

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(DOKTORA TEZİ)

TiO₂ İNCE FİLMLERİ İLE KAPLANMIŞ
YÜZEYLERİN *Staphylococcus aureus*'a KARŞI
FOTOKATALİTİK BAKTERİSİDAL
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Hafize EFENDİLER

Biyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı Kodu: 401.05.00
Sunuş Tarihi: 29 / 12 / 2006

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail KARABOZ

Bornova-İZMİR

Hafize EFENDİLER tarafından DOKTORA TEZİ olarak sunulan geliştirilmiş “**TiO₂ İnce Filmleri İle Kaplanmış Yüzeylerin *Staphylococcus aureus*’a Karşı Fotokatalitik Bakterisidal Etkilerinin İncelenmesi**” başlıklı bu çalışma E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve .../.../2006 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı :

Raportör Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

ÖZET

TiO₂ İNCE FİLMLERİ İLE KAPLANMIŞ YÜZEYLERİN *Staphylococcus aureus*'a KARŞI FOTOKATALİTİK BAKTERİSİDAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

EFENDİLER, Hafize

Doktora Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. İsmail KARABOZ

Aralık 2006, 220 sayfa

Bu araştırmada, saf ve metal doplu TiO₂ ince filmlerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı fotokatalitik bakterisidal aktivitesini saptamak amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, TiO₂ ince filmleri sol jel daldırma yöntemi kullanılarak sodyum cam substratlar üzerine uygulanmıştır. TiO₂ ince filmlerinin hazırlanmasında kullanılan prekürsör solüsyonu, titanyum tetraizopropoksidin uygun miktarı, solvent olarak propanol ve katalist olarak nitrik asit kullanılarak hazırlanmıştır. Saf olmayan maddelerin TiO₂ tabakasına difüzyonunu engellemek amacıyla sodyum cam substratlar öncelikle ince bir silika tabakası ile kaplanmıştır. TiO₂ solü içerisinde farklı konsantrasyonlarda demir, bakır ve polietilen glikol (PEG 600) eklenerek filmlerin yüzey yapısı modifiye edilmiştir. Daldırarak kaplama ve 120°C'lik ön-fırınlama işlemi 3 kez tekrar edilmiş ve bunu takiben filmler 500°C'de fırınlanmıştır. Prekürsör

solüsyona Fe, Cu, ve PEG ilavesinin ince filmlerin yüzey yapısına ve fotokatalitik aktiviteye olan etkisi araştırılmıştır.

Filmlerin morfolojik yüzey yapısı ve kompozisyonu, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Taramalı Uç Mikroskobu (AFM) ve X-Işınları Kırınım Cihazı (XRD) kullanılarak incelenmiştir. Yapılan SEM ölçümleri sonucunda silikasız camlar üzerine kaplanan filmlerin homojen olmadıkları ve birçok yerlerinde çatlaklar içerdikleri buna karşın silika kaplı substratlar üzerine hazırlanan filmlerin homojen ve çatlaksız oldukları saptanmıştır. 500°C'lik ısısal işlemde sonra PEG eklenen filmler poröz yapıda olmuştur. Demir ve bakır ile yapılan doplama, dop edilmeyen TiO₂ örneklerinin düz yüzeyini poröz ve sünger-benzeri bir yapıya dönüştürmüştür. Örneklerin AFM ölçümlerinde homojen bir kümeleşme tespit edilmiştir. PEG içermeyen filmlerin pürüzlülük değerleri 15,579-71,725 nm arasında değişiklik göstermiş fakat PEG eklendiğinde bu değerler 0,5559 nm'ye kadar düşmüştür. XRD analizleri, 500°C'de fırınlanan bütün filmlerin anataz formda olduklarını göstermiştir.

Uzun dalga boylu UV ışığı (365 nm) ile ışınlanan TiO₂ ince filmlerinin antibakteriyel etkinliği, model olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P kullanılarak araştırılmıştır. Bakteriyel solüsyondan 50 µl alınarak TiO₂ kaplı substratlar üzerine pipetlenmiş ve kurumayı engellemek amacıyla hava geçirmeyen ve ışınlanan bir düzeneğe yerleştirilmiştir. Bu düzenek, yaklaşık 360 nm civarında pik veren ve ışık yoğunlu UV radiometer (UVP) ile ölçülerek 1 mW/cm²'ye ayarlanan 20W siyah ışık (UVP Upland, CA 91786, Model XX-20 BLB) ile ışınlanmıştır. 30, 60, 90, 120, dakikalık ışınlama periyotlarından sonra fosfat tamponu kullanılarak

VII

hücreler cam yüzeyinden yıkanmıştır. Canlı kalan hücre sayısını tespit etmek için, toplanan hücrelerin uygun seyreltmeleri Baird Parker Agar ortamında 37°C’de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir.

Yapılan sayısal analizler, filmlerin kompozisyonuna ve karakteristiklerine bağlı olarak 30 dakikalık UVA ışınlaması sonucunda TiO₂ ince filmlerinin gösterdikleri bakteriyel inhibisyonun % 52,36-100 arasında değiştiğini göstermiştir. TiO₂ kaplı filmlerin etkinliği, bakteriyel inhibisyon oranı % 31,25-65,50 arasında değişen TiO₂ kaplı olmayan filmlerden belirgin ölçüde yüksek olmuştur. SiO₂ koruyucu filminin, TiO₂ tabakasına Na iyon diffüzyonunu önlemede çok etkili olduğu bulunmuştur. Sodyum cam substratları üzerine kaplanan TiO₂ filmlerinin fotokatalitik aktivitesi, Na iyonlarının termal diffüzyonundan dolayı daha düşük olmuştur. TiO₂ ince filmlerinin fotokatalitik aktivitesi Cu ve PEG (600) doplanmasıyla artmış, Fe doplanmasıyla düşmüştür. Fe doplu kaplamalar en düşük antibakteriyel aktiviteyi gösterirken, Cu doplu kaplamalar en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Cu/TiO₂ filmi üzerindeki *S. aureus* ATCC 6538P’nin canlılık oranı 30 dakikalık ışınlama sonucunda belirlenemeyen düzeye inmiştir. Cu/TiO₂ kaplamalarının karanlıkta da bakterisidal etki göstermesi, bakırın kendisinin bakterisidal etki sergilediğini kanıtlamıştır.

Bu sonuçlar, TiO₂ ince filmlerinin fotoindüklenmiş bakterisidal etkisinin filmlerin karakteristiklerine bağlı olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: titanyum dioksit, ince filmler, sol-jel, daldırma-kaplama, fotokatalizis, metal doplama, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF PHOTOCATALYTIC BACTERICIDAL EFFECTS AGAINST *Staphylococcus aureus* BY TiO₂ THIN FILMS COATED SURFACES

EFENDİLER, Hafize

PhD in Biology

Supervisor: Prof. Dr. İsmail KARABOZ

December 2006, 220 p.

This research aimed to investigate the photocatalytic bactericidal effects of pure and metal doped TiO₂ thin films against *Staphylococcus aureus*.

In this study, titanium dioxide thin films were prepared using a sol-gel dip-coating technique on soda-lime glass substrates. The precursor solution for TiO₂ thin films were prepared using the proper amount of titanium tetraisopropoxide, propanol as a solvent and nitric acid as a catalyst. The soda-lime glass substrates were first coated with a thin layer of silica to prevent impurity diffusion to TiO₂ layer. The surface structures of the films were modified by adding different concentration of iron, copper and polyethylene glycol (PEG 600) into TiO₂ sol. Dip coating and pre-annealing at 120°C were repeated 3 times and then the films were post-annealed at 500°C for 1 hour. The effects of Fe, Cu and PEG addition

to the precursor solution on the surface structure and photocatalytic activity of the resultant thin films were investigated.

The morphology of surface structure and composition of the films were examined by Scanning Electron Microscopy (SEM), Atomic Force Microscopy (AFM) and X-ray Diffraction (XRD). The film prepared on soda-lime glass without silica was non-uniform and having cracks at many places whereas the film prepared on silica coated substrates was uniform and without cracks. After PEG was added, porous structures developed in the films and doping with iron and copper converted the flat surfaces in the undoped TiO₂ samples to porous, sponge-like surfaces after thermal treatment at the 500°C. From the AFM images of the samples a uniform agglomeration was observed. The roughness profiles (RMS) of the film surfaces without PEG have been measured in the range of 15.579 to 71.725 nm, but when PEG was added, the values decreased to 0.5559 nm. XRD pattern showed that all TiO₂ films displayed the characteristic diffraction peaks of anatase structure annealed at 500°C.

The antibacterial efficiency of longwave UV-irradiated (365 nm) TiO₂ thin films was investigated using *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P as a model. A 50 µl of the bacterial solution (3.0×10^8 cfu/ml) was pipetted onto TiO₂ coated substrates and placed in an air tight illumination chamber to prevent drying. This chamber was illuminated with 20W black light (UVP Upland, CA 91786, Model XX-20 BLB); the light intensity, which peaks at around 360nm, was 1.0 mW/cm², which was measured using a UV radiometer (UVP). After each illumination time period for 30, 60, 90, 120, min. the cells were washed from the glass surface in a steril

petri dish using phosphate buffer solution (PBS). Appropriate dilutions of the collected cells were incubated at 37°C for 48 h in Baird Parker Agar medium to determine the number of viable cells in terms of cfu.

The quantitative experiments showed that bacterial inhibition of TiO₂ thin films varies between % 52.38-100 after 30 min. UVA illumination depending on the composition and characteristics of the films. The efficiency was remarkably higher than that without a TiO₂ film in which light caused bacterial inhibition between % 31.25-65.50. It was found that SiO₂ film precoating is very effective to prevent Na ion diffusion into TiO₂ layer. TiO₂ thin films coated on soda-lime glass substrates exhibited lower photocatalytic activity due to the thermal diffusion of Na ion. The photocatalytic activity of the TiO₂ thin films increased with Cu and PEG (600) doping and decreased with Fe doping. Fe doped coatings exhibited the lowest antibacterial activity whereas Cu doped coatings exhibited the highest. The survival ratio for *S. aureus* ATCC 6538P in the liquid film on the Cu/TiO₂ film under black light illumination decreased to a negligible level within 30 min. The bactericidal ability of Cu/TiO₂ coatings was even found in the dark. This indicated that Cu poses bactericidal activity.

The results indicated that the photoinduced bactericidal efficiency of TiO₂ thin film probably depended on the characteristics of the films.

Key words: titanium dioxide, thin films, sol-gel dip-coating, photocatalysis, metal doping, *Staphylococcus aureus*.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince bana destek olan, hiçbir zaman yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın danışmanım Prof. Dr. İsmail KARABOZ, sayın hocalarım Prof. Dr. Sanver EKMEKÇİ ve Sayın Doç. Dr. Mustafa GÜDEN'e, deneyler sırasında gerekli koşulların sağlanmasında ve filmlerin karakterizasyon sonuçlarının değerlendirilmesinde yardımcı olan Sayın Övünç AKİL'e teşekkür ederim.

Kaplamaların elde edilmesinde katkı sağlayan İYTE Malzeme Mühendisliği Araş. Gör. Sinan YÜKSEL ve Mücahit SÜTÇÜ'ye, İYTE Kimya Mühendisliği Araş. Gör. Özlem ÇAĞLAR'a, mikrobiyolojik deneyler sırasında yardımcı olan Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ediyorum.

Tüm yaşamım boyunca maddi ve manevi olarak yanımda olan ve büyük bir fedâkarlık gösteren sevgili annem Refiye EFENDİLER'e, kardeşim Ayşe EFENDİLER'e, dayım Hüseyin SELİMOĞLU ve kuzenim İlhan SELİMOĞLU'na, sevgili arkadaşım Figen ÖZYILDIZ'a, Kazım Karabekir İlköğretim Okulu Müdürü Sayın Mete Aytekin SEZER'e ve tüm öğretmen arkadaşlarıma, benden manevi desteğini esirgemeyen YELİN ailesine tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

Tez süresince gösterdiği destek ve anlayışından dolayı sevgili eşim Ersoy YELİN'e gönülden teşekkür ediyorum.

Beni doktor olarak görmeyi hayal eden ve bana bunu vasiyet eden canım babam İbrahim EFENDİLER'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	V
ABSTRACT	IX
TEŞEKKÜR	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XXI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XXVII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	XXIX
 1.GİRİŞ.....	 1
 2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	 11
2.1. Fotokatalizin Tanımı	11
2.2. Fotokatalist Olarak TiO ₂	12
2.3. TiO ₂ 'in Etki Mekanizması.....	15
2.3.1. Hidroksil Radikali (•OH) ve Reaktif Oksijen Türlerinin Reaksiyonları	18
2.3.1.1. Elektron (e ⁻) ve Pozitif Boşluk (h ⁺).....	18
2.3.1.2. Hidroksil Radikali (•OH) ve Süperoksit (•O ₂ ⁻).....	19
2.3.1.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	19
2.4. Hedef Mikroorganizmaların Yapısı	20

İÇİNDEKİLER (Devamı)

	<u>Sayfa</u>
2.4.1. Bakteriler	20
2.4.2. Funguslar	22
2.4.3. Virüsler	23
2.4.4. Kanser Hücreleri.....	24
2.5. TiO ₂ ve Fotokatalitik Kimyanın Biyolojik Etkileri	25
2.5.1. Hücre Ölümünün Mekanizması.....	25
2.5.1.1. CoA'nın Oksidasyonu	25
2.5.1.2. Hücre Çeperi ve Hücre Membranının Hasarı	26
2.5.1.3. Hücrel Moleküllerin Fotokatalitik Hasarı ...	35
2.5.2. Bakteri, Fungus ve Mayalar	36
2.5.3. Dental Uygulamalar.....	51
2.5.4. Virüsler.....	52
2.5.5. Tümör Hücreleri	52
2.5.6. TiO ₂ Partiküllerinin Toksisite Çalışmaları	55
2.6. Üretim Yöntemleri	55
2.6.1. Sol-Jel Yöntemi	56
2.6.1.1. Sol-Jel Yönteminde Kullanılan Bileşenler	57
2.6.1.1.1. Metal Alkoksitler.....	57
2.6.1.1.2. Katalizörler	58
2.6.1.1.3. Alkoller.....	58

İÇİNDEKİLER (Devamı)

	<u>Sayfa</u>
2.6.2. Sol-Jel Oluşumu	58
2.6.3. Sol-Jel Prosesinin Avantajları	59
2.6.4. Sol-Jel Prosesinin Dezavantajları.....	61
2.6.5. Kaplama Teknolojileri	61
2.6.5.1. Sol-Jel İle Film Kaplama Yöntemleri.....	63
2.6.5.1.1. Daldırma Kaplama Metodu.....	63
2.6.5.1.2. Döndürme Yöntemi	64
2.7. TiO ₂ 'in Modifikasyonu.....	65
2.7.1. Demir ve Polietilen Glikol (PEG) İlavesinin Filmlerin Optik Özelliklerine ve Mikroyapısına Olan Etkisi.....	68
2.7.2. Modifiye Edilen Filmlerin Fotokatalitik Aktivitesi.....	69
2.7.3. İmplant Kaynaklı Enfeksiyonların Önlenmesinde Kullanılan TiO ₂ Kaplamaları.....	71
2.7.4. Fotokatalitik Nanokompozitler Aracılığıyla Bakteriyel Endosporların İnaktivasyonu.....	75
2.8. Uygulama Alanları.....	76
2.8.1. Kendini Temizleyebilen Yüzeyler.....	76
2.8.1.1. Su Sevmez Yüzeyler.....	76
2.8.1.2. Su Sever Yüzeyler	77
2.8.2. Suyun Arıtılması	79

İÇİNDEKİLER (Devamı)

Sayfa

2.8.3. Kokuyu Giderme	80
2.8.4. Havanın Temizlenmesi.....	80
2.8.5. Gıda Endüstrisinde	81
2.8.6. Su Ürünleri Endüstrisinde	81
2.8.7. Diğer Uygulamalar.....	82
3. MATERYAL VE METOT	83
3.1. Materyal	83
3.1.1. İnce Filmlerin Hazırlanmasında Kullanılan Solüsyonlar	83
3.1.2. Antibakteriyel Testte Kullanılan Besiyerleri.....	87
3.1.3. Antibakteriyel Testte Kullanılan Çözeltiler ve Tamponlar.....	89
3.1.4. Bakteri Kültürü	89
3.1.5. İnce Filmlerin Hazırlanmasında ve Karakterizasyonunda Kullanılan Aletler	90
3.1.6. Antibakteriyel Testte Kullanılan Aletler	91
3.2. Metot.....	93
3.2.1. Kaplanacak Camların Temizlenmesi.....	93
3.2.2. Camların Silika ile Kaplanması	94
3.2.3. TiO ₂ İnce Filmlerinin Hazırlanması	94
3.2.4. TiO ₂ İnce Filmlerinin Karakterizasyonu	97

İÇİNDEKİLER (Devamı)

Sayfa

3.2.5. İnce Filmlerin Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi	97
3.2.5.1. Bakteri Kültürünün Fotokatalitik İncelemeler İçin Hazırlanması	97
3.2.5.2. Fotokatalitik Dezenfeksiyon	98
3.2.5.3. Canlı Bakteri Sayısının Tespiti	99
4. BULGULAR.....	100
4.1. TiO ₂ İnce Filmlerin Elde Edilmesi	101
4.2. TiO ₂ İnce Filmlerinin Karakterizasyonu	102
4.2.1. SEM Analizleri	102
4.2.2. XRD Sonuçları	108
4.2.3. AFM Sonuçları	116
4.3. Farklı Özellikteki TiO ₂ İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	120
4.3.1. TiO ₂ İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	120
4.3.2. TiO ₂ +PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.	123
4.3.3. SiO ₂ +TiO ₂ İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	125

İÇİNDEKİLER (Devamı)

Sayfa

4.3.4. SiO ₂ +TiO ₂ +PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	127
4.3.5. TiO ₂ +Fe İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	129
4.3.6. TiO ₂ +Fe+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	130
4.3.7. SiO ₂ +TiO ₂ +Fe İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	132
4.3.8. SiO ₂ +TiO ₂ +Fe+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	134
4.3.9. TiO ₂ +Cu İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	136
4.3.10. TiO ₂ +Cu+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	138
5. TARTIŞMA	141
6. ÖNERİLER	202
KAYNAKLAR DİZİNİ	204
ÖZGEÇMİŞ.....	220

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Ultraviyole (UV) ışın tipleri	5
Şekil 2.1. Bir yarı iletken partikül üzerinde meydana gelen temel prosesler	18
Şekil 2.2. (a-c). TiO ₂ filmi üzerindeki <i>E. coli</i> 'nin fotoöldürme prosesinin şematik görünümü	29
Şekil 2.3. Işık ve TiO ₂ 'in <i>E. coli</i> 'nin lipit peroksidasyonu üzerine olan etkisi	33
Şekil 2.4. Sıcaklık artışının Gram pozitif bakterilerin fotokatalitik dezenfeksiyonu üzerindeki etkisi, TiO ₂ (0,5 g/l)	39
Şekil 2.5. Sıcaklık artışının Gram negatif bakterilerin fotokatalitik dezenfeksiyonu üzerindeki etkisi TiO ₂ (0,5 g/l)	40
Şekil 2.6. <i>E.coli</i> 'nin zamana bağlı olarak güneş ışığı aracılığıyla inaktivasyonu. Başlangıç hücre konsantrasyonu 10 ⁷ cfu/ml, TiO ₂ (0,75 g/l).....	43

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devamı)

Şekil

Sayfa

- Şekil 2.7.** 30 dakika UV ışınlaması ve 1 mg/ml TiO_2 konsantrasyonunda farklı bakterilerin hücre canlılığının kıyaslanması.....47
- Şekil 2.8.** TiO_2 fotokatalitik reaksiyonunun elmalardaki *Penicillium* çürüklüğünün gelişimi üzerine olan etkisi n = 10 örnek.....78
- Şekil 2.9.** Depolama süresince domateslerde görülen meyve çürüklük gelişiminin boyutu50
- Şekil 2.10.** Daldırma kaplama yönteminin basamakları64
- Şekil 2.11.** TiO_2 üzerine dop edilen metalin fotokatalitik prosese olan etkisi67
- Şekil 2.12.** Cam üzerine kaplanan Fe^{3+} doplu TiO_2 ince filmlerinde UV ışınlaması sonucunda canlı kalan bakteri sayısı.....70
- Şekil 2.13.** Bakır iyonunun farklı dilüsyonları ile yapılan büyüme inhibisyon deneyi72
- Şekil 2.14.** Kaplanmayan, kaplanan ve supernatant büyüme ortamındaki *S. aureus* ATCC 25923'ün üremesi73

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devamı)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1. Bakterilerin fotokatalitik inaktivasyonu için kullanılan cam düzenek	92
Şekil 3.2. Fotokatalitik proseste kullanılan UVA (UVP Upland, CA 91786, Model XX – 20 BLB) ışık kaynağı.	92
Şekil 3.3. UV radiometer (UVP).....	93
Şekil 3.4. TiO ₂ ince filmlerinin hazırlanışını gösteren akış şeması	95
Şekil 3.5. Işınlama düzeneğinin şematik görünümü	99
Şekil 3.6. Fotokatalitik işlem boyunca cam düzeneğin görünüşü	99
Şekil 3.7. İnce filmlerin antibakteriyel aktivitesinin incelenmesinde izlenen yol.....	100
Şekil 4.1. İnce film ile kaplanan (solda), kaplanmayan (sağda) cam örnekleri	102
Şekil 4.2. Farklı ince filmlerin SEM fotoğrafları.....	104
Şekil 4.3. Farklı ince filmlerin X-ışını saçılım spektrumları	110

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devamı)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.4. Farklı sıcaklıklarda ısıtıl işleminden geçirilmiş TiO_2+Cu ince filmlerinin X-ışını saçılım spektrumları.....	113
Şekil 4.5. Farklı TiO_2 ince filmlerinin yüzey analizini (solda) ve üç boyutlu yapısını (sağda) gösteren AFM fotoğrafları.....	117
Şekil 4.6. 2 saatlik ışınlatma süresince TiO_2-1 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.	122
Şekil 4.7. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlatma sonucunda TiO_2 ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı.....	122
Şekil 4.8. 2 saatlik ışınlatma süresince TiO_2-2 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.	124
Şekil 4.9. 2 saatlik ışınlatma süresince TiO_2-3 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.	126
Şekil 4.10. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlatma sonucunda $\text{SiO}_2+\text{TiO}_2$ ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı. a)sadece ışık b) TiO_2 +ışık	126

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devamı)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.11. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -4 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.....	128
Şekil 4.12. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -5 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.....	130
Şekil 4.13. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -6 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.....	132
Şekil 4.14. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -7 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.....	133
Şekil 4.15. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -8 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.....	135
Şekil 4.16. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlama sonucunda $\text{SiO}_2+\text{TiO}_2+\text{Fe}+\text{PEG}$ (600) ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı.....	136
Şekil 4.17. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -9 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.....	138
Şekil 4.18. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -10 ince filmleri üzerindeki <i>S.aureus</i> 'un canlılık oranları.....	140

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devamı)**Şekil****Sayfa**

Şekil 4.19. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlama sonucunda TiO ₂ +Cu+PEG (600) ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı.....	140
---	-----

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. Değişik dezenfeksiyon metotlarının mikropları uzaklaştırma ya da öldürme yolları.....	2
Çizelge 2.1. Işınlanmış TiO_2 üzerindeki bir fotokatalitik prosesin mekanizması.....	17
Çizelge 2.2. Fotokatalitik testlerde denenen organizmalar	54
Çizelge 2.3. Su sever yüzey uygulamaları	78
Çizelge 4.1. Elde edilen ince film çeşitleri.	101
Çizelge 4.2. Farklı sıcaklıklarda ısıtılma işleminden geçirilmiş farklı TiO_2 ince filmlerinin kristal faz sonuçları	109
Çizelge 4.3. Farklı ince filmlerin AFM ölçümleri sonucunda elde edilen yüzey pürüzlülük (RMS_{rms}) değerleri.....	116
Çizelge 4.4. TiO_2 -1 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.....	121
Çizelge 4.5. TiO_2 -2 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.....	124
Çizelge 4.6. TiO_2 -3 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.....	125

ÇİZELGELER DİZİNİ (Devamı)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.7. TiO ₂ -4 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.	128
Çizelge 4.8. TiO ₂ -5 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.	129
Çizelge 4.9. TiO ₂ -6 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.	131
Çizelge 4.10. TiO ₂ -7 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.	133
Çizelge 4.11. TiO ₂ -8 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.	135
Çizelge 4.12. TiO ₂ -9 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.	137
Çizelge 4.13. TiO ₂ -10 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.	139

KISALTMALAR DİZİNİ

AFM	: Taramalı Uç Mikroskobu
Bİ	: Bakteriyel İnhibisyon
cfu	: Koloni Oluşturma Birimi
CVD	: Kimyasal Buhar Depozisyonu
EDX	: Enerji Dağıtan X-Işınları
MDA	: Malonaldehit
ONPG	: o-nitrofenol β -D-galaktopiranosidaz
PEG	: Polietilen Glikol
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SiO₂	: Silisyum Dioksit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiobarbiturik Asit
THM	: Trihalometan
TiO₂	: Titanyum dioksit
UV	: Ultraviyole
XRD	: X-Işınları Kırınım Cihazı

1.GİRİŞ

Son yıllarda evsel ve endüstriyel atıklardan dolayı su kaynaklarının, havanın ve yaşadığımız çevrenin her geçen gün biraz daha kirlenmesi en ciddi sorunlardan biri haline gelmiştir. Bu kirliliklere bağlı olarak insan sağlığını tehdit eden parametreler de artış göstermiştir. Farklı kimyasalların kullanımı çevresel riskleri arttırması daha etkin kirlilik azaltma metotlarının aranması yönündeki ilgiyi yoğunlaştırmıştır (Hermann, 1994).

Suda, havada, yüzeyler üzerinde veya biyolojik bir konukçuda bulunan mikroorganizmaları uzaklaştırmanın veya öldürmenin gerekli olduğu birçok durum söz konusudur. Doğrudan insan tüketimi için gerekli olduğu kadar, insan ve hayvanlar tarafından tüketilen ürünlerin üretimi için de suyun dezenfeksiyonuna gereksinim duyulmaktadır. Tıbbi uygulamalarda, biyolojik kontaminasyonun önlenmesinin gerekli olduğu üretim proseslerinde ve enfeksiyon ajanlarına duyarlı bitki ve hayvanların üretim uygulamalarında, havanın dezenfeksiyonuna gerek duyulmaktadır (Blake ve ark., 1999).

Gelişmiş ülkelerde suyun dezenfeksiyonunda kullanılan en yaygın yöntemler klorlama ve ozonlamadır. Bunun yanısıra germisidal lambalar da (254 nm) geliştirilmiş ve geniş çapta kullanılmaktadır. Havanın dezenfeksiyonu, germisidal lambalar veya filtreler (yüksek etkinlikteki hava taneciği, HEPA) aracılığıyla yapılabilmektedir. Biyositler, soğutma tanklarında ve soğutmalı su sistemlerinde biyofilm gelişmesinin

kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüzeyler; ozon muamelesi, UV ışığı ile ışınlama, dezenfektanlarla yıkama veya sıcaklık uygulaması ile mikroorganizmalardan arındırılabilir (Blake ve ark., 1999).

Çeşitli dezenfeksiyon metotları için mikrobiyal uzaklaştırma veya öldürme etkilerinin mekanizması Çizelge 1.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 1.1. Değişik dezenfeksiyon metotlarının mikropları uzaklaştırma ya da öldürme yolları; a) Uzun dalga boylu UV ışığı bazı duyarlı organizmalar üzerinde öldürücü etkiye sahip olabilmektedir, b) Bazı katalist düzeneklerinde titanyum dioksit tabakası bir partikül filtre olarak işlev görmektedir (Blake ve ark., 1999).

Yöntem	OH	O_2^-, H_2O_2	Cl	$h\nu$	Adsorpsiyon	Süzme
UV(254 nm)				X		
Klor			X			
TiO ₂ (300-380 nm)	X	X		(a)	X	(b)
TiO ₂ (254 nm)	X	X		X	X	(b)
HEPA filtre						X

Su orjinli enfeksiyon hastalıklarının önlenmesinde klorlama genel olarak en pratik yöntem olarak kabul görmüştür. Bunun en önemli sebebi, bu yöntemin geniş bir pH aralığında çalışabilmesi ve düşük maliyete sahip olmasıdır. Fakat klorlamanın mikroorganizmaların inaktivasyonundaki temel dezavantajları şu şekilde sıralanabilir:

1. Klor ve organik materyallerin etkileşimi sonucu yan ürün olarak kloroorganik bileşikler ile trihalometan (THM) oluşmaktadır. Bu oluşan

bileşikler çok düşük konsantrasyonlarda bile potansiyel insan kanserojenleridir (Abarnou ve Miossec, 1992).

2. Bakteriyel koliformların uzaklaştırılması için kullanılan düşük dozajda sporlar, protozoonlar ve bazı virüslerin inaktivasyonu zayıf olmaktadır (Venczel ve ark., 1997).

3. Nitrit ve çözünmüş katıların konsantrasyonları etkinlikte farklılıklara sebep olmaktadır (Calmer ve ark., 1998).

4. EPA tarafından belirlenen limitlere uymak için yapılan deklorinasyon ve güvenlik ekipmanlarının temizliği için yüksek yatırımlar yapmak gerekmektedir (Heltz ve Nweke, 1995).

Klorlamaya oranla ozonlama bakteriler, virüsler, protozoonlar gibi bütün patojenlerin dezenfeksiyon etkinliğini arttırmakta ve aynı zamanda toksisite ve mutajenisiteyi ortadan kaldırarak suyun kalitesini iyileştirmektedir. Fakat dirençli olan mikroorganizmaların tekrar üremesi ve yüksek maliyet ozonlamanın geniş çapta kullanımını sınırlamaktadır (Tan, 2001).

İçme suyundaki patojenler, kum filtrasyonu ardından, klor ve ozon filtrasyonu yolu ile uzaklaştırılmaktadır. Bu prosesler, içme suyu dağıtım şebekesine patojenlerin girme olasılığını azaltmaktadır. Fakat bu metodun klora dirençli mikroorganizmaları uzaklaştırma yeteneği konusunda şüpheler bulunmaktadır. Klorlama prosesini takiben dezenfeksiyon

sağlayan ürünlere ilgi artmıştır. Son yıllarda TiO_2 katalizinin, içme suyu üretim işlemlerinde alternatif ya da tamamlayıcı bir yöntem olduğu düşünülmektedir (Blake ve ark., 1999).

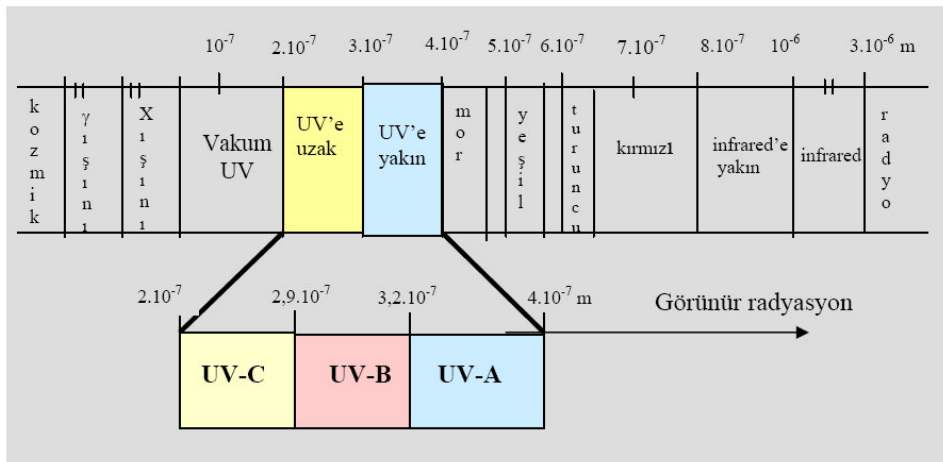
Günümüzde kullanılan dezenfeksiyon metotlarından biri de uygun dalga boylu UV ışığının kullanımıdır. UV ışığı, görünür ışıktan daha kısa fakat X ışınlarından daha uzun dalga boyuna (40-400 nm) sahip bir elektromanyetik radyasyondur. UV radyasyonunun insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkileri düşünüldüğünde UV ışınları dalga boyu uzunluğuna göre UVA ($3,2 \times 10^{-7} / 4,0 \times 10^{-7}$ m), UVB ($2,9 \times 10^{-7} / 3,2 \times 10^{-7}$ m) ve UVC ($2,0 \times 10^{-7} / 2,9 \times 10^{-7}$ m) olmak üzere üçe ayrılır (Kurumlu, 1998):

1. UVA (380-315 nm) ışığı “siyah ışık” veya “uzun dalga boylu ışık” olarak da isimlendirilmektedir. UVA’nın çok az bir kısmı atmosfer tarafından absorbe edilmektedir. Yeryüzüne bu ışınların % 4’ü ulaşır. UVA ışığı adi camdan geçebilmekte ve UVB ışığına oranla cildin daha derin tabakalarına girerek cilt kırışıklıklarının birincil sebebi olarak düşünülmektedir (Kuhn ve ark., 2003).

2. UVB (315-280 nm) ışığı “orta dalga boylu” ışık olarak da isimlendirilmektedir. Bu ışınların % 0,4’ü yeryüzüne ulaşır. Atmosfer tarafından tamamen absorbe edilemediği için en fazla hasar oluşturan UV çeşididir. Ciltte radikal oluşumunu artırır. Oksidatif reaksiyonlarla hücre ve dokuların yıkılması sonucu ağrılar ortaya çıkabilir. UVB’nin sahip olduğu enerji miktarı hücresel DNA’yı hasara uğratabilmek için yeterli düzeydedir. Hücre nükleusunda bulunan proteinler birçok DNA hasarını

tamir edebilmekte fakat tamir edilemeyen genetik hasarlar deri kanserine sebep olabilmektedir (Kuhn ve ark., 2003).

3. UVC (<280 nm) ışığı “kısa dalga boyulu” veya “germisidal ışık” olarak da isimlendirilmektedir. En tehlikeli UV ışık çeşitidir. UVC atmosfer tarafından tamamen absorbe olduğundan doğal çevrede görülmemektedir. UVC ışığının uygulama esnasında sağlık için tehlikeli olmasından, penetrasyon derinliğinin yetersizliğinden ve direk uygulama gerektirmesinden dolayı dezenfeksiyon işlemlerinde pek tercih edilmemektedir (Kuhn ve ark., 2003). Ultraviyole (UV) ışın tipleri Şekil 1.1.’de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Ultraviyole (UV) ışın tipleri (Kurumlu, 1998).

UV ışınları mikroorganizmalar üzerinde mutajenik ve öldürücü etkiye sahiptir. Öldürücü etki, UV ışınlarının dalga boyu şiddetine ve mikroorganizmanın ışınlara maruz kalma süresine bağlıdır. UV ışınlarının

mikroorganizmalar üzerinde en etkili olduğu dalga boyu 253,7 nm'dir. Bu dalga boyunda UV absorpsiyonu maksimum düzeydedir. UV ışınları direkt olarak mikroorganizma DNA'sı üzerinde etkilidir. Bu ışınlar, bitişik timin bazları arasında kovalent bağların oluşmasına yol açarak, timidin dimerlerinin üretilmesine sebep olmaktadır. Timidin dimerleri normal olarak eşleşememekte ve bu da DNA heliksinin bozulmasına, replikasyonda hatalara ve protein sentezinin bloke olmasına yol açmaktadır. UV tarafından hasara uğratılan hücrelerin, iki farklı DNA tamir mekanizmaları vardır. Birincisi fotoreaktivasyon veya fototamir olarak bilinmektedir ve 300-500nm'nin arasındaki dalga boyuna maruz bırakılmış hasarlı hücrelerde ortaya çıkmaktadır. Reaktivasyonun 2. mekanizması karanlıkta meydana gelmekte ve kesip-tekrar sentezleme ile postreplikasyon tamir proseslerini içermektedir. Her iki durumda da farklı enzimler (fotolizaz, ligazlar, DNA polimeraz, ekzonükleaz, endonükleaz vs.) pirimidinlerin fotodimerizasyon UV hasarını, monomerik pirimidin oluşturmak suretiyle geri dönüştürmektedirler (Rincon ve Pulgarin, 2003).

Deriye ulaşan güneş ışığının bir kısmı yansır, büyük bir kısmı ise dalga boyu ve derinliğine bağlı olarak deri hücrelerindeki moleküller (DNA, RNA, cilt proteinleri) tarafından absorbe edilir. Fotonu absorbe eden bu molekül "temel enerji seviyesinden" yüksek enerji seviyeli "uyarılmış" duruma geçer ve fotonun enerjisi bu uyarılmış molekülde toplanır. Depolanan bu enerji başka bir moleküle aktarılabilir, ısı veya ışık olarak çevreye yayılabilir veya kimyasal değişime uğrayarak "fotoürüne" dönüşebilir (Yener, 1998).

UV dalga boylarını fiziksel dağıtma ve yansıtma mekanizmalarıyla birim yüzeydeki ışın yoğunluğunu azaltması nedeniyle UV ışınlarının zararlı etkilerinden korunmak için hazırlanan preparatlarda TiO_2 , ZnO , SiO_2 , ZrO , MgO , CaCO_3 , talk ve kaolin gibi mineral maddeler kullanılmaktadır (Yener, 1998). Bunlar arasında, UV ışınlarını dağıtmada ve yansıtma en etkili olanları; titanyum dioksit (TiO_2) ve çinko oksit (ZnO)'tir (Kurumlu, 1998). Bunlar, kimyasal ve biyolojik olarak inert olup deri üzerinde tahriş edici etkileri yoktur (Brown ve Galley 1990).

Kontamine olmuş hava ve sudaki organik bileşikleri parçalamak amacıyla fotokatalistlerin kullanımı son 25 yıldır büyük önem kazanmıştır. Fotokatalizleme, yarı iletken taneciklerle ışığın etkileşimi esasına dayanan bir teknolojidir. Bu işlem yalnızca bakterileri yok etmekle kalmaz, aynı zamanda sudaki kimyasal kirlilikleri de yok eden oksidatif türlerin üretimini gerçekleştirir. Birçok yarı iletken üzerinde yapılan fotokataliz testlerinin sonucunda TiO_2 'in UV ışık altındaki güçlü oksidasyon yeteneği, kimyasal stabilitesi, toksik olmaması ve ucuz olması sebebi ile fotokataliz için en uygun yarı iletken olarak belirlenmesini sağlamıştır (Seven, 2003). TiO_2 Avrupa ve ABD'inde içme suyunda ve organik madde arıtımı amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Selçuk ve Sarıkaya, 2004).

Bilim ve endüstri çevreleri TiO_2 'e dayalı fotokatalizin hava ya da su arıtılması ile ilgili olarak çeşitli alanlarda, çevresel problemleri çözmek için yardımcı olabileceği görüşünde birleşmektedirler. Şimdiye kadar bulunan en iyi heterojen fotokatalizör TiO_2 olmuştur (Seven, 2003).

TiO₂ benzersiz fotoaktif özellikleri nedeniyle, su ve havanın temizlenmesi, antibakteriyel, koku giderici ajan, gıda endüstrisinde katkı maddesi ve koruyucu ajan gibi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Seramik ve inşaat endüstrisi, TiO₂'in fotobakterisidal etkileri ile özellikle ilgilenmektedir. Çünkü mikrobiyolojik olarak duyarlı çevrelerde (hastane, üretim ya da deney çevreleri gibi) TiO₂'in kullanılmasının uygun olacağı düşünülmektedir. Buralarda, biyolojik kirliliğin önlenmesi büyük önem taşımaktadır (Seven, 2003).

Yapılan çalışmalarda genellikle toz halindeki TiO₂ kullanılmıştır. Fakat TiO₂ fotokatalisti suya partikül şeklinde eklendiğinde şu problemlerle karşılaşmıştır:

1. Reaksiyon boyunca katalistin homojen dağılımının sağlanması.
2. Her reaksiyon sonunda katalistin reaksiyon ortamından uzaklaştırılması.
3. Yüksek maliyetteki ışığa ihtiyaç duyulması.

Bu çalışmada dikkatler, farklı substratlar üzerine kaplanan ve oldukça zayıf UV ışığı altında fotokatalitik reaksiyonlar gösteren TiO₂ ince filmlerinin üzerine odaklanmıştır. Bu filmlerin, tipik yaşam ortamında bulunan UV ışığının absorpsiyonu vasıtası ile kokuyu uzaklaştırma, bakterisidal etki ve kendini temizleyebilme gibi fonksiyonlar gösterebildikleri belirtilmiştir. Kendini temizleyebilen ve bakterisidal özelliklere sahip TiO₂ kaplanmış seramiklerin ticari bir pazar oluşturdıkları rapor edilmiştir (Kikuchi ve ark., 1997).

İmmobilize edilmiş TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini etkileyen bazı faktörlerin olduğu belirtilmiştir. Bu faktörler şöyle özetlenebilir:

1. Bakterilerle ve ışıkla etkileşen TiO_2 'in spesifik yüzey alanı azalmaktadır.
2. İmmobilize edilmiş TiO_2 ışınlama sonucu meydana gelen elektron/boşluk çiftlerinin rekombinasyonunu arttırabilmektedir.
3. TiO_2 'in daha derindeki tabakalarına O_2 difüzyonu sınırlanmaktadır.
4. Mikrop ve immobilize TiO_2 arasındaki ortalama mesafenin artması, süspende haldeki TiO_2 'ye kıyasla $\text{OH}^\cdot$ radikallerinin etki hızının azalmasına sebep olmaktadır.
5. Katalizör fiksasyonundan dolayı hücre içi hasara yol açmak amacıyla bakterilerin içine küçük TiO_2 taneciklerinin (30-50 nm) penetrasyonu engellenmektedir.
6. Işığın, bakteriyel süspansiyon ile temas halinde olan TiO_2 tabakalarına ulaşmak için izlediği yol artmaktadır. Bu artışın nedeni, ışık kaynağının sistemin dışında olmasıdır (Rincon ve Pulgarin, 2003).

TiO_2 , solar spektrum enerjisinin yalnızca % 5'ni absorbe etmektedir. Bu nedenle yüzey yapısının modifikasyonu aracılığı ile fotokatalitik aktivitenin arttırılması için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Metal iyonlarının veya organik polimerlerin dop edilmesi ile yapılan yüzey modifikasyonunun TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini arttıran bir yol olduğu kanıtlanmıştır (Sonawane, Kale ve Dongare, 2004).

Yapılan çalışmada TiO_2 , Fe/TiO_2 , Cu/TiO_2 ince filmlerinin sol-jel daldırma yöntemi ile hazırlanması ve PEG (600) ekleyerek yüzeylerin modifikasyonunu gerçekleştirmek hedeflenmiştir. Fe, Cu ve PEG(600) eklemek suretiyle filmlerin yüzey ve optik özelliklerini değiştirmek ve bu filmlerde fotokatalitik aktivite sonucu meydana gelen antibakteriyel etkileri araştırmak amaçlanmıştır. Böylece, elde edilecek TiO_2 ince filmlerinin, mikroorganizmaların kontrolünde alternatif bir yöntem olabileceği düşünülmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Fotokatalizin Tanımı

10^{-7} - 10^{-6} m dalga boyu aralığındaki ışınların neden olduğu kimyasal olayların incelendiği bilim dalına fotokimya, meydana gelen kimyasal tepkimelere de fotokimyasal reaksiyon denir. Bazı özel fotokimyasal reaksiyonlara özel adlar verilmiştir. Örneğin; moleküllerin ayrışması ile sonuçlanan tepkimelere fotoliz, izomerleşme ile sonuçlanana fotoizomerizasyon, bitkiler tarafından güneş ışınları etkisiyle CO₂ ve sudan karbonhidratların sentezlenmesine ise fotosentez denir (Scandola ve Balzani, 1988).

Başlangıçta fotokimya global enerji krizini çözmek amacı ile geliştirilmiştir. Solar enerjiyi elektrokimyasal enerjiye dönüştürmedeki etkinlikleri, fotokatalitik reaksiyon boyunca stabil olmaları ve değişmemeleri sebebi ile yarı iletkenler fotokatalist olarak kullanılmışlardır (Hsu ve Sheu, 2004).

Yarı iletkenler, elektronlar ile dolu valans bant (VB) ve boş iletkenlik (CB) bandına sahiptirler. Bu bantlar bir enerji boşluğu ile birbirinden ayrılırlar. Valans bandından iletkenlik bandına elektron transferi için, yarı iletken tarafından absorplanan fotonun enerjisi, yarı

iletkenin valans bandı ile iletkenlik bandı arasındaki bu boşluğun enerji değerinden büyük olmalıdır (Hsu ve Sheu, 2004).

Fotokatalitik reaksiyon; bir katalist aracılığı ile fotonların ışık enerjisinin elektrokimyasal enerjiye transferidir. Kısaca fotokatalist, ışıktaki enerji aracılığı ile yüzeyinde güçlü oksidasyonun meydana geldiği bir yarı iletkenidir. Fotokatalizin temel fonksiyonu aktivasyon enerjisini azaltarak reaksiyonun hızını arttırmaktır (Hsu ve Sheu, 2004).

2.2. Fotokatalist Olarak TiO_2

Doğada Titanyum (Ti)

Titanyum çok sert, gümüşü beyaz, parlak bir elementtir. Ergime noktası 1660°C , özgül ağırlığı 4,5'dur. Metalik halde kuvarsı çizecek kadar serttir. Titanyum nadir bir element olarak bilinse de yer kabuğunda en çok bulunan altıncı elementtir. Cevher yoğunlaşmasının seyrek olması ve cevherden titanyum eldesinin çok zor olması onu değerli bir metal yapar (Srinivasan ve Somasundaram, 2003).

TiO_2 'in fotoelektrokimyasal araştırmalarına 1960'ların sonlarında başlanmıştır. Bunu takiben 1972 yılında Fujishima ve arkadaşları TiO_2 'in fotokatalitik özelliklerini bulmuşlardır. TiO_2 'in yüzeyi ısınladığı zaman, su hidrolizi meydana gelmekte ve bu olay Honda-Fujishima etkisi olarak adlandırılmaktadır. Bundan sonra kontamine olmuş su ve havadaki organik bileşenleri uzaklaştırmak ve organik bileşenlerin kısmi

oksidasyonunu sağlamak amacıyla, TiO_2 'in uygulamaları yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Bugün insanlar fotokatalist hakkında konuştuklarında bu genellikle TiO_2 anlamına gelmektedir. TiO_2 günlük yaşamımızın temel materyellerinden biridir. Gıda maddeleri, kozmetikler ve boyalarda beyaz pigment olarak geniş çapta kullanılmaktadır. TiO_2 , United States Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmış ve insan için zararsız, güvenilir bir madde olarak kabul edilmiştir (Hsu ve Sheu, 2004).

TiO_2 üç kristal formda bulunmaktadır: rutil, anataz ve brokit. Rutil ve anataz tetragonal kristal yapısına sahipken brokit ortorombik yapıdadır. Rutilin sertliği 6,0-6,5 özgül ağırlığı 4,2-4,4 g/cc arasında değişmekte, rengi sarımsı kırmızı, siyah ve kızıl kahvedir. Anatazın özgül ağırlığı ise 3,9 g/cc'dir. İkisi arasındaki özgül ağırlık farkı kristal yapılarındaki küçük farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Rutil ve brokite oranla anataz en yüksek fotoaktiviteyi göstermektedir. Bu üç kristal formdan fotokatalist olarak anataz ve rutil kullanılmaktadır. Anataz 3,2 eV, rutil ise 3,0 eV bant aralığına sahiptir. 385 nm'nin üzerindeki aktivitede anataz için etki spektrumu keskin bir düşüş göstermektedir. Fakat henüz anlaşılamayan sebeplerden dolayı anataz (% 70-75) ve rutil (% 30-25) karışımının (TiO_2 Degussa P-25) saf anataza oranla daha aktif olduğu vurgulanmıştır (Li ve Sheu, 2004).

Genellikle anataz fazın rutile oranla daha iyi bir fotokatalitik aktivite gösterdiği vurgulanmış olsa da rutil fazın daha iyi bir fotokatalitik aktiviteye sahip olduğunu gösteren bazı çalışmalar da mevcuttur.

Rincon ve Pulgarin'in (2003) yaptıkları çalışmada immobilize rutilin anataza oranla *E.coli*'nin inaktivasyonunda daha etkili olduğunu saptamışlardır. Bunun sebeplerini de şu şekilde açıklamışlardır:

- 1.Rutil (360-400 nm) anataza oranla (<370 nm) UV'ye yakın bölgedeki ışığı daha güçlü bir şekilde absorbe etmiştir.
- 2.Rutil örneklerindeki ışık dağılımı daha yüksek olmuştur ve bu da ışık ve fotokatalist arasındaki sinerjistik etkiyi arttırmıştır.
- 3.Rutile oranla anataz UV ışığını daha çok yansıtmıştır ve bunun neticesinde UV ışık bakterileri daha az etkilemiştir.
- 4.Rutilin anataza oranla fotokimyasal olarak daha stabil olması oluşturduğu filmin daha dayanıklı olmasını sağlamıştır.
- 5.Rutilin daha yüksek bir refraktif indekse sahip olması bakteri süspansiyonunun ışık penetrasyonunu arttırmıştır.
- 6.Bakterilerin rutil üzerindeki adsorpsiyonu anataza oranla daha iyi olmuştur.
- 7.Rutilin standart anataz ürünlerinden daha küçük partikül boyutuna sahip olduğu vurgulanmıştır.

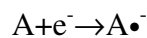
TiO₂'in Kullanım Avantajları

1. Yüksek porositeye sahip olması, yüzey alanını arttırır. (1000 kez).
2. TiO₂'in birçok moleküle karşı yüksek affinitesi yüzey modifikasyonunun kolaylaştırılmasını sağlar.
3. Ucuz bir materyaldir.
4. Yüksek miktarlarda kolaylıkla üretilebilir.

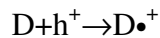
5. Kimyasal olarak stabildir.
6. Biyolojik olarak aktif değildir.
7. Toksik değildir.
8. Düşük bir bant aralığı enerjisine sahiptir.
9. Tekrar kullanılabilme özelliğine sahiptir.
10. Organik bileşenlerin parçalanmasını sağlar.
11. Suyu karşı yüksek affiniteye sahiptir (Fujishima ve ark., 2000).

2.3 TiO₂'in Etki Mekanizması

1970'lerin başında Fujishima ve Honda tarafından TiO₂ elektrotları üzerinde fotoindüklenmiş su hidrolizinin keşfedilmesinden sonra, su ve havanın purifikasyonunda TiO₂ fotokatalistlerinin alternatif materyal olarak kullanımları büyük dikkat çekmiştir. TiO₂ fotokatalistleri, 385 nm'den düşük dalga boylu UV ile ışınladıklarında, güçlü bir oksidasyon yeteneği meydana getirmektedirler. Bunun sonucunda valans bandından iletkenlik bandına bir elektron transferi gerçekleşir ve valans bandında h⁺ olarak adlandırılan bir enerji boşluğu oluşur. Böylece e⁻-h⁺ çiftleri üretilmiş olur. İletken metallerde, oluşan yük taşıyıcıları hemen birleşir. Fakat yarı iletken malzemelerde oluşan elektron-boşluk çifti katalist parçacığının yüzeyine diffüz ederek adsorbe olan donör (D) veya akseptör (A) moleküllerinin reaksiyonunda yer alır (Banerjee ve ark., 2006).



Redüksiyon



Oksidasyon

Ortamda oksijen gibi kolay indirgenebilen bir elektron alıcısı yoksa, elektron-boşluk birleşmesi olabilir. Oksijen varsa, iletkenlik bandındaki elektron, moleküler oksijeni indirgeyerek süperoksit radikal anyonlarını ($O_2^{\bullet-}$)oluşturur (Banerjee ve ark., 2006).

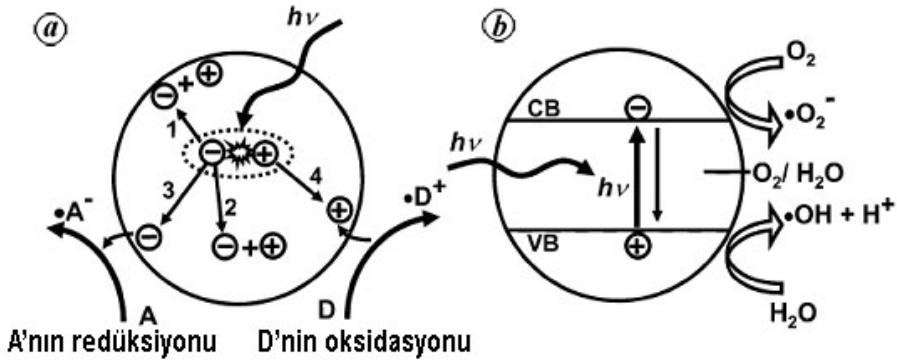
Valans bandındaki pozitif yüklü boşluklar güçlü bir oksidasyon yeteneğine sahiptirler ve su ya da yüzeyde adsorplanan OH^- iyonları ile reaksiyona girerek yüksek aktiviteye sahip hidroksil radikalleri oluştururlar (Banerjee ve ark., 2006).

Süperoksit anyonları ve OH radikalleri çok reaktiftirler ve uygun kimyasal komponentlerle reaksiyona devam ederek biyolojik yapılarda hasarlara neden olabilen kimyasal ürünler oluşturabilirler (Banerjee ve ark., 2006).

TiO_2 'in fotokatalitik prosesi, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve süperoksit, gibi reaktif oksijen türlerini (ROT) üreten kimyasal basamakları içermektedir. Bu reaktif oksijen türleri, organik komponentlerin dekompozisyonuna ve mikroorganizmaların hasarına sebep olabilmektedirler. Çizelge 2.1'de özetlenen basamaklar aşağıdaki türlerin oluşumunu içermektedir: hidroksil radikali, hidrojen peroksit, süperoksit, iletkenlik bandı elektronları ve valans bandı boşlukları (Banerjee ve ark., 2006). Bir yarı iletken partikül üzerinde meydana gelen temel prosesler Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Banerjee ve ark., 2006).

Çizelge 2.1 Işınlanmış TiO_2 üzerindeki bir fotokatalitik prosesin mekanizması (Banerjee ve ark., 2006).

Elektron-Boşluk Çiftlerinin Oluşumu $\text{TiO}_2 + h\nu \rightarrow \text{TiO}_2 (e^- + h^+)$ (iletkenlik band elektronu ve valans band boşluğu)
İletkenlik Bandından Kopan Elektronların Reaksiyonları $\text{TiO}_2(e^-) + \text{O}_2 \rightarrow \text{TiO}_2 + \cdot\text{O}_2^-$ $\text{TiO}_2(e^-) + \cdot\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{TiO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{TiO}_2(e^-) + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{TiO}_2 + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ $\cdot\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{O}_2$ $\cdot\text{O}_2^- + \text{H} \rightarrow \cdot\text{HO}_2$ $\text{TiO}_2(e^-) + \cdot\text{HO}_2 \rightarrow \text{TiO}_2 + \text{HO}_2^-$ $\text{HO}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ $2\cdot\text{HO}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$
Valans Bandındaki Boşlukların Reaksiyonları $\text{TiO}_2(h^+) + \text{H}_2\text{O}_{\text{ads}} \rightarrow \text{TiO}_2 + \cdot\text{OH}_{\text{ads}} + \text{H}^+$ $\text{TiO}_2(h^+) + 2\text{H}_2\text{O}_{\text{ads}} \rightarrow \text{TiO}_2 + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{TiO}_2(h^+) + \text{OH}^-_{\text{ads}} \rightarrow \text{TiO}_2 + \cdot\text{OH}_{\text{ads}}$
Organik Komponentlerin Oksidasyonu $\cdot\text{OH} + \text{O}_2 + \text{C}_n\text{O}_m\text{H}_{(2n-2m+2)} \rightarrow n\text{CO}_2 + (n-m+1)\text{H}_2\text{O}$
Ürün Oluşturmayan Radikal Reaksiyonları $\text{TiO}_2 + \cdot\text{OH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{TiO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (rekombinasyon) $2\cdot\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ $2\text{HO}_2^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ $\cdot\text{OH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ $\text{OH}^- + \text{HCO}_3^- \rightarrow \cdot\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O}$



Şekil 2.1. Bir yarı iletken partikül üzerinde meydana gelen temel prosesler. a. Foton enerjisinin absorpsiyonu, elektron-boşluk çiftlerinin oluşumu ve bunların hareketi: (1) ve (2) elektron-boşluk rekombinasyonu, (3) akseptörün indirgenmesini ve (4) vericinin yükseltgenmesini göstermektedir. b) elektronların valans bandından (VB) iletkenlik bandına (CB) hareketini, süperoksit iyon radikalleri ($\bullet\text{O}_2^-$) oluşturmak üzere elektronların oksijen molekülüne transferini ve hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$) oluşturmak üzere elektronların su molekülünden valans band boşluğuna transferini göstermektedir (Banerjee ve ark., 2006).

2.3.1. Hidroksil Radikali ($\bullet\text{OH}$) ve Reaktif Oksijen Türlerinin Reaksiyonları

2.3.1.1. Elektron (e^-) ve Pozitif Boşluk (h^+)

Bir hücre veya virüs TiO_2 yüzeyi ile temas ettiğinde ışınlama ile üretilen elektron veya pozitif boşluklar organizmanın komponentlerine doğrudan girebilmekte ve yaşam sistemine hasar veya son verebilmektedirler. Elektronlar veya boşluklar TiO_2 yüzeyinin üzerinde meydana geldiklerinden, sadece organizma bu yüzeye çok yakın olduğunda bir etki görülebilmektedir. Eğer TiO_2 hücre içerisine girecek kadar küçük

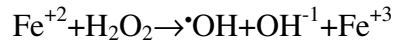
ise, bu fotokatalitik prosesler hücrenin içerisinde meydana gelebilmektedirler (Kao ve Sheu, 2004).

2.3.1.2. Hidroksil Radikali ($\bullet\text{OH}$) ve Süperoksit ($\bullet\text{O}_2$)

Hidroksil radikali oldukça reaktif ve bu nedenle kısa ömürlüdür. Süperoksit iyonları daha uzun ömürlüdür; fakat onların negatif yükleri hücre membranından geçişlerini engellemektedir. OH radikali ve süperoksit TiO_2 yüzeyinde üretildiklerinden her ikisi de, TiO_2 hücre içerisine girmedikçe hücrenin dış yüzeyi ile reaksiyona girebilmektedir (Kao ve Sheu, 2004).

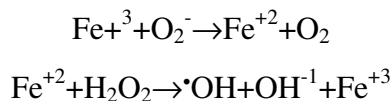
2.3.1.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

OH radikali ve süperoksite oranla H_2O_2 daha az zararlıdır. Fakat H_2O_2 hücre içerisine girebilmekte ve Fenton reaksiyonu üzerinden Fe^{+2} iyonları ile aktive edilebilmektedir:



Hücrede bulunan demir seviyesi önemlidir ve Fe^{+2} iyonlarının kaynağı olarak hizmet vermektedir. TiO_2 ışık ile muamele edildiğinde H_2O_2 oluşmaktadır. Bu H_2O_2 hücre içerisine girebilmekte ve Fenton reaksiyonu hücre içerisinde de meydana gelerek, daha fazla OH radikalının oluşumuna sebep olmaktadır (Kao ve Sheu, 2004).

Işık kapatıldığı zaman artakalan H_2O_2 , Fe^{+2} iyonları ile etkileşime devam etmekte ve daha fazla OH radikali üretilmektedir. Ortamda H_2O_2 ve süperoksit beraber bulundukları zaman, demir-katalizli Haber-Weiss reaksiyonu ilave OH radikallerinin oluşumu için ikinci bir yol sağlayabilmektedir (Blake ve ark., 1999).



2.4. Hedef Mikroorganizmaların Yapısı

Kapalı alanlarda ve sularda bulunan genel mikroorganizmalar çok çeşitlidir. Bu nedenle mikrobiyal morfolojinin anlaşılması özel dezenfeksiyon uygulamaları için çok daha etkili fotokatalitik teknolojilerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır (Seven, 2003).

2.4.1. Bakteriler

Bakteriler, daha yüksek yapıli bitki ve hayvan hücrelerinin (ökaryotik hücreler) nükleus yapısına sahip olmayan prokaryotik mikroorganizmalardır. DNA moleküllerini sitoplazmadan ayıran nükleus zarları yoktur. Prokaryotik hücrelerin sitoplazması özel fonksiyonlara ait birimler halinde farklılaşmamaktadır. Boyutları 0,5 ile 5,0 μm arasında değişmektedir. Bakteriler, Gram boyama ile boyanan hücre çeperi bileşenlerinin farklı özelliklerine dayanarak, Gram-pozitif ve Gram-negatif organizmalar şeklinde

iki sınıfa ayrılmaktadırlar: Gram (+) bakteriler temel olarak peptidoglikan polimerinden oluşan ve 20-80 nm kalınlıkta klasik bir hücre çeperine sahiptirler. Birçok Gram (+) bakteride kalın peptidoglikan tabakası hücre çeperi bileşenlerinin yaklaşık % 80'ni oluşturmaktadır. Bileşenlerin geri kalan kısmı teikoik asitler (% 10-20), düşük miktarda lipitler, proteinler ve lipopolisakkaritlerden oluşmaktadır. Gram (-) hücrelerin hücre çeperi kimyasal açıdan daha karmaşıktır. Peptidoglikan tabakası daha incedir (2-6 nm kalınlıkta) ve hücre çeperi sadece % 10'nu oluşturmaktadır. Gram (-) bakterilerin en dış tabakası olan dış membran yaklaşık 6-18 nm kalınlıktadır ve hücre çeperinin geri kalan kısmını oluşturmaktadır. Dış membran; % 50 lipopolisakkarit, % 35 fosfolipit ve % 15 lipoprotein içermektedir. Peptidoglikan ve dış membran birlikte sağlam hücre morfolojisinin sürdürülmesi için mekanik bir koruma sağlamak ve Gram (+) hücrelerin fonksiyonlarına benzer şekilde faj enfeksiyonuna duyarlılığı ve antijenisiteyi belirlemektedir. Ayrıca, Gram (-) hücrelerin dış membranı birçok orta ve büyük boyutlu molekülün geçirgenliğini etkilemektedir. Dış membrandan materyal geçişinin ilave zorluğu, belli durumlar altında Gram (-) bakterilerin Gram (+) bakterilere göre birçok kimyasal ajana daha dirençli olmalarının nedenini açıklamaktadır (Blake ve ark., 1999).

Gram (-) hücrelerdeki periplazmik boşluk, Gram (+) bakterilerde daha az belirgin olup sitoplazmik membran ve hücre çeperi arasında uzanmaktadır. Birçok enzim, protein ve elektron aracısı bu dinamik jel benzeri çevrede bulunmaktadır. Dış membrandan geçerek girişe ulaşmış ve hücre membranından geçiş için hala çok büyük olan materyaller, hidrolitik enzimler tarafından kesilmektedirler. Hücre çeperi ve dış membranının bileşenleri de burada dönüşüme uğratılmakta ve yeni oluşan materyaller

son varış yerlerine ulaşmadan önce bu boşluk boyunca hareket etmektedirler. Birçok elektron aracısı bu boşlukta yer almakta ve enerji veren reaksiyonlara katılmaktadır. Bu bölge mikrobun dış çevresinden çok çabuk etkilendiğinden, yabancı ajanlara karşı hücrenin savunmasında kritik bir rol oynamaktadır (Blake ve ark., 1999).

2.4.2. Funguslar

Funguslar (küf ve maya) morfolojileri yönünden çok farklıdırlar. Tek hücreli mayalar hariç birçok fungus çok hücreli filamentler şeklinde yaşamını sürdürmektedir. Funguslar ökaryotik canlılardır (genetik materyalleri bir membran ile çevrelenmiş bir nükleus içinde bulunmaktadır). Ökaryotik hücrelerin diğer bir özelliği ise sitoplazmalarının çok sayıda, son derece farklılaşmış ve her biri spesifik bir hücresel fonksiyon gerçekleştiren organeller içermesidir. Funguslar heterotrof olup, parazitler gibi canlı bir konukçuyu enfekte ederek veya ölü organik materyalin çürümesine yol açarak kendi besinlerini elde etmektedirler. En yaygın olarak aseksüel spor oluşturarak çoğalmaktadırlar (Blake ve ark.,1999).

Bakterilere benzer şekilde fungusların sitoplazmik membranı bir hücre çeperi ile çevrelenmiştir. Bakterilerden farklı olarak fungal hücre çeperleri çok tabakalıdır ve her bir tabaka birbirine çeşitli yönlerde çapraz bağlanan fibrillerden oluşmaktadır. Fungal hücre çeperinin ana bileşenleri küçük miktarlarda lipit ve protein içeren polisakkaritlerdir. Kitin, tüm fungal hücre duvarlarında bulunan genel polisakkarit bileşeni olarak rapor edilmiştir (Blake ve ark., 1999).

Bakterilerin gelişemediği çeşitli stres koşullarında fungusların hayatta kaldıkları bilinmektedir. Funguslar daha dayanıklı hücre çeperi yapılarına sahip olduklarından, yüksek ozmotik basınçlara dayanabilmektedirler. Funguslar geniş bir pH aralığına tolereans gösterebilmekte ve canlılıklarını sürdürebilmek için gerektiğinde, tuz veya şeker konsantrasyonunun yüksek olduğu solüsyonlardan suyu alabilmektedirler (Blake ve ark., 1999).

2.4.3. Virüsler

Virüsler heterojenik ve çok daha basit yapılı organizmaların bir grubunu oluşturmaktadırlar. Boyutları bakterilere kıyasla çok daha küçük olup, 0,01 ile 0,3 μm arasında değişmektedir. Virüslerin bağımsız bir metabolik aktiviteleri yoktur ve sadece canlı konakçıları enfekte ederek çoğalabilmektedirler. Virüsleri diğer canlılardan ayıran özelliklerinden birisi de, genetik materyal olarak DNA veya RNA'dan sadece birini içermeleridir. Çevredeki zararlı ajanlardan korumak amacı ile nükleik materyaller bir protein kılıf ile çevrelenmiştir. Protein kılıf, virüsün konukçusuna bağlanması için gerekli olan spesifik bir bağlanma bölgesi de sağlamaktadır. Bazı virüsler lipitler, polisakkaritler ve protein moleküllerinden oluşan bir dış zarfa da sahiptirler. Lipitler ve polisakkaritler virüsün konukçu hücre ile birleşmesini ve böylece içeri girişini kolaylaştırmaktadır (Blake ve ark., 1999).

Dış zarfa sahip olmayan bir virüs hücreyi tamamen farklı bir tarzda enfekte etmektedir. Enfeksiyon, konukçu hücrenin yüzeyindeki spesifik reseptör bölge üzerine virüsün protein kılıfının yüzeyindeki özelleşmiş bir

bölgenin bağlanması ile başlamaktadır. Bu bağlanma bir kez tamamlandıktan sonra virüsler konukçu hücre içine kendi genetik materyallerini bırakabilmekte ve kendi kopyalarını oluşturmak üzere konukçu hücrenin mekanizmasından yararlanabilmektedirler. Bu yeni oluşan virüsler diğer komşu hücreleri enfekte etmeye hazırdırlar. Bu yüzden, virüsleri yok etmenin anahtar proseslerinden birisi yüzey yapılarının, özellikle bağlanma bölgelerinin kontrol edilmesidir. Böylece, virüsler konukçu hücrelerdeki reseptör bölgeleri kolayca tanıyamamaktadırlar. TiO_2 fotokatalitik prosesinin hücre yüzeyi üzerine etkili biçimde saldırması sebebi ile, virüslerin yüzey yapılarını değiştirerek onların dezenfeksiyonunda uygulanabilir bir teknoloji olabileceği düşünülmektedir (Blake ve ark., 1999).

2.4.4. Kanser Hücreleri

Kanser hücreleri, sürekli kalıtsal değişikliğe maruz kalmış tek bir ebeveyn hücreden meydana gelmektedirler. Neoplastik transformasyon olarak adlandırılan bu proses birkaç mekanizma gerektirmektedir: DNA'ya doğrudan hasar (gen mutasyonları, translokasyonlar ve amplifikasyonlar), anormal gen transkripsyonu veya translasyonu (Blake ve ark., 1999).

Genellikle hayvan veya insan orjinli hücreler diğer hücrelerden bağımsız olarak in vitro koşullarda kültüre edilebilmektedir. Bu tip doku kültürü hem normal hem de kanserli hücrelerde doku gelişiminin kontrolünü incelemede en kullanışlı yöntem halini almıştır. Bir hücre kültüründeki normal hücreler bölünme yeteneklerini kaybetmeden önce, sadece sınırlı bir hücre

çoğalması geçirmektedirler. Ancak, kanser hücreleri bu kontrolden yoksundur ve sınırsız sayıda hücre bölünmesi yeteneğinde olup temel olarak ölümsüzdürler. Örneğin, başarılı bir şekilde kültüre edilmiş ilk kanser hücreleri 1951 yılında boyundaki epitel yapılarda oluşan kanserlerden (cervical carcinoma) izole edilmiştir. Bu hücreler Henrita Lacks'ın anısına HeLa hücreleri olarak adlandırılmıştır. Bu hücreler 40 yıldan daha fazla bir süre kültüre edilmiş ve azaltıcı bir etki olmaksızın sayısız hücre çoğalması gerçekleştirmiştir. HeLa hücreleri hala güçlü bir biçimde büyümekte ve dünya çapında kullanılmaktadır. Kültürde büyütülen normal hücreler izole edildikleri dokudaki hücrelere tipik olarak benzemekte ve bazı farklılıklar oluşturarak diğer dokulardan izole edilen hücrelerden ayırt edilmektedirler. Fakat kültürde büyütülen kanser hücreleri oluştukları dokudan tamamen farklı bir görünüş sergilemektedirler. Belli kanser hücreleri orjinlerinin tespit edilmesini sağlayacak ayırt edici farklılıklar göstermemektedirler (Blake ve ark. 1999).

2.5. TiO₂ ve Fotokatalitik Kimyanın Biyolojik Etkileri

2.5.1. Hücre Ölümünün Mekanizması

2.5.1.1. CoA'nın Oksidasyonu

TiO₂ fotokatalistlerinin birçok mikroorganizma üzerindeki bakterisidal etkisini tartışan çok sayıda yayın vardır fakat TiO₂ etkisinin çeşitli yollarını ortaya koyan sadece birkaç yayın mevcuttur.

Fotokatalitik proses aracılığıyla hücre ölümünü sağlayan birçok olası mekanizma mevcuttur. Bu mekanizmaların ilki Matsunaga ve ark. tarafından ortaya konmuştur. Bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* platinize edilmiş TiO_2 varlığında ışığa maruz bırakıldığına CoA'nın oksidasyonuna dair kanıtlar elde edilmiştir. TiO_2/Pt varlığında hücreler 120 dk. boyunca bir halojen lamba altında ışınlandıklarında intrasellüler CoA'nın % 97'den fazlasının kaybolduğu, buna kıyasla TiO_2 ortamda bulunmadığında % 42'sinin kaybolduğu ortaya konmuştur. Aynı koşullar altında muamele edilen hücrelerin solunum aktivitesinin de % 42 oranında düştüğü görülmüştür. İntrasellüler CoA düzeyindeki düşüşün solunum aktivitelerindeki düşüşün esas sebebi olduğu ve bunun neticesinde hücre ölümünün gerçekleştiği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Matsunaga ve ark., 1985).

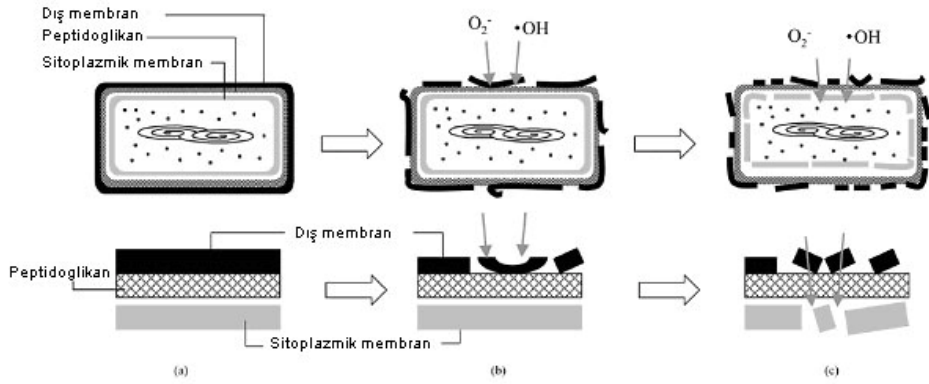
2.5.1.2. Hücre Çeperi ve Hücre Membranının Hasarı

Diğer araştırmacılar hücre çeperi ve hücre membranında hasar ortaya çıktığını ve bunun sonucu olarak hücre içeriğinin dışarıya sızdığına dair kanıtlar bulmuşlardır. Saito ve ark. *Streptococcus sobrinus* ile yapılan bir çalışmada, TiO_2 varlığında 3dk.'lık ışınlama sonucunda K^+ iyonunun hızlı bir şekilde hücre dışına sızdığını ve bunun da hücre ölümüne neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Reaksiyondan sonra yüksek konsantrasyonda K^+ ilavesinin canlılık kaybını engellemediği görülmüştür. Bu durum sadece K^+ kaybının direk hücre ölümüne sebep olmadığını düşündürmüştür. 120 dk. ışınlamadan sonra proteinler ve DNA gibi daha büyük molekülerin yavaş bir şekilde hücre dışı fraksiyona geçtikleri

görülmüştür. Bu da, daha büyük bir membran hasarının ortaya çıktığını düşündürmüştür. Elektron mikrografları bu basamakta birçok hücrenin parçalandığını göstermiştir. Bu esnada araştırmacılar ortam pH'sında bir düşüşün olduğunu görmüşlerdir. Bu düşüşün birçok asidik hücresel komponentin hücre dışına sızmasından ve bunlardan bazılarının CO₂'e mineralizasyonundan kaynaklanabileceğini düşünmüşlerdir. Elektron mikrografları TiO₂ partiküllerinin peptidoglikan tabakası ile 30 dk.'lık bir reaksiyona girmeden önce hücre membran yüzeyine ulaşamadıklarını göstermişlerdir. Buna karşın, hücre ölümü 1 ila 30 dk. içinde gerçekleşmektedir. Bu araştırmacılar, fotokatalitik koşullar altında muhtemelen reaktif oksijen türlerinin (ROS) ortaya çıktığını ve bu türlerin hücre membranına ulaşarak onun yapısını doğrudan tahrip ettiklerini tahmin etmişlerdir (Saito ve ark., 1992).

Işınlanmış TiO₂ aracılığıyla hücre membran hasarının ileriki aşamadaki kanıtları Sakai ve ark., (1994) tarafından ortaya konmuştur. Bu araştırmacılar insan malignant hücrelerini (T-24) bir TiO₂ –F12 solüsyonu (TiO₂= 100 veya 10 µg/ml) ile karanlıkta 24 saat inkübe etmişlerdir. Elektron mikrograf verilerine dayanarak, Sakai ve ark., (1994) TiO₂ partiküllerin sadece hücre membranının dış yüzeyinde değil sitoplazma içinde de dağıldıklarını bulmuşlardır. Bu olayın fagositozis yoluyla gerçekleşmesinin olası olduğunu düşünmüşlerdir. TiO₂'in hücre içine girmiş olmasına rağmen bu aşamada hücrelerin % 90'dan fazlasının hala canlı olduğu görülmüştür. Işığın etkisi ile bu hücreler fotokatalitik reaksiyonun ilk 10 dakikasında iki aşamalı Ca⁺⁺ sızıntı kinetikleri göstermişlerdir. Işınlamanın ilk 4. dakikasından sonra hücreler canlılığını sürdürürken intrasellüler Ca⁺⁺ konsantrasyonunda hızlı bir düşüş

gözlenmiştir. Daha sonra Ca^{++} düzeyi kısa bir süre için sabit kalmış ve bunu takip eden ikinci aşamada ortaya çıkan hızlı bir düşüşle birlikte canlılık şiddetle azalmıştır. Araştırmacılar başlangıç artışı, membrandaki Ca 'un dışarı akışına mal etmişler ve bu da hücre membranında küçük bir sızıntının meydana geldiğini düşündürmüştür. Onlar, daha ölümcül olan ikinci aşamanın, endoplazmik retikulum gibi organellerde veya Ca -bağlayıcı proteinlerde mevcut olan internal Ca stoklarındaki Ca 'un akışından kaynaklandığını vurgulamışlardır. Bu aşamada, hücre membranının büyük hasarı ve organeller gibi hayati intrasellüler komponentlerin dekompozisyonu gerçekleşmiş ve hücre ölümü kaçınılmaz olmuştur. Membran hasarının direk kanıtları Sunada ve ark., (2003b) tarafından yapılan bir çalışmadan ortaya çıkmıştır. Bu araştırmacılar *E.coli* endotoksininin hasarını ölçmek için, ince bir TiO_2 filmi kullanmışlardır. Endotoksin bakteriyel hücre zarfının integral bir bileşenidir ve sadece hücresel yapının bütünlüğü bozulduğu zaman hücre dışına çıkmaktadır. Bu nedenle, endotoksinin ortam içine salınımı dış membran hasarı için iyi bir indikatördür. Bu çalışmanın sonuçları, TiO_2 fotokatalitik reaksiyonunun *E.coli* hücrelerinin dış membranının hasarına ve ölü hücrelerden salınan toksik komponentlerin degradasyonuna sebep olduğu konseptini desteklemiştir. TiO_2 filmi üzerindeki *E.coli*'nin fotoöldürme prosesinin şematik görünümü Şekil 2.2'de verilmiştir (Sunada ve ark., 2003b).



Şekil 2.2 (a-c). TiO₂ filmi üzerindeki *E. coli*'nin fotoöldürme prosesinin şematik görünümü (Sunada ve ark., 2003b).

TiO₂ fotokatalistinin hem antibakteriyel hem de detoksifiye edici ajan olarak görev yapmasından dolayı, araştırmacılar onun çevresel uygulamalarda eşsiz olduğu sonucuna varmışlardır. Bütün *E. coli* hücrelerinin mineralizasyonu da son zamanlarda Jacoby ve ark., (1998) tarafından rapor edilmiştir.

Pseudomonas aeruginosa ile yapılan bir seri araştırma sonucunda, hücresel inhibisyon mekanizmasının bazı ipuçları elde edilmiştir:

a) Bakteride anormal bir hücre bölünmesi görülmüştür. Bölünen hücreleri kesin olarak ayıran bir septumun oluşmadığı, bunun yerine bölünen hücreler arasında ökaryotik hücrelerdeki sitokinezise benzeyen bir “köprünün” oluştuğu tespit edilmiştir.

b) Daha uzun süren bir ışınlamanın sonucunda (240 dk.) düzensiz şekilli bir hücre çeperine sahip bir bakteri hücresi meydana gelmiştir.

Ayrıca birçok hücrede hücre içeriğini dışarıya atan vesiküller görülmüştür. Buna karşın kontrol hücreleri uniform bir çepere sahip iken bu tipte vesikül oluşumu da görülmemiştir (Amezaga ve ark., 2003).

Yapılan başka bir çalışmada hücrel hasar bölgelerini ve onların hücre ölümüne olan etkilerini ortaya koymak amacı ile prob olarak o-nitrofenol β -D-galaktopiranosidaz (ONPG) ve model hücre olarak *E. coli*'nin kullanıldığı duyarlı bir yöntem geliştirilmiştir (Huang ve ark., 2000).

E. coli'nin β -D-galaktosidaz enzimi 4 bağlanma bölgesi içeren tetramerik bir enzimdir. Maksimum düzeyde indüklendiğinde *E. coli* β -D-galaktosidaz miktarı toplam hücre protein miktarının % 5'ni oluşturmaktadır (Huang ve ark., 2000).

Geçirgenlik probu olarak kullanılan o-nitrofenol β -D-galaktopiranosidaz (ONPG), intrasellüler β -D-galaktosidaz için sentetik bir kromojenik substrattır. Bu substrat *E. coli*'nin membran bütünlüğünü göstermek için kullanılmıştır. TiO_2 fotokatalitik uygulamasının akışı süresince *E. coli*'nin ONPG'ye karşı geçirgenliği, bu substratın hidroliz oranının ölçümü ile tespit edilmiştir. ONPG substratı intrasellüler β -D-galaktosidaz ile reaksiyona girmeden önce dış membrandan diffüz etmek zorundadır ve bir permaz araçlı prosesle sitoplazmik membrandan geçmelidir. ONPG'ye karşı membran geçirgenliğinin artması veya enzimin hücre dışına sızması ONPG'nin hidrolitik oranının artmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle bu eşsiz özellik hücre çeperi ve sitoplazmik

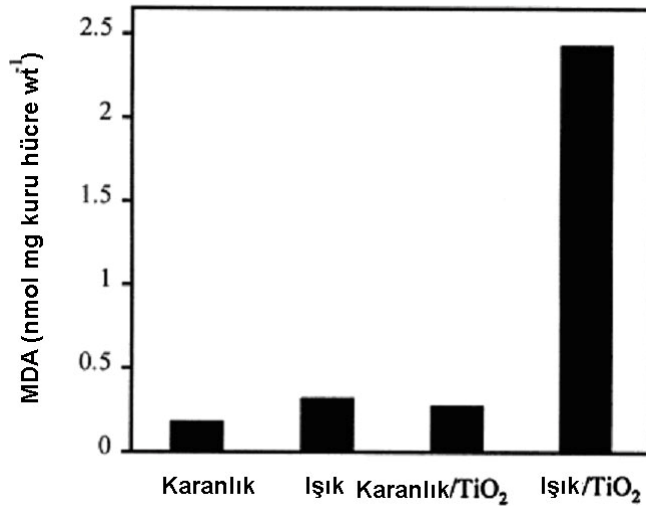
membranın bütünlüğünde meydana gelecek değişiklikler için, bir aracı olarak görev yapabilmektedir (Huang ve ark.,2000).

Zedelenmiş hücreler, sferoblastlar ve lizise uğratılmış hücreler için ONPG deneyleri hazırlanmıştır. TiO_2 muameli hücrelerin ONPG deneyi, hücre çeperi ve sitoplazmik membran hasarlarının düzeyini ölçmek ve hücre ölümü ile bağlantı sağlamak amacı ile kullanılabilmektedir. Işınlamadan 5 dakika sonra düşük oranda da olsa ONPG faaliyetinde belirgin bir artış olduğu görülmüştür. Bu artış, hücre çeperinin başlangıç hasarını ortaya koymuştur. Dış membran ve peptidoglikan tabakası tarafından oluşturulan bariyerin fotokatalitik reaksiyonunun 10-20 dakikası arasında güçlü bir şekilde hasara uğradığı görülmüştür. Bunu sitoplazmik membran hasarı takip etmiştir. Bu basamakta hücre, β -D-galaktosidaz gibi büyük moleküllere karşı bile geçirgen hale gelmiştir. TiO_2 fotokatalitik reaksiyonunun 30. dakikasından sonra filtrattan elde edilen önemli ölçüdeki β -D-galaktosidaz miktarı bunu doğrulamıştır. Bu basamakta sitoplazmik membranın şiddetli bir şekilde tahrip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, TiO_2 fotokatalitik reaksiyonunun başlangıç hedefinin mikroorganizmaların hücre zarı olduğunu ve bunun da hücre ölümünün öncelikli sebebi olduğunu doğrulamıştır (Huang ve ark., 2000).

Uzun süreli fotokatalitik reaksiyon, intrasellüler β -D-galaktosidaz aktivitesinde bir düşüşe sebep olmuştur. Kinetik veriler TiO_2 fotokatalitik reaksiyonunun hem hücre zarı hem de intrasellüler komponentler üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Hücre filtratı ve hücre lizatı içinde enzimatik aktivite kaybı belirlenmiş olması, TiO_2 partiküllerinin fotokatalitik reaksiyonunun intrasellüler komponentlerde (protein yapısını

değiştirmek gibi) çok önemli hasarlara sebep olabileceğini düşündürmüştür (Huang ve ark., 2000).

Yapılan bir çalışmada, membrandaki hasarı ölçmek amacı ile *E. coli* hücreleri tarafından üretilen ve lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malonaldehitin (MDA) üretimi araştırılmıştır. Işınlanmış TiO_2 'in *E. coli* hücrelerinin MDA üretimi üzerindeki etkisi farklı koşullar altında incelenmiştir. *E.coli* hücreleri ($2,5 \times 10^8$ cfu/ml) 0,1 mg/ml TiO_2 varlığında ve sürekli çalkalanmak sureti ile 30 dakika boyunca ışınlanmıştır (8W/m^2). Bunun sonucunda hücre kütleinin mg'ı başına 2,4 nmol MDA'nın üretildiği tespit edilmiştir. Fakat TiO_2 -hücre kültürü ışınlanmadığında mg başına sadece 0,28 nmol MDA saptanmıştır. TiO_2 yokluğunda karanlık ve ışıktaki kontrol hücrelerinde çok düşük düzeyde MDA tespit edilmiştir. Bu olay lipid peroksidasyon prosesinin hem ışık hem de TiO_2 'in varlığına bağlı olduğunu göstermiştir. Oda ışığında saklanmış TiO_2 solüsyonunun kullanıldığı bir fotokataliz denemesinde ise, ışıktaki ve karanlıkta daha düşük bir MDA düzeyinin tespit edildiği gösterilmiştir. Yüksek hücre konsantrasyonu ile düşük düzeyde TiO_2 kullanıldığında (0,1 mg/ml) üretilen MDA miktarı, karanlıktaki kontrole oranla 9 kat fazla olmasına rağmen, 30 dakika içinde canlı hücrelerin sadece % 44'ü ölmüştür. Işık ve TiO_2 'in *E. coli*'nin lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisi Şekil 2.3'te gösterilmiştir (Maness ve ark., 1999).



Şekil 2.3. Işık ve TiO₂'in *E. coli*'nin lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisi. Hücreler ($2,5 \times 10^8$ cfu/ml⁻¹) karanlıkta, sadece UV ışığında, karanlık+TiO₂, ışık+TiO₂ varlığında 30 dk. sürekli karıştırmak suretiyle inkübe edilmişlerdir (Maness ve ark., 1999).

Lipit peroksidasyonunu değerlendirmek için bir indeks olarak MDA miktarının kullanılmasının geçerliliği; MDA miktarının saptanmasının zorluğundan dolayı tartışma konusu olmuştur. MDA'nın fotokatalitik koşullar altında lipid peroksidasyonunun bir ürünü olduğunu ve zedelenmeyen hücrelerde diğer makromoleküllerin dekompozisyon ürünü olarak ortaya çıkmadığını kanıtlamak amacıyla *E. coli* membran fosfolipidi olan fosfatidiletanolamin model olarak kullanılmış ve onun peroksidasyonu araştırılmıştır. Fosfatidiletanolamin birçok bakteriyel hücre membranının baskın fosfolipitlerinden biri olduğundan bu bileşiğin kullanılması lipid peroksidasyonunun meydana geldiğini doğrulayabilmekte ve TiO₂'in biosidal etkisinde bu yol izinin kullanıldığı hipotezini de desteklemektedir (Maness ve ark., 1999).

Fosfatidiletanolamin (0,2 mg/ml) ve TiO_2 (1,0 mg/ml) 1 saat boyunca UV ile ışınladıklarında standart MDA-TBA metodu kullanılarak yaklaşık 0,72 μM MDA tespit edilmiştir. Karanlık kontrolden elde edilen MDA konsantrasyonu sadece 0,21 μM olmuş ve bunun da örnekte daha önceden var olan okside olmuş ürünlerin bir sonucu olduğu düşünülmüştür. Lipit peroksidasyon reaksiyonunu başlatmak için TiO_2 fotokatalistinin etkinliği ve denemede bir indeks bileşik olarak MDA kullanımının geçerliliği, bu deneme aracılığı ile kanıtlanmıştır (Maness ve ark., 1999).

Bakteriyel hücre membranı solunum zincirinin temel bileşenlerini içerdiğinden, TiO_2 fotokatalizisinin hücresel solunum aktiviteleri üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. *E. coli* hücreleri ($1,2 \times 10^8$ cfu/ml) TiO_2 ile birlikte belirli sürelerde ışınladıklarında, kinetik veriler reaksiyon süresi boyunca solunum aktivitesinde bir düşüşün olduğunu göstermiştir. Bu kinetiklerin hücre canlılığının kaybı ile uyumlu oldukları görülmüştür. Canlılık ve solunum aktivitesinin gittikçe artan kaybı, lipit peroksidasyon kinetikleri ile paralellik göstermiştir (Maness ve ark., 1999).

Lipit peroksidasyon prosesinin bir diğer ciddi etkisi; bu prosesteki birçok ara ürünün önemli biyolojik moleküllerle reaksiyona girebilmesi ve ilave hasarlara sebep olmasıdır. Ayrıca lipit peroksidasyon ürünlerinin mutajenik olabileceği düşünülmüştür. MDA'nın kendisinin oldukça reaktif olduğu ve karbonilasyon yolu ile proteinleri modifiye edebildiği veya protein-MDA çiftleri oluşturabildiği bildirilmiştir (Maness ve ark., 1999).

2.5.1.3. Hücresel Moleküllerin Fotokatalitik Hasarı

Yapılan araştırmalarda organik komponentlerin fotokatalitik oksidasyonu gözlenmiştir. Bu nedenle karbonhidratların, lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin hasara uğrayabileceği ve bunun da hücre ölümüne sebep olabileceği şaşırtıcı olmamıştır. Sulu solüsyonda L-lisin ve L-arginin gibi temel L-amino asitlerinin adsorpsiyonunda TiO_2 görünür bir aktivite göstermiştir. TiO_2 ayrıca kültür süpernatantından çeşitli bakteriosinlerin absorpsiyonunda ve inaktivasyonunda da etkili olmuştur. 75W civa lambası ile ışınlanmış 2,0 mg/ml TiO_2 varlığında çeşitli amino asitlerdeki azot grubunun predominant olarak NH_3 'e dönüştüğü tespit edilmiştir. DNA ve RNA bazlarının TiO_2 fotodegradasyonu nitrat, CO_2 ve amonyumun ortaya çıkmasıyla doğrulanmıştır. TiO_2 yüzeylerindeki serbest radikal aktivitesini göstermek amacıyla sentetik supercoil plazmit DNA kullanılmıştır. 37°C 'de 8 saat inkübasyondan sonra konsantrasyonları 0,05-0,15 mg/ml arasında değişen çok küçük ve normal büyüklükteki TiO_2 partiküllerinin plazmit DNA kırılmasına neden olabilecekleri tespit edilmiştir. Bu tip DNA hasarının UV ışınlaması ile daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Taklit edilmiş güneş ışığında 10 dakikalık ışınlamadan sonra % 0,0125 TiO_2 varlığında doğrudan DNA iplik kırılımı gözlenmiştir. Aynı denemeler anataz formun rutilden daha aktif olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra TiO_2 oksidasyonu aracılığıyla meydana gelen DNA ve RNA hasarı sadece iplik kırılmasına dayandırılmamıştır. Buzağı timus DNA'sında guaninin hidroksilasyonu tespit edilmiştir. Normal insan hücreleri ve kanser hücrelerindeki DNA da ışınlanmış TiO_2 aracılığıyla hasara uğratılabilmiştir. Bu bulgular TiO_2 'in endositozisi ile tutarlılık göstermiştir. Hücresel RNA'nın TiO_2 tarafından indüklenen oksidatif hasara DNA'ya oranla daha

duyarlı olduğu bulunmuştur. DNA'nın hücre nükleusu ile ayrılması buna olası bir açıklama olmuştur. TiO_2 partiküllerinin adsorpsiyonu ve neticede hücreler tarafından alınımını gösteren kanıtlar akciğer makrofajları için rapor edilmiştir (Blake ve ark., 1999).

2.5.2. Bakteri, Fungus ve Mayalar

Fotokatalitik dezenfeksiyon konusunda ilk çalışma Matsunaga ve ark. tarafından 1985 yılında gerçekleştirilmiştir. Bunu takiben bu konuya ilgi artmıştır. Fotokatalitik dezenfeksiyon çalışmalarında *E. coli* en fazla çalışılan organizma olmuştur. Çoğu çalışma işlem görmüş ikincil atık sular ve göl suları dışında, laboratuvar kültüründe büyüyen organizmalar ile yapılmıştır. Organizmaları geliştirmek için genel prosedür; organizmaları büyütmek, organizmaları kültür ortamından ayırmak, yıkamak ve daha sonra konsantrasyonu bilinen tampon tuz çözeltisi ya da deiyonize suda tekrar süspande etmektir. Aynı yöntem havanın dezenfeksiyon çalışmalarında da kullanılmıştır (Blake ve ark., 1999).

Rincon tarafından yapılan bir çalışmada *E. coli* bakterisinin fotokatalitik inaktivasyonu üzerine fiziksel parametrelerin etkisi değerlendirilmiştir. Bunlar arasında ışık yoğunluğu, ışınlama süresi, sıcaklık, bulanıklık, süspande edilmiş ve fikse edilmiş katalistin miktarı yer almaktadır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir: Kesikli ışınlama *E. coli* inaktivasyonu için gerek duyulan sürenin artışına yol açmıştır. Işınlamanın kesilmesi boyunca bakterilerin kendi savunma mekanizmalarını geri kazanmak için belli bir süreye sahip oldukları

düşünülmüştür. Hücrelerin oksidasyon streslerine karşı temel savunma mekanizmalarından birisi süperoksit dismutaz (SOD) enziminin sentezidir. Bu enzim süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. Gram negatif bakterilerde ayrıca oksidatif strese yanıt olarak katalaz enzimi üretilmektedir. Bu enzim hidrojen peroksiti suya ve oksijene parçalayarak hücre içi konsantrasyonunu düşürmektedir. Böylece SOD enzimi birçok OH radikalini nötralize etmekte, katalaz enzimi ise ışıkla oluşan H_2O_2 'yi elimine etmektedir (Rincon ve Pulgarin, 2003).

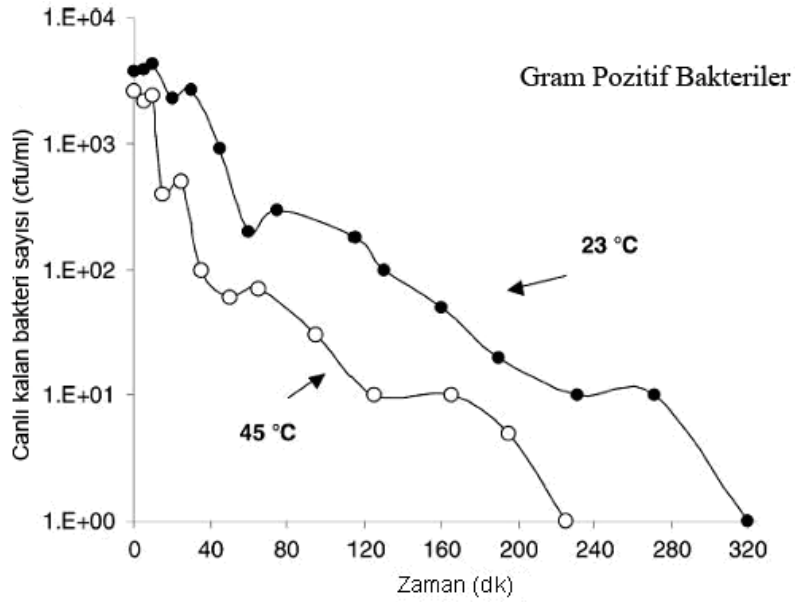
Işıkla muamelenin başlangıcında ışınlamanın durdurulması ototamir mekanizmasının devreye girmesini sağlamış ve tam bir dezenfeksiyon için gerek duyulan süreyi arttırdığı görülmüştür. Buna karşın, uzun süreli bir ışınlamadan sonra kısa süreli karanlığın bakterilerin inaktivasyon oranını etkilemediği saptanmıştır. *Bacterioides fragilis* bakterisinin ışınlanması 6 dakika boyunca kesildiğinde tam bir fotokatalitik dezenfeksiyona ulaşmak için ışınlama süresinin benzer şekilde uzadığı tespit edilmiştir. Ancak, bu duruma her koşulda rastlanmamıştır. Yapılan bir çalışmada kesikli radyasyonun canlı MS2 bakteriyofaj sayısının azalmasında daha etkili olduğu görülmüştür. Pham ve ark., kesikli ışınlamanın sürekli ışınlamaya oranla canlı *Bacillus pumilus* sporlarının sayısını azaltmada daha başarılı olduğunu saptamışlardır. Böylece, mikroorganizmaların ışınlamanın kesilmesine verdikleri yanıtın her organizmaya göre değiştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak ışıkla muamele durdurulduğu zaman geri dönüşümsüz bakteriyel inaktivasyonu arttırmak için ihtiyaç duyulan minimum ışınlama süresinin (kesikli veya sürekli) her

bir mikroorganizma için saptanmasının çok önemli olduğu vurgulanmıştır (Rincon ve Pulgarin, 2003).

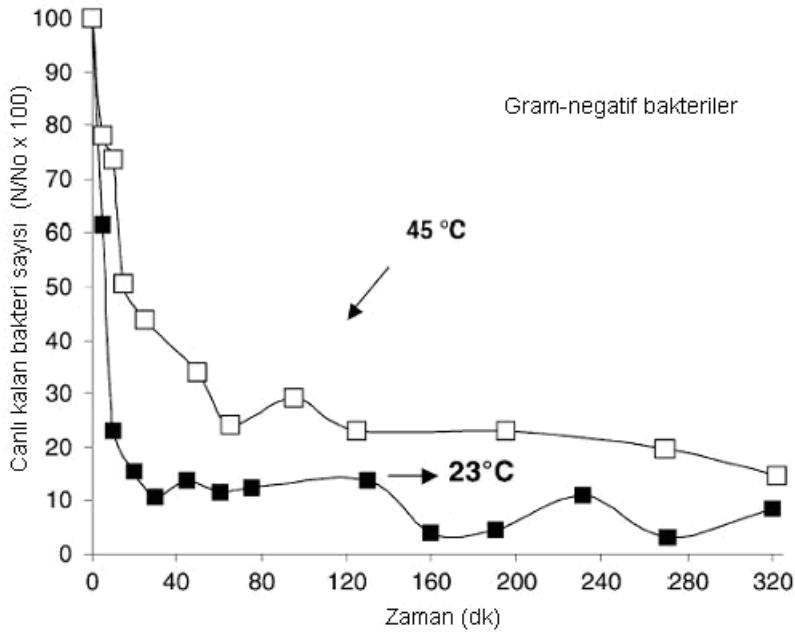
Kontamine TiO₂ süspansiyonunun ışınlanmasından sonra bakteriyel büyüme gözlenmemiştir. Buna karşın, katalizör yokluğunda ışınlanmış bakterilerin, karanlıkta 3 saat sonunda başlangıç konsantrasyonuna tekrar ulaştıkları tespit edilmiştir. Katalizör yokluğundaki bakteriyel inaktivasyon katalizör varlığındakine kıyasla, ışık şiddetinin 400 W/m²' den 1000 W/m²'ye arttırılması durumunda daha etkili olmuştur. 1,0g/l'den daha yüksek TiO₂ konsantrasyonları her iki ışık şiddeti için de başlangıç inaktivasyon oranında önemli bir artışa yol açmamıştır. Fakat 1000 W/m²'lik ışık şiddetinde 0,25 ile 1,5 g/l arasında değişen TiO₂ konsantrasyonu toplam inaktivasyon zamanını 400 W/m²'lik ışık şiddetindeki gibi etkilememiştir (Rincon ve Pulgarin, 2003).

Sıcaklığın fotokatalitik inaktivasyona olan etkisi şu şekilde açıklanmıştır: Enterokoklar gibi Gram pozitif bakteriler için 23°C'den 45°C'ye bir sıcaklık artışının fotokatalitik dezenfeksiyon oranını arttırdığı saptanmıştır. Buna karşın Gram negatif bakterilerde, sıcaklık artışı ile birlikte fotokatalitik dezenfeksiyona olan direncin arttığı belirlenmiştir. Buna ilaveten, sıcaklık artışının koliformların fotokatalitik inaktivasyonunda pozitif bir etkisinin olduğu bulunmuştur. Denenen sıcaklıklarda 320 dakikalık ışınlamadan sonra, Gram pozitif bakteriler elimine olurken Gram negatif bakteriler olmamıştır. Bu durum fotokatalitik uygulamalara karşın farklı bir direncin oluştuğunu düşündürmüştür. Bu olayın da bu iki grup arasındaki morfolojik farklılıklardan kaynaklanabileceği vurgulanmıştır. *E.coli* bu uygulamadan en çok

etkilenen bakteri olmuştur. *E.coli*'nin % 100 inaktivasyonu için gerekli olan süre 23°C'de 120 dakika ve 45°C'de 35 dakika olarak saptanmıştır. Sıcaklık artışının Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin fotokatalitik dezenfeksiyonu üzerindeki etkisi Şekil 2.4 ve 2.5'te gösterilmiştir (Rincon ve Pulgarin, 2003).



Şekil 2.4. Sıcaklık artışının Gram pozitif bakterilerin fotokatalitik dezenfeksiyonu üzerindeki etkisi, TiO₂ (0,5 g/l) (Rincon ve Pulgarin, 2003).



Şekil 2.5. Sıcaklık artışının Gram negatif bakterilerin fotokatalitik dezenfeksiyonu üzerindeki etkisi TiO_2 (0,5 g/l) (Rincon ve Pulgarin, 2003).

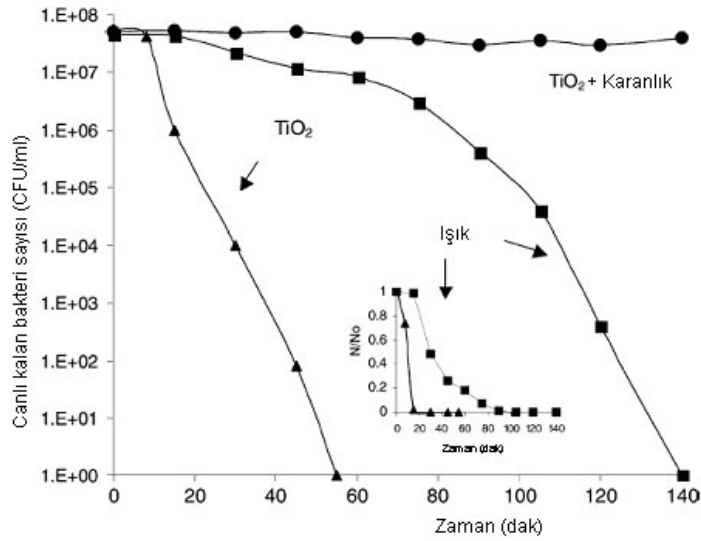
Suyun bulanıklığı bakterilerin fotokatalitik inaktivasyonunu olumsuz yönde etkilemiştir. Nafion membranlar üzerine immobilize edilmiş olan TiO_2 'in *E.coli* inaktivasyonu, aynı TiO_2 konsantrasyonuna sahip bakteriyel süspansiyon için tespit edilen değere yakın bir etkinlik düzeyinde saptanmıştır. Cam üzerine fikse edilmiş TiO_2 ile ilgili olarak; total inaktivasyon için gereken doz, fikse edilmiş TiO_2 miktarının artışı ile düşüş göstermiştir. Fikse edilmiş TiO_2 P-25, immobilize rutil ve anataza oranla fotokatalitik inaktivasyon için daha aktif olmuştur. Fakat, fikse edilmiş rutil anataza benzer şekilde *E. coli* inaktivasyonunu arttırmıştır (Rincon ve Pulgarin, 2003).

Işık kaynağının ve reaktör konfigürasyonunun seçimi yüksek oranda farklılık göstermektedir. Genellikle yapılan çalışmalar, suda çözünen TiO_2 'in karanlıkta, bakterilerin canlılıklarını önemli ölçüde etkilemediğini göstermiştir. Işıkla birlikte TiO_2 kullanıldığında görülen etki sadece ışık kullanıldığında meydana gelen etkiden daha fazla olmuştur. Fakat bazı ışık kaynakları tek başına kullanıldıklarında koloni oluşturma birimlerinde önemli bir azalmaya sebep olmuşlardır. Bu durumun 300 nm'nin altındaki dalga boyuna sahip lambaların kullanılmasından veya reaksiyon düzeneğinin daha kısa dalga boylarına geçirgen olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada 380 nm'nin altında bir foton enerjisi veren iki lamba kıyaslanmıştır. 315 nm'nin altında % 41 verim gösteren lamba % 4 verim gösteren lambaya oranla hem TiO_2 'in varlığında hem de TiO_2 olmadan daha yüksek öldürme potansiyeli göstermiştir (Blake ve ark., 1999).

Anatazin bant aralığı ile iyi bir eşleşme gösterdikleri için 365 nm'de ışımaya sahip siyah floresan ışık kaynakları en çok kullanılanlardır. Civa ark ve xenon ark lambaları da 290 nm'nin altındaki UV ışığını elemine etmek amacı ile bir pyrex filtre ile birlikte kullanılmaktadırlar. 578 nm'de pik veren beyaz floresan lambaları, metal halojen lambalar ve projektör lambalarının kullanıldığı bazı çalışmalar vardır. Fotokatalist olarak platinize edilmiş TiO_2 'nin kullanıldığı bir çalışmada aynı foton akımına sahip metal halojen, xenon ve beyaz floresan lambaları *S. cerevisiae* üzerindeki etkileri kıyaslanmıştır. Canlılık oranları sırası ile % 27, % 46 ve % 58 olmuştur (Blake ve ark., 1999).

Güneş ışığının, TiO_2 'i aktive etmek için yeterli olan bir ışığa sahip olduğu bildirilmiştir. Dezenfeksiyon uygulamalarında bundan yararlanılmıştır (Blake ve ark.,1999).

Rincon'un yaptığı bir çalışmada, *E. coli* üzerine güneş ışığının bakterisidal etkisi TiO_2 katalistinin varlığında ve yokluğunda araştırılmıştır. TiO_2 yokluğunda, bakteriyel inaktivasyonun ışınlamanın ilk saati boyunca oldukça yavaş olduğu ve giderek artan bir oranda devam ettiği gözlenmiştir. Stres altındaki hücrelerde “kendini-savunma” mekanizmaları UV aracılığıyla indüklenmiştir ve bu durum ışıkla muamelenin ilk basamağı boyunca ışığın etkisinin kısmen azalmasına sebep olmuştur. Buna karşın, TiO_2 varlığında bu olayın gerçekleşmediği görülmüştür. Bunun sebebinin; TiO_2 varlığında fazla miktarda oluşan OH radikalının bakterilerin kendi savunma mekanizmalarını hızlı bir şekilde bloke etmesi ve sonuç olarak 5 dakikalık ışınlamanın ardından, bakteri konsantrasyonunun hızlı bir şekilde azalmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır. *E.coli*'nin zamana bağlı olarak güneş ışığı aracılığıyla inaktivasyonu Şekil 2.6'da gösterilmiştir (Rincon ve Pulgarin, 2003).



Şekil 2.6. *E.coli*'nin zamana bağlı olarak güneş ışığı aracılığıyla inaktivasyonu. Başlangıç hücre konsantrasyonu 10^7 cfu/ml, TiO_2 (0,75 g/l) (Rincon ve Pulgarin, 2003).

Bazı araştırmacılar, hücre süspansiyonu titanyum dioksitde eklendiğinde koloni oluşturma birimlerinde bir düşüşün olduğunu rapor etmişlerdir. Bu olayın, hücrelerle TiO_2 partiküllerinin bir araya gelerek kümeleşmesinden ve hücrelerin çökmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu etki *Streptococcus sobrinus* bakterisi kullanılarak incelenmiştir. Kümelerin boyutunun hem TiO_2 hem de hücre konsantrasyonuna bağlı olduğu bulunmuştur. TiO_2 miktarı 0,1 mg/ml'den fazla ve hücre konsantrasyonu 10^8 cfu/ml'den çok olduğunda kümelerin boyutu 1,0 mm'den büyük olmuştur. Benzer bir etki virüslerde de saptanmıştır (Blake ve ark., 1999).

Süspansiyonların içine TiO_2 partikülleri ilave edildiğinde meydana gelen etki farklı sonuçlarla kendini göstermiştir. *E.coli* ve total koliformların hasarı TiO_2 konsantrasyonu 2,0 mg/ml olduğunda maksimum

seviyede olmuş ve TiO_2 miktarının artışı ile düşüş göstermiştir. Siyah ışığın kullanıldığı çalkalamalı reaktördeki yüzey sularının *E.coli*'den arındırılması için gerekli olan optimum TiO_2 miktarının (P25) 1,0 mg/ml olduğu saptanmıştır. Işık kaynağı olarak optik fiberlerin kullanıldığı bir reaktörde *Escherichia coli*'nin maksimum inaktivasyonunun 0,0025 mg/ml TiO_2 konsantrasyonunda gerçekleştiği ve 0,25 mg/ml'nin üzerinde ölüm oranında hızlı bir düşüşün olduğu görülmüştür. Optimum TiO_2 miktarının; *Serratia marcescens* için 0,1 mg/ml, *Bacillus pumilus* için 2,0 mg/ml ve *Pseudomonas stutzeri* için 4,0 mg/ml olduğu belirtilmiştir (Blake ve ark., 1999).

Birçok araştırmada TiO_2 'in anataz formu kullanılmıştır. Rutilin *Streptococcus cricetus*'un ölümünde aktif olduğu fakat *Streptococcus rattus*'u öldürmediği rapor edilmiştir. Rutil üzerindeki platin *E. coli* ve *S. aureus*'un ölüm oranını arttırmıştır. Rutil üzerine ilave edilen % 10 oranındaki platin 120 dk'lık reaksiyon süresince *Saccharomyces cerevisiae*'nin ölümünü % 80'den % 100'e çıkarmıştır (Blake ve ark., 1999).

Yapılan çalışmalarda başlangıç hücre konsantrasyonunun hücre ölüm oranına etkisinin değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. 10^3 cfu/ml'ye kadar olan konsantrasyonda oran genellikle başlangıç hücre konsantrasyonundan bağımsız olmuştur. Hücre sayısı 10^2 'den 10^5 cfu/ml'ye çıktığında canlılık yüzdesi 0'dan % 84'e çıkmıştır. *Bacillus pumilus* sporları için hücre ölümü, 10^4 - 10^9 cfu/ml arasındaki konsantrasyonlarda artmış bunu takiben 10^{10} cfu/ml'deki konsantrasyonda azalmıştır (Blake ve ark., 1999).

Işık ve ultrasesin kombine edilmesi süspande edilmiş TiO_2 varlığındaki *E. coli*'nin ölüm oranını arttırmıştır. Işınlanmış TiO_2 kaplı elektroda pozitif yüklü voltaj uygulandığında *E. coli* ve *Clostridium perfringens* sporlarının uzaklaştırılması önemli ölçüde artmıştır (Blake ve ark., 1999).

Başka bir çalışmada ticari TiO_2 filtresi ve cam üzerine immobilize edilmiş TiO_2 fotokatalitik yüzeyler olarak kullanılarak *Bacillus subtilis* ve *Penicillium citrinum*'a karşı denenmiştir. Işık yoğunluğu 240, 740, 1400 ve 2100 wW/cm^2 olarak uygulanmıştır. Yüksek miktardaki siyah ışık yoğunluğu yüksek oranda mikroorganizma inaktivasyonuna sebep olmuştur. Her iki yüzey matriksinde sadece fotokatalizisin değil aynı zamanda fotolizisin *P. citrinum* üzerinde germisidal etkileri gözlenmiştir. *B. subtilis* için ise fotolizis fotokatalizisten daha etkin olmuştur. Ayrıca TiO_2 filtresinin mikroorganizma inaktivasyon oranları hem *B. subtilis* hem *P. citrinum* için immobilize TiO_2 'e oranla daha düşük olmuştur. 740 wW/cm^2 ışık yoğunluğunda TiO_2 filtresinin ölçülen % 50 canlılık inaktivasyon zamanı *B. subtilis* ve *P. citrinum* için sırasıyla 0,99 ve 2,55 saat olmuştur. İmmobilize edilen TiO_2 için ise sırasıyla 0,61 ve 1,64 saat olmuştur. Buna ilaveten her iki sistemde de *P. citrinum*'un inaktivasyon oranı *B. subtilis*'ten daha az olmuştur. Bu da *P. citrinum*'un *B. subtilis*'e oranla daha dirençli olmasından kaynaklanmıştır (Lin ve Li, 2003).

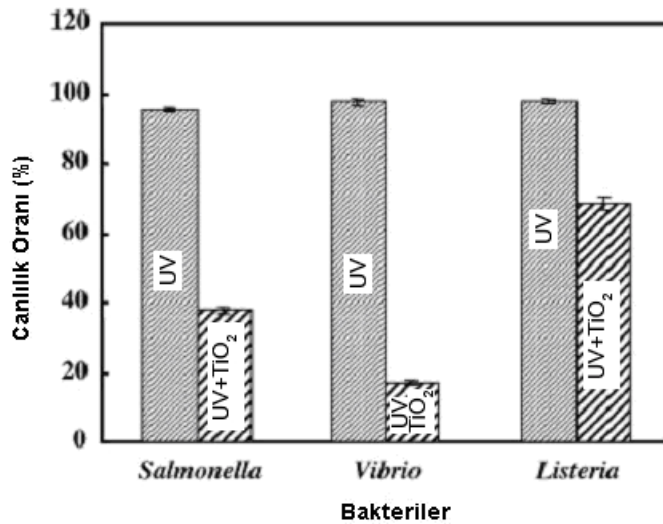
Yapılan bir çalışmada platinize edilmiş TiO_2 ve bir metal halojen lamba kullanılarak fotokatalitik etki aracılığıyla dört farklı organizmanın ölüm oranı karşılaştırılmıştır. Buna göre; *Lactobacillus acidophilus* (G+), *Escherichia coli* (G-), *Saccharomyces cerevisiae* (maya) ve *Chlorella*

vulgaris (alg) sırasıyla % 100, % 20, % 54 ve % 45 oranında deaktive edilmiştir. İlk üç organizma 60 dakikada deaktive olurken son organizma için gereken süre 120 dakika olmuştur. Bunun da hücre çeperi kalınlığı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (Blake ve ark., 1999).

Yapılan bir çalışmada hijiyenle ilgili organizmalar olan *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* ve *Candida albicans*, TiO₂ kaplı plaklar üzerinde test edilmiştir. İndirgenme katsayısı sırasıyla şu şekilde olmuştur; *E. coli* > *P. aeruginosa* > *S. aureus* > *E. faecium* > *C. albicans*. Hücre çeperinin kompleksliği ve yoğunluğu da aynı sırada artmaktadır. *E. coli* ve *P. aeruginosa* G (-) olmaları nedeniyle ince ve gevşek bir hücre çeperine, *S. aureus* ve *E. faecium* Gram (+) olmaları sebebiyle daha kalın ve daha yoğun bir hücre çeperine sahiptirler. *C. albicans* ise kalın ökaryotik bir hücre çeperine sahiptir (Kuhn ve ark., 2003)

TiO₂ fotokatalistleri gıda ve çevre endüstrisinde de fotokatalitik sterilizasyon için bir materyal olarak büyük dikkat çekmektedirler. Yapılan bir çalışmada, yeni bir fotobiyoreaktör dizayn edilmiş ve gıda orijinli bazı patojenik bakterilerin (*Salmonella choleraesuis* subsp., *Vibrio parahaemolyticus* ve *Listeria monocytogenes*) sterilizasyon uygulamaları açısından test edilmiştir. Fotokatalitik reaksiyon TiO₂'nin farklı konsantrasyonlarında ve farklı UV ışınlama zamanına bağlı olarak gerçekleştirilmiştir. UV ışınlaması ile birlikte TiO₂ kullanıldığında bir sinerjistik etkinin meydana geldiği görülmüş ve bu durumda bakterisidal etkinin TiO₂ kullanılmadan yapılan ışınlamaya oranla çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. TiO₂ konsantrasyonu 1,0 mg/ml'ye yükseldiğinde

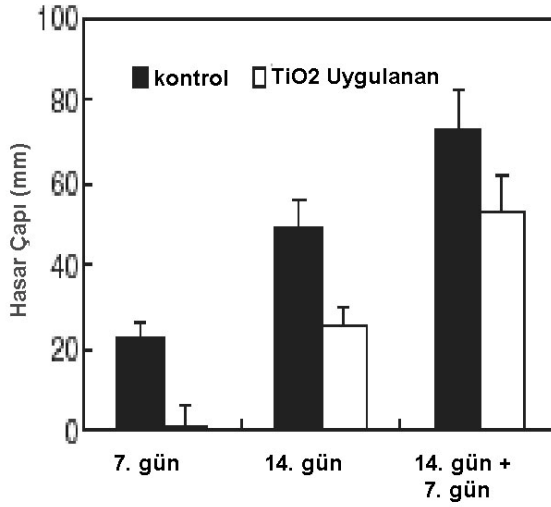
bakterisidal etkinin de yükseldiği görülmüştür. Fakat TiO_2 konsantrasyonu 1,25 mg/ml'nin üzerine çıktığında bütün test edilen bakteriler için bakterisidal etkinin hızlı bir şekilde azaldığı görülmüştür. UV ışınlama zamanı bütün bakterilerin canlılığını önemli ölçüde etkilemiş ve farklı ölüm oranlarının ortaya çıkmasını sağlamıştır. *Salmonella choleraesuis* subsp., ve *Vibrio parahaemolyticus*'un 3 saat ışınlamadan sonra tamamının öldüğü, buna karşın *Listeria monocytogenes*'in daha dirençli olduğu ve % 87'nin öldüğü görülmüştür. 30 dakika UV ışınlaması ve 1,0 mg/ml TiO_2 konsantrasyonunda farklı bakterilerin hücre canlılığının kıyaslanması Şekil 2.7'de verilmiştir (Kim ve ark., 2003).



Şekil 2.7. 30 dakika UV ışınlaması ve 1 mg/ml TiO_2 konsantrasyonunda farklı bakterilerin hücre canlılığının kıyaslanması (Kim ve ark., 2003).

Toz şeklindeki TiO_2 'nin ve TiO_2 kaplı plastik filmlerin *Penicillium expansum*'a karşı fotokatalitik aktiviteleri in vitro ve meyve testleri ile araştırılmıştır. İn vitro test için *P. expansum*'un konidial süspansiyonu ve

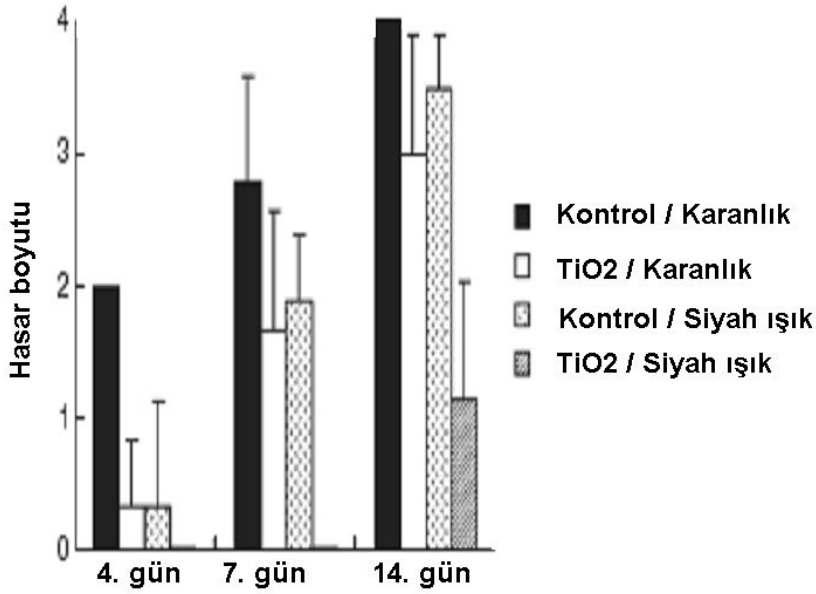
TiO₂ tozunun bir karışımı Patates Dekstroz Agar (PDA) plaklarına eklenmiştir. TiO₂ fotokatalitik reaksiyonu fungal patojenin konidia üretimini azaltmıştır. TiO₂ fotokatalitik reaksiyonunun *P. expansum*'un büyümesini baskılamadaki yeteneğinin, eklenen TiO₂ miktarına bağlı olduğu bulunmuştur. 1,0 ve 10,0 mg TiO₂/l ml uygulamaları UVA ışınlaması ile kombine edildiğinde, *P. expansum*'un canlı kolonilerinin sayısında farklılık olduğu görülmüştür. TiO₂ fotokatalitik reaksiyonunun elmalardaki *Penicillium* çürüklüğünün gelişimi üzerine olan etkisi Şekil 2.8'de gösterilmektedir (Maneerat ve Hayata, 2005).



Şekil 2.8. TiO₂ fotokatalitik reaksiyonunun elmalardaki *Penicillium* çürüklüğünün gelişimi üzerine olan etkisi n = 10 örnek (Maneerat ve Hayata, 2005).

Elmalardaki *Penicillium* çürüklüğünün gelişimi TiO₂ fotokatalitik reaksiyonu aracılığı ile etkili bir şekilde engellenmiştir. Çapı 20 mm'den büyük olan lezyonlar kontrol uygulamasında inokülasyondan 7 gün sonra ortaya çıkarken, TiO₂ fotokatalitik reaksiyonunu içeren uygulamada

inokülasyondan 14 gün sonra ortaya çıkmıştır. Işınlanan TiO_2 yüzeyinde meydana gelen ROT'nin elmalardaki *P. expansum*'un büyümesini inhibe ettiği düşünülmüştür. Benzer sonuçlar Hur ve ark., (2005) tarafından rapor edilmiştir. Bu araştırmacılar soğukta depolama boyunca kivilerdeki hastalık gelişiminin TiO_2 fotokatalitik ozonasyonu ile engellendiğini tespit etmişlerdir. Işınlanan TiO_2 yüzeyinde üretilen O_2^- ozon ile reaksiyona girerek ozonit iyonu ve neticede $\text{OH}^\cdot$ radikali oluşturmaktadır. Ozon gibi güçlü oksidantlar bitki dokuları ile reaksiyona girebilir. Hur ve ark., (2005) çalışmalarında TiO_2 fotokatalitik ozonasyonu aracılığı ile hiç bir meyve hasarına rastlamadıklarını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada fotokatalitik proses boyunca üretilen ROT'leri ile etkilenen meyve yüzeyinde 1 haftalık depolama süresinde herhangi bir hasar görülmemiştir. Fotokatalitik reaksiyon 2 hafta boyunca devam ettiğinde hafif buruşma noktaları ilk olarak elmalarda tespit edilmiştir. Buna karşılık, domateslerde 2 haftalık depolama boyunca buruşma noktaları veya diğer yüzey bozuklukları görülmemiştir. Diğer yandan, Şekil 2.9'da da görüldüğü gibi inokülasyondan 7 gün sonra TiO_2 ve UVA ışınlamasının (iki adet 20W'lık siyah ışık) kullanıldığı örnekler hariç bütün domateslerde fungal bozulma tespit edilmiştir (Maneerat ve Hayata, 2005).



Şekil 2.9. Depolama süresince domateslerde görülen meyve çürüklük gelişiminin boyutu (Hasar boyutu: 0, hiç yok; 1, çok az; 2, tüm meyve yüzeyinin % 25'ten daha azı; 3, tüm meyve yüzeyinin % 50'den daha azı; 4, tüm meyve yüzeyinin % 50'den daha fazlası. n = 10 örnek) (Maneerat ve Hayata, 2005).

Pratik uygulamalar için meyve paketlerinde kullanılmak üzere TiO_2 kaplı plastik bir film geliştirilmiştir. TiO_2 kaplı bir filmin gösterdiği antifungal aktivite, limonlardaki meyve çürüklüğünü kontrol edebilmiştir. Kaplanmayan filmlerde depolanan limonlarda, TiO_2 kaplı filmlerde depolananlara oranla hasat sonrası çürüklük daha fazla olmuştur. Zarara uğrayanların ortalama sayısı kaplanmayan ve TiO_2 kaplanan film için sırasıyla 3,2 ve 1,9 olmuştur. Bu sonuç, plastik film üzerindeki ince bir TiO_2 tabakasının *P.expansum*'a karşı fotokatalitik reaksiyon oluşturduğunu doğrulamıştır. TiO_2 kaplı film limonda herhangi bir yüzey hasarına sebep olmamıştır (Maneerat ve Hayata, 2005) .

2.5.3. Dental Uygulamalar

Ağız, mikropların çok farklı ve geniş popülasyonunu barındıran bir yerdir. En az 37 bakteri cinsini içeren 350'den fazla takson ağızımızda bulunmaktadır. Hücrelerin birbiri ile co-agregasyonu, birçoğu dental plaklardan identifiye edilen 18 genus ile doğrulanmıştır. Temel olarak ağız florasındaki bütün bakteriler hücrelerin birbiri ile interaksiyonunu sağlayan yüzey moleküllerine sahiptirler. Dişlerin profesyonel olarak temizlenmesinden sonraki ilk 4 saat boyunca en erken koloni oluşturanlar ezici bir üstünlükle streptokoklar olmuştur. Bunlar kültüre edilebilen hücrelerin % 47'den % 85'e kadarını kapsamaktadır. 12 saat boyunca popülasyon çeşitlilik göstermekte ve aktinomisetleri, kapnositofajları, provotellaları propionibakterleri ve veillonellaları kapsamaktadır. Bazı kariojenik streptokoklar dişe tutunma yeteneklerine yardımcı olan ekstreşellüler glükanlar ve bir yüzey proteini salgılamaktadır. Oral bakteriyel yapışma ağız hijiyeni için önemli bir sorundur. Ağızda bulunan bakteriler üzerine fotokatalitik uygulamaların etkisini araştıran bir seri çalışma yapılmıştır. Test edilen bakteriler *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus cricetus*, *Candida albicans* ve *Actinomyces viscosus*'u içermektedir. *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melanigenica*, *Actinomyces actinomycetemcomitans*, *Actinomyces naeslundii* ve *Actinomyces viscosus* üzerinde yapılan in vivo antibakteriyel testlerinde titanyum metalinin dental metal implantleri içerisinde en aktiflerinden biri olduğu bulunmuştur. Yeni bir diş fırçasının üzerinde birkaç hafta sonra mikropların geniş bir spektrumuna rastlanabilmektedir. Bir dizi seçici büyüme ortamının kullanıldığı bir

çalışmada diş fırçasının taşıdığı toplam mikrobiyal yükün 10^4 - 10^6 cfu/ml olduğu bulunmuştur. *Staphylococlar* ve *streptococlar* en hakim mikroorganizmalar olmuşlardır. *Candida*, *corynebacteriumlar*, *pseudomonaslar* ve *coliformlar* da identifiye edilmiştir. Işıkla aktive edilen fotokatalitik prosese dayalı diş fırçaları test edilmiş ve bunların dental plakları kontrol edebildikleri bulunmuştur (Blake ve ark., 1999).

2.5.4. Virüsler

Atık sulardaki Polio virüsünün 40 W'lık siyah ışık ile 30 dk. ışınlanmasından sonra % 99,9 oranında öldüğü görülmüştür. Fosfat tamponundaki MS2 fajı TiO_2 (P25) varlığında 15 W siyah ışık ile ışılandıktan sonra % 90 oranında tahrip olmuştur. *Lactobacillus* faj PL-1'in Cleansand-205 (SiO_2 , AlO_3 , TiO_2 ve gümüşün 77,1:22,9:3,3:1,7 oranındaki karışımının cam üzerine kaplanması) varlığında Toshiba FLR-40S 36 W'lık bir lamba ile ışılandığında önemli ölçüde deaktive olduğu görülmüştür. TiO_2 kaplı kiremitlerin üzerindeki Faj Q β bir siyah ışık kaynağı ile ışılandığında deaktive olmuştur. Germisidal ışık kullanıldığında, TiO_2 ile kaplanmış ve TiO_2 ile kaplanmamış kiremitlerde bir farklılık bulunmamıştır. (Blake ve ark., 1999).

2.5.5. Tümör Hücreleri

HeLa hücrelerinin (cervical carcinoma) TiO_2 varlığında 500 W'lık civa lambasının ışığına maruz bırakıldıklarında öldükleri saptanmıştır.

Hücreler Minimum Essential Medium (MEM) ortamında TiO_2 varlığında 24 saat kültüre edilmiş ve daha sonra yüksek basınçlı bir civa lambası ışığına maruz bırakılmışlardır. TiO_2 yıkama yoluyla uzaklaştırıldığında bile HeLa hücrelerinin öldüğünün görülmesi, TiO_2 partiküllerinin hücre yüzeyine adsorbe olduklarını veya hücre içine alındıklarını düşündürmüştür. TiO_2 düzeylerinin artan oranları (0-120 $\mu\text{g/ml}$) ile birlikte hücre ölüm oranı da artmıştır. Fotokatalitik testlerde denenen organizmalar Çizelge 2.2’de verilmiştir (Blake ve ark., 1999).

Çizelge 2.2. Fotokatalitik testlerde denenen organizmalar (Blake ve ark., 1999).

Organizma	Gram +/-	Şekil/Boyut (µm)
Bakteriler		
<i>Escherichia coli</i>	-	Çomak/1,0 x 3,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Çomak/1,5-3,0 x 0,5
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	-	Çomak/0,5-1,0 x 1,5-4,0
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	-	Çomak/0,5-1,0 x 1,5-4,0
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	-	Çomak/0,5-1,0 x 1,5-4,0
<i>Prevotella intermedia</i>	-	Çomak/0,5-1,0 x 1,5-4,0
<i>Prevotella melanogenica</i>	-	Çomak/0,5-1,0 x 1,5-4,0
<i>Serratia marcescens</i>	-	Çomak/0,5-0,8 x 0,9-2,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Küre-0,5-2,0
<i>Enterococcus faecium</i>	+	Küre/0,6-1,0
<i>Clostridium perfringens</i> sporları		Oval, subterminal
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	Çomak/1,0-2,0 x 0,5-0,8
<i>Salmonella choleraesuis</i>	-	Çomak/0,7-1,5 x 2,0-5,0
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	Çomak/0,7-1,5 x 2,0-5,0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	Virgül 1,0-4,0 x 0,3-0,6
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	Çomak/0,4-2,0 x 0,5
<i>Streptococcus mutans</i>	+	Küre/0,5-2,0
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	+	Çomak/0,6-0,9 x 1,5-6,0
<i>Streptococcus cricetus</i>	+	Küre/<2,0
<i>Streptococcus rattus</i>	+	Küre/<2,0
<i>Actinomyces viscosus</i>	+	Çomak/0,5 x 1,6-2,0
<i>Bacillus pumilus</i>	+	Çomak/0,6 x 2-3,0
<i>Streptococcus sobrinus</i>	+	Küre/<2,0
<i>Bacillus subtilis</i>	+	Çomak/0,7-0,8 x 2-3,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	Çomak/0,6-1,0 x 1,2-3,0
Mayalar, Funguslar		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		Oval/3,5-7,0 x 3,5-9,0
<i>Candida albicans</i>		Oval/~7,0
<i>Hyphomycetes polymorpha</i>		Farklı şekillerde
<i>Penicillium expansum</i>		Misel
Kanser Hücreleri		
HeLa		14-16
T24		30
U937		14-20
Fare limfoma L5178Y		11-12
Virüsler		
Faj Qβ		0,028
Faj MS-2		0,024
Poliovirüs 1		0,028
Lactobacillus faj PL1		0,05
Diğerleri		
İnsan deri fibroblastları		16-18
Alveolar makrofaj		20-30
Çin hamster hücreleri CHL/IU		14-16

2.5.6. TiO₂ Partiküllerinin Toksikite Çalışmaları

TiO₂ genellikle insanlara zarar veren bir toz olarak düşünülmüştür. Solunum hastalıklarının ilk epidemiyolojik araştırması titanyum ile çalışan 209 kişi arasında yapılmıştır. Bu araştırma sonucunda deneklerin % 17'sinde solunum hastalıklarına ait bazı belirtiler görülmüş ve bunların sebebinin titanyum tetraklorid ve TiO₂'e maruz kalma ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Fakat TiO₂ partiküllerine maruz 1576 çalışanın epidemiyolojik çalışması akciğer kanseri ve kronik solunum hastalıkları ile TiO₂'e maruz kalma arasında belirgin bir ilgi olmadığını göstermiştir. TiO₂'e maruz çalışanların arasında pulmonar fibrosisin herhangi bir bulgusuna rastlanmamıştır. TiO₂ sanayiinden 2477 işçinin bir diğer epidemiyolojik çalışmasında Ti tetrakloride maruz kalma ve akciğer kanseri ile kronik solunum hastalıkları riski arasında önemli bir bağlantı olmadığı ortaya çıkmıştır. Fakat pulmonar fibrosis ve deri nekrozları gibi bazı patolojik değişikliklerin yüksek miktarda TiO₂ partiküllerine doğrudan maruz kalma ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. UV'nin veya görünür ışığın bu durumda gerekli olup olmadığı netlik kazanmamıştır (Blake ve ark.,1999).

2.6. Üretim Yöntemleri

TiO₂ filmlerinin hazırlanması için birçok yöntem vardır. Bunlar; kimyasal buhar depozisyonu (CVD), titanyumun oksidasyonu, elektron bombardımanı ile buharlaştırma, iyon saçılımı ve sol-jel metodudur (Hamid ve ark., 2003).

2.6.1. Sol-Jel Yöntemi

Sol-jel yöntemi, ilk olarak rastlantı sonucu 1846 yılında keşfedilmiştir. Ebelmen tarafından hazırlanan bu karışım o dönemlerde fizikçiler tarafından yeterli ilgiyi görmemiştir. 1939 yılında SiO₂ ile film hazırlanabileceğini ortaya koyan Geffcken, önemli bir adım atmıştır. 1953 yılından sonra sol-jel yöntemi yaygınlaşmıştır (Klein, 1988).

Optik kaplamaların üretiminde sol-jel tekniği yaklaşık 50 yıldır kullanılmakta ve son yıllarda sol-jel teknolojisindeki gelişmelerden dolayı daha fazla dikkat çekmektedir (Ceylan, 2002).

Malzeme teknolojisi ile uğraşan bilim adamları özellikle son 30-40 yıldan beri sahip olduğu olumlu özelliklerden dolayı sol-jel prosesi üzerinde yoğun olarak çalışmaktadırlar (Ceylan, 2002).

Sol-jel malzemelerine duyulan ilginin sadece onların fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı değil, aynı zamanda kolloit durumunun malzeme üretmede ve geliştirmede geniş olasılıklar sunmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Ceylan, 2002).

Sol-jel kavramını açıklamak gerekirse; sol, katı malzemenin sıvı süspansiyonu içindeki haline verilen isimdir. Katı maddeler, sıvılar içinde dağılmış olarak dururlarsa bu sisteme sol denir. Moleküller arası Van Der Waals ve elektriksel itme kuvvetlerinin etkisi yerçekimi kuvvetine göre daha fazla olduğu için solü meydana getiren malzemeler dibe çökmez. İşte

bu molekül çözelti içinde genişleyerek büyük bir boyuta ulaşırsa bu maddeye jel denir. Katı yapının devamlılığı, jele elastik bir özellik kazandırır (Balaban, 2006).

Sol-jel prosesinin temeli anorganik polimerizasyon reaksiyonları üzerine kurulmuştur. Bu proses, bir çözücüde bulunan metalokso polimerlerin büyüüp gelişmesinden faydalanarak makromoleküller elde edebilen bir yöntemdir. Bu prosesin çalışma prensibi birkaç basamaktan oluşmaktadır. Bunlar:

1. Çok saf olan çıkış maddelerinin homojen çözeltilerini hazırlamak,
2. Gerekli maddeler eklenerek bu çözeltiyi sol durumuna getirmek,
3. Sol üzerinde kondensasyon reaksiyonları oluşturarak karışımın jel durumuna geçmesini sağlamak,
4. Bu jelin uygun işlemlerden geçirilmesi ile (ısı gibi) tasarlanan malzemeye (cam/seramik) ulaşmaktır (Ceylan, 2002).

2.6.1.1. Sol-Jel Yönteminde Kullanılan Bileşenler

2.6.1.1.1. Metal Alkoksitler

Metal alkoksitlerin geneli $M(OR)_x$ şeklindedir. Bu bileşende O oksijeni, M metali, R herhangi bir alkil grubunu temsil etmektedir. Bu bileşenler, OR grubu sayesinde reaksiyon vericidirler ve bu grup değiştirilerek yapıları da değişebilir (Pehlivan, 2000).

2.6.1.1.2. Katalizörler

Hiçbir reaksiyona katılmayan ancak reaksiyon hızını arttıran malzemelere katalizör denir. Asitler ve bazlar sol-jel yönteminde katalizör olarak kullanılırlar. Asit katalizör grubu *organik* ve *inorganik* olarak ikiye ayrılır. Asetik asit organik asittir, nitrik asit, hidroklorik asit, hidroflorik asit inorganik asitlerdir. Baz katalizör grubunda ise amonyum hidroksit bulunmaktadır (Pehlivan, 2000).

2.6.1.1.3. Alkoller

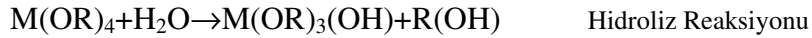
OH grubu ile bir alkil ya da başka bir molekülün birleşmesiyle alkoller oluşur. Alkoller sol-jel yönteminde başlangıçta kullanılırlar ve metal oksitlerle reaksiyona girerler. $C_nH_{2n+1}OH$ genel yapıları olup 'n' sayısı değişerek farklı alkoller oluşur. n 1 değerini aldığı anda metanol, 2 değerinde etanol ve 3 değerinde propanoldür (Pehlivan, 2000).

2.6.2. Sol-Jel Oluşumu

Sol-jel prosesinin ilk basamağı bir metal tuzun sulu solüsyonundan veya bir metal alkoksit organik solüsyonundan bir sol hazırlamaktır (örn. Ti isopropoksit kullanılarak). Bu basamak hidroliz reaksiyonları ile takip etmektedir. Hidroliz reaksiyonları metal tuz solüsyonlarının pH'ı değiştirilerek veya alkoksit solüsyonlarına su eklenmek suretiyle sonlandırılabilir. Alkoksit solüsyonuna su eklenmesi reaktif M-OH gruplarının oluşmasına yol açmaktadır. Bu gruplar kondensasyon yolu ile

metal-oksid-metal bağları ve kondanse olmuş türler, kolloitler, jeller ve/veya presipitatlar oluşturlar (Çağlar,1999).

Hidroliz-kondensasyon prosesleri aşağıdaki reaksiyonlarla açıklanabilir.



Bu reaksiyonlarda M Si; Ti ve Zr gibi bir metali ve R organik grubu temsil etmektedir. Bu reaksiyonlar asidik, bazik ve nötr koşullarda meydana gelebilmektedir. Solün jele dönüşümü jelasyon prosesi olarak isimlendirilmektedir. Bu proste sol akışkanlığını kaybeder ve bir elastik solit görünümünü almaktadır. Bu nokta genellikle “ jel noktası” olarak isimlendirilmektedir (Çağlar, 1999).

Sol-jel tekniği, uygulaması son derece kolay olan bir tekniktir. Kolay olması yanında malzeme bilminde yeni ufuklar açan, birçok olasılığı sunabilen çokça avantajı vardır (Ceylan, 2002).

2.6.3. Sol-Jel Prosesinin Avantajları

1. Kimyayı temel almakta, düşük sıcaklıkta çalışabilmektedir. Gelişmiş ve karmaşık fabrikasyon teknolojileri cam, seramik, cam-seramik gibi malzemelerin hazırlanmasında genellikle yüksek sıcaklık kullanırlar ve bu da onların hazırlanmalarına sınırlamalar getirmektedir. Yüksek

sıcaklık kullanımı ile malzemelerin hazırlanışı sırasında onların fiziksel ve kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişiklikler kontrol altında tutulamamaktadır. Bu da onların istenen teorik yapısal değerlere ulaşmalarını zorlaştırmaktadır.

2. Saf maddelerin sıvı çözeltileri kullanılmaktadır. Böylelikle homojenleşmenin moleküler seviyede sağlanması başarılmaktadır. Başlangıç maddelerinin basitçe saflaştırılmasından sonra, ürün büyük bir saflıkla elde edilebilmektedir.

3. Düşük sıcaklığın kullanılması, yüksek sıcaklıkta buharlaşmadan doğacak kayıpları önlemektedir. Böylece meydana gelebilecek faz değişimlerini ortadan kaldırarak, normalde hazırlanamayan seramiklerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır.

4. Çalışma prosesi için basit kaplar ve ortam için atmosferik şartlar yeterli olabilmektedir.

5. Organik çözücüler kullanılabilir.

6. Düşük sıcaklık uygulaması dolayısı ile organik moleküller ya da boyar maddeler kolaylıkla oksit-jel ağına sokulabilmektedirler. Kullanılan organik grup jelleşmeden sonra değişmeden kaldığı için, metal-organik biriminin modifikasyonu sonucu eşsiz, çok yeni polimerleri verebilmektedir.

7. Sollerin viskozitelerinin düşük olması ince kaplama filmlerinin hazırlanmasını oldukça kolaylaştırmaktadır (Ceylan, 2002).

2.6.4 Sol-Jel Prosesinin Dezavantajları

1. Çıkış maddelerinin pahalılığı.
2. Jelleşme sırasında ya da jellerin kurutulması sırasında büyük bir büzülmenin meydana gelmesi,
3. Oksit ağında çok fazla miktarda gözeneğin bulunması, bunların kontrol edilemediği durumlarda problemlere sebep olabilmeleri.
4. İstenmeyen, fakat ortamda oluşabilen OH ve organik kalıntıların ayrılmasının zorluğu
5. Kaplama işleminin uzun sürmesi (Ceylan, 2002).

2.6.5. Kaplama Teknolojileri

Camlar üzerine yüksek optik kalitede kimyasal kaplamalar elde etmek amacı ile bazı noktalara dikkat edilmesi gerekmektedir:

- a) Kaplama işlemlerinin yapıldığı ortamların çok temiz olması,

- b) Kaplama solüsyonunun filtre edilmesi,
- c) Kaplama substratlarının çok iyi temizlenmesi (Ceylan, 2002).

Çözeltideki polimerleşmenin derecesini ayarlayarak gerekli viskozite elde edilebilmektedir. Kaplama tabakasının oluşumunda iki etken önemlidir. Bunlar, viskozite ve yüzey gerilimidir. Bu etkenlerin kontrolü ile kaplama kalınlığı ve yüzey kalitesi ayarlanabilir. Kaplama maddesinin başarısı, kaplamanın yüzeye tutunmasına da bağlıdır. Tutunmanın iyi olabilmesi için kimyasal bağlanma olmalıdır. Genelde tutunma dipol-dipol etkileşmesi, Van der Waals kuvvetleri, bazen de H-köprü bağları ile gerçekleştiği kabul edilmektedir. Bu nedenle polar gruplar içeren yüzeyler daha kolay kaplanabilmektedir (Ceylan, 2002).

Oksit bazlı kaplamaların oksit bazlı yüzeylere bağlanmaları da M-O-M' bağları ile olmaktadır. (M ve M', film ve substratın metal iyonlarıdır). Substrat ve kaplamanın temas yüzeyinde ne kadar çok M'-OH ve M-OH grubu bulunursa tutunma o kadar iyi olmaktadır (Ceylan, 2002).

Kaplama maddesinin yüzeye tatbik edilmesinden sonra kuruması ve sertleşmesi gerekmektedir. Bu ise sıcaklık ile veya ışık ile olmaktadır. Sıcaklık veya ışık altında organik polimerleşmeyi başlatmaktadır (Ceylan, 2002).

Sertleşme için seçilen sıcaklık ve sıcakta kalma süresi çok önemlidir. Her kaplama maddesi ve kaplanacak yüzeyler için bu değerler ayrı ayrı deneyler ile belirlenmelidir (Ceylan, 2002).

2.6.5.1. Sol-Jel İle Film Kaplama Yöntemleri

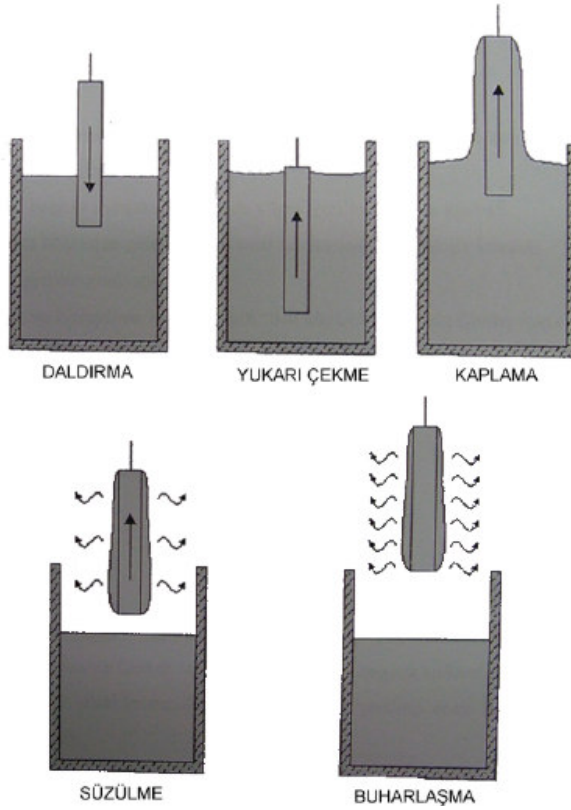
İnce film kaplamalarında sol-jel yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Sol-jel ile birçok kaplama şekli vardır. Bu kaplama yöntemleri daldırarak, döndürerek, püskürtme, elektroforezis, thermoforezis, yerleştirme ve karışık yöntemdir (Balaban, 2006).

2.6.5.1.1. Daldırma Kaplama Metodu

Hazırlanan sole taşıyıcının belirli bir hızla daldırılması ve aynı hızla çıkarılması esasına dayanır. Daldırma ile kaplama metodu beş aşamada gerçekleşir.

1. Daldırma
2. Çıkarma
3. Kaplama
4. Akıtma
5. Buharlaştırma

Şekil 2.10'da görüldüğü gibi daldırma yönteminde kaplanacak substrat bir sıvı içerisinde daldırılmaktadır ve bunu takiben kontrol edilen sıcaklık ve atmosferik koşullarda iyi belirlenmiş çekme hızı ile geri çekilmektedir (Balaban, 2006)



Şekil 2.10. Daldırma kaplama yönteminin basamakları (Balaban, 2006).

2.6.5.1.2. Döndürme Yöntemi

Bu yöntem, taşıyıcının yatay olarak bir eksen etrafında döndürülürken üzerine sol damlatılması ve solün merkezkaç kuvvetinin etkisiyle taşıyıcı yüzeyine yayılması esasına dayanmaktadır. Döndürerek kaplama yöntemi 5 kısımdan oluşmaktadır. Damlatma aşamasında, dönecek yüzeye sabitlenmiş olan taşıyıcı üzerine sol damlatılır. Başlangıçta durmakta olan taşıyıcı döndürülür. Taşıyıcı, mümkün olan en kısa sürede istenilen dönme hızına ulaşmalıdır. Çünkü dönme hızının sabit olması, film kalınlığının düzgün olmasını etkileyecektir. Dönme sırasında, taşıyıcı

üzerine damlatılmış sol merkezkaç kuvvetinin etkisi ile taşıyıcının tüm yüzeyine yayılır. Eğer sol fazla miktarda damlatılmışsa, fazlalık sol taşıyıcı üzerinden savrulur. Dönme esnasında, filmin kalınlığı azalır. Dönme sonunda, filmin kalınlığı taşıyıcının her yüzeyinde aynı olur. Ardından buharlaşma aşaması gelir. Taşıyıcı bu işlemde sonra fırınlanır (Pehlivan, 2000).

Daldırma yöntemi ile üretilen filmlerde yüzeyde ve film kenarlarında çatlakların oluştuğu gözlenmiştir. Bu yüzden üretimde mümkün oldukça döndürerek kaplama yönteminin tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Döndürerek kaplama yöntemi ve daldırma yöntemi arasında gözle görülür bir fotokatalitik aktivite farkının olmadığı tespit edilmiştir. Döndürerek kaplama yöntemi ile hazırlanan filmlerin görünen bölgede daha iyi saydamlığa ve düşük absorpsiyona sahip oldukları belirtilmiştir (Balaban, 2006).

2.7. TiO_2 'in Modifikasyonu

TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini etkileyen birçok faktörün olduğu belirtilmiştir. Bunlar:

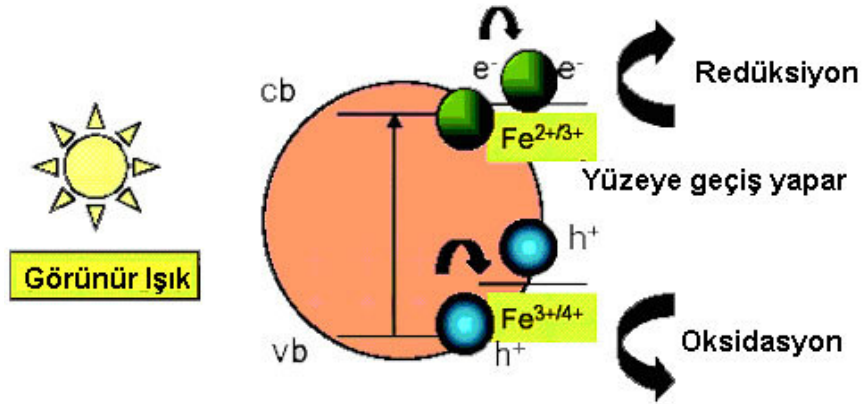
1. Sentez koşulları,
2. Kristal yapı (anataz, rutil),
3. Porosite,
4. Yüzey alanı,
5. Yüzeydeki OH^- gruplarının yoğunluğu,

6. İlave modifiye ediciler,
7. Dop edilen iyonların yokluğu veya varlığı,
8. İlave oksitleyici veya indirgeyici uygulamalar,
9. Aktivatörler veya elektron taşıyıcılarının varlığı vb. gibi faktörlerdir (Song ve ark., 1999).

Bu faktörlerin, yüzeyde meydana gelen elektron-boşluk çiftlerinin üretimini ve redoks prosesini, dolayısıyla da fotokatalitik aktiviteyi etkiledikleri vurgulanmıştır (Song ve ark., 1999).

TiO₂'in dezavantajlarından biri bant aralığı enerjisinin yaklaşık 3.2 eV olmasıdır. Bu nedenle bu yarı iletkenin fotoaktivasyonu için UV ışınlanması şarttır. TiO₂'in bir diğer dezavantajı promotorların (Pt veya RuO₂) yokluğunda çok kısa sürede meydana gelen ve fotokatalitik aktivitenin düşmesine sebep olan yük rekombinasyonudur. TiO₂ yüzeyine bazı metallerin dop edilmesi fotokatalitik oksidasyon reaksiyonunu arttıran başarılı metotlardan biri olmuştur (Song ve ark., 1999).

Dop edilmiş metalin görevi, fotoindüklenmiş elektronları yakalamak ve neticede onları TiO₂ yüzeyine taşımaktır (Song, 1999). Ayrıca dop edilmiş metaller TiO₂'in özelliklerini etkilemekte ve bant aralık enerjisinin düşmesine yol açarak absorbsiyon açısını görünür ışık spektrumuna doğru kaydırmaktadırlar. Böylece fotokatalitik aktivitenin artışına sebep olmaktadır. TiO₂ üzerine dop edilen metalin fotokatalitik prosese olan etkisi Şekil 2.11'de gösterilmiştir



Şekil 2.11. TiO_2 üzerine dop edilen metalin fotokatalitik prosese olan etkisi (Chumanov, 2005).

Fakat bütün iletken metaller TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini geliştirmede başarılı olamamaktadırlar. Uygun bir çalışma değerine sahip olması, dop edilen metal için en önemli özelliklerden biridir. Dop edilen metalin enerji düzeyi onun çalışma değeri olarak ifade edilmektedir. Fotokatalitik oksidasyon reaksiyonunun; TiO_2 iletkenlik bandı, dop edilen metal ve TiO_2 yüzeyine adsorbe edilen elektrolitler arasındaki bir elektrokimyasal reaksiyon olduğu düşünülmektedir. TiO_2 'in iletkenlik bandından adsorbe edilen elektrolitlere etkili bir şekilde elektron transferinin gerçekleşmesinde çalışma değerinin kritik bir önemi vardır. İkinci olarak, TiO_2 üzerine dop edilen metaller fotokatalitik oksidasyon boyunca veya atmosferik koşullarda depolama esnasında kimyasal olarak stabil olmalıdır. Eğer dop edilen metaller okside olurlarsa iletkenlikleri azalabilir ve sahip oldukları enerji düzeyleri değişebilir. Bu nedenle metaller elektronları başarılı bir şekilde yakalayıp taşıyamadıklarından dolayı fotokatalitik aktivite düşebilir (Song ve ark., 1999).

2.7.1. Demir ve Polietilen Glikol (PEG) İlavesinin Filmlerin Optik Özelliklerine ve Mikroyapısına Olan Etkisi

Yapılan bir çalışmada sol-jel prosesinin uygulanmasında viskozitenin büyük rol oynadığı belirtilmiştir. TiO_2 prekürsör solünün viskozitesinin artması ile birlikte film kalınlığının arttığı tespit edilmiştir. Film kalınlığı sadece ilk kaplama döngüsünde, yüzey belirli viskoziteye sahip sole daldırıldığında ayarlanabilmiştir. İkinci kaplama döngüsünde sol yüzeye eşit oranda tutunamamış, likit filminden ziyade damlacıklar oluşmuş ve bu da kurumadan sonra düzgün olmayan filmlerin oluşmasına sebep olmuştur. Bu problemin üstesinden gelmek için PEG gibi suda çözünebilir bir organik polimer kullanılmıştır. TiO_2 prekürsör solüne 0,6 g veya daha az PEG ilavesi TiO_2 filmlerinin optik özelliklerini değiştirmemiş fakat solün substrat üzerine yapışmasını arttırmıştır. PEG içeren sol kullanılarak tekrar eden kaplama döngüleriyle istenen kalınlıkta film elde edilebilmiştir (Sonawane, Kale ve Dongare, 2004).

Buna ilaveten görünür bölgedeki absorpsiyon açısını değiştirmek için TiO_2 içerisine çok düşük miktarda Fe dop edilmiştir. Sol içerisine Fe eklenmesi solün jel oluşum süreçlerini etkilemiştir: pH 4'te birkaç saat içerisinde TiO_2 prekürsör solü normal olarak jele dönüşmüş fakat dopant düzeylerde Fe eklenmesi jel oluşumunu engellemiş ve jelden ziyade jelatinöz presipitat içeren sol meydana gelmiştir (Sonawane, Kale ve Dongare, 2004).

Sole PEG eklenmesi sadece jel oluşumunu iyileştirmekle kalmamış, ayrıca poröz filmlerin oluşmasına da yardımcı olmuştur. PEG ilave

edilmeksizin hazırlanan % 2 Fe/TiO₂ filminin eşit olmadığı ve birçok yerinde çatlakların olduğu görülürken, 0,3g PEG ilave edilerek hazırlanmış filmlerin granüler yapısının homojen olduğu ve çatlakların olmadığı görülmüştür. 0,6 g PEG ilave edilen sol ile hazırlanan filmin yüzeyinde porların olduğu görülmüştür. Bunların da PEG'ün 450°C'de dekompozisyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir (Sonawane, Kale ve Dongare, 2004).

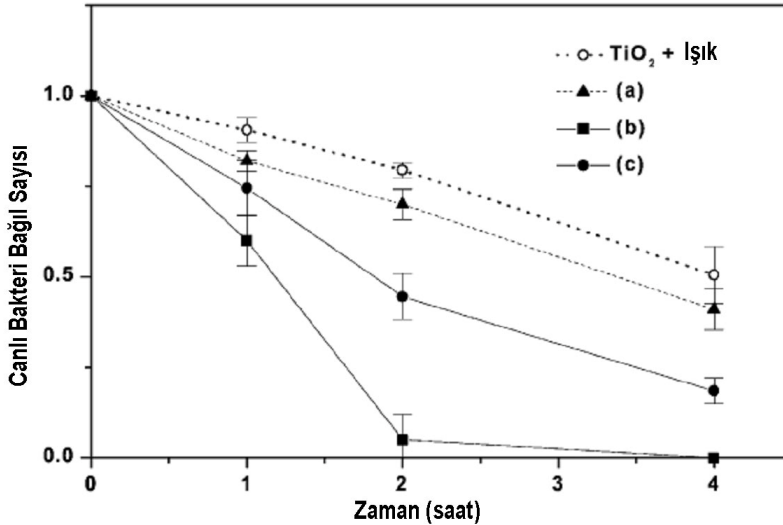
2.7.2. Modifiye Edilen Filmlerin Fotokatalitik Aktivitesi

Sonawane ve ark., Fe ve PEG ile modifiye ettikleri kaplamaların fotokatalitik aktivitesini, metil oranjin dekompozisyon oranını ölçerek saptamışlardır. 7 saat ışınlama sonucunda kaplanmayan örnek üzerindeki metil oranjin sadece % 5'i dekompoze olurken TiO₂ kaplı örneklerin % 50'si dekompoze olmuştur. % 2 Fe/TiO₂ ve % 4 Fe/TiO₂ kullanılıncı fotokatalitik aktivite artmış ve metil oranjin % 50'si sırasıyla 4 ve 5 saatte dekompoze olmuştur. % 2 Fe/TiO₂ ve % 4 Fe/TiO₂ içerisine 0,6 g PEG ilave edilmesi de katalistin fotokatalitik aktivitesini arttırmış ve metil oranjin % 95'i sırasıyla 3,5 ve 3 saatte dekompoze olmuştur. Fe doplanmasıyla fotokatalitik etkinin artması, katalistin görünür bölgedeki optik absorpsiyonu ile ilişkilendirilmiştir. TiO₂ sadece UV enerjisini absorbe ederken, Fe doplu katalist UV ve görünür enerjinin bir bölümünü de absorbe ederek fotokatalitik aktivitenin artmasına sebep olmuştur (Sonawane, Kale ve Dongare, 2004).

Fe/TiO₂ içerisine PEG eklenmesi filmlerin yüzey yapısını değiştirmiştir. Örneğin filmlerin porlu olduğu ve porların sayısının ve

büyükliğünün ilave edilen PEG miktarına bağlı olarak değiştiği görülmüştür. Por sayısının fazla olmasının filmlerin OH⁻ içeriğini arttırdığı ve OH⁻ içeriğinin artmasının da fotokatalitik aktivitenin artmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Gollwitzer ve ark., 2003).

Yapılan bir çalışmada Fe⁺³ ile dop edilmiş TiO₂ ince filmlerinin antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Ayrıca Fe⁺³ konsantrasyonunun, kaplamanın tabaka sayısının ve kalsinasyon sıcaklığının etkileri de incelenmiştir. Şekil 2.12’de görüldüğü gibi dop edilen Fe⁺³ miktarına bağlı olarak fotokatalitik aktivitenin arttığı ve 2 saat ışınlama sonucunda bütün *E. coli* bakterilerinin elimine olduğu tespit edilmiştir. En iyi fotokatalitik aktivite iki tabakalı filmlerde görülmüştür. 500°C’lik ısı uygulamasının TiO₂’in anataz formunun oluşumunu teşvik ettiği ve dolayısıyla aktiviteyi arttırdığı sonucuna varılmıştır (Trapalis ve ark., 2003).

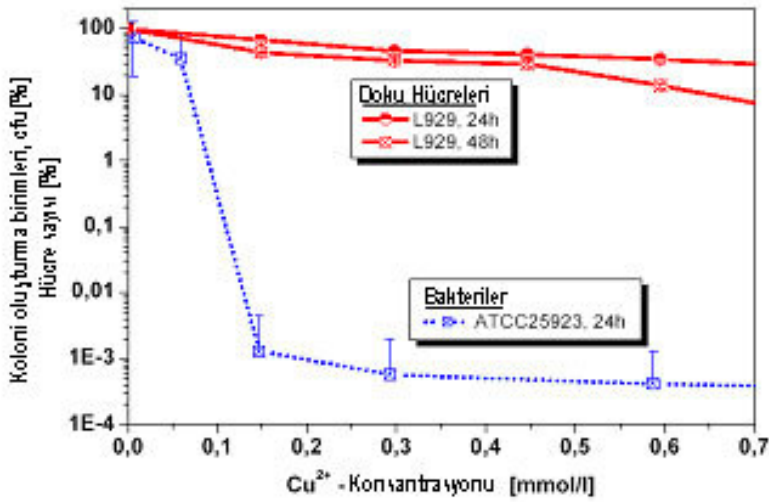


Şekil 2.12. Cam üzerine kaplanan Fe³⁺ doplu TiO₂ ince filmlerinde UV ışınlaması sonucunda canlı kalan bakteri sayısı: a) tek-tabakalı, b) iki-tabakalı, c) üç tabakalı filmler (Trapalis ve ark., 2003).

2.7.3. İmplant Kaynaklı Enfeksiyonların Önlenmesinde Kullanılan TiO₂ Kaplamaları

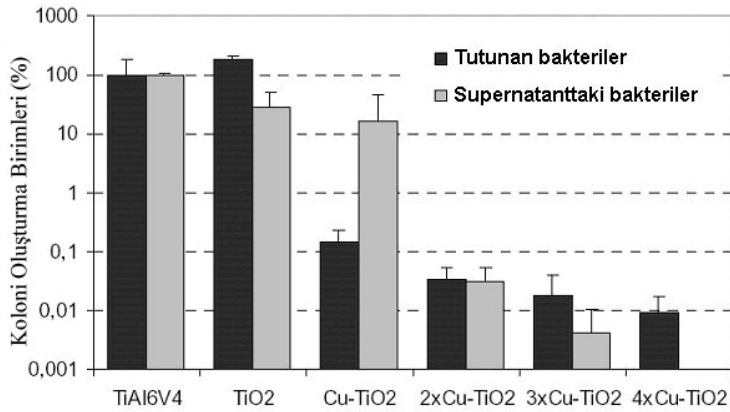
Bakır iyonları ile modifiye edilmiş TiO₂ kaplamaları, implant-kaynaklı enfeksiyonları engellemek amacıyla denenmiştir. İn vitro testler için fare fibroblastları, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'in farklı strainleri kullanılmıştır. Kültür ortamındaki Cu iyonlarının farklı dilüsyonları hazırlanarak büyüme inhibisyon assayleri yapılmıştır. Bakteriler ve doku kültürleri ile ilgili in vitro testleri: kaplanmamış implant (Ti6Al4V), TiO₂ ile kaplanmış implant, Cu-doplu TiO₂ ile kaplanmış implant, farklı oranlarda (2xCu/TiO₂, 3xCu/TiO₂, 4xCu/TiO₂) Cu/TiO₂ içeren implant örnekleri için yapılmıştır (Gollwitzer ve ark., 2003).

Inhibisyon assayleri, fibroblastların bakterilere oranla daha yüksek miktardaki Cu iyonlarına toleranslı olduklarını göstermiştir. Şekil 2.13'te de anlaşılabacağı gibi 0,15 mmol/l Cu konsantrasyonunda bakteri sayısının oldukça azaldığı, buna karşın fibroblastların sayısının sadece yarıya indiği saptanmıştır. Bu sonuç 1,5-3,0 mmol/l arasındaki Cu konsantrasyonunun, implantın iyi entegrasyonu için gerekli olan doku hücrelerinin büyümesini engellemeden bakteriyel enfeksiyon riskini önemli ölçüde düşürdüğünü göstermiştir (Gollwitzer ve ark., 2003).



Şekil 2.13. Bakır iyonunun farklı dilüsyonları ile yapılan büyüme inhibisyon deneyi (Gollwitzer ve ark., 2003).

Şekil 2.13'te görüldüğü gibi, Cu iyonlarının integrasyonu hem implant yüzeyinde hem de çevresindeki büyüme ortamında bakteriyel büyümeyi önemli ölçüde azaltmıştır. Bu sonuçlar, bariz bir şekilde bakırın antibakteriyel miktarlarda kaplanan yüzeyden ortama salındığını göstermektedir. Cu doplu TiO₂ kaplamalarının sayısı arttıkça yüzey üzerinde ve supernatant içerisindeki bakteriyel büyümenin belirlenemeyen düzeylere kadar düştüğü görülmüştür (Gollwitzer ve ark., 2003).



Şekil 2.14. Kaplanmayan, kaplanan ve supernatant büyüme ortamındaki *S. aureus* ATCC 25923'ün üremesi (Gollwitzer ve ark., 2003).

Bakırın biosidal aktivitesini açıklayan birçok mekanizma önerilmiştir. Bu mekanizmalar şöyle özetlenmiştir; nükleik asitlere bağlanarak, helikal yapıları bozarak veya nükleik asit iplikleri arasında çapraz bağların oluşmasına yol açarak onları denature etmek, proteinleri değiştirmek, onların biyolojik bütünlüğünü bozmak, plazma membran permeabilasyonu ve membran lipid peroksidasyonuna yol açmak (Gollwitzer ve ark., 2003).

Virüsler hariç mikroorganizmalar aşırı miktardaki bakırı tolere etmek için birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bunlar; bir geçirgenlik bariyeri aracılığıyla hücre içerisine almama, hücre zarfı aracılığıyla intra veya ekstrasellüler engelleme, membrandaki aktif transport ile dışarı pompalama, hücresel hedeflerin bakır iyonlarına olan duyarlılığını azaltmak ve salgılanan metabolitler aracılığıyla ekstrasellüler selasyon veya presipitasyon şeklinde özetlenebilir. Fakat yüksek bakır

konsantrasyonuna uzun süreli maruz kalma mikroorganizmalar için toksik bir etki oluşturmaktadır (Gollwitzer ve ark., 2003).

Gümüşün de TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini geliştirmede etkili olduğu belirtilmiştir. % 1,5 mol Ag/TiO_2 'in saf TiO_2 'e oranla yaklaşık 2 kat daha fazla fotokatalitik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Ag/TiO_2 'in yüksek etkinliğinin, Ag kümelerinin etkin elektron transfer yeteneğinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Gümüşün enerji düzeyi $-0,24$ volta karşılık gelmekte ki bu düzey TiO_2 'in iletkenlik bandından bariz derecede yüksek bir seviyeye ve solüsyon içerisindeki oksijen redüksiyonunun elektrokimyasal potansiyeline yakın bir seviyeye karşılık gelmektedir. Bu nedenle TiO_2 üzerine dop edilmiş gümüşün, TiO_2 iletkenlik bandı içerisinde suda çözünmüş olan O_2 'e doğru elektron transferini kolaylaştırabileceğini düşündürmüştür (He ve ark., 2002).

Yapılan bir çalışmada; TiO_2 filmine uygun oranlarda (% 2-4) gümüşün dop edilmesi daha küçük boyutta anataz partüküllerinin oluşumuna sebep olduğu ve dolayısıyla filmin spesifik yüzey alanını arttırdığı saptanmıştır. Saf TiO_2 $45 \text{ m}^2/\text{g}$ yüzey alanına sahipken, % 2, 4 ve 6 mol Ag ile dop edilen TiO_2 in yüzey alanı sırasıyla 76, 63 ve $58 \text{ m}^2/\text{g}$ olmuştur (He ve ark., 2002).

2.7.4. Fotokatalitik Nanokompozitler Aracılığıyla Bakteriyel Endosporların İnaktivasyonu

Lee ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları çalışmada, TiO_2 ve çok katmanlı karbon nanotüplerinden (MWNT) oluşan yeni bir biosidal fotokatalitik nanokompozit sentez edilmiştir. MWNT'ler bir ağaç gövdesindeki halkalara benzer şekilde bir araya paketlenmiş, tek duvarlı nanotüplerin bir sırasından meydana gelmektedirler. Aktif olmayan MWNT yüzeyleri kimyasal muamele sonucunda modifiye edilebilmekte ve sonuçta metal oksit tabakaları sol-jel yöntemiyle bu yüzeylere tutunabilmektedirler. MWNT üzerinde birkaç nm kalınlığında homojen anataz kaplamaları başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Nanokompozitin iğne benzeri şekle sahip olması, onun ticari TiO_2 nanopartiküllerine (Degussa P 25) oranla 3 kat daha fazla fotokatalitik spesifik yüzey alanı oluşturmasını sağlamıştır. Böylece güçlü biosit etki gösteren yoğun bir fotokimyasal reaksiyon meydana geleceği düşünülmüştür.

Yeni fotokatalistin varlığında bakteriyel endosporlar (*Bacillus cereus*) solar UV lambaları ile ışınladıklarında başarılı bir spor inaktivasyonu görülmüştür (% 100'e yakın). Sadece UV lambaları veya UV lambaları ile birlikte Degussa P25 varlığında yapılan ışınlamada, önemli bir inaktivasyon görülmemiştir. Fotokatalitik aktivitedeki artışın TiO_2 -MWNT nanokompoziti aracılığıyla ortaya çıkan elektron yakalama mekanizmasının yük rekombinasyonunu geciktirmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. En muhtemel inaktivasyon modunun genetik hasar olduğu ve bu durumda birçok fotoindüklenmiş biyoürünün spor replikasyonunu

inhibe ettiği belirtilmiştir. Spor canlılık oranı ve ışınlama zamanı arasındaki pikler tipik bir başlangıç bölgesi, bunu takip eden hızlı bir eksponansiyel azalma bölgesi ve uzama bölgesinin varlığına işaret etmiştir. Bu uzama bölgesinin varlığı, alt populasyonlardan veya sporların kümeleşmesinden kaynaklanan bir koruyucu etkinin ortaya çıktığını göstermiştir (Lee ve ark., 2004).

2.8. Uygulama Alanları

2.8.1. Kendini Temizleyebilen Yüzeyler

Günlük yaşamda yüzeylere kolay temizlenebilirlik veya kendini temizleme özelliği kazandırılması yaşamı oldukça kolaylaştırmaktadır. Bu tip yüzeylerin oluşturulmasında iki ayrı yöntem kullanılmaktadır (Fujishima, Rao, Tryk, 2000).

2.8.1.1. Su Sevmez Yüzeyler

Su sevmez yüzeylere bitki yüzeyleri örnek gösterilebilir. Bu yüzeyler aynı zamanda kolay temizlenebilme özelliği de gösterirler. Barthlott tarafından Lotus yaprakları kullanılarak mikroyapı-ıslanabilirlik-kirlilik ilişkisinin kanıtlandığı bu etkiye lotus etkisi denmektedir (Fujishima, Rao, Tryk, 2000).

2.8.1.2. Su Sever Yüzeyler

Düşük temas açısına bağlı temizleme işlemine örnek günlük yaşamda sıkça kullanılan deterjanlardır. Deterjan suyun yüzey gerilimini azaltarak temas açısını düşürür. Bu tür yüzeyleri oluşturmanın bir diğer özelliği ise yüzeyleri su sever film tabakaları ile kaplamaktır. İncelenen gözeneksiz yüzeylerin su ile temas açısı genelde yaklaşık 20-30 derece civarında olup 10 derecenin altına inen temas açılarına pek rastlanmamaktadır. TiO_2 kaplandığında da temas açısı 10 derece civarında olup UV altında bu değerler 0 dereceye kadar inmektedir. Anataz TiO_2 filmi UV ışığına maruz bırakıldığında su sever özellik kazanmaktadır (temas açısı $<1^\circ$). Bu etki UV aydınlatmanın kesilmesinden sonra 2 gün kadar yüzeyde kalabilmektedir. Ayrıca TiO_2 yüzeydeki bakteri, organik ve inorganik kirleri de oksitleyerek bozabilecek reaksiyonların oluşmasına da neden olmaktadır. Su sever yüzeylerin uygulama alanları Çizelge 2.3'te belirtilmiştir (Fujishima, Rao, Tryk, 2000).

Çizelge 2.3. Su sever yüzey uygulamaları (Fujishima, Rao, Tryk, 2000).

Özellik	Kategori	Uygulamaları
Kendini temizleme	Yollar	Tünel ıııklandırması, tünel duvarları trafik işareleri ve ses geçirmez duvar
	Evler	Mutfak ve banyo fayansları, dış kaplamalar, çatı ve camlar
	Binalar	Alüminyum paneller, bina taşları, kristal camlar ve cam filmleri
	Tarım	Plastik ve cam limonluklar
	Elektrik ve elektronik ekipmanlar	Solar hücre kaplamaları ve bilgisayar görüntüleri
	Araçlar	Boya işleri, pencerelerin dış yüzey kaplamaları, farlar
	Günlük ihtiyaçlar	Masa ve mutfak araçları, anti-buğulanma spreyleri
Anti-buğu özelliğı	Boya	Boya ve kaplamaların genel kullanımı
	Yollar	Yol aynaları
	Evler	Banyo ve giyinme aynaları
	Dükkanlar	Soğutulan vitrinler
	Elektrik ve elektronik ekipmanlar	Klimalar için ısı değıştirgeçleri, yüksek voltaj ekipmanları
	Araçlar	Pencere iç yüzeyleri, cam filmler, oto aynaları, oto ön camları
	Günlük ihtiyaçlar	Anti-buğu spreyleri ve filmleri
Bio-uyum malzemeleri	Boya	Boya ve kaplamaların genel kullanımı
	Optik araçlar	Optik lensler
	Tıbbi araç-gereçler	Kontakt lensler

2.8.2. Suyun Arıtılması

Hava gibi su da bizim için çok değerlidir. Bakterilerin üremesini engellemek amacı ile çeşme suyuna fazla miktarda klor eklendiğinde trihalometan gibi kanserojen bileşikler meydana gelmekte veya klor kalıntılarını uzaklaştırmak mümkün olmamaktadır. Fakat katalistler güneş ışığında bu bileşikleri parçalayabilmektedirler. Sudaki birçok kimyasal bileşiğin fotokataliz yolu ile sudan uzaklaştırıldığı veya parçalandığı kanıtlanmıştır. Bunlar; alkanlar, PCB'ler, alkenler, PAH'lar, alkinler, dioksinler, eterler, furanlar, aldehitler, pestisitler, ketonlar, herbisitler, alkoller, fenoller, aminler, siyanitler, amitler ve esterlerdir. Suların temizlenmesinde TiO_2 , muamele edilecek suya toz halinde eklenebilmekte veya bir substrat üzerine immobilize edilebilmektedir. TiO_2 solüsyon halinde eklenirse, muamele sonunda katalistin ortamdan uzaklaştırılması için ilave işlemlere gereksinim duyulmaktadır. Atık suların işlenmesinde uygulanan yöntemlerden biri de TiO_2 aerojellerinin kullanımıdır. Aerojeller, sol jel yöntemi ve çok kritik kurutma aracılığıyla üretilen son derece poröz materyallerdir. Bunlar düşük yoğunluğa, geniş yüzey alanına, düşük ısı iletkenliğine ve görünür ışıktaki yarı saydam veya saydam özelliklere sahip materyallerdir. Bu özelliklerinden dolayı katalitik uygulamalarda tercih edilmektedirler (Mori, 2005).

2.8.3. Kokuyu Giderme

Günlük yaşamda evimizde hoşla gitmeyen kokular bulunabilmektedir. Fotokatalistler evimizdeki floresan ışık ve güneş ışığı vasıtası ile bu kokuları kokusuz gazlar şekline dönüştürebilmektedirler. Asetaldehit, amonyum, trimetilamin, hidrojen sülfid, metilmerkaptan gibi beş temel kokunun giderilebileceğı düşünölmektedir. Bütün bu kokular organik komponentlerdir, dolayısıyla fotokatalistler aracılığıyla parçalanabilmektedirler (Hsu ve Sheu, 2004).

2.8.4. Havanın Temizlenmesi

Günümüzde hava, arabalar ve diğler kaynaklar tarafından saçılan azot oksitler (NO_x) ve sülfür oksitler gibi çevresel kirleticiler tarafından kirletilmektedir. TiO_2 bu çevresel kirleticileri uzaklaştırabilmekte ve onları zararsız olan CO_2 gazına kadar parçalayabilmektedir (Hsu ve Sheu, 2004).

TiO_2 , NO 'i NO_2 'ye ve neticede NO_3 'e okside ederek NO 'i havadan uzaklaştırmaktadır. Meydana gelen nitrik asit iyonları fotokatalistin yüzeyinde adsorbe olup birikim yaptığından bir süre sonra, miktarında bir artış görölmektedir. Katalistin performans kaybını önlemek amacıyla belli aralıklarla suyla durulama işlemi yapılması gerekmektedir. TiO_2 fotokatalisti dış çevrede kullanıldığında, güneş ışığı ve yağmur sularıyla temizleneceğinden ilave işlemler yapılmaksızın NO_x 'in uzaklaştırılması garanti altına alınacaktır (Mori, 2005).

NO TiO_2 fotokatalisti ile uzaklaştırıldığında olası bir problem ortaya çıkabilmektedir. Fotokatalist çeşidinin adsorbsiyon gücü düşük olduğunda reaksiyon sadece NO_2 (bir ara ürün) basamağına kadar gerçekleşmektedir. Bunun sonucunda TiO_2 üzerindeki NO_2 konsantrasyonu adsorbsiyon öncesinden daha yüksek olmaktadır. Bu problemin uzaklaştırılması için bilinen yöntemlerden biri metal veya metal oksit içeren TiO_2 fotokatalist partiküllerinin kullanımını içermektedir. Diğer bir yöntem ise; TiO_2 fotokatalist partiküllerinin aktif karbon gibi adsorblacıyı partiküllerle karıştırılması ya da bir harç oluşturacak şekilde öğütülmesidir (Mori, 2005).

2.8.5. Gıda Endüstrisinde

TiO_2 gıda prosesinde beyaz renkli katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Buzdolaplarında ve soğuk depolama arabalarında asetaldehit birikimini etkili bir şekilde engellemektedir. Böylece meyve ve sebzelerin çabuk olgunlaşmasını ve çürümesini önleyerek uzun süre taze kalmalarını sağlayabilmektedir (Hsu ve Sheu, 2004).

2.8.6. Su Ürünleri Endüstrisinde

TiO_2 , balık üretim havuzlarındaki bakteri ve algleri öldürmek amacı ile kullanılmaktadır (Hsu ve Sheu, 2004).

2.8.7. Diğer Uygulamalar

TiO₂ ayrıca kozmetik ve ilaç endüstrisinde, tıbbi malzemelerde, mutfak araç-gereçlerinde, bina içi-dışı uygulamalarda, tarihi eserleri korumada kullanılmaktadır. Fotokatalistler için diğer uygulama alanları; metal katotlar aracılığıyla korozyonun önlenmesini ve boya-ışığa duyarlı solar hücrelerdeki kullanımını içermektedir. Boya-ışığa duyarlı solar hücreler (Graetzel hücreleri) TiO₂ gibi boyayı adsorbe etme yeteneğine sahip fotokatalist partiküllerini içeren elektrotları kullanan ıslak-tipte hücrelerdir. Bu hücreler, yüksek etkinlikte ve düşük maliyette olduklarından geliştirilmişlerdir (Mori, 2005).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. İnce Filmlerin Hazırlanmasında Kullanılan Solüsyonlar

Solüsyon 1: Temizleme solüsyonu

Nitrik asit (HNO_3)	10,8 ml
Distile su	89,2 ml

% 6,5'lik asit solüsyonu elde etmek amacıyla belirtilen oranlarda su ve asit karıştırılmıştır. Bu solüsyon kaplanacak camların temizlenmesinde kullanılmıştır (Chan, Porter, Barford, 2002).

Solüsyon 2: SiO_2 solüsyonu

TEOS (tetrametil ortosilikat % 99) (Acros)	19,81 ml
Etanol	84,67 ml
Nitrik asit	5,24 ml
Distile su	5,27 ml

TEOS ($C_4H_{12}O_4Si$, $M_w=152,22$ $d=1,03$) ile etanol (C_2H_5OH , $M=46,07$ g/mol) manyetik karıştırıcıda 30 dakika karıştırılmıştır. Su ve asit karıştırılarak bir asit solüsyonu (1,44M) hazırlanmıştır. TEOS-etanol karışımının bulunduğu erlen içerisinde buzlu su bulunan başka bir kabın içerisine yerleştirilmiştir. Bu karışıma asit solüsyonu damla damla ilave edilmiştir. Elde edilen solüsyon oda ısısına gelinceye kadar 15-20 dakika beklenmiştir. Bunu takiben 3 saat $60^\circ C$ 'de karıştırılmıştır. Elde edilen solüsyon saydam bir görünümde olup pH'ı 1,2 olarak ölçülmüştür. Viskozitesi oldukça düşük olduğundan $+4^\circ C$ 'de uzun bir süre jele dönüşmeden kalabilmiştir. Bu solüsyon silika ince filmlerini elde etmek amacı ile kullanılmıştır. Substratların silika koruyucu tabakası ile kaplanmasının amacı, Na iyonlarının TiO_2 tabakasına difüzyonunu engellemek ve neticede fotokatalitik bakterisidal etkiyi arttırmaktır (Negishi, Takeuchi, Ibusuki, 1999).

Solüsyon 3: TiO_2 Solüsyonu

Titanyum (IV) izopropoksit (% 97) (Aldrich)	12,0 ml
2-Propanol	170 ml
2M Hidroklorik asit çözeltisi	0,4 ml

Titanyum izopropoksit ($C_{12}H_{28}O_4Ti$), propanol ($CH_3CHOHCH_3$, $M=60,10$ g/mol) çözeltisine sürekli karıştırma işlemi yapılarak eklenmiştir. Karıştırma işlemi devam ederken bu solüsyona 2M HCl çözeltisinden 0,4 ml damla damla ilave edilmiştir. Elde edilen sol kaplamadan önce 2 saat oda ısısında karıştırılmıştır. Elde edilen solüsyon saydam bir görünümde olup presipitat içermemiştir. Viskozitesi oldukça düşük olduğundan

+4°C’de uzun bir süre jele dönüşmeden kalabilmiştir. Solün pH’ı 5,5 olarak ölçülmüştür. Bu sol TiO_2 ince filmleri elde etmek amacı ile kullanılmıştır (Prassas, 1984).

Solüsyon 4: Fe ile Dop Edilmiş TiO_2 Solüsyonu

Titanyum izopropoksit (% 97) (Aldrich)	12,0 ml
2-Propanol	170 ml
2M Hidroklorik asit çözeltisi	0,4 ml
Demir (III) nitrat nonahidrat ($\text{FeN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (% 98) (A.C.S. Reagent)	0,5 g

$\text{FeN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 120°C’lik etüvde 10 saat bekletilerek suyu uçurulmuştur. TiO_2 solüsyonuna 0,5g FeN_3O_9 eklenerek % 4 (wt)’lük Fe içeren bir sol elde edilmiştir. Demirin sol içerisinde iyi çözünmediği görülmüştür. Süspande olan demiri uzaklaştırmak ve daha homojen bir sol elde etmek amacıyla filtrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Buna rağmen, sol bekletildiğinde bir çökeltinin oluştuğu ve iki ayrı fazın ortaya çıktığı görülmüştür. Solün rengi kahverengi olmuştur ve pH’ı 2,2 olarak ölçülmüştür. Bu sol Fe/ TiO_2 ince filmleri elde etmek amacı ile kullanılmıştır. Fe ile yapılan modifikasyonun amacı filmlerin absorpsiyon açısını görünür ışık bölgesine doğru kaydırmak ve böylece fotokatalitik aktiviteyi arttırmaktır (Sonawane ve ark., 2004).

Solüsyon 5: Cu ile Dop Edilmiş TiO₂ Solüsyonu

Titanyum izopropoksit (% 97) (Aldrich)	12,0 ml
2-Propanol	170 ml
2M Hidroklorik asit çözeltisi	0,4 ml
Bakır (II) klorit dehidrat (CuCl ₂ 2H ₂ O) (Merck)	0,13 g

CuCl₂2H₂O (M=170,48 g/mol) 100°C'lik etüvde 10 saat bekletilerek suyu uçurulmuştur. TiO₂ solüsyonuna 0,13g CuCl₂ eklenerek % 2 wt'lik Cu içeren bir sol elde edilmiştir. Bakır sol içerisinde çok iyi çözünmüş ve yeşil renkli saydam bir sol elde edilmiştir. Solde presipitasyon olmamış ve pH'ı 3,4 olarak ölçülmüştür. Solün viskozitesi oldukça düşük olduğundan +4°C'de uzun bir süre stabil kalabilmiştir. Bu sol Cu/TiO₂ ince filmleri elde etmek amacı ile kullanılmıştır. Cu ile yapılan modifikasyonun amacı filmlerin uzun dalga boylu UV ve görünür ışıktaki absorpsiyon oranını arttırarak fotokatalitik aktiviteyi arttırmaktır (Sunada ve ark., 2003a).

Solüsyon 6: PEG (600) ile Modifiye Edilen TiO₂ Solüsyonları

Hazırlanan TiO₂, Fe/TiO₂, Cu/TiO₂ solüsyonlarına 7,0 g PEG (polietilen glikol MA=600) eklenerek, PEG ile modifiye edilmiş TiO₂ solüsyonları elde edilmişlerdir. Bu solüsyonlar PEG ile modifiye edilmiş filmler elde etmek amacı ile kullanılmıştır. PEG ile yapılan modifikasyonun amacı filmlerin yüzey alanını arttırmak ve poröz yapıda

filmler elde etmektir. Bu özellikteki filmlerin fotokatalitik aktivitesinin daha yüksek olacağı beklenmektedir (Sonawane ve ark., 2004).

3.1.2. Antibakteriyel Testte Kullanılan Besiyerleri

Besiyeri 1: Nutrient Agar (Criterion)

Agar	15,0g
Jelatin Pepton	5,0g
Sığır ekstraktı	3,0g

Hazır besiyeri içeriği 1000 ml distile suda 23,0 g olacak şekilde eritilmiş ve çözünene kadar kaynatılmıştır. Çözündükten sonra tüplere dökülmüş ve otoklavda 121°C’de 20 dk. tutularak steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra tüpler yatay durumda bekletilerek besiyerinin donması sağlanmıştır. Bu besiyeri, *S. aureus* hücrelerinin stok kültürünü elde etmek amacıyla kullanılmıştır (Tamer ve ark., 1989).

Besiyeri 2: Nutrient Broth (Criterion)

Jelatin Pepton	5,0g
Sığır ekstraktı	3,0g

Hazır besiyeri içeriği 1000 ml distile suda 8,0 g olacak şekilde eritilmiş ve çözünene kadar kaynatılmıştır. Çözündükten sonra tüplere dökülmüş ve otoklavda 121°C’de 20 dk. tutularak steril edilmiştir. Bu

besiyeri, antibakteriyel testte kullanılacak bakteri süspansiyonunu hazırlamak amacıyla kullanılmıştır (Tamer ve ark., 1989).

Besiyeri 3: Baird Parker Agar (Criterion)

Agar	20,0g
Glisin	12,0g
Kazein Pepton	10,0g
Sodyum Piruvat	10,0g
Sığır ekstraktı	5,0g
Lityum Klorit	5,0g
Maya Ekstraktı	1,0g

Hazır besiyeri içeriği 940 ml distile suda 63,0 g olacak şekilde eritilmiş ve çözünene kadar kaynatılmıştır. Çözündükten sonra otoklavda 121°C’de 20 dk. tutularak steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 45°C’ye kadar soğultup petri kaplarına dökülmüştür. Bu besiyeri, yapılan antibakteriyel testlerde bakterilerin genel canlı sayımını yapmak amacıyla kullanılmıştır (Tamer ve ark., 1989).

3.1.3. Antibakteriyel Testte Kullanılan Çözeltiler ve Tamponlar

NaCl çözeltisi

Sodyum klorür (NaCl) (J.T.Baker)	8,7g
Distile su	1000 ml

Bu bileşenler karıştırılarak 0,15 M NaCl çözeltisi elde edilmiştir. Bu çözelti 121°C’de 20 dk. otoklavda tutularak steril edildikten sonra bakterilerin genel canlı sayımında seyreltme suyu olarak kullanılmıştır (Tamer ve ark., 1989).

Fosfat tamponu (PBS) (Sigma-Aldrich)

Ticari olarak satılan hazır tabletler kullanılmıştır. Tabletlerden her biri 200 ml distile suda eritilmiş ve pH’ı 7,4 olan 0,01 M’lık fosfat tamponu elde edilmiştir. Bu çözelti 121°C’de 20 dk. otoklavda tutularak steril edilmiş ve ışınlamadan sonra bakteri hücrelerini cam üzerinden yıkamak amacı ile kullanılmıştır.

3.1.4. Bakteri Kültürü

TiO₂ ince filmlerinin *Staphylococcus aureus*’a karşı gösterdikleri antibakteriyel aktiviteyi tespit etmek amacıyla bakteri kültürü olarak

Staphylococcus aureus ATCC 6538P straini kullanılmıştır. Bu bakteri straini Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalının stok kültürlerinden temin edilmiştir.

3.1.5. İnce Filmlerin Hazırlanmasında ve Karakterizasyonunda Kullanılan Aletler

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Phillips XL-30S FEG)

Bu cihaz ile malzemelerin mikro ve nanoboyuttaki yapıları görüntülenebilmektedir. Cihazdaki SE (ikincil elektron) dedektörü ile topografik üç boyutlu görüntü, BSE dedektörü ile atomik kontrasta bağlı iki boyutlu görüntü elde edilmektedir. EDX (enerji dağıtan X-ışınları) dedektörü ile yapıların elementel içeriği nitel ve nicel olarak belirlenebilmektedir. Ayrıca haritalama yöntemi ile resim üzerinde elementlerin dağılımı izlenebilmektedir (Hamid ve Rahman, 2003).

X-Işınları Kırınım Cihazı (XRD) (Phillips X'Pert Pro)

Bu cihaz ile katı ve toz örneklerin yapılarındaki kristal formlar, bu tür malzemelerin içerdiği fazlar, bu fazların miktarı ve kristal boyu hakkında bilgi edinilmektedir. Kristal formlar, cihazın bilgi bankasında bulunan 100000'nin üzerindeki referans paternleriyle karşılaştırılarak belirlenebilmektedir (Hamid ve Rahman, 2003).

Taramalı Uç Mikroskobu (Digital Instruments Nanoscope-IV)

Atomik seviyede yüzey özelliklerini incelemek için kullanılır. Yüzey ile probun etkileşmesi sonucu atomik seviyede üç boyutlu yüzey topografyası görüntülenir. Taramalı tünelleme (STM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) içermektedir. AFM ile örneğin iletken olmasına ihtiyaç duyulmadan malzemelerin yüzey etkileşim, manyetik, hidrofilik özellikleri ile kaplama, elektriksel yük, cırlama, korozyon, sertlik, sürtünme gibi nanomekanik özellikleri incelenebilmektedir (Hamid ve Rahman, 2003).

Seramik Fırın (Protherm ABB Commander 100)

Bu fırın 1200°C'ye çıkabilmekte ve malzeme teknolojisinde ince filmlerin ısısal işleminde kullanılmaktadır (Hamid ve Rahman, 2003).

3.1.6. Antibakteriyel Testte Kullanılan Aletler

Cam düzenek

Bakterilerin fotokatalitik inaktivasyonunu test etmek amacıyla 70x25x10 cm boyutlarında bir cam düzenek tasarlanmıştır. Bu düzenek havanın nemini dengede tutmak, bakterilerin kurummasını ve kontaminasyonu engellemek amacıyla kullanılmıştır. Fotokatalitik inaktivasyonda kullanılan cam düzenek Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Bakterilerin fotokatalitik inaktivasyonu için kullanılan cam düzenek

UVA ışık kaynağı

Cam düzenek, yaklaşık 365 nm’de pik veren 20W’lık siyah ışık (UVP Upland, CA 91786, Model XX – 20 BLB) ile ışınlanmıştır. Işık kaynağı ile örnek arasındaki mesafe uygun ışık yoğunluğu ($1\text{mW}/\text{cm}^2$) elde etmek için UV radiometer ile ayarlanmıştır. Fotokatalitik proseste kullanılan UVA ışık kaynağı Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Fotokatalitik proseste kullanılan UVA (UVP Upland, CA 91786, Model XX – 20 BLB) ışık kaynağı.

UV radiometer

UV radiometer (UVP) UV lambasının ışık yoğunluğunu $1,0 \text{ mW/cm}^2$ olacak şekilde ayarlamak amacıyla kullanılmıştır. Fotokatalitik proseste kullanılan UVA radiometer Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3. UV radiometer (UVP)

3.2. Metot

3.2.1. Kaplanacak Camların Temizlenmesi

Yapılan çalışmadan iyi ve verimli sonuç alabilmek için taşıyıcıların iyi temizlenmesi gerekir. İyi temizlenmemiş taşıyıcılara kaplanan filmler, kalıntılar ve kirlerden dolayı sağlıklı sonuç vermezler. Deneylerde kullanılacak cam substratlar kaplanmadan önce deterjanlı solüsyonda 15 dakika bekletilmiştir. Bunu takiben camlar distile su ile durulanmıştır. % 6,5'lik nitrik asit çözeltisinde 1 saat bekletildikten sonra distile su ile tekrar yıkanmış ve 70°C 'lik etüvde kurutulmuştur. Yıkama işlemi sonrasında cam

yüzeyi aktive olmuş ve kaplamaya hazır hale gelmiştir. Cam substratlar kullanılabildiği kadar desikatörde saklanmıştır (Chan, Porter, Barford, 2002).

3.2.2. Camların Silika ile Kaplanması

Kaplama işleminde sol-jel daldırma kaplama yöntemi kullanılmıştır. Düz cam plaklar (25,4x76,2 mm) hazırlanan SiO_2 çözeltisine daldırılmış ve 76,2 mm/dk'lık geriye çekme hızı ile çekilmiştir. Kurutma işlemi 50°C 'de 1 saatte yapılmıştır. Kurutulan cam plaklar 400°C 'de 3 saat kalsinasyon işlemine tabii tutulmuştur. Böylece silika ince filmi ile kaplı camlar elde edilmiştir. Bu işlem, cam içerisindeki Na iyonlarının TiO_2 tabakasına geçişini engellemek ve dolayısıyla fotokatalitik aktiviteyi arttırmak amacı ile yapılmıştır (Negishi, Takeuchi, Ibusuki, 1999).

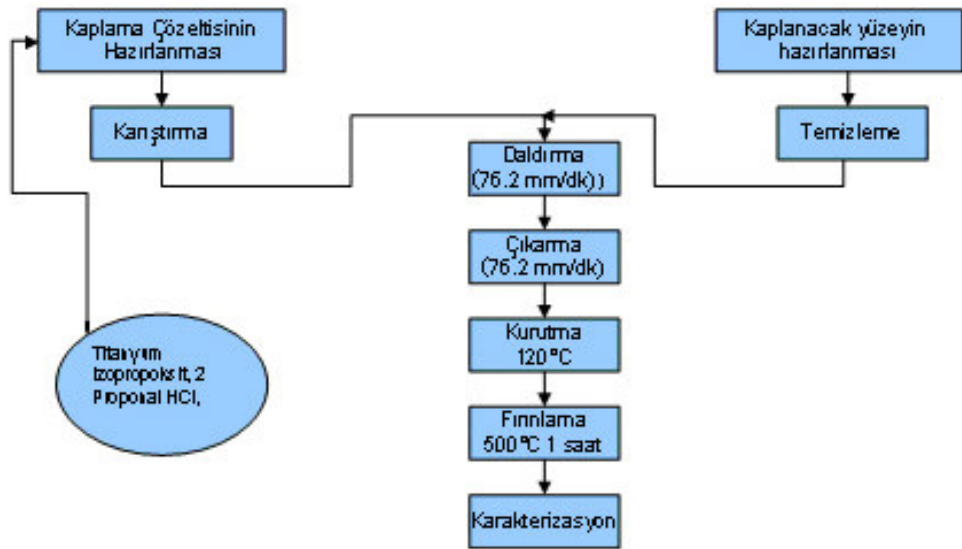
3.2.3. TiO_2 İnce Filmlerinin Hazırlanması

Denemelerde hazırlanan ince filmler temel olarak 4 grup oluşturmaktadır:

1. Grup: TiO_2 ince filmleri.

Kaplama işleminde sol-jel daldırma kaplama yöntemi kullanılmıştır. İnce filmlerin hazırlanması için silika kaplı ve silika kaplı olmayan cam substratlar TiO_2 solüne daldırılmış ve homojen bir dağılım

sağlamak için yaklaşık 76,2 mm/dk'lık bir hızla geri çekilmiştir. İnce filmlerin yüzeye daha iyi tutunmasını sağlamak amacıyla substratlar 120°C'de 1 saat etüvde kurutulmuştur. Film kalınlığını arttırmak amacı ile bu işlem 3 kez tekrar edilmiştir. Kristal yapıda TiO₂ filmleri elde etmek için 500°C'de, 2°C/dk. ısıtma oranında 1 saat kalsinasyon işlemi yapılmıştır. Böylece cam plaklar üzerinde TiO₂ ince filmleri elde edilmiştir. İnce filmlerin hazırlanmasında izlenen işlem basamakları Şekil 3.4'te özetlenmiştir (Hamid ve Rahman, 2003).



Şekil 3.4. TiO₂ ince filmlerinin hazırlanışını gösteren akış şeması (Hamid ve Rahman, 2003).

2. Grup: Fe/TiO₂ ince filmleri .

Kaplama işleminde sol jel daldırma kaplama yöntemi kullanılmıştır. Fe dop edilmiş TiO₂ ince filmlerinin hazırlanması için silika kaplı ve silika kaplı olmayan cam substratlar % 4 Fe içeren TiO₂ solüsyonuna daldırılmış

ve 76,2 mm/dk'lık hızla geri çekilmiştir. Bunu takiben, TiO_2 ince filmlerinin hazırlanmasında uygulanan kurutma ve kalsinasyon işlemleri yapılmıştır. Neticede cam plaklar üzerinde Fe/TiO_2 ince filmleri elde edilmiştir (Sonawane ve ark., 2004).

3.Grup: Cu/TiO_2 ince filmleri.

Kaplama işleminde sol-jel daldırma kaplama yöntemi kullanılmıştır. Cu dop edilmiş TiO_2 ince filmlerinin elde edilmesi için silika kaplı olmayan cam sübstratlar % 2'lik bakır içeren TiO_2 solüsyonuna daldırılmıştır. Bunu takiben TiO_2 ince filmlerinin hazırlanmasında kullanılan yöntemin aynısı uygulanmıştır. Anataz fazının meydana geldiği kalsinasyon sıcaklığını tespit etmek amacıyla ince filmler 300, 350, 400, 450 ve 500°C'de kalsinasyon işlemine tabii tutulmuştur. Sonuçta cam plaklar üzerinde Cu/TiO_2 ince filmleri elde edilmiştir (Sunada ve ark., 2003a).

4.Grup: PEG ile modifiye edilmiş ince filmler.

Kaplama işleminde sol-jel daldırma kaplama yöntemi kullanılmıştır. Bu tipte filmler elde etmek amacıyla silika kaplı ve silika kaplı olmayan cam plaklar PEG ile modifiye edilmiş farklı özellikteki (TiO_2/PEG , $\text{Fe/TiO}_2/\text{PEG}$, $\text{Cu/TiO}_2/\text{PEG}$) solüsyonlara daldırılmıştır. Cam sübstratlar 120°C'de 1 saat etüvde kurutulmuştur. PEG dekompozisyonunu sağlamak ve kristalin yapıda TiO_2 filmleri elde etmek için 500°C'de, 2°C/dk. ısıtma oranında 1 saat kalsinasyon işlemi yapılmıştır. Böylece cam

plaklar üzerinde PEG ile modifiye edilmiş TiO_2 ince filmleri elde edilmiştir (Sonawane ve ark., 2004).

3.2.4. TiO_2 İnce Filmlerinin Karakterizasyonu

TiO_2 ince filmleri elde edildikten sonra bu filmlerin karakterizasyon işlemlerine geçilmiştir. TiO_2 ince filmlerinde artan sıcaklıklarda oluşan kristalleşmeler ve kristal dönüşümleri, X-ışınları kırınım cihazı (XRD) ile ölçülmüştür. İnce filmlerin yüzey morfolojisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak tespit edilmiştir. Filmlerin yüzey özelliklerini incelemek, atomik seviyede üç boyutlu yüzey topografisi görüntülerini elde etmek amacı ile taramalı uç mikroskobu (AFM) kullanılmıştır (Hamid ve Rahman, 2003).

3.2.5. İnce Filmlerin Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi

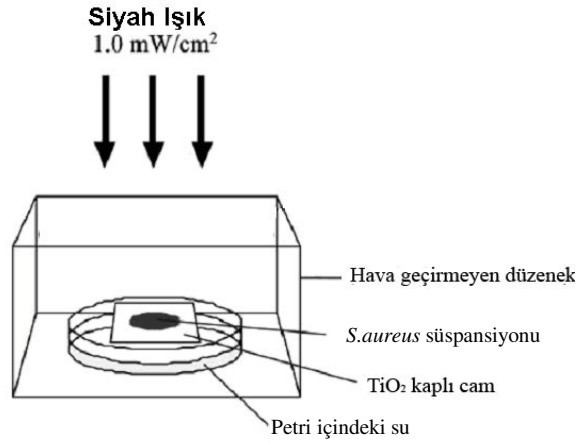
3.2.5.1. Bakteri Kültürünün Fotokatalitik İncelemeler İçin Hazırlanması

Stok kültürden alınan *S. aureus* ATCC 6538P hücreleri 2,5 ml nutrient broth içerisinde 37°C 'de 18 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen kültür 10 000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin amacı, hücreleri kültür ortamından ayırıp onların çoğalmasını önlemektir. Supernatant atıldıktan sonra bakteri konsantrasyonunun Mc Farland 1'e karşılık gelebilmesi için hücreler 10 ml 0,15 M NaCl çözeltisinde süspande

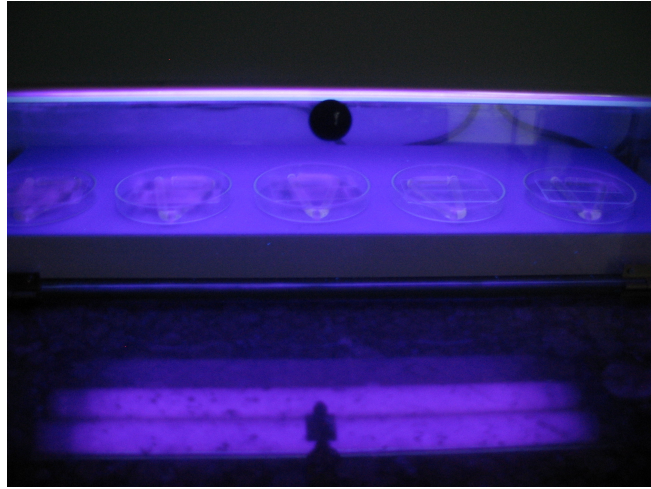
edilmiştir. Hazırlanan bu taze bakteriyel süspansiyon fotokatalitik çalışmada kullanılmıştır (Sunada ve ark., 2003b).

3.2.5.2. Fotokatalitik Dezenfeksiyon

Hazırlanan taze süspansiyondan uygun bakteriyel konsantrasyonu elde etmek amacı ile bir dizi seyreltme hazırlanmıştır. Seyreltme plaka yöntemi kullanılarak genel canlı sayımı yapılmıştır. Antibakteriyel aktivitede kullanılacak cam plaklar uygulamadan önce 180°C’de 1 saat süre ile steril edilmiştir. Ortalama 10^7 cfu/ml bakteri içeren dilüsyondan 50 µl alınarak, farklı ince filmler ile kaplanan (500°C’de anataz kristal yapısını oluşturanlar) ve kaplanmayan camlar üzerindeki 1 cm²’lik alana aktarılmıştır. Cam plaklar kurumayı önlemek amacıyla hava geçirmeyen ve ısınlanabilen bir cam düzeneğinin içine yerleştirilmiştir. Fotokatalitik aktiviteyi belirlemek amacı ile iki farklı tipte kontrol örneği kullanılmıştır; kontrol 1 (kaplanan cam+karanlık), kontrol 2 (kaplanmayan cam+UV ışınlaması). Cam düzeneği 1,0 mW/cm² ışık yoğunluğuna sahip (~ 11cm uzaklıkta) 20 W’lık siyah ışık veren bir UV lambası ile ısınlanmıştır. Işık yoğunluğu UV radiometer (UVP) kullanılarak ayarlanmıştır. Örnekler 30, 60, 90, 120 dakika süresince oda sıcaklığında ısınlanmıştır (Sunada ve ark., 2003b). Işınlama düzeneğinin şematik görünümü Şekil 3.5’te, çalışmamızda kullanılan düzeneği Şekil 3.6’da gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Işınlama düzeneğinin şematik görünümü (Sunada ve ark., 2003b).



Şekil 3.6. Fotokatalitik işlem boyunca cam düzeneğin görünüşü

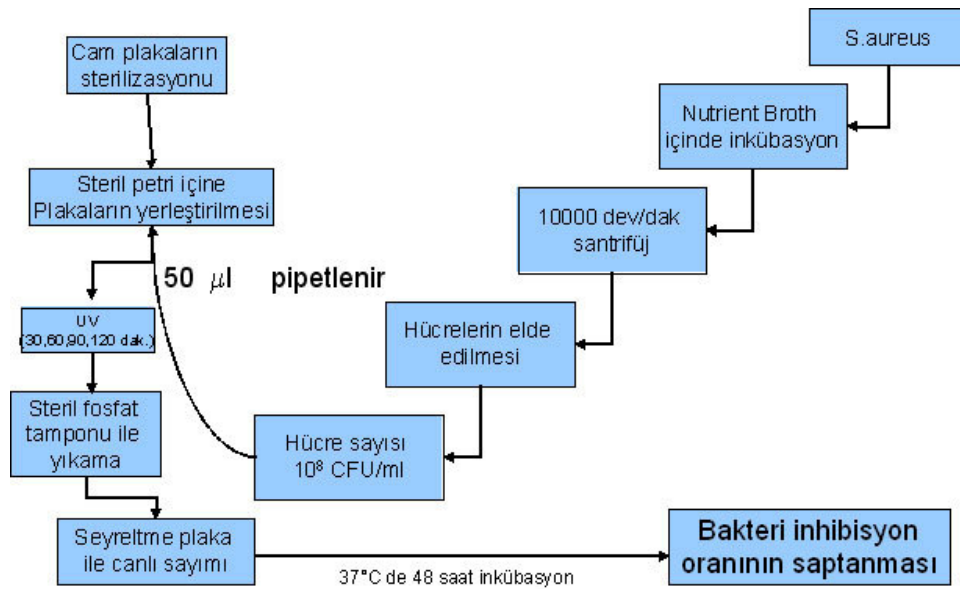
3.2.5.3. Canlı Kalan Bakteri Sayısının Tespiti

Her bir ışınlama periyodundan sonra cam yüzeyindeki bakteriler 5,0 ml fosfat tamponu ile steril petri içirisine yıkanmıştır. Kalan canlı

hücrelerin sayısını tespit etmek amacı ile uygun dilüsyonlar hazırlanarak bakteriler 36°C’de 48 saat Baird Parker Agar’da inkübe edilmiştir. Bakteriyel inhibisyon (Bİ) aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$$\%(Bİ)=C_0-C_F/C_0$$

C_0 , ışınlamadan önceki başlangıç bakteri konsantrasyonunu, C_F , ışınlamadan sonra kalan bakteri konsantrasyonunu ifade etmektedir (Amezaga ve ark., 2002). İnce filmlerin antibakteriyel aktivitesinin incelenmesinde izlenen yol Şekil 3.7’de özetlenmiştir (Sunada ve ark., 2003b).



Şekil 3.7. İnce filmlerin antibakteriyel aktivitesinin incelenmesinde izlenen yol (Sunada ve ark., 2003b).

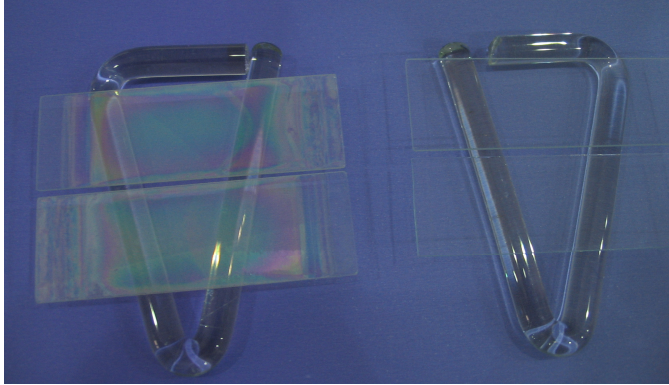
4. BULGULAR

4.1. TiO₂ İnce Filmlerin Elde Edilmesi

Çalışmanın ilk basamağında yaklaşık 160 tane cam örneği SiO₂ (silika) ile kaplanmıştır. Bunu takiben silika ile kaplanan (silikalı) ve silika ile kaplanmayan (240 tane, silikasız) cam örnekleri farklı özelliklere sahip TiO₂ ince filmleri ile kaplanmıştır. Elde edilen kaplama çeşitleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Elde edilen ince film çeşitleri.

Film Kodu	Film çeşidi	Örnek sayısı
TiO ₂ -1	TiO ₂	40
TiO ₂ -2	TiO ₂ +PEG (600)	40
TiO ₂ -3	TiO ₂ +SiO ₂	40
TiO ₂ -4	TiO ₂ +SiO ₂ +PEG (600)	40
TiO ₂ -5	TiO ₂ +% 4 wt Fe	40
TiO ₂ -6	TiO ₂ +% 4 wt Fe+PEG (600)	40
TiO ₂ -7	TiO ₂ +SiO ₂ +% 4wt Fe	40
TiO ₂ -8	TiO ₂ +SiO ₂ +% 4wt Fe+PEG (600)	40
TiO ₂ -9	TiO ₂ + % 2 wt Cu	40
TiO ₂ -10	TiO ₂ +% 2 wt Cu+PEG (600)	40



Şekil 4.1. İnce film ile kaplanan (solda), kaplanmayan (sağda) cam örnekleri.

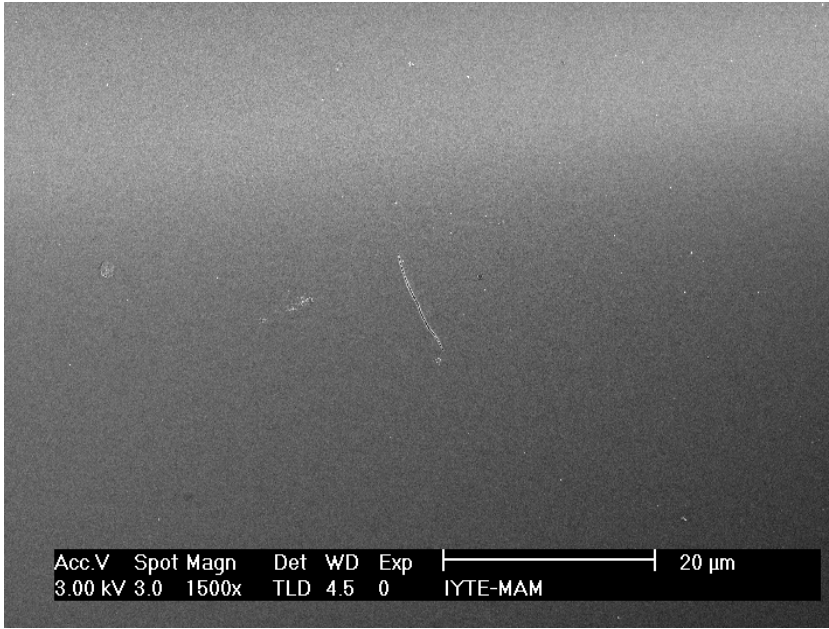
4.2. TiO₂ İnce Filmlerinin Karakterizasyonu

Sol jel yöntemi kullanılarak elde edilen farklı özellikteki TiO₂ ince filmlerinin yapısı ve yüzey karakteristikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Artan sıcaklıklarda oluşan kristalleşmeler ve kristal dönüşümleri X-ışınları kırınım cihazı (XRD) ile ölçülmüştür. Taramalı uç mikroskobu (AFM) kullanılarak filmlerin yüzey pürüzlülükleri ve morfolojileri araştırılmış atomik seviyede üç boyutlu yüzey topografisi görüntüleri elde edilmiştir.

4.2.1. SEM Analizleri

Yapılan SEM ölçümleri sonucunda farklı içerikteki sillerle kaplanan filmlerin farklı yüzey özelliklerine sahip oldukları görülmüştür. SiO₂ filmi homojen yapıdadır ve çatlak içermemektedir. Silika tabakası ile kaplanmayan ince filmlerde (TiO₂-1) 500°C'lik ısısal işleminden sonra

çatlaklar meydana gelmiştir. SiO_2 ince filmi içermeyen fakat PEG(600) ile modifiye edilen filmlerde (TiO_2 -2) ise çatlakların oluşmadığı ve oldukça homojen ve gözenekli bir kaplamanın elde edildiği tespit edilmiştir. Fe ve Cu ile dop edilen ince filmlerin de homojen yapıda oldukları ve ısısal işlem den sonra yüzeyde çatlakların meydana gelmediği görülmüştür. Farklı ince filmlerin SEM fotoğrafları Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

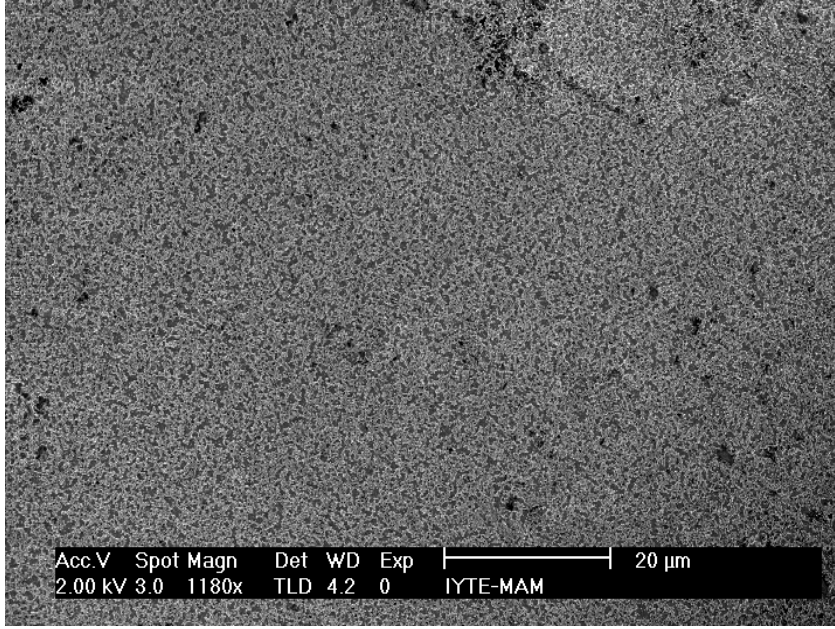


a

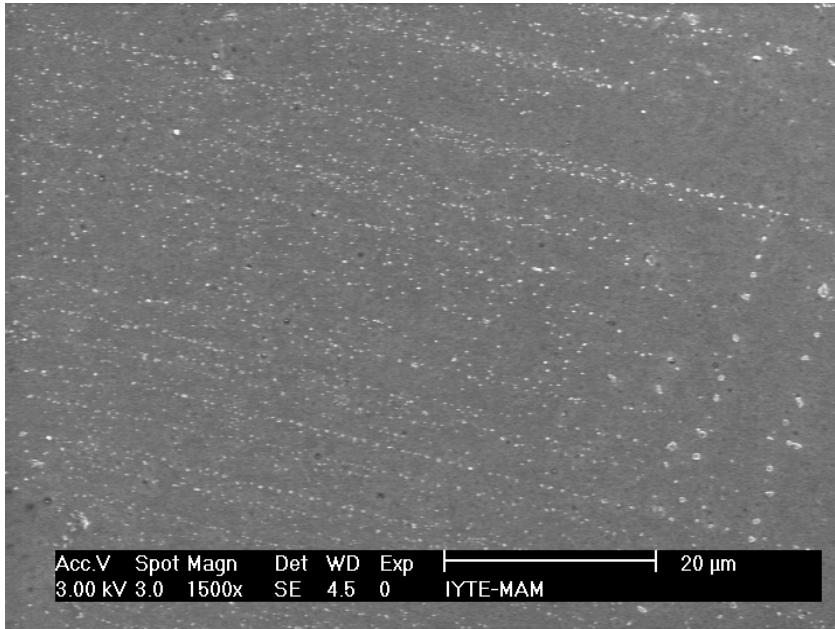


b

Şekil 4.2. Farklı ince filmlerin SEM fotoğrafları. a) SiO_2 b) TiO_2 -1 c) TiO_2 -2 d) TiO_2 -4 e) TiO_2 -7 f) TiO_2 -8 g) TiO_2 -9 h) TiO_2 -10

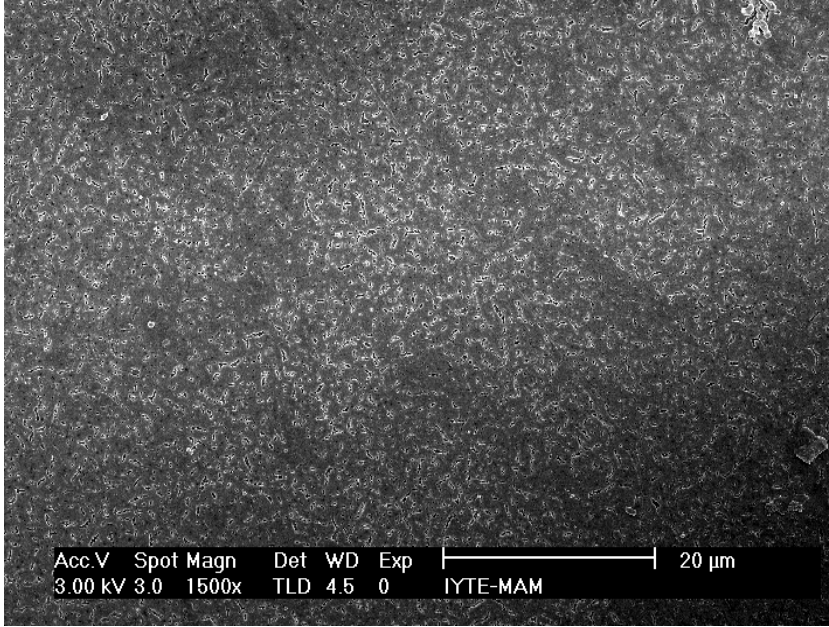


c

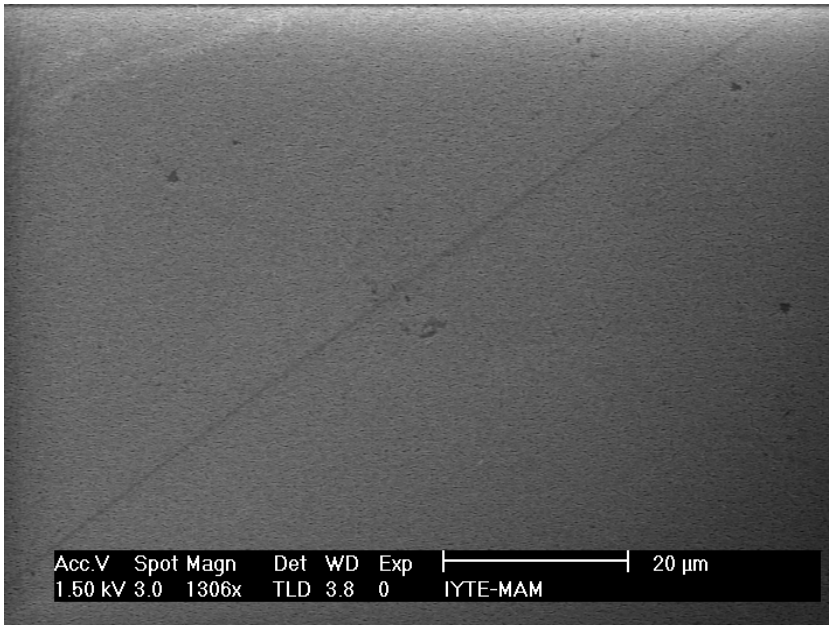


d

Şekil 4.2. (Devamı)

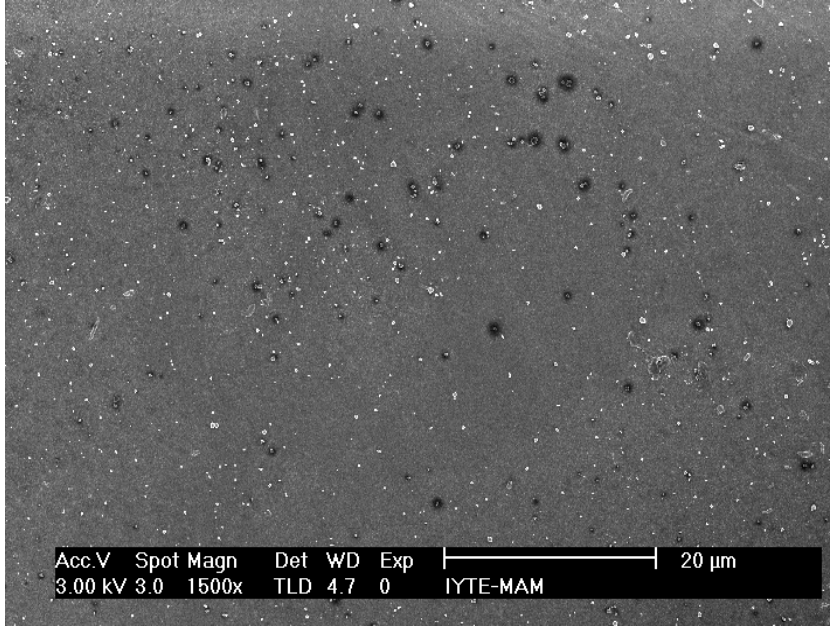


e

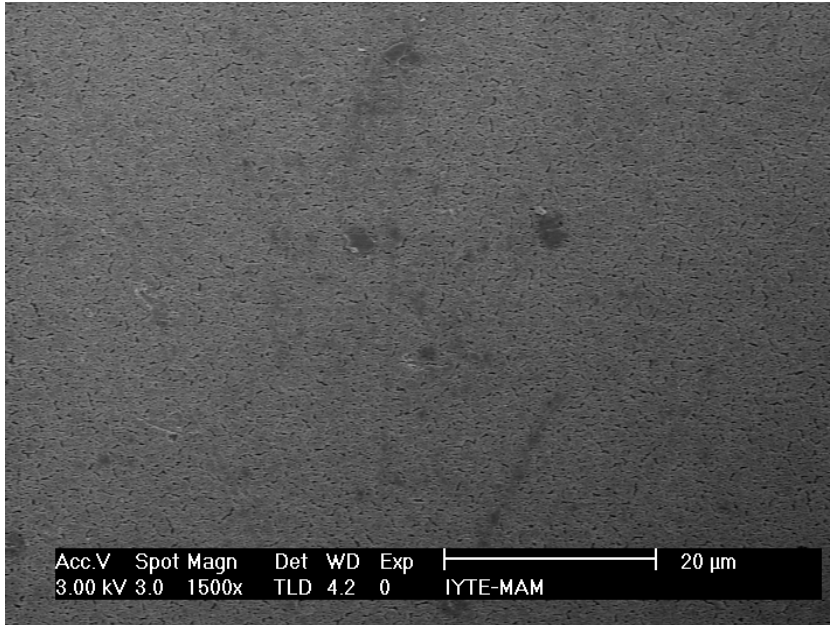


f

Şekil 4.2. (Devamı)



g



h

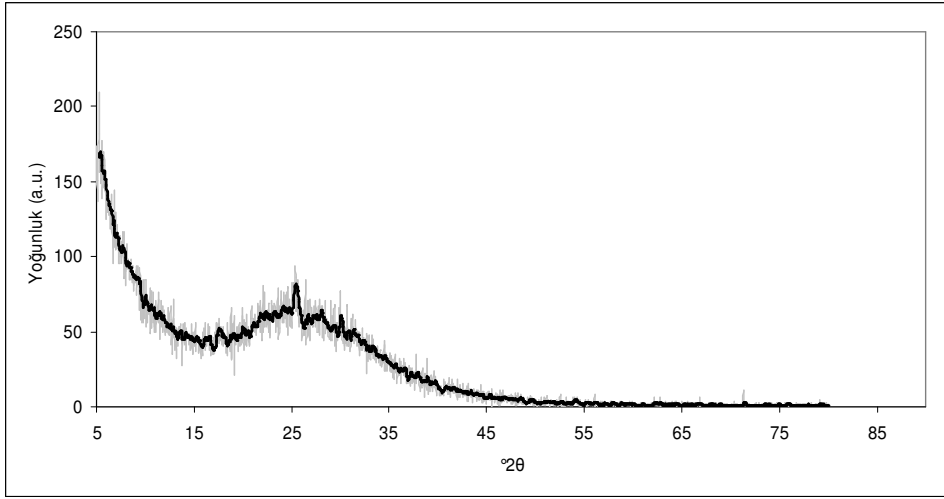
Şekil 4.2. (Devamı)

4.2.2. XRD Sonuçları

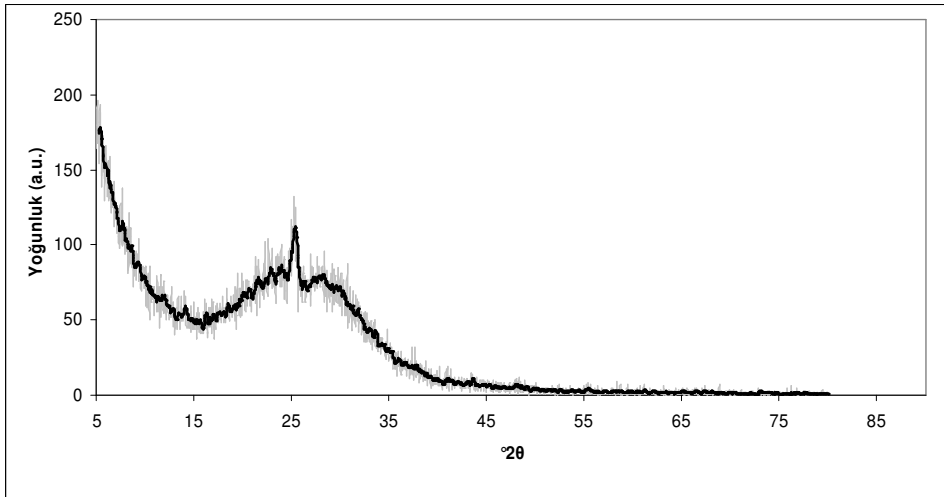
TiO₂ ince filmleri farklı sıcaklıklarda ısıtıl işlemlerden geçirildikten sonra X-ışını analizleri yapılmış ve TiO₂'in kristalleşme davranışları hakkında detaylı bilgi elde edilmiştir. Taramalar sonucunda 5-85° arasındaki 2θ değerleri incelenmiştir. Yapılan XRD ölçümleri sonucunda, 500°C'de kalsinasyon işlemine tabi tutulan bütün filmlerin tepe noktasının 2θ değeri 25,38° olmuştur. Referanslar göz önüne alındığında (2θ=25,38°, 37,98°, 47,66° ve 54,82° değerleri anataz faz pikidir) bu pikin anataz fazın varlığını işaret ettiği görülmüştür. Cu ile dop edilen TiO₂ ince filmlerinden 450°C'de ısıtıl işleme tabi tutulanlar anataz fazı oluştururken 300, 350, 400°C'de ısıtıl işleme tabi tutulanlar amorf yapı meydana getirmişlerdir. Silika kaplaması ve filmlerin PEG(600) ile modifikasyonu anataz fazın pik yoğunluğunu arttırmıştır. TiO₂ ince filmlerinin kalsinasyon sıcaklığı, süresi ve kristal fazı Çizelge 4.2'de, filmlerin X-ışını saçılım spektrumları Şekil 4.3 ve 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı sıcaklıklarda ısıtıl işleminden geçirilmiş farklı TiO_2 ince filmlerinin kristal faz sonuçları

Film Kodu	Materyal	T (°C)	t (dk.)	Faz (XRD)
TiO ₂ -1	TiO ₂	500	60	Anataz
TiO ₂ -2	TiO ₂ +PEG (600)	500	60	Anataz
TiO ₂ -3	TiO ₂ +SiO ₂	500	60	Anataz
TiO ₂ -4	TiO ₂ +SiO ₂ +PEG (600)	500	60	Anataz
TiO ₂ -5	TiO ₂ +% 4 wt Fe	500	60	Anataz
TiO ₂ -6	TiO ₂ +% 4 wt Fe+PEG (600)	500	60	Anataz
TiO ₂ -7	TiO ₂ +SiO ₂ +% 4 wtFe	500	60	Anataz
TiO ₂ -8	TiO ₂ +SiO ₂ +% 4wt Fe+PEG (600)	500	60	Anataz
TiO ₂ -9	TiO ₂ +% 2 wt Cu	500	60	Anataz
TiO ₂ -9-1	TiO ₂ +% 2 wt Cu	300	60	Amorf
TiO ₂ -9-2	TiO ₂ +% 2 wt Cu	350	60	Amorf
TiO ₂ -9-3	TiO ₂ +% 2 wt Cu	400	60	Amorf
TiO ₂ -9-4	TiO ₂ +% 2 wt Cu	450	60	Anataz
TiO ₂ -10	TiO ₂ +% 2wt Cu+PEG (600)	500	60	Anataz
TiO ₂ -10-1	TiO ₂ +% 2wt Cu+PEG (600)	300	60	Amorf
TiO ₂ -10-2	TiO ₂ +% 2wt Cu+PEG (600)	350	60	Amorf
TiO ₂ -10-3	TiO ₂ +% 2wt Cu+PEG (600)	400	60	Amorf
TiO ₂ -10-4	TiO ₂ +% 2wt Cu+PEG (600)	450	60	Anataz

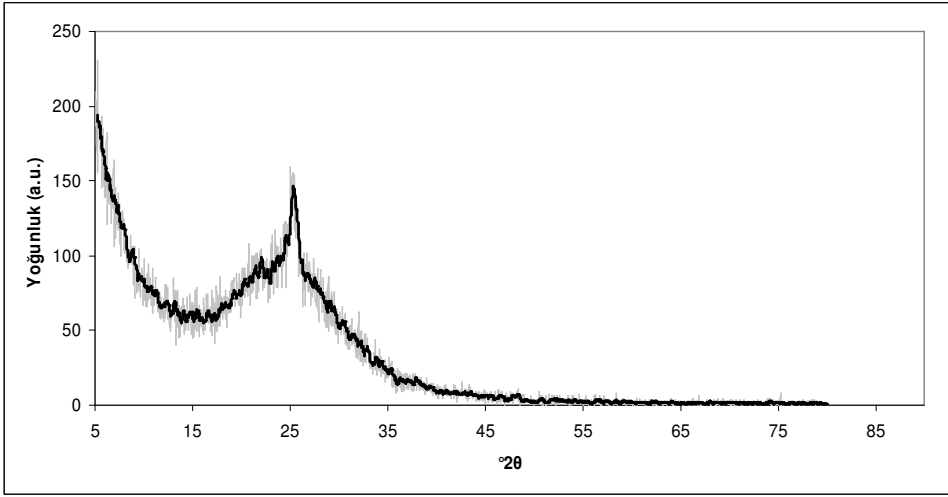


a

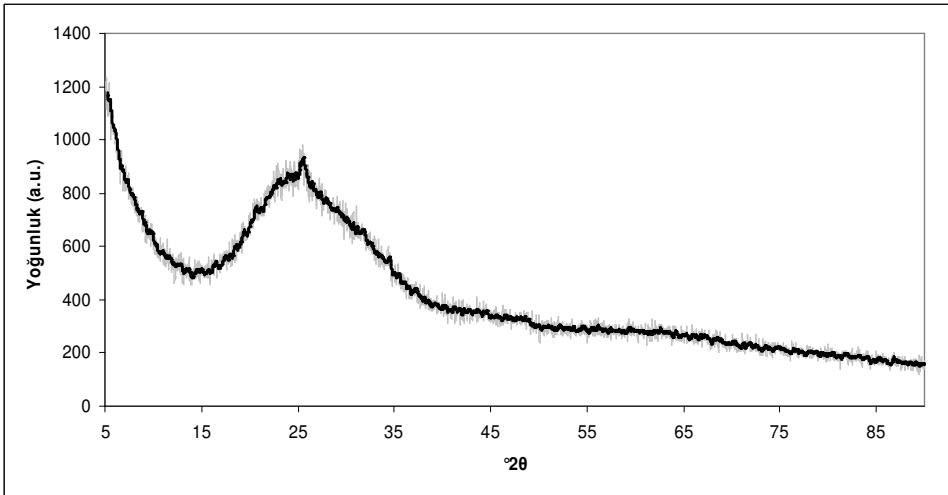


b

Şekil 4.3. Farklı ince filmlerin X-ışını saçılım spektrumları. a) TiO_2 -1 b) TiO_2 -3 c) TiO_2 -4 d) TiO_2 -7 e) TiO_2 -8

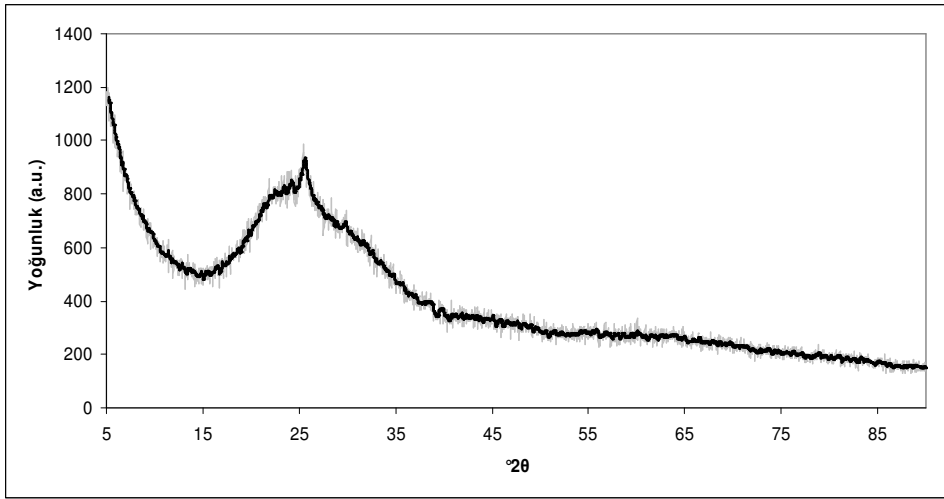


C



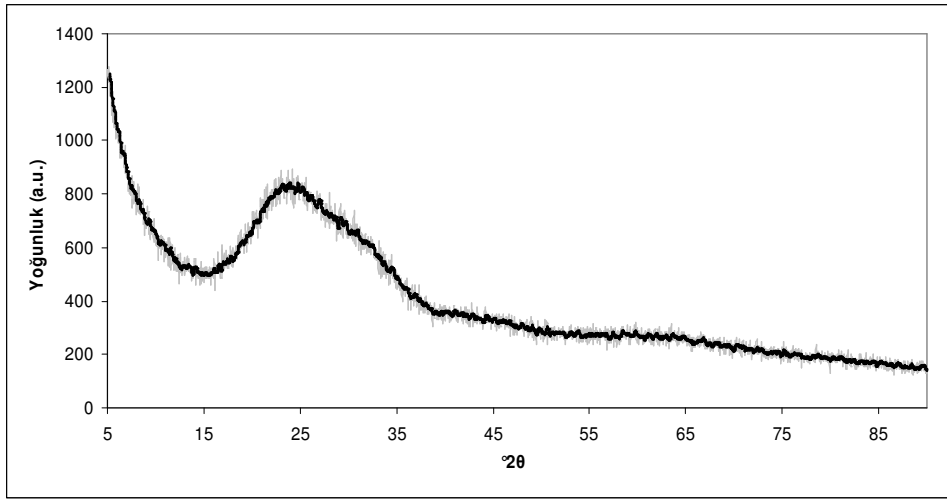
d

Şekil 4.3. (Devamı)

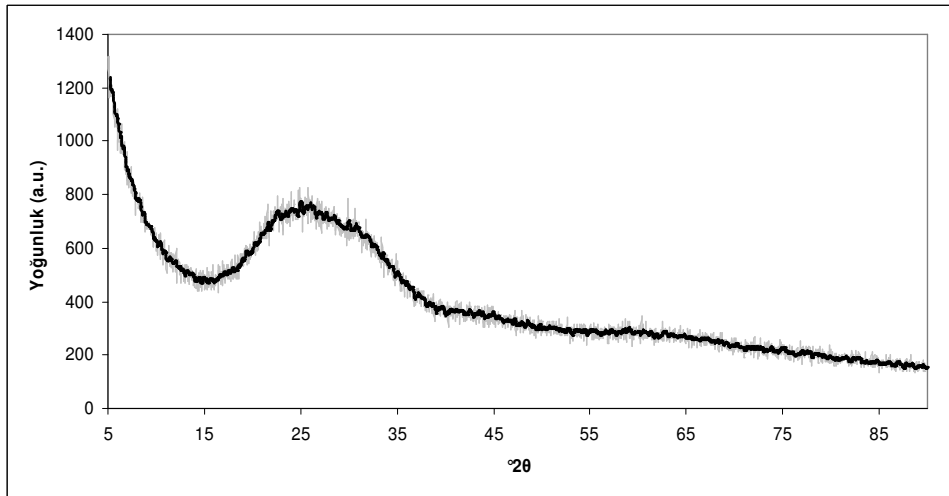


e

Şekil 4.3. (Devamı)

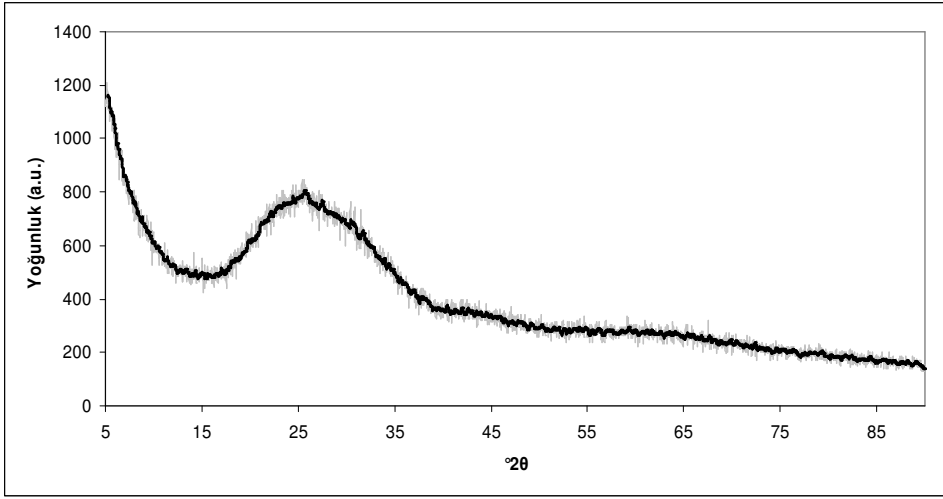


a

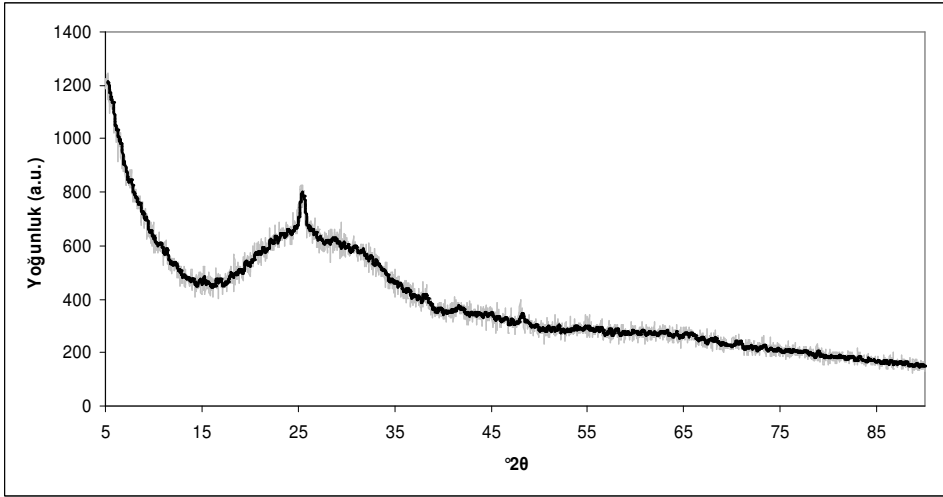


b

Şekil 4.4. Farklı sıcaklıklarda ısıtılardan geçirilmiş TiO_2+Cu ince filmlerinin X-ışını saçılım spektrumları. a) $\text{TiO}_2\text{10-1}$ b) $\text{TiO}_2\text{10-2}$ c) $\text{TiO}_2\text{10-3}$ d) $\text{TiO}_2\text{10-4}$ e) $\text{TiO}_2\text{-9}$ f) $\text{TiO}_2\text{-10}$

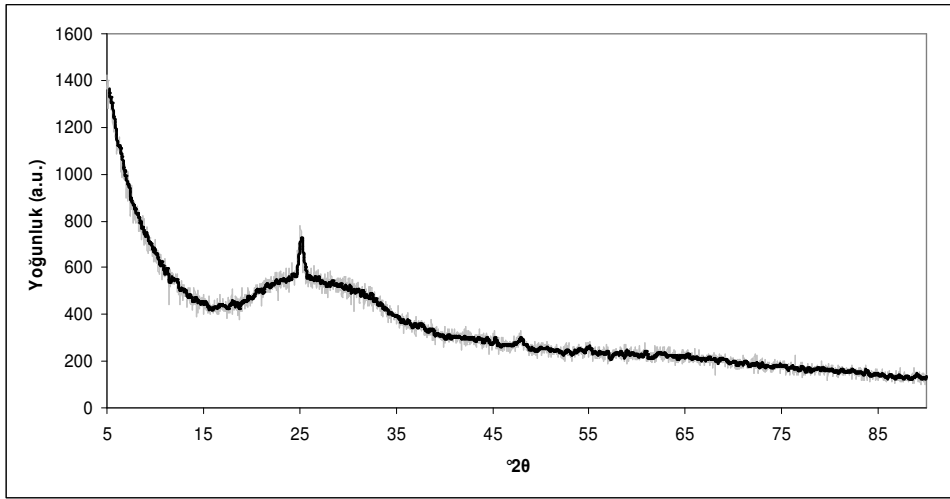


c

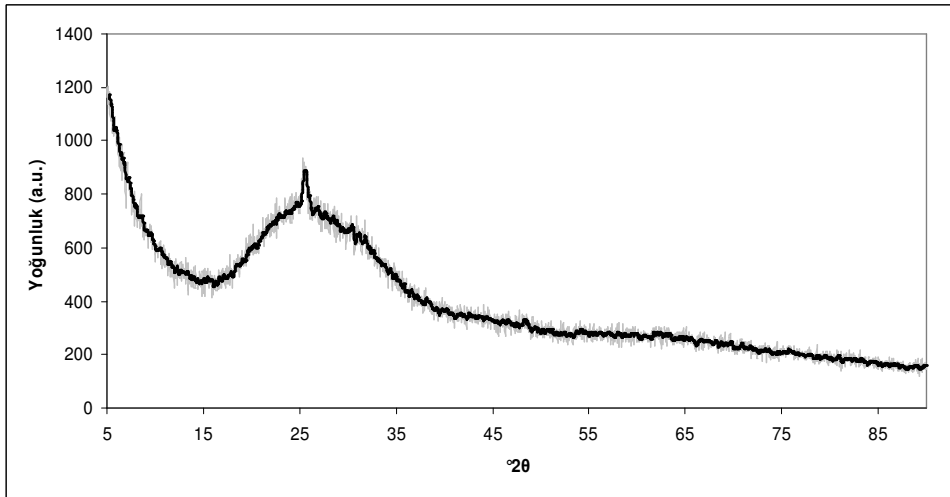


d

Şekil 4.4. (Devamı)



e



f

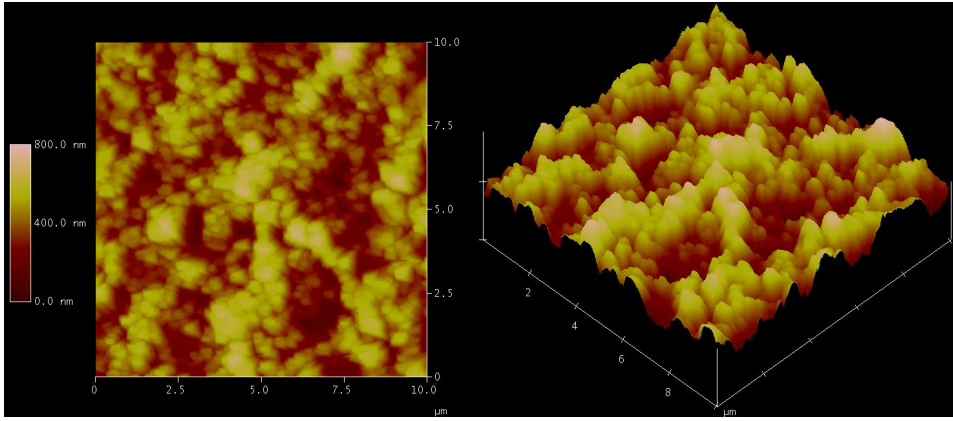
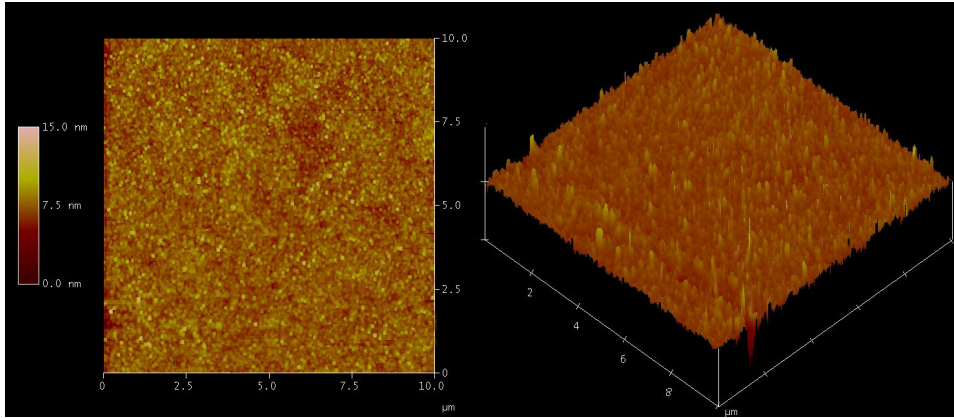
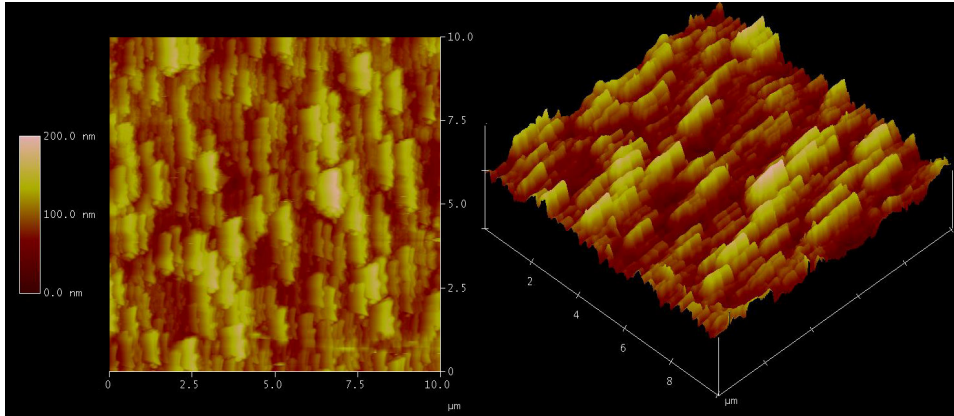
Şekil 4.4. (Devamı)

4.2.3. AFM Sonuçları

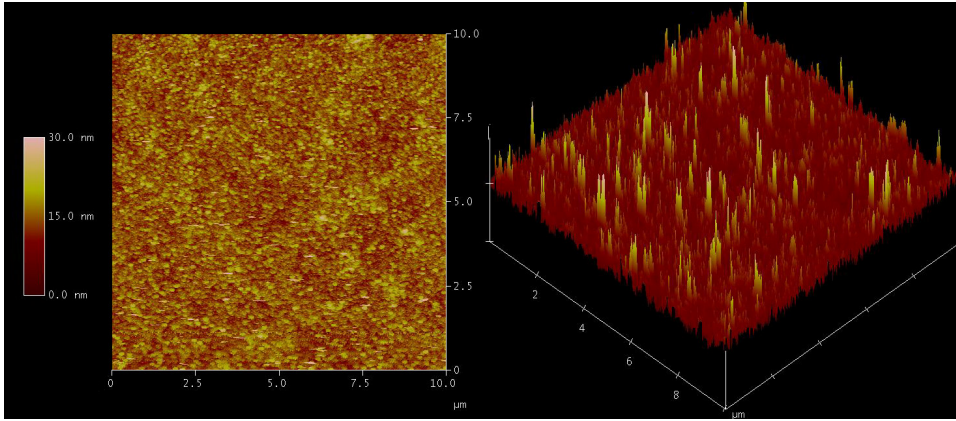
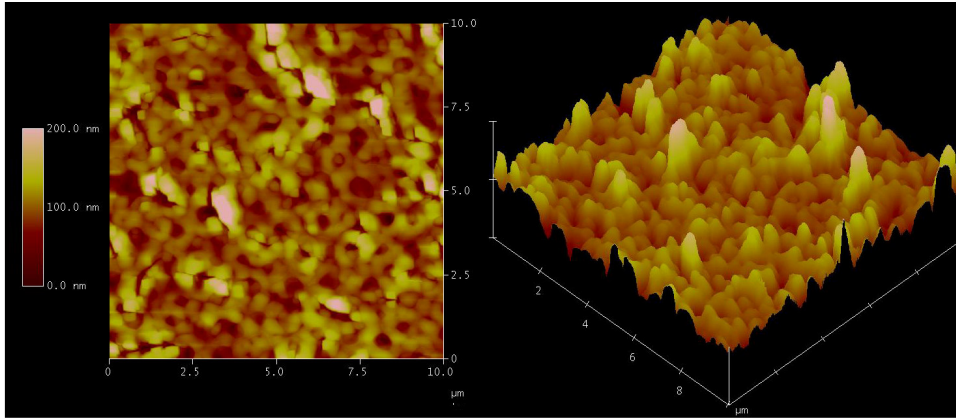
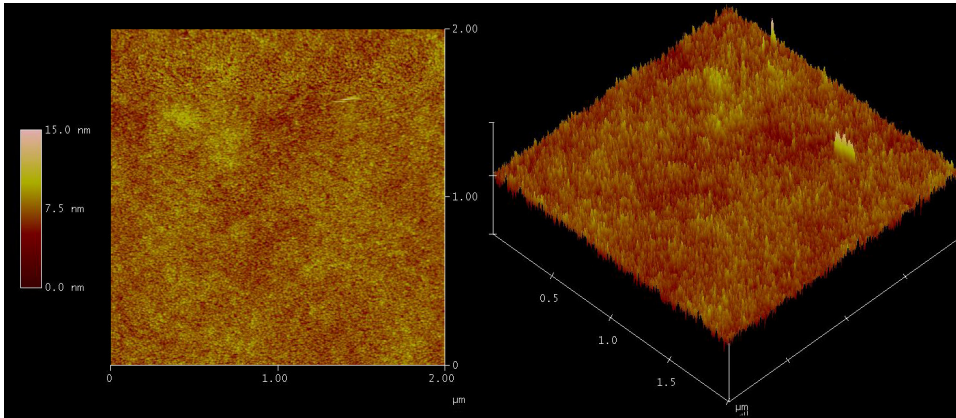
AFM ile yapılan ölçümler sonucunda filmlerin yüzey morfolojileri ve pürüzlülüklerinin farklılıklar gösterdikleri tespit edilmiştir. PEG (600) ile modifiye edilmeyen filmler granüler yapıda olmuş ve pürüzlülük değerleri (RMS_{rms}) 15,579-71,725 nm arasında değişiklik göstermiştir. Özellikle saf TiO_2 filmi çok sayıda çatlak içermesinden dolayı pürüzlülük değeri çok yüksek olmuştur. PEG ilavesi filmlerin daha düz bir yapıda olmasına yol açmış ve pürüzlülük değerlerini düşürerek 0,559-2,288 nm arasında olmasını sağlamıştır. Farklı ince filmlerin yüzey pürüzlülük (RMS_{rms}) değerleri Çizelge 4.3.'te, filmlerin yüzey analizini ve üç boyutlu yapısını gösteren AFM fotoğrafları Şekil 4.5.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı ince filmlerin AFM ölçümleri sonucunda elde edilen yüzey pürüzlülük (RMS_{rms}) değerleri

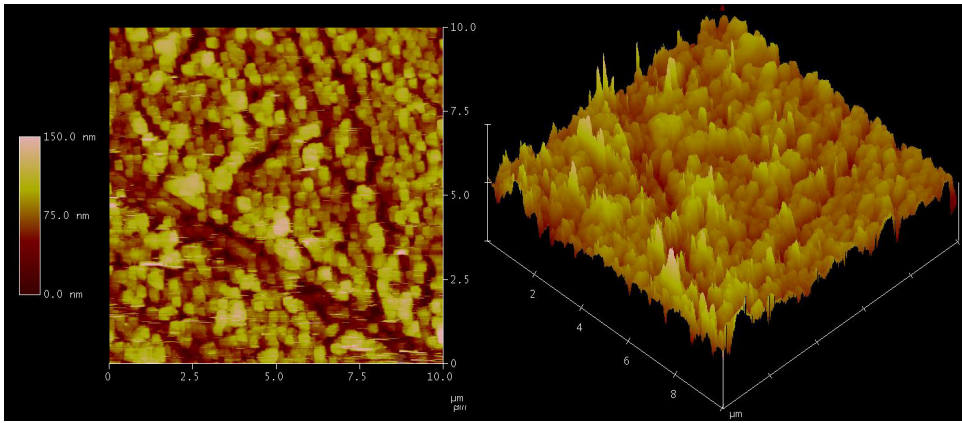
Film Kodu	Film çeşidi	RMS_{rms} pürüzlülük (nm)
TiO ₂ -1	TiO ₂	71,729
TiO ₂ -2	TiO ₂ +PEG(600)	0,588
TiO ₂ -5	TiO ₂ +% 4 wt Fe	15,579
TiO ₂ -6	TiO ₂ +% 4 wt Fe+PEG(600)	2,288
TiO ₂ -7	TiO ₂ +SiO ₂ +% 4 wtFe	19,197
TiO ₂ -8	TiO ₂ +SiO ₂ +% 4 wt Fe+PEG (600)	1,235
TiO ₂ -9	TiO ₂ +% 2 wt Cu	20,019
TiO ₂ -10	TiO ₂ +% 2 wt Cu+PEG(600)	0,559
SiO ₂	Silika	0,534

**a****b****c**

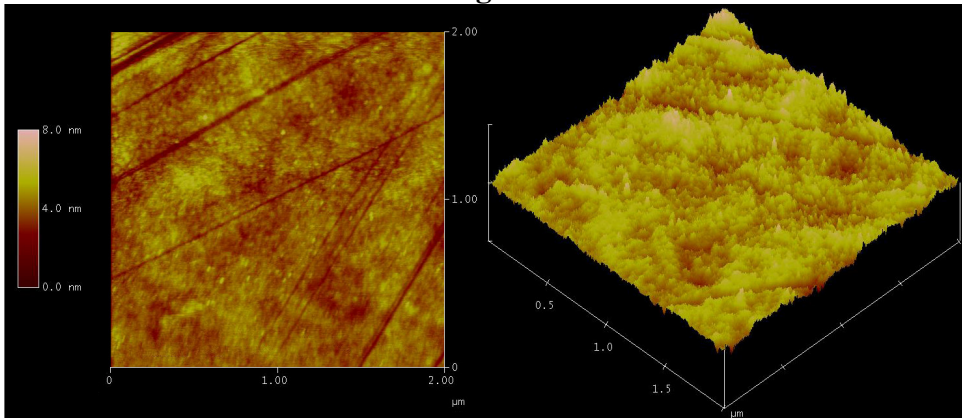
Şekil 4.5. Farklı TiO_2 ince filmlerinin yüzey analizini (solda) ve üç boyutlu yapısını (sağda) gösteren AFM fotoğrafları: a) TiO_2 -1 b) TiO_2 -2 c) TiO_2 -5 d) TiO_2 -6 e) TiO_2 -7 f) TiO_2 -8 g) TiO_2 -9 h) TiO_2 -10 ı) SiO_2

**d****e****f**

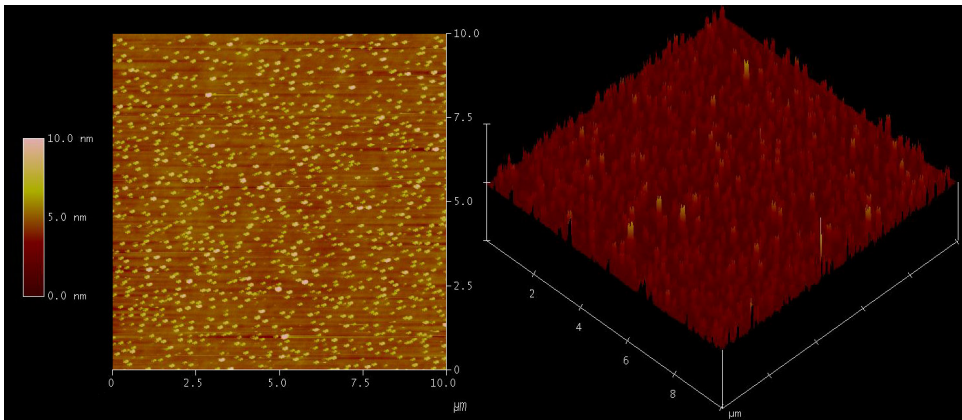
Şekil 4.5. (Devamı)



g



h



I

Şekil 4.5. (Devamı)

4.3. Farklı Özellikteki TiO₂ İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Işınlanan TiO₂ ince filmlerinin *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyel etkisini araştırmak amacıyla seyreltme plaka yöntemi kullanılarak genel canlı sayımı yapılmıştır. Deneylerde kullanılan ortalama başlangıç bakteri konsantrasyonu (C₀) 3,0x10⁸ cfu/ml olmuştur. Kaplanmamış cam plaklar UV ile ışınlanarak ve kaplanan cam plaklar karanlıkta bekletilerek kontrol örnekleri oluşturulmuştur. Farklı özelliklere sahip kaplama örneklerinin antibakteriyel aktivitesi 10 grup altında incelenmiştir.

4.3.1. TiO₂ İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

1. Grup

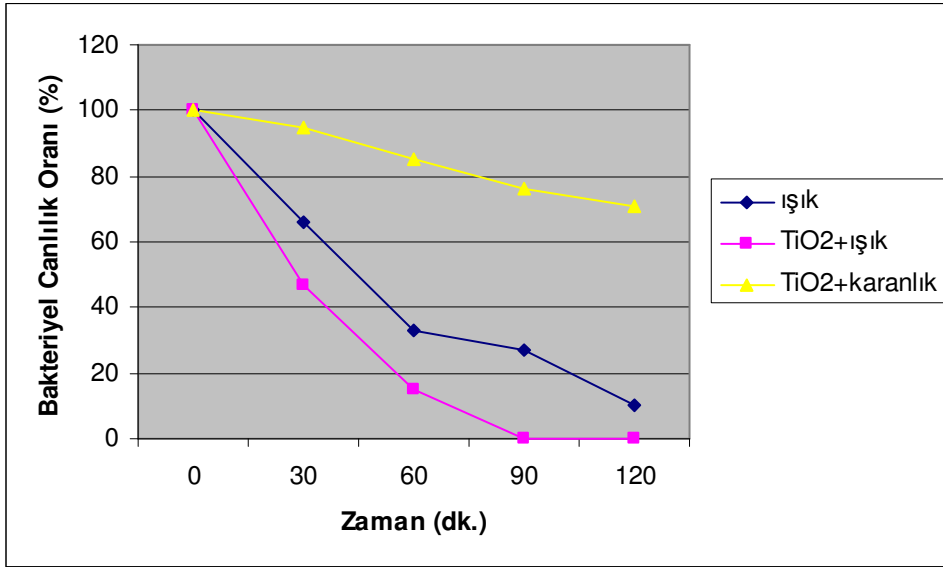
Bu grupta sadece TiO₂ ince filmi ile kaplanan örneklerin antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Işınlamanın 30., 60., 90. ve 120. dakikasındaki bakteriyel inhibisyon (Bİ) oranları kaplanmadan ışınlanan örnekler (kontrol) için sırasıyla % 33,33, % 66,19, % 72,38, % 90,00 olurken, TiO₂ ince filmi ile kaplanıp ışınlanan örnekler için sırasıyla % 52,38, % 84,76, % 100, % 100 olmuştur. Kaplanmış örnekler kontrolden daha yüksek bir bakterisidal aktivite sergilemişlerdir. 90 dk. ışınlama sonucunda kontrol örneğindeki bakteri hücrelerinin % 72,38'i ölürken ince film üzerindeki hücrelerin tamamı ölmüştür. TiO₂ ince filmi ile kaplanan substratlar üzerindeki bakteri hücreleri 2 saatlik karanlık uygulaması

sonucunda % 4,76-% 28,57 arasında bir canlılık kaybına uğramışlardır. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.4'te, *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.6'da ve filmler üzerinde kalan canlı bakteri sayısı Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

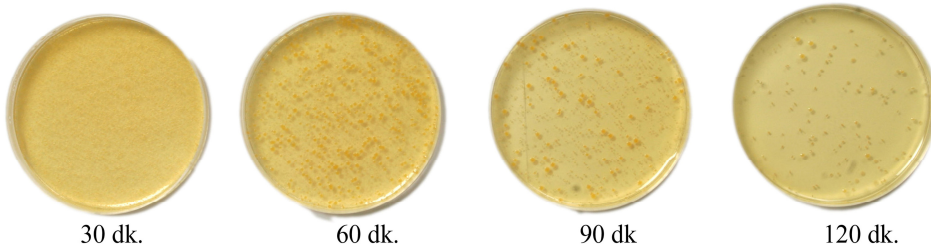
Çizelge 4.4. TiO₂-1 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -1						
t/dk.	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	2,1x10 ⁸	2,1x10 ⁸	0	2,1x10 ⁸	0	2,1x10 ⁸	0
30		1,4x10 ⁸	33,33	1,0x10 ⁸	52,38	2,0x10 ⁸	4,76
60		7,1x10 ⁷	66,19	3,2x10 ⁷	84,76	1,8x10 ⁸	14,28
90		5,8x10 ⁷	72,38	<1	100	1,6x10 ⁸	23,80
120		2,1x10 ⁷	90,00	<1	100	1,5x10 ⁸	28,57

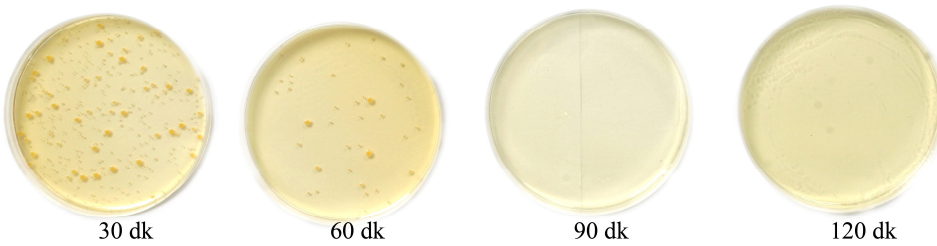
t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n=4 deneme



Şekil 4.6. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -1 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.



a



b

Şekil 4.7. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlama sonucunda TiO_2 ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı a) sadece ışık b) TiO_2 +ışık

4.3.2. TiO₂+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

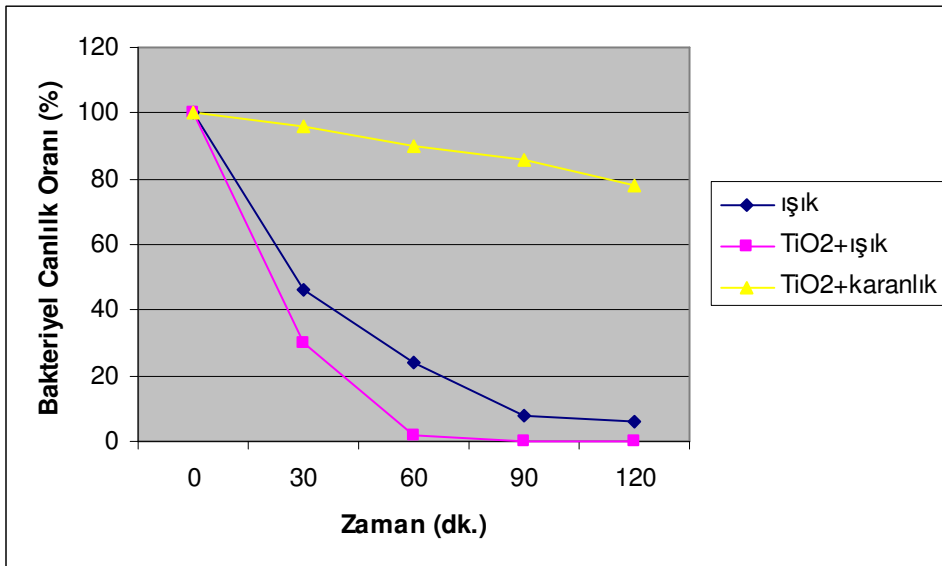
2. Grup

Bu grupta PEG (600) ile modifiye edilen TiO₂ ince filmlerinin antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Kontrolün (sadece ışık) ölüm oranları 2 saatlik ışınlama süresince sırasıyla % 54,00, % 76,00, % 92,00, % 93,40 olurken ince film ile kaplı örneklerin ölüm oranları sırasıyla % 60,00, % 98,00, % 100 ve % 100 olmuştur. PEG ilavesi, kaplanmış camların bakterisidal aktivitesinde ışınlamanın 30. ve 60. dakikasında sırasıyla % 7,62 ve % 13,24 oranında bir artışa sebep olmuştur 90 dakikalık ışınlama sonucunda ince film üzerindeki *S. aureus* hücrelerinin tamamı ölmüştür. Karanlıkta bekletilen hücrelerin canlılık oranında da % 4,00-% 22,00 arasında bir azalma tespit edilmiştir. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.5'te ve *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. TiO₂-2 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -2						
t/dk.	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	5,0x10 ⁸	5,0x10 ⁸	0	5,0x10 ⁸	0	5,0x10 ⁸	0
30		2,3x10 ⁸	54,00	2,0x10 ⁸	60,00	4,8x10 ⁸	4,00
60		1,2x10 ⁸	76,00	1,0x10 ⁷	98,00	4,5x10 ⁸	10,00
90		4,0x10 ⁷	92,00	<1	100	4,3x10 ⁸	14,00
120		3,3x10 ⁷	93,40	<1	100	3,9x10 ⁸	22,00

t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme

**Şekil 4.8.** 2 saatlik ışınlama süresince TiO₂-2 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.

4.3.3. SiO₂+TiO₂ İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

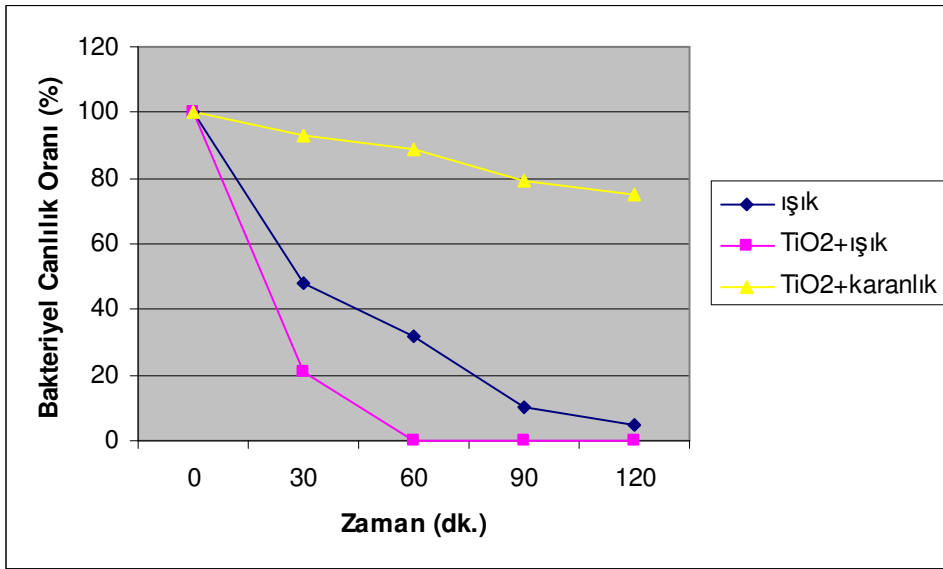
3. Grup

Bu grupta ince bir silika tabakası üzerine kaplanan TiO₂ ince filmlerinin bakterisidal etkileri araştırılmıştır. 60 dakikalık ışınlama sonucunda kontroldeki (sadece ışık) *S. aureus*'un Bİ oranı % 67,24 olurken kaplı camlardaki Bİ oranı % 100 olmuştur. SiO₂ tabakası antibakteriyel aktiviteyi arttırmış ve inhibisyon süresini kısaltmıştır. İnce filmler üzerindeki bakteri hücreleri karanlıkta bekletildiklerinde % 6,89-% 24,13 arasında bir canlılık kaybına uğramışlardır. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.6'da ve *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.9'da ve filmler üzerinde kalan canlı bakteri sayısı Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

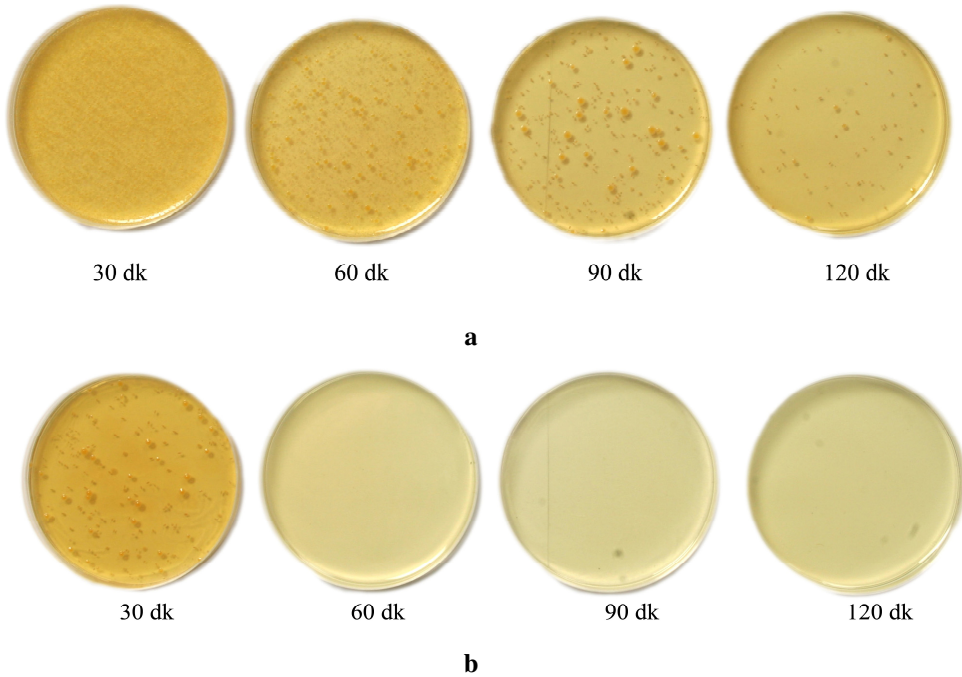
Çizelge 4.6. TiO₂-3 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -3						
t/dk	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	2,9x10 ⁸	2,9x10 ⁸	0	2,9x10 ⁸	0	2,9x10 ⁸	0
30		1,4x10 ⁸	51,72	6,2x10 ⁷	79,00	2,7x10 ⁸	6,89
60		9,5x10 ⁷	67,24	<1	100	2,6x10 ⁸	10,34
90		2,9x10 ⁷	90,00	<1	100	2,3x10 ⁸	20,68
120		1,7x10 ⁷	94,13	<1	100	2,2x10 ⁸	24,13

t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.9. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -3 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.



Şekil 4.10. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlama sonucunda $\text{SiO}_2+\text{TiO}_2$ ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı. a)sadece ışık b) TiO_2 +ışık .

4.3.4. SiO₂+TiO₂+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

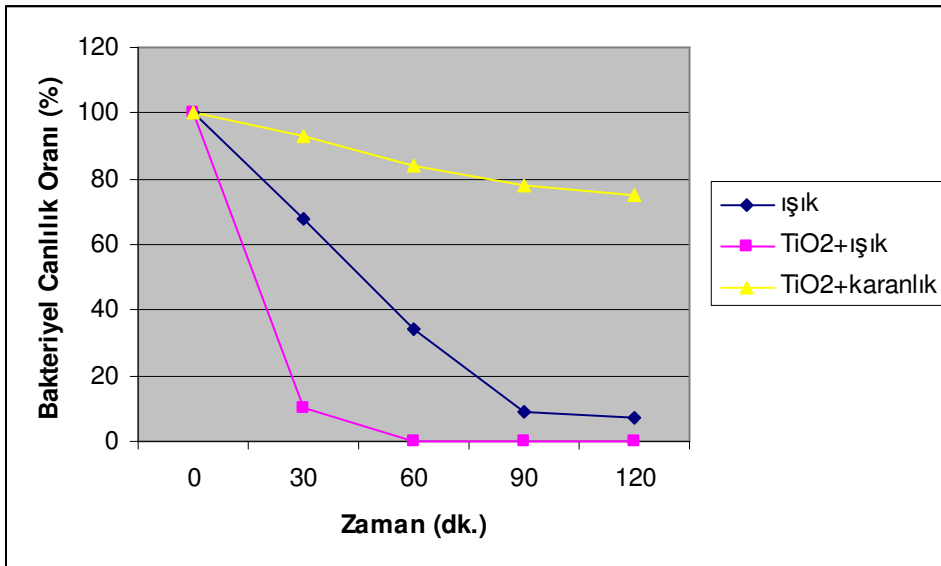
4. Grup

Bu grupta ince bir silika tabakası üzerine kaplanan PEG (600) ile modifiye edilmiş TiO₂ ince filmlerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Kaplanmış filmin ölüm oranları kontrolden daha yüksek olmuştur. 60 dakika ışınlama sonucunda ince film üzerindeki bütün *S. aureus* hücreleri ölürken kontroldeki hücrelerin % 65,62'si ölmüştür. PEG ilavesi ışınlamanın 30. dakikasında Bİ'nun artışına sebep olmuştur. Karanlıkta bekletilen kaplamalarda % 6,25-% 25,00 arasında bir bakterisidal etki saptanmıştır. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.7'de ve *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.11'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. TiO₂-4 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -4						
t/dk.	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	3,2x10 ⁸	3,2x10 ⁸	0	3,2x10 ⁸	0	3,2x10 ⁸	0
30		2,2x10 ⁸	31,25	3,2x10 ⁷	90,00	3,0x10 ⁸	6,25
60		1,1x10 ⁸	65,62	<1	100	2,7x10 ⁸	15,62
90		3,1x10 ⁷	90,31	<1	100	2,5x10 ⁸	21,87
120		2,5x10 ⁷	92,18	<1	100	2,4x10 ⁸	25,00

t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.11. 2 saatlik ışınlama süresince TiO₂-4 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.

4.3.5. TiO₂+Fe İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

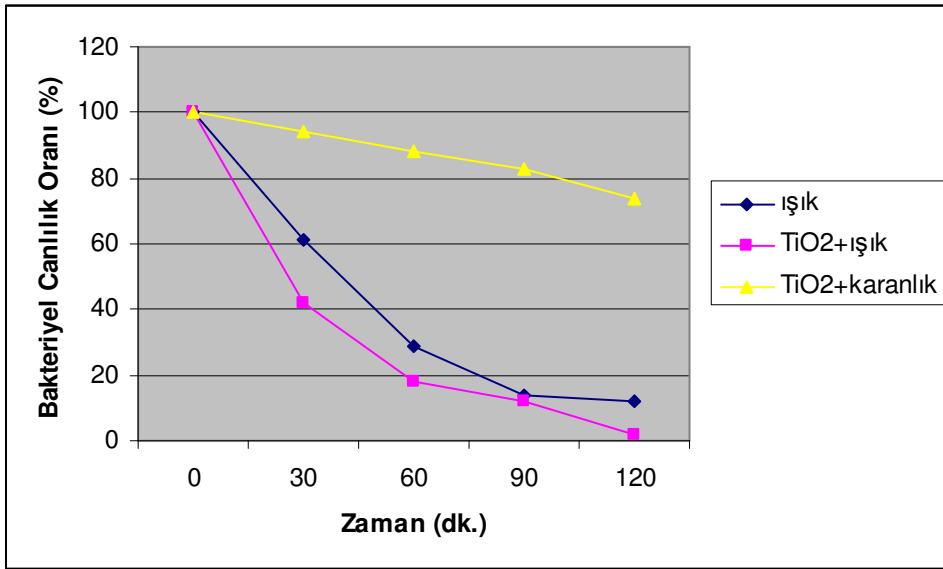
5. Grup

Bu grupta Fe ile dop edilen TiO₂ ince filmlerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. 2 saatlik ışınlatma sonucunda kaplanmış filmin bakteriyel inhibisyon oranı kontrolden % 10 oranında daha yüksek olmuştur. İnce filmlerin Fe ile doplanması sonucunda bakterisidal etkinin düştüğü tespit edilmiştir. Karanlıkta bekletilen ince filmlerdeki *S. aureus*'un canlılık oranında % 5,55-% 25,92 oranında bir azalma olmuştur. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlatması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.8'de ve *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. TiO₂-5 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -5						
	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	5,4x10 ⁸	5,4x10 ⁸	0	5,4x10 ⁸	0	5,4x10 ⁸	0
30		3,3x10 ⁸	38,88	2,3x10 ⁸	57,40	5,1x10 ⁸	5,55
60		1,6x10 ⁸	70,37	1,0x10 ⁸	81,48	4,8x10 ⁸	11,11
90		8,0x10 ⁷	85,18	6,5x10 ⁷	87,96	4,5x10 ⁸	16,66
120		6,9x10 ⁷	87,22	1,5x10 ⁷	97,22	4,0x10 ⁸	25,92

t, örnekleri ışınlatma süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlatması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlatması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.12. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -5 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.

4.3.6. TiO_2 +Fe+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

6. Grup

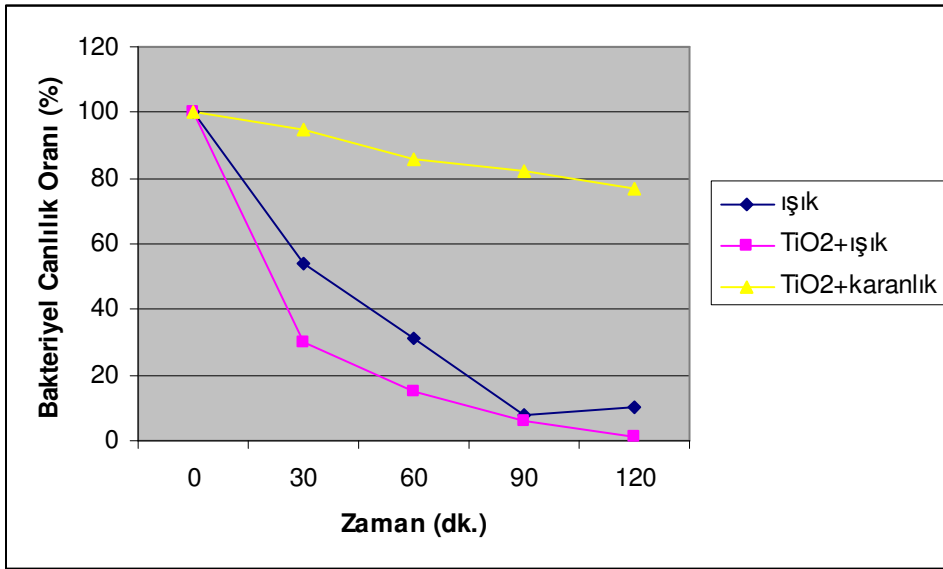
Bu grupta Fe ile dop edilip PEG (600) ile modifiye edilen TiO_2 ince filmlerinin fotokatalitik aktivitesi araştırılmıştır. Kaplanan filmlerin bakterisidal etkisi kontrolden daha yüksek olmuştur. PEG ilavesi ışınlamanın 30.,60.,90.,120., dakikasında ince filmlerin Bİ oranını sırasıyla % 12,6, % 3,52, % 5,22 ve % 1,64 arttırmıştır. Karanlıkta bekletilen örneklerde % 4,54-% 22,72 arasında bir hücre ölümü gerçekleşmiştir. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması

sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.9’da ve *S. aureus*’un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.13’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.9 .TiO₂-6 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -6						
t/dk	C _o (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	2,2x10 ⁸	2,2x10 ⁸	0	2,2x10 ⁸	0	2,2x10 ⁸	0
30		1,2x10 ⁸	45,45	6,6x10 ⁷	70,00	2,1x10 ⁸	4,54
60		7,0x10 ⁷	68,18	3,3x10 ⁷	85,00	1,9x10 ⁸	13,63
90		1,8x10 ⁷	91,81	1,5x10 ⁷	93,18	1,8x10 ⁸	18,18
120		2,2x10 ⁷	90,00	2,5x10 ⁶	98,86	1,7x10 ⁸	22,72

t, örnekleri ışınlama süresi; C_o, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.13. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -6 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.

4.3.7. $\text{SiO}_2+\text{TiO}_2+\text{Fe}$ İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

7. Grup

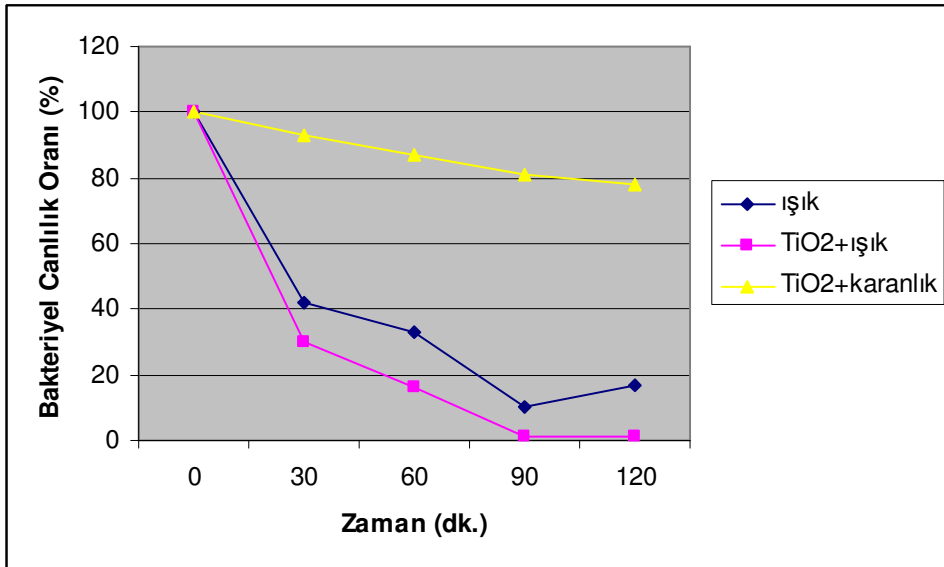
Bu grupta ince bir silika tabakası üzerine kaplanan Fe ile dop edilen TiO_2 ince filmlerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Kaplanan örneklerin bakteriyel inhibisyon oranları kontrolden daha yüksek olmuştur. Silika tabakası, ince filmlerin bakterisidal aktivitesini % 1,55-% 12,6 oranında arttırmıştır. 2 saatlik ışınlama süresince kontroldeki bakteri hücrelerinin % 82,42'si ölürken kaplama üzerindeki hücrelerin % 99,51'i ölmüştür. Karanlıkta bekletilen filmlerde % 6,06-% 21,21 arasında bir bakteriyel hücre ölümü saptanmıştır. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana

getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.10'da ve *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.14'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. TiO₂-7 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -7						
t/dk	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	3,3x10 ⁸	3,3x10 ⁸	0	3,3x10 ⁸	0	3,3x10 ⁸	0
30		1,4x10 ⁸	57,57	9,9x10 ⁷	70,00	3,1x10 ⁸	6,06
60		1,1x10 ⁸	66,66	5,6x10 ⁷	83,03	2,9x10 ⁸	12,12
90		3,5x10 ⁷	89,39	4,0x10 ⁶	98,78	2,7x10 ⁸	18,18
120		5,8x10 ⁷	82,42	1,6x10 ⁶	99,51	2,6x10 ⁸	21,21

t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.14. 2 saatlik ışınlama süresince TiO₂-7 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.

4.3.8. SiO₂+TiO₂+Fe+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

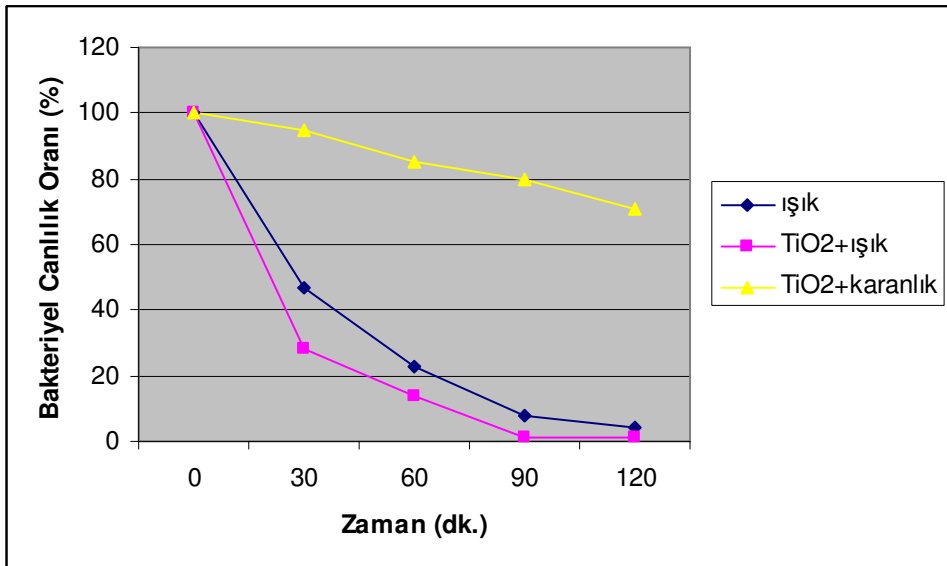
8. Grup

Bu grupta ince bir silika tabakası üzerine kaplanan Fe ile dop edilip PEG (600) ile modifiye edilen TiO₂ ince filmlerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. PEG ilavesi ince filmlerin bakterisidal aktivitesini çok önemli oranda etkilememiştir. Işınlamanın 30., 60., 90. ve 120., dakikasında kontrol ve kaplama örneklerinin bakteriyel inhibisyon oranları arasındaki fark sırasıyla % 19,04, % 9,04, % 6,67 ve % 4,23 olmuştur. Karanlıkta bekletilen hücrelerde % 4,76-% 28,57 arasında bir ölüm oranı tespit edilmiştir. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.11’de, *S. aureus*’un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.15’de ve filmler üzerinde kalan canlı bakteri sayısı Şekil 4.16’da gösterilmiştir.

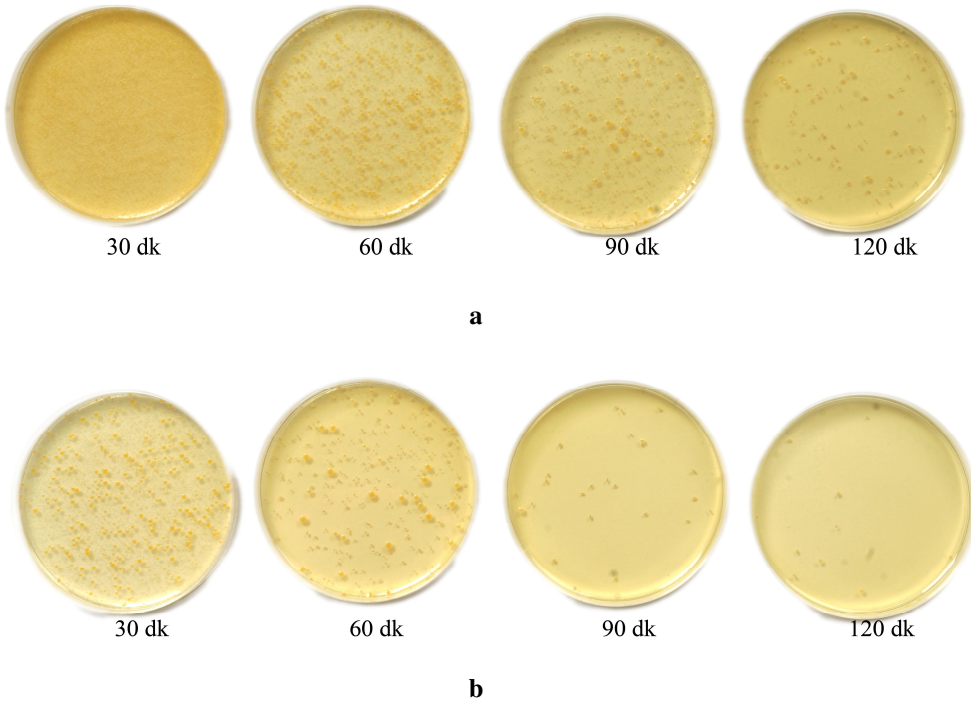
Çizelge 4.11. TiO₂-8 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -8						
t/dk	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	2,1x10 ⁸	2,1x10 ⁸	0	2,1x10 ⁸	0	2,1x10 ⁸	0
30		1,0x10 ⁸	52,38	6,0x10 ⁷	71,42	2,0x10 ⁸	4,76
60		5,0x10 ⁷	76,19	3,1x10 ⁷	85,23	1,8x10 ⁸	14,28
90		1,8x10 ⁷	91,42	4,0x10 ⁶	98,09	1,7x10 ⁸	19,04
120		9,7x10 ⁶	95,38	8,0x10 ⁵	99,61	1,5x10 ⁸	28,57

t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.15. 2 saatlik ışınlama süresince TiO₂-8 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.



Şekil 4.16. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlama sonucunda $\text{SiO}_2+\text{TiO}_2+\text{Fe}+\text{PEG}$ (600) ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı. a) sadece ışık b) TiO_2 +ışık

4.3.9. TiO_2+Cu İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

9. Grup

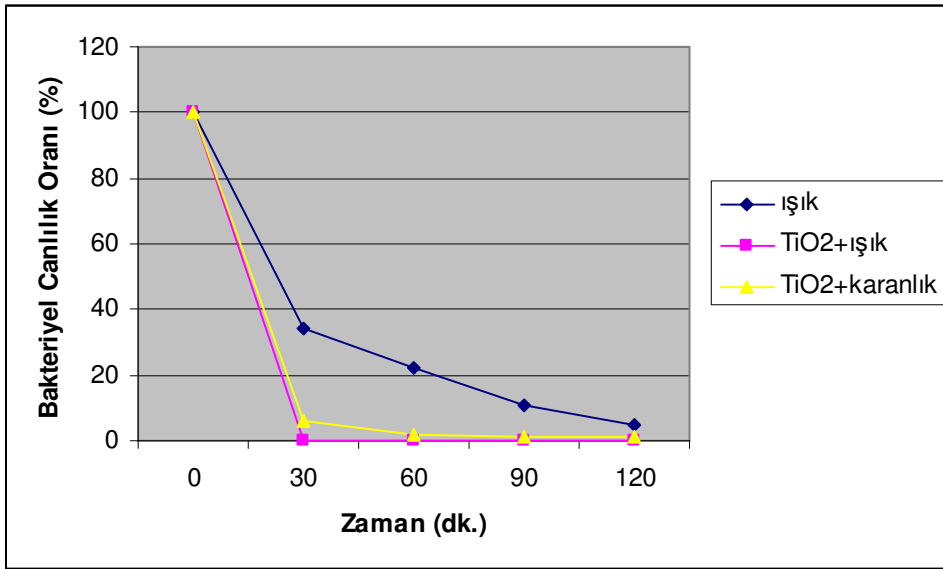
Bu grupta Cu ile dop edilen TiO_2 ince filmlerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Kaplamalara Cu dop edilmesi Bİ'nun artışına sebep olmuştur. Işınlamanın 30. dakikasında kaplanmış filmlerdeki *S. aureus* hücrelerinin tamamı inhibe olmuştur. Kontrolün inhibisyon oranı ise % 65,50 olarak tespit edilmiştir. Bu gruptaki filmlerin karanlıkta da bakterisidal etki gösterdikleri bulunmuştur. 120 dakikalık karanlık

uygulaması sonucunda film üzerindeki bakteri hücrelerinin % 99,99'u canlılıklarını yitirmiştir. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.12'de ve *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.17'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. TiO₂-9 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -9						
t/dk	C ₀ (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	2,0x10 ⁸	2,0x10 ⁸	0	2,0x10 ⁸	0	2,0x10 ⁸	0
30		6,9x10 ⁷	65,50	<1	100	1,3x10 ⁷	93,50
60		4,4x10 ⁷	78,00	<1	100	4,8x10 ⁶	97,60
90		2,3x10 ⁷	88,50	<1	100	3,2x10 ⁵	99,84
120		1,1x10 ⁷	94,50	<1	100	1,3x10 ⁴	99,99

t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.17. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -9 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.

4.3.10. TiO_2 +Cu+PEG (600) İnce Filmlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

10. Grup

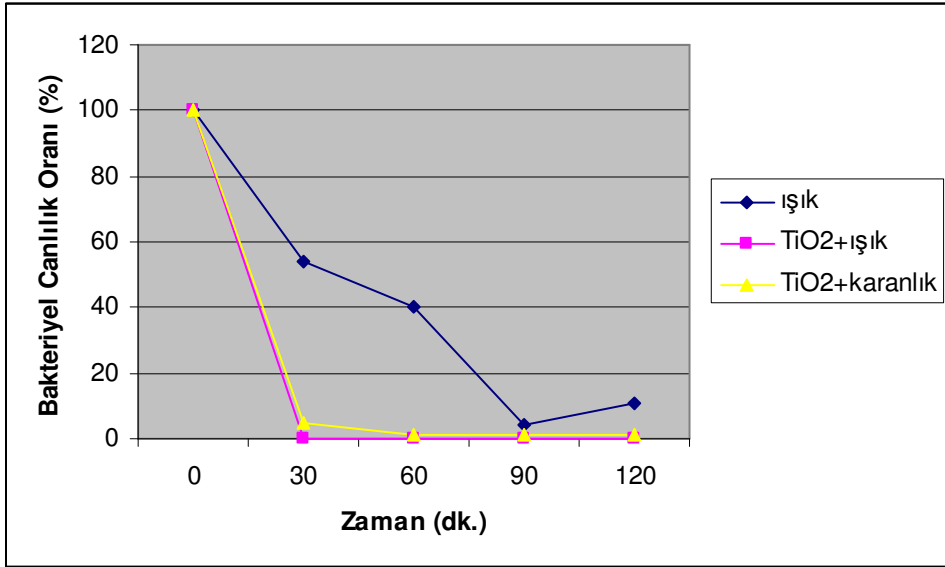
Bu grupta Cu ve PEG ile modifiye edilen TiO_2 ince filmlerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Kaplanmayan camlar üzerindeki *S. aureus* hücrelerinin Bİ oranları her 30 dakikalık ışınlama periyodunda sırasıyla % 45,83, % 59,58, % 95,41 ve % 88,33 olmuştur. Işınlamanın 120 dakikasında Bİ'da bir düşüşün olduğu tespit edilmiştir. İnce filmler üzerindeki tüm bakteri hücreleri 30 dakikalık ışınlama sonucunda canlılıklarını yitirmişlerdir. 120 dakika süresince karanlıkta bekletilen

filmler de % 94,16-% 99,99 arasında değişen oranlarda bakterisidal etki göstermişlerdir. 30 dakika aralıklarla olmak üzere 2 saat boyunca yapılan UV ışınlaması sonucunda ince filmlerin meydana getirdikleri antibakteriyel aktivite sonuçları Çizelge 4.13'te, *S. aureus*'un canlılık oranlarındaki değişkenlik Şekil 4.18'de ve filmler üzerinde kalan canlı bakteri sayısı Şekil 4.19'da gösterilmiştir.

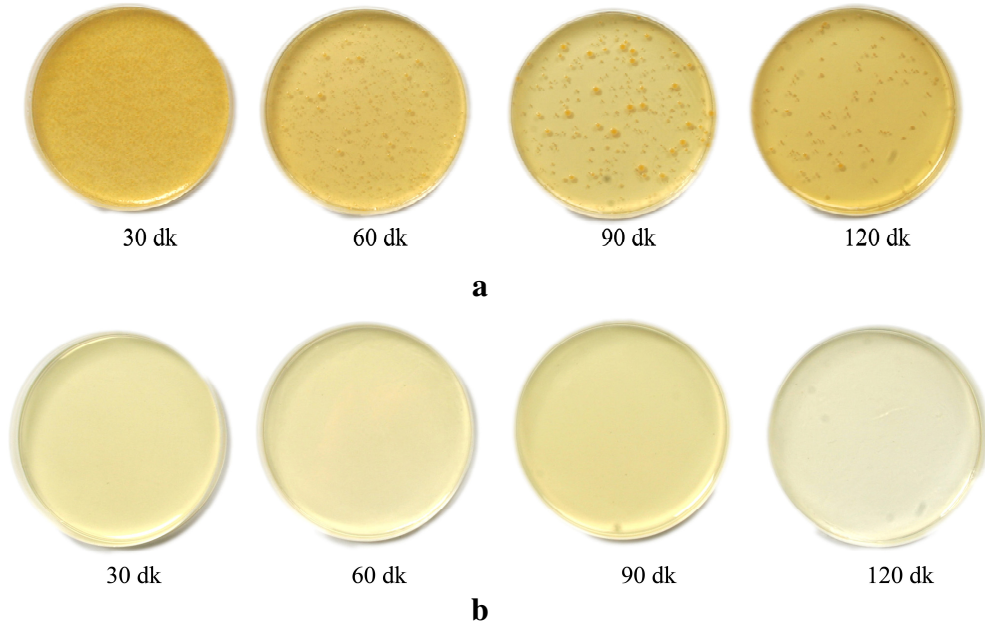
Çizelge 4.13. TiO₂-10 ince filmlerinin antibakteriyel aktivite sonuçları.

Film Kodu	TiO ₂ -10						
t/dk	C _o (cfu/ml)	CI (cfu/ml)	% Bİ	CT (cfu/ml)	% Bİ	CK (cfu/ml)	% Bİ
0	2,4x10 ⁸	2,4x10 ⁸	0	2,4x10 ⁸	0	2,4x10 ⁸	0
30		1,3x10 ⁸	45,83	<1	100	1,4x10 ⁷	94,16
60		9,7x10 ⁷	59,58	<1	100	4,1x10 ⁶	98,29
90		1,1x10 ⁷	95,41	<1	100	2,9x10 ⁴	99,98
120		2,8x10 ⁷	88,33	<1	100	4,0x10 ³	99,99

t, örnekleri ışınlama süresi; C₀, başlangıç bakteri konsantrasyonu; CI, ince film ile kaplanmayan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CT, ince film ile kaplanan camda UV ışınlaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; CK, ince film ile kaplanan camda karanlık uygulaması sonucunda kalan bakteri konsantrasyonu; Bİ, bakteriyel inhibisyon oranı; n= 4 deneme.



Şekil 4.18. 2 saatlik ışınlama süresince TiO_2 -10 ince filmleri üzerindeki *S.aureus*'un canlılık oranları.



Şekil 4.19. 30 dakika aralıklarla yapılan ışınlama sonucunda TiO_2 +Cu+PEG (600) ince filmleri üzerinde kalan canlı bakteri sayısı. a) sadece ışık b) TiO_2 +ışık

5. TARTIŞMA

Son yıllarda evsel ve endüstriyel atıklardan dolayı su kaynaklarının, atmosferin ve yaşadığımız çevrenin her geçen gün biraz daha kirlenmesi en ciddi sorunlardan biri olmuştur ve yeni teknolojiler üreterek sürekli temizliği zorunlu bir ihtiyaç haline getirmiştir.

Suyun dezenfeksiyonunda klor kullanımındaki artış sadece kanserojen bir kokunun oluşumuna yol açmakla kalmamakta, aynı zamanda kirletici maddeler ile klor arasında meydana gelen kimyasal tepkimenin yan ürünü olarak oluşan ve filtrasyon ya da absorpsiyon yöntemleri ile uzaklaştırılamayan, trihalometan gibi kimyasal maddeler de ortaya çıkmaktadır. Ozonlama da *Cytosporidium* gibi bazı patojenlerin inaktivasyonunda etkili olamamaktadır. Bunun yanı sıra araçların egzoz gazlarında bulunan NO_x gazı atmosferi kirleten en önemli maddelerden biridir (Blake ve ark., 1999).

Yaşadığımız her ortamda çok sayıda ve çeşitli tiplerde mikroorganizmalar vardır. Çıplak gözle görülmeyen bu canlılar; canlı vücudunda, havada, tüm mutfak ekipmanlarında, özellikle mutfak tezgahlarında ve yiyeceklerin saklandığı buzdolaplarının iç yüzeylerinde, sıkça kullanılan lavabolarda ve gıdalarda bulunur. Tüm mikroorganizmalar uygun ortam bulduklarında enfeksiyona neden olabilirler. Patojen olarak adlandırılan bazı mikroorganizmalar hastalık oluşturmaya daha yatkındırlar. Enfeksiyonları önlemek için tam steril bir ortam oluşturmak

olanaksızdır fakat, mikroorganizmaların üremesini ve çoğalmasını engelleyecek önlemlerin alınması mümkündür. Özellikle mikrobiyoloji laboratuvarlarında ve yoğun tıbbi kullanım alanlarında bakterilerin sayısını azaltmak ve bakteriyel yayılmayı engellemek amacıyla düzenli bir dezenfeksiyona ihtiyaç duyulmaktadır. Silerek yapılan geleneksel dezenfeksiyon metotları uzun süreli etki göstermemekte, standardize edilememekte ve ciddi kimyasal kullanımı gerektirmektedir. Bunun yanı sıra, penetrasyon derinliğinin yetersizliğinden ve mesleki tıbbi risk taşımamasından dolayı güçlü UV C ışığı ile dezenfeksiyon pek önerilmemektedir (Kuhn ve ark., 2003).

Bu nedenle alternatif teknolojilere ihtiyaç duyulmakta fakat bu teknoloji çevreye zarar vermemeli ve tamamiyle temiz kimyasal teknoloji olmalıdır.

1972 yılında Japon araştırmacı Fujishima'nın Honda-Fujishima etkisi olarak bilinen çalışması, fotokatalizörler ile temizleme tarihinin başlangıcı olmuştur. Ancak gelişmeler ve uygulamalar nanoteknolojinin katkısı ile özellikle son yıllarda olmuştur. Fotokatalizör, ortamda bulunan organik bileşikler parçalayarak, yukarıda bahsedilen bir seri sorunun çözümünde etkili bir yol olarak ortaya çıkmıştır (Bu ve ark., 2005).

Sahip olduğu bilimsel ve teknolojik öneminden dolayı son yıllarda TiO_2 en ilgi çekici fotoelektrokimyasal ve fotovoltaiik materyallerinden biri olmuştur. Geniş bir yüzey alanına sahip TiO_2 poröz ince filmleri, fotokatalistler, saydam iletkenler, dielektrikler, elektrokromik filmler, camlar ve seramikler üzerinde “kendini temizleyen” kaplamalar gibi birçok

uygulamalar için tercih edilmektedirler. TiO_2 -boya kompozit materyalinin solar enerjinin yüksek bir yüzdesini topladığı ve düşük maliyete sahip olduğu belirtilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı bu materyalin solar hücrelerin üretiminde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Buna ilaveten, TiO_2 'in toksik olmaması, kimyasal ve biyolojik olarak aktif olmaması, katalitik aktivitede herhangi bir kayıp olmaksızın tekrar kullanılabilmesi, kimyasalların ilavesini gerektirmemesi ve zararlı yan ürün oluşturmaması gibi birçok avantajının olduğu belirtilmiştir (Bu ve ark., 2005).

Bu çalışmada, sol-jel daldırma yöntemini kullanarak cam substratlar üzerinde farklı optik ve fotokatalitik özelliklere sahip TiO_2 ince filmlerini üretmek ve bu filmlerin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P strainine karşı gösterdikleri antibakteriyel aktivite değişikliklerini tespit etmek amaçlanmıştır.

Geçmiş yıllarda yapılan fotodezenfeksiyon ve fotooksidasyon çalışmalarının çoğunda katalistlerin sulu süspansiyonları kullanılmıştır. Bu yöntemin daha etkili olduğu belirtilmekle birlikte, katalistin kullanımında ortaya çıkan reaksiyon sırasında karıştırma ve reaksiyon sonrası ayrıştırma gibi problemlerin çözümü için ince film halindeki TiO_2 önerilmiştir (Özenbaş ve Kaya, 2004). Bu öneri dikkate alınarak yapılan çalışmada ince film halindeki TiO_2 kullanılmıştır.

Yarıiletken materyallerin özellikleri: sentez koşulları, dop edilen iyonların yokluğu veya varlığı, ilave modifiye ediciler, aktivatörler veya elektron taşıyıcılarının varlığı, ilave oksitleyici veya indirgeyici uygulamalar gibi birçok faktöre bağlıdır. Bu çalışmada, belirtilen faktörler

dikkate alınmıştır ve üretilen filmlerde oluşturdukları etkiler aşağıdaki metin içerisinde açıklanmaya çalışılmıştır (Kobasa, 2004).

Son yıllarda nanokristal TiO_2 poröz ince filmlerine olan ilgi artmıştır. Bu filmlerin üretimi için birçok yöntemin olduğu bildirilmiştir. Bu yöntemlerden bazılarının; sol-jel metodu, sıvı solüsyondan direkt depozisyon, saçılım teknolojisi, ultrasonik sprej pirolizi ve hidrotermal kristalizasyon olduğu rapor edilmiştir (Bu ve ark., 2005).

Bu yöntemlerden sol-jel yöntemi, teknolojiye önemli bir yer tutmaktadır ve diğer kaplama yöntemlerine göre birçok avantajının olması sebebiyle bu yerini korumaktadır. Bu avantajları şöyle sıralayabiliriz; özel aletler gerektirmemesi ve atmosferik şartlarda yapılabilmesi, saf ve homojen filmlerin düşük ısılarla hazırlanabilmesi ve enerji tasarrufu sağlanması, değişik geometrilere sahip cisimlerin bu metotla homojen olarak kaplanabilmesi, sol yapısı değiştirilerek farklı özellikte filmler elde edilebilmesi, kirliliğe sebep olmamasıdır. Kimyasallarla ilgili sorun yoksa sol-jel yöntemi tehlikesizdir ve malzemeler kolay bulunur. En büyük avantajı ise, kaplanan filmin mikro yapısının kolayca kontrol edilebilir olmasıdır. Böylece anataz faza sahip TiO_2 elde edilebilir. Bu yöntem ile gözenekli yapı elde edilebildiği için düşük kırma indisli filmler yapılabilir. Elde edilen filmler geniş bir spesifik yüzey alanına sahip olmaktadır. Bunun yanı sıra çok katlı kaplama yapmak mümkündür ve yöntem, cismin geometrisi ile sınırlı değildir. Bununla birlikte sol-jel yönteminin bazı dezavantajları da vardır. Sol-jel yönteminin en olumsuz yanı kaplama işlemi sırasında çok fazla malzeme kaybı olmasıdır. Kullanılan kimyasal malzeme zor bulunuyor ise maliyet yüksek olur,

filmlerde karbon çözültisi kalır, kullanılan kimyasal sağlığa zararlı olabilir. Ayrıca, sol-jel metodunda hammadde maliyetinin yüksek olması, küçük gözeneklerin kalması, kaplama işleminin uzun sürmesi dezavantajlar olarak sayılabilir (Balaban, 2006).

Sol-jel yöntemi ile birçok kaplama şekli vardır. Bu yöntemler daldırarak, döndürerek, püskürtme, elektroforezis, termoforezis, yerleştirme ve karışık yöntemlerdir (Balaban, 2006).

Daldırarak kaplama yöntemi, kontrol altında tutulan çevre koşulları ve ortam sıcaklığında substratın önceden belirlenen sabit bir hızda sıvıya daldırılması ve aynı hızla geri çekilmesi prosesidir (Bessekhoud ve ark., 2003)

Yapılan bu çalışmada daldırarak kaplama yöntemi kullanılmıştır. Fakat bu yöntemin bazı problemlerinin olduğu bildirilmiştir. Bunlar şöyle sıralanmıştır; 1,0 μm 'lik kalınlık elde etmek için 20'den fazla daldırarak kaplama işlemi yapmak gerektiği, bu prosesin sadece düşük nem koşullarında uygulanabileceği ve bu yöntem ile üretilen filmlerde yüzeyde ve film kenarlarında çatlakların oluşabileceği vurgulanmıştır. Birkaç kez daldırarak kaplama ile uygun kalınlıkta film elde etmek için yüksek viskozitede bir solüsyonun kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Sol-jel metodu ile yapılan önceki çalışmalarda solüsyon viskozitesinin kontrolünün metal alkoksidin hidrolizi ve solün polimerizasyonunun kontrolü ile yapıldığı rapor edilmiştir. Fakat sol-jel reaksiyonu içerisindeki solüsyon viskozitesini kontrol etmenin zor olduğu çünkü, solüsyon viskozitesinin sıcaklık, nem, reaksiyon zamanı, reaktantların karışım oranları gibi birçok kompleks faktöre bağlı olarak kolayca değiştiği ifade

edilmiştir. Sisteme başka komponentlerin ilavesi ile viskozitenin kontrol edilebileceği bildirilmiştir (Negishi ve Takeuchi, 2001).

Yapılan bir araştırmada α -terpineol gibi yüksek bir viskoz solventin iyi ve transparan ince film fotokatalistlerini elde etmede başarılı bir şekilde rol oynadığı görülmüştür. Bu solventin metal oksit ile reaksiyona girmedikten daldırma yöntemi için uygun olduğu ve cam substratlar için iyi bir affiniteye sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca kalsinasyon işleminden sonra kalın bir film elde edilmesine rağmen filmde herhangi bir çatlak ve dökülmenin olmadığı gözlenmiştir. Bu solvent kullanılarak daldırarak kaplama zamanının önemli oranda azaltılabileceği beklenmiştir (Negishi ve Takeuchi, 2001).

Başka bir araştırmada TiO_2 solünün viskozitesini arttırmak ve daha düzgün filmler elde etmek amacıyla PEG gibi suda çözünabilir bir organik polimer kullanılmıştır. TiO_2 prekürsör solüne 0,6 g veya daha az PEG(4000) ilavesi TiO_2 filmlerinin optik özelliklerini değiştirmemiş fakat solün substrat üzerine yapışmasını arttırmıştır. PEG içeren sol kullanılarak tekrar eden kaplama döngüleriyle istenen kalınlıkta film elde edilebilmiştir (Sonawane ve ark., 2004).

Alternatif kaplama yöntemleri ile bu çalışmada kullanılan daldırma yöntemi karşılaştırıldığında püskürtme yönteminin organik vernik endüstrisinde daha sık kullanılan bir yöntem olduğu görülmektedir. Bu yöntem, düzensiz şekilli cam parçaları, lamba, cam kaplar için uygun bir proses olarak tanımlanmıştır. Döndürerek kaplama yönteminde ise substrat kaplama alanına dik bir eksenle döndürülür. Döndükçe substrat üzerine

damlatılmış solüsyon merkezkaç kuvvetlerinin etkisi ile homojen bir şekilde dağılır ve 100 nm değerlerinden 10 µm değerlerine kadar değişebilen kalınlıklarda kaplamanın oluşmasını sağlar. Endüstriyel açıdan bakıldığında en fazla kullanılan sistemler olarak göze çarpan bu iki yöntemden oluşan hibrid bir sistem de halen Philips tarafından ekran kaplaması için geliştirilmektedir. Bu yöntemlerin çalışmada kullanılan daldırma yöntemine karşı dezavantajı ise deney düzeneklerinin oluşturulmasının zor olmasıdır. Bir başka yöntem olan akıtma yöntemi ile düzlemsel olmayan büyük alanlar diğer proseslere nazaran daha kolay kaplanabilmektedir fakat kaplama esnasında bir döndürme işlemi uygulanmazsa kaplama kalınlığında yukarıdan aşağıya doğru bir artış gözlenmektedir. Bu da bölgesel olarak fotokatalitik etkiye farklılıklar yaratacağından daldırma yönteminin daha başarılı olduğu açıkça görülmektedir. Deney düzeneğinin oluşturulmasının zor olduğu bir başka yöntem ise sabit rulu yöntemidir. Ancak bu yöntemin diğerlerine göre en büyük avantajı hazırlanan solüsyonun maksimum ölçüde kullanılabilir olmasıdır (Chan ve ark. 2002).

Literatürde, titanyum solü hazırlamak için genellikle 2 çeşit prekürsörün kullanıldığı bildirilmiştir; birisi titanyum alkoksit veya diğer organometalik titanyum kompleksleri gibi organik prekürsör, diğeri de titanyum klorit veya titanyum sülfat gibi inorganik prekürsördür. Organik prekürsörlerin çok reaktif olduğu ve titanyum alkoksit kullanıldığında, oda sıcaklığında hidroliz aracılığıyla kolayca TiO_2 elde edilebileceği ifade edilmiştir. Buna karşılık titanyum klorit gibi inorganik prekürsörlerin organik prekürsörlerden çok daha ucuz olmaları avantaj teşkil ettiği

vurgulanmıştır. Fakat inorganik perkürsörlerle sol-jel reaksiyonunu kontrol etmek oldukça zor olmuştur (Park ve Kim, 2002).

Sol sentez prosesi esnasında prekürsörün hızı, hidrolizi, kondenzasyonu ve polimerizasyonunun presipitatların agregasyonuna sebep olabileceği belirtilmiştir. Bazı asitlerin eklenmesi sonucunda presipitatların elektrostatik olarak uzaklaştırılabildiği ve presipitat agregasyonunun etkili bir şekilde engellendiği saptanmıştır. Fakat asidik solün koroziv yapısından dolayı metalik substratlara uygulanamayacağı belirtilmiştir. Sonuç olarak bütün materyalleri TiO_2 filmi ile kaplamak için nötr veya asidik TiO_2 solünün kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (Park ve Kim, 2002)

Sol-jel daldırma tekniğinde titanyum alkoksitlerin farklı çeşitlerinin kullanıldığına dair birçok literatür mevcuttur. Chrysicopoulou ve ark. prekürsör olarak titanyum tetraoksidi, çözen olarak etanolü ve katalist olarak da nitrik asidi kullanmışlardır. Harizanov, Nilgün ve ark., butanol veya etanol içerisinde çözünen titanyum etoksidi ve modifiye edici olarak glasiyal asetik asidi tercih etmişlerdir. Bell ve ark., titanyum propoksidin etanol içerisinde hidroliziyle TiO_2 'in üretilebileceğini belirtmişlerdir. Prekürsör olarak tetraizopropilortotitanatın kullanımı da rapor edilmiştir. Diğerleri titanyum butoksit ve H_2O_2 'i başlangıç materyali olarak kullanmışlardır (Hamid ve Rahman, 2003).

Falaras ve Xagas (2002), TiO_2 ince filmlerini elde etmek amacıyla sol-jel daldırma tekniğini kullanarak titanyum izopropoksit ve titanyum butoksit gibi iki farklı titanyum (IV) alkoksidini denemişlerdir. Titanyum

izopropoksidin daha yüksek hidroliz oranlarına sahip olduğu ve bu nedenle daha pürüzlü ve kompleks karakteristiklere sahip filmlerin oluşmasına yol açtığı tespit edilmiştir. Buna karşılık titanyum butoksit filmleri daha pürüzsüz ve düz yapıda olmuştur.

Bu çalışmada Prassas'ın (1984) önerdiği sol içeriğine göre prekürsör olarak organik bir prekürsör olan titanyum (IV) izopropoksit, çözen olarak 2-propanol ve reaksiyon esnasında oluşabilecek presipitatları önlemek amacıyla katalist olarak da 2M'lık HCl kullanılmıştır. Sol-jel reaksiyonunu kontrol altında tutabilmek amacıyla organik prekürsör kullanılmıştır. Hidroliz hızını azaltmak için çözen olarak su yerine alkol kullanılmıştır. Literatürde de belirtildiği gibi elde edilen sol saydam, oldukça homojen ve stabil olmuştur.

Substratın solüsyondan geri çekme hızının üretilen film kalınlığını etkilediği saptanmıştır. Daha hızlı geri çekme oranının daha kalın filmlerin üretimini sağladığı ve en iyi film özelliklerinin 3 cm/sn'lik çekme hızı ile elde edildiği belirtilmiştir (Rampaul ve ark., 2003).

Bu araştırmada önceden belirlenen sabit daldırma ve çekme hızı 7,62 cm/dk olarak uygulanmış ve oldukça iyi kalitede filmler elde edilmiştir. Kaplama stabilitesini sağlamak, yüzey boyunca sabit bir kalınlık elde etmek, yüzeyde oluşabilecek çatlakları minimize etmek için daldırma ve çekme hızı aynı değerde tutulmuştur. Yürütülen deneylerde altlık olarak sodyum camı kullanılmıştır.

Sodyum camı endüstride ve inşaat sektöründe en çok kullanılan cam olmasına rağmen bu cam üzerinde bulunan TiO_2 ince filmi yüksek kalsinasyon sıcaklığında Na iyonlarının difüzyonunu ve dolayısıyla fotokatalitik aktivitenin bozulmasını sağlayan bir komponentin oluşmasına sebebiyet vermiştir. SiO_2 (silika) tabakasının TiO_2 ince filmine Na difüzyonunu engellediği rapor edilmiştir. Silika tabakasının yüksek fotoaktif TiO_2 kaplı camların elde edilmesini sağlayabildiği belirtilmiştir. Heller ve ark., ayrıca hızlı fırınlamanın Na difüzyonunu engellediğini rapor etmişlerdir. Sodyum camı üzerindeki TiO_2 filminin kuvars cam veya önceden koruyucu SiO_2 ile kaplanmış cam üzerindeki TiO_2 filminden daha az aktif olduğu saptanmıştır. TiO_2 tabakasının cam substrat ile temas ettiği noktadan 20 nm'lik mesafeye kadar düşündürücü miktarda Na tespit edilirken, SiO_2 veya kuvars cam üzerine uygulanan TiO_2 tabakasında hiçbir Na iyonuna rastlanmamıştır. Bu veriler sodyum camı yüzeyinin yakınında oluşan Na_xTiO_2 fazının bir elektron-boşluk rekombinasyon merkezi olarak hizmet ettiğini ve bunun da fotokatalitik aktivitenin düşmesine sebep olduğunu göstermiştir. Na^+ ve Si^{4+} gibi diffüz eden iyonlar anataz oluşum sıcaklık sınırını yükseltmiş ve TiO_2 filmindeki TiO_2 partiküllerinin büyümesine yol açmıştır. Fakat önce kaplanan ince bir koruyucu SiO_2 filminin Na iyonlarının termal difüzyonunu engellemede oldukça etkili olduğu ve TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini sürdürmeyi sağladığı bildirilmiştir (Watanabe, 2000).

Bunun yanı sıra silika tabakasının TiO_2 partiküllerinin büyümesini engellediği ve ince filmlerin görünür ışık bölgesinde de iyi antibakteriyel özellik göstermesini sağladığı bildirilmiştir (Watanabe, 2000).

Cernigoj ve ark., (2006) yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Isısal işlem esnasında Na katyonlarının titanyum tabakasına difüz edip filmlerin fotokatalitik aktivitelerinde bir düşüşe sebep olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca sodyum camı üzerine uygulanan filmlerin SiO_2 üzerine uygulanan filmlere oranla UV ışığını daha az absorbe ettikleri saptanmıştır. Sodyum camı üzerine kaplanan filmler sadece yeterli kalınlıkta olduklarında fotokatalitik aktivite göstermişlerdir.

TiO_2 tabakasına Na iyonlarının difüzyonunu önlemek, TiO_2 partiküllerinin büyümesini engellemek ve dolayısıyla fotokatalitik bakterisidal aktiviteyi arttırmak amacıyla cam altlıkların bir kısmı daldırma yöntemi kullanılarak öncelikle SiO_2 koruyucu tabakası ile kaplanmıştır. Bu tabakanın Na iyonlarını uzaklaştırmada etkili bir bariyer olarak rol oynadığı ve filmlerin fotokatalitik aktivitesini arttırdığı görülmüştür. Bu sonuç Watanabe (2000), Cernigoj ve ark., (2006) tarafından elde edilen sonuçlarla uygunluk göstermiştir.

Saf TiO_2 fazının pratik kimyasal uygulamalardaki temel dezavantajı, solar spektrumun görünür bölgesindeki absorpsiyonunun düşük olmasıdır. TiO_2 'in bant aralığının 3,2eV olması, anataz titanyumlarının solar spektrumun % 5,0'ten daha azını kullanabildikleri anlamına gelmektedir (Piera ve ark., 2003).

Bu dezavantajı ortadan kaldırmak ve TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini geliştirmek için birçok araştırma yapılmıştır. Bu amaçla yapılan çok sayıda çalışma TiO_2 'in kimyasal, kristalografik ve morfolojik özellikleri ile fotokatalitik aktivitesi arasındaki ilişkiye dayandırılmıştır.

Ayrıca bazı araştırmalar, TiO_2 'e dopantların eklenmesi aracılığıyla fotokatalitik aktivitenin artırılmasına odaklanmıştır. Bu son araştırmalar iki kategoriye ayrılmıştır. Bunlardan birincisi, görünür bölgedeki ışıktaki aktiviteyi arttırmak amacıyla absorpsiyon bant aralığının daha uzun dalga boyuna kaydırılmasına dayandırılmıştır. Bazı araştırmacılar, TiO_2 'e geçiş metallerinin dop edilmesinin absorpsiyon aralığını daha uzun dalga boyuna doğru kaydırmak için bir yol olduğunu belirtmişlerdir. Örneğin Anpo TiO_2 'e Cr iyonlarını dop ederek bunu başarabildiğini vurgulamıştır. Araştırmanın 2. kategorisi, UV'ye yakın bölgede TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini arttırmaya dayandırılmıştır. Aktive edilmiş TiO_2 içerisinde boşluk ve elektronların rekombinasyonu ilgi çeken konulardan biri olmuştur. Rekombinasyon oranının düşüşünün fotoetkinliğin artmasına yol açtığı konusunda ortak fikre varılmıştır. Yük rekombinasyonunu azaltmak için önerilen en geçerli metot TiO_2 'in geçiş metalleri ile dop edilmesidir. Metal iyon dopantlarının elektron veya boşluk yakalayıcıları olarak davranabildikleri ve sonuçta elektron-boşluk çiftlerinin rekombinasyon oranının değişmesine yol açtıkları vurgulanmıştır (Piera ve ark., 2003).

TiO_2 'in Fe(III) ile dop edilmesi konusunda özel çabalar harcanmıştır. Bu ilgi, Fe(III) iyonlarının TiO_2 kafesi içerisinde yüzeysel yük yakalayıcıları olarak rol oynamasından kaynaklanmıştır (Piera ve ark., 2003).

TiO_2 kristal kafesi içinde demir dağılımının ayrıca demir dop edilmiş TiO_2 'in yapısının ve fotokatalitik özelliklerinin kullanılan demir prekürsörüne ve hazırlama metoduna çok bağlı olduğu görülmüştür. Örneğin Ranjit ve ark., demir(III) ftalosiyonin ile modifiye edilmiş TiO_2 'in modifiye edilmeyen TiO_2 'e oranla artan bir aktiviteye sahip olduğunu

bildirmişlerdir. Rivas ve ark., homojen örnekler elde etmede demir (II) tuzları ile başlamanın demir (III) tuzları ile başlamaya oranla daha kolay olduğunu belirtmişlerdir. Wang ve ark., Fe(III) doplu TiO_2 nanopartiküllerindeki demirin homojen dağılımı üzerine pH'ın etkisini göstermişlerdir. Demir-titanyum oksitin üniform solit solüsyonu hidrotermal metot kullanılarak pH 6,0'da elde edilmiştir (Sijakovic, 2004). Piera ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada TiO_2 sollarının Fe(III) ile dop edilmesi sırasında pH değerlerinin 2,5'in üzerinde olması durumunda solların, kaplamada kullanılamayan jele dönüştüğünü belirtilmişlerdir (Piera ve ark., 2003).

Bu çalışmada kullanılan Fe(III) doplu TiO_2 solünün pH'ı 2,2 olarak ölçülmüş ve solün oldukça stabil olduğu görülmüştür. Bu da Piera ve arkadaşlarının (2003) çalışmalarındaki pH değerleri ile uygunluk göstermiştir.

Demir doplu bir TiO_2 sisteminin kompleks bir yapıya sahip olduğu ve araştırılmasının yapısal açıdan önemli olduğu belirtilmiştir. Fe doplu TiO_2 sisteminin yapısal açıdan karışık olma sebebinin, demir iyonlarının anataz ve rutil içindeki düşük çözünürlüğünden, yüksek sıcaklıkta anataz/brokitin rutile dönüşümünden ve yine yüksek sıcaklıklarda pseudobrokitin açığa çıkmasından ve demir yüklemesinden kaynaklandığı vurgulanmıştır. Fe doplu TiO_2 fotokatalistlerinde hematit ve sadece birkaç durumda ilemenit ayrı fazlar olarak bulunmuşlardır. Fakat sentez koşulları ve demir prekürsörünün seçimi, yüksek oranda Fe dop edilmiş TiO_2 örneklerinde ayrı bir demir oksit fazının oluşumunu etkilediği vurgulanmıştır (Sijakovic, 2004).

TiO₂'in içindeki Fe (III) dopantlarının rolü konusunda tartışmalar söz konusudur. Bazı otorler dopant iyonun fotoaktivitenin artışına yol açan elektron-boşluk ayırımını teşvik etmede rol oynadığı konusunda fikir bildirmişlerdir. Bu karışıklığa daha gerçekçi ve pratik bir yaklaşım getirmek için Ranjit ve Viswanathan TiO₂'in fotokatalitik aktivitesini geliştirmek amacıyla Fe(III) iyonlarının belli oranlarda (% 1,8wt) dop edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Buna karşın Litter ve Navio toluen ve benzaldehit gibi komponentlerin fotokatalitik oksidasyonunun Fe (III) doplu TiO₂ üzerinde saf TiO₂'e oranla daha yavaş olduğunu göstermişlerdir. Bu karışıklıkların sonucunda bazı otorler Fe (III) doplu titanyumların reaktivite kontrolü için doplama tekniklerinin en önemli faktör olduğu sonucuna varmışlardır (Piera ve ark., 2003).

Sol-jel iyon değişimi ve diğer kimyasal yöntemlerle fotokatalistlere yapılan metal dopinginin geri dönüşümü olduğu belirtilmiştir. Görünür ışıktaki aktivitenin düşük olduğu ve UV ışınlaması altında daha da düştüğü ifade edilmiştir. Dop edilen metal yük rekombinasyon merkezi olarak görev yapmaya başladığında aktivitenin düştüğü saptanmıştır. Buna karşın, metal iyonları TiO₂ yüzeyine metal implantasyonu veya diğer fiziksel yöntemlerle implante edildiklerinde ışık absorpsiyon açısının daha uzun dalga boyuna doğru kaydığı ve görünür ışığın kullanılabilirdiği saptanmıştır (Anpo ve Takeuchi, 2001).

Anpo ve Takeuchi (2001), yaptıkları çalışmada metal-iyon implantasyon metodunu kullanarak titanyum oksit fotokatalistlerinin elektronik özelliklerini değiştirmişlerdir. Bu yöntemde titanyum fotokatalistleri V, Cr, Mn, Fe, ve Ni gibi geçiş metallerin yüksek enerjili

iyonları ile implante edilmiştir. Bunun sonucunda titanyum oksit katalistlerinin absorpsiyon bandı görünür ışık bölgelerine doğru büyük bir kayma göstermiştir. Fakat Ar, Mg, veya Ti iyonları ile implante edilen titanyum oksitler herhangi bir kayma göstermemişlerdir. Bu da böyle bir kaymanın sadece yüksek enerjili implantasyonun kendisi tarafından gerçekleştirilemediği bunun yanı sıra, geçiş metal iyonları ile titanyum oksit katalisti arasındaki interaksiyona da bağlı olduğunu göstermiştir. Implante edilen iyonların etki dereceleri sırayla şöyle olmuştur: $V > Cr > Mn > Fe > Ni$. Bu metal implantasyonu titanyum oksidin solar enerjiyi daha etkili bir şekilde kullanmasını ve etkinliğin % 20-30'a kadar yükselmesini sağlamıştır.

Implante edilmeyen veya kimyasal doplu TiO_2 fotokatalistlerinin görünür ışık bölgesinde ($\lambda > 450$ nm) fotokatalitik reaksiyon meydana getiremedikleri fakat metal iyon implante edilmiş titanyum oksit fotokatalistlerinin önemli fotokatalitik reaksiyonlar gerçekleştirdikleri bildirilmiştir (Anpo ve Takeuchi, 2001).

Bunun yanı sıra metal iyon implante edilmiş titanyum oksitler ve implante edilmeyen orijinal saf titanyum oksitler aynı yoğunluktaki UV ışığı ile ışınladıklarında aynı fotokatalitik etkinliği gösterdikleri önemle belirtilmiştir. Metal iyonları titanyum oksit fotokatalistine kimyasal olarak dop edildiklerinde UV ışınlaması altında fotokatalitik aktivitenin dramatik şekilde düştüğü bildirilmiştir. Bunun sebebi, dop edilen metal iyonlarının fotokatalistin bant aralığı içerisinde oluşturdukları saf olmayan enerji düzeylerinde, etkili bir şekilde meydana gelen elektron boşluk rekombinasyonu olarak açıklanmıştır. Bu sonuçlar açık bir şekilde, fiziksel

olarak implante edilen metal iyonlarının elektron ve boşluk merkezi olarak görev yapmadıklarını ve sadece katalistin elektronik özelliklerini değiştirdiklerini göstermiştir (Anpo ve Takeuchi, 2001).

Gerisher ve Feller, bir fotokatalistin aktivitesinin katalistin yüzeyindeki oksijene elektronların transfer oranı ile sınırlandırıldığını belirtmişlerdir. Bazı araştırmacılar TiO_2 yüzeyinin Pd, Ag, ve Au gibi yüksek metallerle modifikasyonunun elektronların oksijene transfer etkinliğini ve dolayısıyla da fotokatalitik aktiviteyi arttırdığını vurgulamışlardır (Rampaul ve ark., 2003).

He ve ark., (2002) Ag dopinginin sol gel yöntemiyle hazırlanan TiO_2 ince filmlerinin fotokatalitik aktivitesine olan etkisini araştırmışlardır. Uygun miktarlarda Ag (% 2-4 mol) ile yapılan doplamanın TiO_2 filminin fotokatalitik aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Bu artış şu şekilde açıklanmıştır:

1. Anataz kristallerinin boyutu küçülmüş ve buna bağlı olarak TiO_2 filminin spesifik yüzey alanı artmıştır. Buna bağlı olarak TiO_2 filmindeki yük transferi devam etmiştir.

2. Elektron-boşluk çiftlerinin separasyonundaki etkinlik ve yük rekombinasyonun engellenmesi dop edilen Ag aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Fakat Ag konsantrasyonu % 4,0'un üzerine çıktığında TiO_2 fotokatalizisi baskılanmıştır.

Son zamanlarda metal oksit doplu TiO_2 katalistlerinin absorpsiyon açısını görünür ışığa doğru kaydırarak fotokatalitik aktiviteyi geliştirdiklerine dair raporlar vardır. TiO_2 'e dop edilen bazı metal oksitler SnO_2 , WO_3 , SiO_2 , ZrO_2 ve V_2O_5 'tir. Rampaul ve ark., (2003) sol-jel yöntemini kullanarak tungsten (VI) dop edilmiş ince filmler hazırlamışlardır. % 2,0 tungsten oksit doplu titanyum filmleri en etkili fotokatalistler olmuşlardır. Doplu filmlerin artan fotoaktivitesinin yük separasyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir.

Literatürlerden yola çıkarak bu çalışmada elde edilen TiO_2 ince filmlerinin kalitesini ve dolayısıyla fotokatalitik aktivitesini arttırmak amacıyla film yapısında bazı modifikasyonlara gidilmiştir. Bunlardan biri filmlerin metallerle (Fe/TiO_2 ve Cu/TiO_2) dop edilmesi, diğeri de PEG (600) ile yapılan modifikasyondur. Neticede farklı özelliklere sahip 10 çeşit TiO_2 ince filmi elde edilmiştir.

Üretilen kaplamaların karakterizasyonu için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), X-Işınları Kırınım Cihazı (XRD) ve Taramalı Uç Mikroskobu (AFM) analizleri yapılmıştır.

Yapılan SEM ölçümleri sonucunda farklı içerikteki sillerle kaplanan filmlerin farklı yüzey özelliklerine sahip oldukları bildirilmiştir. SiO_2 koruyucu filmi homojen bir görünümde olup hiç çatlak ve kırılma içermemiştir. Silika tabakası ile kaplanmayan ince filmlerde (TiO_2 -1) 500°C 'lik ısısal işlemten sonra, Na iyonlarının difüzyonundan olduğu düşünülen çatlaklar meydana gelmiştir. Fakat bunun yanı sıra SiO_2 ince filmi içermeyen fakat PEG(600) ile modifiye edilen filmlerde, oldukça

homojen ve poröz bir yapının elde edildiği tespit edilmiştir. Bu sonuçtan yola çıkarak PEG ilavesinin filmlerin yüzey morfolojisini etkilediği ve hem daha düzgün ve saydam hem de poröz yüzeylerin oluşumunu sağladığı söylenebilir. Bu sonuç Negishi ve ark. (1998), Guo ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmalarda belirtilen bilgilerle örtüşmektedir.

Guo ve ark.,(2005) sol-jel yöntemi kullanılarak ve PEG (200, 600, 1000, 2000, 6000) ile modifiye edilerek elde edilen filmlerin kalsinasyon işleminden sonra çatlak içermediklerini ve kabarıp dökülmediklerini saptamışlardır. Buna karşın PEG içermeyen filmlerin çatlak oldukları tespit edilmiştir. PEG'ün molekül artışına bağlı olarak filmlerin yüzeyi pürüzlü veya daha az yoğun olmuştur. PEG'ün 550°C'de tamamen dekompoze olmasından dolayı PEG içeren filmlerde çok sayıda por oluşmuştur.

Negishi ve ark., (1998) yaptıkları bir çalışmada TiO_2 ince film fotokatalistlerinin yüzey yapısının kontrolü için polimer doplu daldırarak kaplama prosesini başarılı bir şekilde uygulamışlardır. İnce film fotokatalistleri PEG 300, PEG 600 ve PEG 1000 ile dop edilmiştir. Dop edilmeyen film TiO_2 -P0 olarak isimlendirilmiştir. Elde edilen filmlerden TiO_2 -P0, TiO_2 -P300 ve TiO_2 -P600'ün saydam, buna karşın TiO_2 -P1000'in opak olduğu görülmüştür. Saydam filmlerin yüzeylerinin oldukça düz bir görünüm aldığı ve 5 nm çapında partikül boyutuna sahip TiO_2 'in düzgün agregasyonundan ibaret olduğu görülmüştür. TiO_2 -P1000, TiO_2 -P600'dan farklı bir yüzey yapısı sergilemiştir. TiO_2 -P1000'in yüzeyinin ~0,5 μm boyutundaki kübik TiO_2 kristallerinin kümeleşmesinden meydana geldiği bildirilmiştir.

TiO₂-P600 gibi saydam filmlerin ve TiO₂-P 1000 gibi opak filmlerin yüzey yapıları arasındaki dikkat çekici farklılığın, alkoksitin ve polimerin hidroliz oranları ile açıklanabileceği belirtilmiştir. Daha büyük boyuttaki polietilen glikolün alkoksit ve ligand arasındaki etkileşimi zayıflattığı veya alkoksit ve alkol arasındaki koordinasyonu engellediği vurgulanmıştır. Bunun sonucunda da atmosferdeki su (nem) aracılığıyla metal oksidin hidrolizinin hızlandığı ve bunun da inorganik ve organik fazın ayrılmasına sebep olduğu belirtilmiştir. PEG 1000 doplu alkoksit solüsyon sisteminde geri çekme işlemi esnasında dop edilen polimerin TiO₂'ten ayrıldığı görülmüştür. Ayrılan TiO₂'in lokalize olarak bir kümeleşme oluşturduğu ve kalsinasyon işlemi aracılığıyla kümeleşmiş TiO₂'in substrat üzerinde bir polikristalin faza dönüştüğü tespit edilmiştir. Tekrar eden geri çekme prosesi aracılığıyla birçok TiO₂ polikristali oluşmuş ve böylece de opak film elde edilmiştir. Metal oksit hidrolizi ve faz separasyonu arasındaki bu rekabete dayalı reaksiyon spinodal faz separasyonu aracılığıyla açıklanmıştır (Negishi ve ark., 1998).

PEG 600 ve PEG 300 kullanıldığında alkoksitin hidroliz oranının çok hızlı olmamasından dolayı dop edilen polimer ve TiO₂'in film içerisinde lokalize olmadığı ve polimer-alkoksit karışımının homojenitesinin geri çekme prosesi esnasında devam edebildiği saptanmıştır. Kalsinasyon süresince titanyum alkoksitin polimer matrisi içerisinde dağılmasından dolayı, TiO₂'in büyük bir boyutta kristalize olmadığı görülmüştür. Bunun sonucunda organik komponentlerin buharlaşması ile kalsinasyon işleminden sonra çok küçük partiküller ve porlar oluşmuş ve saydam film elde edilmiştir (Negishi ve ark., 1998).

Filmlerin saydamlığını kontrol etmek için havanın neminin bir diğer önemli faktör olduğu belirtilmiştir. Nemli atmosfer altında (nem>% 20) PEG-600 doplu sistemin TiO_2 -1000 filmlerine benzer şekilde opak film oluşturduğu görülmüştür. Bu sonuçlar yüksek nemin alkoksit ve polimer arasındaki etkileşimi düşürdüğünü göstermiştir (Negishi ve ark., 1998).

Yayınlanan literatürlerde PEG'ün molekül ağırlığı 2000 olduğunda 100 ml TiO_2 sol solüsyonu içerisinde çözülebilir PEG limitinin 2,0 g'dan az, PEG'ün molekül ağırlığı 4000 olduğunda ise limitin 1,0 g'dan az olduğu belirtilmiştir. PEG suda çözünebilen polimerlerin bir çeşidi olduğundan ve molekül zincirinde birçok OH grup içerdiğinden prensip olarak PEG ve TiO_2 solüsyonu ısıtılmak ve karıştırılmak suretiyle karşılıklı olarak çözünebilmekte, homojen ve stabil kompozit sistem oluşturabilmektedir. Fakat bu karşılıklı çözünürlükte PEG'ün molekül ağırlığının ve miktarının çok etkili olduğu bulunmuştur. Prekürsör solüsyondaki PEG'ün molekül ağırlığının ve miktarının artması faz ayırımına sebep olmuş ve dolayısıyla sistemin stabilitesini düşürmüştür (Yu ve ark., 2000a).

Literatürlerden yola çıkarak, TiO_2 solü içerisinde kolay çözünebilir olması ve saydam filmler oluşturması sebebiyle bu çalışmada molekül ağırlığı 600 olan polietilen glikol kullanılmıştır. Elde edilen bulgular beklenen doğrultuda olmuştur.

SEM ölçümleri, Fe ve Cu ile dop edilen ince filmlerin de homojen yapıda olduğunu ve ısısal işleminden sonra çatlak oluşumunun meydana

gelmediğini göstermiştir. Bu sonuç, metal dopinginin yüzey morfolojisini olumlu yönde etkilediğini düşündürmüştür.

Yapılan bir araştırmanın SEM sonuçlarında, demir dop edilmiş TiO_2 örneklerinin morfolojisi üzerine demir etkisi belirgin bir şekilde görülmüştür. Demir ile doplama işleminin saf TiO_2 örneklerinin düz yüzeylerini ısı uygulamasından sonra yüksek porositeye sahip, sünger-benzeri yüzeylere dönüştürdüğü bildirilmiştir. Bu etki, organik moleküllerin CO_2 'e termal degradasyonunu ve oksidasyonunu kataliz eden demirin rolünden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. CO_2 , yüzeye difüzyon eden ve yüzey tarafından desorbe edilen organik kalıntıların dekompozisyonu neticesinde ortaya çıkmıştır. Böylece, eşit dağılmış mikrometrik boşluklar içeren poröz, sünger benzeri yapılar meydana gelmiştir (Sijakovic, 2004).

TiO_2 'in üç kristal formu arasında fotokataliz uygulamalarda genelde anataz ve rutil kullanılmıştır. Fakat bu iki formun fotokatalitik aktivitesi ile ilişkili çelişkili sonuçların olduğu bildirilmiştir. Genellikle anataz fazın rutile oranla daha iyi bir fotokatalitik aktivite gösterdiği vurgulanmıştır (Rincon ve Pulgarin, 2003).

Yürütülen çalışmada, anataz kristal yapısına sahip TiO_2 filmleri elde etmek amaçlanmıştır. Aşağıda belirtilen literatürlerden yola çıkarak anataz fazı elde etmek için en uygun sıcaklık olarak önerilen ve cam substratlar için optimum olduğu saptanan 500°C 'lik kalsinasyon işlemi yapılmıştır.

Kristal yapıyı belirlemek amacıyla yapılan XRD ölçümleri sonucunda 500°C’de ısısal işleme tabi tutulan bütün filmlerde TiO₂’in anataz fazı oluşmuştur. Buna karşılık Cu ile dop edilen TiO₂ ince filmlerinden 450°C’de ısısal işleme tabi tutulanlar anataz fazı oluştururken 300, 350, 400°C’de ısısal işleme tabi tutulanlar amorf yapı meydana getirmişlerdir. Bu sonuçlardan da anlaşılabileceği gibi 450°C ısı uygulaması ile birlikte kristalleşmenin başladığı ve bunun altındaki sıcaklıkların kristalleşme oluşturmak için yeterli olmadığı görülmüştür. SiO₂ koruyucu tabakası ve filmlerin PEG ile modifikasyonu anataz fazın pik yoğunluğunu arttırmıştır. Bu sonuçlar literatürde belirtilenlerle benzerlik göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada filmlerin kalsinasyon sıcaklığı 500°C şeklinde uygulanmıştır. Bu sıcaklığın sodyum cam substratlar için optimum olduğu bildirilmiştir. Daha düşük kalsinasyon sıcaklıklarında fotokatalitik olarak aktif TiO₂ kristal fazının (anataz) oluşmadığı ve fotokatalistin fotokatalitik aktivitesinin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Daha yüksek sıcaklık ise sodyum cam altlığın erimesine sebep olmuştur (Cernigoj, 2006).

Yu ve ark., (2000b) yaptıkları çalışmada sol-jel yöntemini kullanarak PEG ile modifiye edilmiş filmler hazırlamışlardır. Yapılan termogravimetrik (TG) ölçümleri sonucunda TG eğrilerinin 3 basamakta incelenebileceği belirtilmiştir. 1. basamak, oda sıcaklığından 200°C’ye kadar olan basamaktır. Bu basamakta jel içerisinde bulunan alkolün buharlaşması ve dehidratasyonu sonucunda yaklaşık % 71 oranında ağırlık

kaybı gerçekleşmiştir. 2. basamak, 250-350 °C arasındaki basamaktır. Bu basamakta organik materyallerin karbonizasyonu ve yanması sonucunda yaklaşık % 6,0 oranında bir ağırlık kaybı olmuştur. Fakat hala biraz karbon elementinin filmlerde kaldığı XPS ölçümleri sonucunda tespit edilmiştir. 3. basamak, 520-700°C arasındaki basamaktır. Bu basamakta geri kalan karbonların oksidasyonu ve suyun buharlaşması sonucunda yaklaşık % 15 ağırlık kaybı gerçekleşmiştir. Yapılan XRD ölçümleri sonucunda, 400°C'nin altında ısı muamelesi gören filmlerde hiçbir anataz piki görülmemiştir. 450°C'nin üzerindeki filmlerde anataz piki ortaya çıkmıştır. Yaklaşık 700°C civarında rutil pikine rastlanmıştır. 500°C'lik ısı uygulamasının filmlerin fotokatalitik aktivitesini belirgin ölçüde geliştirdiği sonucuna varılmıştır.

Trapalis ve ark., (2003) yaptıkları çalışmada sol-jel metodunu kullanarak Fe^{3+} doplu TiO_2 kaplamalarını cam substratlar üzerine uygulamışlardır. Fe^{3+} dopant konsantrasyonunun etkisi, kaplama sayısı ve kalsinasyon sıcaklığının filmlerin yapısı üzerindeki etkisi incelenmiştir.

XRD ölçümleri sonucunda, 300 ve 500°C'de 1 saat süreyle ısısal işleme tabii tutulan bütün kaplamaların amorf yapıda oldukları tespit edilmiştir. 500°C'de 3 saatlik ısı uygulaması sonucunda özellikle 2 katlı kaplamalarda anatazın bariz bir kristalizasyonu gözlenmiştir. 3 katlı kaplamada rutil kristal fazının kristalizasyonu ortaya çıkmış ve anataz pikinin yoğunluğunda bir düşüş görülmüştür. Bu düşüş, uzun süreli ısısal uygulama sonucunda anatazın rutil kristal fazına rekristalize olduğunun bir kanıtı olarak düşünülmüştür. TiO_2 kaplamaları SiO_2 koruyucu tabakası ile

kaplanan camlar üzerine uygulandığında aynı ısısal işlem muamelesinden sonra rutil oluşumu gözlenmemiştir. Bunun neticesinde, ısısal işlem esnasında meydana geldiği bilinen, substrattan Na iyon difüzyonunun anatazin rutile rekristalizasyonunu teşvik ettiği ve kaplamaların aktivitesini etkilediği sonucuna varılmıştır. Yapılan fotokatalitik test sonucunda tek katlı kaplamanın antibakteriyel aktivitesi düşük olmuştur. İkinci katın uygulanması ile birlikte film kalınlığı ve buna bağlı olarak antibakteriyel aktivite artmıştır. 2 katlı kaplama üzerindeki *E. coli* hücrelerinin tamamı 2 saatlik ışınlama sonucunda canlılıklarını kaybetmiştir. 3 katlı kaplamada rutil yapısının ortaya çıkması fotokatalitik aktivitede düşüşe sebep olmuştur (Trapalis ve ark., 2003).

Başka bir literatürde Fe doplamanın artışı ile birlikte Fe-TiO₂ örneklerindeki dominant fazın ortalama kristal boyutunun küçüldüğü buna karşın Fe-TiO₂ partiküllerinin yüzey alanının arttığı belirtilmiştir. Fe doplamanın artışı ile Fe-TiO₂ örneklerindeki anataz miktarının 500 ve 580°C'de muamele edilen örneklerde arttığı görülmüştür. Sonuç olarak 580°C'de muamele edilen Fe-TiO₂ örneklerinde oldukça beklenmeyen ve aşırı miktarda anataz fraksiyonunu (% 50 mol) elde edebilmenin mümkün olduğu vurgulanmıştır. TiO₂ matriksi içine dahil olamayan demir 500°C'den düşük sıcaklık uygulamasında belirlenemeyen bir faz veya daha yüksek sıcaklıklarda (580°C) hematit (α -Fe₂O₃) ve pseudobrokitin (Fe₂TiO₅) formlarını oluşturarak ayrıldığı tespit edilmiştir (Sijakovic, 2004).

Başka bir çalışmada, 550°C’de 1 saat kalsinasyon işleminden sonra PEG içermeyen filmlerde anataz fazına veya başka fazlara ait pik görülmemiştir. Bu da filmlerin amorf yapıda olduklarını göstermiştir. Buna karşılık PEG içeren filmler anataz formda olmuşlardır. TiO₂ kristallerinin büyümesini sağlayan temel olay kalsinasyondur. PEG içermeyen filmlerde PEG içerenlerden farklı olarak çok zayıf bir rutil piki de görülmüştür. Bu sonuç da PEG ilavesinin rutil fazın oluşumunu engellediğini göstermiştir (Guo ve ark., 2005).

PEG ilavesi bütün sol-jel sistemi içerisindeki serbest su oranını azaltarak titanyum tetraizopropoksidin hidroliz hızını yavaşlattığı ve oluşan TiO₂’in film içerisinde büyük kümeler oluşturmamasını zorlaştırdığı saptanmıştır. Ayrıca PEG’ün dekompozisyonu film içerisinde porların oluşumuna yol açmış ve bu porlar da TiO₂ kristallerinin büyümesini önlemiştir (Guo ve ark., 2005).

Yürütülen çalışmada da PEG ile modifiye edilen filmlerde poröz bir yapı meydana gelmiştir. Bu sonuç da Guo ve arkadaşlarının (2005) bulguları ile örtüşmüştür.

Yapılan AFM ölçümleri sonucunda filmlerin yüzey morfolojileri ve pürüzlülükleri farklılıklar sergilemiştir. PEG (600) ile modifiye edilmeyen filmler granüler yapıda olmuş ve pürüzlülük değerleri (RMS_{rms}) 15,579-71,725 nm arasında değişiklik göstermiştir. Özellikle saf TiO₂ filmleri sahip oldukları çatlaklardan dolayı çok pürüzlü bir yüzeye sahip olmuşlardır. PEG ilavesi filmlerin daha düz bir yapıda olmasına yol açmış ve pürüzlülük değerlerini düşürerek 0,559-2,288 nm arasında olmasını

sağlamıştır. PEG ilavesinin pürüzlülük değerlerini düşürmesinin sebebinin Guo ve arkadaşlarının (2005) da belirttiği gibi meydana gelen porların TiO_2 kristallerinin büyümesini engellemesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Fe ve Cu ile dop edilen ve PEG içermeyen filmlerin pürüzlülük değerleri de oldukça yüksek olmuştur. Bu sonuçlardan yola çıkarak PEG ile modifiye edilmeyen TiO_2 filmlerinin pürüzlülük değerlerinin aşağıdaki literatürlerde belirtilen değerlerden oldukça yüksek olduğu ve bunlarla uygunluk göstermediği görülmüştür.

Hamid ve Rahman (2003) yaptıkları çalışmada, sol-jel yöntemini kullanarak TiO_2 ince filmleri elde etmişlerdir. Yapılan AFM ölçümleri sonucunda pürüzlülük profillerinin 1,41 ve 1,45 nm arasında değişiklik gösterdiğini bulmuşlardır. Bu değerler literatürde rapor edilen değerlerden (2-4 nm) daha düşük olmuştur.

Yu ve ark., (2002) fotokatalitik olarak aktif Pb-doplu TiO_2 filmlerini sol-jel yöntemi aracılığıyla camlar üzerine hazırlamışlardır. AFM sonuçları, Pb doplu filmlerin dop edilmeyen filmlere oranla daha büyük TiO_2 partiküllerinden meydana geldiklerini ve daha pürüzlü bir yüzeye sahip olduklarını göstermiştir. Dop edilmeyen filmlerin pürüzlülük değerleri 1,85 nm olurken, dop edilenlerin 3,71 nm olmuştur. Buradan da Pb dopinginin TiO_2 partiküllerinin kümeleşmesine sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Pb doplu TiO_2 filmlerinin fotokatalitik aktivitesi dop edilmeyen filmlere oranla daha yüksek olmuştur. Buna karşın yapılan çalışmada Fe ve Cu ile dop edilen filmlerin pürüzlülük değerleri dop edilmeyen saf TiO_2 (TiO_2 -1) filmlere oranla daha düşük olmuştur. Bu sonuç Yu ve arkadaşlarının (2002) bulguları ile uygunluk göstermemiştir.

Yürütülen çalışmada, filmlerin anitbakteriyel aktivitesini saptamak amacıyla seyreltme plaka yöntemi kullanılarak genel canlı sayımı yapılmıştır. Bu yöntemde steril petri kutularına önce örnekten 1 ml aktarılır, bunun üzerine 45°C'a kadar soğutulmuş besiyerinden yaklaşık 15 ml dökülür ve karıştırılır. Agarlı besiyeri donduktan sonra inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan kolonilerin sayılması ile örnekteki canlı mikroorganizma sayısı belirlenir. (Gürgün ve Halkman, 1990).

Gürgün ve Halkman'ın (1990) önerdiği seyreltme plaka yöntemi kullanılarak yapılan genel canlı sayımı sonucunda deneylerde kullanılan başlangıç bakteri konsantrasyonu (C_0) $3,0 \times 10^8$ cfu/ml olarak tespit edilmiştir.

Fotokatalitik uygulamada, anataz bant aralığı ile iyi bir eşleşme gösterdiği için ışık kaynağı olarak 365 nm'de ışımaya sahip siyah ışık kullanılmıştır. Işık yoğunluğu UV radiometer kullanılarak $1,0 \text{ mW/cm}^2$ olacak şekilde ayarlanmıştır. İnce filmlerin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitelerini saptamada kullanılan yöntem Sunada ve arkadaşlarının (2003 b) kullandığı yöntemle uygunluk göstermiştir.

Bu çalışmada elde edilen TiO_2 ince filmlerinin bakterisidal etkisini, ışınlama süresine bağlı olarak incelediğimizde 30., 60., 90., 120., dakikada görülen ortalama bakteriyel inhibisyon (Bİ) sırasıyla % 74,98, % 91,75, % 97,80 ve % 99,52 olmuştur. Buna karşın kaplanmadan ışınlanan örneklerin ortalama Bİ oranları sırasıyla % 47,59, % 69,40, % 88,64 ve % 90,75 olmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşılabileceği gibi, kaplanan filmler

üzerindeki bakterilerin büyük bir yüzdesi ışınlamanın ilk 30. dakikasında canlılıklarını yitirmiştir. Buna karşın kaplanmadan ışınlanan kontrol örneklerinin ölüm oranı % 50'den az olmuştur. Bazı kontrol örneklerinde (TiO_2 -6, TiO_2 -7, TiO_2 -10) ışınlamanın 90. dakikasındaki Bİ oranları sırasıyla % 91,81, % 89,39 % 95,41 olurken 120.dakikadaki Bİ oranının düştüğü ve sırasıyla % 90,00, % 82,42 ve % 88,33 olduğu tespit edilmiştir. Bu düşüşün, ölümcül oranda zedelenmeyen bakteriyel hücrelerin DNA hasarlarını belli oranda tamir etmeleri ve tekrar bölünmeleri sonucunda meydana geldiği düşünülmüştür. Bİ oranındaki bu düşüşün sadece bazı kontrol örneklerinde görülmesinin sebebi bakterinin büyüme fazına ve nutrient durumuna bağlanmıştır. TiO_2 ince filmleri ile kaplanan camlarda böyle bir düşüşün olmaması, bu filmler üzerinde meydana gelen hücresel hasarın ölümcül olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra karanlıkta bekletilen kontrol örneklerinde (TiO_2 -1, TiO_2 -2, TiO_2 -3, TiO_2 -4, TiO_2 -5, TiO_2 -6, TiO_2 -7, TiO_2 -8) % 4,0-% 28,57 arasında bir hücre ölümü tespit edilmiştir. Bu hücre ölümünün, bakteriyel adsorpsiyondan, hücrelerin besin yetersizliği sonucu ölmesinden ve hücrelerin dehidratasyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür. Cu ile dop edilen örnekler (TiO_2 -9, TiO_2 -10) ise karanlıkta 120 dakika bekletildiklerinde %90'nın üzerinde bir Bİ sergilemişlerdir.

Bu sonuçları destekleyen bir çalışma Rincon ve Pulgarin, (2003) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, *E. coli* üzerine güneş ışığının bakterisidal etkisi TiO_2 katalistinin varlığında ve yokluğunda araştırılmıştır. TiO_2 yokluğunda, ışınlamanın ilk iki saati boyunca bakteriyel inaktivasyonun oldukça yavaş ilerlediği ve giderek artan bir oranda devam ettiği gözlenmiştir. Stres altındaki hücrelerde “kendini-

savunma mekanizmaları UV aracılığıyla indüklenmiş ve bu durum ışıkla muamelenin ilk basamağı boyunca ışığın etkisinin kısmen azalmasına sebep olmuştur. Buna karşın, TiO_2 varlığında bu olayın gerçekleşmediği görülmüştür.

Yapılan başka bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* model olarak kullanılarak uzun dalga boylu UV ile ışınlanmış TiO_2 filmlerinin antibakteriyel etkinliği ve bakteriyel hücreler üzerindeki hasarı incelenmiştir. Işınlamanın farklı zamanlarında yapılan sayısal antibakteriyel etkinlik deneyleri % 32-72 arasında değişen bir bakteriyel inhibisyon oranı göstermiştir. 40 dk. ışınlamadan sonra anormal bir hücre bölünmesi gözlenmiştir. Normal septum yerine ince-uzun bir köprü oluşmuştur. Daha uzun süren bir ışınlama neticesinde hücre membranının dışında dalga benzeri yapılar ve hücre içindeki materyali dışarıya salan hava kabarcığı şeklinde yapılar görülmüştür. TiO_2 'in fotokatalitik etkisi sonucunda meydana gelen geri dönüşümsüz hücre hasarının bu anormal hücre bölünmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Işınlamanın 40. dakikasında hücre sayısında % 60-72 arasında değişen belirgin bir azalma tespit edilmiştir. Fakat 80. dakikada inhibisyon oranı % 38-49 arasında, 120. dakikada % 32 ve 240. dakikada % 59-69 civarında olmuştur. 40. dakikada TiO_2 filmleri üzerinde ışınlanan bakterilerin zedelenmesinden dolayı inokule edilen orijinal popülasyonda belirgin bir düşüş görülmüştür. Bunun sebebinin bu aşamada orijinal popülasyonun henüz ikiye bölünmemesinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Fakat 80. ve 120. dakikada ölümcül oranda zedelenmeyen hücreler ikiye bölünmüş ve inhibisyon yüzdesi düşmüştür. 240. dakikada bakteriyel hücre popülasyonunun büyüme oranı tekrar düşmüş ve inhibisyon yüzdesi yükselmiştir. Bu

nedenle bu çalışmada yüksek bakteriyel konsantrasyon (10^8 cfu/ml) kullanıldığından ışınlanan TiO_2 filmi tarafından ölümcül oranda zedelenmeyen bakteriyel hücrelerin bölünmesi sonucunda TiO_2 fotokatalistinin antibakteriyel etkisi gölgelenmiştir (Amezaga ve ark. 2003).

Yapılan bir çalışmada ışığın inaktivasyon etkisinin orijinal bakteriyel büyüme fazına (eksponansiyel veya durgunluk) bağlı olduğu ve TiO_2 yokluğunda bu farkın daha da belirgin olduğu saptanmıştır. TiO_2 yokluğunda ışınlama-sonrası meydana gelen olayların, süspende veya fikse edilmiş TiO_2 varlığında meydana gelen olaylardan farklı olduğu saptanmıştır. TiO_2 yokluğunda takip eden karanlık periyodu süresince *E. coli* populasyonunun arttığı ve 3 saat sonunda uygulamanın başlangıcındaki sayıya ulaştığı görülmüştür. Karanlıkta devam eden 60 saat boyunca *E. coli* replikasyonu devam etmiş ve hücre sayısı ışınlamanın başlangıcındaki sayının iki katına çıkmıştır. Fotouygulama sonucunda karanlık ortamda *E. coli* konsantrasyonunun artışı, hem hücrelerin yeniden çoğalmasına hem de hücrelerin reaktivasyonuna bağlanmıştır. TiO_2 varlığında, ışınlama durdurulduktan sonra *E. coli* sayısının azalmaya devam etmesi, hücrelerde meydana gelen hasarın geri dönüşümsüz olduğunu düşündürmüştür. Fotokatalitik prosesin “devam-eden dezenfeksiyon etkisinin”ışınlama sonrası meydana gelen en önemli olay olduğu belirtilmiştir. Bu etkinin derecesinin ışınlama süresince uygulanan ışık yoğunluğuna bağlı olduğu vurgulanmıştır (Rincon ve Pulgarin, 2004).

Genellikle fotokatalitik bakterisidal denemeler bakteriyel süspansiyonun yüksek hacimleri ile yapılmış ve bu da fotoindüklenen

reaksiyonu zayıflatan bir olay olmuştur. Uzun süreli bir ışınlama süresince ışık kaynağı ve ışınlanan örnek arasındaki boşluğun ısındığı ve bunun da içerdeki bağıl nem oranının düşüşüne sebep olduğu belirtilmiştir. Bu olayın, yüzeyden suyun buharlaşmasını hızlandığı ve neticede bakterilerin mikroçevresindeki su aktivitesini azaltarak hücreler üzerinde öldürücü bir etki oluşturduğu vurgulanmıştır. Eğer fotoindüklenen öldürücü etki yeterli ölçüde değilse fotokatalitik etkinin belirlenemeyebileceği ifade edilmiştir (Kao ve Sheu, 2004).

Kuhn ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada 60 dakikalık UV ışınlaması sonucunda ışınlama düzeneğindeki sıcaklık artışını 4°C olarak saptamışlardır. Yapılan denemede, 2 saatlik ışınlama sonucunda kapalı düzenekteki sıcaklığın 3°C yükseldiği tespit edilmiştir. Işınlama süresince düzenek içindeki nemi dengede tutmak amacıyla örneklerin altındaki petrilerin içerisine belli oranda su ilave edilmiştir.

Yürütülen başka bir çalışmada TiO₂ süspansiyonu içindeki *E.coli*'nin fotoindüklenen inaktivasyonu O₂ dağılımı tarafından şiddetli oranda etkilenmiştir. Bu da bakterilerin fotokatalitik inaktivasyonu boyunca O₂'nin önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. İlk 15 dk. içerisindeki bakteriyel inaktivasyon, ilerleyen sürelerdeki inaktivasyona oranla daha şiddetli olmuştur. Bunun sebebi, ışınlama süresince buharlaşan suyun, solitlerin konsantrasyon artışına ve bunun da fotokatalitik reaksiyon için kritik olan çözünmüş oksijenin düşüşüne yol açtığı şeklinde açıklanmıştır. Işınlama süresince suyun buharlaşması, suyun bulanıklığını da arttırmıştır. Suyun artan bulanıklığı bakterilerin fotokatalitik inaktivasyon oranını çeşitli yollarla azaltmaktadır:

1. Nutrientler, partikülat yüzeylere adsorbe olduğundan bakteriyel büyümeyi teşvik etmektedirler. Bulanık su, bakteriyel büyümeye yardım etmekte çünkü fikse olan bakteriler süspande olanlara oranla ışıktan daha iyi korunmaktadır.

2. Süspande partiküller ışıktan ısıyı adsorbe ederek suyun ılınmasına sebep olurlar. Ilınan su daha az oksijen taşımakta ve organizmalar zarar görmeye başlamaktadır. Moleküler oksijen OH radikalleri üreten bir e^- akseptörüdür.

3. Organik partiküller hem oksidatif OH radikalleri hem de TiO_2 'in fotokatalitik tarafları için bakterilerle yarışmaktadır.

4. TiO_2 'in aktivitesi onun süspande materyallerle agregasyonu sonucunda olumsuz yönde etkilenmektedir (Kao ve Sheu, 2004).

Yapılan araştırmada süspande TiO_2 yerine ince film kullanıldığından bulanıklık sonucunda ortaya çıkabilecek sorunlar da ortadan kalkmıştır. Bunun neticesinde de fotokatalitik aktivitenin arttığı düşünülmüştür. Elde edilen bu sonuç Kikuchi ve arkadaşlarının (1997) bilgileriyle uygunluk göstermiştir.

Yürütülen araştırmada, SiO_2 filminin fotokatalitik aktiviteye olan etkisi incelendiğinde, SiO_2 koruyucu tabakası ile kaplanan bütün filmlerin fotokatalitik aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Saf TiO_2 ve PEG ile modifiye edilen TiO_2 ince filmlerinde bulunan silika koruyucu tabakasının

hem bakterilerin ölüm süresini kısaltıp 60 dakika içinde tamamının ölmesini sağlamış hem de 30 dakika ışınlama sonucunda belirtilen filmlerin Bİ'da sırayla % 26,24 ve % 30,00 oranında bir artışa sebep olmuştur. Aynı şekilde demir ile dop edilen filmlerde de % 1,55 ile % 12,60 arasında değişen bir Bİ artışına sebep olmuştur. Yukarıda da belirtildiği gibi SiO_2 tabakasının, ısısal işlem esnasında sodyum iyonlarının TiO_2 filmine geçişini etkili bir şekilde engellediği, TiO_2 partiküllerinin büyümesini önlediği ve böylece fotokatalitik aktivitenin artışına sebep olduğu düşünülmüştür. Elde edilen bu sonuç Watanabe (2000), Cernigoj ve ark. (2006), Kikuchi ve arkadaşlarının (1997) literatür bilgilerini desteklemektedir.

Yapılan fotokatalitik aktivite testleri sonucunda TiO_2 ince filmlerinin sergiledikleri antibakteriyel aktivite kıyaslandığında en düşük aktiviteye sahip filmlerin demir ile dop edilenler olduğu tespit edilmiştir. 2 saatlik UV ışınlaması sonucunda bütün filmler % 100 oranında Bİ gösterirken Fe ile dop edilen filmlerin Bİ oranı maksimum % 99,61 olmuştur. Bu beklenen bir sonuç olmamıştır. Zheng ve arkadaşlarının, (2002) literatür bilgilerinden yola çıkarak, demir dopinginin bakteriyel inhibisyon oranını düşürmesinin sebebi, yüksek miktarda dop edilen demir iyonlarının bakteri hücrelerini gölgelendirerek ışık girişini engellemesinden, bunun yanı sıra demirin yük rekombinasyon merkezi olarak rol oynamasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Buna karşın yürütülen çalışmada bakır ile dop edilen filmler en iyi antibakteriyel aktiviteyi göstermişler ve 30 dakikalık UVA ışınlaması sonucunda Cu/TiO_2 filmi üzerindeki bakterilerin tamamı ölmüştür. Fakat Cu ile dop edilen kaplamalar, diğer bütün kaplamalardan farklı olarak karanlıkta 120

dk. bekletildiklerinde, % 93,50-% 99,99 oranında çok yüksek bir bakterisidal etki göstermişlerdir. Bu aktivitenin kaplamadan kaynaklanıp kaynaklanmadığını tespit etmek amacıyla Cu doplu film içeren örneklerle kaplama içermeyen örnekler birlikte karanlıkta bekletilmiştir. 120 dakika bekleme süresinden sonra kaplanmayan camlarda hücre adsorpsiyonundan ve dehidratasyondan olduğu düşünülen maksimum % 22,72 oranında bir hücre ölümü meydana gelirken, Cu doplu filmler önemli oranda bakterisidal aktivite sergilemişlerdir. Bu sonuç, bakırın kendisinin bakterisidal aktivite gösterdiğini düşündürmüştür. Bu sonuç, Li ve Sheu'nun (2004) gümüş dop ederek yaptıkları çalışmayı destekler yönde olmuştur.

Yapılan bir çalışmada buna benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ag/TiO₂ filmlerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı olan antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Ag/TiO₂ kaplamaları karanlıkta da bakterisidal etki göstermişlerdir. Bu da Ag'ün bakterisidal etkiye sahip olduğunu kanıtlamıştır. Kaplanmış camlar karanlık koşullarda kontrolden daha etkili olmuştur. Bu etkinin sadece Ag'ten kaynaklandığı düşünülmüştür. Floresan ışık ile ışınlanan camların karanlıkta inkübe edilenlere oranla daha etkili oldukları saptanmıştır. Kaplanmış camların her bir çeşidi için, ışık reaksiyonunun ölüm oranı karanlık reaksiyonundan daha yüksek olmuştur. Aralarındaki farkın da % 7,0'den fazla olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık kontrolün ölüm oranları ışınlanan ve karanlık koşullarda çok fazla fark sergilememiştir. Bu da Ag/ TiO₂ filmlerinin fotokatalitik koşullarda da aktif olduklarını göstermiştir. Işınlama süresi de 30 dk. gibi çok kısa bir zaman dilimi olduğundan, Ag/TiO₂ filmlerinin *S. aureus*

üzerindeki bakterisidal etkisinin çok iyi olduğu fikrini doğrulamıştır (Li ve Sheu, 2004).

Rektif oksijen türleri (OH radikali, H_2O_2 , süper oksit anyonları) TiO_2 fotokatalitik reaksiyonlarının ana gücünü oluşturmaktadır. Cai ve arkadaşları (2003) yaptıkları çalışmada Cu iyonlarının TiO_2 fotokatalitik reaksiyonlarında H_2O_2 oluşumu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Oksijen alıcı solüsyonda H_2O_2 oluşumunun az miktarda Cu iyonu yardımıyla yaklaşık 20 kat arttığı belirtilmiştir. Oluşan H_2O_2 'nin Fenton reaksiyonu aracılığıyla ilave OH radikali oluşturabileceği saptanmıştır. Bu sonuçlarla fotokatalitik etkinin artırılmasında H_2O_2 'nin rolü açıkça gösterilmiştir. H_2O_2 oluşumunun da Cu iyonu yardımıyla yükseldiği ifade edilmiştir. Cu/ TiO_2 filmlerinde görülen yüksek fotokatalitik aktivite Cai ve arkadaşlarını (2003) destekler nitelikte olmuştur.

İyonizasyon, uzun dalga boylu UV ve hücre içinde O_2^- oluşturan birçok komponentin oksidatif strese sebep olabileceği belirtilmiştir. Aktif oksijen konsantrasyonu hücrenin savunma kapasitesinin üzerine çıktığında bu stres artmaktadır. Bu yüksek reaktif oksijen türlerinin biyolojik hedefleri DNA, RNA, proteinler ve lipitlerdir. Hasarın büyük bir bölümünün Fenton reaksiyonu aracılığıyla H_2O_2 'den meydana gelen hidroksil radikalleri tarafından oluşturulduğu belirtilmiştir. Oksidatif stres boyunca temel hedef lipitler olmuştur. Serbest radikallerin doğrudan membrandaki yağ asitlerine saldırabileceği ve lipit peroksidasyonunu başlatabileceği vurgulanmıştır. Lipit peroksidasyonunun öncelikli etkisi membran akışkanlığında bir düşüşe sebep olmasıdır. Bu da membran özelliklerini değiştirmekte ve membrana-bağlı proteinlerin kopmasına

sebeptir. Bu etki bir amplifikatör olarak rol oynayarak daha fazla radikaller oluşmasına yol açmakta ve yağ asitleri farklı ürünlere kadar parçalanmaktadır. Çok reaktif olan aldehitler bunlardan bazılarıdır ve protein gibi moleküllere hasar verebilirler. Reaktif serbest radikallerinin tersine aldehitler oldukça uzun ömürlüdür ve bu nedenle üretildikleri yerden difüz edip uzakta bulunan hedef moleküllere ulaşarak saldırabilirler. Böylece kompleks zincir reaksiyonlarının “ikincil toksik habercileri” olarak davranmaktadırlar. Lipit peroksidasyonu süresince oluşan farklı aldehitlerden en çok çalışılanları malonaldehit (MDA) ve özellikle de 4-hidroksinonenol (HNE) gibi 4-hidroksialkenlerdir. DNA da ana hedeflerden biridir; aktif türler hem baz hem de şeker gruplarına saldırabilir ve bunun neticesinde DNA sarmalının tek veya her iki ipliğinde kırılmalar, diğer moleküllerle çapraz bağlantılar, lezyonlar ve replikasyonun engellenmesi gibi olaylar meydana gelebilir (Cabiscol ve ark., 2000).

Organizmaların fotokimyasal ve oksidatif streslerle baş etmelerini sağlayan savunma ve tamir mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar sayesinde mikroorganizmalar aerobik çevrelerde yaşayabilmekte ve güneş ışığında bulunan düşük düzeylerdeki UV ışığı ile baş edebilmektedirler. Bütün canlı formlar DNA makromoleküllerinde meydana gelen hasarlara duyarlıdır ve bu nedenle bu tip hasarlara karşı koyan birçok savunma ve tamir mekanizmaları ile donatılmışlardır. Özellikle 254 nm dalga boyundaki UV ışığı DNA üzerindeki komşu timin bazları arasında kovalent bağlar oluşturarak timidin dimerlerinin üretilmesine sebep olmaktadır. Bu olay, replikasyonda hatalara ve protein sentezinin bloke edilmesine yol açmaktadır. Hücreler ya bir fotolizaz enzimi kullanarak

fotokimyasal tamir gerçekleştirmekte ya da endonükleaz, ekzonükleaz, DNA polimeraz ve ligaz gibi enzimler kullanarak karanlıkta kesip-yeniden sentezleme yoluyla bir tamir yoluna gitmektedirler (Blake ve ark., 1999).

Hücrelerin oksidatif streslere karşı temel savunma mekanizmalarından birisi de süperoksit anyonlarının (O_2^-) H_2O_2 ve O_2 'e dönüşümünü katalizleyen süperoksit dismutaz (SOD) ve H_2O_2 'i H_2O ve O_2 'e dönüştüren katalaz enzimlerinin varlığıdır. SOD enzimi sadece doğrudan (O_2^-) aracılığıyla oluşturulan hasarları engellemekle kalmaz aynı zamanda Fe^{+3} aracılığıyla meydana gelen ve ilave OH radikalının oluşmasına yol açan Haber-Weiss reaksiyonunun oluşumunu da önlemektedir. SOD'lar aktivite için gerekli olan metal iyon kofaktörlerine göre sınıflandırılmaktadırlar; bakır-çinko tipi (Cu/Zn-SOD), manganez tipi (Mn-SOD), demir tipi (Fe-SOD) ve son zamanlarda identifiye edilen nikel tipi (Ni-SOD) (Cabiscol ve ark., 2000).

E. coli ve *S. typhimurium*'u içeren birçok Gram negatif bakteri bulundukları yere ve içerdikleri kofaktöre göre farklılık gösteren 3 tip SOD'a sahiptirler. *sod B* geni tarafından kodlanan Fe-SOD iç membrana yakın olan sitoplazmanın çevresinde konumlanmış ve aerobik solunum yol izleriyle üretilen OH radikallerini uzaklaştırmaktadır. *sod A* geni tarafından kodlanan ikinci sitoplazmik Mn-SOD DNA'yi oksidatif streslere karşı korumak amacıyla nükleusun bulunduğu hücre merkezinde yer almaktadır. Sadece Gram negatif bakterilerde bulunan ve *sod C* geni tarafından kodlanan Cu/Zn-SOD periplazmada bulunmakta ve hücreleri dış kaynaklı süperoksit saldırısına karşı korumaktadır (Karavolos ve ark., 2003)

S. aureus, *sod A* ve *sod M* genleri tarafından kodlanan üç farklı SOD enzimine sahiptir. Bunlar SOD A, SOD M ve her ikisinden oluşan bir hibrit SOD enzimidir. *sod A* ve *sod M* genlerinin ürünleri oksidatif stres koşulları altında büyüyen *S. aureus*'un canlılığı için önemlidir (Valderas ve ark., 2002).

Yürütülen çalışmada test edilen *S. aureus* Gram pozitif bir bakteridir ve bu nedenle Gram negatif bakterilerde bulunan Cu/Zn-SOD enzimine sahip değildir. Buna dayanarak *S. aureus*'un hücre dışından gelen süperoksit iyonlarına karşı Gram negatif bakterilere oranla daha az dirençli olabileceği düşünülmüştür. Denemelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında *S. aureus* hücrelerinin ölüm oranlarının fotokatalitik denemelerde Gram negatif bakterileri test eden Amezaga (2003) ve Li (2004)'nin yaptığı çalışmalardan elde edilen ölüm oranlarına çok yakın veya daha yüksek olduğu görülmüştür. Denemede elde edilen yüksek orandaki Bİ'nun test edilen organizmanın Cu/Zn-SOD enzimine sahip olmamasından kaynaklanan oksidatif strese karşı düşük direnç olduğu düşünülmüştür. Bu sonuç, TiO_2 'in hücrelerde oluşturduğu fotokatalitik oksidasyonun en önemli sebeplerinden birinin reaktif oksijen türlerinin rollerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Her ne kadar mikroorganizmaların bu streslere karşı savunma ve tamir mekanizmalarına sahip oldukları belirtilmişse de hasarların tamir edilemediği durumlarda hücrelerin canlılıklarını yitirdikleri sonucuna varılmıştır.

Kikuchi ve arkadaşları (1997) aktif oksijen türlerinin fotokatalitik bakterisidal etkideki rollerini, ince saydam bir TiO_2 filmi kullanarak incelemişlerdir. Bu amaçla önceden silika ince filmi ile kaplanmış sodyum

cam plakları titanyum izopropoksit solüsyonuna daldırılmış ve fiksasyon oranı 20 cm/dk olacak şekilde yavaşça solüsyondan çekilmiştir. Bu plaklar 500°C’de 1 saat kalsinasyon işlemine tabii tutulmuştur. Bu işlem 4 kez uygulandıktan sonra cam plağın her iki tarafında da kalınlığı ~0,4 µm olan bir TiO₂ filmi elde edilmiştir.

TiO₂ filmi üzerine konan likit filmdeki *E. coli* hücrelerinin canlılık oranı ışınlama siyah ışık ile yapıldığında önemli sayılmayacak düzeyde azalmıştır. TiO₂ filmi kullanılmadığında ve ışınlama UV ışığı (300-400 nm) ile yapıldığında 4 saat içerisinde sadece % 50,00 oranında bir sterilizasyon görülmüştür. Karanlıkta bekletilen film canlılık oranını etkilememiştir. Bu da filmin kendisinin *E. coli* için toksik olmadığını göstermiştir. Bu nedenle bakterisidal etkinin TiO₂ filminin fotokatalitik reaksiyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir. Bir OH radikali yakalayıcısı olan mannitolün eklenmesi bakterisidal etkinin düzeyini bastırmıştır. Mannitolün yüksek konsantrasyonları hariç ($5,0 \times 10^3$), karanlıkta canlı kalma oranı mannitol içermeyen örnek ile aynı olmuştur. Bu da mannitolün tek başına bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir. Verilen sürede canlı kalma oranı mannitol konsantrasyonunun artmasıyla belirgin ölçüde artmıştır (Kikuchi ve ark. 1997).

Kikuchi ve ark., (1997) indirgenebilen fotokatalitik yol izlerinin etkisini belirlemek amacıyla pH’ın etkisini de incelemiştir. Bu çalışmada, *E. coli* süspansiyonunun başlangıç pH’ı havadan gelen çözünmüş CO₂’in varlığından dolayı 4-5 arasında olmuştur. pH daha yüksek bir değere ayarlandığında O₂’den üretilen toksik türlerin üretim hızının azaldığı tespit edilmiştir. Fosfat tamponu kullanılarak pH 7,4’e

ayarlandığında özellikle ışınlamanın erken basamağında fotokatalitik bakterisidal etkinin azaldığı görülmüştür. Tampon konsantrasyonu, fosfat iyonunun TiO_2 yüzeyindeki adsorpsiyonundan kaynaklanan deaktivasyonu önlemek amacıyla 10,0 mmol/l düzeyinde ayarlanmıştır.

E. coli süspansiyonunun, TiO_2 yüzeyinden gözenekli bir PTFE membranı ile ayrıldığı bir sistemde de bakterisidal etki incelenmiştir. Bu denemelerde kullanılan membranın gözenek büyüklüğü (0,4 μm) *E. coli* hücrelerinin geçmesini engellemiştir. Solüsyon fazı türlerinin büyüklüklerine bağlı olarak bu gözeneklerden geçebileceği fakat radikal türlerinin 50 μm 'lik kalınlığı geçmeden önce deaktive olacağı beklenmiştir. Membranın geniş kalınlığına rağmen, bakterisidal etkinin düzeyi membran kullanılmayan denemede tespit edilen etkiye benzer olmuştur. Mannitol ve yüksek pH'ın etkisi de bu sistemde incelenmiştir. Mannitol yüksek konsantrasyonda kullanılmış olmasına rağmen ışınlamanın ilk basamağı boyunca inhibisyon gözlenmemiştir. Buna karşın, yüksek pH'ın etkisi likit filmde elde edilen sonuca benzer olmuştur (Kikuchi ve ark., 1997).

H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ne parçalayan enzim olan katalazın etkisi hem likit filmde hem de membran ayırıcı sistemde incelenmiştir. Fotokatalitik bakterisidal etki her iki sistemde de görülmüştür. Bu sonuç H_2O_2 'nin rolünü göstermiştir. Katalaz tarafından bir inhibisyon gerçekleştiğinin belirlenmesi, H_2O_2 'in bakterisidal etkideki rolünün düşünülmesi gerektiğini göstermiştir. Daha da önemlisi, membran ayırıcı sistemde mannitolün küçük etkisine karşın katalazın önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, bu sistemde esas bakterisidal ajanın OH radikali

değil de H_2O_2 olduğunu göstermiştir. H_2O_2 'in ilk aşamada OH radikallerinin çiftleşmesi ve bunu takiben O_2 'nin oransızlığı veya indirgenmesi sonucu fotokatalizisin hem oksidasyon hem de redüksiyon basamaklarının her ikisinde de üretildiği düşünülmüştür. Katalazın likit film sistemde de etkili olduğu görülmüştür. Likit film ve membran-ayırıcı sistem arasındaki en önemli farklılık, likit film sisteminde etkili olan mannitol inhibisyonunun öneminden kaynaklanmıştır. Fakat likit filmde görüldüğü gibi mannitolün OH radikalleri yoluyla H_2O oluşumunu inhibe etme olasılığı bulunduğundan bu sonuç OH radikalının rolü hakkında bir kanıt sağlamamıştır (Kikuchi ve ark., 1997).

H_2O_2 hücre membranını geçmesine karşın OH radikalının geçemediğine dair birçok yayın mevcuttur. OH radikalının *E.coli* hücre membranına direk saldırısı ve membranı parçalamasının oldukça zor olabileceği belirtilmiştir (Kikuchi ve ark., 1997).

TiO_2 fotokatalistlerini içeren sistemlerde H_2O_2 'nin oluşumu bildirilmiştir. Ayrıca H_2O_2 'nin bakterisidal etkisi de çok iyi bilinmektedir. H_2O_2 etkisinin 2 modu olduğu belirtilmiştir: H_2O_2 konsantrasyonlarının 2 mmol/l'nin altında olduğunda meydana gelen Mod I ve 10mmol/l'nin üzerindeki konsantrasyonlarda meydana gelen Mode II. Mod I'de ölüm, metabolizmayı etkileyen bilinmeyen türler nedeniyle, Mode II'de ise Fenton reaksiyonundan oluşan OH radikali nedeniyle gerçekleşmiştir. Kikuchi ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada membran ayırıcı sistemde 2×10^{-7} mol/l H_2O_2 meydana gelmiş ve bu konsantrasyon Mod I ölüm oranı içerisine tekabül etmiştir. Fakat gerçek H_2O_2 solüsyonunun 10^{-7} - 10^{-4} mol/l arasındaki konsantrasyonlarının öldürücü etkiye sahip olmadıkları

belirtilmiştir. Bu sonuçlar bu çalışmanın ana fikri ile çok açık bir şekilde uygunluk göstermemiştir. Bu olay diğer oksijen türlerinin teşvik edici etkisi ile açıklanmıştır. UV ışığının H_2O_2 tarafından absorbe edilememesi sebebiyle H_2O_2 'in direk fotokatalizisinden kaynaklanan bir etki olasılığının da olamayacağı belirtilmiştir. Anahtar aracının ışınlanmış *E. coli*'nin kendisinden veya TiO_2 'ten üretilen O^{2-} olduğu düşünülmüştür. Uzun dalga boylu UV ışığının (300-400 nm) bakterisidal etkisinin fotoduyarlılık sonucu oluşan O^{2-} veya singlet oksijenden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Superoksit dismutaz enziminden yoksun bir *E. coli* mutantının H_2O_2 'in Mod I ölümüne duyarlı olduğu bildirilmiştir. Siyah ışık ışınlaması altında H_2O_2 'in eklenmesi test edilmiş fakat öldürücü etki nadiren artmıştır (Kikuchi ve ark., 1997).

Sonuç olarak ışınlanmış TiO_2 filmleri üzerindeki *E. coli*'nin fotokatalitik bakterisidal etkisinin sırasıyla $OH^\bullet$ ve O_2^- üretimine karşılık gelen oksidasyon ve redüksiyon basamaklarının her ikisinin meydana gelmesinden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Fakat gerçekte öldürücü ajanın $OH^\bullet$ ve O_2^- 'ten üretilen H_2O_2 olduğu bildirilmiştir. Fotokatalitik olarak üretilen H_2O_2 konsantrasyonunun düşük olduğu görülmüş ve bu nedenle diğer oksijen türleri ile birlikte bir teşvik edici etki olması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Yürütülen çalışmada, test edilen ince filmlerin sergiledikleri yüksek orandaki bakterisidal etkide fotokatalitik reaksiyon boyunca üretilen reaktif oksijen türlerinin meydana getirdikleri oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür.

Yapılan bir araştırmada TiO_2 ince filmi üzerindeki *E. coli* hücrelerinin fotoöldürme mekanizmasını aydınlatmak amacıyla zedelenmiş hücreler ve sferoblastların canlı kalma durumları foto-ışınlama zamanının fonksiyonuna bağlı olarak incelenmiştir. Filmlerin eldesinde prekürsör olarak titanyum izopropoksit ve kaplama yöntemi olarak daldarma kaplama metodu kullanılmıştır. Filmlerin kalsinasyon işlemi 500°C 'de 1 saatte yapılmıştır. TiO_2 kaplı substrat karanlıkta bekletildiğinde veya kaplanmamış sodyum camı UV ile ışınladığında canlılıkta belirgin ölçüde bir değişiklik görülmemiştir. Buna karşın, ışınlanmış TiO_2 filmi üzerindeki canlı hücrelerin sayısında önemli bir düşüş gözlenmiştir. Bu durum TiO_2 filminin fotoöldürme aktivitesine sahip olduğunu doğrulamıştır. Başlangıç hücre konsantrasyonu 2×10^5 cfu/ml olduğunda, hücre ölümü mevcut deney koşullarında sadece ~90 dakikada tamamlanmıştır. Canlılık eğrisinin ışınlama zamanına bağlı olarak basit ve tek bir eksponansiyel düşüş prosesi şeklinde takip etmediği vurgulanmıştır. Bu eğri, çok yavaş bir fotoöldürme başlangıç basamağı ve bunu takiben daha hızlı ikinci bir basamak olmak üzere iki aşamadan meydana gelmiştir. Başlangıç hücre konsantrasyonuna bağlı olmaksızın bu iki basamaklı azalma dinamikleri hücre konsantrasyonunun 2×10^5 - 2×10^8 cfu/ml hücrelik her aralığında görülmüştür. Başlangıç hücre konsantrasyonunun 2×10^5 cfu/ml olduğu durumda 1. ve 2. basamağın oran sabitleri sırasıyla 0,015 ve 0,085/dk. şeklinde tespit edilmiştir. Bu değerlerin pudra sisteminde elde edilenlere yakın olduğu belirlenmiştir. TiO_2 toz şeklinde kullanıldığında hücreler ve TiO_2 partikülleri arasında bir kümeleşmenin meydana geldiği ve bunun sonucunda karanlıkta da bir canlılık kaybının olabileceği belirtilmiştir. Fakat bu araştırmada ince film şeklindeki TiO_2 kullanıldığından

karanlıktaki canlılık oranı %100'e yakın olmuştur (Sunada ve ark., 2003 b).

Ayrıca bu araştırmada *E. coli* sferoblastlarının canlılıklarındaki değişiklik de araştırılmış. *E.coli*'nin hücre zarfı içten dışa doğru şu üç tabakadan meydana gelmektedir: bir sitoplazmik membran, peptidoglikanın tek bir tabakası ve bir dış membran. Sferoblastların hücre zarfı peptidoglikan tabakasının ve dış membranın bir kısmını içermemektedir. Aynı uygulama koşulları altında sferoblastlar ve zedelenmemiş hücreler ile yapılan denemelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında, zedelenmemiş hücrelerin canlı kalma durumlarından farklı olarak sferoblastlar daha yüksek bir oran sabitine sahip tek bir eksponansiyel azalma dinamiği göstermişlerdir. Hücre çeperinin (dış membran ve peptidoglikan) TiO_2 fotokatalizisi aracılığıyla üretilen reaktif oksijen türlerini (h^+ , $\text{OH}^\bullet$, O_2^- , H_2O_2) bloke edebildiği belirtilmiştir. Bu nedenle bu sonuçlar, zedelenmemiş bir hücrenin hücre çeperinin başlangıç basamak boyunca daha düşük bir fotoöldürme oranı ile zarar gördüğünü düşündürmüştür (Sunada ve ark., 2003 b).

Fosfolipit, protein ve lipopolisakkarit dış membranın en önemli yapı taşlarıdır. Bu denemede doğrudan hücre çeperinin zarara uğradığını göstermek amacıyla dış membrandaki LPS ve peptidoglikan tabakasındaki peptidoglikan konsantrasyonları ölçülmüştür. İlginçtir ki zedelenmemiş hücre ölümünün yavaş olan başlangıç basamağı boyunca LPS konsantrasyonunda belirgin ölçüde bir artış gözlenmiştir. Bu artış, dış membranın fotokataliz yoluyla dekompoze olduğunu ve LPS'nin hücrenin dış membranından ayrıldığı fikrini doğurmuştur. LPS'in bağlı kalan LPS'e

oranla *Limulus* reaktifi ile daha yüksek bir reaksiyon göstermesi bu fikri desteklemiştir. Işınlamanın devam etmesi neticesinde LPS konsantrasyonunun düştüğü görülmüştür. Bu düşüş, bağlı olmayan LPS ve muhtemelen bağlı LPS'in fotokatalitik reaksiyon aracılığıyla parçalandıklarını doğrulamıştır. Buna karşın, dış membranın iç kısmında bulunan peptidoglikan tabakasındaki peptidoglikan konsantrasyonu benzer ışınlama koşullarında aynı zaman çerçevesi içerisinde değişmemiştir. Peptidoglikan konsantrasyonunun ışınlamadan 6 saat sonra düşmeye başladığı görülmüştür. Peptidoglikan konsantrasyonunun SLP reaktif seti kullanılarak ölçülmesinden dolayı, konsantrasyondaki düşüş peptidoglikanın muramil dipeptidin (MDP) molekül ağırlığına yakın dekompoze olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla, peptidoglikan konsantrasyonunda herhangi bir değişikliğin olmaması peptidoglikanın MDP kadar küçük bir moleküle parçalanmıyor olsa bile fotoöldürme mekanizmasının süregeldiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, dış membranın fotokataliz yoluyla üretilen reaktif türlere karşı bir bariyer görevi gördüğünü ve hücrelerin başlangıç ışınlama periyodu boyunca kolayca deaktive olmadıklarını göstermiştir. Fakat bariyer dekompoze olduğunda hücre canlılığı kolayca kaybolmuştur (Sunada ve ark., 2003 b).

Denemelerde kullanılan *S. aureus* sporsuz, hareketsiz, kapsülsüz ve fakültatif anaerop bir bakteridir. Gram pozitif olması sebebi ile hücre çeperi özel yapıda olup peptidoglikan, teikoik asit ve türe özgü presipitinogen protein birimlerini içermektedir. *S. aureus*'un Gram negatif bakterilere oranla daha kalın ve daha yoğun bir hücre çeperine sahip olması bu bakterinin fotokatalitik hasarlara daha dirençli olmasını sağladığı Kuhn ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada vurgulanmıştır. Fakat

yürütülen deneme sonuçlarına bakıldığında *S. aureus*'un Bİ oranlarının *E. coli* ve *P. aeruginosa* gibi birçok gram negatif bakterinin bakteriyel inhibisyon oranına yakın veya daha yüksek olduğu görülmektedir. Amezaga ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada *P. aeruginosa* hücrelerinin 40 dakikalık ışınlamadan sonra % 60-72 arasında değişen bir azalma gösterdikleri tespit edilmiştir. Yürütülen çalışmada ise 30 dakikalık ışınlama sonucunda *S. aureus* hücrelerinin ortalama % 74,98 oranında azaldıkları görülmüştür. Yine Li (2004) tarafından yapılan bir başka çalışmada 1 saatlik ışınlama sonucunda *E. coli* hücrelerinin ölüm oranları % 84,4-95,7 arasında değişirken yapılan denemede *S. aureus*'un ölüm oranı ortalama % 91,75 olmuştur. Bu bilgilerden yola çıkarak bir değerlendirme yapıldığında literatür sonuçlarıyla denemelerden elde edilen sonuçların uygunluk göstermediği görülmektedir. Bunun sebebi şu şekilde yorumlanmıştır: *E. coli* ve *P. aeruginosa* Gram negatif bakterilerdir ve bu bakteri grubunda Gram pozitif bakterilerden farklı olarak 6-18 nm kalınlıkta bir dış membran vardır. Peptidoglikan ve dış membran birlikte sağlam hücre morfolojisinin sürdürülmesi için mekanik bir koruma sağlamakta ve Gram pozitif hücrelerin fonksiyonlarına benzer şekilde faj enfeksiyonlarına duyarlılığı ve antijenisiteyi belirlemektedir. Ayrıca, Gram negatif hücrelerin dış membranı birçok orta ve büyük boyutlu molekülün geçirgenliğini etkilemektedir. Dış membrandan materyal geçişinin ilave zorluğu, belli durumlar altında Gram negatif bakterilerin Gram pozitif bakterilere göre birçok kimyasal ajana daha dirençli olmalarının nedenini açıklamaktadır (Blake ve ark., 1999). Bu bilgilere dayanarak *S. aureus*'un bir dış membrana sahip olmaması sebebi ile *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya oranla fotokatalitik uygulamalara daha dirençsiz olduğu düşünülmüştür.

Zheng ve ark., (2002) yaptıkları çalışmada iyon implantasyon yöntemini kullanarak TiO_2 ince filmi içerisine Fe iyonları implante etmişlerdir. Fe/TiO_2 filmlerinin saf TiO_2 filmlerine oranla görünür bölgedeki absorpsiyonunun daha güçlü olduğunu tespit etmişlerdir. Dolayısıyla Fe/TiO_2 filmleri daha geniş aralıktaki dalga boyuna sahip ışığı absorbe ettiklerinden ve daha fazla ışık enerjisi sağladıklarından fotokatalitik aktivitelerinin de daha güçlü olmasını beklemişlerdir. Fakat buna rağmen Fe/TiO_2 filmleri daha düşük bir fotokatalitik aktivite sergilemişlerdir. Fotokatalitik aktivitedeki düşüş şu şekilde açıklanmıştır:

1. Yüksek miktarda Fe implantasyonu ve demirin Fe^{+3} formunda bulunması elektron-boşluk çiftlerinin rekombinasyon merkezi olarak görev görmüştür.
2. Yüzeye yakın bir amorf faz tabakasının oluştuğu ve bu tabakanın anatazın kristal fazından daha düşük aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.
3. Filmin belli bir derinliğinde bilinmeyen yeni bir fazın ortaya çıktığı ve bunun da fotokatalitik aktivitenin düşüşüne yol açtığı tespit edilmiştir.

Yürütülen çalışmada da Fe doplu filmlerin fotokatalitik aktivitesinin saf TiO_2 ince filmlerine göre daha düşük olduğu görülmüştür. Saf TiO_2 ince filmlerinde 90 dk. ışınlama sonucunda *S. aureus* hücrelerinin tamamı canlılıklarını yitirirken Fe ile dop edilen filmlerde aynı ışınlama süresi sonunda % 99,61 oranında bir Bİ oranı saptanmış ve bakterilerin

tamamı ölmemiştir. Elde edilen sonuçlar Zheng ve arkadaşlarının (2002) bulgularına uygunluk göstermiştir.

Maeda ve Yamada, (2006) yaptıkları çalışmada daldırma yöntemini kullanarak Cu, Fe ve Al doplu fotokatalistler hazırlamışlardır. Metal oranı % 2, kurutma sıcaklığı 120°C, kalsinasyon sıcaklığı 500°C ve film sayısı 3 kat şeklinde uygulanmıştır. Filmlerin fotokatalitik aktivitesi, stearik asidin dekompozisyonu spektroskopik olarak ölçülerek tespit edilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda Cu ve Fe doplu TiO₂ filmlerinin absorpsiyon açısının uzun dalga boyuna doğru belirgin bir kayma gösterdiğini ortaya koymuştur. Cu doplu filmler görünür ışıktaki artan fotokatalitik aktivite göstermişlerdir. Buna karşın Fe ve Al doplu olanların fotokatalitik aktivitesi düşük olmuştur. Bu sonuçlar, Cu doplu TiO₂ filmlerinde üretilen elektron-boşluk çiftlerinin yük ayırımının etkili bir şekilde gerçekleştiğini ortaya koymuştur.

Sunada ve ark.'nın (2003a) yaptıkları çalışmada bakır doplu TiO₂ ince filmin (Cu/TiO₂) bakterisidal aktivitesi çok zayıf UV ışınlaması altında araştırılmıştır. Film fotokatalistin ve dop edilen bakırın bakterisidal aktivitedeki rolünü aydınlatmak amacıyla bakır-dirençli *E.coli* straininin hücreleri kullanılmıştır. Karanlık koşullarda bakır-dirençli hücrelerin canlılık oranında bir düşüş saptanmamış, fakat çok zayıf UV ışığı ile ışınladıklarında (1mW/cm²) canlılık oranı düşmüştür. Cu/TiO₂ filmi üzerindeki hücreler çok zayıf UV ile ışınladıklarında canlılıktaki düşüş eğrisi iki basamaktan meydana gelmiştir. Canlılıktaki bu değişiklik, TiO₂ filmleri üzerindeki normal *E.coli* hücrelerinin oldukça güçlü UV ışığı ile ışınladıklarında gösterdikleri değişiklik ile benzer olmuştur. Birinci

basamak, fotokatalitik proses aracılığıyla hücre zarfı içerisindeki dış membranın kısmi dekompozisyonudur. Bu dekompozisyon, bakır iyonlarının sitoplazmik membran içerisine girişine yol açmıştır. İkinci basamak, bakır iyonları aracılığıyla meydana getirilen sitoplazmik membran hasarının yol açtığı hücre bütünlüğünün kaybıdır. Bu prosesler Cu/TiO₂ sisteminin zayıf bir UV ışığı ile ışınlama sonucunda neden etkili bir bakterisidal aktivite gösterdiğini açıklamıştır.

Modern cerrahide ameliyat sonrası implant kaynaklı enfeksiyonlar hala çözüme kavuşamayan ve ciddi komplikasyonlardır. Antibakteriyel ve biyoyumlu yüzeyler hem enfeksiyon oranlarını azaltabilmekte hem de doku integrasyonunu devam ettirebilmektedir. Yapılan bir çalışmada farklı metal iyonlarının in vitroda gösterdikleri antibakteriyel ve biyoyumluluk potansiyelleri karşılaştırılmıştır. Ayrıca sol-jel yöntemi ile hazırlanan Cu içeren TiO₂ (Cu/TiO₂) ve dört katlı Cu/TiO₂ kaplamasının doku hücreleri ve bakterilerle teması sonucu ortaya çıkanlar in vitro testlerle ortaya konmuştur. Büyüme inhibisyon testleri gümüş, çinko, kobalt, alüminyum ve cıva iyonları arasında, bakır iyonlarının antibakteriyel fakat bununla birlikte biyoyumlu modifiye ediciler olarak önemli bir konumda olduklarını göstermiştir. Bu sonuçlar, en iyi hücre büyümesinin Cu/TiO₂ kaplamaları üzerinde olduğunu gösteren, doğrudan yüzey temasına dayalı hücre testleri ve SEM araştırmaları ile doğrulanmıştır. En yüksek antibakteriyel özellikler dört katlı Cu/ TiO₂ kaplamalarında tespit edilmiştir (Heideneau, 2005).

Kobasa (2004) tarafından yapılan bir çalışmada titanyum dioksit çinko ile dop edildikten sonra Cu²⁺, Fe²⁺, Co²⁺ tuzları ile modifiye edilmiş

ve UV ışığı altında araştırılmıştır. % 0,01 bakır tuzunun katalitik aktiviteyi önemli ölçüde arttırmak için yeterli olduğu tespit edilmiştir. Bunun üzerindeki oranda bakır ilavesinin aktiviteyi düşürdüğü belirtilmiştir. Her ne kadar katalitik aktivitedeki önemli bir artış için % 0,5 Fe^{2+} 'e ihtiyaç duyulsa da aktivitedeki sonuç bakır ile aynı oranda olmuştur. Bunun üzerindeki oranda demir ilavesinin aktivitenin düşüşüne sebep olduğu fakat bu düşüşün bakırda gözlenenden daha yavaş olduğu vurgulanmıştır. Kobalt tuzları aktiviteyi daha kompleks bir yoldan etkilemiştir. % 0,01-0,10 Co^{2+} içeren materyallerin aktivitesi başlangıçtaki TiO_2 'ten daha düşük olmuştur. Bunun üzerindeki tuz ilavesi aktivitede artışa sebep olmuş ve maksimum bir değere ulaştıktan sonra başlangıçtaki değerin altına düşmüştür. Buna ilaveten dop edilen bakır iyonlarının fotokatalitik oksidasyon reaksiyonu üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Cu, atmosferik koşullarda metal oksitleri kadar metalik formu da stabil olan çok özel metallerden biridir. Bakırın çalışma değerinin, TiO_2 sulu süspansiyonunda olası elektron alıcısı olarak düşünülen oksijen molekülünün standart redüksiyon potansiyeline ve TiO_2 iletkenlik bandına oldukça benzer olduğundan, dop edilen bakırın TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesini geliştirebileceği düşünülmüştür. Maksimum fotokatalitik aktivite için gereken Cu konsantrasyonunun % 0,5-1,0 mol olduğu saptanmıştır. % 0,8 Cu/ TiO_2 'in fotokatalitik aktivitesinin saf TiO_2 'e oranla yaklaşık 1,4 kat fazla olduğu görülmüştür.

Yürütülen çalışmada yapılan % 2 oranındaki bakır dopinginin filmlerin fotokatalitik aktivitesini saf TiO_2 filmlerine oranla önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır. % 4 oranında dop edilen Fe ise aktiviteyi düşürmüştür.

Amezaga ve ark., (2002) sprey pirolizis yöntemini kullanarak Cu ve Al doplu TiO_2 ince filmleri üretmişler ve bu filmlerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı gösterdikleri bakterisidal etkiyi araştırmışlardır. Yapılan sayısal ölçümler sonucunda bakteriyel inhibisyon oranının % 28-96 arasında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Dopant çeşidinin etkisi filmlerdeki ortalama kuantum verimi (birim zamandaki bakteriyel ölüm sayısının birim zamanda absorplanmış fotonların sayısına oranı) baz alınarak değerlendirilmiştir. Kuantum verim değerinin, inhibe edilen bakterilerin sayısına ve filmde absorbe edilen fotonlara bağlı olması sebebi ile, bakteriyel inhibisyon yüzdesine oranla, materyalin bakterisidal aktivitesi için daha iyi bir indikatör olduğu belirtilmiştir. CuTi-201 filminin Bİ oranının (% 57) Ti-824 (% 65) ve T-826 (% 61) filmlerine oranla oldukça düşük olduğu fakat buna karşın CuTi-201 filminin kuantum veriminin ($4,28 \cdot 10^{-11}$), Ti-824 ($3,08 \cdot 10^{-11}$) ve Ti-826 ($2,24 \cdot 10^{-11}$) filmlerine oranla düşündürücü derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, beklendiği gibi CuTi-201 filminin daha etkili olduğunu göstermiştir. Yürütülen denemede de Cu ile dop edilen filmler diğer bütün filmlerden daha yüksek bir aktivite göstermiştir. Bu da Amezaga ve arkadaşlarının (2002) literatür bilgilerini destekler yöndedir.

Xu ve ark., (2006) sol-gel yöntemi ile hazırladıkları N- TiO_2 ince filmlerinin *Pseudomonas aeruginosa* strain (AS1.50) ve *Bacillus subtilis* strain (AS1.439) üzerindeki fotokatalitik etkilerini bir foto-reaktör içinde UV ışınlaması altında incelemişlerdir. Farklı kalınlıktaki N- TiO_2 ince filmleri 500°C (film A) veya 350°C'de (film B) 1 saat fırınlama yapılarak immobilize edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan N- TiO_2 ince film B'nin (8,18 nm kalınlık, 2,760 nm yükseklik ve 25,25 nm çapında) N- TiO_2 ince

film A'ya (12,17 nm kalınlık, 3,578 nm yükseklik ve 27,50 nm çapında) göre daha homojen granüler nanoyapıya ve daha ince düz bir yüzeye sahip olduğu görülmüştür. ~70-80 dakika ışınlamadan sonra *P. aeruginosa* için % 95'ten fazla *B. subtilis* için de % 75 oranında bir fotokatalitik bakterisidal aktivite tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan N-TiO₂ ince filmlerinin foto-indüklenmiş etkinliğinin muhtemelen filmlerin karakteristiklerine bağlı olduğu grlmştir. Yapılan çalışmada da farklı karakteristiklere sahip ince filmlerin *S. aureus*'un inhibisyonunda farklı oranda bakterisidal etkilere sahip oldukları bulunmuştur. Dolayısıyla bu sonuç yukarıdaki literatürü destekler yönde olmuştur.

Son zamanlarda, azot ve karbon doplu TiO₂ substratlarının görünür ışıkta fotokatalitik aktivite sergiledikleri rapor edilmiştir.

Wong ve ark., (2006) azot-doplu TiO₂ substratlarının saf TiO₂'e ve karbon-doplu TiO₂ oranla, görünür ışıkta *E.coli*'ye karşı daha üstün bir bakterisidal aktivite gösterdiklerini bulmuşlardır. Patojen-ldrme denemesinde *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* ve *Acinetobacter baumannii* gibi patojenler test edilmiştir. Bu deneme neticesinde, patojenlerin büyük bir kısmı görünür ışık ile ışınlanan azot-doplu TiO₂ substratları tarafından inhibe edilmiştir. Yürütülen çalışmada da Cu ile yapıla doplama sonucunda 30 dk. içerisinde bütün *Staphylococcus aureus* hücreleri canlılıklarını yitirmiştir. Bu sonuç Wong ve arkadaşlarının (2006) alışması ile paralellik göstermiştir.

Suketa ve ark., (2003) yaptıkları çalışmada ticari saf titanyum disklerini iyon implantasyon metodunu kullanarak TiO₂ filmleri ile kaplamışlardır. *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi oral anaerobik bakteriler TiO₂-kaplı ve kontrol diskleri üzerine pipetlenmiş ve 360 nm’de pik veren 1,0 mW/cm² yoğunluktaki siyah ışık ile 3 saat ışınlanmışlardır. Işınlamadan sonra TiO₂ kaplı diskler üzerindeki bakterilerin % canlılık oranları sırasıyla % 0,2, % 0,3, % 0,3 olurken kontrol disklerinde % 77,7, % 68,0 ve % 70,3 olmuştur. Bu sonuçlar, TiO₂ fotokatalistinin siyah ışık ile ışındığında *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi bakterilerin canlılıklarını etkili bir şekilde bastırdığını göstermiştir. Bu araştırmayı destekler şekilde yürütülen çalışmada da kontrol örneklerindeki canlılık TiO₂ ince filmi ile kaplanan örneklerden daha yüksek olmuştur.

Liu ve ark., (2006) vanadium, mangan ve çinko dop edilmiş TiO₂ nanopartiküllerini sentez etmişlerdir. *E. coli* ve *S. aureus* için yapılan minimum inhibisyon konsantrasyon deneyleri, vanadium iyonları ile yapılan doplamanın nanopartiküllerin antibakteriyel etkinliğini yüksek oranda geliştirdiğini göstermiştir.

Buna benzer şekilde yapılan çalışmada Cu iyonları ile yapılan doplamanın da filmlerin antibakteriyel aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir.

Yürütülen çalışmada PEG ile yapılan modifikasyonun filmlerin antibakteriyel aktivitesine olan etkisi incelendiğinde, TiO₂ ince filmlerinin

PEG (600) ile modifiye edilmesi sonucunda bakteriyel inhibisyon oranlarında artış olduğu gözlenmiştir. PEG ilavesi saf TiO_2 filmlerinin 30. ve 60. dakikadaki Bİ oranlarını sırasıyla % 7,62 ve % 13,24 oranında arttırmıştır. Silika koruyucu tabakası ile kaplanan camlarda PEG ilavesi sonucunda, ışınlamanın 30. dakikasında Bİ'da % 11,38 oranında bir artış olmuştur. Demir ile dop edilen filmlerde 2 saatlik ışınlama sonucunda % 1,64-% 14,02 arasında değişen bir Bİ artışı saptanmıştır. Bİ'daki bu artış şu şekilde yorumlanmıştır; TiO_2 solüne PEG eklenmesi filmlerin yüzey yapısını değiştirmiştir. Filmlerde porlar meydana gelmiş ve por sayısına bağlı olarak filmlerdeki OH^- içeriği artmıştır. OH^- içeriğinin artması da fotokatalitik aktiviteyi arttırmıştır. Bu sonuçlar Yu ve Zhao (2001), Guo ve ark. (2005), Negishi ve arkadaşlarının (1998) elde ettikleri sonuçları destekler yönde olmuştur.

Yu ve Zhao, (2001) yaptıkları çalışmada 0,5 g ve 1,0 g PEG içeren sol ile hazırlanan TiO_2 filmlerinin içerdikleri OH miktarının 2,0 g PEG içerenlerle yaklaşık aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Fakat 1. gruptaki filmlerin iletkenliği daha yüksek olmuş ve ışık filmlerin iç kısımlarına etkili bir şekilde girebilmiştir. Fotokatalitik reaksiyon oranı birim alana düşen ışık yoğunluğuna bağlı olarak arttığından 1. gruptaki filmlerin fotokatalitik aktivitesi 2. gruptakine oranla daha yüksek olmuştur. Diğer tarafta, PEG içermeyen solden hazırlanan ince filmlerin iletkenliği en yüksek olmasına rağmen, OH içeriği ve yüzey alanı en düşük seviyede olduğundan ve reaktantın filmin iç bölgelerine ulaşip elektron ve boşlukları yakalaması kolay olmadığından en düşük fotokatalitik aktivite oranına sahip olmuştur. Artan PEG miktarına bağlı olarak (2,0g) OH içeriğinin arttığı görülmüştür. Fakat filmdeki por sayısı ve por genişliği fazla

olduğundan ışığın saçıldığı ve filmlerin iç bölgesinde ortalama ışık yoğunluğunun belirgin ölçüde düştüğü tespit edilmiştir. Bu filmlerin kendini temizleyen camlar için kullanılamayacağı bildirilmiştir. Geniş ve çok sayıda porlara sahip filmlerin su buharı tarafından daha kolay saldırıya uğradıkları bildirilmiştir. İnce filmlerde bulunan OH gruplarının film yüzeyine kimyasal ve fiziksel olarak adsorbe olan sudan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Negishi ve arkadaşları 1998 yılında yaptıkları çalışmada TiO_2 ince filmlerini molekül ağırlığı 300, 600 ve 1000 olan PEG ile modifiye etmişlerdir. Bu filmlerin fotokatalitik aktivitesini NO'nin dekompozisyon oranını ölçerek saptamışlardır. TiO_2 -P300, P600 ve P1000 aracılığıyla NO'nin uzaklaştırma oranı sırasıyla % 65, % 70 ve % 80 olurken PEG ile modifiye edilmeyen TiO_2 için % 71 olmuştur. İnce filmlerin fotokatalitik aktivitesinin film kalınlığına bağlı olduğu vurgulanmıştır. Geniş bir yüzey alanına sahip ince filmlerin NO'nin parçalanması için daha yüksek bir aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. Bunun yanı sıra farklı boyuttaki polimerlerle dop edilen filmlerin fotokatalitik yeteneklerinde çok önemli farklılıklar olmamıştır. Bu sonuç, farklı boyuttaki polimerlerle dop edilen ince filmlerin yüzey alanının hemen hemen aynı olduğunu kanıtlamıştır.

Yapılan başka bir çalışmada ise püskürtme yöntemi kullanılarak cam substratlar TiO_2 ile kaplanmıştır. Işınlama işlemi 1 saat süreyle floresan lamba kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fotokatalitik proses sonunda kaplanmış camlar üzerindeki *E. coli*'nin ölüm oranları % 84,4-95,7 arasında değişirken kontrolün ölüm oranı % 47,5 olarak tespit edilmiştir. *Candida albicans*'ın ölüm oranları *E. coli*'nin ölüm oranlarına

benzerlik göstermiştir. TiO_2 kaplı filmler üzerindeki *Pseudomonas aeruginosa*'nın ölüm oranı % 80 olmuştur. Kaplanmış filmlerin bakterisidal etkisi kontrolden daha yüksek olmuş ve ikisi arasındaki farkın % 4,6-6,8 olduğu görülmüştür. Tuzlu suda süspande edilen *Staphylococcus aureus*'un ölüm oranları hem TiO_2 kaplı camlar hem de kontrol camları için % 90'dan yüksek olmuştur. TiO_2 kaplı camların öldürme oranlarının kontrolden daha yüksek olduğu ve aralarındaki farkın % 1,4-7,1 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Kültür ortamında süspande edilen *S. aureus*'un canlı sayısı tuzlu solüsyonda süspande edilene oranla daha yüksek olmuştur. Bu sonuç, ışınlama esnasında nutrientlerin varlığında bakterilerin çoğalabileceğini göstermiş ve bu durumun bakterisidal aktivitenin tespitinde karışıklığa yol açabileceği belirtilmiştir. *Candida albicans* ve *E. coli*'nin TiO_2 fotokatalizisine daha duyarlı oldukları belirtilmiştir. Genel olarak, TiO_2 kaplamalarının bakterisidal etkisi floresan ışık altında her zaman karanlıktakilerden daha yüksek olmuştur. TiO_2 kaplamaları sadece UV ile ışınlandıklarında değil günlük hayatta kullanılan floresan ışık ile ışınlandıklarında da bakterisidal etki göstermişlerdir (Li, 2004).

Denemelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında tuzlu suda süspande edilen *S. aureus*'un da 60 dk. ışınlama sonucunda ortalama % 91,75 oranında inhibe olduğu saptanmıştır. TiO_2 kaplı camların öldürme oranlarının kontrolden daha yüksek ve aralarındaki farkın % 22,35 olduğu görülmüştür.

Seven'in (2003) yaptığı çalışmada TiO_2 'in sulu süspansiyonunun halojen lamba ışığı ve sodyum lambası ışığı altında *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *S. cerevisiae* ve *C. albicans*'ın

fotodezenfeksiyonuna olan etkisi araştırılmıştır. Seçilen mikroorganizma türlerinin bakteri kültürlerinde, halojen lambası ışığı altında TiO_2 fotokatalizörü ile 4 saat süreyle yapılan ışınlama sonucunda üremenin devam ettiği görülmüştür. Halojen lambanın enerjisinin düşük olması nedeniyle TiO_2 'i aktive edemediği düşünülmüştür. Sodyum lambası ışığı altında ise *E. coli*'nin 40 dakikada, *S. aureus*'un 2 saatte, *P. aeruginosa*'nın 3 saatte tamamen inaktif olduğu, *S. cerevisiae* ve *C. albicans*'ın üremesinin 2 saatten itibaren azaldığı saptanmıştır. *A. niger*'in üremesinde 4 saatin sonunda bir değişiklik gözlenmemiştir. TiO_2 katalizörü kullanılmadan sodyum lambası ışığının mikroorganizmalar üzerindeki etkisi incelendiğinde söz konusu bakteri ve mantar türleri üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda karanlık ortamda da TiO_2 'in antimikrobiyal özellik taşımadığı ifade edilmiştir.

Yapılan araştırmada Seven'in (2003) sonuçlarına benzer şekilde Fe ile dop edilen örnekler hariç bütün örneklerde *S. aureus* hücrelerinin 2 saatte tamamen inhibe oldukları saptanmıştır.

Doğrudan UVA ışınlamasının bakteri hücreleri üzerinde ölümcül hasarlar oluşturduğu bilinmektedir. Fakat bakteri cinsine, organizmanın yaşına, spor içerip içermemesine ve ışık miktarına bağlı olarak, bakteri hücrelerinin UV ışınlamasına olan duyarlılıkları farklılık göstermiştir. Örneğin 60 dakikalık fotokatalitik uygulama süresince *B. subtilis* sporlarının sayısını azaltmak mümkün olmamıştır. Devam eden fotokatalitik uygulama, sporlarda şekil değişikliğine (11.75 saat) ve lezyona (36 saat) sebep olmuştur. *B. subtilis* (ATCC6633) ve *Mycobacterium terrae* (ATCC15755) TiO_2 olmaksızın UVA'ya şiddetli

oranda hassas olmuşlar ve bu nedenle onların fotokatalitik inaktivasyonu tespit edilememiştir (örneğin vejetatif *B. subtilis* UVA'ya 10 dk. maruz bırakıldığında $7\log_{10}$ basamak azalmıştır (Kuhn ve ark., 2003).

Literatürde, *E.coli* veya *E. cloacae* hücrelerinin etkilenmedikleri UVA dozunun *P. aeruginosa* hücreleri için ölümcül olduğu bulunmuştur. Düşük oranda UVA ışınlanmasından etkilenmeyen ve UVA ışığının sebep olduğu oksidatif membran hasarlarına dirençli olan *E. cloacae* gibi bakterilerin TiO_2 fotokatalitik teknolojisi ile inaktive edilebilecekleri belirtilmiştir (Ibanez ve ark., 2003).

Bu bilgilerden yola çıkarak, fotokatalitik uygulamalar için kullanılacak bakteri cinsinin seçiminin önemli olduğu belirtilebilir.

Yapılan bir çalışmada TiO_2 ve SnO_2 gibi metal oksitlerle kaplanmış cam üzerindeki sekiz bakteri suşunun adezyonları, 254 nm (UVC) veya 340 nm (UVA) dalga boyundaki UV ışığına maruz kalmadan önce ve sonra ölçülmüştür. TiO_2 ve SnO_2 yüzeylerine UV ışığının öncelikli etkisi bu hidrofobik yüzeyleri hidrofilik yüzey yapmaktır. UVA veya UVC ışığı TiO_2 yüzeyini hidrofilik yaparken SnO_2 yüzeyini sadece UVC ışığı hidrofilik yapmıştır. UVA ışığının hidrofobisiteyi azaltması, TiO_2 yüzeyindeki 8 bakteri suşunun adezyonunun % 10'dan % 43'e kadar azalmasını sağlamıştır. UVC ışığı TiO_2 ve SnO_2 yüzeylerindeki bakteriyel adezyonu % 10'dan % 50'ye kadar azaltmıştır. Bu sonuç, UV ışığı aracılığıyla fotokatalitik yüzey hidrofobisitesinin değiştirilebileceğini böylece de yüzeye tutunan bakteri sayısının azaltılabileceğini göstermiştir. Buradaki 8 bakteriyel suşun yüzeye adezyonundaki azalmanın UV

ışığındaki muameleye bağlı olarak değiştiği görülmüştür. Örneğin UVA ışığı ile muamele sonucunda *Bacillus subtilis* 7003'ün hücre sayısındaki azalma % 40 iken *E. coli* JM109'daki azalma sadece % 17 olmuştur. Buna karşın UVC ışığı ile muamele sonucunda *E.coli* D21f2 suşundaki azalma yaklaşık % 50 iken *Pseudomonas aeruginosa* PDO 300 suşundaki azalma sadece % 29 olmuştur. Genel olarak UV uygulamasından sonra, daha az yapışkan suşların adezyonunda yapışkan suşların adezyonuna oranla daha büyük bir indirgenme görülmüştür. Bu sonuçlar TiO₂ kaplı yüzeylerin UV ile ışınlanmasının bakteriyel adezyonun azaltılmasında en etkili metot olduğunu göstermiştir (Li ve Logan, 2005). Yürütülen çalışmada TiO₂ ince filmi ile kaplanan camlar kaplanmayan kontrol örnekleri ile birlikte 30 dk. aralıklarla 120 dk süresince UVA ışığına maruz bırakıldıklarında, ince film ile kaplanan örneklerin Bİ oranının her zaman periyodu sonunda kaplanmayan örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Li ve Logan'ın (2005) yaptığı çalışmaya dayanarak, Bİ'daki bu farklılığın sebebinin fotokatalitik reaksiyon ile birlikte UVA ışığının TiO₂ kaplı yüzeyi hidrofilik yapması ve bakteriyel adezyonu azaltması olduğu düşünülmüştür.

Kuhn ve arkadaşları (2003) yaptıkları çalışmada TiO₂ ile kaplanmış yüzeylerin fotokatalitik oksidasyonunu araştırmışlardır. Su ve oksijen varlığında, TiO₂ ve orta şiddetteki ultraviyole A (UVA) aracılığıyla son derece reaktif OH radikallerinin oluşturulabileceği belirtilmiştir. Bu radikallerin bakterileri yok etme kapasitesinde olduğu ve bakteriyel kontaminasyonu azaltmada etkili olabileceği vurgulanmıştır. Yöntemin etkinliği *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, ve *E. faecium* gibi hijyenle ilişkili bakteriler kullanılarak kanıtlanmıştır. Test edilen bütün bakteriler için 60 dakikalık ışınlama sonucunda 6 log₁₀ basamaktan daha yüksek bir

indirgenme etkinliği saptanmıştır. Aynı ışınlama sũresince *Candida albicans* için $2 \log_{10}$ basamağı içeren bir indirgenme etkinliği saptanmıştır. Yũrũtũlen çalışmada 60 dk ışınlama sonucunda elde edilen Bİ oranları Kuhn ve arkadaşlarının sonuçları ile uygunluk gũstermiřtir.

Miron ve ark., (2004) tarafından yapılan bir başka çalışmada radyofrekans magnetron saçılım yũntemini kullanarak silikon altlıklar ũzerine TiO_2 filmlerini uygulamışlardır. Bu filmlerin amorf yapıda oldukları ve iyi fotokatalitik aktivite gũsterdikleri bildirilmiştir. *Diplococcus pneumoniae*, *S. aureus* ve *E.coli*'ye karşı filmlerin bakterisidal aktivitesi denenmiş ve 1 saatlik UV ışınlaması (1 mW/cm^2) sonucunda filmlerin ũzerindeki bakterilerin çoğunda hũcrelerin ũlũmũne yol açan membran hasarları tespit edilmiştir. 6 saatlik ışınlama sonucunda TiO_2 yũzeyi ũzerindeki bũtũn hũcrelerin ũldũđũ tespit edilmiştir. Yũrũtũlen çalışmada da 1 saatlik UV ışınlaması sonucunda *S. aureus* hũcrelerinin % 90'dan fazlasının inhibe olduğu bulunmuştur.

Yapılan başka bir çalışmada TiO_2 filmi doğrudan UV lambası ũzerine kaplanmış ve bu lamba bir fotoreaktũre yerleştirilerek *Giardia lamblia* için fotokatalitik performansı denenmiştir. 2 saatlik ışınlama (375 nm) sonucunda TiO_2 fotokatalisti olmaksızın ışınlanan hũcrelerde de kısmi dekompozisyon gũrũlmũř fakat TiO_2/UV -ışınlama sisteminde *Giardia lamblia*'nın ũlũm oranı çok daha hızlı olmuştur. Bu yũntemin *Giardia lamblia*'nın sterilizasyonu için alternatif bir yol olabileceği bildirilmiştir (Lee, Kang ve ark., 2004).

TiO₂'in oluşturduğu fotokatalitik reaksiyonun sadece ışık varlığında meydana gelmesi büyük bir dezavantajdır. Bu sorunu çözmek amacıyla son zamanlarda bir fotokatalist (TiO₂ veya SrTiO₃) ve enerji depolayan bir materyal (WO₃) birleştirilerek enerji depolayan fotokatalistler geliştirilmiştir. TiO₂-WO₃ kompozit fotokatalist filmlerinin UV ile ışınladıklarında redüktif enerjiyi depolayabildikleri saptanmıştır. Foto-şarjlı film 6 saatlik karanlık periyodunda *E. coli* üzerinde orta derecede bir bakterisidal etki göstermiştir. Buna karşın, şarj edilmeyen film böyle bir etki göstermemiştir. Orta derecedeki bu bakterisidal etki gece boyunca bakteri sayısındaki artışı engellemiş ve geri kalan canlı bakteriler de ertesi gün TiO₂'in güçlü bakterisidal etkisinden dolayı ölmüştür. Foto-şarjlı film oksijeni indirgeyerek H₂O₂ oluşturmuştur ve bu da bakterisidal etkinin sebebi olarak görülmüştür (Tatsuma ve ark., 2003).

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, TiO₂ ince filmlerinin güçlü bakterisidal etki gösterdikleri ve TiO₂ fotokatalist teknolojisinin mikroorganizmaların kontrolünde alternatif bir yöntem oluşturabileceği düşünülmektedir.

6. ÖNERİLER

Sonuç olarak bu tez çalışmasında sol jel daldırma yöntemi kullanılarak farklı özelliklere sahip TiO_2 ince filmleri başarılı bir şekilde elde edilmiş ve bu filmlerin önemli bir patojen olan *Staphylococcus aureus*'un kontrolünde kullanılabileceği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde aşağıda belirtilen konulara dikkat edilmesi önerilmektedir.

1. Öncelikle, iyi kalitede filmler üretebilmek için kaplanacak altlıkların çok iyi temizlenmesi, kaplama yönteminin belirlenmesi ve kaplamada kullanılacak solün stabil olması önerilmektedir. Buna ilaveten çalışma ortamının çok temiz olmasına ve ortam neminin kontrol altında tutulmasına dikkat edilmelidir.

2. Filmlerdeki çatlamları engellemek amacıyla daldırma kaplama yöntemi yerine döndürerek kaplama ve sabit rulo yönteminin kullanılması daha iyi sonuç verebilir.

3. Altlık olarak sodyum camı kullanıldığında Na iyonlarının TiO_2 tabakasına diffüzyonunu engellemek ve fotokatalitik aktiviteyi arttırmak için cam substratların önceden SiO_2 koruyucu tabakası ile kaplanması veya sodyum camı yerine kuartz camının kullanılması önerilebilir.

4. Filmlerde elde edilmek istenen kristal yapıyı oluşturacak kalsinasyon sıcaklığının iyi tespit edilmesine dikkat edilmelidir.

5. Saf TiO_2 filmleri yerine metaller veya polimerlerle dop edilmiş filmlerin kullanılması filmlerin absorpsiyon açısını görünür ışık bölgesine doğru kaydıracağından, bu filmler güneş ışığında da aktivite gösterebilirler.

6. Özellikle dop edilmiş demirin sol içerisindeki çözünürlüğünü arttırmak, sol içerisindeki faz ayrımını önlemek ve titanyum kafesi içine stabilize etmek amacıyla bazı stabilize edici katkıların eklenmesi uygun olacaktır.

7. TiO_2 ince filmlerinin UVA ışığı ile birlikte görünür ışıpta ve karanlıkta yüksek fotokatalitik aktivite gösterebilmeleri için yeni yöntemlerin geliştirilmesi.

8. Farklı dop maddelerinin denenmesi ve yeni doplama yöntemlerinin geliştirilmesi.

9. İnce filmlerin bakterisidal etkilerini ortaya koyan çalışmaların yapılması ve farklı mikroorganizmaların denenmesi.

Bu tez çalışmasının konu ile ilgili diğer araştırmalara kaynak oluşturması ve bu konunun aydınlatılmasına katkıda bulunması umut edilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abarnou, A., Miossec, L.,** 1992, Chlorinated waters discharged to the marine environment chemistry and environmental impact: an overview, *Science Total Environmental* 126, 173-97.
- Amezaga-Madrid, P., Nevarez-Moorillon, G.V., Orrantia-Borunda, E., Miki-Yoshida, M.,** 2002, Photoinduced bactericidal activity against *Pseudomonas aeruginosa* by TiO₂ based thin films, *FEMS Microbiolgy Letters* 211, 183-188.
- Amezaga-Madrid, P., Silveyra-Morales R., Cordoba-Fierro, L., Nevarez-Moorillon, G.V., Miki-Yoshida, M., Orrantia-Borunda, E., Solis, F.J.,** 2003, TEM evidence of ultrastructural alteration on *Pseudomonas aeruginosa* by photocatalytic TiO₂ thin films, *Journal of Photochemistry and Photobiology B*: 70, 45-50.
- Anpo, M., Takeuchi, M.,** 2001, Design and development of second-generation titanium oxide photocatalysts to better our environment-approaches in realizing the use of visible light, *International Journal Of Photoenergy*, Vol.3 89-94.
- Balaban, M.,** 2006, ZrO₂ İnce Filmlerinin Elde Edilmesi, Daldırma-Kaplama Yöntemi ile Biriktirilmesi ve Karakterizasyonu, Bitirme Çalışması, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fizik Mühendisliği Bölümü.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Banerjee, S., Gopal, J., Muraleedharan, P., Tyagi, A.K., Raj, B.,** 2006, Physics and Chemistry of photocatalytic titanium dioxide: Visualization of bactericidal activity using atomic force microscopy, Current Science, Vol. 90, NO.10, 1378-1383.
- Bessekhouad, Y., Robert, D., Weber, J. V.,** 2003, Preparation of TiO₂ nanoparticles by Sol-gel route, International Journal of Photoenergy Vol 5, 153-158.
- Blake, D.M., Maness, P.C., Huang, Z., Wolfrum, E.J. and Huang, J.,** 1999, Application Of The Photocatalytic Chemistry Of Titanium Dioxide To Disinfection And The Killing Of Cancer Cells, Separation and Purification Methods, Volume 28 (1), 1-50.
- Brown, M. W., Galley, E.,** 1990, Testing UVA and UVB protection from microfine TiO₂, Cosmet&Toilet 105, 69-73
- Bu, S.J., Jin, Z.G., Liu, X.X., Yang, L.R., Cheng, Z.J.,** 2005, Synthesis of TiO₂ porous thin films by polyethylene glycol templating and chemistry of the process, Journal of the European Ceramic Society 25, 673-679.
- Cabiscol, E., Tamarit, J., Ros, J.,** 2000, Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species, International Microbiology 3, 3-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Cai, W. M. et al.,** 2003 Preparation and Characterization of Cu Doped TiO₂ Nanoparticles and Their Photocatalytic Activity, Journal of Physical Chemistry Solid, 64 (4), 615-623.
- Calmer, J., Neethling, JB, Murbach, D.,** 1998, Nitrification effects on chlorination and disinfection, Proceedings of the Conference Disinfection '98, Spec. WEF Conference, Baltimore, MD, USA, 19-22 April, 59-70.
- Cernigoj, U., Stangar, U. L., Trebse, P., Ribic, P. R.,** 2006, Comparison of Different Characteristics of TiO₂ Films and Their Photocatalytic Properties, Acta Chim. Slov. 53, 29-35.
- Ceylan, Z.,** 2002, Güneş ışınlımlı fotooksidasyonlar ve ince film teknolojisi çalışmaları, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Güneş Enerjisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bornova-İzmir.
- Chan, A.H.C., Porter, J.F., Barford, J.P. and Chan, C.K.,** 2002, Effect of thermal treatment on the photocatalytic activity of TiO₂ coatings for photocatalytic oxidation of benzoic acid, Journal of Material Research, Vol.17, No.7, 1758-1764.
- Chumanov, G.,** 2005, Plasmon Sensitized TiO₂ Nanoparticles as a Novel Photocatalyst for Solar Applications, Department of Chemistry, Clemson University, Clemson, SC 29634.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Çağlar, Ö.**, 1999, The Preparation, Characterization and Sintering of Nanocrystalline Ceramics, Master of Science, Izmir Institute of Technology, Materials Science and Engineering Department, Izmir, Turkey.
- Falaras, P., Xagas, A.P.**, 2002, Roughness and fractality of nanostructured TiO₂ films prepared via sol-gel technique, Journal of Material Science, Vol.37, No.18, 3855-3860(6).
- Fujishima, A., Rao, T.N., Tryk, D.A.**, 2000, Titanium dioxide photocatalysis, Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 1-21.
- Gollwitzer, H., Heidenau, F., Stenzel, F., Haenle, M., Zeigler, G., Mittelmeier, W.**, 2003, Abiocompatible sol gel derived titania coating for medical implants with antibacterial properties, 18th European Conference on Biomaterials, Stuttgart, Germany, 1-4.
- Guo, B., Liu, Z., Hong, L., Jiang, H.**, 2005, Sol gel derived photocatalytic porous TiO₂ thin films, Surface and Coatings Technology 198, 24-29.
- Gürgün, V. ve Halkman, A. K.**, 1990, Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 7, 146.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Hamid, M.A. and Rahman, I.A.,** 2003, Preparation of titanium dioxide (TiO₂) thin films by sol gel dip coating method, Malaysian Journal of Chemistry, Vol.5, No.1, 086-091.
- He, C., Yu, Y., Hu, X., Larbot, A.,** 2002, Influence of silver doping on the photocatalytic activity of titania films, Applied Surface Science 200, 239-247.
- Heidenau, F., Mittermeier, W., Detsch, R., Heanle M., Stenzel, F., Ziegler, G.,** 2005, A novel antibacterial titania coating: metal ion toxicity and in vitro surface colonization, Journal of Material Science Material Medicine 16(10), 883-8.
- Heltz, G. R, Nweke, A. C,** 1995, Incompleteness of wastewater dechlorination, Environmental Science Technology 29, 1018-22.
- Herman, J.M.,** 1994, Heterogenous photocatalysis: Concepts, reaction mechanisms and potential applications in environmental problems, Trends Photochemistry Photobiology 3, 633-644.
- Hsu, C.L., Sheu, D.C.,** 2004, Disinfection Ability of TiO₂-Containing Coating, Thesis for Master of Science Department of Bioengineering, Tatung University, Taipei, Taiwan.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Huang, Z., Maness, P.C., Blake, D. M., Wolfrum, E.J., Smolinski, S.L., Jacoby, W.A.,** 2000, Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 130, 163-170.
- Hur, J.S., Oh, S.O., Lim, K.M., Jung, J.S., Kim, J.W., Koh, Y.J.,** 2005, Novel effects of TiO₂ photocatalytic ozonation on control of postharvest fungal spoilage of kiwifruit, *Postharvest Biology and Technology* 35(1), 109-113.
- Ibanez, J.A., Litter, Ramon, A.P.,** 2003, Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ on *Enterobacter cloacae* Comperative study with other Gram (-) bacteria, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 157, 81-85.
- Jacoby, W.A., Maness, P.C., Wolfrum, E.J., Blake, D.M., and Fennel, J.A.,** 1998, Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air, *Environmental Science Technology* 32, 2650-2653.
- Kao, W.H., Sheu, D.C.,** 2004, Bacterial Inactivation By Titanium Oxide Contained Coating Under Household Fluorescent Light Irradiation, Thesis for Master of Science Department of Bioengineering, Tatung University, Taipei, Taiwan.
- Karavolos, M. H., Horsburgh, M. J., Ingham, E., Foster, S. J.,** 2003, Role and regulation of the superoxide dismutases of *Staphylococcus aureus*, *Microbiology* 149, 2749-2758.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Kikuchi, Y., Sunada, K., Iyoda, T., Hashimoto, K., Fujishima, A.,** 1997, Photocatalytic bactericidal effect of TiO_2 thin films: dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 106, 51-56.
- Kim, B., Kim, D., Cho, D., Cho, S.,** 2003, Bactericidal effect of TiO_2 photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria, Chemosphere 52, 277-281.
- Klein, L. C.,** 1988, Sol-Gel Technology for Thin Films, Fibers, Preforms, Electronics and Specialty Shapes, 1-55.
- Kobasa, I.M.,** 2004, Semi-Conductive Materials Based on the Titanium Dioxide Doped with Zinc: Catalytic Activity for Copper Deposition and Effect of UV-Irradiation, Polish Journal Chemistry, 78, 553-560.
- Kuhn, K.P., Chaberny, I.F., Massholder, K., Stickler, M., Benz, V.W., Sonntag, H.G., Erdinger, L.,** 2003, Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light, Chemosphere 53(1):71-77.
- Kurumlu, Z.,** 1998, Ultraviyole ve Ultraviyolelen Korunma, Türkiye Klinik Kozmetoloji 1, 75-82.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Lee, S.H., Pumprueg, S., Modgil, B., Sigmund, W.,** 2004, Inactivation of bacterial endospores by photocatalytic nanocomposites, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1-6.
- Lee J. H., Kang, M., Choung, S-J., Ogino, K., Miyata, S., Kim, M-S., Park, J-Y., Kim, J-B.,** 2004, The preparation of TiO₂ nanometer photocatalyst film by a hydrothermal method and its sterilization performance for *Giardia lamblia*, *Water Research* 38, 713-719.
- Li, L.M., Sheu, D.C.,** 2004, Influences Of preparation Conditions On Bactericidal Efficacy Of TiO₂ Containing Coating, Thesis for Master of Science Department of Bioengineering, Tatung University, Taipei, Taiwan.
- Li, B., Logan, B.E.,** 2005, The impact of ultraviolet light on bacterial adhesion to glass and metal oxide-coated surface, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 41, 153-161.
- Lin, C. Y., Li, C. S.,** 2003, Inactivation of Microorganisms on the Photocatalytic Surfaces in Air, *Aerosol Science & Technology* V37, 939-946.
- Liu, G., Wang, K., Zhou, Z.,** 2006, Influence of doping on the antibacterial effect of TiO₂ nanoparticles, *Materials Science Forum*, Vol. 510-11, 86-89.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Maeda, M. Yamada, T.,** 01 August, 2006, Photocatalytic Activity of Metal Doped Titanium Oxide Films Prepared by Sol-Gel Process, Surface Chemistry and Catalysis, International Conferance on Nanoscience and Technology, Kanazawa Institute of Technology, Ishikawa, JP, 24-26.
- Maness, P.C., Smolinski, S., Blake, D.M., Huang, Z., Wolfrum, E.J., Jacoby, W.A.,** 1999, Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism, Applied and Environmental Microbiology, 4094-4098.
- Maneerat, C., Hayata, Y.,** 2005, Antifungal activity of TiO₂ photocatalysis against *Penicillium expansum* in vitro and in fruit tests, International Journal Food Microbiology 31, 250-255.
- Matsunaga, T., Tomada, R, Nakajima, T., ande Wake, H.,** 1985, Photochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders, FEMS Microbiology Letters 29, 211-214.
- Miron, C., Roca, A., Hoisie, S., Cozorici, P, Sirghi, L.,** 2004, Photoinduced Bactericidal Activity Of TiO₂ Thin Films Obtained By Radiofrequency Magnetron Sputtering Deposition, Journal of Optoelectronics and Advanced Materials Vol. 7, No.2, 915-919.
- Mori, K.,** 2005, Photo-Functionalized Materials Using Nanoparticles: Photocatalysis, KONA No. 23, 205-214.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Negishi, N., Takeuchi, T., Ibusuki, T.,** 1998, Surface structure of the TiO₂ thin film photocatalyst, Journal Of Materials Science 33, 5789-5794.
- Negishi, N., Takeuchi, T., Ibusuki, T.,** 1999, The microstructure of TiO₂ photocatalyst thin films, Journal of Materials Science Letters 18, 515-518.
- Negishi, N., Takeuchi, K.,** 2001, Preparation of TiO₂ Thin Film Photocatalysts by Dip Coating Using a Highly Viscous Solvent, Journal of Sol-Gel Science and Technology 22, 23-31.
- Özenbaş, K., Kaya, Ö.,** 2004, Characterization of TiO₂ Thin Films Prepared by Sol-Gel Processing, Key Engineering Material, 264-268.
- Park, J. K., Kim, H. K.,** 2002, Preparation and Characterization of hydrophilic TiO₂ Film, Bulletin Korean Chemical Society, Vol. 23, No.5, 745-748.
- Pehlivan, E.,** 2000, Al₂O₃ Katkılı ZrO₂ İnce Filmlerinin Optik Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2000.
- Piera, E., Tejedor-Tejedor, M. İ., Zorn, M. E., Anderson, M.A.,** 2003, Relationship concerning the nature and concentration of Fe(III) species on the surface of TiO₂ particles and photocatalytic activity of the catalyst, Applied Catalysis B: Environmental 46, 671-685.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Prassas, M and Hench, L.L.,** 1984, Ultrastructure Processing of Ceramics, Glasses, and Composites; eds. L.L Hench and D.R. Ulrich, (John Wiley & Sons: New York), 100-125.
- Rampaul, A., Parkin, I.P., O'Neill, S. A., DeSouza, J., Mills, A., Elliot, N.,** 2003, Titania and tungsten doped titania thin films on glass; active photocatalysts, *Polyhedron* 22, 35-44.
- Rincon, A.G., Pulgarin, C.,** 2003, Photocatalytic inactivation of *E. coli*: effect of (continuous-intermittent) light intensity and of (suspended-fixed) TiO₂ concentration, *Applied Catalysis B: Environmental* 44, 263-284.
- Rincon, A.G., Pulgarin, C.,** 2004, Bactericidal action of illuminated TiO₂ on pure *Escherichia coli* and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time, *Applied Catalysis B: Environmental* 49, 99-112.
- Saito, T., Iwase, T., Morioka, T.,** 1992, Mode of photocatalytic bactericidal action of powdered semiconductor TiO₂ on mutants streptococci, *J Photochem Photobiol B Biol* 14, 369-79.
- Sakai, H., Ito, E., Cai, R., Yoshioka, T., Hashimoto, K., Fujishima, A.,** 1994, Intracellular Ca⁺² concentration change of T24 cell under irradiation in the presence of TiO₂ ultrafine particles, *Biochimica Biophysica Acta* 1201, 259-265.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Scandola, F., Balzani, V.,** 1998, Interaction between light and matter, Photochemistry, Chapter 2, 9-44.
- Selçuk, H., Sarıkaya, H.,** 2004, Fotoelektrokimyasal yöntemle humik asit giderimi, İstanbul Teknik Üniversitesi Dergisi, Cilt 3, Sayı 6, 82-90.
- Seven, Ö.,** 2003, Sulu Ortamda Işık ile Organik ve Mikrobiyolojik Materyallerin Fotooksidasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Güneş Enerjisi Anabilim Dalı, Bornova.
- Sijakovic–Vujicic, N., Gotic, M., Music, S., Ivanda, M., Popovic, S.,** 2004, Synthesis and Microstructural Properties of Fe-TiO₂ Nanocrystalline Particles Obtained by a Modified Sol-Gel Method, Journal of Sol-Gel Science and Technology 30, 5-19.
- Sonawane, R.S., Kale, B.B., Dongare, M.K.,** 2004, Preparation and photo-catalytic activity of Fe-TiO₂ thin films prepared by sol-gel dip coating, Materials Chemistry and Physics 85, 52-57.
- Song, K.Y., Kwon, Y.T., Choi, G.J. and Lee, W.I.,** 1999, Photocatalytic Activity of Cu/TiO₂ with Oxidation State of Surface-loaded Copper, Bulletin Korean Chemical Society, Vol. 20, No.8, 957-960.
- Srinivasan, C., Somasundaram, N.,** 2003, Bactericidal and detoxification effects of irradiated semiconductor catalyst, TiO₂, Current Science, Vol, 85, No. 10, 1431-1438.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Suketa, N., Sawase, T., Kitaura, H., Naito, M., Baba, K., Nakayama, K., Atsuta, M.,** 2003, The Photocatalytic Bactericidal Effect On Oral Anaerobic Bacteria, The 81st General Session of the Internation Association for Dental Research, Goteborg, Swedan.
- Sunada, K., Watanabe, T., Hashimoto, K.,** 2003a, Bactericidal activity of copper-deposited TiO₂ thin film under weak UV light illumination, Environmental Science Technology 15; 37 (20), 4785-9.
- Sunada, K., Watanabe, T., Hashimoto, K.,** 2003b, Studies of photokilling on bacteria on TiO₂ thin film, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 156, 227-233.
- Tan, K. M,** 2001, Waste water purification using membrane photocatalytic oxidation reactor, Master of Engineering, School of Civil and Environmental Engineering, Nanyang Technological University, Singapore.
- Tamer, A. Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, İ., Bursalıoğlu, M., Oğultekin, R.,** 1989, 3. ve 4. Sınıf Mikrobiyoloji Laboratuar Kılavuzu, Anadolu Üniversitesi Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları No. 74.
- Tatsuma, T., Takeda, S., Saitoh, S., Ohko, Y., Fujishima, A.,** 2003, Bactericidal effect of an energy storage TiO₂-WO₃ photocatalyst in dark, Electrochemistry Communication 5, 793-796.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Trapalis, C.C., Kevanidis, P., Kordas, G., Zaharescu, M., Crisan, M., A. Szatvanyi, Gartner, M.,** 2003, TiO₂ (Fe³⁺) nanostructured thin films with antibacterial properties, *Thin Solid Films* 433, 186-190.
- Valderas, M. W., Gatson, J. W., Wreyford, N., Hart, M. E.,** 2002, The Superoxide Dismutase Gene *sod M* Is Unique To *Staphylococcus aureus*: Absence of *sod M* in Coagulase-Negative Staphylococci, *Journal Bacteriology* 184 (9), 2465-2472.
- Venczel, LV, Arrowood, M., Hurd, M., Sobsey, MD,** 1997, Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine, *Applied and Environmental Microbiology* 63 (4), 1598-601.
- Watanabe, T., Fukayama, S., Miyauchi, M., Fujishima, A., Hashimoto, K.,** 2000, Photocatalytic Activity and Photo-Induced Wettability Conversion of TiO₂ Thin Film Prepared by Sol-Gel Process on a Soda-Lime Glass, *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 19, 71-76.
- Wong, M. S., Chu, W. C., Sun, D. S., Huang, H. S., Chen, J. H., Tsai, P. J., Lin, N. T., Yu, M. S., Hsu, S. F., Wang, S., L., Chan, H. H.,** 2006, Visible-Light-Induced Bactericidal Activity of a Nitrogen-Doped Titanium Photocatalyst Against Human Pathogens, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 72, No. 9, 6111-6116.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Xu, M.F., Lin, S., Chen, X. M., Peng, Y. Z.,** 2006, Studies on characteristics of nanostructure of N-TiO₂ thin films and photo-bactericidal action, Journal Zhejiang University Science B 7 (7), 586-590.
- Yener, G.,** 1998, Güneşten Koruyucu ve Bronzlaştırıcı Maddelerin Sıfırlanması ve Etki Mekanizmaları, Türkiye Klinik Kozmetoloji 1, 96-99.
- Yu, J., Zhao, X., Du, J., Chen, W.,** 2000a, Preparation, Microstructure and Photocatalytic Activity of the Porous TiO₂ Anatase Coating by Sol-Gel Processing, Journal of Sol-Gel Science and Technology 17, 163-171.
- Yu, J., Zhao, X., Zhao, Q.,** 2000b, Effect of surface structure on photocatalytic activity of TiO₂ thin films prepared by sol-gel method, Thin Solid Films 379, 7-14.
- Yu, J., Zhao, X.,** 2001, Effect of surface microstructure on the super-hydrophilic property of the sol-gel derived porous TiO₂ thin films, Journal of Material Science Letters 20, 671-673.
- Yu, J., Yu, J. C., Cheng, B., Zhao, X.** 2002, Photocatalytic Activity and Characterization of the Sol-Gel Derived Pb-Doped TiO₂ Thin Films, Journal of Sol-Gel Science and Technology 24, 39-48.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

Zheng, S.K., Wang, T. M., Wang, C., Xiang, G., 2002, Photocatalytic activity study of TiO₂ thin films with and without Fe ion implantation, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 187, 479-484.

ÖZGEÇMİŞ

Hafize EFENDİLER 1973 yılında Bulgaristan'da doğmuştur. Sıdika Rodop Lisesinden mezun olduktan sonra 1991 yılında Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'ne girmiştir. 1995 yılında mezun olduktan sonra Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır. 2000 yılında yüksek lisans programını tamamlayarak aynı üniversitede doktora eğitime başlamıştır. Aynı zamanda Kazım Karabekir İlköğretim Okulunda 11 yıldır sınıf öğretmeni olarak görev yapmaktadır.