Restorative dental materials, 10th ed, Ed by RG Craig, Mosby yearbook St. Louis
- [85]. Eisenbarth, E., Velten, D., Müller, M., Thull, R., & Breme, J., Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys. Biomaterials, 25(26), 5705-5713, 2004.
- [86]. Feng, B., Weng, J., Yang, B. C., Qu, S. X., & Zhang, X. D. (2003). Characterization of surface oxide films on titanium and adhesion of osteoblast. Biomaterials, 24(25), 4663-4670, 2003.
- [87]. Illustrated Encyclopedia and Dictionary of Dental Science, Ishiyaku Shuppan, Tokyo, Japan, 1989, p. 1800.

- [88]. Merritt, K., & Brown, S. A., Effect of proteins and pH on fretting corrosion and metal ion release. *J. Biomed. Mater. Res.*, 22(2), 111-120, 1988.
- [89]. Williams, R. L., Brown, S. A., & Merritt, K., Electrochemical studies on the influence of proteins on the corrosion of implant alloys. *Biomaterials*, 9(2), 181-186, 1988.
- [90]. Chua, P. H., Neoh, K. G., Kang, E. T., & Wang, W., Surface functionalization of titanium with hyaluronic acid/chitosan polyelectrolyte multilayers and RGD for promoting osteoblast functions and inhibiting bacterial adhesion. *Biomaterials*, 29(10), 1412-1421, 2008.
- [91]. Albrektsson, T., Brånemark, P. I., Hansson, H. A., & Lindström, J., Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 52(2), 155-170, 1981.
- [92]. J.M. Anderson, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Lemons (Eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Academic Press, San Diego, 1996, pp. 165–173.
- [93]. B.D. Ratner, in: D.M. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, P. Thomsen (Eds.), *Titanium in Medicine*, Springer, Berlin, 2001, pp. 1–12.
- [94]. Yan Guo, C., Tin Hong Tang, A., & Pekka Matinlinna, J. (2012). Insights into surface treatment methods of titanium dental implants. *J. Adhes. Sci. Tech.*, 26(1-3), 189-205, 2012.
- [95]. Le Guéhennec, L., Soueidan, A., Layrolle, P., & Amouriq, Y. (2007). Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration, *Dent. Mater.*, 23(7), 844-854, 2007.
- [96]. Schierholz, J. M., & Beuth, J., Implant infections: a haven for opportunistic bacteria. *Journal of Hospital Infection*, 49(2), 87-93, 2001.
- [97]. Hetrick, E. M., & Schoenfisch, M. H., Reducing implant-related infections: active release strategies. *Chemical Society Reviews*, 35(9), 780-789, 2006.
- [98]. Duan, K., & Wang, R., Surface modifications of bone implants through wet chemistry. *J Mater. Chem.*, 16, 2309-2321, 2006.
- [99]. Nouri, A., & Wen, C., Introduction to surface coating and modification for metallic biomaterials. In *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*. Woodhead Publishing. 3-60, 2015.

- [100]. Chou, L., Firth, J. D., Nathanson, D., Uitto, V. J., & Brunette, D. M., Effects of titanium on transcriptional and post-transcriptional regulation of fibronectin in human fibroblasts *J. Biomed. Mater. Res. A*, 31, 209-217, 1996.
- [101]. García, A. J., Surface modification of biomaterials. In A. Atala, R. Lanza, J. A. Thomson & R. M. Nerem (Eds.), *Principles of regenerative medicine*. Burlington: Academic Press, Elsevier, 656-665, 2008.
- [102]. Hwang, B. J., & Hwang, J. R., Kinetic model of anodic oxidation of titanium in sulphuric acid, *J. Appl. Electrochem.*, 23(10), 1056-1062, 1993.
- [103]. Thompson, G.E., Porous Anodic Alumina: Fabrication, Characterization and Applications. *Thin Solid Films*, 297, 192-201, 1997.
- [104]. Mor, G. K., Varghese, O. K., Paulose, M., Mukherjee, N., & Grimes, C. A., Fabrication of tapered, conical-shaped titania nanotubes. *J. Mater. Res.*, 18(11), 2588-2593, 2003.
- [105]. Watnick, P. & Kolter, R., Biyofilm, mikroplar şehri, *Bakteriyoloji Dergisi*, 182 (10), 2675-2679, 2000.
- [106]. Kıcır K., Elektroforetik biriktirme metodu ile yüzeyi modifiye titanyum implantların azırlanması ve karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, 2013.
- [107]. Wang, G., Wan, Y., Ren, B., & Liu, Z., Bioactivity of micropatterned TiO₂ nanotubes fabricated by micro-milling and anodic oxidation. *Mater. Sci. Eng.: C*, 95, 114-121, 2019.
- [108]. PalDey, S. C. D. S., & Deevi, S. C., Single layer and multilayer wear resistant coatings of (Ti, Al) N: a review. *Materials Science and Engineering: A*, 342(1-2), 58-79, 2003.
- [109]. Savaş, S., PVD Metodu ile Kaplanmış S 6-5-2 Yüksek Hız Çeliğinin Aşınma Davranışlarının İncelenmesi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Makina Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2004.
- [110]. Türküz, C., Ark PVD Yöntemi ile TiN Kaplanmış Kesici Takımların Karakterizasyonu ve Performanslarının İncelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1997.
- [111]. Sert, H., Karataş, Ç., Özdemir, A., Kılınç, Y., Dağ, M., & Samtaş, G., Thin and thick hard coating of metals, their environments and performance comparisons. *International Conference on Tribology*, Kayseri, 15-18, 2002.

- [112]. Ceschini, L., Lanzoni, E., Martini, C., Prandstraller, D., & Sambogna, G., Comparison of dry sliding friction and wear of Ti6Al4V alloy treated by plasma electrolytic oxidation and PVD coating. *Wear*, 264(1-2), 86-95, 2008.
- [113]. Durdu, S., Characterization, bioactivity and antibacterial properties of copper-based TiO₂ bioceramic coatings fabricated on titanium. *Coatings*, 9(1), 1, 2019.
- [114]. Hori, K., & Matsumoto, S., Bacterial adhesion: from mechanism to control, *Biochemical Engineering Journal*, 48(3), 424-434, 2010.
- [115]. Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P., Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322, 1999.
- [116]. Dunne, W. M., Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?, *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 155-166, 2002.
- [117]. Norowski Jr, P. A., & Bumgardner, J. D., Biomaterial and antibiotic strategies for peri-implantitis: A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 88(2), 530-543, 2009.
- [118]. Seddiki, O., Harnagea, C., Levesque, L., Mantovani, D., & Rosei, F., Evidence of antibacterial activity on titanium surfaces through nanotextures. *Appl. Surf. Sci.*, 308, 275-284, 2014.
- [119]. Durdu, S., Aktug, S. L., Aktas, S., Yalcin, E., Cavusoglu, K., Altinkok, A., & Usta, M., Characterization and in vitro properties of anti-bacterial Ag-based bioceramic coatings formed on zirconium by micro arc oxidation and thermal evaporation. *Surf. Coat. Technol.*, 331, 107-115, 2017.
- [120]. Bai, X., Sandukas, S., Appleford, M., Ong, J. L., & Rabiei, A., Antibacterial effect and cytotoxicity of Ag-doped functionally graded hydroxyapatite coatings. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100(2), 553-561, 2012.
- [121]. Gordon, O., Slenters, T. V., Brunetto, P. S., Villaruz, A. E., Sturdevant, D. E., Otto, M., ... & Fromm, K. M., Silver coordination polymers for prevention of implant infection: thiol interaction, impact on respiratory chain enzymes, and hydroxyl radical induction. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(10), 4208-4218, 2010.
- [122]. Aktug, S. L., Durdu, S., Aktas, S., Yalcin, E., & Usta, M., Characterization and investigation of in vitro properties of antibacterial copper deposited on bioactive ZrO₂ coatings on zirconium. *Thin Solid Films*, 681, 69-77, 2019.

- [123]. Grass, G., Rensing, C., & Solioz, M. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Applied and environmental microbiology*, 77(5), 1541-1547, 2011.
- [124]. Matsumoto, N., Sato, K., Yoshida, K., Hashimoto, K., & Toda, Y. (2009). Preparation and characterization of β -tricalcium phosphate co-doped with monovalent and divalent antibacterial metal ions. *Acta biomaterialia*, 5(8), 3157-3164, 2009.
- [125]. Zhang, X., Huang, X., Ma, Y., Lin, N., Fan, A., & Tang, B., Bactericidal behavior of Cu-containing stainless steel surfaces *Appl. Surf. Sci.*, 258(24), 10058-10063, 2012.
- [126]. Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P., & Mukherji, S., Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles, *Acta biomaterialia*, 4(3), 707-716, 2008.
- [127]. Arunachalam, A., Dhanapandian, S., Manoharan, C., & Sivakumar, G., Physical properties of Zn doped TiO₂ thin films with spray pyrolysis technique and its effects in antibacterial activity, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 138, 105-112, 2015.
- [128]. Wang, C., Liu, L. L., Zhang, A. T., Xie, P., Lu, J. J., & Zou, X. T. (2012). Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on *Escherichia coli* K88. *Afr. J. Biotechnol.*, 11(44), 10248-10254.
- [129]. Pasquet, J., Chevalier, Y., Couval, E., Bouvier, D., & Bolzinger, M. A., Zinc oxide as a new antimicrobial preservative of topical products: Interactions with common formulation ingredients, *Int. J. Pharm.*, 479(1), 88-95, 2015.
- [130]. Ewald, A., Glückermann, S. K., Thull, R., & Gbureck, U., Antimicrobial titanium/silver PVD coatings on titanium. *Biomedical engineering online*, 5(1), 1-10, 2006.
- [131]. Ueda, T., Sato, N., Koizumi, R., Ueda, K., Ito, K., Ogasawara, K., & Narushima, T., Formation of carbon-added anatase-rich TiO₂ layers on titanium and their antibacterial properties in visible light. *Dental Materials*, 2020.
- [132]. Chen, M., Li, H., Wang, X., Qin, G., & Zhang, E., Improvement in antibacterial properties and cytocompatibility of titanium by fluorine and oxygen dual plasma-based surface modification. *Appl. Surf. Sci.*, 463, 261-274, 2019.
- [133]. Çolak, Z., Anodik Oksidasyon Yöntemi İle Üretilen Titanyum Oksit Nanotüplerin Hidrojen Algılama Özelliklerinin İncelenmesi, *Gebze İleri Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 2008.

- [134]. Macak, J. M., Tsuchiya, H., Ghicov, A., Yasuda, K., Hahn, R., Bauer, S., & Schmuki, P. TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications Curr. Opin in Solid St. M., 11, 3–18, 2007
- [135]. Ts, D., Nikolova, M., & Yankov, E., ADHESION ANALYSIS OF TITANIUM OXIDE NANOCOATINGS ON TITANIUM SURFACE. Materials Science. Non-Equilibrium Phase Transformations., 2(1), 46-51, 2016.
- [136]. Öztürk, T., Cp Titanyum Yüzeyinde Tio₂ Nanotüp Oluşumu Ve Karakterizasyonu, İstanbul Teknik Üniversitesi ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.
- [137]. Singh, A., Singh, B. P., Wani, M. R., Kumar, D., Singh, J. K., & Singh, V., Effect of anodization on corrosion behaviour and biocompatibility of Cp-titanium in simulated body fluid. Bulletin of Materials Science, 36(5), 931-937, 2013.
- [138]. Yetim, T., Corrosion Behavior of Ag-doped TiO₂ Coatings on Commercially Pure Titanium in Simulated Body Fluid Solution, J. Bionic. Eng, 13(3), 397-405, 2016.
- [139]. Durdu, S., Aktug, S. L., Korkmaz, K., Yalcin, E., & Aktas, S., Fabrication, characterization and in vitro properties of silver-incorporated TiO₂ coatings on titanium by thermal evaporation and micro-arc oxidation, Surface and Coatings Technology, 352, 600-608, 2018.
- [140]. Rokosz, K., Hryniewicz, T., Matýsek, D., Raaen, S., Valíček, J., Dudek, Ł., & Harničárová, M., SEM, EDS and XPS analysis of the coatings obtained on titanium after plasma electrolytic oxidation in electrolytes containing copper nitrate, Materials, 9(5), 318, 2016.
- [141]. Liang, Y., Xu, J., Chen, J., Qi, M., Xie, X., & Hu, M., Zinc ion implantation-deposition technique improves the osteoblast biocompatibility of titanium surfaces, Molecular Medicine Reports, 11(6), 4225-4231, 2015.
- [142]. Thor, A., Rasmusson, L., Wennerberg, A., Thomsen, P., Hirsch, J. M., Nilsson, B., & Hong, J., The role of whole blood in thrombin generation in contact with various titanium surfaces, Biomaterials, 28(6), 966-974, 2007.
- [143]. Bowers, K. T., Keller, J. C., Randolph, B. A., Wick, D. G., & Michaels, C. M., Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro, International Journal of Oral & Maxillofacial Implants, 7(3), 1992.
- [144]. Mustafa, K., Wennerberg, A., Wroblewski, J., Lopez, S. B., Hansson, S., & Arvidson, K., Attachment, proliferation, differentiation and production of

TGF- α 1 by human osteoblast-like cells on different titanium surfaces, *J Dent Res*, 79, 101, 2000.

- [145]. Ba-Abbad, M. M., Kadhum, A. A. H., Mohamad, A. B., Takriff, M. S., & Sopian, K., Synthesis and catalytic activity of TiO₂ nanoparticles for photochemical oxidation of concentrated chlorophenols under direct solar radiation. *Int. J. Electrochem. Sci*, 7(6), 4871-4888, 2012.
- [146]. Muruganandham, M., & Swaminathan, M., Solar photocatalytic degradation of a reactive azo dye in TiO₂-suspension. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 81(4), 439-457, 2004.
- [147]. Rajakumar, G., Rahuman, A. A., Roopan, S. M., Khanna, V. G., Elango, G., Kamaraj, C., ... & Velayutham, K., Fungus-mediated biosynthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles and their activity against pathogenic bacteria. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 91, 23-29, 2012.
- [148]. Marques, I. D. S. V., Barão, V. A. R., da Cruz, N. C., Yuan, J. C. C., Mesquita, M. F., Ricomini-Filho, A. P., ... & Mathew, M. T., Electrochemical behavior of bioactive coatings on cp-Ti surface for dental application. *Corrosion science*, 100, 133-146, 2015.
- [149]. Wojcieszak, D., Mazur, M., Kaczmarek, D., Mazur, P., Szponar, B., Domaradzki, J., & Kepinski, L., Influence of the surface properties on bactericidal and fungicidal activity of magnetron sputtered Ti–Ag and Nb–Ag thin films. *Mater. Sci. Eng.: C*, 62, 86-95, 2016.
- [150]. Fang, J., Zhao, J., Sun, Y., Ma, H., Yu, X., Ma, Y., ... & Zhou, Y. Biocompatibility and antibacterial properties of zinc-ion implantation on titanium. *J. Hard Tissue Biol*, 23(1), 35-44, 2014.
- [151]. Liang, J., Liu, K., Wang, D., Li, H., Li, P., Li, S., ... & Luo, Y., Facile fabrication of superhydrophilic/superhydrophobic surface on titanium substrate by single-step anodization and fluorination. *Appl. Surf. Sci.*, 338, 126-136, 2015.
- [152]. Shokuhfar, T., Hamlekhan, A., Chang, J. Y., Choi, C. K., Sukotjo, C., & Friedrich, C., Biophysical evaluation of cells on nanotubular surfaces: the effects of atomic ordering and chemistry. *Int J Nanomedicine*, 9, 3737, 2014.
- [153]. Shivaram, A., Bose, S., & Bandyopadhyay, A., Mechanical degradation of TiO₂ nanotubes with and without nanoparticulate silver coating, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 59, 508-518, 2016.
- [154]. Shen, X., Hu, Y., Xu, G., Chen, W., Xu, K., Ran, Q., ... & Cai, K. (2014). Regulation of the biological functions of osteoblasts and bone formation by

Zn-incorporated coating on microrough titanium. ACS Appl. Mater. Interfaces, 6(18), 16426-16440, 2014.

- [155]. Li, J. H., Yan, B. F., Shao, X. S., Wang, S. S., Tian, H. Y., & Zhang, Q. Q., Influence of Ag/TiO₂ nanoparticle on the surface hydrophilicity and visible-light response activity of polyvinylidene fluoride membrane. Appl. Surf. Sci. 324, 82-89, 2015.
- [156]. Das, K., Bose, S., & Bandyopadhyay, A. (2007). Surface modifications and cell-materials interactions with anodized Ti. Acta biomaterialia, 3(4), 573-585, 2007.
- [157]. Karapınar, M., Gönül, A., Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar, Gıda Mikrobiyolojisi (A. ÜNLÜTÜRK, F. TURANTAŞ editör), birinci baskı, Mengi Tan Basımevi. Çınarlı- İzmir. s.109-165, 1998.
- [158]. Tükel, Ç. & Doğan, H.B. Staphylococcus aureus. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş, 2. Baskı, Ankara, 522s, 2000.
- [159]. Gök, F., Piyasadan Sağlanan Tahin Helvalarının Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi ve Salmonella spp. İzolasyonu. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 77s, 2005.
- [160]. Hu, C. H., & Xia, M. S., Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on Escherichia coli K88. Appl. Clay Sci., 31(3-4), 180-184, 2006.
- [161]. Sonidi, I., & Salopek-Sonidi, B., Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria, J. Colloid Interface Sci., 275(1), 177-182, 2004.
- [162]. Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F. Z., Kim, T. N., & Kim, J. O., A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus, J. Biomed. Mater. Res., 52(4), 662-668, 2000.
- [163]. Stoimenov, P. K., Klinger, R. L., Marchin, G. L., & Klabunde, K. J., Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents, Langmuir, 18(17), 6679-6686, 2002.
- [164]. Xu, J., Ding, G., Li, J., Yang, S., Fang, B., Sun, H., & Zhou, Y., Zinc-ion implanted and deposited titanium surfaces reduce adhesion of Streptococcus mutans. Appl. Surf. Sci., 256(24), 7540-7544, 2010.
- [165]. Raghupathi, K. R., Koodali, R. T., & Manna, A. C., Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. Langmuir, 27(7), 4020-4028, 2011.

- [166]. Boyd, D., Li, H., Tanner, D. A., Towler, M. R., & Wall, J. G. (2006). The antibacterial effects of zinc ion migration from zinc-based glass polyalkenoate cements, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 17(6), 489-494, 2006.
- [167]. Hu, H., Zhang, W., Qiao, Y., Jiang, X., Liu, X., & Ding, C., Antibacterial activity and increased bone marrow stem cell functions of Zn-incorporated TiO₂ coatings on titanium. *Acta biomaterialia*, 8(2), 904-915, 2012.
- [168]. Amornpitoksuk, P., Suwanboon, S., Sangkanu, S., Sukhoom, A., Muensit, N., & Baltrusaitis, J., Synthesis, characterization, photocatalytic and antibacterial activities of Ag-doped ZnO powders modified with a diblock copolymer. *Powder Technology*, 219, 158-164, 2012.
- [169]. ATMACA, S., Kadri, G. Ü. L., & Cicek, R., The effect of zinc on microbial growth. *TURK. J. MED. SCI.*, 28(6), 595-598, 1998.
- [170]. Wang, Y., Xue, X., & Yang, H., Modification of the antibacterial activity of Zn/TiO₂ nano-materials through different anions doped. *Vacuum*, 101, 193-199, 2014.

ÖZGEÇMİŞ

Gizem CİHAN 2014 yılında Öğretmen Hüseyin Hüsnü Tekışık Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2014 yılında başladığı Afyon Kocatepe Üniversitesi Moleküler biyoloji ve Genetik Bölümü'nü 2018 yılında bitirdi. 2019 yılında Giresun Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans eğitimini Şubat-2021'de tamamladı.

