



## Interaction of anodized Ti6Al7Nb with simulated body fluid

Merve İzmir<sup>1</sup>, Yiğithan Tufan<sup>1</sup>, Batur Ercan<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Metallurgical and Materials Engineering, Middle East Technical University, Ankara, 06800, Turkey

<sup>2</sup>Department of Biomedical Engineering, Middle East Technical University, Ankara, 06800, Turkey

### Highlights:

- Anodization of Ti6Al7Nb alloy to fabricate nanotubular surface features with tailored diameters.
- Characterizations of both anodized Ti6Al7Nb surfaces with nanotubular features and interaction of them with simulated body fluid.

### Keywords:

- Anodization
- Ti6Al7Nb alloy
- Nanotubular structure
- Simulated body fluid

### Article Info:

Research Article

Received: 21.07.2017

Accepted: 27.12.2017

### DOI:

10.17341/gazimmfd.416510

### Acknowledgement:

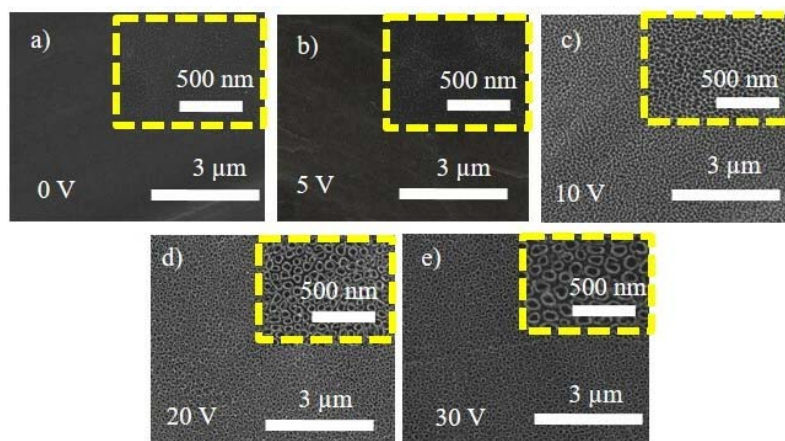
This work was financially supported by METU Research Funds (Grant No. BAP-08-11-2017-019). FTIR measurements were done at METU Central Laboratory. The authors also thank Serkan Yılmaz for SEM and TEM images.

### Correspondence:

Author: Batur Ercan  
e-mail: baercan@metu.edu.tr  
phone: +90 312 210-2513

### Graphical/Tabular Abstract

In this study, modification of Ti6Al7Nb alloy surfaces was investigated using anodization for orthopedic applications. Anodization parameters were optimized to obtain nanotubular surface features with varying tubular diameters. These anodized samples were soaked in simulated body fluid for 30 days. Anodized Ti6Al7Nb samples having 140 nm stimulated more calcium phosphate mineral deposition compared to samples having 25 nm nanotubular diameter and non-anodized Ti6Al7Nb samples. Thus, anodization of Ti6Al7Nb alloy to obtain nanotubular features is a promising process for orthopedic implant fabrication.



**Figure A.** SEM images of a) Ti6Al7Nb-HT b) Anod. 25-HT c) Anod. 50-HT d) Anod. 80-HT and e) Anod. 140-HT samples.

**Purpose:** The purpose of this research is to investigate and characterize anodized nanotubular surfaces with different diameters and the interaction of these surfaces with simulated body fluid.

**Theory and Methods:** In this research, anodization was used to modify the surfaces Ti6Al7Nb alloy. 1.4M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> and 0.0115M HF was used as the electrolyte solution. During the anodization process, the applied voltage was altered between 5V and 30V. Anodized samples were heat treated at 600 °C for 1 hour. To assess calcium phosphate mineral deposition, samples were soak in simulated body fluid up to 30 days.

**Results:** Nanotubular surface features having 25, 50, 80 and 140 nm diameters were obtained by anodizing Ti6Al7Nb alloy in 1.4M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + 0.0115M HF electrolyte solution for 1 minute via altering the applied voltage from 5 V to 30 V. The anodized samples were kept in the simulated body fluid for 30 days. SEM and EDS analysis confirmed presence of calcium phosphate precipitates on the surfaces. Phosphates (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) and carbonate (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) groups on the surface were confirmed via FTIR analysis. The results showed highest calcium phosphate mineral formation on anodized Ti6Al7Nb specimens having 140 nm diameter.

**Conclusion:** In this study, formation of nanotubular structures having different diameters were investigated for the Ti6Al7Nb alloy. These results supported that anodized Ti6Al7Nb can be good candidate for orthopedic applications.



## Anodize Ti6Al7Nb'un simüle edilmiş vücut sıvısı ile etkileşimi

Merve İzmir<sup>1</sup>, Yiğithan Tufan<sup>1</sup>, Batur Ercan<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Ankara, 06800, Türkiye

<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, 06800, Türkiye

### Ö N E Ç İ K A N L A R

- Anodizasyon yöntemi kullanılarak Ti6Al7Nb alaşım yüzeylerinin farklı çaplara sahip nanotübüler yapılar elde edecek şekilde modifiye edilmesi
- Elde edilen nanotübüler yapıyı yüzeylerin karakterizasyonu
- Farklı çaplarda üretilen nanotübüler yapıyı oksit yüzeylerin simüle edilmiş vücut sıvısı ile etkileşimi

### Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi

Geliş: 21.07.2017

Kabul: 27.12.2017

### DOI:

10.17341/gazimmfd.416510

### Anahtar Kelimeler:

Anodizasyon,  
Ti6Al7Nb alaşımı,  
nanotübüler yapı,  
simüle edilmiş vücut sıvısı

### ÖZET

Bu çalışmada, Ti6Al7Nb alaşım yüzeylerinin ortopedi uygulamaları için anodizasyon yöntemi kullanılarak modifiye edilmesi incelenmektedir. Uygulanan anodizasyon parametrelerinin değiştirilmesiyle, Ti6Al7Nb alaşımı üzerinde çapları 25 nm ile 140 nm arasında kontrol edilebilen tübüler yapılardan oluşan oksit bazlı bir tabaka elde edilmiştir. Üretilen nanotübüler yapıyı Ti6Al7Nb alaşımını simüle edilmiş vücut sıvısı içerisinde 30 gün bekletilerek yüzeylerinde kalsiyum fosfat minerali oluşumu gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, 140 nm çaplı anodize Ti6Al7Nb numunelerin biyoaktivitelerinin 25 nm çaplı nanotübüler numunelere ve anodize olmayan Ti6Al7Nb numunelere kıyasla arttığını belirtmekte ve bu sebepten anodize Ti6Al7Nb'nin ortopedi alanında kullanımı için ümit vadeden bir malzeme olduğunu göstermektedir.

## Interaction of anodized Ti6Al7Nb with simulated body fluid

### H I G H L I G H T S

- Surface modification of Ti6Al7Nb alloy via anodization to fabricate nanotubular surface features with varying diameters
- Characterizations of the anodized Ti6Al7Nb surfaces with nanotubular features
- Interaction of the oxide based nanotubular structures fabricated to have varying diameters with simulated body fluid

### Article Info

Research Article

Received: 21.07.2017

Accepted: 27.12.2017

### DOI:

10.17341/gazimmfd.416510

### Keywords:

Anodization,  
Ti6Al7Nb alloy,  
nanotubular structure,  
simulated body fluid

### ABSTRACT

The present work investigates modification of Ti6Al7Nb alloy surfaces using anodization for orthopedic applications. By optimizing the anodization parameters, nanotubular oxide layers with tubular diameters tailored between 25 nm to 140 nm was fabricated on Ti6Al7Nb alloy surfaces. When Ti6Al7Nb samples possessing nanotubular surface features were immersed in simulated body fluid for 30 days, calcium phosphate mineral formation was observed on these surfaces. Results showed that anodized Ti6Al7Nb samples with 140 nm diameter had a higher bioactivity compared to samples with 25 nm nanotubular diameter and non-anodized Ti6Al7Nb samples, and thus anodized Ti6Al7Nb is a promising candidate for orthopedic applications.

## 1.GİRİŞ (INTRODUCTION)

Titanyum ve alaşımları günümüzde ortopedi alanında en yaygın kullanılan implant malzemeleridir. Titanyum yüksek korozyon direncine ve biyoyumlu yapıya sahip olmasına rağmen, mekanik özelliklerinin zayıf olması yük taşıyan ortopedi uygulamalarında istenilen sonuçların alınmamasını beraberinde getirmektedir. Bu nedenle titanyum metali içerisine çeşitli elementler konularak farklı alaşımların üretilmesi yoluna gidilmiştir [1]. Her ne kadar geliştirilen alaşımlar sayesinde mekanik özelliklerin iyileştirilmesinde başarılı sonuçlar elde edilmiş olursa bile, kullanılan elementler ve onların biyolojik özellikleri sebebiyle farklı sorunları beraberinde getirmektedir. Örneğin, titanyum alaşımları arasında en çok kullanılan Ti6Al4V, havacılık sektörü için geliştirilmiş olup insan vücudunda kullanım için optimize edilmemiştir ve alaşım içerisinde yer alan vanadyumun, civa ve kadmiyum ile birlikte en sitotoksik metaller arasında yer almaktadır [2]. Bu sebepten, Ti6Al4V alaşımının biyoyumluluğunu artırmak amacıyla, Ti6Al4V alaşımı içerisine vanadyum elementi yerine toksik etki göstermeyip yine  $\beta$  fazını stabilize eden niyobyum elementi konularak, hem ortopedi uygulamalarında daha biyoyumlu özellik gösteren Ti6Al7Nb alaşımı üretilmiş [3], hem de  $\beta$  fazının stabilize olması sayesinde titanyum alaşımının esneklik katsayısının artışı engellenmiştir [4].

Titanyum alaşımlarının geliştirilmesinde çoğu zaman mekanik özelliklerin iyileştirilmesi kistas olarak alınmasına rağmen, günümüzde kullanılan ortopedik implantların başarısız olmalarının önde gelen sebeplerinden bir tanesi de kemik doku ile istenilen ölçüde yapısal ve fonksiyonel bağ kurulamamasıdır (osseointegrasyon yetersizliği). Osseointegrasyon, implantın kemiğe daha sağlam ve güvenilir bir şekilde entegre olmasıyla, implantın yerinden oynaması durumunda meydana gelecek sıkıntıları önleyerek zaman içerisinde gözlemlenen başarısızlık oranını azaltmaktadır [5]. İmplantın kemik dokuya osseointegrasyonunu artırmanın yolu, yüzeyin biyoaktivitesini artırarak daha fazla kemik hücresi yapışmasını ve yapışan kemik hücrelerinin hücre fonksiyonlarının artırılmasını sağlamaktır. Ancak ortopedi uygulamalarında kullanılan, Ti6Al7Nb da dahil olmak üzere hiçbir titanyum alaşımının istenilen derecede biyoaktif özellik gösterememesi, implantın osseointegrasyonunu kısıtlamaktadır. Bu sebepten araştırmacılar sol-jel, kimyasal buhar biriktirme (CVD), fiziksel buhar biriktirme (PVD), biyokimyasal, elektrokimyasal ve fiziksel kaplama, vb. yöntemler kullanarak titanyum alaşım yüzeylerinin biyoaktivitesini artırmaya yönelik çeşitli yüzey modifikasyonları üzerine yoğunlaşmaktadır [6]. Kullanılan yüzey modifikasyon teknikleri arasında elektrokimyasal yüzey modifikasyonları, uygulama kolaylığı ve düşük maliyeti sayesinde diğer tekniklere kıyasla daha cazip görünmektedir. Örneğin, Kazek-Kesik vd. tarafından yapılan çalışmada, plazma elektrolitik oksidasyon metodu ile Ti6Al7Nb alaşımı yüzeyinde kalsiyum ve fosfor bileşikleri

içeren gözenekli yapıya sahip oksit tabakası oluşturmuş, oluşan bu yüzeyin biyoaktif özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir [7]. Born vd. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise Ti6Al7Nb alaşımı üzerinde, elektrokimyasal polarizasyon yöntemi ile farklı kalınlıklarda oksit tabakaları oluşturularak bu tabakaların biyoaktiviteleri test edilmiştir [8].

Yüzey modifikasyon teknikleri arasında son 10 yılda anodizasyon yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalar öne çıkmaktadır. Anodizasyon, malzeme yüzeyinin bir elektrolit içerisinde oksitlenerek pasive edildiği elektrokimyasal bir yüzey modifikasyon tekniğidir. Anodizasyon için kullanılan katot malzemesi reaksiyona girmeyen soy metallerden seçilirken, anodizasyonu yapılan metal anoda bağlanmakta; elektrolit olarak kullanılan çözeltide elektrik akımının geçişine uygun özellik taşımaktadır. Proses sırasında anot ve katot arasına doğru akım uygulanması suretiyle anot yüzeyinde oksidasyon, katot yüzeyinde de indirgeme reaksiyonu gerçekleştirilmektedir. Anodizasyon sırasında kullanılan elektrolit cinsi, konsantrasyonu, pH'ı, sıcaklığı, karıştırma hızı, uygulanan gerilim, süre, vb. parametreleri değiştirilerek anodize edilen yüzeyin morfolojisinde değişikliklere gidilebilir. Örneğin, anodizasyon yöntemi kullanılarak titanyum alaşımlarının yüzeylerinde oksit bazlı nanotübüler yapıların üretilmesi mümkündür [9]. Anodizasyon yönteminin en önemli avantajı yüzey morfolojilerinin ve büyüklüklerinin nanoboyutta kontrol edebilmesine olanak sağlamasıdır.

Biyomalzeme yüzeylerinde nanotopografi oluşturulmasının sebebi, kemiğin nano boyutlara sahip yapılardan oluşmasıdır. Kemiğin inorganik kısmının yapısının 1-7 nm eninde ve 10-80 nm boyunda hidroksiapatit taneçiklerden oluştuğu düşünüldüğünde, implant yüzeylerinde biyobenzer özellikler taşıyan nanoboyutta bir topografi oluşturulmasının hücre fonksiyonlarını destekleyeceği öngörülmektedir [10]. Örneğin, anodize titanyum numunelerin yüzeyinde oluşan topografilerin kemik hücreleri ile etkileşimleri sonucunda, kemik hücrelerinin anodize yüzeylere daha fazla yapışıp daha hızlı büyüdükleri belirlenmiştir [11]. Ayrıca, anodize edilmiş Ti6Al4V alaşımının kemik hücresi fonksiyonlarını (örneğin, alkali fosfataz aktivitesi ve kalsiyum içeren mineral sentezi) artırdığına dair çalışmalar mevcuttur [12].

Anodizasyon işlemi çeşitli titanyum alaşımları üzerinde detaylıca araştırılmakla birlikte ortopedi uygulamalarında yaygın olarak kullanılan Ti6Al7Nb alaşımının anodizasyonunu inceleyen çalışma sayısı kısıtlıdır olup anodizasyon sonucunda elde edilen yüzeylerin biyoaktiviteleri araştırılmamıştır. Bu sebepten, mevcut çalışmada Ti6Al7Nb alaşımının biyoaktivitesini artırmak amacıyla anodizasyon tekniği kullanılarak yüzeyde farklı çaplara sahip nanotübüler morfolojide oksit bazlı yapılar üretilmiştir. Farklı boyutlarda üretilen nanotübüler oksit yapılar simüle edilmiş vücut sıvısı ile etkileştirilerek biyoaktiviteleri test edilmiş, ortopedi uygulamaları için uygunluğu araştırılmıştır.

## 2. DENEYSEL METOT (EXPERIMENTAL METHOD)

### 2.1. Malzeme Hazırlama Teknikleri (Specimen Preparation Techniques)

18 mm çapındaki Ti6Al7Nb çubuk, (ASTM F1295 ISO 5832-11) hassas kesici (Buehler, Linear Precision Saw) kullanılarak 1 mm kalınlığında kesilmiş; kesilen parçalar sırasıyla aseton, etanol (96% Pur. Gr.) ve ultra saf su ile her biri 20'şer dakika olacak şekilde sonike edilerek temizlenmiştir. Temizlenen Ti6Al7Nb numuneler Şekil 1'de gösterilen düzenek kullanılarak anodize edilmiştir. Bu düzenekte platin örgü katot olarak, temizlenen Ti6Al7Nb numuneler ise anot olarak kullanılmıştır. Kullanılan platin örgü ve Ti6Al7Nb numuneler doğru akım (DC) güç kaynağına (TDK-Lambda Genesys 300V/5A) bakır teller aracılığıyla bağlanmış, elektrolit çözeltisi olarak da 1,4M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ve 0,0115M HF karışımı kullanılmıştır. Anodizasyon işlemi esnasında elektrolit çözeltisi manyetik olarak karıştırılmış ve uygulanan gerilim 5V ile 30V aralığında değiştirilmiştir. Anodize edilen numuneler ultra saf su ile yıkanıp oda sıcaklığında kurutulmuş ve 1 saat boyunca 600° de ısıtılma tabi tutulmuştur. Bu çalışmada, ısıtılma tabi tutulan numuneler HT olarak ifade edilmiştir. Anod. 25, 25 nm çaplı, Anod. 50, 50 nm çaplı, Anod. 80, 80 nm çaplı ve Anod. 140, 140 nm çaplı anodize edilen nanotübüler yapıları numuneleri belirtmektedir.

### 2.2. Simüle Edilmiş Vücut Sıvısı Hazırlanması (Preparation of Simulated Body Fluid)

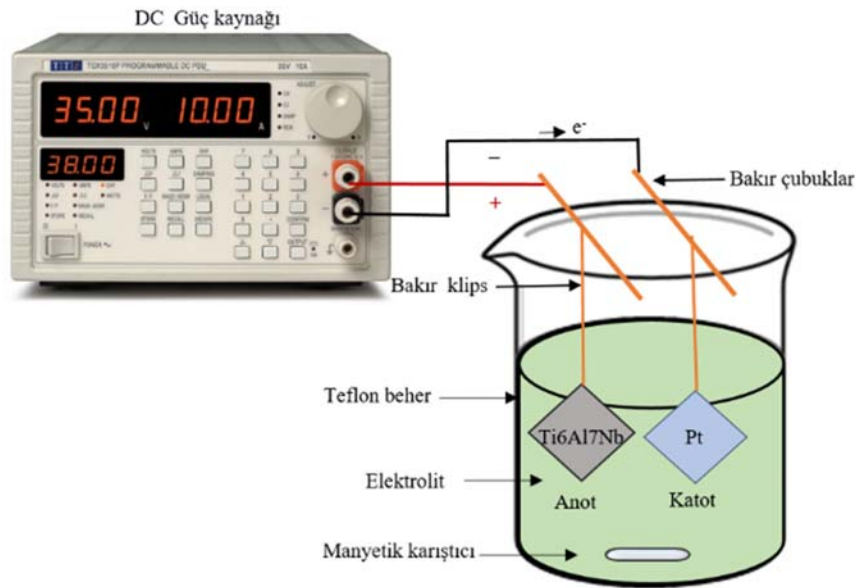
Anodize edilen Ti6Al7Nb numuneler hazırlanışı Kokubo ve Takadama tarafından optimize edilen simüle edilmiş vücut sıvısı ile etkileştirilmiştir [13]. Vücut sıvısı ultrasaf su içerisine sırası ile 8,035 g NaCl, 0,355 g NaHCO<sub>3</sub>, 0,225 g KCl, 0,231 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. 3H<sub>2</sub>O, 0,311 g MgCl<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O, 0,292 g

CaCl<sub>2</sub> ve 0,072 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bileşiklerinin karıştırılması ve ardından pH'nın 7.40'da dengelenmesi amacıyla 45mM tris-tampon çözeltisi ((CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>) ve uygun miktarda HCl'nin eklenmesi ile 37°C'de hazırlanmıştır. Numuneler hazırlanan simüle edilmiş vücut sıvısı içerisinde 30 güne kadar bekletilmiştir [14]. 30 gün sonunda sıvıdan nazik bir şekilde çıkarılan numuneler, deiyonize su ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur.

### 2.3. Yüzey Karakterizasyonu (Surface Characterization)

Nanotübüler oksit yapının Ti6Al7Nb alaşım yüzeylerinde oluşup oluşmadığını kontrol etmek ve oluşuyorsa elde edilen yüzey morfolojisini görüntülemek amacıyla numuneler taramalı elektron mikroskobu (FESEM FEI NOVA NANO 430) kullanılarak karakterize edilmiştir. SEM karakterizasyon çalışmalarında yüzeyleri görüntülemek için 20 kV hızlandırıcı gerilim kullanılmıştır. Ti6Al7Nb numuneler üzerinde üretilen nanotübüler yüzeylerin iç yapıları, iç ve dış yüzey morfolojileri ve uzunlukları geçirimsiz elektron mikroskobunda (TEM, JEOL JEM 2100F) 200 kV hızlandırıcı gerilim ve 14,2° yakınsama açısı kullanılarak karakterize edilmiştir. Yüzey kimyasal analizleri, enerji dağılım spektrometresi (EDAX-AMETEK) kullanılarak incelenmiş, yüzeylerdeki fonksiyonel grupların ve moleküler yapıların belirlenmesi için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Perkin Elmer 400) kullanılmıştır. Yüzey mid-IR (4000-500 cm<sup>-1</sup>) aralığında taranmış ve yüzeylerdeki OH<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> bantları karakterize edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda istatistiksel karşılaştırmalar Student's t-test kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bütün deneyler 3'er defa tekrar edilmiş, nanotübüler yapıların çapları hesaplanırken 20 farklı bölgeden hesaplama yapılmış, FTIR analizleri ise 16'şar defa tekrarlanmıştır.



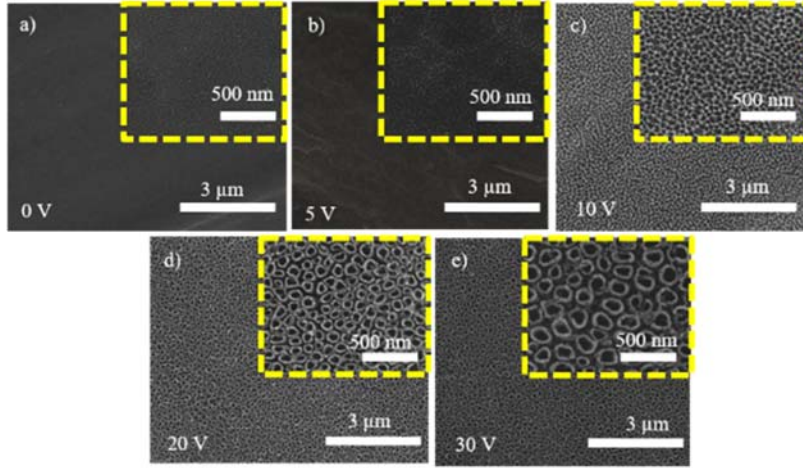
Şekil 1. Ti6Al7Nb numuneleri anodize etmek için kullanılan düzenek. (Set-up used for anodization of Ti6Al7Nb samples)



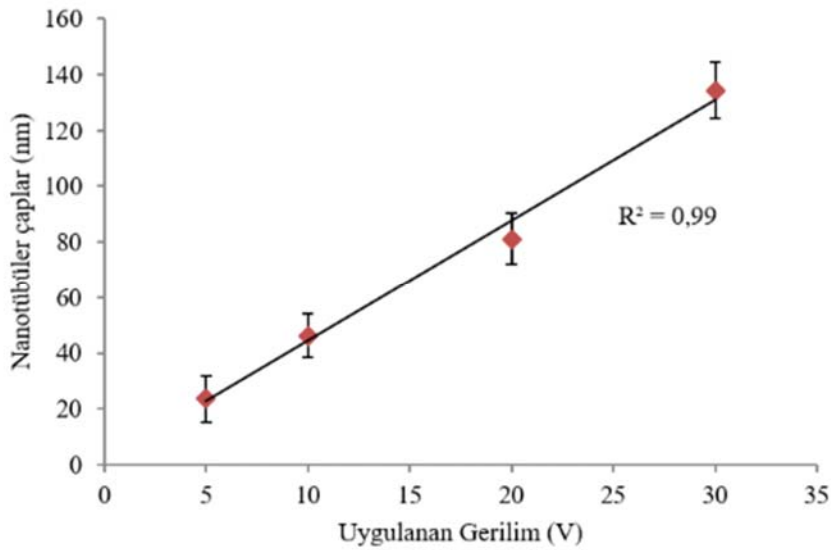
### 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR (RESULTS AND DISCUSSION)

Anodize edilen Ti6Al7Nb numuneler incelendiğinde, numunelerin yüzeylerinde nanotübüler yapıların elde edildiği belirlenmektedir. Anodizasyon sırasında uygulanan gerilimin değiştirilmesiyle birlikte oluşan nanotübüler yapıların çaplarının 25 nm'den 140 nm'ye kadar kontrollü olarak değiştirilebildiği gösterilmektedir (Şekil 2). Anodizasyon işlemi öncesinde Ti6Al7Nb-HT numuneleri Şekil 2a'da gösterilmektedir. Anodizasyon işlemi Ti6Al7Nb numunelere 5V uygulanarak gerçekleştirildiğinde numune yüzeylerinde tübüler yapıların oluşmaya başladığı belirlenmiş (Şekil 2b), gerilim 10V, 20 V ve 30V'a yükseltildiğinde oluşan tübüler yapıların çaplarında belirgin bir artış görülmüştür (Şekil 2c, 2d ve 2e). Anodizasyon sonucu elde edilen bulgular literatürle benzerlik göstermiş;

farklı titanyum alaşımlarında da gözlemlendiği gibi, anodize edilen yüzeyde oluşan nanotübüler yapıların çaplarının kontrollü bir şekilde değişmesinin, anodizasyon sırasında uygulanan gerilime bağlı olduğu belirlenmiştir [15]. Bu çalışmada, uygulanan gerilimin artmasıyla, nanotübüler yapıların çaplarının arttığı gözlemlenmektedir (Şekil 3). Ancak bu artışın bir üst sınırı olduğu da belirlenmiş, mevcut elektrolit ve elektrokimyasal parametreler kullanılarak 35V ve üzerinde uygulanan gerilimlerde Ti6Al7Nb numunelerin yüzeylerinde nanotübüler yapıların bozulmaya uğradığı tübüler yapılarda çatlaklar oluştuğu ve tübüler morfolojinin kaybolmaya başladığı saptanmıştır (nanotübüler morfoloji kaybolmaya başladığı için bu veri gösterilmemektedir). TEM ile gerçekleştirilen karakterizasyon çalışmalarında anodizasyon sonucunda elde edilen yüzeylerde nanotübüler yapıların oluştuğu doğrulanmış, Şekil 4'de 20V uygulanarak üretilen nanotübüler yapıların 80 nm çapında ve yaklaşık



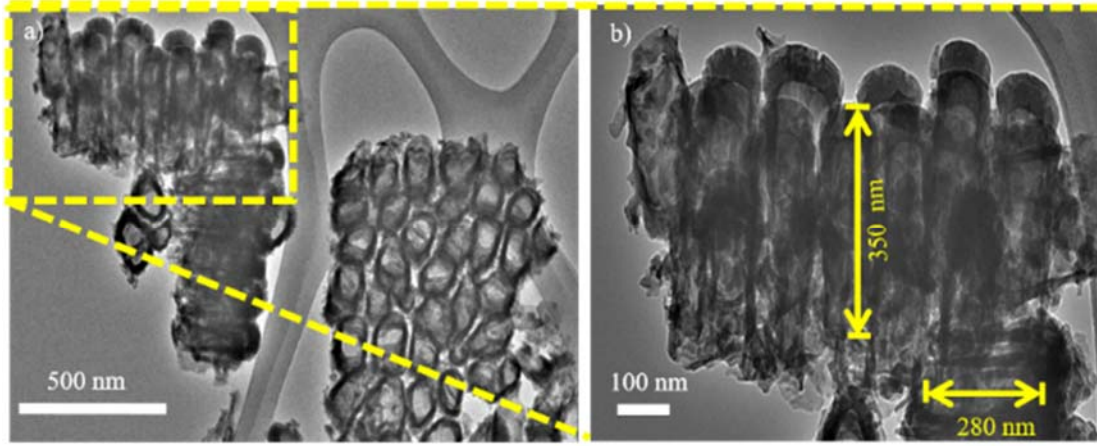
**Şekil 2.** a) Ti6Al7Nb-HT b) Anod. 25-HT c) Anod. 50-HT d) Anod. 80-HT ve e) Anod. 140-HT numunelerinin SEM görüntüleri. (SEM images of a) Ti6Al7Nb-HT b) Anod. 25-HT c) Anod. 50-HT d) Anod. 80-HT ve e) Anod. 140-HT samples).



**Şekil 3.** Nanotübüler çapların uygulanan gerilim ile değişimi.  
(Change of nanotubular diameters on Ti6Al7Nb samples with applied voltage).

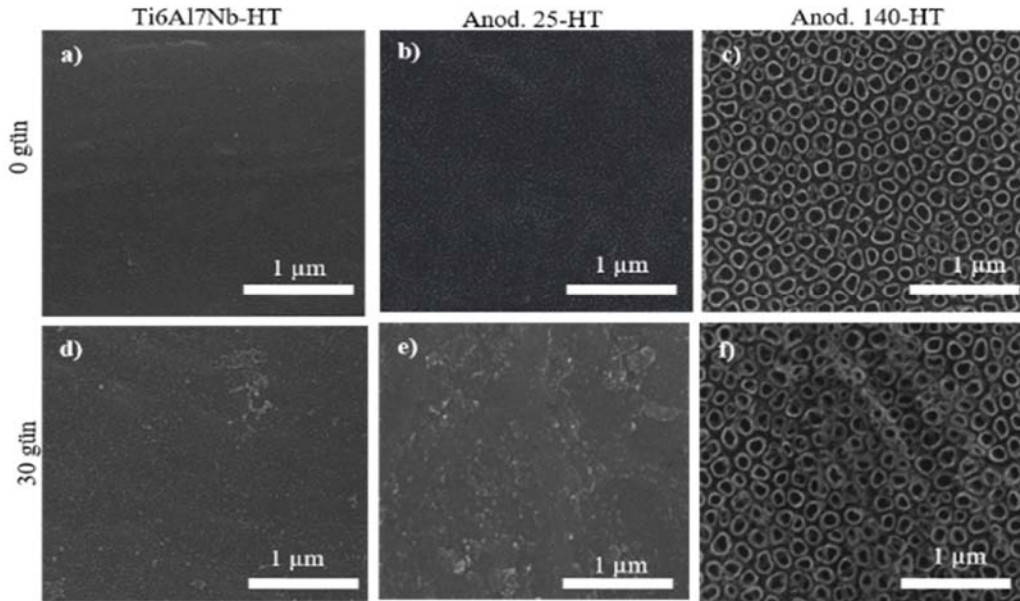
olarak 280-350 nm boyunda oldukları gösterilmiştir. Elde edilen yapıların uzunluk oranları yaklaşık olarak 3,5 ile 4,5 arasında değişmekte olup bu oran anodizasyon süresi ile birlikte nanotübül yapıların oluşum aşamasında ilk olarak artmakta (tüp oluşumu evresi), anodizasyon süreleri ilerledikçe, nanotübül yapıların asit ortamında zamanla yok olması sebebiyle uzunluk oranları azalmaktadır. HF içeren elektrolit çözeltilerinde kimyasal çözünmenin oksit tabakanın oluşumundan daha hızlı oluşması, nanotübül yapıların uzunluklarını azalttığı Oh *vd.* tarafından anodize titanyum metali için belirlenmiştir [16]. Bununla birlikte farklı gerilimlerde elde edilen nanotübül yapıların uzunluk oranlarının (diğer tüm anodizasyon parametreleri sabit tutulmak koşuluyla) farklı olduğu gözlemlenmiştir. Araştırma grubumuz nanotübül yapıların oluşum kinetiği

üzerine daha derin çalışmalar yapmakta; nanotübül yapıların büyümeleri için gereken itici gücün gerilim olmasının, gerilimdeki değişimin (bu zaten çapları da değiştirmektedir) uzunluk oranlarındaki değişimi de beraberinde getirdiğini düşündürmektedir. Farklı çaplarda üretilen nanotübül yapıları Ti6Al7Nb alaşımları simüle edilmiş vücut sıvısı içerisinde 30 gün boyunca bekletilerek yüzeylerin biyoaktivitesi incelenmiştir. SEM karakterizasyonlarında simüle edilmiş sıvı içerisinde bekletilen Ti6Al7Nb-HT, Anod. 25-HT ve Anod. 140-HT numune yüzeyleri arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Anod. 25-HT numunesinde anodizasyon sonucu oluşan nanotübül yapıların simüle edilmiş vücut sıvısından gerçekleşen kalsiyum fosfat çökmesi sonucu tamamıyla kaplandığı (Şekil 5b ve 5e), Ti6Al7Nb-HT (Şekil 5a ve 5d)



Şekil 4. 20V gerilim uygulanarak anodize edilen Ti6Al7Nb yüzey üzerinde oluşan oksit tabakanın a) düşük ve b) yüksek büyütmedeki TEM görüntüleri.

(a) Lower and b) higher magnification TEM images of the oxide layer formed on Ti6Al7Nb anodized at 20V.



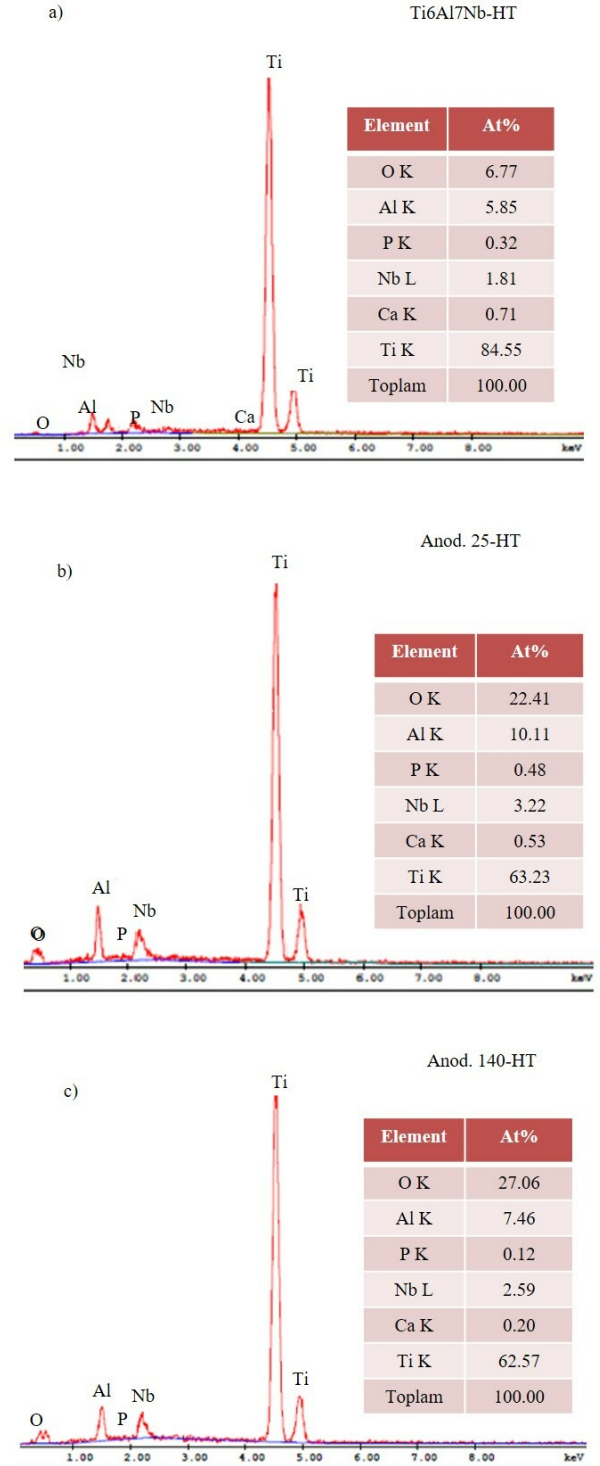
Şekil 5. Ti6Al7Nb alaşımının a) b) ve c) simüle edilmiş vücut sıvısı ile etkileşimi öncesi ve d) e) ve f) 30 gün etkileşim sonrası SEM görüntüleri (SEM images of Ti6Al7Nb alloys a) b) and c) before and d) e) and f) after 30-days exposure to simulated body fluid).

ve Anod. 140-HT (Şekil 5c ve 5f) numunelerinde ise yüzeyler üzerinde kalsiyum fosfat oluşumu gerçekleşirken yüzey morfolojisinin korunduğu belirlenmiştir. Ti6Al7Nb-HT numune yüzeyine çökelen kalsiyum fosfatın az olmasının titanyum alaşımlarının biyoaktivitelerinin istenilen seviyede olmaması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. 140 nm çaplı nanotübüler yüzeylerin tam olarak kaplanmamasının çökelen kalsiyum fosfat kristallerinin büyüklüklerinin nanotübüler yapıların çaplarından küçük olup tübüler yapıların yüzeylerini tam olarak kaplayamamasıyla ilişkili olduğu (bir miktar kalsiyum fosfatın tübüler yapıların içerisine çökeldiği); bunun aksine nanotübüler çapın 25nm olduğu numunelerde çökelen kalsiyum fosfatın boyutlarının alttaki tübüler yüzeyi tamamen örtmeye yeterli olması sebebiyle yüzeyin görünmediği tahmin edilmektedir. Şekil 6'da Ti6Al7Nb alaşımlarının simüle edilmiş vücut sıvısı ile 30 gün etkileştirildikten sonraki EDS sonuçları gösterilmektedir. Ti6Al7Nb-HT, Anod. 25-HT ve Anod. 140-HT Ti6Al7Nb alaşımlarının her birinden alınan EDS spektrumlarında kalsiyum ve fosfat piklerine rastlanmaktadır. Bu piklerin bulunması, her üç numunenin de simüle edilmiş vücut sıvısından kalsiyum fosfat bazlı yapıların çökmesine olanak sağladığını doğrulamaktadır (Şekil 6a-c).

Şekil 7'de Ti6Al7Nb-HT, Anod. 25-HT ve Anod. 140-HT numunelerine ait FTIR sonuçları verilmektedir. FTIR ölçümleri sonucunda, Ti6Al7Nb-HT numunesinde  $813,03 \text{ cm}^{-1}$  bandında yer alan pikin Ti-O-Ti bağına karşılık geldiği ve  $1198,42 \text{ cm}^{-1}$  bandında yer alan pikin de P-O bağına ait olduğu belirlenmiştir [17]. Anod. 25-HT numunesinde  $667,40$  ve  $817,75 \text{ cm}^{-1}$  bantlarındaki piklerin Ti-O-Ti bağlarına karşılık geldiği görülmüştür [18]. Anod. 25-HT numunesinde  $1593,85$  ve  $1281,44 \text{ cm}^{-1}$  bantlarında yer alan piklerin ve Anod. 140-HT numunesinde de  $1465,07$  ve  $1367 \text{ cm}^{-1}$  bantlarında yer alan piklerin de karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) grubuna ait olduğu tespit edilmiştir [19]. Ek olarak, Anod. 140-HT numunesinde fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) grubuna özgü olan ve P-O bağına karşılık gelen pikler  $1160,33$  ve  $584,81 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülmektedir [20]. Anod. 140-HT numunesinde  $1743,27 \text{ cm}^{-1}$  bandında görünen OH<sup>-</sup> grubuna ait olan pik ise adsorbe olan suyu işaret etmektedir [21]. Anod. 140-HT numunesinde Ti-O-Ti bağ pikinin kaybolmuş olup, ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) ve ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) piklerinin daha belirgin şekilde ortaya çıkması, Anod. 140-HT yüzeyinde Anod. 25-HT ve Ti6Al7Nb-HT numunelerine göre daha fazla kaplama oluştuğunu göstermektedir.

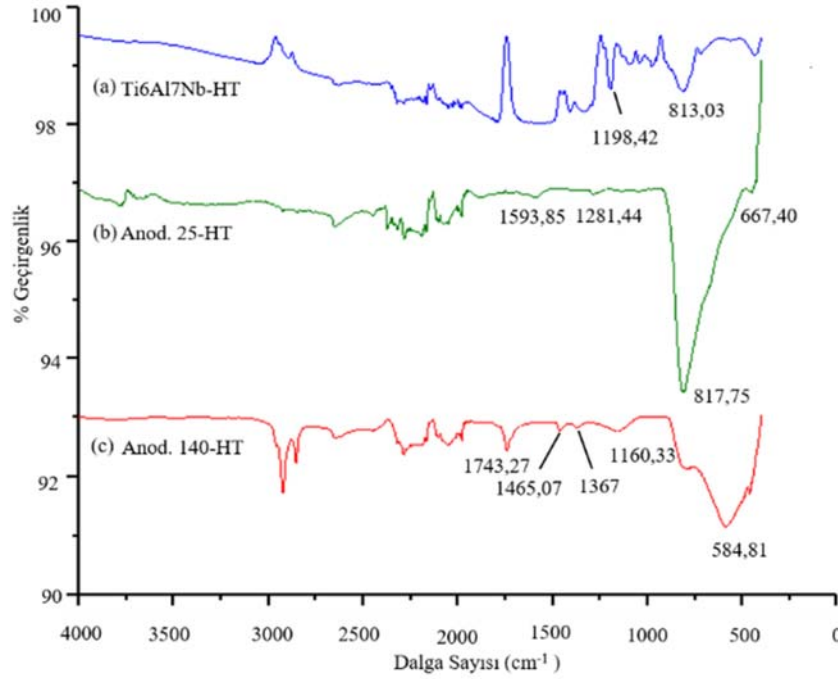
Dikkat edilmesi gereken bir nokta SBF'den biyomalzeme yüzeyine kalsiyum fosfat çökmesinin çekirdeklenme ve sonrasında büyüme ile gerçekleşen kinetik bir süreç olup, yüzey topografisi, yüzey alanı, yüzeyin elektriksel yükü ve yüzey kimyası gibi anodizasyon sonucu farklılaşan yüzey özelliklerinden etkilenmektedir. Vücut içerisine yerleştirilen implant yüzeyinde kemik oluşumu, kemik hücrelerinin yüzeye yapışıp hücre fonksiyonlarını yerine getirmesi ve kalsiyum fosfat içeren mineral sentezlemesi yöntemi ile gerçekleşmektedir. Bu sebepten biyoaktivitenin daha net bir şekilde olarak değerlendirilebilmesi için bu çalışmada

SBF'den çöktürme yöntemi ile elde edilen biyoaktivite bulgularının ileride kemik hücreleri ile yapılacak *in vitro* deneylerle desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 6. Simüle edilmiş vücut sıvısı ile 30 gün etkileşim gösteren a) Ti6Al7Nb-HT b) Anod. 25-HT ve c) Anod. 140-HT numunelerin EDS spektrumları.

(EDS spectra of a) Ti6Al7Nb-HT b) Anod. 25-HT and c) Anod. 140-HT samples after 30 days exposure to SBF).



**Şekil 7.** Ti6Al7Nb alaşım yüzeylerinin simüle edilmiş vücut sıvısı ile 30 gün etkileşim sonrası FTIR spektrumları. a) Ti6Al7Nb-HT, b) Anod. 25-HT ve c) Anod. 140-HT numuneleridir. (FTIR spectra of Ti6Al7Nb surfaces after 30-day interaction with simulated body fluid. Samples are, a) Ti6Al7Nb-HT, b) Anod. 25-HT and c) Anod. 140-HT).

Sonuç olarak, anodizasyon yöntemiyle Ti6Al7Nb alaşım yüzeylerinde oluşan nanotübüler yapılar uygulanan anodizasyon parametrelerinin farklılaştırılması yoluyla kontrol edilmiştir. Uygulanan gerilimin artmasıyla, oluşan nanotübüler yapıların çapları 25 nm ile 140 nm arasında değişmektedir. Numuneler simüle edilmiş vücut sıvısı içerisinde 30 gün bekletildiğinde, Anod. 140-HT numunesi üzerine Anod. 25-HT numunesine ve Ti6Al7Nb-HT numunesine oranla daha fazla kalsiyum fosfat çökelindiği görülmüştür.

#### 4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Bu çalışmada anodizasyon yöntemi kullanılarak üretilen, farklı çaplara sahip nanoyapılı Ti6Al7Nb alaşımlarının simüle edilmiş vücut sıvısı ile etkileşimi araştırılmıştır. 1,4M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ve 0,0115M HF elektrolit çözeltisi içerisinde 1 dakika süre ile 5V'den 30V'e kadar uygulanan gerilimin değiştirilmesiyle çapları 25, 50, 80 ve 140 nm nanotübüler yapılar elde edilmiştir. Elde edilen 25 ve 140 nm çaplı nanotübüler yapılar 1 saat boyunca 600°C'de ısıtılarak işlem uygulanmış ve 30 gün boyunca simüle edilmiş vücut sıvısı içerisinde bekletilmiştir. SEM ve EDS analizi ile nanotübüler yapıların üzerinde kalsiyum fosfat çökelindiği karakterize edilmiş; yüzeylerdeki fosfat (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) ve karbonat (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) gruplarına ait pikler FTIR ile doğrulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, 140 nm çaplı anodize Ti6Al7Nb numunelerin biyoaktivitelerinin 25 nm çaplı anodize numunelere ve anodize olmayan Ti6Al7Nb numunelere göre arttığını göstermektedir. Yapılan çalışma, nanotübüler morfolojiye sahip anodize Ti6Al7Nb'ın ortopedi

uygulamaları için umut vadeden bir malzeme olduğunu belirlemektedir.

#### TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGEMENTS)

Bu çalışma Orta Doğu Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü (ODTÜ-BAP) tarafından BAP-08-11-2017-019 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. FTIR ölçümleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında yapılmıştır. Yazarlar SEM ve TEM görüntülemeleri için Serkan Yılmaz'a teşekkür etmektedir. Bununla birlikte yazarlar Orta Doğu Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğüne teşekkür etmektedir.

#### KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Li Guang-Zhong., Zhao Quan-Ming., Tang Hui-Ping., Gang Li. ve Yu-Di Chi., Fabrication, Characterization and Biocompatibility of TiO<sub>2</sub> Nanotubes via Anodization of Ti6Al7Nb, Composite Interfaces, 23, 3223-3230, 2016.
2. Niinomi M., Recent Metallic Materials for Biomedical Applications., Metallurgical and Materials Transactions A, 33A, 477- 486, 2001.
3. Lakshmi G., Raman V., Rajendran N., Babi M., ve Arivuoli D., In vitro Corrosion Behaviour of Plasma nitrided Ti-6Al-7Nb Orthopaedic alloy in Hanks Solution, Science and Technology of Advanced Materials, 4 (5), 415-418, 2003.



4. Osman R. ve Swain M., A Critical Review of Dental Implant Materials with an Emphasis on Titanium versus Zirconia. *Materials*, 8 (3), 932-958, 2015.
5. Zhang L., Sirivisoot S., Balasundaram G., ve Webster T. J., Nanomaterials for Improved Orthopedic and Bone Tissue Engineering Applications, *Advanced Biomaterials*, 205-241, 2010.
6. Liua X., Chub P K., Ding C., Surface modification of Titanium, Titanium Alloys and Related Materials for Biomedical Applications, *Materials Science and Engineering R*, 47 (3-4) , 49-121, 2004.
7. Kazek-Kęsik, A., Dercz, G., Kalemba, I., Michalska, J., Piotrowski, J., & Simka, W., Surface Treatment of a Ti6Al7Nb alloy by Plasma Electrolytic Oxidation in a TCP Suspension. *Archives of Civil and Mechanical Engineering*, 14 (4), 671-681, 2014.
8. R. Born, D. Scharnweber, S. Rößler, M. Stölzel, M. Thieme, C. Wolf, H. Worch., Surface Analysis of Titanium Based Biomaterials, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 697-700, 1998.
9. Minaga S., Berndt C.C., Wang J., Ivanova E., Wen C., A Review of the Application of Anodization for the Fabrication of Nanotubes on Metal Implant Surfaces, *Acta Biomaterialia*, 8 (8), 2875-2888, 2014.
10. Qin Z., Gautieri A., Nair A.K., Inbar H. ve Buehler M.J., Thickness of Hydroxyapatite Nanocrystal Controls Mechanical Properties of the Collagen-Hydroxyapatite Interface, *Langmuir*, 28(4), 1982-1992, 2012.
11. Zhu X., Chen, J., Scheideler L., Reichl, R. ve Geis-Gerstorfer J., Effects of Topography and Composition of Titanium Surface Oxides on osteoblast responses, *Biomaterials*, 25 (18), 4087-4103, 2004.
12. Webster T. J. ve Ross AP., Anodizing color coded anodized Ti6Al4V Medical Devices for Increasing Bone Cell Functions, *International Journal of Nanomedicine*, 109, 2013.
13. Kokubo T. ve Takadama H., How Useful is SBF in Predicting in vivo Bone Bioactivity?, *Biomaterials*, 27 (15), 2907-2915, 2006.
14. Byon E., Moon S., Cho S., Jeong C., Jeong Y. ve Sul, Y. Electrochemical property and apatite formation of metal ion implanted titanium for medical implants. *Surface and Coatings Technology*, 200 (1-4), 1018-1021, 2005.
15. Chernozem RV., Surmeneva, M A. ve Surmenev, R. A., Influence of Anodization Time and Voltage on the Parameters of TiO<sub>2</sub> Nanotubes, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 116, 012025, 2016.
16. Oh H., Kim I., Jang K., Lee J., Lee S. ve Chi C., Influence of Electrolyte and Anodic Potentials on Morphology of Titania Nanotubes. *Metals and Materials International*, 18 (4), 673-677, 2012.
17. Ün N. Serhat, Development of Sol-Gel Derived Hydroxyapatite-Titania Coatings, Master Thesis, Middle East Technical University, Metallurgical and Materials Engineering, Ankara, 2008.
18. Bayram C., Ortopedik İmplantların Nanoteknolojik Yaklaşımlarla Fonksiyonelleştirilmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Ana Bilim Dalı, Ankara, 2013.
19. Chou Y., Chiou W., Xu Y., Dunn J.C. ve Wu B.M., The Effect of pH on the Structural Evolution of Accelerated Biomimetic Apatite, *Biomaterials*, 25 (22), 5323-5331, 2004.
20. Kıcırcı K., Elektroforetik Biriktirme Metodu ile Yüzeyi Modifiye Titanyum İmplantların Hazırlanması ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Ana Bilim Dalı, Ankara, 2013.
21. Dong Hwan, S., Tolou S., ChangKyoung C., Seong-Hyuk L. ve Friedrich C., Wettability Changes of TiO<sub>2</sub> Nanotube Surfaces, *IOP Science*, 22 (31), 2011.

