Soğuk Altlık Tekniğiyle Gümüş Kaplanan Titanyum Esaslı Malzemelerin Biyouyumluluklarının İncelenmesi

Program Kodu: 1005

Proje No: 315M132

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Zeynep YEŞİL DUYMUŞ

Araştırmacılar:

Doç. Dr. Vagif NEVRUZOĞLU
Doç. Dr. Murat TOMAKİN
Yrd. Doç. Dr. Sabit Melih ATEŞ

Danışman:

Yrd. Doç. Dr. Ercüment YÜZÜAK

Bursiyerler:

Gizem ÖZTÜRK
İbrahim BULDU

KASIM 2017
RİZE

ÖNSÖZ

Bu proje, soğuk altlık yöntemiyle yeni deneysel süreçler kullanılarak implant malzemesi olarak kullanılan Ti-6Al-4V malzemelerin yüzeyinin gümüş kaplanması ve kaplanan örneklerin biyouyumluklarının incelenmesi amacıyla yapıldı. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak vakum ortamında, kısmen kapalı hacimde soğutulmuş altlıklar üzerinde kaplama işleminin yapılacağı deneysel sistem hazırlandı. Kaplama işlemi 100–300 K sıcaklık bölgesinde 25 K adımlarla dokuz farklı sıcaklık için gerçekleştirildi. İkinci aşamada ilk olarak Ti-6Al-4V malzemesinin yüzeyinde ısıl işlem ile TiO_2 tabakası elde edildi. Isıl işlemden sonra oksitlenen yüzey üzerinde hazırlanan deneysel düzenek yardımıyla düşük sıcaklıklarda gümüş (Ag) parçacıklarıyla homojen olarak kaplandı ve daha sonra hazırlanan örneklerin yapısal ve yapısal özellikleri incelenerek biyouyumluluk testleri yapıldı.

Bu proje 315M132 numara ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ II
İÇİNDEKİLER III
ŞEKİLLER LİSTESİ IV
ÖZET VI
ABSTRACT VII
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 1
3. MATERYAL VE YÖNTEM 8
3.1 Deneysel Düzeneğin Hazırlanması 8
3.2 Örneklerin Hazırlanması 9
3.3 Hazırlanan Örneklerin Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi 11
3.4 Malzemelerin Biyouyumluluklarının İncelenmesi 11
3.4.1 Antibakteriyel Test 11
3.4.2 Gümüş İyon Salınımı Tespiti 12
3.4.3 Hazır Hücre Kültürleri İle Sitotoksitenin Belirlenmesi 12
4. BULGULAR 13
4.1 Örneklerin Ag Kaplama Öncesi Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi 13
4.2 Örneklerin Ag Kaplama Sonrası Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi 16
4.3 Biyouyumluluk Test Sonuçları 30
4.3.1 Antibakteriyel Test 30
4.3.2 Gümüş İyon Salınımı 30
4.3.3 Hücre Kültürü 31
5. TARTIŞMA 33
6. GENEL SONUÇLAR 37
7. KAYNAKLAR 39

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Yapısal bölge modeline göre altlık sıcaklığına bağlı olarak film büyüme süreçlerinin şematik çizimi……..…….5

Şekil 2. Parçacıkların altlığa geliş açısına bağlı olarak gölgeleme etkisinin şematik gösterimi ……..5

Şekil 3. Doymuş buhar ortamında mümkün kümeleşme durumları (a) Kritik boyutlu durum, (b) kritik altı durum ve (c) kritik üstü durum……..……...7

Şekil 4. Cu kümelerinin sıcaklığa bağlı olarak amorflaşma durumu. Kümedeki atom sayısı a) 891 tane ve b) 1291 tane.…..……....7

Şekil 5. a) Soğuk altlık üzerinde ince film hazırlamak için kullanılan deneysel düzeneğin şematik gösterimi. b) 4 numaralı altlık tutucusu kısmının detaylı gösterimi …….…….…..9

Şekil 6. Örneklerin oksitlenmesi için kullanılan ısıl süreç.....10

Şekil 7. Gümüş kaplanan Ti-6Al-4V örneklerinin fotoğrafları……...10

Şekil 8. a) Kontrol, b) yüzeyi pürüzlü hale getirilen ve c) yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneklerin X-ışını kırınım desenleri…….....13

Şekil 9. Yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneğin farklı X-ışını düşme açılarında ölçülen X-ışını kırınım desenleri: a) 5°, b) 1°, c) 0,5°, d) 0,3° ve e) 0,1°.....14

Şekil 10. a) Kontrol, b) yüzeyi pürüzlü hale getirilen, c) yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneklerin ve d) 15000 büyütme için yüzeyi oksitlenen örneğin SEM görüntüleri.....15

Şekil 11. a) Kontrol, b) yüzeyi pürüzlü hale getirilen ve c) yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneklerinin EDS sonuçları.....16

Şekil 12. a) Gümüş kaplanmamış ve b) 300 K, c) 275 K, d) 250 K, e) 225 K, f) 200 K, g) 175 K, h) 150 K, ı) 125 K ve j) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin X-ışını kırınım desenleri…….....17

Şekil 13. Gümüş kaplanan örneklerin $I_{(002)}/I_{(101)}$ şiddet oranlarının altlık sıcaklığına göre değişimi.....18

Şekil 14. a) Gümüş kaplanmamış ve b) 300 K, c) 275 K, d) 250 K, e) 225 K, f) 200 K, g) 175 K, h) 150 K, ı) 125 K ve j) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ışını ile ışınlandıktan sonraki X-ışını kırınım desenleri.....19

Şekil 15. a) 300 K, b) 275 K, c) 250 K, d) 225 K, e) 200 K, f) 175 K, g) 150 K, h) 125 K ve ı)100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin SEM görüntüleri.....20

Şekil 16. a) 300 K, b) 275 K, c) 250 K, d) 225 K, e) 200 K, f) 175 K, g) 150 K, h) 125 K ve ı) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ile ışınlama sonrası SEM görüntüleri.....21

Şekil 17. a) 300 K, b) 250 K, c) 200 K, d) 150 K ve e) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin ağırlık (%wt) olarak EDS sonuçları.....22

Şekil 18. a) 300 K, b) 250 K, c) 200 K, d) 150 K ve e) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ile ışınlama sonrası ağırlık (%wt) olarak EDS sonuçları.....23

Şekil 19. a) Işınlanmamış ve b) ışınlanmış örneklerdeki Ag miktarının altlık sıcaklığına göre değişimi.....24

Şekil 20. a) 300 K, b) 200 K ve c) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ile ışınlama sonrası 5×5 μm ölçekli AFM görüntüleri.....25

Şekil 21. Yüzey pürüzlülük değerleri.....26
Şekil 22. Sertlik değerlerinin grafiksel gösterimi.....27
Şekil 23. Adhezyon testi sonuçları.....28
Şekil 24. Adhezyon testi sonuçlarının grafiksel gösterimi.....29
Şekil 25. Tüm örneklerin korozyon testi sonuçları……..…29
Şekil 26. 125 K'de hazırlanan örnek için aşınma testinin üç boyutlu görüntüsü. a).10000, b) 50000 çevrim…..……..…30
Şekil 27. Tüm örneklerin gümüş iyon salınımı sonuçları.....31
Şekil 28. Tüm örneklerin biyouyumluluk test sonuçları.....32

ÖZET

Bu projede, soğuk altlık yöntemiyle yeni deneysel süreçler kullanılarak Ti esaslı malzemelerin yüzeyine gümüş kaplanması ve elde edilen malzemelerin biyouyumluklarının geliştirilmesi amaçlanmıştır. Antiseptik özellikli biyouyumlu implant malzemeler ve kaplamalar günümüzde en etkili biyomedikal araç olarak kullanılmakta olup, titanyum ve titanyum alaşımları (Ti6Al4V) genellikle tercih edilmektedir. Bununla birlikte mevcut yöntemlerle kaplanan titanyum alaşımlarından vücut sıvılarına geçen metal iyonları ara yüzeydeki enfeksiyon riskini arttırmakta ve implantlarda başarısızlıklara sebep olmaktadır. Bu proje kapsamında geliştirilen yeni teknolojik yöntem Soliton büyüme mekanizması olarak adlandırılmaktadır. Bu yeni yöntemin en önemli özelliği titanyum yüzeyinin eşit boyutta nano parçacıklarla kaplanmasıdır. Bu projede kaplama materyali olarak antibakteriyel özelliği nedeniyle gümüş (Ag) iyonları tercih edilmiştir. Özel olarak hazırlanan düzenek ile 100-300 K altlık sıcaklığında Ag kaplı örnekler hazırlandıktan sonra örneklerin yüzey, yapısal ve biyolojik özellikleri incelenmiştir. 100-300 K altlık sıcaklıklarında üretilen Ag katmanında sıcaklığa bağlı olarak tane boyutlarının küçüldüğü bulunmuştur. Ayrıca 100-200 K arasındaki filmlerin eşit boyutta parçacıklarla kaplandığı SEM, AFM ve XRD incelemeleri sonucunda gözlenmiştir. Bu sıcaklık aralığında büyütülen kaplamaların yapısal özelliklerinin diğer gruplardan daha üstün olduğu saptanmıştır. Yapılan hücre kültürü çalışmasında osteoblast hücre aktivitesinin 100-200 K aralığında daha yüksek olduğu, fibroblast hücre aktivitesinin ise tüm sıcaklıklar için benzer olduğu tespit edilmiştir. Antibakteriyel aktivitenin ise Ag kaplanmamış (kontrol) örneklere göre tüm sıcaklık gruplarında %99.9 düzeyinde olduğu görülmüştür. Ag iyon salınımının Soliton bölgesinde daha yüksek değerlerde olduğu (0.26 ppm), bu değerlerin canlı dokular için toksik olabilecek seviyelerde olmadığı (10 ppm) belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İmplantoloji, Ag nano parçacık, Biyouyumlu katmanlar, Soğuk altlık tekniği

ABSTRACT

In this project, it is aimed to investigate the Ag coating of Ti-based materials by using new experimental procedures with cold substrate method and improve the biocompatibility of obtained material. Nowadays, antiseptic featured biocompatible implant materials and coatings are the most effective biomedical applications which are widely used, titanium and titanium alloys (Ti6Al4V) are generally preferred. However, metal ions passing from titanium alloys coated by using existing methods to the body fluids causes the risk of infection at the interface and leads to the implant failure. New technological method which was developed within the scope of this project is called as the Soliton growth mechanism. The most important feature of this new method is coating of the titanium surface with equal size of nano particles. In this project, due to its antibacterial properties, silver ions (Ag) are preferred as the coating material. After preparing the Ag coated specimens with specially designed mechanism at the substrate temperature of 100-300 K, the surface, structral and biological characteristics of the specimens were investigated. It was found that the grain size was decreased depending on the temperature in Ag layer produced at substrate temperatures of 100-300 K. Also, 100-200 K films having equal size of particles were observed in SEM, AFM and XRD investigations. It was revealed that the coatings raised at this temperature range demonstrated superior structural properties than the other groups. Cell culture study demonstrated that the osteoblast cell activity is higher in the range of 100-200 K and the fibroblast cell activity is similar for all temperatures. %99.9 antibacterial activity has been in the specimens of all temperature groups compared to the uncoated (control) specimens. Higher values of Ag ion release was determined in the soliton region (0.26 ppm), these values were not toxic to the living tissues (10 ppm).

Keywords: Implantology, Ag nano particles, Biocompatible layers, Cold substrate method

1. GİRİŞ

Ülkemiz, medikal ürünler sektöründe % 85 oranında dışa bağımlı bir yapıya sahiptir. Medikal sektörde yerli üreticiler gerek düşük teknolojik üretim ve ar-ge yapısı gerekse medikal faaliyet onay (FDA) belgesi yetersizlikleri nedeniyle sınırlı ve belirli ürün-cihaz gamında faaliyet gösterebilmektedir. Ortopedik biyomalzemelerin uzun süreli başarısı genel olarak implant ile doku arasındaki osseointegrasyon sürecine bağlıdır. Bu süreçte implant ile doku arasında steril bir ortamın oluşması bakteriyel enfeksiyon riskini azaltmaktadır. Osseointegrasyon süreci implantların yerleştirildiği bölgedeki hücre ve doku türlerinin ortaklaşa uyumunu ve doku kaybı olan bölgede iyileşmeyi gerektirir. Bu konuda değişik araştırmacılar tarafından implantların yüzey kalitesini arttırarak doku iyileşmesini hızlandıracak farklı çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde bu alanda yapılan çalışmalar nano yapılı malzemelerin farklı yöntemlerle implant yüzeylerine uygulanmasını da kapsamaktadır. Bu konudaki önemli problemlerden bazıları homojen olmayan kaplamaların implantın korozyonu, osteolytic cytokineslerin potansiyellerinin değişmesi, dokuda renk kaybı, enfeksiyonlar, yaraların oluşması, dokunun implant çevresinde ipliksi bir kapsül üretmesi ve dokunun iltihaplanması gibi çok ciddi problemlerin oluşmasıdır. Bu problemler ise osseointegrasyon sürecini olumsuz etkilemektedir. Bu durumun iyileştirilmesi için biyouyumlu katmanın, Ti iyonlarının sızmasını önleyecek şekilde gözeneksiz homojen olarak kaplanması gerekmektedir. Bu proje kapsamında geliştirilen yeni üretim yöntemi Soliton büyüme mekanizması olarak adlandırılmaktadır. Bu yeni kaplama yöntemiyle, mevcut yöntemlere göre daha homojen ve nano boyutlu kaplamalar yapılarak osseointegrasyon sürecinin hızlandırılması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda bu projedeki yenilikler iki aşamada ele alınabilir. i) Tasarlanan deneysel düzenek ile Ag nano parçacıklar ilk defa kısmen kapalı hacimde soğuk altlıklar üzerinde hazırlanmıştır. ii) Ti-esaslı malzemelerin soğutularak kısmen kapalı hacimde biyouyumlu katmanlar ile kaplanması ilk defa denendi ve biyouyumlulukları arttırıldı. Ayrıca hazırlanan deneysel düzenek ile farklı metal, yarı iletken ve organik malzemeler kaplanabilecektir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Günümüzde gelişen teknoloji ve yaşam standardı medikal sektörde implant uygulamalarının kullanımını arttırmıştır. İmplantların başarılı bir şekilde klinik kullanımı çevresindeki dokular ile fonksiyonel bütünlüğüne bağlıdır. Doku-implant etkileşimlerinin tipi ve boyutu doku-implant ara yüzeyindeki hücresel ve moleküler olaylar tarafından belirlenir. İmplantların yerleştirilmesini takiben konak doku ve endosseoz implant arasında çeşitli biyolojik olaylar oluşur. Enflamatuar süreç boyunca proteinler ve ligandların dinamik olarak absorbe edilip salındığı implant yüzeyi

ile kan arasındaki etkileşimler, kemik oluşumu ile devam eder. İmplant çevresinde defalarca meydana gelen remodeling döngüsü ile en yüksek mekanik özellik ve organizasyon derecesine sahip kemik oluşumu meydana gelir. Materyalin yüzeyinin morfolojisi, kimyasal kompozisyon ve yüzey enerjisi gibi özellikler osteoblastların biyomateryallere karşı oluşturduğu reaksiyonlarda önemli rol oynar (Huang vd., 2003). Biyomateryal yüzeyi konak doku ile doğrudan temas halinde olan tek bölgedir ve osseointegrasyonun başarılmasında kritik bir öneme sahiptir. Bu nedenle implant yüzeylerinde kullanılan değişik modifikasyonlar farklı yüzey özellikleri oluşturabilmekte ve doku-implant cevabında değişikliklere yol açabilmektedir (Coelho vd., 2009). İmplantolojide tedavinin başarısı, entegrasyon süresince oluşan biyolojik olayları optimize edebilen implantın yüzey özelliklerine bağlıdır (Coelho vd., 2009; De Jonge vd., 2008). Doku-implant ara yüzeyinde oluşan cevabı pozitif yönde geliştirebilmek için endosseöz implantların yüzeylerine değişik işlemler uygulanmaktadır (Huang vd., 2003). Örneğin implant uygulamalarında kullanılan titanyum (Ti) biyouyumlu olmasına rağmen biyolojik süreçlerin pozitif yönde düzenlenmesi kısıtlıdır. Çünkü titanyum tek başına kemik apozisyonunu uyaramaz. Bu nedenle son araştırmalar erken entegrasyonu hızlandıracak ve ihtiyaç duyulan tedavi zamanını kısaltacak olan yüzey işlemlerinin geliştirilmesine odaklanmıştır (Avila vd., 2009).

İmplantlara uygulanan yüzey modifikasyonları, kemik gibi canlı sert bir dokuya biyo malzemenin eklenmesiyle biyo malzeme ve canlı doku arasında suni bir ara yüzey oluşturur. Bu ara yüzeylerinin ıslanabilirliği, kimyasal kompozisyonu, pürüzlülüğü (morfolojisi) ve yüzey değişkenliği gibi parametreler implantların yüzey özelliklerini değiştirmek için önemlidir. Çünkü, apatit oluşumunun artması, kemik yapıcı hücrelerin yapışmasına ve Ekstrasellüler Matriks (ECM) molekülleri gibi biyo aktif moleküllerin bağlanmasına sebep olmakta (Advincula vd., 2006) ve insan vücudunun fizyolojik ortamında bulunan iyonlar ile kimyasal reaksiyona girebilmektedirler. Genellikle korozyon ürünleri olarak bilinen bu bileşikler metal yüzeyinin bozulmasını hızlandırabilmektedir.

İmplant malzemesi olarak farklı metal ve alaşımlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında paslanmaz çelik (SUS316L), Co-Cr-Mo tipi alaşımlar, titanyum (Ti) ve Ti alaşımları (Tİ-6Al-4V) yer almaktadır. Ti ve Ti alaşımları daha iyi mukavamet, elastik modül, korozyon direnci ve biyouyumluluk gibi özellikleri nedeniyle uzun yıllardır insan vücudunda implant materyali olarak kullanılmaktadır (Long ve Rack, 1998). Buna rağmen Ti ve alaşım elementlerinin (V, Zr, Al vb.) çözünmesi ve korozyonu sorun oluşturmaktadır. Çünkü çevredeki dokuya geçen iyonlar implantların gevşemesini içeren osteolytic cytokineslerin potansiyellerinin değişmesine ve enfeksiyonlara dolayısıyla implantlarda başarısızlıklara neden olmaktadır(Cheng ve Roscoe, 2005). Problemleri ortadan kaldırmak için implant yüzeylerinin pürüzlülüğünün arttırılması,

yüzeyde Ti-O tabakasının oluşturulması ve yüzeyin biyouyumlu malzemeler ile kaplanması gibi farklı işlemler uygulanmaktadır (Coelho vd., 2009).

Ti-esaslı malzemelere yüzey işlemi uygulanırken ilk aşamada aşındırma ve oksidasyon işlemleri gerçekleştirilir. Aşındırma işlemi yüzey alanını arttırarak osseintegrasyon sürecini hızlandırmaktadır. Bu işlem kumlama, asitte dağlama ve lazer gibi farklı yöntemlerle yapılabilmektedir (Maya vd., 2015). Oksitleme işlemi ise biyouyumluluğu ve korozyon direncini arttırmakta ve vücut sıvısı içine iyon salınımını azaltmaktadır (López vd., 2010). Biyouyumlu malzemelerde, elektron demeti ile buharlaştırma, iyon saçtırma, kimyasal buharda çökeltme, sol-jel ve ısıl oksidasyon gibi farklı yöntemlerle oksit tabakaları oluşturulabilmektedir (Barros vd., 2010). Isıl oksitleme yöntemi basit, ekonomik ve hızlı olması nedeniyle daha fazla tercih edilmektedir. Oksidasyon sonucunda yüzeyde oluşturulan oksit tabakasında TiO, TiO_2, Ti_2O_3 ve Ti_3O_5 fazları aynı anda bulunabilmektedir. Bunların içinde ise en kararlı faz TiO_2'tir. TiO_2 farklı kristal yapılarda (anataz, rutil ve brookite) bulunabilir. Termodinamik açıdan oda şartlarında kararlı faz rutildir. Bununla birlikte, Ti ile rutil TiO_2 arasındaki büyük örgü uyuşmazlığı ve ısıl genleşme farkı oksit tabakasının çabuk bozulmasına neden olmaktadır. Yarı-kararlı (metastable) anataz fazı kemik yapısına daha fazla benzemesine rağmen rutil faz daha inert ve bakterilere karşı daha dirençlidir (Kumar vd., 2010). Oksidasyon sürecinde ısıl işlem sıcaklığının 900 $^{\circ}$C'nin altında olması istenmektedir. Çünkü Ti'un kristal yapısının faz değişimi (α ve β) 882 $^{\circ}$C'de gerçekleşmektedir. Bu faz dönüşümü esnasında ise kristal yapı hacimsel olarak değişerek implantların yüzeyinde oluşturulan oksit tabakasında mikro çatlakların oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle oksidasyon için genellikle ısıl işlem sıcaklığı 500–600 $^{\circ}$C olarak seçilmektedir. İmplant yapımının ikinci aşaması ise Ti üzerinde elde edilen oksit tabakasının biyouyumluluk ve antibakteriyellik gibi farklı özelliklerini iyileştirmek için değişik inert malzemeler (Ag, Zn, Cu, Al, Ca-P gibi) ile farklı oranlarda katkılanmasıdır. Biyouyumluluğu artırmak amacı ile yapılan bu katkılama işlemi için seri üretim yöntemi olarak genellikle plazma püskürtme yöntemi kullanılmaktadır (Wang vd., 2006). Bu yöntem ile yapılan katkılama işleminin başarısı oldukça yüksektir. Bununla birlikte yüksek plazma enerjisi (5000-20000 $^{\circ}$C) içinde implant yüzeyinde oluşturulan biyouyumlu katkılar bozulmakta veya faz değişimine uğramaktadır.

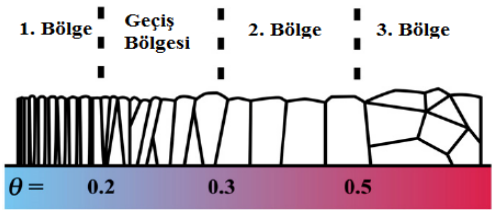
İmplant katkı veya kaplama işlemlerinde antibakteriyel özelliği nedeniyle gümüş daha çok tercih edilen malzemeler arasında yer almaktadır (Zhao vd., 2011). Bununla birlikte gümüşün antibakteriyel özelliği gümüş parçacıklarının boyut ve şekline bağlıdır (Rai vd., 2009). Özellikle nano boyutlu gümüş parçacıklarının büyük yüzey-hacim oranı nedeniyle bakterilere karşı daha etkin olduğu bilinmektedir (Rai vd., 2009; Massa vd., 2014). İnsan canlı dokuları ile implantın teması esnasında gram pozitif ve gram negatif bakteri türleri implant yüzeyinde kolonize olmaya başlarlar (Simionescu ve Kennedy, 2006). Yapılan çalışmalardan gümüşün bakteri

hücre duvarına ve hücre zarına bağlandığı, tiyol grupları ile etkileşerek solunum enzimlerini inhibe ettiği ve böylece mikroorganizmanın ölümüne yol açtığı bilinmektedir (Zhang vd., 2016). Li ve arkadaşları (Li vd., 2010) yaptıkları çalışmada gümüş nano parçacıklarının E.Coli bakterisi üzerinde antibakteriyel etki gösterip göstermediğini incelemişler ve gümüş nano parçacıklarının hücre zarının yapısını bozarak hücre içine nüfuz ettiğini, işlevini yitiren, geçirgenliği bozulan hücre zarı ve solunum yapamayan bakterinin gelişmesinin ve çoğalmasının durduğunu bildirmişlerdir. Gümüş nano parçacıklarının antibakteriyel etki gösterebilmesi için Ag iyonlarının biyolojik ortama salınması gerekirken, yapılan çalışmalarda (Sayes vd., 2013, Liu vd., 2008) gümüş nano parçacıklarının küçük ve kendine özgü özelliklerinden dolayı biyolojik ortam içerisinde hızla hareket edebildikleri ve farklı dokularda birikerek toksik seviyelere ulaştıkları gösterilmiştir. Bu nedenle Ag iyonlarının düşük konsantrasyonlarda gösterdikleri yüksek antibakteriyel etki canlı dokuların uzun dönemdeki sağlığı için kritik öneme sahiptir. Literatürde nano boyutlu Ag kullanılarak yapılan diğer çalışmalarda (Geng vd., 2017, Liu ve Man, 2017, Ma vd., 2017) yüksek antibakteriyel etki elde edilmesine karşın, Ag iyon salınımının canlı hücreler için zararlı olabilecek seviyelere ulaştığı, biyouyumluluk değerlendirmelerinde de 24 saat sonunda nano gümüş kaplanmış titanyum yüzeyindeki hücre aktivitesinde azalmaların görüldüğü bildirilmiştir.

Farklı yöntemlerle nano boyutta gümüş kaplamalar yapılabilmesine rağmen bu yöntemlerde genellikle nano parçacık boyutlarını kontrol edebilmek oldukça zordur. Yüzey üzerine yapılan kaplama işlemlerinde kullanılan deneysel yöntemlerde karşılaşılan bir diğer problem ise Ti ile doku arasında iyon geçişini engelleyecek şekilde homojen kaplama yapılamamasıdır. Fakat homojen olmayan biçimde kaplanmış implant yüzeylerinin doku uyuşması sürecini olumlu etkilediği bilinmektedir. Bununla birlikte homojen olmayan yüzeylerde bulunan gözeneklerden Ti iyonlarının geçmesi bu uyuşma sürecini daha baskın bir şekilde olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, Ag nano parçacıklarını implant yüzeyine boyut kontrollü ve homojen olarak kaplayabilecek yöntemlerin geliştirilmesi önem taşımaktadır.

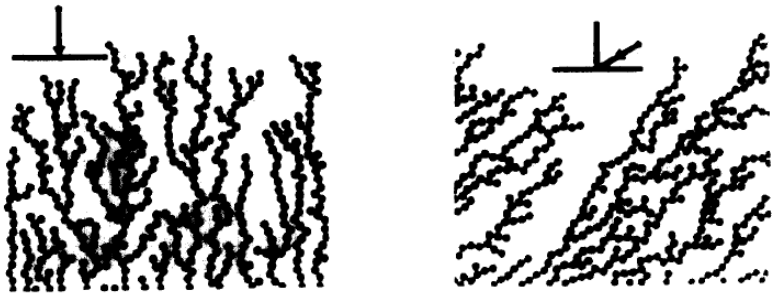
Isıl buharlaştırma yöntemi ile uygulanan metal film kaplamalarda tane boyutunun, altlık sıcaklığı azaldıkça küçüldüğü bilinmektedir. Düşük altlık sıcaklıklarında altlığa yapışan atomların hareketliliklerinin ve difüzyon hızlarının oldukça az olması nedeniyle küçük boyutlu taneler oluşmaktadır. Ayrıca ısıl buharlaştırma yöntemi ile sıvı azot sıcaklığına yakın veya daha düşük altlık sıcaklıklarında hazırlanan farklı metal ince filmlerin tane boyutu yaklaşık 10 nm veya daha altında olabilmektedir (Yoshida vd., 1972; Brune vd., 1994). Bilinen ısıl buharlaştırma yönteminde film oluşum süreci yapısal bölge modeli ile açıklanabilir. Yapısal bölge modeli, buhar ortamından gelen parçacıkların altlık sıcaklığına bağlı olarak yüzey veya hacim difüzyonuna dayanmaktadır. Bu model ilk olarak Movchan ve Demchishin tarafından açıklanmış (Movchan vd., 1969) ve daha sonra farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir

(Sanders, 1971; Thornton, 1974; Messier vd., 1984; Mahieu vd., 2006). Yapısal bölge modeline göre kaplanan malzemeler altlık sıcaklığına bağlı olarak ($\theta = T_s/T_m$; T_s altlık sıcaklığı, T_m erime sıcaklığı, Ag için T_m = 1235 K) farklı mikro veya nano yapıya sahip olabilmektedir. Bu modele göre film büyümesi biri geçiş bölgesi olmak üzere dört farklı sıcaklık bölgesinden oluşmaktadır (Şekil 1). i) 1.bölge ($T_s/T_m < 0,2$), ii) Geçiş bölgesi ($0,2 < T_s/T_m < 0,3$), iii) 2. Bölge ($0,3 < T_s/T_m < 0,5$) ve iv) 3. Bölge ($T_s/T_m > 0,5$).



Şekil 1. Yapısal bölge modeline göre altlık sıcaklığına bağlı olarak film büyüme süreçlerinin şematik çizimi (Mukherjee ve Gall, 2013)

i) 1. Bölge: Bu bölgede taneler konik sütunsal biçimdedir. Sütun sınırları çok belirgin değildir. Altlığa konan parçacıkların yüzey ve hacim difüzyonu çok küçüktür. Yapı buhar ortamında oluşan parçacıkların altlığa konup birikmesi ile oluşur. Bu durum film kalınlığı artarkengölgeleme etkisinin ortaya çıkmasına neden olur. Gölgeleme etkisi buhar ortamından gelen parçacıkların altlığa veya oluşan filme doğrudan çarpmaya karşı engellenmesidir (Şekil 2). Gölgeleme etkisi, oluşan yapının gözenekli ve pürüzlü bir yüzeye sahip olmasına neden olmaktadır.



Şekil 2. Parçacıkların altlığa geliş açısına bağlı olarak gölgeleme etkisinin şematik gösterimi (Kranenburg ve Lodder, 1994)

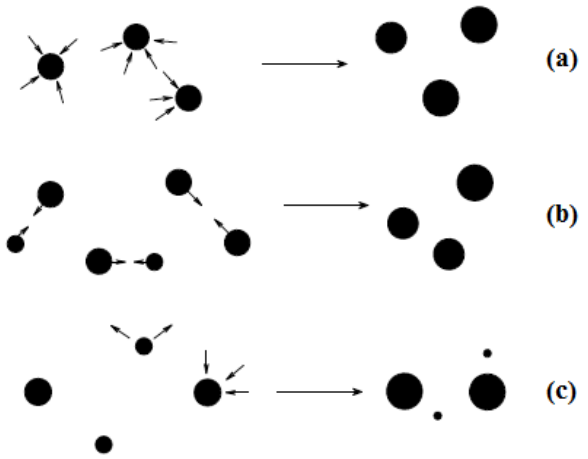
ii) Geçiş Bölgesi: Kısmen life benzer tane yapısı vardır. Birinci bölgeye göre yüzey difüzyonu daha fazladır, gölgeleme etkisi küçüktür, film yoğunluğu daha fazladır ve yüzey daha düzgündür.

iii) 2. Bölge: Bu bölgede tabakaların oluşumunu yüzey difüzyonu belirler. Yapışan atomların hareketliliği oldukça fazladır ve bu nedenle gölgeleme etkisi azdır. Büyük hareketlilik nedeniyle parçacıklar yüzey üzerinde daha düzgün bir şekilde yayılırlar. Taneler sütunsal biçimlidir ve sütun sınırları belirgindir. Film yüzeyi düzgün ve mattır.

iv) 3. Bölge: Bu bölgede hacim difüzyonu baskındır. Yeniden kristallenme meydana gelebilir. Taneler oldukça büyüktür ve tane sınırları altlık yüzeyine göre rastgele yönelimlidir. Yüzey çok düzgün ve parlaktır.

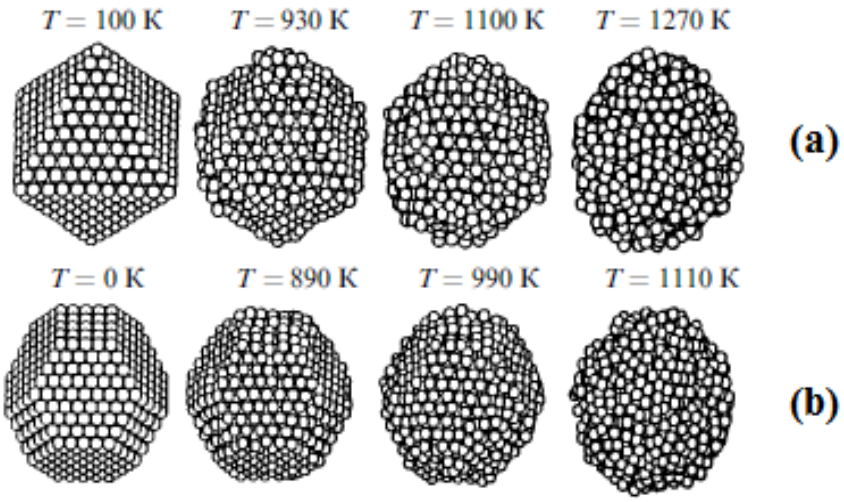
Bununla birlikte yapılan değişik çalışmalarda 1. bölge ve geçiş bölgesindeki altlık sıcaklıklarında hazırlanan bazı ince film örneklerinin yapısal bölge modeline göre beklenenden daha yüksek kaliteye sahip olması bu difüzyon süreçlerinin film oluşumunu açıklamada tek başına yeterli olmadığını göstermektedir (Kukushkin ve Osipov, 1995; Belyaev ve Rubets, 2001). Bu konuda geliştirilen bir diğer model ise altlık-film ara yüzey bölgesinde oluşan dislokasyonlar ile yüzeye konan parçacıklar arasındaki etkileşmelerden kaynaklanan Soliton modelli hareketliliktir (Kukushkin ve Osipov, 1995). Bu Soliton hareketliliği dislokasyon kusurlarını temsil eden Burger vektörü doğrultusunda gerçekleşir. Doğrusal olmayan özelliğe sahip Soliton dalgaları kütle taşıma özelliği nedeniyle altlık yüzeyinde parçacıkların enerji kaybına uğramadan hareket etmesini sağlamaktadır. Bu modelde altlığın kristal yapıya sahip olması, tek yönde Burger vektörünün oluşmasına ve böylece Soliton dalgası etkisiyle parçacıkların taşınımının aynı yönde gerçekleşmesine neden olur. Bu durum homojen bir kaplama sağlamaktadır. Amorf altlıklarda ise pek çokyönde Burger vektörü oluşması nedeniyle Soliton dalgası etkisiyle parçacık hareketi farklı yönlerde gerçekleşir ve yüzey homojenliği bozulur.

Isıl buharlaştırma yönteminde film oluşum süreci aynı zamanda buhar oluşturulan ortama da bağlıdır. Eğer kaplama işlemi vakum ortamı içinde kısmen kapalı hacimde doymuş buhar ortamında yapılırsa altlık yüzeyinde kontrol edilebilir boyuta sahip çekirdeklenme süreci meydana gelir. Doymuş buhar ortamında ortamdaki atomların kümeleşmesi üç farklı durumda gerçekleşmektedir (Şekil 3). i) Kritik boyutlu durum (Şekil 3 (a)): Doymuş gaz ortamında bulunan atomların basıncı doymuş buhar basıncından biraz yüksektir ve bu nedenle bu atomlar serbestçe hareket edebilir. Buhar ortamında oluşan kümeler (cluster) bu atomların yapışmasıyla büyümektedir. Bu süreçte gaz ortamında oluşan kümeler genellikle eşit boyutludur. ii) Kritik altı durum (Şekil 3(b)): Ortamda bulunan atomların hepsi çok yüksek basınçları nedeniyle buhar ortamında oluşan kümelere yapışmış durumdadır ve ortamda serbest atom yoktur. Ortamdaki kümeler birbiri ile çarpışarak büyümektedir. iii) Kritik sonrası durum (Şekil 3(c)): Bu süreç yukarıdaki ilk iki sürecin gerçekleşmediği durumlarda geçerlidir. Küme büyümesi küçük kümelerin atomlarının buharlaşarak büyük kümelere yapışmasıyla gerçekleşir.



Şekil 3. Doymuş buhar ortamında mümkün kümeleşme durumları. (a) Kritik boyutlu durum, (b) kritik altı durum ve (c) kritik üstü durum (Smirnov, 2001)

Valkealahti ve Manninen yapmış oldukları teorik çalışmada doymuş buhar ortamında bakır (Cu) atomlarının belli bir kristal düzeninde kümeleştiğini ve bu kristal düzeninin kümede bulunan atom sayısına bağlı olarak değiştiğini belirtmişlerdir (Şekil 4). Aynı zamanda Valkealahti ve Manninen, buhar ortamında oluşan kümelerin kristal yapısının sıcaklığa bağlı olduğunu ve yüksek sıcaklıklarda bu kristal düzeninin bozulduğunu ortaya koymuşlardır. Bu bilgiler ışığında doymuş buhar ortamında ısıl buharlaştırma yöntemi ile soğuk altlıklar üzerinde boyut kontrollü homojen nano parçacıkların elde edilebileceği anlaşılmaktadır.



Şekil 4. Cu kümelerinin sıcaklığa bağlı olarak amorflaşma durumu. Kümedeki atom sayısı a) 891 tane ve b) 1291 tane (Valkealahti ve Manninen, 1993)

Yapılan literatür taramasında metal filmlerin soğuk altlıklar üzerinde vakum buharlaştırma yöntemiyle kaplanması ile ilgili çalışmalar bulunmasına rağmen kısmen kapalı hacimde ısıl buharlaştırma yöntemiyle soğuk altlıklar üzerinde metal kaplamaların yapıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca bu yöntemin implantlarda da kullanıldığına dair herhangi bir literatür bilgisine ulaşılamamıştır. Bu nedenle bu projede öncelikle kısmen kapalı hacimde

ısıl buharlaştırma yöntemiyle soğuk altlıklar üzerinde metal ince filmlerin kaplanabileceği bir deneysel düzenek tasarlanması ve sonra Ti-esaslı malzemeler üzerinde arzulanan özellikte gümüş kaplama işleminin yapılarak biyouyumluluğunun incelenmesi amaçlanmaktadır.

Belyaev ve ark. tarafından hem metal hem de yarıiletken malzemelerin klasik ısıl buharlaştırma yöntemi (kısmen kapalı hacim olamayan yöntem) ile soğuk altlıklar üzerinde kaplanmasıyla ilgili çalışmalar yapılmıştır (Belyaev ve Rubets, 2001; Belyaev vd., 2003). Belyaev ve ark. film oluşum sürecini Soliton modeli ile açıklamış ve bu modelde sadece aşağıdaki ampirik denklemi sağlayan kritik boyutlu parçacıkların Soliton hareketliliğine neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu durum ise kaplanan filmin homojen bir tane boyutu dağılımına ve yüksek yapısal kaliteye sahip olmasını sağlamaktadır.

$$\frac{a(T_r) - b(T_f)}{b(T_f)} > \left(\frac{2}{\pi}\right)^{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{f}{\lambda}\, a(T_r)}$$

Bu ifadede $a(T_r)$ ve $b(T_f)$ sırası ile altlığın ve gelen parçacığın örgü parametresidir. f ve λ altlık ile gelen parçacık arasındaki etkileşmeyi karakterize eden ifadelerdir.

Kısmen kapalı hacimde ısıl buharlaştırma yöntemi ile soğutulmuş altlıklar üzerinde metal kaplamaları ile ilgili çalışmalara rastlanmasa da bu yöntemle soğuk altlıklar üzerinde yarıiletkenlerin kaplanması ile ilgili farklı çalışmalar bulunmaktadır (Bacaksiz vd., 2007; Novruzov vd., 2010; Tomakin vd., 2012).

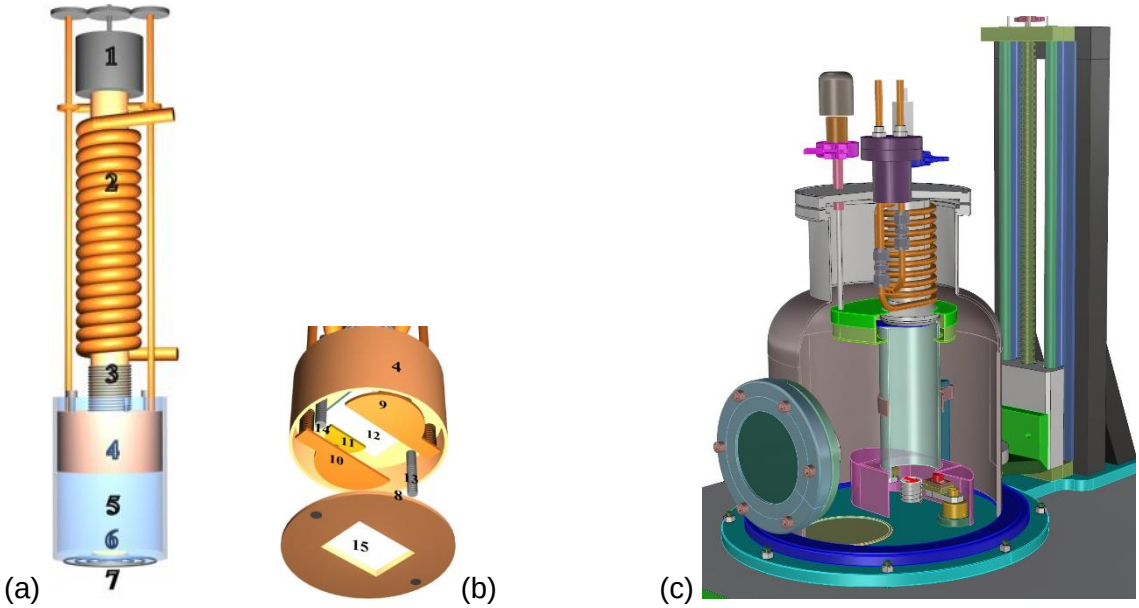
Bu projede homojen ve eşit boyutlu Ag nano parçacıkların implant yüzeylerine kaplanması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda kısmen kapalı hacimde vakum buharlaştırma yöntemi ile soğutulmuş altlıklar üzerine Ag kaplanması önerilmiştir. Ancak şu ana kadar kısmen kapalı hacimde ısıl buharlaştırma yöntemiyle soğuk altlıklar üzerinde metal kaplamaların yapıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yukarıda anlatılan birinci aşama sürecinde doymuş buhar ortamında kısmen kapalı hacimde farklı boyutlu kümelerin oluşabileceği anlaşılmaktadır. Üçüncü aşamada ise altlık sıcaklığı değiştirilerek oluşan farklıboyutlu kümelerden sadece Soliton dalgalarını oluşturan kritik boyutlu kümelerin altlığa tutunması sağlanacaktır. Sonuç olarak Ag nano parçacıklarının soğuk altlıklar üzerinde boyut kontrolünün yapılabilmesi için doymuş buhar ortamı (yani kısmen kapalı hacim) gereklidir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Deneysel Düzeneğin Hazırlanması

Bu proje kapsamında soğuk altlıklar üzerinde kısmen kapalı hacimde ısıl buharlaştırma yöntemi ile kaplama yapmak için gerekli olan vakum sistemi ve bu sistemin içinde bulunacak soğuk altlık aparatı, ilgili firmalar ile görüşülerek sanayi-üniversite işbirliği içinde tasarlanarak hazırlandı. Bu sistem Tomakin tarafından tez çalışması için tasarlanan ve Şekil 5 (a) ve (b)'de

gösterilen soğuk altlık düzeneği temel alınarak oluşturuldu. Proje kapsamında hazırlanan vakum sistemi, soğuk altlık düzeneği ile birlikte Şekil 5 (c)'de gösterildi.



(a) (b) (c)

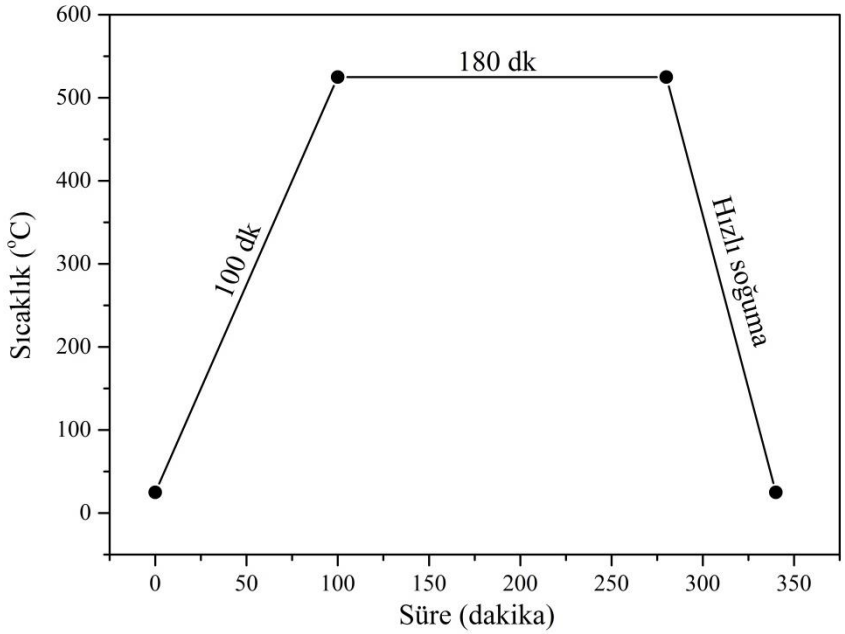
Şekil 5. a) Soğuk altlık üzerinde ince film hazırlamak için kullanılan deneysel düzeneğin şematik gösterimi. b) 4 numaralı altlık tutucusu kısmının detaylı gösterimi (Tomakin, 2008). c) Proje kapsamında satın alınan vakum sistemi ve soğuk altlık aparatının şematik gösterimi.

Şekil 5 (a), (1) altlığa açılan ayarlanabilir (açılıp kapanabilir) pencereyi kontrol eden motor ve dişlilerden oluşan bölümü, (2) altlığı soğutmak için sıvı azotun dolaşacağı bakır borudan oluşan bölümü, (3) altlık sıcaklığını ayarlamak için sarılmış ısıtıcıyı, (4) altlığın, altlık tutucularının ve ayarlanabilir (açılıp kapanabilir) pencerenin bulunduğu bölümü, (5) 4,6 cm çapında düztabanlı silindirik kuartz reaktörü, (6) buharlaştırılacak malzemeyi ve (7) malzemeyi buharlaştırmak için kullanılan ısıtıcıyı göstermektedir. Şekilde de görüldüğü gibi kuartz reaktör aşağı yukarı hareket ettirilerek kaynak-altlık mesafesi değiştirilebilir. Şekil 5 (b)'de (8) alt kapağı, (9) ve (10) pencere açma-kapama kapaklarını, (11) altlık tutucusunu, (12) altlığı, (13) ve (14) alt kapak vidalarını ve (15) pencereyi göstermektedir. (9) ve (10) numaralı kapaklar motor yardımıyla hareket ettirilerek, (15) numaralı pencere açılıp-kapatılabilir. Böylece malzeme buharlaşırken süreye bağlı olarak film büyümesi gerçekleştirilir.

3.2 Örneklerin Hazırlanması

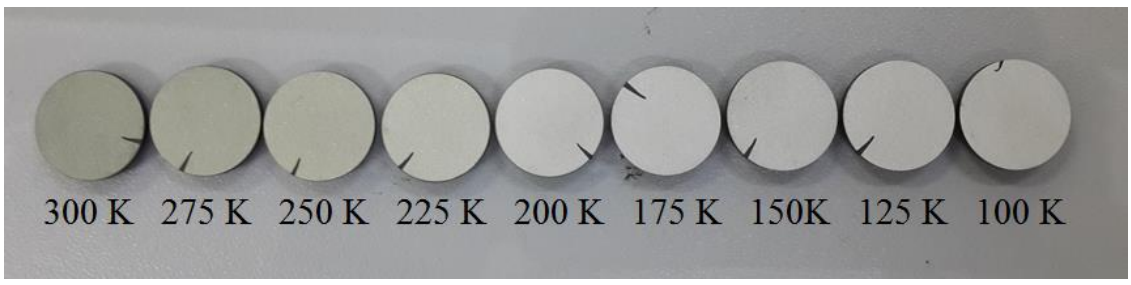
İlk olarak satın alınan Ti-6Al-4V alaşımında yüzey pürüzlülüğü oluşturuldu. Bu işlem için örnekler 300–425 μm büyüklüğüne sahip Al_2O_3 parçacıkları kullanılarak 4 bar basınç altında 50 saniye kumlandı. Projede öngörülen 50 μm büyüklüğündeki TiO_2 parçacıklarının kullanılmamasının nedeni bu parçacıklarla örneklerin yüzeyinde yeterli pürüzlülüğe ulaşılamamasıdır. Yüzeyi pürüzlendirilmiş örnekler oksitleme işleminden önce kimyasal olarak temizlendi. Daha sonra tüp fırın kullanılarak oksitleme işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemden önce

tüp fırının sıcaklık kalibrasyonu yapıldı. Kalibrasyon sonrası fırın kontrolcüsünün hedef sıcaklığının 525 °C olmasına karar verildi. Oksitleme işlemi için kullanılan ısıl işlem süreci Şekil 6'da verildi. Buna göre oda sıcaklığından 525 °C sıcaklığına 100 dakikada çıkıldı ve bu sıcaklıkta 180 dakika beklendi. Bu süre sonunda numuneler fırından çıkarılarak hızlı bir şekilde soğutuldu.



Şekil 6. Örneklerin oksitlenmesi için kullanılan ısıl süreç

Oksitlenmiş örneklere, yeni vakum sistemi kullanılarak 100 K, 125 K, 150 K, 175 K, 200 K, 225 K, 250 K, 275 K ve 300 K altlık sıcaklıklarında ve ~6×10^{-6} Torr basınç altında Ag kaplandı. Kaplama işleminde tüm örnekler için aynı miktarda (0,06 g) Ag tartılarak W (Tungsten) kayıkçığa konuldu ve gümüşün 10 dakika süre ile altlıklara kaplanması sağlandı. Buharlaştırma işleminde, tüm örnekler için kayıkçığa aynı güç değeri uygulandı. Elde edilen TiO_2/Ag ikili yapıları 366 nm dalgaboylu ultraviyole (UV) ışınları ile 120 dakika boyunca ışınlandı. Projede öngörülen 254 nm'lik UV ışınlarının kullanılmamasının nedeni, üretilen örneklerin yüzeylerinde yüksek enerjili ışınlanmadan kaynaklanan olası Ag-O yapılarının oluşmasının önlenmesidir. Farklı sıcaklıklarda Ag kaplanan örneklerin yüzey fotoğrafları Şekil 7'de verildi. Altlık sıcaklığı azaldıkça örneklerin yüzeyinin daha parlak olduğu görüldü.



Şekil 7. Ag kaplanan Ti-6Al-4V örneklerinin fotoğrafları

3.3 Hazırlanan Örneklerin Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi

Hazırlanan malzemelerin kristal yapılarının ve fazlarının tespiti X-ışını kırınım (XRD) desenlerinden faydalanılarak gerçekleştirildi. Bu iş için Rigaku-SmartLab marka-model XRD cihazı kullanıldı ve ölçümler 2θ = 30°–80° aralığında 3 °/dakika tarama hızı ile ve CuK_α ışınımı (λ = 1,5408 Å) kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Örneklerin yüzey özelliklerini belirlemek için Jeol JSM 6610 marka-model taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanıldı. Hazırlanan malzemelerin yüzey pürüzlülükleri ve parçacık boyutları Hitachi 5100N marka-model atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılarak incelendi. AFM görüntüleri iki ve üç boyutlu olarak 5 μm×5 μm ölçeğinde gerçekleştirildi. Kristal yapıda kimyasal bileşim oranları SEM cihazında bulunan Oxford Instruments Inca X-act marka EDS (enerji ayırmalı X-ışını spektroskopisi) cihazı ile alan taraması yapılarak tespit edildi. Örneklerin yaşlandırma testi öncesi ve sonrası pürüzlülük değerleri profilometre cihazı (Subtronic 25) ile ve sertlik değerleri Vickers sertlik cihazı (TMTeck HV- 1000B) ile ölçüldü. Gümüş tabakasının temel katman Ti-6Al-4V alaşımına adhezyonu Scratch testi CSM Scratch Tester marka-model cihazı ile elmas uç (Rockwell-C, 200 mikrometre yarıçaplı) kullanılarak değerlendirildi. Örnek yüzeylerinin korozyon özellikleri AMETEK PAR Versa STAT3 Potansiyostat cihazı kullanılarak değerlendirildi. Bu ölçümler; Ag/AgCl referans elektrot (RE), karşıt elektrot (CE) olarak platin tel, çalışma elektrotu (WE) olarak platin tel ve WE deney numunesi kullanılarak üç elektrot tekniğine göre yapıldı. Örnek açık devre potansiyeline eriştikten sonra -1000/950 mV potansiyel aralığı içinde 1 mV/s'lik tarama hızında potansiyodinamik olarak polarize edildi. Hazırlanan Ag kaplı titanyum örneklerin aşınma testleri Al_2O_3 karşı malzeme ile numunenin uzun aksı boyunca 2 Hz frekansta 50 N kuvvet uygulanarak 10000, 30000 ve 50000 çevrimlerinde incelendi.

3.4 Malzemelerin Biyouyumluluklarının İncelenmesi

3.4.1 Antibakteriyel Test

Test %70 etil alkol ile yıkanıp 50 °C inkübatörde 24 saat bekletilerek steril edilen disklerin nanogümüş kaplı yüzeylerinin antibakteriyel özelliği standart yöntemle (JIS Z 2801:2000) test edildi. Bu maksatla; nanogümüş kaplanmayan kontrol diskler de dahil olmak üzere steril petri kabına yerleştirilen tüm diskler üzerine PBS (fosfat tamponlu tuzlu su) ile hazırlanan *S. aureus* (ATCC 6538) ve *E. coli* (ATCC 6538) süspansiyonlarından (~$1X10^6$) 0,1 ml yayılarak ilave edildi. Diskler nem oranı >%90 olan 37 °C inkübatörde 24 saat süre ile bekletildikten sonra ayrı ayrı 10 ml PBS içeren tüpler içerisine aktarıldı. Vorteksleme ve sonikasyon işleminden sonra tüplerden alınan 1 ml örnekler PBS ile 10^{-1}, 10^{-2} ve 10^{-3} oranında yapılan sulandırmalar TSA (soy trypticase agar) pleytlere ekilip 37 °C etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı; ardından koloni sayımı (cfu/ml) yapılıp sonuçlar kaydedildi. Test standardı gereği nanogümüş kaplı disk

örnekleri ile yapılan ekimlerde 24 saat sonra <1 cfu görülmesi durumunda ekstraksiyon solüsyon hacmi (10 ml) test cfu değeri olarak kabul edilmiştir.
% etkinlik (E), % E= (Kontrol cfu – Test cfu)×100/Kontrol cfu olarak hesaplandı.

3.4.2 Gümüş İyon Salınımı Tespiti

Ag kaplı örneklerden Ag salınımının tespiti için insan kan plazmasının iyon konsantrasyonuna benzer yapay solüsyonlar temin edildi ve Ag iyonlarının salınımı incelendi.

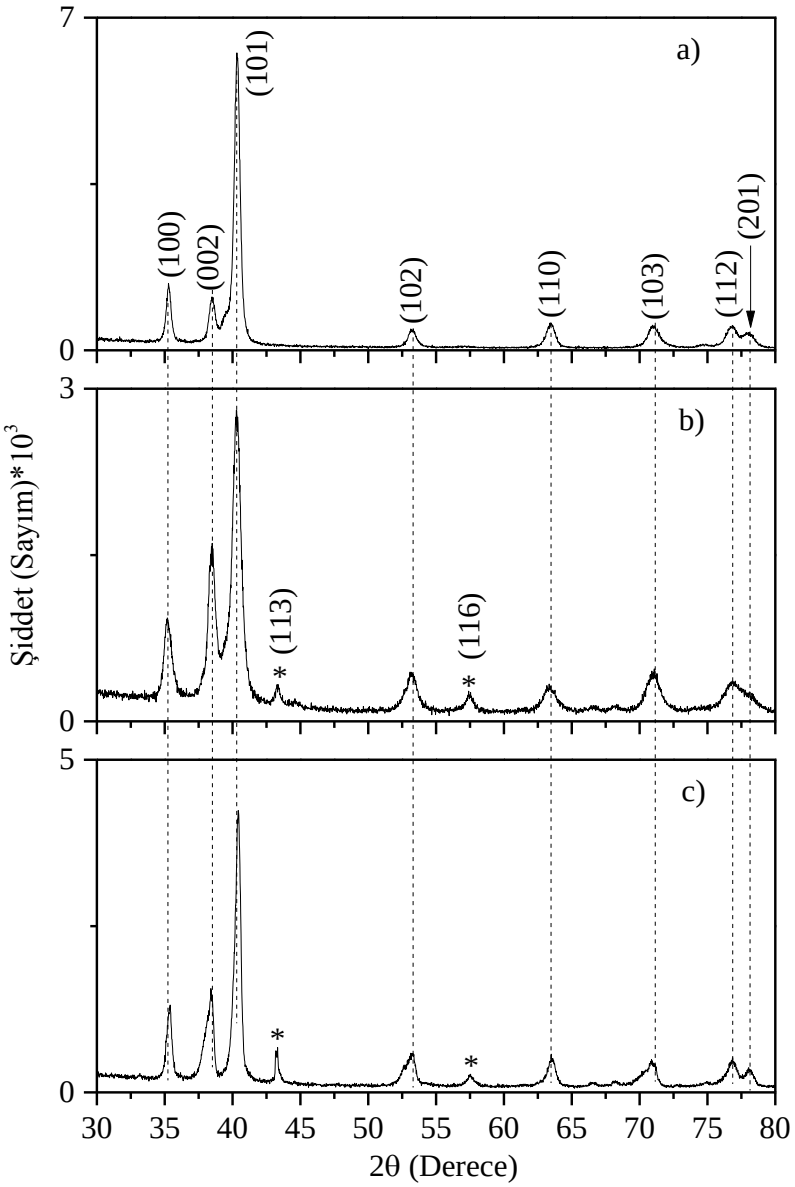
3.4.3 Hazır Hücre Kültürleri İle Sitotoksitenin Belirlenmesi

Bu uygulamada fibroblast ve osteoblast aktiviteleri incelendi ve hücrelerin canlılık oranları ortaya kondu. Human osteoblast-benzeri hücreler SaOS-2 (ATCC85-HTB) ve insan gingiva fibroblast hücreleri (Pasaj 3) % 10 FBS (Lonza, USA), 2 mM L-glutamin, penisilin/streptomisin ve fungizon içeren Minimum Essential Medium Alpha (Lonza, USA) kültür vasatı (alfa-MEM) ile T75 kültür kapları kullanılarak % 5 CO_2 inkübatörde 37 °C'de çoğaltıldı. Hücre üremesi kültür kabı yüzeyini % 80-90 oranında kapladığında, kültür vasatı uzaklaştırılıp hücreler Ca ve Mg içermeyen fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ile yıkandıktan sonra tripsin/EDTA (Lonza, USA) kullanarak süspansiyon haline getirildi. Hücre sayımı yapıldı. Steril 24-kuyucuklu kültür kabının kuyucuklarına yerleştirilen herbir disk üzerine 4×10^4 hücre süspansiyonu eklendi ve inkübatöre kaldırıldı. 48 saat sonra, diskler steril penset yardımıyla alınıp her bir kuyucuğunda 1 ml % 2 FBS katkılı alfa-MEM kültür vasatı içeren 24-kuyucuklu kültür kabının kuyucuklarına ayrı ayrı yerleştirildi. Kuyucuklara MTT (4,5-dimethyl-thiazoyl)-2,5-diphenyl-SH-tetrazolium bromide) solüsyonundan 0,04 ml ilave edildi, yavaşça karıştırıldıktan sonra 3 saat süre ile % 5 CO_2 inkübatörde 37 °C'de bekletildi. Süre bittiğinde MTT solüsyonu mikropipet yardımı ile tamamen uzaklaştırıldı ve kuyucuklara 0,4 ml dimetil sülfoksit ilave edildi ve inkübatörde 30 dakika bekletildi. Oluşan mavi-menekşe renk absorbansını (OD) ölçmek için 0,1 ml örnekler alınıp 96-kuyucuklu mikropleytin kuyucuklarına yerleştirildi ve mikropleyt okuyucusuna (Tecan Sunrise) yerleştirilerek 570/630 nm'de okutuldu. Test ve kontrol disk örnekleri ile elde edilen OD570 değerlerinin ortalaması alınıp karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

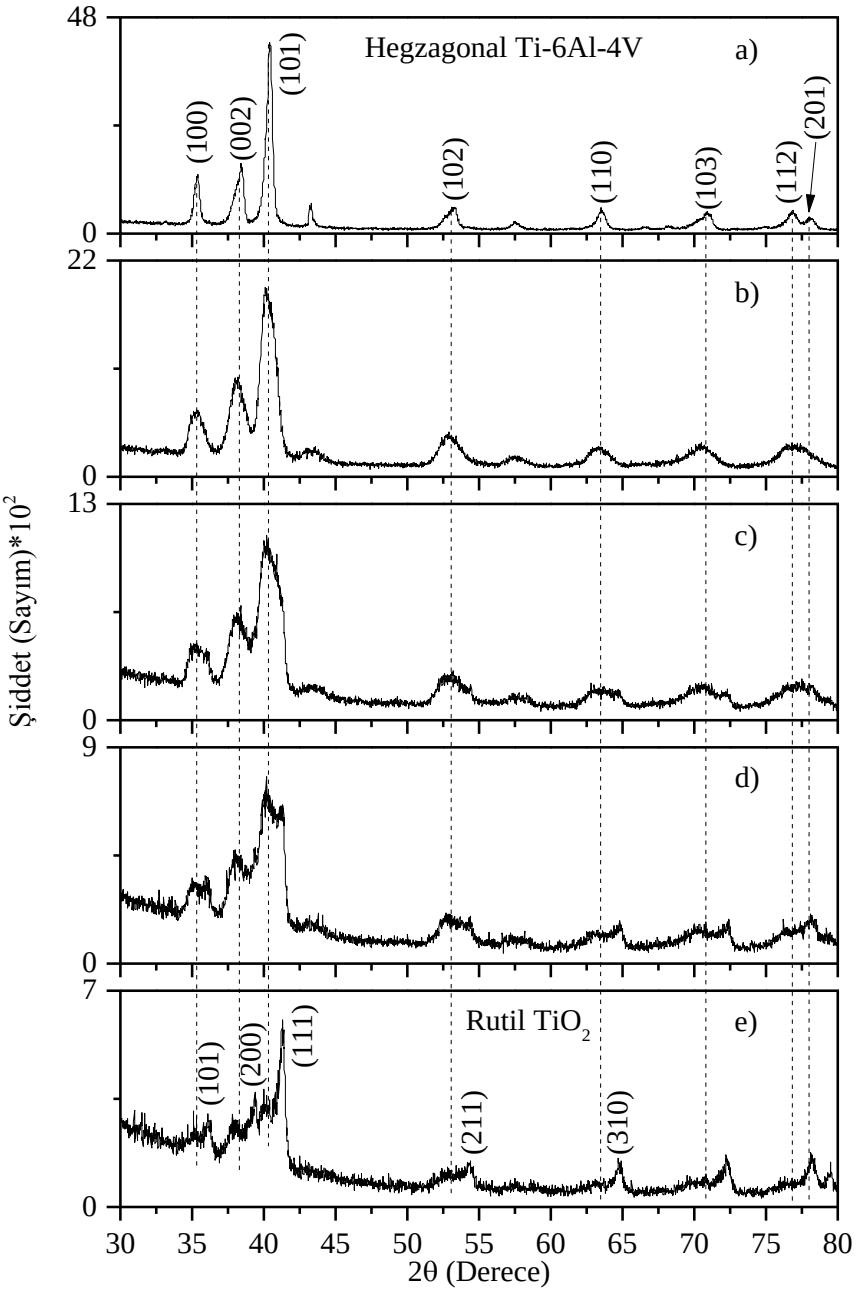
4.1 Örneklerin Ag Kaplama Öncesi Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi

Şekil 8'de işlem görmemiş (kontrol) Ti-6Al-4V, yüzeyi pürüzlü hale getirilen ve yüzeyi oksitlenen örneklerin X-ışını kırınım desenlerini gösterildi. Tüm Ti-6Al-4V örnekleri için kristal yapının hegzagonal olduğu (PDF Card No.: 04-002-8708) ve en şiddetli pikin (101) düzlemine ait olduğu belirlendi. Diğer düşük şiddetli piklerin (100), (002), (102), (110), (103), (112) ve (201) düzlemlerine ait olduğu tespit edildi. Yüzeyi pürüzlü hale getirilen örneklerde yaklaşık olarak 43,3° ve 57,4° (*) civarlarında yeni piklerin oluştuğu görüldü.



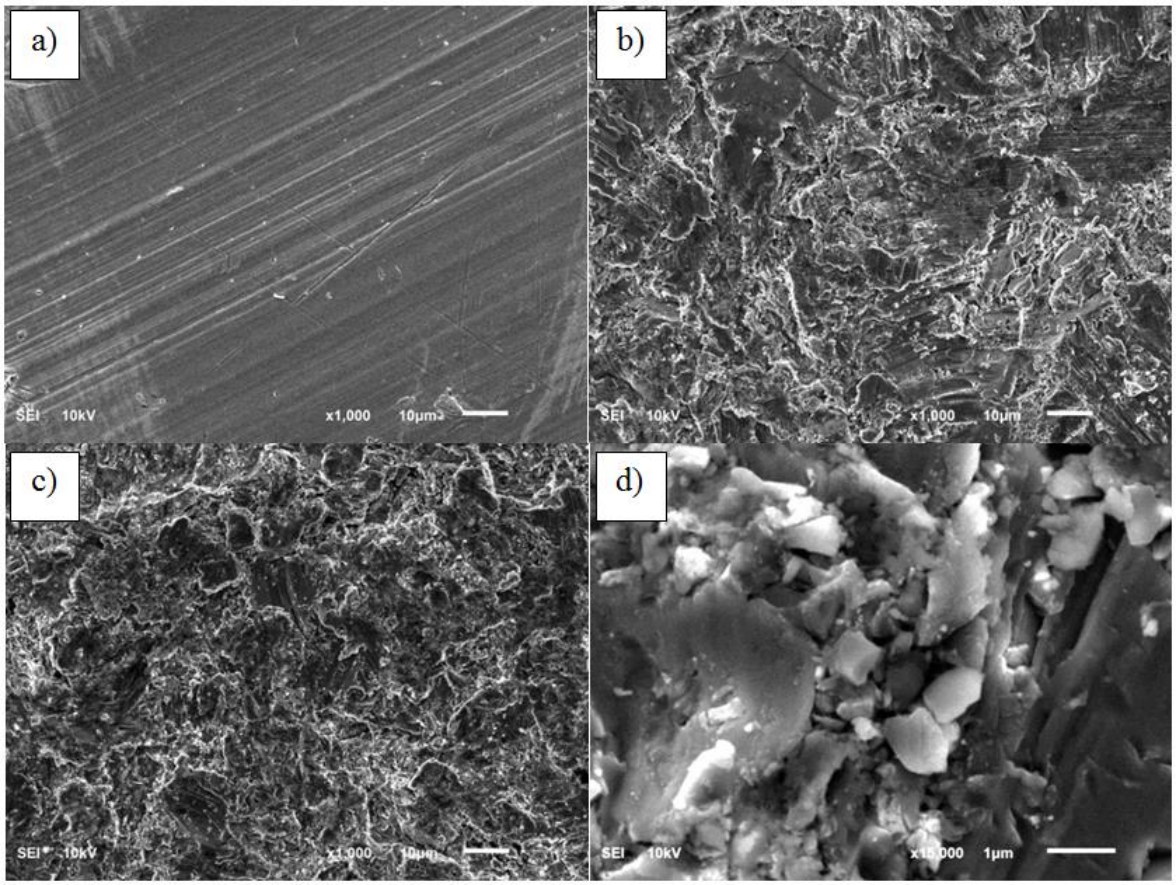
Şekil 8. a) Kontrol, b) yüzeyi pürüzlü hale getirilen ve c) yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneklerin X-ışını kırınım desenleri

Isıl işlem sonrasında oluştuğu düşünülen Ti-O bileşenlerinin daha ayrıntılı belirlenmesi için farklı X-ışını düşme açılarında (0,1°; 0,3°; 0,5°; 1°) ölçümler yapıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 9'da verildi. 5 ° ile ölçülen örnekte baskın olarak hegzagonal Ti-6Al-4V fazı görülürken X-ışını düşme açısı küçüldükçe yüzeyde oluşan Ti-O fazına ait piklerin oluştuğu belirlendi. Yapılan incelemelere göre bu oksit piklerinin rutil TiO_2 (PDF Card No.: 00-001-1292) pikleri ile iyi örtüştüğü tespit edildi. Buna göre yüzeyde (111) tercihli yönelimine sahip rutil TiO_2 fazının oluştuğu söylenebilir. Bu faza ait diğer pikler (101), (200), (211) ve (310) olarak indislendi.



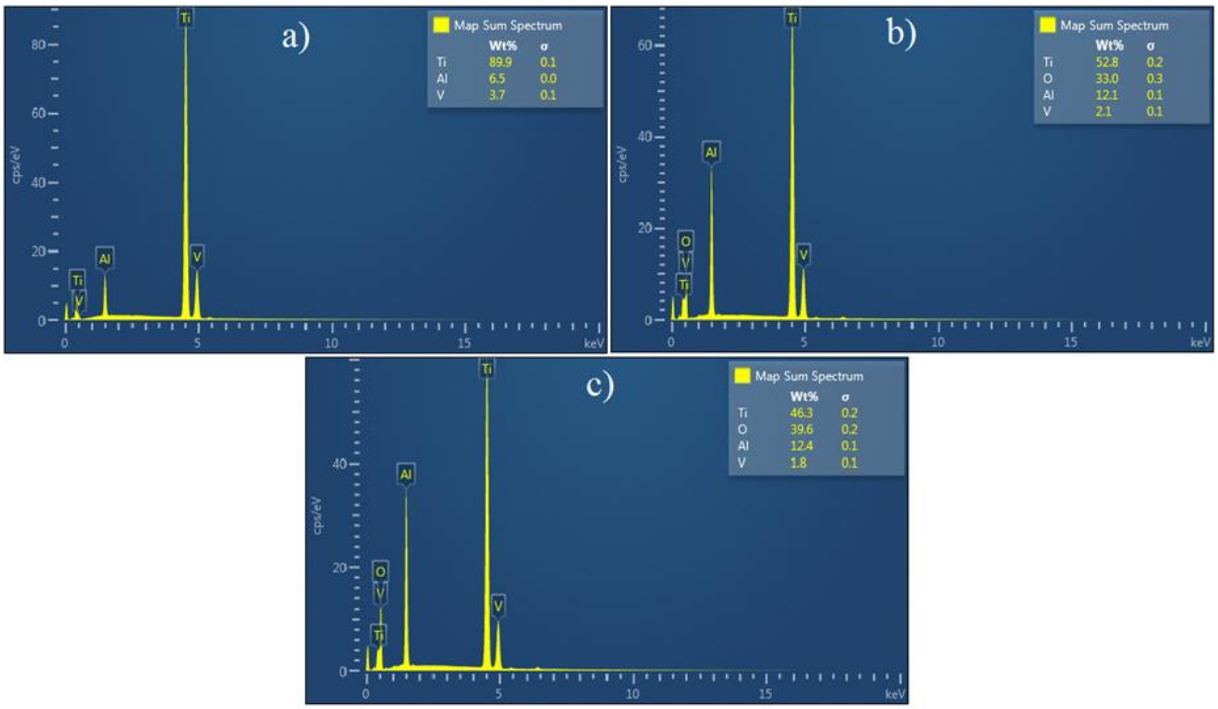
Şekil 9. Yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneğin farklı X-ışını düşme açılarında ölçülen X-ışını kırınım desenleri: a) 5°, b) 1°, c) 0,5°, d) 0,3° ve e) 0,1°

Örneklerin yüzey özelliklerinin belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntüleri alındı. Şekil 10 kontrol Ti-6Al-4V, yüzeyi pürüzlü hale getirilen ve yüzeyi oksitlenen örneklerin SEM görüntülerini göstermektedir. Bu şekilden işleme tabi tutulmamış örneğin düzgün bir çizgisel yüzeye diğerlerinin ise pürüzlü bir yüzeye sahip olduğu net olarak görülmektedir. Bununla birlikte yüzeyi pürüzlü hale getirilen örnek ile yüzeyi oksitlenen örneğin yüzey özelliklerinde önemli bir değişim olmadığı belirlendi.



Şekil 10. a) Kontrol, b) yüzeyi pürüzlü hale getirilen, c) yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneklerin ve d) 15000 büyütme için yüzeyi oksitlenen örneğin SEM görüntüleri

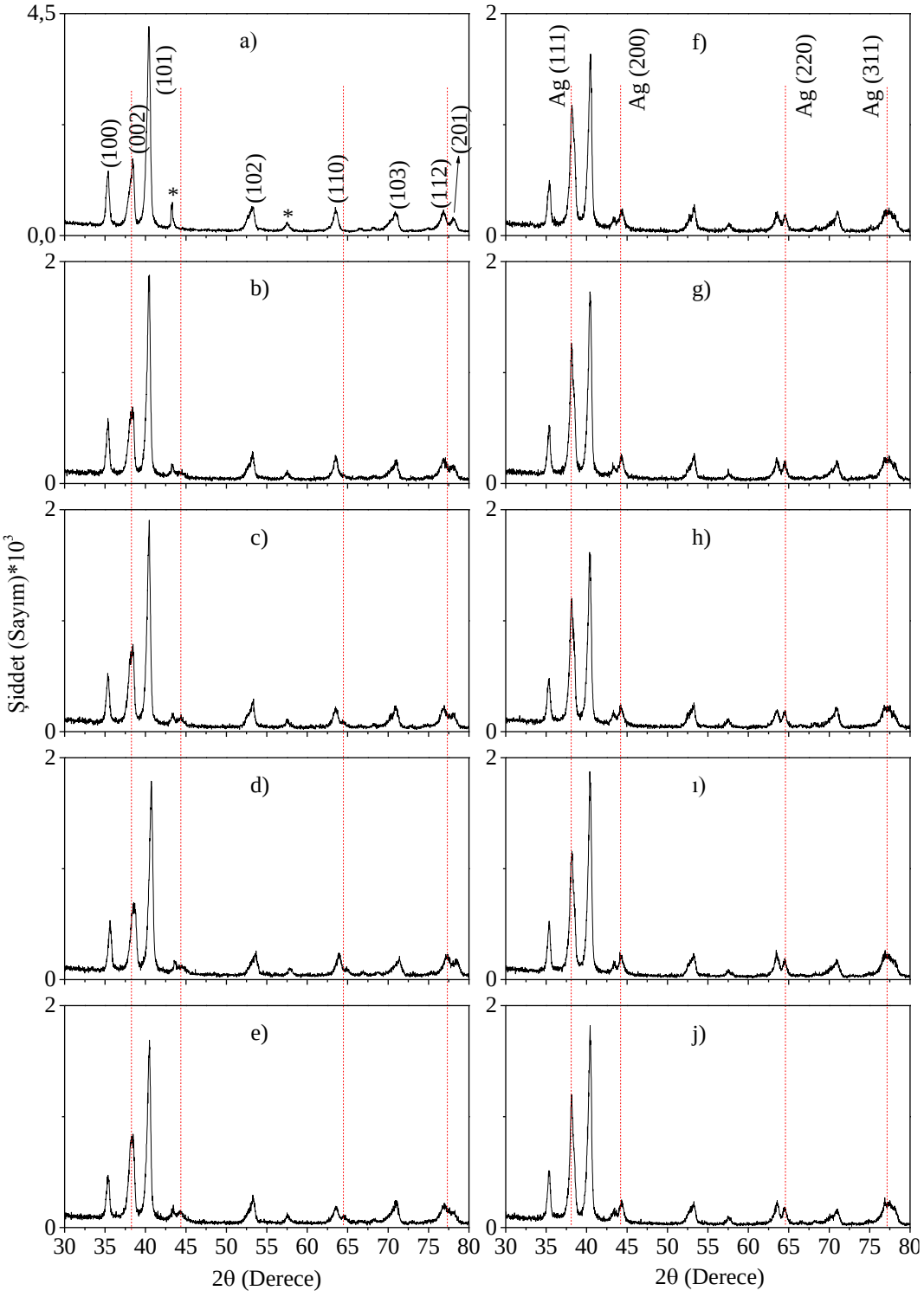
Örneklerin bileşim oranı enerji ayırmalı X-ışını spektroskopisi (EDS) ile incelendi. Elde edilen spektrumlar Şekil 11'de verildi. Bu spektrum verilerinden kontrol örneğinin, ağırlıkça (wt%) beklenen sitokiometrik oranı (% 90 Ti, % 6 Al, %4 V) yaklaşık olarak sağladığı tespit edildi. Yüzeyi pürüzlü hale getirilen örneğin yapısına fazladan % 33,0 oranında oksijen girdiği görüldü. Bu sonucun XRD ölçümleri ile uyumlu olduğu belirlendi ve mekanik pürüzlendirme sürecinden kaynaklandığı anlaşıldı. Oksitleme sonrası yapıdaki oksijen miktarının % 39,6'ya yükseldiği saptandı.



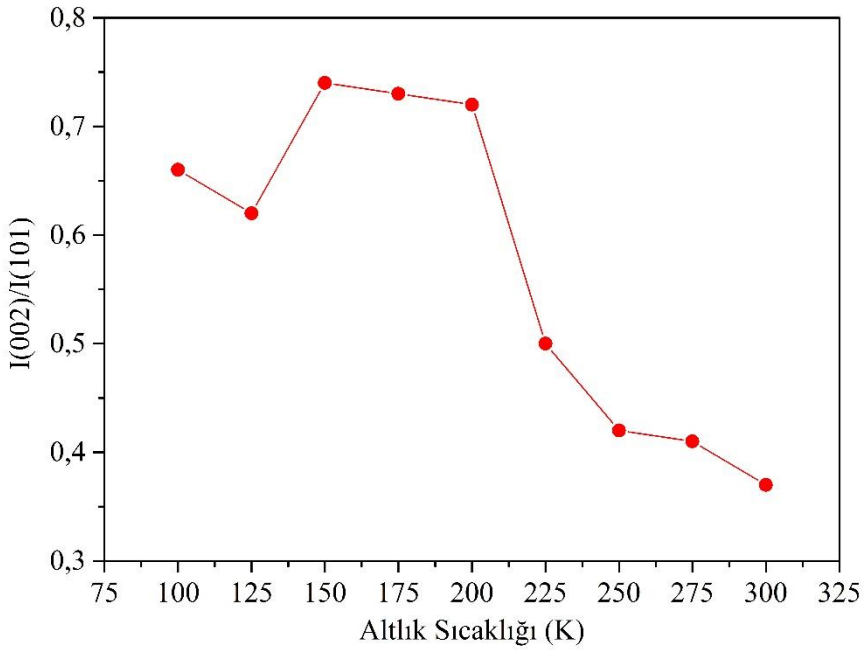
Şekil 11. a) Kontrol, b) yüzeyi pürüzlü hale getirilen ve c) yüzeyi oksitlenen Ti-6Al-4V örneklerinin EDS sonuçları

4.2 Örneklerin Ag Kaplama Sonrası Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi

Şekil 12 a) daha önce Şekil 8 c)'de verilen yüzeyi pürüzlü hale getirildikten sonra oksitlenen Ti-6Al-4V örneklerin X-ışını kırınım desenlerini göstermektedir. Şekil 8'de de açıklandığı gibi Ti-6Al-4V örnekleri (101), (100), (002), (102), (110), (103), (112) ve (201) piklerinin oluştuğu hegzagonal faza sahiptir. Ayrıca bu piklere ek olarak kumlama sonrası 43,3° ve 57,4° (*) civarlarında oluşan ve trigonal $Ti_{0.25}Al_{1.75}O_3$ veya trigonal Al_2O_3 fazlarına ait olduğu düşünülen düşük şiddetli pikler bulunmaktadır. Bu şekiller üzerinde gösterilen kırmızı kesikli çizgiler kübik gümüş fazının (rutil faz) pik konumlarını göstermektedir. Bu pikler 38,12°; 44,28°; 64,43° ve 77,47° açılarında bulunan sırasıyla (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerinden gelen yansımalara aittir (PDF Card No.: 00-004-0783). Örneklerin XRD desenlerinden $I_{(002)}/I_{(101)}$ şiddet oranları hesaplandı ve elde edilen sonuçlar Şekil 13'te verildi. Bu sonuçlara göre özellikle 200 K altlık sıcaklığından sonra Ti-6Al-4V yapısının (002) pikinin şiddetinin önemli ölçüde arttığı belirlendi.

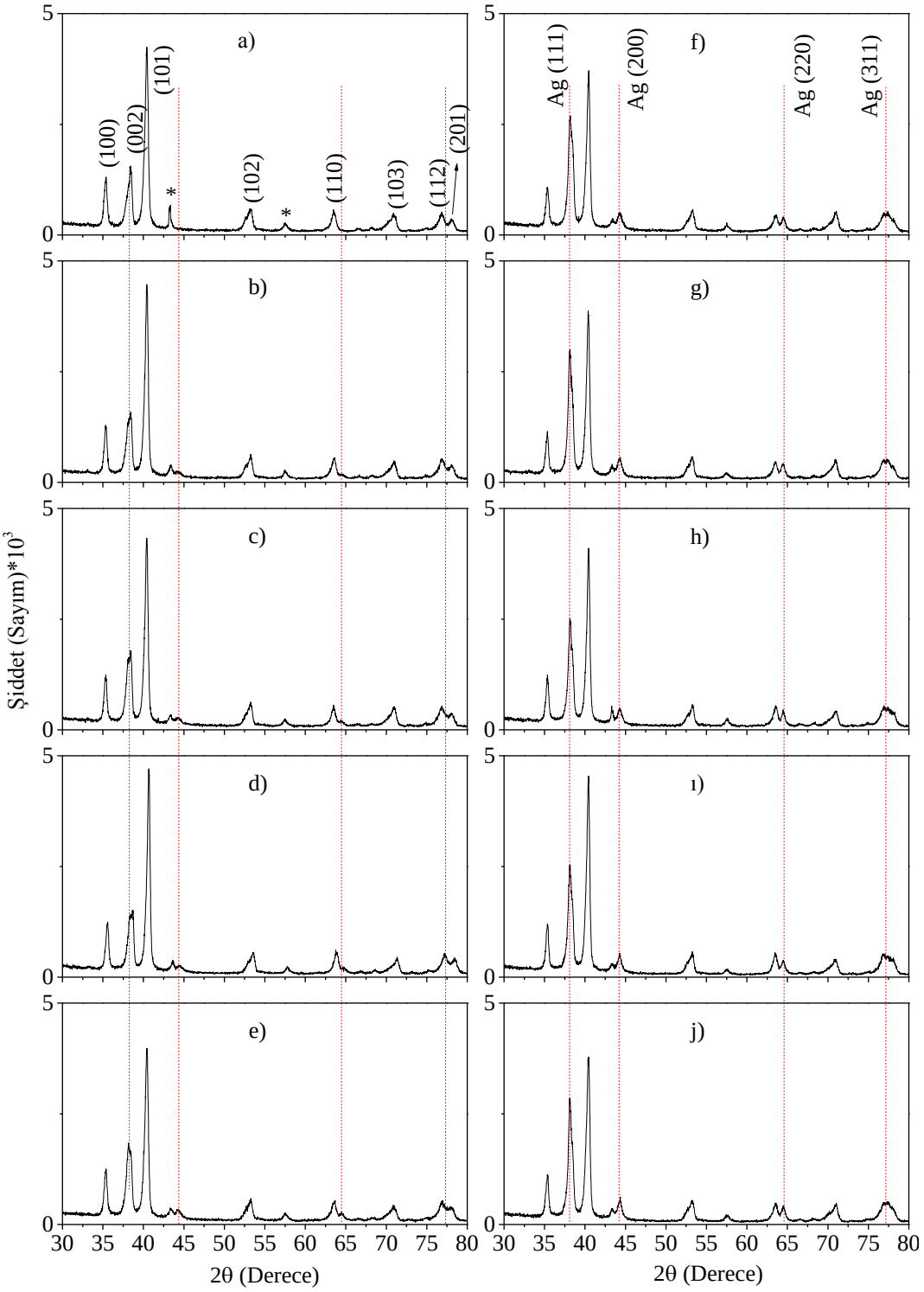


Şekil 12. a) Gümüş kaplanmamış ve b) 300 K, c) 275 K, d) 250 K, e) 225 K, f) 200 K, g) 175 K, h) 150 K, ı) 125 K ve j) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin X-ışını kırınım desenleri



Şekil 13. Gümüş kaplanan örneklerin $I_{(002)}/I_{(101)}$ şiddet oranlarının altlık sıcaklığına göre değişimi

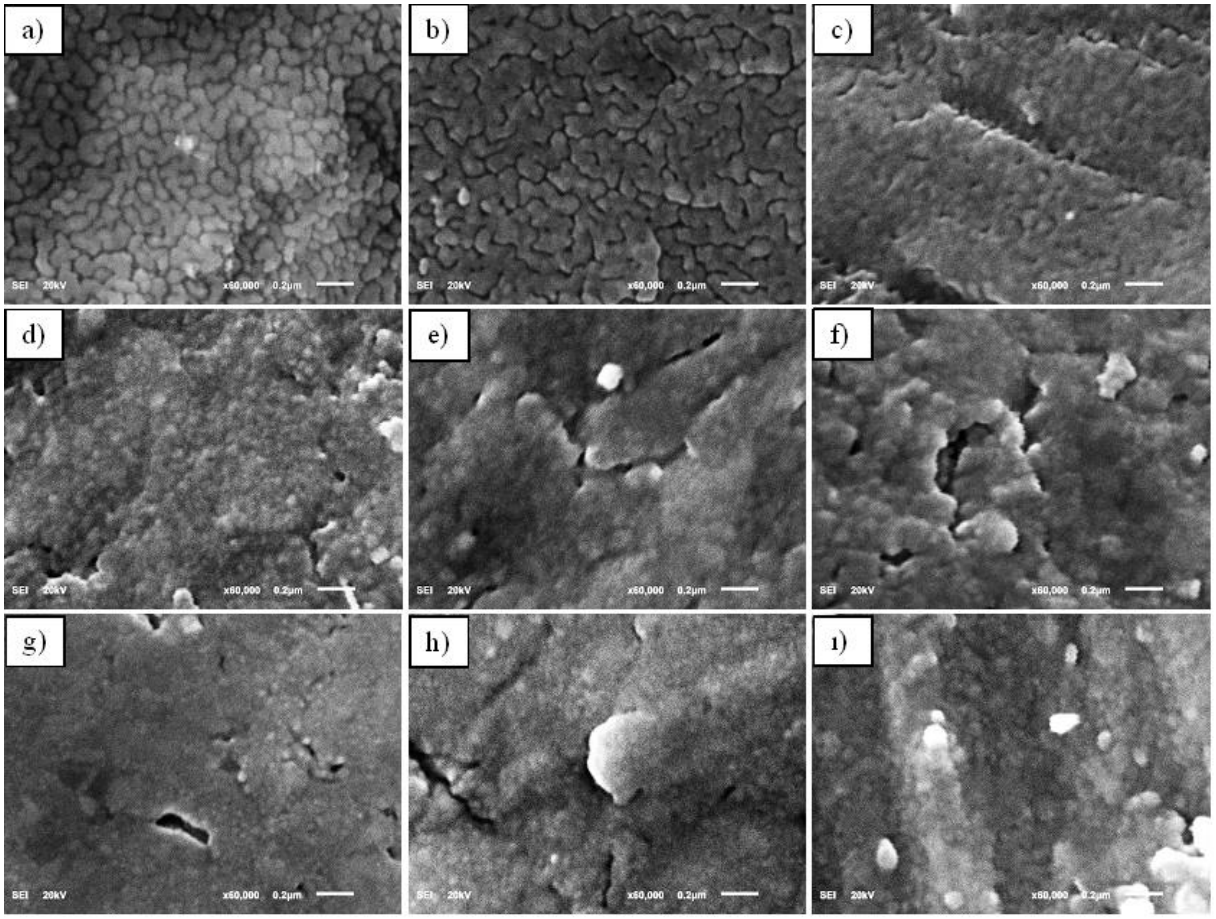
Şekil 14, 366 nm dalgaboyuna sahip ultraviyole (UV) ışığı altında 120 dakika bekletilen örneklerin XRD grafiklerini göstermektedir. Bu şekilden UV ile aydınlatma sonrası yeni bir faza ait pikin oluşmadığı ve tercihli yönelimlerin değişmediği ancak hem Ti-6Al-4V yapısının hem de Ag yapısının pik şiddetlerinin yaklaşık iki kat arttığı görülmektedir.



Şekil 14. a) Gümüş kaplanmamış ve b) 300 K, c) 275 K, d) 250 K, e) 225 K, f) 200 K, g) 175 K, h) 150 K, ı) 125 K ve j) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ışını ile ışınlandıktan sonraki X-ışını kırınım desenleri

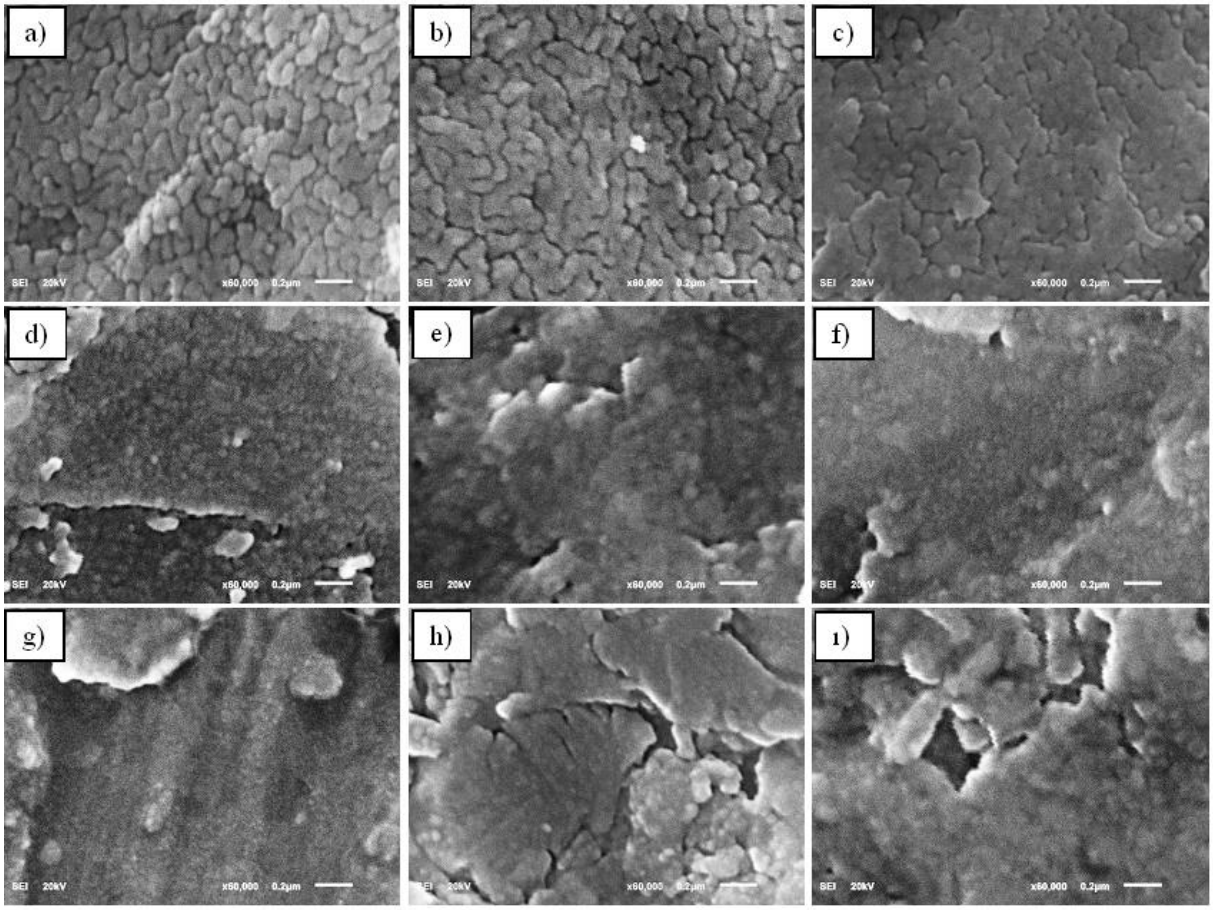
Şekil 15 gümüş kaplanan örneklerin SEM görüntülerini göstermektedir. Bu görüntülerden altlık sıcaklığının gümüş tabakasının yüzey morfolojisini önemli ölçüde etkilediği açıkça görülmektedir. 300 K altlık sıcaklığında hazırlanan Ag katmanının taneleri ve tane sınırları net olarak belirlenebilmektedir. Fakat altlık sıcaklığı azaldıkça tane sınırları azalmakta ve daha sıkı

bir yüzey yapısı oluşmaktadır. 225 K altlık sıcaklığından sonra yüksek altlık sıcaklıklarındaki uzun ve iri tane yapısı küresel ve küçük tane yapısına dönüşmektedir. 150 K altlık sıcaklığından sonra ise bu küresel tanelerin boyutu yaklaşık 10-25 nm civarına azalmaktadır. Bu sonucun XRD verileri açıklanırken bahsedildiği gibi farklı altlık sıcaklıklarında farklı kritik boyutlu parçacıkların Soliton hareketliliğine neden olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



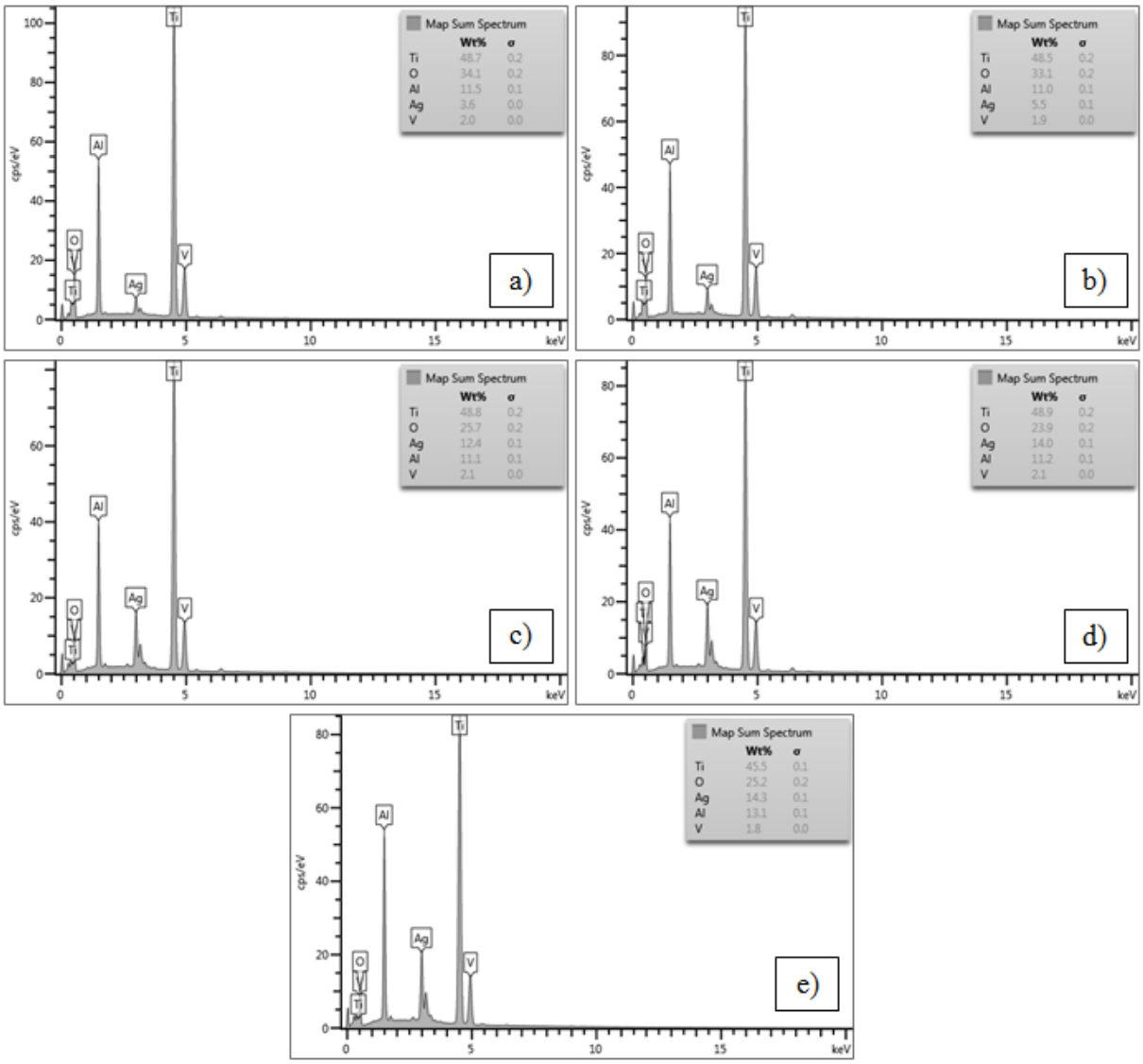
Şekil 15. a) 300 K, b) 275 K, c) 250 K, d) 225 K, e) 200 K, f) 175 K, g) 150 K, h) 125 K ve ı)100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin SEM görüntüleri

Şekil 16, 366 nm dalgaboyuna sahip ultraviyole (UV) ışığı altında 120 dakika bekletilen örneklerin SEM görüntülerini göstermektedir. Bu görüntüler incelendiğinde beklendiği üzere 300 K, 275 K ve 250 K sıcaklıklarında hazırlanan örnekler için tanelerin birleşerek boyutunun arttığı ve tane sınırlarının ise daraldığı açıkça görülmektedir. Diğer örneklerde UV ışınının tane boyutuna ve sınırına önemli bir etkisinin olmadığı belirlendi.

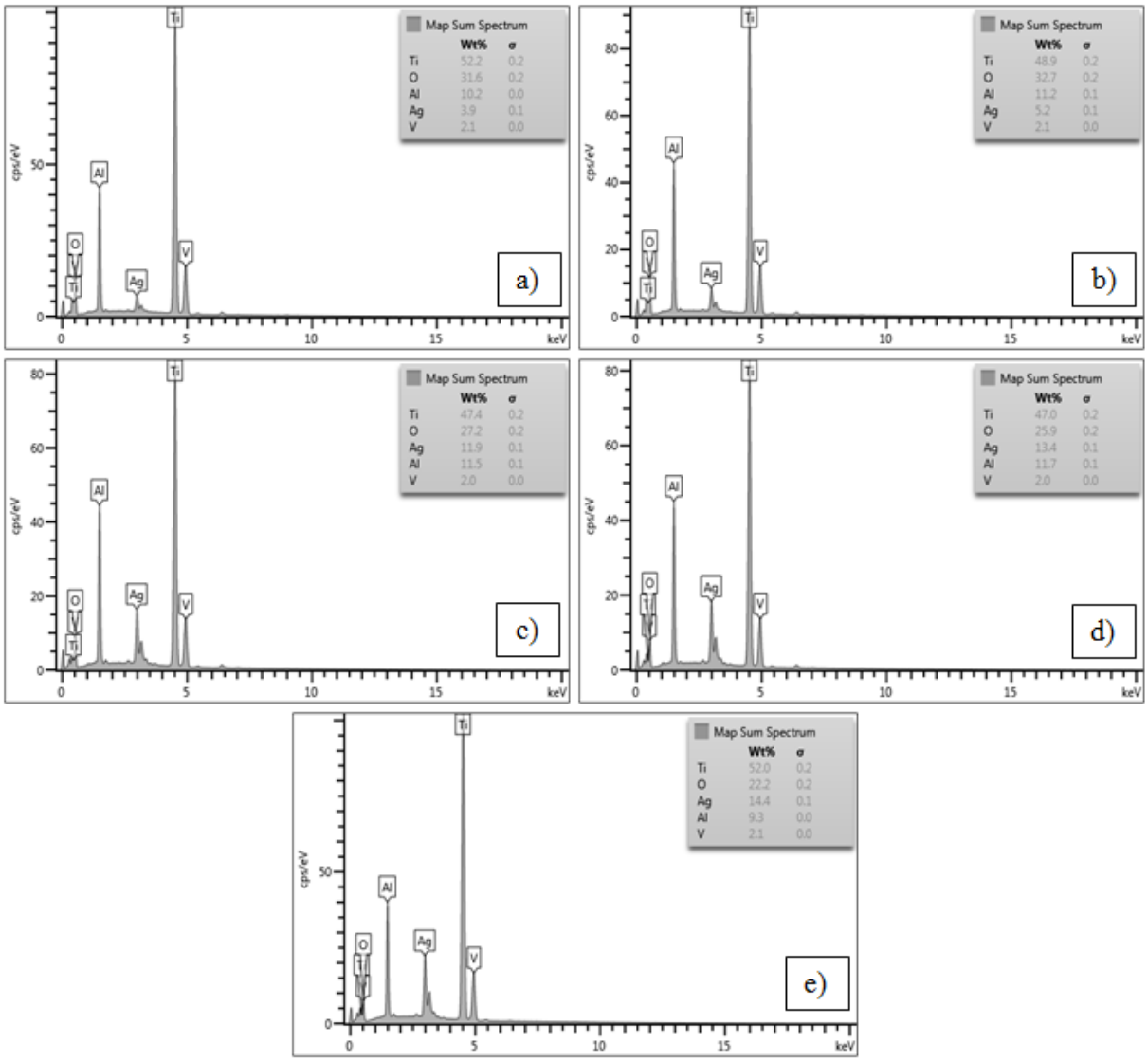


Şekil 16. a) 300 K, b) 275 K, c) 250 K, d) 225 K, e) 200 K, f) 175 K, g) 150 K, h) 125 K ve ı) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ile ışınlama sonrası SEM görüntüleri

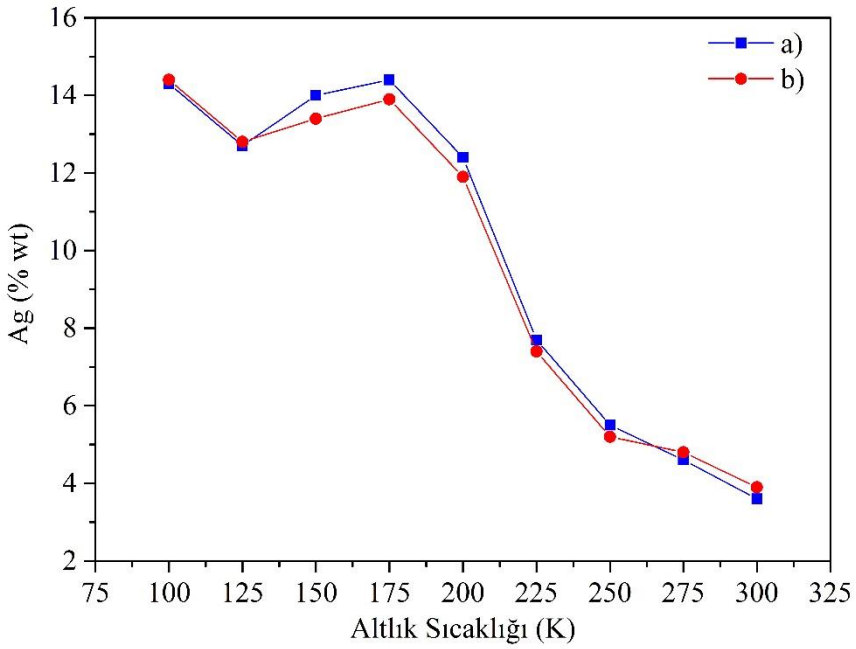
Gümüş kaplanan örneklerin EDS ölçümleri yapıldı ve sonuçlar incelendi. Bu spektrumlar incelendiğinde altlık sıcaklığı azaldıkça örneklerdeki Ag miktarının arttığı ve 200 K altlık sıcaklığından sonra yaklaşık olarak sabit kaldığı görülmektedir. Bu sonuç düşük altlık sıcaklıklarında kaplanan Ag katmanın daha sıkı tane yapısına sahip olmasından kaynaklanabilir. Şekil 17 seçili beş örnek için ışınlama öncesi EDS spektrumlarını göstermektedir. Işınlama sonrası, örneklerdeki Ag miktarında önemli bir değişimin olmadığı ve Ag miktarının altlık sıcaklığına göre benzer davranış sergilediği belirlendi (Şekil 19). Şekil 18, seçili beş örnek için ışınlama sonrası EDS spektrumlarını göstermektedir.



Şekil 17. a) 300 K, b) 250 K, c) 200 K, d) 150 K ve e) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin ağırlık (%wt) olarak EDS sonuçları

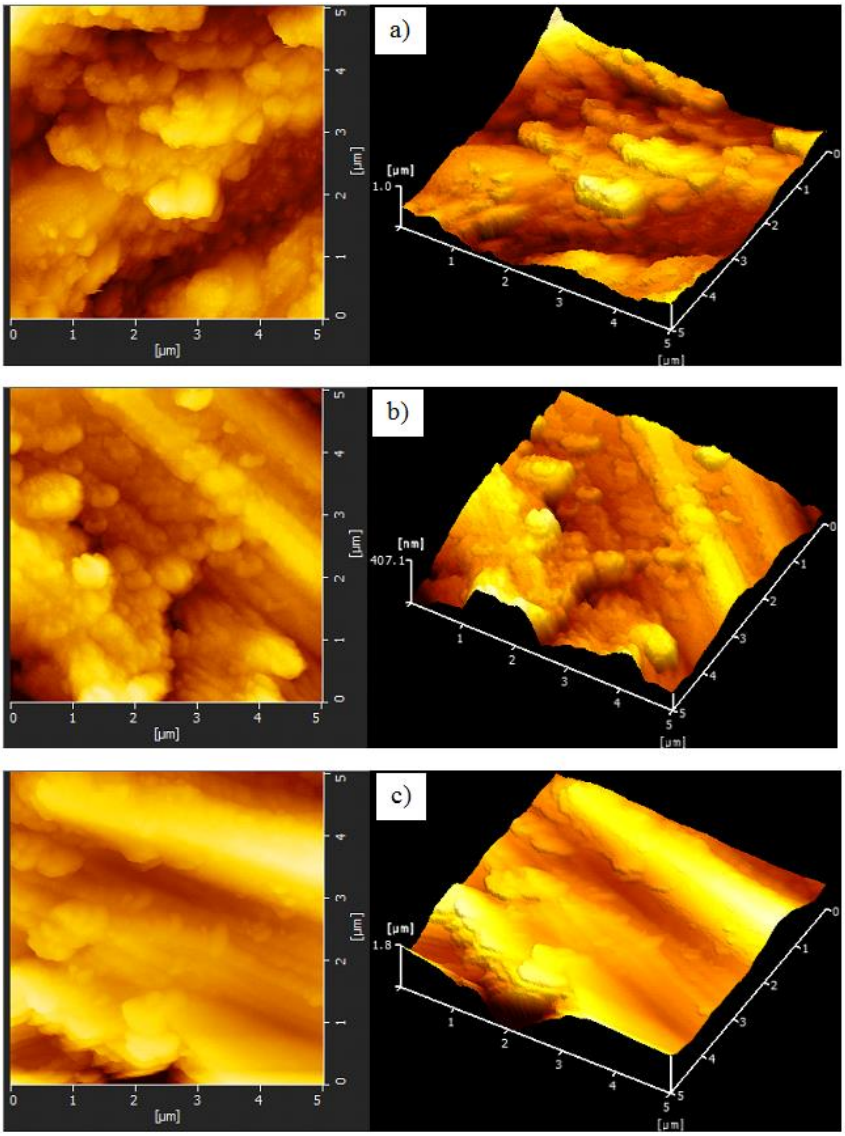


Şekil 18. a) 300 K, b) 250 K, c) 200 K, d) 150 K ve e) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ile ışınlama sonrası ağırlık (%wt) olarak EDS sonuçları.



Şekil 19. a) Işınlanmamış ve b) ışınlanmış örneklerdeki Ag miktarının altlık sıcaklığına göre değişimi

Örneklerin Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) incelemeleri yapıldı ve elde edilen sonuçlar üç farklı sıcaklık için Şekil 20'de verildi. Örneklerin AFM ölçümlerinden elde edilen sonuçlara göre altlık sıcaklığı azaldıkça tanelerin küçüldüğü tespit edildi. Bu sonuç SEM görüntülerinde elde edilenler ile uyumludur. Yine AFM sonuçlarına göre örneklerin yüzey pürüzlülüğünün altlık sıcaklığı ile azaldığı görülmektedir.



Şekil 20. a) 300 K, b) 200 K ve c) 100 K sıcaklıklarında gümüş kaplanmış örneklerin UV ile ışınlama sonrası 5×5 µm ölçekli AFM görüntüleri

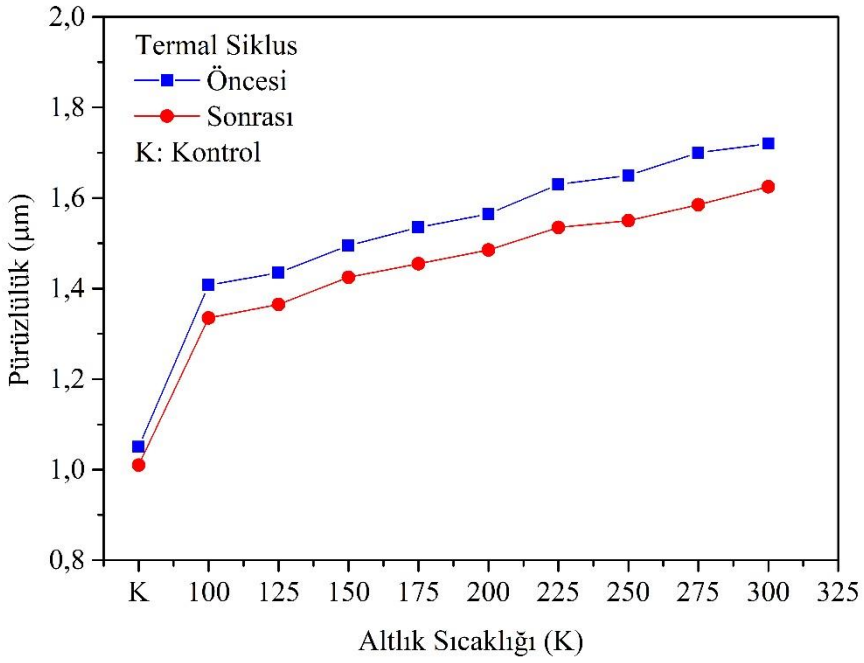
Yaşlandırma işleminden önce ve sonra örneklerden elde edilen pürüzlülük sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde non-parametrik (Kruskal Wallis) test kullanıldı ve termal siklus öncesi ($p<0,05$), sonrası ($p<0,01$) elde edilen değerlerin birbirinden farkların anlamlı, iki ölçüm değerleri arasındaki farkların ise anlamlı olmadığı ($p>0,05$) istatistiksel olarak saptandı. Yaşlandırma öncesi ve sonrasında örneklerin ortalama pürüzlülük değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 21'de verildi. Şekil 21'de görüldüğü üzere sıcaklık arttıkça örneklerin pürüzlülük değerleri artmaktadır. Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar Tukey HSD testi ile istatistiksel olarak değerlendirdi. Yaşlandırma işleminden önce yapılan Tukey-HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda; - 100, 125 K sıcaklıklarda elde edilen pürüzlülük değerleri arasındaki farkların,

- 150, 175 K sıcaklıklarda elde edilen pürüzlülük değerleri arasındaki farkların,

- 175, 200 K sıcaklıklarda elde edilen pürüzlülük değerleri arasındaki farkların,
- 225, 250 K sıcaklıklardaki pürüzlülük değerleri arasındaki farkların ve
- 275, 300 K sıcaklıklardaki pürüzlülük değerleri arasındaki farkların anlamlı olmadığı ($p>0,05$), bu grupların diğer gruplardan ve kontrol grubundaki örneklerden farkının ise anlamlı ($p<0,05$) olduğu istatistiksel olarak saptandı.

Yaşlandırma işleminden sonra yapılan Tukey-HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda; 125, 150, 175, 225, 250, 275 K sıcaklıklarda elde edilen pürüzlülük değerleri arasındaki farkların birbirine benzer ($p>0,05$), bunların kontrol grubundaki pürüzlülük değerleri ile 100 K, 200 K, 300 K sıcaklıkta hazırlanan örneklerden elde edilen pürüzlülük değerleri arasındaki farklarının ise anlamlı ($p<0,05$) olduğu istatistiksel olarak tespit edildi.

Yaşlandırma işleminden sonra örneklerin yüzey pürüzlülük değerlerinde azalma saptanmış olmasına karşın elde edilen farkın istatistiksel olarak anlamlı ($p>0,05$) olmadığı görüldü.

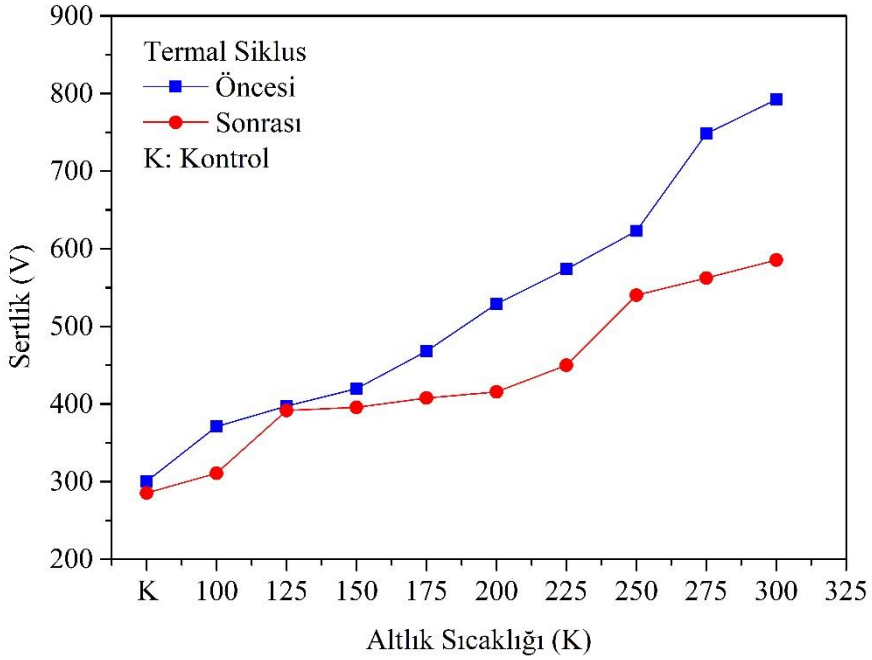


Şekil 21. Yüzey pürüzlülük değerleri

Yaşlandırma işleminden önce ve sonra örneklerden elde edilen sertlik sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde non-parametrik (Kruskal Wallis) test kullanıldı ve termal siklus öncesi elde edilen değerlerin kontrol grubundaki örneklerden farklarının anlamlı ($p<0,001$), iki ölçüm değerleri arasındaki farkların ise anlamlı olmadığı ($p>0,05$) istatistiksel olarak saptandı. Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar Tukey HSD testi ile yapıldı.

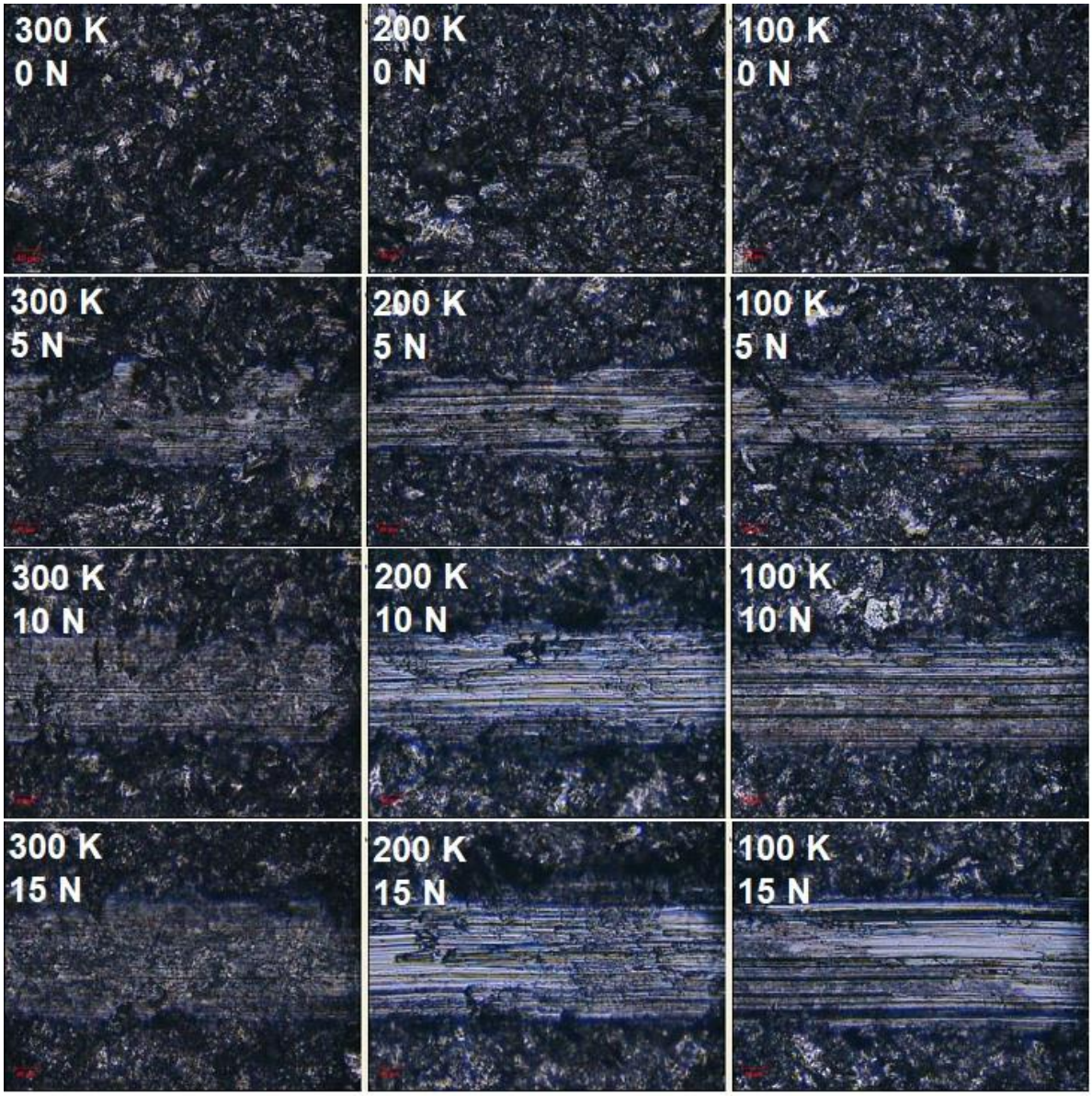
Tukey-HSD çoklu karşılaştırma testi sonucunda;

Yaşlandırma işleminden önce – 100 ile 125 K, 125 ile150 K, sıcaklıklarda hazırlanan örneklerde elde edilen değerler arasındaki farkların anlamlı olmadığı ($p>0,05$), bunların birbirlerinden, diğer gruplardan (175 K, 200 K, 225 K, 250 K, 275 K, 300 K) ve kontrol grubundaki örneklerden farklarının ise anlamlı ($p<0,05$) olduğu istatistiksel olarak saptandı.
Yaşlandırma işleminden sonra – 125-200 K arasındaki sıcaklıklarda, 200 ile 225, 250 ile 275 K, 275 ile 300 K sıcaklıklarda hazırlanan örneklerde elde edilen değerler arasındaki farkların anlamlı olmadığı ($p>0,05$), bunların birbirlerinden ve kontrol grubundaki örneklerden farklarının ise anlamlı ($p<0,05$) olduğu istatistiksel olarak tespit edildi.
Şekil 22'de farklı altlık sıcaklıklarında hazırlanan örneklerin yaşlandırma öncesi ve sonrası elde edilen sertlik değerleri verildi. Görüldüğü üzere, sıcaklık değerleri düştükçe sertlik azalmaktadır.
Yaşlandırma işleminden sora örneklerin sertlik ölçümleri tekrarlandı ve elde edilen veriler benzer istatiksel yöntemler ile analiz edildi.

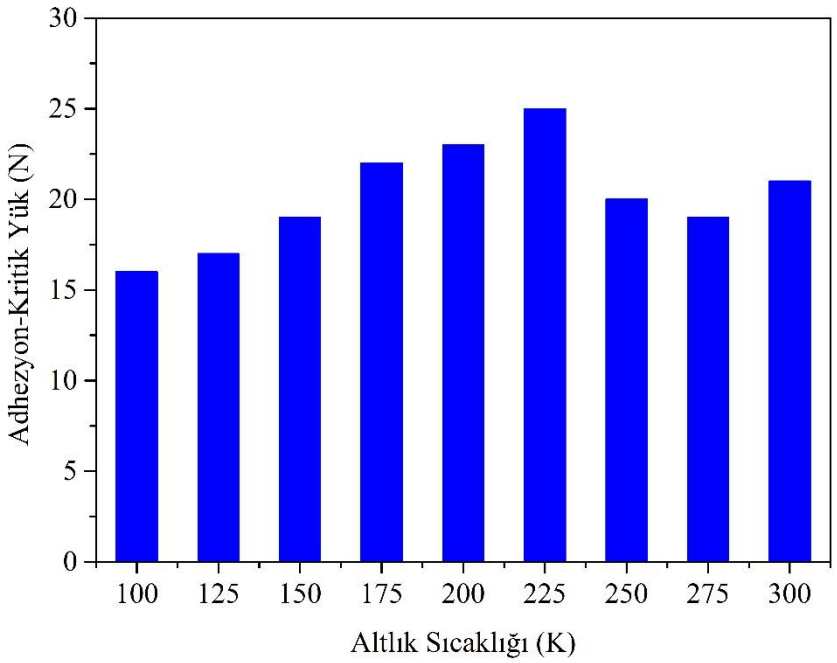


Şekil 22. Sertlik değerlerinin grafiksel gösterimi

Örneklerin adhezyon testinden elde edilen yüzey görüntüleri Şekil 23'te ve ortalama adhezyon değerleri Şekil 24'te verildi. Şekil 23'ten anlaşıldığı gibi bütün örneklerde adeziv tarzda ayrılma saptanmıştır. Şekil 24'e göre en yüksek adhezyon değerinin 225 K'de üretilen örnekte olduğu ve 225 K'den sonra adhezyon değerinin yavaşça azaldığı tespit edildi.

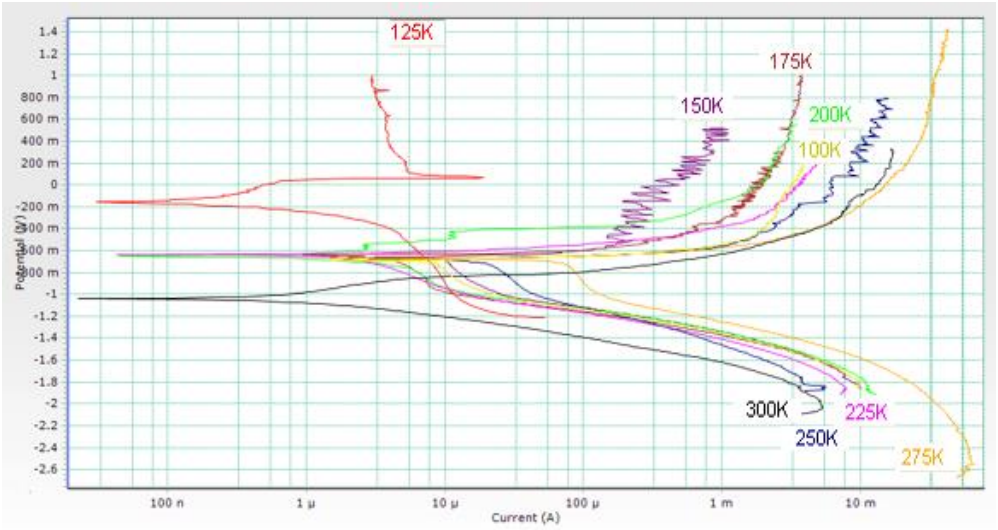


Şekil 23. Adhezyon testi sonuçları



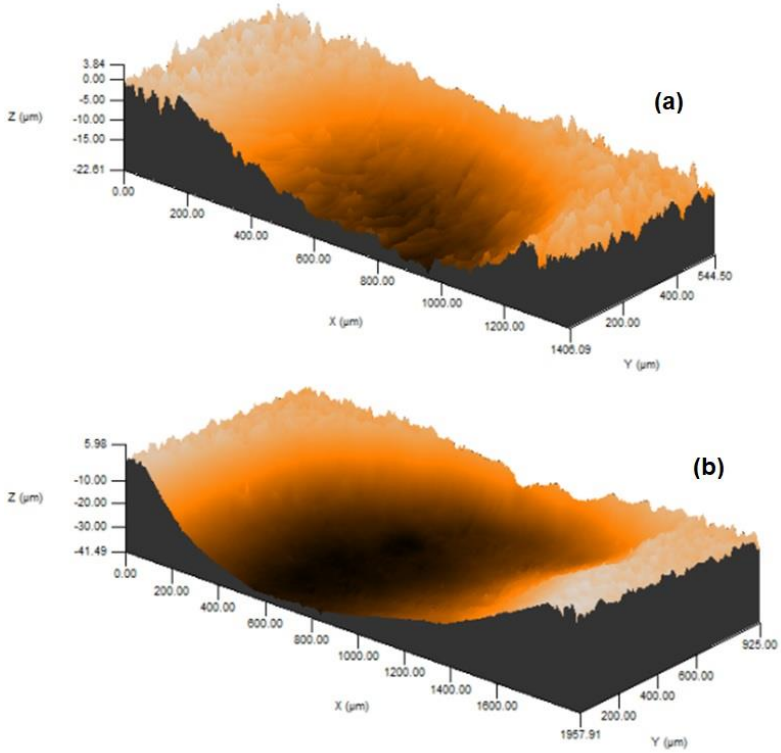
Şekil 24. Adhezyon testi sonuçlarının grafiksel gösterimi.

Örneklerin korozyon testi sonuçları Şekil 25'te verildi. Şekil 25'te %3,5 NaCl çözeltisi içinde Ti alaşımı üzerine büyütülen kaplamaların korozyon davranışlarını değerlendirmek için elde edilen potansiyodinamik polarizasyon eğrileri gösterildi. Polarizasyon eğrilerinden açıkça görülmektedir ki taban malzemelerde yapılan işlemler korozyon davranışlarını önemli ölçüde etkilemektedir. Elde edilen deney sonuçlarına göre; farklı parametre ve seviyelerde yapılan işlemler korozyon akım yoğunluklarının deney parametrelerine bağlı olarak önemli ölçüde değiştirdiği tespit edildi.



Şekil 25. Tüm örneklerin korozyon testi sonuçları

125 K altlık sıcaklığında hazırlanan örneğin aşınma testi sonuçlarından elde edilen üç boyutlu profilometre görüntüleri Şekil 26'da gösterildi. Sadece 125 K için bu ölçümün yapılmasının nedeni diğer testlerden elde edilen verilerden en uygun değerlerin bu örnekte gözükmesidir. Şekil 26'dan görüldüğü gibi çevrim sayısı arttıkça örneğin aşınma direnci azalmaktadır.



Şekil 26. 125 K'de hazırlanan örnek için aşınma testinin üç boyutlu görüntüsü. a) 10000, b) 50000 çevrim

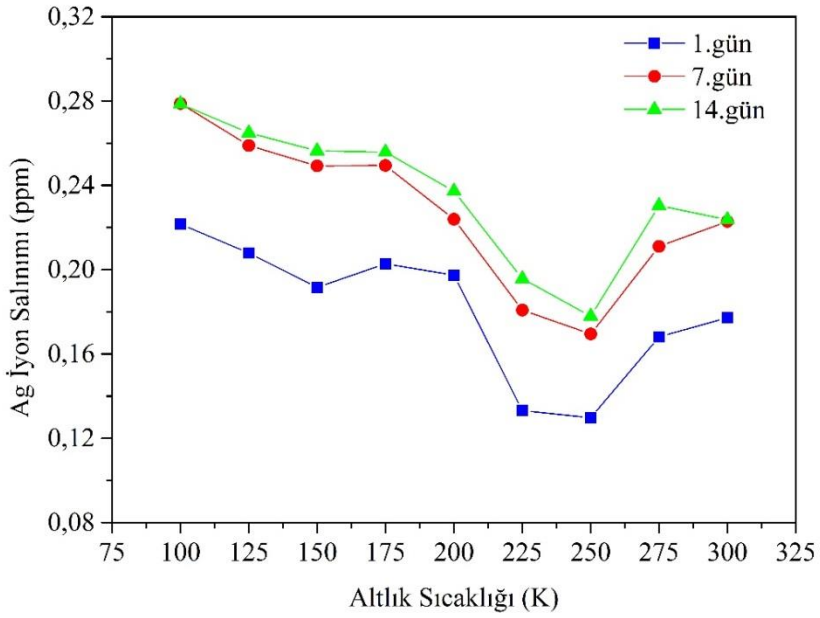
4.3 Biyouyumluluk Test Sonuçları

4.3.1 Antibakteriyel Test

Yapılan test sonucuna göre; Ag kaplı örneklerde bakteri üremesi görülmezken Ag kaplı olmayan örneklerde yoğun üreme ($9{,}3\times10^5$) tespit edildi. Buna göre *S. aureus* ve *E. coli* ile muamele edilen Ag kaplı tüm örnekler kontrol grubu örnekler ile karşılaştırıldığında 24 saat içerisinde ≥ % 99,99 üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği belirlendi. Süreye bağlı antibakteriyel test deneyleri ise sadece 125 K sıcaklığı için 0, 3, 6, 12, 24 saat sürelerde gerçekleştirildi. Sonuçlar 3 saat sonunda hemen hemen tüm bakterilerin öldüğünü gösterdi.

4.3.2 Gümüş İyon Salınımı

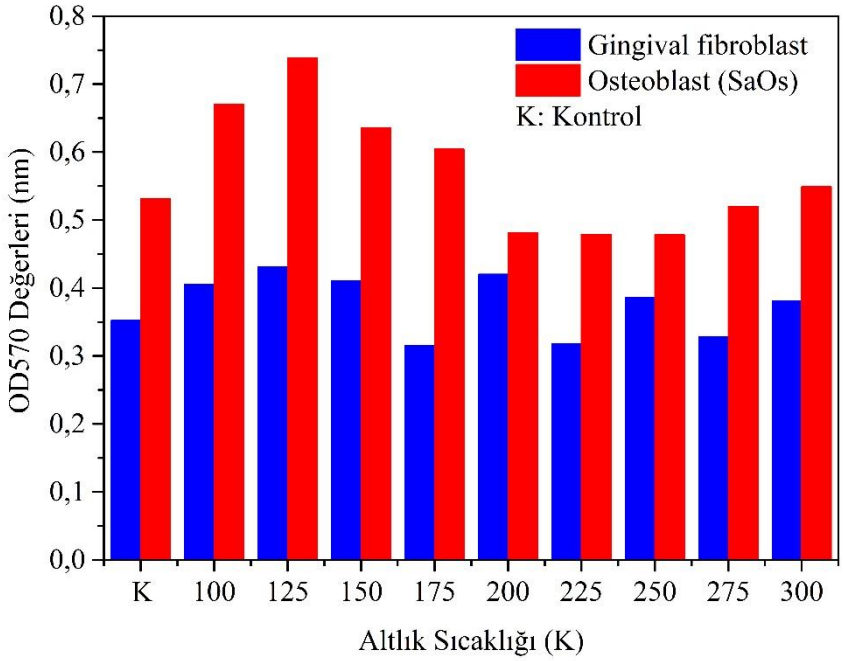
Şekil 27'de gümüş iyon salınımı gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere en fazla Ag iyon salınımının 14 günde olduğu ancak 7 günlük salınım ile arasında istatistiksel olarak fark olmadığı saptandı.



Şekil 27. Tüm örneklerin gümüş iyon salınımı sonuçları

4.3.3 Hücre Kültürü

Test ve kontrol disk örnekleri ile elde edilen OD570 değerlerinin ortalama değerleri Şekil 28'de karşılaştırmalı olarak gösterildi. En fazla osteoblast aktivitesinin 125 K sıcaklıkta hazırlanan örneklerde olduğu, bunu 100 K'de hazırlanan örneklerin takip ettiği, en az ise kontrol grubundaki örneklerde olduğu saptandı. En fazla fibroblast hücre aktivitesinin de aynı şekilde 125 K sıcaklıkta hazırlanan örneklerde olduğu, en az ise kontrol grubundaki örneklerde olduğu belirlendi.



Şekil 28. Tüm örneklerin biyouyumluluk test sonuçları

5. TARTIŞMA

Bu projede, soğuk altlık yöntemiyle Ti esaslı malzemelerin yüzeyine nano boyutlu gümüş kaplanması ve elde edilen örneklerin yapısal özelliklerinin ve biyouyumluklarının incelenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda ilk olarak örneklerin yapısal özellikleri incendi. Yapılan XRD ölçümleri pürüzlendirme sürecinin örneklerin yüzeyinde 43,3° ve 57,4°'de yeni fazlara ait piklerin oluştuğunu gösterdi. Yapılan incelemeler sonucunda bu piklerin trigonal $Ti_{0.25}Al_{1.75}O_3$ yapısının (PDF Card No.: 04-002-8136) (113) ve (116) düzlemlerine veya trigonal Al_2O_3 yapısının (PDF Card No.: 00-001-1296) (202) ve (122) düzlemlerine ait olabileceği belirlendi. Bu piklerin mekanik pürüzlendirme işleminden sonra meydana gelmesi, Al_2O_3 parçacıklarının örnek yüzeyini hava ortamında yüksek hızlarda bombardıman yapmasından kaynaklandığı anlaşıldı. EDS sonuçlarına göre yapıya fazladan % 33,0 oranında oksijen girmesi bu XRD sonucunu desteklemektedir. Oksidasyon sonrasında örneklerin yüzeyinde Kumar ve arkadaşlarının (Kumar vd., 2010) belirttiği gibi daha inert ve bakterilere karşı daha dirençli olan rutil TiO_2 fazının oluştuğu belirlendi. Oksitlenen örneklerde hem rutil TiO_2 fazının oluşması ve hem de EDS sonuçlarında oksijen miktarının % 33,0'dan % 39,6'ya yükselmesi yapılan oksitleme işleminin başarılı olduğunu göstermektedir.

Ag kaplanan örneklerin XRD desenleri incelendiğinde (Şekil 12) kübik Ag piklerinin altlık sıcaklığının azalması ile belirgin hale geldiği ve 200 K'den sonra bu Ag piklerinin şiddetlerinde önemli bir değişiklik olmadığı anlaşılmaktadır. Hegzagonal Ti-6Al-4V yapısının (002) piki ile kübik Ag yapısının (111) piki birbirleri ile örtüştüğünden bu iki piki birbirinden ayırmak zordur. Fakat 200 K altlık sıcaklığından sonra Ti-6Al-4V yapısının (002) pikinin konumunun 38,45° civarından 38,15° civarına kayması ve 200 K altlık sıcaklığından sonra Ti-6Al-4V yapısının (002) pikinin şiddetinin önemli ölçüde artması kübik Ag fazına ait (111) düzlemin pik şiddetinin artığını gösterdi. Ag fazına ait (200) düzlemine ait pikin 300 K altlık sıcaklığından itibaren oluşmaya başladığı ve altlık sıcaklığı azaldıkça pik şiddetinin arttığı belirlendi. Kübik Ag yapısının (220) piki ise net olarak 225 K altlık sıcaklığından sonra oluştu. Bununla birlikte Ag fazının (311) piki Ti-6Al-4V yapısının (112) pikine çok yakın konumda bulunduğundan bu pikin tespiti başlangıçta zor gibi görünse de 300 K altlık sıcaklığından itibaren Ti-6Al-4V yapısının (112) pikinin konumu daha yüksek açıdaki Ag yapısının (311) pikine doğru kaydığı görülmektedir. 250 K'den sonra Ti-6Al-4V yapısının (112) piki tamamen Ag fazının (311) pikinin konumuna kaymaktadır. 200 K altlık sıcaklığından sonra ise Ti-6Al-4V yapısının (112) pikinin çok yakınında bulunan (201) piki de kaybolarak bu bölgede sadece Ag yapısının (311) piki görülmektedir. Tüm bu sonuçlardan 200 K ve daha düşük altlık sıcaklıklarında oluşturulan Ag tabakasının daha iyi kristallendiği söylenebilir. Proje metninde daha önce bahsedildiği gibi ısıl buharlaştırma yönteminde film oluşum süreci yapısal bölge modeli ile açıklanmaktadır. İlk

olarak Movchan ve Demchishin tarafından açıklanan (Movchan vd., 1969) bu yapısal bölge modeli, buhar ortamından gelen parçacıkların altlık sıcaklığına bağlı olarak yüzey veya hacim difüzyonuna dayanmaktadır. Ancak yapılan değişik çalışmalarda hazırlanan bazı ince film örneklerinin yapısal bölge modeline göre beklenenden daha yüksek kaliteye sahip olması bu difüzyon süreçlerinin film oluşumunu açıklamada tek başına yeterli olmadığını göstermektedir (Kukushkin ve Osipov, 1995; Belyaev ve Rubets, 2001). Bu konudaki alternatif film oluşum süreci Soliton modeli ile açıklanmış (Kukushkin ve Osipov, 1995) ve bu modelde sadece kritik boyutlu parçacıkların Soliton hareketliliğine neden olduğu ortaya konulmuştur. Bu durum ise kaplanan filmin homojen bir tane boyutu dağılımına ve yüksek yapısal kaliteye sahip olmasını sağlamaktadır. Bu proje kapsamında XRD verilerinden elde edilen sonuçlar belli altlık sıcaklığı değerinde (~200 K) büyüme mekanizmaları arasında bir geçişin olduğunu doğrulamaktadır. SEM görüntülerinden elde edilen 225 K altlık sıcaklığından sonra yüksek altlık sıcaklıklarındaki uzun ve iri tane yapısının küresel ve küçük tane yapısına dönüşmesi de büyüme mekanizmaları arasında gözlenen bu geçiş sürecini desteklemektedir. Ag kaplanan örneklerin EDS sonuçlarından tespit edilen, düşük altlık sıcaklıklarında daha fazla Ag miktarının gözlenmesi düşük sıcaklıklarda gözlenen Soliton büyüme mekanizmasının olumlu bir sonucu olarak düşünüldü. UV ile aydınlatma sonrası beklendiği gibi yeni bir fazın oluşmadığı, tercihli yönelimlerin değişmediği, tane boyutlarında ve Ag miktarlarında önemli bir değişimin olmadığı saptandı.

Altlık sıcaklığının azalmasıyla pürüzlülükte gözlenen azalma daha önce anlatıldığı gibi Soliton tipi büyüme mekanizmasının etkisiyle filmlerin homojen boyutlu tanelerle oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca sıcaklık değerleri düştükçe sertlik değerlerinin de azaldığı belirlendi. Bilindiği üzere, klasik üretim yöntemleri ile elde edilen malzemelerde sertlik değerleri tane boyutları ile ters orantılı olarak değişmektedir. 1992 yılında G. E. Fougere (Foudere vd., 1992) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ve diğer çalışmalarda (Jang ve Koch, 1990; Nieman vd., 1989; Ganapathi ve Rigney, 1990; Hughes vd., 1986) nanokristal yapıda tane büyüklüğüne bağlı olarak sertlik değerlerindeki değişimleri incelemişlerdir. Büyük taneli yapılara sahip malzemelerde bu davranış geleneksel olarak Hall-Petch denklemi (Hall, 1970) ile açıklanmaktadır:

$$H_V = H_o + kd^{-1/2}$$

Burada H_o ve k sabitlerdir. H_v malzemenin sertliğini ve d, ise malzemenin tanecik boyutunu vermektedir. Bu denkleme göre malzemenin sertliği ile tanecik boyutu arasında ters bir orantı mevcuttur. Bu davranışın aksine, Lu ve arkadaşları (Lu vd., 1990), Christman ve Jain (Christman ve Jain, 1991) ve Chokshi ve arkadaşları (Chokshi, 1989) çalışmalarında nanokristal malzemelerde azalan tane boyutu ile malzemede yumuşamanın meydana geldiğini bulmuşlardır. Bu davranış malzemede sıcaklıkla meydana gelen difüzyon süreçlerinin

malzeme üzerinde bıraktığı deformasyon etkisi olarak atfedilmiştir. Bizim uyguladığımız soğuk altlık yönteminde de aynı (tersi) olay gerçekleşmektedir. Fakat yaptığımız çalışmada tane boyutlarının küçülmesi ile sertlik değerlerindeki azalmalar Soliton dalgaları ile pürüzlü yüzeyde hareketlilik kazanan parçacıkların malzeme üzerinde bıraktığı deformasyon etkisinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır.

Örneklerin adhezyon sonuçlarına bakıldığında dikkat edilmesi gereken husus Soliton bölgesi olarak tanımladığımız düşük sıcaklık bölgesinde (100-225 K) ortalama adhezyon değerlerinin yüksek olmasıdır. İmplant uygulanacak biyolojik ortamlar değerlendirildiğinde, bu ortamlar içerisinde tedavi sürecini doğrudan etkileyen termal değişimler veya PH değişimleri oluşmaktadır (Chen ve Thouas, 2015). Bu nedenle vücut dokuları içerisinde kullanılacak implant malzemelerinin yüksek korozyon direncine sahip olmaları gerekmektedir. Proje kapsamında elde edilen sonuçlara göre 125 K'de Ag kaplanan titanyum disklerin daha yüksek korozyon direnci gösterdiği tespit edilmiştir. Örneklerin korozyon testi incelendiğinde en düşük korozyon akım yoğunluğu (I_{corr}) 300 K altlık sıcaklığında büyütülen örnekte gözlendi. Galvele ve Duffo'ya göre, korozyon akım yoğunluğu; materyallerin elektrot potansiyeline de bağlıdır ve bu değer doğrudan malzemelerin elektrokimyasal davranışları hakkında bilgi verir (Galvele ve Duffo, 1997). Böylece Polarizasyon eğrilerinden elde edilen E_{corr} ve I_{corr} değerlerinin karşılaştırılması, için tafel eğrileri kullanılarak değerlendirmeler yapılmaktadır. Diğer taraftan hazırlanan malzemelerin korozyon potansiyellerinde de önemli değişimler tespit edildi ve potansiyel değerlerinin üretim sıcaklığının azalmasıyla daha soy değerlere doğru değiştiği gözlendi. En yüksek korozyon akım yoğunluğu 125 K şartlarında elde edildi. Yüzeyi işlenmiş ve ısıl işlem görmüş malzemeler, ağır oksit ve işlem atığının varlığından dolayı çukurcuk korozyonuna karşı duyarlıdırlar (Venugopalan ve Trepanier, 2000). Ayrıca korozyon ortamı olan NaCl ortamında da genellikle görülen korozyon türü çukurcuk korozyonudur (Sukuroglu, vd., 2017). Bu tür korozyonun oluşmasının nedeni korozyon ortamında bulunan Cl^- iyonlarıdır. Bu çalışmada teste tabii tutulan örnekler içerisinden 125 K sıcaklığında işlem görmüş örneklerin çözelti içerisinde veya ortamda bulunan Cl^- iyonlarının taban malzemesine geçişine bir bariyer oluşturarak kaplamaların korozyon direncini artırdığı gözlendi. Kısmen yüksek sıcaklıklarda hazırlanan örneklerde tane sınırlarının daha belirgin olması (SEM ölçümlerinde görüldüğü gibi) korozyon çözeltisinin daha iç kısımlara doğru girmesine ve örneklerin daha hızlı korozyona uğramasına sebep olduğu anlaşıldı.

Bu proje kapsamında Soliton tipi büyüme mekanizmasının geçerli olduğu ve nano boyutlu Ag katmanının elde edildiği sıcaklık bölgesinden sadece 125 K seçilerek süreye bağlı antibakteriyel testler yapıldı. Elde edilen sonuçlardan 3 saat sonunda hemen hemen tüm bakteri hücrelerinin öldüğü saptandı. Bu sonuç bilindiği üzere nano boyutlu gümüş parçacıklarının büyük yüzey-hacim oranı nedeniyle bakterilere karşı daha etkin olmasından

kaynaklanmaktadır (Rai vd., 2009; Massa vd., 2014). 24 saat'lik ölçümler sonucunda da % 99,99 antibakteriyel etkinin devam ettiği gözlendi. Örneklerin Ag iyon salınımı test sonuçları, elde edilen değerlerin literatürde toksik olarak kabul edilen 10 ppm (Monteiro vd, 2009) değerinin oldukça altında olduğunu gösterdi. En fazla fibroblast ve osteoblast hücre aktivitesinin Soliton sıcaklık bölgesinde yer alan 125 K sıcaklığında büyütülen nano boyutlu Ag katmanlı örneklerde olduğu belirlendi.

6. GENEL SONUÇLAR

Bu proje kapsamında yapılan çalışmalar üç ana başlık altında toplandı:

i) vakum ortamında soğuk (≤ 300 K) altlıklar üzerinde kaplama yapılabilecek deneysel düzeneğin tasarlanması ve ürettirilmesi,

ii) Ag kaplanan örneklerin yapısal özelliklerinin incelenmesi ve

iii) Ag kaplanan örneklerin biyolojik ve yapısal özelliklerinin değerlendirilmesidir.

Birinci maddede bahsi geçen deneysel düzenek çok fonksiyonlu olup benzer çalışmalarının da yapılmasına olanak sağlayacaktır. Yine bu yöntemde sonuç raporunun giriş kısmında bahsedilen film büyüme mekanizmalarının (Difüzyon ile ve Soliton ile) altlık sıcaklığına bağlı olarak etkin bir şekilde görüldüğü ve film büyüme sürecinin altlık sıcaklığı ile kontrol edilebildiği anlaşıldı.

İkinci aşamada yapısal özellikleri araştırmak için XRD, SEM, EDS ve AFM ölçümleri gerçekleştirildi. XRD verilerinden elde edilen sonuçlara göre; i) Ti-6Al-4V örneklerinin kristal yapısının (101) tercihli yönelimine sahip hegzagonal faz olduğu, ii) 525 °C'de yapılan ısıl işlem sonrası Ti-6Al-4V örneklerinin yüzeyinde (111) tercihli yönelimli rutil TiO_2 fazının oluştuğu, iii) Ag kaplanan örneklerde kübik gümüş fazının oluştuğu ve altlık sıcaklığı azaldıkça Ag fazına ait piklerin daha belirgin hale geldiği belirlendi. Ayrıca UV ile ışınlamanın XRD verilerine önemli bir etkisinin olmadığı görüldü. SEM ve AFM sonuçlarına göre yüzeye kaplanan Ag örneklerinin tane boyutunun ve yüzey pürüzlülüğünün altlık sıcaklığı ile azaldığı belirlendi. Bu sonuçlarda Ag örneklerinde film büyüme mekanizmasının yaklaşık olarak 225 K'den sonra değiştiği (difüzyon ile büyümeden Soliton ile büyümeye) tespit edildi.

Üçüncü aşamada örneklerin yapısal özelliklerini belirlemek için sertlik, adhezyon, korozyon ve aşınma testi ölçümleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar; i) Altlık sıcaklığı azaldıkça örneklerin pürüzlülüğünün ve sertliğinin azaldığı, ii) 150-225 K sıcaklıkları için Ag katmanın adhezyonunun daha iyi olduğu ve 250-300 K bölgesinde üretilen örneklerde görülen kısmen düşük adhezyon değerlerinin bu sıcaklık bölgesinde film büyüme mekanizmasında (yapısal bölge modeli-Soliton modeli) bir geçiş sürecinin meydana gelmesinden kaynaklandığı, iii) Korozyon verileri incelendiğinde kısmen yüksek sıcaklıklarda hazırlanan örneklerin daha fazla korozyona uğradığı ve bu sonucun yüksek sıcaklıklarda hazırlanan örneklerde tane sınırlarının daha belirgin olması nedeniyle korozyon çözeltisinin daha iç kısımlara doğru girmesine ve örneklerin daha hızlı korozyona uğramasına sebep olmasından kaynaklandığı belirlendi.

Bu proje kapsamında Soliton tipi büyüme mekanizmasının geçerli olduğu ve nano boyutlu Ag katmanının elde edildiği sıcaklık bölgesinin 100-225 K sıcaklık aralığı olduğu tespit edildi. Bu sıcaklık bölgesinde elde edilen nano boyutlu gümüş katmanlarının yüksek yüzey-hacim oranı nedeniyle bakterilere karşı daha etkin olduğu belirlendi. Aynı şekilde en fazla fibroblast ve

osteoblast hücre aktivitesinin Soliton sıcaklık bölgesinde yer alan nano boyutlu Ag katmanlı örneklerde olduğu görüldü.

7. KAYNAKLAR

Advincula, M.C., Rahemtulla, F.G., Advincula, R.C., Ada, E.T., Lemons, J.E., Bellis, S.L. 2006. ″Osteoblast adhesion and matrix mineralization on sol-gel derived titanium oxide″, Biomaterials, 27 (10), 2201–2212.

Avila, G., Misch, K., Galindo-Moreno, P., Wang, H.L. 2009. ″Implant surface treatment using biomimetic agents″, Implant Dentistry, 18 (1), 17–26.

Bacaksiz, E., Basol, B.M., Altunbaş, M., Yılmaz, S., Tomakin, M., Abay, B. 2007. "Effect of substrate temperature and post-deposition annealing on the properties of evaporated CdSe thin films", Physica Status Solidi (b), 244 (2), 497–504.

Barros, A.D., Albertin, K.F., Miyoshi, J., Doi, I., Diniz, J.A. 2010. "Thin titanium oxide films deposited by e-beam evaporation with additional rapid thermal oxidation and annealing for ISFET applications", Microelectronic Engineering, 87, 443–446.

Belyaev, A.P., Rubets, V.P. 2001. "Heteroepitaxy of II-VI compound semiconductors on cooled substrates", Semiconductors, 35 (3), 279–282.

Belyaev, A.P., Rubets, V.P., Kalinkin, I.P. 2003. "Soliton heteroepitaxy the formation of epitaxial films of II-VI compounds under highly nonequilibrium conditions", Materials Physics and Mechanics, 6, 58–62.

Brune, H., Romainczyk, C., Röder, H., Kern, K. 1994. Mechanism of the transition from fractalto dendritic drowth of surface aggregates", Nature, 369, 469–471.

Chen, Q.Z., Thouas, G.A. 2015. "Metallic implant biomaterials", Materials Science & Engineering R-Reports, 87, 1–57.

Cheng, X., Roscoe, S.G. 2005. "Corrosion behavior of titanium in the presence of calcium phosphate and serum proteins". Biomaterials, 26 (35), 7350–7356.

Chokshi, A.H., Rosen, A., Karch, J., Gleiter, H. 1989. "On the validity of the hall-petch relationship in nanocrystalline materials", Scripta Metallugica, 23, 1679–1683.

Christman, T., Jain, M. 1991. "Processing and consolidation of bulk nanocrystalline titanium-aluminide", Scripta Metallugica, 25, 767–772.

Coelho, P.G., Granjeiro, J.M., Romanos, G.E., Suzuki, M., Silva, N.R., Cardaropoli, G., Thompson, V.P., Lemons, J.E. 2009. ″Basic research methods and currenttrends of dental implant surfaces″, Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials, 88 (2), 579–596.

De Jonge, L.T., Leeuwenburgh, S.C., Wolke, J.G., Jansen, J.A. 2008. ″Organic-inorganic surface modifications for titanium implant surfaces″, Pharmaceutical Research, 25 (10), 2357–2369.

Fougere, G.E., Weertman, J.R., Siegel, R.W., Kim, S. 1992. "Grain-size dependent hardening and softening of nanocrystalline Cu and Pd", Scripta Metallugica, 26, 1879–1883.

Galvele, J.R., Duffo, G.S. 1997. "Calculation of the surface self-diffusion coefficient, Ds, induced by the exchange current density, i0. application to stress corrosion cracking", Corrosion Science, 39, 605–608.

Ganapathi, S.K., Rigney, D.A. 1990. "An HREM study of the nanocrystalline material produced by sliding wear processes", Scripta Metallugica, 24, 1675–1678.

Geng, Z., Wang, R., Zhuo, X., Li, Z., Huang, Y., Ma, L., Cui, Z., Zhu, S., Liang, Y., Liu, Y., Bao, H., Li, X., Huo, Q., Liu, Z., Yang, X., 2017, "Incorporation of silver and strontium in hydroxyapatite coating on titanium surface for enhanced antibacterial and biological

properties", Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications, 71, 852–861.

Hall, E.O. 1970. Yield Point Phenomenon in Metals and Alloys. New York: Plenum Press.

Huang, H., Zhao, Y., Liu, Z., Zhang, Y., Zhang, H., Fu, T., Ma, X. 2003. ″Enhanced osteoblast functions on RGD immobilized surface″. Journal of Oral Implantology, 29 (2),73–79.

Hughes, G.D., Smith, S.D., Pande, C.S., Johnson, H.R., Armstrong, R.W. 1986. "Hall-petch strengthening for the microhardness of twelve nanometer grain diameter electrodeposited nickel", Scripta Metallugica, 20, 93–97.

Jang, J.S.C, Koch, C.C. 1990. "The hall-petch relationship in nanocrystalline iron produced by ball milling", Scripta Metallugica, 24, 1599–1604.

JIS Z 2801:2000. Antimicrobial products-Test for antimicrobial activity and efficacy standard test method.

Kranenburg, H.V., Lodder, C. 1994. "Tailoring growth and local composition by oblique-incidence deposition: a review and new experimental data", Materials Science and Engineering, R11, 295–354.

Kukushkin, S.A., Osipov, A.V. 1995. "Soliton model of island migration in thin films", Surface Science, 329, 135–140.

Kumar, S., Sankara Narayanan, T.S.N., Raman, S.G.S., Seshadri, S.K. 2010. "Thermal oxidation of CP Ti –An electrochemical and structural characterization", Materials Characterization, 61, 589–597.

Li, W., Xie, X., Shi, Q., Zeng, H., Ou, S., Chen, Y. 2010. "Antibacterial Activity and Mechanism of Silver Nanoparticles on Escherichia Coli", Applied Microbial and Cell Physiology, 85, 1115–1122.

Liu, X., Man, H.C. 2017, "Laser fabrication of Ag-HA nanocomposites on Ti6Al4V implant for enhancing bioactivity and antibacterial capability", Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications, 70, 1–8.

Liu, Z., Davis, C., Cai, W., He, L., Chen, X., Dai, H., 2008. "Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy", Proceedings of the National Academy of Sciences, 105,1410–1415.

Long, M., Rack, H.J. 1998. "Titanium alloys in total joint replacement—a materials science perspective", Biomaterials,19 (18),1621–1639.

López, M.F., Gutiérrez, A., Jiménez, J.A., Martinesi, M., Stio, M., Treves, C. 2010. "Thermal oxidation of vanadium-free Ti alloys: An X-ray photoelectron spectroscopy study". Materials Science and Engineering: C, 30, 465–471.

Lu, L., Wei, W.D., Wang, J.T.1990. "Microhardness and fracture properties of nanocrystalline Ni-P alloy", Scripta Metallugica, 24, 2319–2323.

Massa, M.A., Covarrubias, C., Bittner, M., Fuentevilla, I.A., Capetillo, P., Marttens, A.V., Carvajal, J.C. 2014. "Synthesis of new antibacterial composite coating for titanium based on highly ordered nanoporous silica and silver nanoparticles", Materials Science and Engineering C, 45, 46–153.

Maya, A., Agarwal, N., Lee, J., Lambert, M., Akkan, C.K., Nothdurft, F.P., Aktas, O.C. 2015. "Laser induced anisotropic wettingon Ti–6Al–4V surfaces", Materials Letters, 138, 21–24.

Messier, R., Giri, A.P., Roy, R.A. 1984. "Revised structure zone model for thin film physical structure", Journal of Vacuum Science & Technology A, 2, 500–503.

Monteiro, D.R., Gorup, L.F., Takamiya, A.S., Ruvollo-Filho, A.C., de Camargo, E.R., Barbosa, D. B. 2009. “The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver”, Int. J. Antimicrob. Agents 34 (2),103–110.

Movchan, B.A., Demchishin, A.V. 1969. “Study of the structure and properties of thick vacuum condensates of nickel, titanium, tungsten, aluminium oxide and zirconium dioxide”, The Physics of Metals and Metallography, 28, 83–90.

Mukherjee, S., Gall, D. 2013. “Structure zone model for extreme shadowing conditions”, Thin Solid Films, 527, 158–163.

Nieman, G.W., Weertman, JR., Siegel, R.W. 1989. “Microhardness of nanocrystalline palladium and copper produced by inert-gas condensation”, Scripta Metallugica, 23, 2013–2018.

Novruzov, V.D., Fathi, N.M., Gorur, O., Tomakin, M., Bayramov, A.I., Schorr, S., Mamedov, N. 2010. “CdTe thin film solar cells prepared by a low-temperature deposition method”, Physica Status Solidi (a), 207 (3), 730–733.

Rai, M., Yadav, A., Gade, A. 2009. “Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials”, Biotechnology Advances, 27, 76–83.

Ma, K., Gong, L., Cai X., Huang, P., Cai, J., Huang, D., Jiang, T. 2017, “A green single-step procedure to synthesize Ag-containing nanocomposite coatings with low cytotoxicity and efficient antibacterial properties”, International Journal of Nanomedicine, 12, 3665–3679.

Mahieu, S., Ghekiere, P. Depla, D., De Gryse, R. 2006. “Biaxial alignment in sputter deposited thin films”, Thin Solid Films, 515, 1229–1249.

Sanders, J.V. 1972. Chemisorption and Reactions on Metallic Films. vol. 1, London: Academic Press.

Sayes, C.M., Liang, F., Hudson, J.L., Mendez, J., Guo, W., Beach, J.M., Moore, V.C., Doyle, C.D., West, J.L., Billups, W.E., Ausmanb, K.D., Colvin, V.L., 2006. “Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro”, Toxicology Letters, 161,135–142

Simionescu, R.E., Kennedy, D.J. 2006. “Prevention of Infection in Prosthetic Devices. In: Johnson F.E., Virgo K.S., Lairmore T.C., Audisio R.A. (eds)” The Bionic Human, Humana Press, 159-185.

Smirnov, B.M. 2001. Statistical Physics and Kinetic Theory of Atomic Systems, Moscow: IVT RAN Publ.

Sukuroglu, E.E., Sukuroglu, S., Akar, K., Totik, Y. Efeoglu, I., Arslan, E. 2017. “The effect of TiO_2 coating on biological NiTi alloys after micro-arc oxidation treatment for corrosion resistance”, Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H Journal of Engineering in Medicine, 231 (8): 095441191770590.

Thornton, J.A. 1974. "Influence of apparatus geometry and deposition conditions on the structure and topography of thick sputtered coatings", Journal of Vacuum Science and Technology, 11, 666–670.

Tomakin, M. 2008. CdS İnce Film Örneklerinin Soğuk Altlık Üzerinde Üretilmesi, Yapısal, Elektriksel ve Optik Özelliklerinin İncelenmesi, Trabzon, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Tomakin, M., Altunbaş, M., Bacaksiz, E., Çelik, Ş. 2012. “Current transport mechanism in CdS thin films prepared by vacuum evaporation method at substrate temperatures below room temperature”, Thin Solid Films, 520, 2532–2536.

Valkealahti, S., Manninen, M.Z. 1993. “Structural transitions and melting of copper clusters”, Physik D: Atoms, Molecules and Clusters, 26, 255–257.

Venugopalan, R., Trepanier, C. 2000. “Corrosion of Nitinol”, Proceedings of the Int’l Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies, 261–270.

Wang, H., Eliaz, N., Xiang, Z., Hsu, H-P., Spector, M., Hobbs, L.W. 2006. “Early bone apposition in vivo on plasma-sprayed and electrochemically deposited hydroxyapatite coatings on titanium alloy”, Biomaterials” 27, 4192–4203.

Yoshida, N., Oshima, R., Fujita, F.E. 1972. “Recovery and grain growth of gold thin film deposited on the cold substrate”, Journal of Physics F: Metal Physics, 2, 237–246.

Zhang L., Zhang L., Yang Y., Zhang W., Lv H., Yang F., Lin C., Tang P., 2016. “Inhibitory effect of super-hydrophobicity on silver release and antibacterial properties of super-hydrophobic Ag/TiO2 nanotubes”, Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials,104 (5), 1004–12.

Zhao, L., Wang, H., Huo, K., Cui, L., Zhang, W., Ni, H., Zhang, Y., Wu, Z., Chu, P.K. 2011. “Antibacterial nano-structured titania coating incorporated with silver nanoparticles”, Biomaterials, 32 (24), 5706–5716.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. ZEYNEP YEŞİL DUYMUŞ
Proje No:	315M132
Proje Başlığı:	Soğuk Altlık Tekniğiyle Gümüş Kaplanan Titanyum Esaslı Malzemelerin Biyouyumluluklarının Incelenmesi
Proje Türü:	1005 - Yeni Fikirler ve Ürünler
Proje Süresi:	18
Araştırmacılar:	SABİT MELİH ATEŞ, VAGİF NEVRUZOĞLU, MURAT TOMAKİN
Danışmanlar:	ERCÜMENT YÜZÜAK
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	RECEP TAYYİP ERDOĞAN Ü. DİŞ HEKİMLİĞİ F.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/05/2016 - 01/11/2017
Onaylanan Bütçe:	232142.0
Harcanan Bütçe:	175192.77
Öz:	ÖZ Bu projede, soğuk altlık yöntemiyle yeni deneysel süreçler kullanılarak Ti esaslı malzemelerin yüzeyine gümüş kaplanması ve elde edilen malzemelerin biyouyumluklarının geliştirilmesi amaçlanmıştır. Antiseptik özellikli biyouyumlu implant malzemeler ve kaplamalar günümüzde en etkili biyomedikal araç olarak kullanılmakta olup, titanyum ve titanyum alaşımları (Ti6Al4V) genellikle tercih edilmektedir. Bununla birlikte mevcut yöntemlerle kaplanan titanyum alaşımlarından vücut sıvılarına geçen metal iyonları ara yüzeydeki enfeksiyon riskini arttırmakta ve implantlarda başarısızlıklara sebep olmaktadır. Bu proje kapsamında geliştirilen yeni teknolojik yöntem Soliton büyüme mekanizması olarak adlandırılmaktadır. Bu yeni yöntemin en önemli özelliği titanyum yüzeyinin eşit boyutta nano parçacıklarla kaplanmasıdır. Bu projede kaplama materyali olarak antibakteriyel özelliği nedeniyle gümüş (Ag) iyonları tercih edilmiştir. Özel olarak hazırlanan düzenek ile 100-300 K altlık sıcaklığında Ag kaplı örnekler hazırlandıktan sonra örneklerin yüzey, fiziksel ve biyolojik özellikleri incelenmiştir. 100-300 K altlık sıcaklıklarında üretilen Ag katmanında sıcaklığa bağlı olarak tane boyutlarının küçüldüğü bulunmuştur. Ayrıca 100-200 K arasındaki filmlerin eşit boyutta parçacıklarla kaplandığı SEM, AFM ve XRD incelemeleri sonucunda gözlenmiştir. Bu sıcaklık aralığında büyütülen kaplamaların fiziksel özelliklerinin diğer gruplardan daha üstün olduğu saptanmıştır. Yapılan hücre kültürü çalışmasında osteoblast hücre aktivitesinin 100-200 K aralığında daha yüksek olduğu, fibroblast hücre aktivitesinin ise tüm sıcaklıklar için benzer olduğu tespit edilmiştir. Antibakteriyel aktivitenin ise Ag kaplanmamış (kontrol) örneklere göre tüm sıcaklık gruplarında %99.9 düzeyinde olduğu görülmüştür. Ag iyon salınımının Soliton bölgesinde daha yüksek değerlerde olduğu (0.26 ppm), bu değerlerin canlı dokular için toksik olabilecek seviyelerde olmadığı (10 ppm) belirlenmiştir.
Anahtar Kelimeler:	Anahtar Kelimeler: İmplantoloji, Ag nano parçacık, Biyouyumlu katmanlar, Soğuk altlık tekniği
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır

TÜBİTAK