



GİRESUN
ÜNİVERSİTESİ



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Ti6Al4V YÜZEYLERİNDE Cu NANOPARÇACIK KATKILI TiO2
NANOTÜPLERİN OLUŞTURULMASI, KARAKTERİZASYONU
VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**MAKİNE MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**Sergen TOSUN
172114019**

2021

GİRESUN

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

**Ti₆Al₄V YÜZEYLERİNDE Cu NANOPARÇACIK KATKILI TiO₂
NANOTÜPLERİN OLUŞTURULMASI, KARAKTERİZASYONU
VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : SERGEN TOSUN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 03.09.2021

Enstitü Anabilim Dalı : MAKİNE MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Doç. Dr. SALİH DURDU
:

**Ağustos 2021
GİRESUN**

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

**Ti₆Al₄V YÜZEYLERİNDE Cu NANOPARÇACIK KATKILI TiO₂
NANOTÜPLERİN OLUŞTURULMASI, KARAKTERİZASYONU
VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sergen TOSUN

Enstitü Anabilim Dalı: Makine Mühendisliği

Bu tez 17/08/2021 tarihinde aşağıdaki jüriler tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Metin USTA

.....

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Emine YALÇIN

.....

Üye

Doç. Dr. Salih DURDU

.....

Üye

..... Dr.

.....

Enstitü Müdürü

Ağustos 2021

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.

Sergen TOSUN

.././2021

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilimsel alandaki kıymetli birikimlerini büyük bir fedakârlık ile paylaşan, çalışmalarım sırasında her türlü problemimde çözüm bulan ve yanımda olan danışmanım Sayın Doç. Dr. Salih DURDU'ya,

Bakteri, MTT ve yapay kan proteinleri adsorpsiyonu testlerinin gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Giresun Üniversitesi Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Emine Yalçın ve Sayın Prof. Dr. Kültigin Çavuşoğlu'na,

Çalışmamızın yürütülmesinde “TUBİTAK 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	VI
TABLOLAR LİSTESİ	VII
ÖZET.....	VIII
SUMMARY	IX
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Biyomalzemeler.....	5
2.2. Metalik Biyomalzemeler	7
2.2.1. Paslanmaz Çelikler	7
2.2.2. Kobalt Alaşımları.....	8
2.2.3. Titanyum ve Alaşımları	8
2.3. Ti6Al4V Alaşımı	10
2.4. Biyouyumluluk.....	12
2.5. Yüzey Modifikasyonu	13
2.6. Anodik Oksidasyon İşlemi	15
2.6.1.1. Anodizasyon Voltajı	18
2.6.1.2. Anodizasyon Süresi.....	18
2.6.1.3. Ph ve Florür İyonları Konsantrasyonu	18
2.6.1.4. Çözelti	19
2.7. Elektrokimyasal Biriktirme	19
2.8. Nanotüp Yapıdaki Titanyum Oksit Malzemeler	20
2.9. Antibakteriyel Maddelerle Zenginleştirilmiş Titanyum Yüzeyler.....	21
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1 Numune Hazırlama.....	23
3.2 AO Yöntemiyle Nanotüp Kaplama.....	23
3.3 EB Yöntemiyle Nanotüp Kaplama	23
3.4 Karakterizasyon Testleri	24
3.4.1. SEM ve EDX Analizleri	24

3.4.2. AFM Analizleri	24
3.4.3. Temas Açısı Ölçümleri.....	24
3.3.4. Antibakteriyel Özellikleri	24
3.3.5. Hücre canlılığı (Sitotoksosite) testi	25
3.3.6. Yapay Kan Proteinleri Adezyonu.....	26
3.3.7. İstatiksel Analiz.....	26
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI	27
4.1. SEM Analizleri	27
4.2. AFM Analizleri.....	30
4.3. EDX Analizleri	33
4.4. Temas Açısı Ölçümleri	39
4.5 Antibakteriyel Aktive	42
4.6. MTT Test Sonuçları.....	43
4.7. Kan Proteinleri Adsorbsiyonu	44
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	46
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ	63

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AO	Anodik Oksidasyon
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
Ag	Gümüş
Al	Alüminyum
Cm	Santimetre
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu	Bakır
CuSO ₄	Bakır Fosfat
Cp	Ticari Olarak Saf Titanyum
EB	Elektrokimyasal Birikirme
EDX	Enerji Yayımlımlı X-Işını Analizi
F	Flor
Gr(-)	Gram Negatif
Gr(+)	Gram Pozitif
Gr5	Ti6Al4V Alaşımı
HCl	Hidrojen klorür
KF	Potasyum Florür
KHz	Kiloherz
Nb	Niyobyum

NH ₄ F	Amonyum Florür
Nm	Nanometre
Ni	Nikel
SUS	Paslanmaz Çelik
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TiO ₂	Titanyum oksit
V	Vanadyum
ZrO ₂	Zirkonyum Oksit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. AO cihazı ve kaplamanın şematik görüntüsü	16
Şekil 2.2. Üç elektrotlu bir elektrolit solüsyonu aracılığıyla uygulanan bir akımı kullanan tipik bir EB işleminin şeması [116].....	19
Şekil 4.1. TiO ₂ nanotüp yüzeylere ait SEM Görüntüsü (a) 20000X ve (b) 50000X	28
Şekil 4.2. EB yöntemiyle Cu kaplanan yüzeylerin SEM analizleri a) Ti6Al4V-Cu-30s, b) Ti6Al4V-Cu-60s, c) Ti6Al4V-Cu-90s	29
Şekil 4.3. Anodik oksiyonu işlemi görmüş Ti6Al4V yüzeylerinin AFM analizi a. nanotüp yapısı, b. nanotüp yapısının yüzeysel görüntüsü, c. nanotüp yapısının topografik görüntüsü	30
Şekil 4.4. EB yöntemi ile Cu kaplanan yüzeylerin AFM analizi a).Ti6Al4V-Cu-30sn, b).Ti6Al4V-Cu-60sn, c).Ti6Al4V-Cu-90sn	32
Şekil 4.5. Gr5 yüzeyi elektronik ve atomik dağılım görüntüsü	33
Şekil 4.6. Gr5-50V Elektron ve Atomik Görüntüsü	34
Şekil 4.7. Gr5-Cu-30sn Yüzeyinde 100 nm Elektron ve Atomik Dağılım Görüntüsü	35
Şekil 4.8. Gr5-Cu-60sn Yüzeyinde 100 nm Elektron ve Atomik Dağılım Görüntüsü	36
Şekil 4.9. Gr5-50V-90sn yüzeyinin Elektron ve Atomik Dağılım Görüntüsü	37
Şekil 4.10. Ti6Al4V ve Ti6Al4V-50V temas açısı görüntüleri.....	39
Şekil 4.11. Cu kaplı yüzeylerin su ile temas açısı a).Ti6Al4V-Cu-30sn, b).Ti6Al4V-Cu-60sn, c).Ti6Al4V-Cu-90sn	40
Şekil 4.12. Kullanılan Tüm Yüzeylerin Temas Açısı Değer Grafiği	Error! Bookmark not defined.
Şekil 4.13. Cu kaplı Ti6Al4V yüzeylerinin bakteri inhibisyon yüzdeleri	42
Şekil 4.14. Cu kaplı yüzeylerde en yüksek antibakteriyel aktivitenin elde edildiği örneklerde re-kültürasyon sonrasında bakteri kolonilerindeki azalma (<i>S. aureus</i> canlılığı) a) Gr5 ve b) Gr5-50V-Cu-90sn yüzeyler	42
Şekil 4.15. Cu kaplı Gr5 yüzeylere yapışan hücrelerin canlılığındaki değişim.....	44

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Biyomalzemeler grubu, özellikleri ve uygulamaları	6
Tablo 4.1. Test edilen tüm yüzeylerin Sa değerleri	31
Tablo 4.2. Gr5 Atomik Yüzdeleri	38
Tablo 4.3. Gr5-50V Atomik Yüzdeleri	38
Tablo 4.4. Cu Kaplı Yüzeylerin Atomik Dağılımları	38
Tablo 4.5. Gr5 ve Cu kaplı Gr5 yüzeylere protein adsorpsiyonu	45

ÖZET

Ti6Al4V korozyona ve yorgunluğa direnç gibi iyi mekanik özelliklerin yanı sıra dokular tarafından kabul edilebilirliği yüksek bir metaldir. Bu özellikleri sayesinde ortopedi ve dental alanlarında en çok tercih edilen biyomalzemeler arasındadır.

Biyouyumluluğun ve biyoaktifliğin artırılması için yüzeylere çeşitli modifikasyon yöntemleri uygulanmaktadır. Bu çalışmada bir titanyum alaşımı olan Ti6Al4V yüzeyine 50V anodik oksidasyon uygulanmış ve TiO₂ nanotüp yüzeyler oluşturulmuştur. Sonrasında anodize yüzeylerde elektrokimyasal biriktirme yöntemi ile antibakteriyel özellik gösteren Cu nanoparçacık yapılar rastgele biriktirilmiştir. Oluşturulan yeni yüzeylerdeki SEM ve EDX analizleri, atomik kuvvet mikroskobu ölçümleri ve temas açısı ölçümleri ile araştırılmıştır. Farklı zaman aralıkları ile Cu kaplanan yüzeylerin antibakteriyel etkinlikleri *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı test edilmiştir. Son olarak MTT ve yapay kan proteinleri adsorbsiyonu testleri gerçekleştirilmiştir.

Yapılan incelemeler sonucunda 50 V ve 1 saat süre ile anodik oksidasyon prosesi uygulanmış Ti6Al4V yüzeyinde nanotüber yapıların oluştuğu görülmüştür. Daha sonra oluşan nanotüber yüzeylere elektrokimyasal biriktirme yöntemiyle Cu metali biriktirilmiştir. SEM ve EDX analizleri yapılan yüzeylerde nanoparçacık yapıda Cu kaplamaların oluştuğu gözlenmiştir. Ayrıca yapılan AFM analizinde anodize olan yüzeylerin pürüzlü bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Cu kaplanan yüzeylerde ise anodize yüzeylere göre pürüzlülük değerinde artış gözlenmiştir. İki modifikasyon sonucunda da yüzeylerin temas açısı değerlerinin işlem görmemiş Ti6Al4V yüzeyine göre daha yüksek olduğu ve hidrofobik özellik gösterdiği görülmüştür. Cu kaplanan yüzeylerin antibakteriyel özellik kazandığı tespit edilmiştir. EB yönteminin süresinin artmasıyla birlikte *S.aureus* ve *E. coli* bakterilerinin canlılığında önemli azalmalar gözlenmiştir.

Sonuç olarak Ti6Al4V yüzeylerinin modifikasyonu sonucu istenilen yüzey özelliklerinin sağlanabileceği görülmüştür. İstenilen ölçüde düzenlenebilen yüzey karakteristiği ile biyouyumlu, biyoaktif ve antibakteriyel yüzeyler oluşturulabildiğinden biyomedikal uygulamalar için yüksek bir kullanım potansiyeline ve biyomalzemelerin gelişimine olanak sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Anodik Oksidasyon (AO), Elektrokimyasal Biriktirme (EB), Titanyum, Yüzey Karakterizasyonu, Cu Nanoparçacık, *In Vitro*.

SUMMARY

Ti6Al4V has a high acceptableness by tissues with some decent mechanical properties such as resistance to corrosion and metal fatigue. Therefore, it is most preferred biomaterial in both orthopedics and dentistry fields.

There are some modification methods were applied to surface in order to increase bioactivity and biocompatibility. In this research, a 50V of anodic oxidation was applied onto Ti6Al4V surface and TiO₂ nanotube surfaces were formed. Subsequently, antibacterial Cu nanoparticles were accumulated randomly on the anodized surfaces by electrochemical deposition method. All surfaces were characterized by SEM and EDX analyses, atomic force microscope measurements and contact angle measurements. Cu coated surfaces which were coated in different time intervals, were tested against *Staphylococcus aureus* bacteria and *Escherichia coli* bacteria. Finally MTT and artificial blood proteins adsorption tests were performed.

As a result of researches it was observed that nanotube structures were formed on the Ti6Al4V surfaces which have been applied 50 V anodic oxidation for an hour. Later on, Cu metal was accumulated on the recently created nanotube structures by electrochemical deposition method. Nanoparticle shaped Cu coatings were observed at the SEM and EDX analyzed surfaces. In addition, AFM analysis showed that the surfaces that are anodized have a rough structure. It was also observed that roughness of the Cu coated surfaces were higher than roughness of the anodized surfaces. In both modification surfaces have hydrophobic properties and value of contact angle of surfaces were higher than unmodified Ti6Al4V surfaces. It was observed that Cu coated surfaces were gained antibacterial properties. Vitality of *S.aureus* and *E. coli* were decreases with the increase in the duration of EB method.

In conclusion, it has been observed that the desired surface properties can be achieved by the modification of Ti6Al4V surfaces. As biocompatible, bioactive and antibacterial surfaces can be created with the desired extent of regulated surface characteristic, it provides a high potential for use for biomedical applications and the development of biomaterials.

Keywords: Anodic Oxidation (AO), Electrochemical Deposition (EB), Titanium, Surface Characterization, Cu Nanoparticles, *In Vitro*.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Biyomalzemeler insan vücudundaki canlı dokuların görevlerini yerine getirmek veya onların işlevlerini desteklemek için kullanılan doğal ya da sentetik malzemelerdir. İnsan vücudu protein ve oksijenli tuzlu çözeltiler içerdiğinden dolayı biyomalzemelerden vücut sıvılarını bünyelerine alıp şişmemeleri ve deforme olmamaları istenmektedir. Ayrıca bu malzemelerin toksik ve kanserojen özellikte olmaması, mekanik dayanımlarının yüksek olması ve korozyona uğramaması gerekmektedir [1]. Bir biyomalzemede istenilen en önemli özellik ise yüksek biyouyumluluk göstermesidir. Biyouyumlu bir malzeme, etrafını çevreleyen dokular üzerinde iltihaplanma, pıhtı oluşumu vb. gibi olumsuz etkiler yapmayan malzemelerdir. Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin vücut dokularına karşı uyumu ve vücudun mekanik davranışlarına karşı sağladığı optimum uyumdur [2]. Biyomalzemeler protez ve implant olarak kullanılmasının yanında günümüzde teşhis kitlelerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Metaller, seramikler, kompozitler ve polimerler biyouyumluluğu yüksek olan bu alanda kullanılan biyomalzemelerdir. Metal biyomalzemeler ve seramikler ortopedi ve diş implantında sert doku yerine kullanılırken polimerler genel plastik cerrahi ve kalp-damar sistemlerinde kullanılmaktadır [3].

Ana metalik biyomalzemeler paslanmaz çelikler, kobalt alaşımları ve titanyum ve titanyum alaşımlarıdır. İmplantta başarıyla kullanılan ilk metalik biyomalzeme paslanmaz çeliktir. Daha sonra kobalt bazlı alaşımlar bu tıbbi uygulamalar için geliştirilmiştir. Titanyum ise en yeni metalik biyomalzemedir [4]. İlk olarak havacılık endüstrisinde kullanılmış olsa da biyolojik uyumluluğu, yüksek korozyon direnci ve şekil alma kolaylığı sayesinde medikal alanda geniş bir kullanım alanına sahip olmuştur. Kullanıldığı yaygın alanlar yapay kalça eklemleri, yapay diz eklemleri, kemik plakaları, kalp kapakçığı protezleri ve kalp pilleridir [5]. Ti ve alaşımları uzun süredir implante edilebilir biyomalzemeler arasında en çok tercih edilendir. Bunun sebebi ise yüksek mukavemet, düşük yoğunluk, korozyona karşı dirençli olması ve

vücutta inert özellik sergilemesidir [6]. Korozyona karşı dirençli olmalarını sağlayan doğal bir oksit tabakası TiO_2 ile kaplıdır. Ayrıca biyolojik olarak uyumludurlar. Doğal insan plazması ve dokusuyla biyoaktif olarak reaksiyona girebilirler [7].

Ti-6Al-4V ise uzun zamandır ana tıbbi titanyum alaşımıdır. Ancak kalıcı implant uygulamaları için kullanıldığında alaşımın içinden salınan vanadyum ve alüminyumdan kaynaklı toksik etki yaratabilir. Titanyum havayla temas ettiğinde oksit bir yüzey filmi oluşturur. Bu ince olmasına karşın yüzeye çok iyi tutunabilen film soy bir karakterde olup metale üstün biyouyumluluk özelliği verir. Bu oksit film bir takım tekniklerle iyileştirilerek veya yeni yüzey yapılar elde edilerek söz konusu alaşım elementlerinin salınmasına izin vermemek mümkündür. Ayrıca bir takım yüzey işlemleri yapılarak aşınma direnci gibi yüzey özellikleri de iyileştirilebilir. Bunun için yapılan işlemler genelde malzeme yüzeyinde bulunan oksit tabakayı kalınlaştırmaktır. Oksit tabakayı kalınlaştırmak için kullanılan yöntemler anodizasyon [8], plazma elektrolitik oksidasyon [9], mikroark oksidasyon [10] ve sol-jel [11] yöntemidir [12,13].

Anodizasyon düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilebilmesi, işlem parametrelerinin kontrol edilebilmesi ve kullanılacak ekipmanların maliyetinin düşük olması nedeniyle en sık kullanılan yüzey oksit tabakası oluşturma yöntemlerindendir [14]. Anodik oksidasyonun en önemli avantajı, oksitlerin titanyum yüzeye güçlü bir şekilde bağlanmasıdır [15]. Korozyon direncini artırmak, metali renklendirmek ve metal yüzeyde kalın bir oksit tabakası oluşturarak gözenekli / pürüzlü yüzeyler oluşturmak için de anodik oksidasyon uygulanır. Oksitlenmiş yüzeylerin yapısal ve kimyasal özellikleri, potansiyel, akım, elektrolit bileşimi ve sıcaklık gibi işlem parametrelerine bağlıdır [16]. Zhao ve ark. [17] anodize edilmiş titanyum folyo yüzeylerde uygulanan potansiyelin 20 V üstünde olmasında durumunda nanotüber yapı oluştuğunu gözlemişlerdir.

Tüm iyileştirmelere rağmen implant yerleştirildikten sonra bakteri enfeksiyonu önü alınamayan ve önemli bir komplikasyondur [18]. Cerrahi işlem sırasında antibiyotik kullanımının yanı sıra bakteriyel enfeksiyonu azaltmaya yönelik bir diğer önlem de antibakteriyel özelliklere sahip implantların kullanılmasıdır. Son yıllarda, yüzey modifikasyonunun antibakteriyel yüzeyli implant imal etmenin etkili bir yolu olduğu

kanıtlanmıştır [19]. İmplant malzemelerinin antibakteriyel özelliklerini geliştirmek için iyon implantasyonu [18], plazma daldırma iyon implantasyonu [20], biriktirme [21], plazma püskürtme [22], elektro kaplama [23], UV ışınlaması [24] ve oksidasyon [25] gibi çeşitli yüzey modifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Aynı zamanda anti-yapışkan ve antibiyotik yüzeyler oluşturmak için yüzeye antibiyotikler [26,27] ve antiseptikler ya da iyonlar (F^+ [28], Cu [19], Ag [23], Zn [29] entegre edilmektedir.

Bakır, DNA replikasyonuna müdahale ederek geniş bir bakteri yelpazesine karşı üst düzey antibakteriyel özellikler sergiler [30]. Bakır katkısı antibakteriyel özellik kazandırmanın yanında metallerin mekanik özelliklerine de etki sağlar. Özellikle de korozyon direnci ve aşınma davranışı üzerinde pozitif yönde etkisi olabilir [19]. Rosenbaum ve ark. [31] Cu katkılı yüzeylerin gram pozitif ve gram negatif bakterilerin yüksek düzeyde ölümüne sebep olduğunu raporlamıştır. Zhang ve ark. [32] mikro ark oksidasyon yöntemiyle titanyum üzerinde Cu katkılı TiO_2 oluşturmuş ve Cu nanopartikül kaplı numunelerin *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı mükemmel antibakteriyel etki gösterdiğini raporlamıştır.

Elektrokimyasal biriktirme yöntemi önemli avantajlara sahiptir. Düzensiz nesnelerin düşük sıcaklıklarda nispeten hızlı bir şekilde kaplanmasını sağlar. Bu işlem sırasında kaplamanın kalınlığının, kristalliğinin, faz saflığının ve kimyasal bileşiminin kontrol edilebilmesi bu yöntemi popüler hale getirmektedir [33]. Zhang ve ark. [34] Ti substratlar üzerine elektrokimyasal biriktirme yöntemiyle hidroksiapatit kapladıkları çalışmalarında HA kaplamaların uygun bir şekilde imal edilebildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca elektrokimyasal biriktirmeden önce bir substrat ön işleme süreci olan anodik oksidasyon, Ti substratı üzerindeki HA kaplamalarının yapışma mukavemetini geliştirebileceğini raporlamışlardır.

Literatür araştırmaları sonucu ticari saflıkta titanyum üzerinde önce nanotüp oluşturulup ve daha sonra elektrokimyasal biriktirme yöntemiyle bakır nanoparçacık kaplanan araştırmalara rastlanmıştır [35-38]. Fakat cp-Ti üzerinde oluşturulan Cu nanoparçacık katkılı nanotüp yüzeylerinde sadece fotokataliz, fotoelektrokimyasal ve yarı iletken özellikleri araştırılmış olup; biyolojik özellikleri araştırılmamıştır. Huang ve ark. [35] saf titanyum üzerinde anodizasyon ve elektrokimyasal biriktirme yöntemlerini kullanarak oktahedral- Cu_2O parçacık yüklü TiO_2 yüzeyler oluşturup

fotokatalitik aktiveyi araştırmışlardır. Wang ve ark. [36] anodizasyon yöntemiyle oluşturdukları TiO_2 nanotüp dizisi fotoelektrotları üzerinde bakır biriktirip fotoelektrokimyasal özellikleri incelemişlerdir. Zhang ve ark. [37] elektrobiriktirme potansiyelinin $\text{Cu}_2\text{O}/\text{TiO}_2$ nanotüp dizilerinin morfolojisi üzerindeki etkisini ve hidrojen gelişimi için görünür ışıkla çalışan fotokatalitik özellikleri araştırmışlardır. Yapılan bir başka çalışmada ise Cu katkılı TiO_2 nanotüpler elde edilip fotokatalitik özellikleri araştırılmıştır [38]. Dahası yapılan bu çalışmalarda nanotüp kaplı yüzeyde biriktirilmış Cu nanoparçacık kaplı yüzeyler cp-Ti zerine oluşturulmasına rağmen, Ti6Al4V alaşımı yüzeyinde oluşturulmamış ve henüz özellikleri araştırılmamıştır.

Bu çalışmada literatürde ilk defa; ortopedik implant uygulamalarında yaygın olarak tercih edilen Ti6Al4V yüzeyinde AO ve EB yöntemleri biraraya getirilerek iki aşamada Ti6Al4V alaşımı yüzeylerinde Cu nanoparçacık katkılı nanotüp yüzeyler oluşturulmuş, karakterize edilmiş ve biyolojik özellikleri araştırılmıştır. İlk aşamada anodik oksidasyon yöntemiyle 50V ve 1 saat süre ile biyoaktif ve biyouyumlu TiO_2 iyi sıralı nanotüp yüzeyler üretilmiştir. İkinci aşamada ise nanotüp yüzeyler zerine EB metoduyla 30, 60 ve 90 sn'lik sürelerde antibakteriyel özellikte Cu nanoparçacık yapıları rastgele biçimde biriktirilmıştır. Üretilen yüzeylerin; yüzey morfolojileri, elementel dağılımları, yüzey hidrofilik/hidrofobik özellikleri ve yüzey topografyası/pürüzlülük değeri sırasıyla; SEM, EDX, temas açısı ölçüm ve AFM ile analiz edilmiştir. Sonrasında ise; tüm yüzeylerin antibakteriyel etkileri, hücre canlılığı etkileri ve protein adsorbsiyonları araştırılmış ve birbirleriyle kıyaslanmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, yapıların veya implantların yapımında, form ve işlevi eski haline getirmek için kaybolan veya hastalıklı biyolojik yapıyı değiştirmek için kullanılan yapay veya doğal malzemelerdir [39]. Biyomateryal, insanların yaşam kalitesini ve uzun ömürlülüğünü iyileştirmeye yardımcı olur bu yüzden bu alan yaşlanan bir nüfusun taleplerini karşılamak için hızlı bir şekilde büyüme göstermiştir. Biyomalzemeler insan vücudunun farklı bölgelerinde kalpte yapay kapakçıklar, kan damarlarında stentler, omuzlarda, dizlerde, kalçalarda, dirseklerde, kulaklarda ve orodental yapılarda replasman implantları olarak kullanılmaktadır [6]. Biyomalzemelerin biyolojik sistemlerdeki performansı ve uygulamaları, biyomedikal implantların geliştirilmesi ve doku mühendisliği için kritik öneme sahiptir [40].

Tıbbi cihazların üretiminde kullanılan dört ana malzeme türü vardır. Bunlar;

- Metaller,
- Seramikler,
- Polimerler ve
- Kompozitler'dir.

Uygulanacak malzemenin seçiminde korozyon direnci, biyouyumluluğu, mekanik ve metalurjik özellikleri ve performansı gibi özelliklere bakılır. Ayrıca malzeme maliyeti ve malzemeye ulaşılabilirlikte önemlidir [41]. Tablo 2.1 [42], halihazırda kullanılan ana biyomateryal gruplarını, bunların temel özelliklerini ve uygulamalarını göstermektedir.

Tablo 2.1. Biyomalzemeler grubu, özellikleri ve uygulamaları

Malzeme	Avantajları	Dezavantajları	Kullanım alanları
Polimer	Üretimi kolay, yoğunluğu düşük.	Düşük mekanik direnç, kolayca parçalanabilir	Dikişler, arterler, damarlar, yapay tendonlar, implantlar
Metal	Süneklik, aşınma ve darbeye karşı yüksek direnç	Fizyolojik ortamda düşük biyouyumluluk ve korozyona direnç, biyolojik dokulardan çok farklı mekanik özellikler	Zimba telleri, plakalar ve teller, eklem protezleri, diş implantları, kafatası plakları
Seramik	Yüksek biyouyumluluk, korozyon direnci, inert, düşük termal ve elektriksel iletkenlik	Düşük darbe dayanımı, yeniden üretilmesi zor özellikler, zor imalat ve işleme	Kaplamalar, tıbbi ekipman ve aletler, kemik dolgusu
Kompozit	Yüksek biyouyumluluk, korozyona dayanıklı, inert	Tutarsız ve zor çoğaltma	Kalp kapakçıkları, implantlar, yapay eklemler

2.2. Metalik Biyomalzemeler

Metal malzemelerin yüksek mukavemet, mekanik güvenilirlik, esneklik, iyi korozyon direnci, aşınma direnci ve yorulma, tokluk, termal ve elektriksel iletkenlik gibi kendine özgü özellikleri tıbbi metal cihazları diğer malzemelere göre baskın hale getirmektedir. Metalik biyomalzemelerin mekanik performansları açısından yüksek güvenilirliği yapay kalça eklemleri, kemik plakaları ve diş implantları gibi sert dokuların yerine kullanılan tıbbi cihazların imalatında kullanılmaları ile sonuçlanmıştır [43]. Metalik biyomalzemelerin dezavantajları ise yüksek elastik modülasyonu, korozyona açık olmaları ve toksik etkileridir. Bu dezavantajlar, yeni metalik malzemelerin biyomateryal olarak kullanımını mecburi kılmış ve farklı metalik yapıda malzemelerin kullanımı yaygınlaşmıştır [44]. Paslanmaz çelikler, Co alaşımları ve Ti alaşımları dahil olmak üzere tıp alanında kullanılmak üzere farklı alaşım sistemleri geliştirilmiştir.

2.2.1. Paslanmaz Çelikler

Paslanmaz çelik, diğer metal implant malzemeleriyle karşılaştırıldığında mekanik özellikler, korozyon direnci ve maliyet etkinliğinin olumlu bir kombinasyonu nedeniyle dahili sabitleme cihazları için sıklıkla kullanılan bir biyomateryaldir. Ortopedik ve travma cerrahisinde paslanmaz çelik esas olarak sertlik gerektiğinde kullanılır. Paslanmaz çeliğin sünekliği, altıgen kristal yapısı nedeniyle cp titanyuma göre daha yüksektir. Bu, paslanmaz çelik plakaların şekillendirilmesini titanyum plakalara kıyasla daha kolay hale getirir. Bu nedenle, paslanmaz çelikten yapılan rekonstrüksiyon plakaları pelvik cerrahide ve diğer anatomik yerlerde tercih edilir [45]. Paslanmaz çelik implantların dezavantajı düşük elastikiyete sahip olmasıdır. Bu özelliği kemik iyileşmesinin gecikmesine sebep olur[46]. Östenitik paslanmaz çelik SUS 316L, biyomedikal alanda kullanılan bildirilen tek paslanmaz çeliktir. Bununla birlikte, birkaç araştırmacı, bu alaşımda bulunan Ni'nin alerjik reaksiyonlara neden olduğunu bulmuştur [43]. Ayrıca, SUS 316L'den imal edilen implantlar için oyuklaşma, çatlak ve gerilim korozyonu bildirilmiştir [47]. Ni alerjik reaksiyonlarını önlemek için, yüksek nitrojen içerikli bir östenitik paslanmaz çelik geliştirilmiştir. Bu nedenle, yeni araştırma trendi Ni içermeyen paslanmaz çelikler geliştirmektir [48].

2.2.2. Kobalt Alaşımları

Co alaşımlarının aşınma direnci hem Ti alaşımları hem de paslanmaz çelik alaşımlarından daha yüksektir. Yapay kalça eklemlerinde eklemin başı aşınmaya maruz kalır. Bu nedenle kalça eklemleri, yüksek mukavemet ve süneklik sergileyen Co-Cr-Mo alaşımları gibi Co alaşımlarından imal edilmiştir. Döküm Co-Cr alaşımları ile karşılaştırıldığında, işlenmiş Co-Cr alaşımları, yüksek mukavemet gereksinimleri olan implant cihazları için kullanılabilir. Bununla birlikte işlenmiş Co-Cr alaşımlarındaki Ni içeriği alerjik reaksiyonlara neden olur [37,41].

Zayıf üretilebilirlikleri ve yüksek maliyetleri nedeniyle, Co bazlı alaşımlar şu anda osteosentezde geniş bir kullanım için uygun değildir [49].

2.2.3. Titanyum ve Alaşımları

Kemik plakaları ve vidaları için 1965 yılında piyasaya sürülmesinden bu yana, cp titanyum tıpta implant malzemesi olarak artan bir uygulama alanı bulmuştur. Cp titanyum yüksek korozyon direncine, olağanüstü bir biyouyumluluğa sahiptir ve alerjik reaksiyonlara neden olmaz [50]. Ti ve Ti alaşımlarının yüksek biyouyumluluğu, tıp ve diş hekimliği alanlarında diğer alaşım sistemlerine göre daha çok tercih edilmesini sağlamıştır. Biyomedikal alanında ana seçeneklerden biri olmasının sebebi iyi mekanik özelliklere sahip olması, TiO_2 katı oksit tabakasının sağladığı mükemmel korozyon davranışı, nispeten düşük Young modülü ve hafifliğidir [51].

Cp titanyumun biyomekanik özellikleri çoğunlukla mevcut eser elementlerin miktarına bağlıdır. Artan eser element miktarları, gerilme mukavemetini yükseltir ancak cp titanyumun sünekliğini azaltır. Bu malzeme özellikleri, implant tipini klinik gereksinimlerine göre ayarlamamızı sağlar. Osteosentez için kullanılan titanyum plakalar, düşük Young modülü nedeniyle kemik dokusuna daha az stres koruması sağlar. Bu nedenle titanyum, kırık tedavisi için kullanılan plakalar ve vidalar için ideal bir biyomalzemedir. Yine de kristal yapısı nedeniyle titanyumun sünekliği paslanmaz çeliğe göre düşüktür. Bu, paslanmaz çelik plakalara kıyasla titanyum plakaların

şekillendirilmesini zorlaştırır [46]. Ek olarak, cp titanyumdan yapılan rekonstrüksiyon plakaları, sınırlı bir gerilme mukavemetine sahiptir [52].

Titanyum implantların mekanik gücünü daha da artırmak için Ti6Al4V, Ti6Al4V ELI ve Ti6Al7Nb gibi titanyum alaşımları geliştirilmiştir. Bu titanyum alaşımları en büyük ticari potansiyele sahiptir ve nispeten iyi yorulma direnci ve biyolojik pasiflikleri nedeniyle yük taşıyan ortopedik implantlar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [53]. Titanyum alaşımlarına karşı implant hassasiyeti, sitotoksik olarak tanımlanan vanadyum gibi bileşenlere rağmen çok nadirdir [41,50]. In vivo çalışmalar, Ti6Al4V'nin vanadyum içermeyen titanyum alaşımlarına benzer biyolojik uyumluluğa sahip olduğunu göstermiştir [55].

Titanyum ve titanyum alaşımlarının biyomedikal cihazlarda (implantlar) yaygın ve başarılı bir şekilde uygulanması, açıkça yüksek korozyon direnci ve uygun mekanik performansın kombinasyonundan kaynaklanmaktadır ve bu da onu biyouyumlu kılmaktadır. Titanyum ve titanyum alaşımlarının in vivo ortamlarda olağanüstü korozyon direnci, aslında yüzeylerinde kimyasal olarak kararlı, oldukça yapışkan ve sürekli bir koruyucu oksit tabakası oluşturma yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Bu koruyucu oksit tabakası termodinamik olarak kararlı olmasına rağmen; yine de, metal içeren türler pasif bir çözülme mekanizmasıyla salınabilir [52,53]. Titanyum reaktif bir malzemedir ve oksijene karşı çok yüksek bir afiniteye sahiptir, bu da koruyucu oksit filmin kendiliğinden oluştuğu ve metalin hava veya oksitleyici ortamın varlığında bozulmasının veya hasarının hemen onarıldığı anlamına gelir. Bu genellikle cerrahi implantlarda kullanılan tüm metaller için geçerlidir, çünkü bu metaller alaşım elementlerinin oksit filmlerinden pasiflik elde eder [57]. Titanyum ve titanyum alaşımları üzerinde oluşan koruyucu oksit tabakalarının yapısı, bileşimi ve kalınlığı çevre koşullarına bağlıdır [58].

Diğer metalik malzemelerle karşılaştırıldığında titanyum, yüksek özgül mukavemeti ve düşük elastik modülü nedeniyle ortopedi için daha uygundur. Young modülü daha küçük olduğundan, daha önce belirtildiği gibi daha sağlıklı ve daha hızlı kemik rejenerasyonuna yol açan daha az stres koruması beklenebilir [59]. İmplant malzemesinde düşük bir elastik modül istenilir, çünkü metal biraz daha çok kemiğin kendisine benzemelidir. Titanyum ve alaşımları, diğer metalik biyomalzemelerden

önemli ölçüde daha düşük bir yoğunluğa sahiptir, bu nedenle Ti implantlar, paslanmaz çelikten veya Co-Cr alaşımlarından imal edilen benzer parçalara göre daha hafiftir. Bununla birlikte, düşük sertliği nedeniyle titanyum düşük bir aşınma ve aşınma direnci sergiler ve bu da implantın hizmet ömrünün kısılmasına neden olabilir. Uygun bir yüzey modifikasyon yönteminin uygulanmasıyla, bu problem büyük ölçüde aşılabılır [6]. Bu özelliklerin sonucu olarak titanyum ve alaşımları , özellikle eklem replasmanları ve kırık kemiklerin onarımı için kemik pimleri, plakalar ve vidalar gibi ortopedik uygulamalarda implantlar için en umut verici biyomateryallerden biri olarak kabul edilmektedir[60].

2.3. Ti6Al4V Alaşımı

Ti6Al4V iki fazlı bir titanyum alaşımıdır. Alüminyum alfa fazının dengeliyicisi, vanadyum ise beta fazı dengeleyicisidir. Ti6Al4V alaşımı tıp ve havacılık endüstrisinde tercih edilmektedir. Ayrıca ortopedi, dental ve beyin cerrahisi uygulamalarında kullanılan biyomalzemelerin çoğunun ana maddesi olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni iyi mekanik özellik kombinasyonları sunması, yüksek akma dayanımı ayrıca korozyona ve yorgunluğa karşı dirençli olmasıdır [61]. Al ve V eklenmesi saf titanyumdan daha dayanıklı olmasını sağlamıştır. Ayrıca daha sünek bir yapıya ve çekme dayanımına sahiptir [62].

Ti-6Al-4 V alaşımının, çevre ile alaşım yüzeyi arasında bir bariyer görevi görerek mükemmel bir korozyon koruması sağlayan, tipik olarak 4–6 nm [63] kalınlığında doğal olarak pasif bir oksit tabakası oluşturduğu bilinmektedir. Bu tabaka belirli koşullarda bozulabilir. Dental uygulamalar için kullanıldığında florür içeren pek çok profilaktik diş macunu ve durulamanın titanyum ve alaşımlarının bozulmasına neden olabileceği bildirilmişti [64]. Ayrıca stabilitenin zararları alaşımdan alüminyum ve vanadyum salınımına yol açar ve bu da osteomalazi, periferik nöropati ve Alzheimer hastalıkları gibi sağlık sorunlarına yol açabilir [65]. Bu yüzden alaşımın üzerindeki koruyucu tabaka büyük önem taşımaktadır. Alaşımdaki elementlerin vücuda difüzyonunu önlemek için yapılan çalışmalarda genel düşünce doğal oksit tabakasının

kalınlığını artırmaktır. Ayrıca sürtünme katsayısının yüksek olması oksit tabakaya zarar verip korozyon direncini azaltmaktadır. Alaşımların antikorozyon özelliklerini iyileştirmek için yüzeyinde modifikasyonların yapılması gerekmektedir [66].

Bayrak ve ark. [13] Plazma oksidasyon ve anodik oksidasyon işlemi uyguladıkları Ti6Al4V üzerinde sürtünme katsayısı ve aşınma oranını içeren tribolojik performansında iyileşme kaydedildiğini raporlamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise mikro ark oksidasyon yöntemiyle Ti6Al4V alaşımlarını farklı sürelerde kaplayıp artan süre ile kaplama kalınlığının ve yüzey pürüzlüğünün arttığını rapor etmiştir [67]. Wang ve ark. [68] Termal oksidasyon yöntemi ile Ti6Al4V alaşımlarını kaplayıp yüzeyindeki iç ve dış oksit tabakasının kalınlaştığını ve titanyum alaşımlarının sürtünme aşınma direncini iyileştirdiğini rapor etmişlerdir.

Biyouyumluluk bir malzemenin canlı sistemlerle temas girme ve sistem tarafından herhangi bir tepkime görmeden kabul görmesi diye bilinmektedir. Bu önemli unsurun iyileştirilmesinde de çeşitli yüzey modifikasyonları kullanılmaktadır. Nitrasyon, polimer kaplama ve anodik polarizasyon bu modifikasyon yöntemleridir [69].

Alaşımların mekanik performansı artırması nedeniyle, titanyum yavaş yavaş alaşımlarıyla yer değiştirmiştir ve Ti6Al4V uygulaması giderek daha fazla ilgi görmüştür [69]. Bununla birlikte, implant başarısızlıkları genellikle implanta bağlı bakteriyel enfeksiyon nedeniyle ortaya çıkar. Al ve V gibi toksik elementlerin salınımının yanı sıra zayıf osseointegrasyon yeteneği de dikkate alındığında, ameliyat sonrası uzun süreli yan etkiler ortaya çıkabilir. Bunlar Ti6Al4V alaşımlarının implantında potansiyel bir risk oluşturmaktadır [66,67]. Bu sorunları çözmek için toksik olmayan elementlerle yüzey kaplaması Ti6Al4V implantlarının antimikrobiyal aktifliğini ve sito-uyumluluğunu geliştirmek için kullanılabilir.

2.4. Biyouyumluluk

İmplantlar biyolojik ortamda vücut sıvısı, proteinler ve hücreler ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer. Biyouyumluluk, malzemenin canlı dokularda temas ettiğinde herhangi bir tahriş, toksite, mutajenik veya kansorejen gibi istenmeyen etkileri ortaya çıkarmamasıdır [43,66,67]. Biyouyumluluk implant malzeme seçiminde en çok dikkat edilmesi gereken özelliktir. İyi bir implant malzemesinin toksik etki yaratmaması(biyoinert) ve dokuarayüzle yapışıp pozitif bir etki sağlaması(biyoaktivite) gerekir. [74].

Titanyum ve alaşımları vücuda implant edildiğinde yüksek korozyon direnci özelliğinden dolayı uzun süre boyunca değişmeden kalır. Bu tür malzemeler biyoinert ve biyostabil olarak adlandırılır [75]. Cp-Ti ve Ti6Al4V alaşımı implant uygulamalarında en çok tercih edilen malzemelerdir. Her ikiside kemikle osseoentegre olabilir. Osseointegrasyon kemik ile metal arasında doğrudan temas geliştiğinde meydana gelir. Her iki malzemeninde biyoaktif olması kemik oluşumunu teşvik eder [76]. Yüzeydeki oksit tabakası, osseointegrasyonun başarısında önemli etkiye sahiptir. Daha kalın ve daha pürüzlü oksit kaplamalar, osseointegrasyonun güvenilir ve hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlar. Alaşımlarda rastlanan vanadyum gibi elementler temel durumda toksik olduğu için Ti6Al4V biyouyumluluğunda korozyona karşı direnç oldukça öneme sahiptir. Oksit kaplama ayrıca metali pasifleştirme etkisine sahip olduğu için korozyon direncini artırır ve titanyum iyonlarının salınımını en aza indirger [71,72]. Çeşitli modifikasyon yöntemleri Ti6Al4V'nin mevcut korozyona karşı direnç özelliğini daha da yüksek derecelere çıkarmak için kullanılmaktadır. Çigada ve ark [79]. Ti6Al4V yüzeyini elektrokimyasal anodizasyon yöntemle modifiye ederek oluşan yeni yüzeyde metalik iyonların salımında azalma elde edildiğini raporlamışlardır.

Biyoaktif bir metal olan titanyum alaşımları hücre içinde yüzeyle etkileşime girer. Bakteriler pürüzlü ve gözenekli yüzeyleri tercih eder [70,74]. Bunların lifli uzantıları katı yüzeye yapışmayı destekler. Nano ölçekte olan bu uzantılar 10 nm çapında ve 100 nm uzunluğundadır. Oluşan bu biyofilm hücre iyileşmesini geciktirir ve doğal vücut sıvısının etkilerinden mahrum bırakır [81]. *In vitro* deneysel modellere dayalı olarak,

biyofilm oluşumu klasik olarak dört aşamalı bir süreç olarak görülmektedir. İlk adımda, bakteri ve malzeme yüzeyi arasında meydana gelen ilk etkileşimler farklı güçler tarafından yönlendirilir. Bunlar hidrofobik, elektrostatik ve Lifshitz-Van der Waals kuvvetleri gibi etkilerdir. Bakteriler bu aşamada pasif olarak yüzeye adsorbe olur. İkinci adım olan çoklu hücre katmanlarında hücre toplanması hücreler arası adezyon tarafından aracılık edilen aktif bir süreçtir. Üçüncü adımda oluşan biyofilmin oluşması gerçekleşir ve kendine özgü yapısal özellikleri gelişir. Son adımda ise , daha önce biyofilm yapısında bulunan ve korunan bakteriler, yeni yüzeylere kolonizasyon için ilk planktonik yaşam formlarına geri döner. Hücrenin biyofilmden ayrılması bakteriyel yaşam döngüsünün son aşamasını gösterir [76,77]. Yüzey modifikasyon yöntemleriyle bakteri oluşumu engellenebilir seviyededir.

2.5. Yüzey Modifikasyonu

Biyomalzemelerin yüzey işlemi, bir malzemenin yüzey kimyası, topografyası, enerjisi ve yükündeki değişiklikler yoluyla malzeme ve biyolojik tepkileri iyileştirme ve aynı zamanda implantın toplu özelliklerini muhafaza etme yeteneği sunar [60]. Biyomalzemelerin yüzey modifikasyonu, yeni malzemeler icat etmenin zahmetli süreçlerine kıyasla çok daha kısa sürede daha karlı bir getiri sağlayabilir. Yüzey modifikasyonu ile, bir biyomateryalin temel fiziksel özellikleri korunabilirken, yalnızca en dış yüzey biyo etkileşimlere göre uyarlanacak şekilde değiştirilir. Yüzey modifikasyonunun temel amacı, korozyon direncini, aşınma direncini, antibakteriyel özelliği, biyo-yapışmayı (kemik büyümesi) ve biyouyumluluğu iyileştirmektir; yeterli mekanik mukavemet ve işlenebilirlik gibi diğer önemli gereksinimler ise dökme malzeme özellikleri tarafından yönetilir [15]. Yüzey modifikasyonları, biyolojik ortamın biyomolekülleri veya hücreleri ile farklı etkileşim özellikleri sağlamalıdır. İmplantlar ve biyolojik ortam arasındaki etkileşim yüzey pürüzlülüğü, yüzey kimyası ve ıslanabilirlik gibi yüzey özelliklerine bağlı olarak çeşitlilik gösterir [84].

Yüzey kimyasal bileşimi, biyomoleküllerle etkileşim için hangi fonksiyonel grupların mevcut olduğunu belirlediğinden, biyomateryallerin tasarımında önemli bir yüzey karakteristiğidir [85]. Yüzey kimyasının modifikasyonu, protein adsorpsiyonunu ve

hücre davranışını etkilemenin en doğrudan yoludur. Malzeme üzerindeki fonksiyon grupları belirli hücre yapılarıyla reaksiyona girer. Malzeme yüzeyinde bulunan bu fonksiyonel grupların uyarlanmasıyla, yüzey ıslanabilirliği, yüzey elektrik yükleri ve serbest enerji de değiştirilebilmektedir [86]. Bir implantın yüzey kimyasını değiştirmeye yönelik en basit yaklaşım, kaplamaların uygulanmasıdır. Yüzey kimyası, implant üzerine uygun bir yapışma ile başka bir malzemenin biriktirilmesiyle de düzenlenebilir. Bu tür kaplamalar organik veya mineral katmanlarla gerçekleştirilebilir. Titanyum yüzeylerde, yüzey kimyasının biyolojik etkileri esas olarak titanyum oksit (titanya, TiO_2) tabakasının mimarisi ile ilgilidir [87]. Osseointegrasyon doğrudan TiO_2 katmanının dinamik kalınlaşmasıyla ilişkili olduğundan, anodize implantlar gibi kalın TiO_2 katmanlarına sahip implantlar, implant yüzeyinde kemik mineral matrisi çökmesini artırarak güçlü bir kemik tepkisi sergiler[84].

İnsan vücuduna bir implant materyali yerleştirildiğinde, meydana gelen çok sayıdaki olaydan ilki ve en önemlisi implant materyalinin fizyolojik sıvılar tarafından ıslatılmasıdır. Bu ayrıca proteinlerin adsorpsiyonunu ve ardından hücrelerin implant yüzeyine bağlanmasına olanak sağlar. Bu nedenle yüzey ıslanabilirliği, implant materyalinin biyouyumluluğunu belirleyebilen önemli bir kriter olarak kabul edilir [88]. Bir yüzeyin ıslanabilirliğini etkileyen en önemli üç faktör, kimyasal bileşimi, mikroyapısal topografyası ve yüzey yüküdür. Temas açısı ölçümleri, bir yüzeyin ortalama ıslatılabilirliğini ölçmek için en çok kullanılan tekniktir.[88] Temas açısı ıslatma maddesi olarak su kullanılmışıysa yüzeyin hidrofiliğini karakterize eder. 90° 'den küçük teması açılı yüzeyin hidrofilik olduğunu belirtirken, 0° 'e çok yakın temas açısı yüzeye süperhidrofilik bir özellik atfetmektedir. Temas açısı 90° 'nin üzerinde olan yüzeyler hidrofobik olarak kabul edilir. Temas açıları 150° 'nin üzerinde olan ve ıslanmanın kuvvetle engellendiği yüzeyler süperhidrofobik yüzeyler olarak adlandırılır [89]. Hidrofobik yüzeyler hidrofilik yüzeylere göre daha yüksek protein adsorbe etme eğilimine sahiptir [84]. Çoğu çalışma, hidrofilik yüzeylerin, hidrofobik yüzeylere kıyasla hücre yapışmasının, proliferasyonunun, farklılaşmasının ve kemik mineralizasyonunun erken aşamalarını artırma eğiliminde olduğunu bulmuştur [57,72]. Ancak farklı kimyaların kullanıldığı çalışmalarda zıt sonuçlar bulunmuştur [91]. Aşırı yüksek yüzey enerjilerinin(hidrofilik) hücre yapışmasını arttırması, ancak

hücre hareketliliğini ve sonraki hücre fonksiyonlarını engellemesi mümkündür [92]. Bu nedenle, hastalar için başarılı sonuçlar sağlamak için implantların kapsamlı tasarımı, yüzey ıslanabilirliğinin rolünün ve çevredeki biyolojik ortamı etkileme mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasını gerektirir [89].

Nano ölçekteki pürüzlülük, protein adsorpsiyonunu, osteoblast hücre bağlanmasını ve büyüme faktörlerinin dahil edilmesini teşvik eder [93]. İmplantın yüzey alanını nano pürüzlülük ile arttırmanın hücre bağlanması için birçok bağlanma yeri sağlaması ve böylece başarıya götürmesi ve daha kolay ve daha hızlı osseointegrasyon sağlaması beklenmektedir. Nano-pürüzlülüğe sahip yüzeyler daha geniş bir yüzey alanı sunar ve çevreleyen dokulara daha sıkı bir mekanik bağ sağlar [94].

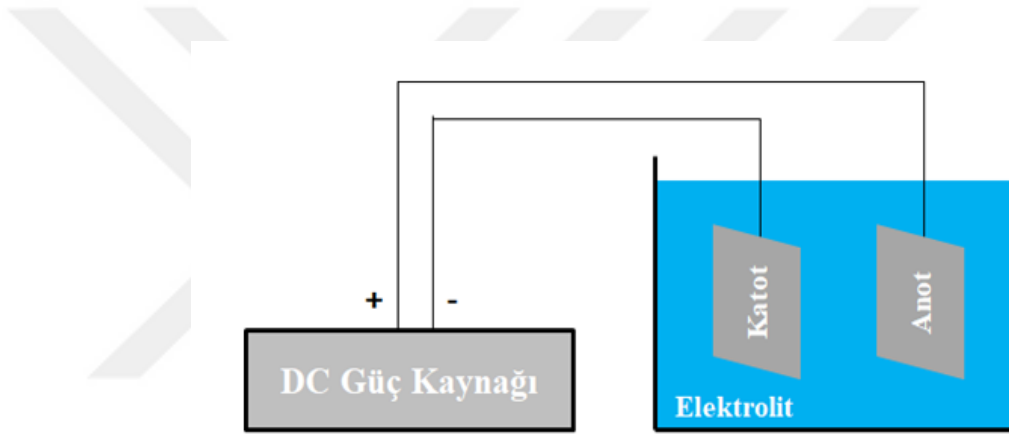
Titanyum ve alaşımlarının mekanik özelliklerini, biyouyumluluğunu ve biyoaktivitesini iyileştirmek için yapılan birçok yüzey modifikasyon işlemi bulunmaktadır. Bunlar mekanik yöntemler (bileme, parlatma, talaşlı imalat, patlatma) [15], kimyasal yöntemler (kimyasal tedavi [91,92], sol-jel [97], cvd [98], anodik oksidasyon [99], biyokimyasal yöntemler [96,97]) ve fiziksel yöntemler (fiziksel buhar biriktirme [102], termal sprey [103], iyon implantasyonu ve biriktirme [104]) olarak üçe kategoride incelenir.

2.6. Anodik Oksidasyon İşlemi

Tantal, niyobyum ve zirkonyum gibi diğer metaller gibi titanyum da doğal olarak, kalınlığı oksidasyon yöntemleriyle (esas olarak termal veya elektrokimyasal işlemlerle) yüzlerce nanometreye kadar artırılabilen 2 nm ila 5 nm kalınlığında veya bazı özel durumlarda yüzlerce mikrometreye kadar koruyucu bir oksit filmle kaplanır [105]. Kompakt filmler üretildiğinde, kalınlıkları uygulanan voltajla doğrusal olarak ilişkilendirilir, bu da çoğu literatür çalışmasında bildirildiği gibi optik yöntemlerle veya kulometrik veya empedans ölçümleriyle elde edilen oksit kalınlığını ölçerek belirli koşullar altında oksit büyüme oranını tahmin etme imkanı verir [106]. Zhang ve ark. [107] Ti yüzeyinde anodizasyon tekniği ile imal edilmiş TiO_2 nanotüplere sahip

modifiye titanyumun, simüle edilmiş biyo-akışkan içinde saf Ti'den daha iyi bir korozyon direnci özelliği gösterdiğini bulmuşlardır.

Teknik, titanyum numunesi ve bir karşı elektrot arasında bir akım akışı empoze ederek titanyumu polarize etmekten oluşur. Bu, metal atomlarının metalin yüzeyinde kademeli olarak bir oksit tabakası oluşturmak üzere elektrolitten oksijen (veya oksijen içeren) anyonlarla birleşen Ti^{4+} iyonlarına oksitlenmesine neden olur. Büyüme mekanizması, Ti^{4+} katyonlarının üretildiği metal yüzeye ulaşmak için oksit boyunca O_2 yük taşıyıcılarının hafif bir baskınlığı ile, alan destekli iyon göçü nedeniyle hem içe hem de dışa doğru büyümeyi içerir. Bu şekilde oluşan oksidin kalınlığı Faraday yasasına uygundur [105].



Şekil 2.1. AO cihazı ve kaplamanın şematik görüntüsü

Anodizasyon genellikle galvanostatik koşullar altında, belirli bir hücre voltajına veya belirlenen bir yükün geçişine kadar veya potansiyel tarama ile gerçekleştirilir. Büyüyen oksidin özelliklerini en sık belirleyen işlem parametreleri elektrokimyasal parametreler (akım yoğunluğu, hücre voltajı, olası stabilizasyon süresi) ve ayrıca elektrolit spesifikasyonları (bileşim, pH ve sıcaklık) ve tabii ki metalin kendisi ve yüzey koşullarıdır [108].

Flor içeren bir elektrolit sisteminde, anodizasyon yöntemiyle metal yüzeyinde TiO_2 nanotüp oluşumunda gerçekleşen reaksiyonlar aşağıda verilmiştir [109] ;



Bu sürecin tamamı üç adımdan oluşmaktadır. İlk aşamada oksit tabakasının oluşumudur. Reaksiyon başladıktan sonra su oluşan elektrik alanından ötürü iyonize edilerek O^{2-} üretilir (Denklem (2.1)). Aynı zamanda anot elektrot olan cp-Ti veya Ti Ti^{4+} iyonlarına çözünür Denklem (2.2). Elektrik alanın etkisiyle O^{2-} ve Ti^{4+} iyonları reaksiyona girerek yüzeyde TiO_2 film oluşturur (Denklem (2.3)) [110]. İkinci aşama gözenekli tabaka oluşumun ilk aşamasıdır. Çözeltideki F^- iyonları çözünür bir $[\text{TiF}_6]^{2-}$ (Denklem (2.4)) oluşturabilmek için Ti^{4+} ile reaksiyona girer. Hacim artışına sebep olan oksit film oluşumu kompakt tabakada iç gerilme meydana getirir. Oluşan iç gerilim eşit dağılmaz. Bu yüzden F- katkılı oksit filmin kimyasal aşındırması tek tip olmaz. Sonuç olarak oksit tabakanın yüzeyinde küçük çöküntüler oluşur [111]. Üçüncü ve son aşamada oluşan bu gözenekli yapının kararlı büyümesidir. Nanoporozun titanyum matrisine büyümesinin ilk aşamasında, gözenekli kısım arasında oksitlenmemiş metal titanyum kalır. Deliklerin uzamasıyla birlikte bu oksitlenmemiş yüzeyin elektrik alan kuvveti artar ve buna bağlı olarak elektrik alan desteği altındaki oksit filmde çözünme ve büyüme hızlanır. Aynı zamanda bitişik nanogözenekler arasındaki gerilim korozyonu deliklerin arayüzünde boşluklara neden olur. TiO_2 'nin altındaki bariyer tabakası sürekli olarak titanyum matrise doğru iter ve bu da deliğin sürekli genişlemesini sağlar. Böylelikle nanogözeneklerin büyüme sürecinde olduğu gibi, delikler arasındaki bağlantı titanyum matrisine doğru uzanmaya devam eder ve sonunda tüp duvarını oluşturur [112].

2.6.1. Anodik Oksidasyonu Etkileyen Faktörler

Anodizasyon işleminde nanotüp boyutunu ve morfolojisini istenen ölçülerde ayarlayabilmek mümkündür. Bu ölçüleri belirleyen dört ana etki vardır. Bunlar;

işlemede uygulanan voltaj, işlem süresi, PH ve F Konsantrasyonları ve son olarak da hazırlanan çözeltidir [8].

2.6.1.1. Anodizasyon Voltajı

Oksidasyon potansiyeli, nanotüp dizilerini oluşturmak için önemli bir faktördür. Yüksek sıralı TiO₂ nanotüp dizileri, genellikle potansiyel pencere olarak adlandırılan doğru potansiyel aralığında oluşturulabilir. Oksidasyon potansiyeli potansiyel pencereden daha düşük olduğunda, Ti film üzerinde sadece nano-gözenekli film oluşur, potansiyel çok yüksek olduğunda ise bir sünger oksit tabakası oluşur. Potansiyel penceresi genellikle 10 V ila 40 V arasındadır. Potansiyel penceresinin üst sınırı bazı özel çözüm sistemlerinde 220 V'a ulaşabilir. Oksidasyon potansiyelindeki artışla birlikte TiO₂ nanotüplerin çapları önemli ölçüde artar [71,72].

2.6.1.2. Anodizasyon Süresi

Oksidasyon süresi, nanotüp oluşumu için bir başka önemli faktördür. Bu süre çok kısaysa, elektrokimyasal reaksiyon henüz nihai bir denge durumuna ulaşmamışsa, ortaya düzensiz bir gözenekli oksit tabakası çıkar ve sıralı TiO₂ nanotüp dizileri oluşturulamaz [114]. Oksidasyon süresi çok uzun olduğunda ise aşırı korozyon nedeniyle tüplerin üstü ve altı çökecek ve teller [115] veya gözenekli duvarlar [116] oluşacaktır. Bu nedenle tüp oluşumu için uygun bir oksidasyon süresi önem arz etmektedir.

2.6.1.3. Ph ve Florür İyonları Konsantrasyonu

Elektrolitin pH'ı, yüksek en-boy oranına sahip nanotüplerin büyümesini sağlamanın anahtarıdır. Aynı zamanda TiO₂ nanotüpün kendi kendine organize olma davranışını etkileyebilir. PH'daki fark, gözenek çapında önemli değişikliklere yol açar. Kalınlıktaki farklılıklar, oksit çözünme hızının pH bağımlılığına atfedilir. Düşük pH'ta çözünme hızı, yüksek pH'tan çok daha büyüktür [117]. Bu nedenle pH, gözeneklerin

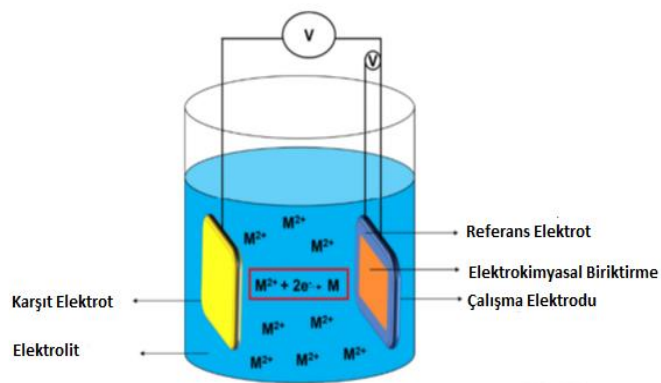
kalınlığını ve çapını değiştirir. Yapılan bir çalışmada 1 M Sodyum hidrojen sülfat monohidrat ve 0,1 M KF ile 0,2 M Sodyum sitrat tribazik dehidrat elektrolit karışımının elektrolit pH ve anodizasyon potansiyeli nedeniyle nanotüp uzunluğunda 380 nm ila 6 µm ve tüp çaplarında 30 ila 110 nm arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir [118].

2.6.1.4. Çözelti

Sulu çözelti ve organik çözelti, TiO₂ nanotüp dizilerinin anodik oksidasyon yöntemi ile imalatında kullanılır. Genel olarak, TiO₂ mimarileri sulu çözeltilerde organik çözeltilere göre daha hızlı çözünür. Sulu çözelti ile karşılaştırıldığında, organik çözelti içinde hazırlanan TiO₂ nanotüp dizileri düzgün bir şekle sahiptir ve çok düzgündür aynı zamanda pürüzsüz yüzeyli ekstra uzun tüpler elde edilebilir [8].

2.7. Elektrokimyasal Biriktirme

Elektrokimyasal biriktirme (EB), iyon içeren bir çözeltilen metallerin, oksitlerin veya tuzların elektroliz yoluyla elektriksel olarak iletken bir yüzey (bir elektrot) üzerine biriktirildiği bir işlemdir. EB işlemi üç elektrot (çalışma, karşıt ve referans) gerektirir ve solüsyondan geçen akım nedeniyle çalışan elektrotta metal iyonlarının azaltılmasını içerir [119]. Tipik bir EB işlemi Şekil 2.2 de verilmiştir.



Şekil 2.2. Üç elektrotlu bir elektrolit solüsyonu aracılığıyla uygulanan bir akımı kullanan tipik bir EB işleminin şeması [116]

Elektrodepozisyon, elektroforetik biriktirme veya elektrokaplama olarak da bilinen elektrokimyasal biriktirme, iletken / yarı iletken malzemelerin bir elektrik akımı ve redoks reaksiyonu kullanılarak uygun bir substrat üzerine biriktirilmesi için kullanılır. Elektrolit içindeki hedef malzemenin katyonları veya bir monomeri, bir elektrik akımı ile indirgenir ve katodun yüzeyinde biriktirilir. Elektrokimyasal biriktirme, orta derecede sıcaklık, yüksek biriktirme hızı, nispeten düşük maliyetli, etkili, kolay taşınabilir ve etkili bir şekilde kontrol edilebilen süreci bu yöntemin en önemli avantajlarından [120]. Bu teknik ile tek bir adımda nanometreden birkaç yüz mikrona kadar iletken bir filmin büyümesine izin verir. Anot ve katot malzemeye ve bileşimin pH, sıcaklık, yoğunluğu gibi birçok parametrenin optimize edilmesi, istenen katman kalınlığı ve homojen kaplamanın sentezi için gereklidir [121]. LeGeros ve ark. [122] çalışmalarında titanyum alaşımlı yüzeylere EB yöntemi ile kapladıkları kalsiyum fosfatın istenilen kristal yapıda ve kalınlıkta olduğunu rapor etmişlerdir.

2.8. Nanotüp Yapıdaki Titanyum Oksit Malzemeler

1972'de Fujishima ve Honda, ilk kez TiO_2 yüzeylerinde ışığın neden olduğu su yarılmasının heterojen katalizde yeni yaklaşımlar açtığını bildirdi [123]. O zamandan beri TiO_2 , uzun vadeli stabiliteye, düşük maliyetli hazırlığa ve istenmeyen organik bileşiklerin ayrışması için yararlı olacak kadar güçlü bir oksitleme gücüne sahip mükemmel bir fotokatalizör olduğunu göstermiştir [124].

Yüksek özgül yüzey alanına, iyon değiştirme kabiliyetine ve fotokatalitik özelliğe sahip TiO_2 nanotüpler; fotokataliz [125], elektrokromik cihaz [74], hidrojen üretimi [115], korozyon direnci [126], sensörler [127], depolama aygıtı [128], atık su arıtımı [129] ve ıslanabilirlik [130] ve özellikle biyomedikal alanda [88,89] uygulamalar için düşünülmüştür.

TiO_2 nanotüp geliştirilmesi için anodizasyon [17,90], sol-jel yöntemi [134], hidrotermal yöntem [129], mikro dalga ışınlaması [135] ve alkalın sentezi [136] gibi bir çok metod uygulanmaktadır. Hoyer [137] ilk olarak TiO_2 tabanlı nanotüplerin şablon destekli sentez yoluyla sentezlendiğini raporlamıştır. Daha sonra,

elektrokimyasal anodizasyon ve hidrotermal yöntemler, TiO_2 nanotüp imalinde başarılı oldu. Tüm bu yöntemler arasında elektrokimyasal anodizasyon, tekrarlanabilir sonuçları ve tek işlem, nanotübüler dizilerin boyut ve şeklini istenen boyutlara ayarlayabilme ve kontrollü anodik vasıtasıyla belirli uygulamaların taleplerini karşılaması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, uygun maliyetli bir yöntemdir ve bu yöntemle hazırlanan tüpler iyi bir yapışma gücüne sahiptir. Ek olarak, TiO_2 filmlerin kalınlığı ve morfolojisi, anodizasyon parametreleri ile kolayca kontrol edilebilir [89,90]

Literatürde birçok anodizasyon yöntemiyle TiO_2 oluşturulması hakkında çalışmalar mevcuttur. Wu ve ark [140]. 60 V uygulanan ve anodizasyon işlemi ile oluşturulan TiO_2 nanotüp yapıların korozyon potansiyelini pozitif yönde değiştirdiğini ve nanotüp kaplamanın ne kadar kalın olursa sürtünme katsayısının azalmasının da o derece büyük olacağını raporlamıştır. Tsuchiya ve ark [141]. TiO_2 ve ZrO_2 nanotüplerin florür kaynaklı lokalize çözünme uyarlanarak başarılı bir şekilde oluştuğunu raporlamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise anodizasyon yöntemiyle TiO_2 oluşumu sağlamış ayrıca nanotüp oluşumu hızının elektrolit pH'ı kontrolüyle rahatça kontrol edilebildiği belirtilmiştir [109].

2.9. Antibakteriyel Maddelerle Zenginleştirilmiş Titanyum Yüzeyler

Titanyum ve titanyum alaşımları, ortopedik ve diş implantlarında yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak bu implantlarla ilişkili enfeksiyonlar, uzun süreli hastanede kalış, karmaşık revizyon prosedürleri, implant başarısızlığı, tamamen çıkarma, hastanın acı çekmesi, mali yük gibi olası komplikasyonlara hatta ölüme yol açan ciddi tehditler oluşturmaktadır. Titanyum implantlar biyomedikal endüstrisinde daha popüler hale geldikçe enfeksiyon prevalansı da artıyor. Bu tür enfeksiyonları önlemek için bir yaklaşım, malzemelerin antibakteriyel yeteneğini geliştirmektir [142]. Bakteriler, biyofilm oluşumuna ve bunun sonucunda implante yüzeylerin kalıcı kontaminasyonuna katkıda bulunan ekzopolimerik maddeler (esas olarak polisakkaritler ve diğer makromoleküller) üretirler. Bir biyofilm, kendi ürettiği

matriste korunan ve bir yüzeye geri döndürülemez şekilde bağlanan farklı mikroorganizmalar topluluğu olarak tanımlanabilir. Bakteriler kendilerini dış güçlüklerden koruyarak, organize ve kooperatif bir topluluk olarak biyofilmin polimerik koruyucu yapısında yaşarlar [143].

Biyofilmdeki bakteriler planktonik muadillerine göre antimikrobiyal ajanlarla tedaviye daha dirençli olduklarından, rutin antibiyotik tedavisi genellikle implantla ilişkili enfeksiyonu azaltmada yetersizdir [144]. Enfeksiyon oluştuktan sonra ortadan kaldırmanın iyi bir yolu yoktur ve implantın çıkarılması genellikle sorunu ortadan kaldırmanın tek etkili yoludur. Biyofilm oluşumu ve implant / doku arayüzünde riskli bağışıklık, titanyum implantı bakteri kolonizasyonuna ve daha fazla enfeksiyona duyarlı hale getirir. İmplantların etrafındaki enfeksiyonun patogenezinde, bakterilerin biyomateryal yüzeylere ilk yapışmasının kritik bir olay olduğuna inanılmaktadır ve bu nedenle implant yüzeyine ilk bakteriyel yapışmayı önlemek önemli bir stratejidir [142].

Klinik uygulama, sistemik antibiyotiklerin bu enfeksiyonlar için etkili tedavi sağlayamadığını göstermiştir. Artık, bu bakteriyel enfeksiyonları önlemek için kemik-implant arayüzünde yüksek konsantrasyonda antibakteriyel ajanların gerekli olduğu kabul edilmektedir [145]. Bakırın çeşitli bakteriler üzerinde güçlü antibakteriyel etkiler sergilediği bilinmektedir. Bakır kemik metabolizması için enzim bazlı işlemlerde yer alır ve yeni damar oluşumunu tetikler [146]. Cu kaplanan yüzeylerde antibakteriyel özellikler artar ve bakır bakteriyel yapışmayı azaltarak enfeksiyon oluşumunu engeller [30]. Aktuğ ve ark. [147] yüzeyin Cu ile kaplanmasıyla gram negatif ve gram pozitif bakteri türlerinin mikrobiyal yapışmalarında azalma gözlemiştir. Ayrıca bakır dna yapısına etki ederek ve hücre zarlarını bozarak geniş bir bakteri türüne karşı öldürücü etki göstermektedir [148].

Bu çalışmada AO yöntemi ile Ti6Al4V yüzeyinde nanotüber yapılar oluşturulmuş, EB yöntemi ile oluşturulan nanotüber yüzeylerde Cu birikimi sağlanarak oluşturulan yeni yüzeyin Gr (+) *Staphylococcus aureus* ve Gr (-) *Escherichia coli* bakterilerine karşı etkisi araştırılmış ve yüzeylerin antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Numune Hazırlama

Ti6Al4V alaşımı su jeti ile kesilerek 1mm kalınlığında ve 1cmx1cm boyutlarında hazır hale getirilmiştir. Numuneler AO işlemine girmeden önce sırasıyla 120x400x800x1000 ve 2000 nolu zımparalarla su çevrimli zımpara makinesinde zımparalanmıştır. Zımparalanan numuneler saf su ile yıkandıktan sonra ultrasonik banyoda temizlenmiştir. Kurutulan numuneler AO işlemine kadar desikatörde bekletilmiştir.

3.2 AO Yöntemiyle Nanotüp Kaplama

Ti6Al4V alaşımı yüzeyinde nanotüber yapılar GW-Instek PSU 400 model DC güç kaynağı kullanılarak üretilmiştir. Numuneler Etilen glikol-bazlı NH_4F çözeltisi içerisinde daldırılarak 50V potansiyel değerinde ve 1 saat süre boyunca kaplanmıştır. İşlem süresince Ti6Al4V alaşımı anot iken Pt elektrot katot olarak kullanmıştır. Kaplama sonucu elde edilen numunelere 450 °C’de 1 saatlik ısıtım uygulanmıştır.

3.3 EB Yöntemiyle Nanotüp Kaplama

AO işlemiyle oluşan nanotübüler gözenekli yüzeye antibakteriyel özellik kazandırmak için EB (elektrokimyasal biriktirme) yöntemiyle potansiyostat/galvanostat (Gamry 1010B) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nanotüp yüzeyler üzerine Cu yapısı nanoparçacık olarak rastgele biçimde biriktirilmiştir. Bu amaçla $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -bazlı saf su çözeltisi içerisinde -1V potansiyel değerinde ve de 30, 60 ve 90 sn’lik sürelerde Cu yapısı nanotüp kaplı Ti6Al4V yüzeylerinde nanoparçacık olarak biriktirilmiştir.

3.4 Karakterizasyon Testleri

3.4.1. SEM ve EDX Analizleri

AO ve EB işlemleri sonrası oluşan yüzeylerin morfolojik özellikleri SEM (Hitachi SU 1510) ve SEM'e adapte edilmiş EDX cihazlarıyla gözlemlenmiştir.

3.4.2. AFM Analizleri

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

3.4.3. Temas Açısı Ölçümleri

Yüzeylerin ortalama temas açıları ve ıslanabilirlik özelliklerini raporlamakta, temas açısı gonyometresi (Dataphysics OCA 15EC) aracılığıyla oda sıcaklığında sabit damla tekniği kullanılmıştır. Ortalama temas ölçümleri, bir video kamera ve görüntü analiz yazılımına bağlı bir ışık mikroskobu aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Temas açısı değerleri, 1µL damıtılmış su damlacıklarının yüzeylere temas etmesinin ardından bir dakika sonra tüm kaplamalar için ölçülmüştür.

3.3.4. Antibakteriyel Özellikleri

Bakteri adezyon deneyleri *Staphylococcus aureus* Gr (+) ve *Escherichia coli* Gr (-) mikroorganizmalar ile gerçekleştirilmiştir. Bakteri stok kültürlerinden 5 ml steril besiyeri kullanılarak bakteri süspansiyonu hazır hale getirilmiştir. Elde edilen

süspansiyon bulanıklığı densitometre cihazı yardımıyla 0.5 McFarland standartlarına göre ayarlanıp hazırlanan süspansiyonun 100 µl'si kanlı agar yüzeyine homojen bir şekilde yayılmış, hazırlanan kaplama yüzeyleri (0,5 cm²) besiyeri ile temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Petriler 37 C' de 24 saatlik inkübasyona bırakıldıktan sonra besiyeri yüzeyinden alınan kaplamalar, yapışmayan bakterilerin uzaklaştırılması için 15 ml serum fizyolojik ile yıkanmış ve her bir örnek 2 ml serum fizyolojik içeren cam tüp içerisine aktarılmıştır. Örnek yüzeyine yapışan bakterilerin sıvı içerisine geçmesini sağlamak için 35 kHz frekansında ultrasonik titreşim 5 dakika boyunca uygulanmıştır. Sonrasında tüp içerisinden 100 µl sıvı kanlı agar yüzeyine gerçekleştirilen 48 saatlik inkübasyonun ardından besiyerinde oluşan koloniler (Koloni sayıcı / Stuart) sayılarak ve toplam bakteri sayısı "CFU" cinsinden hesaplanmıştır.

3.3.5. Hücre canlılığı (Sitotoksosite) testi

MTT (1-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenylformazan) testi indirekt olarak hücre canlılığı, hücre büyümesi ve hücre ölümünü değerlendirmeyi amaçlayan, hücre kültürü esasına dayanan bir duyarlılık testidir. Diş ve ortopedik implant sektörlerinde kullanılacak tüm biyomedikal malzemelerin kan ile biyouyumlu olması ve kan hücreleri üzerinde toksik etki göstermemesi gerekmektedir. Bu amaçla MTT testinde kaplamaların kan hücreleri üzerine etkisini incelemek amacıyla RPMI 8866 (Cell Linehuman)-Lymphoblastoid hücreleri (SIGMA 95041316) kullanılmıştır. Steril koşullarda hücreler RPMI 1640 + 2mM Glutamine + 10% Fotal Bovine Serum (FBS), 100 IU/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin içeren besiyerinde 37 °C'de %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmiştir. Test edilecek kaplamalar (0.5cm²) 24 kuyucuklu hücre kültür kaplarına yerleştirilecek ve steril besiyeri ile birkaç kez yıkanmıştır. 2x10⁵ hücre/ml konsantrasyonunda hücre içeren besi ortamı kuyucuklara aktarılmış ve CO₂ etüvde 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 20 µl (5µg/ml) MTT çözeltisi içeren 200 µl taze besiyeri kuyucuklara eklenmiştir. 4 saat etüvde inkübe edilen kuyucuklara, 200 µl 0.04 M HCl içeren izopropanol eklenmiştir. Bu yolla çözülen formazan kristalleri 570 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilmiş ve pozitif kontrol baz alınarak hücre canlılığı değerlendirilmiştir. MTT testi için pozitif

kontrol olarak DMSO kullanılmıştır. Tüm prosedürler, çalışmada sentezlenen Cu bazlı tüm kaplamalar ile tekrar edilecek ve bu yolla kaplama özelliğinin bakteri adezyonu üzerine etkisi de araştırılmış olacaktır.

3.3.6. Yapay Kan Proteinleri Adezyonu

Dokularla etkileşen materyallerin yüzeyinde ilk olarak protein adezyonu gözlenmekte ve bunu hücre adezyonu takip etmektedir. Bu nedenle medikal alanlarda kullanılacak olan malzemelerde protein adezyonunun araştırılması öncelik taşımaktadır. Biyomedikal implantların kan ile etkileşiminde yüzeyde ilk olarak küçük moleküler ağırlığa sahip proteinlerin adezyonu gerçekleşmekte ve genellikle ilk adezyona uğrayan proteinin fibrinojen olduğu belirtilmektedir. Daha sonra albumin-globulin gibi büyük proteinler yüzeye yerleşmektedir. Bu nedenle kaplama yüzeylerine albümin, gama-Globulin ve fibrinojen proteinlerinin adezyonu test edilecektir. Bu amaçla, ticari olarak temin edilen albümin, gama-Globulin ve fibrinojen proteinlerinin fizyolojik serum (pH 7.4, 20 mg/ml) içerisinde sentetik çözeltiler hazırlanarak kaplama yüzeyleri ile kesikli bir sistemde 2 saat süre ile 37 °C’de etkileştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında kaplamalar ortamdan uzaklaştırılarak yüzeye yapışmayan proteinlerin uzaklaştırılması için 15 ml serum fizyolojik ile yıkanmıştır. Her bir kaplama 2 ml serum fizyolojik içeren cam tüp içerisine alınmıştır. Örnek yüzeyine yapışan proteinlerin sıvı içerisine geçmesini sağlamak için 35 kHz frekansında ultrasonik titreşim, ultrasonik banyo cihazı yardımıyla 5 dakika boyunca uygulanmıştır. Çözeltiye geçen protein örnekleri spektrofotometrik olarak 280 nm’de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Yüzeye adeze olan protein konsantrasyonu, standart protein kalibrasyon grafiği oluşturularak mg/ml cinsinden hesaplanmıştır.

3.3.7. İstatiksel Analiz

İstatiksel analizler “IBM SPSS Statistics 22” paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verileri ortalama $\pm$ SD (standart sapma) şeklinde gösterilmiştir. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem One-way ANOVA ve Duncan testi ile belirlenmiş, p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

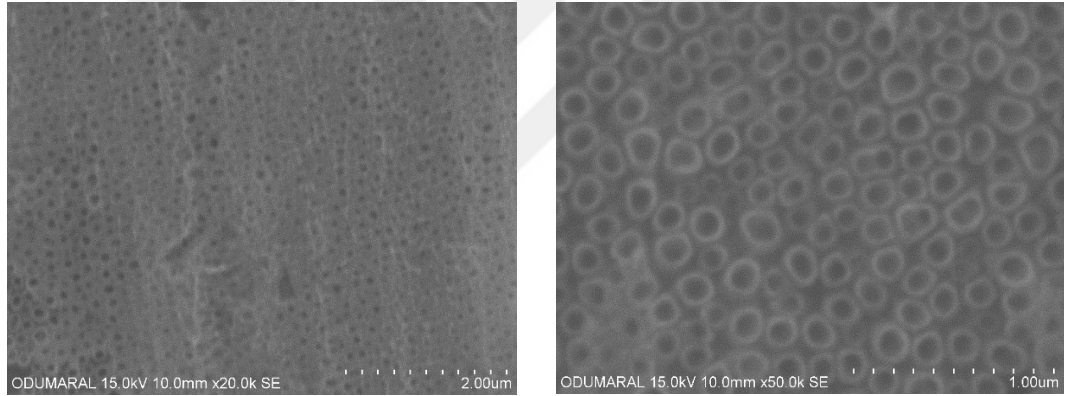
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada Ti6Al4V yüzeyi iki aşamalı AO ve EB gibi yöntemlerle modifiye edilerek yüzey özellikleri ve yüzeyin *E. coli* ve *S. aureus* türlerinin üzerindeki aktivitesi incelenmiştir. Öncelikle Ti6Al4V yüzeyi 50V ve 1 saat süreyle AO yöntemiyle yüzey modifikasyonu yapılmış ve elde edilen iyi sıralı TiO₂ nanotüp yüzeyler Ti6Al4V-50V olarak kodlanmıştır. Sonrasında EB yöntemi ile 30, 60 ve 90 sn'lik farklı sürelerde uygulanarak TiO₂ nanotüp yüzeyler üzerinde Cu nanoparçacık yapıları rastgele biçimde biriktirilmiştir. Oluşturulan yüzeyler sırasıyla Ti6Al4V-30s, Ti6Al4V-60s, Ti6Al4V-90s olarak kodlanmıştır. SEM analizi ile yüzey morfolojik değişiklikler karakterize edilmiştir. EDX-haritalama ve EDX-alan analizi ile yüzeydeki elementel dağılım ve elementel miktar araştırılmıştır. Temas açısı ölçümleri sonucu yüzeyin hidrofilik/hidrofobik özelliklerindeki değişimler gözlemlenmiştir. EB yöntemi ile Cu kaplanan yüzeylerin antibakteriyel etkisi *E. coli* ve *S. aureus* suşları kullanılarak belirlenmiş ve yüzeylerin Gr (+) ve Gr (-) bakterilere karşı seçici özellikte olup olmadığı da araştırılmıştır.

4.1. SEM Analizleri

AO yöntemiyle Ti6Al4V yüzeyinde üretilmiş olan kaplamanın yüzey morfolojisi görüntüsü Şekil 4.1'de verilmiştir. Yüzeyde oluşan nanotüber yapı net ve belirgin bir şekilde gözlenmektedir. Ayrıca oluşan bu gözenekli yapının tüm yüzeye düzenli bir şekilde dağıldığı gözlemlenmiştir. Titanyum üzerinde normal şartlarda oksijenle etkileşimi sonucu yüzeyinde kompakt bir oksit tabakası oluşmaktadır. Anodik oksidasyonda kullanılan F iyonları içeren elektrolitlerin varlığı bu tabakanın yerine titanyum dioksit nanotüber yapıyı oluşturur. Anotlama işleminin başlamasıyla birlikte Ti⁴⁺ iyonlarının elektrolit içerisindeki O²⁻ iyonları ile etkileşime girer. Bu etkileşim sonucu yüzeyde kompakt bir oksit tabakası oluşur. Oluşan bu kalın tabaka sonucu akım

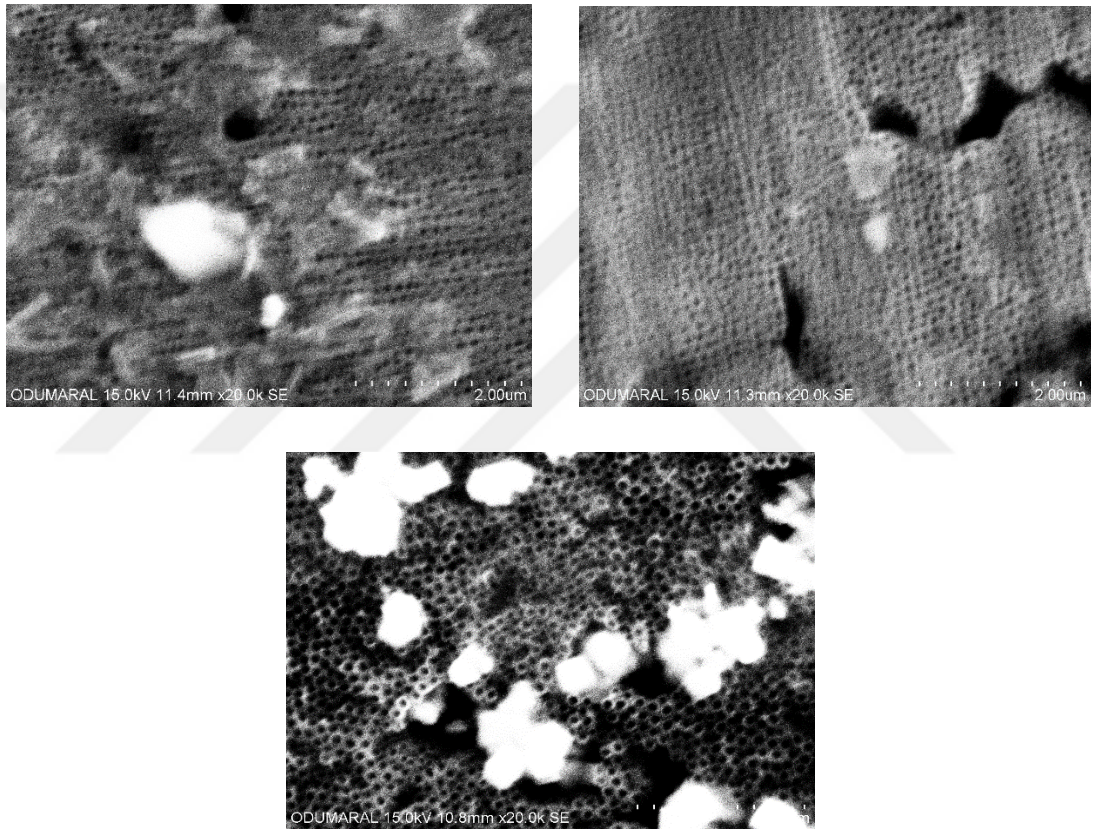
hızla minimum değere düşer. Hücre elektrotları arasında oluşturulan elektrik alanı tarafından desteklenen florür iyonları tarafından oluşan bu kompakt oksit tabakası kimyasal olarak çözünmeye başlar ve akım yükselir. Bu çözünme sonucu yüzeyde küçük çukurlar oluşur ve ardından nanogözenekli bir yapı oluşur. Son olarak ise oluşan TiO_2 nanotüpler sonucu kararlı bir duruma ulaşıldığından akım yoğunluğu sabit bir değerde devam eder [149]. Nanotübüler yapı uygulanan elektrolitin içindeki iyonların konsantrasyonu, akım yoğunluğu, sıcaklık ve voltaj değeri gibi parametrelere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [74]. Literatürde de anodizasyon sonucu oluşan gözenekli yapılar rapor edilmiştir. Zakir ve ark. [149] 30V ve 60V potansiyellerde anodize edilmiş yüzeylerde nanotüber yapı oluştuğunu gözlemiş oluşan TiO_2 nanotüp iç çaplarının voltaj artışıyla beraber arttığını rapor etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise anodizasyon işleminde uygulanan gerilimin artması ile yüzeyde hızlı bir birikim olduğu ve yüksek gözenekli bir yapı oluşumu gözlemlenmiştir [150].



Şekil 4.1. TiO_2 nanotüp yüzeylere ait SEM Görüntüsü (a) 20000X ve (b) 50000X

Anodizasyon işlemi uygulanmış Ti6Al4V yüzeyleri 30, 60 ve 90 saniye boyunca EB yöntemi kullanılarak Cu nanoparçacık kaplanmış ve yüzey morfolojisindeki değişimler SEM analizleri ile incelenip görüntüler Şekil 4.2 de verilmiştir. Farklı sürelerde EB yöntemi uygulanan nanotüber yüzeylerin Cu ile kaplanıp nanopartikül yapılar ortaya çıktığı görülmüştür. Bu yöntemle karmaşık şekilli ve gözenekli yapılar üzerinde kontrollü özelliklere sahip kaplamalar oluşturulmaktadır. EB yönteminde bir süspansiyondaki parçacıklar, uygulanan bir elektrik alanıyla birlikte malzeme yüzeyine etki ederek nanopartikül bir yapı oluşturur. Bu şekilde daha kontrollü ve istenilen özelliklere sahip tek tip kaplamalar oluşturulabilir [151].

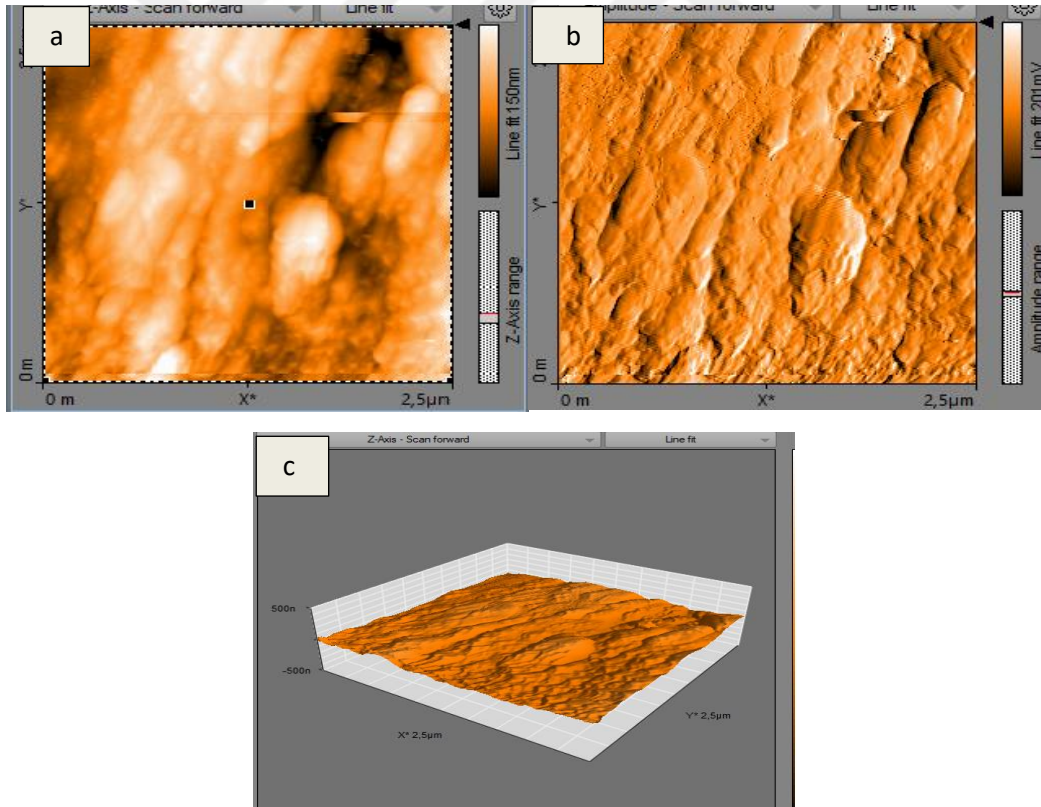
Literatürde bulgularımızı destekler nitelikte yapılan bir çalışmada cp-Ti substratlar üzerinde hidroksiapatit (HAp), gümüş katkılı hidroksiapatit (Ag-HAp), çinko katkılı hidroksiapatit (Zn-HAp) pasifleştirici kaplamalarını EB yöntemiyle biriktirilmiş SEM analizleri sonucu ortaya nanopartiküler yapıların çıktığı rapor edilmiştir[152]. Surmeneva ve ark [153]. Ti6Al4V yüzeyinin gümüş ile kaplanması sonucu yüzeyde partiküler bir yapının oluştuğunu ve yüzeyin hidrofilik özelliğinin arttığını gözlemişlerdir.



Şekil 4.2. EB yöntemiyle Cu kaplanan yüzeylerin SEM analizleri a) Ti6Al4V-Cu-30s, b) Ti6Al4V-Cu-60s, c) Ti6Al4V-Cu-90s

4.2. AFM Analizleri

Anodik oksidasyon yöntemi ile 50V ve 1 saat parametrelerinde işlem uygulanan yüzeylerin AFM görüntüleri Şekil 4.3’ de verilmiştir. 50 V geriliminde, 1 saat boyunca anodizasyon işlemi uygulanan Ti6Al4V alaşımı yüzeyinde homojen ve pürüzlü bir yüzey elde edilmiştir. Alaşım yüzeyinin oksijenle etkileşimi girmesi sonucu doğal bir oksit tabakası oluşur. Florür iyonu (F^-), TiF_6^{2-} oluşturma kabiliyeti nedeniyle tübüler yapının oluşumu için önemli bir faktördür. Ayrıca, onları büyüyen TiO_2 kafesine girmeye ve uygulanan alanla oksitten taşınmaya uygun hale getiren küçük iyonik yarıçapa sahiptir. Florür iyonları için basitçe oksit çözme ajanı denilebilir. Son olarak F^- tarafından çözünen yüzeyde nanogözenekler oluşur [79,122]. Oluşan bu gözenekli yapı yüksek yüzey pürüzlüğü ve buna bağlı olarak yüksek yüzey alanı sağlamaktadır [155].



Şekil 4.3. Anodik oksidasyonu işlemi görmüş Ti6Al4V yüzeylerinin AFM analizi a. nanotüp yapısı, b. nanotüp yapısının yüzeysel görüntüsü, c. nanotüp yapısının topografik görüntüsü

İşlem görmüş tüm yüzey profillerinin aritmetik ortalama yüksekliğinin bir ölçüsü olan Sa değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Kaplanmamış yüzeye kıyasla AO ve EB kaplama yüzeylerin pürüzlülük değerleri AO yüzeydeki nanotüp morfoloji ve EB yüzeydeki nanotüp ve nanoparçacık morfolojiden dolayı artmıştır. Cu kaplanan yüzeylerinin Sa değerlerinin anotlanmış yüzeyden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durum nanotüp yüzeyleri üzerindeki Cu nanoparçacıkların varlığından kaynaklanmaktadır. Genel olarak biriktirme süresinin artmasıyla yüzeydeki parçacıkların miktarı ve dağılımı arttığından, Sa değerleri artmıştır. Cu kaplanan yüzeylerde işlem süresi arttıkça Sa değerinin arttığı gözlemlenmiştir. En pürüzlü yüzey Gr5-1h-90 sn ile elde edilmiştir.

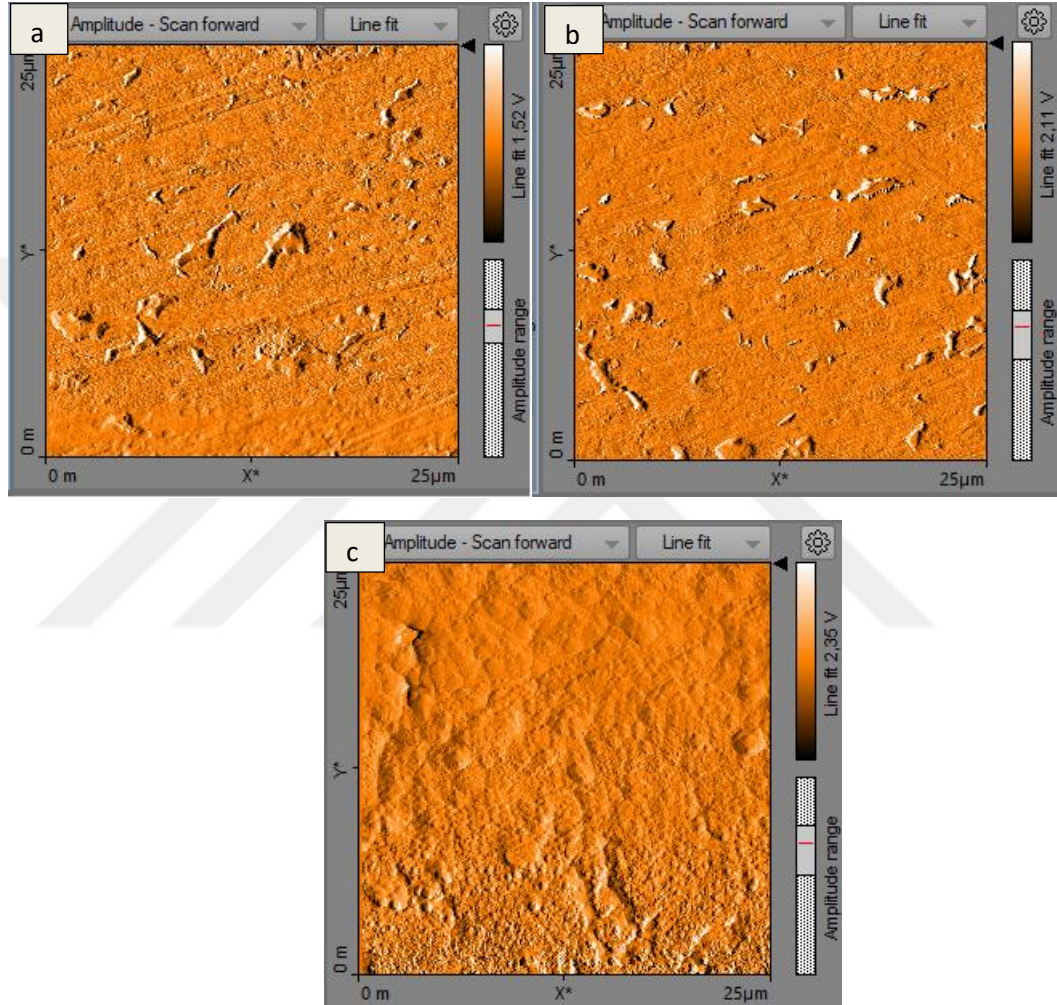
Tablo 4.1. Test edilen tüm yüzeylerin Sa değerleri

NUMUNE	Sa (nm)
Kaplanmamış Ti6Al4V	7.57 nm
Ti6Al4V-50V	24,629 nm
Ti6Al4V -Cu-30sn	47,833 nm
Ti6Al4V -Cu-60sn	54,237 nm
Ti6Al4V -Cu-90sn	96,437 nm

Vücut implantı durumunda yüzey pürüzlülüğü önemli rol oynar. Biyo implantın temel gereksinimi, vücuda implante edilir edilmez yüzeyinde kolay hücre büyümesini kolaylaştırmaktır. Kolay hücre büyümesi için kaplama pürüzlü olmalıdır [156]. Yapılan bir çalışmada daha pürüzsüz Ti üzerinde plastiklere kıyasla daha düşük hücre canlılığı görülmüştür. Bu durum biyomalzeme yüzeylerinin kimyasal bileşimleri ile ilişkilendirilmiştir [90].

Literatürde de modifikasyon uygulanmış Ti6Al4V yüzeyinin AFM analizleri ile karakterizasyonu rapor edilmektedir. Ungueranu ve ark. [157] EB yöntemiyle Ti6Al4V alaşımı yüzeyine hidroksiapatit ve gümüş katkılı hidroksiapatit kaplamıştır.

Elde ettikleri sonuçlara göre, düz bir topografya ($R_a = 28 \text{ nm}$) sergileyen Ti6Al4V substratının aksine, kaplamaların HAp için yaklaşık 200 nm ve Ag-HAp için yaklaşık 900 nm değerleri sunduğunu gözlemlemişlerdir. Ag-HAp kaplamalar için elde edilen daha yüksek pürüzlülüğün Ag topaklaşmalarından kaynaklandığını varsaymışlardır.



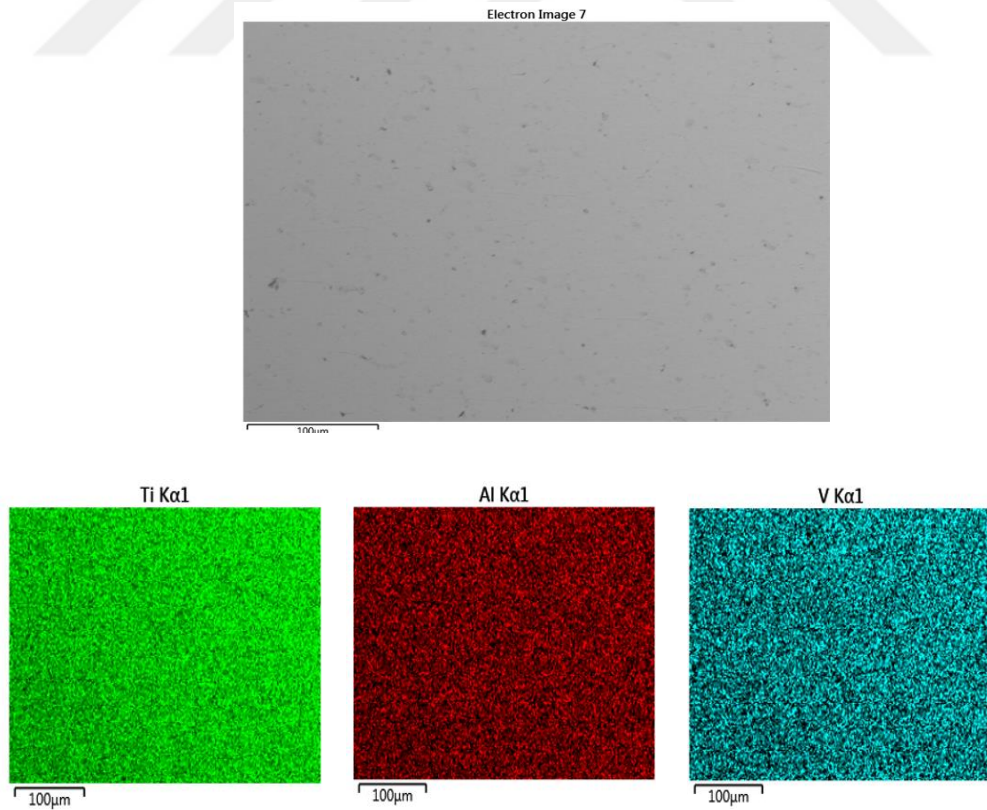
Şekil 4.4. EB yöntemi ile Cu kaplanan yüzeylerin AFM analizi a).Ti6Al4V-Cu-30sn, b).Ti6Al4V-Cu-60sn, c).Ti6Al4V-Cu-90sn

Ayrıca literatürde Cu kaplanan yüzeylerin yüzey pürüzlülüğünün raporlandığı çalışmalarda bulunmaktadır. Durdu [158] mikroark oksidasyon ve termal buharlaştırma yöntemleri kullanarak oluşturdukları Cu kaplı Cp-Ti yüzeylerinin ve işlem görmemiş Cp-Ti yüzeylerinin pürüzlülük değerlerini sırasıyla 1.10 ve 1.16 nm

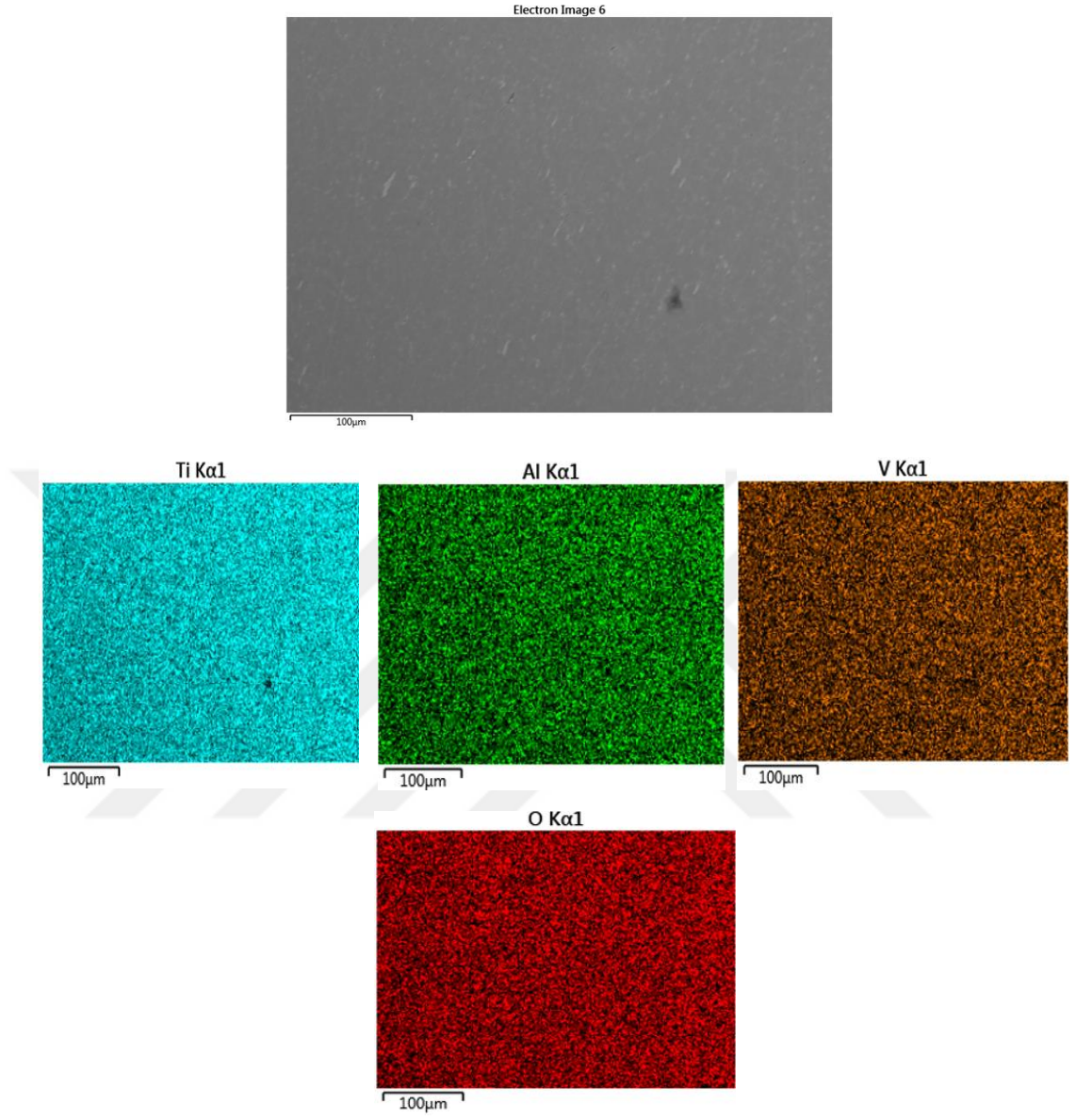
olarak saptamış ve yüzey pürüzlülüğünde önemli ölçüde bir değişim olmadığını rapor etmiştir.

4.3. EDX Analizleri

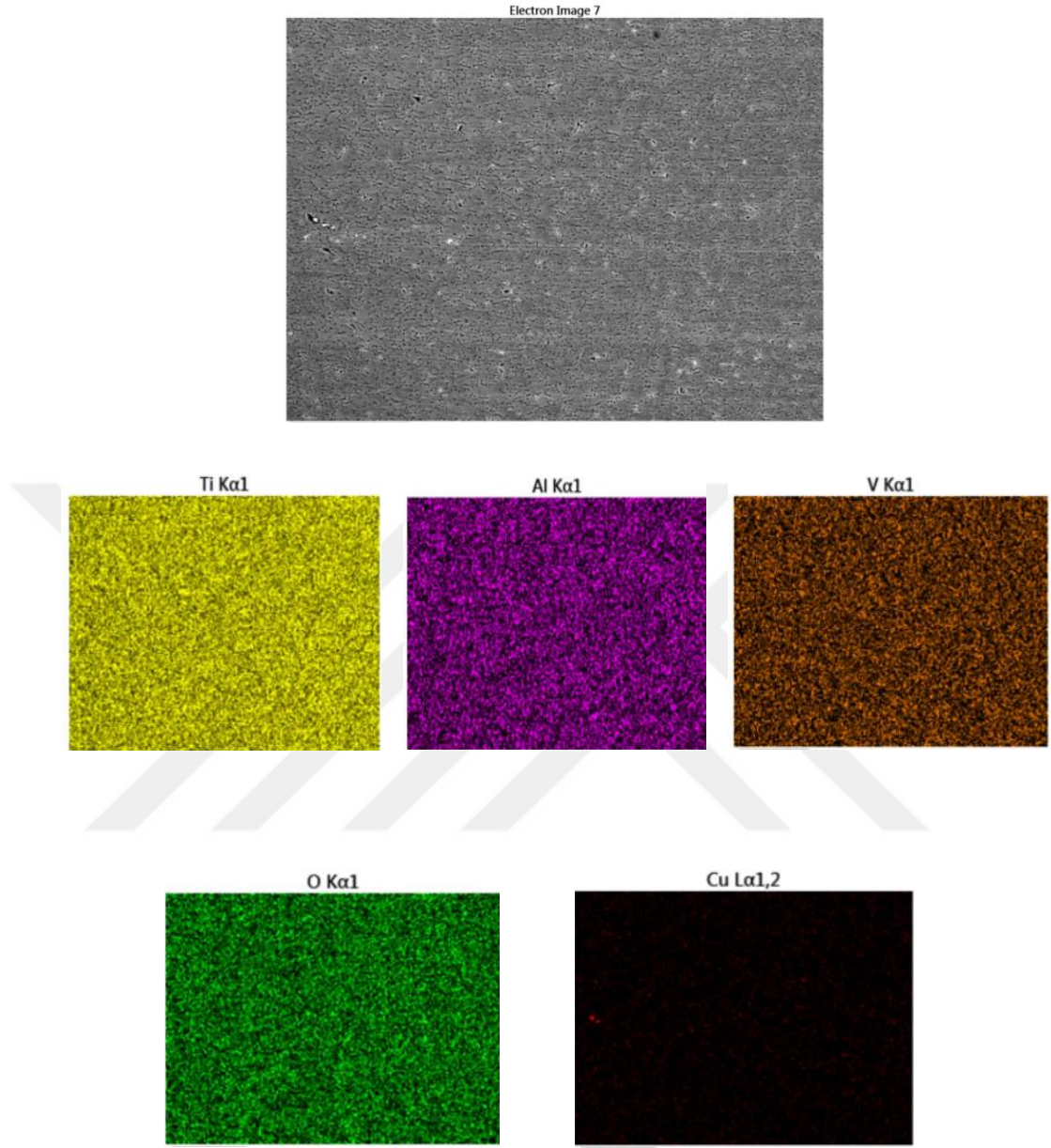
İşlem görmemiş Ti6Al4V, AO işlemi uygulanan nanotüplü yüzey, AO yüzeyinde EB uygulamasıyla 30 sn, 60 sn ve 90 sn işleme tutulmuş bakır kaplamanın EDX dağılım sonuçları sırasıyla Şekil 4.5., Şekil 4.6., Şekil 4.7., Şekil 4.8. ve Şekil 4.9.'da verilmiştir. Tespit edilen Ti, O, Al, V ve Cu elementleri yüzey boyunca homojen bir şekilde dağılmaktadır. Yüzeydeki titanyum altlık metal malzemeden ve oksit tabakadan gelmektedir. Al ve V de aynı şekilde altlık malzemden gelmektedir. Oksijen, titanyum yüzeydeki oksit yapıdan, Cu oluşumu ise EB yönteminde kullanılan bakır yapıdan oluşmaktadır.



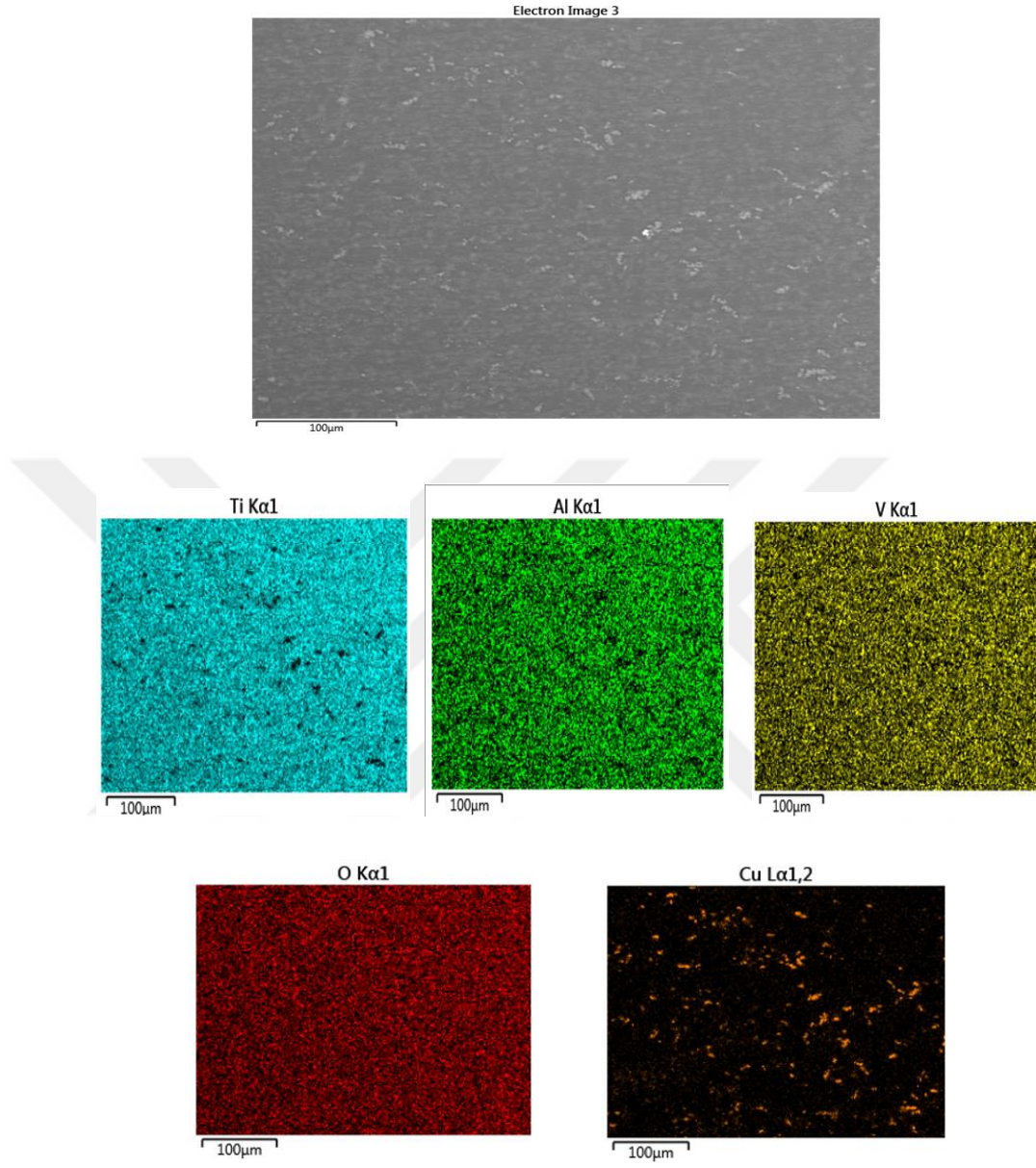
Şekil 4.5. Gr5 yüzeyi elektronik ve atomik dağılım görüntüsü



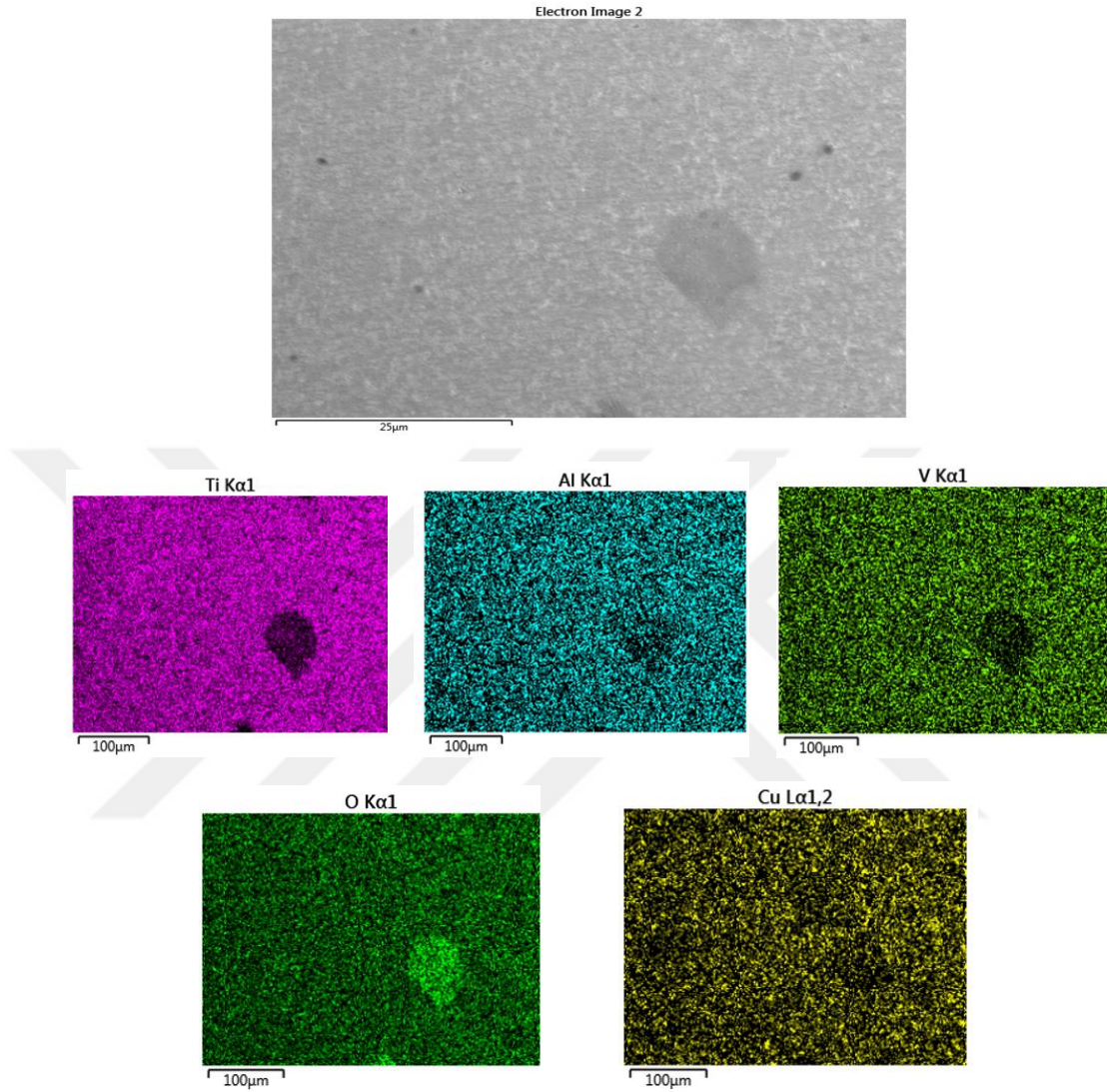
Şekil 4.6. Gr5-50V Elektron ve Atomik Görüntüsü



Şekil 4.7. Gr5-Cu-30sn Yüzeyinde 100 nm Elektron ve Atomik Dağılım Görüntüsü



Şekil 4.8. Gr5-Cu-60sn Yüzeyinde 100 nm Elektron ve Atomik Dağılım Görüntüsü



Şekil 4.9. Gr5-50V-90sn yüzeyinin Elektron ve Atomik Dağılım Görüntüsü

Tüm yüzeylere ait EDX-alan sonuçları Tablo 4.2 ve Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’de verilmiştir. Yüzeydeki Cu miktarının sitotoksite limitin altında olduğu görülmektedir. Lüthen ve ark. [159] yaptıkları çalışmada mezenkimal kök hücrelerin ve MG-63 hücrelerinin büyümesi ve proliferasyonu üzerindeki bakır konsantrasyonunun etkisini araştırmış ve 0.1 mM’deki bakır konsantrasyonunun mezenkimal kök hücre proliferasyonu için uyarıcı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 0,5 mM’deki bakır

konsantrasyonu, canlı hücrelerin düzgün yapışması, büyümesi ve çoğalması için kritik olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.2. Gr5 Atomik Yüzdeleri

Gr5		
ELEMENT	WT%	ATOM%
Ti	90.23	86.29
Al	6.16	10.46
V	3.61	3.25

Tablo 4.3. Gr5-50V Atomik Yüzdeleri

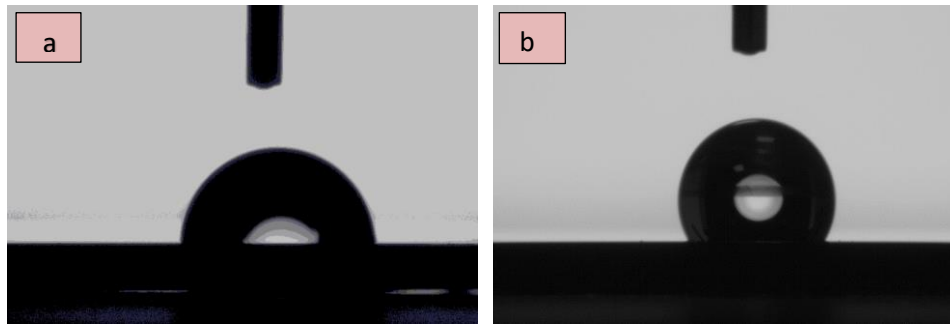
Gr5-50V		
ELEMENT	WT%	ATOM%
Ti	56.81	32.23
Al	3.54	3.57
V	2.71	1.44
O	36.94	62.75

Tablo 4.4. Cu Kaplı Yüzeylerin Atomik Dağılımları

Gr5-50V-30sn			Gr5-50V-60sn			Gr5-50V-90sn		
ELEMENT	WT%	ATOM%	ELEMENT%	WT%	ATOM%	ELEMENT	WT%	ATOM%
Ti	52.75	28.86	Ti	54.05	31.26	Ti	47.53	27.25
Al	3.29	3.20	Al	3.35	3.44	Al	3.01	3.06
V	2.97	1.53	V	2.41	1.31	V	2.18	1.17
O	40.39	66.17	O	35.87	62.11	O	37.44	64.26
Cu	0.59	0.23	Cu	4.31	1.88	Cu	9.85	4.26

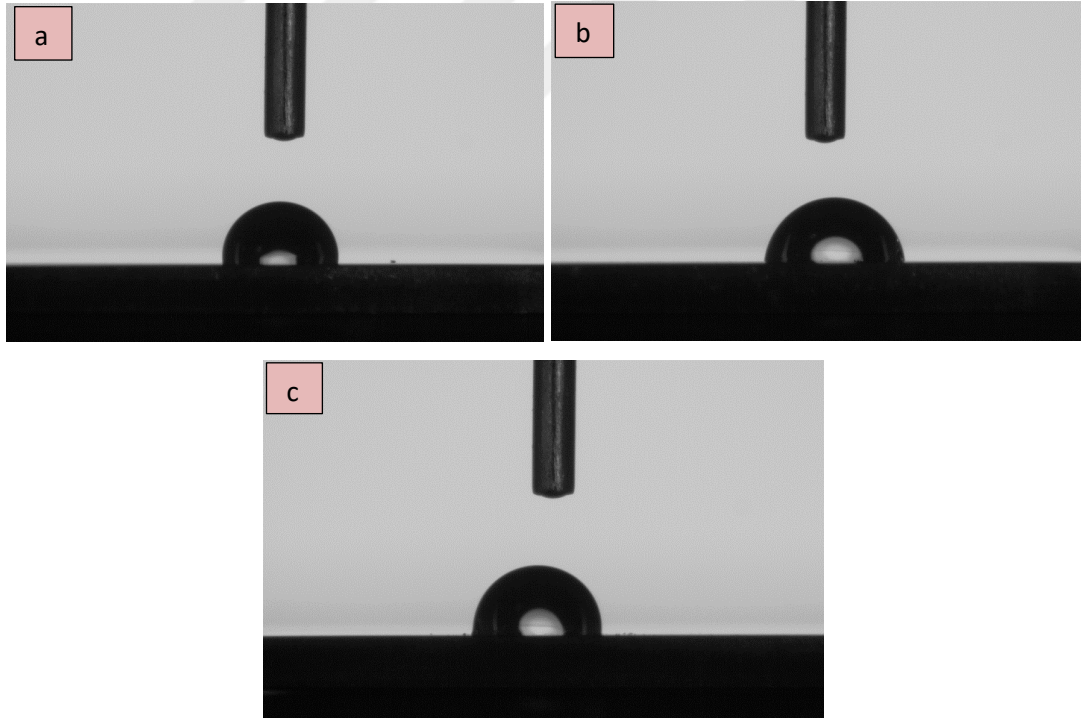
4.4. Temas Açısı Ölçümleri

Ti6Al4V ve yüzeyi anodik oksidasyon işlemiyle 50 V potansiyelde modifiye edilmiş Ti6Al4V kaplamanın temas açıları Şekil 4.9.'da verilmiştir. Yapılan ölçümler sonucu kaplanmamış Ti6Al4V yüzeyinin temas açısı 87.8° , AO yöntemiyle kaplanan yüzeylerin ise temas açısı 120.3° olarak belirlenmiştir. Yapılan kaplama işleminin sonucunda temas açısının arttığı ve yüzeyin ıslanabilirliğinin azaldığı görülmüştür. İlk olarak yüzeyde bulunan pasif oksit tabaka hidrofilik özellik gösterir. Bu durum suyun yüzeyde tamamen yayılması sonucu ıslanabilirliğinin artmasıyla ilişkilendirilir. Yüzeyler kısmen hidroksillenir ve polar bir yapı oluşur. Yüzey pürüzlülüğün armasıyla birlikte hidrofilikliğin azalması Cassie-Baxter durumu ile açıklanabilir. Bu duruma göre sıvı, pürüzlü bir yüzey üzerinde temas hattının altında sıkışan hava ile bir temas hattı oluşturur. Sıvı yüzeydeki oluklara giriş sağlayamaz ve yüzeyde yayılması azalır. Böylece temas açısında artış gözlenmektedir [160]. Temas açısı değeri 90° üzerinde olan yüzeyler hidrofobik, altında olan yüzeyler ise hidrofilik özellik göstermektedir. Bazı çalışmalar hidrofobik yüzeylerin hidrofilik yüzeylere göre daha iyi hücre yapışmasına sahip olduğunu raporlamıştır [161]. Gao ve ark. [162] anodik oksidasyon yöntemiyle düşük pürüzlülük ve iyi aşınma direncine sahip süperhidrofobik titanyum alaşımlı yüzeyler oluşturmuştur.

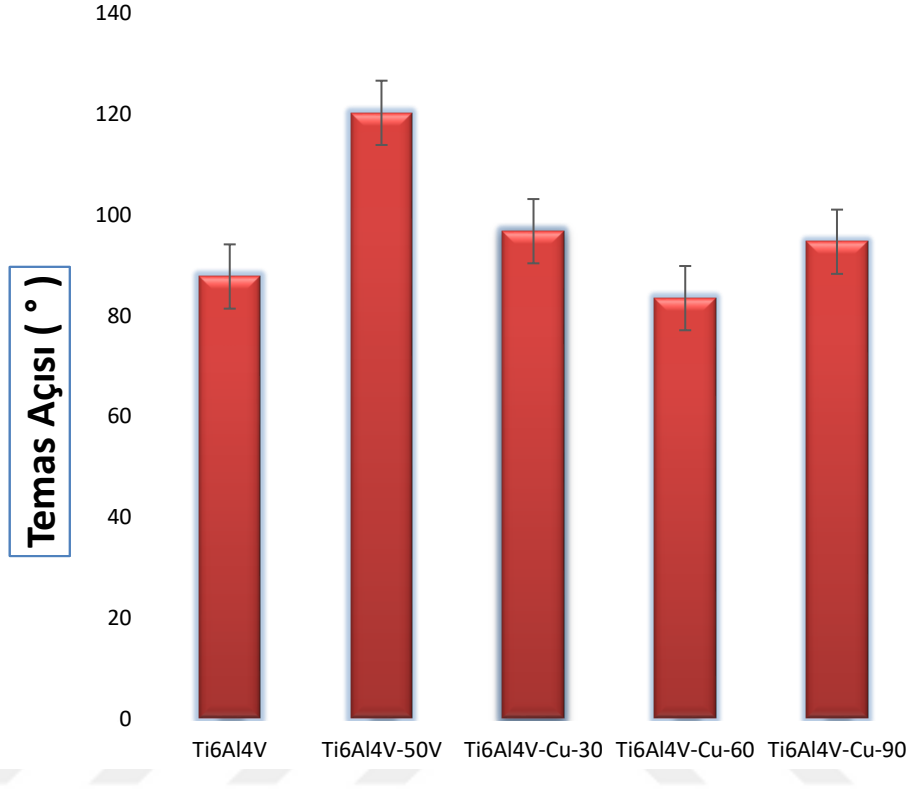


Şekil 4.10. Ti6Al4V ve Ti6Al4V-50V temas açısı görüntüleri

EB yöntemi uygulanan Cu kaplı yüzeylerde zamana bağlı olarak değişen temas açıları da çalışmamızda raporlanmıştır. Uygulama sürelerindeki farklılıklar temas açılarının da farklı olmasını sağlamıştır. Bu değişim oluşan Cu kaplamayla meydana gelen nanopartikül yapıların varlığıyla açıklanabilir. 30, 60 ve 90 sn EB yöntemi uygulanan yüzeylerin temas açıları sırasıyla 96.8° , 83.5° ve 94.7° olarak bulunmuştur. Oluşan temas açısı görüntüleri ise Şekil 4.10.'da verilmiştir. Şekil 4.11.'de ise işlem görmemiş ve modifiye edilmiş yüzeylerin teması açısı değerleri tablo halinde verilmiştir. Huang ve ark. [163] EB yöntemi ile Cp-Ti üzerine stronsiyum ve bakır birlikte ikame edilmiş hidroksiapatit bazlı kaplama yaptıkları çalışmalarında modifiye ettikleri yüzeyin saf titanyuma göre daha düşük temas açısı sergilediğini raporlamışlardır. Ayrıca oluşan hidrofilik yüzeyin malzemelerin biyoaktivitesi ve kemik bağlama davranışı gibi biyolojik özelliklerini iyileştirdiğini belirtmişlerdir. Buna ek olarak yapılan bir başka çalışmada 20° ve 40° temas açısına sahip hidrofilik yüzeylerin hücre tutunmasına daha elverişli olduğunu belirtmişlerdir [164].



Şekil 4.11. Cu kaplı yüzeylerin su ile temas açısı a).Ti6Al4V-Cu-30sn, b).Ti6Al4V-Cu-60sn, c).Ti6Al4V-Cu-90sn

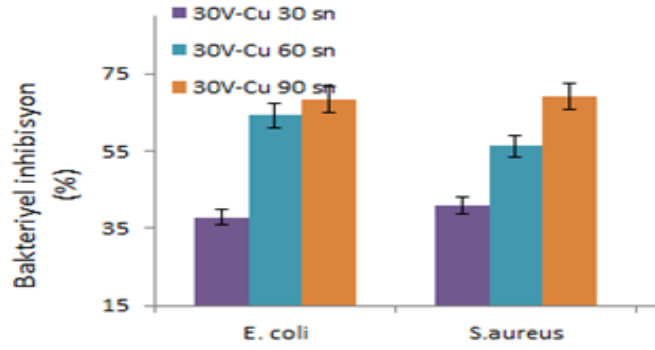


Şekil 4.12. Kullanılan Tüm Yüzeylerin Temas Açısı Değer Grafiği

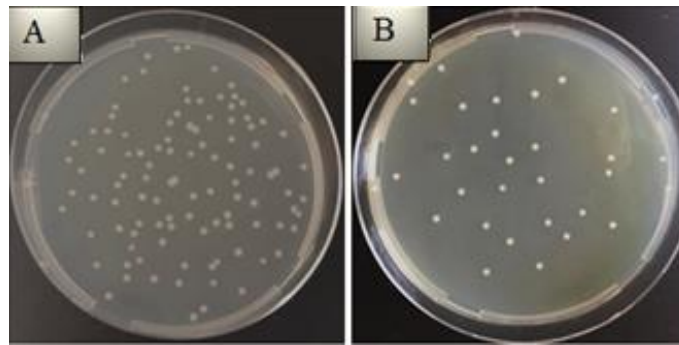
Süperhidrofobik yüzeyler kendi kendine temizleme, biyolojik kirlilik önleyici, yapışma önleyici ve korozyona karşı direnç gibi özellikler sağlamaktadır. Bu tür yüzeyler yüzey enerjisinin düşürülmesiyle elde edilir [165]. Yapılan bir çalışmada süperhidrofobik yüzeylerin enfeksiyon riskini azaltmak için bakterilerin yüzeye yapışmasını engelleyebileceği bildirilmiştir [166]. Ayrıca, pürüzsüz yüzeylerle karşılaştırıldığında, süperhidrofobik yüzeylere sahip implantlar, proteinlerin adsorpsiyonunu ve trombositlerin yapışmasını ve deformasyonunu azaltabilir, bunun kan uyumluluğu ve pıhtılaşma önleyici performansı iyileştirdiğine inanılır [167]. Jiang ve ark. [168] TiO_2 süperhidrofobik kaplamalar hemoliz oranını ve trombosit yapışmasını etkili bir şekilde azalttığından, Ti-6Al-4V alaşımının *in vitro* hemouyumluluğu süperhidrofobik yüzeyler tarafından büyük ölçüde geliştirilebileceğini belirtmişlerdir.

4.5 Antibakteriyel Aktive

Cu kaplı tüm yüzeyler arasında en yüksek antibakteriyel aktivite nanoparçacık yüzey karakteristiğine sahip Gr5-50V-Cu30sn, 60 sn ve 90 sn yüzeyler ile elde edilmiştir. Gr5-50V nanoparçacık yüzeylerin gram negatifler üzerinde %68.14-69.8 aralığında gram pozitiflerde ise %69.4-71.9 aralığında bir antibakteriyel aktivite sergilediği belirlenmiştir. Tüm Cu kaplı Gr5 yüzeyler incelendiğinde en yüksek bakteriyel inhibisyon *S. aureus*'a karşı Gr5-50V-Cu-90sn yüzey ile elde edilmiştir. Cu kaplı Ti6Al4V yüzeylerinin bakteri inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.13.' de verilmiştir. Re-kültürasyon sonrası bakteri kolonilerindeki azalma ise şekil 4.14.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Cu kaplı Ti6Al4V yüzeylerinin bakteri inhibisyon yüzdeleri



Şekil 4.14. Cu kaplı yüzeylerde en yüksek antibakteriyel aktivitenin elde edildiği örneklerde re-kültürasyon sonrasında bakteri kolonilerindeki azalma (*S. aureus* canlılığı) a) Gr5 ve b) Gr5-50V-Cu-90sn yüzeyler

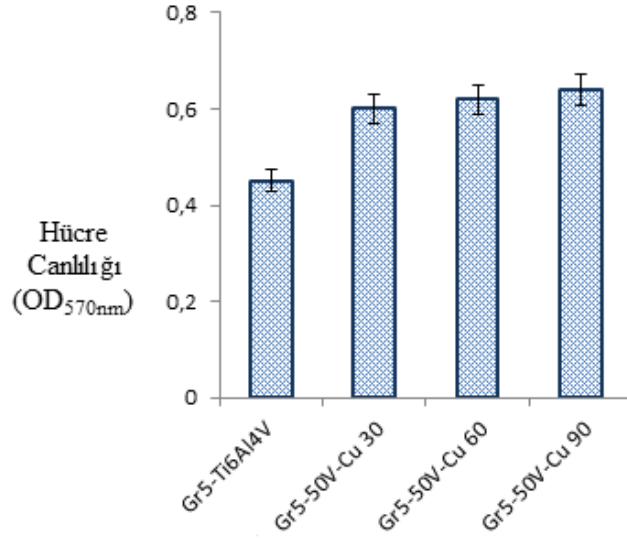
Cu, birçok mekanizma ile bakteriler üzerinde toksik etkilere neden olmaktadır. Bakır iyonlarının hücre duvarını deforme ederek hücre ölümüne neden olması

mekanizmalardan biridir. Bakterilerde membran proteinlerini ve enzimlerini inaktive ederek, taşıyıcı molekülleri bozarak sidal etki oluşturmaları bakırın diğer etki mekanizmalarındandır [161,162]. Bu çalışmadaki bir diğer önemli gözlem, Cu bazlı yüzeylerin gram pozitiflere daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermesidir. Bu sonuç gram pozitif ve gram negatif arasındaki yapısal farklılıklar ile açıklanabilir. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarına ek olarak bir dış zarı vardır, gram-pozitif bakterilerin ise bir dış zarı yoktur. Dış zar, metallerin bakterilere taşınmasını azaltmak için bir bariyer görevi görür. Bu nedenle bakır, gram pozitif hücrelerde hücreye hızla nüfuz eder ve ciddi bir toksik etki oluşur. Ancak dış zar içeren gram-negatif bakterilerde hücreye bakır taşınması sınırlanır; toksik etki oluşumu gecikir ve azalır [171]. Literatürde Cu kaplı yüzeylerin antibakteriyel aktivite sergilediği pek çok çalışma ile rapor edilmiştir. Durdu [158], mikroark oksidasyonu ile Cu biriktirilen yüzeylerin antibakteriyel aktivite üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu ve kaplama kalınlığının artırılması ile antibakteriyel aktivitenin de arttığını bildirmiştir. Gollwitzer ve ark. [172] sol-jel yöntemi ile TiO₂ kaplamasına bakır entegre etmiş ve uygun bir biyouyumluluk-antibakteriyel aktive ulaşması yakalamıştır. Ayrıca *S. aureus*'ın yapışmasını da önemli ölçüde azalttığını raporlamışlardır.

4.6. MTT Test Sonuçları

Cu kaplı Gr5 yüzeylere yapışan hücrelerin canlılığındaki değişim ise Şekil 4.13'de verilmiştir. 50 V anodizasyonla üretilen ve Cu kaplı Gr5 yüzeylerde düşük hücre canlılığı gözlenmiştir. Bu yüzeylerde hücre canlılığının negatif kontrole göre düşük fakat işlem uygulanmamış Gr5 yüzeylere göre kıyasla yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç Cu kaplama işleminin hücre canlılığını arttırdığını göstermektedir. Bu artış nanoparçacık yüzeye sahip olan Gr5-50V-Cu 90 örneklerinde daha belirgindir. Cu kaplı Gr5 yüzeylerdeki hücre canlılığının işlem görmemiş yüzeylere kıyasla yüksek olması Cu metalinin hücre proliferasyonunu arttırıcı etkisi ile ilişkilendirilebilir. Lüthen ve ark. [159] bakır varlığında doza bağlı olarak hücre metabolizmasının uyarıldığını belirtmiştir. Benzer şekilde Heidenau ve ark. [173] ile Zhang ve ark. [18]

da Cu kaplı Ti implantlarının sadece Ti yüzeylere kıyasla kemik iliği hücrelerinin canlılığını arttırdığını rapor etmişlerdir.



Şekil 4.15. Cu kaplı Gr5 yüzeylere yapışan hücrelerin canlılığındaki değişim

4.7. Kan Proteinleri Adsorpsiyonu

Cu kaplı Ti6Al4V yüzeylerde protein adsorpsiyonuna ait sonuçlar Tablo 4.5.'de verilmiştir. Gr 5 yüzeylerin Cu ile kaplanması sonrasında da protein adsorpsiyonunun azaldığı belirlenmiştir.

İnsan vücudunda, bir dizi özel ve temel işlevi yerine getiren binlerce protein vardır. Bunların içinde metal oksit kaplamaların uygulanabileceği implant malzemeler için yüzeyin osteoblast gibi bağ dokusu hücreleri ve plazma bileşenleri ile etkileşimde bulunan proteinler ve lökositler çok önemlidir. Hücre yapışmasını destekleyen vitronektin veya fibronektin gibi proteinlerin adsorpsiyonunun hücre yapışmasını arttırması beklenirken albümin gibi diğer proteinlerin adsorpsiyonunun bir hücre yapışma inhibitörü olarak yüzeyi biyolojik olarak kirletmek gibi bir rol oynaması beklenir. Albümin, çok iyi karakterize edilmiş ve plazmada yüksek miktarda bulunmaları nedeniyle protein adsorpsiyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılan küresel bir taşıma proteindir; plazma proteinlerinin yaklaşık %50'sini oluşturur ve

sonuç olarak hemen hemen her tür implant için mevcuttur [161,162]. Fibrinojen hemouyumluluk süreçlerinde yer alan başka bir proteindir ve *in vitro* olarak hücre yapışmasının desteklenmesinde rol oynar [176]. Diğer yaygın proteinler, lizozim ve bazı globulinler gibi bağışıklık sistemi ile ilgili olanlardır. Bu proteinler, vücut tarafından implantın kabulünü yönlendirerek veya immünolojik reddetme yanıtlarını tetikleyerek yabancı bir maddeye karşı bağışıklık tepkisini kontrol etmede rol oynar [162,164].

Cu kaplı yüzeyler için protein adsorplama eğiliminin fibrinojen>albumin>globulin şeklinde bir sıralama olduğu gözlenmiştir. Protein adsorpsiyonundaki bu değişimler yüzeye uygulanan modifikasyon yöntemleri ile yüzey topoğrafyasındaki ve pürüzlülüğündeki değişimlerle ilişkilidir [170,171].

Yüzeylerin Cu ile kaplanması sonrasında yüzey hidrofiliğiindeki değişim protein-yüzey etkileşimini de değiştirmektedir. Fakat hidrofilik karakter, protein adsorpsiyonda tek başına bir faktör değildir. Pek çok çalışmada protein adsorpsiyonunda porlu yapının da etkili olduğu bilinmektedir. Artan porozite ile malzemenin alt katmanlarına protein iletiminin arttığı ve poroz yapının daha geniş adsorplama alanı sağlayarak protein adsorpsiyonunda önemli değişimlere sebep olduğu rapor edilmektedir [180].

Tablo 4.5. Gr5 ve Cu kaplı Gr5 yüzeylere protein adsorpsiyonu

Örnek	Albumin (mg/cm ²)	Fibrinojen (mg/cm ²)	Gamma-globulin (mg/cm ²)
Gr5-Ti6Al4V	16.73±0.77 ^a	15.91±0.18 ^a	10.65±0.59 ^a
Gr5-50V-Cu 30sn	11.81±0.81 ^b	12.15±0.67 ^{bc}	10.96±0.51 ^a
Gr5-50V-Cu 60sn	10.90±0.56 ^c	11.17±0.71 ^c	10.71±0.28 ^a
Gr5-50V-Cu 90sn	10.16±0.19 ^c	10.83±0.34 ^c	9.85±0.33 ^a

Değerler ortalama±SD olarak gösterildi. Aynı sütunda, farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmamızda Ti6Al4V alaşımının yüzey özellikleri modifiye edilerek daha kullanışlı bir hale getirilmesi hedeflenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu yüzey özellikleri karakterize edilmiş ve sonuçlar literatür bilgileriyle desteklenmiştir.

1. İlk olarak anodik oksidasyon yöntemi uygulanan yüzeyde 50 V ve 1 saat süre sonunda nanotüber yapılar meydana geldiği görülmüştür. Su ile temas açısının arttığı raporlanmıştır.
2. EB yöntemi uygulanarak 3 farklı zaman diliminde bakır nanoparçacık katkılanmış anotlanmış yüzeylerde nanopartiküler yapıların oluştuğu gözlemlenmiştir. Islanabilirlik özelliklerinde de değişimler görülmüştür. Yüzey islanabilirliği, implant materyalinin biyouyumluluğunu belirleyebilen önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir.
3. Antibakteriyel testlerde tüm Cu kaplı yüzeylerin antibakteriyel özellikte olduğu görülmüştür. İnsan vücudunda en çok rastlanan bakterilerden *E.Coli* ve *S.aureus*'a karşı en yüksek bakteriyel inhibisyonun Gr5-50V-Cu-90sn yüzey ile elde edildiği raporlanmıştır. Ayrıca Cu katkılı yüzeylerin gram pozitifler üzerinde gram negatiflere göre daha etkili antibakteriyel aktive gösterdiği tespit edilmiştir.
4. Yapılan MTT testleri sonucu Cu kaplama işleminin hücre canlılığını arttırdığını görülmektedir. En belirgin artış ise Gr5-50V-Cu 90 örneklerinde saptanmıştır.
5. Yapay kan proteinleri adsorpsiyonu testi sonucu Gr 5 yüzeylerin Cu ile kaplanması sonrasında protein adsorpsiyonunun azaldığı belirlenmiştir.
6. Sonuç olarak Cu bazlı kaplamaların yüzey kimyası, morfolojisi, hidrofilikliği, *in vitro* biyoaktivitesi ve *in vitro* antibakteriyel direnci gibi umut verici özelliklerinden dolayı gözenekli, pürüzlü ve biyomedikal yüzey kaplama uygulamaları için potansiyele sahip olduğu söylenebilir. Ayrıca yapılan yüzey modifikasyon işlemlerinin biyouyumlu ve biyoaktif biyomalzemelerin geliştirilmesinde imkân sağladığı görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1]. Güven, Ş.Y., Biyouyumluluk Ve Biyomalzemeleri Seçimi. Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi. 2, 303-311–311, 2014.
- [2]. GÜVEN, Ş.Y., Ortopedik malzemelerin biyouyumlulukları ve mekanik özelliklerine göre seçimi. 2. Ulusal Tasarım İmalat ve Analiz Kongresi. 472–484, 2010.
- [3]. Elias, C.N., Lima, J.H.C., Valiev, R., Meyers, M.A., Biomedical applications of titanium and its alloys Biological Materials Science 46-49. Biological Materials Science. 1–4, 2008.
- [4]. Han, C.H., Johansson, C., Wennerberg, A., Albrektsson, T., A quantitative comparison of commercially Pure Titanium and Titanium-6Aluminium-4vanadium implants in rabbit. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implant. 13, 315–321, 1995.
- [5]. OYAR, P., TİTANTUM Ve Özellikleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 11, 1–22, 2015.
- [6]. Geetha, M., Singh, A.K., Asokamani, R., Gogia, A.K., Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. Progress in Materials Science. 54, 397–425, 2009.
- [7]. Linder, L., Carlsson, A., Marsal, L., Bjursten, L.M., Branemark, P.I., Clinical aspects of osseointegration in joint replacement. A histological study of titanium implants. Journal of Bone and Joint Surgery - Series B. 70, 550–555, 1988.
- [8]. Zhang, Q., Ma, L., Shao, M., Huang, J., Ding, M., Deng, X., Wei, X., Xu, X., Anodic oxidation synthesis of one-dimensional TiO₂ nanostructures for photocatalytic and field emission properties. Journal of Nanomaterials. 2014.
- [9]. Bortolan, C.C., Campanelli, L.C., Bolfarini, C., Oliveira, N.T.C., Fatigue strength of Ti-6Al-4V alloy with surface modified by TiO₂ nanotubes formation. Materials Letters. 177, 46–49, 2016.
- [10]. Zhang, X., Lv, Y., Fu, S., Wu, Y., Lu, X., Yang, L., Liu, H., Dong, Z., Synthesis, microstructure, anti-corrosion property and biological performances of Mn-incorporated Ca-P/TiO₂ composite coating fabricated via micro-arc oxidation. Materials Science and Engineering 117 , 2020.
- [11]. Fang, D., Huang, K., Liu, S., Luo, Z., Qing, X., Zhang, Q., High-density NiTiO₃/TiO₂ nanotubes synthesized through sol-gel method using well-ordered TiO₂ membranes as template. Journal of Alloys and Compounds. 498, 37–41, 2010.

- [12]. Illustrations of various implants and devices used to replace or enhance the function of diseased or missing tissues and organs. Adapted with permission from Hill, 1998. Copyright © 1998, Wiley. 1. Composites. (1998)
- [13]. Discharge, G., Oxidation, P.: Anodizasyon ve Elektriksel Boşalma Plazma Oksidasyon Yüzey İşlemlerinin Ti6Al4V Alaşımının Aşınma Direncine Etkisi The Effect of Anodization and Glow Discharge Plasma Oxidation Surface Treatments on the Wear Resistance of Ti6Al4V Alloy, 2020.
- [14]. Al-Swayih, A.A., The electrochemical behavior of titanium improved by nanotubular oxide formed by anodization for biomaterial applications: A review. *Oriental Journal of Chemistry*. 32, 2841–2856, 2016.
- [15]. Liu, X., Chu, P.K., Ding, C., Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering R: Reports*. 47, 49–121, 2004.
- [16]. Minagar, S., Berndt, C.C., Wang, J., Ivanova, E., Wen, C., A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. *Acta Biomaterialia*. 8, 2875–2888, 2012.
- [17]. Zhao, J., Wang, X., Chen, R., Li, L., Fabrication of titanium oxide nanotube arrays by anodic oxidation. *Solid State Communications*. 134, 705–710, 2005.
- [18]. Zhang, E., Li, F., Wang, H., Liu, J., Wang, C., Li, M., Yang, K., A new antibacterial titanium-copper sintered alloy: Preparation and antibacterial property. *Materials Science and Engineering C*. 33, 4280–4287, 2013.
- [19]. Wan, Y.Z., Xiong, G.Y., Liang, H., Raman, S., He, F., Huang, Y., Modification of medical metals by ion implantation of copper. *Applied Surface Science*. 253, 9426–9429, 2007
- [20]. Liu, H.Y., Wang, X.J., Wang, L.P., Lei, F.Y., Wang, X.F., Ai, H.J., Effect of fluoride-ion implantation on the biocompatibility of titanium for dental applications. *Applied Surface Science*. 254, 6305–6312, 2008.
- [21]. Bai, X., More, K., Rouleau, C.M., Rabiei, A., Functionally graded hydroxyapatite coatings doped with antibacterial components. *Acta Biomaterialia*. 6, 2264–2273, 2010.
- [22]. Miola, M., Ferraris, S., Di Nunzio, S., Robotti, P.F., Bianchi, G., Fucale, G., Maina, G., Cannas, M., Gatti, S., Massé, A., Vitale Brovarone, C., Verné, E., Surface silver-doping of biocompatible glasses to induce antibacterial properties. Part II: Plasma sprayed glass-coatings. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 20, 741–749, 2009.

- [23]. Secinti, K.D., Ayten, M., Kahilogullari, G., Kaygusuz, G., Ugur, H.C., Attar, A., Antibacterial effects of electrically activated vertebral implants. *Journal of Clinical Neuroscience*. 15, 434–439, 2008.
- [24]. Gallardo-Moreno, A.M., Pacha-Olivenza, M.A., Saldaña, L., Pérez-Giraldo, C., Bruque, J.M., Vilaboa, N., González-Martín, M.L., In vitro biocompatibility and bacterial adhesion of physico-chemically modified Ti6Al4V surface by means of UV irradiation. *Acta Biomaterialia*. 5, 181–192, 2009.
- [25]. Necula, B.S., Fratila-Apachitei, L.E., Zaat, S.A.J., Apachitei, I., Duszczek, J., In vitro antibacterial activity of porous TiO₂-Ag composite layers against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomaterialia*. 5, 3573–3580, 2009.
- [26]. Brohede, U., Forsgren, J., Roos, S., Mihranyan, A., Engqvist, H., Strømme, M., Multifunctional implant coatings providing possibilities for fast antibiotics loading with subsequent slow release. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 20, 1859–1867, 2009.
- [27]. Stigter, M., De Groot, K., Layrolle, P., Incorporation of tobramycin into biomimetic hydroxyapatite coating on titanium. *Biomaterials*. 23, 4143–4153, 2002.
- [28]. Yoshinari, M., Oda, Y., Kato, T., Okuda, K., Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro. *Biomaterials*. 22, 2043–2048, 2001
- [29]. Jeyachandran, Y.L., Venkatachalam, S., Karunakaran, B., Narayandass, S.K., Mangalaraj, D., Bao, C.Y., Zhang, C.L., Bacterial adhesion studies on titanium, titanium nitride and modified hydroxyapatite thin films. *Materials Science and Engineering C*. 27, 35–41, 2007
- [30]. Matsumoto, N., Sato, K., Yoshida, K., Hashimoto, K., Toda, Y., Preparation and characterization of β -tricalcium phosphate co-doped with monovalent and divalent antibacterial metal ions. *Acta Biomaterialia*. 5, 3157–3164, 2009.
- [31]. Rosenbaum, J., Versace, D.L., Abbad-Andallousi, S., Pires, R., Azevedo, C., Cénédese, P., Dubot, P., Antibacterial properties of nanostructured Cu-TiO₂ surfaces for dental implants. *Biomaterials Science*. 5, 455–462, 2017.
- [32]. Zhang, X., Li, J., Wang, X., Wang, Y., Hang, R., Huang, X., Tang, B., Chu, P.K., Effects of copper nanoparticles in porous TiO₂ coatings on bacterial resistance and cytocompatibility of osteoblasts and endothelial cells. *Materials Science and Engineering C*. 82, 110–120, 2018.
- [33]. Kuo, M.C., Yen, S.K., The process of electrochemical deposited hydroxyapatite coatings on biomedical titanium at room temperature. *Materials Science and Engineering C*. 20, 153–160, 2002.

- [34]. Zhang, Y., Tao, J., ScienceDirect - Transactions of Nonferrous Metals Society of China : Electrochemical deposition of hydroxyapatite coatings on titanium. Transactions of Nonferrous Metals Society of China. (2006)
- [35]. Huang, L., Zhang, S., Peng, F., Wang, H., Yu, H., Yang, J., Zhang, S., Zhao, H., Electrodeposition preparation of octahedral-Cu₂O-loaded TiO₂ nanotube arrays for visible light-driven photocatalysis. Scripta Materialia. 63, 159–161, 2010.
- [36]. Wang, Q., Qiao, J., Xu, X., Gao, S., Controlled synthesis of Cu nanoparticles on TiO₂ nanotube array photoelectrodes and their photoelectrochemical properties. Materials Letters. 131, 135–137, 2014.
- [37]. Zhang, S., Peng, B., Yang, S., Fang, Y., Peng, F., The influence of the electrodeposition potential on the morphology of Cu₂O/TiO₂ nanotube arrays and their visible-light-driven photocatalytic activity for hydrogen evolution. International Journal of Hydrogen Energy. 38, 13866–13871, 2013.
- [38]. Hejazi, S., Mohajernia, S., Wu, Y., Andryskova, P., Zoppellaro, G., Hwang, I., Tomanec, O., Zboril, R., Schmuki, P., Intrinsic Cu nanoparticle decoration of TiO₂ nanotubes: A platform for efficient noble metal free photocatalytic H₂ production. Electrochemistry Communications. 98, 82–86, 2019.
- [39]. Williams, D.F., On the nature of biomaterials. Biomaterials. 30, 5897–5909, 2009.
- [40]. Mihov, D., Katerska, B., Some Biocompatible Materials Used in Medical Practice. Trakia Journal of Sciences. 8, 119–125, 2010.
- [41]. Festas, A.J., Ramos, A., Davim, J.P., Medical devices biomaterials – A review. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications. 234, 218–228, 2020.
- [42]. Sáenz, A., Rivera, E., Brostow, W., Castaño, V., Ceramic biomaterials: an introductory overview. Journal of Materials Education. 21, 267–276, 1999.
- [43]. Niinomi, M.: Recent research and development in metallic materials for biomedical, dental and healthcare products applications. Materials Science Forum. 539–543, 193–200, 2007.
- [44]. Jayaraj, K., Pius, A., Biocompatible coatings for metallic biomaterials. Elsevier Ltd 2018.
- [45]. Disegi, J.A., Eschbach, L., Stainless steel in bone surgery. Injury. 31, 2000.
- [46]. Ganesh, V.K., Ramakrishna, K., Ghista, D.N., Biomechanics of bone-fracture fixation by stiffness-graded plates in comparison with stainless-steel plates. BioMedical Engineering Online. 4, 1–15, 2005.

- [47]. Niinomi, M., Metallic biomaterials. *Journal of Artificial Organs*. 11, 105–110, 2008.
- [48]. Hussein, M.A., Mohammed, A.S., Al-Aqeeli, N., Wear characteristics of metallic biomaterials: A review. *Materials*. 8, 2749–2768, 2015.
- [49]. Marti, A., Cobalt-base alloys used in surgery. *Injury*. 31, 0–3, 2000.
- [50]. Pohler, O.E.M., Unalloyed titanium for implants in bone surgery. *Injury*. 31, 2000.
- [51]. Alam, M.O., Haseeb, A.S.M.A., Response of Ti-6Al-4V and Ti-24Al-11Nb alloys to dry sliding wear against hardened steel. *Tribology International*. 35, 357–362, 2002.
- [52]. Frosch, K.H., Stürmer, K.M., Metallic biomaterials in skeletal repair. *European Journal of Trauma*. 32, 149–159, 2006.
- [53]. Kunčická, L., Kocich, R., Lowe, T.C., Advances in metals and alloys for joint replacement. *Progress in Materials Science*. 88, 232–280, 2017.
- [54]. Schuh, A., Thomas, P., Kachler, W., Göske, J., Wagner, L., Holzwarth, U., Forst, R., Das allergiepotenzial von implantatwerkstoffen auf titanbasis. *Orthopade*. 34, 327–333, 2005.
- [55]. Rogers, S.D., Howie, D.W., Graves, S.E., Percy, M.J., Haynes, D.R., In vitro human monocyte response to wear particles of titanium alloy containing vanadium or niobium. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series B*. 79, 311–315, 1997.
- [56]. Adya, N., Alam, M., Ravindranath, T., Mubeen, A., Saluja, B., Corrosion in titanium dental implants: Literature review. *Journal of Indian Prosthodontist Society*. 5, 126–131, 2005.
- [57]. Donachie, M.J., *Titanium: A Technical Guide*, 2nd Edition. ASM International. 128, 2000.
- [58]. Brown, S.A., Lemons, J.E., *Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Material and Biological Issues*. Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Material and Biological Issues 1996.
- [59]. Agrawal, D.C., *Bulk Nanostructured Materials* 2013.
- [60]. Kulkarni, M., Mazare, A., Schmuki, P., Iglič, A., Biomaterial surface modification of titanium and titanium alloys for medical applications. *Nanomedicine*. 111–136, 2014.

- [61]. Ribeiro-Carvalho, S., Pereira, R.B.D., Horovistiz, A., Davim, J.P., Intelligent machining methods for Ti6Al4V: A review. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part E: Journal of Process Mechanical Engineering*. 2020.
- [62]. Ask, M., Lausmaa, J., Kasemo, B., Preparation and surface spectroscopic characterization of oxide films on Ti6Al4V. *Applied Surface Science*. 35, 283–301, 1989.
- [63]. Sittig, C., Textor, M., Spencer, N.D., Wieland, M., Vallotton, P.H., Surface characterization of implant materials c.p. Ti, Ti-6Al-7Nb and Ti-6Al-4V with different pretreatments. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 10, 35–46, 1999.
- [64]. Kumar, S., Sankara Narayanan, T.S.N., Saravana Kumar, S., Influence of fluoride ion on the electrochemical behaviour of β -Ti alloy for dental implant application. *Corrosion Science*. 52, 1721–1727, 2010.
- [65]. Cera, C., Crothers, D.M., Modulation of mitomycin cross-linking by DNA bending in the escherichia coli CAP protein-DNA complex. *Biochemistry*. 28, 3908–3911, 1989.
- [66]. Estrada-Cabrera, E., Torres-Ferrer, L.R., Aztatzi-Aguilar, O.G., De Vizcaya-Ruiz, A., Meraz-Rios, M.A., Zarate-Triviño, D.G., Arizmendi-Morquecho, A., de Luna Bugallo, A., Prokhorov, E., Luna-Barcenas, G., Chitosan-bioglass coatings on partially nanostructured anodized Ti-6Al-4V alloy for biomedical applications. *Surface and Coatings Technology*. 375, 468–476, 2019.
- [67]. Ayday, A., Mikro Ark Oksidasyon İşlemi ile Kaplanan Ti6Al4V Alaşımının Yüzey Karakterizasyonu Ve Korozyon Özelliklerinin İncelenmesi. *SAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 22, 1–1, 2018.
- [68]. Wang, S., Liao, Z., Liu, Y., Liu, W., Influence of thermal oxidation duration on the microstructure and fretting wear behavior of Ti6Al4V alloy. *Materials Chemistry and Physics*. 159, 139–151, 2015.
- [69]. Eisenbarth, E., Velten, D., Müller, M., Thull, R., Breme, J., Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys. *Biomaterials*. 25, 5705–5713, 2004.
- [70]. Zhang, X., Wu, H., Geng, Z., Huang, X., Hang, R., Ma, Y., Yao, X., Tang, B., Microstructure and cytotoxicity evaluation of duplex-treated silver-containing antibacterial TiOO2 coatings. *Materials Science and Engineering C*. 45, 402–410, 2014.
- [71]. Grigorescu, S., Ungureanu, C., Kirchgeorg, R., Schmuki, P., Demetrescu, I., Various sized nanotubes on TiZr for antibacterial surfaces. *Applied Surface Science*. 270, 190–196, 2013.

- [72]. Asri, R.I.M., Harun, W.S.W., Samykano, M., Lah, N.A.C., Ghani, S.A.C., Tarlochan, F., Raza, M.R., Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review. *Materials Science and Engineering C*. 77, 1261–1274, 2017.
- [73]. Hedberg, Y.S., Qian, B., Shen, Z., Virtanen, S., Odnevall Wallinder, I., In vitro biocompatibility of CoCrMo dental alloys fabricated by selective laser melting. *Dental Materials*. 30, 525–534, 2014.
- [74]. Macak, J.M., Tsuchiya, H., Ghicov, A., Yasuda, K., Hahn, R., Bauer, S., Schmuki, P., TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 11, 3–18, 2007.
- [75]. Castleman, L.S., Motzkin, S.M., Alicandri, F.P., Bonawit, V.L., Johnson, A.A., Biocompatibility of nitinol alloy as an implant material. *Journal of Biomedical Materials Research*. 10, 695–731, 1976.
- [76]. W. Nicholson, J., Titanium Alloys for Dental Implants: A Review. *Prosthesis*. 2, 100–116, 2020.
- [77]. Jemat, A., Ghazali, M.J., Razali, M., Otsuka, Y., Surface modifications and their effects on titanium dental implants. *BioMed Research International*. 2015.
- [78]. Blumenthal, N.C., Cosma, V., Inhibition of apatite formation by titanium and vanadium ions. *Journal of Biomedical Materials Research*. 23, 13–22, 1989.
- [79]. Fisica, C., Milano, P., Leonardo, P.: Increasing of the corrosion resistance of the Ti6Al4V alloy by high thickness anodic oxidation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 3, 408–412, 1992.
- [80]. Nuss, K.M.R., Rechenberg, B. von, Biocompatibility Issues with Modern Implants in Bone - A Review for Clinical Orthopedics. *The Open Orthopaedics Journal*. 2, 66–78, 2008.
- [81]. Hori, K., Matsumoto, S., Bacterial adhesion: From mechanism to control, 2010.
- [82]. Infections, I., New surfaces with hydrophilic / hydrophobic characteristics in relation to (no) bioadhesion. 29, 453–461, 2006.
- [83]. Arciola, C.R., Campoccia, D., Speziale, P., Montanaro, L., Costerton, J.W., Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. *Biomaterials*. 33, 5967–5982, 2012.
- [84]. Nouri, A., Wen, C., Introduction to surface coating and modification for metallic biomaterials. Elsevier Ltd 2015.

- [85]. Mora, M.F., Wehmeyer, J.L., Synowicki, R., Garcia, C.D., Biological Interactions on Materials Surfaces. *Biological Interactions on Materials Surfaces*. 19–41, 2009.
- [86]. 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. *Journal of Biomedical Materials Research*. 31, 209–217, 1996.
- [87]. Sul, Y.T., Kang, B.S., Johansson, C., Um, H.S., Park, C.J., Albrektsson, T., The roles of surface chemistry and topography in the strength and rate of osseointegration of titanium implants in bone. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 89, 942–950, 2009.
- [88]. Paital, S.R., Dahotre, N.B., Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies. *Materials Science and Engineering R: Reports*. 66, 1–70, 2009.
- [89]. Gittens, R.A., Scheideler, L., Rupp, F., Hyzy, S.L., Geis-Gerstorfer, J., Schwartz, Z., Boyan, B.D., A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects. *Acta Biomaterialia*. 10, 2907–2918, 2014.
- [90]. Le Guéhennec, L., Soueidan, A., Layrolle, P., Amouriq, Y., Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration, 2007.
- [91]. Kennedy, S.B., Washburn, N.R., Simon, C.G., Amis, E.J., Combinatorial screen of the effect of surface energy on fibronectin-mediated osteoblast adhesion, spreading and proliferation. *Biomaterials*. 27, 3817–3824, 2006.
- [92]. Qiu, Q., Sayer, M., Kawaja, M., Shen, X., Davies, J.E., Attachment, morphology, and protein expression of rat marrow stromal cells cultured on charged substrate surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*. 42, 117–127, 1998.
- [93]. Boyan, B.D., Sylvia, V.L., Liu, Y., Sagun, R., Cochran, D.L., H. Lohmann, C., Dean, D.D., Schwartz, Z., Surface roughness mediates its effects on osteoblasts via protein kinase A and phospholipase A2. *Biomaterials*. 20, 2305–2310, 1999.
- [94]. Jayaraman, M., Meyer, U., Bühner, M., Joos, U., Wiesmann, H.P., Influence of titanium surfaces on attachment of osteoblast-like cells in vitro. *Biomaterials*. 25, 625–631, 2004.
- [95]. Nanci, A., Wuest, J.D., Peru, L., Brunet, P., Sharma, V., Zalzal, S., McKee, M.D., Chemical modification of titanium surfaces for covalent attachment of biological molecules. *Canadian Association of Radiologists Journal*. 49, 324–335, 1998.

- [96]. Li, P., Kangasniemi, I., de Groot, K., Kokubo, T., Bonelike Hydroxyapatite Induction by a Gel-Derived Titania on a Titanium Substrate. *Journal of the American Ceramic Society*. 77, 1307–1312, 1994.
- [97]. Durán, A., Castro, Y., Aparicio, M., Conde, A., De Damborenea, J.J., Protection and surface modification of metals with sol-gel coatings. *International Materials Reviews*. 52, 175–192, 2007.
- [98]. Trommer, R.M., Santos, L.A., Bergmann, C.P., Alternative technique for hydroxyapatite coatings. *Surface and Coatings Technology*. 201, 9587–9593, 2007.
- [99]. Wilks, R.G., Jr, E.S., Kurmaev, E.Z., Yablonskikh, M. V., Moewes, A., Kuromoto, N.K., Soares, G.A., Characterization of oxide layers formed on electrochemically treated Ti by using soft X-ray absorption measurements. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*. 169, 46–50, 2009.
- [100]. Baram, N., Starosvetsky, D., Starosvetsky, J., Epshtein, M., Armon, R., Ein-Eli, Y., Enhanced inactivation of *E. coli* bacteria using immobilized porous TiO₂ photoelectrocatalysis. *Electrochimica Acta*. 54, 3381–3386, 2009.
- [101]. Kim, D.S., Han, S.J., Kwak, S.Y., Synthesis and photocatalytic activity of mesoporous TiO₂ with the surface area, crystallite size, and pore size. *Journal of Colloid and Interface Science*. 316, 85–91, 2007.
- [102]. Hoseini, M., Jedenmalm, A., Boldizar, A., Tribological investigation of coatings for artificial joints. *Wear*. 264, 958–966, 2008.
- [103]. Gaona, M., Lima, R.S., Marple, B.R., Influence of particle temperature and velocity on the microstructure and mechanical behaviour of high velocity oxy-fuel (HVOF)-sprayed nanostructured titania coatings. *Journal of Materials Processing Technology*. 198, 426–435, 2008.
- [104]. An, Y.B., Lee, W.H., Synthesis of porous titanium implants by environmental-electro-discharge- sintering process. *Materials Chemistry and Physics*. 95, 242–247, 2006.
- [105]. Lohrengel, M.M., A Review Journal. *Materials Science*. 12, 243–294, 1993.
- [106]. Park, Y.J., Shin, K.H., Song, H.J., Effects of anodizing conditions on bond strength of anodically oxidized film to titanium substrate. *Applied Surface Science*. 253, 6013–6018, 2007.
- [107]. Yu, W.Q., Qiu, J., Xu, L., Zhang, F.Q., Corrosion behaviors of TiO₂ nanotube layers on titanium in Hank's solution. *Biomedical Materials*. 4, 2009.

- [108]. Diamanti, M.V., del Curto, B., Pedferri, M., Anodic oxidation of titanium: From technical aspects to biomedical applications. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics*. 9, 55–69, 2011.
- [109]. Sreekantan, S., Lockman, Z., Hazan, R., Tasbihi, M., Tong, L.K., Mohamed, A.R., Influence of electrolyte pH on TiO₂ nanotube formation by Ti anodization. *Journal of Alloys and Compounds*. 485, 478–483, 2009.
- [110]. Yi, Z., Zeng, Y., Wu, H., Chen, X., Fan, Y., Yang, H., Tang, Y., Yi, Y., Wang, J., Wu, P., Synthesis, surface properties, crystal structure and dye-sensitized solar cell performance of TiO₂ nanotube arrays anodized under different parameters. *Results in Physics*. 15, 2019.
- [111]. Albu, S.P., Schmuki, P., Influence of anodization parameters on the expansion factor of TiO₂ nanotubes. *Electrochimica Acta*. 91, 90–95, 2013.
- [112]. Turner, K.B., Monti, S.A., Fabris, D., Like polarity ion/ion reactions enable the investigation of specific metal interactions in nucleic acids and their noncovalent assemblies. *Journal of the American Chemical Society*. 130, 13353–13363, 2008.
- [113]. Lockman, Z., Sreekantan, S., Ismail, S., Schmidt-Mende, L., MacManus-Driscoll, J.L., Influence of anodisation voltage on the dimension of titania nanotubes. *Journal of Alloys and Compounds*. 503, 359–364, 2010.
- [114]. Cai, Q., Paulose, M., Varghese, O.K., Grimes, C.A., The effect of electrolyte composition on the fabrication of self-organized titanium oxide nanotube arrays by anodic oxidation. *Journal of Materials Research*. 20, 230–236, 2005.
- [115]. Wang, D., Hu, T., Hu, L., Yu, B., Xia, Y., Zhou, F., Liu, W., Microstructured arrays of TiO₂ nanotubes for improved photo-electrocatalysis and mechanical stability. *Advanced Functional Materials*. 19, 1930–1938, 2009.
- [116]. Xu, X., Fang, X., Zhai, T., Zeng, H., Liu, B., Hu, X., Bando, Y., Golberg, D., Tube-in-tube TiO₂ nanotubes with porous walls: Fabrication, formation mechanism, and photocatalytic properties. *Small*. 7, 445–449, 2011.
- [117]. MacAk, J.M., Sirotna, K., Schmuki, P., Self-organized porous titanium oxide prepared in Na₂SO₄/NaF electrolytes. *Electrochimica Acta*. 50, 3679–3684, 2005.
- [118]. Paulose, M., Varghese, O.K., Mor, G.K., Grimes, C.A., Ong, K.G., Unprecedented ultra-high hydrogen gas sensitivity in undoped titania nanotubes. *Nanotechnology*. 17, 398–402, 2006.

- [119]. Pham, H.T., Nguyen, T.D., Tran, D.Q., Akabori, M., Structural, optical and electrical properties of well-ordered ZnO nanowires grown on (1 1 1) oriented Si, GaAs and InP substrates by electrochemical deposition method. *Materials Research Express*. 4, 2017.
- [120]. Mavukkandy, M.O., McBride, S.A., Warsinger, D.M., Dizge, N., Hasan, S.W., Arafat, H.A., Thin film deposition techniques for polymeric membranes– A review. *Journal of Membrane Science*. 610, 2020.
- [121]. Arulmani, S., Anandan, S., Ashokkumar, M., Introduction to advanced nanomaterials. Elsevier Inc. 2018.
- [122]. LeGeros, J.P., Lin, S.J., Mijares, D.Q., Dimaano, F., LeGeros, R.Z., Electrochemically Deposited Calcium Phosphate Coating on Titanium Alloy Substrates. *Key Engineering Materials*. 284–286, 247–250, 2005.
- [123]. Akira, F., Kenichi, H., Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode. *Nature*. 238, 37–38, 1972.
- [124]. Kiriakidou, F., Kondarides, D.I., Verykios, X.E., The effect of operational parameters and TiO₂-doping on the photocatalytic degradation of azo-dyes. *Catalysis Today*. 54, 119–130, 1999.
- [125]. Costa, L.L., Prado, A.G.S., TiO₂ nanotubes as recyclable catalyst for efficient photocatalytic degradation of indigo carmine dye. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 201, 45–49, 2009.
- [126]. Narayanan, R., Seshadri, S.K., Anodic oxide coatings on Ti-6Al-4V produced from electrolyte containing Ca and P - Corrosion aspects. *Journal of Applied Electrochemistry*. 36, 475–479, 2006.
- [127]. Varghese, O.K., Gong, D., Paulose, M., Ong, K.G., Grimes, C.A., Hydrogen sensing using titania nanotubes. *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 93, 338–344, 2003.
- [128]. Pillai, P., Raja, K.S., Misra, M., Electrochemical storage of hydrogen in nanotubular TiO₂ arrays. *Journal of Power Sources*. 161, 524–530, 2006.
- [129]. An, L.P., Gao, X.P., Li, G.R., Yan, T.Y., Zhu, H.Y., Shen, P.W., Electrochemical lithium storage of titania nanotubes modified with NiO nanoparticles. *Electrochimica Acta*. 53, 4573–4579, 2008.
- [130]. Balaur, E., MacAk, J.M., Taveira, L., Schmuki, P., Tailoring the wettability of TiO₂ nanotube layers. *Electrochemistry Communications*. 7, 1066–1070, 2005.
- [131]. Crawford, G.A., Chawla, N., Houston, J.E., Nanomechanics of biocompatible TiO₂ nanotubes by Interfacial Force Microscopy (IFM). *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2, 580–587, 2009.

- [132]. Ercan, B., Webster, T.J., The effect of biphasic electrical stimulation on osteoblast function at anodized nanotubular titanium surfaces. *Biomaterials*. 31, 3684–3693, 2010.
- [133]. Zlamal, M., Macak, J.M., Schmuki, P., Krýsa, J., Electrochemically assisted photocatalysis on self-organized TiO₂ nanotubes. *Electrochemistry Communications*. 9, 2822–2826, 2007.
- [134]. Song, H., Qiu, X., Guo, D., Li, F., Role of structural H₂O in TiO₂ nanotubes in enhancing Pt/C direct ethanol fuel cell anode electro-catalysts. *Journal of Power Sources*. 178, 97–102, 2008.
- [135]. Ribbens, S., Meynen, V., Tendeloo, G. Van, Ke, X., Mertens, M., Maes, B.U.W., Cool, P., Vansant, E.F., Development of photocatalytic efficient Ti-based nanotubes and nanoribbons by conventional and microwave assisted synthesis strategies. *Microporous and Mesoporous Materials*. 114, 401–409, 2008.
- [136]. Arruda, L.B., Santos, C.M., Orlandi, M.O., Schreiner, W.H., Lisboa-Filho, P.N., Formation and evolution of TiO₂ nanotubes in alkaline synthesis. *Ceramics International*. 41, 2884–2891, 2015.
- [137]. Schmitz, K.S., the Sogami-Ise Interaction Potential between Macroions of Like Charge. 12, 1407–1410, 1996.
- [138]. Yin, H., Liu, H., Shen, W.Z., The large diameter and fast growth of self-organized TiO₂ nanotube arrays achieved via electrochemical anodization. *Nanotechnology*. 21, 2010.
- [139]. Mura, F., Masci, A., Pasquali, M., Pozio, A., Effect of a galvanostatic treatment on the preparation of highly ordered TiO₂ nanotubes. *Electrochimica Acta*. 54, 3794–3798, 2009.
- [140]. Wu, S., Wang, S., Liu, W., Yu, X., Wang, G., Chang, Z., Wen, D., Microstructure and properties of TiO₂ nanotube coatings on bone plate surface fabrication by anodic oxidation. *Surface and Coatings Technology*. 374, 362–373, 2019.
- [141]. Tsuchiya, H., MacAk, J.M., Ghicov, A., Taveira, L., Schmuki, P., Self-organized porous TiO₂ and ZrO₂ produced by anodization. *Corrosion Science*. 47, 3324–3335, 2005.
- [142]. Zhao, L., Chu, P.K., Zhang, Y., Wu, Z., Antibacterial coatings on titanium implants. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. 91, 470–480, 2009.

- [143]. Simchi, A., Tamjid, E., Pishbin, F., Boccaccini, A.R., Recent progress in inorganic and composite coatings with bactericidal capability for orthopaedic applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 7, 22–39, 2011.
- [144]. Ferraris, S., Spriano, S., Antibacterial titanium surfaces for medical implants. *Materials Science and Engineering C*. 61, 965–978, 2016.
- [145]. Wan, Y.Z., Raman, S., He, F., Huang, Y., Surface modification of medical metals by ion implantation of silver and copper. *Vacuum*. 81, 1114–1118, 2007.
- [146]. Li, J., Zhai, D., Lv, F., Yu, Q., Ma, H., Yin, J., Yi, Z., Liu, M., Chang, J., Wu, C., Preparation of copper-containing bioactive glass/eggshell membrane nanocomposites for improving angiogenesis, antibacterial activity and wound healing. *Acta Biomaterialia*. 36, 254–266, 2016.
- [147]. 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.
- [148]. Şahin, R., *Staphylococcus aureus* Suşlarında Biyofilm Üretimi, Biyofilm Pozitif Ve Negatif Suşların Genotik ve Fenotipik Karakterlerinin Karşılaştırılması 2007.
- [149]. Zakir, O., Idouhli, R., Elyaagoubi, M., Khadiri, M., Aityoub, A., Koumya, Y., Rafqah, S., Abouelfida, A., Outzourhit, A., Fabrication of TiO₂Nanotube by Electrochemical Anodization: Toward Photocatalytic Application. *Journal of Nanomaterials*. 2020.
- [150]. Zhitomirsky, I., Gal-Or, L., Electrophoretic deposition of hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 8, 213–219, 1997.
- [151]. Boccaccini, A.R., Keim, S., Ma, R., Li, Y., Zhitomirsky, I., Electrophoretic deposition of biomaterials. *Journal of the Royal Society Interface*. 7, 2010.
- [152]. Thanh, T.T., Cotrut, C.M., Vranceanu, M.D., Ungureanu, E., Tarcolea, M., Studies of microstructure and composition of modified hydroxyapatite coatings via sem investigations. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*. 82, 145–154, 2020.
- [153]. Surmeneva, M., Lapanje, A., Chudinova, E., Ivanova, A., Koptuyug, A., Loza, K., Prymak, O., Eppele, M., Ennen-Roth, F., Ulbricht, M., Rijavec, T., Surmenev, R., Decreased bacterial colonization of additively manufactured Ti6Al4V metallic scaffolds with immobilized silver and calcium phosphate nanoparticles. *Applied Surface Science*. 480, 822–829, 2019.

- [154]. Kim, D., Schmidt-Stein, F., Hahn, R., Schmuki, P., Gravity assisted growth of self-organized anodic oxide nanotubes on titanium. *Electrochemistry Communications*. 10, 1082–1086, 2008.
- [155]. Indira, K., Mudali, U.K., Nishimura, T., Rajendran, N., A Review on TiO₂ Nanotubes: Influence of Anodization Parameters, Formation Mechanism, Properties, Corrosion Behavior, and Biomedical Applications. *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*. 1, 1–22, 2015.
- [156]. Singh, G., Singh, S., Prakash, S., Surface characterization of plasma sprayed pure and reinforced hydroxyapatite coating on Ti6Al4V alloy. *Surface and Coatings Technology*. 205, 4814–4820, 2011.
- [157]. Ungureanu, E., Ionescu, I.C., Zamfir-Andronic, R.I., Vasilescu, M., Milea, C.G., Dobrescu, M., Vranceanu, D.M., Cotrut, C.M., Biofunctionalization of ti6al4v surface with ag modified hap coatings via electrochemical deposition. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*. 82, 307–324, 2020.
- [158]. Durdu, S., Characterization, bioactivity and antibacterial properties of copper-based TiO₂ bioceramic coatings fabricated on titanium. *Coatings*. 9, 2019.
- [159]. Lüthen, F., Bergemann, C., Bulnheim, U., Prinz, C., Neumann, H.G., Podbielski, A., Bader, R., Rychly, J., A dual role of copper on the surface of bone implants. *Materials Science Forum*. 638–642, 600–605, 2010.
- [160]. Balaur, E., Macak, J.M., Tsuchiya, H., Schmuki, P., Wetting behaviour of layers of TiO₂ nanotubes with different diameters. *Journal of Materials Chemistry*. 15, 4488–4491, 2005.
- [161]. Faucheux, N., Schweiss, R., Lützow, K., Werner, C., Groth, T., Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studies. *Biomaterials*. 25, 2721–2730, 2004.
- [162]. Gao, Y., Sun, Y., Guo, D., Facile fabrication of superhydrophobic surfaces with low roughness on Ti-6Al-4V substrates via anodization. *Applied Surface Science*. 314, 754–759, 2014.
- [163]. Huang, Y., Hao, M., Nian, X., Qiao, H., Zhang, X., Zhang, X., Song, G., Guo, J., Pang, X., Zhang, H., Strontium and copper co-substituted hydroxyapatite-based coatings with improved antibacterial activity and cytocompatibility fabricated by electrodeposition. *Ceramics International*. 42, 11876–11888, 2016.

- [164]. Vasilescu, C., Drob, P., Vasilescu, E., Demetrescu, I., Ionita, D., Prodana, M., Drob, S.I., Characterisation and corrosion resistance of the electrodeposited hydroxyapatite and bovine serum albumin/hydroxyapatite films on Ti-6Al-4V-1Zr alloy surface. *Corrosion Science*. 53, 992–999, 2011.
- [165]. Xue, C.-H., Jia, S.-T., Zhang, J., Ma, J.-Z., Large-area fabrication of superhydrophobic surfaces for practical applications: an overview. *Science and Technology of Advanced Materials*. 11, 033002, 2010.
- [166]. Bartlet, K., Movafaghi, S., Dasi, L.P., Kota, A.K., Popat, K.C., Antibacterial activity on superhydrophobic titania nanotube arrays. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 166, 179–186, 2018.
- [167]. Patil, D., Aravindan, S., Wasson, M.K., Vivekanandan, P., Rao, P. V., Fast fabrication of superhydrophobic titanium alloy as antibacterial surface using nanosecond laser texturing. *Journal of Micro and Nano-Manufacturing*. 6, 2018.
- [168]. Jiang, J.Y., Xu, J.L., Liu, Z.H., Deng, L., Sun, B., Liu, S.D., Wang, L., Liu, H.Y., Preparation, corrosion resistance and hemocompatibility of the superhydrophobic TiO₂ coatings on biomedical Ti-6Al-4V alloys. *Applied Surface Science*. 347, 591–595, 2015.
- [169]. Ohsumi, Y., Kitamoto, K., Anraku, Y., Changes induced in the permeability barrier of the yeast plasma membrane by cupric ion. *Journal of bacteriology*. 170, 2676–2682, 1988.
- [170]. Dan, Z.G., Ni, H.W., Xu, B.F., Xiong, J., Xiong, P.Y., Microstructure and antibacterial properties of AISI 420 stainless steel implanted by copper ions. *Thin Solid Films*. 492, 93–100, 2005.
- [171]. Wang, Q., Larese-Casanova, P., Webster, T.J., Inhibition of various gram-positive and gram-negative bacteria growth on selenium nanoparticle coated paper towels. *International Journal of Nanomedicine*. 10, 2885–2894, 2015.
- [172]. Gollwitzer, H., Haenle, M., Mittelmeier, W., Heidenau, F., Harrasser, N., A biocompatible sol–gel derived titania coating for medical implants with antibacterial modification by copper integration. *AMB Express*. 8, 2018.
- [173]. Heidenau, F., Mittelmeier, W., Detsch, R., Haenle, M., Stenzel, F., Ziegler, G., Gollwitzer, H., A novel antibacterial titania coating: Metal ion toxicity and in vitro surface colonization. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 16, 883–888, 2005.
- [174]. Carré, A., Lacarrière, V., How substrate properties control cell adhesion. A physical-chemical approach. *Journal of Adhesion Science and Technology*. 24, 815–830, 2010.

- [175]. Wilson, C.J., Clegg, R.E., Ph, D., Leavesley, D.I., Ph, D., Pearcy, M.J., Ph, D., Wilson_2005_TE. Tissue engineering. 11, 2005.
- [176]. Sperling, C., Fischer, M., Maitz, M.F., Werner, C., Blood coagulation on biomaterials requires the combination of distinct activation processes. Biomaterials. 30, 4447–4456, 2009.
- [177]. Silva-Bermudez, P., Rodil, S.E., An overview of protein adsorption on metal oxide coatings for biomedical implants. Surface and Coatings Technology. 233, 147–158, 2013.
- [178]. Papastavrou, G., Kirwan, L.J., Borkovec, M., Decomposing bridging adhesion between polyelectrolyte layers into single molecule contributions. Langmuir. 22, 10880–10884, 2006.
- [179]. Jimbo, R., Ivarsson, M., Koskela, A., Sul, Y.-T., Johansson, C.B.: Protein Adsorption to Surface Chemistry and Crystal Structure Modification of Titanium Surfaces. Journal of Oral and Maxillofacial Research. 1, 1–9, 2010.
- [180]. Chakrabarty, B., Ghoshal, A.K., Purkait, M.K., Effect of molecular weight of PEG on membrane morphology and transport properties. Journal of Membrane Science. 309, 209–221, 2008.

ÖZGEÇMİŞ

Sergen TOSUN 2012 yılında Hamdi Bozbağ Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2012 yılında başladığı Selçuk Üniversitesi Ahmet Cengiz Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği Bölümü'nü 2016 yılında bitirdi. 2018 yılında Giresun Üniversitesi Makine Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.