

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

NANO GÜMÜŞ KAPLI HİDROKSİAPATİT ÜRETİMİ VE ANTİBAKTERİYEL YÜZEY UYGULAMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hülya ÇETİN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : Anorganik Kimya
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Uğursoy OLGUN

Mayıs 2016

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANO GÜMÜŞ KAPLI HİDROKSİAPATİT ÜRETİMİ VE ANTİBAKTERİYEL YÜZEY UYGULAMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hülya ÇETİN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : Anorganik Kimya

Bu tez tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr.

Doç. Dr.

Doç. Dr.

Jüri Başkanı

Üye

Üye

Yrd. Doç. Dr.

Yrd. Doç. Dr.

Üye

Üye

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.

Hülya ÇETİN

16.05.2016

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi aşamasından yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmamın tamamlanmasına kadar destegini esirgemeyen, çalışmayı büyük bir titizlikle yöneten, bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim saygıdeğer hocam ve danışmanım Sayın Doç. Dr. Uğursoy OLGUN'a;

Plazma spreyci kaplama konusunda çalışmama destek veren Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Fatih ÜSTEL'e;

Antibakteriyel aktivite testlerinin titizlikle yürütülmesi konusunda yardımlarını esirgemeyen Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ'a ve Biyoloji Bölümü doktora öğrencisi Sayın Ayşegül HOŞ'a;

Çalışmalarım esnasında desteklerini esirgemeyen başta Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa Şahin DÜNDAR'a, Kimya Bölümü Öğretim Üyelerine ve Araştırma Görevlilerine;

Tezimin her aşamasında verdikleri maddi, manevi destek, gösterdikleri ilgi ve bu günlere gelmemde harcadıkları sonsuz emek dolayısıyla annem Huriye ÇETİN, babam Mehmet ÇETİN ve kardeşim Hakan ÇETİN'e minnetle teşekkür ederim.

Not: Bu çalışma SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje no: BAPK 2015-50-01-037 ve BAPK 2012-02-04-037)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
HİDROKSİAPATİT	5
2.1. Giriş.....	5
2.1.1. İmplant seramiklerin özellikleri	6
2.1.2. HAP’ın kimyasal özellikleri.....	7
2.1.3. HAP’ın mekanik özellikleri	10
2.1.4. HAP’ın biyolojik özellikleri.....	10
2.2. HAP’ın Üretim Yöntemleri	11
2.3. HAP Kaplama Yöntemleri	13
2.3.1. Sol-jel yöntemi ile hidroksiapatit kaplanması.....	14
2.3.2. Plazma spre y yöntemi ile hidroksiapatit kaplanması	15
BÖLÜM 3.	
PATOJENİK MİKROORGANİZMALAR	17
3.1. Giriş.....	17

3.1.1. Bakteri ve direnç	19
3.2. Staphylococcus aureus	20
3.2.1. Morfoloji	20
3.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un neden olduğu hastalıklar	22
3.3. Staphylococcus epidermidis	22
3.3.1. Morfoloji	23
3.3.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> 'in neden olduğu hastalıklar	24
3.4. Escherichia coli	25
3.4.1. Morfoloji	25
3.4.2. <i>Escherichia coli</i> 'nin neden olduğu hastalıklar	26

BÖLÜM 4.

GÜMÜŞ VE NANO GÜMÜŞ	28
4.1. Gümüş ve Özellikleri	28
4.1.1. Gümüşün tarihçesi.....	29
4.1.2. Gümüşün bileşikleri	29
4.1.3. Gümüşün üretimi.....	30
4.2. Nanoteknoloji	31
4.2.1. Nano bilim ve nano teknoloji	31
4.2.2. Nanoteknolojinin gelişim süreci.....	32
4.2.3. Nanoteknolojinin kullanıldığı alanlar.....	33
4.2.4. Nanoyapılı malzemeler ve nanoyapılı malzemelerin özellikleri	35
4.3. Nano Gümüş.....	35
4.3.1. Nano gümüşün bakteri hücrelerine etkisi	37
4.4. Nano Gümüş - Hidroksiapatit Katkılı	38

BÖLÜM 5.

MATERYAL VE METOD	41
5.1. Materyal	41
5.2. Metotlar	41
5.2.1. Nano gümüşün HAP üzerine kaplanması	41
5.2.2. Plazma sprej ile Ti plaka üzerine nano Ag-HAP'ın kaplanması	42

5.3. Hazırlanan Malzemelerin Karakterizasyonu	43
5.4. Antibakteriyel Aktivite Testleri.....	43
5.4.1. Besiyerlerinin Hazırlanması	43
5.4.2. Bakteri Kültürünün Hazırlanması	44
5.4.3. Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri	44
BÖLÜM 6.	
DENEYSEL BULGULAR	45
6.1. Hidroksiapatit-Nanogümüş Biyomalzemeler	45
6.2. Nano Gümüş Kaplı Hidroksiapatit Üretimi	46
6.3. Plazma Sprey ile Nano Ag-HAP Kaplı Ti İmplant Üretimi.....	53
6.4. Antibakteriyel Aktivite Testleri.....	64
BÖLÜM 7.	
TARTIŞMA VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	75

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Å	: Angstrom
Ag	: Gümüş
Ag-HAP	: Nano gümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
ATCC	: Amerikan kültür koleksiyonu merkezi (American type culture collection)
°C	: Derece santigrat
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ OH ₂	: Kalsiyum hidroksiapatit
Ca	: Kalsiyum
CaP	: Kalsiyum fosfat
CFU	: Colony forming unit (koloni oluşturan birim)
CoCrMo	: Kobalt krom molibden alaşımı
CONS	: Koagülaz-negatif <i>staphylococci</i>
CVD	: Kimyasal buhar depolama
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDS (EDX)	: Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi
EPD	: Elektronik kaplama
FDA	: Food and drug administration (Amerikan gıda ve ilaç dairesi)
FT-IR	: Fourier transform infrared
GPa	: Elastisite modülü
gr	: Gram
g / m ³	: Gram bölü metreküp
HAP	: Hidroksiapatit
HVOF	: Termal sprey prosesi
IBM	: Uluslararası İş Makineleri (International Business Machines)
ICP-OES	: İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi

°K	: Kelvin
K ⁺	: Potasyum iyonu
K _{IC}	: Kırılma tokluğu
KW	: Kilowatt
MB	: Megabayt
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MPa	: Megapaskal
M.Ö.	: Milattan önce
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
NaCl	: Sodyum klorür
nm	: Nanometre
P	: Fosfor
PDMS	: Poli (dimetilsilioksan)
pH	: Çözeltideki hidrojen iyonu konsantrasyonu
PO ₄	: Fosfat
PVD	: Fiziksel Buhar Depolama
% R	: Antimikrobiyal aktivite
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
Ti	: Titanyum
TiO ₂	: Titanyum dioksit
UV	: Ultraviyole bölge
W/cmK	: Bir santimetreden geçen ısı miktarı
XRD	: X ışını difraksiyonu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Hidroksiapatitin kristal yapısı	8
Şekil 2.2. Sentetik nano hidroksiapatitin morfolojisinin ve büyüklüğünün TEM görüntüsü	8
Şekil 2.3. Nano hidroksiapatit partiküllerinin SEM görüntüsü.....	9
Şekil 2.4. Hidrotermal yöntemler ile HAP üretimi	12
Şekil 2.5. HAP kristal yapısı	13
Şekil 2.6. Sol-Jel proses parametrelerinin akış diyagramı	15
Şekil 2.7. Plazma tabancası.....	16
Şekil 3.1. Gram-pozitif bakteri hücre duvarı yapısı.....	18
Şekil 3.2. Gram-negatif bakteri hücre duvarı yapısı	18
Şekil 3.3. Staphylococcus aureus genel görünüm.....	21
Şekil 3.4. Staphylococcus aureus hücre duvarı.....	21
Şekil 3.5. Staphylococcus epidermidis genel görünüm	24
Şekil 3.6. Escherichia coli genel görünüm.....	26
Şekil 4.1. Değişik uzunluk ölçüleri	31
Şekil 4.2. Farklı nanopartikül çeşitleri	33
Şekil 4.3. Farklı sıcaklıklarda tavllanmış Ag/TiO ₂ SEM görüntüleri (a)numune A (b)numune B (c)numune C	36
Şekil 4.4. E. coli bakterisine ait antibakteriyel test numunelerinin fotoğrafları	37
Şekil 4.5. (a) bakteri yoğunluğu (b) yaşayabilir bakteri yüzdesi (c) 2, 4, 7 gündeki HAP ve Ag-HAP kaplamalarındaki bakteri biyofilmleri	39
Şekil 4.6. E. coli bakterisine karşı gümüş içeren HAP kaplamaların antimikrobiyal etkisi	40
Şekil 5.1. A) hidroksiapatit toz, B) oda sıcaklığında kurutulmuş nano Ag-HAP, C) 105 °C’de kurutulmuş nano Ag-HAP	42
Şekil 5.2. Nano Ag-HAP kaplanmış plazma.....	42

Şekil 5.3. Nano Ag-HAP partiküllerinin optik mikroskop ve TEM görüntüleri	43
Şekil 6.1. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin yapısı	47
Şekil 6.2. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin optik mikroskop görüntüsü ve fotoğrafı	47
Şekil 6.3. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin SEM görüntüleri	48
Şekil 6.4. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin TEM görüntüleri (50-100 nm)....	49
Şekil 6.5. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin TEM görüntüleri (5-50 nm).....	50
Şekil 6.6. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin XRD yansıma paterni	51
Şekil 6.7. HAP ($\lambda = 287$ nm) ve nano gümüş kaplı HAP ($\lambda = 364$ nm ve 435 nm) partiküllerinin UV görünür bölge spektrumu	52
Şekil 6.8. HAP partiküllerinin ft-ir spektrumu	52
Şekil 6.9. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin ft-ir spektrumu	52
Şekil 6.10. Nano Ag-HAP kaplanmış plazma.....	53
Şekil 6.11. HAP ve nano Ag-HAP kaplanmış Ti numuneler.....	54
Şekil 6.12. Plazma sprej tekniği ile Ti yüzeyine kaplanan nano Ag-HAP yüzeyinin 700 °C ısıtma işlem öncesi ve sonrası SEM görüntüleri	54
Şekil 6.13. Plazma prosesi ile Ti destek üzerinde üretilen nano gümüş katkılı HAP kaplamaya ait TEM görüntüleri.....	55
Şekil 6.14. Plazma prosesi ile Ti destek üzerinde üretilen ve 700 °C'de ısıtma işlem sonrası nano gümüş katkılı HAP kaplamaya ait TEM görüntüleri.....	57
Şekil 6.15. Nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyin XRD yansıma paterni.....	59
Şekil 6.16. Nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyin 700 °C'de ısıtma işlem sonrası XRD yansıma paterni.....	59
Şekil 6.17. HAP kaplı Ti yüzeyi, nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyi ve nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyinin 700 °C'de ısıtma işlem sonrası UV görünür bölge spektrumu	60
Şekil 6.18. HAP kaplı Ti yüzeyi, nano Ag-HAP kaplı toz ve nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyinin UV görünür bölge spektrumu	61
Şekil 6.19. Nano Ag-HAP kaplama yüzeyinin EDS elementel analiz ve haritalama sonuçları	62
Şekil 6.20. Nano Ag-HAP kaplama yüzeyinin 700 °C ısıtma işlem sonrası EDS elementel analiz ve haritalama sonuçları.....	63

Şekil 6.21. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen mikroorganizma kolonileri
a) E. coli, HAP (kontrol), b) E. coli, Nano Ag-HAP kaplama c) S.
epidermidis, HAP (kontrol), d) S. epidermidis, Nano Ag-HAP kaplama . 64



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. İmplant doku arayüzey ilişkisini etkileyen faktörler	7
Tablo 2.2. Hegzagonal HAP yapısında bulunan atomların pozisyonları	9
Tablo 2.3. Hidroksiapatitin mekanik özellikleri	10
Tablo 2.4. HAP sentezleme yöntemleri ve tanecik büyüklük aralıkları	11
Tablo 4.1. Nanoteknolojinin 2015 yılı öncesi ve sonrası için kullanım alanları	34
Tablo 4.2. Nano yapıları içeren bazı malzemeler	35
Tablo 4.3. Hazırlanan kaplamaların gümüş tozları ve HAP içerikleri	40
Tablo 6.1. Nano Ag-HAP kaplamaların antibakteriyel aktivite sonuçları	65
Tablo 6.2. Nano Ag-HAP (700 °C) kaplamaların antibakteriyel aktivite sonuçları ..	65

ÖZET

Anahtar kelimeler: Nanoteknoloji, hidroksiapatit, antibakteriyel, nano gümüş, Ti implant, plazma sprej kaplama

Son yıllarda, biyomedikal implantlarda ve birçok endüstri alanlarında antibakteriyel ürünlerin kullanımı artmıştır. Uygun antibakteriyel ajan ve proses metodunun seçimi, ticari uygulamalarda önemli adımdır. Mikroorganizmaların organik antibiyotiklere karşı antibakteriyel dirençlerinin mümkün olması nedeniyle nano metal esaslı antimikrobiyal ürünler alternatif bir metot sağlamaktadır. Genellikle halk arasında antibakteriyel ürünlerin kullanımı yüzeyi kontamine olmuş nesnelerde bakteri büyümesini azaltmak ve insanlar arasında mikroorganizmaların yayılmasını önlemek için önemlidir.

Çalışmamızda, ortopedik implantlarda nano gümüşün bir antimikrobiyal malzeme olarak kullanımının mümkün olup olmadığı araştırılmıştır. Ti esaslı plaka altlık olarak kullanılmıştır. Ti yüzeyler, önceden özel hazırlanmış olan nano Ag-HAP partikülleri ile plazma sprej metodu kullanılarak kaplanmıştır. Hidroksiapatit (HAP) kaplamalar, osseointegrasyon özelliklerinin ve hücre büyümesinin artması için ortopedik implant yüzeylere uygulanmaktadır. Bazı durumlarda implantın bakteri sebebiyle kontaminasyonu, hastalarda infeksiyonlara ve ciddi sağlık problemlerine neden olabilir. İmplant yüzeyinin steril olmasını sağlamak için antibakteriyel malzeme olarak nano gümüş ile kaplanmış HAP partikülleri, Ti implant yüzeylere yerleştirilmiştir.

Nano Ag-HAP partikülleri, elektriksiz çöktürme metodu kullanılarak hazırlanmıştır. Bu metotta HAP partikülleri, Ag^+ iyonları içeren aseton içerisine katılmıştır. Karıştırmaya devam edilerek karışıma poly(dimethylsiloxane) (PDMS) ilave edildikten sonra 0-40 nm gümüş ile kaplanmış nano Ag-HAP (% 0,24 Ag) tozu elde edilmiştir. Hazırlanan partiküller, plazma sprej ile Ti plaka yüzeylere kaplanmıştır ve elde edilen kaplamalara, 700 °C'de ısıtma işlemi uygulanmıştır. Sonuç olarak hazırlanan nano Ag-HAP kaplamalar, *E. coli* ve *S. epidermidis* mikroorganizmalarına karşı % 100 antibakteriyel aktivite göstermiştir.

PRODUCTION OF NANO SILVER COATED HYDROXYAPATITE AND ANTIBACTERIAL SURFACE APPLICATIONS

SUMMARY

Keywords: Nanotechnology, hydroxyapatite, antibacterial, nano silver, Ti implant, plasma spray coating

The use of antibacterial products in the field of biomedical implants and many other industrial areas has increased in recent years. The selection of suitable antibacterial agents and the processing method is an important step in commercial applications. Due to the possible antibacterial resistance of common microorganisms against the organic antibiotics, the nano metal based antimicrobial products provide an alternative method. The utilization of the antibacterial products in commonly used public areas is important in order to reduce the growth of the bacteria on the surface of the contaminated objects and to prevent the spread of the microorganisms in human body.

In our study, the possible use of nano silver in orthopedic implants as an antimicrobial material has been investigated. Ti based plates were used as the substrate. The Ti surfaces were coated by previously prepared special nano Ag-HAP particles using the plasma spray method. The hydroxyapatite (HAP) coatings were applied to the orthopedic implant surfaces to enhance the cell growth and the osseointegration property. In some cases, the bacterial contamination of the implant can cause infections in patients' body and may result in serious health problems. In order to provide a sterile implant surface, HAP particles coated by nano silver as the antibacterial material were deposited to the Ti implant surfaces.

The nano Ag-HAP particles were prepared using the electroless deposition method. In this method, the HAP particles were dispersed in acetone containing the Ag⁺ ions and then the addition of poly(dimethylsiloxane) (PDMS) to the mixture with continuous stirring. This procedure yielded a powder of 0-40 nm silver coated nano Ag-HAP (% 0,24 Ag) powder. The prepared particles were coated to the Ti plate surfaces by the plasma spray and the obtained coatings were heat treated at 700 °C. Finally, the prepared nano Ag-HAP coatings exhibited % 100 antibacterial activity against *E. coli* and *S. epidermidis* microorganisms.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Nanobilimin ve nanoteknolojinin, bilim ve teknolojide geleceği en parlak alanlar olacağı düşünülmektedir. Bu sebeple son zamanlarda nanobilim ve nanoteknolojiye ilgi artmaktadır. Son günlerde dünya üzerindeki her ülke bu konuya önemli yatırımlar yapmaktadır [1].

Nanoteknoloji bilimi, fizik, kimya, biyoloji, ilaç, bilişim ve mühendislik alanlarından gelen bilgiler ile birleştirilerek bilime yol gösterici bir alan olmaktadır. Nanoteknoloji sayesinde gerçek hayata uygulanabilir büyük yenilikler ile teknolojik bir alan oluşmaktadır. Nanoteknoloji bilimi ile, 100 nm'den küçük canlı veya canlı olmayan malzemelerin fonksiyonlarını, özelliklerini, tepkilerini inceleyebilen nanoteknoloji araçları ve teknikleri, yeni çıkmış nano biyomalzemeler ve nano aletler imal edilip, kontrol edilebilmektedir. 100 nm'nin altındaki nanomalzemelerin elektronik ve mekanik aletlerde, optik ve manyetik bileşenlerde, kuantum sayımında, tekstil mühendisliğinde ve diğer biyoteknolojilerde kullanımı ve uygulanması şimdi ve yakın gelecekte daha ekonomik olması sebebiyle önemli olacaktır. Nano ürünlerin sayısı günden güne hızla artmaktadır. Nanoteknoloji terimi iki kelimenin birleşmesinden meydana gelmektedir: Yunan numeroloji sisteminde nano ön eki milyarda bir anlamına gelmektedir. Nanoteknoloji veya nano ölçek teknolojisi 100 nm'nin altındaki ölçüleri incelemektedir. Nanobilim, 1 ile 100 nm'deki atomik moleküler ve makromoleküler ölçümlerde malzemelerin büyüklüğünü, özelliklerini ve tepkilerini araştırmaktadır [2].

Nanoteknolojinin fizik, kimya, biyoloji gibi bilimsel alanlarda ve insan sağlığı, yaşam bilimleri, enerji, çevre, elektronik, iletişim, üretim, malzeme gibi uygulama alanlarında kullanılabileceği birçok bilimsel araştırma ile gösterilmiştir. Aynı malzemenin nano ölçekli halinin makroskopik halindeki özelliklerinden önemli

ölçüde farklı olması bu alanlarda nanoteknolojinin kullanılabilirliğini arttırmaktadır. Nanoteknolojinin bulunması mikro boyuttan nano boyuta bir evrim olarak tarif edilebilmektedir [3].

Nanoteknoloji gelişimi, bilgisayar teknolojisinin gerektirdiği mikroelektronik uygulamalarından doğmuştur. Nanoteknoloji ile taneciklerin küçülmesi, üretim maliyetlerinin düşmesini ve verimliliğin artmasını sağlayabilmektedir. 1980 yıllarında kullanılan bilgisayarlar ile çağımızda kullanılan bilgisayarların hızları ve boyutları karşılaştırıldığında, boyut değişiminin çiplerde başlamış olduğu görülür. Nanoteknolojinin en önemli uygulamalarından biri mikroçiplerin üretimidir. Görüldüğü üzere çip bileşenlerinin boyutlarının azalması sayesinde onların daha hızlı olması sağlanmıştır, bu hız artışının sebebi ise elektrik sinyalinin kat etmesi gereken yolun kısılmasıdır. Fakat tanecik boyutlarının mevcut üretim yöntemleri ile daha fazla azalması mümkün değildir, çünkü fotolitografi ile 100 nm'den küçük boyutlarda üretim yapılamaz [4].

Nanoteknoloji geleceğin teknolojisi olarak düşünülmektedir, günümüzün belki de en ileri üretim teknolojisidir ve “uç teknoloji” olarak adlandırılmaktadır.

Nanoteknoloji aşağıdaki anahtar özelliklere sahip malzemeler ve sistemlerle çalışır. Bunlar:

1. Yaklaşık 1-100 nm büyüklüğünde ve en az tek boyutlular.
2. Moleküler ölçekteki yapıların fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde temel kontrol sergileyen proseslerle tasarlanmış olanlar.
3. Daha büyük yapılar oluşturmak üzere kombine edilebilenler [5].

İnsanlar, bakteriler, küfler, mayalar ve virüsler gibi mikroorganizmalar ile dolu bir ortamda yaşamakta ve bunlar tarafından yaşadıkları çevrede sık sık enfekte olmaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç gösteren ve sağlık bakımı maliyetlerinin üzerine etkisi devam eden mikroorganizmaların ortaya çıkması ve sayısının sürekli artması sebebiyle bilim adamları, mikroorganizmaların dirençleri üzerine etkili yeni

antimikrobiyal ajanları geliştirmek için çalışmalar yapmaktadırlar. Böyle problemler ve ihtiyaçlar, geniş spektrum aktivitesi ile bağlanmış gümüş bazlı antiseptiklerin kullanımını tekrardan hayata geçirmektedir. Özellikle gümüş iyonlarının bakteriyi yok edici etkisinin olduğu ve güçlü bir inhibitör olarak kullanıldığı uzun zamandır bilinmektedir. Gümüş iyonları, bakteriden K^+ iyonlarının serbest bırakılmasına sebep olmaktadır. Bakteri hücresinde önemli enzimlerin birleştirildiği plazma ya da sitoplazmik zar ve DNA, gümüş iyonlarının önemli bir hedef sahası olmaktadır. Bakterinin büyümesi engellenirken gümüş iyonları, hücre protoplazmasında bulunan boşluğun içerisine ve hücre duvarına katman şeklinde yerleşmektedir. Böylece hücre bölünmesi engellenmekte, bakterinin hücresel içeriği ve hücre çevresi zarar görmektedir. Artan bakteri hücrelerinin byklğu, sitoplazmik zar, sitoplazmik içerik ve dışarıdaki hücre katmanları yapısal anormallikler göstermektedir. İlave olarak gümüş iyonları, nükleik asitleri de etkileyebilir. Bakterinin ldrlmesi sırasında bu mekanizmanın önemi belirsiz kalmasına karşın fosfat gruplarından ziyade DNA ile etkileşmeyi tercih edebilirler. Gümüş nanopartikülleri insan sağlığını tehlikeye atan çeşitli mikroorganizmalara karşı etkili antibakteriyel malzemeler olarak kullanılabilir. Gümüş nanopartikülleri özellikle *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 hücrelerine karşı güçlü antibakteriyel aktivitelere sahiptir. Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve gram negatif *Escherichia coli* ATCC 25922 insan vücudunda yaşayan ve bazen enfeksiyonlara neden olan yaygın bakteri türleridir [6].

Bazı antimikrobiyal ajanlar, aşırı toksik ve tahriş edici olduğu için daha güvenli ve daha az maliyetli olan yeni tip biyosidal malzemelerin geliştirilmesine duyulan ilgi artmıştır. Gümüş iyonlarının ve gümüş bazlı bileşiklerin *E. coli* içeren 16 bakteri türüne karşı güçlü biyosidal etkiler gösterdiği ve mikroorganizmalar için yüksek oranda toksik olduğu bilinmektedir [7].

Biyoseramiklerin esası olan hidroksiapatit, biyolojik sert dokuların inorganik bileşenleri ile kimyasal benzerlik gösterdiğinden implant olarak başarılı bir şekilde kemiklerde, dişlerde, tendonlarda, organ stabilitesini, sertliğini ve fonksiyonunu vermek için kullanılmaktadır. Biyolojik dokularla kimyasal benzerliği

biyouyumluluk açısından önemlidir. Sert dokularla sağlam bağlanması nedeniyle ortopedide ve diş implantlarında geniş oranda kullanılmaktadır [8]. Hidroksiapatitin, mükemmel biyouyumluluğu, doğal kemik mineralleri ile kristalografik yapısının benzerliği ve kimyasal yakınlığı nedeniyle kemik dolgusu ve implant malzemesi olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır. Hidroksiapatit, diş ve kemik gibi sert dokular için sadece ana bir bileşen değildir. Protein gibi biyomalzemeler için mükemmel afiniteye sahip olması nedeniyle biyoseramikler ve adsorbanlar için de uygulanabilir bir malzemedir. Biyomedikal uygulamalarda implant olan alanda mikropların oluşumu sebebiyle implant işlemlerinde bazı başarısızlıklar meydana gelmektedir. Eğer implant malzemesi, mikroplara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip ise başarısızlık azaltılabilmektedir. Üstelik insanlarda ve hayvanlarda çeşitli ağır enfeksiyonlara sebep olabilen mikroplar, kapı kolları, paket malzemeleri, banyo fayansları gibi ortak kullanım alanlarından yayılabilmektedir [9].

Bu çalışmada, yaygın kullanım alanına sahip sentetik kemik tozu (hidroksiapatit) üzerine nano boyutlu gümüş partiküller kaplanarak elde edilen tozların karakterizasyonu, farklı yüzey kaplama işlemleri ve antimikrobiyal aktivite ölçümleri yapılmıştır.

BÖLÜM 2. HİDROKSİAPATİT

2.1. Giriş

Hidroksiapatit (HAP, kapalı formülü, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$) şeklinde gösterilen bir kalsiyum fosfat bileşiğidir. Biyomalzemeler, insan vücudunda herhangi bir organ veya dokuyu iyileştirmek ya da fonksiyonları gerçekleştirmek için kullanılırlar. Polimerlerle, metallerle, seramiklerle ve bunların kompozitleri ile biyomalzemeler hazırlanabilmektedir. Günümüzde kazalar, doğum hasarları, kalıtsal bazı durumlar ve vücutta hasara yol açan hastalıklar sebebi ile kemik onarımını sağlayan biyomalzemelere gereksinim artmaktadır. Bugün üretilen birçok malzemenin özellikleri kemiğin mekanik özelliklerine yakın değildir. Metal alaşımların ve biyoseramiklerin elastisite modüllerinin kemiğin elastisite modülünden büyük olması sebebi ile kemikten daha dayanıklıdır. Bu sebeple metal alaşımları, implant olarak kullanılabilmelerine rağmen malzemenin korozyonu ve dokunun hassasiyeti nedeni ile iyi bir biyomalzeme değildirler. Metal ile kemik ara yüzeyi yapışmamaktadır [10].

Doğal hidroksiapatit (HAP), kemiğin inorganik bileşenlerinden biridir. Yapay HAP ise iskeletin yeniden yapılandırılması için implant malzemesi olarak kullanılmaktadır. HAP, bazen tek başına implant malzemesi olarak kullanılabildiği gibi bir kompozit parçası olarak da kullanılmaktadır. HAP'ın iyi bir implant malzemesi olmasının nedenleri ise şöyledir: Mükemmel biyouygunluğu vardır, biyoaktif olmalarından dolayı kaplama olarak tıbbi uygulamalarda kullanılır, böylece polimerin yapışması ve kemik oluşumu artmaktadır. HAP, biyoaktifliğinin yanında osteokondüktif bir maddedir ve toksik değildir. Son zamanlarda hidroksiapatit ve kollojen bazlı olan kompozit malzemeler çok kullanılmaktadırlar. Bunun tek sebebi kemiğe hem bileşim hem de yapısal olarak benzemeleri değil, tek komponentli olan malzemelerden çok daha iyi mekanik dayanıma sahip olmalarıdır [11].

2.1.1. İmplant seramiklerin özellikleri

İmplant olarak kullanılan seramik maddeler ise biyoseramiklerdir. Biyoseramikler, kimyasal reaktifliklerine göre üç gruba ayrılırlar:

1. Biyoinert (oksit seramikleri)
2. Biyoaktif (kalsiyum seramikleri)
3. Biyobozunur (cam seramikleri)

Biyoinert seramikler doku ile yalnız mekanik bir bağ oluştururlar. Biyoaktif seramikler ise doku ve implant arasında kimyasal bağ oluştururlar. Biyobozunur seramikler ise doku ile yer değiştirme yapabilirler [11]. Biyoseramiklerin biyoyumluluğu yüksek olup bu sebep ile implant malzemelerde yaygın olarak kullanılırlar. Burada bahsedilen biyoyumluluk, implantın vücut tarafından kabul edilmesidir. Kemik yapısında inorganik ve organik bileşenler ile su bulunur. Bu yapıdaki inorganik faz, kalsiyum hidroksiapatitdir ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$). Kemik ağırlığının % 70'ini, hacminin ise % 50'sini oluşturur. Hidroksiapatit sentetik olarak da üretilebilen bir biyoseramiktir [10].

Hidroksiapatit'in vücuda uyumlu olmasının yanında toksik olmaması da biyomalzeme olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Doğal kemik nano yapıdaki HAP ve kollojen fiberlerden oluşan bir kompozittir. İnorganik ve organik nanokompozit sentezi, yüksek biyoaktiflik ve mükemmel bağ oluşturma açısından önem taşımaktadır. İnorganik kısımda bulunan HAP, biyoaktif, biyoinert ve kemik iletkenliğinden dolayı implant olarak kullanılmaktadır. Tıp alanında biyomalzemeler sert doku ve yumuşak doku yerine kullanılacak biyomalzemeler olarak ikiye ayrılır. Ortopedik implantlar ve diş implantları genellikle metal seramiklerden yapılır. Kalp damar sistemi ve genel plastik cerrahi malzemeleri ise polimerlerden üretilmektedir. Fakat bazen bu durum değişkenlik gösterebilir, örneğin bir kalp kapakçığı polimer, metal ve karbondan da yapılabilir. Ya da kalça protezi metal veya polimerlerin kompozitlerinden hazırlanabilir. Canlı dokuya yerleştirilen tüm malzemeler dokudan tepki alırlar. Bu tepki doku ile implant arasındaki yüzeydedir [11].

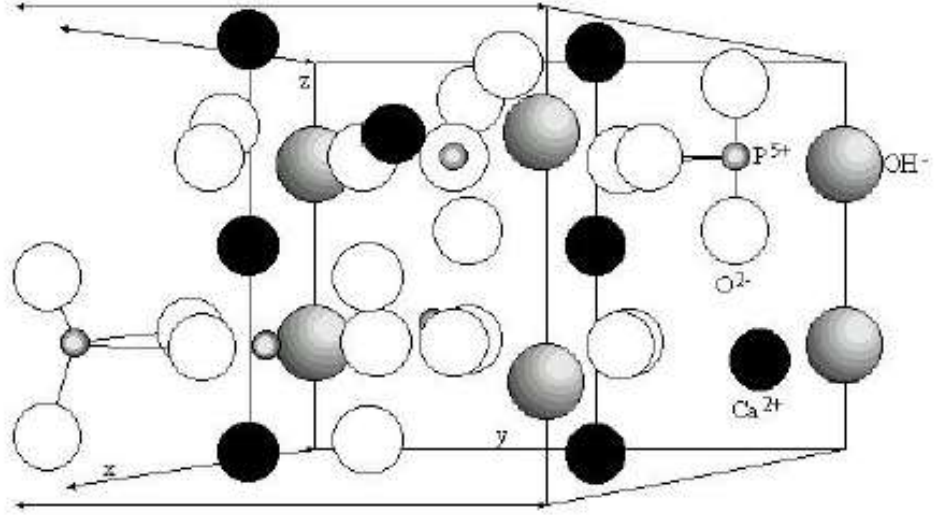
Tablo 2.1. İmplant doku arayüzey ilişkisini etkileyen faktörler [11]

Doku Tarafı	İmplant Tarafı
Doku tipi	İmplant bileşimi
Doku yaşı	İmplanttaki faz sayısı
Doku sağlığı	Faz sınırları
Doku içi kan sirkülasyonu	Yüzey morfolojisi
Arayüzey hareketliliği	Yüzey gözenekliliği
Arayüzey kan sirkülasyonu	Kimyasal reaksiyon
Boyutlar arası uygunluk	Boyutlar arası uygunluk
Mekanik yükleme	Mekanik yükleme

HAP, vücuttaki eksik bir kemiğin yenilenmesi veya bir gözeneğin doldurulması için titanyum, metal ve CoCrMo alaşımlarının üzerine ince bir kaplama yapılarak kullanılmaktadır. Genellikle kullanım alanları diz, kalça ve diş protezleridir. Birçok tür implantda başarı oranı yüksek olmasına rağmen uzun süre vücutta kalan implantın başarısı, implant vücuda yerleştirilirken sonra bakteri enfeksiyonunun önlenmesine bağlıdır. Ameliyat sonrasında mikrobiyal hastalıklardan korunma için özel odalar kullanılmasına rağmen, vücuda protez katılan durumlarda enfeksiyon oranı % 1 ve % 9 arasındadır. Bu oran kullanılan implantın türüne bağlı olmaktadır. Enfeksiyon, tekrar bir ameliyat ile yeni bir implantın yerleştirilmesini gerektirmektedir [12].

2.1.2. HAP'ın kimyasal özellikleri

HAP'ın kapalı molekül formülü, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ 'dir. Kalsiyum fosfat oranı, % 1,67'dir. Kristal yapısı hegzagonaldir. Yoğunluğu, 3,16 g / m³ olup bağıl yoğunluğu, % 95 ile % 99,5 arasındadır.

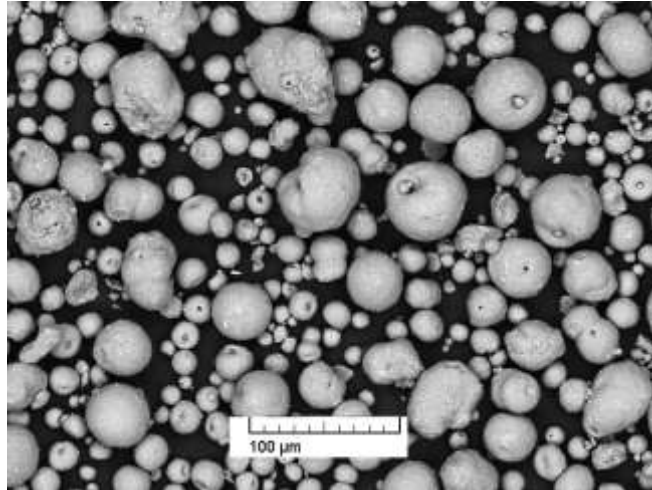


Şekil 2.1. Hidroksiapatitin kristal yapısı [10]

Bozunma sıcaklığı, 1000 °C'den yüksektir. Erime noktası 1614 °C'dir. Dielektrik sabiti, 7,40 ve ısı iletkenliği 0,013 W/cmK dır. Bozunma hızı düşüktür [11].



Şekil 2.2. Sentetik nano hidroksiapatitin morfolojisinin ve büyüklüğünün TEM görüntüsü [12]



Şekil 2.3. Nano hidroksiapatit partiküllerinin SEM görüntüsü [13]

Hegzagonal HAP, $P6_3/m$ uzay grubundadır. Her bir kafeste iki adet formül vardır. Hegzagonal kafes parametreleri $a=b=9.4225 \text{ Å}$ ve $c=6.8850 \text{ Å}$ 'dir. Monoklinik kristal yapıda olan HAP, $P2_1/b$ uzay grubundadır. Kafes parametreleri, $a=9.4114 \text{ Å}$, $b= \sim 2a$ ve $c=6.8814 \text{ Å}$ dır. Bu yapıda HAP'ın üretilmesi çok zordur. Hegzagonal ve monoklinik HAP'lar arasındaki en önemli fark, hidroksil iyonlarının sıralanma şekilleridir. Monoklinik HAP'da hidroksil iyonları, O-H, O-H, O-H şeklindedir. Hegzagonal yapıda ise hidroksil iyonları dönüşümlü olarak O-H, H-O, O-H, H-O şeklinde sıralanmışlardır [14].

Tablo 2.2. Hegzagonal HAP yapısında bulunan atomların pozisyonları [14]

Atom	Birim kafeste bulunan atom sayısı	X	Y	Z
Ca (I)	4	0,333	0,667	0,001
Ca (II)	6	0,246	0,993	0,250
P	6	0,400	0,369	0,250
O(I)	6	0,329	0,484	0,250
O(II)	6	0,589	0,466	0,250
O(III)	12	0,348	0,259	0,073
OH	2	0,000	0,000	0,250

2.1.3. HAP'ın mekanik özellikleri

HAP, kalsiyum fosfattan oluşan gevrek bir malzemedir. Kırılma tokluğu, (K_{IC}) 1.0 MPa m^{1/2}'nin altındadır. İnsan kemiğindeki kırılma tokluğu, 2-12 MPa m^{1/2} arasındadır. HAP'ın mekanik özellikleri zayıf olduğu için yorulma dayanımı oldukça düşüktür [15]. Sentetik HAP, doğal kemiğe göre mekanik yönden daha zayıftır. Biyoaktivitesi de farklıdır. Doğal kemikte olan HAP, sentetik HAP'dan daha biyoaktiftir. Nano HAP, doğal kemikte olan HAP'a daha çok benzemektedir. Son günlerde çalışmalar HAP'ın hem biyolojik hem de mekanik yönlerini geliştirmek için nano HAP üretimine yönelmiştir [14].

Tablo 2.3. Hidroksiapatitin mekanik özellikleri [15]

Elastisite Modülü (GPa)	4,0-117
Basma Dayanımı (MPa)	294
Eğilme Dayanımı (MPa)	147
Sertlik (Vickers, MPa)	3,43
Poisson Oranı	0,27

2.1.4. HAP'ın biyolojik özellikleri

HAP'ın biyoaktifliği ve biyouygunluğu yüksektir, biyobozunması düşüktür. Hücresel olarak uygun bir malzeme olup kemik iletkenliği yüksektir [11]. Osteoindüktif malzemelerdir. Yani implantın uygulandığı alanda aktif olmayan hücrelerin değişerek çoğalması ve kemiğe dönüşmesidir. Yani diğer bir deyişle malzeme kemik dışına yerleştirilmiş olsa bile o bölgede zamanla kemik oluşmasına neden olur. HAP, osteokondüktif etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılır. Osteokondüktif demek HAP'ın kemik içine yerleştirildiğinde kemikteki hücrelerin HAP üzerindeki boşluklara ilerlemesidir. Bu durum kemik yapımını olumlu etkiler fakat kemiğin dışında fazlaca bağ dokusunun gelişmesini sağlar [16]. HAP, yavaş bozunma hızına sahiptir. HAP'ın kimyasal yapısında kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) elementlerini içermektedir. Bu elementler kemik ve dişin inorganik kısmında bulunduklarından vücut HAP'ı yabancı madde gibi algılamaz ve genç kemik hücreleri HAP üzerine yapışır ve çoğalırlar. HAP yüksek biyoaktiviteye sahip olduğundan dolayı kemikle

implant ara yüzeyinde çok kuvvetli bağlar oluşturur. Hatta bazen bu bağlar o kadar kuvvetli olur ki, ortopedide kullanılan metal üzerine kaplanmış HAP'lara genç kemik hücreleri çok kuvvetli yapışırlar. HAP'ı kaplama üzerinden söküp alırlar, bu durum ise o bölgede enfeksiyon oluşmasına sebep olur. Çalışmalarda nano boyutlu HAP ile kaplanmış malzemelerin üzerindeki osteoblast hareketleri mikron boyutundaki HAP ile kaplanmış malzemelere göre daha fazla olduğu görülmüştür [14].

2.2. HAP'ın Üretim Yöntemleri

Hidroksiapatit, kimyasal çöktürme, katı-hal reaksiyonu, hidrotermal sentez, sol-jel metodu ve yanma sentezi gibi yöntemlerle üretilabilmektedir [13]. Aşağıdaki tabloda HAP sentezleme yöntemlerindeki tanecik büyüklük aralıkları verilmiştir [11].

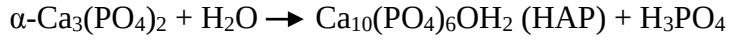
Tablo 2.4. HAP sentezleme yöntemleri ve tanecik büyüklük aralıkları [11]

Yöntem	Tanecik Büyüklük
Hidrotermal yöntemler	4-1125 nm
Çöktürme yöntemleri	20-100 nm
Mikroemülsiyon yöntemleri	40-120 nm
Yanma sentezi	0,45 µm
Sol-gel yöntemi	10-15 nm

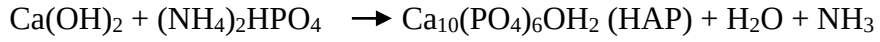
İlk HAP üretimi kimyasal çöktürme yöntemi ile yapılmıştır. HAP'ın hangi yöntem ile üretileceği biyoseramiğin kullanılacağı yere göre seçilmektedir. Sert doku yer değişimlerinde mukavemet önemlidir, diğer dokuların proteze nüfuz etmesi için HAP'ın gözenekli olması da önem taşımaktadır. Biyoseramiğin mukavemetinin artırılması, yoğunluğun artırılması ile mümkündür. Biyoseramiğin gözenekli olması dokunun gelişimi ve kemik ile implantın birleşmesi açısından önem taşımaktadır. Bu durum ise biyoygunluğun göstergesidir. Gözenekler sayesinde dokuların iç büyümesi olur ve gözenekler kemik içerisine kan ve diğer sıvıların ulaşmasını sağlamaktadır [17].

Hidroksiapatit üretim yöntemlerine örnek reaksiyonlar [10] :

Hidroliz reaksiyonu:



Hidrotermal sentez:

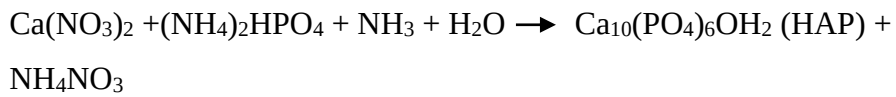


Şekil 2.4. Hidrotermal yöntemler ile HAP üretimi [18]

Sol-jel prosesi:



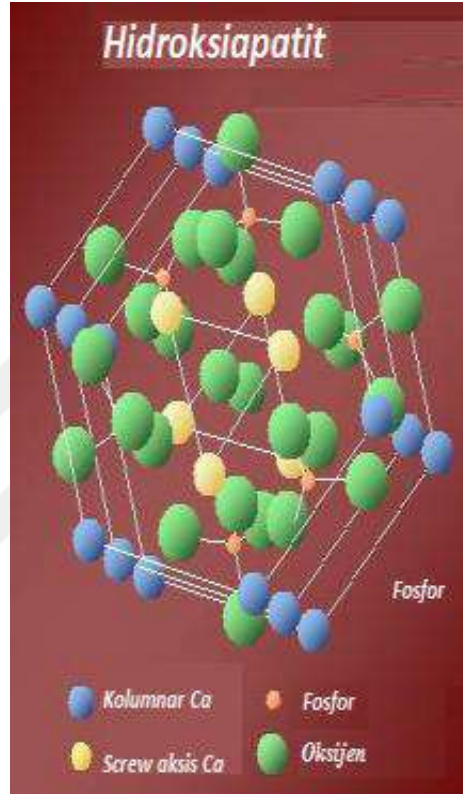
Çökelme prosesi:



Kimyasal çökeltme yönteminde $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 'den 0,5 M'lık çözeltiler hazırlanır. Kalsiyum nitrat çözeltisi üzerine, diamonyumhidrojen fosfat çözeltisi eklenir. Bir saat karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında hava atmosferinde tamamen kuruyuncaya kadar beklenir, kurutma işleminden sonra topaklanmayı önlemek için öğütme işlemi yapılır. Daha sonra 1200 °C'de bir saat süreyle kalsine edilir [10].

Hidrotermal yöntemler ile sıcaklık ve pH değerleri kontrol edilebilir, böylece istenilen morfolojide HAP üretilir. Biriktirme yöntemleri, çözeltinin kimyasal dengesini etkilemek için kimyasal katkıların kullanılmadığı üretim yöntemleridir.

Kalsiyum ve fosfat'lı reaktifler HAP kristallerini oluşturmak için kullanılırlar. Bu yöntemle üretilen HAP kristalleri, genellikle nano boyutta olup, en küçük boyutta üretilen HAP özelliği taşıtmaktadır. Değişik kristal yapılar ve kafes parametrelerinde HAP üretebilmek için üretim yönteminin seçimi önem taşıtmaktadır [18].



şekil 2.5. HAP kristal yapısı [18]

Sol-jel yönteminde fosfor penta oksit (P_2O_5) ve kalsiyum nitrat tetrahidratın ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) mutlak etanoldeki çözeltileri $Ca/P = 1.67$ olacak şekilde karıştırılır. Çözeltinin ısıtılması ile jel oluşur. Farklı srelerde sinterlenir [11].

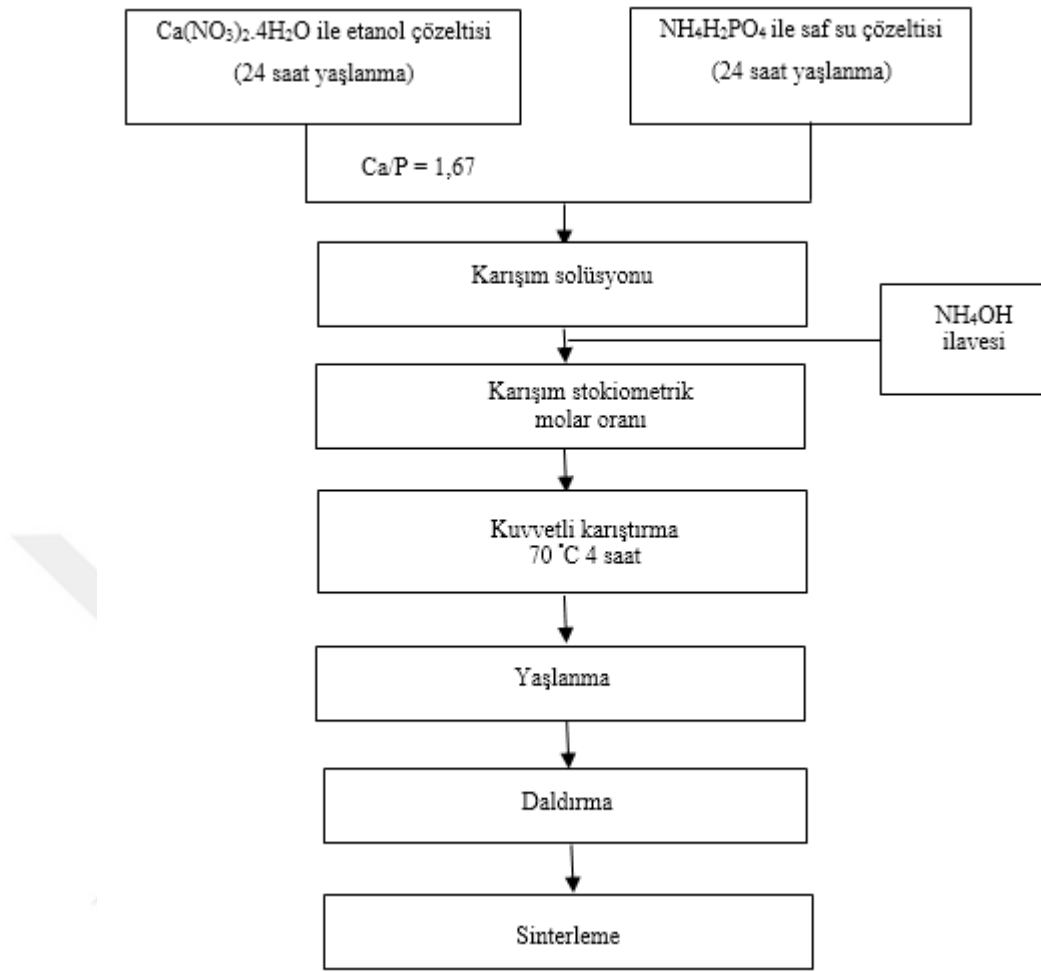
2.3. HAP Kaplama Yöntemleri

Yavaş ilerleyen çatlaklar, yorulma, değişik darbe ve basıncılara dayanımlarının tam bilinmemesi sebebi ile implantların kullanımları istenildiği gibi olmamaktadır. Bu durumun önüne geçmek için biyoaktif seramikler ile yapılan kaplamaların kullanımı artmıştır [11]. Biyoseramik malzemelerin implant malzemeler üzerine kaplanması

için kullanılan yöntemler şöyledir: CVD (kimyasal buhar biriktirme), PVD (fiziksel buhar biriktirme), iyon demeti, lazer, plazma spre, vakum plazma, HVOF (termal spre prosesi), sol-jel daldırma, EPD (elektronik kaplama)'dir [19].

2.3.1. Sol-jel yöntemi ile hidroksiapatit kaplanması

Sol-Jel yöntemi düşük sıcaklıkta uygulanabilir, bu sebeple diğer yöntemlere göre proses kolaylığı, homojen ve yüksek saflıkta olması gibi farklılıklar sağlamaktadır. Bu yöntemde Ti metal altlık üzerine biyoaktif kalsiyum fosfat (CaP) sol- jel yöntemi ile kaplanmaktadır. Ca ve P kaynağı için kalsiyum nitrat tetra hidrat $[Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O]$ ve amonyum di hidrojen orto fosfat $(NH_4H_2PO_4)$ seçilmiştir. Dispersant olarak ve pH ayarı için amonyum hidroksit (NH_4OH) kullanılır. Sol kaynağı olarak kalsiyum nitrat etanol'de $70\text{ }^{\circ}C$ 'de 4 saat magnetik karıştırıcı ile karıştırılır. Fosfat kaynağı olan amonyum di hidrojen orto fosfat, çift distile suda $70\text{ }^{\circ}C$ 'de yine 4 saat karıştırılır. Amonyum fosfat çözeltisi 5 ml/dk hızla diğer çözeltiye karıştırılır. Bu karışım $70\text{ }^{\circ}C$ 'de 3,5 saat karıştırılır, redüksiyon ve pH ayarı için 5 ml amonyum hidroksit eklenir. 24 saat karışım bekletilir. Ti altlıklar kaplama öncesi etil alkol, aseton ve distile su ile temizlenir. Daldırma yöntemiyle bir dakika bekletilerek altlık üzerine yapışmanın olması sağlanır. Kaplamalar $100\text{ }^{\circ}C$ 'de kurutulur. $750-900\text{ }^{\circ}C$ 'de hava atmosferinde sinterleme yapılır [19].



Şekil 2.6. Sol-Jel proses parametrelerinin akış diyagramı [19]

2.3.2. Plazma sprej yöntemi ile hidroksiapatit kaplanması

Plazma sprej yöntemi, metallerin tozlarla kaplanması ve bu sayede kaplamaların oksitlenme, korozyon ve ısı dayanıklılığının artırılmasıdır. Bu özellikler artırılırken ana malzemenin tokluk ve kolay şekillendirilmesi özellikleri de devam ettirilmektedir. Bu yöntemle kaplanan seramik kaplamalar birçok kaplamaya göre aşınma ve erozyon direnci açısından daha iyidirler. Plazma sprej kaplama yönteminde 40 kW'lık bir güç ünitesi ve 3 MB tipi bir plazma tabancasına sahip atmosferik plazma püskürtme sistemi kullanılır. Kaplama sırasında primer gaz argon, sekonder gaz ise hidrojenidir. Kaplama öncesinde altlığın yüzeyi hazırlanır, bu hazırlama işlemi kaplamanın ana malzemeye iyi bağlanması için çok önemlidir. Yüzey üzerinde bulunan nem, yağ ve oksit filmlerinin temizlenmesi ve uygun yüzey

pürüzlülüğünün sağlanması gerekmektedir. Yüzey temizliği ve pürüzlendirilmesi için 30-36 gritlik alümina toz aşındırıcı malzeme olarak kullanılır. Bu malzeme ile çelik altlıklara kumlama yapılır. Bu arada partiküllerin ana malzeme ile mikro kaynaması ve kimyasal bağ oluşumu da olur [10].



Şekil 2.7. Plazma tabancası [10]

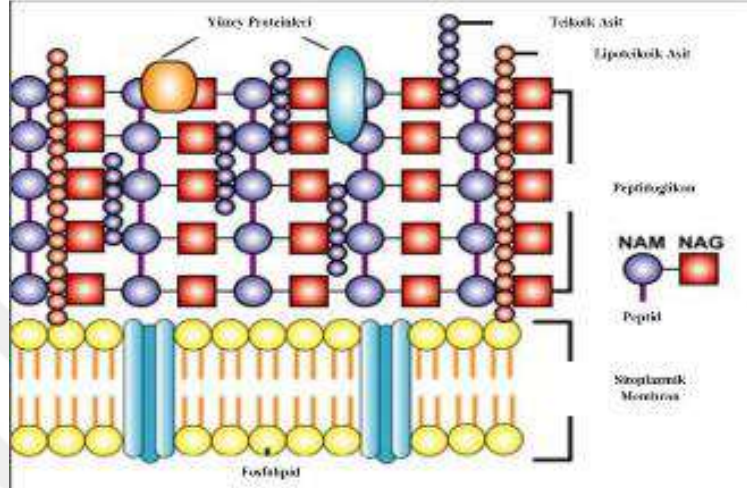
BÖLÜM 3. PATOJENİK MİKROORGANİZMALAR

3.1. Giriş

Bakteriler canlılarda ciddi hatta ölümcül hastalıklara yol açabilirler. Enfeksiyon hastalıklarının büyük bir çoğunluğuna bakteriler neden olmaktadır. Bakteriler kolay adapte olabilme yetenekleri sayesinde bulundukları her ortamda yaşamlarını sürdürebilir veya çoğalabilirler. Uygun olmayan koşullarda ise spor oluşturabilir ve böylece çok uzun süre hatta yıllarca canlılıklarını korurlar. Bazı bakteriler sadece insan vücudunda yaşayabilir iken bazı bakteri türleri ise hayvanlarda yaşamaktadır. Yavaş üreyebilen bakteriler kronik enfeksiyonlara neden olabilirler. Bakterilerde aynı türden bireyler ya da farklı tür bireyler arasındaki genetik madde alışverişini sağlayan plazmit DNA vardır. Bu sayede genetik uyumludurlar ve antimikrobiyal maddelere karşı direnç özellikleri güçlüdür [20].

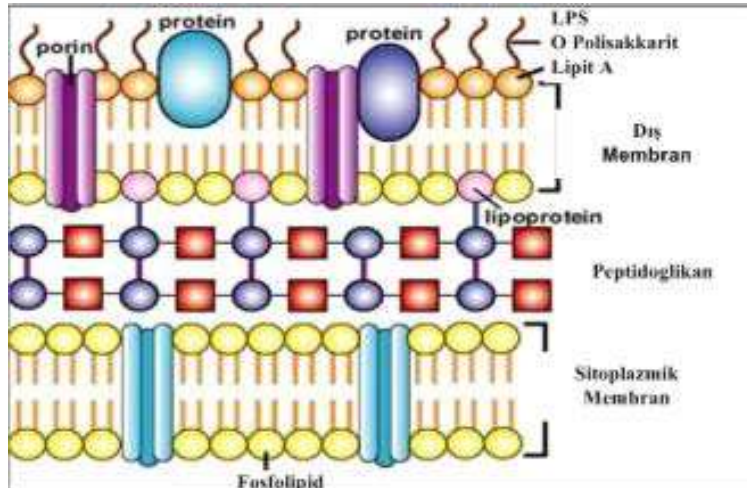
Hücre duvarı, bakteri hücresindeki yaşamsal bölümlerden biridir. Bakterilerde sitoplazmik membran ile kapsül arasında yer alan yapıdır. Sağlam yapısı ile bakteriyi ozmotik lizisten korur, bakteriye şeklini verir. Hücre duvarı, hücre büyümesi ve bölünmesi ile ilgilidir. Ayrıca bakterilerin sınıflandırılmasını sağlayan gram boyası ile boyanma özelliği, bakterinin hücre duvarı ile ilgilidir. Bu sınıflandırmaya göre bakteriler, gram pozitif ve gram negatif olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Gram pozitif bakteriler hücre duvarlarını kaybederlerse, alkol basamağında dekolorize olurlar. Gram pozitif bakterilerde hücre duvarı, peptidoglikan ve teikoik asitten, gram negatif bakterilerde ise peptidoglikan ve dış membran yapısından oluşmaktadır. Hücre duvarı, peptidoglikan yapı sayesinde güçlü olmaktadır. Peptidoglikan yapıyı zayıflatan ajanlar, bakterinin şeklini ve bölünme özelliğini kaybetmesine ve ozmotik lizisle ölmesine neden olmaktadır. Peptidoglikan yapı, sadece prokaryotlarda olduğu için sadece bu yapıyı etkileyen ajanların konak üzerine toksik etkileri de düşük

olmalıdır. Günümüzde, klinik tedavide en yaygın kullanılan antibiyotikler beta-laktam ajanlar ve glikopeptidlerdir (vankomisin ve teikoplanin). Hatta bunlardan beta-laktam ajanlar 1940’lardan beri tüm dünyada en fazla tüketilen antibiyotikler arasındadır [21].



Şekil 3.1. Gram-pozitif bakteri hücre duvarı yapısı [22]

Gram-pozitif bakterilerde dış zar yoktur, sitoplazma zarının üzerinde kalın bir şekilde uzanmış peptidoglikan tabakası vardır. Beta-laktamazlar peptidoglikan’a yapışık bulunmaktadır veya bakteri hücresi etrafında serbest olarak dağılmaktadır [22].



Şekil 3.2. Gram-negatif bakteri hücre duvarı yapısı [22]

Bakteri hücre duvarının ana polimeri peptidoglikan tabakadır. Beta-laktamlar D-alanyl-D-alanine transpeptidase aktivitesini, enzimdeki hidroksil grubunda, stabil esterler oluşturmak üzere açilleyerek inhibe etmektedir. Böylece bakteri ozmotik direnç kaybı yaşar ve ölür. Beta-laktam antibiyotiklerin bakterilere karşı etkinlik göstermeleri için gram-negatif bakterilerde bulunan ve porin adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri gerekmektedir. Ayrıca sitoplazma zarı ile dış zar arasındaki periplazmik boşlukta yer alan beta-laktamazlardan etkilenmemelidirler [22].

3.1.1. Bakteri ve direnç

Bakteride direnç, önemli bir yaşamsal sorundur. Antibiyotik kullanımı, doğal seçilimin koşullarını giderek ağırlaştırmaktadır. Bu sebeple daha çok direnebilen bakterilerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Direnç kalıtımla ilgilidir. Direnç, ata bakteriden kalır veya kalıtsal değişiklik sonucu oluşur. Kalıtsal değişiklik ise, kromozomda oluşan mutasyonla gelişir veya bir başka bakteriden gelen veya ortamdan alınan pilazmit (DNA çemberi) veya transpozon ile oluşur.

Birçok bakteride antibiyotik direnç düzenekleri şöyledir:

1. Bakterinin iç veya dış zarında geçirgenliğin azaltılması.
2. Zar dış-atım pompalarının artırılması (antibiyotik etkisini göstermeden bakteri dışına atılır).
3. Antibiyotiği etkisiz kılan enzim üretimi.
4. Antibiyotik yapısının enzimlerle değiştirilmesi.
5. Antibiyotik ile hedefin bağlanmasının engellenmesi.
6. Antibiyotiklerin hedeflediği enzimlerin aşırı yapımı.
7. Antibiyotiğin etkilemediği başka enzimlerin veya yolların kullanılarak antibiyotiğin etkisinin boşa çıkartılması.

Hastane ortamlarında antibiyotik kullanımının fazla olmasından dolayı antibiyotik direnci yüksek bakteriler yaygındır. Direnç, büyük ölçüde önce hastanelerde oluşur,

sonra topluma yayılır. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve ampisiline dirençli *E. coli* bakterilerinin ortaya çıkışı ve yayılması tarihsel örneklerdir [23].

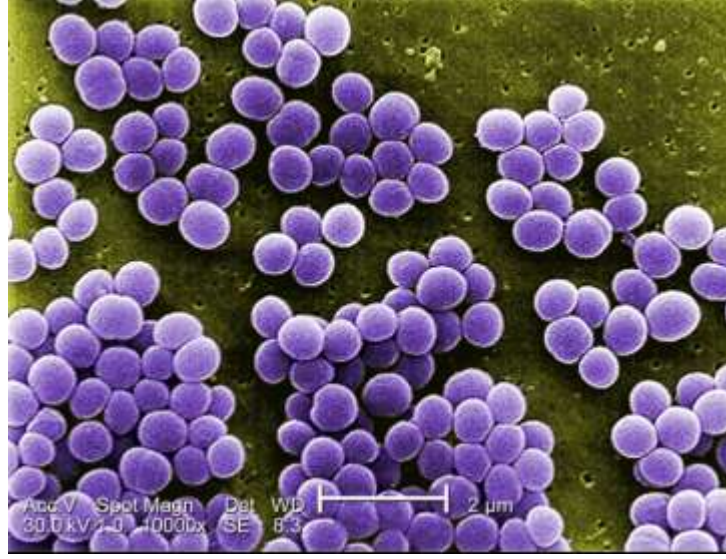
Çalışmamızda nano gümüş kaplı HAP'ın, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *E. coli* bakterilerine karşı etkisi incelenecektir Bu üç tür bakterinin yapısı ve özellikleri şöyledir:

3.2. Staphylococcus aureus

İnsan ve hayvanlarda çeşitli infeksiyonlara neden olan ve yaygın olarak bulunan bir bakteri türüdür [24]. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarları bu mikroorganizma ile çok sık karşılaşılır. Bu bakteri türü doğada oldukça yaygın olmasının yanında insan vücudunda da normal flora üyesi olarak yaşamaktadır. Bazen hafif seyreden bir infeksiyona sebep olabilir iken bazen ise yaşamı tehdit eden ciddi hastalıklara neden olabilmektedir. Günümüzde dirençli kökenler (MRSA- Metisilin dirençli *S. aureus*, MRSE- Metisilin dirençli *S. epidermis*, VRE- Vankomisin dirençli enterokok) görülmeye başlamıştır. Ayrıca dirençli kökenlerin minimum inhibitör konsantrasyonlarında (MİK) yükselme tespit edilmiştir. Bu sorunlar nedeniyle yeni tedavi seçenekleri gündeme gelmektedir [25]. *S. aureus* genellikle burun deliği mukozasında bulunmaktadır. Bulunma oranı ise normal insan veya hastanede bu mikroorganizma'ya maruz kalan hasta ve çalışanlara göre değişiklik göstermektedir. İnsanların % 10-40'ının, hastanelerde çalışanların ve hospitalize hastaların %70'inin burun deliği mukozasında mevcuttur. Bu bakteri kemoterapötik maddelere karşı hızla dayanıklılık kazanmaktadır [26]. *S. aureus*'un yaklaşık %50'si toksin üretme kabiliyetine sahiptir [27].

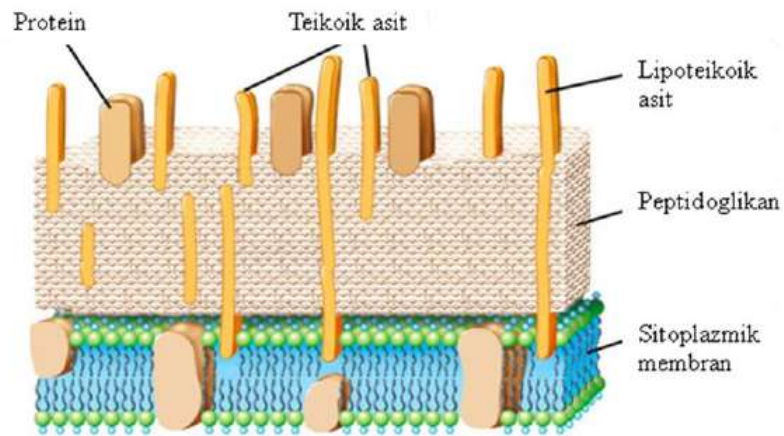
3.2.1. Morfoloji

Bu mikroorganizma, ortalama 1 µm büyüklüğünde, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz'dur. Gram pozitif bir bakteri olup tek tek, ikili veya dördü gruplar halinde görülmektedir [24]. Fakat hücre bölünmesinin farklı düzlemlerde gerçekleşmesinden dolayı preparatlarda genellikle üzüm salkımı şeklinde görülürler [28].



Şekil 3.3. Staphylococcus aureus genel görünüm [29]

S. aureus'un hücre duvarındaki peptidoglikan tabakası, gram negatif hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasına göre daha kalındır. Bu yapı hücre duvarının toplam ağırlığının % 50-60'ını oluşturmaktadır. Hücre duvarında bulunan bir polisakkarit olan teikoik asit ise diğer önemli bir bileşiktir. Teikoik asit ise hücre duvarının yaklaşık % 40'ını oluşturmaktadır. Peptidoglikan tabaka ve teikoik asit, mukoza hücrelerindeki reseptörlere stafilokokların tutunmasını sağlamaktadır. Protein A, antifagositik özelliğe sahiptir [24].



Şekil 3.4. Staphylococcus aureus hücre duvarı [30]

Bu mikroorganizmanın en uygun üreme sıcaklığı, 37 °C olup 18-40 °C arasında üreyebilmektedir. Genellikle oksidaz negatiftir. % 10 NaCl ortamında üremektedir [24].

3.2.2. *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu hastalıklar

S. aureus insanlarda birçok enfeksiyonlara neden olmaktadır. Her koşulda dayanıklı oldukları için doğada yaygın olarak yaşamaktadırlar. Çoğunlukla burun ve boğaz boşluğunda, insan ve hayvan dışkılarında, ciltte apseli yaralarda ve sivilcelerde bulunmaktadır. Bu sebeple insanlarda enfeksiyon yapan patojen stafilokokların kaynağı yine insanlar olmaktadır. Gıdalarda, elle gıda hazırlayanlarda, hastane personeli ve hastane ortamlarında bulunma sıklığı daha fazladır. Metisilin dirençli *S. aureus*, ciddi ve tedavisi güç enfeksiyonlar oluşturmaktadır [31].

S. aureus, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, gastroentrit, yara enfeksiyonları, septik artrit, bakteriyemi, endokardit ve osteomyelit gibi hastalıklara neden olmaktadır. *S. aureus* genellikle apse şeklinde görülmektedir. Apse merkezi dışarı açılım yapar ise organizmaya kan yolu ile yayılabilmektedir. Dikiş ve damar içi katater gibi yabancı cisimler de enfeksiyonlara sebep olabilmektedir [32].

3.3. *Staphylococcus epidermidis*

S. epidermidis kan akımı enfeksiyonlarına sebep olan ve gittikçe yaygınlaşan bir patojendir. Fakat ilk olarak insan cildine yerleşmiş bir asalaktır. Bu bakteri, insan cildi ve medikal cihazların yüzeyleri olmak üzere iki farklı yerde hayatta kalabilir. *S. epidermidis* en çok görülen cilt bakterisidir. Ağız mikroflorasının geçici bir üyesi olmasına rağmen çoğunlukla baş, koltuk altı ve burun deliklerinde bulunur. Sağlıklı bir yetişkinde cildin cm² başına 10 ve 10⁵ arasında CONS'nin (koagülaz-negatif *staphylococci*) şekillenmiş koloni ünitesi bulunmaktadır. *S. epidermidis* için cilde yapışmaya yol açan bakteri hücresinin yüzey molekülleri tanımlanmamıştır. Fakat matrix proteinlere yapışmaya aracı olan proteinlerin yüzeyinin bir pletor'u bilinmektedir. Sağlıklı bireylerdeki *S. epidermidis* cilt kolonileri genellikle bir tehdit ortaya çıkarmamaktadır [33].

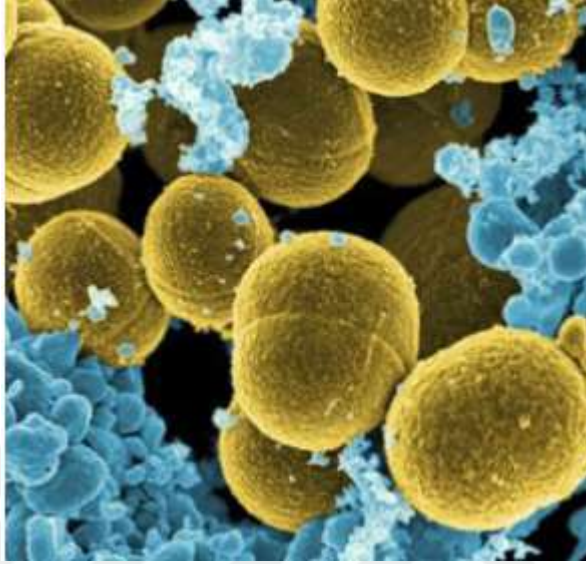
S. epidermidis, hastane cihazlarına yerleşmesi ile hastane infeksiyonlarına neden olabilen fırsatçı bir patojendir ve bu bakteri, bütün vücuda yayılan hastane infeksiyonlarına neden olan en önemli bakteri olarak oldukça önemsenmektedir. Hastane *S. epidermidis* infeksiyonlarının kaynağı, implantasyon sırasında bir implant yüzeyine yapışmış mikroflora'ya sahip bir birey olmasıdır. İnfeksiyon, yapay kalp kapakları, damar içi sondalar ve yapay eklemler gibi geniş bir alanda yaşanabilmektedir. Bununla beraber implant'ın yüzeyine yapışması için gerekli olan bakteri yüzey molekülleri hakkında çok az bilgi mevcuttur. Medikal protezin kontaminasyonu sonucu oluşan infeksiyon türü, implant'ın türüne bağlı olarak farklılık göstermektedir. Kalp pilinin veya yapay kalp kapaklarının, damar içi sondalar'ın *S. epidermidis* kolonizasyonu genellikle kalp iç zarı iltihabına veya kan zehirlenmesine yol açabilmektedir. Protezlerin infeksiyonları genellikle iltihaplanma veya protezin çözülmesi gibi semptomlara sebep olmaktadır [33].

Protez ile ilgili *S. epidermidis*'in neden olduğu infeksiyonların antibiyotik tedavileri, bazı antibiyotik türlerinin koruma amaçlı oluşturduğu biyofilm üzerinde bakterinin kalma kabiliyeti ve doğal direnç açısından sık sık yetersiz kalmaktadır. Ekseri infeksiyonun temizlenmesi için protezin çıkartılması gerekmektedir. Beta laktam antibiyotik metisilin, *Staphylococcus* infeksiyonlarının tedavisi için ilk seçimdir, enzimin hücre duvarına kovalent bağ ile bağlanarak hücre duvarının deformasyonuna ve dağılmasına neden olmaktadır. Metisilin'in yetersiz kaldığı infeksiyonlarda peptidoglikan öncü moleküllere bağlanarak hücre duvarını baskılamak için vankomisin sıklıkla kullanılmaktadır. Fakat yine de orta seviyelerde dirençli bakteriler bildirilmektedir. Bu durum da *Staphylococcus* infeksiyonlarının tedavisinde yeni sınıf antibiyotiklere gereksinim olduğunu göstermektedir [33].

3.3.1. Morfoloji

S. epidermidis, birden fazla düzlemde bölünür ve üzüm salkımı şeklinde düzensiz kümeler oluşturmaktadır. Çapı, 0,5-1,5 μm 'dir. Hareketsiz, kok şeklinde, oksidaz negatif ve katalaz pozitif morfolojiye sahiptir. Geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilmektedir. Fakat bu bakteri için en uygun üreme sıcaklığı 30-37 °C ve pH 7-

7,5 aralığıdır. Kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyonlarında yuvarlak, düzgün, 1-4 mm çapında hafif konveks koloniler oluşturmaktadır. *S. epidermidis* tebeşir beyazı renginde koloniler yapmaktadır [34].



Şekil 3.5. *Staphylococcus epidermidis* genel görünüm [35]

Peptidoglikan yapı, hücre duvarı kuru ağırlığının % 50-60'ı civarındadır ve insan hücrelerinde olmayıp bakteri hücrelerinde bulunması antibakteriyel ilaçların kullanımı için uygun olmaktadır. Teikoik asit, *S. aureus*'da özgün ribitol fosfat polimeri yapısındadır. Fakat *S. epidermidis*'de gliserol fosfat yapısındadır. Sadece gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bu yapı bulunmaktadır. Bu yapı, hücre yüzeyine negatif yük vererek, çeşitli metal iyonlarının, katyonların lokalizasyonunda ve otolitik enzimlerin aktivasyonunda rol oynamaktadır [36].

3.3.2. *Staphylococcus epidermidis*'in neden olduğu hastalıklar

S. epidermidis, son yıllarda hastane infeksiyonlarına sebep olan önemli bir bakteri türüdür. *S. epidermidis*'in normal flora bakterisi olması ve invazif girişimler sonucu kolayca alınabilmesi hastane infeksiyonlarına sebep olmasını sağlamaktadır. İnsanlarda en fazla bulunan patojenler arasındadır. Protez kapak endokarditinde daha sık gözlenmektedirler. Göz cerrahisi sonrasında gelişen infeksiyonların en önemli nedeni *S. epidermidis*'dir [36]. *S. epidermidis*, katater gibi tıbbi yüzeylere

tutunabilmekte ve biyofilm oluşturmaktadır. Birçok insanın antibiyotik direncinin olması ciddi bir problem teşkil etmektedir. Bu bakteri, antibiyotiklerin uzun süredir kullanılması nedeniyle, antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları geliştirmiştir. Eskiden olduğu gibi biyofilmlerin antibiyotiklerle kontrolü son günlerde etkili olmamaktadır. İmplant edilen tıbbi cihazlar üzerinde bu bakterinin biyofilm oluşturmaları, hastalık ve ölüme sebebiyet verebilmektedir. Bu durumda tıbbi malzemelerin vücuttan çıkartılıp yeni bir malzeme ile değiştirilmesi gerekmektedir. Vücut içerisine implante edilen tıbbi cihazlar üzerinde *S. epidermidis* biyofilmlerinin kontrolü için acil antimikrobiyal çözümler geliştirilmesi gerekmektedir [37].

3.4. Escherichia coli

Bakteriyemilere çeşitli mikroorganizmalar neden olmaktadır. Toplum kökenli bakteriyemilerde *Escherichia coli* sıkça izole edilen bir bakteri türüdür. *E. coli*, insan ve hayvanlarda gastrointestinal sistem florasının bir üyesidir. Hem bağırsaklarda hem de bağırsak dışında çeşitli enfeksiyonlara sebep olabilmektedir [38]. *E. coli*, insan ve hayvanlarda doğumdan 1-2 saat sonra ya da aynı gün içerisinde su veya besinlerle alınmaktadır, ince bağırsağın son kısmında veya kalın bağırsağın mukozasında tutunmaktadır. Bir suş, aylarca hatta bazen yıllarca florada tutunabilmektedir, böylece zararlı mikroorganizmaların çoğalmasına engel olmaktadır [32]. İçme suyunun mikrobiyolojik kirlenmesi, bulaşıcı hastalıkların salgın olmasına neden olmaktadır. İçme suyunda *E. coli* bulunması halk sağlığı açısından ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaktadır [39].

3.4.1. Morfoloji

E. coli'nin morfolojisi, *Enterobacteriaceae* familyasındaki diğer bakterilere benzemektedir. Gram negatif bir bakteri olup, çomak şeklinde ve sporsuzdur [40]. 2-6 µm boyunda olan bu bakteri türü, 1-1.5 µm eninde, düz ve uçları yuvarlaktır. Bazen koka benzeyen küçük ve kısa olabildiği gibi bazen ise normalden uzun, Y harfi biçiminde flamanlı da olabilmektedir. Hareketlidir fakat hareketsiz görünebilecek kadar yavaş hareket etmektedir [32].



Şekil 3.6. Escherichia coli genel görünüm [41]

E. coli, peptonlu su, buyyon ve jeloz gibi zenginleştirilmemiş besiyerlerin içerisinde fakülatif anaerob olarak üremektedir. En uygun üreme sıcaklığı 37 °C'dir ve nötral pH varlığında çoğalmaktadır. Ancak 18-44,5 °C sıcaklık aralığında ve pH 5-8 arasında yavaş üremektedir. 44 °C' de laktozu fermente edebilmesi ve indol oluşturması ile diğer koliform laktozu fermente eden bakterilerden ayırt edilmesini sağlamaktadır [40].

3.4.2. *Escherichia coli*'nin neden olduğu hastalıklar

E. coli, insan ve hayvanlarda bağırsak florasında zaten mevcuttur, organizma ve diğer bakteriler ile denge içerisinde bulunursa herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır. Bu durumda kokuşma, mayalaşma dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı konularda yardımcı olmaktadır. Ancak bazı durumlarda insan ve hayvanlar için tehlikeli bir patojen haline gelebilmektedir [32].

E. coli'nin neden olduğu hastalıklar, bağırsaklarda ve bağırsak dışında olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. *E. coli*, bağırsakta enterotoksin oluşturabilmektedir, hafif klinik formdan ağır kolera'ya kadar benzer hastalıklar yapmaktadır. Daha çok çocuklarda bazen ise yetişkinlerde de dizanteriform sürgünlere sebep vermektedir. Hemorojik

kolit yapmaktadır, su ve gıda kaynaklı ishale de sebep olabilmektedir. Bazen çocuklarda akut kanlı ishali takiben, böbrek yetmezliği trombositopeni ve hemolitik anemi gelişmektedir. Bu hastalıklar bağırsak içerisinde gelişen hastalıklardır, bağırsak dışında gelişen hastalıklar da ise üriner sistem infeksiyonlarının en önemli sebebi sayılmaktadır. Hastane kaynaklı pnömonilerin sebebi de olabilmektedir. Yeni doğan menenjit, K1 kapsül antijeni taşıyan suşlar tarafından oluşturulmaktadır. Travma ve apandisit sonrası peritonit yapabilmektedir. Bazen kana yayılıp sepsis nedeni olabilmektedir. Bazen ise septik artrit, endoftalmit, karaciğer absesi, osteomyelit, prostat ile ilgili enfeksiyonlarda da görülmektedir [40].



BÖLÜM 4. GÜMÜŞ VE NANO GÜMÜŞ

4.1. Gümüş ve Özellikleri

Gümüşün simgesi Ag'dir. Beyaz, parlak ve değerli bir elementtir. Atom numarası 47, atom ağırlığı 107,87 gramdır. Ergime noktası 961,9 °C olup kaynama noktası 1950 °C ve özgül ağırlığı 10,5 g/cm³'tür. Genellikle bileşiklerinde +1 değerlik almaktadır. Işığı çok iyi yansıtmaktadır. Elektrik sistemde küp ve altın olarak kristallenmektedir. Dövülebilir ve esnek metaldir. Bir gram gümüş 2 km uzunluğunda ince tele dönüştürülebilmektedir. Oksitlenmeye karşı mukavemeti yüksektir. Bakırdan daha zor, altından ise daha kolay oksitlenmektedir. Nitrik asit ve derişik sıcak sülfürik asitte kolayca eriyebilmektedir. Kükürt ve birçok kükürt bileşikleri ile birleşir. Çoğunlukla gümüş eşyalar üzerinde kararma meydana gelir. Bunun sebebi, havadaki hidrojen sülfürün kükürdü ile gümüşün birleşmesidir. Gümüş, periyodik tabloda ağır metaller grubu içerisinde yer almaktadır. Birçok özelliği bakır'a benzemektedir. Bakır ve gümüş arasındaki en önemli fark ise bakırın genellikle bileşiklerinde iki değerlikli olmasıdır [42].

Metaller genellikle ısıyı ve elektriği iyi iletirler ve parlak yüzeylidirler. Çoğunlukla ağır metaller antiseptik ve dezenfektan olarak kullanılmaktadır. Suda pozitif iyonlar şeklinde bulunmaları sebebiyle metallerin antimikrobiyal ve toksik etkileri bulunmaktadır. Ağır metallerin mikroorganizmaları öldürme ve üremelerini engelleme etkisine oligodinamik etki denir. Bu etkide ağır metaller, mikroorganizmaların enzimlerinin sülfidril (-SH) grupları ile birleşmektedir. Böylece mikroorganizmaların işlevlerini bozmaktadırlar. Ağır metallerden biri olan gümüşün antimikrobiyal etkisi yüksektir. Buna rağmen düşük insan toksitesi ile ağır metaller içerisinde en yararlı olan metaldir [32].

4.1.1. Gümüşün tarihçesi

Gümüş, çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Gümüşün M.Ö. 3100 yıllarında Mısırlılar, M.Ö. 2500 yıllarında Çinliler ve Persler tarafından kullanıldığı tespit edilmiştir. M.Ö. 800 yıllarında ise Nil nehri havalisinde para olarak kullanılmaya başlanmıştır. Endüstrideki gelişmeler ile karışık ve saf olmayan gümüş filizleri ile çalışılmıştır. Norveç'te, Güney Peru'da ve Colorado'da kazılar sırasında işlenmiş halde büyük külçeler bulunmuştur. İspanya'da 1860 yılında sekiz tonluk bir külçe'ye rastlanmıştır. Bugün ise gümüş, çoğunlukla bakır, kurşun ve çinko üretiminde yan ürün olarak elde edilmektedir [42].

Kolloidal gümüşün yara tedavileri için etkili olduğu 1920 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylanmıştır. Fakat 1940'lı yıllarda penisilin'in kullanılmaya başlanması ile antibiyotikler, bakteriyel infeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Gümüş kullanımı ise giderek azalmıştır. Gümüşün tekrar kullanımı, 1960 yıllarında % 0,5 AgNO₃ solüsyonu olarak yanık tedavilerinde olmuştur. 1968 yılında AgNO₃, sülfonamid antibiyotiği ile birleştirilerek gümüş sülfadiazin kremi üretilmiştir. Yakın zamanda ise klinisyenler, gümüşün değişik oranlarda katıldığı yara bezlerinin kullanımını başlatmışlardır [32].

4.1.2. Gümüşün bileşikleri

Gümüş bileşiklerinde çoğunlukla (+1) değerliklidir. Bilinen bileşiklerine örnek olarak aşağıdaki bileşikler verilebilir:

Gümüş oksit (Ag₂O): Gümüş nitrat çözeltisine sodyum ve potasyum hidroksit ile muamele edilir. Muamele sonrasında kahverengi Ag₂O çökeleği oluşur. Dayanıklı bir bileşik olmayıp 300 °C'nin üstünde ısıtıldığında bileşik tamamen gümüşe dönüşebilir.

Gümüş sülfür (Ag_2S): Doğada argentit minerali şeklinde bulunmaktadır. Gümüş tuzunun çözeltisinin üstünden hidrojen sülfür geçirilerek elde edilen kararlı bir bileşiktir.

Gümüş nitrat (AgNO_3): Gümüş tuzlarının içerisinde en önemli olanıdır. Siğil tedavilerinde önemli bir yere sahiptir. Deri ve organik maddeleri karartmada kullanılır. Suda ve alkolde kolayca çözünür. Bu sebeple birçok gümüş bileşiği elde edilirken hammadde olarak seçilir. Bunların yanında en çok kullanıldığı yerler ise fotoğrafçılık, mürekkepler, saç boyası yapımı ve gümüş kaplamacılığı sayılabilir.

Gümüş siyanür (AgCN): Gümüş tuzuna sodyum ve potasyum siyanür'ün eklenmesiyle oluşan zehirli beyaz bir gümüş tuzudur. Kaplamacılıkta önemli bir yere sahiptir.

Gümüş halojenürler (AgX): Gümüş klorür, gümüş bromür, gümüş iyodür, gümüş nitrat çözeltisine halojen tuzları katılması ile meydana gelirler. Işığa karşı hassas olduğu için fotoğrafçılıkta çok kullanılırlar [42].

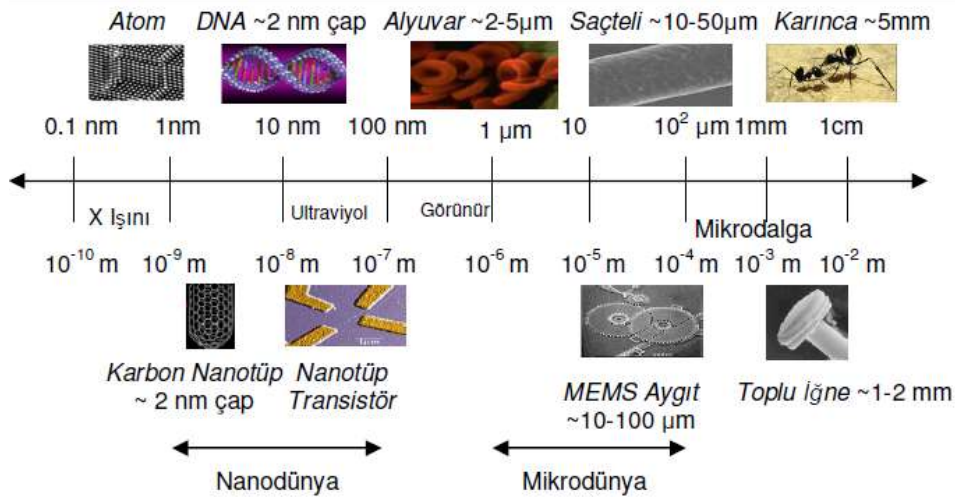
4.1.3. Gümüşün üretimi

Tarih boyunca cevherlerinden ayrılması için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Eski metodlardan biri kurşunla karıştırma yöntemidir. Gümüş cevherleri veya saf olmayan gümüş ürünleri kurşun veya kurşun filizleri ile fırında eritilir. Bu şekilde gümüş kurşun karışımı meydana gelir. Sonra ise saf gümüş elde edilir. Diğer gümüş üretim metodu ise amalgama metodudur. Öncelikle gümüş cevherleri çamur haline getirilir. Tuz ve civa ile muamele edildikten sonra gümüş elde edilir. Bu yöntemlerin dışında bir de siyanat yöntemi vardır [42].

4.2. Nanoteknoloji

4.2.1. Nano bilim ve nano teknoloji

Latince cüce anlamına gelen “nano” kelimesi herhangi bir fiziksel büyüklüğün milyarda biri olarak tanımlanmaktadır [42]. 1 nm kavramı, yaklaşık olarak 5-6 atomun yanyana dizilmesi ile oluşan mesafeyi tanımlar. Nano yapılar ise yaklaşık 10-1000 arasında atom içermektedir. Nanoteknoloji ise metrenin milyarda biri olan nanometre boyutları ile ilgilenen bilim dalıdır. Nanoteknoloji ile maddenin atom seviyesinde işlenmesi neticesinde mevcut halinden daha gelişmiş veya tümüyle farklı sistemler elde etmeye çalışılır. Bu tanıma örnek olarak ise elmas ve maden kömürü verilebilir. Bu maddeler aynı atomlardan oluşur, fakat atomların değişik düzenlenmesi ile farklı maddelere dönüşürler. Kısaca nanoteknoloji atom ve molekülleri bir araya getirerek nanometre boyutunda yapıların oluşturulması ile ilgilenen bilim dalıdır. Aşağıdaki şekilde verilen değişik uzunluk ölçüleri, nanometrenin büyüklüğünün daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır [43].



Şekil 4.1. Değişik uzunluk ölçüleri [44]

Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi 1 nm, metrenin milyarda biri yani 10⁻⁹ metredir. Atomun büyüklüğü 0,1 nm, insan saçının kalınlığı ise yaklaşık 80.000 nm olduğu düşünülürse nanoteknolojinin ne kadar küçük yapılar ile uğraştığı rahatlıkla anlaşılır. Hidrojen atomunun çapı yaklaşık 0,1 nm'dir. İnsan hücrelerinin büyüklüğü, 3.000-200.000 nm

arasında değişmektedir. Bilim adamları nano ölçekte kullanılabilen aygıtları, doğada var olan canlı organizmaları örnek alarak yapmışlardır. Kendi kendini kopyalayabilen nano yapılar sayesinde bu aygıtları tasarlamışlardır.

Aslında nanoteknoloji birçok disiplinin bir araya gelmesinden oluşan bir teknolojidir. Bu teknoloji, malzeme, matematik, fizik, kimya, biyoloji, eczacılık, tıp, bilgisayar ve elektronik bilimleri ile çalışan akademik kadroyu bir araya getirmektedir [43].

4.2.2. Nanoteknolojinin gelişim süreci

Nanoteknoloji, yaklaşık son on yılda ortaya atılan bir kavram olmuştur. Esasında 1950’li yıllardan beri bu konuda çalışmalar yapılmıyordu. Malzemelerin küçültülmesi fikri, ünlü fizikçi Richard P. Feynman tarafından ortaya atılmıştı. Feynman’ın 29 kasım 1959’da Amerikan fizikçiler cemiyeti yıllık toplantısında “There’s Plenty of Room at the Bottom-An Invitation to Enter a New Field of Physics”, (dipte çok yer var: Fiziğin yeni bir sahasına davet) başlığı ile yaptığı konuşması nanobilim ve nanoteknoloji çağının başlangıç noktası olarak kabul edilmiştir. Feynman bu konuşmasında gelecekte atomların istenildiği şekilde düzenlenmesi ile tüm malzemelerin küçültülebileceğini hatta Britanica ansiklopedisinin tamamının bir iğne ucu kadar küçültülebileceğini söylemiştir.

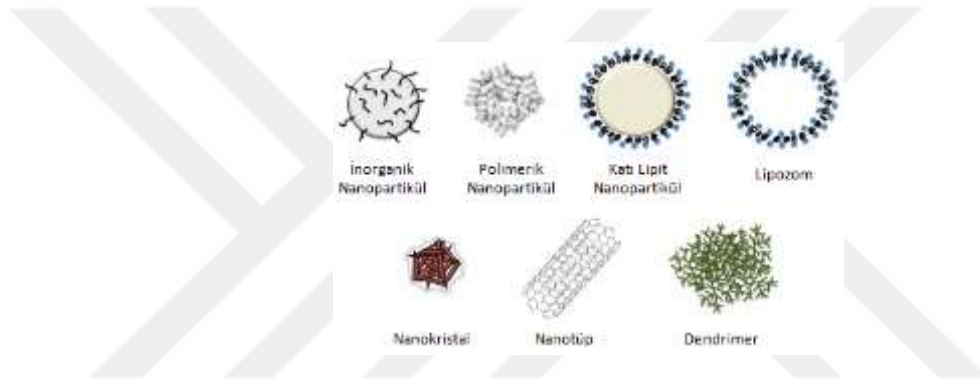
1970 yılından sonra ise nanoteknoloji, geleceğin anahtar teknolojisi olmaya başlamıştır. 1975 yılında, ABD Ulusal Bilim Vakfı, mikron seviyesinden daha küçük yapılar için üniversitelerde araştırma ve geliştirme tesislerinin kurulmasını önermiştir. 1981 yılında ise Heinrich Rohrer ve Gerd Karl Binning, elektron mikroskobu ile görüntülenemeyen parçacıkları 2.000 kez büyütebilen tarama tünel mikroskobunu keşfetmişlerdir. 1986 yılında, G.Binning, C.F.Quate ve Ch.Gerber, atomik kuvvet mikroskobunu bulmuşlardır.

1989 yılında IBM’de kimyacı olan Ari Aviram, mikroüretim ve moleküler elektronik alanlarında yıllık konferansları başlatmıştır. 1991 yılında Japon bilim adamı Sumio Lijima karbon nanotüpleri üretmiştir. 2000 yılı ise nanoteknoloji için önemli bir yıl

olmuştur. 2002 yılında askeri alanda nanoteknoloji ürünleri üretmek için Massachusetts Teknoloji Enstitüsü bünyesinde Askeri Nanoteknoloji Enstitüsü kurulmuştur. 2006 yılında da kansere karşı ilaç tedavisinde nanoparçacıkların kullanımı ile sadece belirli bölgelere müdahale şansı yakalanmıştır [43].

4.2.3. Nanoteknolojinin kullanıldığı alanlar

Organik dendrimerler, lipozomlar, altın, karbon, yarıiletkenler, oksitler gibi malzemelerden yapılan küreler, nanotüpler, nanoteller ve nanokafesler kimya, malzeme bilimi, fizik, sağlık ve elektronik alanlarında kullanılmaktadır [44].



Şekil 4.2. Farklı nanopartikül çeşitleri [45]

Nanoteknolojinin elektronik ve bilgisayar alanındaki uygulamaları henüz sınırlıdır. Elektronik alanda gelecekte büyük avantajlar sağlayacağı öngörülmektedir. Nanoteknoloji kanser tanıma ve tedavisinin yanında tıbbi alanlarda da kullanılmaya başlayacaktır. Kan içerisine enjekte edilen nanosensör ve nanorobotlar ile hastalık hücreleri işaretlenebilecektir [43].

Tablo 4.1. Nanoteknolojinin 2015 yılı öncesi ve sonrası için kullanım alanları [43]

Malzeme/Teknikler	Uygulamalar	Zaman-Ölçeği
2015 Yılı Öncesi		
Kuantum Kuyusu Yapıları	Telekomünikasyon /optik endüstrisi.	• Kuantum kuyu lazerleri halihazırda cd çalarlarda kullanılmaktadır. Ancak iletişim pazarındaki uygulamaları henüz tam olarak ortaya çıkmamıştır.
Kuantum Nokta Yapıları	• Bilgi iletişimi sektörü için lazer gelişiminde önemli uygulamalar. • Amaç, yapılarda ve bilgisayarlarda fiberoptik muhaberesi kullanmaktır. • Maliyet ve yüksek sıcaklık çalışma durumları problemler arasında sayılmaktadır. • Kuantum kuyu/nokta yapıları bu problemleri çözebilecek niteliktedir.	• Kuantum noktalarla ilgili araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.
Fotonik kristal teknolojileri	• Fiberoptik örneği gibi optik iletişim sektörü. • Fotonik entegreli devreler, elektronik devrelerden yaklaşık milyon kez daha yoğundur.	Halen temel AR-GE safhasındadır.
Karbon nanotüpler (karbon nano tüpler nano elektroniklerin temel bileşenleri olup iletken, yarıiletken ve yalıtkan gibi davranabilme özelliğine sahiptir).	Hafıza ve depolama maksatlı kullanılmaktadır.	• Ticari tip nano tüp tabanlı RAM'ler • Düz ekran (Flat screen)
Dönüş tabanlı elektronik (spintronics) (elektron spininin, temel yeni cihaz fonksiyonları veya önemli gelişmeleri için kullanımı)	Çok yüksek kapasiteli disk sürücüler ve bilgisayar hafızaları	
Polimerler	Görüntü teknolojileri	Cambridge görüntü teknolojileri gibi bazı ticari ürünler piyasaya sürülmeye başlanmıştır.
2015 Yılı Sonrası		
Moleküler nano elektronik	Tek molekülden oluşan devreler ve tek elektronlu transistörler özel kullanım amaçlı olarak geliştirilecektir	Tek atomlu transistörler halihazırda gelişim devresindedir.
Kuantum bilgi işleme	• Kuantum bilgisayarlar vasıtasıyla, mevcut bilgisayarlarla çözülemeyen problemler hızlı ve doğru bir şekilde çözülebilecektir.	Halihazırda kuramsal araştırma safhasında olmasına rağmen yüksek beklentiler mevcuttur.

4.2.4. Nanoyapılı malzemeler ve nanoyapılı malzemelerin özellikleri

Tablo 4.2. Nano yapıları içeren bazı malzemeler [42]

Malzemeler	Boyut (yaklaşık)	Örnekler
Nano kristaller ve demetler (kuantum noktalar)	1-10 nm	Metaller, yarı iletkenler, manyetik malzemeler
Diğer nano partiküller	1-100 nm	Seramik oksitler
Nanoteller	1-100 nm	Metaller, yarı iletkenler, oksitler, sülfidler, nitritler
Nanotüpler	1-100 nm	Karbon tabakalı metal kalkojenitler
Nano gözenekli katılar	0,5-10 nm (gözenek yarıçapı)	Zeolitler, fosfatlar
2 boyutlu nano partiküller	Birkaç nm ² -µm ²	Metaller, yarı iletkenler, manyetik malzemeler
Yüzeyler ve ince filmler	1-1000 nm (kalınlık)	Çeşitli malzemeler
3 boyutlu yapılar	Üç boyutta birkaç nm	Metaller, yarı iletkenler, manyetik malzemeler

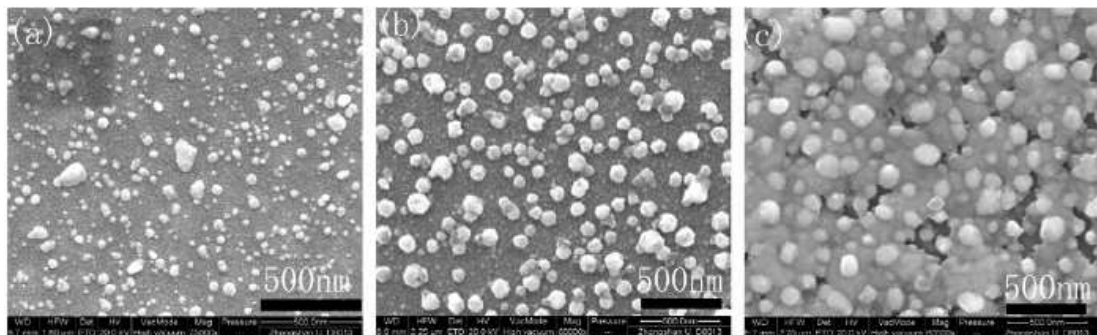
4.3. Nano Gümüş

Gümüş nano partiküllerinin fizikokimyasal özellikleri iyi olduğundan insan sağlığı ile ilgili alanlarda ticari nano malzemeler olarak kullanımı yaygınlaşmıştır. Nano gümüşün antibakteriyel özelliğinin olması gıda ve tekstil sektörlerinde kullanılmasını sağlamıştır. Antibakteriyelliğin sağlanması sırasında nano gümüşten Ag⁺ iyonları serbest bırakılır. Bu iyonların mikroorganizmalara karşı toksik etkisi ile ilgili birçok tartışma olmuştur. Navarro, nano gümüş'ün toksik etkisinin çok az olduğunu fakat nanogümüş'ün Ag⁺ iyonlarını sağlamada görev yaptığını söylemiştir. Miao, Ag⁺ iyonlarının nano gümüşün toksikliği üzerinde etkisinin büyük olduğunu savunmuştur. Fakat Fabrega, Ag⁺ iyonlarının toksiklik üzerinde etkisinin yok denecek kadar az olduğunu ve toksikliğin nano gümüş partikülleri ile ilgili olduğunu söylemiştir. Kawata ve Laban, toksikliğin, sadece serbest kalmış Ag⁺ iyonları ile ilgili olduğunun söylenmesinin doğru olmayacağını savunmuşlardır [13].

Titanyum ve titanyum alaşımları iyi biyouyumluluğu ve mekanik stabilitesinin kombinasyonu nedeniyle mikro implant malzemeler olarak kullanılmaktadır. Fakat sıklıkla bazı implantlardan sonra enfeksiyon ortaya çıkmaktadır. Bunun sebebi ise implant üzerine bakterinin kolonize olması ve üzerine yapışmasıdır. Titanyum implant yüzeyinin kimyasal yapısının ve morfolojisinin bakteriye etki etmesin de önemlidir. İmplanttaki enfeksiyonun düzeltilmesi için fotokataliz uygulamaları arttırılmıştır. TiO_2 yüksek stabilitesi, düşük maliyeti ve kolay bulunabilmesi nedeni ile en çok çalışılan fotokatalizdir.

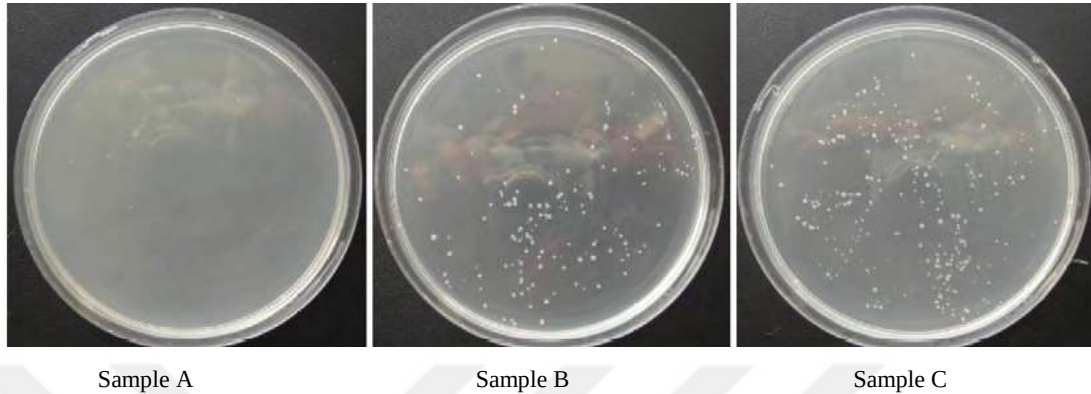
Nano gümüşün fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, elektrokatalitik aktivite ve antibakteriyel etki gerektiren alanlarda cezbedici olmasından dolayı gümüş nano partikülleri, en önemli metal nanopartiküllerden biri olmuştur. Araştırmalar TiO_2 'nin fotokatalitik aktivitesinin geliştirilmesinde gümüşün önemli bir rol oynadığını doğrulamaktadır. TiO_2 'nin kanser hücreleri, alg, bakteri ve virüs içeren çeşitli organizmaları parçalama ve oksitleme kabiliyetine sahip olduğu bilinmektedir. Bakteri öldürücü özelliklerinin daha etkili olmasını sağlamak için titanyum oksit kaplamaları nano gümüşle kaplanmaktadır. Küçük boyuttaki gümüş nano partiküllerinin daha iyi bakteri öldürme özelliğinin olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır [46].

Gümüş nano partiküllerinin *E. coli* üzerindeki antibakteriyel etkisini inceleyen bir çalışmada Trunkat, gümüş nano partiküllerinin küresel ve çubuk şeklinde olan partiküllerden daha güçlü aktiviteye sahip olduğunu savunmuştur. Bu çalışma gümüş nano partiküllerinin şeklinin antibakteriyelliğini etkilediğini göstermektedir [32].



Şekil 4.3. Farklı sıcaklıklarda tavllanmış Ag/ TiO_2 SEM görüntüleri (a)numune A (b)numune B (c)numune C [46]

Şekil 4.3.'de görülen gümüş nano partiküllerinin büyüklükleri şöyledir: sample A, 20 ve 30 nm, sample B 60 ile 80 nm arasındadır, sample C'nin boyutu ise 100 nm'den daha büyüktür [46].



Şekil 4.4. *E. coli* bakterisine ait antibakteriyel test numunelerinin fotoğrafları [46]

Sample A'da tüm *E. coli* bakterilerinin 20 dakika sonra öldüğü, sample B'de bu oranın % 86'dan fazla olduğu ve sample C'de ise bu bakterinin ölüm oranının % 60 civarlarında olduğu tespit edilmiştir [46].

Nano gümüş, *E. coli* ve *S. aureus* hücrelerine karşı güçlü antibakteriyel aktivitelere sahiptir. Bakteri hücrelerine nüfuz etmiş nano gümüş sayesinde bakterinin büyümesi ve üremesi hızla inhibe edilmiş olur. Nano gümüşler insan vücudunda tehlikeli olan çeşitli mikroorganizmalara karşı etkili antibakteriyel malzemeler olarak kullanılabilirler [6].

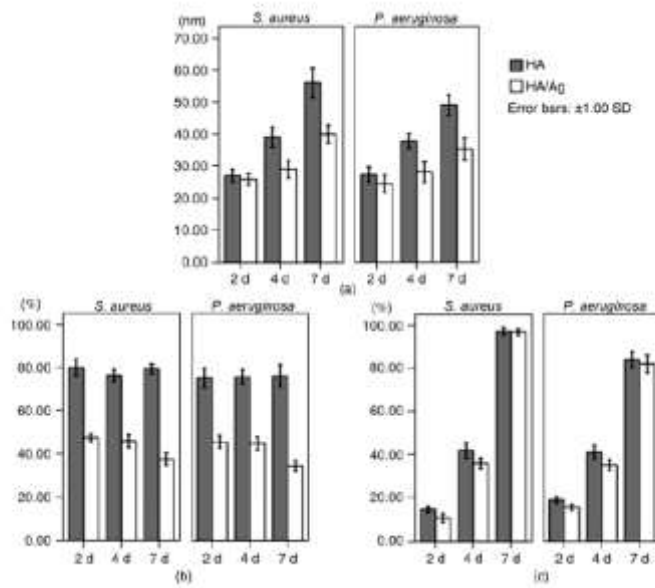
4.3.1. Nano gümüşün bakteri hücrelerine etkisi

Gümüş, bakterinin hücre zarını kesme kabiliyetine sahiptir. Bakteri içerisindeki gümüş iyonları, proteinlerin içerisindeki tiyol ve amino asit gruplarını engelleyerek bu grupları inaktif hale getirirler. Nano boyuttaki gümüş partikülleri sürekli bakteri hücresinin içerisindeki DNA'ya yoğunlaşırlar ve içerisine girerler. Böylece hücrenin kendi kendini replike edebilme kabiliyetini önlerler [47].

Gümüş iyonları bakteriden K^+ iyonlarının serbest bırakılmasına neden olurlar. Böylece bakteri plazması, çok önemli enzimlerin bulunduğu sitoplazmik zar ve DNA gümüş iyonlarının en önemli hedefi haline gelir. Granül olarak hücre boşluğuna ve duvarına girerek bakterinin büyümesini inhibe ederler. Gümüş iyonları, hücre bölünmesini engellerler. Bakterinin hücre duvarı ve zarı hasara uğrar. Bakteri hücrelerinin boyutları artar. Sitoplazmik zar, sitoplazmik içerik ve dışarıdaki hücre katmanları yapısal anormallikler sergilerler. Ayrıca gümüş iyonları, nükleik asitlerle de etkileşirler [6].

4.4. Nano Gümüş - Hidroksiapatit Katkılı

İmplant yüzeylerine bitişik olan dokularda ve insan vücudunun içerisinde bulunan yapay yüzeylerde infeksiyonlar biyofilm şeklinde olmaktadır. Bu biyofilm içerisinde büyüyen bakteri hücrelerinin antibakteriyel ajanlara karşı artan direnç gösterdiği bilinmektedir. HAP seramikleri, tedavi edici ajan olarak kullanıldıklarında iki kat osteokondüktif ve antibakteriyel etkiye sahiptirler. Bazı çalışmalar, HAP üzerine antibakteriyel ajanlar eklenmiş HAP kaplamalarını tanımlamaktadır. Biyofilm şeklindeki bakteri yığını, antibakteriyel ajanlara karşı planktonik bakteriden daha dirençlidir. Bunun nedeni fizyolojik farklılıklar ve fiziki difüzyondur. Bu sebeple planktonik bakterilere karşı etkili olan antibiyotik konsantrasyonları, sabit bakterilere karşı etkisiz kalmaktadır. Bakterilerin antibiyotik dayanıklılığı ve sayılarındaki artış gümüşün antibakteriyel ajan olarak kullanılmasını zorunlu kılmaktadır [48].



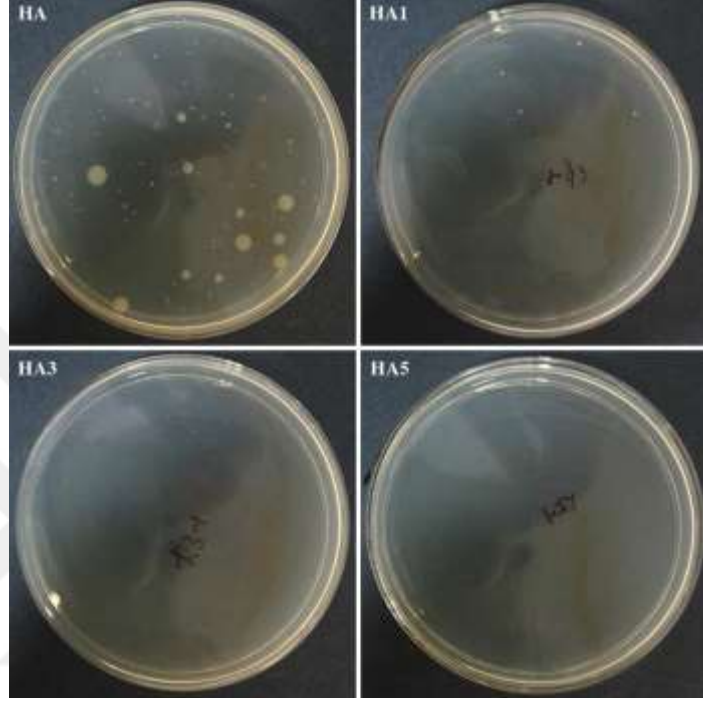
Şekil 4.5. (a) bakteri yoğunluğu (b) yaşayabilir bakteri yüzdesi (c) 2, 4, 7 gündeki HAP ve Ag-HAP kaplamalarındaki bakteri biyofilmleri [48]

Şekil 4.5.'de görüldüğü gibi Ag-HAP kaplamaların yüzeyindeki biyofilmlerde yaşayabilir bakteri sayısında saf HAP kaplaması ile karşılaştırıldığında belirgin azalma olduğu gözlenmiştir [48].

Gümüş kaplanmış HAP'lar, % 95'den daha yüksek oranda üç bakteri türüne (*E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*) karşı belirgin antibakteriyel etkiler göstermektedir. Fizyolojik çevrede gümüş iyonlarının serbest bırakılması, gümüş içeren HAP kaplamaların antibakteriyel özelliklerinin mükemmel olmasını sağlamaktadır. Uluslararası standart (ISO 10993-12) gümüş kullanımını fibroblast hücre kullanımlarında sitotoksik değerlendirme açısından kabul etmektedir. Hatta kaplamalardaki sitotoksikite'yi hiç sitotoksik olmayan anlamına gelen "0" olarak sınıflandırmaktadır [49].

Tablo 4.3. Hazırlanan kaplamaların gümüş tozları ve HAP içerikleri [49]

Kaplama	HA	HA1	HA3	HA5
HA wt %	100	99	97	95
Ag wt %	0	1	3	5

Şekil 4.6. *E. coli* bakterisine karşı gümüş içeren HAP kaplamaların antimikrobiyal etkisi [49]

Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi gümüş içeriği arttıkça Ag-HAP kaplamasının *E. coli* bakterisine karşı antibakteriyel etkisi artmıştır. Gümüş iyonlarının serbest bırakılması bakteri hücrelerinin bölünmesini engellemede önemli bir rol oynamaktadır [49].

BÖLÜM 5. MATERYAL VE METOD

5.1. Materyal

Gümüş nitrat (AgNO_3 , % 99.8), Carlo Erba'dan satın alındı. Hidroksiapatit, XPT-D-703 (1-50 μm) Sulzer Metco'dan satın alındı. Poly(dimethylsiloxane) (PDMS), ABCR'den temin edildi. Aseton, Merck'ten temin edildi. Ti plaka, Timet Titanyum Metal&Medical İletişim'den temin edildi.

Antibakteriyel aktivite ölçümü için 3 adet bakteri soyu kullanıldı. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 soylarının örnekleri, Sakarya Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarından temin edildi. Besiyerleri Triptik Soy Broth dehidre Merck'ten, Nutrient Agar dehidre Acumedia'dan satın alındı. Koyun Kanlı Agar besiyeri Seçkin Medikal'den, Mueller Hinton Broth besiyeri ise Ceylan Medikal'den sağlandı.

5.2. Metotlar

5.2.1. Nano gümüşün HAP üzerine kaplanması

Hassas terazide tartılan 3 gr AgNO_3 , 5 ml saf suda çözülerek gerekli gümüş nitrat çözeltisi elde edildi. Üzerine 40 ml aseton ilave edilerek magnetik karıştırıcıda karıştırılmaya başlandı. Yaklaşık 10-30 dakika sonra bu karışım üzerine 100 gr HAP tozu ilave edildi ve indirgen madde olarak 5 ml PDMS eklendi. Sonrasında 50 ml aseton daha ilave edilerek karıştırmaya devam edildi. Karışım karanlık ortamda 24 saat saklandı. 24 saatin sonunda bu karışımdan nano Ag kaplı hidroksiapatit partiküllerinin dibe çökerek ayrıldığı gözlemlendi. Sıvı faz dekantasyon işlemi ile ayrıldı. Çökelek halinde ayrılan partiküller bol miktarda aseton ile yıkandıktan sonra 105 °C'de etüvde 1 saat kurutuldu. Böylece nano Ag partikülleri ile kaplanmış nano

Ag-HAP tozları sarı kahverengi olarak elde edildi. Üretilen nano Ag-HAP partiküllerinin ağırlıkça % 0,24 oranında gümüş içerdiği hazırlanan numunelerin ICP-OES analizleri ile tespit edildi [50].



Şekil 5.1. A) hidroksiapatit toz, B) oda sıcaklığında kurutulmuş nano Ag-HAP, C) 105 °C’de kurutulmuş nano Ag-HAP

5.2.2. Plazma sprej ile Ti plaka üzerine nano Ag-HAP’ın kaplanması

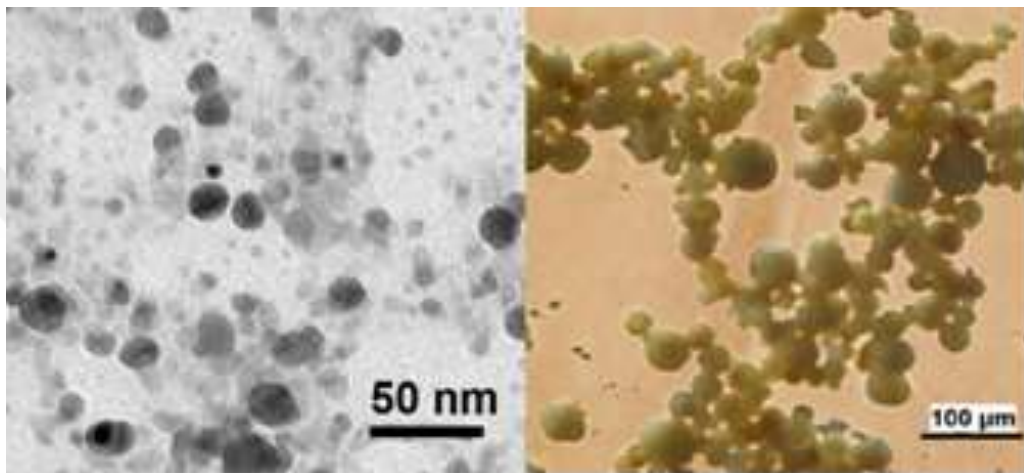
Hazırlanan nano Ag-HAP tozları Ti plaka üzerine plazma sprej tekniği kullanılarak kaplandı. Bu kaplama işlemi Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Termal Sprej Kaplama ve Araştırma Laboratuvarı’nda bulunan 3 MB tipi plazma tabancası ile yapıldı. Bu tabancanın 40 kW’lık güç ünitesi vardır. Kaplama işleminde primer gaz olarak argon, sekonder gaz olarak ise hidrojen kullanıldı. Kaplama işlemi atmosferik plazma püskürtme şeklinde yapıldı.



Şekil 5.2. Nano Ag-HAP kaplanmış plazma

5.3. Hazırlanan Malzemelerin Karakterizasyonu

Partiküllerin karakterizasyonunda kullanılan cihazlar: Optik mikroskop (Olympus IX81), FE-SEM alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (JEOL JSM-6060 LV), HR-TEM yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (JEOL 2100), UV absorpsiyon spektroskopisi (Shimadzu), FT-IR spektroskopisi (Shimadzu), XRD analizleri için RIGAKU D max 2200, Cu/K α kullanılmıştır.



Şekil 5.3. Nano Ag-HAP partiküllerinin optik mikroskop ve TEM görüntüleri

Şekil 5.3.'de hazırlanan nano Ag-HAP toz partiküllerinin 50 nm'de alınan optik mikroskop görüntüsü ve 100 μ m'de alınan TEM görüntüsü verilmektedir.

5.4. Antibakteriyel Aktivite Testleri

5.4.1. Besiyerlerinin Hazırlanması

Besiyerlerin hazırlanması işlemi Sakarya Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapıldı. 23 gr nutrient agar üzeri 1000 ml'ye kadar saf su ile tamamlandı. Çözelti iyice karıştırıldı. Balon jojenin ağzı alüminyum folyo ile kapatıldı. 121 °C'de, 1 atm basınçta 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutuldu. Otoklav'dan çıkartıldıktan sonra 50 °C'ye soğutuldu. Steril petri kaplarına aseptik şartlarda 4 mm kalınlığında döküldü ve katılaşması beklendi. Kullanılana kadar besiyerler + 4 °C'de bekletildi. Diğer besiyeri hazırlamak için Triptik Soy Broth'dan 30 gr alındı ve saf su ile 1000 ml'ye tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra deney

tüplerine 5'er ml alındı. Yine 121 °C'de, 1 atm basınç altında 15 dakika sterilize edildi. Diğer besiyer gibi otoklavdan çıkartılıp + 4 °C'de bekletildi.

5.4.2. Bakteri Kültürünün Hazırlanması

Bu çalışmada, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşları kullanıldı. Öncelikle bu mikroorganizmalar 24 saat 37±1 °C'de Triptik Soy Broth besiyerinde zenginleştirildi. Sonra Koyun Kanlı Agara ekilerek 24 saat 37±1 °C'de inkübe edildi.

5.4.3. Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri

Kaplamalar, sterilizasyon için UV (Philips Ultra Violet TUV 30w) ışığa maruz bırakıldı. Bu maruziyet işlemi sırasında kaplamaların her bir yüzünün 30 dakika boyunca ışığa tutulmasına dikkat edildi.

Bu çalışmada antibakteriyel aktivite ölçümü için kullanılan metot "Plate Counting" metodudur [51]. 1×10^6 CFU/ml bakteri süspansiyonundan numune yüzeylerine 100 µl inoküle edildi. Numune üzeri asetat film ile kaplandı. Kaplamalar, % 90'nın üzerinde bağıl nemli ortamda 37±1 °C'de 24 saat süre ile inkübe edildi. Kaplamalar, 20 ml % 0,87 NaCl çözeltisi ile yıkandıktan sonra çözeltiden 100 µl alındı. Nutrient Agar besiyerine ekim yapıldı. 24 saat 37±1 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında meydana gelen koloniler sayıldı.

Antibakteriyel etki aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$R = [(B-C)/B] \times 100$$

R: Antimikrobiyal etki (%)

B: Kontrol örnekteki bakteri sayısı (CFU/örnek)

C: Modifiye örnekteki bakteri sayısı (CFU/örnek)

BÖLÜM 6. DENEYSEL BULGULAR

6.1. Hidroksiapatit-Nanogümüş Biyomalzemeler

Hidroksiapatit seramik tozları özellikle biyomedikal ve tıbbi implant uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok uygulamada yüzeylerin kontaminasyonuna bağlı infeksiyonlar gelişmekte ve bu durum ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, yüzeylerin antibakteriyel ajanlar ile modifiye edilmesi ile daha steril ve sağlıklı implantların hazırlanması giderek artan bir önem kazanmıştır. Farklı kimyasal yüzey işlemlerinin uygulanması mümkün olmakla beraber, biyouyumluluğu yüksek ve düşük dozlarda uzun süreli kalıcı antibakteriyel özellik gösteren malzemeler tercih edilmektedir. Örneğin gümüş iyonları, çok düşük konsantrasyonlarda bile bakterilere karşı etkilidir. Buna karşılık bu düşük dozlarda hasta üzerinde olumsuz etkiler oluşturmadığı kabul edilmektedir. Ayrıca, bakterilerin organik ajanlarda olduğu gibi gümüşe karşı bakteriyel bir direnç de kazanması mümkün değildir. Yapılan çalışmalarda, gümüşün virüslere karşı da etkili olduğuna ilişkin bulgular elde edilmiştir.

Son yıllarda nanoteknolojideki gelişmeler ve gümüş, altın gibi nano metal partiküllerinin sağlık alanında farklı amaçlarla kullanımını beraberinde getirmiştir. Partikül boyutunun çok küçük olması ile birlikte yüzey alanı büyük oranda artmakta ve bu aktif yüzeyler bulunduğu ortam ile daha fazla etkileşime girmektedir. Yüzeyden yavaş yavaş gerçekleşen gerek elektron transferi gerekse iyon transferi mekanizmaları ile uzun süreli ve kalıcı bir aktiviteye ulaşılmaktadır. Burada önemli olan nano gümüş partiküllerinin taşıyıcı hidroksiapatit yüzeylerine kararlı bir şekilde bağlanması ve bunların uzun vadede sulu ortamda veya doku ortamında çözünerek kaybolmasının engellenmiş olmasıdır. Ayrıca, nano metal partiküllerinin

bulundukları ortamdan dolayı zamanla büyümesi, oksidasyonu veya topaklanması gibi istenmeyen problemlerin oluşumu da kontrol edilmelidir.

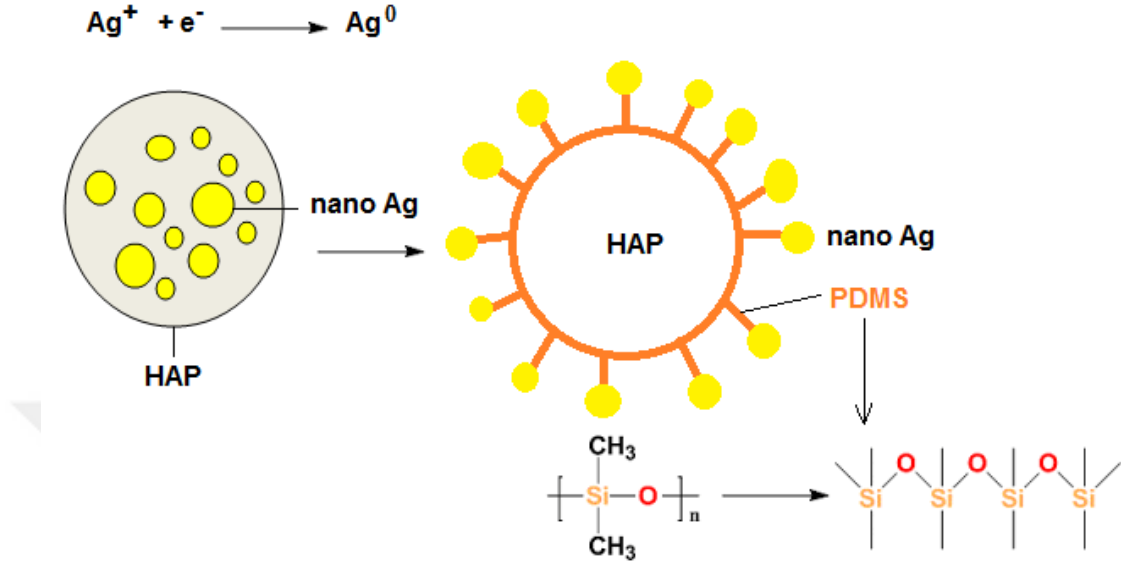
6.2. Nano Gümüş Kaplı Hidroksiapatit Üretimi

Hidroksiapatit yüzeylerin nano gümüş kaplama işlemi literatürden farklı olarak daha önce tarafımızca geliştirilen özel bir metot ile yapılmıştır [50]. Bu metot ile çok küçük boyutlu yaklaşık 1-30 nm aralığında nano gümüş partiküllerinin istenilen hidroksiapatit yüzeylere homojen ve kalıcı bir şekilde kaplanması yapılabilmektedir. Kaplama işleminin verimi oldukça yüksek olup bu işlem herhangi bir zararlı kimyasal da içermemektedir. Dolayısıyla düşük maliyetli ve çevre dostu bir üretim tekniği olmasıyla da ayrı bir öneme sahiptir. Yapılan ön inceleme ve analizlerde taşıyıcıya kaplanmış nano gümüş partiküllerinin su içerisinde dahi 1 yıl boyunca bozulmadığı görülmüştür. Aşağıda nano gümüş kaplama işlemi ve üretilen nano Ag-hidroksiapatit tozlarının yapısına ilişkin bazı genel bilgiler verilmiştir.

Kaplama işlemine, ilk aşamada gümüş iyonlarını ihtiva eden aseton gibi bir çözücü içerisine taşıyıcı hidroksiapatit partiküllerinin ilave edilerek karıştırılması ile başlanır. Kısa bir süre sonra, ortama indirgeyici ve stabilizatör olarak PDMS yüzey aktif ajanı ilave edilir. İyice karıştırılan karışımda gümüş iyonlarının indirgenmesi ile nano gümüş partikülleri oluşmaya başlar ve bu esnada çözeltinin rengi de yavaşça sarı kahverengine döner. Bir süre daha bekletilen karışımdan çöken nanogümüş-hidroksiapatit partikülleri bol miktarda aseton ile yıkanarak etüvde kurutulur.

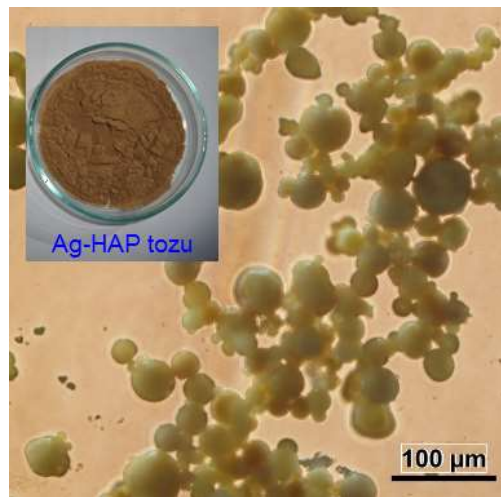
Şekil 6.1.'de nano gümüş partiküllerinin sentezi ve hidroksiapatit yüzeylerine kaplanması süreci şematik olarak gösterilmiştir. Gümüş iyonlarının çözelti ortamında bulunan PDMS katkı maddesinden elektron alarak indirgenmesi ile metal kristallerinin atomlardan büyüme süreci başlamaktadır. Ortamın gümüş iyonu derişimine ve kaplama süresine bağlı olarak 0-30 nm aralığında değişen farklı boyutlarda nano gümüş parçacıklarının büyümesi ve aynı zamanda da 1-50 mikron ölçekli HAP yüzeylerine kaplanması gerçekleşmektedir. Nano gümüş partikülleri yüzeye tamamen homojen ve stabil olacak şekilde bağlanmış bulunduğundan, burada

kullanılan indirgeme ajanı olan PDMS polimerinin aynı zamanda nano gümüşlerin yüzeye bağlanmasında da önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır.



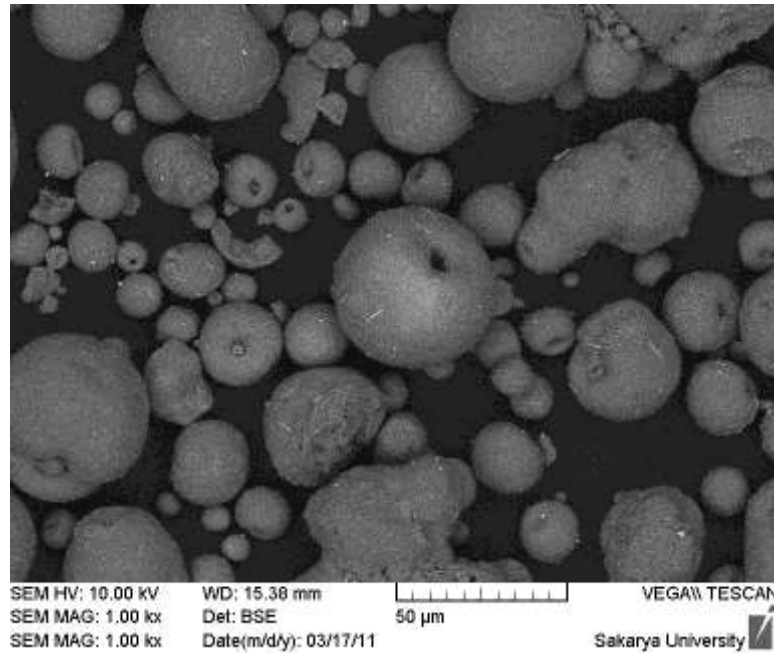
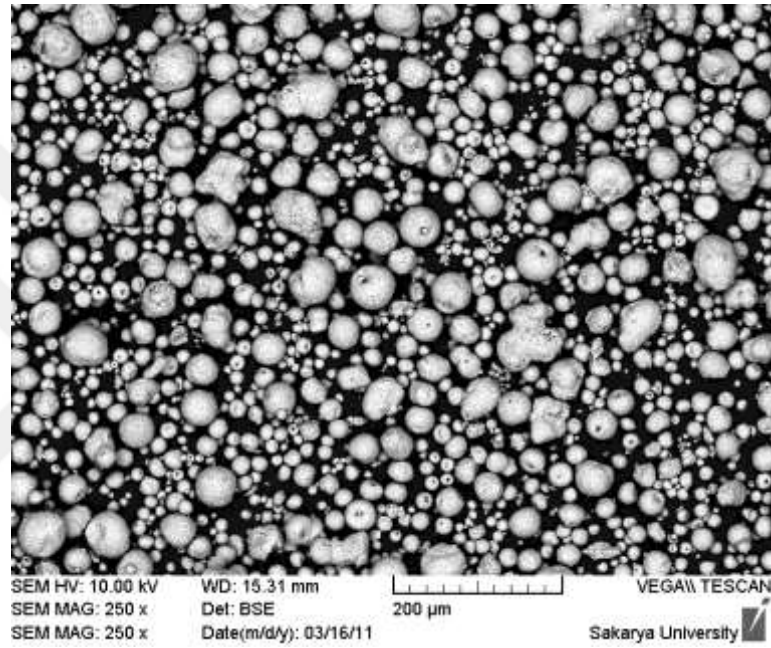
Şekil 6.1. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin yapısı

Üretilen nano Ag-HAP tozlarının fotoğrafı ve optik mikroskop görüntüsü Şekil 6.2.'de gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere, 1-50 mikron boyutlu ve beyaz renkli olan küresel HAP taneciklerinin nano Ag kaplanması sonrasında sarı renkli homojen bir toz pigment görünümüne büründüğü tespit edilmiştir.



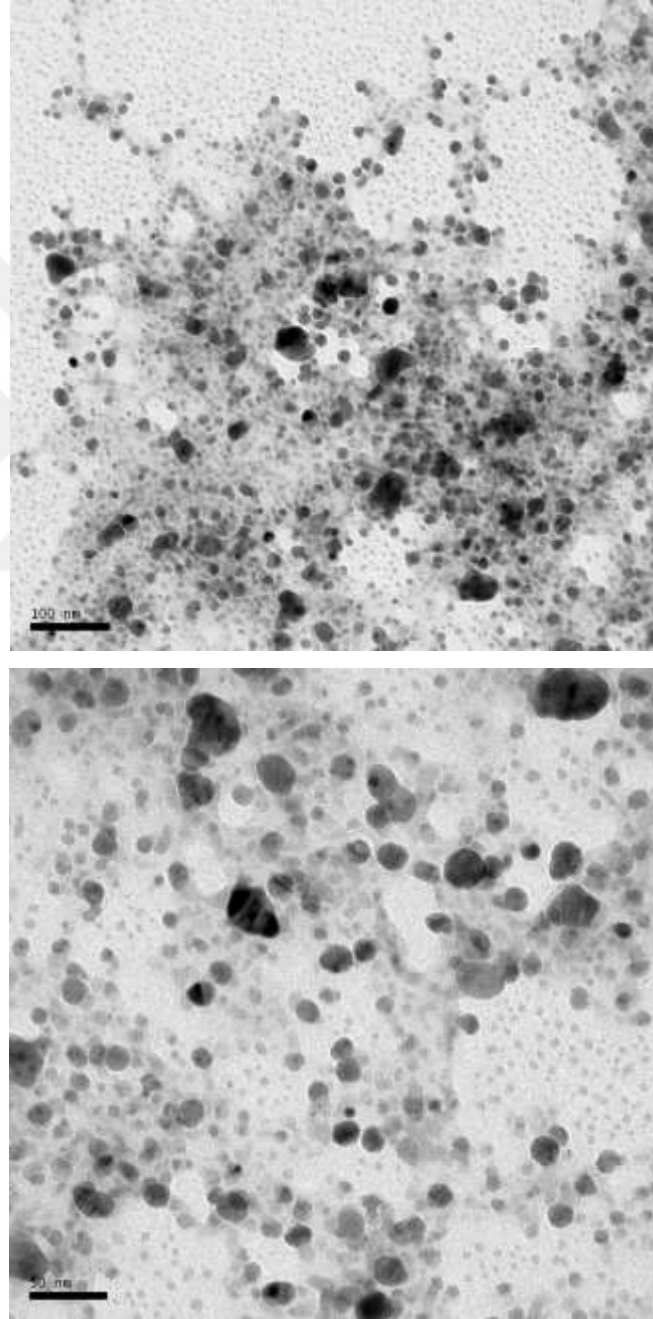
Şekil 6.2. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin optik mikroskop görüntüsü ve fotoğrafı

Üretilen nano Ag-HAP tozların SEM ve TEM analizleri neticesinde elde edilen görüntüleri aşağıda gösterilmiş olup Şekil 6.3., Şekil 6.4. ve Şekil 6.5.'de verilmiştir. Şekil 6.3.'de verilen farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri partiküllerin küresel şekillerini ve yüzey morfolojilerini ortaya koymaktadır. Yakın planda çekilen ve 50 mikron ölçekle verilen görüntüde HAP yüzeylerindeki parlak beyaz renkli noktalar kaplamaya ait nano gümüş tanecikleri olarak belirlendi.

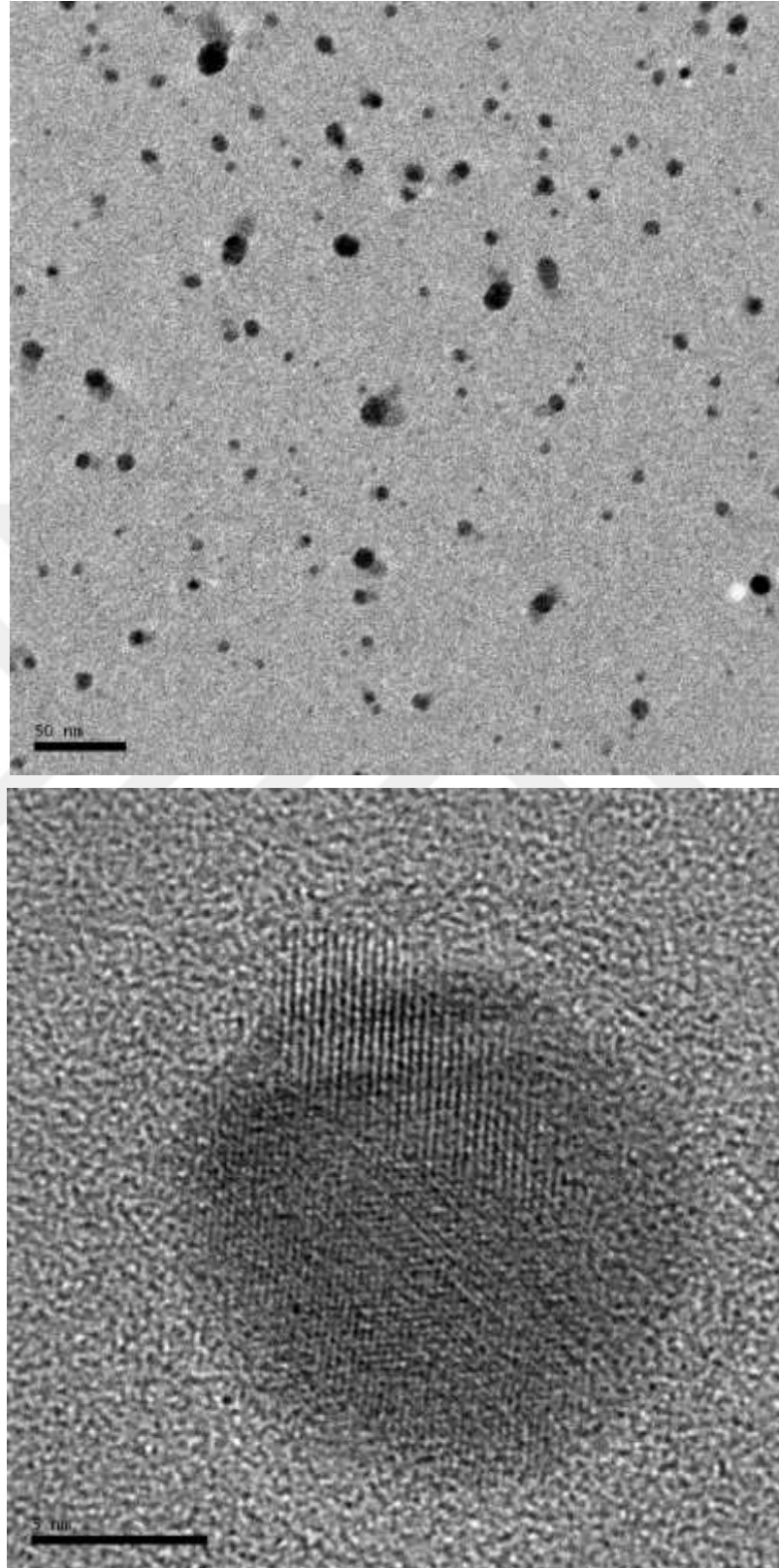


Şekil 6.3. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin SEM görüntüleri

Şekil 6.4. ve Şekil 6.5.'de verilen TEM görüntülerinde nano gümüş partiküllerinin 0-10 nm ve 10-30 nm olmak üzere farklı boyutlardan oluşan bir dağılım gösterdiği görülmektedir. HAP partiküllerinin yüzeyinde oluşan nano gümüş taneciklerinin ortalama 0-30 nm boyutlarında küresel ve oldukça homojen dağılmış kristalin partiküllerden oluştuğu sonucuna varılmıştır.

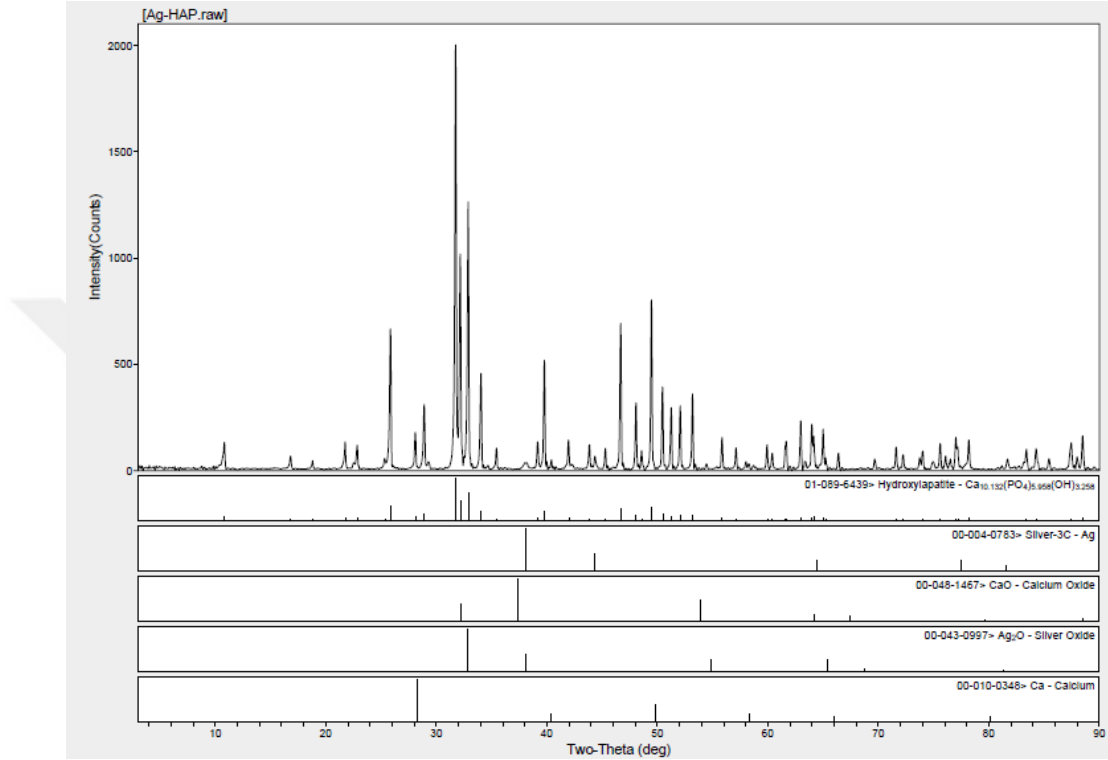


Şekil 6.4. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin TEM görüntüleri (50-100 nm)



Şekil 6.5. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin TEM görüntüleri (5-50 nm)

Şekil 6.6.'da nano Ag-HAP tozları için elde edilen X-ışını yansıma paterni verilmiştir. Nano gümüş tozlarına ait Ag(111) sinyali yaklaşık 38 derece civarında tespit edilmiştir.

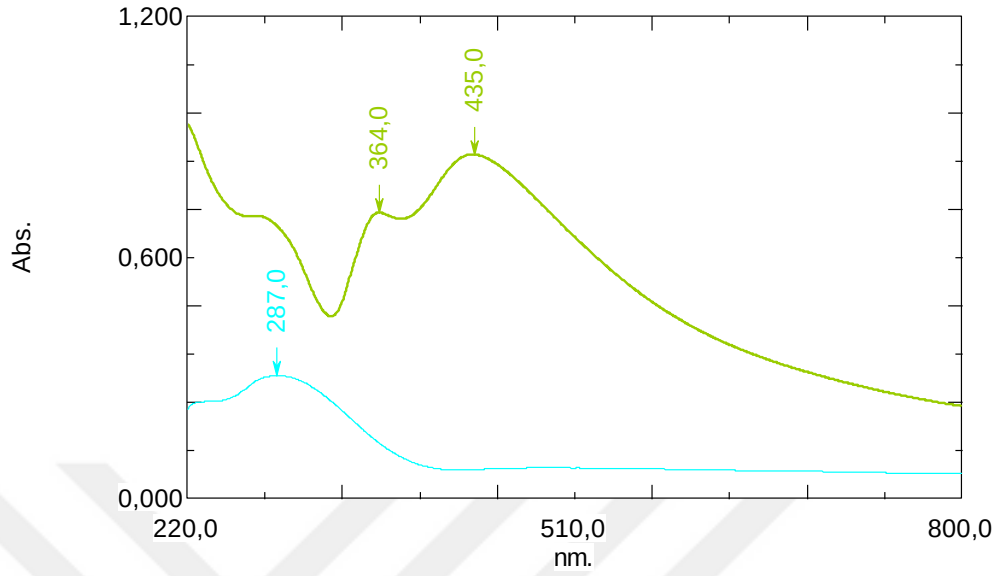


Şekil 6.6. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin XRD yansıma paterni

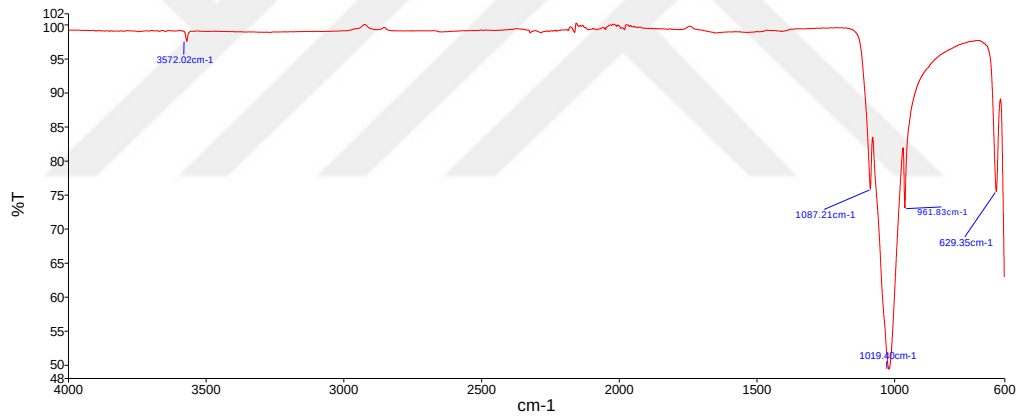
Şekil 6.7.'de HAP ve nano Ag-HAP tozlarına ait UV-görünür bölge optik emilim spektrumları verilmiştir. HAP numunesinin görünür bölgede ışık soğurması göstermediği fakat UV bölgede 287 nm de bir absorpsiyon piki verildiği görülmektedir. Nano gümüş kaplı HAP tozlarında ise nano Ag partiküllerine özgü plazmon absorpsiyon piklerinin ise 364 nm ve 435 nm de ışık emilimi gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu sinyallerin TEM görüntülerinde gözlenen farklı boyutlardaki küresel nano gümüş tozlarına ait olduğu ortaya konulmuştur.

Şekil 6.8. ve Şekil 6.9.'da ise sırasıyla HAP ve nano Ag-HAP tozlarının FT-IR analiz sonuçları görülmektedir. Nano gümüş kaplama sonrasında spektrumda önemli bir

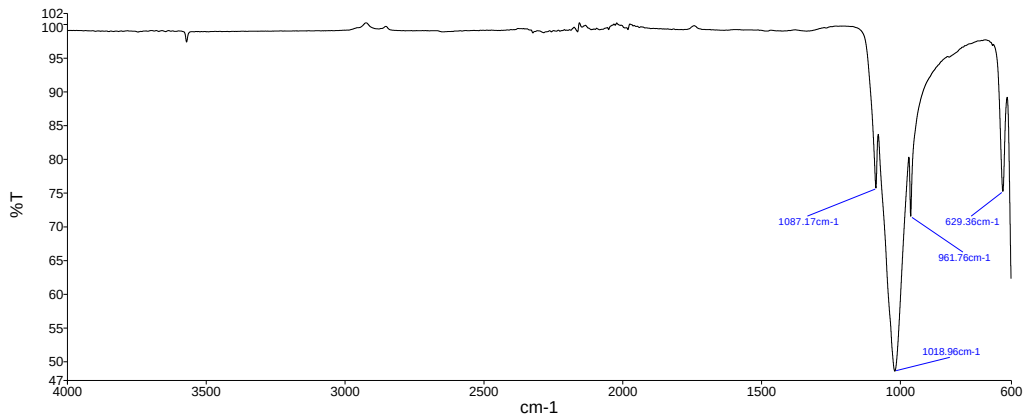
farklılık tespit edilmemiştir, sadece PO_4 grubuna ait titreşim frekansının 1119.4 cm^{-1} 'den 1118.6 cm^{-1} 'e kadar çok az miktarda kaydığı görülmüştür.



Şekil 6.7. HAP ($\lambda = 287 \text{ nm}$) ve nano gümüş kaplı HAP ($\lambda = 364 \text{ nm}$ ve 435 nm) partiküllerinin UV görünür bölge spektrumu



Şekil 6.8. HAP partiküllerinin ft-ir spektrumu



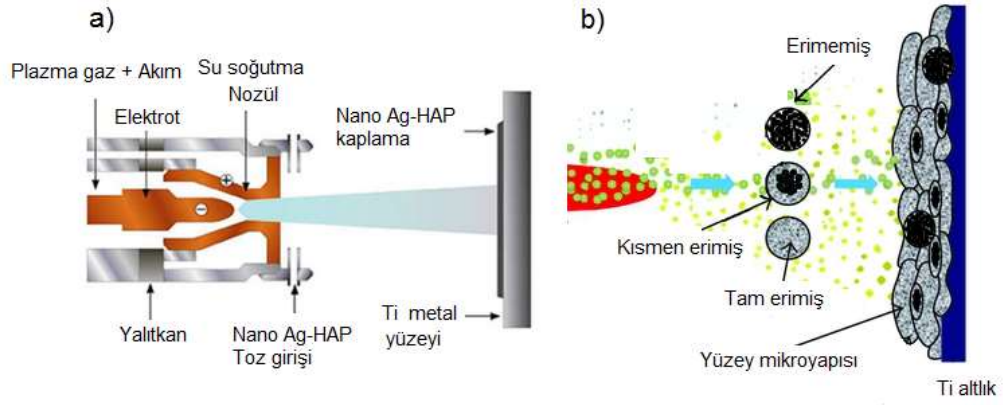
Şekil 6.9. Nano gümüş kaplı HAP partiküllerinin ft-ir spektrumu

6.3. Plazma Sprey ile Nano Ag-HAP Kaplı Ti İmplant Üretimi

Seramik malzemelerin metal yüzeyler üzerine kaplanması için plazma sprej teknolojisi kullanılmaktadır. Plazma sprej tekniğı, enerji transferi prensibine dayanmaktadır. Bu kaplama yöntemi ile metal korozyona, oksidasyona ve aşınmaya karşı daha dirençli olur.

Plazma sprej tekniğı ile yapılan kaplamalarda metallerin şekil değıştirme ve tokluk özellikleri değıışmemektedir. Her iki malzemenin tüm özellikleri yapılan kaplamada korunmaktadır. Plazma sprej’de güç kaynağı, gaz kaynağı, tabanca ve toz besleme üniteleri bulunmaktadır. Bu teknik çok yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilir. Sıcaklık 20.000 °K’nin üzerine bile çıkabilmektedir. Sıcaklık bu kadar yüksek olmasına rağmen altlık ısınmaz, sıcaklık altlık üzerinde herhangi bir değıışime yol açmaz. Toz, taşıyıcı gaz yardımı ile plazmaya sokulur ve ergiyik duruma gelir. Buradaki gaz debisi çok önemlidir. Eğer gaz debisi az ise toz plazma içerisine girmez. Fazla olduğunda da partiküller erimeyebilir.

Hazırlanan nano Ag-HAP tozları Ti plaka üzerine plazma sprej tekniğı kullanılarak kaplandı. Bu kaplama işlemi Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Termal Sprej Kaplama ve Araştırma Laboratuvarı’nda bulunan 3 MB tipi plazma tabancası ile yapıldı. Bu tabancanın 40 kW’lık güç ünitesi vardır. Kaplama işleminde primer gaz olarak argon, sekonder gaz olarak ise hidrojen kullanıldı. Kaplama işlemi atmosferik plazma püskürtme şeklinde yapıldı (Şekil 6.10). Elde edilen kaplamalar Şekil 6.11.’de gösterilmiştir.



Şekil 6.10. Nano Ag-HAP kaplanmış plazma



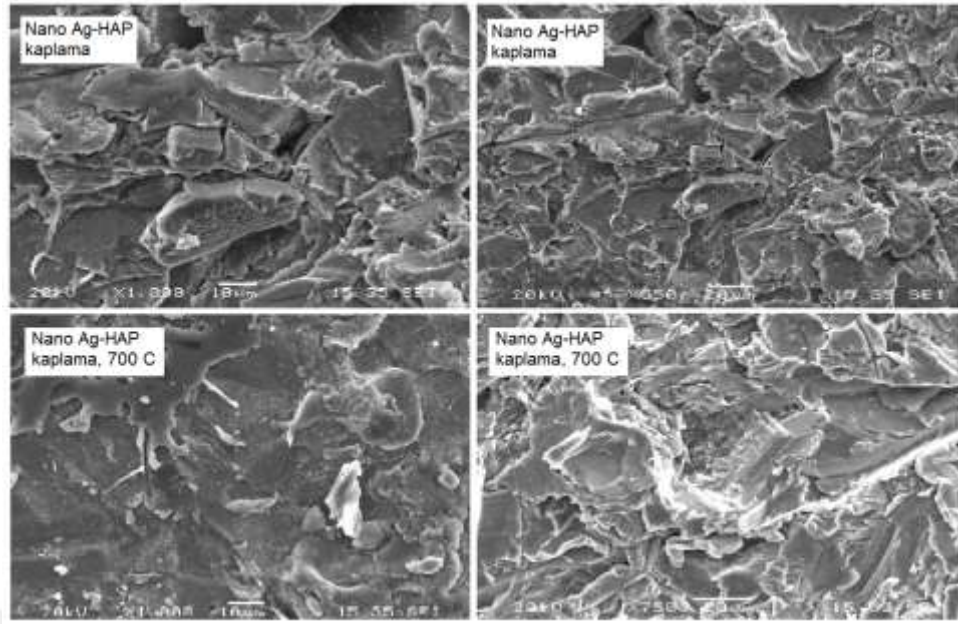
a. Hidroksiapatit



b. Nano Ag hidroksiapatit kaplı Ti yüzeyi

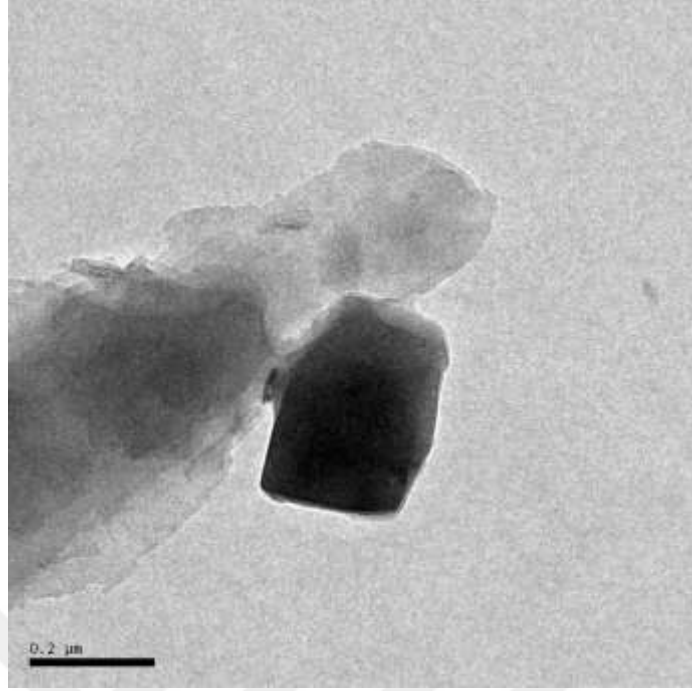
Şekil 6.11. HAP ve nano Ag-HAP kaplanmış Ti numuneler

Nano Ag-HAP plazma kaplamaların 700 °C ısıtma işlemi öncesi ve sonrası SEM analiz görüntüleri Şekil 6.12.'de verilmiştir. Kaplama yüzeylerine ait mikro yapının önemli ölçüde değiştiği ve yüzey morfolojisinin sürekli bir tabaka şeklini aldığı tespit edilmiştir.

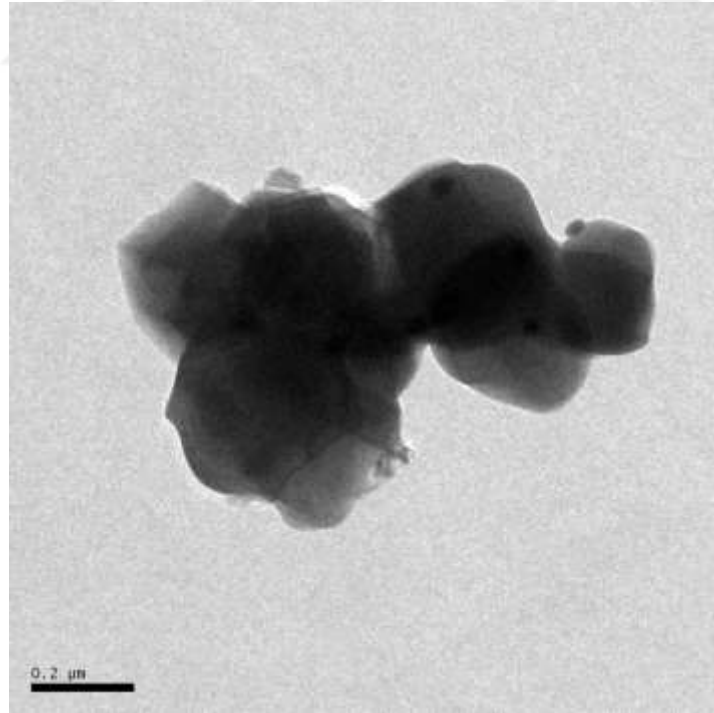


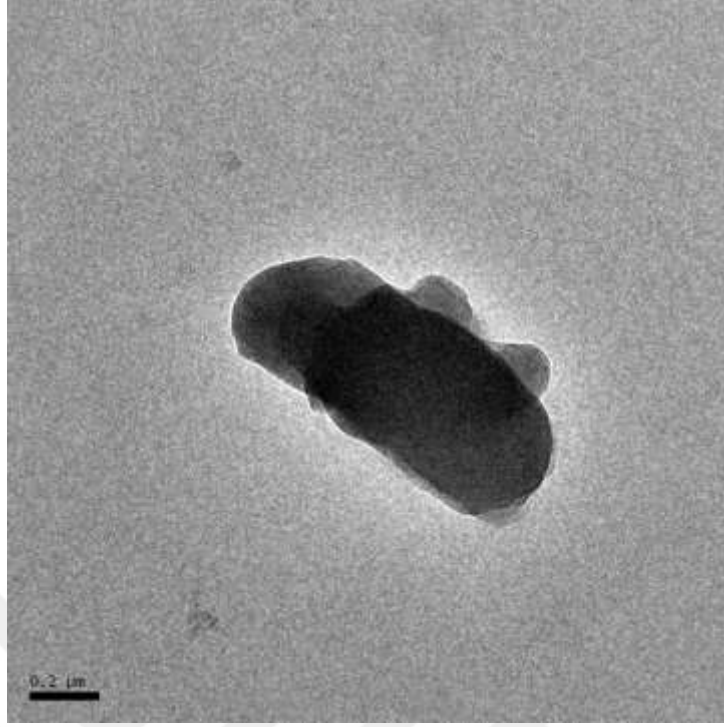
Şekil 6.12. Plazma spray tekniği ile Ti yüzeyine kaplanan nano Ag-HAP yüzeyinin 700 °C ısıtılma işlemi öncesi ve sonrası SEM görüntüleri

Plazma spray prosesi ile hazırlanan nano Ag-HAP kaplamaların 700 °C ısıtılma işlemi öncesi ve sonrası TEM mikroskop incelemesi yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçları Şekil 6.13. ve Şekil 6.14.'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde nano gümüş partiküllerinin plazma kaplama sırasında erimiş ve yeniden bloklar halinde katılmış olan HAP fazı içerisinde dağılmış olduğu görülmektedir. Kaplama öncesi sadece HAP partiküllerinin yüzeylerinde yoğun olarak görülen nano gümüş taneciklerinin kısmen erimiş ve tekrar katılmış olan kaplama tabakası içerisinde yeniden düzenlenerek yayıldığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, bu yüksek sıcaklık işlemi sırasında küresel olan nano Ag partikül şekillerinin kısmen deforme olduğu da görülmektedir. Nano gümüş tozlarının topaklanmaya uğramadığı ve homojen olacak şekilde kaplama içerisinde dağıldığı tespit edilmiştir.

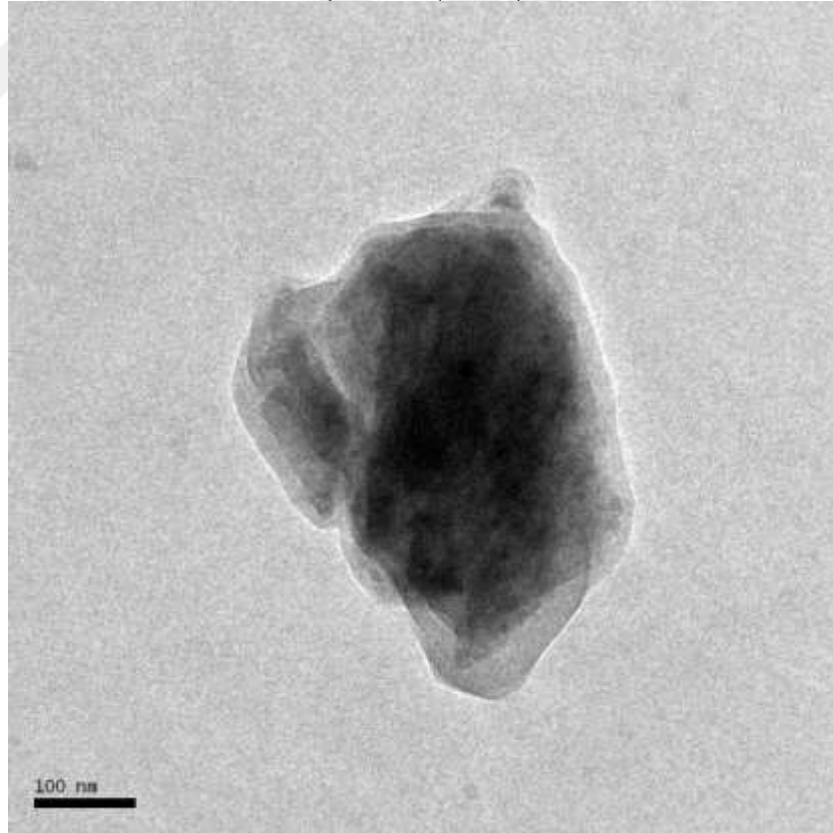


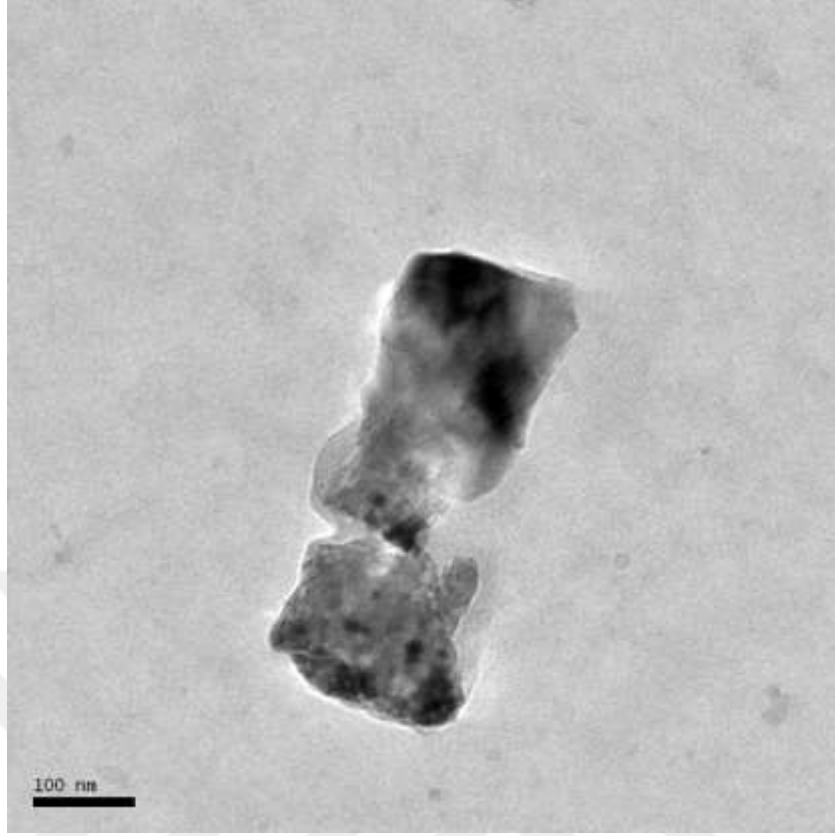
Şekil 6.13. Plazma prosesi ile Ti destek üzerinde üretilen nano gümüş katkılı HAP kaplamaya ait TEM görüntüleri



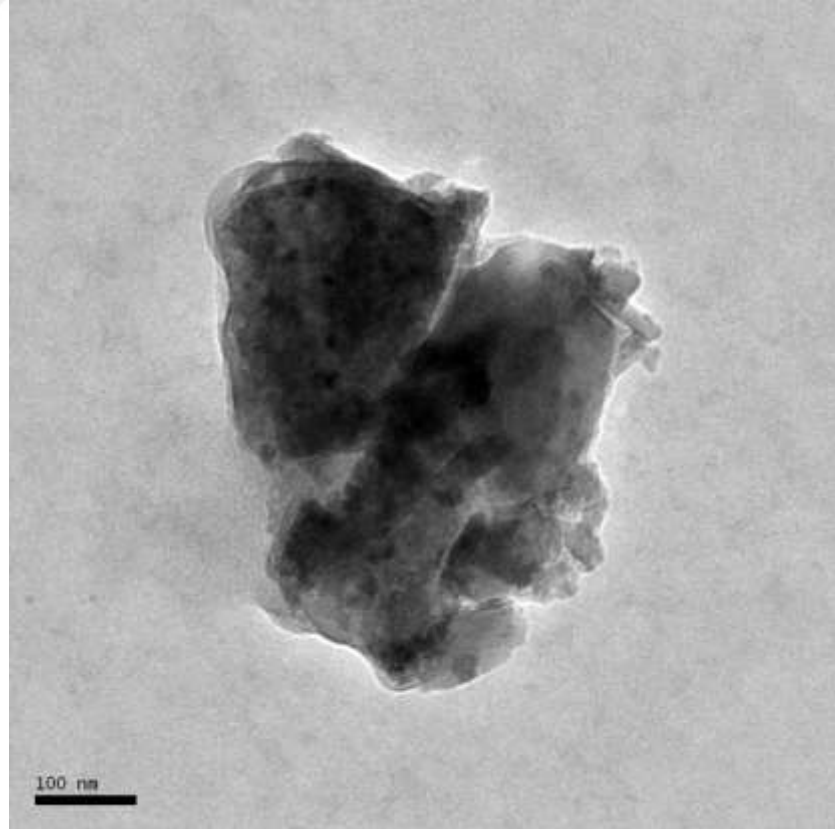


Şekil 6.13. (Devamı)



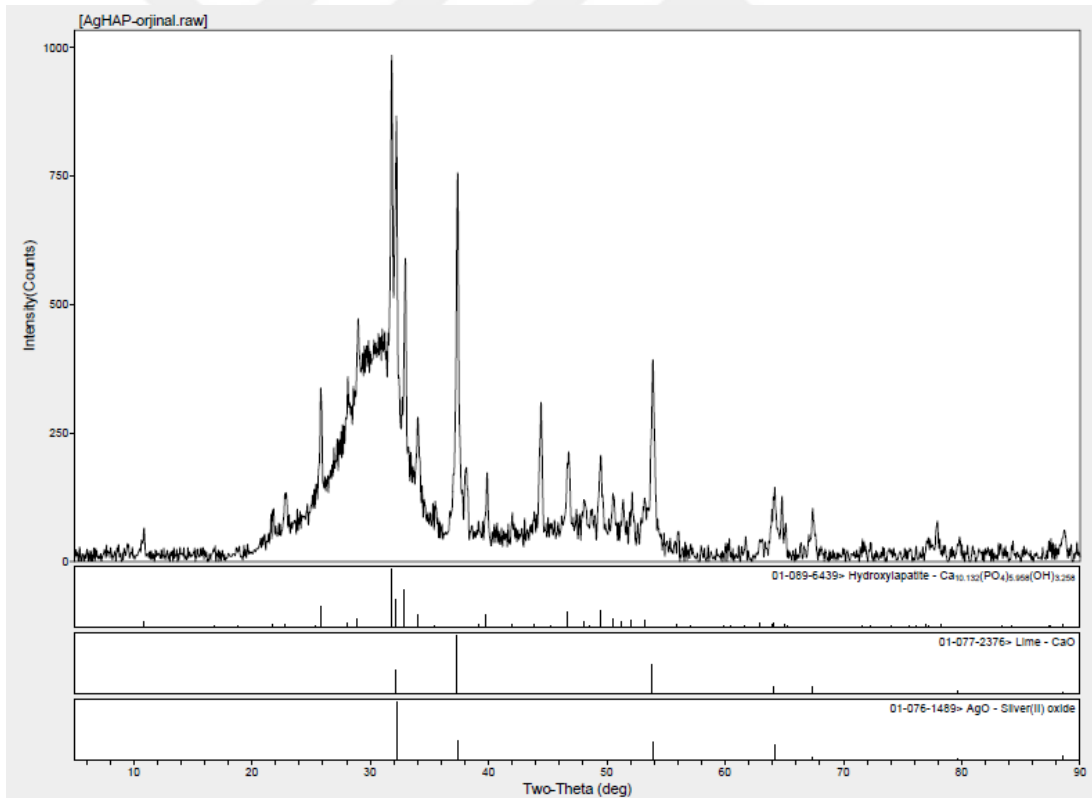


Şekil 6.14. Plazma prosesi ile Ti destek üzerinde üretilen ve 700 °C’de ısıt işlem sonrası nano gümüş katkı HAP kaplamaya ait TEM görüntüleri

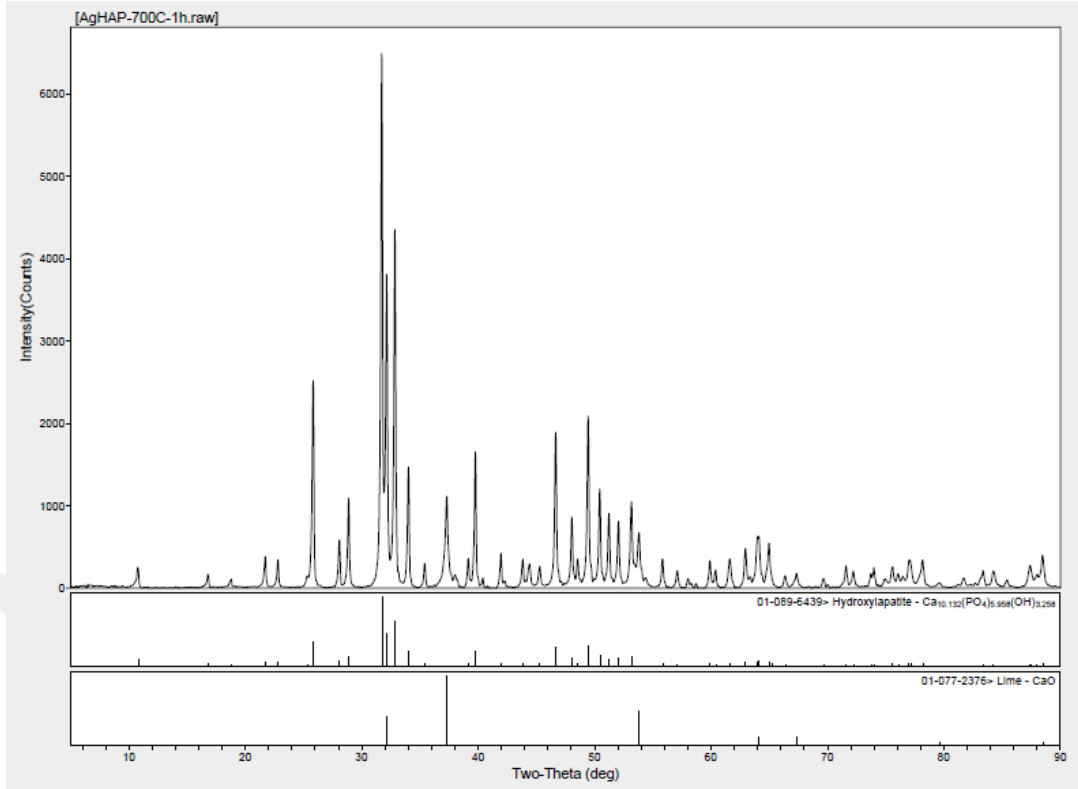


Şekil 6.14. (Devamı)

Hazırlanan kaplamaların yüzeylerinden alınan X-ışını yansıma paternleri aşağıda Şekil 6.15.'de verilmiştir. Plazma sonrasında alınan görüntüde yaklaşık 30 °C'de geniş bir sinyal tespit edilmiş olup plazma püskürtme sırasında oluşan amorf yapılar karşılık geldiği sonucuna varılmıştır. Elde edilen yansıma pikleri incelendiğinde beklenen kristal yapı olan HAP fazının muhafaza edildiği ve nano Ag partiküllerine ait 111 sinyali ise yaklaşık 38 °C'de bir pik olarak görüldüğü tespit edilmiştir. Daha sonrasında amorf yapıların giderilmesi için üretilen nano Ag-HAP kaplamaya 700 °C ısıtma işlemi uygulanmıştır. Bu işlem sonrasında Şekil 6.16.'da gösterilen kaplamaya ait x-ışını yansıma sinyallerinde gözlenen belirgin artış kristal yapının arttığına işaret etmektedir. Bu işlem sonrasında da nano Ag tozlarına ait olan Ag(111) sinyali de görülmüştür.

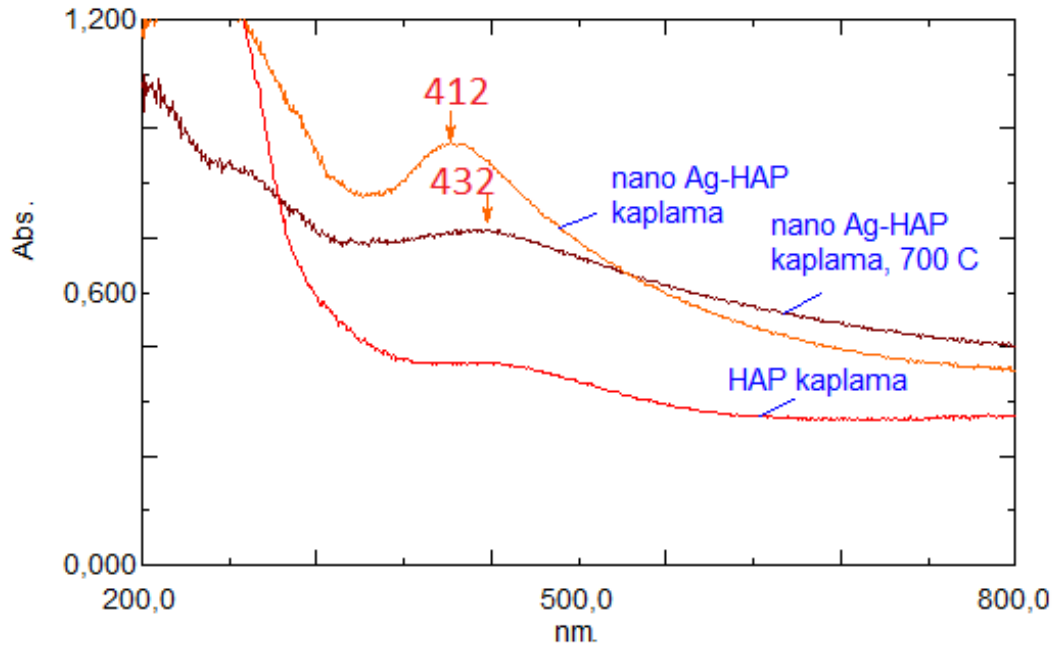


Şekil 6.15. Nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyin XRD yansıma paterni

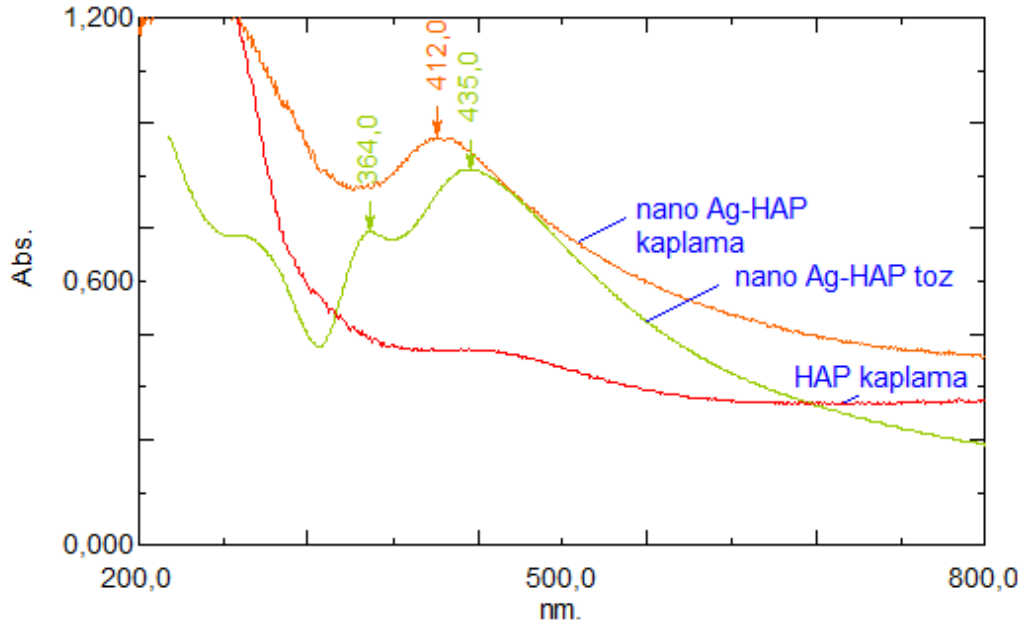


Şekil 6.16. Nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyin 700 °C’de ısıtılma sonrası XRD yansıma paterni

Nano Ag-HAP tozunun ve nano Ag-HAP kaplamalarının UV-görünür bölgedeki ışık soğurma özellikleri incelenmiş olup elde edilen bulgular, aşağıda Şekil 6.17. ve Şekil 6.18.’de kıyaslamalı olarak verilmiştir. Şekil 6.17.’de HAP kaplı Ti yüzeyi, nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyi ve 700 °C’de ısıtılma sonrası nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyinin ışık emilim spektrumları kıyaslanmıştır. Nano Ag tozlarından kaynaklı yüzey plazmon absorpsiyon bandı plazma sonrası 412 nm’de ve akabinde uygulanan 700 °C’lik ısıtılma sonrasında ise 432 nm’de ölçülmüştür. Şekil 6.18.’de ise plazma işlemi öncesinde kullanılan nano Ag-HAP tozu ile plazma sonrasında elde edilen nano Ag katkılı ve nano Ag katkısız HAP kaplamaların ışık emilim spektrumları verilmiştir. Nano gümüş tozları plazma işlemi öncesinde 435 nm ve 364 nm’de iki sinyal vermektedir. Plazma kaplama işlemi sonrasında ise 364 nm sinyali gözlenmezken 435 nm sinyali ise 412 nm olacak şekilde yüksek enerji bölgesine kaymıştır. Bu kaymanın, önce 0-40 nm aralığında olan nano Ag partikül boyutunun plazma sonrasında 0-20 nm aralığına kadar küçülmesinden kaynaklandığı şeklinde değerlendirilmiştir.



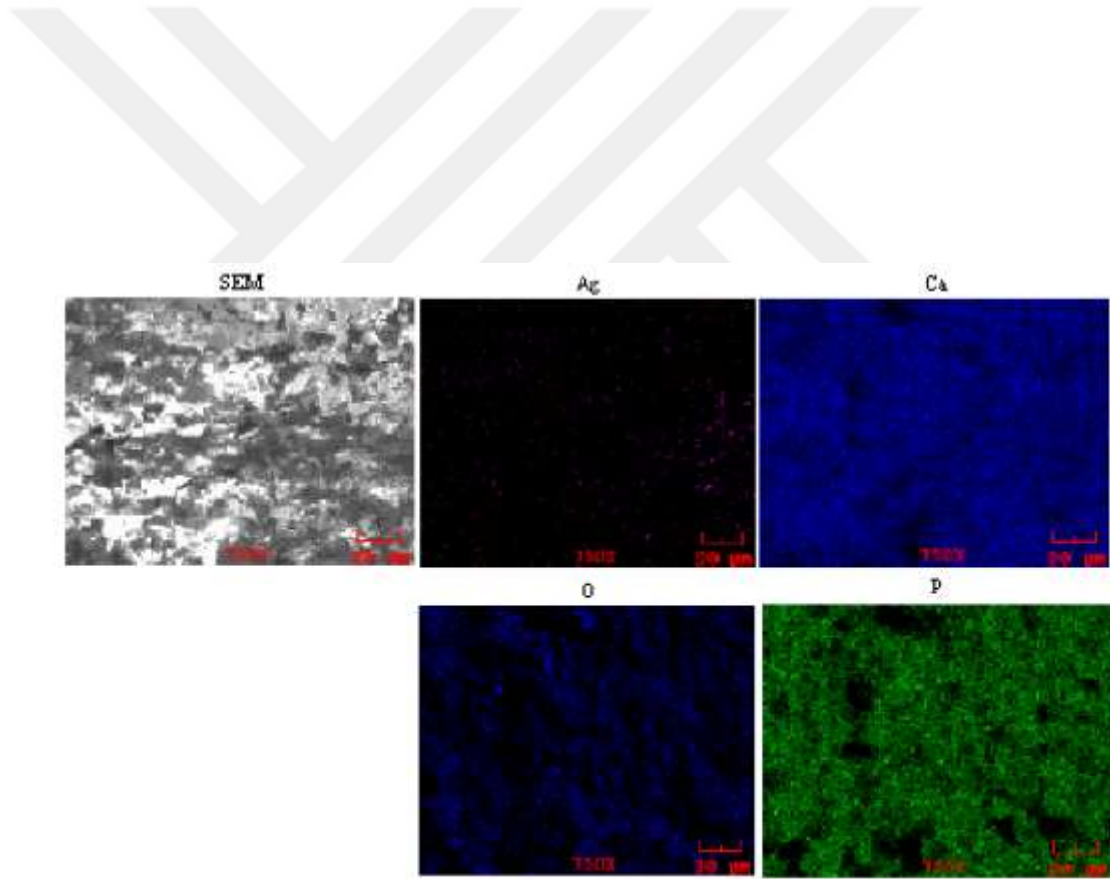
Şekil 6.17. HAP kaplı Ti yüzeyi, nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyi ve nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyinin 700 °C’de ısıtıl işlem sonrası UV görünür bölge spektrumu

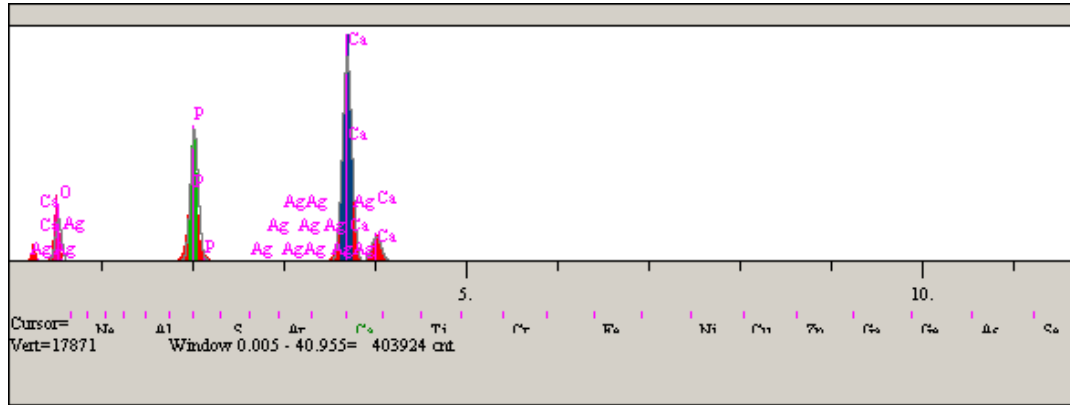


Şekil 6.18. HAP kaplı Ti yüzeyi, nano Ag-HAP kaplı toz ve nano Ag-HAP kaplı Ti yüzeyinin UV görünür bölge spektrumu

Üretilen nano Ag-HAP kaplamaların EDS yüzey analiz sonuçları ve ortamda bulunan elementlerin haritalama görüntüleri Şeki 6.19.’da verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde HAP kaplama yüzeyinin yaklaşık % 0,313 Ag içerdiği görülmüştür.

Haritalama görüntülerinden ise nano Ag partiküllerinin yüzeyde homojen dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.

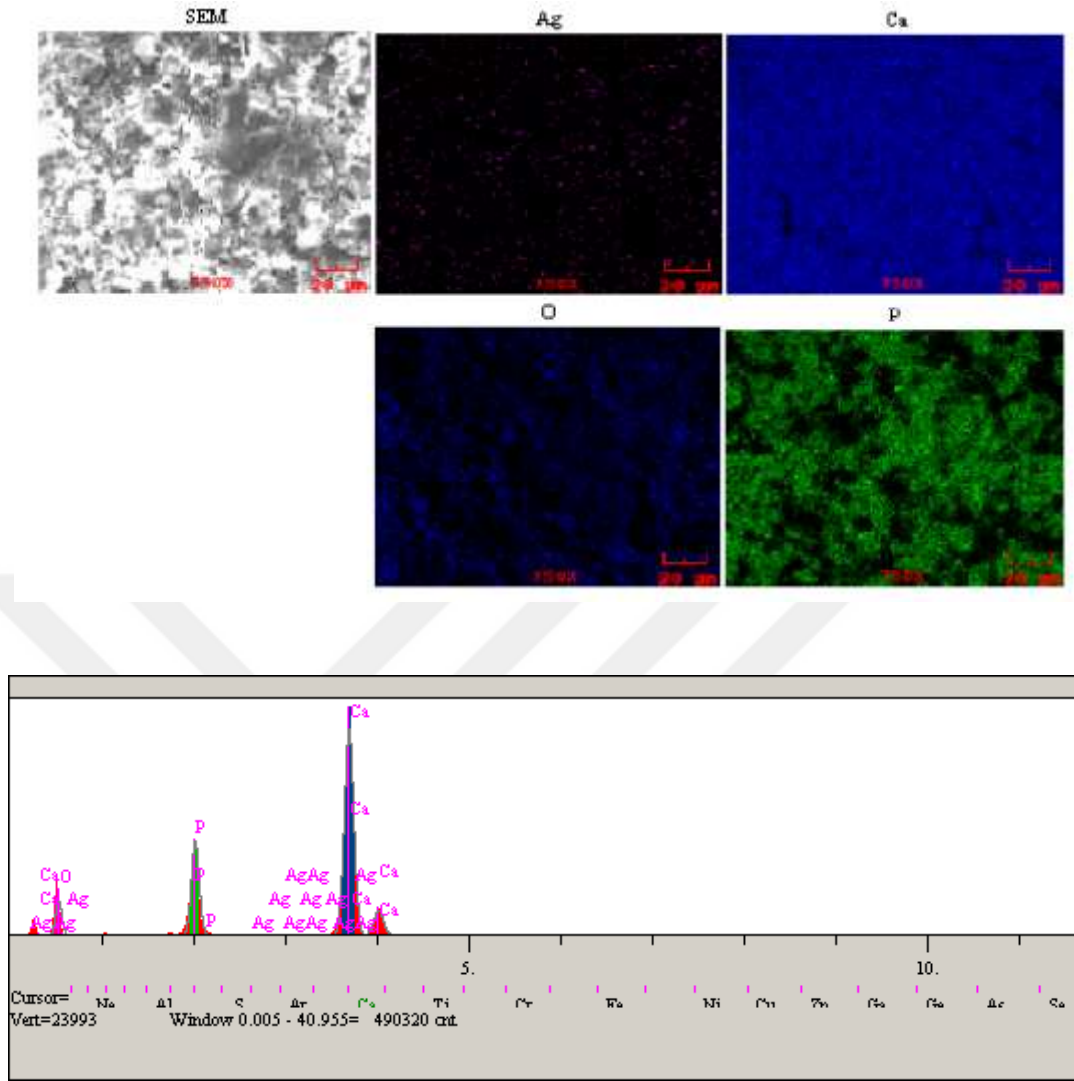




Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units
O	Ka	43,07	0,516	43,872	wt. %
P	Ka	167,64	1,019	17,604	wt. %
Ca	Ka	310,38	1,386	38,211	wt. %
Ag	La	1,56	0,098	0,313	wt. %
				100	wt. % Total

Şekil 6.19. Nano Ag-HAP kaplama yüzeyinin EDS elementel analiz ve haritalama sonuçları

Üretilen nano Ag-HAP kaplamalara 700 °C ısıtıl işlem uygulanmış ve sonrasında yukarıdakine benzer yüzey analiz işlemleri yapılmıştır. EDS yüzey analiz sonuçları ve yüzeyde bulunan elementlerin haritalama görüntüleri Şekil 6.20.'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde HAP kaplama yüzeyinin yaklaşık % 0,153 Ag içerdiği görülmüştür. Haritalama görüntülerinden ise nano Ag partiküllerinin yüzeyde homojen dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.



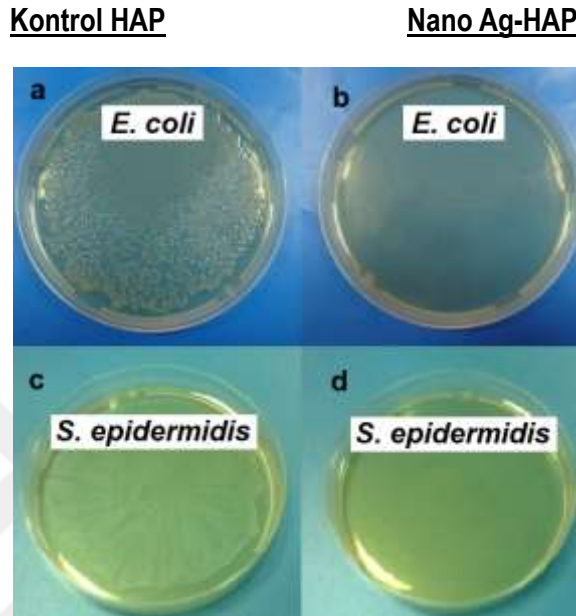
Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	Units
O	Ka	47,36	0,541	43,249	wt.%
P	Ka	159,78	0,994	14,132	wt.%
Ca	Ka	415,61	1,604	42,467	wt.%
Ag	La	1,00	0,079	0,153	wt.%
				100	wt.%
					Total

Şekil 6.20. Nano Ag-HAP kaplama yüzeyinin 700 °C ısıtma işlemi sonrası EDS elementel analiz ve haritalama sonuçları

6.4. Antibakteriyel Aktivite Testleri

Nano Ag-HAP kaplamaların *E. coli*, *S. aureus* ve *S. epidermidis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri ölçüldü. Şekil 6.21.'de HAP ve nano Ag-HAP kaplamaları

üzerinde inkübasyon sonrasında oluşan *E. coli* ve *S. epidermidis* kolonilerinin fotoğrafları görülmektedir. Bu fotoğraflardan, HAP kaplamanın bakteri üremesi için uygun bir ortam olduğu, nano Ag-HAP kaplamanın ise bakteri üremesini engellediği sonucu çıkmaktadır.



Şekil 6.21. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen mikroorganizma kolonileri a) *E. coli*, HAP (kontrol), b) *E. coli*, Nano Ag-HAP kaplama c) *S. epidermidis*, HAP (kontrol), d) *S. epidermidis*, Nano Ag-HAP kaplama

Tablo 6.1.'de Nano Ag-HAP tozlarının ve nano Ag-HAP kaplamasının *E. coli*, *S. aureus* ve *S. epidermidis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite değerleri verilmektedir. Gümüş katkısı olmayan HAP kaplama, bu üç bakteri türüne karşı antibakteriyel aktivite göstermez iken nano Ag-HAP tozları *E. coli*, *S. aureus* ve *S. epidermidis* bakterilerine karşı % 100 antibakteriyel aktivite göstermektedir. Plazma sprey tekniği ile kaplanmış olan nano Ag-HAP kaplama *E. coli* ve *S. epidermidis* bakterilerine karşı % 100 antibakteriyel aktivite göstermesine rağmen *S. aureus* mikroorganizmasına karşı antibakteriyel aktivite göstermemektedir. Bunun nedeni plazma sprey ile yapılan kaplama işleminde gümüş miktarının azalması olabilir.

Tablo 6.1. Nano Ag-HAP kaplamaların antibakteriyel aktivite sonuçları

% R: Antibakteriyel Etki				
Bakteri	Hidroksiapatit kaplama (kontrol)	(HAP), Nano Ag-HAP toz (% 0,24 Ag)	Nano Ag-HAP kaplama (% 0,24 Ag)	

<i>E. coli</i>	0	100	100
<i>S. aureus</i>	0	100	0
<i>S. epidermidis</i>	0	100	100

Nano Ag-HAP kaplamalara 700 °C ısıtma işlemi uygulanmasından sonra elde edilen kaplamaların antibakteriyel aktivite ölçüm değerleri, HAP kaplama ve nano Ag-HAP kaplama antibakteriyel aktivite ölçüm değerleri ile karşılaştırmalı olarak Tablo 6.2.'de verilmiştir. 700 °C ısıtma işlemi sonrası elde edilen kaplama, *E. coli* bakterisine karşı % 100 antibakteriyel aktivite göstermeye devam etmiştir.

Tablo 6.2. Nano Ag-HAP (700 °C) kaplamaların antibakteriyel aktivite sonuçları

Bakteri	% R: Antibakteriyel Etki		
	Hidroksiapatit (HAP), kaplama (kontrol)	Nano Ag-HAP kaplama (% 0,24 Ag)	Nano Ag-HAP kaplama (700 °C) (% 0,24 Ag)
<i>E. coli</i>	0	100	100
<i>S. aureus</i>	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	0	100	-

BÖLÜM 7. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Nano malzemelerin laboratuvar ortamında sentezlenmesine ve endüstriyel ölçekli olarak üretimlerine imkan sağlayan yeni tekniklerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Nano partiküllerin sentezinden başlayarak son kullanım alanına kadar sistematik ve hassas çalışmaların yapılması gerekmektedir. Kimyasal sentez ve analiz aşamalarını içeren bilimsel çalışmalar üretilecek olan partiküllerin kimyasal bileşimine ve malzeme türüne göre farklılıklar gösterebilmektedir.

Partiküllerin ve kullanılacak olan başlangıç malzemelerinin insan sağlığına, canlı yaşamına ve çevreye karşı zararlı olup olmadığı konusunda ön araştırmaların yapılması önerilmektedir. Gerekli hallerde temiz oda koşulları sağlanmalı, tehlikeli ve zehirli olabilecek metallerle çalışılırken nano tozların solunmamasına dikkat edilerek maske kullanılmalı ve temas edilmemesine özen gösterilmelidir. Aynı zamanda yüksek yüzey alanları nedeniyle hızlı ekzotermik reaksiyonlar verebilmektedirler. Bu gibi hallerde ise aşırı gaz çıkışına, basınç oluşumuna ve patlamalara karşı dikkatli çalışmalar yapılmalıdır.

Nano toz üretiminde kullanılan metotlar genel olarak,

1. Aşağıdan yukarı (atom veya moleküllerin kimyasal sentez, kristalizasyon, hidrotermal sentez, elektrokimyasal, fotokimyasal proses aşamalarında kontrollü olarak birleşmesi ile nano toz üretimi),
2. Yukarıdan aşağı (büyük makroskopik bir kütlenin mekanik olarak öğütülmesi veya kimyasal, lazer, elektron tabancası, ultrasonik enerji ile aşındırılması şeklinde yapılan nano toz üretimi) olmak üzere iki ana grupta toplanabilir.

Buna ek olarak nano toz sentezi için uygulanan yöntemin bulunduğu faz esas alınarak bir sınıflandırma yapılacaktır.

1. katı fazı,
2. sıvı fazı,
3. gaz fazı,
4. plazma fazı

üretim teknikleri olarak gruplandırmak mümkündür.

Bu üretim yöntemlerinden çözelti ortamında kimyasal çöktürme, sıvı fazda yapılan ve en çok tercih edilen metottur. Bu yöntemin pratik olması, vakum veya inert gaz ortamı gerektirmemesi, düşük maliyetli olması ve yüksek verimlerin mümkün olması önemli parametrelerdir. Ayrıca ortama ilave bileşenlerin istenilen oranlarda katılmasına imkan sağladığından, özellikle kompozit, bimetalik ve diğer çok bileşenli nano yapıların üretimine imkan sağlar. Diğer yaygın metotlar ise daha yüksek sıcaklıklar ve kontrollü vakum ortamı gerektiren buhar fazda uygulanan CVD ve PVD esaslı nano toz üretim teknikleridir.

Nano toz üretiminde kullanılacak yöntem malzeme türüne ve sağladığı avantajlara göre seçilmelidir. İdeal olarak, yüksek saflıkta, mümkün olduğunca homojen ve partikül boyut dağılımı dar olan numunelerin yüksek verimlerle üretilmesi istenmektedir. Nano tozların yüzey enerjileri ve reaksiyon eğilimleri yüksek olduğundan dış şartlara karşı duyarlı olabilmektedirler. Bu gibi durumlarda nano tozların kararlı olması, raf ömrünün uzun olması ve bozulmaya uğramadan saklanabilmesi kritik önem taşımaktadır.

Bu çalışmada biyomedikal malzeme ve implant uygulamalarında yaygın olarak kullanılan hidroksiapatit tozlarının nano gümüş katkılandırılması yapılmış ve sonrasında ise plazma sprey prosesi ile Ti esaslı destek yüzeyler üzerine kaplanması süreci incelenmiştir. Deneysel çalışmalarımız, başlıca üç aşamadan oluşmaktadır.

Bunlar işlem sırasına göre:

1. Hidroksiapatit tozlarının nano gümüş ile kaplanması sonucunda Nano Ag-HAP üretimi ve karakterizasyonu,
2. Nano Ag-HAP tozlarının plazma sprej tekniği ile Ti üzerine kaplanması ve karakterizasyonu,
3. Ti plaka üzerinde üretilen Ag-HAP kaplamaların *E. coli*, *S. epidermidis* ve *S. aureus* mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel etkinliğinin ölçülmesi şeklindedir.

Yapılan deneysel çalışmaların sonuçları bir önceki bölümde ortaya konulmuş olup elde edilen önemli bulgular aşağıda kısaca özet olarak verilmiştir.

1. Nano Ag-HAP tozunun üretimi 1-1000 gr aralığında yapılabilmektedir. Eş zamanlı reaksiyonlar veya daha büyük reaktörler ile bu miktarın 1-10 kg ölçeğine yükseltilmesi mümkündür.
2. Nano Ag-HAP tozunun ağırlıkça % 0,24 Ag içerdiği, nano gümüş partiküllerinin küresel kristaller şeklinde ve boyutlarının ise ortalama 0-30 nm aralığında olduğu görülmüştür.
3. Nano Ag-HAP tozu üzerindeki nano gümüş partikülleri yüzeye sabitlenmiş olup yüzeyden yıkanarak veya koparak ayrıldıkları tespit edilmemiştir. Normal ortam şartlarında uzun süreli olarak 1-5 yıl kadar bozulmadan saklanabilmektedir.
4. Nano Ag-HAP tozu plazma sprej tekniği ile başarılı bir şekilde Ti destekler üzerine kaplanabilmiştir.
5. Üretilen nano Ag-HAP/Ti parçalarında HAP-Ti arayüzeyinde kaplamanın yapışma dayanımının iyi olduğu gözlemlendi.
6. Üretilen nano Ag-HAP/Ti parçalarında parça yüzeyinde nano gümüş partiküllerinin varlığını teyit eden sarı renk ve buna bağlı plazmon absorpsiyon sinyali 412 nm olarak ölçüldü.
7. Nano gümüş plazmon absorpsiyon sinyali plazma sprej öncesi 435 nm'de ve beraberinde daha zayıf olarak 364 nm'de görülmüştür. Plazma işlemi

sonrası ise üretilen kaplama yüzeyinde sadece 412 nm ve sonrasında uygulanan 700 °C ısıtıl işleminden sonra ise 432 nm olarak ölçülmüştür.

8. Nano gümüş partiküllerinin bazı şekilsel deformasyonlara uğradığı ve belirli oranda oksidasyona uğramış olabileceği öngörülmekle birlikte genel olarak plazma sprey şartlarına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.
9. Kplama yüzeyinden alınan numunelerin TEM analizlerinde belirgin şekilde daha az yoğun miktarda gümüş tanecikleri görüntülenmiştir. Bu durumun, beklendiği üzere sadece HAP partiküllerinin yüzeylerinde olan gümüş metali taneciklerinin plazma işlemi esnasında kısmen erimiş olan HAP fazı içerisinde dağılmasından kaynaklandığı şeklinde değerlendirilmiştir.
10. Üretilen nano Ag-HAP/Ti parçaların yüzeyindeki nano Ag-HAP kaplamaların *E. coli* ve *S. epidermidis* karşısında % 100 antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Salerno, M., Landoni, P., Verganti, R., Designing foresight studies for nanoscience and nanotechnology (NST) future developments, Technological Forecasting & Social Change, 75:1202-1223, 2008.
- [2] Logothetidis, S., Nanotechnology: Principles and Applications, 2012.
- [3] Miyazaki, K., Islam, N., Nanotechnology systems of innovation-An analysis of industry and academia research activities, Technovation, 27:661-675, 2007.
- [4] Mamalis, A.G., Recent advances in nanotechnology, Journal of Materials Processing Technology, 181:52-58, 2007.
- [5] Mamalis, A.G., Vogtlander, L.O.G., Markopoulos, A., Nanotechnology and nanostructured materials: trends in carbon nanotubes, Precision Engineering, 28:16-30, 2004.
- [6] Soo-Hwan, K., Lee, H.S., Ryu, D.S., Choi, S.J., Lee, D.S., Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, Korean J. Microbiol. Biotechnol., Vol. 39, No. 1, 77-85, 2011.
- [7] SonDI, I., Salopek-SonDI, B., Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria, Journal of colloid and Interface Science, 275:177-182, 2004.
- [8] Singh, A., Hydroxyapatite, a biomaterial: Its chemical synthesis, characterization and study of biocompatibility prepared from shell of garden snail, *Helix aspersa*, Indian Academy of Sciences, Vol. 35, No. 6, 1031-1038, 2012.
- [9] Nathanael, A., J., Mangalaraj, D., Hong, S., I., Biocompatibility and antimicrobial activity of hydroxyapatite / titania bio-nanocomposite, National Research Foundation, 0077110, 2009.
- [10] Evcin, A., Kepekçi, D., B., Barut, İ., Hidroksiapatit tozlarının plazma sprey yöntemiyle paslanmaz çelik üzerine kaplanması, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Karabük, 13-15 Mayıs 2009.

- [11] Cengiz, B., Hidroksiapatit Nanoparçacıklarının Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007.
- [12] Diaz, M., Barba, F., Miranda, M., Guitian, F., Torrecillas, R., Moya, S., J., Synthesis and Antimicrobial Activity of a Silver-Hydroxyapatite, Nanocomposite, Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanomaterials, Article ID 498505, 6 pages, 2009.
- [13] Erdoğan, E., Fonksiyonel Nano Metal ve Komplekslerin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, Mayıs 2011.
- [14] Evis, Z., Çeşitli İyonlar Eklenmiş Nano – Hidroksiapatitler: Üretim Yöntemleri, İç Yapı, Mekanik ve Biyouyumluluk Özellikleri Yönlerinden İncelenmesi, International Journal of Research and Development, Vol.3, No.1, Ankara, January 2011.
- [15] Güven, Ş., Y., Ortopedik Malzemelerin Biyouyumlulukları ve Mekanik Özelliklerine Göre Seçimi, 2. Ulusal Tasarım İmalat ve Analiz Kongresi, Balıkesir, 11-12 Kasım, 2010.
- [16] Korkusuz, F., Korkusuz, P., Kalsiyum Hidroksiapatit Seramiklerin Ortopedide Kullanımı, Acta Ortop Traumatol Turc, 31:63-67, 1997.
- [17] Pasinli, A., Aksoy, S., R., Yapay Kemik Uygulamaları İçin Hidroksiapatit, Biyoteknoloji Elektronik Dergisi, Cilt: 1, No: 1, (41-51), 2010.
- [18] Çelik, K., EDTA Şelat Dekompozisyonu Yöntemi ile Gümüş Katkılı Hidroksiapatit Üretimi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisan Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Haziran 2011.
- [19] Ergün, Y., Başpınar, M., S., Taktak, Ş., Evcin, A., Titanyum Yüzeyine Sol-Jel Yöntemiyle Hidroksiapatit Kaplaması, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi, Özel Sayı, 15-21.
- [20] Hart, T., Shears, P., Tıp Mikrobiyolojisi Renkli Atlas, Özlem Anğ, Mine Anğ Küçükler, O.Şadi Yenen (Editörler), Nobel Tıp Kitabevleri, sf.71, İstanbul, 2001 (10).
- [21] Gülay, Z., Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller, ANKEM Derg, 17, (No. 3): 192-204, 2003.
- [22] Farsak, O.F., Hastane enfeksiyonuna neden olan Gram-negatif bakterilerde direnç paterni ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz tayini, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, 2005.

- [23] Arısoy, E. S., Gram-Negatif hastane enfeksiyonlarının sağaltımı, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, çocuk sağlığı ve hastalıkları ana bilim dalı, çocuk enfeksiyon hastalıkları bilim dalı, J Pediatr Inf 2011; 5 (Suppl 1):152-6.
- [24] Ağaçfıdan, A., Anđ, Ö., Bal, Ç., Berkiten, R., Büyükbaba B.Ö., Bozkaya, E., Bütet, E., Erturan, Z., Gürlar, N., Anđ K.M., Öner, Y.A., Töreci, K., uzun, M., Yeğenoğlu, Y., Tıbbi Mikrobiyoloji 2, Emel Bozkaya (editör), Nobel Tıp Kitabevleri, sf. 1-97, İstanbul, 2005.
- [25] Yılmaz B., G., Kutlu, H., Arslan, A., Memikoğlu, O., Yeni Bir Antibakteriyel Ajan: Daptomisin, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 63(3), 2010.
- [26] Bilgehan, H., Klinik Mikrobiyoloji: Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, sf. 4-206, İzmir, 1992.
- [27] Bilge, F., Karaboz, İ., İzmir’de Piyasada Açıkta Satışa Sunulan Bazı Gıdaların *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksinleri Bakımından İncelenmesi, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, Cilt: 03, Sayı: 06, Sayfa: 6, 2005.
- [28] Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., Lindenmann, J., Tıbbi Mikrobiyoloji, 8.Baskı, Anđ K.M., Tümbay, E., Anđ Ö., (editörler), Nobel Tıp Kitapevleri, sf.153, İstanbul, 1997.
- [29] <http://www.bacteriainphotos.com/Staphylococcus%20aureus%20electron%20microscopy.html>, Erişim Tarihi: 12.04.2016.
- [30] Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., Clark, D.P., Biology of Microorganisms, Twelfth edition, Pearson Benjamin Cummings, pp. 66-809, San Francisco, 2009.
- [31] Gülbandılar, A., Kütahya yöresinde burun mukozasındaki *S. aureus* taşıyıcılığının ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi, Sayı 18, ISSN – 1302 3055, Nisan 2009.
- [32] Hoş, A., Antibakteriyel Nano Gümüş Katkılı Polimer Filmler, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [33] Macintosh, R.L., Functional analysis of the accumulation associated protein (Aap) of *Staphylococcus epidermidis*, A thesis submitted to the University of Manchester for the degree of Doctor of Philosophy in the Faculty of Life Sciences, 2010.
- [34] Boz, E.S., Toplum kaynaklı ve nozokomiyal deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilen *Staphylococcus aureus*’ların MLsb direnci ve antimikrobiyal duyarlılıkları, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı, Haydarpaşa numune eğitim ve araştırma hastanesi, Klinik mikrobiyoloji bölümü, İstanbul, 2009.

- [35] <http://staphylococcusepidermidis.org/>, Erişim Tarihi: 28.11.2014.
- [36] Biçer, A.T., Hastane izolatı *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif *Staphylococcus* suşlarında metisilin direncinin farklı yöntemlerle araştırılması, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilimdalı, Adana, 2009.
- [37] Cece, E., Melo, L., Kutsal, T., Cerca, N., *Staphylococcus epidermidis* biyofilmlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösteren bakteriyofajların izolasyon ve karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi, Kimya mühendisliği bölümü ve biyomühendislik anabilimdalı, UKMK 2012, İstanbul, 3-6 Eylül 2012.
- [38] Tanyel, E., Fışgın, N.T., Genç, H.S., Tülek, N., *Escherichia coli* bakteriyemisi olan olguların değerlendirilmesi, Klimik Dergisi, Cilt: 21, Sayı: 3, s:109-111, 2008.
- [39] Ekici, K., K rkoca, H., Sancak, Y.C., Atalan, E., Van ve yöresi içme sularında koliform ve *E. Coli* araştırılması, Uludağ Üniversitesi, J. Fac. Vet. Med., 2:21-25, 29, 2010.
- [40] Bilgin, Y., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus aureus* suşlarında çeşitli aminoglikozidlerin duyarlılıklarının araştırılması, Uzmanlık Tezi, Haseki eğitim ve araştırma hastanesi, enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji kliniği, İstanbul, 2006.
- [41] <http://www.bbc.com/news/health-13639241>, Erişim Tarihi: 12.04.2016.
- [42] Altuner, E.E., Nano kremlerin  retimi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, şubat 2013.
- [43]  zer, Y., Hv.İsth. Yzb., Nanobilim ve Nanoteknoloji:  lke Güvenliği / Etkinliği Açısından Doğru Modelin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, T.C. Kara Harp Okulu, Savunma Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2008.
- [44] Dios, A.S., Diaz-Garcia, M.E., Multifunctional nanoparticles: Analytical prospects, *Analytica Chimica Acta*, 666:1-22, 2010.
- [45] Faraji, A.H., Wipf, P., Nanoparticles in cellular drug delivery, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17:2950-2962, 2009.
- [46] Mai, L., Wang, D., Zhang, S., Xie, Y., Huang, C., Zhang, Z., Synthesis and Bactericidal Ability of Ag/TiO₂ Composite Films Deposited on Titanium Plate, *Applied Surface Science*, 257, 974-978, 2010.

- [47] Sygnatowicz, M., Keyshar, K., Tiwari, A., Antimicrobial Properties of Silver-doped Hydroxyapatite Nano-powders and Thin Films, Biological and Biomedical Materials, Vol. 62, No. 7, 65-70, July 2010.
- [48] Ruan, H., J., Fan, C., Zheng, X., Zhang, Y., Chen, Y., In vitro antibacterial and osteogenic properties of plasma sprayed silver-containing hydroxyapatite coating, Chinese Science Bulletin, vol. 54, no. 23, december 2009.
- [49] Chen, Y., Zheng, X., Xie, Y., Chuanxian, D., Ruan, H., Fan, C., Anti-bacterial and cytotoxic properties of plasma sprayed silver-containing HA coatings, J. Mater Sci, Mater Med, 19:3603-3609, 2008.
- [50] Olgun, U., Üstel, F., Antibacterial nano-silver coating, Patent başvuru No: PCT/TR2015/050102, 2015.
- [51] Olgun, U., Tunç, K., Özaslan, V., Preparation of antimicrobial polycaprolactone-silica composite films with nanosilver rods and triclosan using roll-milling method, Polymers for advanced technologies, DOI: 10.1002/pat.1524, February 2011.

ÖZGEÇMİŞ

Hülya Çetin 26 Aralık 1980'de Kocaeli'nde doğdu. 1991 yılında Kocatepe İlköğretim Okulundan, 1994 yılında İzmit Ortaokulundan, 1997 yılında Gazi Lisesinden, 2000 yılında Kocaeli Üniversitesi, Köseköy Meslek Yüksekokulu, Lastik teknolojisi bölümünden mezun oldu. 2002 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2006 yılında bitirdi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda 2011 yılında yüksek lisans eğitimine başladı. 22 Kasım 2000 yılında BASF Türk Kimya Sanayi Ticaret ve Ltd. Şti'nin Dilovasındaki tesisinde renk teknisyeni olarak çalışmaya başladı. 2003 yılında SAP programının Türkiye tesislerine kurulumu çalışmalarına katıldı. 2005 yılında akrilik dispersiyon üretimi yapan tesislerde üretim sorumlusu ve planlama uzmanı görevini devraldı. 2015 mart ayından beri BASF Türk Kimya Sanayi Ticaret ve Ltd. Şti Dilovası tesislerinde kalite kontrol laboratuvar şefi olarak çalışmaya devam etmektedir.