



**BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN
NİYOBYUM OKSİNİTRÜR KAPLAMALARIN ÜRETİMİ,
YAPISAL, KOROZYON VE IN-VİTRO
BİYOUYUM-ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Taha Çağrı ŞENOCAK

**Danışman: Doç. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK
Doktora Tezi**

**Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalı
2020**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**BIYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN NİYOBYUM OKSİNİTRÜR
KAPLAMALARIN ÜRETİMİ, YAPISAL, KOROZYON VE IN-VİTRO BİYOUYUM-
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

(Production of Niobium Oxynitride Coatings for Biomedical Applications and Investigation
of the Structural, Corrosion and In-Vitro Biocompatibility-Antimicrobial Properties)

DOKTORA TEZİ

Taha Çağrı ŞENOCAK

Danışman: Doç. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK

Erzurum
Aralık, 2020

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Taha Çağrı ŞENOCAK tarafından hazırlanan “Biyomedikal uygulamalar için niyobyum oksinitrür kaplamaların üretimi, yapısal, korozyon ve in-vitro biyoyum-antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi” başlıklı çalışması 15 / 12 / 2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Bülent BOSTAN

Gazi Üniversitesi

.....

Danışman: Doç. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK

Atatürk Üniversitesi

.....

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Hikmet ALTUN

Atatürk Üniversitesi

.....

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Burak DİKİCİ

Atatürk Üniversitesi

.....

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Behiye YÜKSEL

Haliç Üniversitesi

.....

Enstitü Yönetim Kurulunun
.../.../.... tarih ve sayılı
kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN

Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak *Doç. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK* danışmanlığında sunulan “Biyomedikal uygulamalar için niyobyum oksinitrür kaplamaların üretimi, yapısal, korozyon ve in-vitro biyoyum-antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	7	30
Kuramsal Temeller	3	30
Materyal ve Yöntem	3	35
Araştırma Bulguları	1	20
Tartışma ve Sonuç	0	20
Tezin Geneli	3	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Taha Çağrı ŞENOCAK	Doç. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK
29.12.2020	29.12.2020
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde her türlü desteği veren, değerli yardımlarını ve anlayışını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın gelişmesinde ve tamamlanmasında ileri görüş ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Hikmet ALTUN ve Prof. Dr. Burak DİKİCİ'ye, hücre kültürü çalışmalarının gerçekleştirilmesinde ve yorumlanmasında desteklerini eksik etmeyen Dr. Öğr. Üyesi Nihal ŞİMŞEK ÖZEK ve Dr. Öğr. Üyesi Ferhunde AYSİN'e, mikrobiyolojik çalışmalarının gerçekleştirilmesinde ve yorumlanmasında özveriyle yardımlarını eksik etmeyen Doç. Dr. Seyda CENGİZ'e, analiz ve karakterizasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesinde sabırla desteklerini eksik etmeyen Öğr. Gör. Hasan Feyzi BUDAK, Öğr. Gör. Ahmet Emre KASAPOĞLU, Öğr. Gör. Mehmet Semih BİNGÖL, Hülya AKÇAY ve değerli DAYTAM çalışanlarına, çalışmalarım süresince samimi yardımlarını her daim hissettiğim Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU, Prof. Dr. Yaşar TOTİK, Prof. Dr. Bülent BOSTAN, Prof. Dr. Mehmet TAŞDEMİR, Dr. Öğr. Üyesi Yenal VANGÖLÜ, Arş. Gör. Taha Alper YILMAZ, Arş. Gör. Dr. Oktay YİĞİT, Arş. Gör. Muhammet Gökhan ALBAYRAK, Arş. Gör. Fatma SONGUR, Arş. Gör. Burak BOZKURT, Arş. Gör. Gökhan GÜLTEN, Mustafa YILDIRIM, Furkan KALAN, Fadime AKPINAR, Ozan BİNGÖL, Furkan CENGİZ'e, değerli hocalarıma ve isimlerini sayamadığım bütün hoca ve arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca bu zamana kadar güvenlerini ve desteklerini bir an olsun esirgemeyen sevgili annem Hadice ŞENOCAK, sevgili babam Salim ŞENOCAK, sevgili ablam Pınar Kevser ÖZ, sevgili abim Dr. Öğr. Üyesi Mümin Gökhan ŞENOCAK, sevgili eşim Dr. Esra AKTAŞ ŞENOCAK ve kıymetli ailesine, son olarak çalışmalarım süresince zaman zaman ihmal ettiğim sevgili kızım Zehra Asel'e teşekkürlerimi içtenlikle sunarım.

Taha Çağrı ŞENOCAK

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BIYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN NİYOPYUM OKSİNİTRÜR KAPLAMALARIN ÜRETİMİ, YAPISAL, KOROZYON VE IN-VİTRO BİYOUYUM-ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Taha Çağrı ŞENOCAK

Danışman: Doç. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK

Amaç: Bu çalışmada; biyomalzeme olarak kullanılan 316L alaşımı üzerine, korozyondan korunma, antimikrobiyal ve biyouyum özelliklerini arttırmak amacıyla Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) sistemi kullanılarak, NbO_xN_y (niyobyum oksinitrür) kaplamaları farklı azot/oksijen oranlarında büyütülmüş, kaplama parametrelerinin, konu edilen özellikler üzerine olan etkisi gümüş ilaveli niyobyum oksinitrür yapılarla kıyaslanarak, *in-vitro* korozyon özellikleri, *in-vitro* biyouyum ve biyoaktivite sürecinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) sistemi kullanılarak azot/oksijen oranları 2, 5 ve 10 olan niyobyum oksinitrür kaplamalar üretilmiştir. Çalışmada gümüşün etkisinin belirlemek için azot/oksijen oranı 2 ve 10 olan kaplamalara gümüş ilave edilmiştir. Kaplamaların yapısal karakterizasyonu XRD, AFM, XPS, SEM-EDS, temas açısı ölçümü ve nano-sertlik ölçüm sistemleri ile belirlenmiş, *in-vitro* korozyon özellikleri ve biyoaktivite süreci SBF ortamında gerçekleştirilmiş, *in-vitro* biyouyum süreci hücre kültürü ve anti mikrobiyal davranış açısından incelenmiştir.

Bulgular: Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre; azot/ oksijen oranı 2 olan R2 (N₂/O₂=2) ve gümüş ilaveli R2+Ag kaplamaları iyi biyouyum ve anti mikrobiyal özellik göstermiştir. NbO_xN_y kaplamalarına gümüş ilavesinin antimikrobiyal davranış açısından olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir. *In-vitro* korozyon testleri sonucunda yoğun kolonsal büyüme morfolojisine sahip kaplamaların daha yüksek korozyon direnci gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışma sonucunda niyobyum oksinitrür yapıların biyomedikal uygulamalar için kullanılabileceği, gümüş ilavesinin ise niyobyum oksinitrür yapıların antimikrobiyal özellikleri iyileştirdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Niyobyum-oksinitrür, NbO_xN_y, Fiziksel Buhar Biriktirme, Antibakteriyel Davranış, Biyouyum.

Aralık 2020, 132 sayfa

ABSTRACT

DOCTORAL DISSERTATION

PRODUCTION OF NIOBIUM OXYNITRIDE COATINGS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS AND INVESTIGATION OF THE STRUCTURAL, CORROSION AND IN-VITRO BIOCOMPATIBILITY-ANTIMICROBIAL PROPERTIES

Taha Çağrı ŞENOCAK

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kadri Vefa EZİRMİK

Purpose: In this study, NbO_xN_y oxynitride coatings were deposited to increase anti-corrosion, antimicrobial, and biocompatibility properties, at different nitrogen/oxygen ratios by using a Physical Vapor Deposition (PVD) system on 316L alloy used as a biomaterial. The effect of coating parameters on the properties mentioned above and addition of silver into niobium oxynitride structures was aimed to investigate in-vitro corrosion properties, in-vitro biocompatibility, and bioactivity process.

Method: In this study, niobium oxynitride coatings with nitrogen/oxygen ratios of 2, 5, and 10 were grown using the Physical Vapor Deposition (PVD) system. In order to determine the effect of silver in the study, silver was added to the coatings with a nitrogen / oxygen ratio of 2 and 10. Structural characterization of coatings was carried out with XRD, AFM, XPS, SEM-EDS, contact angle, and nano-hardness measurements. *In-vitro* corrosion properties and bioactivity of the coatings were investigated in SBF environment. *In-vitro* biocompatibility process was also examined in terms of cell culture and antimicrobial tests.

Findings: According to the data obtained from this study, R2 with a nitrogen/oxygen ratio of 2 and silver-dopped R2+Ag coatings showed good biocompatibility and antimicrobial properties. It has been determined that the addition of silver to NbO_xN_y coatings has a superior effect on antimicrobial behavior. As a result of *in-vitro* corrosion tests, it has been determined that coatings with dense columnar growth morphology showed higher corrosion resistance than 316L SS substrates.

Results: As a result of the study, it was determined that niobium oxynitride structures could be used for biomedical applications, and silver-added niobium oxynitride structures increase antimicrobial properties of the 316L SS.

Keywords: Niobium-oxynitride, NbO_xN_y , Physical Vapor Deposition, Antibacterial Behavior, Biocompatibility.

December 2020, 132 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	6
Biyouyumluluk.....	7
Biyouyumluluk sürecinde hücre yüzey etkileşimi	7
Yüzey kimyası	8
Yüzey pürüzlülüğü ve morfolojisi.....	8
Yüzey elektrostatik yükü.....	9
Biyointegrasyon ve Biyouyumluluk Süreci	9
In-vivo ve in-vitro testlerinin karşılaştırılması	10
Biyomalzemelerde Gerçekleşen Enfeksiyonlar.....	15
Biyofilm oluşumu.....	16
Bakteriyel adezyonu etkileyen faktörler.....	17
Antibakteriyel davranış	17
İnsanlarda Gümüş Toksisitesi	17
İmplant Biyomalzemeler	18
Metallerin Biyolojik Toleransları ve Vücuttaki İmplant Malzemelerin Korozyonu.....	24
Korozyon Hızının Değerlendirilmesi ve Metodolojisi	26
Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD)	30
Metal Oksinitrür Yapılar	38
MATERYAL VE YÖNTEM	44
Taban Malzeme	44
PVD Kaplama İşlemi.....	45
Kaplama ların Karakterizasyonu	47
In-vitro Ortamında Korozyon Testi.....	48
In-vitro Şartlarında Biyoyum Özelliklerinin Belirlenmesi.....	49
Sağlıklı insan fibroblast hücre hattının büyütülmesi ve dondurularak stoklanması.....	50

Fibroblast hücre ekimi ve çoğalması	50
<i>İn-vitro</i> Şartlarında Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi	51
Biyoaktivite Testi (Daldırma testi)	52
Metal İyonu Salınımının Belirlenmesi	52
ARAŞTIRMA BULGULARI	54
Kaplamaların XRD Analizi	54
Elementel Analiz	56
Kaplamaların Yüzey Morfolojisi.....	57
Kaplamaların 3D Yüzey Topoğrafyaları	62
Temas Açısı Ölçümü	63
Nano-Sertlik Ölçümü	65
XPS Ölçümü.....	67
<i>In-vitro</i> Korozyon Testleri.....	75
<i>İn-vitro</i> Şartlarında Biyoyum özelliklerinin belirlenmesi	85
Yüzeylerden hücrelere ait yapışma ve proliferasyon durumlarının belirlenmesi.....	85
İmplant malzemelerin antimikrobiyal karakterizasyonu	89
Biyoaktivite Testleri	93
TARTIŞMA VE SONUÇ	100
KAYNAKLAR.....	103
ÖZGEÇMİŞ.....	117

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. ISO 10933, Tıbbi Malzemelerin Biyolojik Değerlendirmesi'nin Ayrı Bölümlerinin Listelenmesi	11
Tablo 2. 2011 Orthopedic Outlook Verilerine Göre 2015 Yılına Dünya Ortopedik Ürünleri Pazarı ve Büyüme Oranları	19
Tablo 3. Metalik Biyomalzemeler İçin Örnekler	20
Tablo 4. Metalik Biyomalzemelerin Sınıflandırılması ve Öncelikli kullanımları	21
Tablo 5. Tıbbi İmplantlar İçin Kullanılan Çeşitli Östenitik Paslanmaz Çeliklerin Kimyasal Bileşimleri	23
Tablo 6. İnsan Vücudundaki Metal Toleransları	25
Tablo 7. 316L Taban Malzemenin EDS Analizi (% ağırlık)	45
Tablo 8. PVD ile Büyütülen Kaplamalar	45
Tablo 9. Laktatlı Ringer Solüsyonu Bileşimi	48
Tablo 10. SBF Çözeltisinin Kimyasal Bileşimi	52
Tablo 11. Kaplamaların Elementel Analizleri (Yüzde Ağırlık)	56
Tablo 12. Kaplamaların Elementel Analizleri (Atomik Yüzde)	56
Tablo 13. PVD İle Büyütülen Oksinitrür Yapıların Kaplama Kalınlıkları	60
Tablo 14. Kaplamaların Yüzey Pürüzlülük Değerleri	62
Tablo 15. Kaplamaların sertlik değerleri	66
Tablo 16. XPS Analizine Göre Bağlanma Enerjileri	75
Tablo 17. Kaplanmamış 316L Numune ve Kaplamaların Potansiyodinamik Polarizasyon Eğrilerinden Hesaplanan Korozyon Parametreleri	79
Tablo 18. 24, 48 ve 72 Saatlerdeki ve Disk Difüzyon İle Ölçülen Bakteri Değerleri	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Çeşitli implant örnekleri.....	6
Şekil 2. Biyofilm oluşumu	16
Şekil 3. a) İmplantlar 2014 verilerine göre dental implant kullanım adetleri b) Dünya dental implant oranları	19
Şekil 4. Bazı saf metallerin sitotoksitesi (b) Saf metaller, kobalt-krom alaşımları ve paslanmaz çelikleri polarizasyon dirençleri ve biyouyumlulukları arasındaki ilişki	24
Şekil 5. Pasifleşme gösteren bir metalin örnek potansiyodinamik anodik polarizasyon eğrisi	29
Şekil 6. PVD proseslerinin sınıflandırılması	31
Şekil 7. Dengeli ve dengesiz manyetik alanda sıçratma	34
Şekil 8. Thornton tarafından tanımlanan ince film mikroyapısının bölge modeli	36
Şekil 9. Farklı ince film büyüme mekanizmaları. a) ada büyüme modeli, b) katman modeli ve c) karma büyüme modeli	38
Şekil 10. NiTi taban malzeme üzerine TiO_xN_y ince filmlerinin AFM yüzey morfolojisi (a) işlenmemiş (b) 5 sccm O_2 ($N_2=15$ sccm), (c) 10 sccm O_2 ($N_2=10$ sccm) ve (d) 15 sccm O_2 ($N_2=5$ sccm).....	42
Şekil 11. NbON'ın kristal yapısı	43
Şekil 12. Yapılan çalışmaların grafiksel özeti.....	44
Şekil 13. Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) cihazı ve şematik gösterimi.	46
Şekil 14. Korozyon testlerinin gerçekleştirildiği potansiyostat sistemi	49
Şekil 15. Hücre kültürü laboratuvarı.	49
Şekil 16. Kaplamaların disk difüzyon ve boyama aşaması.	52
Şekil 17. R2+Ag, R10+Ag kaplamaları için Ag, 316L taban malzemesi için Cr, Ni salınımlarının ölçülmesinde kullanılan kaplar ve numuneler.	53
Şekil 20. SEM Görüntüleri 10 kX ve 30kX a) R2 b) R5 c) R10 (Beyaz oklar büyük çaplı nodüler şekilli yapıları göstermektedir).	58
Şekil 21. SEM Görüntüleri 10 kX ve 30kX a) R2+Ag b) R10+Ag (Beyaz oklar tepecikleri göstermektedir).	59
Şekil 22. SEM-kesit görüntüleri 30 kX büyütme a) R2 b) R5 c) R10.	60
Şekil 23. SEM-kesit görüntüleri 30kX a) R2+Ag b) R10+Ag.....	61
Şekil 24. Gümüş içerikli kaplamaların çizgi EDS analizi 30kX a) R2+Ag b) R10+Ag.	61
Şekil 25. AFM yüzey pürüzlülüğü a) R2 b) R5 c) R10.....	62
Şekil 26. AFM yüzey pürüzlülüğü a) R2+Ag b) R10+Ag.	63
Şekil 27. Temas açısı ölçümleri a) 316L b) R2 c) R5 d) R10	64
Şekil 28. Temas açısı ölçümleri a) R2+Ag b) R10+Ag.	64
Şekil 29. R2, R5 ve R10 kaplamalarının nano-sertlik ölçümü.....	65
Şekil 30. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının nano-sertlik ölçümü.	66

Şekil 31. Büyütülen kaplamaların genel tarama XPS spektrumu.	67
Şekil 32. Ag ilaveli kaplamaların genel tarama XPS spektrumu.	68
Şekil 33. Büyütülen kaplamaların O 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	68
Şekil 34. Ag ilaveli kaplamaların O 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	69
Şekil 35. Kaplamaların N 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	70
Şekil 36. Ag ilaveli kaplamaların N 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	70
Şekil 37. Ag ilaveli kaplamaların Ag 3p yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	71
Şekil 39. R2 numunesinin Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	72
Şekil 40. R5 numunesinin Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	73
Şekil 41. R10 numunesinin Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	73
Şekil 42. R2+Ag kaplamaların Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	74
Şekil 43. R10+Ag kaplamaların Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.	75
Şekil 44. Kaplanmamış 316L numune ve kaplamaların açık devre potansiyeli eğrileri.	76
Şekil 45. Origin yazılımı ile 316L taban malzemesine ait polarizasyon eğrilerinin belirlenmesi.	77
Şekil 46. R2, R5 ve R10 kaplamalarının potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinin 316L taban malzeme ile karşılaştırılması.	78
Şekil 47. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinin 316L taban malzeme ile karşılaştırılması.	79
Şekil 48. 316L taban malzeme ve kaplamaların potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinden hesaplanan korozyon hızları.	80
Şekil 49. Korozyon testi sonrası SEM görüntüleri a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.	81
Şekil 50. Korozyon testi sonrası SEM görüntüleri a) R2+Ag b) R10+Ag.	82
Şekil 51. Korozyon testi sonrası 316L taban malzemenin çukurcuk içerisinden alınan EDS analizi.	82
Şekil 52. Korozyon testi sonrası R2 kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.	83
Şekil 53. Korozyon testi sonrası R5 kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.	83
Şekil 54. Korozyon testi sonrası R10 kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.	83
Şekil 55. Korozyon testi sonrası R2+Ag kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.	84
Şekil 56. Korozyon testi sonrası R10+Ag kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.	84
Şekil 57. 200X ve 50X(iç foto) Büyütmede insan fibroblast hücre yayınının görüntülenmesi a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.	85
Şekil 58. 500X Büyütmede insan fibroblast hücre yayınının görüntülenmesi a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.	86

Şekil 59. 200X ve 50X(iç foto) İnsan fibroblast hücre yayınının görüntülenmesi a) R2+Ag b) R10+Ag.	86
Şekil 60. 500X İnsan fibroblast hücre yayınının görüntülenmesi a) R2+Ag b) R10+Ag....	87
Şekil 61. MTT testi sonrası formazan kristal görüntüleri a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.....	87
Şekil 62. MTT testi sonrası formazan kristal görüntüleri a) R2+Ag b) R10+Ag.	88
Şekil 65. <i>Staphylococcus aureus</i> bakteri yayınımlarının görüntülenmesi a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.	91
Şekil 66. <i>Escherichia coli</i> bakteri yayınımlarının görüntülenmesi a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.	92
Şekil 67. a)R2+Ag b)R10+Ag <i>Staphylococcus aureus</i> , c)R2+Ag d)R10+Ag <i>Escherichia coli</i> bakteri yayınımlarının görüntülenmesi.	93
Şekil 68. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası SEM görüntüleri a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.....	94
Şekil 69. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası SEM görüntüleri a) R2+Ag b) R10+Ag.	95
Şekil 70. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası 316L taban malzemenin yüzeyinden alınan EDS analizi.	95
Şekil 71. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R2 kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi....	96
Şekil 72. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R5 kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi....	96
Şekil 73. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R10 kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi. .	97
Şekil 74. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R2+Ag kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi.	97
Şekil 75. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R10+Ag kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi.	98

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

m_e	: Eşdeğer kütle
316L SS	: 316L Paslanmaz çelik
AFM	: Atomik kuvvet mikroskobu
ASTM	: Uluslararası Amerikan Test ve Materyalleri Topluluğu
β	: Polarizasyon eğrilerinin eğimi
CE	: Karşıt elektrot
EDS	: Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
E_{kor}	: Korozyon potansiyeli (Volt)
E_{pas}	: Pasifleşme potansiyeli (Volt)
E_{pit}	: Oyuklanma potansiyeli (Volt)
FBS	: Fetal sıgır serum
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
HEMA	: Hidroksietilmetakrilat
ICP-MS	: İndüktif olarak eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometresi
I_{kor}	: Korozyon akımı ($A.cm^{-2}$)
ISO	: Uluslararası Standartlar Organizasyonu
JCPDS	: Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi
MTT	: 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PVD	: Fiziksel buhar biriktirme
R	: Polarizasyon direnci
SBF	: Yapay vücut sıvısı (Simulated body fluid)
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
t	: Aşındırıcı ortama maruz kalan orijinal yüzey alanı
T	: Sıcaklık (Kelvin veya Celcius)
T_e	: Ergime sıcaklığı (Kelvin)
TKA	: Total kalça artroplastisi
UHMW	: Ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen film
UV	: Ultraviyole
w	: Kütle değişimi
WE	: Çalışma elektrotu
XPS	: X-ışını fotoelektron spektroskopisi
XRD	: X-ışını difraktometresi

η : Denge potansiyelinden sapma
 ρ : Bağıl yoğunluk



GİRİŞ

Son yıllarda, malzeme bilimi ve mühendisliği uygulamaları arasında biyomalzeme bilimi, üzerinde en çok çalışma yapılan alanlardan birisidir. “Biyomalzeme” terimi veya bir diğer adıyla “Biyouyumlu malzeme”, hem malzeme bilimi hem de klinik tıpta farklı yorumlarla değerlendirilmiş olsa da en genel tabiriyle, canlı sistemin bir parçasını değiştirmek veya canlı doku ile sıkı temas halinde işlev görmek üzere kullanılan sentetik bir malzeme olarak tanımlanmaktadır (Shi 2005). İnsan vücuduna biyolojik olmayan malzeme girişinin ilk örneğini, Washington, ABD’de arkeologlar tarafından bulunan 9000 yıl önce yaşamış ve aktif, sağlıklı bir kişi olduğu düşünülen insanın kalçasında rastlanan mızrak parçası oluşturmaktadır. İnsanoğlu geçmişten günümüze kadar kaybedilen veya hasar gören vücut bileşenlerinin yerine doğadaki malzemeleri implant olarak kullanmış, geliştirmiş ve günümüze kadar önemli bir gelişme kaydetmiştir. Örneğin; Mayaların deniz kabuklarından ürettikleri sedef diş, osseointegrasyon (kemik uyumu) olarak bilinen kemiğe bağlanmanın ilk örneğini oluşturmaktadır (Rattier *et al.* 1997). Günümüzde malzeme endüstrisinde çok sayıda metal ve alaşım kullanılmasına rağmen sadece birkaç metal ve alaşımın biyoimplant olarak geliştirilme yönüne gidilmiştir. Metalik biyomalzeme olarak en yaygın 316L paslanmaz çelikler (316L SS) (Disegi and Eschbach 2000; Hosseinalipour *et al.* 2010; Muley *et al.* 2016), kobalt esaslı (Co-Cr) alaşımları (Milošev and Strehblow 2003; Liu *et al.* 2013; Hedberg *et al.* 2014), titanyum ve alaşımları (Faeda *et al.* 2009; Calin *et al.* 2013; Catauro *et al.* 2014) kullanılmaktadır. Bu metallerin yanı sıra magnezyum, tantal ve NiTi alaşımında biyomalzeme özellikleri araştırılmaktadır (Chen and Thouas 2015).

Biyomalzemeler, insanoğlunun temel yaşam standartlarını aktif olarak karşılayabilmek için tıp, malzeme bilimi, biyokimya, biyomedikal mühendisliği ve klinik bilim alanları gibi birçok bilim dalının ortak bilgi birikiminin bir ürünü olarak gelişmeye devam etmektedir. Biyomalzemeler konusunda çalışmalarıyla bilinen Hench ve Ethridge (Hench and Ethridge 1972), biyomalzemeleri "biyoaktif bir madde olan biyomalzemeler, doku ve malzeme arasında bir bağ oluşturulmasıyla sonuçlanan ve malzeme ara yüzeyinde belirli bir biyolojik tepkiyi ortaya çıkaran malzemelerdir" olarak tanımlamaktadır (Shi 2005). Biyomalzeme konuları arasında sıklıkla çalışılan, ayrıca işlevsel olmayan vücut fonksiyonlarını değiştirmeye veya yardımcı olmaya yarayan biyouyumlu malzemeler, çoğunlukla kemik yerine veya kemiğin fonksiyonunu yitirmiş bölümünü bir arada tutmak için kullanılmıştır. Özellikle bu durum metalik biyomalzemelerin gelişimine ve kullanımına önemli katkılarda bulunmuştur. Vücuda implante edilen malzemelerin, insan veya hayvanların vücuduna başarıyla uygulanabilmesi için

biyolojik olarak da uyumlu olması gerekmektedir (Vaz *et al.* 2013; Chen and Thouas 2015). Örneğin; ortopedi alanında kullanılan biyouyumlu malzemelerin osseointegrasyon açısından fiziksel ve kimyasal özelliklerinin her ikisinin de iyi olması gerekmektedir. Vücut içerisine implante edilecek olan malzemenin biyomalzeme işleviyle başarıyla kullanılabilmesi için biyolojik olarak inert olmasının yanı sıra elastisite modülü, mukavemet, süneklilik, sertlik, tokluk gibi mekanik özellikleri, yüzey özellikleri, korozyon, biyoyum ve osseointegrasyon özelliklerinin de optimum şartları sağlaması gerekmektedir (Saini *et al.* 2015).

Biyomalzeme olarak kullanılacak malzemelerin insan vücudunda alerjik reaksiyon veya enflamasyon (iltihaplanma) oluşturmaması gerekmektedir. Bu malzemelerin sterilizasyonunun kolay olmasının yanı sıra biyouyumluluk, biyolojik işlevsellik, kimyasal ve mekanik kararlılık özelliklerine de sahip olması gerekmektedir (Silver and Doillon 1989; Ravaglioli and Krajewski 1991). Geniş bir kapsamı niteleyen biyouyumluluk ifadesi; biyofonksiyonellik, biyotolerasyon, biyoinert, biyoaktif ve biyobozunur gibi farklı kavramları kapsamaktadır (Wang *et al.* 2004; Hench 2013).

Biyofonksiyonellik, malzemenin tasarlandığı özellikleri, istenilen sürede etkili bir şekilde yerine getirmesi için gereklidir. Uzun ömürlü biyofonksiyonelliğe sahip malzemeler doku ile temas halinde bulunduğu süreç içerisinde bozunmaya uğramamalıdır. Dolayısıyla işlevselliğini kısmen kaybedecek olmasından dolayı kimyasal ve mekanik stabilitesini etkin olduğu bütün süreçte muhafaza etmesi gerekmektedir (Ravaglioli and Krajewski 1991; Mansur *et al.* 2006).

Biyotolerasyon, bağ dokusunun (fibroz doku) bir yuva oluşturmasıyla ana dokudan ayrılan malzemelerin vücut tarafından tolere edilebilmesinin tasarlanmasıdır. Bu tabaka, kimyasal bileşikler, iyonlar, korozyon ürünleri ve implante edilen malzemelerden kaynaklanan diğer maddelerin salınımı ile uyarılmaktadır. Biyolojik olarak tolere edilebilen malzemeler arasında sentetik polimer malzemeler ve metallerin çoğu bulunmaktadır.

Biyoinert malzemeler, vücut tarafından tolere edilen ancak malzeme ile doku arasında kimyasal reaksiyonun olmadığı malzemelerdir. Malzeme önemli miktardaki bileşenlerin salınımına izin vermemesinin yanı sıra malzeme yüzeyinde oluşan fibroz doku oluşumu minimaldir. Biyoinert malzemelerin yaygın örnekleri alümina, zirkonya, titanyum-alaşımları ve karbondur.

Biyoaktif madde ise osseointegrasyon süreci olarak karakterize edilen malzemenin kemik dokusu ile kimyasal bağlar yapabilmesidir. Bu süreç sayesinde kemik dokusu, kemik

hücreleri tarafından kaplama destekli malzemeye bağlanmaktadır. Biyoaktif olarak kullanılan malzemeler, kalsiyum fosfat, hidroksiapatit ve kalsiyum fosfat esaslı camlardır.

Bir malzeme, insan vücuduna yerleştirildiğinde iki önemli faktör göz ardı edilemez. İlk olarak; vücut içerisine yerleştirilen malzeme, etrafını çevreleyen doku hücrelerine veya vücuda, içerisinde bulunan toksik kimyasal maddelerin salınımı ile zarar verebilmektedir. İkinci olarak; vücudun karmaşık çalışma mekanizması nedeniyle malzeme, kimyasal olarak bozunmaya uğrayabilmekte, dolayısıyla işlevselliğini kaybedebilmektedir. Bu sebeple bir malzemenin implant olarak kullanılabilmesi için kapsamlı biyouyumluluk testlerine tabi tutulması gerekir (Pearce *et al.* 2007).

Modern biyouyumluluk testlerinde kısa süreli lokal deri temasından, uzun vadeli implantasyon sürecine kadar kapsamlı araştırmalar dikkate alınmalıdır. Çeşitli ulusal ve uluslararası konsensüsler de bu malzemelerin uygun olarak değerlendirilebilmesi ve ticari olarak kullanılabilmesi amacıyla çeşitli standartlar getirmiştir. Bu standartlarda, *in-vitro* sitotoksosite (hücresel toksisite) testlerinden *In-vivo* implantasyon testlerine kadar değişen uygulama prosedürleri tanımlanmıştır. Bu testler malzemenin tasarlanma işlevine bağlı olarak yeterli ve tam bir test programı ile birleştirilmelidir (Pearce *et al.* 2007).

Biyomalzemeler, insan vücudundaki sayısız uygulamalarda kullanılabilir. Bu uygulamalar da yaygın olarak istenilen özellik, biyomalzemelerin organ ve dokularla temas halinde iken toleranslarıdır. Canlı organizmaya doğrudan maruz kalan biyomalzemelerin yüzeyi, biyouyumluluk açısından çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum göz önüne alındığında, fiziksel, morfolojik ve biyolojik özellikler, biyomalzeme ve doku arasındaki etkileşimi iyileştirmek için uyarlanmalıdır. Biyomalzemelerin yüzey özelliklerini iyileştirebilmek amacıyla malzemenin iç özellikleri sabit tutularak, uygulama bölgesinin özellikleri yüzey modifikasyonu ile değiştirilebilmektedir (Bauer *et al.* 2013; dos Santos *et al.* 2017)

Günümüzde biyomalzemelerin yüzey özelliklerini iyileştirmek amacıyla sprey kaplama, elektrokimyasal kaplama, iyon implantasyonu, fiziksel buhar biriktirme (PVD), kimyasal buhar biriktirme (CVD) gibi çeşitli yüzey modifikasyon teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Nouri and Wen 2015). Bu teknikler sayesinde topoğrafik ve fonksiyonellik gibi ideal yüzey davranışlarının geliştirilmesi neticesinde biyouyumlu malzemelerin biyoentegrasyonu arttırılmaktadır (Liu *et al.* 2009; Cubillos *et al.* 2013).

İşlevsel olmayan vücut fonksiyonlarını değiştirmek ya da yardımcı olmak için kullanılan biyouyumlu malzemelerin, insan veya hayvanların vücuduna uygulanabilmesi için

biyolojik olarak da uyumlu olması gerekmektedir. Ancak kullanılan birçok yapısal malzeme biyoyuma sahip olmadığından çeşitli kaplama veya yüzey işlemleri biyoyumlu olarak kullanılacak olan malzemelere uygulanmalıdır. Örneğin; savunma ve elektronik gibi endüstriyel birçok alanda kullanılan Ti, Ta, Nb, Al_2O_3 ve ZrO_2 gibi biyoinert malzemeler kalça eklem protezleri gibi yüksek kesme kuvveti gerektiren alanlarda kullanılabilmesi için mekanik ve yüzey özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Vaz *et al.* 2013).

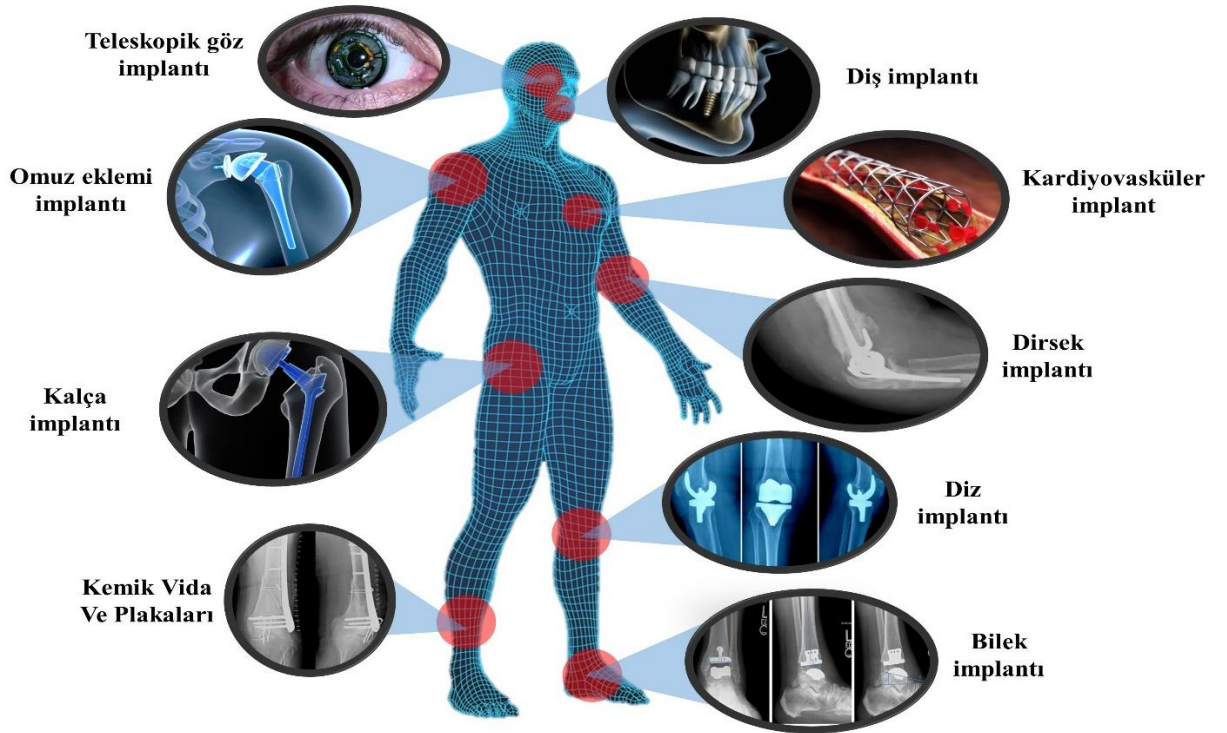
Metal oksit ve nitrür esaslı seramik ince filmler, akademik çalışmalarda ve endüstriyel uygulamalar için önemli, gelecek vadeden malzemelerdir. Metal oksit ve nitrür uygulamalarının çoğu, nispeten yeni olmasına rağmen neredeyse bir asırdır bilinmektedir. Bu malzemelerin endüstri açısından önemi yalnızca kesici aletler ve aşındırıcılar gibi malzemenin doğasından kaynaklanan mukavemet ve refrakter gibi özellikleri gerektiren uygulamalar değil aynı zamanda elektronik, optoelektronik ve biyomalzeme gibi gelecek vadeden alanlarda da hızla gelişmeye devam etmektedir. Son zamanlarda hem metal nitrürlerin, hem de metal oksitlerin temel özelliklerinden kaynaklanan üstün özelliklerinin birleştirilmesi fikriyle ortaya çıkan ve yeni bir malzeme sınıfı olan metal oksinitrürler (MeO_xN_y), çeşitli teknolojik uygulamalarda gittikçe daha fazla önem kazanmaktadır. Bu yapıları özel kılan durum; metal nitrüre oksijen ilavesi, veya metal oksite nitrür ilavesi ile film özelliklerini, sert metal nitrür ve yalıtkan metal oksit arasında uyarlanmasına izin vermektedir. Bu yapılarda azot/oksijen oranının değiştirilebilir olması sayesinde, bant boşluğu, elektriksel iletkenlik ve kristalografik dizilimin oksit ve nitrür arasında belirlenebilir olmasını sağlamaktadır. Bu sebeple bu tür malzemelerin elektronik ve mikroyapısal özelliklerinin değişmesi genel özelliklerinde değişmesini sağlamaktadır. Son 20 yılda oksinitrür bileşiklerinin biyomedikal kaplamalar açısından kullanımı üzerine çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmalar, malzemelerin biyoyumluluk, korozyon direnci, sertlik, aşınma direnci ve mekanik mukavemetinin iyileştirilmesine ve patent elde edilmesi üzerine odaklanmıştır. Örneğin 2004 yılındaki bir patent çalışmasında zirkonyumun düşük sıcaklıkta bozunmasına karşı SiON, AlON veya AlSiON kaplamalarının hermetik (yalıtlı) koruyucu kaplama özelliği biyomedikal uygulamalar açısından tartışılmıştır. Biyoyum özellikleriyle de bilinen TiNbON, NbON, TiON, ZrON ve SiON gibi oksinitrür yapılar biyomalzeme konusunda uygulama alanı bulabilecek yüksek korozyon ve aşınma direncine sahip bileşiklerdir. Bu yapılardaki oksijenin varlığı özellikle kan ve doku uyumunu desteklediğinden dolayı biyoyumu arttırdığı bilinmektedir. Ayrıca biyomedikal uygulamalarda kullanılması için biyoyum özellikleri ile ön plana çıkan titanyum ve zirkonyum gibi metallerin oksinitrürleri üzerine önemli çalışmalar

bulunmaktadır. Yine biyouyum özelliği ile bilinen niyobyum elementinin oksinitrür yapısı ile ilgili olarak literatürde yeterli detaylı çalışmalara rastlanmamıştır (Vaz *et al.* 2013).

Bu çalışmada; biyomalzeme olarak kullanılan 316L paslanmaz çelik malzemelerin, antimikrobiyal ve biyouyum özelliklerini arttırmak amacıyla NbO_xN_y oksinitrür kaplamaları farklı azot/oksijen oranlarında Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) sistemi kullanılarak büyütülmüş, kaplama parametrelerinin, konu edilen özellikler üzerine olan etkisi, gümüş ilaveli niyobyum oksinitrür yapılarla kıyaslanarak araştırılmıştır. Kaplamaların yapısal karakterizasyonu XRD, AFM, XPS, SEM-EDS, temas açısı ölçümü ve nano-sertlik ölçüm sistemleri ile gerçekleştirilmiş, *in-vitro* korozyon özellikleri, *in-vitro* biyouyum ve biyoaktivite süreci araştırılmıştır. Ayrıca NbO_xN_y yapılara gümüş ilavesinin yukarıda sayılan özellikleri nasıl etkilediği incelenmiştir. Korozif ortamda kaplamalardan ve taban malzemelerden gümüş, niyobyum, demir, krom ve nikel salınımları ICP-MS ile analiz edilmiştir.

KURAMSAL TEMELLER

Dünya genelinde milyonlarca insan, yaralanma, yaşlılık, doğuştan veya sonradan yaşadığı uzuv kaybı veya hastalık gibi nedenlerden dolayı, kalıcı veya geçici implant malzemelere ihtiyaç duymaktadır. Bu malzemeler sayesinde vücudun önceki işlevi olumlu yönde değiştirilmekte veya desteklenmektedir. Ancak sadece değiştirmek veya desteklemek dışında, hasarlı dokuları iyileştirme ve takip etmeye yönelik olarak ilaç salınımı, vücut fonksiyonlarını izleme veya hasarlı dokuların iyileşme periyodunu azaltmak gibi uygulamalar her geçen gün artmaktadır. Günümüze kadar biyomedikal sektöründe kalça implantları, vasküler greftler (yapay damar), kemik greftleri, diş implantları, ortopedik vidalar-plakalar, kalp pilleri, kardiyovasküler stentler, kalp kapağı replasmanları ve ilaç verme sistemleri gibi vücudun birçok farklı bölgesi için çok çeşitli implant ve tıbbi cihazlar geliştirilmiştir (Shayan 2016). Geliştirilen bazı implant örnekleri Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Çeşitli implant örnekleri.

Metaller, kırık fiksasyon plakaları, yapay eklemler, çene-yüz ve dental implatlar gibi yük taşıyan implant malzemeler ve vasküler stent, kardiyovasküler cihazlar için en yaygın kullanılan malzemelerdir. Bu malzemelerin üretiminde en yaygın metaller; paslanmaz çelikler, kobalt esaslı alaşımlar, titanyum ve alaşımları ve nikel-titanyum (nitinol) alaşımlarıdır. Son yıllarda tıbbi implantların ve cihazların kullanımı dikkat çekici şekilde artmaktadır. Örneğin 2014 yılında implante edilen ilaç salınımı yapan stentlerin sayısı tek başına iki milyonu aşmış

durumdadır (Domb *et al.* 2014). Artan hasta popülasyonu, yaşlanan nüfus ve yaşam beklentisinin uzaması nedeniyle daha uzun kullanım ömrüne sahip biyomalzemelerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. İmplant edilebilir malzemelerde, biyomalzeme yüzeyinin biyolojik hücreler ve çevre dokularla etkileşimi, bu malzemelerin başarısını ve ömrünü etkileyen en kritik faktörlerden biridir. Vücuda implante edilmiş biyomalzeme ile konak doku arasındaki uyumun yetersiz olması implant malzemenin başarısızlığının temel sebeplerinin başında gelmektedir (Montes *et al.* 2007; Novaes *et al.* 2010).

Biyouyumluluk

Biyouyumluluk kelimesi, canlı bir sistemin veya dokunun bir tıbbi alet veya malzeme ile olan etkileşimini ifade etmektedir. Canlı doku ya da canlı bir sisteme karşı toksik ya da zararlı olmamanın yanı sıra bağışıklık reddine neden olmama kalitesi olarak da tanımlanmaktadır. Bir diğer tanım ise biyomalzeme ve dokunun birbiriyle temas etmesi sonrasında, biyomalzeme-doku arasında meydana gelen olaylardır. Bu durumda biyoyum insan dokusu ve biyomalzemenin birbirine olan kimyasal, biyokimyasal, fizyolojik, fiziksel ve diğer başka mekanizmaların tepkisi olarak belirlenmektedir. Biyoyum ile birlikte hem lokal hem de sistemik reaksiyonlar değerlendirilmektedir. Sistemik reaksiyonlar, malzemenin temas ettiği bölgedeki kısımların yanı sıra vücudun parçalarını da etkilemektedir. Kullanılan malzeme veya ekipmanın başarısı bu değerlendirmelere bağlıdır ve bu sebeple çok yönlü olarak incelenmelidir (Williams 2008).

Biyouyumluluk sürecinde hücre yüzey etkileşimi

Vücuda implante edilmiş biyomalzeme ile konak doku arasındaki temas, yüzeyin hidrofilik özelliği, yüzeyin pürüzlülüğü, dokusu, morfolojisi, kimyası ve elektrostatik yükü gibi yüzey özelliklerinden güçlü bir şekilde etkilenmektedir (Boyan *et al.* 1996; Stevens and George 2005). İmplant malzemenin vücuda yerleştirilmesinden kısa bir süre sonra yüzey üzerinde bir sıvı tabakası şekillenmektedir. Yüzeyin kimyası ve elektrostatik yükü, su moleküllerinin ayrılma ve bağlanma seviyelerinin yanı sıra iyonların yüzey üzerine katılmasını belirlemektedir. Sonrasında biyolojik sıvı içindeki mevcut proteinler implant yüzeyine fiziksel veya kimyasal bağlarla bağlanmaktadır. Yüzeydeki protein yapışması, proteinin boyutundan ve konsantrasyonundan da etkilenen elektrostatik, hidrofilik özellik veya kovalent etkileşime dayanan termodinamik bir süreçtir (Williams 1986; Wilson *et al.* 2005). Hücrelerin bölgesel bağlanmaları yoluyla, hücre-hücre teması veya hücre-hücre dışı matris bileşenlerinden aldıkları kimyasal veya mekanik sinyaller sayesinde yüzeye reaksiyona girmesini sağlamaktadır. İmplant yüzeyi çevresindeki mikro ve nano bölgelerdeki değişimler sinyal transdüksiyonuna

(hedef hücrelere sinyal iletimi) neden olmaktadır. Hücreler elektriksel, kimyasal ve mekanik sinyaller aracılığıyla çevresi ile iletişim kurduğundan dolayı hücre davranışında değişikliğe yol açmaktadır. Biyomalzemelerde biyolojik hücre davranışını belirleyen en önemli yüzey faktörleri; yüzey kimyası, yüzey pürüzlülüğü ve morfolojisi, yüzey enerjisi ve ıslanabilirlik, yüzey elektrostatik yükü başlıkları altında verilmektedir (Gronthos *et al.* 2001).

Yüzey kimyası

Metalik biyomalzemelerin biyoyumumlulukları, yüksek derecede reaktif olan malzeme yüzeyini biyolojik ortamdan ayıran kimyasal olarak kararlı pasif oksit tabakasından dolayı artmaktadır. Örneğin paslanmaz çelik malzemeler yüksek krom içeriği nedeniyle çeşitli agresif ortamlara karşı dirençlidir. Bu direncin sebebi, paslanmaz çelik yüzeyinde kendiliğinden meydana gelen Cr_2O_3 tabakasının güçlü bir şekilde yüzeyi kaplayarak metali korumasından kaynaklanmaktadır. Oksitlerin, protein adsorbsiyonunu, uyumunu ve ilk hücre bağlanmasını desteklemesi nedeniyle oksit tabakası, protein ve hücrelerle etkileşime girmektedir. Örneğin; Ti6Al4V alaşımı yüzeyinde meydana gelen negatif yüklü oksitler, dokudaki protein etkileşimini değiştirerek hücre dışı matris etkileşim aktivitesini artırmaktadır (MacDonald *et al.* 2004).

Yüzey pürüzlülüğü ve morfolojisi

Bir implantın üç boyutlu morfolojisinin, hücre tepkisini ve implant performansını belirlemede önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir. Yüzey mikropürüzlülüğü, osteoblast (kemik hücresi) farklılaşmasının yanı sıra kollajen tip I, vitronektin ve fibronektin gibi proteinlerin sentezini etkilemektedir (Montagnani *et al.* 2003). Hücrelerin birbirleriyle etkileşimi yüzey nanotopografisiyle doğrudan bağlantılıdır. Hücre, üç boyutlu yapıdaki değişiklikleri, bağlanma ve tutunma durumlarını hücre dışı sıvı vasıtasıyla çekirdeğe mekanik sinyallerle aktarmaktadır. Mekanik sinyallere yanıt olarak, hücre iskeletindeki filamentler yeniden yönlenir ve sonrasında hücre çekirdeğinde gen transkripsiyonunda değişim meydana gelmektedir (Dalby *et al.* 2007). Yüzey topografyası integrin (hücre-hücre dışı matris yapışmasını kolaylaştıran transmembran reseptörleri) kümelenmesinin modülasyonu yoluyla sinyal yollarının belirlenmesinde etkili bir faktör olarak bilinir (Siebers *et al.* 2005).

Yüzey enerjisi ve ıslanabilirlik

Yüzey serbest enerjisi, hücresel adezyon mukavemeti ve proliferasyonu (hücre çoğalması) için yüzey pürüzlülüğünden çok daha önemli bir özelliktir. Islanabilirlik ile yüzey pürüzlülüğü arasındaki ilişkiyi açıklamak için çeşitli modeller önerilmiştir (Zhang *et al.* 2004).

Wenzel'in modeline göre, ıslanabilirlik pürüzsüz hidrofobik yüzeylerin pürüzlendirilmesiyle azalır ve pürüzsüz hidrofilik yüzeylerin pürüzlendirilmesiyle ise artmaktadır. Osteoblast-fibroblast hücre büyümesi ve proliferasyonu genellikle artan yüzey pürüzlülüğü ve hidrofilik özellik ile artmaktadır. Hücre bağlanması ve yayılması hidrofilik yüzeylerde, hidrofobik yüzeylere göre önemli ölçüde fazladır (Bächle and Kohal 2004).

Yüzey elektrostatik yükü

Yüzey elektrostatik yükü, hücrelerin elektriksel parametrelerini etkilemektedir. Hücre davranışını düzenleyen sinyallerin üretilmesini sağlamaktadır. Örneğin; çeşitli polimerik numunelerin yüzey yük yoğunluğunun fazla olması nedeniyle hücre adezyonunu ve proliferasyonunu da arttırmaktadır (Kim *et al.* 2009). Ayrıca yüzeydeki hücre farklılaşması ve adezyonu da negatif ve pozitif iyonlarla değişim göstermektedir (Bet *et al.* 2003). Örneğin; hidroksietilmetakrilat (HEMA) hidrojellerin pozitif olarak yüklenmesi osteoblast ve fibroblast adezyonunu arttırmaktadır. Bu sebeple, pozitif yüzey yükünün protein adsorpsiyonunu düzenleyebileceği, hücre adezyonunu ve hücre tepkisini arttıracakı düşünülmektedir (Schneider *et al.* 2004).

Biyointegrasyon ve Biyouyumluluk Süreci

Biyointegrasyon olgusu vücut içerisinde kullanılacak malzeme sabit ve hareketsiz durumdayken bağ dokusunun araya girmeden doku/kemik-biyouyumlu malzeme teması üzerine tutunması işlemidir. Bu durum hücre tipi, yaş, metabolizma hızı, vücut tepkisi vb. gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Örneğin; köprülü kallus kemiği üzerinde yapılan bir çalışmada; birkaç mm'lik tedavi gerektiren bir durumda kemik yüzeyinin malzeme yüzeyine ulaşmasının yaklaşık 6 hafta süreyi bulduğu bildirilmiştir. Bu kemiğin maksimum yük taşıma kapasitesine ulaşması 18 haftayı, maksimum biyouyumlu malzeme-kemik ara yüzeyi oluşturmasının 1 yılı bulduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla, sistemin işlevsel hale getirilmesinden önce üç-altı ay hareketsiz kalması gerekmektedir. Bu sebeple çalışmaların ana konusu bu süreyi düşürmeye yönelmektedir (Roberts *et al.* 1987).

Biyointegrasyonu etkileyen çeşitli faktörler;

- İmplant malzemesi,
- İmplant dizaynı (makro ölçekte),
- İmplant kaplama (mikro ölçekte),
- Kemiğin/dokunun durumu,
- Kullanılacak cerrahi teknik,

- İmplant yükleme şartları olarak belirtilmiştir (Albrektsson *et al.* 2009).

***In-vivo* ve *in-vitro* testlerinin karşılaştırılması**

In-vivo ve klinik çalışmalarla karşılaştırıldığında, hücre içi veya bakteri kültürleri gibi *in-vitro* ortamlar, bir malzemenin biyouyumluluk oranını tahmin etmenin hızlı ve nispeten ucuz bir yolu olmaktadır. *In-vitro* testler, hayvan veya insan deneklerde cinsiyet, yaş, aktivite, diyet vb. gibi çok fazla değişkenden etkilenebilen *in-vivo* testlere göre, test ortamı üzerinde daha fazla kontrol sağlanabilmektedir. Bir malzeme *in-vitro* deneylerinde iyi performans göstermezse, muhtemelen implantasyon için iyi bir aday olmadığı söylenebilmektedir. Ancak bir maddenin *in-vitro* özelliklerinin *in-vivo* performansını tam olarak yansıtmadığı da unutulmamalıdır. Çünkü dinamik hücre/doku etkileşimleri, hormonal ve fizyolojik süreçler simüle edilememektedir. Örneğin; çinko oksit, *in-vitro* testlerinde toksik sonuçlar vermesine rağmen bu oksit, diş boşluklarında kullanıldığında herhangi bir komplikasyona sebep olmamıştır. Bu nedenle, *in-vitro* sitotoksikite testi malzemelerin biyolojik uyumluluğunu tahmin etmek için kullanılmaktadır (Wnek 2004).

Genel olarak, implantasyon için kullanılacak olan tıbbi malzeme üç aşamada test edilmelidir. İlk adım hızlı ve ucuz veri sağlayan hücre kültürleriyle yapılan *in-vitro* testidir. Bu test sadece uygulama öncesinde değil aynı zamanda tıbbi malzeme tasarımında en uygun malzemeyi seçmek için de kullanılmaktadır. İkinci aşama hayvanlarla yapılan *in-vivo* testleridir. Bu testler sadece nihai ürün ile gerçekleştirilmektedir. Son adım ise, insan hastalarla ilgili klinik araştırmalardır (Wintermantel and Ha 2002).

In-vitro biyouyumluluk testleri malzemelerin vücut dokularına nüfuz ettiğinde vücutta sebep olduğu biyolojik reaksiyonları tahmin edebilmek için geliştirilmiştir (Hanks *et al.* 1996). Bu tür *in-vitro* biyouyumluluk testleri yeni üretilmiş ya da geliştirilmiş olan biyomalzemelerin biyolojik güvenilirliğini değerlendirmek için gereklidir. ISO normlarına göre biyomalzemeler üç düzeyde değerlendirilmelidir: (1) Temel malzemeleri üretmek için kullanılan çeşitli maddelerin biyolojik güvenilirliği, (2) potansiyel sızabilir maddeler ve bozunma ürünlerinin biyolojik güvenilirliği, (3) üretilen biyomalzemenin biyolojik güvenilirliği (Windecker *et al.* 2001).

Bir biyomalzeme, canlı doku ile yakın temasta kullanılmak üzere tasarlandığından, implante edilen malzemenin zararlı etkilere neden olmaması esastır. Williams, biyouyumluluk özelliğinin, biyolojik malzeme işlevinin tüm yönlerini kapsadığını, bu hücrelerin ve dokuların implante edilen biyomalzemelerle etkileşimini içerdiğini ileri sürmektedir (Williams 1986, 1999). Biyouyumluluk, belirli tıbbi uygulamalarla değişkenlik gösteren karmaşık ve hata payı

düşük bir durumdur. Örneğin; metal iyonlarının toksik salınımına bağlı olarak ortopedik biyomalzemenin reddedilmesi, nihai başarısızlığa neden olmaktadır. Dolayısıyla metalik bir biyomalzemenin toksik olmayan elementlerden üretilmesi, alerjik reaksiyonlara ve ölçülebilir enflamasyona neden olmaması beklenmektedir. Örneğin; ortopedik cerrahide başarıyla kullanılan bir malzeme trombojenik (pıhtı oluşumu) özelliklerinden dolayı kardiyovasküler uygulamalar için uygun olmayabilmektedir (Yoda 2012; Chen and Thouas 2015).

Herhangi bir *in-vitro* veya *in-vivo* test, implantın son kullanım amacını dikkate almalıdır. Bir diğer temel gereklilik ise *in-vitro* ortamlarında elde edilen verilerin çok daha karmaşık olan *in-vivo* ortamı açısından çok önemli olmasıdır. Deneysel çalışmalar *in-vitro* ve *in-vivo* şartlar arasında iyi bir korelasyon olduğunu ve *in-vitro* ortamının gerekliliğini ortaya koymaktadır (Wright 1987). *In-vitro* hücreler genellikle *in-vivo* hücrelerden daha hassas olmaktadır, bu nedenle uzun süreli testlerde bile hücrelere zararsız olan malzemelerin *In-vivo* olarak inert olması gerekir (Ciapetti *et al.* 2000).

Yasal Yükümlülükler

Bir malzemenin biyouyumluluğunu belirlemek için yapılması gereken birkaç test türü bulunmaktadır. Uluslararası standartları belirleyici ve düzenleyici kurumlar, uygun test protokollerinin tasarımında yardımcı olacak yönergeler hazırlamaktadır.

Tablo 1. ISO 10933, Tıbbi Malzemelerin Biyolojik Değerlendirmesi'nin Ayrı Bölümlerinin Listelenmesi (ISO10933-5 1999)

Bölüm	Başlık
1	Değerlendirme ve test
2	Hayvan refahı gereksinimleri
3	Genotoksisite, kanserojenlik ve üreme toksisitesi testleri
4	Kanla etkileşim testlerinin seçimi
5	<i>In-vitro</i> sitotoksisite testleri
6	İmplantasyon sonrası lokal etkiler için testler
7	Etilen oksit sterilizasyon kalıntıları
8	Biyolojik testler için referans malzemelerin seçimi ve sınırlamaları
9	Olası bozunma ürünlerinin tespiti ve sınırlamalar çerçevesi
10	Tahriş ve gecikmeli tip aşırı duyarlılık testleri
11	Sistemik toksisite için testler
12	Numune hazırlama ve referans malzemeleri
13	Polimerik tıbbi malzemelerden parçalanma ürünlerinin tanımlanması ve nicellendirilmesi
14	Seramikten parçalanma ürünlerinin tanımlanması ve nicellendirilmesi
15	Metaller ve alaşımlardaki parçalanma ürünlerinin tanımlanması ve nicellendirilmesi
16	Parçalanma ve sıvıda süzülebilir ürünler için toksikokinetik çalışma tasarımı
17	Sıvıda süzülebilen maddeler için izin verilebilir limitlerin oluşturulması
18	Malzemelerin kimyasal karakterizasyonu
19*	Fizikokimyasal, mekanik ve morfolojik karakterizasyon
20*	Tıbbi malzemelerin immunotoksikoloji testi için ilke ve yöntemleri

* Geliştirilme aşamasında

Tablo 1’de verilen Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO), “ISO 10993: Tıbbi malzemelerin biyolojik değerlendirmesi” olarak bilinen standartları belirlemiştir. Bu standartlar, Avrupa çapında yeni ürünlerin test edilmesinde kullanılmaktadır. Günümüzde bu standartların 20’ye yakın parçası kabul görmektedir ve hazırlık aşaması devam etmektedir. Türk Standartları Enstitüsü’nde ise bu standartlar TS EN ISO 10993 olarak geçmektedir ve sürekli güncellenmektedir (ISO10933-5 1999).

In-vitro ve In-vivo Test Programları ve Tanımları

İmplant malzemesi için uygun bir test programı, kullanılan malzemeye, istenilen vücut temasına ve temas süresine göre seçilmelidir. Sınırlı bir süre (örneğin 24 saat) deri ile temas edecek şekilde tasarlanan bir malzeme, aynı malzemedan üretilmiş kalıcı implante edilmiş malzemeye kıyasla biyouyumlu olarak sınıflandırılabilmesi için *in-vitro* ve *in-vivo* şartları sağlaması gerekmektedir (Anderson 2001).

ISO 19003’de belirtilen çeşitli *in-vivo* ve *in-vitro* testleri; duyarlılık testi, tahriş testi, akut sistemik toksisite testi, genotoksisite testi, implantasyon testi, hemipleksite testi, kronik toksisite testi, üreme ve gelişimsel toksisite testi, biyobozunum testi, kanserojen testi ve sitotoksisite testidir. Bu testler arasında bazıları kısaca aşağıda açıklanmıştır.

Akut sistemik toksisite, vücut içerisine yerleştirilen malzemelerin yaydığı kimyasal maddeler, organlar veya doku üzerinde zararlı etkiler oluşturabilmektedir. En yaygın olarak kullanılan analizde, malzemenin özütleri, tavşanlara veya farelere intravenöz (sıvı formda doğrudan vücuda verilmesi) olarak enjekte edilir. Akut etkiler, tek bir dozdan sonra 24 saat içinde görülür (ISO10933-11 1996).

Kronik toksisite testi, temelde akut sistemik testi ile aynıdır. Ancak bu test hayvanın ömrünün %10’undan daha fazla maruz kalma süresine sahiptir (ISO10933-11 1996).

Genotoksisite testinde bir malzemenin, hücrelerin DNA yapısında değişikliğe yol açma eğilimi kontrol edilmektedir. Gen mutasyonları, kromozom yapısındaki değişiklikler ve DNA etkileri test edilmesi gereken üç temel etkidir. Bu testlerin en az ikisi memeli veya memeli olmayan hücreler, bakteri, maya veya mantarlarla *in-vitro* olarak gerçekleştirilmelidir (ISO10933-3 1992).

Hemipleksite testi ile doğrudan kimyasal sızıntı yapan malzemenin hemoliz (kan hücresi erimesi, anemi) ve tromboz (dokuya pıhtı olarak yapışma) oluşumu gibi kanda istenmeyen değişikliklere neden olup olmadığı kontrol edilmektedir. Bu testlerle *in-vitro*

malzemelerin neden olduğu kırmızı kan hücresi eritme ve hemoglobin salınım derecesini belirlemek mümkündür (ISO10933-4 2002).

İmplantasyon testleri, bir biyomalzemeyi çevreleyen dokunun lokal etkisinin analiz edilmesidir. Tavşanlar *In-vivo* testler için en sık kullanılan hayvanlardır ve oluşan doku reaksiyonları biyoyumluluk için bir ölçüttür (ISO10933-6 1994).

Kanserojen testi, bir malzemenin toplam ömrünün belirli bir bölümü kadar test hayvanına maruz bırakılarak tümör oluşturabilme potansiyelinin belirlenmesidir. Yarı ve tam maksimum implante olabilme dozu olmak üzere iki farklı doz seviyesi test edilir. Kontrol grubu sağlıklı bireye göre belirlenir (ISO10933-3 1992).

Üreme ve gelişimsel toksisite testi, malzemenin üreme fonksiyonu, embriyonik gelişim, doğum öncesi ve erken doğum sonrası gelişim üzerine potansiyel etkisini değerlendirir (ISO10933-3 1992).

Biyobozunum testleri, vücut içerisine yerleştirilen malzeme bileşenleri tarafından oluşturulan sıvıda, bozunma ürünlerinin emilim, dağılım, biyolojik dönüşüm ve eliminasyon süreçlerini belirler (ISO10933-16 1997; ISO10933-13 1999; ISO10933-9 1999; ISO10933-14 2001, 2001; ISO10933-17 2002).

Hayvan testlerinin gerekliliğini azaltmak için *in-vitro* testlerini geliştirmek ve genişletmek uluslararası bir hedeftir. Ancak, hayvan testlerine ihtiyaç duyulmadan kabul edilmiş ve onaylanmış *in-vitro* testlerinin varlığı sınırlıdır.

Sitotoksisite testi, bir malzemenin veya implantın hücresele seviyedeki toksik potansiyelini tespit etmektedir. Örneğin; *in-vitro* testi, daha uzun süreçli ve yaş, cinsiyet gibi faktörlerden etkilenen *In-vivo* testine göre hassas ve ucuzdur. Niceliksel ve karşılaştırılabilir sonuçlar verir ve bu nedenle hızlı test yapılmasına imkân sağlar. Ayrıca hayvan testlerinden önce toksik malzemelerin tespitine olanak sağlamaktadır (ISO10933-5 1999). Sitotoksisite (hücresele toksisite) biyoyumluluğun değerlendirilmesinin ilk adımıdır. Standart test yöntemlerinde, fare veya insan kaynaklı memeli hücrelerinin bir katmanı numune malzemelerine maruz bırakılır. Malzeme özellikleriyle ilgili olarak malzemenin yüzey tipi ve malzemedan sızan kimyasallar test numuneleri üzerine kültürlenmiş hücrenin reaksiyonunu etkilemektedir (Wintermantel and Ha 2002). Hücreler, malzeme ile test malzemesinin elüsyonu, dolaylı temas ve doğrudan temas olmak üzere üç farklı yolla temas etmektedir. Bu üç yöntem uluslararası çalışmalarda kabul görmüş yaklaşımlardır. Yaklaşımın seçimi, biyomalzemenin amaçlanan fonksiyonuna ve yapısına bağlı olarak değişmektedir (Rattier *et al.* 1997).

Elüsyon Testi, toksisiteyi değerlendirmek için malzemenin çeşitli konsantrasyonlarda elüsyonu hücre kültürlerine eklenir. Elüsyon, malzemenin uygun bir ortamda ekstrakte edilmesi neticesinde elde edilir. En yaygın kullanılan maddeler fizyolojik tuzlu su, kültür ortamı, dimetilsülfoksit, polietilen glikol veya bitkisel yağlardır. Bir maddenin ekstraksiyonu malzemenin yüzey alanı, türü, sıcaklık, süre gibi parametrelerden etkilenen karmaşık bir süreçtir. Sıvı numuneler için de elüsyon testi kullanılabilir. Farklı bileşen malzemeleri ayrı ayrı veya tüm malzemeler bir araya getirilerek test edilebilmektedir (ISO10933-12 2004).

Dolaylı Temas Testi, hücrelerin mekanik hasarını engellemek veya yüzey özelliklerinin sonuçlarını etkilemediğinden emin olmak için dolaylı kontak testi yapılmaktadır. Bu işlemde hücreler ve malzeme örnekleri bir arayüz tabakası (tampon agar-jel veya gözenekli bir film) vasıtasıyla ayrılır. Malzemeden sızan çözünür maddeler tabaka boyunca yayılabilir ve sitotoksisiteye neden olabilir.

Agar difüzyon testinde sadece agar ile reaksiyona girmeyen maddeler test edilebilmektedir. Hücreler kültür kabına ekildikten sonra üzerine eritilmiş agardan (% 0.5 ila % 2 kütle konsantrasyonu) bir kültür ortamı tabakası pipetlenmektedir. Katılaşma sonrası test numunesi tabaka üzerine yerleştirilir (Rattier *et al.* 1997). Bu yöntem, malzemelerden sızan toksik maddeleri değerlendirmek amacıyla kullanılır. Malzemeler veya ekstraktlar üzerinde gerçekleştirilebilir. Boya agarları (nötr kırmızı gibi) veya agarlar (düşük erime noktası) içeren %1 canlı hücreleri deney ortamında yenilenmeden önce tek tabaka halinde kültürlenmelidir. Hücreler ile malzemeler arasına agarlardan bir bariyer oluşturulur. Besinler, gazlar ve çözünebilen toksik maddelerin agarlara difüze olması belirlenmektedir (Oldham *et al.* 1973).

Doğrudan temas testi, son uygulama esnasında vücut hücreleriyle doğrudan temas eden malzemeler için gereklidir. Bu testte, yüzey topografyasının yanı sıra, malzemenin veya implantın kimyasal bileşimi de hücreleri etkileyebilmektedir. Doğrudan temas yönteminde hücreler malzeme üzerine ekilerek veya hücreler test kabına ekildikten sonra malzeme üzerine yerleştirilerek test yapılmaktadır. Bu yöntemde malzeme ile kültürlenmiş memeli hücreleri *in-vitro* testinde bir araya getirilir. Morfolojik ve hücre sayısındaki değişiklikler gözlemlenerek hücrelerin sayısındaki meydana gelen farklılıklar malzemelerin hücrelere etkisini doğrudan yansıtabilmektedir. Bu test yüksek duyarlılığa sahip olsa da biyomalzemeler, kullanım aşamasına kadar daha fazla teste maruz bırakılmalıdır (Li *et al.* 2015).

Doğrudan temas yöntemi, diğer testlere göre akademik çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde belirli sayıda alınan sağlıklı hücreler bir yüzeye ekildikten sonra hücrelere uygun yaşam ortamı sağlanır ve genellikle 72 saat sonrası yüzeydeki hücreler özel

boyalar vasıtasıyla boyandıktan sonra uygun mikroskopla incelenmektedir (Wilsnack 1976; Pizzoferrato *et al.* 1994). Ancak bu testte genellikle hücrelerin büyüme ve çoğalma davranışları gözlenmektedir. Yüzeyde çoğalmış fakat canlı kalamamış hücreler de bulunmaktadır. Bu teste ilave olarak hücre canlılığını belirlemek amacıyla MTT test protokolleri uygulanmaktadır. MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) testi ilk olarak 1983'te tanımlanmış, 1988'de geliştirilmiş ve günümüzde hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılan kolorimetrik bir testtir. Bu test, mitokondriyal süksinat dehidrojenaz tarafından parçalanan, MTT adı verilen bir kimyasalın mor renkte formazan kristali dönüşümünün gerçekleşmesi esasına dayanır. Bu reaksiyon sadece canlı hücre mitokondrisi tarafından gerçekleştirilebilmesinden dolayı canlı olmayan hücreler, herhangi bir renk değişikliğine sebebiyet vermemektedir. Doğrudan temas yöntemiyle yüzey üzerine ekilen hücrelerin test süresince büyümelerine izin verildikten sonra hücrelere MTT ilave edilir. 4 saat süresince formazan dönüşümü beklendikten sonra kontrol numuneleriyle birlikte spektrofotometre cihazıyla renk değişimi belirli dalga boyunda okunarak değerlendirilmektedir. Bu yöntem, hücre sayımı gibi yöntemlere göre daha sağlıklı sonuçlar alınmasını sağlamaktadır (Mosmann 1983; Alley *et al.* 1988).

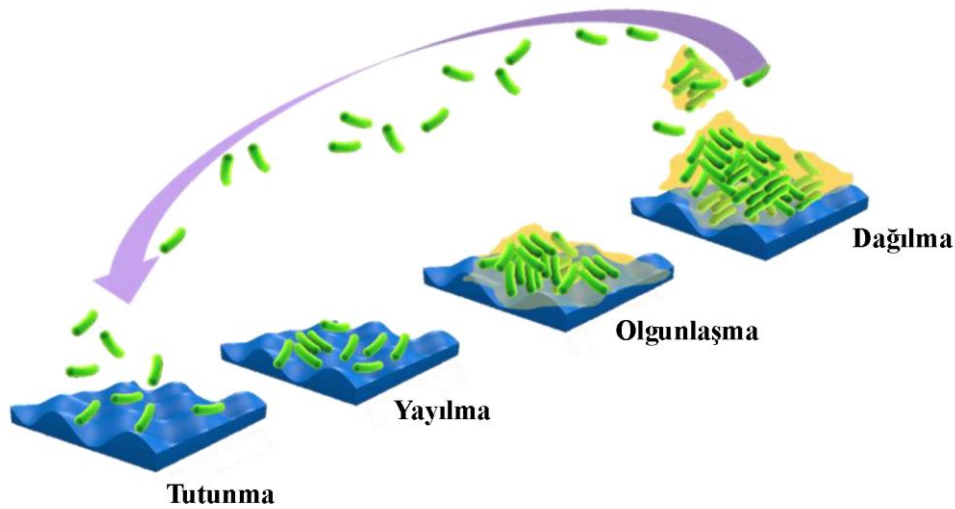
Biyomalzemelerde Gerçekleşen Enfeksiyonlar

Sağlık hizmetlerine yönelik talep artışı ve yaşlanan nüfustaki artış göz önüne alındığında rejeneratif tıp son yıllarda daha çok önem kazanmıştır. Vücut içerisine yerleştirilen biyoyumlu malzemeler, bakterilerin neden olduğu iyileşme bölgesi enfeksiyonları nedeniyle başarısız olmaktadır (Gristina and Kolkin 1983; An and Friedman 1996, 1997; Zimmerli *et al.* 1998; Darouiche 2004). Bu sebeple, biyomalzemeler içerisinde önemli özellikler arasında sadece biyoyumluluk, biyoaktivite değil aynı zamanda antibakteriyel özellikte önemli rol oynamaktadır. Örneğin; ABD'de 1997 yılına kadar her yıl 200 bin'den fazla primer kalça ve primer diz artroplastisi tedavisi yapıldığı rapor edilmiştir (An and Friedman 1997). Artroplasti sonrası, 10 yıl içerisinde belirtilen sayının istatistiksel olarak %0.6-2,3'ü çeşitli nedenlerle enfeksiyonla karşılaşmaktadır (An and Friedman 1996). Ayrıca ABD, hastalık kontrol ve önleme merkezlerinin bildirdiğine göre enfeksiyon ilişkili 1,7 milyon sağlık hizmeti içerisinde 99 bin ölüm vakası gerçekleşmiştir (Klevens *et al.* 2007). 2007 yılında bu hasta enfeksiyonlarını iyileştirmenin tahmini maliyeti yaklaşık olarak 45 milyar doları bulmuştur (Scott 2009). Örneğin; total eklem replasmanı sonrası yaşanan enfeksiyonun hastalar için hem fiziksel hem de psikolojik olarak felaketle sonuçlanabileceğinin yanı sıra artroplastinin tamamen başarısız olmasına, olası amputasyona (organ kaybı), uzun hastanede kalma durumuna ve hatta ölümle sonuçlanabilme ihtimallerinden bahsedilmektedir (An and Friedman 1997). İmplant

malzemeler 20-25 yıl dayanacak özellikte geliştirilse de %10'u erken başarısızlığa ulaşmakta, bunların çoğunun sebebi bakteriyel etkileri içermektedir (Damiani *et al.* 2018). Açıkçası, biyomedikal cihazların uzun süre kullanılmasının önündeki en önemli engellerden birisi, biyomalzeme temelli enfeksiyonlardır (Gristina and Kolkin 1983). Genellikle bu enfeksiyonlar, malzeme yüzeyinde meydana gelen biyofilmlerle ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, iyi bir anti mikrobiyal malzeme geliştirmek için biyofilm oluşumunu anlamak önem arz etmektedir (Magain *et al.* 2010).

Biyofilm oluşumu

Biyomalzemeler vücut içerisine yerleştirildiğinde bağışıklık sisteminde bölgesel bir hasar meydana getirmektedir. Bu durum bakteri kolonizasyonu için uygun bir ortam hazırlamaktadır. Planktonik bakteriler (serbest haldeki bakteriler) genellikle yara bölgesinde veya kan dolaşımı içerisinde bulunmaktadır. Bu bakteriler genellikle hücre dışı polimerik matrisin üretilmesine ve genişlemesine neden olmakta, matris içerisindeki bakteri popülasyonu 3 boyutlu biyofilm adı verilen bir yapıya dönüşmektedir (Gottenbos *et al.* 2000; Stewart and Costerton 2001; Alloys and Sheikh 2016).



Şekil 2. Biyofilm oluşumu (Alloys and Sheikh 2016).

Şekil 2’de gelişimi gösterilen biyofilm oluşumu, mikroorganizmaları bağışıklık sisteminin savunmasına ve antibiyotik tedavilerine karşı korunaksız hale getirmektedir. Biyofilm içerisinde kendilerini koruyan bakteriler, uygun bir ortam bulması halinde tekrar başka bir bölgeye tutunarak orada enfeksiyona neden olurlar. Bir implant malzeme üzerinde

gerçekleşen biyofilm oluşumu sonrası, enfekte olan doku, uzun, ağrılı ve pahalı bir tedavi yöntemiyle iyileşmektedir (Stewart 2002; Campoccia *et al.* 2005).

Bakteriyel adezyonu etkileyen faktörler

Önemli bir bakteriyel tepki olan bakteriyel adezyon, bakteri türü, biyomalzeme yüzeyi ve çevresel faktörler (serum proteinleri veya bakterisidal maddeler) gibi birçok faktörden etkilenen karmaşık bir süreçtir. Tüm bu faktörler arasında yüzey özelliklerinin etkisi önem arz etmektedir (An and Friedman 1998). Yüzey özellikleri içerisinde sitotoksosite davranışına benzer olarak yüzey kimyası (Levon *et al.* 2010), yüzey yükü (Fletcher and Loeb' 1979), ıslanabilirlik (Pringle and Fletcher 1983) ve yüzey topografyası (Tang *et al.* 2009) bakteriyel adezyonu etkileyebilecek önemli özelliklerdir. Bu sebeple sitotoksosite testlerinde başarı gösteren bir malzemenin, anti bakteriyel davranışa karşı zayıf olması muhtemeldir.

Antibakteriyel davranış

İmplant malzemelere antibakteriyel özellik kazandırılmasında akla gelen ilk element gümüştür. Gümüş, ilk medeniyetler tarafından su arıtma aracı olarak kullanılmıştır. Toplanan suyu tutmak ve arıtmak için gümüş sikkeler ve kaplar kullanılmıştır. Eski uygarlıkların bilgi eksikliklerine rağmen gümüş terapileri ve tedavileri dikkat çekmektedir. Gümüş, göz enfeksiyonlarının tedavisinde, cerrahi yara örtülerinde, yanık yaralarının tedavisinde, ülser tedavilerinde kullanılmıştır. Gümüş'ün antibakteriyel özellikleri, gümüş iyonunun (Ag^+) varlığından kaynaklanmaktadır. Ancak kesin etki mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir. Gümüş iyonunun bakteri hücre zarı ile etkileşime girmesi sonucunda, bakteri hücresi içerisinde solunum zinciri enzimlerini ve proton hareketliliğini engelleyerek ölümlerine sebep olduğu düşünülmektedir (Silver *et al.* 2006; Edwards-Jones 2009). Bu mekanizma tam olarak bilinmese de geniş kapsamlı antimikrobiyal aktivite için en uygun element gümüş olarak kabul edilmektedir. Günümüzde saf gümüş, gümüş sülfadiazin, gümüş nitrat, gümüş klorür ve gümüş oksit gibi formlarla antimikrobiyal tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Percival *et al.* 2011).

İnsanlarda Gümüş Toksisitesi

Gümüş, diğer metaller gibi yiyecek ve içecek yoluyla vücut tarafından emilerek kanda düşük seviyelerde tespit edilebilmektedir. Bu seviyelerin fazla olması durumunda normal fonksiyonları etkilediği ancak diğer elementler gibi organ ve dokularda aşırı birikmediği kanıtlanmıştır. Uzun süreli gümüş maruziyetinde ve tedavi durumunda en yaygın olarak bilinen yan etkisi, argyria olarak adlandırılan vücudun mavi-gri rengidir. Gümüşün olası nörotoksitesinin yanı sıra gümüş iyonlarının kan-beyin bariyerlerini geçme ve olumsuz

nörolojik etkileri indüklemeye yeteneği ile ilgili bazı endişeler vardır. Ancak bu durumla ilgili net bir sonuç bulunmamaktadır (Lansdown and Williams 2004; Lansdown 2007).

İmplant Biyomalzemeler

İmplant malzemeleri Eski Mısır ve Güney Orta Amerika kültürlerinden günümüze kadar uzanan uzun bir süreçten geçmiştir. Eski zamanlarda Çin ve Mısır'da eski taş ve fildişi, 16. ve 17. yüzyıllarda fildişi ve altın, diş implantı olarak kullanılmıştır. Birçok malzeme eksik bir dişin yerine implant olarak denenmiştir. Biyomalzeme alanında, bilim ve teknolojiye gelişmelerin birçoğu diş implantları için kullanılan mevcut malzemelerden geliştirilmiştir. Bu malzemelerin kalitesi ve niceliğindeki iyileşmeler, bu tür tedavi çeşidini günümüzde oldukça umut verici hale getirmiştir (Hulbert and Bennett 1975; Misch 1999; Saini *et al.* 2015). 20. yüzyılda altın, kurşun, iridyum, tantal, paslanmaz çelik ve kobalt alaşımları metal implant olarak kullanılmaya başlanmıştır. Sonrasında ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen (Ultra High Molecular Weight Polyethylene - UHMWPE), polyamid, polimetilmetakrilat reçinesi, politetrafloroetilen ve poliüretan dâhil çeşitli polimerler diş implantı olarak kullanılsa da günümüzde kapsamlı Ar-Ge çalışmaları neticesinde zirkonya ve titanyum esaslı yeni malzemeler ortaya çıkmıştır. Bu malzemeler yalnızca işlevsel gereklilikleri yerine getirmekle kalmamakta, aynı zamanda estetik açıdan da kullanılmaktadır (Kawahara 1983; Lemons 1990; Lamaso Carvalho *et al.* 1997; Sykaras *et al.* 2000; Saini *et al.* 2015).

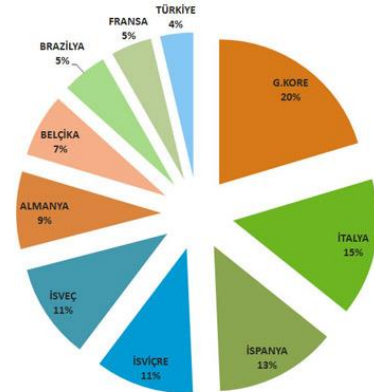
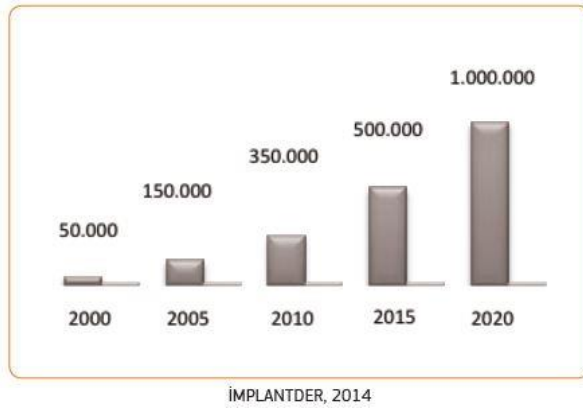
Tablo 2'de verilen "William Blair & Company Orthopedic Outlook" sektör raporu verilerine göre 2015 yılında Dünya ortopedik ürünleri yaklaşık 41 milyon dolarlık pazar payına sahiptir. Bu pazarın en büyük payını omurga implantları alırken, dental implant ürünlerinin payı %7'dir. Amerikalı Marketsandmarkets araştırma ve analiz kuruluşu tarafından da 2013 yılında Fortuna 500'de yayınlanan verilerine göre yıllık %7 oranında büyüme göstermiş olan dental implant sektörünün 2018 yılında 9.1 milyar dolar hacmine ulaşacağı öngörülmüştür. Ayrıca diğer implantlarında önemli bir pazar payına sahip olduğu görülmektedir. (Marketsandmarkets.com 2016).

Tablo 2. 2011 Orthopedic Outlook Verilerine Göre 2015 Yılına Dünya Ortopedik Ürünleri Pazarı ve Büyüme Oranları (Marketsandmarkets.com 2016)

	2006	2007	2008	2009	2010*	2011*	2012*	2013*	2014*	2015*
Kalça cerrahisi	4.008	4.407	4.835	4.931	5.125	5.279	5.442	5.611	5.786	5.967
Diz cerrahisi	4.868	5.436	6.023	6.164	6.412	6.606	6.791	6.968	7.163	7.365
Omurga cerrahisi	5.343	5.840	6.404	6.898	6.781	7.078	7.492	8.003	8.467	8.931
Biyolojik	1.280	1.453	1.638	1.775	1.706	1.744	1.883	1.999	2.129	2.269
Travma	3.157	3.560	3.945	4.136	4.358	4.586	4.836	5.096	5.370	5.659
Spor tıbbi cerrahi	2.049	2.385	2.698	2.906	3.166	3.372	3.586	3.821	4.067	4.331
El-ayak cerrahisi	675	760	849	937	1.029	1.118	1.206	1.301	1.395	1.497
Dental implantlar	2.550	2.797	2.980	2.882	2.973	3.124	3.346	3.585	3.842	4.117
Ağız ve yüz cerrahisi	572	650	735	798	846	891	939	989	1.042	1.097
Toplam (≈1000\$)	24.505	27.292	30.112	31.428	32.401	33.832	35.525	37.378	39.265	41.237
Büyüme	2007 (%)	2008 (%)	2009 (%)	2010* (%)	2011* (%)	2012* (%)	2013* (%)	2014* (%)	2015* (%)	
Kalça cerrahisi	10	9,7	2	3,9	3	3,1	3,1	3,1	3,1	
Diz cerrahisi	11,7	10,8	2,3	4	3	2,8	2,6	2,8	2,8	
Omurga cerrahisi	9,3	9,7	7,7	-1,7	4,4	5,9	6,8	5,8	5,5	
Biyolojik	13,4	12,8	8,3	-3,9	4	6,1	6,2	6,5	6,6	
Travma	12,7	10,8	4,8	5,4	5,2	5,5	5,4	5,4	5,4	
Spor tıbbi cerrahi	16,4	13,1	7,7	9	6,5	6,3	6,6	6,4	6,5	
El-ayak cerrahisi	12,7	11,6	10,3	9,9	8,6	7,9	7,9	7,2	7,3	
Dental implantlar	9,7	6,5	-3,3	3,2	5,1	7,1	7,2	7,2	7,2	
Ağız ve yüz cerrahisi	13,6	13,1	8,5	6,1	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	
Toplam	11,4	10,3	4,4	3,1	4,4	5	5,2	5	5	

* Tahmini değer

JP MRG araştırma şirketinin 18 ülkede yaptığı istatistik çalışmalarında 2009 yılında kullanılan 9 milyon adet dental implantın çoğunun ABD’de kullanılmasına rağmen nüfus-kullanım oranlamasında en fazla kullanımın açık ara ile Güney Kore’de olduğu belirlenmiştir. Bu sıralamayı İtalya, İspanya, İsviçre, İsveç, Almanya, Brezilya ve Fransa takip etmektedir.



Şekil 3. a) İmplantler 2014 verilerine göre dental implant kullanım adetleri b) Dünya dental implant oranları (İmplantler 2015).

Şekil 3’de İmplantler 2014 verilerine göre ise dental implant kullanım adetleri 2005-2010 yılları arasında 6 kat artmış, 2020 de ise 2015 verilerini ikiye katlayacağı öngörülmüştür. Ancak dental implant kullanım oranları dünyanın 10 ülkesi nüfus sayısına göre yıllık dental

implant tüketim oranları karşılaştırmasında Türkiye yaklaşık %4 nüfus/adet oranı ile tüketimde diğer ülkelerin gerisinde yer almaktadır (Implantder 2015).

Ayrıca Total Kalça Artroplastisi (TKA), dünya çapında uygulanan en popüler cerrahi operasyonlardan biridir. İngiltere'de, 2003 ile 2015 arasında 790.000'den fazla THA'nın gerçekleştirildiğini kaydetmiştir. 2003 yılı itibarıyla ABD'de yılda 200.000'den fazla TKA ameliyatı gerçekleştirilmiş, şuan yaklaşık 2,5 milyon kişi kalça protezi ile yaşadığı belirtilmiştir. Bu sayının 2030 yılına kadar 572.000'e ulaşması beklenmektedir. Güney Kore'de ise 2010 ile 2017 yılları arasında 60.000'den fazla THA'nın gerçekleştirildiği belirtilmiştir (Hu and Yoon 2018).

Metalleri implant malzemesi olarak ilgi çekici hale getiren en önemli olgu, biyomekanik özelliklerine sahip olmasının yanı sıra metallerin işlenmesinin, şekillendirilmesinin ve sterilizasyonun kolay olmasından geçmektedir. Ancak metal implantların zamana bağlı olarak gösterdiği değişimler, bu malzemeler yerine başka malzemeler denenmesi ve yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi ihtiyacını beraberinde getirmiştir. Metal malzemelerin bilinen en büyük dezavantajı *in-vivo* şartlarındaki korozyon eğilimleridir. Küçük miktarlardaki metallerin çoğunu insan vücudu tolere edebilmektedir. Ancak meydana gelen korozyon neticesinde implant malzemedeki meydana gelen bozulmalar sadece implantın zayıflamasına sebep olmamakta aynı zamanda korozyon ürünlerinin doku ve organları çevrelemesi onlara zarar vermektedir. Bu sebeple implant malzemelerin seçimi veya geliştirilmesinde malzeme ve kaplama türü çok önemlidir (Sykaras *et al.* 2000; Oldani and Dominguez 2012; Saini *et al.* 2015).

Tablo 3. Metalik Biyomalzemeler İçin Örnekler (D'Addessi *et al.* 2013)

Malzeme	Yaygın Kullanımı	ASTM Standardı
<i>Titanium esaslı alaşımlar</i>		
Ti CP (derece 1-4)	Ticari saflıkta Ti	ASTM F 67
Ti-6Al-4V ELI	Ti6Al4V	ASTM F 136
<i>Paslanmaz çelik</i>		
Fe-18Cr-14Ni-2.5Mo	316L Paslanmaz çelik	ASTM F 138
<i>Kobalt esaslı alaşımlar</i>		
Co-28Cr-6Mo	Döküm CoCrMo	ASTM F 75
Co-35Ni-20Cr-10Mo	Dövme CoNiCrMo	ASTM F 572
<i>Özel metalik alaşımlar</i>		
Ta	Alaşımsız Tantalyum	ASTM F 560
Ni-45Ti	Nitinol	ASTM F 2063

Tablo 3’de ASTM standartları verilen bazı implant metal biyomalzemeler genellikle aşağıdaki gibi gruplandırılmaktadır;

- Titanyum esaslı alaşımlar
- Paslanmaz çelikler
- Kobalt esaslı alaşımlar
- Özel metal alaşımları.

ASTM standartlarına göre dört grupta sınıflandırılan biyomalzemelerin öncelikli kullanım alanları Tablo 4’te verilmektedir.

Tablo 4. Metalik Biyomalzemelerin Sınıflandırılması ve Öncelikli kullanımları (Chen and Thouas 2015)

Tür	Öncelikli kullanımları	Uygulama durumu	Referans
Paslanmaz çelik	Geçici tıbbi malzemeler (kırık plakları, vidalar, kalça tırnakları vb.) Total kalça protezleri	Rutin olarak uygulanmaktadır.	(Geetha <i>et al.</i> 2009)
Kobalt esaslı alaşımlar	Total eklem protezleri Dişçilikte kullanılan döküm malzemeler	Rutin olarak uygulanmaktadır.	(Geetha <i>et al.</i> 2009)
Titanyum esaslı alaşımlar	Total kalça protezi metal sap-yuvası veya seramik femur başları Diğer geçici tıbbi malzemeler(çiviler, kalp pili vb.)	Rutin olarak uygulanmaktadır.	(Geetha <i>et al.</i> 2009)
Diğerleri	Ortodontik diş kemerleri Vasküler stentler Vena kava filtresi		
TiNi	Intrakraniyal anevrizma klipsleri Yapay kalp için kasılan yapay kaslar Kateter kılavuz telleri Ortopedik zımbalar	FDA* onaylı	(Savage 1991)
Mg	Biyobozunur ortopedik implantlar	Hayvan deneklerde	(Heublein <i>et al.</i> 2003; Staiger <i>et al.</i> 2006)
Ta	Plastik cerrahi ve beyin cerrahisi için tel dikişleri Radyografik işaretleyici	FDA* onaylı	(Wong <i>et al.</i> 2013)
* FDA (United States Food and Drug Administration): Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi			

Kobalt alaşımları: Kobalt esaslı alaşımlar fizyolojik ortamlarda paslanmaz çeliğe oranla daha iyi korozyon ve aşınma direncine sahiptir. Ancak paslanmaz çeliğe göre daha ağırdır (Shi 2005).

Titanyum ve alaşımları: Titanyum, implant malzemesi olarak başarıyla kullanılan bir malzemedir. Kemikteki gibi düşük yoğunluk, yüksek mekanik mukavemet, yorulma direnci, düşük elastisite modülü ve iyi aşınma direncine sahip titanyum tüm bu özellikleri bir malzemede toplayan en önemli biyouyumlu metaldir. Ancak implant malzemelerinde kullanılan titanyum alaşımları üç ana problemi de beraberinde getirmektedir;

- Ergitme ve döküm problemleri nedeniyle yüksek maliyet,
- Kemik ile karşılaştırıldığında yüksek elastisite modülü,
- Her ne kadar vücutla reaksiyona girmemesi inert olmasını gösterse de bu durum insan dokusuyla reaksiyona girmediğinden osseointegrasyon sürecini uzatmaktadır (Oldani and Dominguez 2012).

Özel alaşımlar: Bu alaşımların en çok bilineni TiNi şekil hafızalı alaşımlardır. TiNi alaşımları mükemmel biyouyum, korozyon direnci ve aşınma direnci davranışlarına sahiptir. Ancak bu alaşım ortodontik diş kemerleri, vasküler stent gibi özel bölgelerde kullanılmaktadır (Shi 2005).

Biyomalzeme olarak paslanmaz çelik

Korozyona karşı yüksek direnç gösteren paslanmaz çelikler, implant malzemeleri arasında en uzun kullanım geçmişi olan metalik malzemedir. Korozyona karşı üstün direncinin sebebi, çelik yüzeyinde doğal olarak meydana gelen yoğun bir krom oksit filminin (pasif oksit tabakası) meydana gelmesidir. Bu sebeple paslanmaz çelikler, temel gereksinimi olan yüksek krom içeriğinin (en az %10,5) yanı sıra nikel, molibden ve manganezden üretilmektedir. Kristal faz yapısına göre paslanmaz çelikler, ferritik, östenitik ve martenzitik olmak üzere üç tip olarak kategorize edilmektedir. Ferritik paslanmaz çelikler hacim merkezli kübik, östenitik çelikler yüzey merkezli kübik ve martenzitik çelikler ise su verme yöntemi neticesinde metastabil yapıdadır. Martenzitik paslanmaz çelikler cerrahi aletlerde kullanılmaktadır. Yüksek mukavemet ve sertlik özelliğine sahip martenzitik paslanmaz çelikler ameliyat bıçakları ve klipsleri için gereklidir. Ferritik paslanmaz çelikler, nikel içeriğinin az olmasından dolayı nispeten ucuz olmasına rağmen, östenitik çeliklere göre daha az sünek ve korozyona karşı daha az dayanıklıdır. Paslanmaz çelikler arasında en yüksek korozyon direncine ve sünekliliğe sahip

olan östenitik paslanmaz çelikler yüksek maliyetine rağmen medikal implant uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Shi 2005).

18Cr-8Ni (tür 302) paslanmaz çelik, mukavemeti ve korozyona karşı direnci nedeniyle insan implantı olarak ilk kez kullanılan paslanmaz çelik türüdür. Sonraki yıllarda, 18Cr-8Ni alaşımına az miktarda molibden ve silisyum ilavesi ile standart implant malzemesi olan 316 alaşım serisi geliştirilmiştir. Molibden ilavesi gerçek vücut sıvısı ortamında çevrede klorür iyonları bulunması halinde, korozyon direncini arttırdığından bu malzemeler implant malzeme olarak kullanılabilir. 1950'lerde korozyon direncini daha fazla arttırmak için karbon içeriği %0,08'den %0,03'e indirgenmek suretiyle düşük karbonlu bir versiyon olan 316L serisi geliştirilmiştir. Tablo 5'de tıbbi implantlar için kullanılan çeşitli östenitik paslanmaz çeliklerin bileşimleri sıralanmaktadır. 316L paslanmaz çeliklerinde vücut içerisindeki davranışları titanyum alaşımlarına benzerlik göstermektedir. İnsan vücudunda denenilen pek çok alaşım arasında, 316L alaşımı halen en yaygın kullanılan tıbbi implant malzemesidir (Shi 2005; Zhu *et al.* 2005).

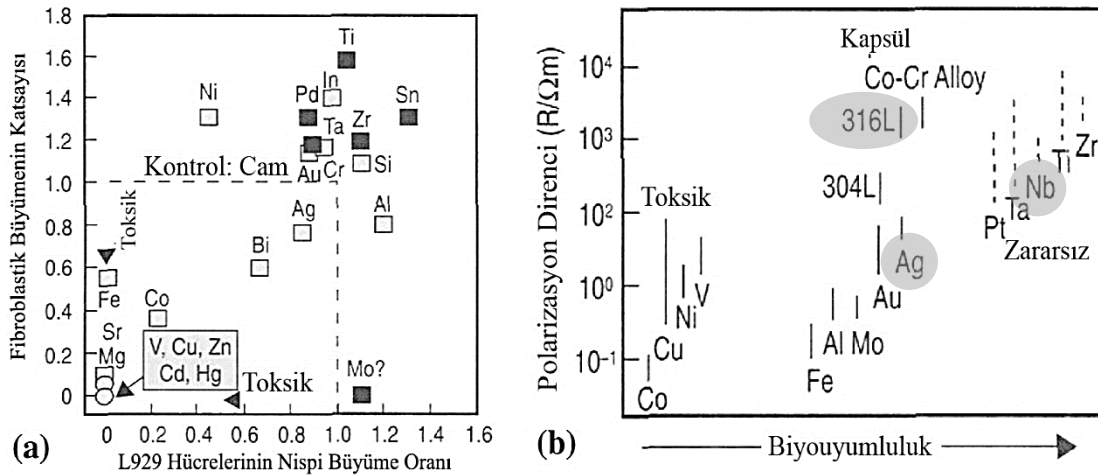
Tablo 5. Tıbbi İmplantlar İçin Kullanılan Çeşitli Östenitik Paslanmaz Çeliklerin Kimyasal Bileşimleri (Shi 2005)

Tür (AISI No)	Fe	C (max)	Cr	Ni	Mo	Mn
302	Kalan	0,15	18	9	-	2,0
304	Kalan	0,08	19	9	-	2,0
316	Kalan	0,08	17	12	2,5	2,0
316L	Kalan	0,03	17	12	2,5	2,0

Paslanmaz çeliklerin tıbbi uygulamalarda kullanılması, sitotoksikite değerlendirme standartlarının henüz oluşturulmadığı 1930'larda başlamıştır (Wiles 1958). Bu sebeple yakın geçmişe kadar *in-vitro*, *in-vivo* uygulamalarıyla ilgili bu alanda çalışma bulunmamaktadır. Bu alaşımın uygun biyouyumluluk özelliği, 1960'larda ve 1970'lerde tam kalça implantasyonundaki başarılı uygulamalar sonucunda görülmüştür. Birçok çalışmada, 316L paslanmaz çeliğin kontrol malzemesi olarak kullanıldığı zamanlarda biyouyumluluğuna ilişkin yeni kanıtlar elde edilmiştir (Escalas *et al.* 1976; Lemons *et al.* 1976; Syrett and Davis 1979). Genel olarak 316L paslanmaz çelik titanyum ve CoCrMo alaşımlarından daha düşük biyouyumluluk göstermektedir, ancak üstün korozyon özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır (Chen and Thouas 2015).

Metallerin Biyolojik Toleransları ve Vücuttaki İmplant Malzemelerin Korozyonu

Hiçbir malzeme, canlı bedeninde makul bir süre boyunca inert olarak kalamayacağından dolayı alaşım elementi seçiminde genel düşünce, insan vücudunda sürekli var olan doğal olarak bulunan elementleri kullanmak yönündedir. Metal implantların insan vücudundaki korozyonu önem arz eden bir konudur. İnsan vücudu içerisinde metalin korozyona uğraması sadece implantın zayıflamasına neden olmakla kalmaz aynı zamanda metal iyonlarının vücut sıvılarına ve dokulara taşınması neticesinde zarar vermesine sebep olur. İnsan vücudunda kullanılan implant malzemelerde, genellikle iki tür korozyon meydana gelmektedir. Bunlar; aşınma ile gerçekleşen korozyon ve elektrokimyasal korozyondur. İnsan vücudu biyolojik yaşam fonksiyonlarını idame ettirmek için eser miktarda demir, manganez, magnezyum ve çinko gibi metalik elementleri bünyesinde bulundurur. Ancak bu tür elementlerin fazlalığı toksik reaksiyonlara neden olur. İmplantlardan salınan metal iyonları, lokal inflamasyona, mutasyonlara (mutagenез) hatta kansere (karsinogenezise) neden olabilmektedir (Niinomi 1999; Chen and Thouas 2015). Metalik biyomalzemelerde ve alaşımlarında kullanılan saf metallerin biyouyumluluğu Şekil 4’de verilmiştir (Niinomi 1999). Tablo 6’da ise metal implantlarda yaygın olarak kullanılan metal elementlere karşı insan vücudunun toleransını göstermektedir (Shi 2005).



Şekil 4. Bazı saf metallerin sitotoksisitesi (b) Saf metaller, kobalt-krom alaşımları ve paslanmaz çelikleri polarizasyon dirençleri ve biyouyumlulukları arasındaki ilişki (Niinomi 1999).

Toksik etkilerinin bulunmamasından dolayı saf haldeki Ti alaşımları (Ti6Al4V) ve paslanmaz çelikler (AISI 316L) ve bu malzemelerin ince filmlerle kaplanmış yapıları biyomedikal uygulamalarda kullanılmış ve halen uygulama alanı bulmaktadır (Matsuno *et al.* 2001; Eisenbarth *et al.* 2004, 2006). Son zamanlarda Ti ve oksitleri, agresif vücut ortamında korozyon dirence sahip olduklarından sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca implant malzeme

yüzeyine kaplanan niyobyum, zirkonyum ve tantal gibi metallerin oksitleri implantların kullanım ömrünü arttırmaktadır. Günümüzde bu kaplamaların kemik hücrelerinin proliferasyonu ve adezyonuna katkısı üzerine çalışmalar yoğunlaşmaktadır (Eisenbarth *et al.* 2004).

Tablo 6. İnsan Vücudundaki Metal Toleransları (Shi 2005)

Metal	Normal Miktarı	Açıklama
Fe	4-5 g (tüm vücut genelinde)	Kırmızı kan hücrelerinin elementi. En az zehirli eser elementlerden birisi.
Co	B12 miktarına bağlı	B12 vitaminin element, Co'sız vücut fonksiyonu gerçekleşmez. Saf Co kemik dokusu için toksik olabilmektedir. Co-Cr alaşımları toksik değildir. Yüksek dozaj kanserojen olabilir.
Cr	2,8 µgr/100 g (kanda)	Toksiktir, hücre canlılığını etkiler ve DNA sentezini azaltır. 6 değerlikli Cr kanserojendir.
Mn	12-20 mg (tüm vücut genelinde)	Hücrelerin temel elementidir. En az zehirli eser elementlerdendir.
Mo	1-3 ppm (karaciğer)	Bazı enzimlerin çalışması için gereklidir, yüksek doz toksiktir. Ca ve P'nin metabolizmadaki faaliyetine engel olur.
Ni	5 mg/L (kanda)	Sınırlı biyolojik faaliyetler için temel unsur. Yüksek doz toksiktir ve kanserojen olabilir.
Ag		Vücutta inert değildir. Güçlü inhibitör ve bakterisidal etki.
Ti		Normal işlevi yoktur ancak kanserojen değildir.
Al		Olumsuz etkiler. Kemikte kalsiyum birikmesine ve sinirsel bozukluklara neden olur.
V		Toksik

İnsan vücudu fiziksel ve kimyasal olarak dış ortam koşullarından farklıdır. Yani açık atmosferde iyi performans gösteren (inert veya pasif) bir metal vücut şartlarında ciddi bir şekilde korozyona uğrayabilmektedir. Nitekim korozyon direnci açısından en iyi olan paslanmaz çelikler vücutta kronik alerji ve toksik reaksiyona sebebiyet verebilmektedir. Bu etki implantasyon süreci sonrasında uzun süre zarfında teşhis edilebilir bir durumdur (Jacobs *et al.* 1998, 1999; Brayda-Bruno *et al.* 2001). Korozyon direnci metalik implantların uzun vadedeki başarısını belirlerken, vücudun farklı bölümlerinde farklı pH ve oksijen konsantrasyonlarının mevcut olması sebebiyle, belirli bir bölgede iyi performans gösteren bir implant, asidik erozyon ve oksidasyona bağlı olarak başka bir bölgede kabul edilemez düzeyde korozyona uğrayabilmektedir (Chen and Thouas 2015).

Normal şartlarda çoğu insan vücudu sıvısı, yaklaşık %0,9 tuzlu su ve çeşitli iyonların (Na^+ , HCO_3^- , K^+ , HPO_4^{2-} , Mg^{+2} , Cl^- , Ca^{+2} , SO_4^{2-}) yanı sıra amino asitler ve bir dizi çözünür protein içermektedir. İmplantlar üzerinde fokal adezyona neden olabilecek atık ve hücre malzemeleri de bulunmaktadır. Vücut sıvıları yaklaşık olarak nötr pH değerindedir (37 °C 7,2-7,4 pH ve 1 atm basınç). Ancak vücut sıvısının pH değeri, ameliyat ve hasarın neden olduğu iltihap hücre salgılamasından dolayı 3-4 değerlerine kadar düşebilmektedir. Yüksek kan basıncıyla ilişkili olarak iyonik güç dalgalanmaları veya iyon birikimi nedeniyle, insan vücudu herhangi bir implant için agresif bir ortam oluşturmaktadır. Oksijenin kısmi basıncı, atmosferik oksijen basıncının yaklaşık dörtte biridir. Düşük oksijen, oksidasyon açısından daha az reaktif bir ortam oluşturmaya rağmen, bir implant kırıldığında veya çıkarıldığında metal yüzeylerde koruyucu pasif oksit filmlerin oluşumunu yavaşlatarak metalik implantların korozyonunu hızlandırmaktadır (Sumita *et al.* 2007).

İdeal olarak bir implant malzemedeki korozyon direncinin istenmesindeki en önemli sebeplerden birisi korozyona uğraması durumunda malzemenin, vücut içerisine yaptığı metal iyonu salınımıdır. İmplant malzemedeki vücut içerisine gerçekleşen metal iyonu salınımı en zorlu koşullar altında en az seviyede, minimum 30 yıllık bir çalışma periyodu altında (normal fizyolojik koşullarda) ise ihmal edilebilecek seviyede olması gerekmektedir (Chen and Thouas 2015).

Korozyon Hızının Değerlendirilmesi ve Metodolojisi

Metalik malzemelerin korozyon hızını değerlendirmek için 4 yöntem bulunmaktadır: kütle kaybı, hidrojen gelişimi, iyon salınım konsantrasyonu ve elektrokimyasal korozyon testi.

1. Kütle kaybı / kazanımı

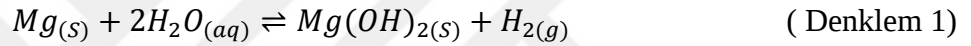
Kütle kaybı / kazanımı, daldırma deneyinden önce ve sonra örneklerin kütle değişimini ölçerek korozyon hızını değerlendirme yöntemidir. Numune bir süre boyunca korozyon ortamına daldırılır, sonrasında örnek alınır ve kütle değişimi ölçülür. Korozyon oranını hesaplamak için $R = \frac{W}{At\rho}$ formülü kullanılır. Burada R korozyon oranını, w kütle değişimini, A korozyon ortamına maruz kalan orijinal yüzey alanı, t süreyi, ρ ise numunenin standart yoğunluğunu göstermektedir. Bu değerlendirme yöntemi basittir, ancak farklı uygulamalar söz konusudur. Bazı çalışmalarda numuneler solüsyondan çıkarıldıktan sonra damıtılmış suyla temizlendikten sonra tartılır (Witte *et al.* 2006). Diğer temizleme yöntemlerinde ise korozyon ürünleri fırçayla uzaklaştırılır veya kromik asit gibi kimyasallarla korozyon ürünleri temizlendikten sonra tartım işlemi gerçekleştirilir (Schinhammer *et al.* 2010).

Ancak bu uygulamaların çeşitli eksiklikleri bulunmaktadır;

- ✓ Fırçalama, metal matrisini yok ederek yüzeyde çiziklere neden olabilir.
- ✓ Sadece damıtılmış suyla yıkanması tüm korozyon ürünlerini kaldıramaz, bu durum kütle kazanımına neden olmaktadır (Witte *et al.* 2006).
- ✓ Kimyasal reaktifle yıkama da, numunelerin uzun süre yıkanması esnasında matrisin kimyasallarla reaksiyona girmesini engellemek gerekmektedir. Ayrıca kaplanmış numunelerin kimyasalla reaksiyonunu engellemek için kimyasal yıkamadan kaçınılmalıdır (Zhen *et al.* 2013).

2. Hidrojen Gelişimi

Hidrojen gelişimi, Mg gibi yapay vücut sıvısına daldırıldığında, hidrojen gazı çıkan metallerin korozyon özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bir düzenek yardımıyla gelişen hidrojen hacmi ölçülmektedir (Song and Atrens 2003). Temel prensip denklem 1’de gösterilen magnezyumun korozyon reaksiyonuna dayanmaktadır.



Kütle kaybı deneylerinden farklı olarak, hidrojen gelişimi ölçümü, korozyon prosedürünün gerçek zamanlı dinamik bir gözlemidir. Basit ve pahalı olmayan bu yöntem, atmosferik basınç değişikliklerine veya deney düzeneğinden olası hidrojen sızıntılarına bağlı olarak bazı sınırlamalara sahiptir (Witte *et al.* 2008).

3. İyon Salınım Konsantrasyonu

Daldırma çözeltisinde salınan iyon konsantrasyonu, metalik malzemelerin korozyon hızının hesaplanmasının başka bir yoludur. Bu yöntem de daldırma çözeltisine asit ilave edilerek iyon konsantrasyonu ölçümü indüktif olarak eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometresi (ICP-MS) ile gerçekleştirilir. Bu yöntemde, yüzey korozyon ürünlerinin çözeltiye tamamen alınamaması durumunda, sapmaya yol açabilen hataları içermektedir (Liu and Zheng 2011; Zhen *et al.* 2013).

4. Elektrokimyasal Korozyon Testi (ASTM-G102-89)

Kontrol edilen koşullar altında akım-potansiyel ilişkilerinin ölçümü, korozyon oranları, pasifleşme ve çukurcuk durumlarıyla ilgili bilgiler vermektedir. Potansiyodinamik anodik polarizasyon, metal ve alaşımlarının pasifleşme davranışlarını karakterize etmek için önemli bir yöntemdir. Bu yöntemde numune, anot haline getirilir ve potansiyel pozitif değerlere doğru taranır. Bu ölçümler, sulu bir ortamda metal numunelerin korozyon özelliklerini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu teknikte; inhibitörlerin, oksitleyicilerin numune

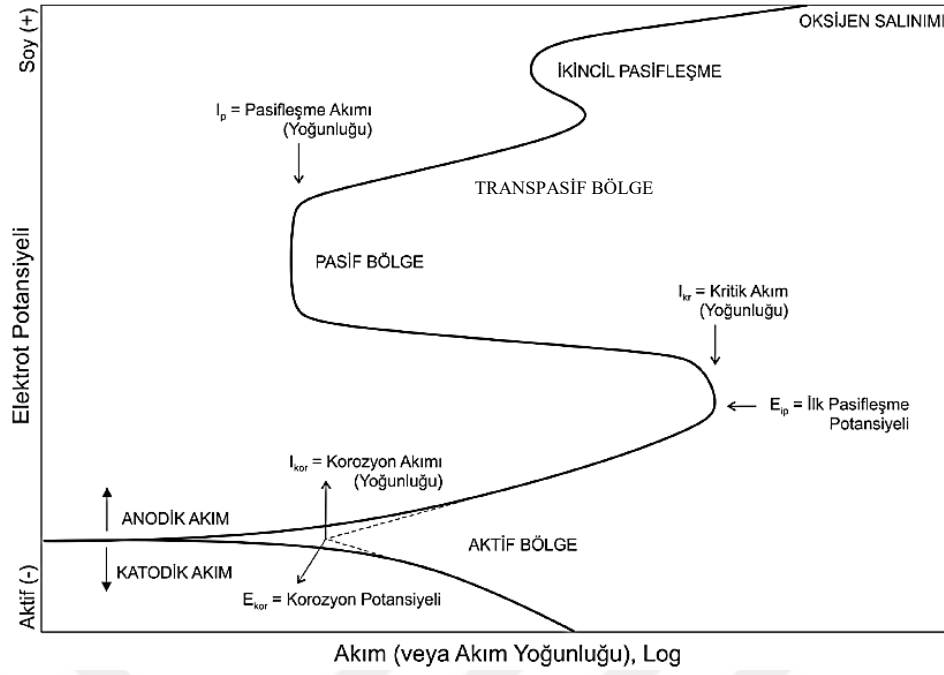
üzerindeki etkisi ve pasifleşme davranışı etkili bir şekilde değerlendirilmektedir. Metal ve alaşımların korozyon özelliklerinin rasyonel olarak değerlendirildiği bu yöntemde; malzemenin kullanılabileceği uygun kombinasyonlar seçilebilmektedir (Lee 1992).

İn-vitro korozyon hızını belirlemek için en yaygın yöntemler kütle kaybı ve elektrokimyasal korozyon testidir. Elektrokimyasal korozyon testi doğrusal polarizasyon ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi olmak üzere iki farklı kategoride incelenmektedir.

Metal bir numune, korozif bir ortama daldırıldığında, yüzeyinde hem indirgeme hem de oksidasyon reaksiyonları meydana gelmektedir. Bu durumda numunede bulunan bazı bileşenler oksitlenmekte ve elektrolitteki (çözücü) bazı bileşenler ise örnek yüzeyine indirgenmektedir. Asidik elektrolitlerde numune yüzeyinde hidrojen iyonları indirgenmektedir. Bu tür elektrolitlerde örnek hem anot hem de katot olarak işlem görmekte, anodik ve katodik akımlar birlikte oluşmaktadır. Korozyon reaksiyonu genellikle anodik bir reaksiyondur.

Bir numune korozif bir sıvıyla temas ettiğinde ve herhangi bir cihaza bağlı olmadığında E_{kor} , korozyon potansiyeli olarak adlandırılan bir potansiyele sahip olmaktadır. Numune yüzeyinden geçen hem anodik hem de katodik akımların ikisi de önem arz etmekte ancak net akım bulunmamaktadır. Her ne kadar numune gözle görülür bir şekilde korozyona uğramış olsa da E_{kor} oksidasyon hızının indirgeme hızına eşit olduğu potansiyel olarak tanımlanabilmektedir. Bir numune E_{kor} değerindeyken her iki akım polaritesi eşit büyüklüktedir. Eğer numune harici bir potansiyel kaynağı ile karşıt bir elektrotla pozitif olarak polarize edilirse anodik akım baskın olur, negatif olarak polarize edilirse katodik akım baskın hale geçmektedir (Lee 1992).

Deneysel olarak polarizasyon karakteristiği, uygulanan potansiyelin akıma karşı tepkisi çizilerek belirlenmektedir. Ölçülen akım, potansiyele karşılık yarı logaritmik grafikte çizilmektedir. Bu grafiğe Şekil 5’de gösterilen potansiyodinamik anodik polarizasyon veya Tafel grafiği denilmektedir.



Şekil 5. Pasifleşme gösteren bir metalin örnek potansiyodinamik anodik polarizasyon eğrisi (Treseder, R. S., R. Baboian 1991; Li 2010).

Korozyon hızı ölçümünde aşağıda gösterilen denklem 1 kullanılmaktadır;

$$R = K \frac{I_{kor}}{\rho} m_e \quad (\text{Denklem 1})$$

Burada R korozyon hızı, K sabiti $3,273 \times 10^{-3} \text{ mm.g}/(\mu\text{A.cm}^2)$, ρ numunenin standart yoğunluğu, I_{kor} akım yoğunluğu ve m_e eşdeğer kütleyi simgelemektedir. Mg alaşımları, aynı Mg alaşımı için bile farklı korozyon testlerinde farklı korozyon hızları gösterebilmektedir. Ancak çoğunlukla benzer eğilimler görülmektedir. Elektrokimyasal test, *in-vivo* olarak gerçek korozyon durumunu simüle edemeyen, ancak korozyon özelliğinin temeli olarak kullanılabilen bir hızlandırılmış korozyon yöntemidir. Bahsi geçen diğer yöntemlerde çeşitli eksiklikler mevcut olmasından dolayı, bu yöntem korozyon hızı ölçümlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak hatayı azaltmak için kapsamlı test sistemi kurulmadan önce diğer yöntemler çapraz referans olarak kullanılabilir (Witte *et al.* 2008; Zhen *et al.* 2013).

Akım yoğunluğunun logaritması, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak çizilmektedir. Numunenin potansiyeli E_{kor} değerinin üzerine çıkarıldığında potansiyel ve akım yoğunluğu aşağıda verilen Tafel denkleminde uymaktadır:

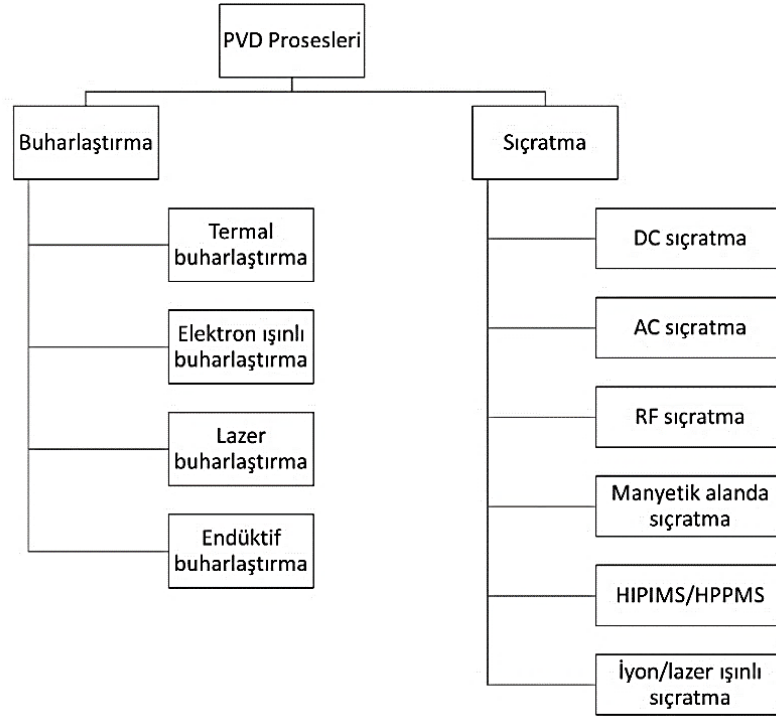
$$\eta = \beta \cdot \log\left(\frac{i}{i_0}\right) \quad (\text{Denklem 2})$$

Burada η : polarizasyon, i : akım yoğunluğu, β : logaritmik olarak çizilecek grafikteki polarizasyon eğrilerinin eğimidir. Bu değerler E_{kor} değerinin pozitifindeyse anodik

polarizasyon, negatifindeyse katodik polarizasyon olarak değerlendirilmektedir. Anodik ve katodik eğimlerin kesiştikleri noktanın akım değerini kestiği nokta I_{kor} , yani korozyon akımı veya yoğunluğu, Elektrot potansiyelini kestiği nokta ise E_{kor} , yani korozyon potansiyeli olarak belirlenmektedir. Katodik eğriden anodik eğriye geçen bölge ise açık devre potansiyeline eşit olmaktadır. Katodik eğri, anodik bölgeye döndüğünde malzeme, korozyon eğilimi göstermesi için zorlanmaktadır. Bu durumda korozyon hızı yavaş yavaş artış göstermektedir. Malzeme ilk pasifleşme gerilimine geldiğinde akım yoğunluğu ani olarak düşer ve malzeme yüzeyinde oluşan ince ve koruyucu oksit filmi sayesinde pasif bölge olarak gösterilen bölge boyunca sabit kaldığı gözlenmektedir. Gerilimin artırılması durumunda bu film kırılır ve akım değerinde bir artış gözlenmeye devam eder. Transpasif bölge adı verilen bu bölgede malzeme tekrar korozyona uğrama eğilimine devam etmektedir. Pasifleşme eğilimi gösteren paslanmaz çelik, titanyum gibi metal malzemeler, oluşan ince ve koruyucu oksit filmi sayesinde korozyona karşı üstün davranışlar sergilemektedir. Koruyucu oksit filmlerin parçalanması neticesinde yüzeyde, bölgesel bir alanın hızla deformasyona uğraması neticesinde malzeme yüzeyinde çukurlar (pitting) meydana gelmektedir. Bu korozyon türünde çukurların anodik hale gelmesiyle çok geniş bir bölge katodik olarak davranmaktadır. Bu davranışıyla çukurcuk (oyuklanma) korozyonu lokalize bir galvanik korozyon çeşididir. Malzemeyi bu tür korozyona karşı koruyabilmek için mikro yapının değiştirilmesi veya malzeme yüzeyinin farklı özellikte malzemelerle kaplanması gerekmektedir (Syrett and Davis 1979; Treseder, R. S., R. Baboian 1991; Li 2010; Grace 2012).

Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD)

Fiziksel buhar biriktirme (PVD) bir vakum odası içerisindeki katı bir hedef malzemenin atomize edilen malzemenin taban malzeme yüzeyine yoğunlaştırılması işlemidir. Fiziksel buhar biriktirme sistemleri kaynak malzemeyi atomize etme türlerine göre Şekil 6'da gösterildiği üzere buharlaştırma ve sıçratma olarak iki ana kategoride sınıflandırılmaktadır. Buharlaştırma, adından da anlaşılacağı üzere bir kaynağın termal olarak buharlaştırılması ilkesine dayanır. Sıçratma ise hedef malzemenin gaz atomları ile bombardımana tutulması neticesinde hedef malzeme yüzeyinden momentum transferiyle sıçratılan atomların taban malzeme yüzeyine kaplanması işlemidir. Sıçratma ve buharlaştırma sistemlerinin her ikisi de 1850'li yıllarda ortaya çıkmıştır. İlk sıçratma tekniği Grove tarafından (Grove 1852) 1852'de, buharlaştırma ise Faraday tarafından (Faraday 1857) 1857'de rapor edilmiştir.



Şekil 6. PVD proseslerinin sınıflandırılması

Başlangıçta PVD sistemi saf metal kaplamaların biriktirilmesinde kullanılmasına rağmen, sonrasında alaşım ve seramik kaplamalarda daha yaygın olarak kullanılmıştır. Günümüzde ise seramik veya metal hedefler beraberinde oksijen, azot veya metan gibi reaktif gazlar kullanılarak oksit, nitrür ve karbür gibi yapılar üretilmektedir. Ayrıca plazma yardımıyla daha önce elde edilemeyen özelliklere sahip kaplamaları üretmek için film çekirdeklenmesi ve büyüme kinetiği kontrol edilebilmektedir. PVD sisteminde kullanılan akımın tipine bağlı olarak Doğru Akım (DC), Alternatif Akım (AC) ve Radyo Frekansı (RF) güç kaynakları kullanılmaktadır. Kullanılan hedef malzemelerin arkasına yerleştirilen manyetik alanla plazmanın sıkıştırılması prensibine bağlı olarak çalışan sistem ise manyetik alanda sıçratma işlemidir. Son yıllarda HIPIMS veya HPPMS olarak bilinen yüksek enerjili sıçratma sistemi ise günümüzde popüler olarak kullanılmaktadır. Büyütülen filmi etkilemek veya kaplama akışını değiştirmek için kullanılan bir diğer sistem iyon ve lazer ışınlarının kullanıldığı iyon/lazer ışınli sıçratma işlemidir (Kutz 2006).

Sıçratma tekniği

Sıçratma tekniğinde kullanılan ana fiziksel olay, atomsal boyutlu enerjik parçacıklar (genellikle asal gaz iyonları) ile hedef malzeme atomları arasında momentum transferinin gerçekleşmesidir. Momentum transferi esnasında elastik ve esnek olmayan çarpışmalar olmak üzere çeşitli etkiler meydana gelmektedir. Elastik çarpışmada, çarpışma ortamında; nötr

atomlar, hedef iyon atomları ve reaktif gaz atomları gibi yansıyan parçacıklar bulunmaktadır. Esnek olmayan çarpışmada ise ikincil elektronlar, UV-görünür fotonlar, X-ışını parçacıkları oluşmaktadır. Wehner ve arkadaşlarının 1950'lerde yaptıkları çalışmalar sıçratma tekniğinin ancak momentum transferi teorisi ile açıklanabileceğini göstermiştir. Bu çalışmaya göre gerçekleşen etkiler şu şekilde sıralanabilir;

1. En önemli etki olan sıçratma verimi, sıçratılan atomların, yüksek enerjili yüklü parçacıkların sayısına oranıdır. Bombardıman edilen parçacığın kütlesine ve enerjisine, ayrıca bombardıman edilen atomun geliş açısına duyarlıdır. Her malzemenin sahip olduğu ve sıçratmanın gerçekleşmesi için uygulanması gerekli bir eşik enerjisi bulunmaktadır.

2. Sıçratılan atomların birçoğu, termal olarak buharlaşan atomlardan daha yüksek kinetik enerjiye sahiptir.

3. Tek kristal malzemelerden kopan atomlar, kristaldeki sıkı olarak istiflenmiş düzlemler boyunca kopma eğilimi göstermektedir.

4. Polikristalin bir malzeme, bazı kristalografik düzlemler diğerlerinden daha hızlı saçılmaktadır.

5. Alaşımın yüzeyinden sıçratılan atomlar, termal buharlaştırmaya benzer olarak kütle kompozisyonu oranında biriktirilir.

6. Uygulanan yüksek enerjilerde, yüzeyin çok altında iyonların enerjileri azaldığı için sıçratma verimi de aynı zamanda düşmektedir.

7. Sıçratma verimi, hedef malzeme sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir.

Yukarıda belirtilen etkilerin tamamı filmlerin büyümesi açısından çok önemlidir. Belirtilen yedi etki özellikle 5 mTorr basınç altındaki düşük basınçlar için genellikle geçerlidir (Alfonso *et al.* 2012).

RF Diyot sıçratma

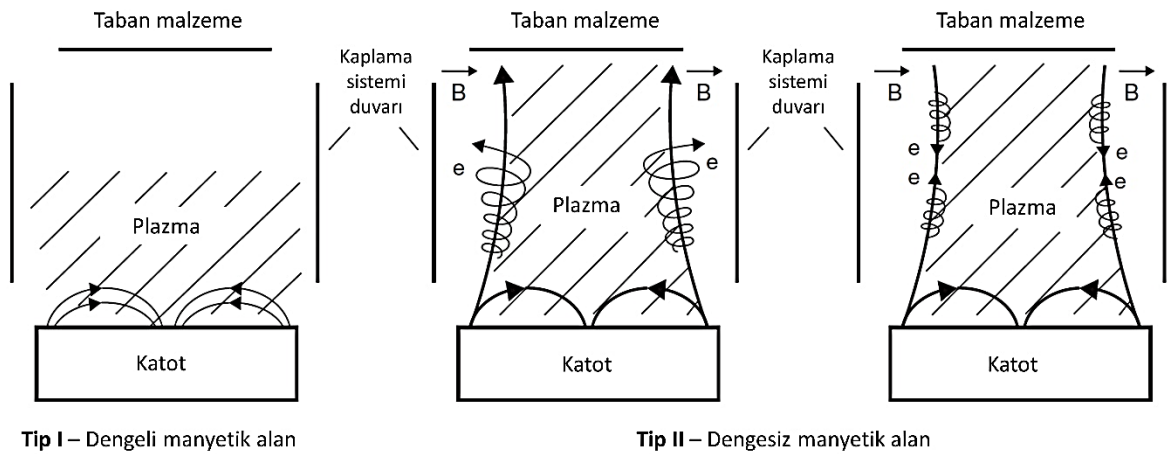
RF diyot sıçratma, RF güç kaynağının kullanıldığı sıçratma işlemidir. Bu proseste 50 kHz'den yüksek güç kaynağı kullanılmaktadır. Sıçratma proseslerinde, salınım frekansının yaklaşık olarak 50 kHz'den büyük olması durumunda elektrodun iletken olmasına gerek yoktur. Bu durumda katotta negatif bir dc denge voltajı uygulanması nedeniyle iyonların ters elektriksel alandaki davranışları, elektronların yüksek mobilitesine neden olmaktadır. Yalıtkan bir kaynaktan etkili bir sıçratma yapabilmek için hedef malzemenin bağlı bulunduğu elektrotun diğer kutbunda bulunan elektrotla arasında farklı bir potansiyel oluşması gerekir. Oluşması gereken potansiyel farklılık, kaplama sisteminin topraklanmış duvarlarıyla sağlanmaktadır.

Ayrıca etkili bir kaplama yapabilmek için bir rezonans devresi yardımıyla gerekli endüktansı sağlamak için RF güç kaynağı ile katot arasında empedans eşleştirme ağı (matching box) kullanılmaktadır. 50 kHz'in üzerindeki RF frekanslarını kullanmanın bir diğer yararı ise deşarjı sürdürmek (plazmayı stabil tutabilmek için) için gereken elektron sayısının büyük ölçüde azalmasıdır. Bunun sebebi bir başka deyişle elektronların negatif ışıma bölgesinde daha uzun kalması veya gaz atomlarını doğrudan iyonize etmek için gerekli olan enerjinin azalmasından kaynaklanmaktadır. Bu durumun bir diğer avantajı ise RF güç kaynağı ile sistemde, düşük sıçratma basınçlarının kullanılabilmesi ve film kontaminasyonunun azaltılabileceği anlamına gelmektedir. RF diyot sıçratma sisteminde en yaygın kullanılan frekanslar 13, 27 ve 56 mHz'dir. Bu frekans değerleri ABD Federal İletişim Komisyonu (Federal Communications Commission-FCC) tarafından tıbbi ve endüstriyel kullanım için belirlenmiş olan frekans değerleridir. Bu sistem sayesinde yalıtkan ve iletken özelliklere sahip hemen hemen tüm malzemelerin hedef malzeme olarak kullanılabilmesi mümkündür. Ayrıca birçok sisteme göre daha düşük basınç değerlerinde çalışılabilmektedir. Ancak bu sistemin kullanımında hedef malzeme yüzeyinde sıcak noktaların oluşması mümkündür. Bu sebeple sıçratma oranı genellikle hedefin düşük ısı iletkenliği ile sınırlıdır. Hedef malzeme yüzeyinde oluşabilecek sıcak noktalar, yalıtkan hedefin kırılmasına neden olabilecek gerilmeler üretmektedir. Ayrıca bu kaplama sisteminde birleşik haldeki malzemeler RF deşarjı ile kolaylıkla sıçratılmasına rağmen büyütülen filmler, başlangıçta hedef malzemenin bileşimi ile aynı olmayabilir (Kutz 2006).

Manyetik alanda sıçratma

Manyetik alanda sıçratma işlemi, endüstriyel açıdan önemli çok çeşitli kaplamaların biriktirilmesi için tercih edilen bir PVD sıçratma işlemidir. Bu sistemin yaygın olarak kullanılmasındaki temel sebeplerden birisi; diğer PVD biriktirme sistemleriyle üretilen kaplamalara göre daha kalın kaplamalar elde edilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu sistemle sert, aşınmaya dayanıklı, korozyona dayanıklı, dekoratif, optik ve düşük sürtünmeye sahip kaplamaların üretilmesi mümkündür. Manyetik alanda sıçratma işlemiyle, düşük biriktirme hızları, plazmada meydana gelen düşük iyonizasyon verimleri ve taban malzemenin yüksek sıcaklıkla oluşabilecek ısınma etkileri gibi sorunların üstesinden gelinmektedir. Bu sistemde, magnetron adı verilen ve hedef malzemenin bağlandığı katotların altında yüzeye paralel olarak yapılandırılmış mıknatıslar bulunmaktadır. Bu mıknatıslar sayesinde hedef malzeme üzerinde manyetik alan meydana gelmektedir. Oluşan bu manyetik alan, hedef malzeme yakınındaki ikincil elektronların hareketlerini sınırlandırması ile çeşitli avantajlar sağlar. Magnetronda, mıknatısın bir kutbu hedefin merkezi eksenine, diğer kutbu ise hedefin dış halkasına

konumlandırılmaktadır. Elektronların bu manyetik alan tarafından yakalanması, iyonlaştırıcı elektron-atom çarpışmasının gerçekleşme olasılığını önemli ölçüde arttırmaktadır. Bir magnetronun artan iyonizasyon verimliliği, hedefin bulunduğu bölgede yoğun bir plazma oluşumuna sebep olmaktadır. Bunlara ilaveten manyetik alanla artan iyonizasyon verimliliği, deşarjın temel sıçratma durumu için gerekenden daha düşük çalışma basınçlarında ve daha düşük çalışma voltajlarında plazmanın korunmasına izin vermektedir. Manyetik alanda sıçratmanın iyonlaşma seviyelerini elektron ışıını ve ark buharlaştırmasına göre daha düşük seviyede tuttuğu bilinmesine karşın bu sorunlar dengesiz manyetik alanda sıçratma işleminin gelişmesiyle aşılmıştır. Dengesiz manyetik alanda, mıknatısların dış halkası, merkez kutbuna göre güçlendirilmektedir. Bu durumda, magnetrondaki merkez ve dış kutuplar arasındaki alan çizgilerinin tamamı kapalı tip değildir, ancak bazıları alt tabakaya doğru yönlendirilir ve bazı ikincil elektronlar bu alan çizgilerini takip etmektedir. Sonuç olarak, manyetik alan çizgileri sayesinde plazma artık güçlü bir şekilde hedef malzemeye yakın bölgeyle sınırlı değildir, aynı zamanda plazmanın taban malzemeye doğru akmasına da izin verilmektedir. Böylece, yüksek iyon akımları, taban malzemeye harici olarak bias verilmeye gerek kalmadan plazmadan ayrılabilir. Dengeli ve dengesiz manyetik alan sıçratma sistemi için Şekil 7’de gösterilen üç ana manyetik düzenleme belirlenmiştir. Merkez kutbun dış kutba göre güçlendirildiği dengeli manyetik alan sıçratma işlemi “tip-I” olarak, zıt durumuna sahip dengesiz manyetik sıçratma ise “tip-II” olarak adlandırılmıştır. Birinci durumda, tüm alan çizgileri dış mıknatıslardan geçmemekte sadece merkezi mıknatısa doğru yönlenebilir. Bu tasarım, taban malzemede ortaya çıkan düşük iyon akımları nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. İkinci durumda ise tüm alan çizgileri merkezi mıknatıstan geçmemekte ayrıca dış mıknatıslardan çıkan çizgiler taban malzemeye de ulaşmaktadır (Kelly and Arnell 2000; Kutz 2006).

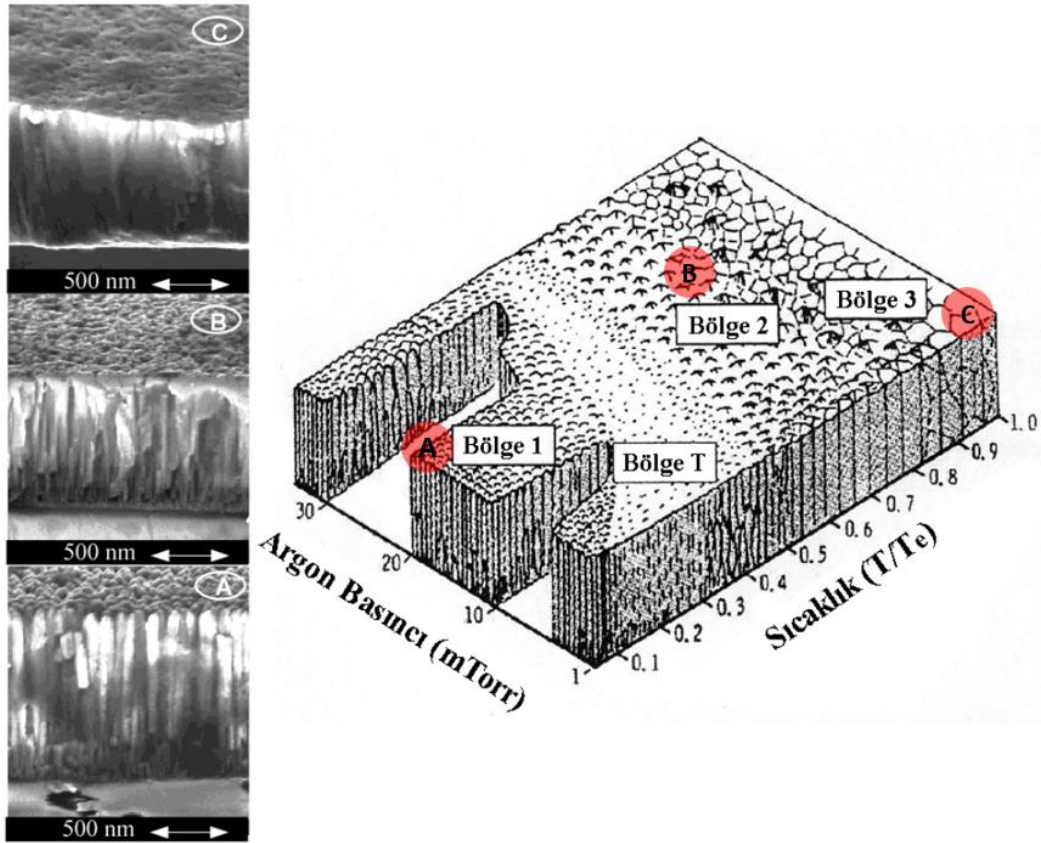


Şekil 7. Dengeli ve dengesiz manyetik alanda sıçratma (Kutz 2006).

Manyetik alanda sıçratma sistemi, katotta yayılan elektronları yakalamak için çift kutuplu bir manyetik konfigürasyona sahiptir. Çift kutuplu konfigürasyonu oluşturmak için, genellikle üç sıra kalıcı mıknatıs N-S-N veya S-N-S sırasıyla düzenlenmektedir. Bu durumda iç sıradaki mıknatıslar dış sıralara göre zıt bir polarizasyona sahip olmaktadır. Dengeli manyetik alanda sıçratmada bulunan mıknatısların her biri aynı güce sahiptir (Tip I). Dengesiz manyetik alanda sıçratmada ise merkezde bulunan mıknatıs diğerlerine göre zayıftır (Tip II). Bu şekilde, plazmada daha fazla elektron kaybedilir ve bu durum plazma uzunluğunun taban malzemeye doğru artmasına neden olur. Plazma uzunluğunun artması, taban malzeme akımını ve kaplama kalitesini önemli ölçüde arttırmaktadır.

İnce film büyüme mekanizması

İnce filmlerin mikro yapısı, büyüme sırasında adatom (yüzeye gelip adsorbe olan atom) hareketliliği ile ilgilidir. Atomların enerji kazanması termal etki, iyonik bombardıman ve numunedeki kimyasal reaksiyonla sağlanmaktadır. İnce filmlerin biriktirilmesinde bu mekanizmaların meydana getirdiği etkiler Thornton'un yapı bölgesi modeli ile açıklanmaktadır (Cubillos *et al.* 2013). İnce filmlerin ve kaplamaların optik ve taramalı elektron mikroskobu kullanılarak incelenmesine dayanan yapı bölgesi modelleri, kaplama büyüme davranışını genel olarak ortaya koymaktadır. Bu modeller, atomik ölçekte kaplama büyüme sürecini ve oluşan mikro yapıyı Kelvin cinsinden sıcaklığa bağlı olarak (numune sıcaklığı T , kaplama malzemesi ergime sıcaklığı T_e) tanımlamada kullanılmaktadır. Sıçratma yöntemiyle biriktirme işleminde, çalışma gazı basıncı veya numune bias potansiyeli gibi ilave parametrelerde bölge modelinde kullanılmaktadır. Şekil 8'de gösterilen Thornton bölge modeli üç aşamada meydana gelmektedir. Birinci aşama, kaplamanın taban malzeme yüzeyine taşınmasını içerir. İkinci aşama, atomların taban malzeme veya büyüyen kaplamanın yüzeyine adsorpsiyonu, yüzey üzerinde yayılmasını ve kimyasal reaksiyona girmesini kapsamaktadır. Üçüncü aşamada ise kaplama atomlarının yığın difüzyonu, katı hal reaksiyonları gibi işlemlerle kafes içerisindeki son konumlarına olan hareketlerini içermektedir.



Şekil 8. Thornton tarafından tanımlanan ince film mikroyapısının bölge modeli (Thornton 1986; Kluth *et al.* 2003).

Bölge I: Bu bölge $T/T_e < 0,3$ durumunda oluşmaktadır. Gözenekli morfolojiye sahip sütunlu zayıf bağlanan bir yapıda, küçük ve uzun tane yapısından meydana gelmektedir. Sütunlu yapı, düşük bir difüzyon nedeniyle, taban malzeme yüzeyi tarafından adsorbe edilen atomların zayıf hareketliliği ve kolonların farklı konumlarda ve farklı büyüme hızlarında çekirdeklenmesiyle (atomların taban malzeme yüzeyine temas ettiği bölgede) atomik gölge etkilerinin meydana getirdiği bir yapıda büyümektedir. Bu yapıda büyüme yüzeye dikey konumda fiberler şeklinde ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, birinci bölgedeki sıcaklıktan dolayı gerçekleşen düşük momentum transferi neticesinde yavaş kimyasal birleşim gerçekleşmektedir. Oluşan yapı küçük taneli ve gözeneklidir. Bu yapı orta derecede çekme gerilimine maruz kalır. Ayrıca büyüyen kolonsal taneler arasında nanometre düzeyinde boşluklar meydana gelir. Boşluklar içerisine atmosferik su ve oksijen emilimi olmasından dolayı filmler, düşük kararlılık ve düşük yoğunlukta olmaktadır. Vakum haznesindeki oksijen safsızlıkları, iyon çarpışmasındaki artış (daha düşük basınç, yüksek biriktirme oranı) boşlukların azalmasına ve iç gerilmelerde artışa sebep olmaktadır.

Bölge II: Bu bölge $0,3 \leq T/T_e \leq 0,45$ sıcaklık aralığında meydana gelmektedir. Bu durumda alt tabaka sıcaklığının homojen olarak yükselmesi, atomların kolaylıkla difüzyon

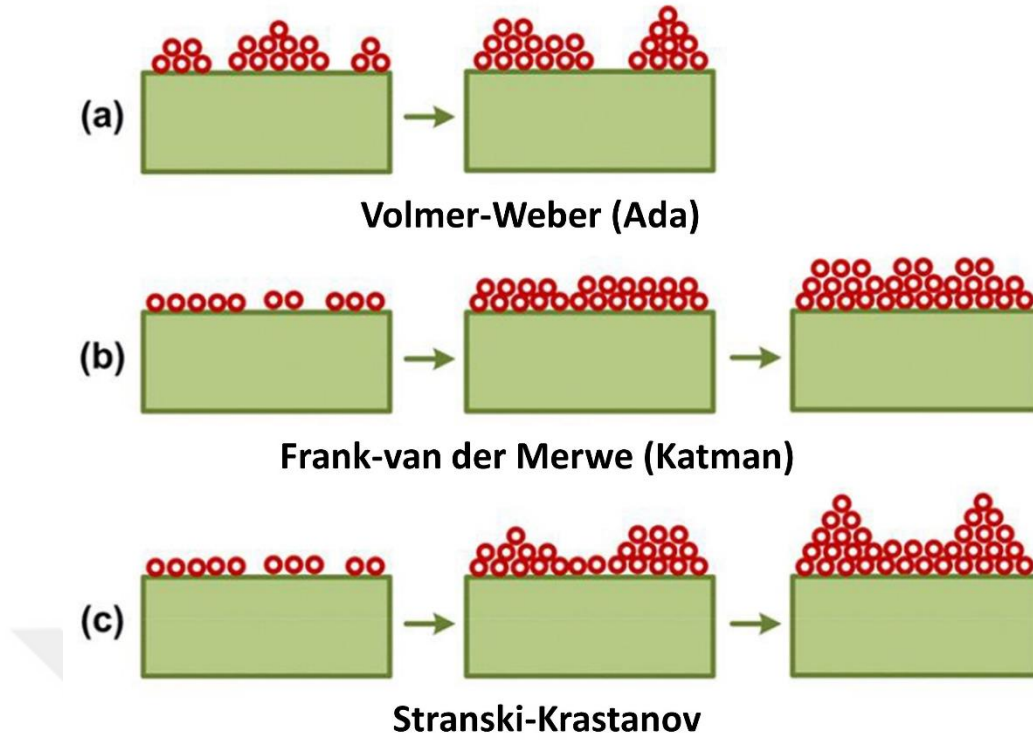
hareketine neden olmaktadır. Atomların difüzyonu, sütunlar arasında daha yüksek bir bağlanma derecesine sahip yoğun bir tabaka meydana getirmektedir. İkinci bölgede yapının oluşmasında etkin olan mekanizma tane büyümesidir. İlk olarak oluşan ince taneler, tane sınırı taşınımı ile komşu kristal yüzeylerinin yönlenmesine bağlı olarak birleşmektedir. İdeal saf kaplamalarda bu bölge yapısal gelişmeleri tanımlayan üst yüzey bölgesidir. Tanelerin büyümesiyle kusurların ortadan kalktığı bir kaplama oluşumu gerçekleşir.

Bölge III: Bu bölge $T/T_e > 0,45$ şartlarında gerçekleşmektedir. Bu bölgede yapı hacimsel difüzyon boyutuna ulaşmaktadır. Hacimsel difüzyon mekanizması, tanelerin büyümesine ve eş eksenli tanelerin oluşumuna sebep olmaktadır. Tanelerdeki difüzyonun artması film morfolojisinde yeniden kristalleşme ile daha büyük bir kristal yapı meydana getirmektedir. Bu bölge sadece safsızlık içeren kaplamalarda ortaya çıkmaktadır. Safsızlık katmanları kristal yapının büyümesini durdurarak yeni çekirdek oluşumuna neden olmaktadır. Bu bölgede eş eksenli, iri taneli bir yapı oluşmaktadır. Filmler kaplama esnasında tavlanmaktadır. Bu durumda belirgin tane sınırları oluşmaz, çok daha iri izotropik taneler elde edilmektedir. Bu bölge özel çalışmalar dışında kaplamalarda istenen bir bölge değildir.

Bölge T: Bu bölge, düşük gözeneklilik sınırları ile tanımlanan I ve II nolu bölgenin bir bileşimi olarak gerçekleşmektedir. Her iki yüzeyden daha yoğun ve daha az pürüze sahip olarak büyümektedir (Thornton 1986; Kluth *et al.* 2003).

Büyütülen kaplamaların yapısı amorf veya kristal özellik gösterebilmektedir. Polikristalin yapılar genellikle kaplama esnasında şekillenmektedir. Genellikle $2/3T_e$ altındaki sıcaklıklarda, ısıdan etkilenmemektedir. PVD sisteminde alt tabakadaki yapı üst tabaka ile benzer olarak büyümektedir. Bu sebeple kalın tane boyutundaki kaplamayı küçük çekirdeklenmelerle ince taneli yapıya dönüştürmek mümkündür. Örneğin hard disklerde manyetik CoCrPt:SiO_2 kayıt katmanının $[0002]$ yönlenmesini indüklemek için Ta/Ru ara katman tabakası biriktirilir. Al, Au, Cu, W, Ti, Cr, Pt gibi elementel birikimler kaplama yapısının polikristalin yapısında büyümesini sağlar. TiN, Al_2O_3 , TiW, SiCr gibi kovalent bağlı veya farklı boyutlu atom bileşikler ise kaplama yapısında amorf olarak büyümektedir (Thornton 1986; Franssila 2010).

Fiziksel buhar biriktirme sistemde kaplamalar atomik ölçekte tanımlanan Şekil 9'da gösterilen üç farklı modelde büyümektedir.



Şekil 9. Farklı ince film büyüme mekanizmaları. a) ada büyüme modeli, b) katman modeli ve c) karma büyüme modeli (Morosan *et al.* 2012).

Tanımlanan bu modeller ada tipi büyüme Volmer-Weber, katman büyümesi Van Der Merwe ve her iki modelin birlikte büyümesi olan Stransky-Krastanov mekanizmasıdır.

Volmer-Weber modeli ada büyümesi olarak da bilinen 3 boyutlu büyümedir. Bu büyüme çeşidinde atomlar uygun konuma geçebilmek için yeterli enerji sahip olması durumunda gerçekleşmektedir. Atomlar, yüzeyden çok birbirleriyle etkileşime girmektedir. Bu model taban malzeme yüzeyinde pürüzlü ince filmlerin oluşmasını sağlamaktadır.

Van Der Merwe modelinde; iki boyutlu bir büyüme mekanizmasıdır. Atomların yüzeylere tercihli olarak bağlanması neticesinde meydana gelmektedir. İnce filmlerin katman katman büyümesine neden olur.

Stranski-Krastanov modelinde; hem Wolmer-Weber hem de Van der Merwe mekanizmalarını kapsamaktadır. Kritik bir katman kalınlığına ulaşılan kadar iki boyutlu, sonrasında ise üç boyutlu olarak büyümektedir (Franssila 2010).

Metal Oksinitrür Yapılar

Son yıllarda metal oksinitrür ince filmleri, beklenmedik ve ilginç özelliklerinden dolayı ilgi çekmekte, aşınma, difüzyon ve korozyona direnç gerektiren koruyucu uygulamalarda dikkat çekici özelliklerinden dolayı yoğun şekilde araştırılmaktadır. Metal oksinitrür yapılar,

teknolojik önemi artan modern seramik malzemeler arasında yer almaktadır. Ayrıca yüksek sertlik, kimyasal kararlılık, dayanıklılık, biyomedikal, tribolojik ve elektronik uygulamalarına kadar uzanan geniş yelpazede kullanım alanına sahiptir. Bu durumun başlıca sebebi, metal yapı üzerindeki nitrür ve oksit yapının ayarlanması neticesinde film özelliklerinin ayarlanabilmesine olanak sağlanması gerçeğinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca azot/oksijen oranının ayarlanması hem bant aralığının ayarlanmasına hemde oksit-nitrür arasındaki kristalografik düzenin ayarlanmasına olanak sağlamaktadır (Vaz *et al.* 2013). Hem metal nitrürlerin hemde oksitlerin temel özelliklerini kullanarak birleştirme fikrinden doğan metal oksinitrürler birçok teknolojik uygulamada yeni malzeme sınıfı alternatifleri oluşturmaktadır. Metal oksitler biyomedikal, gaz bariyeri, dekoratif, aşınma dayanımı gerektiren uygulamalarda geniş bir kullanım alanına sahiptir. Yapılan çalışmalarda azot/oksijen oranının ayarlanması ile oksit ve nitrür arasındaki band genişliği, band boşluğu ve kristalografik düzeninin değişmesi nedeniyle oksinitrür yapıda meydana gelen renk farklılığı elektronik ve optik uygulamalar için de kullanım alanı sunmaktadır (Vaz *et al.* 2013; Carvalho *et al.* 2015). Oksijen ve azot birbirlerine yakın kimyasal, yapısal ve elektronik (polarize edilebilirlik, elektronegatiflik, koordinasyon sayısı ve iyon yarıçapı gibi) özellikler göstermektedir. Oksijenden daha az elektronegatifiteye sahip olan azotun daha fazla polarize olmasından dolayı bir anyonun diğerinin yerini alması durumu, yapısal özelliklerde önemli değişikliklere neden olmaktadır. Oksinitrür yapılarda, oksitler vasıtasıyla yapı içerisindeki optik boşluklar azalmakta, bu sayede elektronlar arasındaki itme kuvveti azalmakta, ayrıca elektron bulutu genişleme etkisi artmaktadır. Yapı içerisindeki nitrürün sahip olduğu yüksek elektrik yükü nedeniyle, daha büyük bir kristal alanının bölünmesine yol açmaktadır. Bu durum daha yüksek oksidasyon durumları ve geçiş metalleri ile yeni bileşiklerin oluşumuna izin vermekte, metal-anyon bağlarının kovalentliğini arttırmaktadır (Fuentes 2012).

Günümüzde, silisyum, galyum, germanyum, krom, titanyum, niyobyum ve çinko gibi elementlerin oksinitrürleri bilimsel çalışmalara konu olmaktadır. Geçiş metali oksinitrür filmlerin fiziksel özelliklerini açıklamak için yeterli bilgi birikiminin bulunmaması bu yapıları daha da cazip hale getirmektedir. “Metal oksinitrürler; kararlı faz yapısında mıdır? Sentezlenebilir mi? Bu özellikleri saf katıların kombinasyonundan mı kaynaklanmaktadır? Oksinitrür yapının bileşimi kontrol edilebilir mi?” gibi çeşitli soruları da beraberinde getirmektedir. Ancak yapılan deneysel çalışmalar sonucunda farklı oksijen azot içeriklerinin ince film özelliklerinin metalik nitrürden yalıtkan oksite dönüştüğünü göstermektedir (Laurikaitis *et al.* 2008; Graciani *et al.* 2009).

Son zamanlarda, fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı titanyum oksinitrür filmlerine olan ilgi artmış ve ağırlıklı olarak N_2/O_2 oranlarına bağlı olarak değişen özellikler geniş bir şekilde incelenmiştir. Titanyum oksinitrürler, metalik oksitlerin (renk, optik özellikler) ve nitrürlerin (sertlik, aşınma direnci) kombine özelliklerini sergilemektedir. Oksijence zengin TiO_xN_y filmler arayüzey oksit tabakasının büyümesini önlemek için metal-yalıtkan-metal (MIM) kapasitif yapılarda (Pradhan and Reucroft 2003) kullanılırken azotça zengin TiO_xN_y filmler iletken uygulamaları için mükemmel bir difüzyon bariyer tabakası ve anti reflektif kaplama olarak kullanılmaktadır (Kim and Lee 1996; Kot *et al.* 2017). Buna ek olarak TiO_xN_y filmlerinin, yansıma önleyici kaplama (Oyama *et al.* 1999) ve biyomalzemeler (Koerner *et al.* 2002) güneş ışığı seçici yüzeyler (Lazarov *et al.* 1995) ve aşınmaya dirençli kaplamalar (Guillot *et al.* 2002) gibi birçok yararlı uygulaması bulunmaktadır (Padmavathy *et al.* 2011).

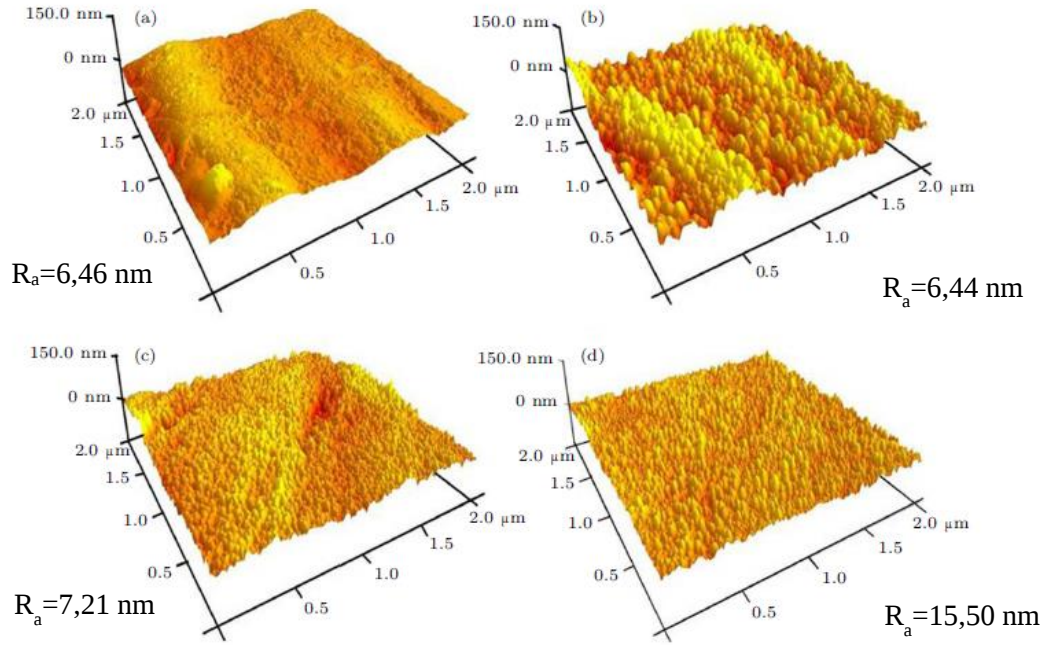
Akademik çalışmalarda, oksinitrür yapıların biyomalzeme olarak araştırılması 20 yıllık bir geçmişe sahiptir. Bu yapılar, sıçratma sistemlerinin avantajlarının kullanılmasıyla istenen çeşitli yüzeyler üzerine kolaylıkla kaplanabilmektedir. Bir implant malzeme vücuda yerleştirildiğinde genel mukavemet özelliklerini ana malzemenin özelliklerinden alsa da vücutla sürekli temas halinde bulunan bölgesi yüzeyi olmaktadır. Yüzey biyouyumluluğu, kardiyovasküler cerrahide kullanılan tıbbi implantların geneli açısından önemli bir problemdir. Hastaların yaklaşık %10'unda stent uygulaması sonrası aynı bölgedeki damarın yeniden daralması durumuyla karşı karşıya kalmaktadır. İnsan organizmasının malzemeye karşı tepkisini önlemek amacıyla implant yüzeyinde kan uyumuna sahip kaplamalar büyütülmektedir. Titanyum oksitler ve oksinitrür kaplamalar mükemmel biyouyumluluk, yüksek kimyasal kararlılık, korozyon direnci ve implant yüzeyine fibrinojen yapışmasını önleme kabiliyeti nedeniyle koroner ve vasküler stentler için umut verici kaplamalardır. Bu kaplama türünün implantın metal tabanını vücut sıvılarının (kan, lenf, interstisyel sıvı) korozif etkilerinden koruduğu bilinmektedir (Leonova *et al.* 2016).

Kalça protezleri üzerinde sert bir kaplama malzemesi olarak kullanılan titanyum nitrürün mükemmel aşınma direnci ve korozyon özelliği bulunmaktadır. TiN kalça protezlerinin oksitlenme mekanizmasını spektroskopik ve moleküler dinamik teknikleri kullanılarak araştırılan bir çalışmada; canlı doku analizleri, kemik oluşumu için gerekli olan kalsiyum fosfat fazlarının TiN kaplı kalça protez kafaları üzerinde gelişigüzel büyüdüğü ve kuvvetli bir şekilde tutunduğundan bahsedilmiştir. Bu durumun sebebi olarak kalsiyum fosfat çekirdeğinin ilk basamağı olan Ca^{+2} iyonlarının birikmesinin tercihli olarak TiO_xN_y oksinitrür yüzeyinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu durum, Ca^{+2} iyonlarının adsorbsiyonunu arttıran yüzey oksijen atomlarındaki negatif yükün belirli bir yere yoğunlaşmasına sebep olan karışık

valans durumuna sahip yüzeydeki Ti atomlarının varlığından kaynaklanmaktadır. Bu sonuçlar nitrürleme sonrası kontrollü oksidasyonun titanyum implant yüzeylerinde *in-vivo* oluşumunu desteklediğini göstermektedir. Bahsedilen durum kaplanmamış standart Ti implantlarda görülmemektedir (Piscanec *et al.* 2004).

Yapılan başka bir çalışmada, ticari olarak temin edilebilen titanyum oksinitrür kaplı stentlerin (TitanTM, Hexacath, Fransa) kaplanmamış paslanmaz çelik stentlerden farklı olarak daha iyi bir klinik performans sergilediği gösterilmiştir. *İn-vitro* çalışmalarda, paslanmaz çelik ile karşılaştırıldığında düşük trombosit yapışması ve fibrinojenik bağlanma belirlenmiştir (Windecker *et al.* 2001, 2005). Karjalainen ve ark. (Karjalainen *et al.* 2006, 2008), TiO_xN_y kaplı stentlerin ayrıntılı karşılaştırmalı klinik çalışmalarını sunmuş ve kardiyovasküler uygulamalar için kaplamaların performansı ile ilgili olumlu sonuçlara varılmıştır. Durual ve diğ. (Durual *et al.* 2011; Rieder *et al.* 2012), diş implantları uygulamaları için CrCo ve Ti taban malzemelere biriktirilmiş TiO_xN_y kaplamalardan; kemik hücrelerinin proliferasyonunun 1.5 kat arttığı, TiO_xN_y kaplamaların kontrol malzemesi ile karşılaştırıldığında ileri farklılaşma (diferansiasyon) evrelerini sürdürdüğü bulgularına ulaşmışlardır. Bu etkiler sonucunda *in-vivo* şartlarda daha hızlı başlangıç osseointegrasyona dönüştüğü belirtilmiştir (Durual *et al.* 2013). Bu çalışmadan elde edilen bulguların genel bir sonucu, TiO_xN_y kaplamalarının insan birincil osteoblastların proliferasyonunu uyarması, osseointegrasyonu hızlandırması ve taban malzemesinden bağımsız olarak etkili olmasıdır. TiO_xN_y kaplamaları, saf Ti taban malzemesine kıyasla 1,2-1,4 kat daha fazla hücre çoğalmasına sahiptir. Bu sebeple Ti taban malzemesi üzerine TiO_xN_y kaplamalarının biyomalzeme çalışmalarında daha uygun olduğu belirlenmiştir (Banakh *et al.* 2014).

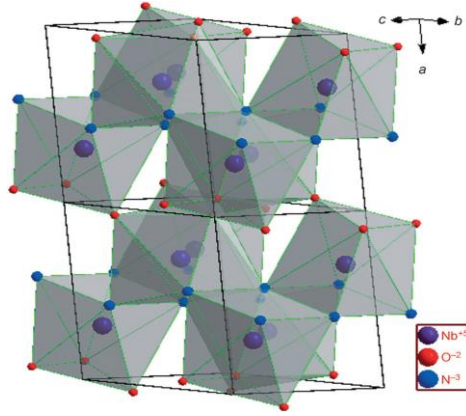
NiTi taban malzeme üzerine TiO_xN_y ince filmlerinin manyetik alanda sıçratma tekniği ile büyütüldüğü bir çalışma da ise implant malzemesinin yüzey pürüzlülüğünün artmasının biyoyumu arttırdığı bildirilmiştir. Kaplama öncesi ve sonrası yüzey morfolojisi Şekil 10'da gösterilen çalışma da, oksijen miktarı arttıkça yapının yüzey pürüzlülük değerinin de arttığı belirlenmiştir (Saleem *et al.* 2015).



Şekil 10. NiTi taban malzeme üzerine TiO_xN_y ince filmlerinin AFM yüzey morfolojisi (a) işlenmemiş (b) 5 sccm O_2 ($\text{N}_2=15$ sccm), (c) 10 sccm O_2 ($\text{N}_2=10$ sccm) ve (d) 15 sccm O_2 ($\text{N}_2=5$ sccm) (Saleem *et al.* 2015).

Diğer oksinitrür yapıları benzer olarak zirkonyum oksinitrür (ZrO_xN_y) kaplamalarda, paslanmaz çeliklerin korozyon ve aşınma direncini arttırmaktadır. ZrO_xN_y de diğer oksinitrürlere benzer şekilde oksitin iyonik özelliği, nitrürün kovalent niteliğiyle birleşerek farklı özellikte yeni malzemeler üretilmektedir. Oksitin kristal yapısına azot elementinin girişi, yarı iletken karakteristiklerini veren ve kristalin sertliği ve korozyon direncini destekleyen oksijen boşluklarının oluşmasını sağlamaktadır. Öte yandan 316L üzerine büyütüldüğünde ortopedik kullanımlar için osseointegrasyona sahip güçlü bir biyomalzeme ekipmanı olmaktadır (Cubillos *et al.* 2013). 316L üzerine ZrO_xN_y oksinitrür tabakasının büyütüldüğü bir çalışma da kemik hücrelerinin korozyon testi ve biyoyumluluk tepkisi değerlendirilmiş ve oksinitrür tabakanın korozyon direncini 13.5 kat arttırdığı, biyoyumluluk için ise kemik hücre çizgisinin adezyon ve çoğalmasının %64 oranında arttığını göstermiştir. Ayrıca çelik üzerine ZrO_xN_y yapısının altın rengine sahip olmasından dolayı takı uygulamalarında da kullanım imkânı sunmaktadır (Alfonso *et al.* 2012). Ayrıca ZrO_xN_y termometre, ısı sensörü olarak da kullanılabilir (Guo *et al.* 2015). Metal oksit ve nitrür yapılarının bant aralığı 1,8-3,3 eV aralığındadır. Ancak oksinitrür oluşumunda bu bant aralığı oksit ve nitrürler için gerekli bant aralığından oldukça düşüktür. Pauling elektronegatiflik farkının oksijen için 3,44 ve azot için 3,04 olması iyonik özelliklere sahip olan oksitlerin aksine yapıya kovalent özellikler kazandırmaktadır. Bu durum ise oksinitrür yapıların iletkenlik özelliğini arttırmaktadır (Bertóti 2012).

Şekil 11’de gösterilen niyobyum oksinitrür (NbO_xN_y), biyouyumlu malzeme, optik dalga kılavuzları, Josephson eklemi veya yüksek hız çeliklerinin korozyon dayanımlarının artırılması için CrON/NbON çoklu tabaka çalışmalarına da konu olmuştur (Vaz *et al.* 2013).



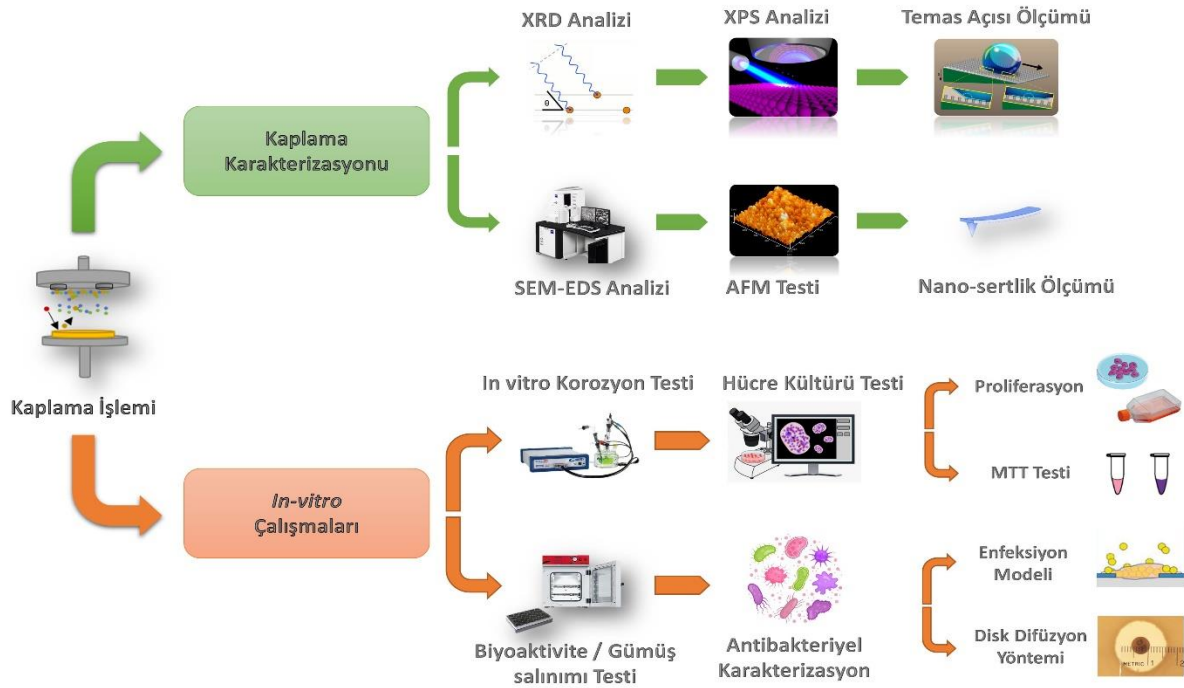
Şekil 11. NbON’in kristal yapısı (Wang *et al.* 2012).

Oksinitrür filmlerinin büyütülmesi vakum odası içerisindeki oksijen ve azot moleküllerinin miktarıyla doğrudan bağlantılıdır. Bu etki Martin ve arkadaşları (Martin *et al.* 2001) tarafından DC manyetik alanda sıçratma tekniği kullanılarak yaptıkları bir çalışma da; TiO_xN_y büyütme işleminde kimyasal bileşim, yapısal gelişim ve elektriksel özelliklerin x ve y değerlerinin bir fonksiyonu olarak değiştiğini bulmuşlardır. Ancak oksinitrür yapıları büyütmek için çoğunlukla reaktif RF/DC manyetik alanda sıçratma ve katodik reaktif ark buhar biriktirme teknikleri kullanılmaktadır (Mohamed *et al.* 2007).

Oksinitrür, kardiyovasküler, nöronal, immün sistem ve kemiğin içinde her yerde bulunan bir sinyalleme molekülüdür. Osteoblast proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırmakta ve sonraki kemik gelişiminde mekanik olarak uyarılmasıyla katkı sağlamaktadır (Riancho *et al.* 1995; Fox *et al.* 1996; Hikiji *et al.* 1997; Kawata and Mikuni-Takagaki 1998; Otsuka *et al.* 1998; Mancini *et al.* 2000; Durual *et al.* 2011)

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada; implant malzemesi olarak sıklıkla kullanılan 316L paslanmaz çelik malzemeler üzerine, NbO_xN_y kaplamalar, korozyondan korumak, antimikrobiyal özelliklerini ve biyoyumunu arttırmak amacıyla Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) sistemi kullanılarak, farklı azot/oksijen oranlarında büyütülmüş ve kaplama parametrelerinin, konu edilen özellikler üzerine olan etkisi incelenmiştir. Kaplamaların yapısal karakterizasyonu XRD, AFM, XPS, SEM-EDS, temas açısı ölçümü ve nano-sertlik ölçüm sistemleri ile incelenmiş, kaplamaların biyoyumluluğunu değerlendirmek amacıyla, sağlıklı insan akciğer fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. Hücre proliferasyonu, MTT sitotoksosite testleri, *Escherichia coli* (*E.coli*) ve *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) bakteri üreme deneyleri ve biyoaktivite testi ile belirlenmiştir. Ayrıca NbO_xN_y yapılarına gümüş ilavesinin yukarıda sayılan özellikleri nasıl etkilediği araştırılmıştır. Uzun süre korozif ortamla temas halinde olan kaplanmış taban malzemelerden gümüş, niyobyum, demir, krom ve nikel salınımları ICP-MS sistemi ile analiz edilmiştir. Yapılan çalışmaların grafiksel özeti Şekil 12’de gösterilmiştir.



Şekil 12. Yapılan çalışmaların grafiksel özeti.

Taban Malzeme

Taban malzeme olarak 316L alaşımı kullanılmıştır. Malzemeler 12 mm çapında 4,5 mm kalınlıkta kesilerek hazırlandıktan sonra yüzeyleri sırasıyla 180, 240, 400, 600, 800 ve 1200 mesh SiC zımparalarla aşındırılmış, daha sonra elmas pasta ile parlatılarak ortalama yüzey

pürüzlülük değeri $R_a \approx 0,18 \mu\text{m}$ olacak şekilde hazırlanmıştır. Numuneleri PVD sistemine kolaylıkla yerleştirebilmek ve yüzeylerini homojen kaplayabilmek için her bir numunenin yan yüzeyinde 1.5 mm çapında delik açılmıştır. Numuneler kaplama sistemine yerleştirilmeden önce 10'ar dakikalık süreyle sırasıyla aseton ve izopropil alkol içerisinde ultrasonik banyoda temizlendikten sonra soğuk hava fanıyla kurutulup kaplama işlemine hazır hale getirilmiştir. Kullanılan 316L paslanmaz çelik taban malzemenin EDS analizi Tablo 7'de sunulmuştur.

Tablo 7. 316L Taban Malzemenin EDS Analizi (% ağırlık)

C	Mn	P	S	Si	Cr	Ni	Mo	N	Fe
0,02	1,20	0,04	0,035	0,71	17,02	10,02	2,27	0,01	70,69

PVD Kaplama İşlemi

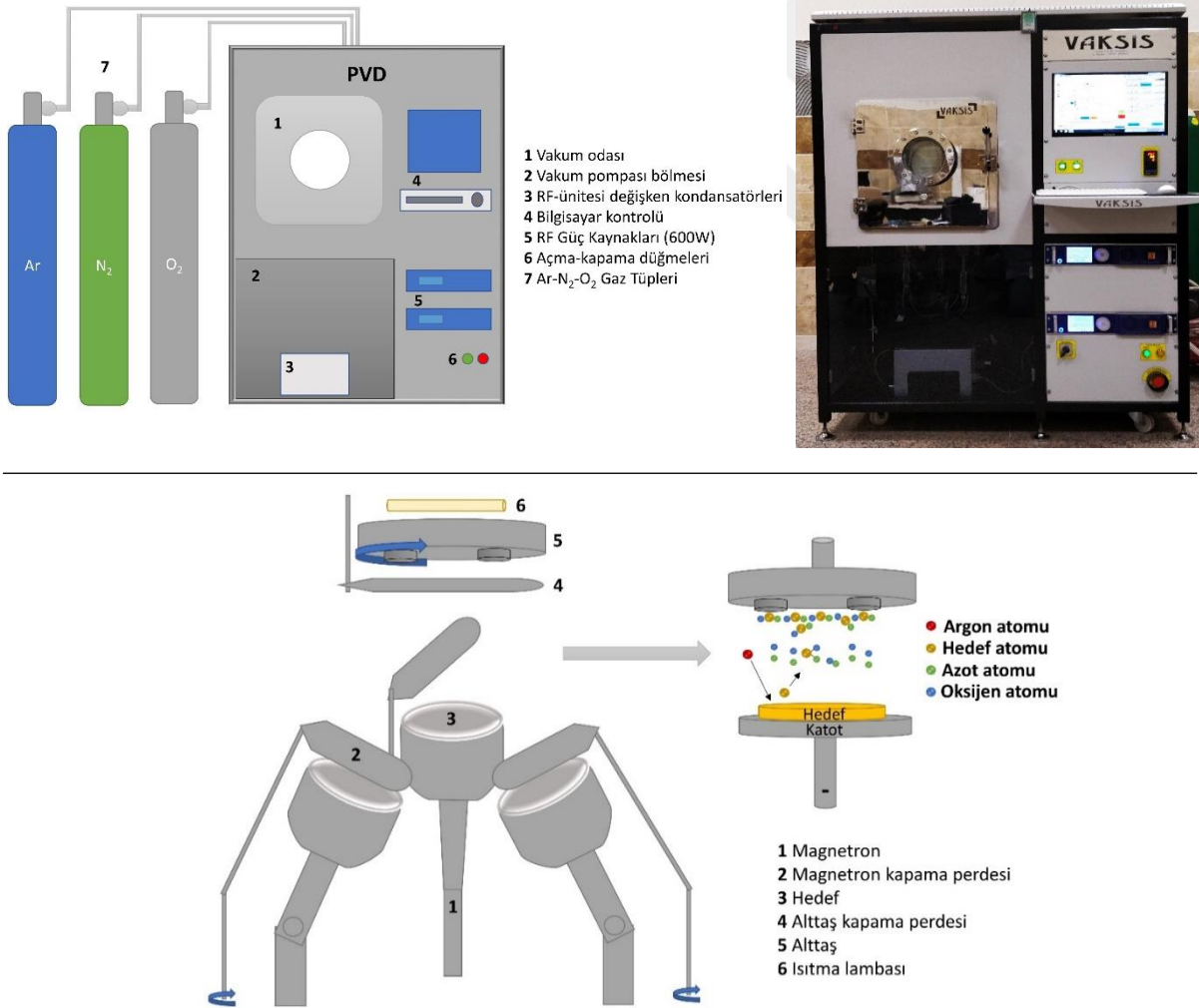
Kaplama işlemine hazır hale getirilen numuneler, Şekil 13'te gösterilen Vaksis Midas PVD sisteminde kaplama işlemine tabi tutulmuştur. Öncelikle kaplama işlemine hazır hale getirilen taban malzemeler, kaplama sisteminin döner alttaş tablasına sabitlenmiştir. Birinci magnetrona, 3 inç çapında 0,25 inç kalınlığında %99,95 saflıkta niobyum hedef, ikinci magnetrona ise yine aynı boyutlarda %99,95 saflıkta gümüş hedef bağlanmıştır. Hedeflerle, alttaş arasındaki mesafe 50 mm olarak ayarlanmıştır. Numunelerin ve hedeflerin yerleştirilmesi sonrasında kaplama sisteminin kapağı kapatılarak odanın vakuma alınması sağlanmıştır. Cihaz vakum odası, 5×10^{-6} Torr vakum seviyesine gelene kadar beklenmiş, ortamda bulunabilecek ve yapıyı değiştirebilecek safsızlıklardan arındırılmıştır. Cihaz içerisinde plazma oluşturabilmek ve hedef atomlarını alttaş malzemeye sıçratabilmek amacıyla argon gazı; oksinitrür yapıyı oluşturmak için ise reaktif olarak oksijen ve azot gazları kütle akış kontrolörü kullanılarak vakum odasına verilmiştir. Kaplama sistemine 50 sccm ($\text{cm}^3/\text{dakika}$) akış hızında %99,995 saflıkta Argon gazı (Linde) sıçratma işleminde kullanmak amacıyla verilmiştir.

Tablo 8. PVD ile Büyütülen Kaplamalar.

Numune kodu	Azot/Oksijen oranı	Azot miktarı (sccm)	Oksijen miktarı (sccm)	Uygulanan güç (Watt)
R2	2	10	5	Nb-200
R5	5	10	2	Nb-200
R10	10	10	1	Nb-200
R2+Ag	2	10	5	Nb-200, Ag-15
R10+Ag	10	10	1	Nb-200, Ag-15

Kaplama sisteminde 5 farklı kaplama bileşimi oluşturulmuştur. N_2/O_2 oranlarına göre isimlendirilen kaplamalardan R2 olarak isimlendirilen kaplama için N_2/O_2 oranı 2, R5 olarak

isimlendirilen kaplama için N_2/O_2 oranı 5, R10 olarak isimlendirilen kaplama için ise N_2/O_2 oranı 10 olarak belirlenmiştir. Bu kaplamalara yapılan ilk analizler sonrasında benzerliği az olan özellikteki R2 ve R10 numunelerine gümüş ilave edilmiştir. Gümüş ilaveli $N_2/O_2=2$ olan kaplamalar R2+Ag ve yine gümüş ilaveli $N_2/O_2=10$ olan kaplamalar ise R10+Ag olarak kısaltılmış, çalışma boyunca kodlanan bu isimlendirilmeler kullanılmıştır. Büyütülen kaplamaların kaplama parametreleri Tablo 8’de gösterilmiştir. R2, R5 ve R10 kaplamalarında Nb hedefin bağlı olduğu magnetrona RF güç kaynağı ile 200 Watt güç uygulanmıştır. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarında ise Nb hedefin bağlı olduğu magnetrona RF güç kaynağı ile 200 Watt ve Ag hedefin bağlı olduğu magnetrona RF güç kaynağı ile 15 Watt güç uygulanmıştır. 10 mTorr vakumda 200 watt güce çıktıktan sonra sıçratma verimini arttırmak amacıyla vakum odası basıncı 5 mTorr seviyesine getirilmiştir. Bütün kaplama işlemlerinde taban malzemelerin homojen olarak kaplanabilmesi için 10 dev/dk hızla alttaşın dairesel dönüşü sağlanarak yüzeylerin homojen olarak kaplanması ve gölgeleme etkilerinin en aza indirilmesi sağlanmıştır.



Şekil 13. Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) cihazı ve şematik gösterimi.

Kaplama işleminden önce alttaş, kapama perdeleri ile plazma içerisinde sıçratılan atomlardan korunmuştur. Alttaşın kaplama adezyonunu arttırmak amacıyla numuneler kaplama süresi boyunca 400 °C sabit sıcaklıkta tutulmuştur. Kaplama işlemlerinde azot gazı (%99,998 saflık, Linde) 10 sccm'de sabit tutularak, oksijen gazı (%99,999 saflık, Linde) 1, 2 ve 5 sccm olarak gaz kontrolü sağlanmıştır. R2, R5 ve R10 kaplama işlemlerinde 316L çelik yüzeyinden, oksinitrür yapıya homojen geçiş sağlanabilmesi için alttaş yüzeyleri 10 dk boyunca herhangi bir reaktif gaz kullanılmadan metalik Nb ile kaplanmıştır. Sonrasında azot gazı akışı kademeli olarak her 2 dk'da 1'er sccm arttırılarak sisteme verilerek NbN yapısı büyütülmüştür. Azot gazı akışı 10 sccm değerine ulaştıktan sonra oksijen gazı her 1 dk'da 0,5 sccm arttırılarak her kaplama için belirlenen değere ulaştıktan sonra toplamda 180 dk kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarında ise tüm işlem R2 ve R10 kaplamaları ile benzer yapılmış ancak azot gazı 10 sccm değerine ulaştıktan sonra ortama oksijen gazı verirken Ag bağlı magnetronun kapama perdesi açılarak kaplama yapısına girişi sağlanmıştır. Kaplama sonrasında numunelerin termal etkilerden ve oksidasyondan korunması amacıyla sistem vakum ortamında soğumaya bırakılmış, oda sıcaklığına geldiğinde sistemin vakumu bozularak numuneler çıkarılmıştır.

Kaplamaların Karakterizasyonu

1. Faz incelemeleri

Oksinitrür kaplamaların yapı ve faz analizleri X-ışını kaynağı olarak monokromatize Cu-K α ($\lambda=0.15406$ nm) Bragg-Brentano konfigürasyonunda PANalytical Empyrean marka düşük açılı (grazing incidence) X-ışını Difraktometre (XRD) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analiz sonuçları X'Pert Highscore plus yazılımı kullanılarak JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) standartlarına göre değerlendirilmiştir.

2. Şekil ve yüzey morfolojisi incelemeleri

Oksinitrür yapıların yüzey morfolojileri, kesit görüntüleri ve kesit profilleri Zeiss-Sigma 300 model Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile görüntülenmiştir. Yüzey pürüzlülüğü özellikleri Hitachi 5100N marka Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) ile belirlenmiştir. Kaplamaların AFM görüntüleme işlemi, tapping modu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm yapıların temas açıları, 20°C sıcaklıkta, 10 saniye boyunca, 5 μ l saf su damlacığı ile Sessil damla ölçümü yöntemi kullanılarak Attension Theta Flex marka optik tansiyometre ile ölçülmüştür.

3. Spektroskopik incelemeler

NbO_xN_y ince film yüzeylerinin elementel bileşimi ve kimyasal bağ yapıları Specs-Flex marka X-Işını Fotoelektron Spektroskopi (XPS) cihazıyla incelenmiştir. XPS analizleri öncesinde kaplama yüzeylerinde oluşan kontaminasyonlardan kurtulmak amacıyla kaplamalar argon iyonları ile bombardıman edilerek yüzeyler temizlenmiştir. Elde edilen verilerin analizinde CasaXPS yazılımı kullanılarak dekonvülyasyon (pik ayırma) ve arka plan çıkarımı gerçekleştirilmiştir. C 1s spektrumu 284,5 eV değerine merkezlenerek Origin yazılımıyla grafikler çizdirilmiştir. Nb 3d için Shirley tipi arka plan, O 1s ve N 1s için lineer arka plan kullanılmıştır (Hofmann 2012).

Kaplamaların korozyon ürünlerinin ve SBF sonrası yüzeyde oluşan oksinitrür yapıların kimyasal analizleri, SEM cihazına bağlı olarak çalışan Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS) EDAX Element cihazıyla belirlenmiştir.

4. Nano-sertlik incelemeleri

NbO_xN_y ince filmlerin elastisite modülü ve sertlikleri CSM nano indenter ile ASTM E2546-07 standardına göre 20 mN yükte, 10 sn yükleme süresinde, Berkovich uç kullanılarak ölçülmüştür. Her numune için 5 ölçüm yapılarak ortalamaları alınmıştır. Sertlik değerleri Oliver-Pharr metoduna göre hesaplanmıştır.

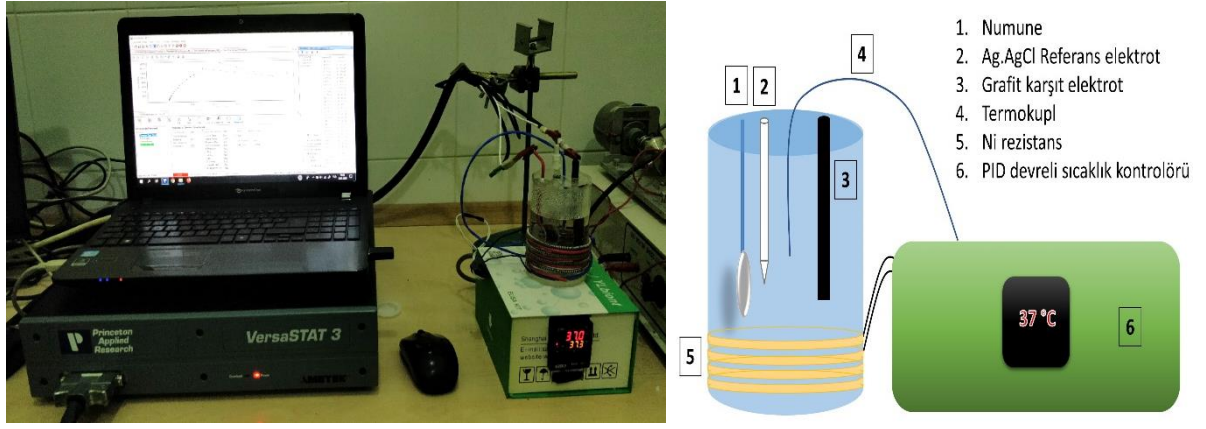
In-vitro Ortamında Korozyon Testi

Yapısal olarak karakterize edilen kaplamalar ve taban malzemeler ASTM G59 standartlarına göre (Yuliana Prastika *et al.* 2018) Tablo 9’da yapımında kullanılan reaktifleri gösterilen Polifarma marka laktatlı Ringer solüsyonu içerisinde AMETEK Versastat 3 marka potansiyostat cihazı kullanılarak korozyon testine tabi tutulmuştur.

Tablo 9. Laktatlı Ringer Solüsyonu Bileşimi (Ünal *et al.* 2001)

Sıra	Reaktif	Miktar (g/L)
1	NaCl	6
2	KCl	0,30
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,2
4	$\text{NaC}_3\text{H}_5\text{O}_3$	3

Korozyon testlerinde, vücut ortamını simüle etmek amacıyla laktatlı Ringer çözeltisini $36,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığında sabit tutmak amacıyla Şekil 14’te gösterilen korozyon hücresi tasarlanarak üretilmiş ve deneylerde kullanılmıştır. Bu korozyon hücresine bağlanan integral türevsel denetleyici (Proportional Integral Derivative-PID) ve termokupl ile korozyon deneyleri sırasında çözeltinin sıcaklık değeri $36,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ aralığında sabit tutulmuştur.



Şekil 14. Korozyon testlerinin gerçekleştirildiği potansiyostat sistemi

Test, Ag/AgCl/KCl referans elektrot (0.222 V vs. H), bir grafit karşıt elektrot (CE) ve deneysel numuneler çalışma elektrotu (WE) olarak kullanılarak üç elektrot tekniğine göre, 1 mV/s tarama hızında gerçekleştirilmiştir. Akım-Potansiyel eğrileri Origin yazılımı ile Stern-Geary lineer polarizasyonuna göre hesaplanmış, Origin yazılımı kullanılarak çizilmiştir. Korozyon işlemi sonrasında kaplama yüzeylerinde meydana gelen değişiklikler SEM analizi ile görüntülenmiş, kimyasal bileşimleri EDS analizi ile karakterize edilmiştir.

***In-vitro* Şartlarında Biyoyum Özelliklerinin Belirlenmesi**

Üretilen kaplamaların biyoyumluluk testleri *in-vitro* olarak, insan akciğer fibroblast hücre hattı kullanılarak aşağıda belirtilen deneysel yöntemler izlenilerek üç aşamada Şekil 15'te gösterilen DAYTAM hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 15. Hücre kültürü laboratuvarı.

Sağlıklı insan fibroblast hücre hattının büyütülmesi ve dondurularak stoklanması

Tüm çalışmada hücre deneyleri, sağlıklı insan akciğer fibroblast hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fibroblast hücreleri, %10 fetal sıgır serum (FBS) içeren Dulbecco's Modified Eagle's besiyeri içerisinde, $36,5\pm0,5^{\circ}\text{C}$ 'de, %5 CO_2 ve %90 nem sağlayan inkübatörde, yoğunluk olarak %85-90'ı steril şişeye tutunma (konfluent) durumuna gelinceye kadar büyütülmüştür. Büyütülen hücreler, % 0,05 etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) kimyasalı ile kültür kabından ayrılarak yüzeylere ekim yapılması için hazır hale getirilmiştir.

Fibroblast hücre ekimi ve çoğalması

Hücre ekimi öncesinde, hücre ekimi yapılacak malzeme yüzeyleri %70 etil alkolle temizlendikten sonra 24 kuyucuklu plakalara konulmuş, 5 saat boyunca % 70 alkol içerisinde, ultraviyole (UV) ışığı altında sterilize edilmiştir. %85-90'ı konfluent duruma gelen hücrelerin, 100 μl besiyeri içinde 15.000 hücre/ mm^2 olacak şekilde alınarak yüzeylere ekimi sağlanmıştır. Hücre ekimi gerçekleştirilen yüzeyler, $36,5\pm0,5^{\circ}\text{C}$ 'de %5 CO_2 ve %97 nem sağlayan inkübatör içerisinde 72 saat süresince bekletilerek hücre çoğalmasına izin verilmiştir.

Hücrelerin proliferasyonlarının belirlenmesi

72 saatlik süre sonunda inkübatörden çıkarılan ekim yapılmış yüzeyler, fosfat tamponlu salin (PBS) çözeltisiyle yıkandıktan sonra % 4 paraformaldehit çözeltisi içerisinde 1 saat bekletilerek hücrelerin yüzeye sabitlenmesi gerçekleştirilmiştir. Mikroskop altında hücrelerin şeffaf görünmesi nedeniyle, yüzey ile görsel ayrımı gerçekleştirebilmek amacıyla 3 dakika boyunca kristal viyole boya ile hücrelerin renk değiştirmesi sağlandıktan sonra, damıtılmış su ile yüzey üzerinde kalan fazla boyaların temizlenmesi sağlanmıştır. Yüzeylerin kurutma işlemi sonrası, optik görüntüler, Nikon Eclipse LV150 ters polarize ışık mikroskobu ile farklı büyütmelelerde elde edilmiştir.

Hücre canlılığının belirlenmesi

Yüzeylerde çoğalan hücrelerin ne kadarının canlı olarak kaldığını (proliferasyon aktivitelerini) belirlemek amacıyla MTT sitotoksikite testi uygulanmıştır. Bu testte hücre ekimi ve çoğalması aşaması, gerçekleştirildikten sonra, 72 saatlik süre sonunda her kuyuda 100 μL /yüzey olacak şekilde 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolyum (MTT) stok solüsyonu ilave edilmiştir. Sadece canlı hücrelerin mitokondrileri tarafından sentezlenerek formazan kristallerine dönüştürülen MTT stok solüsyonu, 4 saat boyunca bekletilerek kristal oluşumu sağlanmıştır. Oluşan renkli solüsyonlar, 96 kuyucuklu plakaya alınarak, ortaya çıkan rengin şiddeti Biotek Epoch marka Elisa okuyucu ile 570 nm

dalga boyunda belirlenmiştir. Test edilen yüzeyler ile kontrol grubunun absorbans değeri kıyaslanarak yüzde cinsinden canlı hücre sayısı hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki hücre canlılığındaki farklılıklar Graphpad 6.0 yazılımı kullanarak tek yönlü Anova-Dunnet testi ile değerlendirilmiştir (Meerloo *et al.* 2011; Divya Rani *et al.* 2012).

***In-vitro* Şartlarında Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi**

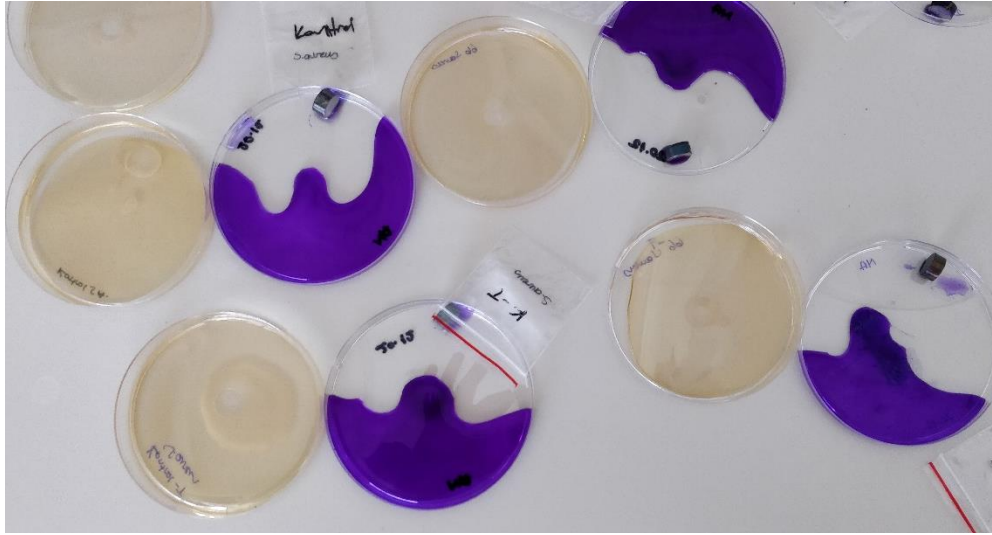
Kaplamaların antimikrobiyal özelliklerinin karakterizasyonu için iki farklı yöntem uygulanmıştır;

Enfeksiyon modeli

McFarland 0.5'e göre *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri hazırlandıktan sonra 1 ml'de 150 bakteri olacak şekilde seri sulandırma işlemi yapılmıştır. Elde edilen bakteri içeren solüsyondan 1 ml alınarak 2 ml'lik nutrient broth besiyerine eklenerek bakterilerin çoğalabileceği uygun ortam hazırlanmıştır. Numune yüzeylerini temizlemek amacıyla önce ilk olarak %70'lik, sonra %96'lık etil alkolde 5'er dakika boyunca tutulan örnekler, bakteri ilavesi yapılan nutrient broth sıvı besiyerine konulmuştur. Tüm örnekler $36,5 \pm 0,5$ C°'de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Birinci inkübasyonun sonunda kaplama örnekleri steril fizyolojik tuzlu su ile yıkanarak, steril yeni bir nutrient broth besiyerine konulmuştur. 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonunda da aynı işlemler tekrarlanmıştır. Her inkübasyon sonrası, örneklerden 200'er mikrolitre örnek alınarak steril ELISA plakalarında, ortaya çıkan rengin şiddeti Biotek Epoch marka Elisa okuyucu ile 600 nm dalga boyunda belirlenmiştir.

Disk difüzyon yöntemi

Çalışmanın güvenilirliğini artırmak için ikinci metot olarak disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. 72 saat süresince nutrient broth besiyerinde inkübe edilen örnekler 72 saat sonunda alınarak Mueller Hinton Agar üzerine bırakılmıştır. Sonrasında $36,5 \pm 0,5$ C°'de 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda oluşan bakteriyel alan çaplarının mm olarak ölçümü sağlanmıştır. Inkübasyon sonrası Mueller Hinton Agar üzerindeki bakteriyel yayılımlar ve boyama işlemi Şekil 16'da gösterilmiştir.



Şekil 16. Kaplamaların disk difüzyon ve boyama aşaması.

Biyoaktivite Testi (Daldırma testi)

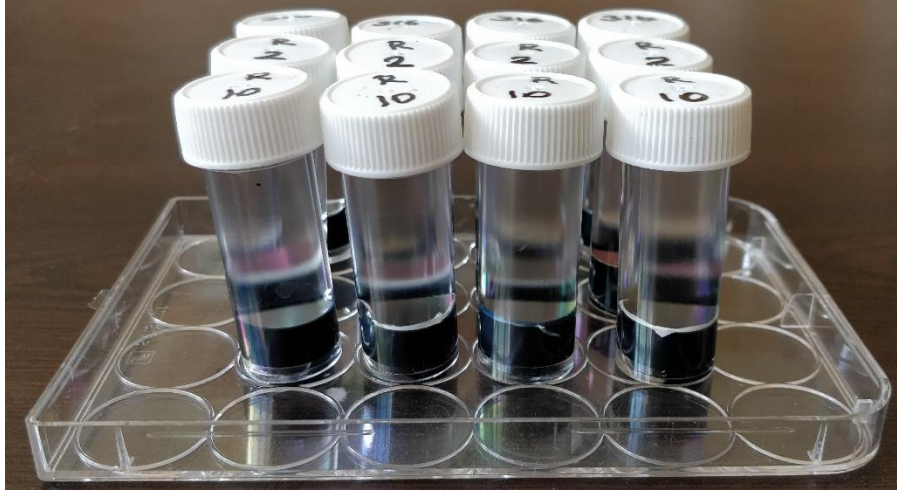
Kaplanmış ve kaplanmamış numunelerin yüzeylerinde apatit faz oluşumunu gözlemek amacıyla ISO 23317 standartlarına göre Tablo 10'da kimyasal bileşimi verilen yapay vücut sıvısı (SBF) hazırlanmış, 7,4 pH'da $36,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de her 24 saatte bir çözelti değişimi yapılarak 21 gün süresince etüvde bekletilmiştir. 21 gün sonunda yüzeylerin SEM görüntüsü almış, EDS analizi ile kimyasal bileşimleri belirlenmiştir.

Tablo 10. SBF Çözeltisinin Kimyasal Bileşimi (Kokubo and Hiroaki 2006)

Sıra	Reaktif	Miktar (g/L)
1	NaCl	8,035
2	NaHCO ₃	0,355
3	KCl	0,225
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,231
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,311
6	1 mol HCl	39
7	CaCl ₂	0,292
8	Na ₂ SO ₄	0,072
9	TRIS	118

Metal İyonu Salınımının Belirlenmesi

R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının Ag, Nb ve 316L taban malzemenin Cr, Ni'in insan vücuduna salınımını simüle etmek için metal iyon salınımları ölçülmüştür. Test yapılacak numunelerin yan ve alt yüzeylerinin sıvı içerisine salınım vermemesi için, numune boyutlarında, 3d yazıcıda koruyucu kaplar üretilmiştir.



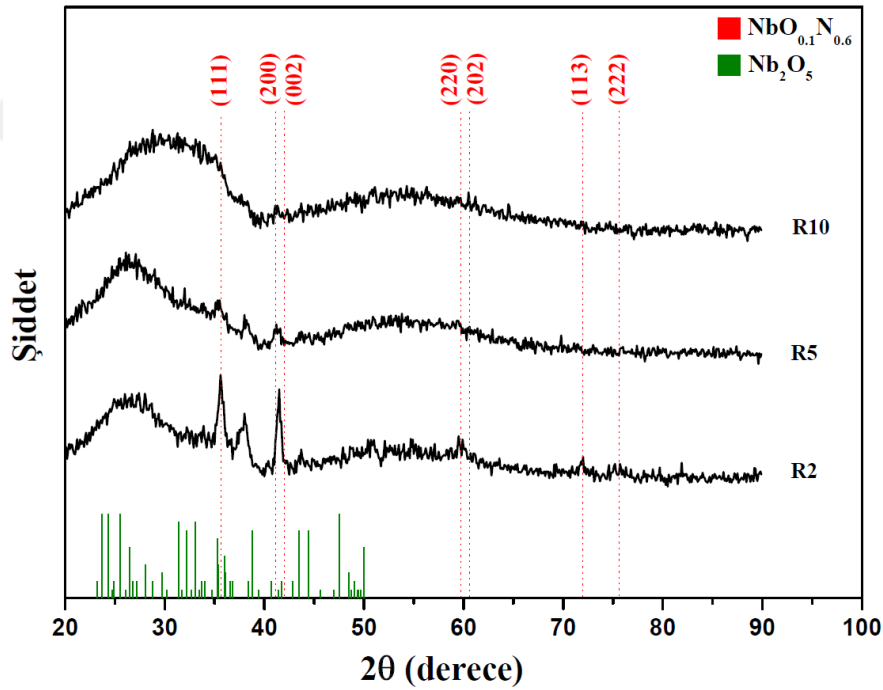
Şekil 17. R2+Ag, R10+Ag kaplamaları için Ag, 316L taban malzemesi için Cr, Ni salınımlarının ölçülmesinde kullanılan kaplar ve numuneler.

Koruyucu kap ve numune arasına sıvının sızmasını engellemek için numune kenarları teflon bant ile sarıldıktan sonra koruyucu kaplara yerleştirilmiştir. Hazırlanan numuneler numune kaplarına yerleştirildikten sonra 0.01M Sigma marka fosfat tamponlu salin (Phosphate Buffered Saline-PBS) çözeltisi kaplara doldurulmuş, olası buharlaşmalardan kaçınmak için ağızları sıkıca kapatılmıştır. Test için hazırlanan ve Şekil 17’de gösterilen numuneler 48 saat boyunca 37°C’de etüvde bekletilmiştir. 48 saat sonrasında kaplardan alınan fosfat tamponlu salin çözeltisi ICP-MS cihazı ile analiz edilmiştir (Ewald *et al.* 2006; Radtke *et al.* 2018).

ARAŞTIRMA BULGULARI

Kaplamaların XRD Analizi

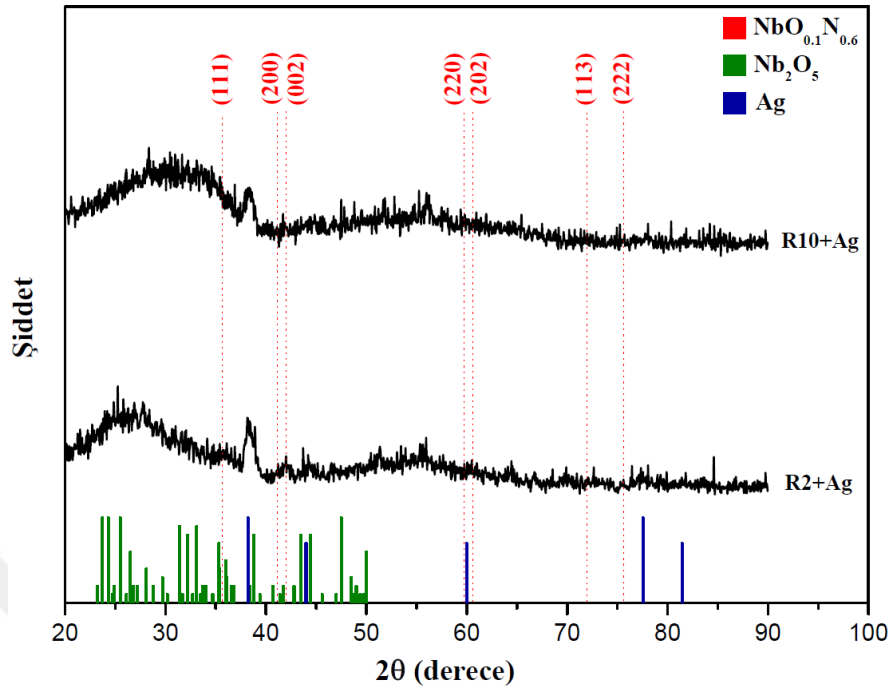
Farklı N_2/O_2 reaktif gaz akışlarının bir fonksiyonu olarak oluşan NbO_xN_y ince filmlerin kristal yapısını belirlemek için XRD analizleri yapılmıştır. Elde edilen XRD grafikleri, niobyum oksinitrür kaplamalar için Şekil 18’de, gümüş ilave edilen kaplamalar için ise Şekil 19’da gösterilmiştir. Her iki tür kaplama için de XRD analizleri sonucunda, 20° - 35° aralığında baskın amorf karakterde Nb_2O_5 yapısının meydana geldiği görülmektedir (JCPDS kart no. 0-005-0379). Şekil 18’de gösterilen R5 kaplamaları için oksijen içeriğinin artması ile 35° - 45° aralığında küçük polikristalin kırınım pik oluşumları görülmektedir. Daha yüksek oksijen konsantrasyonunda büyütülen R2 kaplamasında 35° - 45° aralığında net bir şekilde polikristalin yapıya ait piklerin oluştuğu görülmektedir. Bu kristal fazlar tetragonal yapıdaki $NbO_{0.1}N_{0.6}$ bileşiğine karşılık gelmektedir (JCPDS kartı no. 0-025-1359). R2, R5 ve R10 kaplamaları için pik noktaları 35.7° , 41.2° , 42.0° , 59.8° , 60.3° , 72.7° , 75.7° ’de a, b = $4.3700\text{\AA}$ ve c = $4.2950\text{\AA}$ değerlerinde belirlenmiştir.



Şekil 18. Büyütülen oksinitrür kaplamaların XRD analizi.

Şekil 19’de gösterilen Ag ilaveli oksinitrür kaplamalarda da Ag ilavesiz kaplamalara benzer amorf yapının baskın olduğu görülmektedir. Ancak gümüş içeriğine sahip kaplamalarda $38,269^\circ$ ’de (111) kristal yönelmesinde kübik formda kristal Ag yapısı kaplama bileşiminde

bulunmaktadır (JCPDS kartı no. 0-002-1098). Ag (111) yapısı ile birlikte Nb₂O₅ yapısının da aynı pik içerisinde yer aldığı Şekil 18 ve Şekil 19 birlikte değerlendirildiğinde anlaşılmaktadır.



Şekil 19. Büyütülen Ag ilaveli oksinitrür kaplamaların XRD analizi.

PVD yöntemlerinde, özellikle manyetik alanda sıçratma işleminde üretilen kaplamalar amorf ve yarı kararlı (metastabil) karakterde büyüebilmektedir. Kaplama bileşimindeki yapısal düzen büyük ölçüde adatom (yüzeye gelip adsorbe olan atom) hareketliliği ile meydana gelmektedir. Proses süresince, vakum odası içerisinde karışık halde bulunan ve yoğunlaşan atomlar, kararlı hale geçebilmek için kendilerine uygun konum bulmaya çalışırlar. Bu durumda düşük serbest dönüşüm enerjisi veya bir diğer deyişle düşük mobilitenin denge fazlarının oluşumuna izin vermemesi nedeniyle büyüyen yapının karakteri amorf veya yarı kararlı olmaktadır. Bu sebeple, bir fazın dönüşümü(kristalin durumu), alttaşı sıcaklığı, yüzey ve yığın difüzyonu mekanizmalarından doğrudan etkilenmektedir (Knotek *et al.* 1990).

Oksinitrür kaplamalarda, vakum odası içerisindeki oksijen akışı, belirli bir seviyenin üzerine çıktığında, niyobyum-oksijen arasında gerçekleşen reaksiyon ortamda azot olsa bile film büyümesini kontrol etmektedir. Azotun ilavesiyle Nb₂O₅ yapısından NbO_xN_y yapısına dönüşen kaplama Nb₂O₅ yapısıyla benzer kristal yapıda oluşmaktadır. Kısaca kafes yapısında oksijen, azot atomlarıyla yer değiştirerek oksinitrür yapıyı oluşturmaktadır. (Ye *et al.* 2009; Cubillos *et al.* 2015).

Literatür çalışmalarında, birbiri içerisinde çözünmeyen fazların nanokompozit yapıdaki amorfizasyonuna vurgu yapılmaktadır. Karışmayan fazların (immiscible phase) iki farklı oluşumu bulunmaktadır. İlk durumda, TiN/Si₃N₄ gibi iki sert ve karışmaz faz bir araya gelerek nanokompozit yapıya sahip bir kaplama oluşturabilmektedir. Diğer durumda ise NbN-Cu, TaN-Cu gibi bir sert bir yumuşak karışmayan faz alaşımlarının bir araya gelmesiyle sert kaplamalar elde etmek mümkündür. Bu tür kaplamalarda dikkat çekici nokta tüm bu sistemlerde amorfizasyonun bölgesel olması ve homojen amorf bir tabakanın elde edilememesidir (Öztürk *et al.* 2008; Al-Aqeeli *et al.* 2013). Bu özellik dikkate alınacak olunursa R2 kaplamasında elde edilen polikristalin fazın R2+Ag kaplamasında amorf karakterde olmasını NbN-Ag karışmayan faz durumu ile açıklamak mümkündür.

Elementel Analiz

Üretilen NbO_xN_y kaplamaların XPS yöntemi kullanılarak elde edilen elementel analiz sonuçları, ağırlıkça Tablo 11 ve atomik olarak Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 11. Kaplamaların Elementel Analizleri (Yüzde Ağırlık)

Kaplama Kodu	Kaplanan Malzemenin N ₂ /O ₂ Oranı	Nb (%ağ)	N (%ağ)	O (%ağ)	Ag (%ağ)
R2	N ₂ /O ₂ = 2	78,70	0,55	20,75	
R5	N ₂ /O ₂ = 5	79,51	1,04	19,45	
R10	N ₂ /O ₂ = 10	79,69	2,45	17,86	
R2+Ag	Ag ilaveli N ₂ /O ₂ = 2	69,00	3,15	20,76	7,09
R10+Ag	Ag ilaveli N ₂ /O ₂ = 10	70,99	5,71	18,53	4,77

Tablo 12. Kaplamaların Elementel Analizleri (Atomik Yüzde)

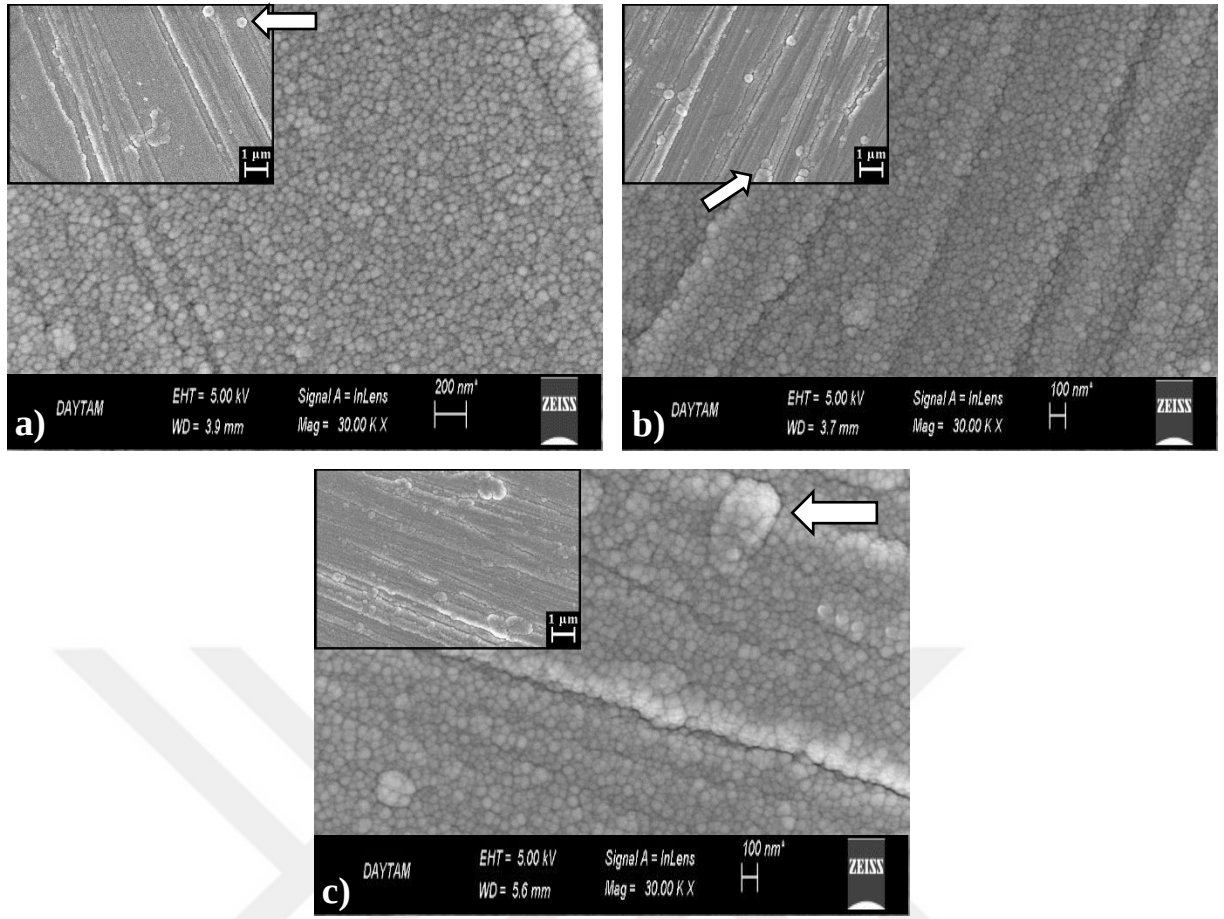
Kaplama Kodu	Kaplanan Malzemenin N ₂ /O ₂ Oranı	Nb (%at)	N (%at)	O (%at)	Ag (%at)
R2	N ₂ /O ₂ = 2	38,80	1,80	59,40	-
R5	N ₂ /O ₂ = 5	39,88	3,47	56,65	-
R10	N ₂ /O ₂ = 10	39,91	8,14	51,95	-
R2+Ag	Ag ilaveli N ₂ /O ₂ = 2	31,86	9,66	55,66	2,82
R10+Ag	Ag ilaveli N ₂ /O ₂ = 10	32,14	17,15	48,73	1,86

Farklı azot/oksijen oranlarında büyütülen kaplamaların elementel analizleri tüm kaplamalarda niyobyum için Nb 3d, oksijen için O 1s ve azot için N 1s spektrumlarından hesaplanmıştır. Ancak R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarında gümüş miktarı Nb 3p ile Ag 3d spektrumlarının aynı tepe noktası içerisinde çakışmasından dolayı Ag 4p spektrumundan atomik olarak hesaplanmıştır. Tablo 12’de atomik olarak elde edilen kimyasal bileşimler, atom ağırlıkları

yardımla hesaplanarak Tablo 11’de ağırlık cinsinden verilmiştir. Tablolarda gösterildiği üzere R2, R5 ve R10 kaplamalarında artan oksijen içeriğiyle kaplamalardaki niyobyum ve azot miktarı azalmış, oksijen miktarı ise artmıştır. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarında ise niyobyum ve azot miktarı azalmış, oksijen ve gümüş miktarı ise artmıştır. Ancak aynı oksijen ve azot oranları için gümüş ilaveli kaplamalarda yapı içerisine daha fazla miktarda azot girmiştir. Literatürde titanyum oksinitrür-gümüşün antibakteriyel davranışıyla ilgili yapılan paralel bir çalışmada da oksinitrür kaplamalara ilave edilen gümüşle birlikte kaplama yapısına giren azot miktarında önemli bir artış söz konusudur (Sikder *et al.* 2019). Fe₂P-TaN yapısına ilave edilen Ag elementiyle ilgili yapılan bir çalışmada, gümüş elementinin yapıya bağlanabilmesi için azotun yapıdaki kırık bağları azalttığından bahsedilmiştir. Oluşmaya başlayan yapı içerisinde bulunan adatom boşluklarına yaklaşık 5 kat fazla yerleşen azot elementi, yapıya kolaylıkla bağlanabilmektedir (Grumski 2019). Kaplama bileşimindeki yapısal düzen, büyük ölçüde yüzey üzerinde adsorbe olan atomların hareketliliği ile meydana gelmektedir. Ayrıca büyüyen kolonsal taneler arasında nanometre düzeyinde boşluklar meydana gelir. Gümüş atomlarının kolonsal büyüme yapısını değiştirmesi, sütunlar arasına daha fazla azot girişini sağlamıştır. R2+Ag ve R10+Ag kaplamaları için ilave edilen gümüşün adatom davranışı azotun yapıdaki miktarını artırmıştır.

Kaplamaların Yüzey Morfolojisi

PVD kaplama işlemi sonrası, üretilen kaplamalara ait taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüleri Şekil 20 ve 21’de verilmiştir. Kaplamaların kalınlıklarını gösteren kesit görüntüleri Şekil 22-23’de, SEM görüntülerinden ölçülen kaplama kalınlıkları ise Tablo 13’te verilmiştir. Fiziksel buhar biriktirme sisteminde, ince film büyümesi, buhar fazından katı faza geçiş ile doğrudan ilgilidir. Atomların bir alttaş üzerine yoğunlaşma durumunda, kaplamalar, desorpsiyon (salınım) veya yüzey difüzyonu gibi mekanizmaların etkisiyle büyümektedir. Bu durumda kaplama sistemi içerisine tam homojenizasyon sağlanmaktadır. Kaplamaların her birinin farklı kalınlıkta olmasının sebebi vakum odası içerisindeki reaksiyona giren gaz miktarı, sıcaklık, sıçratma oranı vb. etkenlerden dolayıdır. Bu durumda kaplama kalınlıklarının birbirinden farklı olarak büyümesi beklenen bir durumdur. Genel olarak tüm kaplamalar için oksijen miktarının artışı kaplama kalınlıklarının azalmasına neden olmuştur (Franssila 2010).

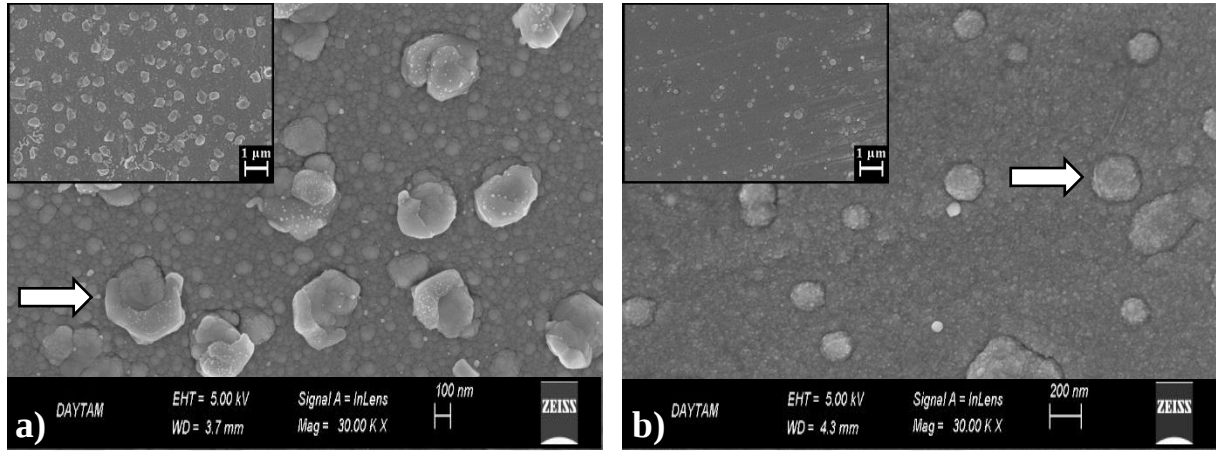


Şekil 20. SEM Görüntüleri 10 kX ve 30kX a) R2 b) R5 c) R10 (Beyaz oklar büyük çaplı nodüler şekilli yapıları göstermektedir).

Şekil 20’de farklı büyütmelerde SEM fotoğraflarından görüldüğü üzere, R2, R5 ve R10 kaplama yüzeylerinde 20-50 nm çapında nodüler şekilli taneler oluşmuştur. Taban malzemeye uygulanan ısıtma, atomların kolaylıkla difüzyonuna neden olmakta, sütunlar arasında daha yüksek bir bağlanma derecesine sahip yoğun bir tabaka meydana getirmektedir. Tane büyümesinin etkin olmasıyla 20-50 nm çapında nodüler şekilli taneler atom veya moleküllerin hareketliliğinin (mobilitenin) sınırlı ve toplu olarak büyümesinin bir sonucu olarak gerçekleşmektedir.

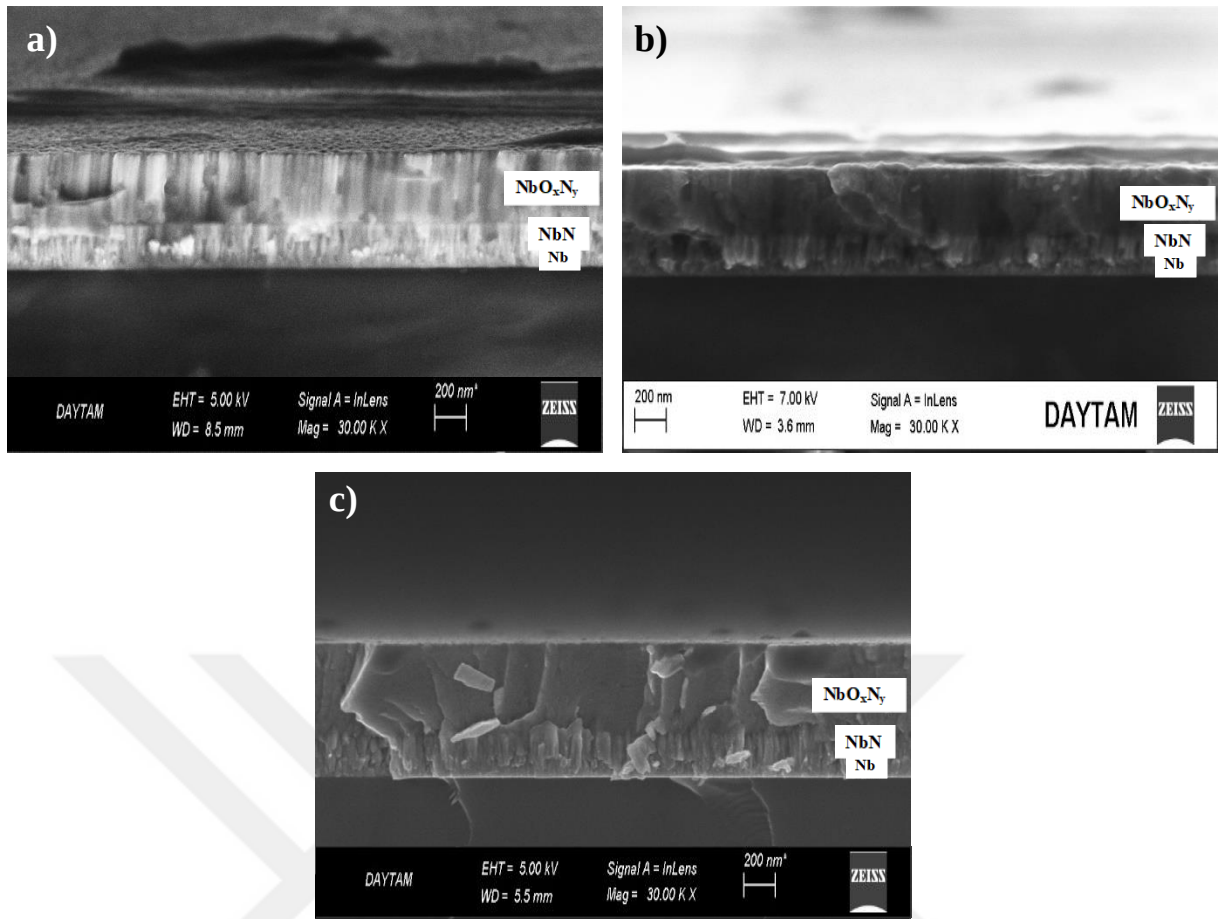
Tüm kaplama yapılarında 5 mTorr basınçta ve $T/T_e \approx 0.32$ ’de çalışılmıştır. Bu çalışma koşulları, Thornton bölge modeline göre geçiş bölgesi aralığına denk gelmektedir. Geçiş bölgesi, küçük taneli ve gözenekli olan Bölge 1 ile daha büyük ve sütunsal olan Bölge 2’nin bir kombinasyonunu vermektedir. Kaplamalar genel olarak aynı yüzey morfolojisine sahip olarak büyümüştür. Kaplamaların morfolojisi Thornton bölge modeline göre belirtilen basınç ve sıcaklık değerlerinde gerçekleşen kolonsal büyümeye bağlı gelişmiştir (Thornton 1986). Ayrıca kaplamaların yüzeyinde küçük şekilli taneler birleşerek Şekil 20’de beyaz oklarla gösterilen

100-200 nm çapında daha büyük çaplı nodüler şekilli yapılar oluşturmuştur. Bu taneler genellikle alt tabakalarda meydana gelen kusurlardan veya tercihli çekirdeklenmeden dolayı oluşmaktadır (Franssila 2010; Villapún *et al.* 2018; Abegunde *et al.* 2019)



Şekil 21. SEM Görüntüleri 10 kX ve 30kX a) R2+Ag b) R10+Ag (Beyaz oklar tepcikleri göstermektedir).

Şekil 21'deki SEM görüntüleri incelendiğinde kaplama yüzeyinde 20-30 nm boyutlarında nodüler şekilli partiküllerin yanı sıra yüzeyde yaklaşık 300 nm'e kadar büyüklüğe ulaşabilen büyük nodüller görülmektedir. İnce film ve taban malzemenin ısıl genleşme katsayılarında önemli bir fark olduğunda ve yüksek sıcaklıkta kaplandığında yapı içerisinde iç gerilmeler meydana gelmektedir. Seramik yapıdaki NbO_xN_y ve metalik Ag'nin farklı genleşme katsayıları nedeniyle bölgesel diferansiyel gevşeme, gerilimli ve gerilimsiz bölgelerdeki boş yerlerin kimyasal potansiyelinde bir farklılık oluşturmakta, bu durum büyük nodüllerin oluşumuna sebep olmaktadır (Powers *et al.* 2020). Şekil 21 incelendiğinde, 400°C'de kaplanan özellikle R2+Ag kaplamalarında yoğun nodüler yapının varlığı dikkat çekmektedir. Bu durum R10+Ag kaplamasında miktar olarak daha az sayıdadır. Bunun nedeni R2+Ag kaplamasının R10+Ag'e göre daha fazla hata içeren kolonsal yapıda olması, bunun yanı sıra Ag elementinin miktarsal olarak R2+Ag kaplamasından daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır.



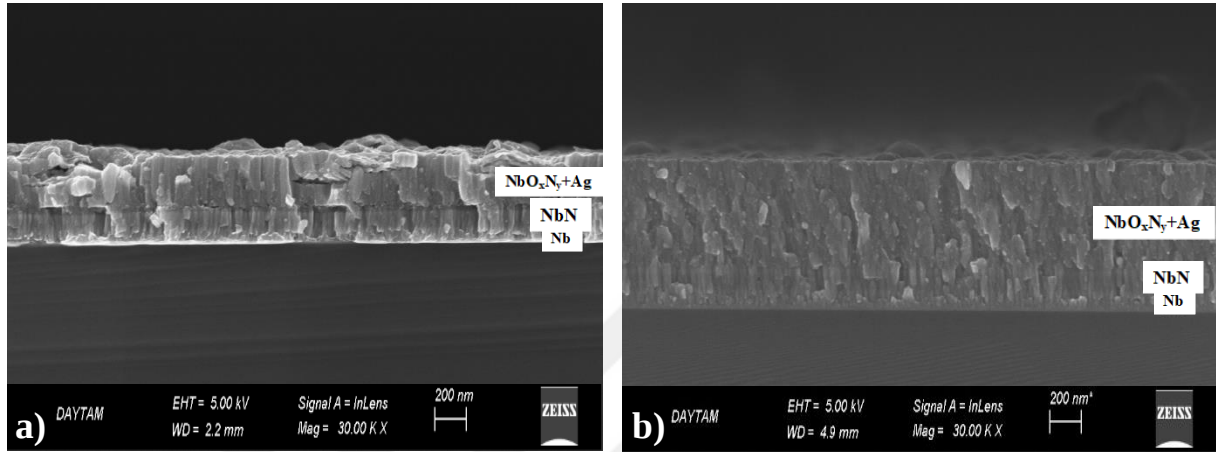
Şekil 22. SEM-kesit görüntüleri 30 kX büyütme a) R2 b) R5 c) R10.

Tablo 13. PVD İle Büyütülen Oksinitrür Yapıların Kaplama Kalınlıkları

Kaplama Kodu	Kaplanan Malzemenin N_2/O_2 Oranı	Nb (nm)	NbN (nm)	NbO _x N _y (nm)	Toplam (nm)
R2	$N_2/O_2 = 2$	101,4	188,9	493	783,3
R5	$N_2/O_2 = 5$	111,7	165,2	468,9	759,2
R10	$N_2/O_2 = 10$	111,7	165,2	616,3	875,3
R2+Ag	Ag ilaveli $N_2/O_2 = 2$	55,4	179	332,5	566,9
R10+Ag	Ag ilaveli $N_2/O_2 = 10$	78,8	200	545,5	824,3

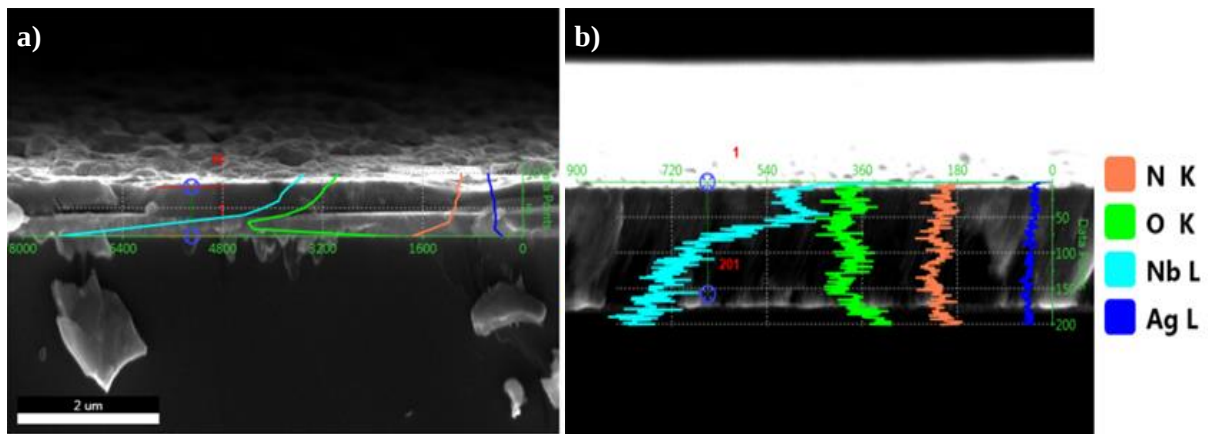
Şekil 22 ve 23’de büyütülen kaplamaların kesit görüntüleri gösterilmektedir. Her üç kaplamada da paslanmaz çelik yüzeyinden oksinitrür kaplamaya daha homojen bir geçiş sağlanabilmesi amacıyla önce Nb sonra NbN yapılarının kolonsal olarak büyüdüğü görülmektedir. Bu durum atomsal mobilitenin sıfıra yakın olduğu durumlarda gerçekleşmektedir. Sütunlar arasında boşluklar meydana gelmektedir. Atomlar yüzeye temas ettiği konumlarda yoğunlaşmaktadır. NbN yapısında ise azot gaz artışında gerçekleştirilen kademeli geçişle birlikte büyüme aynı morfolojide devam etmiştir (Franssila 2010). R10 kaplamasında oksinitrür kaplamaların XRD analizinden de doğrulandığı üzere amorf yapıda ve diğer kaplamalara göre daha yoğun bir film tabakası oluşturduğu görülmektedir. Bu durum

R5'te daha az ve R2 de kolonsal bir yapıya sahiptir. Kaplamaların büyüme morfolojileri reaktif gaz miktarları, yani kaplama yapısına giren atom miktarıyla da ilişkilidir. Aynı kaplama sıcaklığında R10 kaplamada daha az miktarda reaktif gaz verildiğinden atomların düzene girmesi için yeterli enerjiye sahip olmaları ile açıklanabilmektedir. Amorf kaplamalar (R10) yoğun şekilde şekillenmiş eş eksenli taneler biçiminde büyümüştür. R5 kaplaması ise R2 ve R10'un bir kombinasyonu olarak görülmektedir.



Şekil 23. SEM-kesit görüntüleri 30kX a) R2+Ag b) R10+Ag.

Şekil 23'de gümüş içeriğine sahip R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının kesit görüntüleri, Şekil 24'da ise kesitlerden alınan çizgisel EDS analizi gösterilmektedir. R2+Ag kaplamasında ilave olarak yapıya katılan Ag elementi, diğer atomların mobilitelerini düşürerek kolonsal yapıların daha yoğun bir şekilde büyümesini sağlamıştır. R10+Ag'de ise yapının farklı noktalardan çekirdeklenmesi sonucu tane sınırlarının oluşmasını sağlamıştır. Ag ilavesi kolonsal yapı korunurken aynı zamanda daha yoğun bir yapının oluşmasını sağlamıştır. Şekil 24'de gösterilen çizgisel elementel analiz ile yüzeye doğru gümüş miktarının arttığı gösterilmektedir.



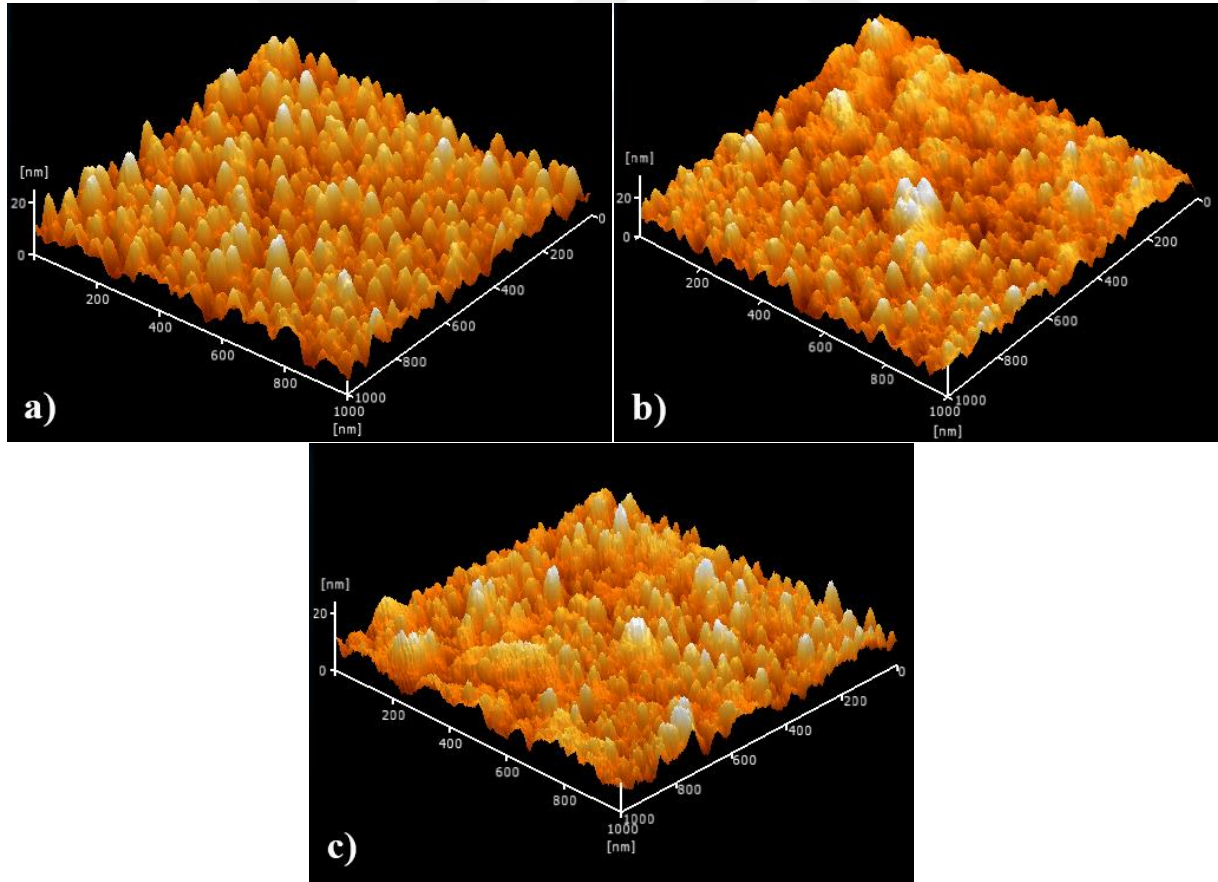
Şekil 24. Gümüş içerikli kaplamaların çizgi EDS analizi 30kX a) R2+Ag b) R10+Ag.

Kaplamaların 3D Yüzey Topoğrafyaları

Oksinitrür kaplamalarının, yüzey pürüzlülük değerleri Tablo 14’te, AFM görüntüleri ise Şekil 25 ve 26’da gösterilmiştir. R2, R5 ve R10 kaplamalarından kolonsal büyümeye sahip R2 kaplamasının diğer kaplamalara göre daha yüksek pürüzlülüğe sahip olduğu, daha kompakt kaplama morfolojisine sahip R10 kaplamasında ise pürüzlülük değerlerinin en düşük olduğu tespit edilmiştir. Kolonsal büyüme morfolojisi, kaplamaların yüksek yüzey pürüzlülüğüne sahip olmasına sebep olmuştur (Thornton 1986).

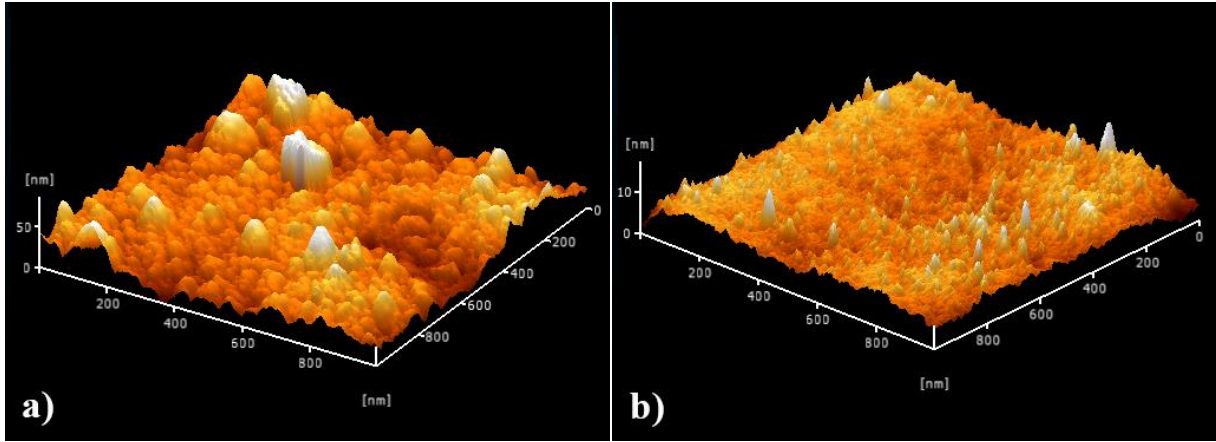
Tablo 14. Kaplamaların Yüzey Pürüzlülük Değerleri

Kaplama Kodu	Ra (nm)	Rq (nm)	Rz (nm)
R2	3,20 ±0,21	3,96 ±0,17	17,72 ±2,32
R5	2,99 ±0,30	3,80 ±0,21	15,37 ±2,16
R10	2,34 ±0,29	2,97 ±0,27	15,32 ±1,61
R2+Ag	7,17±0,41	9,41±0,17	48,05±1,25
R10+Ag	0,83±0,32	1,11±0,31	6,63±0,40



Şekil 25. AFM yüzey pürüzlülüğü a) R2 b) R5 c) R10.

Gümüş içeriğine sahip R2+Ag kaplamasında, R10+Ag kaplamasına ve diğer kaplamalara göre çok yüksek pürüzlülük değeri elde edilmiştir. R2+Ag kaplamalarının kolonsal ve büyük nodüler yapıları sahip olması yüzey pürüzlülüğünü artırmıştır.

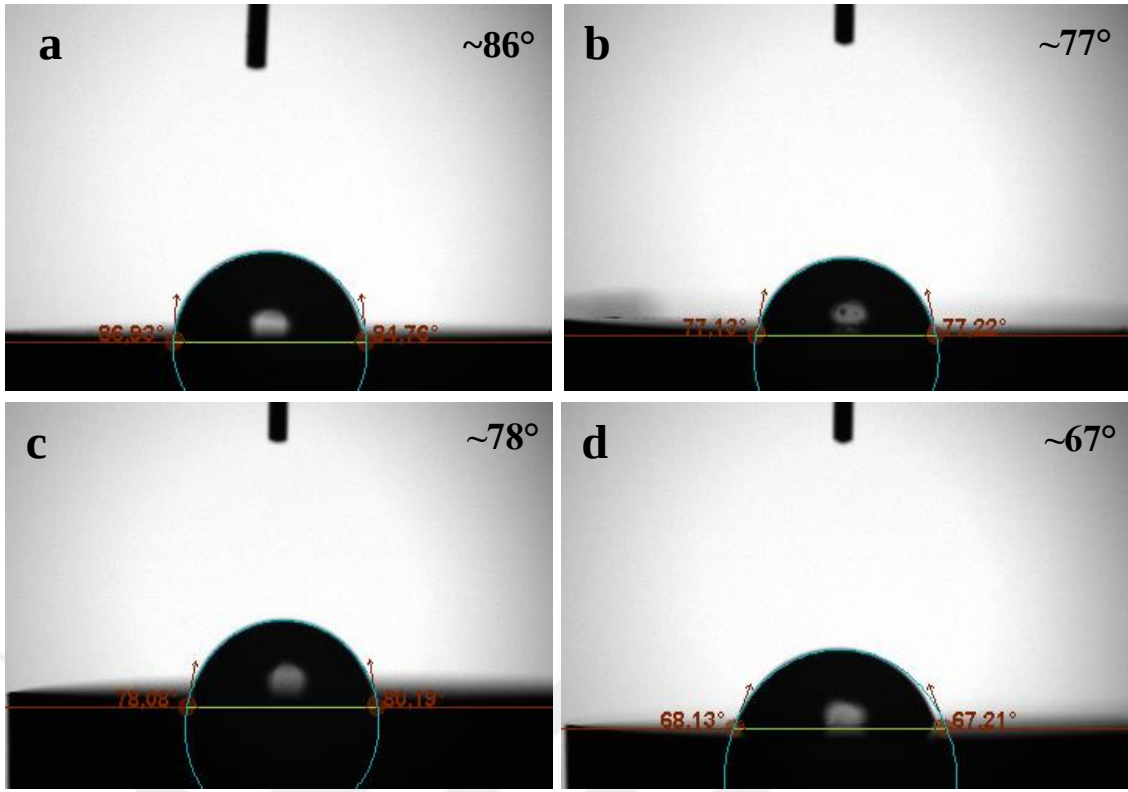


Şekil 26. AFM yüzey pürüzlülüğü a) R2+Ag b) R10+Ag.

Şekil 25(a)'da kolonsal yapıların daha homojen bir yüzey oluşturduğu, Şekil 26(b)'deki R10+Ag kaplamasının daha pürüzsüz bir yüzey morfolojisine sahip olduğu görülmektedir. R10 yapısına gümüş ilavesi eş eksenli (equaxial) yapı büyümesini değiştirerek daha pürüzsüz bir kaplama oluşmasını sağlamıştır. Tüm sonuçlar SEM görüntülerini desteklemiştir. Yüzey pürüzlülük değerindeki artışın hücrelerin tutunması için gerekli olan yüzey alanındaki artıştan dolayı biyouyumluluğu arttırdığı bilinmektedir (Saleem *et al.* 2015).

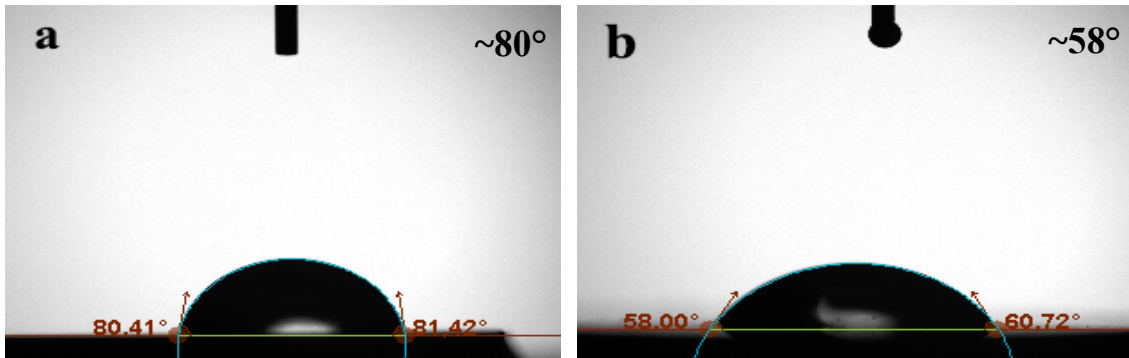
Temas Açısı Ölçümü

Herhangi bir katı yüzeyin bir sıvı ile temas ettirildiğindeki ıslanma kabiliyeti olarak tanımlanan ıslanabilirlik, yüzeylere hücrelerin daha iyi yapışması açısından biyomalzemelerin en önemli özelliklerinden biridir. Temas açısı, düşme düzlemin denge koşullarında damlaya yaptığı açıdır. Temas açısı, farklı kolon uzunlukları, oksidasyon gibi yüzey enerjisini değiştirebilecek parametrelerden etkilenmektedir. İyi ıslatma özelliği, arayüzey bağ enerjisinin sıvının kohezyon bağı kadar güçlü olmasından kaynaklanmaktadır (Contreras *et al.* 2004). Yüzeylerin tamamının farklı temas açlarına sahip olmasının temel sebebi farklı yüzey pürüzlülüğü ve morfolojilerinden kaynaklanmaktadır. Yüzey pürüzlülüğü azaldıkça hidrofil özellik artmakta, tersi durumda azalmaktadır.



Şekil 27. Temas açısı ölçümleri a) 316L b) R2 c) R5 d) R10

Şekil 27 ve 28’de gösterilen statik temas açısı ölçüm sonuçlarına göre tüm kaplamaların temas açısının 90° ’den küçük olması sıvının yüzeyi ıslatılabilirliğinin arttığını göstermektedir.



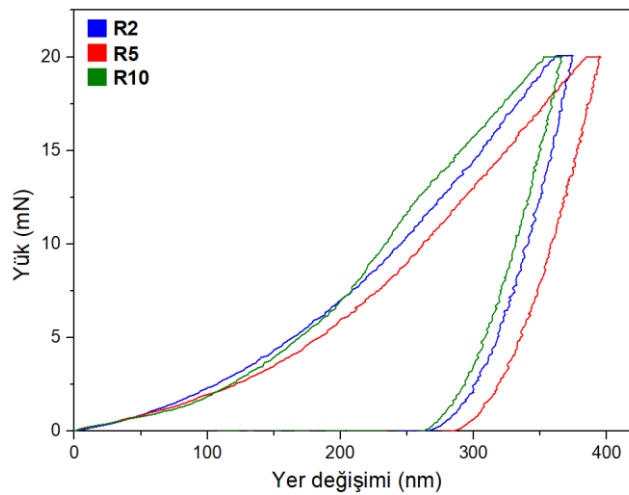
Şekil 28. Temas açısı ölçümleri a) R2+Ag b) R10+Ag.

Şekil 27’de özellikle R10 kaplamasının ıslanabilirlik özelliği diğerlerine göre daha yüksektir. Şekil 28’de gösterilen R10+Ag kaplaması tüm kaplamalara göre daha yüksek ıslanabilirlik özelliği (hidrofilik özellik) göstermektedir. Literatürde de azot/oksijen oranının su temas açısı üzerinde kuvvetli bir etkiye sahip olmadığı belirtilmektedir. Ancak eğer yüzey pürüzlüğündeki etki göze alınacak olursa, oksijen miktarındaki düşüş yüzey pürüzlülüğünü de düşürmüştür, dolayısıyla hidrofil özellik artmıştır. Çalışmamızda, literatürde belirtilen NbN kaplamalar için $78.7^\circ \pm 1.9^\circ$ ve Nb_2O_5 kaplamalar için ise $80.7^\circ \pm 2.1^\circ$ temas açılarına benzer

sonuçlar elde edilmiřtir. Ancak ıslanabilirliėin dūřuk olması durumunda, kaplama yūzeyi ile elektrolitin temasının azalması neticesinde, kaplama yūzeyindeki çatlaklara, gūzeneklere korozyona neden olan iyonların girememesi neticesinde korozyon direnci artmaktadır (Olivares-Navarrete *et al.* 2011; Vaz *et al.* 2013). Tūm kaplamalar řekil 27(a)'da gūsterilen 316L paslanmaz elik taban malzemeye gūre ūstūn ıslanabilirlik ūzelliėi sergilemiřtir. Ayrıca gūmūř ilavesinin ıslanabilirlik ūzelliėine etkili olmadığı, daha çok PVD būyūme morfolojisinin etkili olduėu řekillerden gūrūlmektedir.

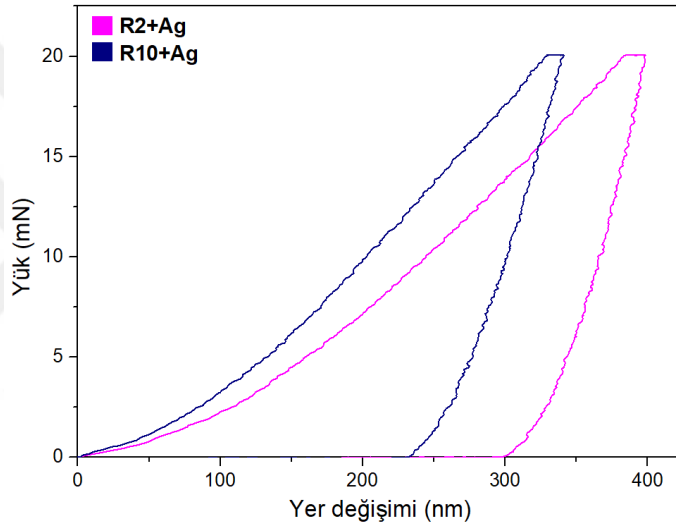
Nano-Sertlik Őlūmū

Bu çalıřmada, kaplamaların sertlik ve elastisite modūlū deėerleri Berkovich nano-sertlik ūlūmleri ile hesaplanmıřtır. Oliver-Pharr teorisi, yūkleme veya yer deėiřtirme verilerinden sertlik deėerini belirlemek için fiziksel bir ilke ve model olarak kullanılmıřtır. Bir tam yūkleme ve bořaltma sonrasında elde edilen yer deėiřtirme (h, nm) verisine gūre yūkūn (P, mN) ūlūm grafikleri řekil 29 ve 30'da gūsterilmektedir. Kaplamaların sertlik ūlūm sonuçları Tablo 15'te verilmiřtir. Sertlik deėeri, kimyasal baėlar ve mikroyapıdan doėrudan etkilenmektedir. R2, R5 ve R10 kaplamaları kıyaslandığında, eř eksenli, amorf yapının fazla olduėu R10 kaplamasında en yūksek sertlik deėeri elde edilmiřtir. Bu durum řekil 17 ve 18'deki kesit gūrūntülerinden de gūrūleceėi ūzere yoėun yapının dūzensiz ve kompakt morfolojisinden kaynaklanmaktadır. Kolonsal ve kristal yapının baskın oldu R2 kaplamasında ise en dūřuk sertlik deėeri elde edilmiřtir. Daha ūnceki bōlūmlerde bahsedildiėi ūzere, kolonsal būyūmede sūtunlar arasında meydana gelen bořlukların, kaplama yapısının sertliėini azalttıėı dūřūnūlmektedir (Franssila 2010).



řekil 29. R2, R5 ve R10 kaplamalarının nano-sertlik ūlūmū.

Tüm kaplamaların sertlik değeri incelendiğinde en yüksek sertlik değeri gümüş ilave edilen R10+Ag kaplamalarında, en düşük sertlik değeri ise R2+Ag kaplamalarında elde edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre kolonsal büyüyen kaplamalara ilave edilen gümüş sertliği düşürmüş, amorf eş eksenli büyümeye ilave edilen gümüş ise sertliği artırmıştır. Ancak R2+Ag kaplamasında, gümüşün sertliği düşürdüğüne dair kesin bir sonuca ulaşmak mümkün değildir. Tablo 13'te gösterildiği üzere NbO_xN_y kalınlığı 330 nm, toplam kaplama kalınlığı 566 nm ile en düşük kaplama kalınlığı R2+Ag kaplamasında elde edilmiştir. R10+Ag kaplamasında oksinitrür kaplaması, R2+Ag kaplamasının toplam kalınlığına yakındır. R2+Ag kaplamasında elde edilen daha ince oksinitrür kaplamasında sertlik ucunun etki bölgesinin (penetration depth) alt tabakalardan etkilenmiş olabileceğinden dolayı en düşük sertliğe sahip olduğu düşünülmektedir.



Şekil 30. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının nano-sertlik ölçümü.

Tablo 15. Kaplamaların sertlik değerleri

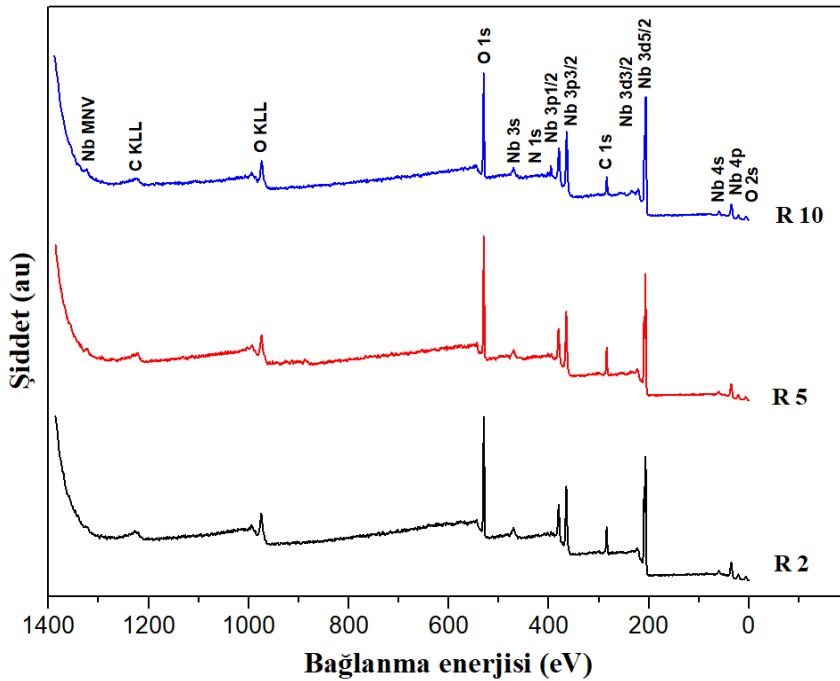
Kaplama Kodu	Sertlik (MPa)
R2	4850,977±314,517
R5	4883,175±330,775
R10	5132,350±356,450
R2+Ag	4028,097±380,031
R10+Ag	5706,717±172,776

Çalışmamızda elde edilen nano sertlik değerleri, oksinitrür yapılarla ilgili yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sertlik değerleri ile paralellik arz etmektedir (Do *et al.* 2014; Gan *et al.* 2018).

XPS Ölçümü

XPS, atomlar arası bağlanma gibi atomsal ölçekteki kimyasal bağlanmaları nicel, seçici ve yüksek hassasiyetli olarak araştırmayı desteklediği için oksinitrür kaplamaların karakterizasyonunda kullanılmıştır (Bertóti 2012). X-ışını fotoelektron spektrumu, her bir ölçümde belirli bir zaman aralığı için belirlenen enerjideki elektron sayılarını kaydeden bir sekans ölçümüdür. Bu analiz yöntemindeki amaç, malzeme yüzeyindeki atomlardan yayılan elektronların sayılarını kinetik enerjinin (eV) bir fonksiyonu olarak saniye başına sayımını (counts per seconds-CPS) kaydetmektir. Farklı yayınma enerjilerine sahip elektronların yoğunluğundaki değişim, numunedeki atomların elektronik durumunu karakterize etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu ölçüm yüzey bileşimi hakkında ölçülebilir bilgiler sunmaktadır (Centre 2017).

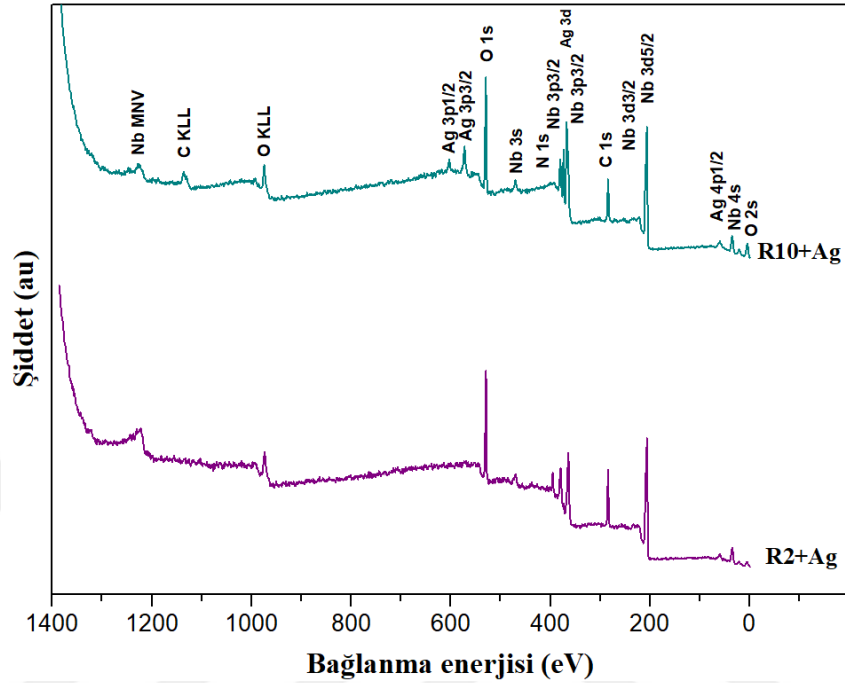
Kaplamaların 1 eV'luk enerji adımı ile 0-1400 eV arasındaki bağlanma enerjilerinin gösterildiği genel spektrumları Şekil 31 ve 32'de gösterilmiştir. Tüm kaplamaların yüksek çözünürlüklü spektrumları C 1s referans noktası 284,5 eV değerine göre kalibre edilerek analiz edilmiştir. Kaplamaların kimyasal bağlanma için kullanılan O 1s, N 1s, Nb 3d, Ag 3p tepe noktaları kimyasal bağlanmayı detaylı incelemek amacıyla yüksek çözünürlüklü olarak Şekil 31-39'da gösterilmiştir.



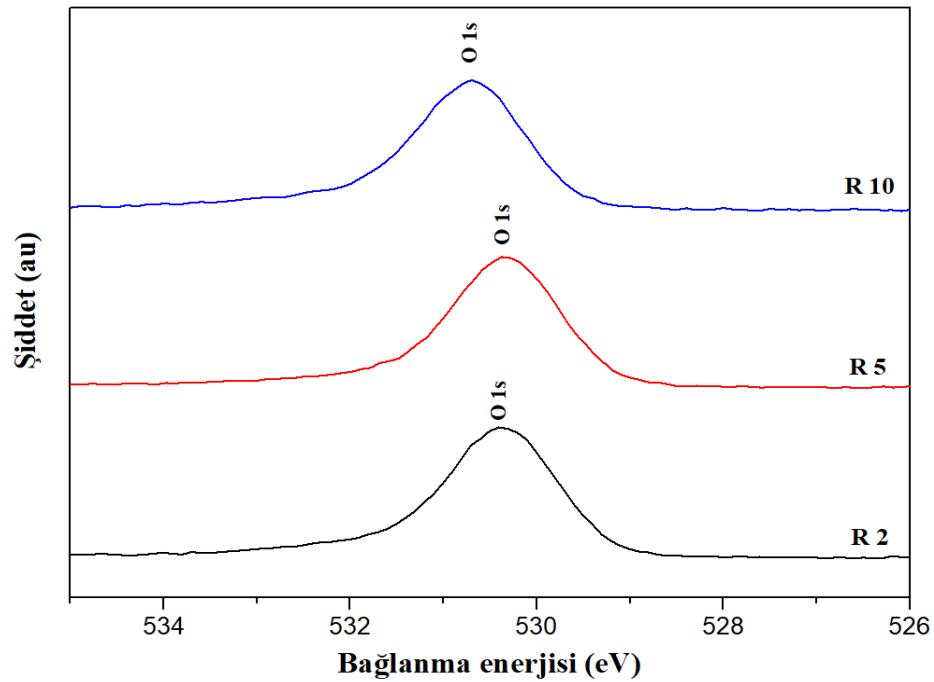
Şekil 31. Büyütülen kaplamaların genel tarama XPS spektrumu.

Şekil 32'de, Şekil 31'den farklı olarak Ag 3p, 3d ve 4p pikleride görülmektedir. Bu durum gümüşün yapıya kimyasal olarak katıldığını göstermektedir. XPS analizindeki elementler

için fotoelektron pikleri 0-600 eV arasında bulunmaktadır. Oksinitrür yapının oluşumunu gösterebilmek amacıyla Lorentzian-Gaussian dağılımına göre pik ayrıştırması işlemi gerçekleştirilerek Şekil 33-37’de gösterilmiştir. Pik ayrıştırma işlemlerindeki ayrışan pikler CasaXPS yazılımıyla belirlendikten sonra Origin 9.0 yazılımıyla grafiksel olarak gösterilmiştir.

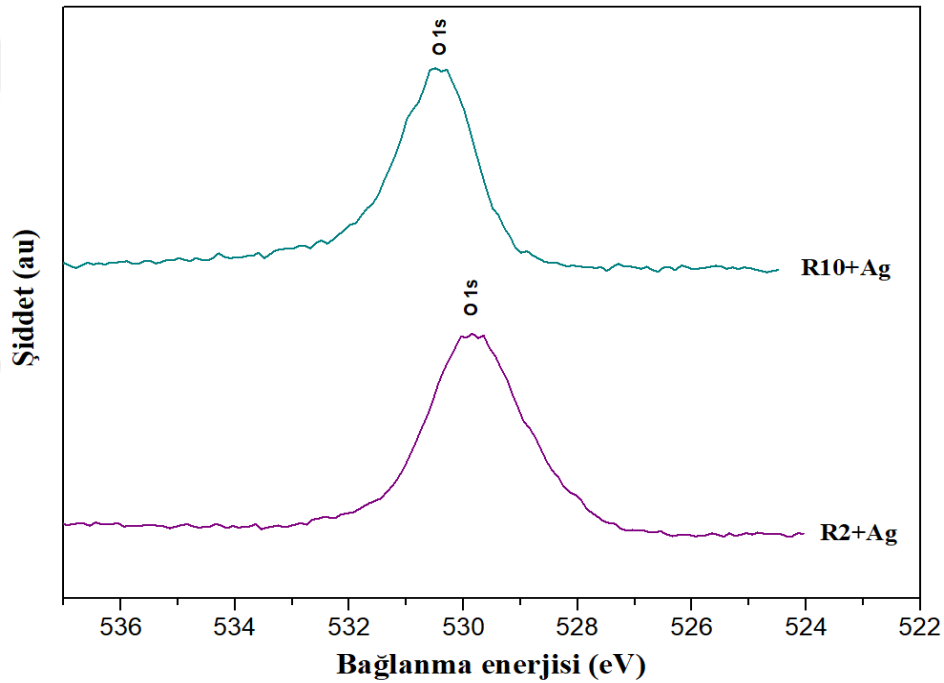


Şekil 32. Ag ilaveli kaplamaların genel tarama XPS spektrumu.



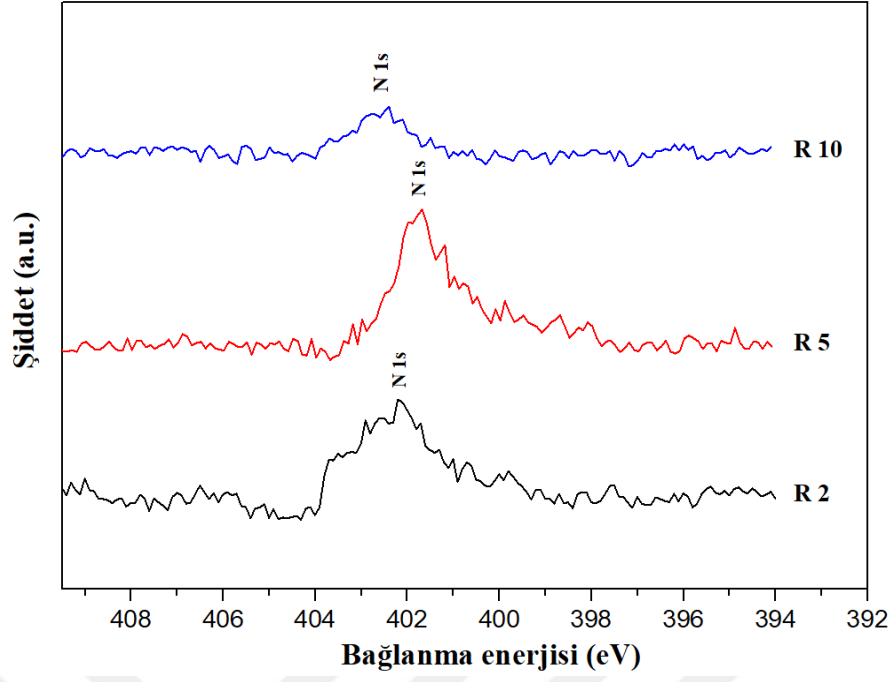
Şekil 33. Büyütülen kaplamaların O 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

Bir elementin bağlanma enerjisi pik pozisyonu, o elementin lokal kimyasal ortamına ve oksidasyon durumuna bağlıdır. Yüksek elektronegativiteye sahip bir elementin düşük elektronegativiteye sahip bir elemente katılanması durumunda, düşük elektronegativiteye sahip ana element etrafındaki elektron yoğunluğu azalacağından bağlanma enerjisi artmaktadır. Örneğin 1,6 Pauling elektronegativiteye sahip niyobyum atomuna 3 Pauling değerine sahip oksijen ilave edildiğinde, Nb etrafındaki elektron yoğunluğu azalacağından bağlanma enerjisi artmaktadır (Tardio and Cumpson 2018). Şekil 33’de gösterilen O 1s için bağlanma enerjileri 530-531 eV aralığında tepe noktaları vermiştir. Şekil 34’de gösterilen O 1s için ise bağlanma enerjileri 529-531 eV aralığında tepe noktaları vermiştir. R10 kaplamasında meydana gelen pozitif kayma bu kaplamadaki oksit yapılı bileşiğin yüksek miktarda bağlanma yaptığını göstermektedir (Bahl 1975).

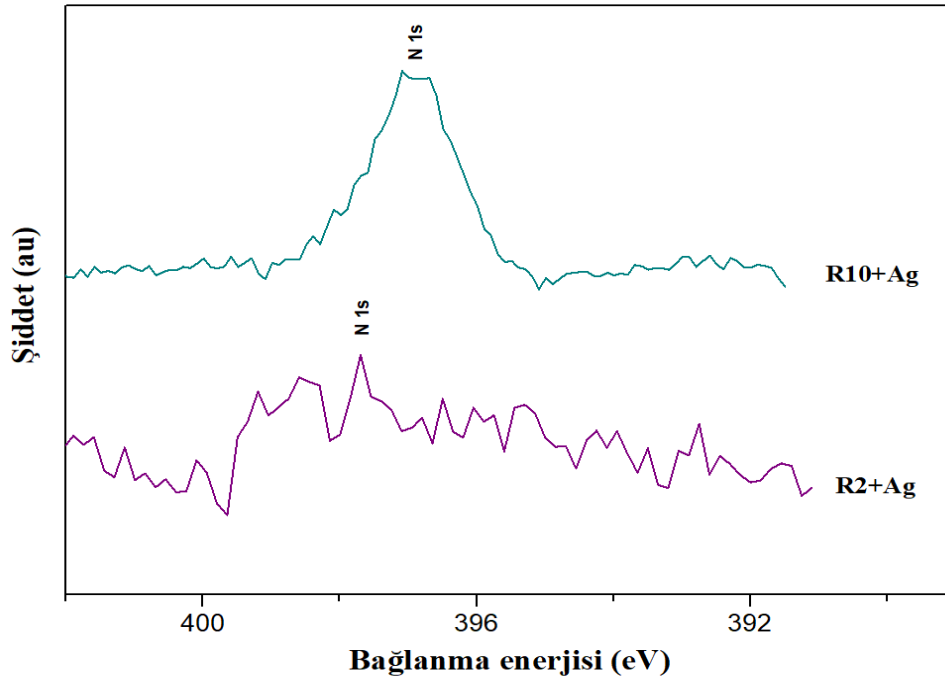


Şekil 34. Ag ilaveli kaplamaların O 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

Şekil 35’de gösterilen N 1s için bağlanma enerjileri 401-403 eV aralığında pik değerlerini vermiştir. Şekil 36’de gösterilen N 1s için ise bağlanma enerjileri pik değerlerini 396-398 eV aralığında vermiştir. Kaplamada meydana gelen pozitif kayma bu kaplamadaki nitrür yapılı bileşiğin yüksek miktarda bağlanma yaptığını göstermektedir. Kaplamalarda bağlanma enerjisindeki artışın ana nedeni katkılanmadır. Oksijen ve azot elementleri, niyobyum oksinitrür kaplamalarda, yapıya girerek yapıdaki boşlukları doldurur, bu durum tüm enerji seviyelerini aşağı kaydırır (bağlanma enerjisi pozitif yönde değişir) (Höchst *et al.* 1982; Kuznetsov *et al.* 1992).



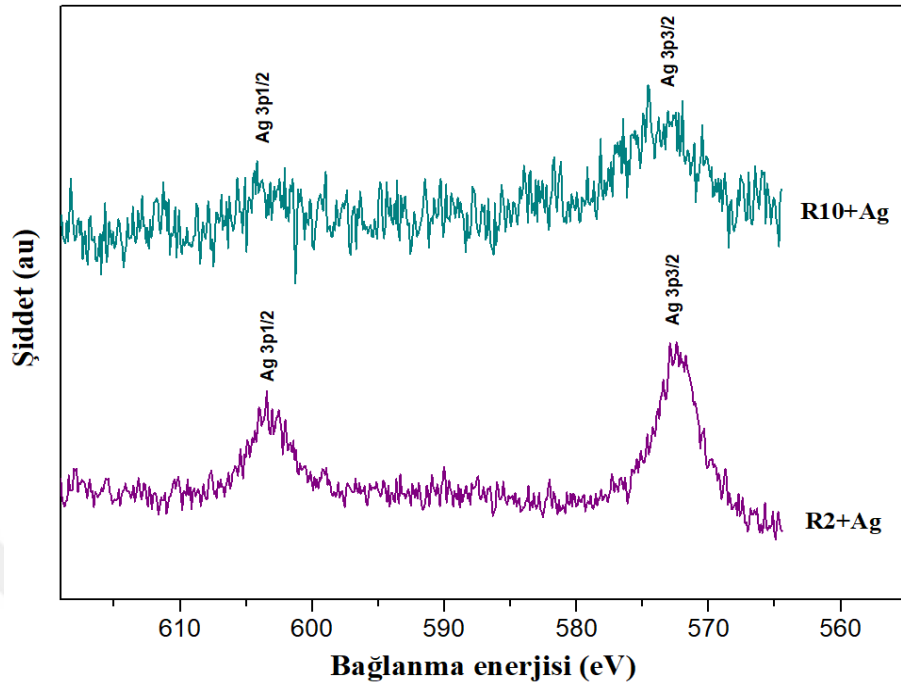
Şekil 35. Kaplamaların N 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.



Şekil 36. Ag ilaveli kaplamaların N 1s yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

Şekil 37’de Ag 3p’nin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu verilmiştir. Gümüş elementinin yüksek çözünürlüklü spektrumu verilirken Ag 3d analiz edilmesi gerekmektedir. Ancak çalışmamızda Ag 3d ve Nb 3p pikleri yaklaşık 361 eV değerinde aynı tepe noktası içerisine denk gelmesinden dolayı bir alttaki enerji seviyesi olan Ag 3p enerji seviyesi analiz edilmiştir.

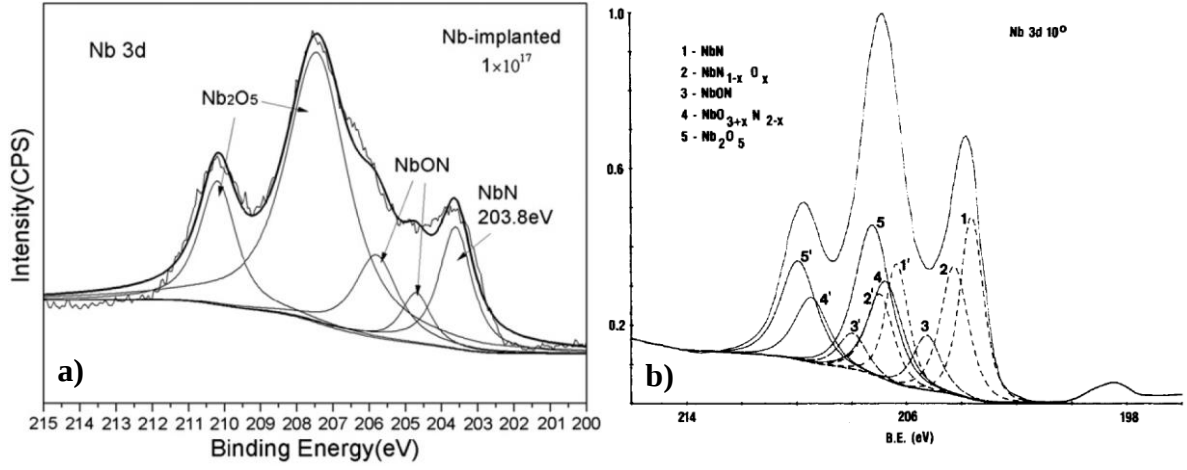
R2+Ag kaplamasında pik şiddetinde meydana gelen artış kaplama içerisindeki gümüşün atomik olarak fazla olduğunu göstermektedir.



Şekil 37. Ag ilaveli kaplamaların Ag 3p yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

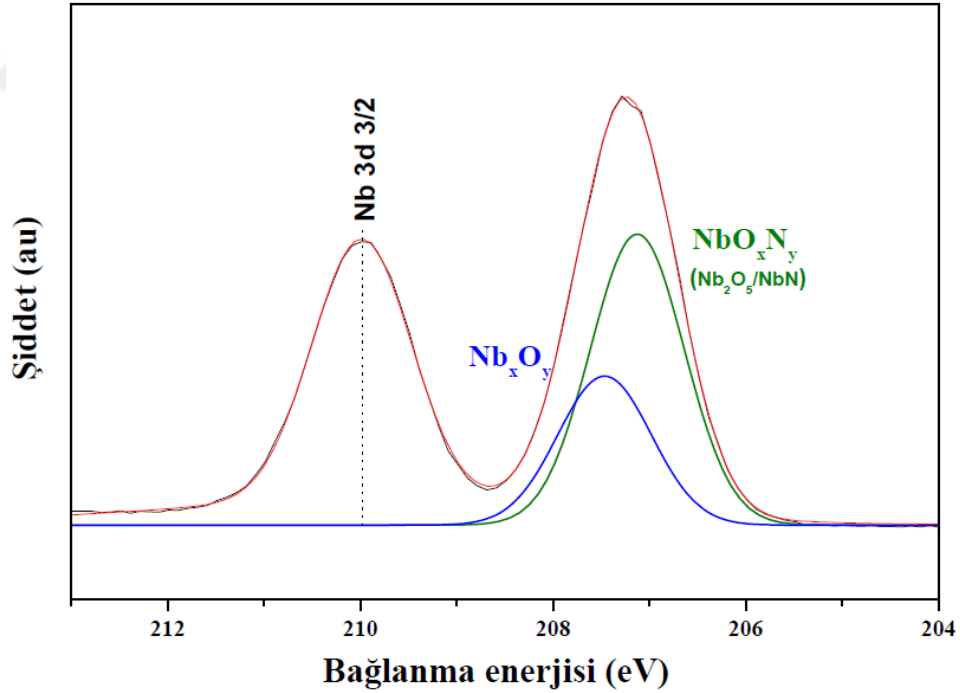
Şekil 37’de Ag 3p 3/2-1/2 ve Şekil 33-37’de Nb 3d 5/2-3/2 olarak gösterilen iki farklı pikin bulunması spin yörünge ayrılması (j-j çifti) denilen spin kombinasyonlarına bağlı olarak meydana gelmektedir. Spin yörünge ayrılması p alt kabuğunda 1/2, d alt kabuğunda 2/3 alan oranında iki farklı pik verir ve bu pikler birbirleri ile aynı karakteristiktir (Briggs 2003).

Literatür çalışmalarında Nb 3d kısmi taramasına ait XPS spektrumları pik ayrıştırmaları Şekil 38’de verilmiştir. XPS veri tabanları ve literatürde verilen Nb 3d’e ait XPS spektrumlarında yaklaşık olarak Nb 202,2 eV, NbN 203,6 eV, NbO_xN_y 205,55 eV ve Nb₂O₅ ise 207,55 eV değerlerinde bağlanma enerjisine sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca sitokiyometrik olmayan NbO_x piki ise 207,7 eV değerinde görülmektedir (Jouve *et al.* 1986; Darlinski and Halbritter 1987; Liu *et al.* 2014).



Şekil 38. Literatür kaynaklarında verilen Nb 3d kısmi taramasına ait XPS spektrumları a) (Liu *et al.* 2014) b) (Darlinski and Halbritter 1987)

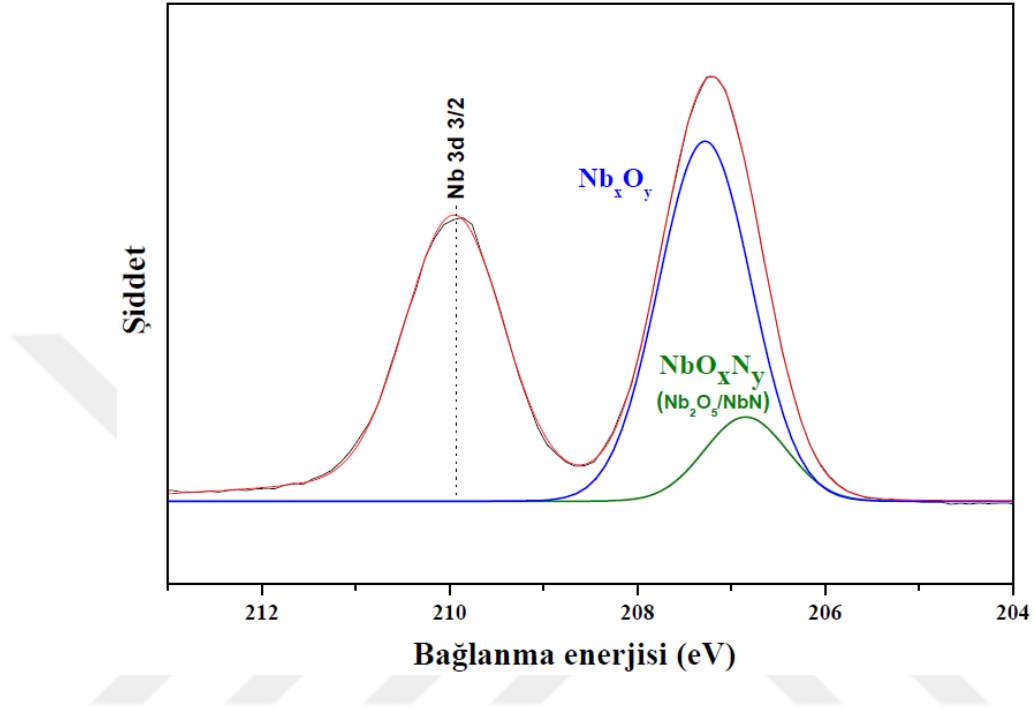
Üretilen kaplamaların tamamında oksinitrür yapısının üretiminden hemen önce alt katman olarak NbN kaplaması oluşturulduğu verilmişti. Vakum odasına yeterli düzeyde azot gazı verildiği düşünülecek olursa oksinitrür kaplamaları üretildiği deney sürecinde NbN yapıların oluşması beklenmektedir. Vakum odası içerisinde bir diğer reaktif olarak oksijen gazı verildiği durumda ise Nb₂O₅ metal oksitlerinin oluşması beklenmektedir.



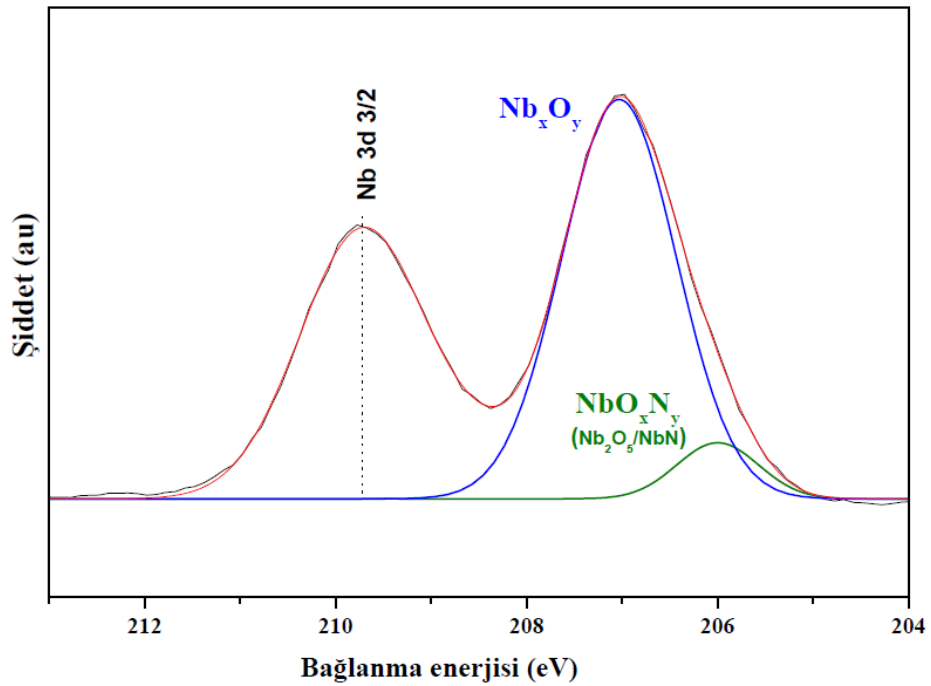
Şekil 39. R2 numunesinin Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

XRD analizi sonuçlarına göre kaplama yapısında genel olarak amorf yapı baskındır. Bu bağlamda üretilen kaplamalarda NbO_xN_y yapıları birbirine bağlı, ancak kristal olmayan Nb₂O₅ ve NbN yapılarının bir birleşimi olarak ortaya çıktığı Nb 3d kısmi tarama XPS

spektrumlarından anlaşılmaktadır. Oksinitrür yapı yeterli kimyasal bileşimde oluşması dışında ortamda bulunan fazla Nb ve O₂ atomları sitokiyometrik olmayan Nb_xO_y yapısını oluşturmuştur. Şekil 39-43’de Nb 3d yüksek çözünürlüklü spektrumlarının pik ayrıştırmaları verilmektedir. Bu ayrıştırmalara göre Nb 3d 3/2 pikleri Nb_xO_y ve NbO_xN_y (Nb₂O₅/NbN) yapısını kapsayan iki pikin bileşiminden meydana gelmektedir.

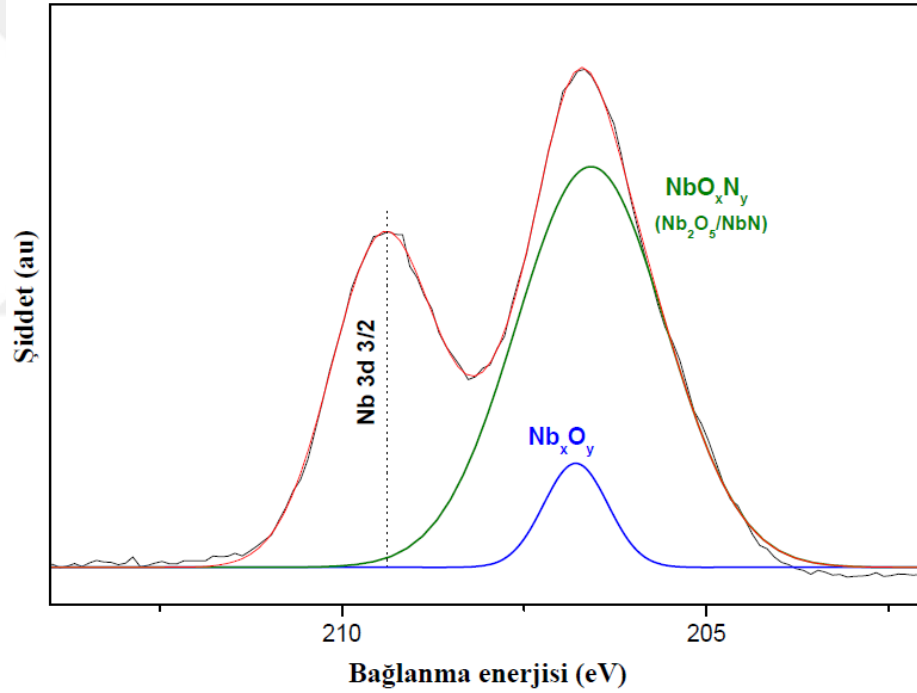


Şekil 40. R5 numunesinin Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

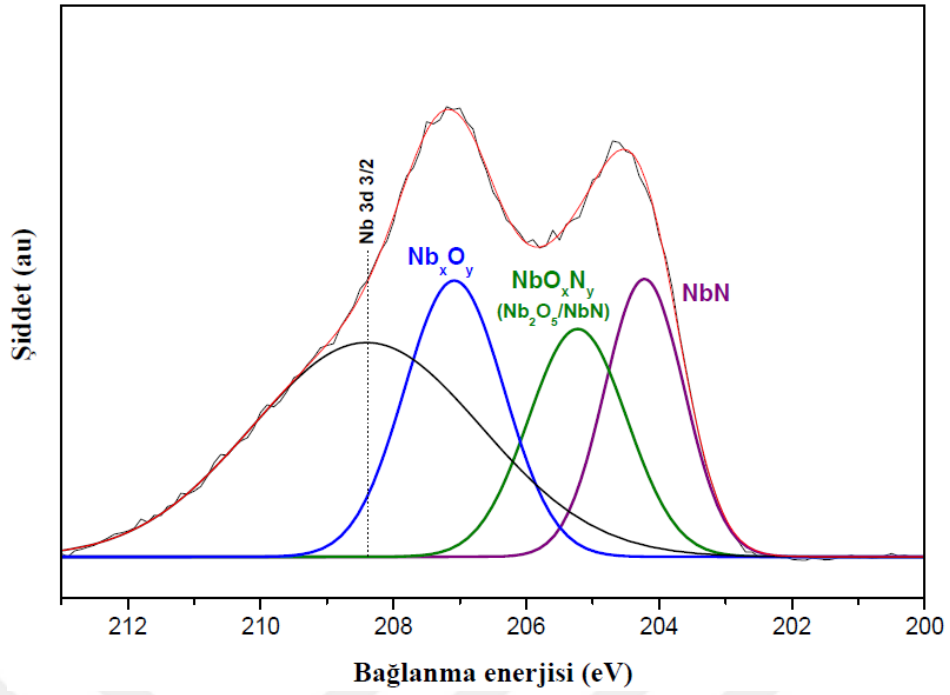


Şekil 41. R10 numunesinin Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

Şekil 39-41’de gösterilen R2, R5 ve R10 kaplamalarında en yüksek oksinitrür bileşiği R2 kaplamasında, en düşük R10 kaplamasında elde edilmiştir. En yüksek Nb_xO_y bileşiği R10, en düşük R2 kaplamasında elde edilmiştir. Şekil 39 incelendiğinde, diğer kaplamalara göre ortamda yüksek miktarda bulunan oksijen ve azot seviyesi, oksinitrür (Nb_2O_5/NbN) yapısının yüksek miktarda oluşmasını sağlamıştır. Sitokiyometrik olmayan niobyum oksit miktarı oldukça azalmıştır. Şekil 41’de ise diğer kaplamalara göre ortamda yeterli oksijen bulunmaması kararsız ve sitokiyometrik olmayan niobyum oksit miktarını oldukça artırmış, oksinitrür (Nb_2O_5/NbN) yapısını ise azaltmıştır. Büyütülen kaplamalarda R2 kaplaması için niobyum oksitçe zengin, R10 kaplaması için ise niobyumun nitrürce zengin bir oksinitrür yapısı oluşturduğu söylenebilir. Bu durum Tablo 11 ve 12’deki analiz sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, R10 kaplamasında azot miktarı, R2 kaplamasında ise oksijen miktarının fazla olduğu görülmektedir.



Şekil 42. R2+Ag kaplamaların Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.



Şekil 43. R10+Ag kaplamaların Nb 3d yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

Şekil 42 ve 43’de gösterilen Ag ilaveli kaplamalarda ise gümüş ilavesinin her iki kaplamada da oksinitrür miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Diğer kaplamalardan farklı olarak R10+Ag kaplamasında NbN yapısının ayrı bir yapı olarak pik oluşturduğu görülmektedir. Bu durum, gümüşün kaplama yapısına ilave edilmesiyle plazma içerisinde bulunan oksijenleri daha çok bağlamasından dolayı oluşabileceği düşünülmüştür. Ayrıca gümüş ilaveli kaplama sürecinde iki farklı magnetron tarafından iki farklı plazmanın oluşması neticesinde alttaş malzemesine daha fazla atom hareketliliği gerçekleşmektedir. Tüm kaplamaların, XPS analiz sonuçlarından elde edilen bağlanma enerjisi değerleri Tablo 16’da verilmiştir.

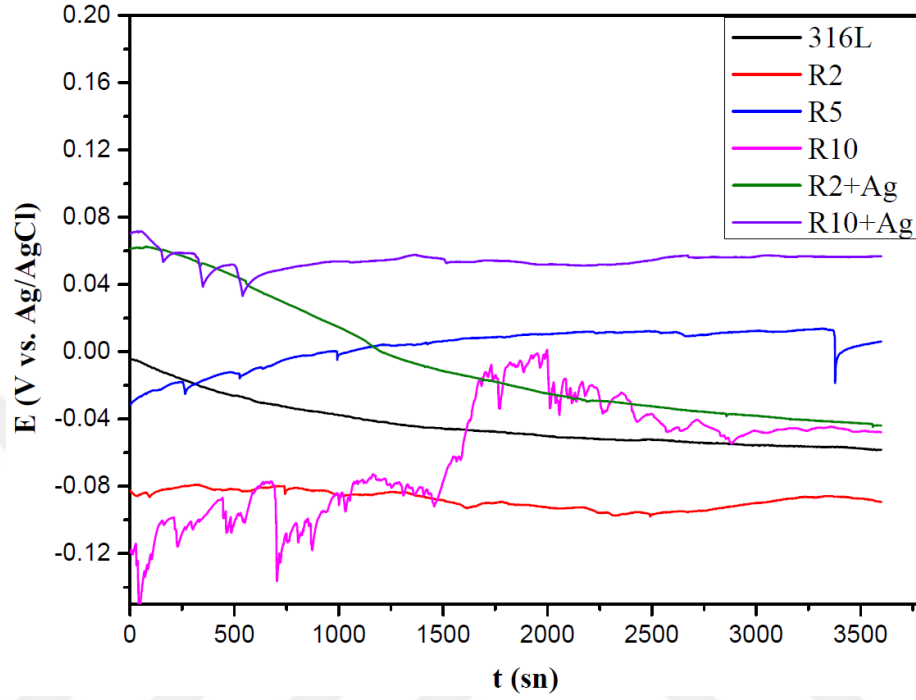
Tablo 16. XPS Analizine Göre Bağlanma Enerjileri.

Numune Kodu	Nb 3d 5/2			N 1s	O 1s
	NbO _x N _y	Nb _x O _y	NbN		
R2	207,12	207,46	-	402,06	530,53
R5	206,84	207,27	-	401,95	530,61
R10	206,01	207,02	-	402,93	530,97
R2+Ag	206,58	206,79	-	397,93	529,92
R10+Ag	205,22	207,04	204,22	397,32	530,86

In-vitro Korozyon Testleri

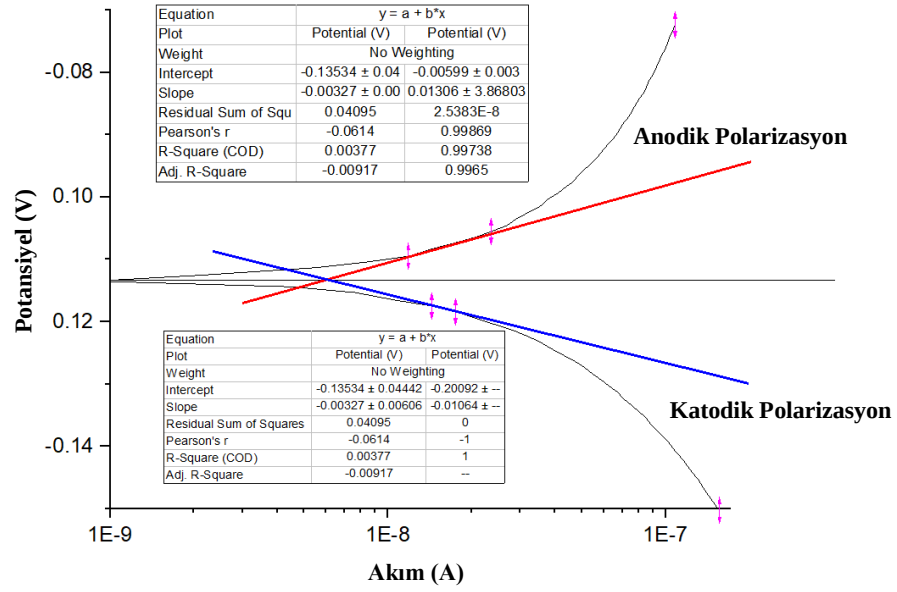
Oksinitrür kaplamaların elektrokimyasal davranışı, potansiyodinamik polarizasyon ölçümleri ile araştırılmıştır. Korozyon testleri öncesinde kaplamalar, çözelti içerisindeki bir

malzemeden hiç akım geçmezken ölçülen potansiyel değeri olarak tanımlanan sabit bir açık devre potansiyeline (E_{ocp}) ulaşınca kadar laktatlı Ringer çözeltisinde bekletilmiştir. 3600 sn'lik açık devre potansiyeli ölçümleri Şekil 44'de gösterilmiştir. Malzemelerin korozyona karşı direncini belirten açık devre potansiyeli değeri aktif ve pasif davranış geçişlerini belirleyen önemli bir ölçüm yöntemidir (Kawai *et al.* 1995).



Şekil 44. Kaplanmamış 316L numune ve kaplamaların açık devre potansiyeli eğrileri.

Açık devre potansiyeli ölçümüne göre en soy potansiyel değeri R10+Ag, ikinci olarak R5 kaplamasında ölçülmüştür. R2 hariç tüm kaplamalar 316L taban malzemeye göre daha soy potansiyel göstermiştir. R2+Ag ve 316L'de farklı hızlarda düşüş eğilimi gözlenmiştir. R2 numunesinin kolonsal yapıda büyümesinden dolayı elektrolitin sütunlar içine sızmasından dolayı daha aktif olduğu düşünülmektedir. Numunelerin sadece açık devre potansiyeli değerleri incelenerek korozyon davranışının belirlenmesi tek başına yeterli değildir. Korozyon hızının analiz edildiği Tafel ekstrapolasyon eğrilerini incelemek gerekmektedir (Ghosh *et al.* 2006).

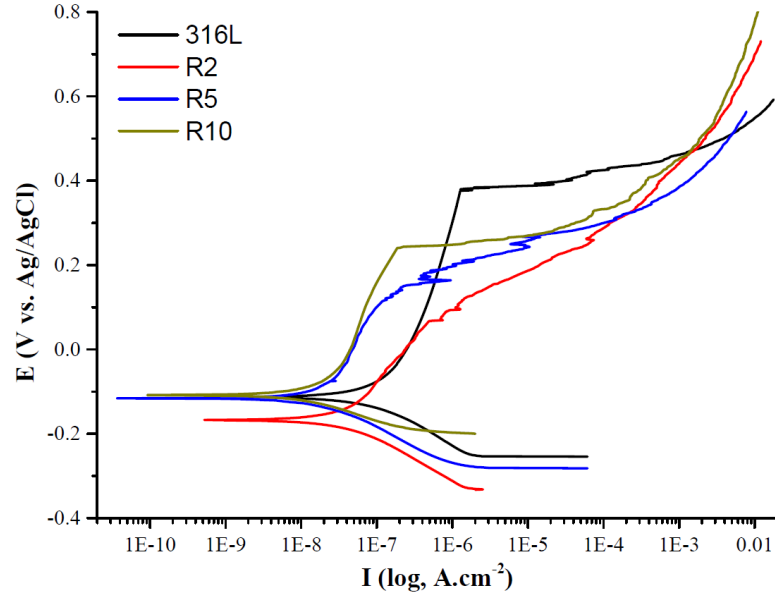


Şekil 45. Origin yazılımı ile 316L taban malzemesine ait polarizasyon eğrilerinin belirlenmesi.

Korozyon potansiyeli ve korozyon akımı değerleri, Origin yazılımı ile anodik ve katodik polarizasyon eğrileri belirlenerek Stern-Geary lineer polarizasyon hesaplamalarına göre hesaplanmıştır. Origin yazılımı ile 316L taban malzemeye ait polarizasyon eğrilerinin örnek bir ölçümü Şekil 45'te verilmiştir.

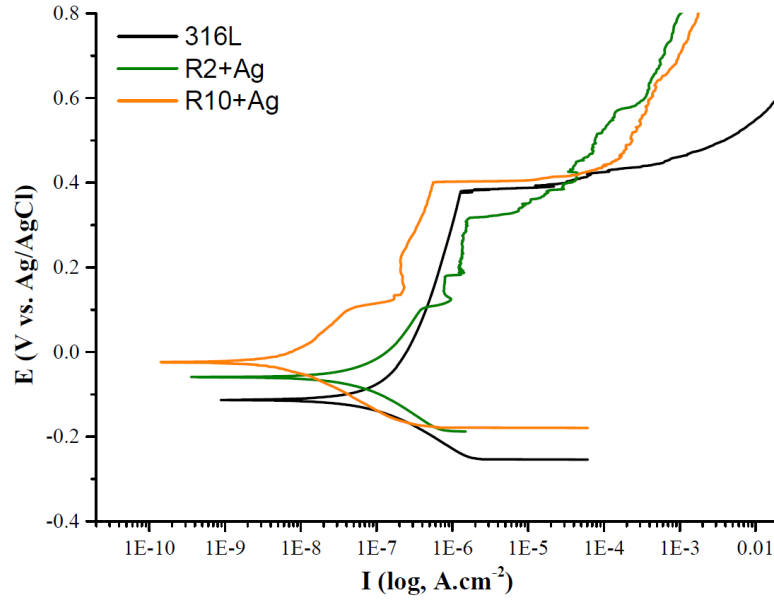
R2, R5, R10 kaplamalarının potansiyodinamik polarizasyon eğrileri Şekil 46'da, R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının ki ise Şekil 47'de verilmiştir. Potansiyodinamik polarizasyon ölçümleri 1 mV/sn tarama hızında, -0,4V ile +0,8V aralığında gerçekleştirilmiştir. Eğrilerin korozyon potansiyeli (E_{kor}), korozyon akımı (I_{kor}), korozyon direnci (R_p) ve korozyon hızları Stern-Geary lineer polarizasyonuna göre hesaplanarak Tablo 17'de gösterilmiştir. Korumucu pasif oksit tabakası oluşturan metallerin lineer polarizasyon diyagramlarında, akım değerinin çok fazla değişmediği, ancak potansiyelin önemli ölçüde yükseldiği pasifleşme potansiyeli (E_{pas}) eğilimi görülmektedir. Pasif oksit tabakasındaki zayıf bölgelerde, çukurcuk oluşumlarının meydana geldiği oyuklanma potansiyeli (E_{pit}) değerinde ise malzemede hızlı bir şekilde korozyon gerçekleşmeye başlamakta sonrasında kullanılamaz şekilde hasara uğramaktadır.

316L taban malzemenin oyuklanma potansiyeli (E_{pit}) değeri -372 mV, korozyon akımı (I_{kor}) 149,027 $\mu A.cm^{-2}$ 'dir. Oyuklanma potansiyeli değeri tüm kaplamalara göre oldukça düşük bir değerdir.



Şekil 46. R2, R5 ve R10 kaplamalarının potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinin 316L taban malzeme ile karşılaştırılması.

Şekil 46’da görüldüğü üzere amorf yapıya sahip R10 kaplama en iyi korozyon direncini göstermiştir. R2 kaplaması 69, 94 ve 250 mV değerlerinde oyuklanma potansiyeli (E_{pit}), 12,01 $\mu A.cm^{-2}$ değerinde korozyon akımı (I_{kor}) göstermiştir. Korozyon çalışmalarında sütunsal büyüyen yapılarda, sütunlar arasında meydana gelen boşluklar neticesinde her bir sütunun bir diğerine anot ve katot olarak davrandığı, bu durumun ise korozyon direncini düşürdüğü bilinmektedir. Ayrıca sütunların arasına girebilen klor iyonları, yüzeyden geçerek çukurlar oluşturabilmektedir. Bir diğer durum ise ıslanabilirliğin fazla olması durumunda, korozyon kimyasallarıyla yüzeyin daha fazla etkileşime girmesi sonucunda korozyonun artmasıdır (Ding *et al.* 2008; D’avico *et al.* 2019). R5 kaplaması 158 mV ve 237 mV değerinde oyuklanma potansiyeli (E_{pit}), 12,01 $\mu A.cm^{-2}$ değerinde korozyon akımı (I_{kor}) değeri göstermiştir. R10 kaplamasında ise 237 mV değerinde oyuklanma potansiyeli (E_{pit}), 4,59 $\mu A.cm^{-2}$ değerinde korozyon akımı (I_{kor}) elde edilmiştir. R10 kaplamasında taban malzemeye göre yaklaşık 23 kat daha düşük korozyon akım değeri göstermiştir.



Şekil 47. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinin 316L taban malzeme ile karşılaştırılması.

Gümüş ilavesi yapılan R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının potansiyodinamik polarizasyon eğrisi Şekil 47’de gösterilmiştir. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarına düşük miktardaki gümüş elementi ilavesi R2 ve R10 kaplamalarına göre korozyon potansiyellerini arttırmıştır. Bu durum gümüş elementinin galvanik seride paslanmaz çeliğe göre daha soy olmasından kaynaklanmaktadır (Féron 2007). Ancak gümüş elementinin galvanik etki oluşturması, gümüş ilaveli kaplamaların diğer kaplamalara göre daha düşük korozyon direnci göstermesine sebep olmuştur.

Tablo 17. Kaplanmamış 316L Numune ve Kaplamaların Potansiyodinamik Polarizasyon Eğrilerinden Hesaplanan Korozyon Parametreleri

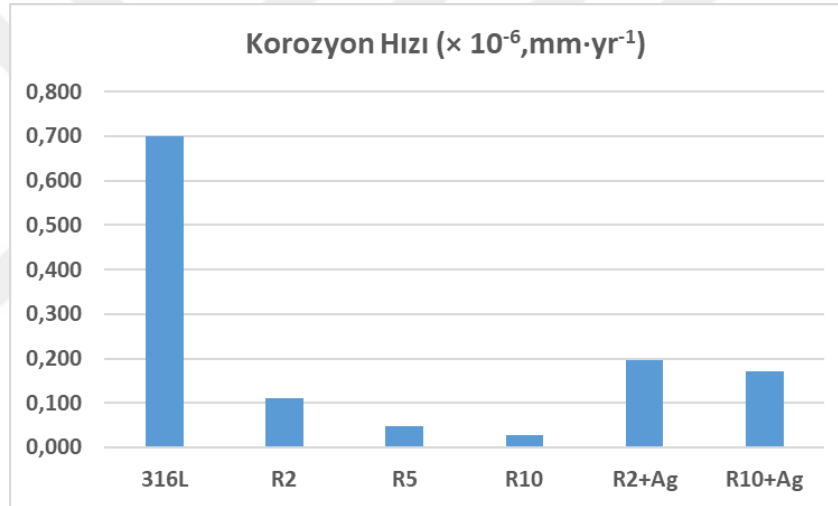
Numune	E_{kor} (mV)	I_{kor} ($\mu A.cm^{-2}$)	R_p ($k\Omega.cm^2$)	Korozyon hızı ($\times 10^{-6}$, mm/yıl)
316L	-113,00	60,69	206,62	0,700
R2	-168,00	12,01	987,12	0,111
R5	-116,00	4,59	1.818,72	0,048
R10	-107,00	2,42	3.373,21	0,027
R2+Ag	-59,00	12,84	507,18	0,197
R10+Ag	-24,00	11,09	723,18	0,171

Korozyon hızları incelendiğinde R2+Ag ve R10+Ag kaplamaları, tüm kaplamalara göre daha düşük korozyon direnci göstermiştir.

Şekil 22 ve 23’teki SEM kesit görüntüleri incelendiğinde R10 kaplamasında elde edilen yoğun yüzey morfolojisi R10+Ag kaplamasında tam olarak elde edilememiştir. R10+Ag

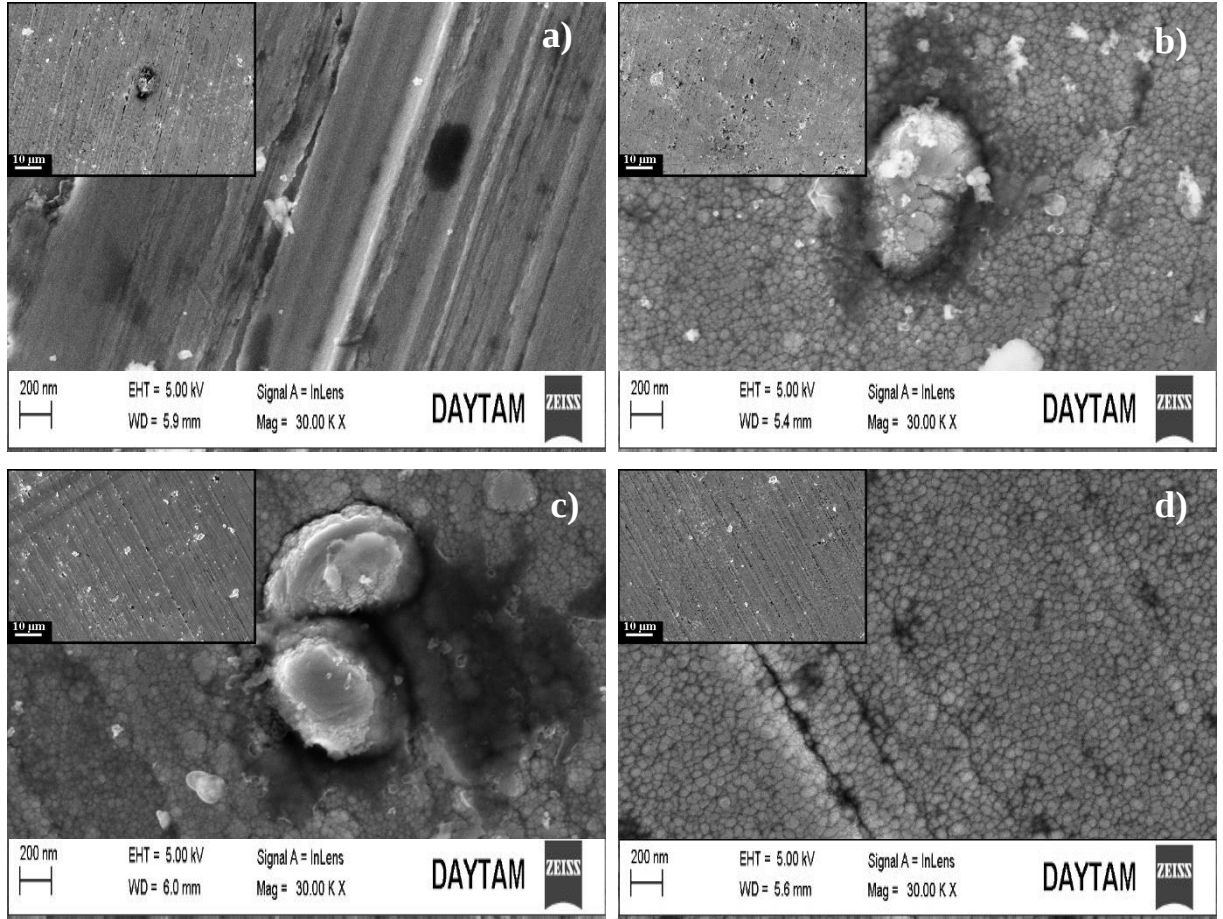
kaplamasının korozyon hızının, R10 kaplamasına göre bir miktar düşüşünün sebebi kaplama morfolojisindeki değişimden kaynaklanmaktadır. R2+Ag ve R10+Ag kaplamaları, diğer kaplamalara göre daha üstün pasifleşme göstermiştir. Ancak R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarında gümüş ilavesi korozyon direncini bir miktar azaltmıştır.

R2+Ag kaplamasında oyuklanma potansiyeli (E_{pit}) 120 ve 287 mV değerinde olduğu, korozyon akımı (I_{kor}) değerinin ise $12,84 \mu A.cm^{-2}$ olduğu belirlenmiştir. R10+Ag kaplamasında ise oyuklanma potansiyeli (E_{pit}) 367 mV değerinde olduğu, korozyon akımı (I_{kor}) değerinin ise $11,09 \mu A.cm^{-2}$ olduğu tespit edilmiştir. Bu değerler taban malzemeye göre oldukça düşük değerlerdir. Örneğin R2+Ag kaplaması taban malzemeye göre 3,5 kat daha düşük korozyon akımı değerine sahiptir. Ayrıca R2+Ag kaplamasında Şekil 23'teki kesit görüntüsü incelendiğinde diğer kaplamalarla karşılaştırıldığında mikroyapıdaki kusurların artması ve daha ince kaplama elde edilmesi neticesinde korozyon direnci önemli miktarda azalmıştır.



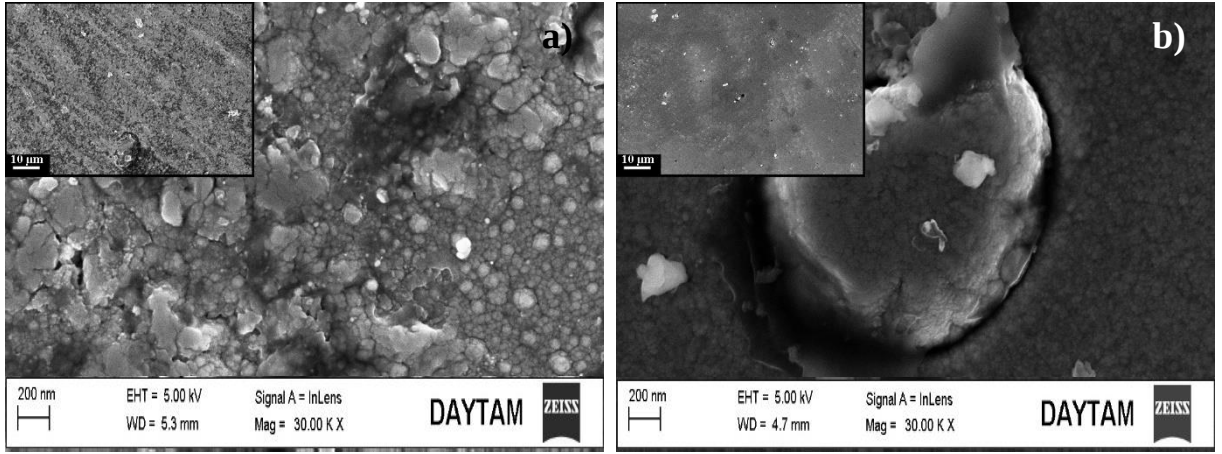
Şekil 48. 316L taban malzeme ve kaplamaların potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinden hesaplanan korozyon hızları.

Tablo 17 ve Şekil 46 ve 47'de gösterildiği üzere tüm kaplamaların 316L paslanmaz çeliğe göre üstün korozyon direncine sahip olduğu görülmektedir. Korozyon hızları incelendiğinde, en iyi korozyon direncine sahip kaplama R10, en düşük korozyon direncine sahip kaplama ise R2+Ag'dir. Daha önce açıklanan SEM-kesit görüntülerinden de anlaşılabileceği üzere, R10 kaplamasının amorf ve kompakt kalın bir oksinitrür yapısına sahip olması, bu kaplamaların yüksek korozyon direncine sahip olmasına neden olmuştur. R2+Ag'de ise gümüş elementinin yapıya girişi, sütunsal yapıdaki boşlukları arttırmış, bu boşluklar korozyon dayanımını düşürmüştür. Ayrıca gümüş ile sütunlar arasında galvanik etkinin meydana gelmiş olması da korozyon direncini düşürmüş olabilir.

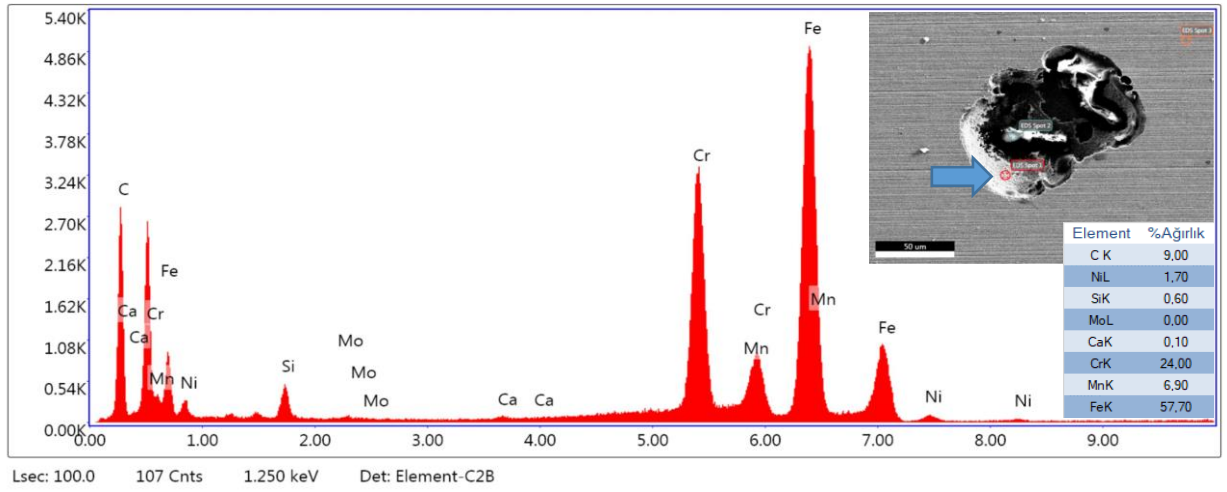


Şekil 49. Korozyon testi sonrası SEM görüntüleri a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.

Korozyon testleri sırasında R2, R2+Ag ve R10+Ag kaplamaları, pasivasyon eğilimi göstermiştir. Şekil 49 ve 50’de potansiyodinamik korozyon testi sonrası numunelerin yüzeylerinde oluşan korozyon izleri gösterilmiştir. Korozyon sonrası oluşan çukurcukların içerisinde alınan EDS analizleri Şekil 51-56’de verilmiştir. Analiz alınan noktalar mavi okla gösterilmiştir. Şekil 49 ve 50’de kaplamaların yüzeyinde farklı boyutlarda çukurcuklar, çukurcuk başlangıçları görülmektedir. 367 mV değerinde oyuklanma potansiyeli (E_{pit}) gösteren R10+Ag ve 237 mV değerinde oyuklanma potansiyeli (E_{pit}) gösteren R10 kaplamalarının yüzeylerinde diğer kaplamalara göre daha küçük çukurcukların oluştuğu görülmektedir. R2 ve R5 kaplamasında korozyonun büyük nodüler yapılar etrafında daha etkili olduğu görülmektedir.

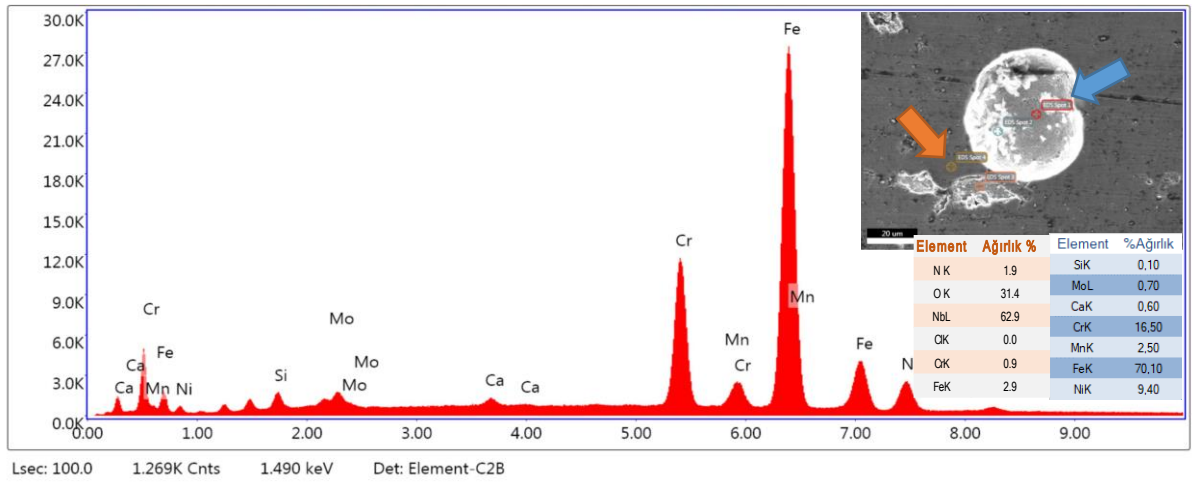


Şekil 50. Korozyon testi sonrası SEM görüntüleri a) R2+Ag b) R10+Ag.

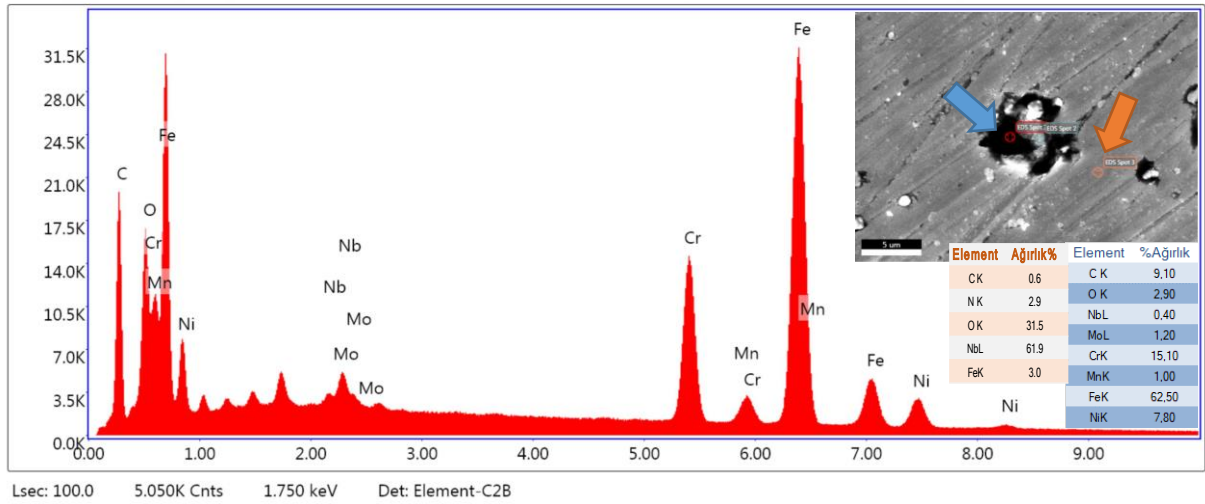


Şekil 51. Korozyon testi sonrası 316L taban malzemenin çukurcuk içerisinde alınan EDS analizi.

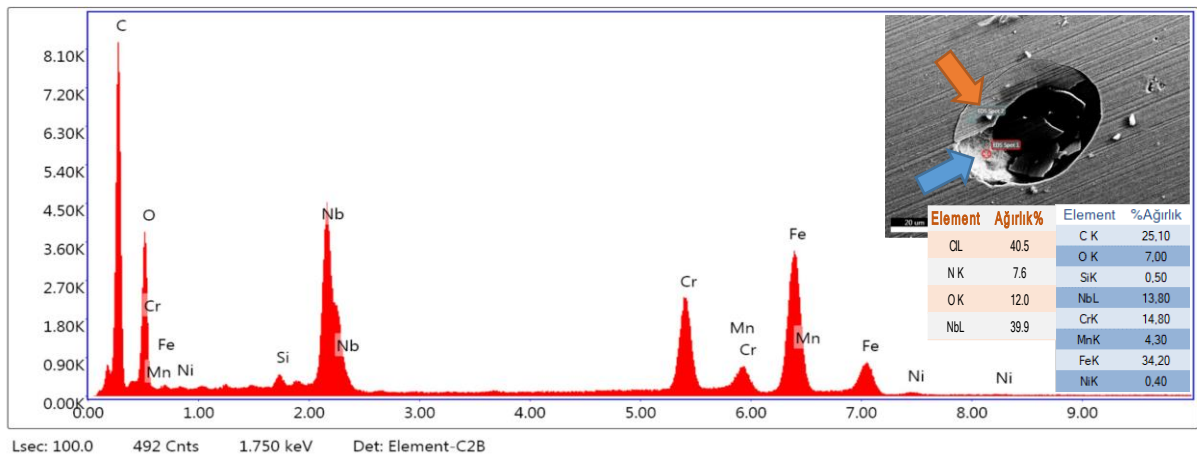
Çukurcuk korozyonu, malzemede oyukların veya deliklerin meydana geldiği bölgesel bir korozyon türüdür. Malzemedeki çukurlaşmanın üniform korozyon hasarından daha tehlikeli olduğu düşünülmektedir. Bu durumun sebebi tespit edilmesi, tahmin edilmesi ve bu tür korozyona karşı malzemelerin dizayn edilmesi oldukça zordur. Korozyon ürünleri genellikle çukurları kaplamakta, tüm sistemin hasara uğramasına neden olabilmektedir. Malzemelerde çukurcuk sayısı arttıkça derinlikleri azalmakta, tersi durumda ise daha az derinliğe sahip daha çok çukurcuk oluşmaktadır. Bölgesel korozyon hasarlarının neredeyse tamamını oluşturan çukurcuk korozyonu, açık tip, yarı geçirgen tip, eliptik ve dar-derin gibi farklı şekillerde gelişebilmektedir (Boehni 1984).



Şekil 52. Korozyon testi sonrası R2 kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.

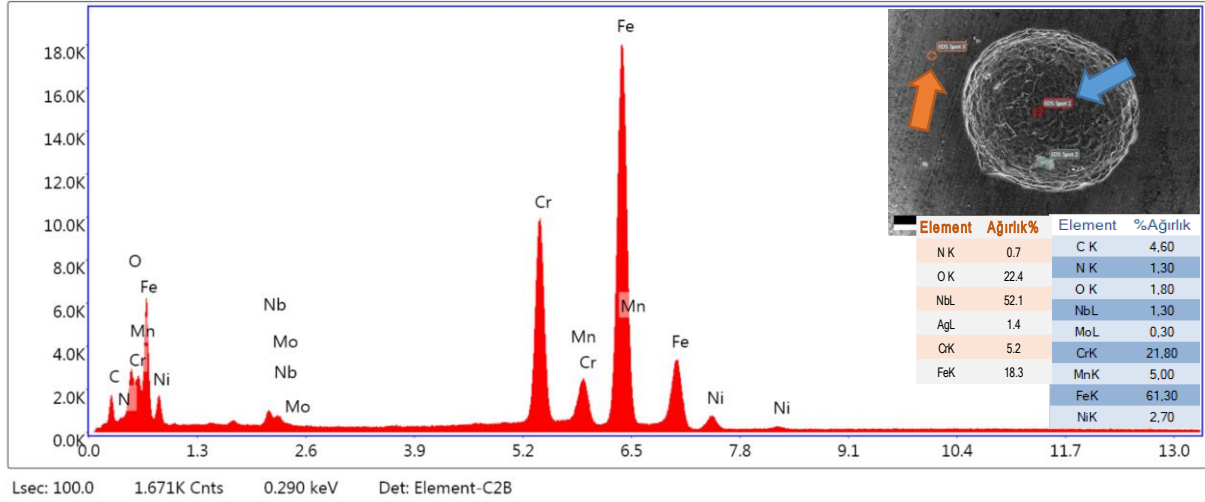


Şekil 53. Korozyon testi sonrası R5 kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.

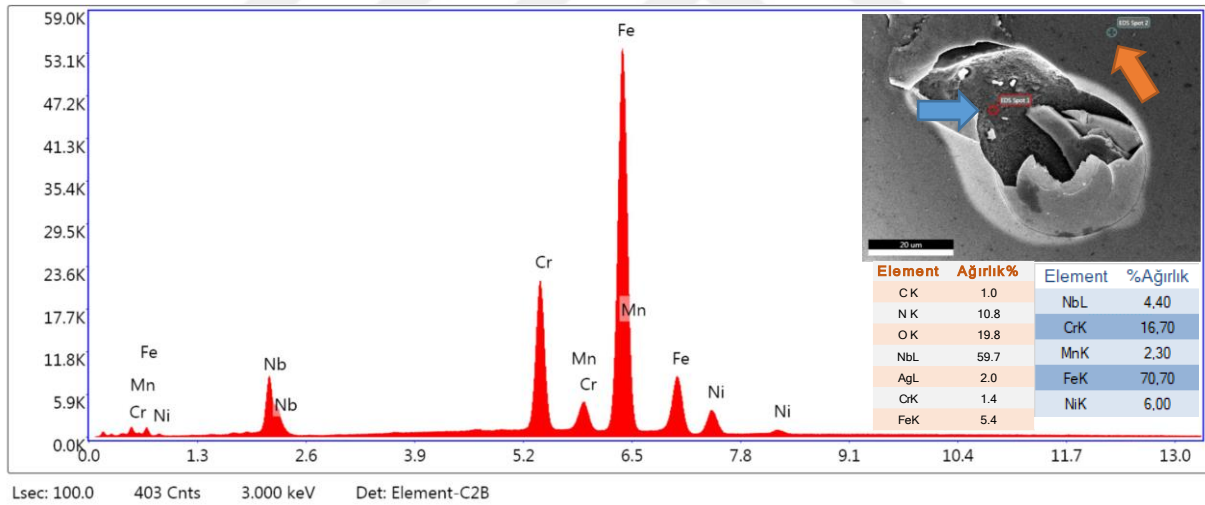


Şekil 54. Korozyon testi sonrası R10 kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.

R10 ve R10+Ag kaplama yüzeylerinde oldukça koruyucu bir tabaka oluştuğu görülmektedir. EDS alınan çukurcukların görsellerinden de anlaşılacağı üzere R10 ve R10+Ag kaplamaların daha koruyucu olduğu görülmektedir. Bu tabaka R10+Ag de korozyon direncine önemli bir katkı sağlamamıştır.



Şekil 55. Korozyon testi sonrası R2+Ag kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.



Şekil 56. Korozyon testi sonrası R10+Ag kaplamasında çukurcuk içerisinden ve kenarından alınan EDS analizi.

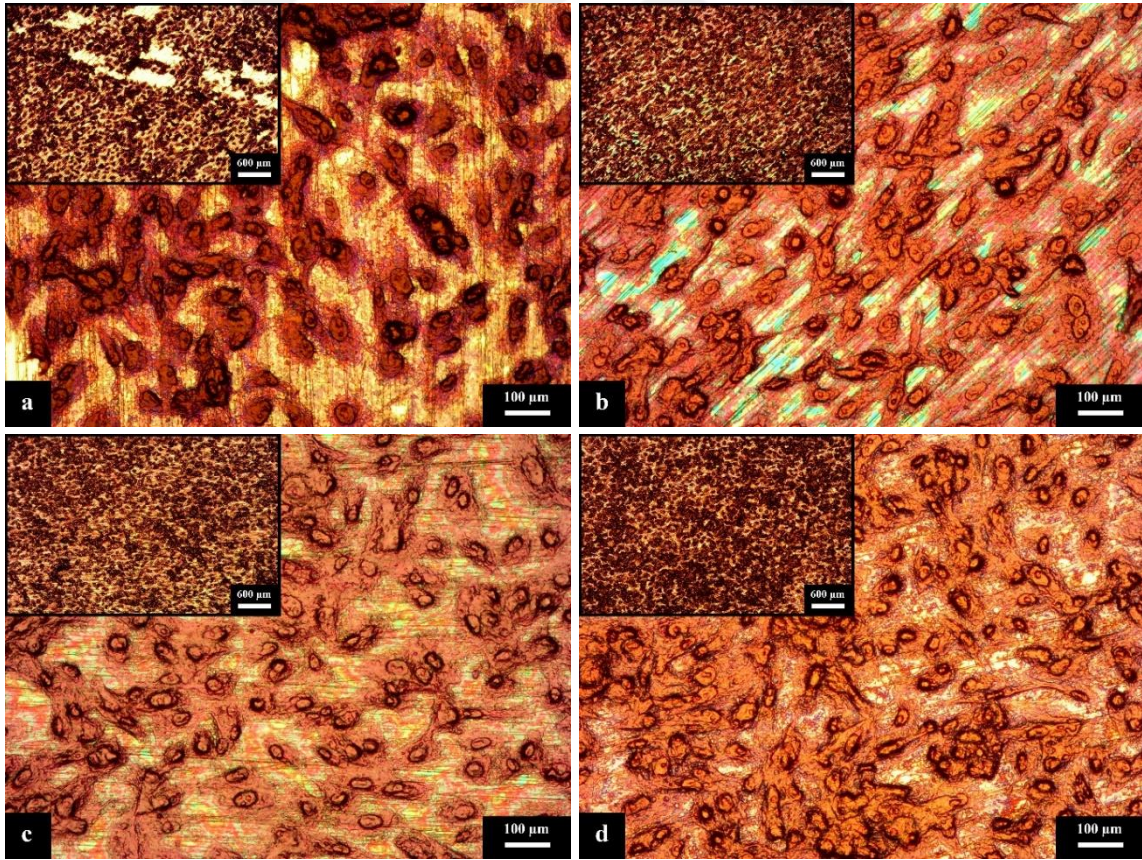
Özellikle Şekil 55'te gösterilen R2+Ag kaplamasının çukurcuk içerisinden alınan görüntüye göre, çukurcuğun eliptik geniş yapıda meydana geldiği görülmektedir. Korozyon testi sonrasında çukurcukların içerisinden (mavi ok) ve çukurcukların dışlarından (turuncu ok) alınan EDS analizleri Şekil 52-56'da gösterilmiştir. Tüm çukurcukların içinden alınan analizler, Şekil 51'de gösterilen çeliktekinе benzerlik göstermektedir. Bu sebeple, çukurcukların taban malzemesine ulaştığı veya çok yakınlığına sonucuna varılmaktadır. Tüm kaplamalardan alınan

kimyasal analizlerde, kaplamaların korozyona karşı dirençli olduğu, tüm numunelerde korozyonun doğası gereği farklı şekil ve boyutlarda çukurcukların meydana geldiği görülmektedir.

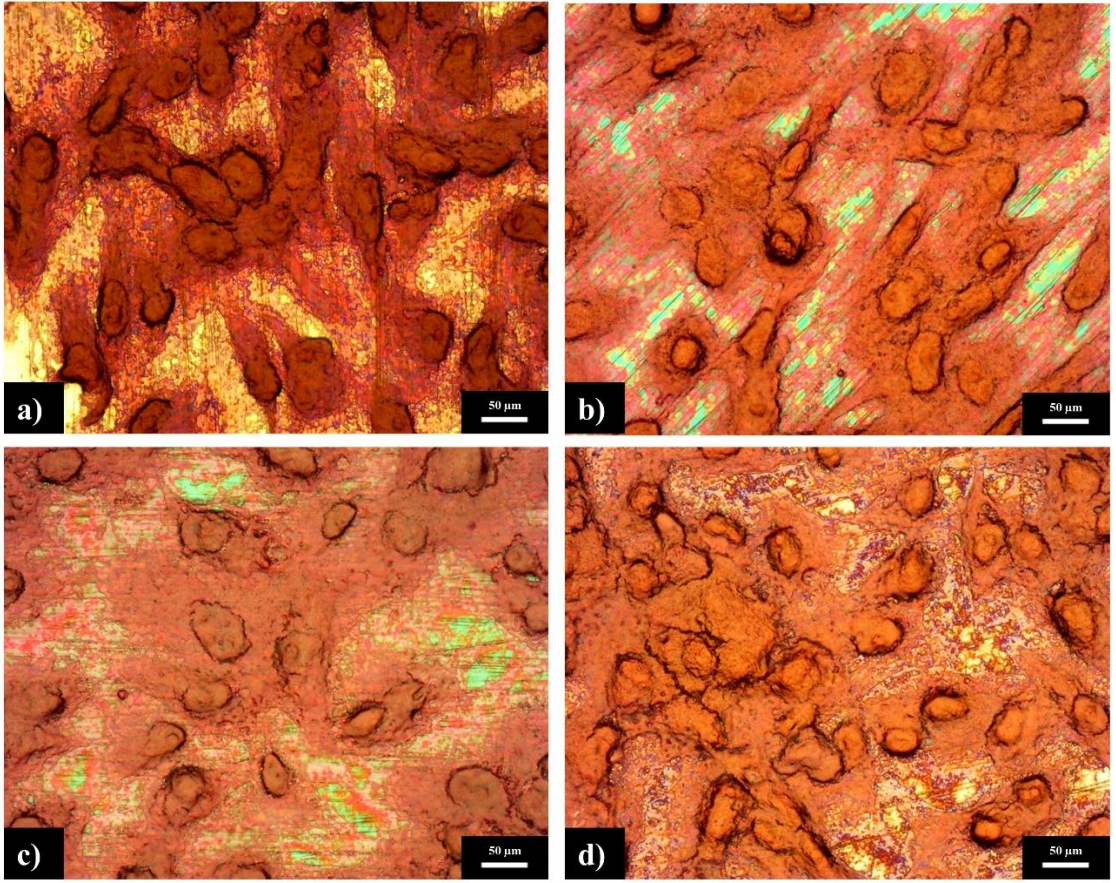
***İn-vitro* Şartlarında Biyouyum Özelliklerinin Belirlenmesi**

Yüzeylerden hücrelere ait yapışma ve proliferasyon durumlarının belirlenmesi

İn-vitro sitotoksisite deneyleri ISO 10993-5'e göre gerçekleştirilmiştir. 316L taban malzeme ve oksinitrür kaplamaların biyolojik tepkilerini araştırmak amacıyla fibroblast hücreleri (15.000 hücre/mm²) yüzeylere ekilmiştir. 72 saatlik hücre büyümesi sonrası hücrelerin morfolojisi, kristal viyole boyaması ile optik mikroskopta görüntülenerek Şekil 57-60'da gösterilmiştir. Şekil 57'de gösterilen yüzeyler arasında amorf niyobyum oksinitrür kaplaması olan R10'un diğer tüm yüzeylere göre en yüksek hücre yoğunluğuna sahip olduğu görülmektedir. Şekil 59'da verilen gümüş ilaveli kaplamaların diğer tüm yüzeylere göre daha yüksek hücre yoğunluğuna sahip olduğu görülmektedir. Hatta R2+Ag kaplamasında hücreler birbirleriyle birleşerek kolonize bir yapı oluşturmuştur.

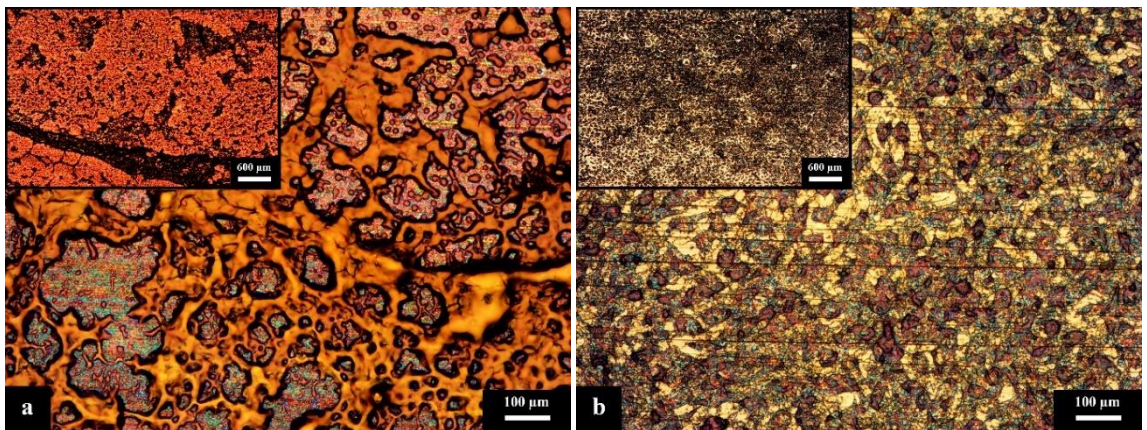


Şekil 57. 200X ve 50X(iç foto) Büyütmede insan fibroblast hücre yayılımının görüntülenmesi
a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.

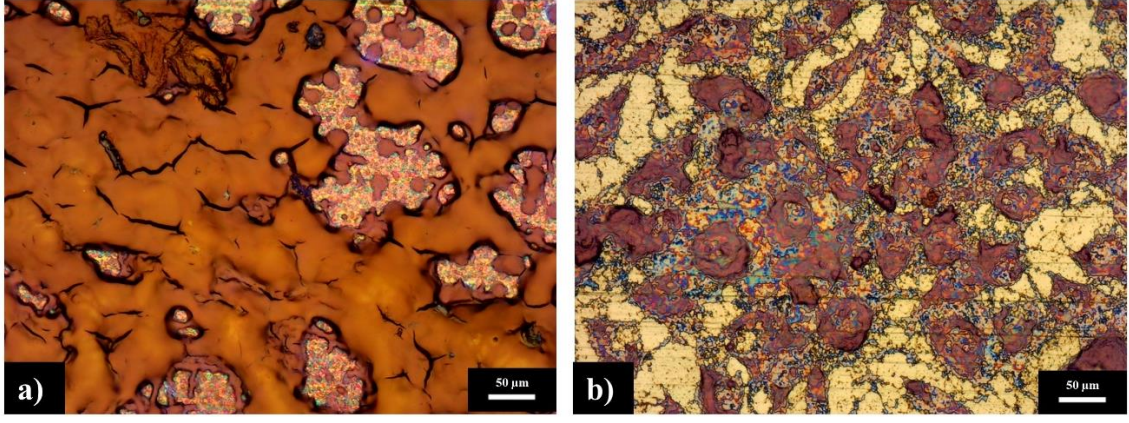


Şekil 58. 500X Büyütmede insan fibroblast hücre yayınının görüntülenmesi a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.

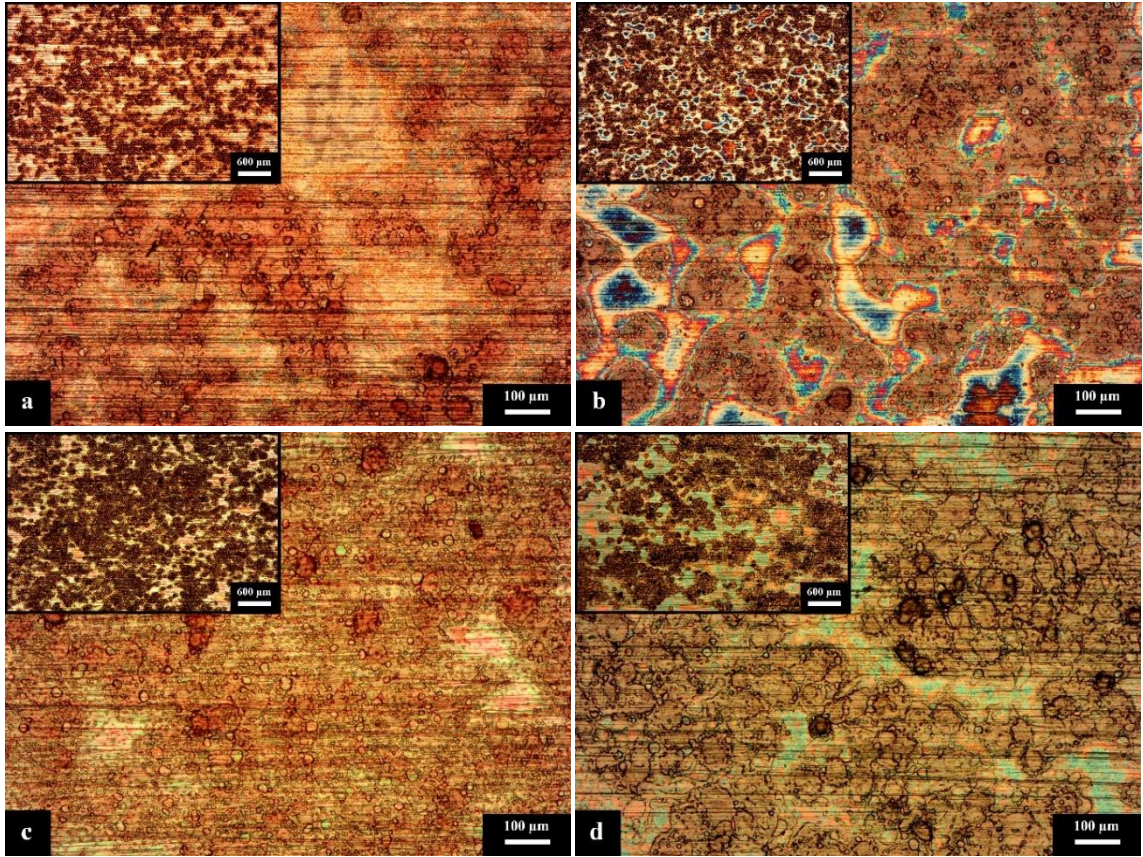
Hücreler birbirleriyle, hücre dışı matris bileşenlerinden aldıkları kimyasal veya mekanik sinyaller sayesinde yüzeyle reaksiyona girmesi sonucunda birleşip çoğalmaktadır. Hücre dışı matris ve kolonizasyon aşaması Şekil 58 ve 60'da daha net görülmektedir.



Şekil 59. 200X ve 50X(iç foto) İnsan fibroblast hücre yayınının görüntülenmesi a) R2+Ag b) R10+Ag.



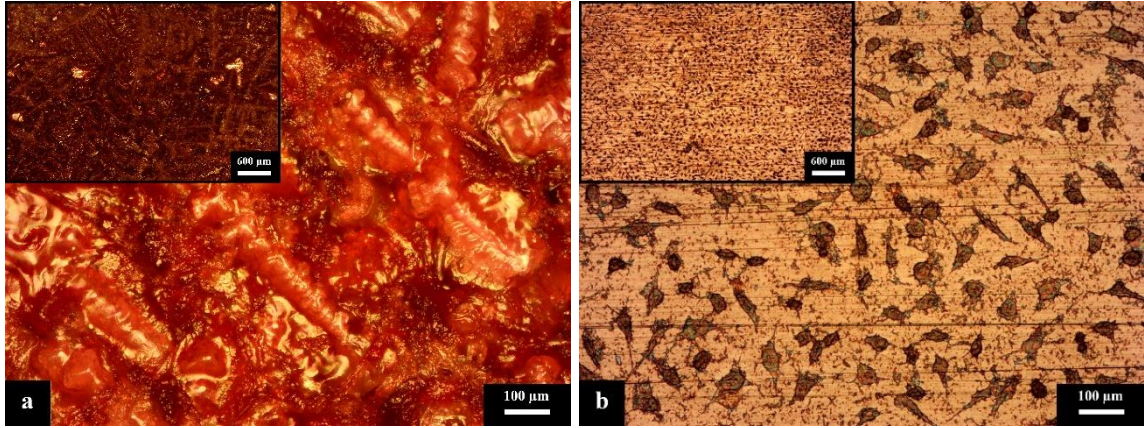
Şekil 60. 500X İnsan fibroblast hücre yayınının görüntülenmesi a) R2+Ag b) R10+Ag.



Şekil 61. MTT testi sonrası formazan kristal görüntüleri a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.

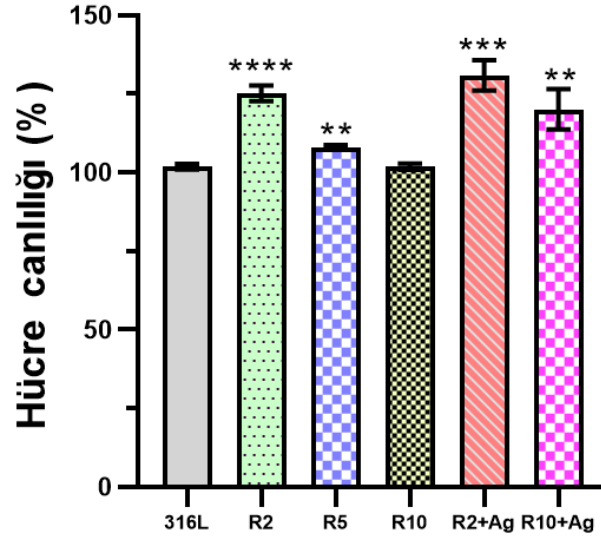
Biyoyum çalışmalarından elde edilen yüzey görüntülerinde, hücrelerin yüzeyle olan etkileşiminin görüntülenmesi oldukça önemlidir. Ancak bu durum tek başına yeterli değildir. Yüzeyde canlı hücrelerin bulunmasının yanı sıra ölü hücrelerin de olması mümkündür. Biyouyumluluk çalışmaları içerisinde hücrelerin canlılığını belirlemek amacıyla MTT sitotoksite yapılması gerekmektedir. Tetrazolyum tuzu, XTT, MTS, WST-1, WST-8 gibi 1000'i aşkın çeşidi ile bu testlerde kullanılmaktadır. Hücre kültürü çalışmaları süreci sonunda

deney ortamında bulunan besi yeri solüsyonu uzaklaştırılarak, tetrazolyum içerikli bir solüsyon verilmektedir. Yaklaşık olarak 4 saat bu solüsyon deneyin yapıldığı kuyucuklarda bekletilir. Tetrazolyum sadece canlı hücre içerisindeki aktif mitokondri tarafından parçalanarak, sonrasında formazan kristaline dönüşen özel bir tuzdur. Dönüşen formazan kristali miktarı sadece canlı hücrelerin varlığının kanıtı olduğundan, elde edilen analiz sonuçlar biyoyumluluk açısından oldukça önem arz etmektedir (Tokur and Aksoy 2017).



Şekil 62. MTT testi sonrası formazan kristal görüntüleri a) R2+Ag b) R10+Ag.

Şekil 61 ve 62’de 72 saat sonrasında uygulanan MTT testi sonucu 316L taban malzeme ve tüm kaplamalardaki canlı hücrelerin yüzeylerde oluşturduğu formazan kristallerinin kristal viyole boyaması ile optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. 72 saat sonunda hücrelerin sentezlediği formazan kristallerinin 570 nm dalgaboyundaki spektrofotometrik yoğunlukları Şekil 63’de verilmiştir. Şekil 61’de görüldüğü üzere, hücre sayısının yüksek olduğu R10 kaplamasında canlı hücre yoğunluğu, 316L taban malzemeye benzerdir. Ancak R2 kaplamasının diğer yüzeylere göre oldukça yüksek canlı hücre proliferasyonuna sahip olduğu görülmüştür. Gümüş ilave edilen R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarında, Şekil 62’den de görüleceği üzere, gümüş katılmayan R2 ve R10 kaplamalarına göre hücre canlılığının önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Bu durumda niyobyum oksinitrür yapısına düşük miktardaki gümüş elementi ilavesinin, hücre canlılığını önemli bir miktarda arttırdığı söylenebilir. Tüm yüzeylerle kıyaslandığında en yüksek hücre canlılığı R2+Ag kaplamasında tespit edilmiştir.

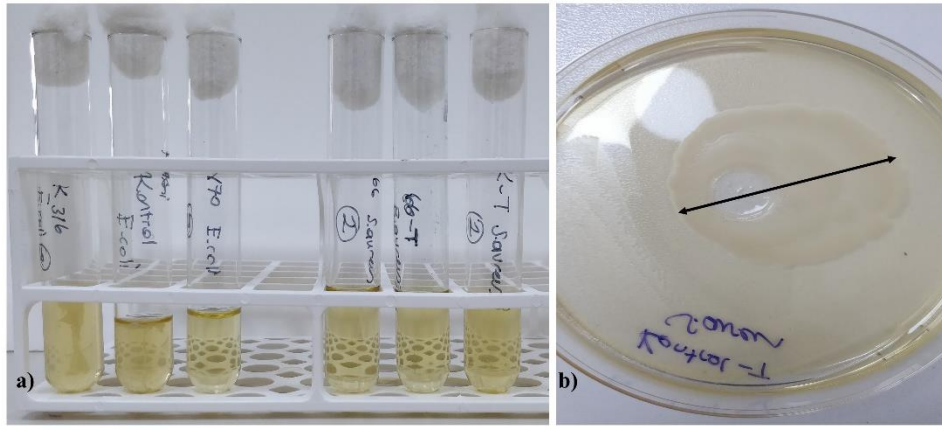


Şekil 63. 570 nm dalga boyundaki hücre canlılığı.

Şekil 63'te R2, R5 ve R10 kaplamaları arasında en iyi hücre proliferasyonu R2 ($p<0,001$) kaplamasında elde edilmiştir. Bu kaplamada 316L taban malzemeye göre yaklaşık %25 daha iyi proliferasyon elde edilmiştir. R2+Ag ve R10+Ag kaplamaları kıyaslandığında ise en yüksek hücre proliferasyonu R2+Ag ($p<0,01$) kaplamasında paslanmaz çeliğe kıyasla yaklaşık %30 daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. NbO_xN_y kaplı yüzeylerde osteoblast hücrelerinin proliferasyon hızının literatürde yapılan TiO_xN_y kaplamalara benzer olarak, kaplanmamış yüzeylere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Durual *et al.* 2011).

İmplant malzemelerin antimikrobiyal karakterizasyonu

Büyütülen kaplamaların bakteri davranışlarını belirlemek için iki farklı yöntem kullanılmış, 24, 48, 72 saatlik bakteri büyümesine izin verilmesi (enfeksiyon modeli) ve disk difüzyon yöntemiyle bakteri yayılımı sonuçları Tablo 18'de verilmiştir.

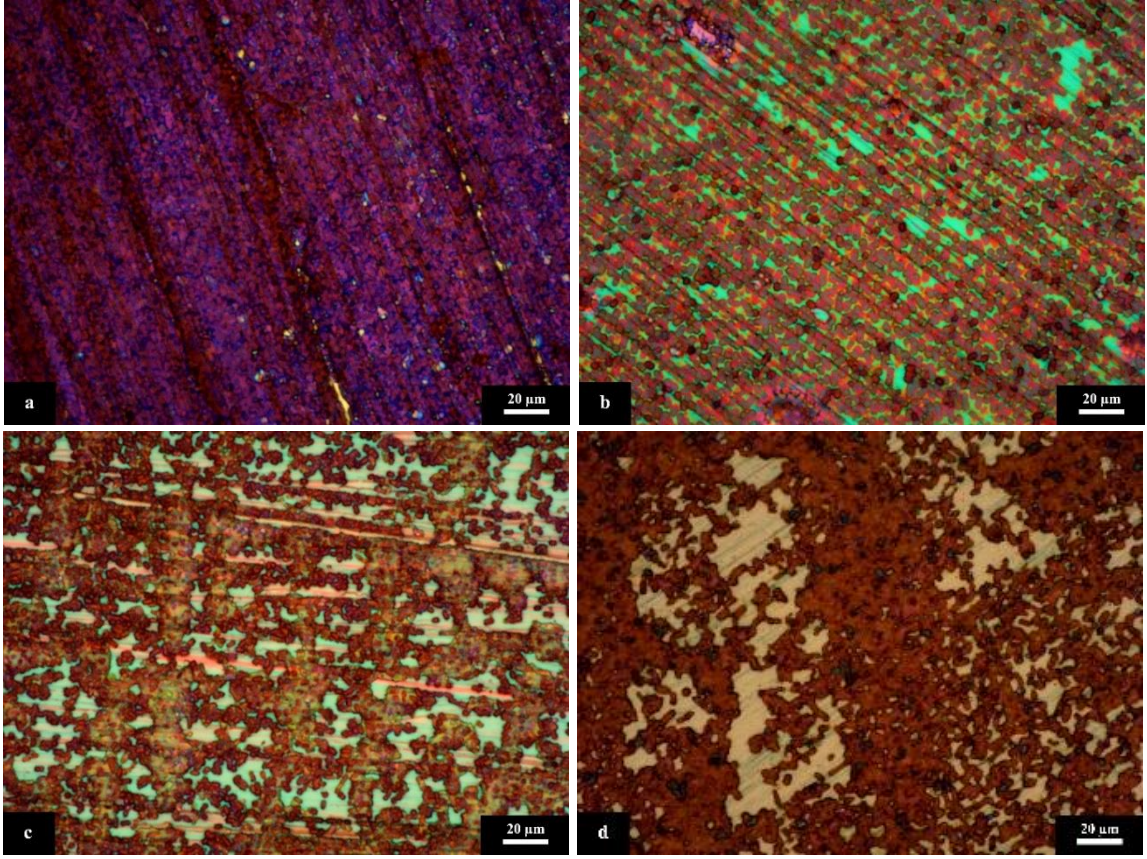


Şekil 64. Bakteri testi sonrası a) bakteri besiyeri b) agar üzerinde disk difüzyon ölçümü.

Tablo 18. 24, 48 ve 72 Saatlerdeki ve Disk Difüzyon İle Ölçülen Bakteri Değerleri

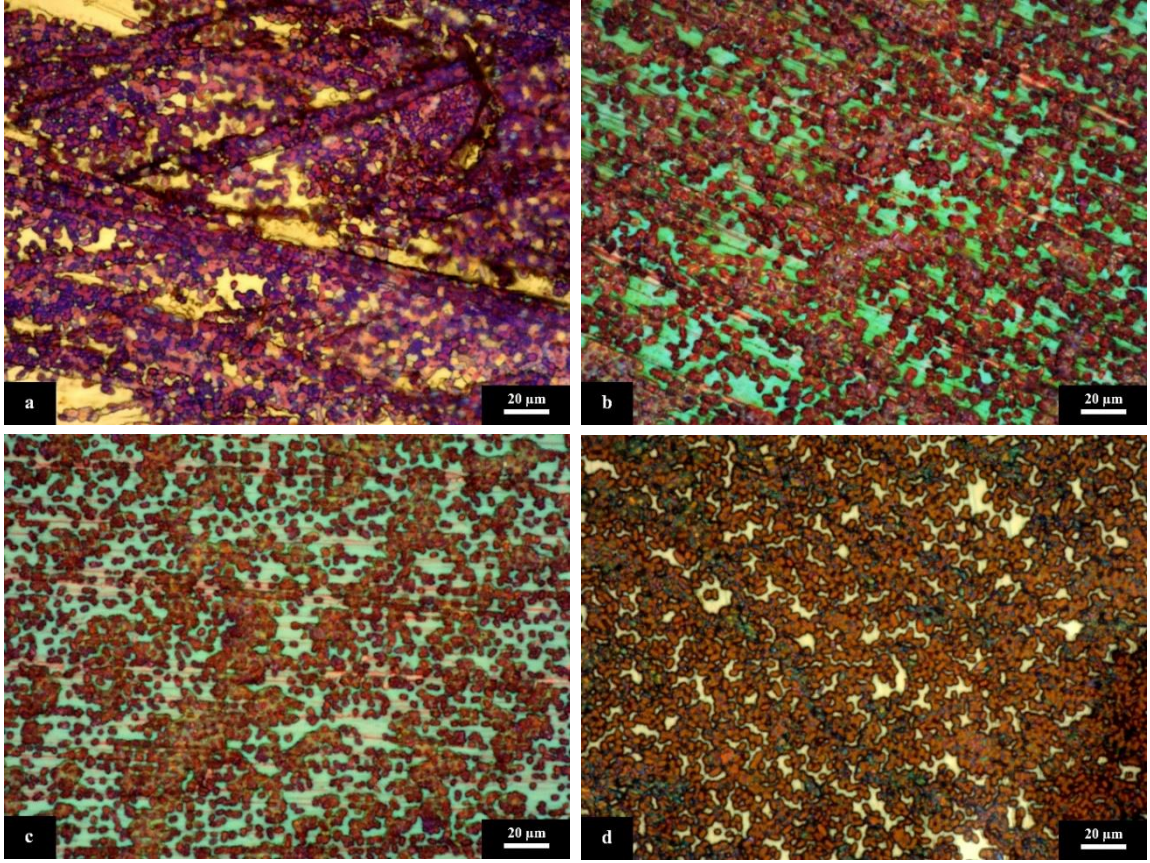
Numuneler	Bakteri Türü	Bakteriyel Büyüme (absorbans)			Bakteri Yayınımı (mm)
		24 saat	48 saat	72 saat	72 saat
316L Taban Malzeme	Kontrol	0,128	0,196	0,217	15
R2	Kontrol	0,064	0,053	0,092	-
R5	Kontrol	0,096	0,062	0,083	-
R10	Kontrol	0,075	0,080	0,070	-
R2+Ag	Kontrol	0,055	0,061	0,060	-
R10+Ag	Kontrol	0,060	0,047	0,046	-
316L Taban Malzeme	<i>E.coli</i>	0,184	0,329	0,311	20
R2	<i>E.coli</i>	0,195	0,216	0,235	16
R5	<i>E.coli</i>	0,184	0,233	0,258	17
R10	<i>E.coli</i>	0,292	0,274	0,399	18
R2+Ag	<i>E.coli</i>	0,055	0,124	0,120	12
R10+Ag	<i>E.coli</i>	0,138	0,125	0,128	15
316L Taban Malzeme	<i>S.aureus</i>	0,066	0,189	0,258	17
R2	<i>S.aureus</i>	0,056	0,101	0,156	17
R5	<i>S.aureus</i>	0,068	0,171	0,241	17
R10	<i>S.aureus</i>	0,064	0,147	0,271	20
R2+Ag	<i>S.aureus</i>	0,074	0,071	0,058	-
R10+Ag	<i>S.aureus</i>	0,131	0,119	0,178	17

Antibakteriyel etkileri değerlendirmek amacıyla üç farklı büyüme durumu değerlendirilmiştir. İlk olarak, kontrol numuneleri herhangi bir bakteri teması olmadan inkübasyona tabi tutulmuş, absorbasyon değerleri okunmuştur. Bu numuneler Tablo 18’de “Kontrol” olarak belirlenmiştir. Diğer iki durumda ise 316L taban malzeme ve kaplamalarına *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri ekilmiştir. Bakteri yayılımında, yüzeylerin agar üzerindeki yayınımları ölçülerek Tablo 17’de verilmiştir. Yapılan deneylerde bakteri yayılımı sonrası elde edilen bakteri besi yeri Şekil 64a ve agar üzerinden disk difüzyonu ölçümü Şekil 64b’de verilmiştir.



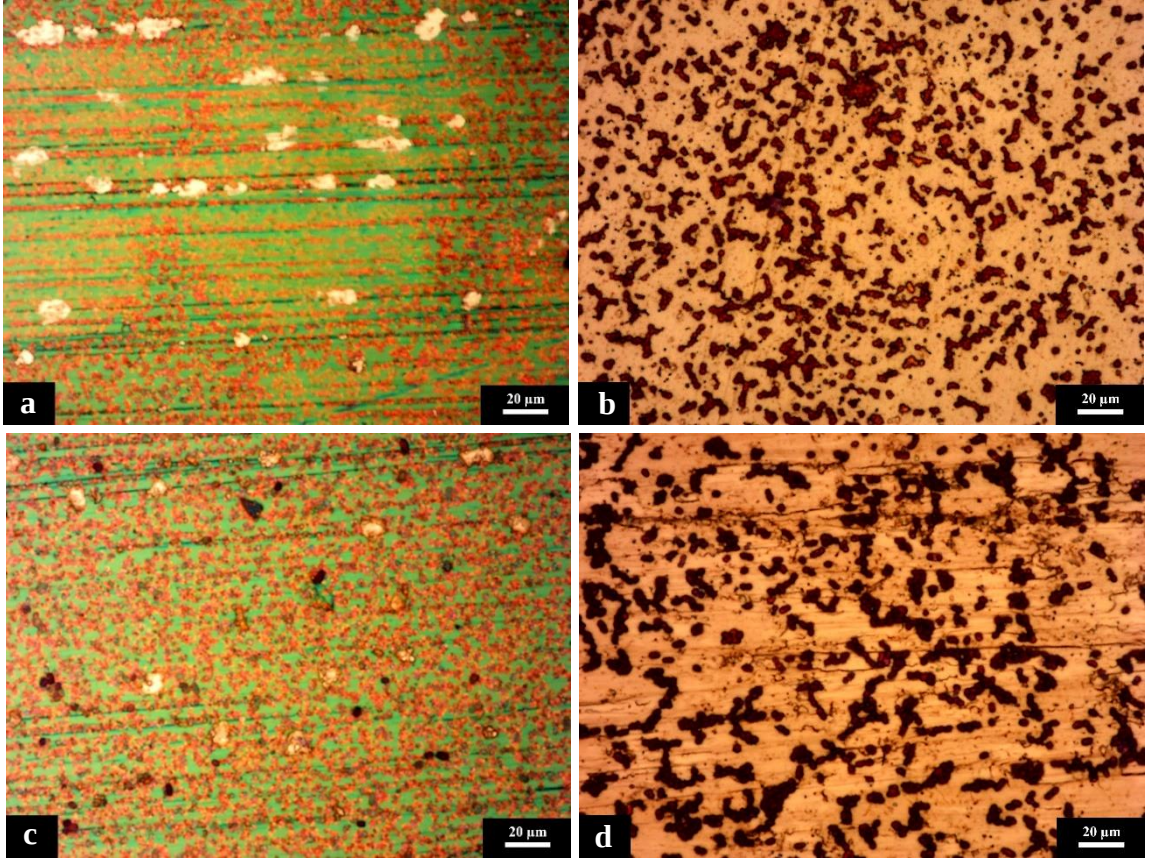
Şekil 65. *Staphylococcus aureus* bakteri yayınımlarının görüntülenmesi a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.

Kontrol numuneleri arasında, spektrofotometrik ölçüm ve bakteriyel yayılım sonuçlarına göre, bakterilerin kaplamasız 316L kontrol numunesi yüzeylerine yayıldığı tespit edilmiştir. Ancak, kaplanmış kontrol numunelerinde bakteriyel difüzyon ve çoğalma gözlenmemiştir. Gümüş ilave edilmeyen R2, R5 ve R10 kaplamalarının *S. aureus* (Şekil 65), *E. coli* (Şekil 66) bakteriyel difüzyonunun ve yoğunluğunun R10 kaplamalarda en yüksek ve R2 kaplamalarda en düşük olduğu görülmekte ve absorbans değerleri ile doğrulanmaktadır. Amorf yapıli kaplamaların (R10) bakteriyel difüzyonu arttırdığı görülmektedir. XPS sonuçlarına göre R10 kaplamalarda baskın fazın Nb_2O_5 yapısının olduğu daha önceki analizde belirtilmiştir. R10 (amorf) filmler üzerinde artan bakteriyel difüzyon, oksit filmler ile negatif yüklü bakteriler arasındaki elektrostatik etkileşim ile açıklanabilir (Almaguer-Flores *et al.* 2015). NbO_xN_y fazının baskın olduğu R2 kaplama yüzeyleri, R5, R10 kaplamaları ve kaplanmamış 316L numunelerinden daha düşük bakteriyel adezyon göstermiştir. R2'nin üstün antibakteriyel özelliklerinin, farklı yüzey enerjilerinden, kristal oksit yapısından ve nano topografiden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kaplamanın amorf veya kristal yapısının bakteriyel adezyon üzerindeki etkisi karşılaştırıldığında kristal fazlı kaplamalar üzerinde daha düşük bakteriyel aktivasyon olduğu belirlenmiştir.



Şekil 66. *Escherichia coli* bakteri yayınımlarının görüntülenmesi a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.

Antibakteriyel özellik söz konusu olduğunda ilk akla gelen elementlerden olan Ag, antibiyotiğe dirençli bakterilerde dahil olmak üzere çoğu bakteriye karşı antimikrobiyal özelliktedir. Ayrıca fizyolojik ortamlardaki kararlılığı ve kritik bir konsantrasyona kadar insan hücrelerine karşı toksisite göstermemesi gümüşü bu alanda diğer elementlere karşı üstün kılmaktadır (Sikder *et al.* 2019). Şekil 67’de gümüş ilaveli R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarının *S. aureus* ve *E. coli* bakterileri yayınımları görülmektedir. Tablo 18’deki absorpsiyon ve bakteri yayınımları ele alındığında gümüş ilavesinin, her iki bakterinin çoğalmasını azalttığı tespit edilmiştir. R2 kaplamasından da görülebileceği üzere oksinitrür yapının bakteri davranışına olan üstün etkisine, gümüş ilavesinin, önemli ölçüde katkısı olmuştur. 316L ve oksinitrür kaplamalara göre en düşük bakteriyel yayınımları R2+Ag kaplamasında elde edilmiştir. Bu kaplamanın sahip olduğu kısmen kristalin oksinitrür yapısı ve yapıda bulunan gümüşün kombine etkisiyle yüksek antimikrobiyel davranış sergilemiştir.

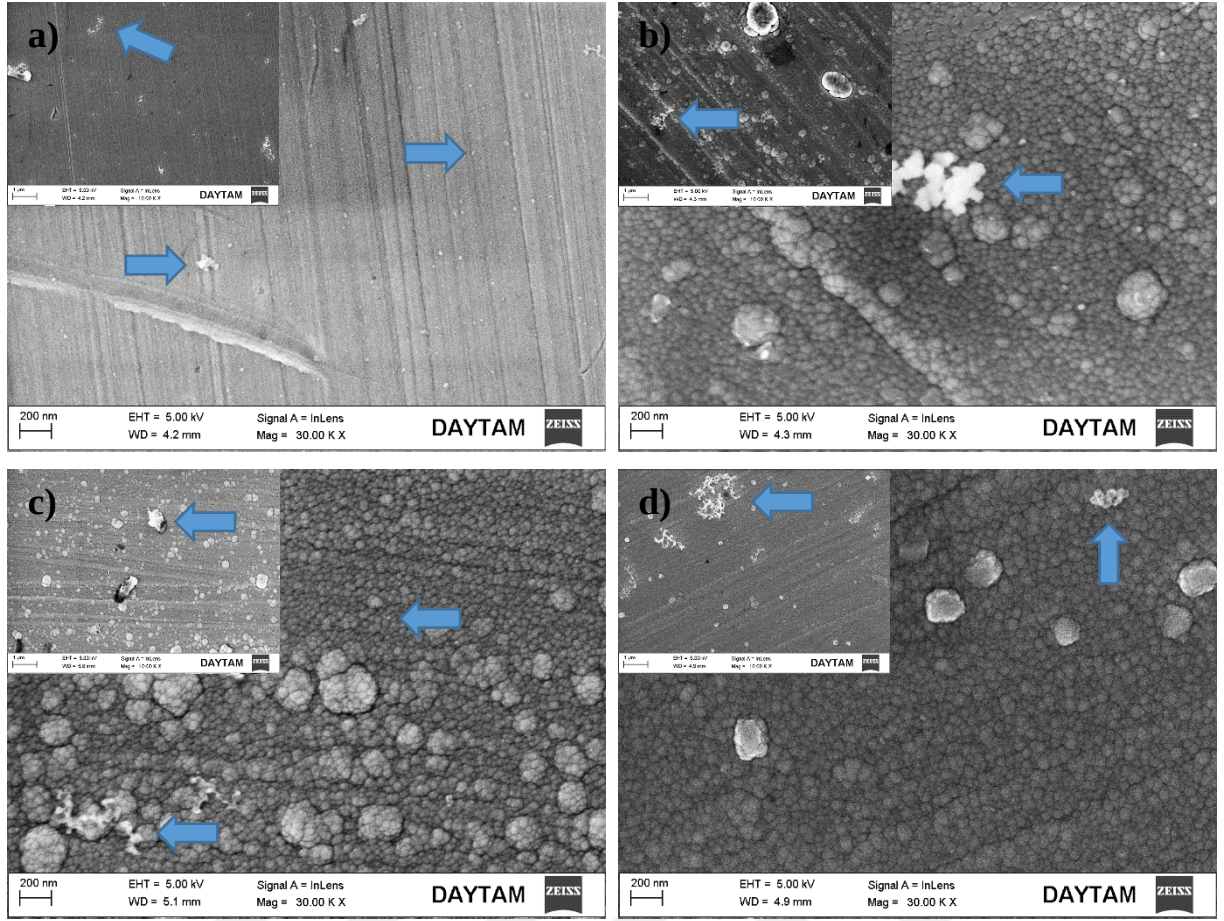


Şekil 67. a)R2+Ag b)R10+Ag *Staphylococcus aureus*, c)R2+Ag d)R10+Ag *Escherichia coli* bakteri yayınımlarının görüntülenmesi.

Ayrıca genel olarak *S. aureus* bakterilerinin oksinitrür kaplama yapılarına tutunması *E. coli*'den daha düşüktür. Stafilokok tipi bakteriler, tedavisi zor olan ortopedik implant enfeksiyonlarının nedenidir (Ribeiro *et al.* 2012). Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre; stafilokok tipi bakterin oksinitrür kaplamalara çok iyi tutunamaması bu yapıların implant ve sağlık sektöründe kullanılabilmesi açısından önem arz etmektedir.

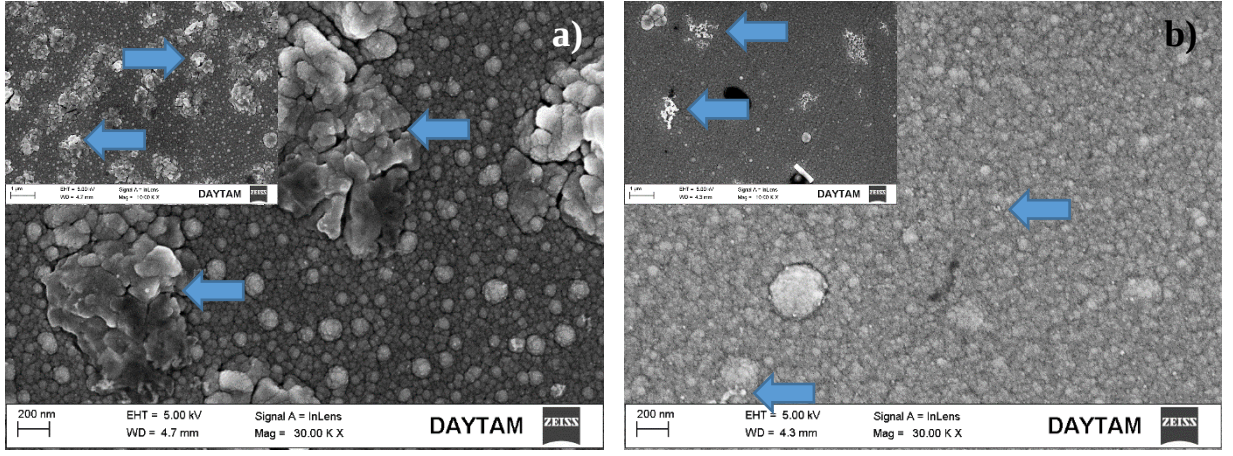
Biyoaktivite Testleri

316L taban malzeme ve niyobyum oksinitrür kaplamaların yüzeylerinin hidroksiapatit (HA) oluşumuna etkisini incelemek için SBF sıvısı içerisinde 21 gün bekletme ile biyoaktivite testi yapılmıştır. 21 gün biyoaktivite testi sonrası yüzeylerin SEM görüntüleri Şekil 68 ve 69'da verilmiştir. Test sonrası yüzeyde oluşan yapılardan alınan EDS analizleri Şekil 70-75'de verilmiştir.



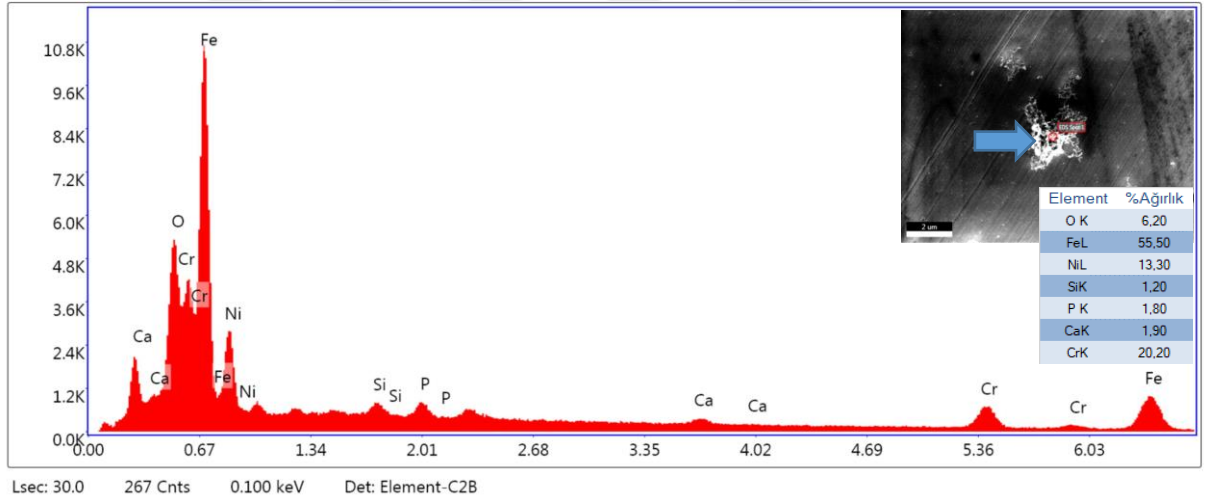
Şekil 68. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası SEM görüntüleri a) 316L Taban Malzeme b) R2 c) R5 d) R10.

SEM görüntüleri incelendiğinde özellikle mavi okla gösterilen HA yapı oluşumları tespit edilmiştir. Görüntüler incelendiğinde tüm numunelerde 21 gün sonunda üzüm tanecikleri şeklinde HA oluşumları görülmektedir. Tanecikler tercihi olarak yüzeylerin pürüzlü olan bölgelerinde gelişmiştir. Oksinitrür yüzey fazlarının Ca^{+2} iyonlarını tercih ettiği literatürde bildirilmiştir. Karışık valansa sahip metal atomlarının negatif yüklü oksijen atomlarıyla oluşturduğu yapılarda HA oluşumu artmaktadır. Bu durum negatif yüke sahip oksijen atomlarına Ca^{+2} iyonlarının yoğunlaşmasını sağlamaktadır (Piscanec *et al.* 2004). Nb_2O_5 yapısının fazla bulunduğu R10 ve R10+Ag kaplamalarında HA oluşumunun belirli bölgelerde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu durum ıslatma açılarının diğer kaplamalara göre daha düşük, hidrofil özelliğinin daha yüksek olmasıyla ilişkilendirilmiştir.

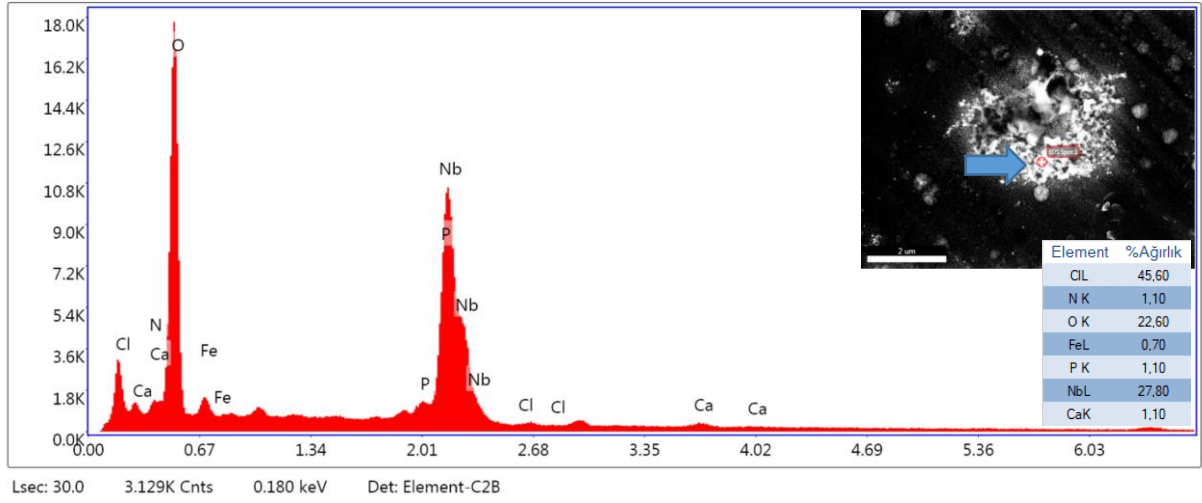


Şekil 69. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası SEM görüntüleri a) R2+Ag b) R10+Ag.

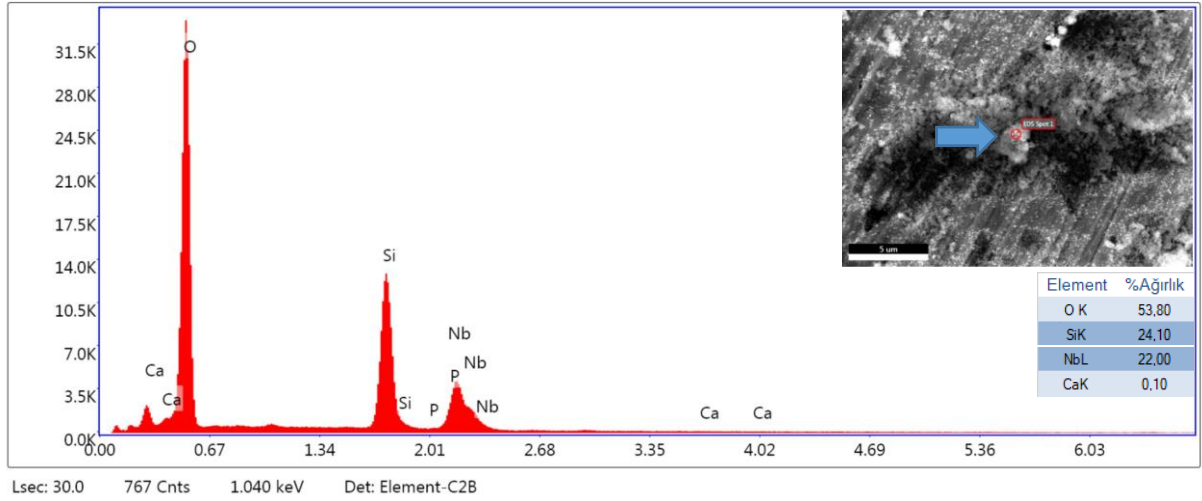
Ayrıca en düşük temas açısı ve yüzey pürüzlülüğe sahip olan R10+Ag kaplamasında yüzey üzerinde yükseklik farkından oluşan boşlukların HA taneleri ile dolduğu görülmektedir. Literatür çalışmaları ışığında yüzeylere HA tutunumunun yüzey pürüzlülüğü ile orantılı olduğu bildirilmektedir (Deligianni *et al.* 2000; Costa-Rodrigues *et al.* 2012).



Şekil 70. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası 316L taban malzemenin yüzeyinden alınan EDS analizi.

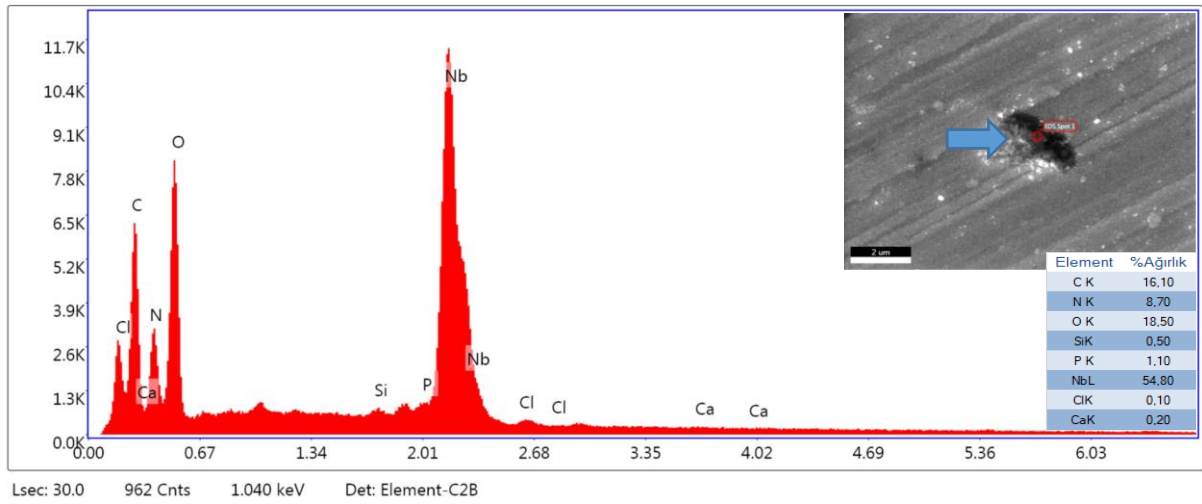


Şekil 71. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R2 kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi.

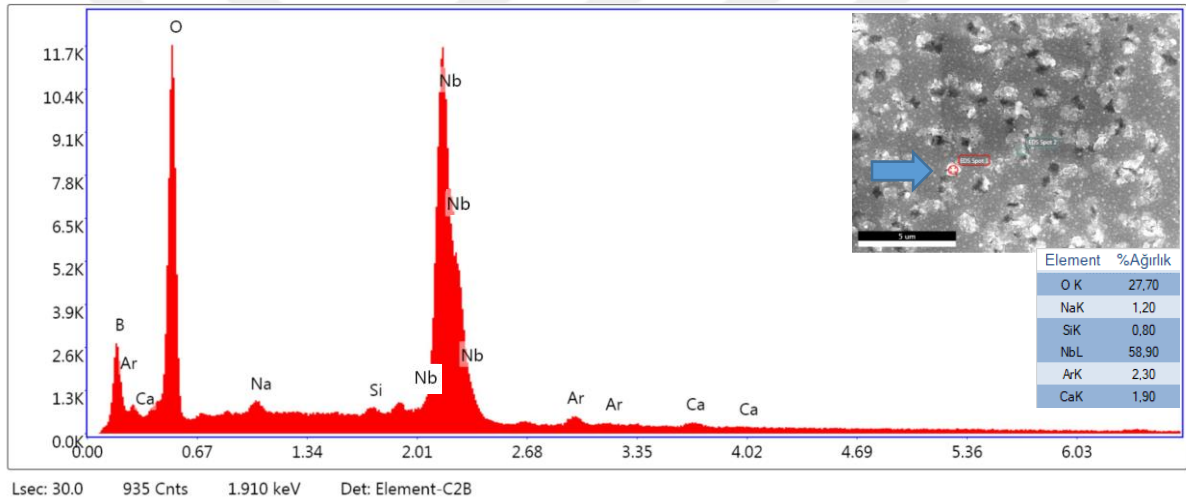


Şekil 72. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R5 kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi.

Kaplamaların EDS analizleri incelendiğinde, tüm yapılarda kalsiyum ve fosfat elementlerinin varlığı HA yapısının oluşması için gerekli çekirdeklerin oluşmasını desteklemektedir (Zadpoor 2014).

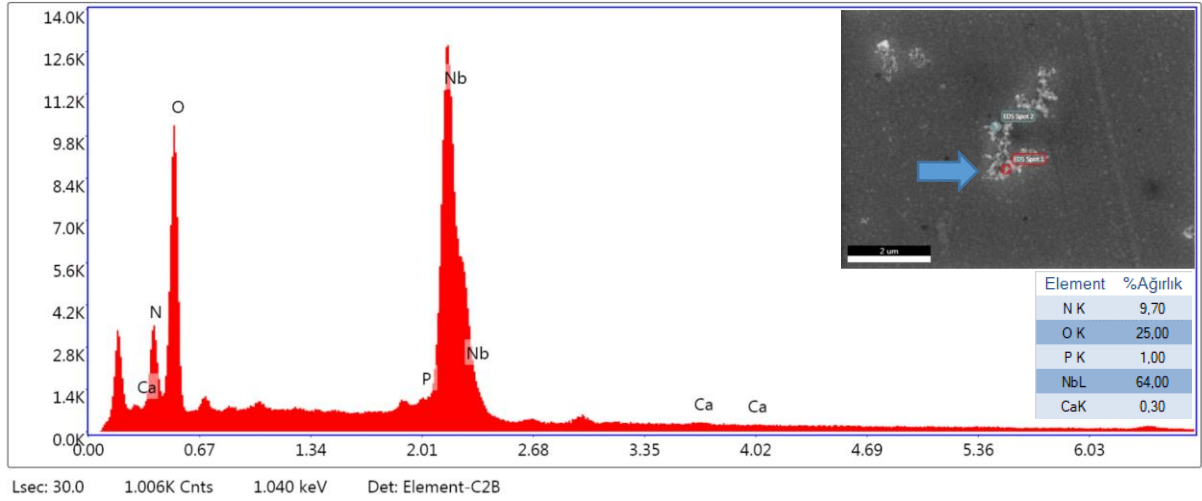


Şekil 73. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R10 kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi.



Şekil 74. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R2+Ag kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi.

Şekil 74’de gösterilen R2+Ag kaplamasının EDS analizinde en yüksek miktarda kalsiyum elementi olduğu belirlenmiştir. En düşük kalsiyum elementi miktarı ise R5 kaplamasında tespit edilmiştir. 316L taban malzemesi yüzeyinden alınan EDS analizinde kalsiyum elementi miktarı R2+Ag kaplaması ile eşittir. Ancak SEM görüntülerinden de anlaşılacağı üzere R2+Ag kaplamasında, 316 taban malzemeye göre daha çok HA oluşumu olduğu görülmektedir.



Şekil 75. 21 günlük biyoaktivite testi sonrası R10+Ag kaplama yüzeyinden alınan EDS analizi.

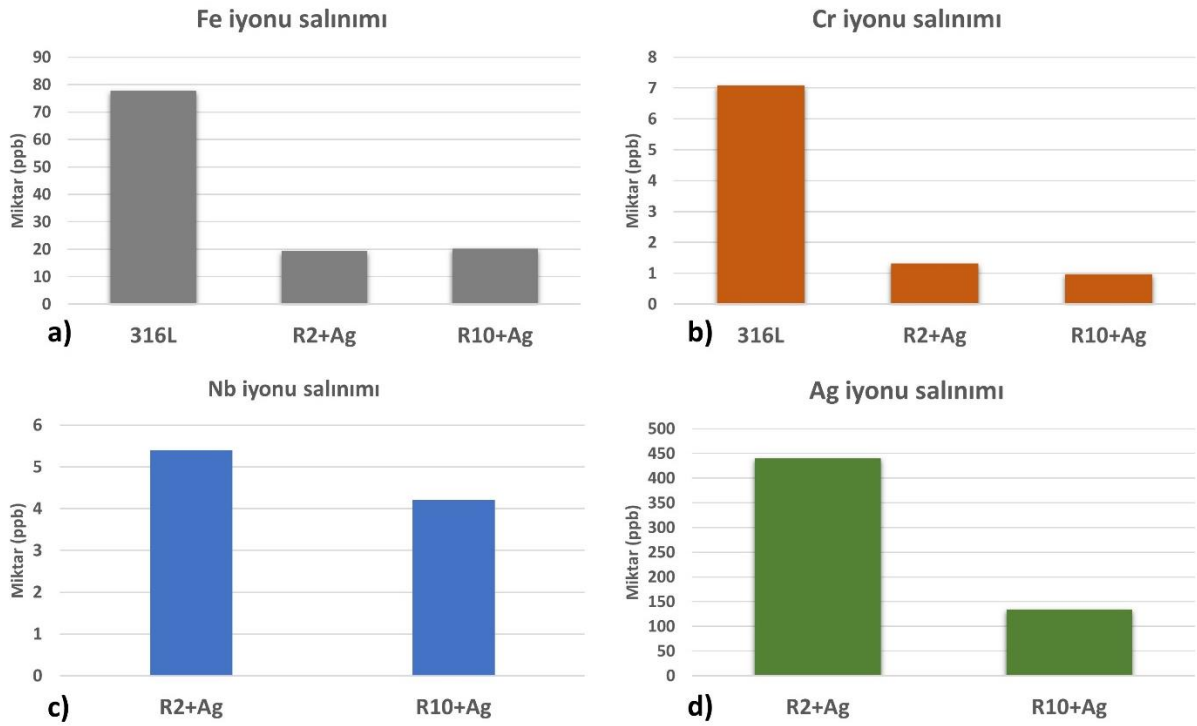
İnsan vücudunda bulunan kemikleri desteklemek için yerleştirilen bir implant malzemenin, kemik hücrelerine tutunması biyoyum açısından çok önemlidir. Ca^{+} iyonlarının yüzeyde tutunup büyüyerek HA benzeri yapılar oluşturması, kemik bağ dokusunun oluşumunun ilk basamağıdır. Üretilen niyobyum oksinitrür kaplama yüzeylerinde büyümeye başlayan veya büyüyen HA çekirdeklenmeleri kemik oluşumunu desteklemektedir. Bu sebeple üretilen kaplamalar, vücut içerisinde kalıcı olarak kalması gereken durumlarda biyoyumlu malzeme olarak kullanılabilir.

Metal İyonu Salınımının Belirlenmesi

Fosfat tamponlu salinde 48 saat boyunca $37^{\circ}C$ 'de bekletilen numunelerden salınan Fe, Cr, Ni, Nb ve Ag iyonu miktarlarının ICP-MS sistemi ile ölçümü sonrası elde edilen değerleri Tablo 19'da, Fe, Cr ve Ag iyonlarının kıyaslanması ise Şekil 76'da verilmiştir.

Tablo 19. 48 Saat Sonra ICP-MS ile Ölçülen İyon Salınımları

	Fe (ppb)	Cr (ppb)	Ni (ppb)	Nb (ppb)	Ag (ppb)
316L	77,676	7,077	27,184	-	-
R2+Ag	19,329	1,316	0,053	5,395	439,790
R10+Ag	20,262	0,966	-	4,203	134,407



Şekil 76. 48 saat sonra ölçülen iyon salınımlarının grafiksel gösterimi a) Fe iyonu b) Cr iyonu c) Nb iyonu d) Ag iyonu

316L taban malzemenin vücut içerisinde implant malzeme olarak kullanılmasında yüksek miktarda Cr ve Ni salınımı yapacak olması göz ardı edilemez bir durumdur. İnsan vücudundaki elementlerin biyolojik toleransları önceki bölümlerde Şekil 4 ve Tablo 6'da verilmişti. Cr ve Ni vücut içerisinde toksik özellik göstermektedir. Hatta Ni elementi kanserojen özellik gösterebilmektedir. Bu bağlamda 316L'nin tek başına implant malzeme olarak kullanılmasının öngörülebilir çeşitli sorunları beraberinde getireceği bir gerçektir. Bu sebeple yüzey özelliklerinin değiştirilmesi, iyileştirilmesi çok önemlidir. R2+Ag ve R10+Ag kaplamalarında, oksinitrür kaplamanın Cr ve Ni gibi elementlerin salınımını engellediği görülmektedir. Ayrıca R2+Ag kaplamasının 439,790 ppb gibi önemli bir ölçüde Ag salınımı yapması, özellikle R2+Ag kaplamasının antibakteriyel özelliğinin iyi olmasını açıklamaktadır. Son olarak, gümüş ilaveli oksinitrür kaplamaların diğer elementlere göre toksik olmayan Nb iyon salınımlarının düşük olması ile birlikte, kaplamaların güvenli bir şekilde vücut içerisinde kullanılabileceğini göstermektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada; biyomalzeme olarak kullanılan 316L paslanmaz çelik malzemeler üzerine, korozyondan koruma, antimikrobiyal ve biyoyum özelliklerini arttırmak amacıyla Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) sistemi kullanılarak, farklı azot/oksijen oranlarına sahip NbO_xN_y kaplamalar büyütülmüştür. Ayrıca kaplamaların antibakteriyel özellikleri üzerine etkisini incelemek amacıyla seçilen NbO_xN_y kaplamalar Ag ile katkılanmıştır. Kaplama parametrelerinin ve gümüş ile katkılanmanın, NbO_xN_y kaplamaların yapısal, mekanik, *in-vitro* korozyon, *in-vitro* biyoyum, *in-vitro* biyoaktivite ve antibakteriyel özellikleri üzerine olan etkisi detaylı olarak incelenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Yapılan XRD analizi sonuçlarına göre; kaplamalarda genel olarak amorf yapının baskın olduğu, yüksek oksijen içeriğine sahip kaplamalarda ise net bir şekilde polikristalin $NbO_{0.1}N_{0.6}$ yapısının olduğu tespit edilmiştir. Gümüşle katkılanan kaplamalarda ise amorf yapı beraberinde (111) kristal yönelmesine sahip yüzey merkezli kübik formda Ag yapısının varlığı gözlemlenmiştir.
- Tüm kaplamalar için oksijen miktarındaki artış, kaplama kalınlıklarında azalmaya sebep olmuştur. Gümüş katkısı olmayan NbO_xN_y kaplama yüzeylerinde 20-50 nm çapında nodüler şekilli yüzey morfolojisi hakimdir. Gümüşle katkılanan kaplama yüzeylerinde 20-30 nm boyutlarında nodüler şekilli morfolojinin yanı sıra boyutları yaklaşık 300 nm'ye kadar ulaşabilen nodüler yapılar görülmüştür. Büyük nodüler yapılar, kaplama işlemi sonrası soğuma sırasında gümüşün, kaplamanın iç bölgesinden üst yüzeye yayılması sonucunda oluşmuştur.
- Kaplamaların büyüme morfolojileri incelendiğinde; XRD analizinden de doğrulandığı üzere amorf yapıdaki düşük oksijen içeriğine sahip kaplamaların, diğer kaplamalara göre daha yoğun ve gözeneksiz bir film tabakası oluşturduğu görülmüştür. Oksijen içeriğinin yüksek olduğu kaplamalarda kolonsal büyüme yapısı baskındır. Yüksek oksijen içeriğine sahip kaplamaların gümüş ile katkılanması, kolonsal yapıların daha yoğun bir şekilde büyümesini sağlamıştır. Düşük oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli kaplamalarda ise yapının farklı noktalardan çekirdeklenmesi sonucu daha yoğun tanelerin oluşumu gözlenmiştir.
- AFM analizi sonuçlarına göre; gümüş ilavesiz kaplamalarda kolonsal büyümeye bağlı olarak daha yüksek pürüzlülük değerleri elde edilmiş, oksijen içeriği azaldıkça daha kompakt kaplama morfolojisi ve düşük pürüzlülük değerleri tespit edilmiştir. Yüksek

oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli kaplamalarda kolonsal büyüme ve büyük nodüler yapılardan dolayı en yüksek pürüzlülük değerleri elde edilmiştir.

- Temas açısı ölçüm sonuçlarına göre; tüm kaplamalar, 316L paslanmaz çelik taban malzemeye göre üstün ıslanabilirlik özelliği sergilemiştir. Ayrıca ıslanabilirlik özelliğine gümüş ilavesinin etkili olmadığı, daha çok kaplamaların büyüme morfolojisinin etkili olduğu görülmüştür.
- Nano-sertlik ölçümü sonuçlarına göre; eş eksenli, amorf yapının fazla olduğu düşük oksijen içeriğine sahip kaplamalarda en yüksek sertlik değerleri elde edilmiştir. Yüksek oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli kaplamalarda, kolonsal büyümede sütunlar arasında meydana gelen boşluklar sebebiyle en düşük sertlik değerleri tespit edilmiştir.
- XPS analizi sonuçlarına göre; oksijen içeriğindeki artışa bağlı olarak niyobyum oksinitrür piklerinin bağlanma enerjilerinde, pozitif yönde kayma tespit edilmiştir. Gümüş ilavesiyle birlikte bağlanma enerjilerinde meydana gelen pozitif yöndeki kaymanın daha fazla olduğu belirlenmiştir. Nb 3d kısmi tarama sonuçlarına göre üretilen kaplamalarda NbO_xN_y yapıları birbirine bağlı, ancak kristal olmayan Nb_2O_5 ve NbN yapılarının bir birleşimi olarak ortaya çıkmıştır. Ayrıca ortamda bulunan fazla Nb ve O_2 atomları sitokiyometrik olmayan Nb_xO_y yapısını oluşturmuştur. Düşük oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli kaplamalarda diğer kaplamalardan farklı olarak NbN yapısının ayrı bir yapı olarak oluştuğu tespit edilmiştir.
- *In-vitro* korozyon testlerinde, açık devre potansiyeli ölçümlerine göre, yüksek oksijen içeriğine sahip kaplama hariç diğer tüm kaplamaların 316L taban malzemeye göre daha soy potansiyel gösterdiği belirlenmiştir. Düşük oksijen içeriğine sahip kaplamaların yoğun büyüme morfolojisine bağlı olarak en yüksek korozyon direncine sahip olduğu tespit edilmiştir. Tüm kaplamaların korozyona karşı 316L paslanmaz çelik malzemeden daha dirençli olduğu belirlenmiştir. Korozyon testi sonucunda tüm numunelerde farklı şekil ve boyutlarda çukurcukların meydana geldiği görülmüştür.
- *In-vitro* sitotoksitesite testi sonrası yüzeylerden alınan görüntülerde, düşük oksijen içeriğine sahip kaplamaların yüksek hücre yoğunluğuna sahip olduğu görülmüştür. Gümüş ilaveli kaplamalar, tüm kaplamalara göre daha yüksek hücre yoğunluğu göstermiştir. Yüksek oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli kaplamalarda hücrelerin birbirleriyle birleşerek kolonize bir yapı oluşturduğu görülmüştür. MTT testi sonuçlarına göre, yüksek oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli ve ilavesiz kaplamaların en yüksek canlı hücre yoğunluğuna sahip olduğu belirlenmiştir. Niyobyum oksinitrür yapısına düşük miktardaki gümüş elementi ilavesinin, hücre canlılığını önemli miktarda arttırdığı görülmüştür.

- Kaplamaların antimikrobiyal etkileri incelendiğinde; gümüş ilave edilmeyen kaplamalarda *S. aureus* ve *E. coli* bakteriyel difüzyonunun ve yoğunluğunun, düşük oksijen içeriğine sahip kaplamalarda en yüksek, yüksek oksijen içeriğine sahip kaplamalarda ise en düşük olduğu görülmüştür. NbO_xN_y yapısına gümüş ilavesinin, her iki bakterinin çoğalmasını azalttığı tespit edilmiştir. Bütün numunelere göre en düşük bakteriyel yayılım yüksek oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli kaplamalarda elde edilmiştir.
- Biyoaktivite testi sonuçlarına göre; Nb_2O_5 yapısının fazla bulunduğu düşük oksijen içeriğine sahip kaplamalarda hidroksiapatit oluşumunun belirli bölgelerde yoğunlaştığı görülmüştür. Kaplamaların EDS analizleri incelendiğinde, tüm yapılarda kalsiyum ve fosfat elementlerinin varlığı, hidroksiapatit (HA) yapısının oluşması için gerekli çekirdeklerin oluşmasını destekleyeceğini göstermiştir. Tüm kaplamaların yüzeylerinde görülen HA çekirdeklenmelerinin kemik oluşumunu destekleyeceği, dolayısıyla biyouyumlu malzeme olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.
- Korozi ortamındaki metal iyonu salınımı incelemeleri sonucunda, 316L taban malzemelerin yüksek miktarda Cr ve Ni salınımı yaptığı, gümüş içerikli kaplamaların Cr ve Ni elementlerinin salınımını önemli miktarda azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca yüksek oksijen içeriğine sahip gümüş ilaveli kaplamalarda antibakteriyel özelliğinin artmasında, yüksek miktarda Ag^+ salınımı yapmasının etkili olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan tez çalışması kapsamında, niobyum oksinitrür yapıların *in-vitro* korozyon özellikleri, *in-vitro* biyouyum, *in-vitro* biyoaktivite süreci ve metal iyonu salınımları incelendiğinde, vücut içerisinde implant malzemelerin yüzeyinde kullanılabilecek yararlı bir kaplama türü olduğu belirlenmiştir. *In-vivo* çalışmalarının tamamlanması ve gerekli izinlerin alınması durumunda potansiyel implant uygulamaları için umut verici bir kaplama malzemesi olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abegunde, O. O., Akinlabi, E. T., Oladijo, O. P., Akinlabi, S., and Ude, A. U., 2019. Overview of thin film deposition techniques. *AIMS Materials Science*, 6(2), pp. 174–199.
- Al-Aqeeli, N., Suryanarayana, C., and Hussein, M. A., 2013. Formation of an amorphous phase and its crystallization in the immiscible Nb-Zr system by mechanical alloying. *Journal of Applied Physics*, 114(15), p. 153512.
- Albrektsson, T., Brånemark, P.-I., Hansson, H.-A., and Lindström, J., 2009. *Acta Orthopaedica Scandinavica Osseointegrated Titanium Implants: Requirements for Ensuring a Long-Lasting, Direct Bone-to-Implant Anchorage in Man*. hindawi.com, 52(2), pp. 155–170.
- Alfonso, E., Olaya, J., and Cubillos, G., 2012. Thin Film Growth Through Sputtering Technique and Its Applications. *Crystallization - Science and Technology*.
- Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mayo, J. G., Shoemaker, R., and Boyd, M. R., 1988. Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay. *Cancer Research*, 48(3), pp. 584–588.
- Alloys, E., and Sheikh, S., 2016. Alloy Design and Optimization of Mechanical Properties of High-Entropy Alloys. PhD Thesis. Chalmers Tekniska Högskola (Sweden).
- Almaguer-Flores, A., Silva-Bermudez, P., Galicia, R., and Rodil, S. E., 2015. Bacterial adhesion on amorphous and crystalline metal oxide coatings. *Materials Science and Engineering C*, 57, pp. 88–99.
- An, Y. H., and Friedman, R. J., 1996. Prevention of sepsis in total joint arthroplasty. *Journal of Hospital Infection*, 33(2), pp. 93–108.
- An, Y. H., and Friedman, R. J., 1997. Laboratory methods for studies of bacterial adhesion. *Journal of Microbiological Methods*, 30(2), pp. 141–152.
- An, Y. H., and Friedman, R. J., 1998. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*, 43(3), pp. 338–348.
- Anderson, J. M., 2001. Biological responses to materials. *Annual Review of Materials Science*, 31, pp. 81–110.
- Bächle, M., and Kohal, R. J., 2004. A systematic review of the influence of different titanium surfaces on proliferation, differentiation and protein synthesis of osteoblast-like MG63 cells. *Clinical Oral Implants Research*, 15(6), pp. 683–692.
- Bahl, M. K., 1975. ESCA studies of some niobium compounds. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 36(6), pp. 485–491.
- Banakh, O., Moussa, M., Matthey, J., Pontearso, A., Cattani-Lorente, M., Sanjines, R., Fontana, P., Wiskott, A., and Durual, S., 2014. Sputtered titanium oxynitride coatings for endosseous applications: Physical and chemical evaluation and first bioactivity assays. *Applied Surface Science*, 317, pp. 986–993.
- Bauer, S., Schmuki, P., von der Mark, K., and Park, J., 2013. Engineering biocompatible implant surfaces: Part I: Materials and surfaces. *Progress in Materials Science*, 58(3), pp. 261–326.
- Bertóti, I., 2012. Nitrogen modified metal oxide surfaces. *Catalysis Today*, 181(1), pp. 95–101.

- Bet, M. R., Goissis, G., Vargas, S., and Selistre-De-Araujo, H. S., 2003. Cell adhesion and cytotoxicity studies over polyanionic collagen surfaces with variable negative charge and wettability. *Biomaterials*, 24(1), pp. 131–137.
- Boehni, H., 1984. Pitting And Crevice Corrosion. *Brown Boveri Symposia Series*, pp. 29–52.
- Boyan, B. D., Hummert, T. W., Dean, D. D., and Schwartz, Z., 1996. Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. *Biomaterials*, 17(2), pp. 137–146.
- Brayda-Bruno, M., Fini, M., Pierini, G., Giavaresi, G., Rocca, M., and Giardino, R., 2001. Evaluation of systemic metal diffusion after spinal pedicular fixation with titanium alloy and stainless steel system: A 36-month experimental study in sheep. *International Journal of Artificial Organs*, 24(1), pp. 41–49.
- Briggs, D., 2003. Basic Principles, Spectral Features and Qualitative Analysis. *Surface Analysis by Auger and X-Ray Photoelectron Spectroscopy*, 1(2), pp. 31–56.
- Calin, M., Gebert, A., Ghinea, A. C., Gostin, P. F., Abdi, S., Mickel, C., and Eckert, J., 2013. Designing biocompatible Ti-based metallic glasses for implant applications. *Materials Science and Engineering C*, 33(2), pp. 875–883.
- Campoccia, D., Montanaro, L., Baldassarri, L., An, Y. H., and Arciola, C. R., 2005. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates from implant orthopedic infections. *International Journal of Artificial Organs*, 28(11), pp. 1186–1191.
- Carvalho, P., Borges, J., Rodrigues, M. S., Barradas, N. P., Alves, E., Espinós, J. P., González-Elipe, A. R., Cunha, L., Marques, L., Vasilevskiy, M. I., and Vaz, F., 2015. Optical properties of zirconium oxynitride films: The effect of composition, electronic and crystalline structures. *Applied Surface Science*, 358, pp. 660–669.
- Catauro, M., Bollino, F., Papale, F., Giovanardi, R., and Veronesi, P., 2014. Corrosion behavior and mechanical properties of bioactive sol-gel coatings on titanium implants. *Materials Science and Engineering C*, 43, pp. 375–382.
- Centre, T. S. and T., 2017. A Beginner's Guide to XPS, p. 33. <http://www.tscienceandtech.org.uk/CourseNotesTSTC2017.pdf> (16 Kasım 2020).
- Chen, Q., and Thouas, G. A., 2015. Metallic implant biomaterials. *Materials Science and Engineering R: Reports*, 87, pp. 1–57.
- Ciapetti, G., Granchi, D., Arciola, C., Cenni, E., ... L. S.-... B. H., and 2000, U., 2000. In-vitro testing of cytotoxicity of materials. *Biomaterials and Bioengineering Handbook*, pp. 179–198.
- Contreras, A., Bedolla, E., and Pérez, R., 2004. Interfacial phenomena in wettability of TiC by Al-Mg alloys. *Acta Materialia*, 52(4), pp. 985–994.
- Costa-Rodrigues, J., Fernandes, A., Lopes, M. A., and Fernandes, M. H., 2012. Hydroxyapatite surface roughness: Complex modulation of the osteoclastogenesis of human precursor cells. *Acta Biomaterialia*, 8(3), pp. 1137–1145.
- Cubillos, G. I., Olaya, J. J., Clavijo, D., Alfonso, J. E., and Cardozo, C., 2013. Synthesis and biological characterization of zirconium oxynitride thin film growth by radio-frequency sputtering. *Thin Solid Films*, 529, pp. 342–346.
- Cubillos, G. I., Bethencourt, M., and Olaya, J. J., 2015. Corrosion resistance of zirconium oxynitride coatings deposited via DC unbalanced magnetron sputtering and spray pyrolysis-nitriding. *Applied Surface Science*, 327, pp. 288–295.

- D'Addessi, A., Vittori, M., and Sacco, E., 2013. An introduction to biomaterials in urology. *Urologia*, 80(1), pp. 20–28.
- D'avico, L., Beltrami, R., Lecis, N., and Trasatti, S. P., 2019. Corrosion Behavior and Surface Properties of PVD Coatings for Mold Technology Applications. *Coatings*.
- Dalby, M. J., Gadegaard, N., Tare, R., Andar, A., Riehle, M. O., Herzyk, P., Wilkinson, C. D. W., and Oreffo, R. O. C., 2007. The control of human mesenchymal cell differentiation using nanoscale symmetry and disorder. *Nature Materials*, 6(12), pp. 997–1003.
- Damiati, L., Eales, M., Nobbs, A., 2018. Impact of surface topography and coating on osteogenesis and bacterial attachment on titanium implants. *journals.sagepub.com*, 9.
- Darlinski, A., and Halbritter, J., 1987. Angle-resolved XPS studies of oxides at NbN, NbC, and Nb surfaces. *Surface and Interface Analysis*, 10(5), pp. 223–237.
- Darouiche, R. O., 2004. Treatment of Infections Associated with Surgical Implants. *New England Journal of Medicine*, 350(14), pp. 1422–1429.
- Deligianni, D. D., Katsala, N. D., Koutsoukos, P. G., and Missirlis, Y. F., 2000. Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength. *Biomaterials*, 22(1), pp. 87–96.
- Ding, X. zhao, Tan, A. L. K., Zeng, X. T., Wang, C., Yue, T., and Sun, C. Q., 2008. Corrosion resistance of CrAlN and TiAlN coatings deposited by lateral rotating cathode arc. *Thin Solid Films*, 516(16), pp. 5716–5720.
- Disegi, J. A., and Eschbach, L., 2000. Stainless steel in bone surgery. *Injury*, 31(SUPPL. 4), pp. D2–D6.
- Divya Rani, V. V., Vinoth-Kumar, L., Anitha, V. C., Manzoor, K., Deepthy, M., and Shantikumar, V. N., 2012. Osteointegration of titanium implant is sensitive to specific nanostructure morphology. *Acta Biomaterialia*, 8(5), pp. 1976–1989.
- Do, H., Dai, V. T., Tian, J. S., Yen, T. C., and Chang, L., 2014. Structural and nanoindentation studies of epitaxial titanium oxynitride (001) films grown on MgO(001) substrate. *Surface and Coatings Technology*, 251, pp. 1–6.
- Domb, A. J., Khan, W., Gopala, V., Challa, S., Pawar, R. P., Nyska, M., and Brin, Y. S., 2014. Focal Controlled Drug Delivery. Springer, pp. 459–472.
- Durual, S., Pernet, F., Rieder, P., Mekki, M., Cattani-Lorente, M., and Wiskott, H. W. A., 2011. Titanium nitride oxide coating on rough titanium stimulates the proliferation of human primary osteoblasts. *Clinical Oral Implants Research*, 22(5), pp. 552–559.
- Durual, S., Rieder, P., Garavaglia, G., Filieri, A., Cattani-Lorente, M., Scherrer, S. S., and Wiskott, H. W. A., 2013. TiNOx coatings on roughened titanium and CoCr alloy accelerate early osseointegration of dental implants in minipigs. *Bone*, 52(1), pp. 230–237.
- Edwards-Jones, V., 2009. The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare. *Letters in Applied Microbiology*, 49(2), pp. 147–152.
- Eisenbarth, E., Velten, D., Müller, M., Thull, R., and Breme, J., 2004. Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys. *Biomaterials*, 25(26), pp. 5705–5713.
- Eisenbarth, E., Velten, D., Müller, M., Thull, R., and Breme, J., 2006. Nanostructured niobium oxide coatings influence osteoblast adhesion. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 79(1), pp. 166–175.

- Escalas, F., Galante, J., Rostoker, W., and Coogan, P., 1976. Biocompatibility of materials for total joint replacement. *Journal of Biomedical Materials Research*, 10(2), pp. 175–195.
- Ewald, A., Glückermann, S. K., Thull, R., and Gbureck, U., 2006. Antimicrobial titanium/silver PVD coatings on titanium. *BioMedical Engineering Online*, 5(1), p. 22.
- Faeda, R. S., Tavares, H. S., Sartori, R., Guastaldi, A. C., and Marcantonio, E., 2009. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. Biomechanical study in rabbit tibias. *Brazilian Oral Research*, 23(2), pp. 137–143.
- Faraday, M., 1857. X. The Bakerian Lecture. —Experimental relations of gold (and other metals) to light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 147, pp. 145–181.
- Féron, D., 2007. Corrosion Behaviour and Protection of Copper and Aluminium Alloys in Seawater. *Corrosion Behaviour and Protection of Copper and Aluminium Alloys in Seawater*, pp. 1–195.
- Fletcher, M., and Loeb', G. I., 1979. Influence of Substratum Characteristics on the Attachment of a Marine Pseudomonad to Solid Surfaces Downloaded from. *Applied And Environmental Microbiology*, 37(1), pp. 67–72.
- Fox, S. W., Chambers, T. J., and Chow, J. W. M., 1996. Nitric oxide is an early mediator of the increase in bone formation by mechanical stimulation. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 270(6 33-6).
- Franssila, S., 2010. Introduction to Microfabrication. *Introduction to Microfabrication*.
- Fuertes, A., 2012. Chemistry and applications of oxynitride perovskites. *Journal of Materials Chemistry*, 22(8), pp. 3293–3299.
- Gan, Z., Wang, C., and Chen, Z., 2018. Material Structure and Mechanical Properties of Silicon Nitride and Silicon Oxynitride Thin Films Deposited by Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition. *Surfaces*, 1(1), pp. 59–72.
- Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R., and Gogia, A. K., 2009. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. *Progress in Materials Science*, 54(3), pp. 397–425.
- Ghosh, S. K., Dey, G. K., Dusane, R. O., and Grover, A. K., 2006. Improved pitting corrosion behaviour of electrodeposited nanocrystalline Ni-Cu alloys in 3.0 wt.% NaCl solution. *Journal of Alloys and Compounds*, 426(1–2), pp. 235–243.
- Gottenbos, B., Van Der Mei, H. C., and Busscher, H. J., 2000. Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers. *Journal of Biomedical Materials Research*, 50(2), pp. 208–214.
- Grace, R., 2012. Corrosion mechanisms and corrosion inhibition of commercial purity magnesium and advanced magnesium alloys. *Swansea University (United Kingdom)*.
- Graciani, J., Hamad, S., and Sanz, J. F., 2009. Changing the physical and chemical properties of titanium oxynitrides $\text{TiN}_{1-x}\text{O}_x$ by changing the composition. *APS*, 80(18).
- Gristina, A. G., and Kolkin, J., 1983. Current concepts review. Total joint replacement and sepsis. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 65(1), pp. 128–134.
- Gronthos, S., Simmons, P. J., Graves, S. E., and G. Robey, P., 2001. Integrin-mediated interactions between human bone marrow stromal precursor cells and the extracellular matrix. *Bone*, 28(2), pp. 174–181.

- Grove, W. R., 1852. VII. On the electro-chemical polarity of gases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 142, pp. 87–101.
- Grumski, M., 2019. Ab initio Study of Tantalum Nitride and Silver Adatoms. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689–1699.
- Guillot, J., Jouaiti, A., Imhoff, L., Domenichini, B., Heintz, O., Zerkout, S., Mosser, A., and Bourgeois, S., 2002. Nitrogen plasma pressure influence on the composition of TiN_xO_y sputtered films. *Surface and Interface Analysis*, 33(7), pp. 577–582.
- Guo, J., Zhan, G., Liu, J., Yang, B., Xu, B., Feng, J., Chen, X., and Yang, C., 2015. Hopping conduction in zirconium oxynitrides thin film deposited by reactive magnetron sputtering. *Physica B: Condensed Matter*, 475, pp. 86–89.
- Hanks, C. T., Wataha, J. C., and Sun, Z., 1996. In-vitro models of biocompatibility: A review. *Dental Materials*, 12(3), pp. 186–193.
- Hedberg, Y. S., Qian, B., Shen, Z., Virtanen, S., and Odnevall Wallinder, I., 2014. In-vitro biocompatibility of CoCrMo dental alloys fabricated by selective laser melting. *Dental Materials*, 30(5), pp. 525–534.
- Hench, L. L., 2013. An introduction to bioceramics, second edition. *An Introduction to Bioceramics, Second Edition*, pp. 1–600.
- Hench, L. L., and Ethridge E. C., 1972. *Biomaterials: an interfacial approach*. Academic Press, Inc., 385.
- Heublein, B., Rohde, R., Kaese, V., and Heart, M. N., 2003. Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology? *Heart*.
- Hikiji, H., Shin, W. S., Oida, S., Takato, T., Koizumi, T., and Toyo-Oka, T., 1997. Direct action of nitric oxide on osteoblastic differentiation. *FEBS Letters*, 410(2–3), pp. 238–242.
- Höchst, H., Bringans, R. D., Steiner, P., and Wolf, T., 1982. Photoemission study of the electronic structure of stoichiometric and substoichiometric TiN and ZrN. *Physical Review B*, 25(12), pp. 7183–7191.
- Hofmann, S., 2012. *Auger-and X-Ray Photoelectron Spectroscopy in Materials Science A User-Oriented Guide*. Springer Science & Business Media, 49.
- Hosseinalipour, S. M., Ershad-langroudi, A., Hayati, A. N., and Nabizade-Haghighi, A. M., 2010. Characterization of sol-gel coated 316L stainless steel for biomedical applications. *Progress in Organic Coatings*, 67(4), pp. 371–374.
- Hu, C. Y., and Yoon, T. R., 2018. Recent updates for biomaterials used in total hip arthroplasty. *Biomaterials Research*, 22(1).
- Hulbert, S. F., and Bennett, J. T., 1975. State of the art in dental implants. *Journal of Dental Research*, 54(Spec B), pp. 153–157.
- Implantder, 2015. <http://www.implantder.org/evraklar/implantdergi/implantdergi-sayi-4.pdf> (27 Şubat 2020).
- ISO10933-11, 1996. ISO 10933-11: Biological Evaluation of Medical Devices. Test for Systemic Toxicity.
- ISO10933-12, 2004. ISO 10933-12: Biological Evaluation of Medical Devices Sample Preparation and Reference Materials.
- ISO10933-13, 1999. ISO 10933-13: Biological Evaluation of Medical Devices Identification and Quantification of Degradation Products from Polymeric Medical Devices.

- ISO10933-14, 2001. ISO 10933-14: Biological Evaluation of Medical Devices Identification and Quantification of Degradation Products from Ceramics.
- ISO10933-16, 1997. ISO 10933-16: Biological Evaluation of Medical Devices Toxicokinetic Study Design for Degradation Products and Leachables.
- ISO10933-17, 2002. ISO 10933-17: Biological Evaluation of Medical Devices Establishment of Allowable Limits for Leachable Substances.
- ISO10933-3, 1992. ISO 10933-3: Biological Evaluation of Medical Devices Test for Genotoxicity, Carcinogenicity, and Reproductive Toxicity.
- ISO10933-4, 2002. ISO 10933-4: Biological Evaluation of Medical Devices. Selection of Tests for Interaction with Blood.
- ISO10933-5, 1999. 10993-5: Biological evaluation of medical devices. Tests for in-vitro cytotoxicity.
- ISO10933-6, 1994. ISO 10933-6: Biological Evaluation of Medical Devices. Tests for Local Effects after Implantation.
- ISO10933-9, 1999. ISO 10933-9: Biological Evaluation of Medical Devices Framework for Identification and Quantification of Potential Degradation Products.
- Jacobs, J. J., Skipor, A. K., Patterson, L. M., Hallab, N. J., Paprosky, W. G., Black, J., and Galante, J. O., 1998. Metal release in patients who have had a primary total hip arthroplasty: A prospective, controlled, longitudinal study. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series A*, 80(10), pp. 1447–1458.
- Jacobs, J. J., Silverton, C., Hallab, N. J., Skipor, A. K., Patterson, L., Black, J., and Galante, J. O., 1999. Metal release and excretion from cementless titanium alloy total knee replacements. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (358), pp. 173–180.
- Jouve, J., Belkacem, Y., Films, C. S.-T. solid, and 1986, U., 1986. X-ray photoelectron spectroscopy study of phosphorus incorporation in anodic oxide films on niobium. *Thin Solid Films*.
- Karjalainen, P. P., Ylitalo, A., Niemelä, M., Kervinen, K., Mälikallio, T., Pietilä, M., Sia, J., Tuomainen, P., Nyman, K., and Airaksinen, J., 2008. Titanium-nitride-oxide coated stents versus paclitaxel-eluting stents in acute myocardial infarction: a 12-months follow-up report from the TITAX AMI trial. *EuroIntervention*, 4(2), pp. 234–241.
- Karjalainen, P. P., Ylitalo, A., and Airaksinen, J. K. E., 2006. Titanium and nitride oxide-coated stents and paclitaxel-eluting stents for coronary revascularization in an unselected population. *Journal of Invasive Cardiology*, 18(10), pp. 462–468.
- Kawahara, H., 1983. Cellular responses to implant materials: biological, physical and chemical factors. *International dental journal*, 33(4), pp. 350–375.
- Kawai, T., Nishihara, H., and Aramaki, K., 1995. Corrosion of iron in electrolytic anhydrous methanol solutions containing ferric chloride. *Corrosion Science*, 37(5), pp. 823–831.
- Kawata, A., and Mikuni-Takagaki, Y., 1998. Mechanotransduction in stretched osteocytes - temporal expression of immediate early and other genes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 246(2), pp. 404–408.
- Kelly, P. J., and Arnell, R. D., 2000. Magnetron sputtering: A review of recent developments and applications. *Vacuum*, 56(3), pp. 159–172.

- Kim, K. H., and Lee, S. H., 1996. Comparative studies of TiN and Ti_{1-x}Al_xN by plasma-assisted chemical vapor deposition using a TiCl₄/AlCl₃/N₂/H₂/Ar gas mixture. *Thin Solid Films*, 283(1–2), pp. 165–170.
- Kim, S., English, A. E., and Kihm, K. D., 2009. Surface elasticity and charge concentration-dependent endothelial cell attachment to copolymer polyelectrolyte hydrogel. *Acta Biomaterialia*, 5(1), pp. 144–151.
- Klevens, R. M., Edwards, J. R., Richards, C. L., Horan, T. C., Gaynes, R. P., Pollock, D. A., and Cardo, D. M., 2007. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. Hospitals, 2002. *Public Health Reports*, 122(2), pp. 160–166.
- Kluth, O., Schöpe, G., Hüpkes, J., Agashe, C., Müller, J., and Rech, B., 2003. Modified Thornton model for magnetron sputtered zinc oxide: Film structure and etching behaviour. *Thin Solid Films*, 442(1–2), pp. 80–85.
- Knotek, O., Barimani, A., and Löffler, F., 1990. On the Formation of Amorphous and Metastable PVD-Coatings. *MRS Proceedings*, 187.
- Koerner, R. J., Butterworth, L. A., Mayer, I. V., Dasbach, R., and Busscher, H. J., 2002. Bacterial adhesion to titanium-oxy-nitride (TiNOX) coatings with different resistivities: A novel approach for the development of biomaterials. *Biomaterials*, 23(14), pp. 2835–2840.
- Kokubo, T., and Hiroaki T., 2006 How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials* 27.15: 2907-2915.
- Kot, M., Henkel, K., Das, C., Brizzi, S., Kärkkänen, I., Schneidewind, J., Naumann, F., Gargouri, H., and Schmeißer, D., 2017. Analysis of titanium species in titanium oxynitride films prepared by plasma enhanced atomic layer deposition. *Surface and Coatings Technology*, 324, pp. 586–593.
- Kutz, M., 2006. *Mechanical Engineers' Handbook: Manufacturing and management*, 3, pp. 235–253.
- Kuznetsov, M. V., Zhuravlev, J. F., and Gubanov, V. A., 1992. XPS analysis of adsorption of oxygen molecules on the surface of Ti and TiN_x films in vacuum. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 58(3), pp. 169–176.
- Lamano Carvalho, T. L., Cavancanti De Albuquerque Araújo, C. A., Mazzonetto Teófilo, J., and Guilherme Brentegani, L., 1997. Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing around polyurethane resin implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 26(2), pp. 149–152.
- Lansdown, A. B., and Williams, A., 2004. How safe is silver in wound care? *Journal of wound care*, 13(4), pp. 131–136.
- Lansdown, A. B. G., 2007. Critical Observations on the Neurotoxicity of Silver. *Critical Reviews in Toxicology*, 37(3), pp. 237–250.
- Laurikaitis, M., Burinskas, S., Dudonis, J., and Milčius, D., 2008. Physical properties of zirconium oxynitride films deposited by reactive magnetron sputtering. *Journal of Physics: Conference Series*, 100(8), p. 082051.
- Lazarov, M., Raths, P., Metzger, H., and Spirkel, W., 1995. Optical constants and film density of TiN x O y solar selective absorbers. *Journal of Applied Physics*, 77(5), p. 2133.
- Lee, C. H., 1992. Electrochemical corrosion study of permalloy thin films. *Dissertation Abstracts International*, 52(9).

- Lemons, J. E., 1990. Dental implant biomaterials. *Journal of the American Dental Association* (1939), 121(6), pp. 716–719.
- Lemons, J. E., Niemann, K. M. W., and Weiss, A. B., 1976. Biocompatibility studies on surgical-grade titanium-, cobalt-, and iron-base alloys. *Journal of Biomedical Materials Research*, 10(4), pp. 549–553.
- Leonova, L. A., Boytsova, E. L., and Pustovalova, A. A., 2016. The study of titanium oxynitride coatings solubility deposited by reactive magnetron sputtering. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 135(1).
- Levon, J., Myllymaa, K., Kouri, V. P., Rautemaa, R., Kinnari, T., Myllymaa, S., Konttinen, Y. T., and Lappalainen, R., 2010. Patterned macroarray plates in comparison of bacterial adhesion inhibition of tantalum, titanium, and chromium compared with diamond-like carbon. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 92(4), pp. 1606–1613.
- Li, D., 2010. Microstructure and Corrosion and Tribo- Corrosion Behaviors of Si-Based and Ti-Based Aerospace Coatings Produced by PECVD. *escholarship.mcgill.ca*, 72(7).
- Li, W., Zhou, J., and Xu, Y., 2015. Study of the in-vitro cytotoxicity testing of medical devices. *Biomedical Reports*, 3(5), pp. 617–620.
- Liu, B., Deng, B., and Tao, Y., 2014. Influence of niobium ion implantation on the microstructure, mechanical and tribological properties of TiAlN/CrN nano-multilayer coatings. *Surface and Coatings Technology*.
- Liu, B., and Zheng, Y., 2011. Effects of alloying elements (Mn, Co, Al, W, Sn, B, C and S) on biodegradability and in-vitro biocompatibility of pure iron. *Acta Biomaterialia*.
- Liu, J., Wang, X., Wu, B. J., Zhang, T. F., Leng, Y. X., and Huang, N., 2013. Tribocorrosion behavior of DLC-coated CoCrMo alloy in simulated biological environment. *Vacuum*, 92, pp. 39–43.
- Liu, M., Yue, X., Dai, Z., Ma, Y., Xing, L., Zha, Z., Liu, S., and Li, Y., 2009. Novel thrombo-resistant coating based on iron-polysaccharide complex multilayers. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 1(1), pp. 113–123.
- MacDonald, D. E., Rapuano, B. E., Deo, N., Stranick, M., Somasundaran, P., and Boskey, A. L., 2004. Thermal and chemical modification of titanium-aluminum-vanadium implant materials: Effects on surface properties, glycoprotein adsorption, and MG63 cell attachment. *Biomaterials*, 25(16), pp. 3135–3146.
- Magin, C. M., Cooper, S. P., and Brennan, A. B., 2010. Non-toxic antifouling strategies. *Materials Today*, 13(4), pp. 36–44.
- Mancini, L., Moradi-Bidhendi, N., Becherini, L., Martinetti, V., and MacIntyre, I., 2000. The biphasic effects of nitric oxide in primary rat osteoblasts are cGMP dependent. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 274(2), pp. 477–481.
- Mansur, H., Pereira, M., and MM, R. O., 2006. Técnicas de caracterização de materiais. *Fundamentos e Aplicações*.
- Marketsandmarkets.com, 2016. Dental Implants Prosthetics Market. <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/dental-implants-prosthetics-market-695.html>. (20 Mays 2020)
- Martin, N., Banakh, O., Santo, A. M. E., Springer, S., Sanjinés, R., Takadoum, J., and Lévy, F., 2001. Correlation between processing and properties of TiO x N y thin films sputter deposited by the reactive gas pulsing technique. *Applied Surface Science*, 185(1–2), pp. 123–133.

- Matsuno, H., Yokoyama, A., Watari, F., Uo, M., and Kawasaki, T., 2001. Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium. *Biomaterials*, 22(11), pp. 1253–1262.
- Meerloo, J. Van, Cloos, J., Van Meerloo, J., and Kaspers, G. J. L., 2011. Cell sensitivity assays: The MTT. *Cancer cell culture*. Humana Press 88, pp. 165–169.
- Milošev, I., and Strehblow, H. H., 2003. The composition of the surface passive film formed on CoCrMo alloy in simulated physiological solution. *Electrochimica Acta*, 48(19), pp. 2767–2774.
- Misch, C. E., 1999. *Contemporary Implant Dentistry*, 90, p. 2012.
- Mohamed, S., Abd El-Rahman, A. M., Ahmed, M. R., and Mohamed, S. H., 2007. Investigation of zirconium oxynitride thin films deposited by reactive pulsed magnetron sputtering. Article in *Journal of Physics D Applied Physics*, 40, pp. 7057–7062.
- Montagnani, S., Salzano, S., Meglio, F. Di, and Vitale, M., 2003. Behavior of SaOS-2 Cells Cultured on Different Titanium Surfaces. Article in *Journal of Dental Research*, 82(9), pp. 692–696.
- Montes, C. C., Pereira, F. A., Thomé, G., Alves, E. D. M., Acedo, R. V., De Souza, J. R., Melo, A. C. M., and Trevilatto, P. C., 2007. Failing factors associated with osseointegrated dental implant loss. *Implant Dentistry*, 16(4), pp. 404–412.
- Morosan, E., Natelson, D., Nevidomskyy, A. H., and Si, Q., 2012. Strongly correlated materials. *Advanced Materials*, 24(36), pp. 4896–4923.
- Mosmann, T., 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, pp. 55–63.
- Muley, S. V., Vidvans, A. N., Chaudhari, G. P., and Udainiya, S., 2016. An assessment of ultra fine grained 316L stainless steel for implant applications. *Acta Biomaterialia*, 30, pp. 408–419.
- Niinomi, M., 1999. Recent titanium R&D for biomedical applications in Japan. *JOM*, 51(6), pp. 32–34.
- Nouri, A., and Wen, C., 2015. Introduction to surface coating and modification for metallic biomaterials. *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, pp. 3–60.
- Novaes, A. B., de Souza, S. L. S., de Barros, R. R. M., Pereira, K. K. Y., Iezzi, G., and Piattelli, A., 2010. Influence of implant surfaces on osseointegration. *Brazilian Dental Journal*, 21(6), pp. 471–481.
- Oldani, C., and Dominguez, A., 2012. Titanium as a Biomaterial for Implants. *Recent Advances in Arthroplasty*.
- Oldham, R., Siwarski, D., and McCoy, J., 1973. Evaluation of a cell-mediated cytotoxicity assay utilizing 125 iododeoxyuridine-labeled tissue-culture target cells. *National Cancer Institute*.
- Olivares-Navarrete, R., Jairo Olaya, J., Ramírez, C., and Rodil, S. E., 2011. Biocompatibility of Niobium Coatings. *Coatings*, 1, pp. 72–87.
- Otsuka Eri, Kiyoko Hirano, Shouji Matsushita, Atsuto Inoue, Shigehisa Hirose, Akira Yamaguchi, H. H., 1998. Effects of nitric oxide from exogenous nitric oxide donors on osteoblastic metabolism. *European Journal of Pharmacology*.

- Oyama, T., Ohsaki, H., Tachibana, Y., Hayashi, Y., Ono, Y., and Horie, N., 1999. A new layer system of anti-reflective coating for cathode ray tubes. *Thin Solid Films*, 351(1–2), pp. 235–240.
- Öztürk, A., Ezirmik, K. V., Kazmanli, K., Ürgen, M., Eryilmaz, O. L., and Erdemir, A., 2008. Comparative tribological behaviors of TiN{single bond}, CrN{single bond} and MoN{single bond}Cu nanocomposite coatings. *Tribology International*, 41(1), pp. 49–59.
- Padmavathy, P., Ananthakumar, R., Subramanian, B., Ravidhas, C., and Jayachandran, M., 2011. Structural and electrochemical impedance spectroscopic studies on reactive magnetron sputtered titanium oxynitride (TiON) thin films. *Journal of Applied Electrochemistry*, 41(6), pp. 751–756.
- Pearce, A. I., Richards, R. G., Milz, S., Schneider, E., and Pearce, S. G., 2007. Animal models for implant biomaterial research in bone: A review. *European Cells and Materials*, 13, pp. 1–10.
- Percival, S. L., Slone, W., Linton, S., Okel, T., Corum, L., and Thomas, J. G., 2011. The antimicrobial efficacy of a silver alginate dressing against a broad spectrum of clinically relevant wound isolates. *International Wound Journal*, 8(3), pp. 237–243.
- Piscanec, S., Ciacchi, L. C., Vesselli, E., Comelli, G., Sbaizero, O., Meriani, S., and De Vita, A., 2004. Bioactivity of TiN-coated titanium implants. *Acta Materialia*, 52(5), pp. 1237–1245.
- Pizzoferrato, A., Ciapetti, G., Stea, S., Cenni, E., Arciola, C. R., Granchi, D., and Lucia, 1994. Cell culture methods for testing Biocompatibility. *Clinical Materials*, 15(3).
- Powers, M., Derby, B., Raeker, E., Champion, N., and Misra, A., 2020. Hillock formation in co-deposited thin films of immiscible metal alloy systems. *Thin Solid Films*, 693, p. 137692.
- Pradhan, S. K., and Reucroft, P. J., 2003. A study of growth and morphological features of TiOxNy thin films prepared by MOCVD. *Journal of Crystal Growth*, 250(3–4), pp. 588–594.
- Pringle, J. H., and Fletcher, M., 1983. Influence of Substratum Wettability on Attachment of Freshwater Bacteria to Solid Surfaces. *Applied And Environmental Microbiology*, 45(3), pp. 811–817.
- Radtke, A., Grodzicka, M., Ehlert, M., Muzioł, T. M., Szkodo, M., Bartmański, M., and Piszczek, P., 2018. Studies on silver ions releasing processes and mechanical properties of surface-modified titanium alloy implants. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12).
- Rattier, B., Hoffman, A., Schoen, F., and Lemons, J., 1997. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. *Journal of Clinical Engineering*, 22(1), p. 26.
- Ravaglioli, A., and Krajewski, A., 1991. Bioceramics: Materials· Properties· Applications. Springer Science & Business Media.
- Riancho, J. A., Salas, E., Zarrabeitia, M. T., Olmos, J. M., Amado, J. A., Fernández-Luna, J. L., and González-Macías, J., 1995. Expression and functional role of nitric oxide synthase in osteoblast-like cells. *Journal of Bone and Mineral Research*, 10(3), pp. 439–446.

- Ribeiro, M., Monteiro, F. J., and Ferraz, M. P., 2012. Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions. *Biomatter*, 2(4), pp. 176–194.
- Rieder, P., Scherrer, S., Filieri, A., Wiskott, H. W. A., and Durual, S., 2012. TiNOx coatings increase human primary osteoblasts proliferation independently of the substrate-A short report 1. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 22, p. 277.
- Roberts, W. E., Turley, P. K., Brezniak, N., and Fielder, P. J., 1987. Implants: Bone physiology and metabolism. *CDA journal California Dental Association*, 15(10), pp. 54–61.
- Saini, M., Singh, Y., Arora, P., and Arora, V., 2015. Implant biomaterials: A comprehensive review. *Journal of Clinical Cases*.
- Saleem, S., Ahmad, R., Ayub, R., Abbas, K., Saleem ab, S., Ahmad, R., Ikhlaq, U., Ayub, R., Wei Hong, J., Rui Zhen, X., Peng Hui, L., and Chu, P. K., 2015. Effects of N₂/O₂ flow rate on the surface properties and biocompatibility of nano-structured TiO_xNy thin films prepared by high vacuum magnetron sputtering. *Article in Chinese Physics B*, 24(7), p. 75202.
- dos Santos, V., Brandalise, R. N., and Savaris, M., 2017. Biomaterials: Characteristics and Properties. *Engineering of Biomaterials*, pp. 5–15.
- Savage, S. J., 1991. Engineering Aspects of Shape Memory Alloys. *Surface Engineering*, 7(4), pp. 299–299.
- Schinhammer, M., Hänzli, A. C., Löffler, J. F., and Uggowitzer, P. J., 2010. Design strategy for biodegradable Fe-based alloys for medical applications. *Acta Biomaterialia*, 6(5), pp. 1705–1713.
- Schneider, G. B., English, A., Abraham, M., Zaharias, R., Stanford, C., and Keller, J., 2004. The effect of hydrogel charge density on cell attachment. *Biomaterials*, 25(15), pp. 3023–3028.
- Scott, R. D., 2009. The direct medical costs of healthcare-associated infections in U.S. hospitals and the benefits of prevention. *Cdc*, (March), p. 13.
- Shayan, M., 2016. Novel surface modification techniques to enhance biocompatibility of metallic materials for medical implants. *Master's Thesis*.
- Shi, D., 2005. Introduction to biomaterials. *Introduction to Biomaterials*, pp. 1–254.
- Siebers, M. C., Ter Brugge, P. J., Walboomers, X. F., and Jansen, J. A., 2005. Integrins as linker proteins between osteoblasts and bone replacing materials. A critical review. *Biomaterials*, 26(2), pp. 137–146.
- Sikder, P., Liu, L., Jayatissa, A. H., and Bhaduri, S. B., 2019. Antibacterial silver (Ag) containing titanium oxynitride (TiO_xN_y) coatings for inhibiting surgical site infections (SSI). *Medical Devices & Sensors*, 2(5–6).
- Silver, F., and Doillon, C., 1989. Biocompatibility: Interactions of biological and implantable materials. *VCH Publishers, Inc*, 1, pp. 1–2.
- Silver, S., Phung, L. T., and Silver, G., 2006. Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(7), pp. 627–634.
- Song, G., and Atrens, A., 2003. Understanding magnesium corrosion. A framework for improved alloy performance. *Advanced Engineering Materials*, 5(12), pp. 837–858.

- Staiger, M. P., Pietak, A. M., Huadmai, J., and Dias, G., 2006. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials*, 27(9), pp. 1728–1734.
- Stevens, M. M., and George, J. H., 2005. Exploring and engineering the cell surface interface. *Science*, 310(5751), pp. 1135–1138.
- Stewart, P. S., 2002. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(2), pp. 107–113.
- Stewart, P. S., and Costerton, J. W., 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 358(9276), pp. 135–138.
- Sumita, M., Hanawa, T., Ohnishi, I., and Yoneyama, T., 2007. 9.04 - Failure Processes in Biometallic Materials. *Comprehensive Structural Integrity*, 9, pp. 131–167.
- Sykaras, N., Iacopino, A. M., Marker, V. A., Triplett, R. G., and Woody, R. D., 2000. Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 15(5), pp. 675–90.
- Syrett, B. C., and Davis, E. E., 1979. In-vivo evaluation of a high-strength, high-ductility stainless steel for use in surgical implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, 13(4), pp. 543–556.
- Tang, H., Cao, T., Liang, X., Wang, A., Salley, S. O., McAllister, J., and Ng, K. Y. S., 2009. Influence of silicone surface roughness and hydrophobicity on adhesion and colonization of *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 88(2), pp. 454–463.
- Tardio, S., and Cumpson, P. J., 2018. Practical estimation of XPS binding energies using widely available quantum chemistry software. *Surface and Interface Analysis*, 50(1), pp. 5–12.
- Thornton, J. A., 1986. Microstructural evolution during film growth. *Journal of Vacuum Science & Technology A*, 4(6), p. 117.
- Tokur, O., and Aksoy, A., 2017. İn-vitro Sitotoksiste Testleri Orhan TOKUR *, Abdurrahman AKSOY. *Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 6(1), pp. 112–118.
- Treseder, R. S., R. Baboian, and C. G. M., 1991. NACE corrosion engineer's reference book.
- Ünal, M., Görür, K., and Özcan, C., 2001. Ringer-lactate solution versus isotonic saline solution on mucociliary function after nasal septal surgery. *Journal of Laryngology and Otology*, 115(10), pp. 796–797.
- Vaz, F., Martin, N., and Fenker, M., 2013. *Metallic Oxynitride Thin Films by Reactive Sputtering and Related Deposition Methods: Process, Properties and Applications*. *Metallic Oxynitride Thin Films by Reactive Sputtering and Related Deposition Methods: Process, Properties and Applications*, 1.
- Villapún, V. M., Lukose, C. C., Birkett, M., Dover, L. G., and González, S., 2018. Tuning the antimicrobial behaviour of Cu₈₅Zr₁₅ thin films in 'wet' and 'dry' conditions through structural modifications. *Surface and Coatings Technology*, 350, pp. 334–345.
- Wang, X. J., Krumeich, F., Wörle, M., Nesper, R., Jantsky, L., and Fjellvåg, H., 2012. Niobium(V) oxynitride: Synthesis, characterization, and feasibility as anode material for rechargeable lithium-ion batteries. *Chemistry - A European Journal*, 18(19), pp. 5970–5978.
- Wang, Y. X., Robertson, J. L., Spillman, W. B., and Claus, R. O., 2004. Effects of the chemical structure and the surface properties of polymeric biomaterials on their biocompatibility. *Pharmaceutical Research*, 21(8), pp. 1362–1373.

- Wiles, P., 1958. The surgery of the osteoarthritic hip. *The British journal of surgery*, 45(193), pp. 488–497.
- Williams, D. F., 1986. Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials. *European cells & materials*, 25, p. 27.
- Williams, D. F., 1999. *The Williams Dictionary of Biomaterials*. The Williams Dictionary of Biomaterials.
- Williams, D. F., 2008. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20), pp. 2941–2953.
- Wilsnack, R. E., 1976. Quantitative cell culture biocompatibility testing of medical devices and correlation to animal tests. *Biomaterials, Medical Devices, and Artificial Organs*, 4(4 – Mar), pp. 235–261.
- Wilson, C. J., Clegg, R. E., Leavesley, D. I., and Percy, M. J., 2005. Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: A review. *Tissue Engineering*, 11(1–2), pp. 1–18.
- Windecker, S., Mayer, I., De Pasquale, G., Maier, W., Dirsch, O., De Groot, P., Wu, Y. P., Noll, G., Leskosek, B., Meier, B., and Hess, O. M., 2001. Stent coating with titanium-nitride-oxide for reduction of neointimal hyperplasia. *Circulation*, 104(8), pp. 928–933.
- Windecker, S., et al., 2005. Randomized comparison of a titanium-nitride-oxide-coated stent with a stainless steel stent for coronary revascularization - The TiNOX trial. *Circulation*, 111(20), pp. 2617–2622.
- Wintermantel, E., and Ha, S., 2002. *Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren*. Springer, pp. 1–3.
- Witte, F., Fischer, J., Nellesen, J., Crostack, H. A., Kaese, V., Pisch, A., Beckmann, F., and Windhagen, H., 2006. In-vitro and In-vivo corrosion measurements of magnesium alloys. *Biomaterials*, 27(7), pp. 1013–1018.
- Witte, F., Hort, N., Vogt, C., Cohen, S., Kainer, K. U., Willumeit, R., and Feyerabend, F., 2008. Degradable biomaterials based on magnesium corrosion. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 12(5–6), pp. 63–72.
- Wnek, G., 2004. Encyclopedia of biomaterials and biomedical engineering. *Choice Reviews Online*, 42(04), pp. 42-1940-42–1940.
- Wong, J. Y., Bronzino, J. D., and Peterson, D. R., 2013. *Biomaterials : principles and practices*. CRC Press.
- Wright, C., 1987. Handbook of biomaterials evaluation: Scientific, technical, and clinical testing of implant materials. *Journal of Vascular Surgery*, 6(1), p. A1.
- Ye, Y., Lim, R., and White, J. M., 2009. High mobility amorphous zinc oxynitride semiconductor material for thin film transistors. *Journal of Applied Physics*, 106(7).
- Yoda, R., 2012. *Elastomers for biomedical applications*. Taylor & Francis, 9(6), pp. 561–626.
- Yuliana Prastika, V., Ambardi, P., Hadi Prajitno, D., and Yani Jl Terusan Jenderal Gatot Subroto, A., 2018. Corrosion Behavior of Zr-10Mo Alloys in Niobium-Doped Lactate Ringer's Solution. *Jurnal Sains Materi Indonesia*.
- Zadpoor, A. A., 2014. Relationship between in-vitro apatite-forming ability measured using simulated body fluid and In-vivo bioactivity of biomaterials. *Materials Science and Engineering C*, 35(1), pp. 134–143.

- Zhang, X., Yu, S., He, Z., and Miao, Y., 2004. Wetting of rough surfaces. *Surface Review and Letters*, 11(1), pp. 7–13.
- Zhen, Z., Xi, T.-F., and Zheng, Y.-F., 2013. A review on in-vitro corrosion performance test of biodegradable metallic materials. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, 23, pp. 2283–2293.
- Zhu, S., Wang, G., Zhao, Y., Li, Y., Zhou, K., and Huang, B., 2005. Biocompatibility of MIM 316L stainless steel. *Journal of Central South University of Technology*, 12(S1), pp. 9–11.
- Zimmerli, W., Widmer, A. F., Blatter, M., Frei, R., and Ochsner, P. E., 1998. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: A randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*, 279(19), pp. 1537–1541.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Taha Çağrı ŞENOCAK
Doğum tarihi:	31 Ocak 1985
Doğum Yeri:	Erzurum
Uyruğu:	Türkiye Cumhuriyeti
Adres:	Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Yakutiye/ERZURUM
Tel:	0442 231 6037
E-mail:	tcsenocak@atauni.edu.tr / tcsenocak@gmail.com
Eğitim	
Lise:	Erzurum Anadolu Lisesi
Lisans:	Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü (2010)
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı, Malzeme Bilim Dalı (2015)
Doktora:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı (2020)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Tezden Üretilmiş Yayınlar	
Senocak, T. C. , Ezirmik, K. V., Aysin, F., Simsek Ozek, N., Cengiz, S. (2020). “Niobium-oxynitride coatings for biomedical applications: Its antibacterial effects and in-vitro cytotoxicity.” <i>Materials Science and Engineering: C</i> , 111662. Doi: 10.1016/j.msec.2020.111662	