

**Antibakteriyel Oksit Tozlarının Emaye  
Uygulamaları**

Aslan Gençer  
Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü  
Seramik Mühendisliği Anabilim Dalı  
Ocak – 2006

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

**Aslan Gençler'in "Antibakteriyel Oksit Tozlarının Emaye Uygulamaları"** başlıklı **Seramik Mühendisliği** Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi.....tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	<b>Adı-Soyadı</b>	<b>İmza</b>
<b>Üye (Tez Danışmanı)</b>	<b>:Prof. Dr. Aydın DOĞAN</b>	.....
<b>Üye</b>	<b>:Doç. Dr. Savaş KOPARAL</b>	.....
<b>Üye</b>	<b>:Doç. Dr. Alpagut KARA</b>	.....

**Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun** ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ANTİBAKTERİYEL OKSİT TOZLARININ EMAYE UYGULAMALARI

ASLAN GENÇER

Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Seramik Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aydın Doğan  
2006, 60 sayfa

Epidemik hastalıkların oluşturduğu risk bilim adamlarını daha sağlıklı yaşama ortamları için yeni ürünler yaratmaya itmektedir. Son günlerde ortaya çıkan SARS ve Kuş gribi salgını bir çok insanın ölümüne yol açarak büyük çapta ekonomik kayba yol açtı. Son on yıl içinde antibakteriyel sistemlerden oluşan özellikle metal iyon esaslı antibakteriyel sistemler üzerinde çok sayıda çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada kalsiyum fosfat bazlı antibakteriyel seramik tozu yaş kimyasal metod ile sentezlenmiş ve antibakteriyel emayeler yaratmak amacıyla emaye bileşimi içine katılmıştır. Antibakteriyel emaye yüzeyinin zararlı patojenik mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivitesini incelemek için kontak bakteri testleri gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel gücü göstermesi amacıyla endikatör bakteri olarak antibakteriyel test için günlük hayatta insanların en çok karşı karşıya geldiği bakteri tipi olan Escherichia-coli bakterisi tercih edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Emaye, antibakteriyel malzemeler, Escherichia-coli, gümüş katyonu, kalsiyum fosfat.

## **ABSTRACT**

**Master of Science Thesis**

### **APPLICATION OF ANTIBAKTERIAL OXIDE POWDERS ON ENAMEL**

**ASLAN GENÇER**

**Anadolu University  
Graduate School of Sciences  
Ceramic Engineering Program**

**Supervisor: Prof. Dr. Aydın Doğan  
2006, 60 pages**

**Risk of epidemic diseases pushes scientist to create new products for healthier living environments. Recent epidemics of SARS and Bird flue have killed many people and caused a lot of economical losses. In the last decade there have been many studies conducted on metal ion based especially metal cation consisting antibacterial systems. In this study, metal cation consisting calcium phosphate based antibacterial ceramic powders were synthesized with wet chemical technique and were input into an enamel composition to obtain antibacterial enamels. Contact tests were performed to investigate the antibacterial activity of antibacterial enamel surface against harmful pathogenic microorganisms. For the antibacterial test Escherichia-coli bacteria, which are the mostly encountered bacteria type for human beings in daily life, were chosen as the indicator bacteria to show the antibacterial power.**

**Keywords: Enamel, antibacterial materials, e-coli, silver cation, calcium phosphate.**

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın son halini almasına kadar geçen süre içerisinde yardımlarını esirgemeyen çalışmalarına yön veren değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Aydın Doğan'a ve Doç. Dr. Savaş Koparal'a ve Yrd. Doç. Dr. Tansu Koparal'a göstermiş olduğu ilgiden dolayı tüm içtenliğimle sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu tezin hazırlanmasında bilgileri ve tecrübeleriyle çalışmamıza destek olan Ege Kimya San. A.Ş. Teknik Müdürü Sayın Ayhan Çavuşoğlu'na ve Ar-Ge Mühendisi Sayın Salih Paytuncu'ya çok teşekkür ederim.

Şu anda bu konumda bulunmamı sağlayan maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz sevgi ve teşekkürler.

Çalışmalarımnda her zaman bana yardımcı olan Araş. Gör. Ceren Pekşen, Öğr. Gör. Erman Üzgür, Araş. Gör. Filiz Bayrakçı Karel ve Göktuğ Günkaya'ya sonsuz teşekkürler.

Varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim, sevgileri ve destekleri ile bana yardımcı olan değerli dostlarım Güneş Çiğdemir, Barış Balseçer ve Gökçe Yıldırım'a teşekkür ederim.

Aslan Gençer  
Ocak 2006

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR</b> .....	<b>2</b>
2.1. Bakterilerle İlgili Genel Bilgiler .....	2
2.1.1. Escherichia Coli .....	3
2.1.2. Pseudomonas Aeruginosa .....	3
2.1.3. Staphylococcus Aureus .....	4
2.2. Yaşadığımız Ortamdaki Bakteriler .....	5
2.3. Mikrobiyoloji Çalışmaları .....	6
2.3.1. Sterilizasyon.....	7
2.3.2.Ortam (besiyeri) .....	7
2.3.3. Mikrobiyolojik Örnek Alma ve Kültür Yapma.....	8
2.3.3.1. Dilüsyon Hazırlama .....	9
2.3.4. Bakteri Morfolojisi Ve Boyama.....	10
<b>3. ANTİMİKROBİYAL SİSTEMLER</b> .....	<b>11</b>
3.1. Antimikrobiyal sistemler .....	12
3.1.1. Bakteriyostatik .....	12
3.1.2. Bakterisidal.....	12
3.1.3. Steril .....	12
3.1.4. Dezenfektan.....	12
3.1.5. Alkoller.....	13
3.1.6. Fenol.....	13

3.1.7. Oksitleyen Etkenler .....	13
3.2. Antimikrobiyal Sistemlerin Hücreleri Etkileme Modelleri.....	13
3.2.1. Protein Pıhtılaşması.....	14
3.2.2. Hücre Zarının Veya Çeperinin Bozulması .....	14
3.2.3. Serbest Sülfidril Gruplarının Giderilmesi .....	14
3.2.4. Kimyasal Zıt Etki ( Antagonizm ).....	15
3.3. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyonda Kullanılan Fiziksel Yöntemler.....	16
3.3.1. Isı.....	16
3.3.2. Işınlanma .....	17
3.4. Fiziko-kimyasal Yöntemler.....	17
3.4.1. Fotokatalitik Sistemler .....	17
3.4.1.1. Fotokatalitik Teknolojisinin Uygulanabileceği Yeni Alanlar .....	18
3.4.2. Metal İyonu İçeren Sistemler .....	20
3.4.2.1. Ag İyonları.....	20
3.4.2.2. Metal İyonlarının Hidroksiapatit Üzerindeki Etkileri....	21
3.4.2.3. Antibakteriyel Seramik Tozun Uygulanma Alanları .....	22
3.4.2.3.1. Tekstil Endüstrisinde Kullanımı .....	22
3.4.2.3.2. Geleneksel Seramik Sırlardaki Uygulamaları. 24	
3.4.2.3.3. Dokunmatik ekranların antibakteriyel uygulamaları .....	26
<b>4. EMAYENİN TANIMI ve ÖZELLİKLERİ .....</b>	<b>27</b>
<b>5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>29</b>
5.1. Antibakteriyel Seramik Tozunun Hazırlanması .....	29
5.2. Üretilen Tozun Karakterizasyonu .....	30
5.2.1. Yapısal Analiz.....	30
5.2.2. Üretilen Tozun Antibakteriyel Etkinliği .....	30
5.2.1.1. Halo Test Methodu .....	30
5.2.1.2. Agar Dilüsyon Methodu .....	31
5.2.3. Sitotoksosite Testleri.....	31

5.3.2.1. In vitro Sitotoksosite Testi.....	31
5.3. Antibakteriyel Seramik Tozunun Emayeye Uygulanması .....	32
5.3.1. Emaye Kompozisyonunun Antibakteriyel Tozla Birlikte Etkisinin Belirlenmesi .....	33
5.3.2. Sıcaklık Etkisinin Belirlenmesi.....	33
5.3.3. Metal Altlığın Antibakteriyel Etkiye Etkisinin Belirlenmesi....	34
5.4. Emaye Kaplı Yüzeyler İçin Uygun Antibakteriyel Test Metodunun Belirlenmesi.....	34
5.4.1. Kontakt Test Methodu.....	35
5.5. Antibakteriyel Etki İçin Minimum Toz Miktarının Belirlenmesi .....	36
5.6. Standart Testler Sonrası Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi .....	37
5.6.1. Salça ve ETC Testi.....	37
5.7. Emaye Yüzeyinin Optik Testi .....	37
5.8. Optik Özelliklerin İyileştirilmesi Amacıyla Kompozisyon Denemesi.....	38
<b>6. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....</b>	<b>39</b>
6.1. Üretilen Tozun Karakterizasyonu .....	39
6.1.1. Yapısal Analiz.....	39
6.1.2. Üretilen Tozun Antibakteriyel Etkinliği .....	40
6.1.3. Agar Dilüsyon Testi .....	41
6.1.4. In vitro Sitotoksosite Testinin Sonuçları.....	42
6.2. Antibakteriyel seramik tozunun emayeye uygulanması.....	43
6.2.1. Emaye Kompozisyonunun Antibakteriyel Tozla Birlikte Etkisinin Belirlenmesi .....	43
6.2.2. Sıcaklık Etkisinin Belirlenmesi.....	44
6.3. Metal Altlığın Antibakteriyel Etkiye Etkisinin Belirlenmesi.....	45
6.4. Antibakteriyel Etki İçin Minimum Toz Miktarının Belirlenmesi .....	46
6.5. Emayenin Standart Testler Sonrası Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi .....	49
6.6. Emaye Yüzeyinin Optik Testi .....	51
6.7. Optik Özelliklerin İyileştirilmesi Amacıyla kompozisyon	



Denemesi.....	52
6.7.1. ZAG-B-1455 Kod'lu Tozun Emaye Uygulaması .....	54
<b>7. TARTIŞMA VE ÖNERİLER .....</b>	<b>57</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>58</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

2.1.	E. Coli bakteri hücresi .....	3
2.2.	Pseudomonas Aeruginosa hücresi.....	4
2.3.	Staphylococcus aureus hücresi .....	5
2.4.	Kültür elde etme aşamaları .....	8
2.5.	Dilüsyon hazırlanması .....	9
3.1.	Farklı bakteriler üzerindeki farklı antibakteriyel sistemlerin etkileri ...	11
3.2.	Fotokatalitik sistem .....	18
3.3.	Antibakteriyel fiber .....	23
3.4.	Ag' li yüzeyin sırt bünyesindeki etkisi.....	25
3.5.	Antibakteriyel sırlı geleneksel vitrifiye ürünü .....	25
3.6.	Toz ilave edilmemiş bünye .....	26
3.7.	Toz ilave edilmiş bünye .....	26
5.1.	Antibakteriyel seramik tozun hazırlanması.....	29
6.1.	Antibakteriyel seramik tozunun XRD analizi sonucu.....	39
6.2.	Antibakteriyel seramik tozunun tane boyut analizi sonucu .....	40
6.3.	Antibakteriyel tozun halo test sonucu .....	41
6.4.	ABT-05 ve ZAG-B-1455 kompozisyonlarının V79 hücreleri üzerindeki etkilerinin MTT testi ile değerlendirilmeleri.....	42
6.5.	Antibakteriyel seramik tozu katkılı astar tozu .....	43
6.6.	Antibakteriyel seramik tozu katkılı emaye tozu .....	43
6.7.	%5 antibakteriyel seramik tozu katkılı pişirilmiş ve öğütülmüş astar tozu .....	44
6.8.	%5 antibakteriyel toz katkılı pişirilmiş ve öğütülmüş emaye tozu .....	44
6.9.	24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri .....	46
6.10.	24 saat sonra % 5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	46
6.11.	24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri .....	47

6.12.	24 saat sonra % 3 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	48
6.13.	24 saat sonra % 1 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	48
6.14.	24 saat sonra % 0.5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	48
6.15.	Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri.....	49
6.16.	Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 0.5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	49
6.17.	Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 1 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	50
6.18.	Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 3 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	50
6.19.	Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	50
6.20.	ZAG-B-1455 kodlu toz için halo test methodu uygulanarak yapılmış antibakteriyel test sonuçları.....	52
6.21.	ZAG-B-1455 kodlu antibakteriyel toza ait tane boyut dağılım grafiği .....	53
6.22.	ZAG-B-1455 kodlu antibakteriyel tozun XRD analizi sonucu.....	53
6.23.	24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri .....	55
6.24.	24 saat sonra % 3 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	55
6.25.	24 saat sonra % 1 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	55
6.26.	24 saat sonra % 0.5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu .....	56

## ÇİZELGELER DİZİNİ

5.1. Antibakteriyel emaye ve astar numunelerinin bileşimleri .....	33
5.2. Metal temizleme banyosu .....	34
5.3. Antibakteriyel emaye numunelerinin bileşimleri.....	36
5.4. Antibakteriyel emaye numunelerinin bileşimleri.....	37
5.5. Antibakteriyel emaye numunelerinin bileşimleri.....	38
6.1. ABT-05 için agar dilüsyon methodu ile antibakteriyel etkinlik sonuçları .....	41
6.2. ZAG-B-1455 için agar dilüsyon methodu ile antibakteriyel etkinlik sonuçları .....	42
6.3. Antibakteriyel aktivite test sonuçları .....	45
6.4. Antibakteriyel aktivite test sonuçları .....	47
6.5. Numunelerin renk parametreleri .....	51
6.6. Numunelerin renk parametreleri .....	54
6.7. Antibakteriyel aktivite test sonuçları .....	54

## 1. GİRİŞ

Bakteriler gözle görülmezler; ama hastalık yaparlar, sağlığımızı tehdit eden unsurlardır. Günümüzde yaşam koşullarının değişmesi ve fertlerin zamanlarının çoğunu ev dışında geçirmeleri, değişen yeme alışkanlıkları ve seyahat kolaylığı gibi faktörler, bakterilerin toplu yaşam alanlarında kolayca bireyden bireye transfer olmasına ve enfeksiyonların artmasına neden olur. Toplu yaşam alanlarının özellikle tuvalet ve banyoları, sıklıkla temizlense de, ıslak hacim özelliği dolayısıyla bakteri oluşumunda en riskli mekanlardır.

Bu nedenle, hijyenin, yani hastalık oluşturabilecek bakterilerden arınmış olmanın yaşamımızdaki önemi giderek artmaktadır. Yaşadığımız mekandan, çalıştığımız ortama ve kullandığımız ürünlere dek hijyen koşullarının sağlanmış olması artık vazgeçilmez unsurlardan biridir. Özellikle yurtdışında sağlık sektörü için üretilen antibakteriyel ürünler bulunmaktadır. Bunlar bakterilerin üremesine olanak sağlamadığı gibi, aynı zamanda ortamda bulunan bakterileri yok etmektedir. Bazı Avrupa ülkelerinde antibakteriyel ürünlerin kullanımına zorunluluk getirilmektedir.

## **2. MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR**

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bedensel, ruhsal ve sosyal yönden tam bir iyilik hali olarak tanımlanan “sağlık” kavramını etkileyen üç temel unsur insan, hastalık yapıcı etmenler ve çevredir. İnsanın dışındaki herşey olarak nitelendirilen içinde yaşadığımız çevre, hastalıklara yol açan en önemli etkenlerin başında gelen mikroorganizmalar ile her an temasta bulunduğumuz ortamdır [1].

### **2.1. Bakterilerle İlgili Genel Bilgiler**

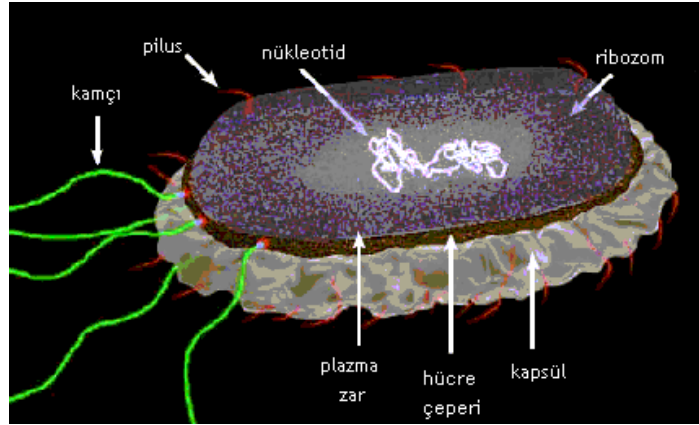
Bakteri hücresinin fiziksel ve kimyasal yapılarının bilinmesi hastalık yapma mekanizmalarının incelenmesi yönünden önemlidir. Doğada hastalık yapma yeteneğinde olmayan ancak normal şartlarda birçok bakteri mevcuttur. Bu bakterilere saprofit adı verilir. Ancak tıbbi yönden önemli olan bazı bakteriler ya hücre duvar yapıları ile veya salgıladıkları bazı ekzotoksitler ile hastalık yaparlar. Bu nedenle bakteri hücre yapısının ve salgılarının bilinmesi enfeksiyon hastalıkları mekanizmalarının aydınlatılması yönünden önem taşır [2].

Bakteriler dünyanın her yerinde, karada, havada, tatlı ve tuzlu suda hatta buzullar içinde bile yaşarlar. Toprağın 5 m derinliğine kadar mevcuttur. Bakterilerin boyu 0,5-10 µm, çapı 0,2-1 µm arasında değişir. Hücre çeperi diaminopimelik asit adı verilen bir aminoasit türevi olan (bu sadece bakteriler ve mavi-yeşil alglerde bulunur) ve bir glikoz türevi olan muramikasit'ten ibarettir. Bazılarında hücre çeperine ilaveten dışta polisakkaritlerden oluşan bir kapsül bulunur. Mitokondri, nükleus zarı, endoplazmik-retikulum (E.R.) ve golgi yoktur. Hücre stoplazmasında dağınık olarak bulunan DNA molekülü bakteriden 500 defa daha uzundur [3].

### 2.1.1. Escherichia Coli

*E. coli* yaklaşık olarak 2-6  $\mu\text{m}$  boyunda ve 1.0-1.5  $\mu\text{m}$  enine, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir . Şekil 2.1.'de bir E. Coli hücresine ait mikroskop görüntüsü yer almaktadır.[4].

Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa bazı kültürlerde de normalden uzun hatta Y harfi şeklinde dallanan filamanlı şekiller bulunabilir. Her iki şeklin birlikte bulunması olasıdır. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareketli olmakla beraber hareketleri yavaştır hatta hareketsiz görünebilirler. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram olumsuzdurlar. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakle beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur [4].



Şekil 2.1 E. Coli bakteri hücresi [5]

### 2.1.2. Pseudomonas Aeruginosa

Uzunlukları çok değişik olmakla beraber *pseudomonas aeruginosa* 1.5-3  $\mu\text{m}$  uzunluğunda ve 0.5  $\mu\text{m}$  kadar genişliğinde, bazen çift ve bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz çomakçık şeklinde mikroorganizmalardır. Şekil 2.2'de *pseudomonas aeruginosa* hücresinin mikroskop görüntüsü

görülmektedir. Çoğu kez bir uçlarındadır, nadiren iki-üç adet kirpiği vardır ve çok hareketlidirler. Kolay boyanırlar ve gram olumsuzlardır [3].

Genel kullanım besiyerlerinde kolaylıkla optimal 30-37 °C lerde ve hafif alkali ortamda ürerler. 41 °C de üreyebilme yeteneği *pseudomonas aeruginosa* için önemli bir özellik olup arka arkaya üç pasajla 42°C de üreyebilmesi *Pseudomonas fluorescens*'den ayırt edici bir özelliğidir [3].



**Şekil 2.2.** Pseudomonas Aeruginosa hücresi [5]

Pseudomonas'lar ısıya dirençsizdirler. 55 °C de 1 saat ve 60 °C de 15 dakikada ölürler. Çevre ısısı koşullarında sulara aylarca canlı kalırlar. Su damlacıklarında iken havada kurutulduklarında büyük bir çoğunluğu ölür, ancak az bir kısmı uzun süre bu kuru ortamda toz ve toprakta canlı kalırlar [4].

### **2.1.3. Staphylococcus Aureus**

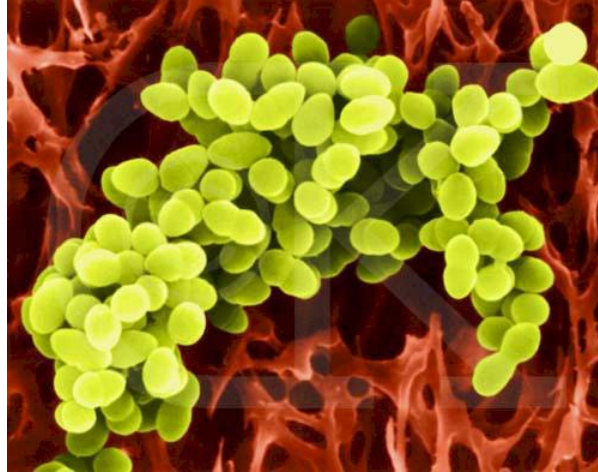
Staphylococcus aureus adı altında anılan tür özellikle koagüler olumlu, mannitolu aerop ve anaerop koşullarda asit oluşturarak parçalayan alfa toksin yapan, novobiocine duyarlı, insan ve diğer sıcak kanlı hayvanlarda geniş çapta piyogen toksik ve besin zehirlenmesi niteliğinde enfeksiyonlara etken olan stafilokoklar toplandır. Şekil 2.3' de Staphylococcus aureus hücresine ait bir mikroskop görüntüsü yer almaktadır [4].

Doğada oldukça yaygın olan, tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvan deri, burun mukozası, ağız ve nazofarinks floralarında bulunan staphylococcus aureus bakterilerinin, günümüz için en önemli yönleri kullanılmakta olan



kemoterapötik maddelerin bir çoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır [4].

Teker teker incelendikleri zaman stafilokok hücreleri diğer koklara göre daha çok olmak üzere tam yuvarlağa yakın şekildedir. Ayrıca gerek aynı ve gerekse çeşitli kültürlerden elde edilen stafilokoklar hücre görünümü bakımından birbirinden önemli bir ayırım göstermezler. Stafilokoklar yaklaşık olarak 1 µm çapındadırlar. Üreme esnasında bölünme sonucu meydana gelen hücreler birbirinden ayrılmazlar ve üç boyut yönünde çoğaldıklarından üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar. Stafilokoklar çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram olumludurlar. Eski kültürlerde bazı koklar çabuk renksizleşerek gram olumsuz gibi görünürler [4].



**Şekil 2.3.** Staphylococcus aureus hücresi

## 2.2. Yaşadığımız Ortamdaki Bakteriler

Eğer sizde bir ofiste çalışıyorsanız bilmeniz gereken önemli bir şey var; kullandığımız bilgisayar tuvaletlerden tam 400 kat daha kirli ve bir o kadar tiksindiricidir [6]. Arizona üniversitesi mikrobiyoloji profesörlerinden Chuck Gerba bu konuda bir çalışma yapmış ve bakterilerin nasıl çalışma ofislerini istila ettiklerini kanıtlamıştır. Yaptığı çalışma sonucunda aşağıdaki şaşırtıcı verileri elde etmiştir:

- Telefon: Ortalama bir santimetre karede 2000 mikrop;

- Masa : İnsanlar kahvelerini ve yiyeceklerini üzerinde yemesine rağmen yeteri kadar temizlemiyor, genellikle kağıt havlu kullanılıyor ve santimetre karede ortalama 1500 mikrop;
- Klavye: Sürekli kullandığımız bilgisayar klavyesinde ise santimetre karede 250 bakteri yaşadığı saptanmıştır [6].

Yapılan bir başka araştırmada ise aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

Bir inch karedeki bakteri sayısı

- Telefonda: 25,127
- Masada: 20,961
- Bilgisayar klavyesinde: 3,295
- Bilgisayar mouse: 1,676
- Klozetde : 49 olarak bulunmuştur [7].

Çalışma sonuçlarından çıkan önemli bir soruda ofislerin neden tuvaletlerden 400 kat daha kirli olduğudur. Profosörler Chuck Gerba, bu soru karşısında şu cevabı vermiştir; “İnsanlar tuvaletlerin kirli ve mikroplu olduğunu bilerek düzenli bir şekilde kimyasal dezenfektanlarla temizliyor fakat aynı şeyi ofislerinde yapmıyorlar.” Çalışmanın bir diğer şaşırtıcı sonucu ise New York’daki ofislerin diğer kentlerden çok daha fazla zararlı bakteri barındırdığıdır. Profesör Gerba bunun sebebini New York’da yaşayan insanların yemeklerini sürekli çalışma masasında yemeleri olarak gösteriyor[7].

### **2.3. Mikrobiyoloji Çalışmaları**

Mikrobiyoloji çalışmalarında önemli olan adımlar sırayla aşağıdaki gibidir;

1. Sterilizasyon

2. Ortam

3. Mikrobiyolojik örnek alma ve bakteri ekimi (kültivasyon)
4. Bakteri morfolojisi ve bakterileri boyama
5. Mikroorganizmanın tanımlanması
6. Mikrobiyolojik sayım yöntemi [3].

### **2.3.1. Sterilizasyon**

Sterilizasyon genelde bir ortamdaki bütün organizmaların öldürme yada ortamdaki uzaklaştırma işlemi olarak tanımlanır. Mikrobiyoloji uygulamaları dikkate alındığında sterilizasyon; laboratuvar ekipmanlarının ve besiyerlerinin, bilinen herhangi bir yöntemle üzerinde veya içinde bulunan mikroorganizmaların öldürülmesi yada ortamdaki uzaklaştırılması işlemidir. Sterilizasyon işlemi uygulanmış materyale steril denir. Bazı mikroorganizmaların iki şekli vardır; jetatif formlar nispeten kolay öldürülebilmekte, dayanıklı spor formlarını ise öldürmek ise daha zor olmaktadır. Başarılı sterilizasyon tekniği, en dayanıklı spor formunu bile öldürmeyi amaçlar. Ancak her zaman mutlak bir sterilizasyon olmayabilir [8]. Sterilizasyon yöntemleri; ısı işlem uygulaması, ışınlama ile sterilizasyon, mekanik yöntemlerle sterilizasyon, kimyasal yolla sterilizasyon olarak adlandırılabilir [8].

### **2.3.2. Ortam (Besiyeri)**

Mikroorganizmaların laboratuvar koşullarında üretilmeleri, saf olarak elde edilmeleri, çeşitli özelliklerinin incelenmesi, biyolojik olarak ve metabolik ürünlerin elde edilmesi için çeşitli besleyici ortamlar kullanılır [8].

Bakterilerin büyük bir çoğunluğu ve mantarlar cansız ortamlarda üretilmektedirler. Bu gibi mikroorganizmaların üretilmeleri, saf olarak elde edilmeleri, koloni ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi, biyolojik ürünlerin elde edilmesi için onları organizmanın dışında üretmek amacı ile kullanılan cansız, besleyici ortamlara besiyeri adı verilir [8].

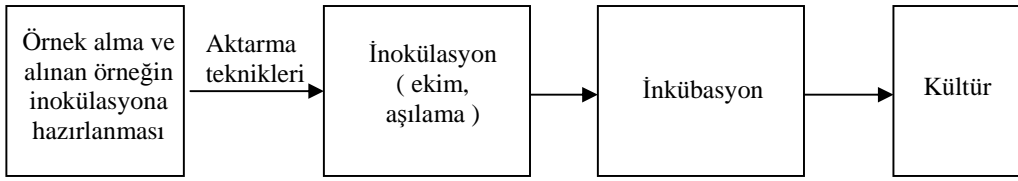
Besiyerleri mikroorganizmaların gereksinim duyduğu temel bazı maddeleri içerecek şekilde düzenlenmelidir.

- Su
- Karbon ve enerji kaynağı maddeler (çeşitli karbonhidratlar, karbonhidratların yokluğunda da proteinler)
- Azot kaynağı maddeler (proteinler, peptonlar, aminoasitler,  $KNO_3$ )
- İnorganik maddeler (Makro elementler; Na, K, Cl, P, S, Ca, Mg, Fe Mikro elementler; Zn, Mn, Br, B, Cu, Co, Mo, V, Sr vb.)
- Üreme faktörleri (vitaminler, aminoasitler, pürn ve pirimidin) [8]

### 2.3.3. Mikrobiyolojik Örnek Alma ve Kültür Yapma

Üzerinde veya içinde mikroorganizma üretilmiş (ya da üremiş) besiyerleri kültür olarak adlandırılır. Besiyerinde bir mikroorganizma türü üretilmiş ise bu saf kültürdür [9].

Kültür yapma, mikroorganizmaların buldukları ortamdan belirli tekniklerle alınarak, uygun bir besleyici ortama aktarılması ve burada gelişmelerinin sağlanması aşamalarını (Şekil 2.4) içerir[9].



**Şekil 2.4.** Kültür elde etme aşamaları

Ancak kültür yapmadaki bu aşamalardan önce bir takım ön hazırlıkların gerçekleştirilmesi gerekir. Bu amaçla yapılacak ilk işlem steril besi yerinin hazırlanmasıdır. Bunun için önce kültürü yapılacak örneğe veya incelenecek mikroorganizmaya ya da mikroorganizma grubuna uygun bir besiyerinin seçimi

yapılır. Daha sonraki aşamada ise bu besiyeri usulüne uygun olarak hazırlanır ve sterilize edilerek kullanıma hazır hale getirilir [9].

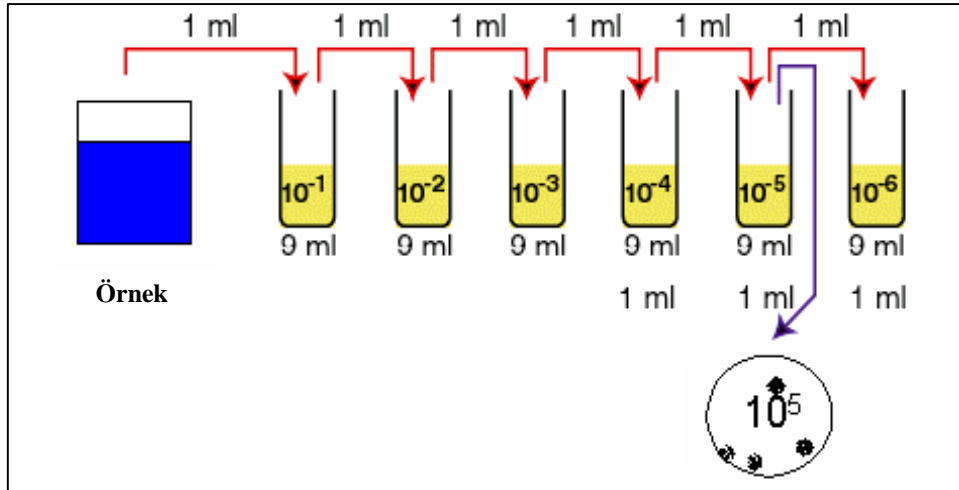
### 2.3.3.1. Dilüsyon Hazırlama

Kültürel sayım yapılacak bir örneğin ml'sinde binlerce hatta milyonlarca mikroorganizma bulunabilir. Bu nedenle, incelenecek örneğin uygun seri dilüsyonları hazırlanır. Dilüsyon hazırlama, mikrobiyolojik yönden incelemeye alınacak orijinal örnek içindeki mikroorganizma sayısının belli oranlarda daha aza indirilmesini sağlayan bir işlemdir [9].

Damıtık su, serum fizyolojik, tamponlu fosfat dilüsyon sıvısı ve nutrient broth gibi bazı sıvı besiyerleri en sık kullanılan dilüsyon sıvılarıdır. Dilüsyon sıvıları ekimler öncesi hazırlanarak sterilize edilmelidir [9].

Dilüsyon sıvıları ondalıklı, iki katlı ya da dört katlı dilüsyon serileri şeklinde hazırlanabilir. Ancak en sık kullanılan ondalıklı dilüsyon (Şekil 2.5) serileridir [9].

Ondalıklı dilüsyon serilerinde, dilüsyon sıvıları her bir deney tüpünde 9 ml dilüsyon sıvısı olacak şekilde hazırlanır. Dilüsyon sırasında her bir tüpten bir sonrakine 1 ml örnek aktarılır. Bu şekilde her bir aktarmada örnek on kat seyrelmiş olur [9].



Şekil 2.5. Dilüsyon hazırlanması [9]

#### **2.3.4. Bakteri Morfolojisi ve Boyama**

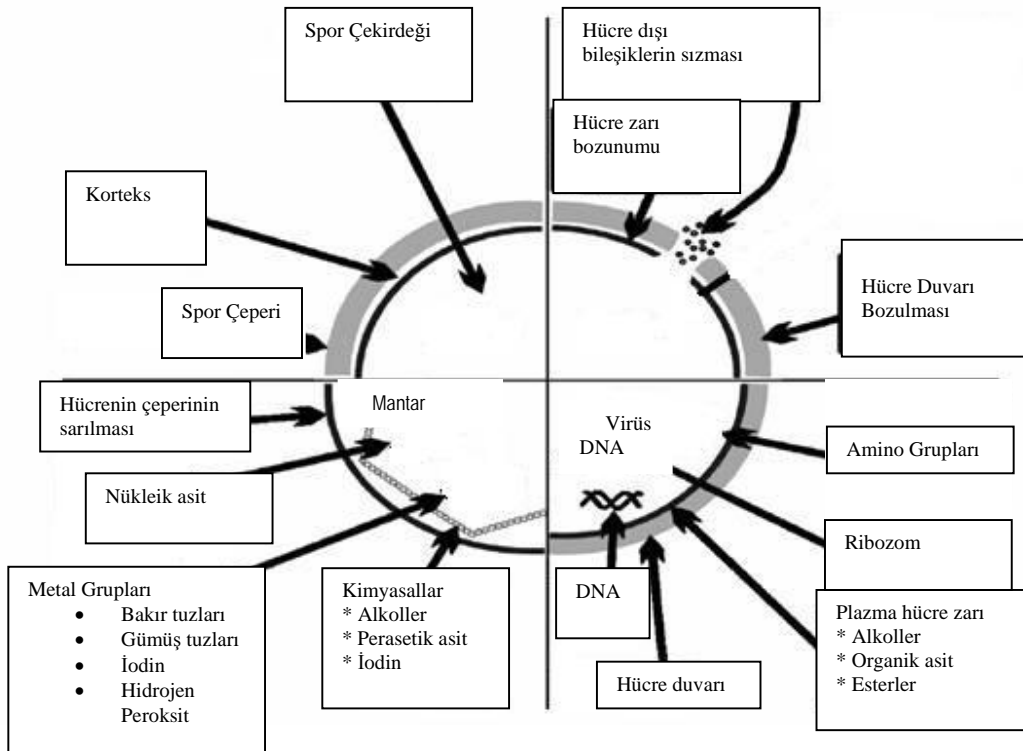
Koloni; bir bakteri hücrelerinin katı bir besiyerinde düştüğü herhangi bir noktada çok sayıda bölünmeler geçerek oluşturduğu ve çıplak gözle görülebilen hücre topluluğu şeklinde bir yapı olarak tarif edilebilir. Bu durumda kolonide sadece belli bir bakteri türüne ait hücreler bulunur. Koloni sayımlarında da bu tanımdan hareketle, bir koloninin bir hücreye eşdeğer olduğu varsayılır. Her bakteri belli besi yerinde, koşullar değişmediği sürece kendine özgü karakterde koloniler oluşturur. Aynı bakteri değişik besi yerine ekildiğinde ise farklı bir koloni morfolojisi gösterir. Bakterilerin boyanması ile morfolojileri ve dizilişleri daha iyi gözlemlenebilir. Bakterilerin boyanması hem fiziksel hem kimyasal bir olaydır [10].

### 3. ANTİMİKROBİYAL SİSTEMLER

Antimikrobiyal karışımlar genellikle mikrop yok edici, sağlığı koruyucu, kokuşmayı önleyici ve dezenfektan olarak adlandırılır ve farklı koşullar altında oluşan zararlı organizmaların kabiliyetine karşı gösterilen direnç olarak tanımlanır. Çeşitli antimikrobiyal sistemlerin bakteri, virüs, mantar ve bitkisel bakteriler üzerindeki etkileri Şekil 3.1.' de görülmektedir [11].

Antimikrobiyal sistemler etkilerini beş mekanizmada gösterirler:

- Metabolik antagonistik etki yaparlar,
- Hücre duvar sentezini bozarlar,
- Hücre zarının geçirgenliğini ve fonksiyonunu bozarlar,
- Protein sentezini bozarlar,
- Nükleik asit sentezini bozarlar [11].



Şekil 3.1. Farklı bakteriler üzerindeki farklı antibakteriyel sistemlerin etkileri [11]

### **3.1. Antimikrobiyal sistemler**

Aşağıda açıklanan terimler genellikle antimikrobiyal sistemler ile bağlantılı olarak kullanılırlar [12].

#### **3.1.1. Bakteriyostatik**

Bakterilerin çoğalmasını engelleyici özelliğe sahiptirler. Sistemin üzerindeki bakterilerin çoğalmasını engeller [12].

#### **3.1.2. Bakterisidal**

Bakterileri öldürme özelliğine sahiptirler. Bakteriyostatikten tek farkı tersinir olmamasıdır. Örneğin; öldürülmüş organizmalar bu sistem ile biraraya geldikten sonra uzun süre tekrar üreyemezler. Bazı sistemler hücrelerin çözünmesine yol açarlar, hücrelerin diğer tarafı zarar görmeden kalır ve metabolik aktivitelerine devam ederler [12].

#### **3.1.3. Steril**

Her şekildeki hayattan arı demektir. Sterilizasyon, süzme suretiyle (özellikle sıvılar ve hava) ya da mikropları öldüren etkenlerle yapılabilir. Mikroorganizmalar için ölüm ölçüsü çoğalma kabiliyetini ölçmek olduğuna göre, steril maddeler, bozulmamış, sağlam, metabolizmaları devam eden hücreler ihtiva edebilirler [12].

#### **3.1.4. Dezenfektan**

Mikroorganizmaları önlemek için yüzey üzerine kimyasal maddeler kullanılır, fakat bunlar direkt dokuya uygulanmak için oldukça zararlıdır [12].



### **3.1.5. Alkoller**

Yapıları R-CH<sub>2</sub>OH olan bileşikler nispeten yüksek yoğunlukları halinde hücreler için toksiktirler. Etil alkol ve izopropil alkol en çok kullanılan alkollerdir. Genel olarak kullanılan sudaki % 70 lik yoğunluklar proteinleri pıhtılaştırır [12].

### **3.1.6. Fenol**

Fenol ve birçok fenol bileşikleri kuvvetli antibakteriyel etkenlerdir. Genellikle kullanılan % 1-2 lik sulu eriyikleri proteinleri pıhtılaştırır. Bu etki asitliklerine bağlı değildir çünkü bu bileşikler çok zayıf asitlerdir [12].

### **3.1.7. Oksitleyen Etkenler**

Kuvvetli oksitleyen etkenler serbest sülfidril gruplarını oksitlemek suretiyle hücreleri etkisiz hale getirirler. Oksijenli su, iyod, hipoklorit, klor ve yavaş yavaş klor açığa çıkaran kireç kaymağı gibi etkenler bunların arasındadır [12].

## **3.2. Antimikrobiyal Sistemlerin Hücreleri Etkileme Modelleri**

Antibakteriyel etkenler bakterilere çeşitli şekillerde etki yapabilirler. Bu yollardan birçoğu hakkında bilgiler yetersizdir. Bununla beraber, bazı genelleştirmeler yapılabilir. Birçok etkenler, yüksek konsantrasyonları halinde, diğer etkileri yanı sıra, hücre proteinlerinin koloidal yapılarını bozarak bunları pıhtılaştırırlar. Bazı etkenler, belirli şartlar altında özgül olarak hücre zarını parçalarlar. Hücrelerinin temel enzimlerinin birçoğu sülfidril (-SH ) grupları taşırlar ve ancak bu gruplar serbest ve redüklenmiş halde bulunursa iş görebilirler. Bunun içindir ki, sülfidril gruplarını oksitleyen veya bunlarla birleşen etkenler, kuvvetli önlenim yaparlar. Son olarak, birçok etkenler, zıt kimyasal etkileriyle bir veya birkaç özgül enzimatik reaksiyonu bozmak suretiyle etkili olabilirler [13].

### 3.2.1. Protein Pıhtılaşması

Çoğu veya hepsi enzimatik yapıda olan hücre proteinlerini, normalde çok ince şekilde dağılmış, koloidal durumdadırlar. Eğer proteinlerin özellikleri bir antibakteriyel etken tarafından önemli derecede değiştirilirse, bunlar pıhtılaşarak iş göremez hale gelirler [13].

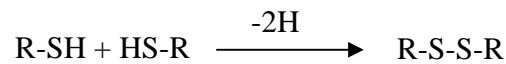
### 3.2.2. Hücre Zarının Veya Çeperinin Bozulması

Hücre zarı, seçici bir baraj olarak iş görür; erimiş bazı maddelerin içeri girmesine izin verdiği halde, diğer bazılarının girişini önler. Bazı bileşikler, zardan aktif olarak geçirilerek hücre içinde yoğun hale gelirler. Halen bu işte rol oynayan mekanizmalar tamamen anlaşılmamışsa da, bu olay için, bozulmamış sağlam bir hücre zarının bulunması gereklidir. Bu nedenle hücrenin yüzeyinde biriken maddeler, zarın fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirip, normal fonksiyonlarını bozarak ya hücreyi öldürür ya da üremesini önleyebilirler [13].

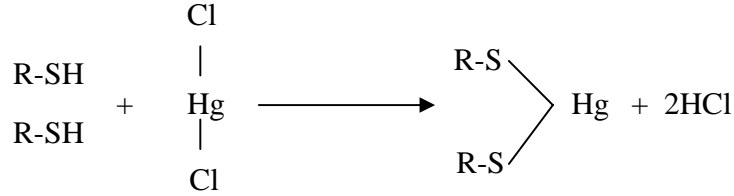
Hücre çeperi, koruyucu bir yapı olarak iş görerek hücreyi osmotik erimeden korur. Bu yüzden, çeperi bozan (örneğin lizozim) yada normal yapımını önleyen (örneğin; penisilin) gibi etkenler, hücrenin erimesine sebep olurlar [13].

### 3.2.3. Serbest Sülfidril Gruplarının Giderilmesi

Sistein taşıyan enzim proteinlerinin, sülfidril grupları ile biten yan zincirleri vardır. Bunlardan başka, anahtar enzimlerden en az bir tanesinin bir serbest sülfidril grubu vardır. Bu gibi enzimler, sülfidril grupları serbest ve redüklenmiş durumda olmadıkça iş göremezler. Oksitleyen etkenler, birbirine komşu olan sülfidril gruplarını 'disülfid' bağları haline çevirmek sureti ile, metabolizmayı bozarlar :



Cıva gibi birçok metallerin iyonları, sülfidril grupları ile şu şekilde birleşerek zararlı etki gösterirler :



Hücrede birçok sülfidril enzimleri bulunduğu için, oksitleyici etkenler ve ağır metaller, çok yaygın harabiyete sebep olurlar. Enzimin iş görmesi için serbest sülfidril gruplarının neden gerektiği kesinlikle bilinmiyor. Koenzim A gibi bazılarında bunlar, muhtemelen substratın yapışacağı normal bölgeler olarak iş görmektedirler [13].

#### 3.2.4. Kimyasal Zıt Etki ( Antagonizm )

Özel bir enzim ile buna ait substrat arasındaki normal reaksiyona kimyasal bir etkenin karışmasına kimyasal zıt etki denir. Böyle maddeler holoenzimin bir parçası ile birleşmek suretiyle, normal substratın holoenzimle birleşmesini önler [13].

Zıt etki yapan madde, enzimin bir esas bölgesine özel kimyasal ilgisi bulunduğu için enzim ile birleşir. Enzimler katalitik fonksiyonlarını kendi doğal substratlarına ilgileri dolayısıyla yaparlar; bu yüzden, yapısı bakımından bir substrata çok benzeyen herhangi bir bileşikte aynı şekilde enzimin ilgisini çeker. Eğer bu ilgi yeter derecede yüksek ise, yapıca benzer olan bu madde normal substratın yerini alarak uygun reaksiyonun meydana gelmesini önlemiş olur [13].

Birçok holoenzimlerde, ya enzim ile koenzim ya da enzim ile altlık arasında köprü olarak bir mineral iyonu vardır. Bu minerallerle çabucak birleşebilen kimyasal etkenlerde, koenzim veya altlığın birleşmesini önler. Örneğin, karbonmonoksit ve siyanür porfirin enzimindeki demir atomuna bağlanarak bu enzimin solunumda iş görmesini önlerler [13].

Zıt etki yapan kimyasal maddeler kolaylık için iki grup halinde gözden geçirilebilirler; enerji oluşturan işlemlerin zıt etkileri ve biyosentetik işlemlerin zıt etkileri. Bu gruplardan ilkinde, karbonmonoksit ve siyanür gibi solunum enzimlerinin zehirleri ve dinitrofenol gibi oksidatif fosforilasyonun zehirleri vardır. İkinci grupta ise, aminoasitler gibi proteinlerin ve nükleotitler gibi nükleik asitlerin yapı taşlarına yapıca benzer maddeler bulunmaktadır. Bazı hallerde zıt etkili madde, sadece normal metabolitin birleşmesini önler. Diğer hallerde zıt etkili madde büyük molekülün yapısındaki normal metabolitin yerine geçerek bunun iş göremez hale gelmesine sebep olur [13].

### **3.3. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyonda Kullanılan Fiziksel Yöntemler**

#### **3.3.1. Isı**

Isı uygulaması maddelerin sterilize edilmesi için en basit yöntemdir. Ancak sterilize edilecek maddelerin ısıya dayanıklı olması gereklidir. 100 °C lik bir ısı sporlar dışında bütün bakteri şekillerini 2-3 dakika içinde öldürür. Sporları öldürebilmek için 121 °C lik bir ısının 15 dakikalık bir süre uygulanması gereklidir. Isı ile sterilizasyonda genellikle buhar kullanılır. Çünkü bakteriler nemli ısıda daha kolay ölürler; üstelik buhar ısının sterilizasyon kabının her yanına eşit olarak dağılması için bir aracı işi görür. Sterilizasyon için 121 °C lik bir ısı ve 15 kPa bir buhar basıncı altında tutulması gereklidir; bu amaçla otoklavlar ve basınçlı tencereler kullanılır. Kuru kalması için gerekli olan maddelerin sterilizasyonu için kuru ısı ile sterilizasyon yapan elektrikli fırınlar vardır. Kuru ısı, sterilizasyonda daha az etkili olduğundan bunlarda 160-170 °C lik bir ısının 1 saat veya daha uzun süre uygulanması gerekir [13].

Yüksek ısıların uzun bir süre uygulanması esasına dayanan sterilizasyon yöntemleri, hücre proteinlerini pıhtılaştırmak ve bütün önemli hücre yapılarını parçalamak sureti ile etki gösterirler [13].

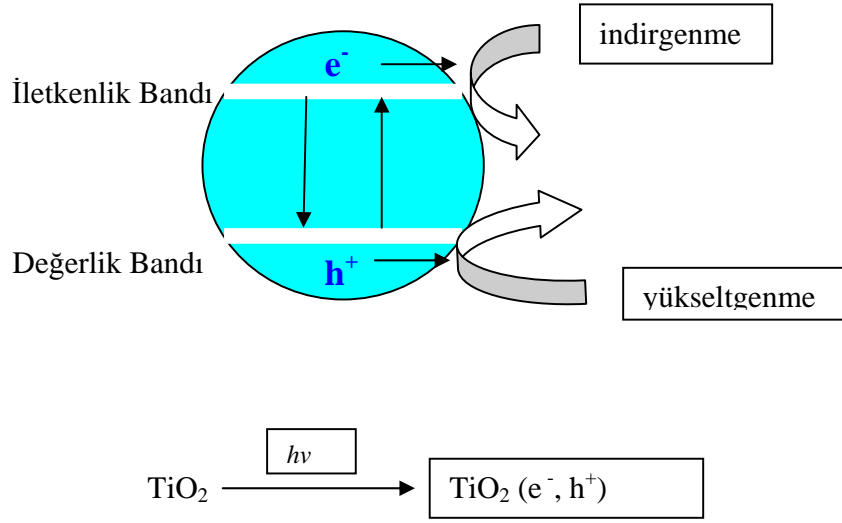
### **3.3.2. Işınlama**

Ultraviyole ışınları bazen sterilize edici etkenler olarak kullanılırlar. Bunların etkisi kısman besiyerinde peroksitler ( R-O-O-R ) yapılması suretiyle olup, daha sonra bu maddeler oksitleyen etkenler olarak iş görürler. Röntgen ışınları gibi içlerinden geçtikleri hücre kısımlarını iyonize ( ve dolayısı ile inaktive ) etmek suretiyle etki gösterirler. Fakat röntgen ışınlarının etkilerinin bir kısmı da aynı şekilde ortamda peroksit oluşumu ile açıklanabilir; çünkü; ışınlandırma esnasında oksijenin ortamdaki uzaklaştırılması halinde, hücreler kısmen korunabilirler [13].

### **3.4. Fiziko-kimyasal Yöntemler**

#### **3.4.1. Fotokatalitik sistemler**

TiO<sub>2</sub> sistemi kendi kendini temizleyen, dezenfekte eden ve kullanıldığı mekanın havasını ve hijyenik koşullarını geliştiren bir sistemdir. Bünye üstünde nanometre kalınlığında TiO<sub>2</sub>' in bir fazı olan anataz fazı oluşturulur. Bu faz fotokatalist etkiye sahiptir. Fotokatalitik sistemler, ultraviyole ışığa (UV) ve floresan ışığına maruz kaldığı zaman kimyasal reaksiyona girerek ayrışmaktadır ve Şekil 3.2.' de görüldüğü gibi aktif oksijen çıkarmaktadır. Aktif oksijen yapı içerisinde organik maddelerin oksitlenmesi, bozundurulması, bakterilerin yok edilmesi, yüzeydeki kirlilik lekelerinin temizlenmesi ve havanın istenmeyen kokulardan arındırılması gibi özelliklere sahiptir [14]



**Şekil 3.2.** Fotokatalitik sistem [15]

UV ışığı altındaki TiO<sub>2</sub> içeren bir yüzeyde, suyun oluşturduğu temas açısının yavaş yavaş azaldığı ve yeterince UV ışımada 0°'ye yaklaştığı belirlenmiştir. Bu olay ıslanma ve bu özelliği gösteren yüzeyde hidrofilik (su sever) olarak nitelenir. Süper hidrofilik bir yüzey, bütün yüzeye düzgün bir şekilde yayılır. Bu özellik cam ve aynalarda daha açık görüş sağlayacağı gibi su damlalarının neden olduğu lekeleri de önleme özelliğine sahiptir [15].

Fotokatalitik özellikler;

- Yalnızca güneş ışığı yada floresan ışığı ile aktif hale gelir,
- Çeşitli üretimler için farklı uygulamaları bulunmaktadır,
- Mantarları ve bakterileri öldürür,
- Çevresel kirlenmeleri eler (su kirliliği, hava kirliliği, pis kokular, zehirli gazlar, hormonlar, organik atıklar),
- Su ve yağ direnci sağlar [16].

### 3.4.1.1. Fotokatalitik Teknolojisinin Uygulanabileceği Yeni Alanlar

Fotokatalitik teknolojilerin kendi kendini temizleyen yüzeyler oluşturmak amacı ile evlerdeki ve binalardaki duvar ve yer karolarından, televizyon ekranlarına,

araçlara, yol işaretlerine, organik kirlenme ve bakteri etkisine maruz başka bir yüzeye uygulanabilirliği araştırılmaktadır. Şu anda geliştirilmesi için çalışılan diğer ürünler; tünel ışıklandırılmaları, yol refraktörleri, yol aynaları, mutfak banyo iç mekan döşemeleri, iç ve dış mekan seramik karolar, çatı kiremitleri, alüminyum kaplama panelleri, perde kapılar, bahçe mobilyaları, mimari cam ve aynalar, inşaat tasarlanmış, plastik ve cam seralar, bilgisayar ekranları, yalıtkanlar, taşıt boya ve kaplamaları, farlar, baret camları, araç pencere camları, optik mercekler, kontak lensler, tıbbi sondalar, yemek servis kapları, mutfak kapları, mimari boyalar ve kaplamalar, buğulanmayı önleyici filmler ve kaplamalardır [17].

TiO<sub>2</sub>' in fotokatalitik etkisinden yararlanılarak geliştirilen bir başka madde de, bakteri ve organik molekülleri yok eden bir seramik kompozittir. Kompozit apatitle kaplı ince TiO<sub>2</sub> partiküllerinden oluşmuştur. TiO<sub>2</sub> tozunun sodyum, fosfor ve kalsiyum tuzlarını içeren bir su çözeltisine ilave edilerek karışımı, yaklaşık 24 saat sürer ve 37-40 °C' de ısıtılarak üretilir. Apatit, kemik ve dişlerin esas malzemesi olup, insan bünyesi ile uyumludur, protein ve organik maddeleri absorbe eder, kompozit malzemenin esası, apatit tarafından tutulan organik madde ve bakterilerin fotokatalitik TiO<sub>2</sub> tarafından oksitlenmesine dayanır [18].

Florin, fotokatalist bir tabaka olan TiO<sub>2</sub> içerir. Diğer metalik oksit yarı iletkenler de metalik oksidin fotokatalitik aktivitesini artırır. Fotokatalist tabaka film, parça, partikül veya fiber şeklinde olabilir. Alkali içerikli bir cam kompozisyonu, adi malzeme üzerinde florin içerikli bir tabakaya sahiptir. Fotokatalist film ve malzeme arasında florin içeren silikon dioksit ve diğer metalik oksit tabakası fotokatalist tabakanın fotokatalitik aktivitesinin bozulmasını önler. Florin içerikli tabaka işlevleri (alkali bariyerleri olarak) cam fiberlerdeki Na<sup>+</sup> iyonları gibi, alkali metal iyonlarının göçü ile difüzyonunu fotokatalist tabakada kontrol etmektedir [19].

İnorganik fiber ve cam tabaka ile kaplanmış fotokatalist etkili malzemeler, zararlı organik gazların yeniden yapılanmasını azaltmak için mükemmel kabiliyete sahiptir [19].

Fotokatalist etkinin, içerdeki havayı temizleme, antibakteriyel etki sağlama gibi çeşitli işlevleri vardır. Ayrıca, etrafını çevirdiği alanlarda iç duvar malzemesi,

hava filtresi olarak temiz odalar, ofis binaları, oturmaya elverişli evlerde yarı iletken malzeme olarak üretimi yapılır [19].

### 3.4.2. Metal İyonu İçeren Sistemler

Ağır metaller genellikle bakterilere karşı zehirli özellik gösteren ve proteinlerle reaksiyona giren elementlerdir. Bakteri içindeki proteinlerin üzerine bağlanırlar, böylece hücrenin metabolizmasını kontrol ederek hücreyi öldürürler[15].

Gümüş, dezenfektan olarak bilinen ve en çok kullanılan metal iyonudur. Uzun zamandan beri klinik hastalıklarda, göz koruyucularında, tipik yanıklarda, ortopedik rahatsızlıklarda ve daha bir çok yerde kullanılmaktadır [15].

Metal iyonlarının mikroorganizmalara karşı gösterdikleri direnç sıralaması aşağıda verilmektedir; [20]

Ag > Hg > Cu > Cd > Cr > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn

Gümüş metalinin diğer metallere göre daha sık kullanılmasının nedenleri;

- Bakterilere karşı en dirençli metal olması,
- Vücuda karşı zararlı etkilerinin bulunmaması,
- Nispeten ucuz olması,
- Ve kolay üretim işlemidir.

Tıbbi klinik ürünlerde en çok kullanılan gümüş bileşimi gümüş nitrattır (AgNO<sub>3</sub>). Çünkü AgNO<sub>3</sub> gümüş iyonlarını en çabuk serbest bırakabilen maddedir [20].

#### 3.4.2.1. Ag İyonları

Gümüş iyonlarının antimikrobik etki mekanizması bakterilerin enzim ve proteinlerindeki tiyol (sulfidril, -SH) gruplarıyla yakın ilişkisine bağlıdır. Bununla birlikte muhtemelen başka hedef yerleri de vardır. *P. aeruginosa*'nın bölünmesini



inhibe eder; hücre zarı ve içeriğini bozar. Virüs etki -SH gruplarına bağlanma sonucudur. Mantar gruplarına bağlanarak bunlar üzerine etkili olur. Gümüş, mikroorganizmalardan  $K^+$  salınımına neden olur; sitoplazma ve sitoplazma membranındaki pek çok enzim gümüş etkisinin hedef yeridir. Gümüş iyonları nükleik asitlerle de ilişkiye girer [11].

Gümüş içeren antibakteriyel seramikler yüksek kararlılıklarının ve yüksek dirençlerinin yanında renk kalıcılığına sahiptirler. Üretim prosesi sırasında antibakteriyel özelliklerini kaybetmezler [22].

### **3.4.2.2. Metal İyonlarının Hidroksiapatit Üzerindeki Etkileri**

Fabrika, inşaat malzemesi, kozmetik, elektriksel aletler gibi geniş uygulama alanları antibakteriyel seramiklerin önemini her geçen gün arttırmaktadır [23].

Metal iyonlarının bakterilerin içine girdiği ve onların enzimlerini bozdukları ya da hidrojenperoksit üzerinde üretilen bazı metal iyonlarının bakterileri öldürdüğü bilinmektedir [23].

Metal iyonlarının uygulanması için bir taşıyıcı bünyenin bulunması ve metal iyonlarının bu bünyede kolay hareket edebilmeleri gerekmektedir. Taşıyıcı bünye baz alınarak antibakteriyel seramikler amorf silika bünyeli, zeolit bünyeli, kalsiyum fosfat bünyeli olarak sınıflandırılabilirler [23,24].

Hidroksiapatit içerdiği kalsiyum ve fosfordan dolayı insan vücudu içinde yüksek uyumluluğa sahiptir [15] ve bu özelliğinden dolayı insan vücudunun çeşitli bölgelerinde implant olarak kullanılmaktadır [23,25]. Bununla beraber hidroksiapatitin, ağır metallerle veya Pb, Cd, Cu, Mn, Ag,Co gibi zararlı iyonlarla katyon yer değiştirme hızı çok yüksektir [23].

Antibakteriyel seramikler direkt insanlarla temas halinde olabileceklerinden biyolojik uyumluluğa sahip olmaları gerekmektedir. Kalsiyum fosfat bazlı biyoseramikler 22 yıldır tıbbi alanda ilaç, ortopedik kaplamalar, diş ve implant olarak kullanılmaktadır. Kalsiyum fosfat seramiklerin kararlı fazlarının kullanımı ve üretimi ortam sıcaklığına ve suyun varlığına bağlıdır. Vücut sıcaklığında ortam solüsyonuyla birleşen sadece iki kalsiyum fosfat fazı kararlı hale bulunur. Ortam solüsyonunun

pH' ı 4.2'den küçükken dikalsiyum fosfat fazı, pH 4.2'den büyükken hidroksiapatit (HA) fazı kararlıdır. Yüksek sıcaklık kalsiyum fosfat fazı 37°C'de vücut sıvısıyla yada suyla reaksiyona girerek hidroksiapatit oluşturur. Hidrosiapatit dokuların bünye içerisinde büyüyerek ilerleyebilmesi için 100µm' den büyük poroziteli, boşluklu bir yapıya sahiptir. [25]

Yüksek teknoloji saf inorganik malzeme gibi inorganik antibakteriyel sistemler, zararsız niteliğe, ısı direncine ve yaygın kullanım alanına sahiptir. Yüksek verimlilik, uzun kullanım süresi, ekonomik maliyetleri ve elverişlilik gibi karakteristik özelliklere sahiptir [23].

### **3.4.2.3. Antibakteriyel seramik tozun uygulanma alanları**

#### **3.4.2.3.1. Tekstil endüstrisinde kullanımı**

İnsan vücudunun birçok bölgesinde, çok çeşitli mikroorganizmalar bulunur ve taşıyıcı ile hastalığa neden olmayacak şekilde uyum içerisinde. Aynı zamanda vücudumuzu saran tekstiller, deri üzerinde birçok mikroorganizmanın yaşaması için gerekli olan ortam şartlarını sağlamaktadır. Bununla birlikte, mikroorganizmaların, tekstiller üzerinde üreyebildikleri uzun yıllardan beri bilinmektedir. Tekstiller, geniş yüzey alanı ve nem tutma özelliğine sahip olduğundan mikrobiyal büyüme için mükemmel ortam oluştururlar. Bu şartlar, mikroorganizmaların biyofilm oluşturmaya ve hızla gelişmesine olanak sağlar. Hızla gelişen mikroorganizmalar, kötü kokulara, görüntü ve renk bozukluklarına, çirkinleştirici lekeler vb. sorunlara yol açabilir. Bu durum bir ürünü hijyenik ve estetik bakımlardan kullanılamaz hale getirebilir. Mikrobik kirlenmeye maruz kalan ürünlerin tüketici sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturması da buradaki diğer bir önemli konudur [26].

Tekstil fabrikalarındaki mikroorganizma kontrolü, hastane çevresi ya da ev yaşantısı gibi farklı alanlara sunulmaktadır. Her ne kadar bütün tekstil ürünleri doğal ve sentetik fiberlerden yapılsa da, ne doğal ne de sentetik fiberler, bakteri ya da patojenik mantarlara karşı dirençli değildirler. Bu yüzden, bütün tekstil ürünleri için

antibakteriyel ve dezenfektan teknikler geliştirilmiştir. Şekil 3.3'de antibakteriyel fibere ait mikroskop görüntüsü görülmektedir [15].

Mikroorganizmaların yüzeye tutunmasına, taşınmasına ve bunların neden olduğu hastalıkları iletmesinden dolayı özellikle tıbbi ve hijyenik alanda kullanılan tekstillerde, antimikrobiyal fonksiyonların olması istenmektedir. Tekstillerdeki bakteriyel büyüme üzerine yapılan çalışmada, yaygın olarak kullanılan tekstil malzemelerinin yüksek miktarda patojene ev sahipliği yaptığı görülmektedir. Ayrıca hastane personelinin ellerinden veya giysilerinden dolayı hastaların enfeksiyonları, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) nedeniyle yayıldığı belirlenmiştir. Bakterileri yok etme tehlikesi nedeniyle günlük kıyafetlerimizde antimikrobiyal özellikte giysiler kullanmamız önerilmemektedir. Antimikrobiyal ürünler, kesinlikle özel bir pazar grubu için uygundur [26].

Çok uzun bir dönem boyunca mikroorganizmaları kontrol etmek için halojen iyonları içeren çok karışık karışımlara sahip deterjan gibi kimyasal sistemler kullanılmıştır. Bu sistemler insan vücuduna zarar vermekte ve deriyi tahriş etmektedir. Kimyasal sistemleri geliştirmek için yapılan yoğun çalışmalardan dolayı alternatif antibakteriyel sistemlerin geliştirilmesi gecikmiştir [15].



**Şekil 3.3.** Antibakteriyel fiber [28]

Son yıllarda tekstil endüstrisinde metal tuz solüsyonu ve çinko pyrithione içeren yeni antibakteriyel sistemler geliştirilmiştir. Fakat saf metaller antibakteriyel sistemlerde kullanılamamaktadır [15].

Sonuç olarak tekstillere uygulanan antimikrobiyal ve antibakteriyel işlemler, bu organizmaların tekstil yüzeylerinde yerleşmelerini veya çoğalabilmelerini önlemek amacıyla yapılmaktadır. Bu işlemlerin esası, tekstil ürününe antibakteriyel

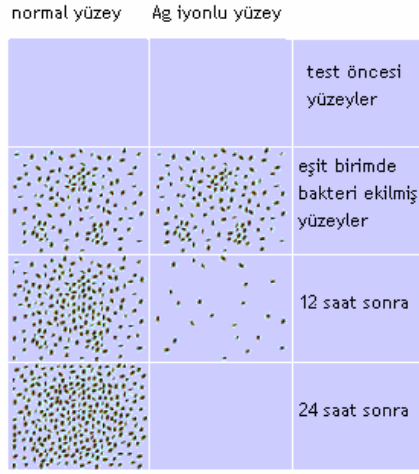
maddeler aktararak mikroorganizmaların etkinliklerinin durdurulmasıdır. Bu işlemlerin sonucunda, rahatsız edici kokuların oluşumu, enfeksiyon ve reeneksiyon oluşumu, lif materyalinin zarar görmesi önlenir [26].

Yüksek seviyedeki bakteri direnci çok basit ve düşük üretim maliyetli tekniklerle sağlanabilmektedir. Bu sistemlerden birisi ise nanoteknolojidir. Nanoteknoloji malzemelerin yapılarına ve onların nano boyutundan sağlanan fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere bağlıdır. Nanoboyutundaki malzemelerin yüzey alanı geleneksel malzemelere göre daha yüksektir. Bundan dolayı, nano boyutundaki küçük gümüş taneleri kolloidal solüsyonun dolgu malzemesi olarak çok kolay bir şekilde fiber yüzeyine yayılır ve mikroorganizmaların büyümesini engeller. Kullanılan sistemde etanol bazlı nanogümüş solüsyonu kullanılır. Pamuk ve poliester malzemeler direkt olarak bu solüsyonun içine batırılır ve üretime gönderilir. Bu teknolojinin en önemli avantajları çok kolay uygulanarak üretilibilmeleri ve yüksek yıkama direncine sahip olmalarıdır [26].

#### **3.4.2.3.2. Geleneksel seramik sırlardaki uygulamalar**

Metal iyonu ile dezenfeksiyon sağlayan sistemlerde özellikle insandan mekana, mekandan insana kolayca geçen ve üriner sistemi etkileyen “escherichia-coli” ile hastane bakterileri olarak bilinen “staphylococcus aureus” adlı bakterilere karşı güçlü bir koruma çemberi sağlanmaktadır [27].

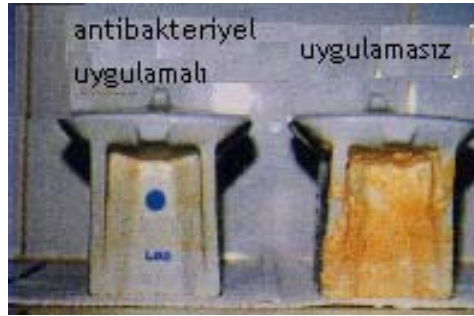
Gümüş iyonları eklenerek geliştirilen sırlar, kendi kendini bakterilerden arındırarak insan sağlığı için hiçbir tehdit oluşturmadan Şekil 3.4’ de görüldüğü gibi seramik yüzeylerde bakterilere karşı %99.9 koruma sağlamaktadır [28].



**Şekil 3.4.** Ag' li yüzeyin sır bünyesindeki etkisi [27]

Böylece birçok insanın kullanımı sonucu bakteri yoğunluğunun fazla olduğu alışveriş merkezleri, eğlence yerleri, lokantalar gibi mekanlarda bakterilerin yayılması riski azaltılmaktadır [27]. Şekil 3.5'de antibakteriyel seramik katkıli ve katkısız vitrifiye ürünleri görülmektedir.

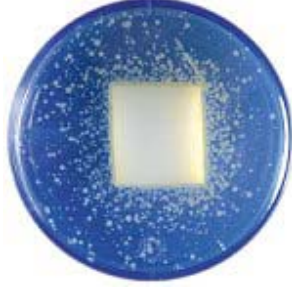
Antibakteriyel seramikler yalnızca ev içindeki bakterileri öldürmek için ve bakterisel hastalıkların etkilerini önlemek için değil, bakterilerin açık havadaki etkilerini önlemek içinde kullanılır [24].



**Şekil 3.5.** Antibakteriyel sırlı geleneksel vitrifiye ürünü [27]

Antibakteriyel uygulamalı seramiklerde yıkanma ve aşınma problemi olmamaktadır. Aynı zamanda antibakteriyel tozlar ürünün görünümünü ve üretimini etkilememektedir.

Antibakteriyel toz ilavesi yapılmamış bir seramik ürünle, toz ilavesi yapılmış bir ürünün farkı Şekil 3.6. ve Şekil 3.7.' de açıkça görülmektedir [28].



**Şekil 3.6.** Toz ilave edilmemiş bünye



**Şekil 3.7.** Toz ilave edilmiş bünye

### **3.5.2.3. Dokunmatik ekranların antibakteriyel uygulamaları**

Yeni geliştirilen antibakteriyel dokunmatik ekranlar çevrenin kritik temizliği için bir avantajdır [29].

Bu tür ekranlarda dirençli bir zar cam yüzeyi ile kalıcı bir bağ yapar. Bu bağlanma ile yüzey üzerinde bakterilerin ve diğer mikrobiyal kirliliklerin büyümesi engellenir. Bu ekranlar hijyen gerektiren hastane yada sağlık merkezleri için dizayn edilmiştir. Tüketicinin bakterilerle ve mikrobiyal kirlenme ile ilgili problemlerine karşılık olarak geliştirilmiştir; ve her geçen gün üretim sayısı biraz daha artmaktadır [29].

Dokunmatik ekranlar hızla klavye ve düğme gibi sistemlerin yerini almaktadır çünkü kullanımı çok daha basittir. Antibakteriyel sistem ilaveli ekranlar kirliliği yok ederek kullanıcılara güven vermektedir. Bu yüzden de sağlık merkezlerinde kullanımı her geçen gün artmaktadır [29].

Bu ekranlar kirliliğe karşı oldukça dirençli ve kolay temizlenebilir olmalarıyla diğer geleneksel dokunmatik ekranlara oranla oldukça avantajlıdır. Kullanıcılar ve çevre için oldukça güvenlidir, çünkü arsenik, ağır metal ve poliklorin fenol içermez. Direnç zarı çevreye sızma yapmaz, kullanıcının eline bulaşmaz yada temizlendiği zaman aşınma olmaz [29].

#### 4. EMAYENİN TANIMI VE ÖZELLİKLERİ

Emaye, silisyum okside; kurşun oksit, boraks, soda, potasyum hidroksit ve renk için metal oksitlerin ilavesiyle elde edilen camsı kaplamaya verilen isimdir.

Çeşitli arkeolojik verilerin İsa'dan önceki asırlara uzandığı ilk emayeli bulgular eski Yunan'da, Bizans'ta ve Mısır'da emayenin bir süsleme malzemesi olarak özellikle altın ve bakır işlemeciliğinde kullanıldığını göstermektedir. Yüzyıllar boyunca hep süsleme özelliği ile kullanım bulan emaye 18. yy.'dan itibaren değişik amaçlara da hizmet etmeye başlamış ve geniş kapsamlı özellikleri ile aranan bir kaplama malzemesi olmuştur. Emayeyi diğer kaplama malzemelerinden ayıran, onu tercih ettiren özellikleri şöyle sıralayabiliriz:

- Emaye, kaplandığı metale estetiklik ve uzun ömür verir.
- Sert ve pürüzsüzdür. Çizilmez ve aşınmaz.
- İstenilen tonda renklendirilebilir. Mat ve parlak olabilir.
- Toksik değildir.
- Yüksek sıcaklıklara, şoklara, kimyasal ve iklimik koşullara dirençlidir.

- Rengi ve yapısı daima sabit kalır [30].

Yirminci yüzyılın getirdiği endüstriyel teknoloji devrimi makine ve kimya sanayiinde de emayenin özelliklerinden yararlanmayı zorunlu kılmıştır. Ancak emayenin aranan özelliklerinin yanında bazı handikapları bu malzemenin endüstriyel kullanımının yaygınlaşmasını engellemiştir [31].

Emaye tatbik edildikten sonra pişirilmek zorundadır. Oysa emaye pişirme fırınlarının ölçüleri sınırlıdır. Büyük ebatlı parçalara bu nedenle emaye kaplamak mümkün olmamaktadır. Ayrıca, endüstriyel kullanımda çok yüksek ısılara uzun süre maruz kalma, bu yüksek sıcaklıklarda ısı şok gibi özelliklere, darbeli çalışmalara dayanım gibi isteklere emaye uzun bir süre cevap verememiştir. Bununla birlikte, emayeli parçaların kaynaklanması mümkün olamamış yada kaynak üzerine sağlıklı emaye uygulanamamıştır. En önemli eksikliklerden birisi de emayenin yalnız belirli tip saclar üzerine uygulanabilirliğidir. Oysa endüstriyel kullanımlarda, mevcut emaye tekniklerinin aksine sıcak çekilmiş kalın sacların, yada özel çeliklerin kullanılması

gerekebilir. Bu tip saclar emaye ile kaplandığında bilindiği gibi balık pulu hatası kaliteyi tehdit etmektedir. Bir de emayenin alttaki metali sivri kenarlarında tam anlamıyla kaplayamadığı ve kenarlardan çekildiği konusunu da bu handikaplara ekleyebiliriz [31].

Şimdi, yeni üretim teknikleriyle, emayeleşmeden sonra tek parçaların hiçbir zarar görmeden kaynak edilebildiği ve darbe mukavemeti ile sıcaklık değişim mukavemeti, özellikle vibrasyonla bağlantılı sıcaklık şoklarına şaşılacak şekilde dayanımlı bir emaye geliştirilmiştir. Böylece emayenin, engelli olduğu endüstriyel alanlarda kullanım olanakları doğmaya başlamıştır [31].

Son yıllarda mutfak fırınlarının pişirme grupları, kendi kendini temizleyen tabakalarla kaplanmaktadır. Bunların görevi kızartma, ızgara yapma veya pişirme esnasında ortaya çıkan yağ ve yiyecek sıçramalarını emmek ve ısısal olarak parçalamaktır. Bu tip sürekli kendini temizleyen ve katalitik olarak da adlandırılan sistemler büyük iç porozite hacimli kaplamalardır. Böyle zor eriyen maddelerden ve alüminyum pudrasından oluşan kaplamalarda bir seramik-metal (sermet) kompozit sistemidir [31].

Emaye mutfak gereçleri diğer mutfak gereçleriyde karşılatırıldığında kimyasal kararlılık ve kir tutmama konusunda daha sağlıklı bir yapıya sahiptir. Ancak mikrobiyolojik oluşumları önleyebilecek bir özeliği yoktur. Bu bağlamda emaye mutfak gereçleri antimikrobiyal özellik kazandırılması bu gereçlerin daha üstün özelliklere sahip olmasını sağlayacaktır. Bu çalışmada amaçlanan emaye mutfak ve sağlık gereçlerine antimikrobiyal özellik kazandırılmasıdır.

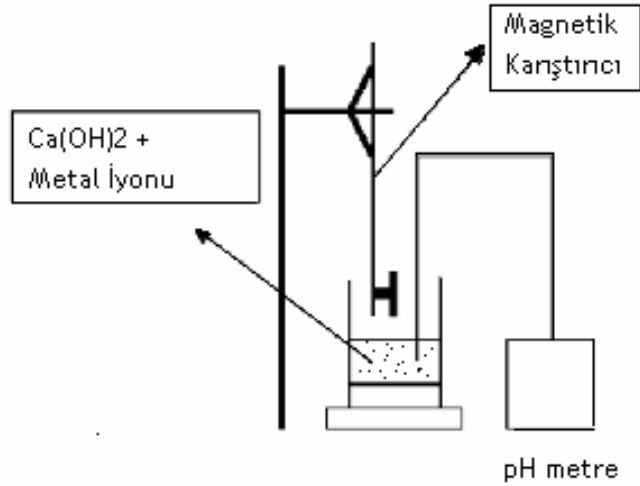


## 5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR:

Bu çalışmada sağlık ve sofraya gereçleri kaplamalarında kullanılan metal iyon katkılı antibakteriyel seramik tozunun emaye için kullanılabilirliği araştırıldı. Önce antibakteriyel toz sentezlendi, sonra endüstriyel emaye süspansiyonuna belirli oranlarda eklenerek plakalara uygulandı. Daha sonra mikrobiyolojik testler ve emaye için gerekli olan endüstriyel testler yapıldı.

### 5.1. Antibakteriyel Seramik Tozunun Hazırlanması

Metal iyon katkılı antibakteriyel seramik tozunun hazırlanması sırasında yaş kimyasal yöntem kullanıldı. Yaş kimyasal yöntemde Şekil 5.1’de görüldüğü gibi, önce metal iyonları saf suda mikser yardımıyla tamamen çözüldü. Çözeltinin içerisine kalsiyum hidroksit eklenerek süspansiyon hazırlandı. Daha sonra ortofosforik asit yavaş yavaş ilave edilerek devamlı karıştırma ile kimyasal reaksiyona girmesi sağlandı. Hidroksiapatite yapısına yakın bir yapı oluşturmak için pH belli bir değerde sabitleninceye kadar karıştırmaya devam edildi. Oluşan çözelti filtreden geçirildi. 80 °C’ de etüvde kurutulan antibakteriyel numune halkalı öğütücüde öğütülerek toz haline getirildi.



Şekil 5.1. Antibakteriyel seramik tozunun hazırlanması

## **5.2. Üretilen Tozun Karakterizasyonu**

### **5.2.1. Üretilen Tozun Yapısal ve Boyutsal Analizi**

X-ışınları difraktometresi (Rigaku-Rint 2200 XRD) kullanılarak üretilen tozun faz analizi gerçekleştirildi. XRD analizleri 10-80° açıları arasında 2°/dk hız ile yapıldı. Kullanılan antibakteriyel seramik tozunun partikül boyutu ise Malvern Mastersizer 2000 kullanılarak yapıldı.

### **5.2.2. Üretilen Tozun Antibakteriyel Etkinliği**

Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozun antibakteriyel etkinliğini belirlemek amacı ile halo test methodu ve agar dilüsyon test methodu olmak üzere iki farklı test yöntemi kullanıldı.

#### **5.2.1.1. Halo Test Methodu**

Halo test methodunda; petri kapları ve toz numuneler 200 °C de 2 saat süre ile steril edildi. Katı besiyerinde bulunan saf *E. Coli* kültüründen öze ucu ile bir miktar alınarak sıvı besiyerine (nutrient broth) aktarılır ve sıvı besiyeri 37 °C’de 24 saat inkübe edilerek kültür hazırlandı. Öze ucunun ve deney tüpünün ağız kısmının ateşten geçirilerek steril edildi. Bu bakteri kültüründen  $10^{-3}$  ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-5}$  oranlarında dilüsyon hazırlandı. Her bir deney tüpünden diğerine aktarım yapılırken vorteks tüp karıştırıcı kullanılarak sıvı besiyerinin homojen hale gelmesi sağlandı. Besiyerleri (nutrient agar) malzemeler üzerinde ince bir film tabakası oluşturacak şekilde dökülüp,hazırlanan dilüsyonlardan 200 µl lik bakteri ekimi yapıldı. Ekim steril dragalski özesi kullanılarak yüzeye yayma yöntemi ile yapıldı. Petriler ters çevrilerek 37 °C de 24 saat süre ile inkübe edilir, petriler yerleştirilirken sıcak hava sirkülasyonunun engellenmeyecek şekilde yerleştirildi. 24 saat sonunda numunelerin fotoğrafları çekilerek antibakteriyel etkinlikleri gözlemlendi.

### **5.2.1.2. Agar Dilüsyon Methodu**

Agar dilüsyon metodunda Müller Hinton Agar'ın içinde toz son konsantrasyonu %10, %5, %2.5, %1.25, %0.625, %0.313 olacak şekilde karışım hazırlandı. Ayrıca testin kontrolü ( şahit ) için toz bulunmaksızın hazırlanmış Müller Hinton Agar hazırlandı. Bu karışım sıcaklığı 40-42<sup>0</sup>C'ye ulaştığında besiyeri miktarının 1/100'ü oranında McFarland 0.5 bulanıklığına sahip bakteri süspansiyonundan eklenmiş, bakteri ve etkin maddenin homojen dağılımının sağlanması için köpük oluşmayacak hızda çalkalanmış ve petri kutusuna döküldü. Petri içindeki besiyerleri oda ısısında soğumaya bırakılıp, besiyeri katılaştıktan sonra 37<sup>0</sup>C'de etüvde inkübe edilmiş ve 24. ve 48. saatte besiyerinde koloni oluşup oluşturmadıkları araştırıldı. Ayrıca Gram boyası ile sonuç teyit edildi.

### **5.2.3. Sitotoksisite Testleri**

Sitotoksisite testleri için test edilecek gümüş iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz örnekleri, cam petriyer içine koyularak, 180<sup>0</sup>C'de 2 saat kuru hava sterilizatöründe tutularak steril hale getirildiler. Hücre kültürü V79 (Chinese Hamster Akciğer Fibroblast benzeri) hücreleri Institute of Fermentation, Osaka (IFO, Japan) dan satın alındı. V79 hücreleri, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Sigma), ısı ile inaktif hale getirildi. % 10'luk Fetal Bovine Serum (Sigma), Penicillin-Streptomycin (Sigma) ve sodium hidrojen karbonat içeren besiyerinde büyütüldüler. Hücreler 37<sup>0</sup>C'de, nemli bir atmosferde, % 5'lik(v/v) CO<sub>2</sub>'li bir ortamda inkübe edildiler.

#### **5.2.3.1. In vitro Sitotoksisite Testi**

Test edilecek seramik toz örneklerinin, büyümeyi engelleyici etkilerinin olup olmadığı MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] testi ile araştırıldı (Mossmann, 1983). Hücreler deneyler için yeterli sayıya eriştiklerinde tripsinlenerek toplanmış ve Trypan Blue ile boyanarak, Thoma lamı

ile sayılmış ve mililitrede  $1 \times 10^4$  hücre olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra, hücreler 96 kuyucuklu plakalara (Techno Plastic Products AG) 0,1 ml hücre süspansiyonu ( $1 \times 10^3$ ) olacak şekilde ekildi. Hücrelerin kuyucuklara yapışmaları için 24 saat beklendi. Ardından besiyeri hücreler üzerinden uzaklaştırıldı ve hücreler farklı konsantrasyonlarda yeni hazırlanmış test maddeleri ile muamele edildiler. Test maddeleri, hücrelerin büyüdüğü besiyerinde seyreltilerek uygulandı. İnkübasyon hacimleri; birinci gün için 100 µl, ikinci gün için 200 µl ve üçüncü ve dördüncü gün için 300 µl'dir. Test maddeleri 1000 µg/ml, 100 µg/ml ve 10 µg/ml olacak şekilde hücrelere uygulandı.

Hücreler test maddeleri ile 37°C'de, % 5 CO<sub>2</sub>'li nemli ortamda 1, 2, 3 ve 4 gün inkübe edildikten sonra MTT testi uygulandı. Hücrelerin inkübe edildiği test maddelerini içeren besiyerleri hücreler üzerinden uzaklaştırıldıktan sonra, kuyucuklara MTT çalışma solüsyonundan 100 µl olacak şekilde ilave edildi. Plakalar % 5 CO<sub>2</sub> içeren 37°C'deki inkübatörde 2 saat bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda MTT içeren besiyeri hücreler üzerinden uzaklaştırıldı ve her kuyucuğa 100 µl dimetil sülfoksida (DMSO, Riedel de Haen) ilave edildi ve bu şekilde 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildiler. Plakalardaki hücrelerin optik dansiteleri ELİSA plaka okuyucuda (Bio-Tek, ELX808IU, USA) 570 nm de ölçüldü. Tüm deneyler 3 kez tekrarlandı.

MTT testinin istatistiksel değerlendirilmeleri için SPSS programı kullanıldı. Elde edilen verilerin tek yönlü ANOVA ile post-hoc olarak Tukey testi uygulanarak anlamlılıkları belirlendi. Anlamlılık değeri olarak  $p < 0.05$  kabul edildi.

### **5.3. Antibakteriyel Seramik Tozunun Emayeye Uygulanması**

Bilindiği üzere emaye uygulamalarında metal altlıkların emaye ile kaplanmasında sulu yöntem ve elektrostatik (kuru) yöntem kullanılmaktadır. Bu çalışmada sulu yöntem tercih edildi. Bu çalışmada Ege kimyadan alınan sulu sistem için hazırlanmış emaye ve fritler kullanılmıştır.

### 5.3.1. Emaye Kompozisyonunun Antibakteriyel Tozla Birlikte Etkisinin Belirlenmesi

Antibakteriyel seramik tozunun (ABT-05 kodlu antibakteriyel seramik tozu) emaye kompozisyonu içerisinde etkinliğinin belirlenmesi amacıyla, tablo 5.1’de verilen standart emaye ve standart astar bileşimlerine katıldıktan sonra 115°C’ deki etüvde bir gün süreyle kurutuldu. Kurutulan numuneler halkalı öğütücüde öğütüldü ve toz haline getirildi.

Hazırlanan toz numuneler Anadolu Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Çevre Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarında halo test metodu kullanılarak antibakteriyel aktivite testi yapıldı.

**Tablo 5.1.** Antibakteriyel emaye ve astar numunelerinin bileşimleri

Numune Adı	Frit (g)	ABT-05 (g)	Clay (g)	NaAlO <sub>2</sub> (g)	Su
E*	100	-	5	0.35	45
E <sub>1</sub>	100	5	5	0.35	45
As*	100	-	5	0.35	45
As <sub>1</sub>	100	5	5	0.35	45

E\* : Ege Ferro’ dan alınan referans emaye, As\* : Ege Ferro’ dan alınan referans astar

### 5.3.2. Sıcaklık Etkisinin Belirlenmesi

Bu çalışmada antibakteriyel seramik tozunun içindeki metal iyonlarının yüksek sıcaklıkta emaye ya da astar ile reaksiyona girip girmediğini öğrenmek için %5 antibakteriyel seramik tozu ilave edilmiş emaye süspansiyonu (E<sub>1</sub>) ve %5 antibakteriyel seramik tozu ilave edilmiş astar süspansiyonu (As<sub>1</sub>) numuneleri hazırlanarak kurutuldu. Kurutulan numuneler halkalı öğütücüde öğütüldü. preslenerek pelet haline getirilen numuneler 840°C’ de 5 dakika süreyle pişirildi.

Pişirilen %5 antibakteriyel seramik tozu ilave edilmiş emaye ve astar peletleri önce havanda sonrada halkalı öğütücüde öğütülüp toz haline getirildi.

Hazırlanan toz numuneler Anadolu Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Çevre Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarında halo test metodu kullanılarak antibakteriyel aktivite testi yapıldı.

### 5.3.3. Metal Altlığın Antibakteriyel Etkiye Etkisinin Belirlenmesi

Bu yapılan deneylerin amacı ise, antibakteriyel emaye kompozisyonunun; metal altlık üzerine uygulandıktan sonra, metal altlıkla antibakteriyel toz içerisindeki metal katyonlarının olası bir elektrostatik yada kimyasal bir etkileşim sonucu, antibakteriyel etkisinin varlığını hala devam ettirip ettirmediğinin tespit edilmesidir. Bu testler için kullanılacak olan altlıklar, Tablo 5.2’de gösterildiği gibi sırayla hazırlanan asit ve baz banyolarında bir süre bekletilerek yüzeyleri temizlendi. Metal altlıklara uygulanan yağ alma banyosunun amacı, metal altlığın oksitlenmesini önlemek için metal yüzeyine sürülen yağın temizlenmesidir.

**Tablo 5.2.** Metal temizleme banyosu

1. Sıcak su banyosu (75°C )	Banyoda kalış süresi 10 dakika
2. Akışkan su banyosu ( 20°C )	Kalış süresi 1 dakika
3. Asit banyosu (% 10’luk H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 75°C)	Banyoda kalış süresi 10 dakika
4. Durgun saf su banyosu (20°C )	Banyoda kalış süresi 5 dakika
5. Akışkan su banyosu (20°C )	Kalış süresi 1 dakika
6. Nötralleşme banyosu (% 10’ luk NaOH, 75°C )	Banyoda kalış süresi 10 dakika

### 5.4. Emaye Kaplı Yüzeyler İçin Uygun Antibakteriyel Test Metodunun Belirlenmesi

Emaye gibi camsı yapıya sahip malzemelerde hem yüzey alanının küçük olması hemde metal iyonlarının dışarıya difüzyonunun daha zor olması sebebiyle halo

test metodunun bu tip malzemelerde uygun metod olmadığından ve bundan sonraki antibakteriyel etki testleri için kontakt test metodu uygulandı.

#### 5.4.1. Kontakt Test Methodu

Kontakt test methodunda 5x5 cm<sup>2</sup> alanında 5-10 mm kalınlığında hazırlanmış şahit ve antibakteriyel numuneler (duvar ve yer karosu, vitrifiye, emaye, plastik vs.) için kullanılmaktadır. Ayrıca numunelerin yüzeylerinin pürüzsüz olması gerekmektedir. Testin güvenilirliği açısından her numuneden 6 adet teste alınır. Bu test için petri kapları ve numuneler 200°C de 2 saat süre ile steril edilir. Katı besiyerinde bulunan saf *E. Coli* kültüründen öze ucu ile bir miktar alınarak sıvı besiyerine (nutrient broth) aktarılır ve sıvı besiyeri 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek kültür hazırlanır. Öze ucunun ve deney tüpünün ağız kısmının ateşten geçirilerek steril edilmesine dikkat edilmelidir. Bu bakteri kültüründen 10<sup>-3</sup> , 10<sup>-4</sup> ve 10<sup>-5</sup> oranlarında dilüsyon hazırlanır. Her bir deney tüpünden diğerine aktarım yapılırken vorteks tüp karıştırıcı kullanılarak sıvı besiyerinin homojen hale gelmesi sağlanır. Hazırlanan dilüsyonlardan 500 µl'lik bakteri ekimi (yaklaşık 2x10<sup>3</sup>, 2x10<sup>4</sup> ve 2x10<sup>5</sup> CFU/mL) petri tabanına yapılır ve numune yüzeyi ile temas edecek şekilde numune petri tabanına yerleştirilir. Numunelerin üzerine alüminyum folyolardan hazırlanmış ve steril edilmiş küvetler yerleştirilir ve küvetler 1500 µl steril su ile doldurulur. Küvetler petri iç ortamında nem dengesini sağlamak ve sıvı seviyesinin azalmasını en aza indirmek amacıyla kullanılmaktadır. Petri kapları kapatılarak etrafı parafilm ile sarılır. Petriler 25°C de 24 saat süre ile inkübe edilir. Burada iki farklı yöntem kullanılabilir:

- a) 24 saat sonunda küvetler ve numuneler petrilerden alınır. Petri kaplarında kalan örneklerin üzerine 500 µl salin eklenir ve 45°C deki besiyeri (nutrient agar) dökülür, agar katılaşmadan petri kutuları düz bir yüzey üzerinde sekiz işareti çizdirilerek örnek ile besiyerinin homojen karışımı sağlanır ve agarın katılaşması beklenir.
- b) 24 saat sonunda numuneler petrilerden alındıktan sonra petride kalan örnek steril otomatik pipetler kullanılarak katı bir besiyerine (nutrient broth) ekilir. Ekim steril dragalski özesi kullanılarak yüzeye yayma yöntemi ile yapılır.

İlk yöntem ikinciye daha avantajlıdır, çünkü analizde kullanılan örneğin tümü teste katılarak incelenebilmiş olur. Petriler ters çevrilerek 37°C de 24 saat süre ile inkübe edilir, petriler yerleştirilirken sıcak hava sirkülasyonunun engellenmeyecek şekilde yerleştirilmesine dikkat edilmelidir. 24 saatlik inkübasyon sonunda sonuçlar gözlemlenir.

Hazırlanan antibakteriyel toz Tablo 5.3’de verilen beyaz renkli emaye bileşimlerine eklendi. Antibakteriyel toz emaye bileşimindeki frit içeriğini temel alacak şekilde % 5 ağırlık oranında emaye bileşimine eklendi. Beyaz renkli emaye yaygın kullanımı nedeniyle ve emayenin optik özellikleri üzerindeki antibakteriyel ajan katkısının etkisini incelemek amacıyla özellikle seçildi.

**Tablo 5.3.** Antibakteriyel emaye numunelerinin bileşimleri

Numune Adı	Frit (g)	ABT-05 (g)	Clay (g)	NaAlO <sub>2</sub> (g)	Su
A*	100	-	5	0.35	45
A <sub>1</sub>	100	5	5	0.35	45

A\* : Referans emaye, 14100 serisi.

Tartıldıktan sonra karışımlar öğütülmüş ve elekten geçirildi. İki katmanlı emaye sistemi üzerinde çalışıldı. İlk olarak çelik plakaların yüzeyleri temizleme solüsyonu kullanılarak hazırlanmış ve üzerlerine astar tabakası uygulandı. Daha sonra numuneler 30 dakika boyunca 150°C’de kurutuldu ve 5 dakika boyunca 840°C’de pişirildi. Çeşitli antibakteriyel ajan bileşimlerine (A\* ve A<sub>1</sub>) sahip ikinci emaye tabakası hazırlandı ve aynı yol izlenerek uygulandı. İkinci tabakaların pişirilme sıcaklığı 820° C’dir kalınlığının ise 250-260 µm olduğu tespit edildi.

### 5.5. Antibakteriyel Etki İçin Minimum Toz Miktarının Belirlenmesi

Kontakt test metodu kullanılarak yapılan antibakteriyel testler sonucunda % 5 antibakteriyel toz (ABT-05) içeren emaye kaplamanın antibakteriyel özellik kazandığı tespit edildi. Bundan sonraki aşama ise antibakteriyel etki için gerekli olan minimum tozun miktarı belirlenmesidir. Bu amaçla, hazırlanan antibakteriyel toz (ABT-05)



Tablo 5.4’de verilen frit içeriğini temel alacak şekilde % 0.5, 1 ve 3 ağırlık oranında 14100 serisi beyaz renkli emaye bileşimlerine eklendi.

**Tablo 5.4.** Antibakteriyel emaye numunelerinin bileşimleri

Numune Adı	Frit (g)	ABT-05 (g)	Clay (g)	NaAlO <sub>2</sub> (g)	Su
B*	100	-	5	0.35	45
B <sub>1</sub>	100	0.5	5	0.35	45
B <sub>2</sub>	100	1	5	0.35	45
B <sub>3</sub>	100	3	5	0.35	45

B\* : Ege Ferro’dan alınan referans emaye, 14100 serisi.

Hazırlanan numunelere yine kontakt test metodu kullanılarak antibakteriyel aktivite testi gerçekleştirildi.

## 5.6. Standart Testler Sonrası Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi

### 5.6.1. Salça ve Asit Testi

Emaye geniş kullanım alanına sahip bir malzeme olup, tencere, fırın tepsisi ve fırın içi kaplama gibi yerlerde tercih edilmektedir. Bu uygulamalar sırasında emaye yüzeyi salça ve çeşitli asitlerde sürekli etkileşim halinde olduğundan salça ve asit testleri yapılmış ve daha sonra antibakteriyel etkinin devamlılığı araştırıldı.

Her iki test için emaye numuneleri üzerinde 120°C’de asit ve salça 6 saat boyunca bekletilmiştir. Hazırlanan numunelere yine kontak test metodu kullanılarak antibakteriyel aktivite testi gerçekleştirildi.

## 5.7. Emaye Yüzeyinin Optik Testi

Müşterinin bakış açısından yüzeyin rengi ve parlaklığı da çok önemli bir parametredir. Antibakteriyel ajanlı emaye kaplı yüzeyin ve standart emaye yüzeyin optik özellikleri CM-3600 marka bir Minolta-spektrofotometre ile test edildi.

## 5.8. Optik Özelliklerin İyileştirilmesi Amacıyla Kompozisyon Denemesi

Yapılan optik testler sonucunda görülen renk ve parlaklıkta ki değişimi en aza indirmek amacıyla; renk olarak ABT-05 kodlu tozdan daha beyaz renkte ve metal iyon salınımını kontrollü bir şekilde azaltan farklı bir toz geliştirilmesine karar verildi. Tozun sentezi için yine yaş kimyasal yöntem tercih edilmiştir. ABT-05 kodlu tozdan farklı olarak gümüş katyonlarının yanısıra çinko katyonları da sisteme eklendi.

X-ışınları difraktometresi (Rigaku-Rint 2200 XRD) kullanılarak üretilen tozun faz analizi gerçekleştirildi. XRD analizleri 10-80° açıları arasında 2°/dk hız ile yapılmıştır. Kullanılan antibakteriyel seramik tozunun partikül boyutu ise Malvern Mastersizer 2000 kullanılarak yapıldı.

Optik testler sonrasında yüzey özelliklerinin değişimini minimuma indirmek üzere renk olarak daha beyaz olan ve emaye de renk değişiminin daha az olacağı düşünülen ZAG-B-1455 kodlu antibakteriyel toz kullanılarak tablo 5.5’de görülen numuneler hazırlandı ve antibakteriyel testleri kontakt test metodu kullanılarak yapıldı.

**Tablo 5.5.** Antibakteriyel emaye numunelerinin bileşimleri

Numune Adı	Frit (g)	ZAG-B-1455 (g)	Clay (g)	NaAlO <sub>2</sub> (g)	Su
C*	100	-	5	0.35	45
C <sub>1</sub>	100	0.5	5	0.35	45
C <sub>2</sub>	100	1	5	0.35	45
C <sub>3</sub>	100	3	5	0.35	45

C\* : Referans emaye

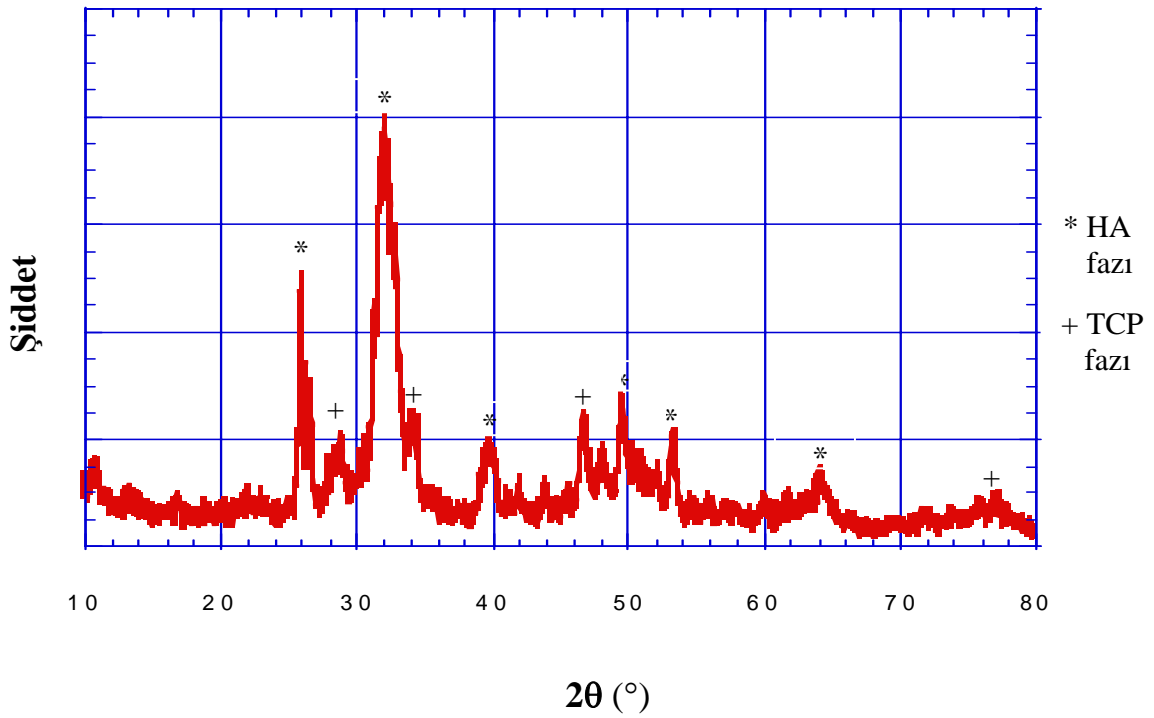
Hazırlanan tüm numuneler antibakteriyel test öncesinde optik özellikleri CM-3600 marka bir Minolta-spektrofotometre ile test edildi.

## 6. SONUÇLAR

### 6.1. Üretilen Tozun Karakterizasyonu

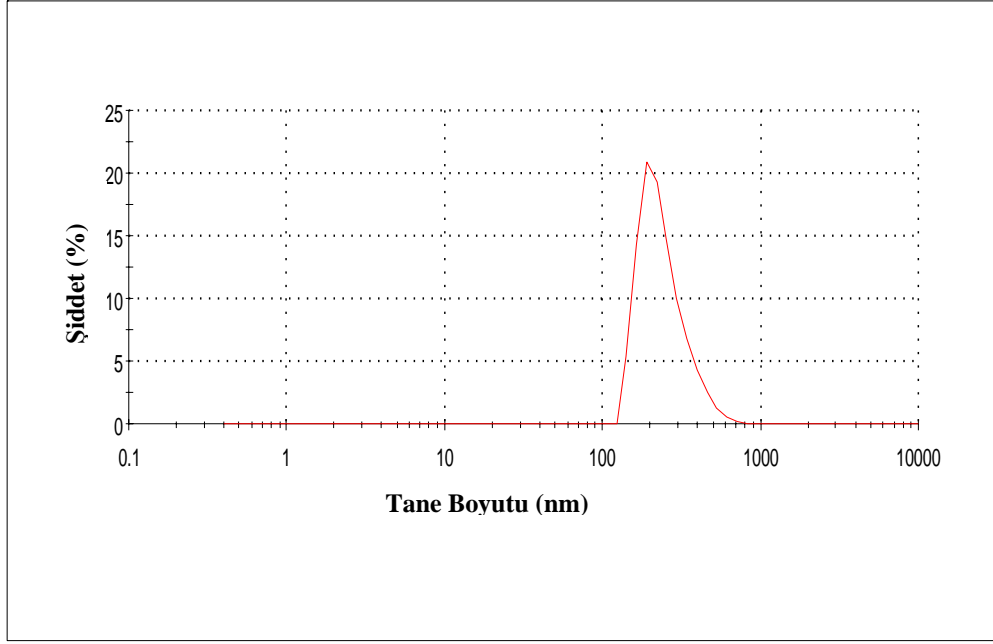
#### 6.1.1.Yapısal Analiz

Yapılan XRD analizi sonucu elde edilen grafikteki (şekil 6.1) piklerin JCPDS kataloğundaki verilerle karşılaştırılmış ve ABT-05 kodlu antibakteriyel tozun hidroksiapatit (HA) ve tri-calsiyum fosfat (TCP) yapısında olduğu belirlendi. Diğer bir deyişle kalsiyum fosfat fazlarının bulunduğu bir yapıdır.



Şekil 6.1. ABT-05 kodlu antibakteriyel tozun XRD analizi sonucu

Kullanılan antibakteriyel seramik tozunun (ABT-05) partikül boyut analizi Malvern Mastersizer 2000 kullanılarak yapıldı. Yapılan analiz sonucunda antibakteriyel seramik tozunun ortalama tane boyutunun 200 nm olduğu görüldü.

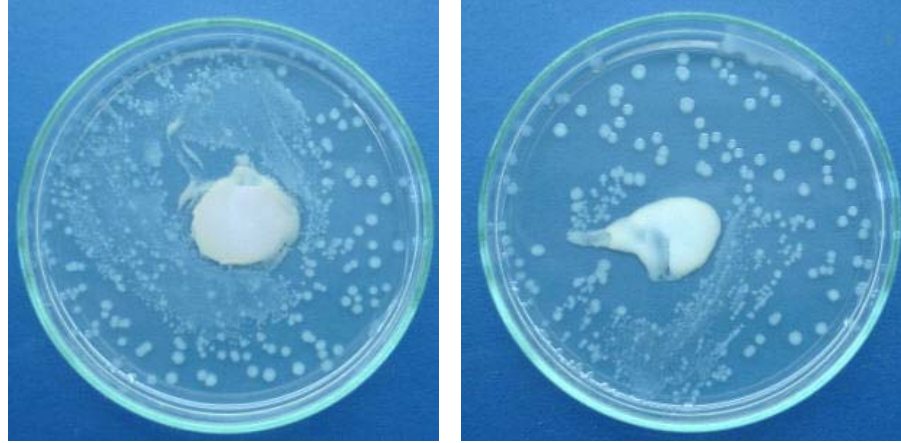


Şekil 6.2. ABT-05 kodlu antibakteriyel tozun tane boyut analizi sonucu

### 6.1.2. Üretilen Tozun Antibakteriyel Etkinliği

Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozun antibakteriyel etkinliğini belirlemek amacı ile halo test methodu kullanıldı.

Halo test methodu kullanılarak metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozların *E.coli* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliği saptanmıştır. Halo testi sonuçlarında Şekil 6.3'de görüldüğü gibi antimikrobiyal tozun etrafında oluşan hare, bakteri büyümeyen alan, ve toz üzerinde bakteri yaşamazken etrafında bakterilerin yaşadığı görüldü. Tozun etrafında oluşan hare difüze olup dışarı saçılan metal katyonlarının yayılım mesafesini ve miktarını göstermektedir.



**Şekil 6.3.** ABT-05 kodlu antibakteriyel tozun halo test sonucu

### 6.1.3. Agar Dilüsyon Testi

Üretilen tozun farklı bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi ve yukarıda elde edilen olumlu sonuçların teyid edilmesi amacıyla 19 Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesinde mikrobiyolojik testleri yapıldı.

Agar dilüsyon methodu kullanılarak metal iyon katkılı tozun standart maya ve bakteriler (*P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 43300, *Candida albicans* ATCC 10231) ile antibakteriyel etkinliği saptandı. Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozun %10, %5, %2,5, %1,25, %0,625 ve %0,3125 dilüsyonları için antimikrobiyal etkinliği test edilmiş ve 24 ve 48 saat sonunda her bir dilüsyonda bakteri üremesi gözlemlenmedi. Tablo 6.1. ve 6.2’de elde edilen sonuçlar görülmektedir.

**Tablo 6.1.** ABT-05 için agar dilüsyon methodu ile antibakteriyel etkinlik sonuçları (+ : bakteri üremesi gözlemlendi. - : bakteri üremesi gözlemlenmedi)

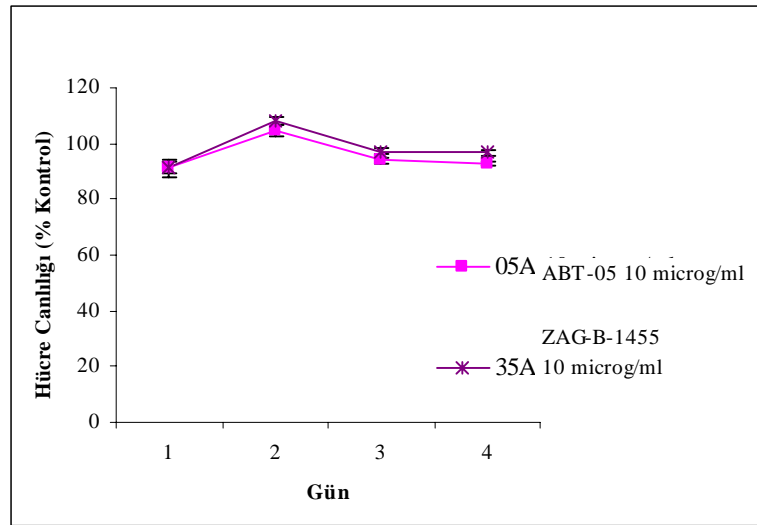
	% 10	% 5	% 2,5	% 1,25	% 0,625	%0,3125
<i>P. aeruginosa</i> – 24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> – 48. saat	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> - 24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> – 48. saat	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> -24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> -48. saat	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> – 24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> – 48. saat	-	-	-	-	-	-

**Tablo 6.2.** ZAG-B-1455 için agar dilüsyon methodu ile antibakteriyel etkinlik sonuçları (+ : bakteri üremesi gözlemlendi. - : bakteri üremesi gözlemlenmedi)

	% 10	% 5	% 2,5	% 1,25	% 0,625	%0,3125
<i>P. aeruginosa</i> – 24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> – 48. saat	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> - 24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> – 48. saat	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> -24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> -48. saat	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> – 24. saat	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> – 48. saat	-	-	-	-	-	-

#### 6.1.4. In vitro Sitotoksikite Testinin Sonuçları

10 µg/ml ABT-05 ve ZAG-B-1455 kompozisyonlarının V79 hücreleri üzerindeki etkilerinin MTT testi ile doza bağlı sitotoksikite eğrilerinin 1, 2, 3 ve 4 günlük değerlendirilmeleri Şekil 6.4 de verilmiştir. ABT-05 ve ZAG-B-1455 kompozisyonların 10 µg/ml'lik dozları hücre sayısında hafifçe azalmaya neden olmuştur. Bu kompozisyon sitotoksik etki göstermemektedir.

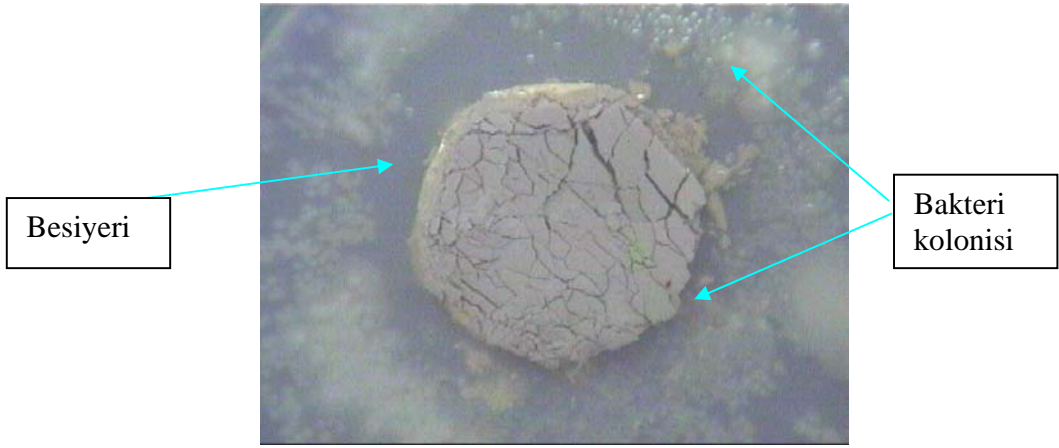


**Şekil 6.4.** 10 µg/ml ABT-05 ve ZAG-B-1455 kompozisyonlarının V79 hücreleri üzerindeki etkilerinin MTT testi ile değerlendirilmeleri.

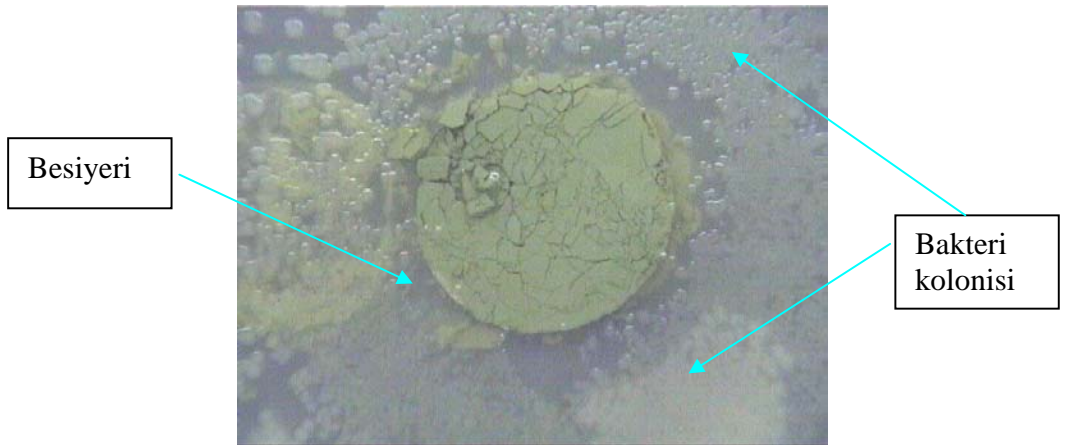
## 6.2. Antibakteriyel seramik tozunun emayeye uygulanması

### 6.2.1. Emaye Kompozisyonunun Antibakteriyel Tozla Birlikte Etkisinin Belirlenmesi

Kurutularak öğütülen toz halindeki %5 antibakteriyel seramik tozu ilaveli astar (Şekil 6.5) ve emayelerin ( Şekil 6.6) bakterileri öldürdüğü gözlemlendi. Tozun etrafında oluşan hare difüze olup dışarı saçılan metal katyonlarının yayılım mesafesini ve miktarını göstermektedir.



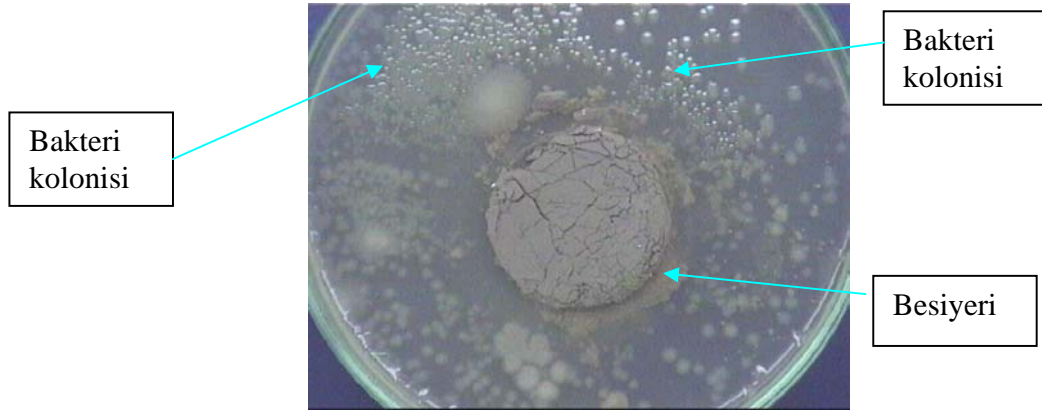
Şekil 6.5. Antibakteriyel seramik tozu katkılı astar tozu



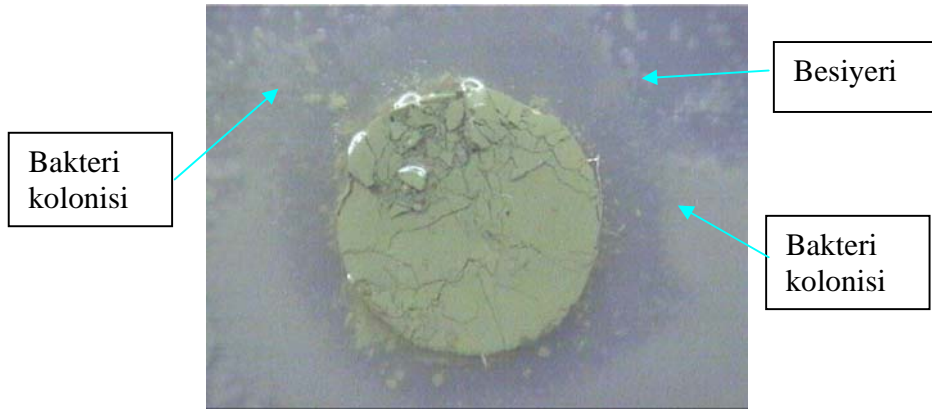
Şekil 6.6. Antibakteriyel seramik tozu katkılı emaye tozu

## 6.2.2. Sıcaklık Etkisinin Belirlenmesi

Yapılan üçüncü testlerde antibakteriyel seramik tozunun (ABT-05) yüksek sıcaklıkta emaye yada astar ile reaksiyona girebileceği düşünülerek küçük peletler hazırlandı. Bu peletler 840<sup>0</sup>C'de pişirilerek tekrar öğütüldü. Mikrobiyoloji laboratuvarında bakteri testine giren pişirilmiş toz halindeki numunelerin bakterileri öldürdüğü gözlemlendi (Şekil 6.7, Şekil 6.8). Bu sonuçlar ışığında antibakteriyel toz 840<sup>0</sup>C'de herhangi bir reaksiyon yada bozunmaya uğramadığı ve antibakteriyel etkisini yitirmediği tespit edildi.



Şekil 6.7. %5 antibakteriyel seramik tozu katkılı pişirilmiş ve öğütülmüş astar tozu



Şekil 6.8. %5 antibakteriyel toz katkılı pişirilmiş ve öğütülmüş emaye tozu



### 6.3. Metal Altlığın Antibakteriyel Etkiye Etkisinin Belirlenmesi

Antibakteriyel ajan katkılı emaye farklı metal altlıklara ( Çelik, Aliminyum ve Galvanizli ürün ) uygulandı. Hazırlanan % 5 antibakteriyel toz katkılı numuneler ve referans alınan numuneler kontakt test metoduyla test edildi ve referans numunelerde bakteri oluşumu gözlenirken antibakteriyel toz katkılı tüm numunelerde bakteri oluşumu gözlenmedi. Şekil 6.9 ve Şekil 6.10'da bu çalışma ile ilgili örnek görüntüler yer almaktadır. Bakterilerin üreme hızlarındaki düşme oranı antibakteriyel aktiviteyi ortaya koymaktadır. Petri kapları üzerindeki koli form ünitesi (CFU) ve koloni sayıları sayılmış ve antibakteriyel aktivite için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{Antibakteriyel Aktivite} = \frac{\text{Boş 24 saat hücre sayısı} - \text{Eklenen numunelerdeki hücre sayısı}}{\text{Boş 24 saat hücre sayısı}} \times 100$$

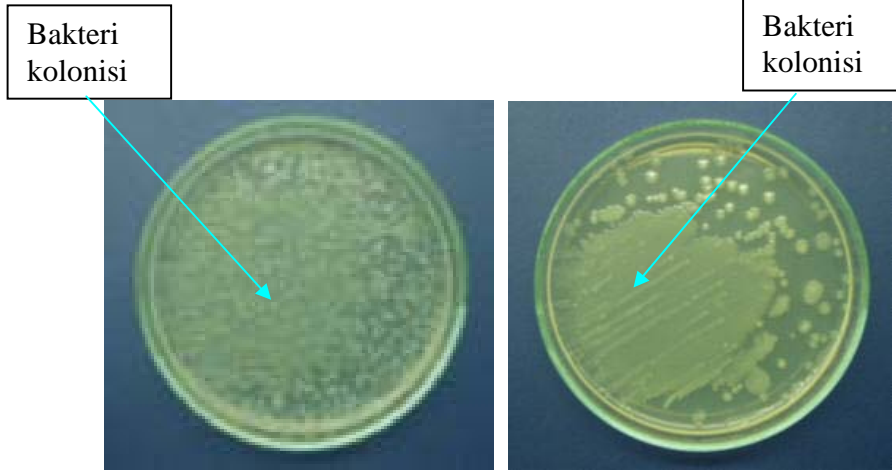
Numuneler üzerinde gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testi sonuçları Tablo 6.3'de verilmiştir. Tablodaki değerler beş numunenin ortalamasıdır. Referans emaye numunesi hiçbir antibakteriyel aktivite ortaya koymamaktadır. Antibakteriyel ajan eklenen emaye bileşimindeki tüm bileşimler için çok yüksek antibakteriyel aktivite düzeyi gözlemlendi.

**Tablo 6.3.** Antibakteriyel aktivite test sonuçları

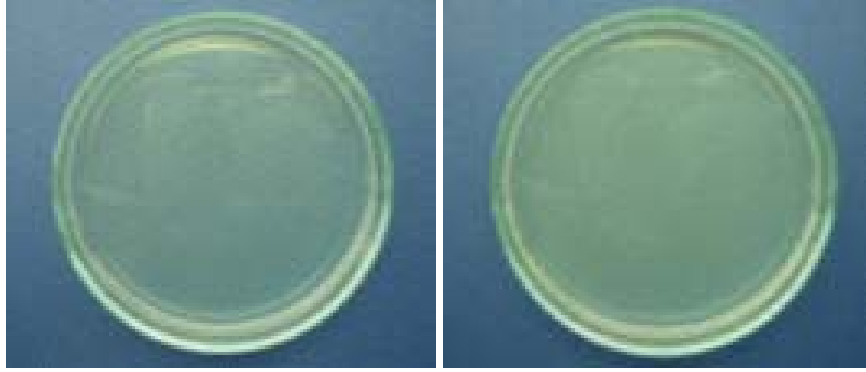
Numune	Başlangıç CFU/ml	24 saat sonra CFU/ml	Antibakteriyel Aktivite (%)
A*	2x10 <sup>3</sup>	2x10 <sup>3</sup>	0
A <sub>1</sub>	2x10 <sup>3</sup>	2	99.91

Test metodunda da belirtildiği gibi, salin solüsyonu içindeki E-koli bakterileri 24 saatlik etüv süresi boyunca emaye yüzeylerine temas ettirildi ve daha sonra numunelerin altında kalan solüsyon farklı Petri kaplarındaki besiyeri ortamlarına ekildi. Bu nedenle besiyeri ortamı ve bakteri kolonileri içeren Petri kapları resimlerde gösterilmiştir. Açıkça görüldüğü gibi referans emayesinde hiçbir antibakteriyel aktivite

yoktur. Petri kutuları üzerindeki beyaz benekler E-koli bakteri kolonileridir. % 5 katkı antibakteriyel emayeler için yalnızca bir veya iki bakteri kolonisi gözlemlenmiştir. Bu incelemenin bir sonucu olarak, emaye bileşimine %5 antibakteriyel ajanın (ABT-05) eklenmesi halinde çok güçlü bir antibakteriyel aktivite oluşturulabileceğini söylemek mümkündür.



**Şekil 6.9.** 24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri



**Şekil 6.10.** 24 saat sonra % 5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu

#### **6.4. Antibakteriyel Etki İçin Minimum Toz Miktarının Belirlenmesi**

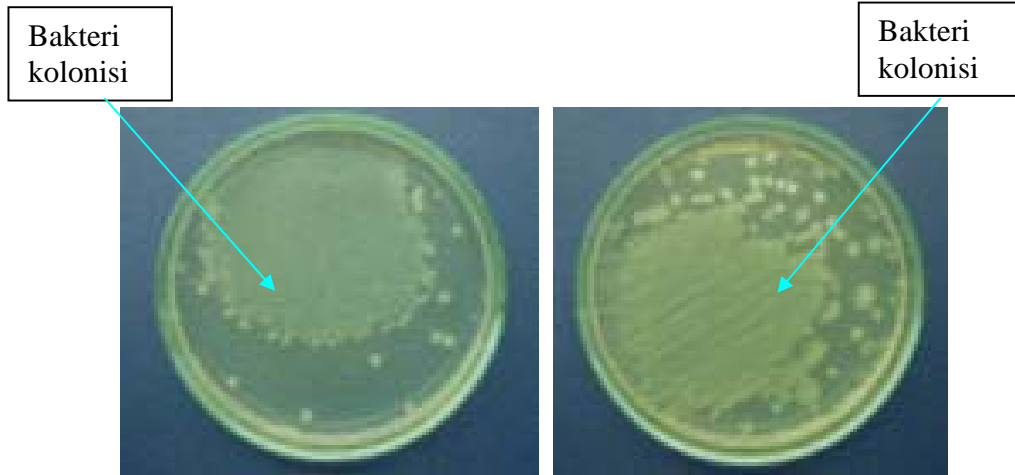
Antibakteriyel ajanın katkı miktarı üretim maliyetleri göz önüne alınarak düşürülmeye çalışılmıştır. Bu amaçla antibakteriyel toz (ABT-05) miktarı bu defa %

0.5, % 1, % 3 olan numuneler hazırlanmış ve yapılan kontak testi sonucunda her üç oranda da antibakteriyel etkinin olduğu kanıtlanmıştır. Şekil 6.11, 6.12, 6.13 ve 6.14' de ise bu testlere ait fotoğraflar görülmektedir.

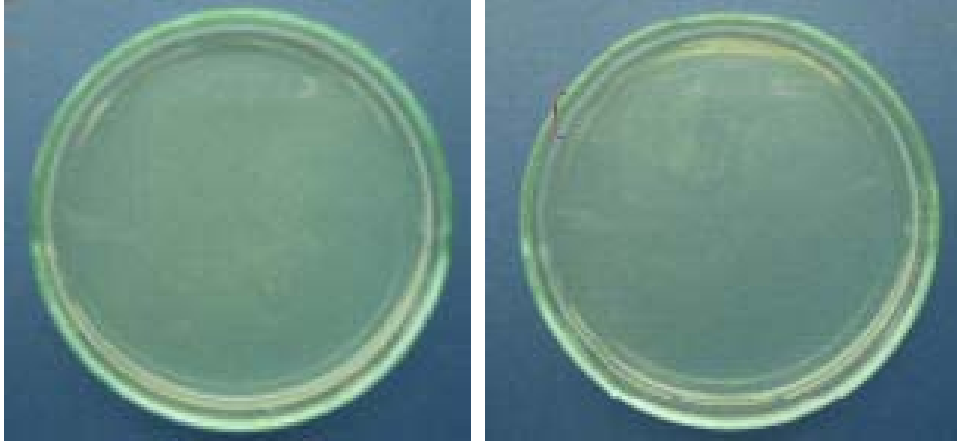
Numuneler üzerinde gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testi sonuçları Tablo 6.4'de verilmiştir. Tablodaki değerler beş numunenin ortalamasıdır. Referans emaye numunesinde hiçbir antibakteriyel aktivite görülmemiştir. Antibakteriyel ajan eklenen emaye bileşimindeki tüm bileşimler için çok yüksek (yaklaşık olarak % 99.9 oranında) antibakteriyel aktivite düzeyi gözlemlenmiştir.

**Tablo 6.4.** Antibakteriyel aktivite test sonuçları

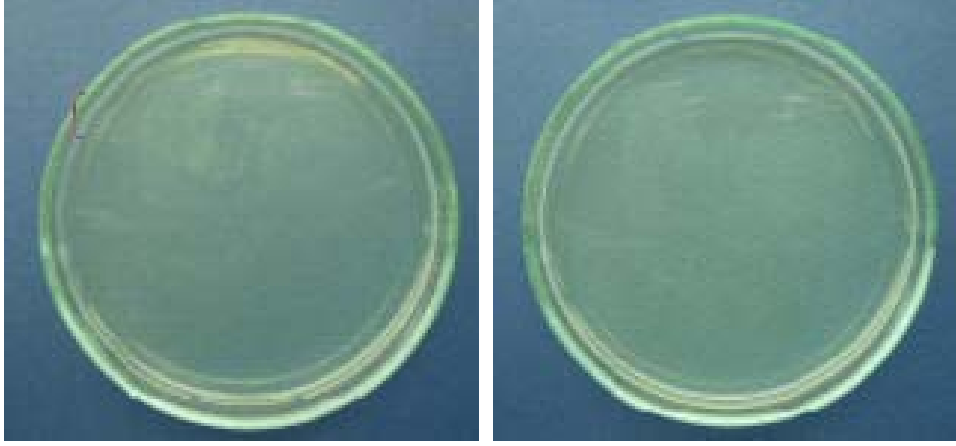
Numune	Başlangıç CFU/ml	24 saat sonra CFU/ml	Antibakteriyel Aktivite (%)
<b>B*</b>	<b><math>2 \times 10^3</math></b>	<b><math>2 \times 10^3</math></b>	<b>0</b>
<b>B<sub>1</sub></b>	<b><math>2 \times 10^3</math></b>	<b>2</b>	<b>99.91</b>
<b>B<sub>2</sub></b>	<b><math>2 \times 10^3</math></b>	<b>2</b>	<b>99.91</b>
<b>B<sub>3</sub></b>	<b><math>2 \times 10^3</math></b>	<b>2</b>	<b>99.91</b>



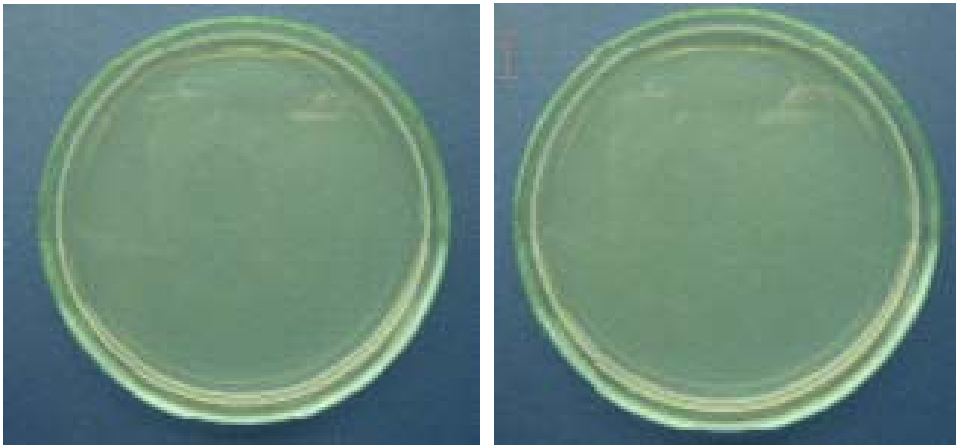
**Şekil 6.11.** 24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri



**Şekil 6.12.** 24 saat sonra % 3 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu



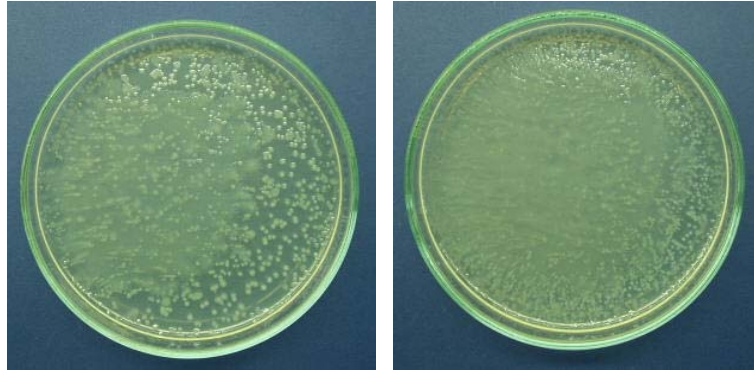
**Şekil 6.13.** 24 saat sonra % 1 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu



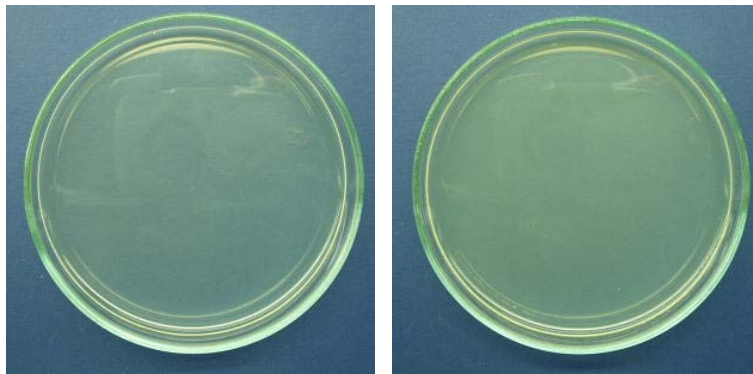
**Şekil 6.14.** 24 saat sonra % 0.5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu

### 6.5. Emayenin Standart Testler Sonrası Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi

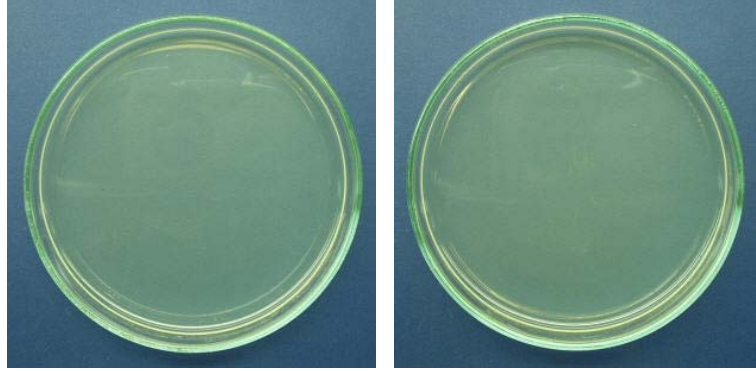
Emayenin geniş bir kullanım alanı vardır. Emaye; mutfak gereçlerinde, su tanklarında, kazanlarda, çamaşır makinelerinde, fırınlarda, bulaşık makinelerinde ve egzoz borularında yaygın olarak kullanılmaktadır. Alkali, su buharı ve asitlerle karşı karşıya kalan emaye bunlara karşı yüksek direnç gösterir. Endüstride asit ve su buharına karşı dayanıklılığının belirlenmesi amacıyla salça ve asit testleri yapılmaktadır. Endüstriyel uygulama ortamlara göz önüne alınarak yapılan bu testler antimikrobiyal ajan katkılı emaye plakalar üzerinde uygulanmıştır. Bu bağlamda salça ve asit testi yaptıktan sonra tekrar antibakteriyel seviye testi yapılmış ve sonuçta antibakteriyel etkinin hiçbir şekilde azalmadığını tespit edilmiştir. Şekil 6.15, Şekil 6.16, Şekil 6.17, Şekil 6.18 ve Şekil 6.19' bu sonuçlara ait fotoğraflar yer almaktadır.



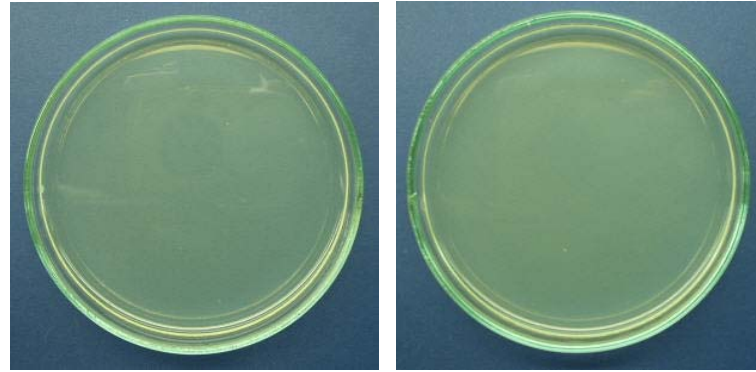
**Şekil 6.15.** Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri



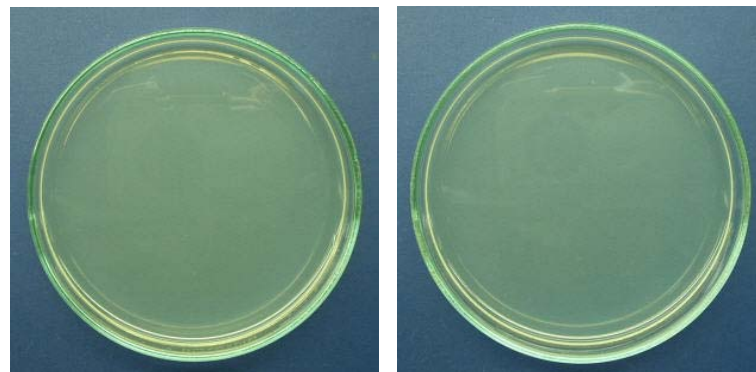
**Şekil 6.16.** Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 0.5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu



**Şekil 6.17.** Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 1 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu



**Şekil 6.18.** Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 3 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu



**Şekil 6.19.** Salça ve ETC testi sonrası 24 saat sonra % 5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu

## 6.6. Emaye Yüzeyinin Optik Testi

Emaye numunelerinin yüzeyleri önce gözle incelenmiş daha sonra ise optik  $L^*a^*b^*$  değerleri bir Minolta-spektrofotometre CM-3600 kullanılarak test edildi ve sonuçlar tablo 6.5’de verildi. Renk ölçümü için rengin spektral açıklamasında koyuluk-parlaklık göstergesi olarak  $L^*$ , yeşillik-kırmızılık göstergesi olarak  $a^*$  ve sarılık-mavilik göstergesi olarak ise  $b^*$  kullanılmıştır. Rengin parlaklığı  $h$  ile ifade edildi.

**Tablo 6.5.** Numunelerin renk parametreleri

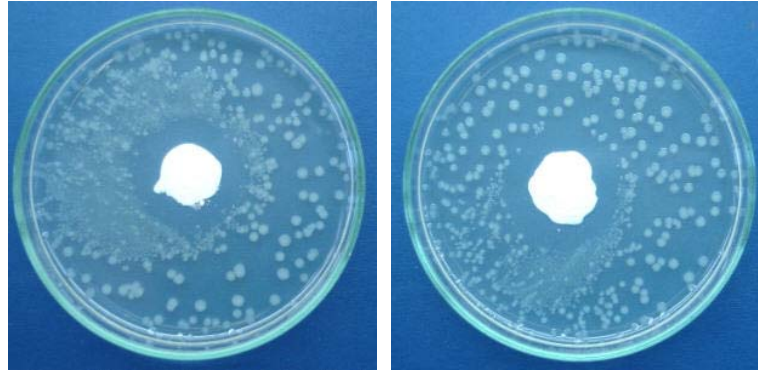
	$L^*$	$\Delta L$	$a^*$	$\Delta a^*$	$b^*$	$\Delta b^*$	$C^*$	$h$	$\Delta h$
$B^*$	93.01		-1.06		1.62		1.93	123.18	
$B_1$	93.75	0.74	-0.97	+0.09	1.39	-0.23	1.69	124.99	1.81
$B_2$	93.64	0.63	-1.05	+0.01	2.09	+0.47	2.34	111.66	-11.52
$B_3$	93.19	0.18	-1.13	-0.07	2.27	+0.65	2.54	116.56	-6.62

Tablo 6.5.’ de görüldüğü gibi beyaz renkli emayeye %1 antibakteriyel ( $B_1$ ) ajanı eklenmesi emayenin optik özellikleri üzerinde önemli herhangi bir etki yaratmamaktadır. Görsel inceleme sırasında referans emaye yüzeyleri ile  $B_1$  arasında hiçbir fark gözlemlenmedi. Ancak genel bir eğilim olarak emayedeki artan antibakteriyel içerik emaye renginde çok hafif ton farklılıkları oluştuğu ve çok hafif yüzeyini koyulaştırarak parlaklıkta hafif bir azalmaya sebep olduğu belirlendi.

Ayrıca önemli renk değişiklikleri gerçekleşmese bile antibakteriyel ajan içeriğinin artırılması ile emayenin parlak yüzeyinin matlaştığı görsel olarak gözlemlendi. Tüm bileşimsel varyasyonlarda emaye yüzeyleri üzerinde hiçbir topografik ve görsel bir bozulma gözlemlenmedi, çok az ton farkı belirlendi.

## 6.7. Optik Özelliklerin İyileştirilmesi Amacıyla kompozisyon Denemesi

ABT-05 kodlu antibakteriyel toz ile hazırlanan beyaz numunelerin renk ölçümleri sonucunda parlak yüzeyin matlaştığı ve hafifçe rengin koyulaştığı tespit edildi. Bu olumsuz etkilerin giderilmesi amacıyla farklı bir kompozisyona sahip ZAG-B-1455 kodlu çinko oksit katkılı yeni bir toz geliştirilmiştir. Bu geliştirilen toz ABT-05'e göre daha beyaz renkte ve daha yumuşak olduğundan yüzey özelliklerinde bir iyileştirme gerçekleştirildi. Yapılan test sonucunda (Şekil 6.20'da görüldüğü gibi) toz üzerinde bakteri üremezken etrafında bakterilerin ürediği görüldü. Bu sonuç bize ZAG-1455 kodlu tozun antibakteriyel etkinliğini açıkça göstermektedir.

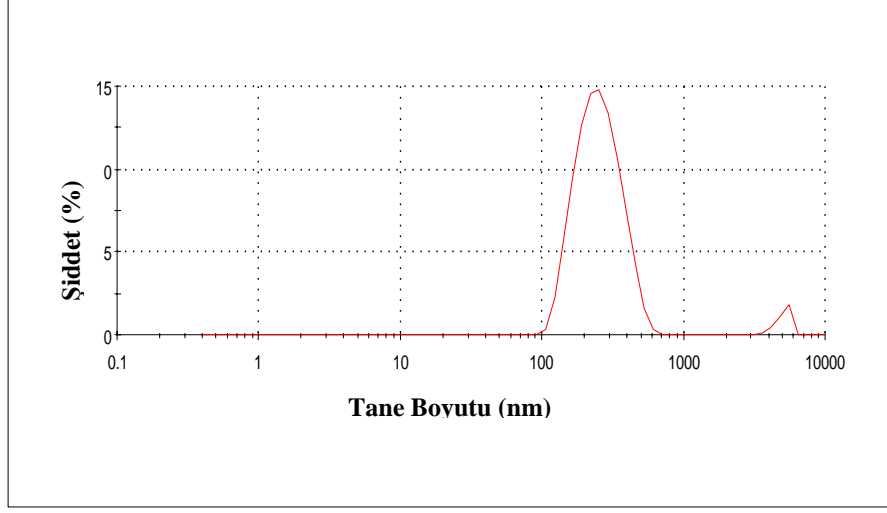


**Şekil.6.20.** ZAG-B-1455 kodlu toz için halo test methodu uygulanarak yapılmış antibakteriyel test sonuçları

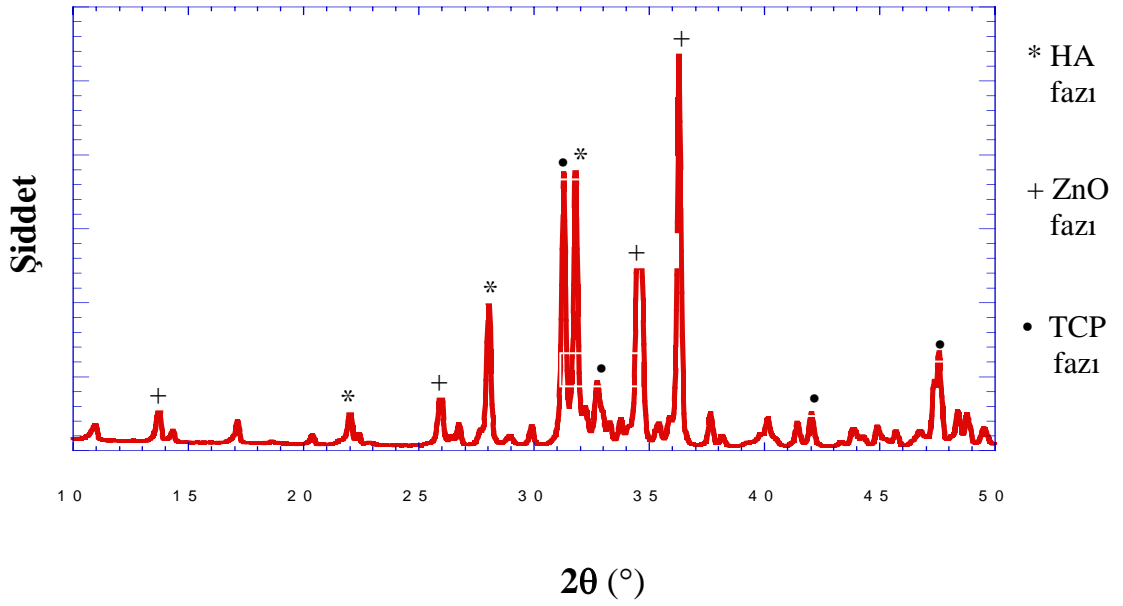
Kullanılan antibakteriyel seramik tozunun (ZAG-B-1455) partikül boyutu Malvern Mastersizer 2000 kullanılarak yapıldı. Yapılan analiz sonucunda antibakteriyel seramik tozunun ortalama tane boyutunun 250 nm (şekil 6.21) olduğu görüldü.

Yapılan XRD analizi sonucu elde edilen grafikteki piklerin JCPDS kataloğundaki verilerle karşılaştırıldı ve ZAG-B-1455 kodlu antibakteriyel tozun hidroksiapatit (HA), tri-calsiyum fosfat (TCP) ve çinko oksit fazı içerdiği şekil 6.22.'de görülmektedir.





Şekil 6.21. ZAG-B-1455 kodlu antibakteriyel toza ait tane boyut dağılım grafiği



Şekil 6.22. ZAG-B-1455 kodlu antibakteriyel tozun XRD analizi sonucu

Emaye numunelerinin yüzeyleri önce gözle incelenmiş daha sonra ise optik  $L^*a^*b^*$  değerleri bir Minolta-spektrofotometre CM-3600 kullanılarak test edilmiş ve sonuçlar tablo 6'da verildi. Sonuçlardan da anlaşıldığı gibi  $L^*a^*b^*$  değerlerinde çok az bir değişim görülmektedir. Bu değişim referans iki ayrı numune arasında da olabilen

bir değişimdir ki biz bu nokta da bu sonuçlara göre renk ve parlaklık değişimi olmamıştır diyebiliriz.

**Tablo 6.6.** Numunelerin renk parametreleri

	L*	$\Delta L$	A*	$\Delta a^*$	b*	$\Delta b^*$	C*	h	$\Delta h$
C*	93.01		-1.06		1.62		1.93	123.18	
C <sub>1</sub>	93.26	0.25	-1.07	-0.01	1.73	+0.11	1.99	114.55	-9.37
C <sub>2</sub>	93.38	0.37	-1.09	-0.03	1.83	+0.21	2.12	112.13	-11.05
C <sub>3</sub>	93.52	0.51	-1.10	-0.04	1.96	+0.33	2.26	119.48	-3.70

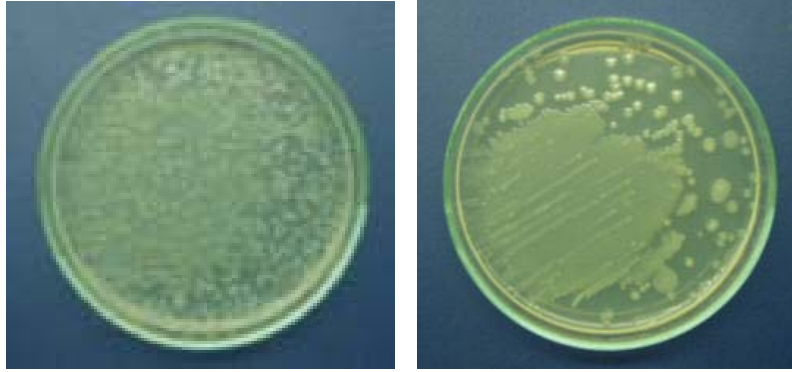
### 6.7.1. ZAG-B-1455 Kod'lu Tozun Emaye Uygulaması

Antibakteriyel toz (ZAG-B-1455) miktarı % 0.5, % 1, % 3 ve % 5 olan numuneler hazırlandı ve yapılan kontak testi sonucunda her üç oranda da antibakteriyel etkinin varlığı kanıtlandı. Şekil 6.23, 6.24, 6.25 ve 6.26'de ise bu testlere ait fotoğraflar görülmektedir.

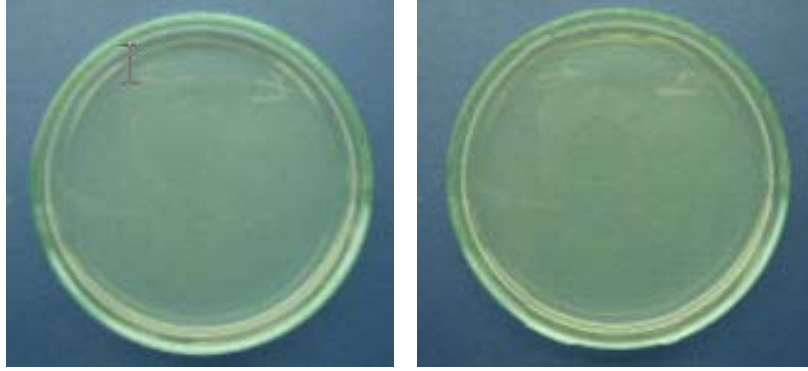
Numuneler üzerinde gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testi sonuçları Tablo 6.7'de verildi. Tablodaki değerler beş numunenin ortalamasıdır. Referans emaye numunesi hiçbir antibakteriyel aktivite ortaya koymamaktadır. Antibakteriyel ajan eklenen emaye bileşimindeki tüm bileşimler için çok yüksek (yaklaşık olarak % 99.9 oranında) antibakteriyel aktivite düzeyi gözlemlendi.

**Tablo 6.7.** Antibakteriyel aktivite test sonuçları

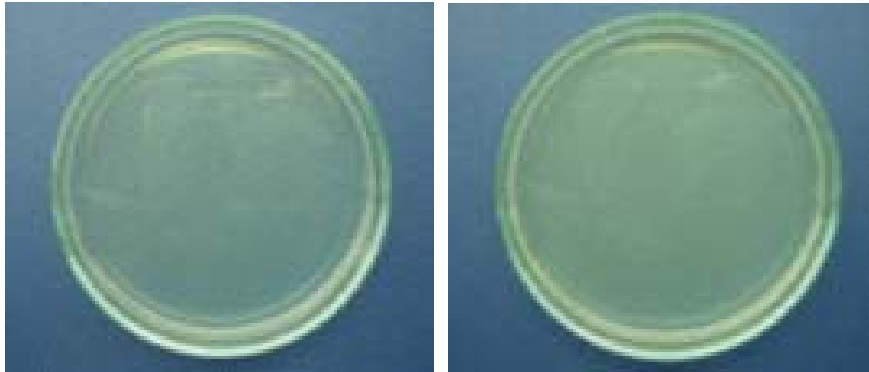
Numune	Başlangıç CFU/ml	24 saat sonra CFU/ml	Antibakteriyel Aktivite (%)
C*	$2 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	0
C <sub>1</sub>	$2 \times 10^3$	2	99.91
C <sub>2</sub>	$2 \times 10^3$	2	99.91
C <sub>3</sub>	$2 \times 10^3$	2	99.91



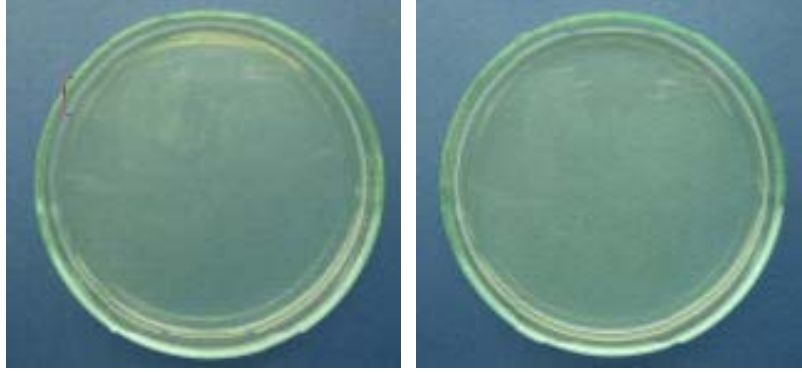
**Şekil 6.23.** 24 saat sonra referans emaye için petri kapları üzerindeki E-koli bakteri kolonileri



**Şekil 6.24.** 24 saat sonra % 3 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu



**Şekil 6.25.** 24 saat sonra % 1 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu



**Şekil 6.26.** 24 saat sonra % 0.5 toz eklenmiş emaye için petri kapları koloni oluşumu

## 7. TARTIŞMA ve ÖNERİLER

Bu çalışmada kalsiyum fosfat bazlı antibakteriyel seramik tozu yaş kimyasal metod ile sentezlenmiş ve antibakteriyel emayeler yaratmak amacıyla emaye bileşimi içine katılmıştır. Yapılan çalışmalarla metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozların antibakteriyel etkinliği standart maya ve bakterilerde yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda saptanmış ve aynı zamanda toksik etkisinin olmadığı belirlendi.

Yapılan deneylerde farklı yüzdelerde antibakteriyel toz emaye kompozisyonuna katıldı ve % 0.5 antibakteriyel toz ilavesiyle bile emayenin antibakteriyel özellik gösterdiği kanıtlandı. Çok az maliyet artışına mal olacak bu fonksiyonel malzemenin ürün özelliğini arttıracacağı ve toplum sağlığına pozitif katkıda olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] AKDUR., ÇÖL M., IŞIK A. ve ark(Eds.), *Çağdaş sağlık ve sağlık hizmetleri kavramları, bu kavramlara etki eden dinamikler*, Halk Sağlığı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 10 (1998).
- [2] Hacettepe Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Notları, Sıhhiye-Ankara, (1994-1995).
- [3] BAŞARAN, A., *Tıbbi biyoloji*, (1985).
- [4] BİLGEHAN H., *Klinik Mikrobiyoloji*, Barış Yayınları (2000).
- [5] E. Coli bakteri hücresi http-1: [http:\\ www.cellasive.com](http://www.cellasive.com)
- [6] Yaşadığımız ortamdaki bakteriler http-2: [http:\\ www.gainesvilletimes.com](http://www.gainesvilletimes.com)
- [7] Yaşadığımız ortamdaki bakteriler http-3: [http:\\ www.newsmax.com](http://www.newsmax.com)
- [8] TEMİZ A., *Genel Mikrobiyoloji Uygulama teknikleri*, (1996).
- [9] BAYRAKÇI F., *Antibakteriyel Dolgulu Kolonlarda Su Dezenfeksiyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, (2002).
- [10] GÜRGÜN, V. ve HALKMAN, A. K., *Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Cilt 7 (1997).
- [11] CLOETE T. E., *Resistance Mechanism of Bacteria to Antimicrobial Compounds*, International Biodeterioration & Biodegradation, **51(4)**, 277-282 (2003).
- [12] BROOKS G. F., BUTEL J. S., ORNSTON L. N., JAWESTZ E., MELNICK J. L. ve ADELBERG E. A., *Medical Microbiology*, USA (1991).
- [13] Çevirenler : Prof. Dr. Muvaffak AKMAN, Prof. Dr. Ekrem GÜLMEZOĞLU, *Tıbbi mikrobiyoloji*, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü (1995).
- [14] Fotokatalitik sistemler http-4: [http://www.TiO2\\_Centre\\_files\\TiO2\\_Centre.htm](http://www.TiO2_Centre_files\\TiO2_Centre.htm)
- [15] LEE H. J., YEO S. Y., JEONG S. H., *Antibacterial effect of Nanosized Silver Colloidal Solution on Textile Fabrics*, Biomaterials, **22(20)**, 2705-2712 (2001).
- [16] Fotokatalitik özellikler http-5: [http:// www.dscera.co.kr](http://www.dscera.co.kr)
- [17] MALLOY, H., *Environmentally Friendly Ceramic Tile*, Ceramic Ind, (1999).

- [18] WATONOBONE, T. ve KOJIMA, E., *Fabrication of TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Tile and Its Practical Applications*, 4 th Euro Cermics, **11**, 175-1 (2003).
- [19] HİROKAI T., KOI S., TOSHIA I. ve AKIHIKO H., *Photocatalyst and Process for the Preparation Thereof*, United State Patent , (2000).
- [20] ZHAO G. ve STEVENS S. E., *Multiple Parameters for the Comprehensive Evaluation of the Susceptible of Escherichia\_coli to the Silver Ion*, *Biometals*, **11(1)**:27-32. (1998).
- [21] KELEHER J., BASHANT J., HELDT N., JONHSON L. ve LI Y., *Photocatalytic Preparation of Silver- Coated TiO<sub>2</sub> Particiles for antibacterial Applications*, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **87(89)**, 1298 (2001).
- [22] Ag İyonları <http://www.sanitaryware.com.cn.htm>
- [23] M. KAWASHITA, S. TSUNEYAMA, F. MIYAJI, T. KOKUBO, H. KOZUKA, ve K. YAMAMATO, *Antibacterial Silver-Containing Silica Glass Prepared by Sol-Gel Method*, *Biomaterials*, 21 393-398 (2000).
- [24] DOĞAN A., KULA S. ve ÜZGÜR E., *Ag<sup>+</sup> İyonu İçeren Hidroksiapatitin Antibakteriyel Özellikleri Ve Karo Sır Bünyesinde Kullanımı*, *International Metallurgy and Materials Congress* (2000).
- [25] HENCH L.L., : LI P, ZHANG K. ve COLWELL CW, *Antimicrobial treatment of dental osseous defects with silver doped bioglass: Osteoblast cell response*, 17th international symposium on ceramics in medicine, New Orleans, LA, 8 - 12, Zurich-Uetikon, Trans Tech Publications Ltd, 2005, Pages: 435 - 438, ISBN: 0-8784-9961-X (2004).
- [26] TOPRAKKAYA D., ORHAN M. ve GÜNEŞOĞLU C., *Tekstillerde Hijyen Uygulamaları*, 3. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongresi, Samsun (2003).
- [27] Antibakteriyel sırlı geleneksel vitrifiye ürünü <http://www.R-STAT. antistatic fibres>
- [28] Antibakteriyel fiber <http://www.sanitaryware/TILE/Ceramic Floors with Microban® Antibacterial Protection.htm>
- [29] Dokunmatik ekranların antibakteriyel uygulamaları <http://www.microtouch.com>

- [30] KARTAL A., *Sır ve Sırlama Tekniği*, izgi Matbaacılık, Ankara (1998).
- [31] GÜNBEY U., *Metal Yüzeyinin Emaye Uygulamalarına Etkisi*, Bitirme Tezi, Anadolu.Üniversitesi, Seramik Mühendisliği Bölümü, Türkiye, Eskişehir (2000).