

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

**DOĞAL HİDROKSİAPATİT TOZ ÜRETİMİ,
KARAKTERİZASYONU VE ANTİBAKTERİYEL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serdar Gökhan AKÇA

Enstitü Anabilim Dalı : İMALAT MÜHENDİSLİĞİ
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Fatih ÇALIŞKAN

Ekim 2016

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞAL HİDROKSİPATİT TOZ ÜRETİMİ,
KARAKTERİZASYONU VE ANTİBAKTERİYEL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serdar Gökhan AKÇA

Enstitü Anabilim Dalı : İMALAT MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 18.10.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr.Fatih ÇALIŞKAN

Doç.Dr. Zafer TATLI

Prof.Dr. İlyas UYGUR

Jüri Başkanı

Üye

Üye



BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Serdar Gökhan AKÇA

18.10.2016

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmam süresinde maddi ve manevi destekte bulunan danışmanım sayın Doç. Dr. Fatih ÇALIŞKAN'a, bilimsel çalışma aşamasında tüm laboratuvar olanaklarını sağlayan sayın Prof. Dr. Fatih ÜSTEL'e deneysel çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Murat TUNA, Arş. Gör. Esra BİLGİN ve sayın Arş. Gör. Fatih Erdem BAŐTAN hocalarıma, arkadaşım Fehmi YILMAZ'a ve tüm Sakarya üniversitesi Teknoloji Fakültesi ve Termal sprey Araştırma ve Uygulama Labaratuvarı çalışanlarına; Bu süreçte her zaman yanımda olan ve manevi desteğini her zaman hissettiğim canımdan çok sevdiğim Eşim İpek ÖZDEMİR AKÇA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından "2013-105-06-01" kodlu proje kapsamında ve TÜBİTAK 2209/A-Üniversite Öğrencileri Yurt İçi Araştırma Projeleri Destek Programı kapsamında desteklenmiştir.

Ayrıca; bu çalışma İzmir Yüksek Teknoloji Üniversitesi "Ne Üretelim" İsimli proje Yarışmasından Mansiyon Ödülü Almaya hak Kazanmıştır.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
SUMMARY	xv
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
BİYOMALZEMELER.....	3
2.1. Giriş.....	3
2.2. Biyomalzemelerin Tanımı ve Tarihçesi.....	4
2.3. Biyomalzemelerden Beklenen Özellikler.....	9
2.3.1. Biyoyumluluk.....	9
2.3.2. Korozyon direnci.....	10
2.3.3. Biyoaktivite.....	11
2.3.4. Uygun mekanik özellikler.....	12
2.3.5. Uygun tasarım.....	13
2.4. Biyomalzemelerin Sınıflandırılması.....	14
2.4.1. Metalik biyomalzemeler.....	14
2.4.2. Polimerik biyomalzemeler.....	20
2.4.3. Kompozit biyomalzemeler.....	21
2.4.4. Seramik biyomalzemeler.....	22

2.4.4.1. Alümina.....	22
2.4.4.2. Zirkonya.....	23
2.4.4.3. Hidroksiapatit.....	24
2.4.4.4. Tri kalsiyum fosfat.....	25
2.4.4.5. Cam ve cam seramikler.....	25
2.4.4.6. Magnezyum oksit (MgO).....	27
2.5. Biyomalzemeleri Uygulama Alanları.....	29
2.5.1. Ortopedi uygulamaları.....	29
2.5.2. Dişçilik uygulamaları.....	29
2.5.3. Kardiyovasküler uygulamalar.....	30
2.5.4. Estetik cerrahi uygulamaları.....	30
BÖLÜM 3.	
HİDROKSİAPATİT.....	31
3.1. Hidroksiapatit Genel Özellikleri.....	31
3.2. Üretim Yöntemleri.....	35
3.2.1. Çöktürme yöntemi ile HA sentezi.....	35
3.2.1.1. Sulu ortamda HA sentezi.....	35
3.2.1.2. CaPtris'ten HA sentezi.....	37
3.2.1.3. SVS'den HA sentezi.....	38
3.2.2. Sol-Jel yöntemi ile HA sentezi.....	38
3.2.3. Mikroemülsiyon yöntemleri ile HA sentezi.....	40
3.2.3.1. Ters-misel yöntemi ile HA sentezi.....	40
3.2.3.2. Şok dalga yöntemi ile HA sentezi.....	41
3.2.4. Hidro termal yöntemler.....	42
3.2.4.1. Birleştirilmiş hidrotermal yöntemler ile HA sentezi...	42
3.2.4.2. Mikrodalga-hidrotermal yöntemlerle HA sentezi.....	44
3.2.5. Mekanokimyasal yöntemle HA sentezi.....	45
3.3. Hidroksiapatit Çeşitleri.....	47
3.3.1. Biyolojik hidroksiapatit.....	47
3.3.2. Yoğun hidroksiapatit.....	48
3.3.3. Poröz hidroksiapatit.....	49

3.4. Hidroksiapatit Kullanım Alanları.....	49
3.4.1. Hidroksiapatitin diş hekimliğinde kullanımı.....	50
3.4.2. Hidroksiapatitin ortopedi alanında kullanımı.....	51
3.4.3. Hidroksiapatitin oftalmolojik alanda kullanımı.....	54
3.4.4. Hidroksiapatitin eczacılık alanda kullanımı.....	56
3.4.5. Hidroksiapatitin arkeolojik alanda kullanımı.....	57

BÖLÜM 4.

SCHIFF BAZLARI, GÜMÜŞ VE BAKTERİLER.....	58
4.1. Giriş.....	58
4.2. Gümüş'ün Antibakteriyel Etkisi.....	59
4.3. Schiff Bazı Metal Kompleksleri.....	60
4.3.1. Schiff bazı-metal komplekslerinin tıptaki uygulamalar.....	61
4.4. Schiff Bazlarının Antibakteriyel Özellikleri.....	62
4.5. Bakteriler.....	62
4.5.1. Bakterilerin tanımı.....	62
4.5.2. Bakterilerin sınıflandırılması.....	64
4.5.3. Bakterilerin ismlendirilmesi.....	64
4.5.4. Antibakteriyel aktivite.....	65

BÖLÜM 5.

DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	67
5.1. Giriş.....	67
5.2. Doğal Hidroksiapatit Toz Üretimi.....	68
5.3. Toz Üretim Adımları.....	69
5.3.1. Hammadde (kemik) temin edilmesi.....	69
5.3.2. Hammaddeye yapılan ilk işlem.....	69
5.3.3. Parçalanmış kemiklere yapılan işlem.....	70
5.3.4. Yağ tabakasını uzaklaştırma.....	70
5.3.5. Yanmış kemiklerin kalsinasyonu.....	70
5.3.6. Kalsine edilmiş kemiklere yapılan işlem.....	71

5.3.7. Kalsinasyon sonrası kemik parçalarından toz eldesi.....	72
5.3.8. Öğütülmüş hidroksiapatit.....	72
5.3.9. Öğütülmüş hidroksiapatit tozların son hali.....	73
5.4. Doğal Hidroksiapatit Tozların Sinterlenmesi.....	74
5.5. Schiff Baz ve Gümüş Katkılı HAp Toz Numune Hazırlanması.....	74
5.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM-EDS)	76
5.7. X Işını Kırınım (XRD) Analizi.....	76
5.8. XRF (Xray Flüoresans) Analizi.....	77
5.9. ICP (İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma) Analizi.....	77
5.10. FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektroskopis) Analizi....	78
5.11. Tane Boyut Ölçüm ve Elek Analizi.....	79
5.12. Hidroksiapatit Basma Testi.....	79
5.13. Hidroksiapatit Sertlik Testi.....	80
5.14. Yoğunluk Belirlenmesi.....	80
5.15. Antibakteriyel Testler.....	81
BÖLÜM 6.	
DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	86
6.1. Giriş.....	86
6.2. SEM ve EDS Analiz Sonuçları.....	86
6.3. XRD Analiz Sonuçları.....	92
6.4. XRF (Xray Flüoresans) Analiz Sonuçları.....	96
6.5. ICP (İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma) Analiz Sonuçları.....	97
6.6. FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektroskopis) Analiz Son.	97
6.7. Tane Boyut Ölçüm Ve Elek Analiz Sonuçları.....	99
6.8. Hidroksiapatit Basma Testi Sonuçları.....	102
6.9. Hidroksiapatit Sertlik Ölçüm Testi Sonuçları.....	103
6.10. Hidroksiapatit Yoğunluk Testi Sonuçları.....	104
6.11. Antibakteriyel Test Analiz Sonuçları.....	105
BÖLÜM 7.	
GENEL SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	113

7.1. Sonuçlar.....	113
7.2. neriler.....	115
KAYNAKLAR.....	116
ÖZGEÇMİŞ.....	126



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

EDS	: Energy-Dispersive X-Ray Spectroscopy
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre
HAP	: Hidroksiapatit
ICP	: İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TCP	: Trikalsiyum Fosfat
XRD	: X-Işımları Difraksiyonu
XRF	: X-Ray Fluorescence

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Yaygın olarak kullanılan metalik biyomalzemeler.....	7
Şekil 2.2.	Paslanmaz çelik implant uygulamalarına ait örnekler	15
Şekil 2.3.	Kobalt krom alaşımından imal edilmiş kalça protezi.....	17
Şekil 2.4.	Titanyum stent.....	19
Şekil 2.5.	Titanyum diş protezi.....	19
Şekil 2.6.	Zirkonyadan imal edilmiş biyomalzemelere örnekler.....	23
Şekil 2.7.	Biyoaktif cam ve cam-seramiklerin insan vücudundaki uygulama	26
Şekil 2.8.	MgO'nun kristal yapısı.....	28
Şekil 3.1.	Kemik dokusu ve hidroksiapatitin yapısının benzerliği.....	32
Şekil 3.2.	HAP kristallerinin birim hücre yapısı.....	32
Şekil 3.3.	OH- gruplarının fazlasının çıkarıldığı süper HA kafes yapısı.....	33
Şekil 3.4.	HA kristallerinin hegzagonal rombik prizma yapısı.....	33
Şekil 3.5.	HAp kristallerinin sem görüntüleri (a) sulu çözeltilerden çöktürülen (b) sulu çözeltilerden çöktürüldükten sonra 1200°c'de kalsine edilen.....	36
Şekil 3.6.	Captris çözeltisi kullanılarak çöktürülen HA tozlarının sem görüntüsü.....	38
Şekil 3.7.	HA'in (a) XRD spektrumu ve (b) SEM görüntüsü.....	39
Şekil 3.8.	HA seramik tozlarının (a) XRD (b) TEM görüntüleri.....	41
Şekil 3.9.	Şok dalga yöntemi ile sentezlenen HA'in sem görüntüsü.....	42
Şekil 3.10.	HA seramiklerinin XRD spektrumları (a) ph 12,9 (b) 11,4 (c) 9,7..	43
Şekil 3.11.	HA seramiklerinin SEM görüntüleri (a) ph 12,9 (b) 11,4 (c) 9,7....	43

Şekil 3.12. 550 w mikrodalga gücünde sentezlenen HA tozlarının TEM görüntüleri (a) iğne yapısında (b) küresel yapıda.....	44
Şekil 3.13. Farklı mikrodalga enerjisi kullanılarak sentezlenen HA tozlarının XRD spektrumu (a) 250 w, (b) 350 w, (c) 450 w ve (d) 550w.....	44
Şekil 3.14. 900-1300 sinterlenen HA tozlarının XRD spektrumları.....	46
Şekil 3.15. Değişik sıcaklıklarda sinterlenen HA tozlarının SEM görüntüleri (a)900°C (b)1000°C (c)1200°C (d) 1300°C.....	46
Şekil 3.16. Nanoss™ isimli yapısal cihazın görünümü.....	52
Şekil 3.17. Ostim® toz ve enjekte edilebilir formda.....	53
Şekil 3.18. Cerabone®; toz ve bulk formunda.....	54
Şekil 3.19. Oküler implant uygulaması.....	55
Şekil 3.20. Hidroksiapatitin oküler protez uygulaması.....	55
Şekil 3.21. Orta kulak implantına ait bir uygulama.....	55
Şekil 4.1. A. salen(sal ₂ en) ligandı b. salpen(sal ₂ ph) ligandı.....	58
Şekil 4.2. E.coli ve S.aureus bakterilerinin boyalı SEM görüntüleri.....	63
Şekil 5.1. Hidroksiapatit işlem adımları.....	67
Şekil 5.2. Et balık kurumu logosu.....	69
Şekil 5.3. Deneylerde kullanılan hayvan kemikleri.....	69
Şekil 5.4. Kemiklerin iliklerinden ayrılması işlemi.....	70
Şekil 5.5. Organik maddelerden ayrıştırma.....	70
Şekil 5.6. Organiklerin uzaklaştırılmasında kullanılan kül fırını.....	71
Şekil 5.7. HA kütlelerinin kaba öğütülmesi.....	71
Şekil 5.8. Gezegen değirmen.....	72
Şekil 5.9. Rotary evaporatör.....	72
Şekil 5.10. Manyetik karıştırıcı.....	72
Şekil 5.11. Üretilen ha tozu.....	73
Şekil 5.12. Soğuk izostatik pres. ve silindirik numune.....	74
Şekil 5.13. Sitrat metodu işlem adımı 1.....	75
Şekil 5.14. Sitrat metodu işlem adımı 2.....	75
Şekil 5.15. Schiff baz katkılı hidroksiapatit.....	75
Şekil 5.16. Gümüş katkılı hidroksiapatit.....	75

Şekil 5.17. Vega tescan marka SEM cihazı.....	76
Şekil 5.18. Rigaku marka SEM cihazı.....	77
Şekil 5.19. S8 tıger marka XRF cihazı.....	77
Şekil 5.20. Perkin elmer optima 2100 marka ICP cihazı.....	78
Şekil 5.21. Perkin elmer spectrum 100 marka FTIR cihazı.....	78
Şekil 5.22. Microtrack s3500 marka tane boyut dağılım cihazı ve titreşimli otomatik eleme cihazı (fritsch).....	79
Şekil 5.23. Zwick marka çekme/basma test cihazı.....	79
Şekil 5.24. Shimadzu marka Vickers sertlik cihazı.....	80
Şekil 5.25. Yoğunluk ölçme aleti.....	81
Şekil 5.26. Toz Hidroksiapatitlerin eklendiği tüpler.....	83
Şekil 5.27. Koloni sayma metodunda kullanılan Spektrometre cihazı.....	84
Şekil 6.1. İşlem görmemiş sığırın femur kemiğinin X100	86
Şekil 6.2. İşlem görmemiş sığırın femur kemiğinin X1000.....	87
Şekil 6.3. Üretilen hap tozlarının X10.000 sem mikro yapı görüntüsü.....	87
Şekil 6.4. Üretilen hap tozlarının X20000 sem mikroyapı görüntüsü.....	88
Şekil 6.5. Sinterlenen numunelerin SEM görüntüleri (a)1000°C (b)1100°C (c)1200°C (d)1300°C.....	89
Şekil 6.6. Ham maddenin (kemik) numunelerin EDS analizi sonuçları.....	90
Şekil 6.7. Sinterleme öncesi doğal hap numunelerin EDS analizi sonuçları...	91
Şekil 6.8. Sinterleme sonrası doğal hap numunelerin EDS analizi sonuçları..	91
Şekil 6.9. Isıl işlem görmemiş saf doğal hidroksiapatit XRD analizi.....	92
Şekil 6.10. 1000°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.....	93
Şekil 6.11. 1100°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.....	93
Şekil 6.12. 1200°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.....	94
Şekil 6.13. 1300°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.....	94
Şekil 6.14. Doğal hidroksiapatit tozlarının sinterleme sıcaklığının değişimine göre oluşturduğu fazların X ışınları difraksiyon diyagramı.....	95

Şekil 6.15. Doğal hidroksiapatit FTIR analizi.....	98
Şekil 6.16. Elek analizi sonrası tozlarının (a) X500 ve (b) X1000 taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	101
Şekil 6.17. Gezegen değirmende öğütme sonrası tozlarının (a) X300 ve (b) X500 taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	101
Şekil 6.18. Doğal hidroksiapatitin gezegen değirmende izopropil alkol ile 12 saat öğütülmesi sonucu alınan tane boyut analizi.....	101
Şekil 6.19. Doğal hidroksiapatitin gezegen değirmende izopropil alkol ile 5 saat öğütülmesi sonucu alınan tane boyut analizi.....	102
Şekil 6.20. Hidroksiapatit sıcaklık-basma mukavemeti grafiği.....	103
Şekil 6.21. Hidroksiapatit sıcaklık-mikrosertlik grafiği.....	104
Şekil 6.22. Hidroksiapatit yoğunluk değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi.....	105
Şekil 6.23. 48 saatlik inkübasyon ardından ticari hidroksiapatit disk yüzeyinde ve etrafında meydana gelen E. coli bakteri üremesi.....	106
Şekil 6.24. 48 saatlik inkübasyon ardından kemikten üretilen doğal hap disk yüzeyinde ve etrafında meydana gelen E. coli bakteri üremesi.....	106
Şekil 6.26. Kemikten üretilen hidroksiapatit disk, besiyerinden kaldırıldıktan sonra 48 saatlik inkübasyonun ardından gözlemlenen E. coli bakteri üremesi.....	107
Şekil 6.27. 24 saatlik inkübasyon sonunda E. coli kolonileri, 1) hap (kontrol), 2) %0.5 Ag HA, 3) %1 Ag HA, 4) %1.5 Ag HA, %2 Ag HA.....	109
Şekil 6.28. Doğal yolla üretilen katkısız HAP tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü a) disk kaldırılmadan önce b) disk kaldırıldıktan sonra.....	110
Şekil 6.29. Doğal yolla üretilen üretilen 0,1 zn sae katkılı HAP tozunda sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundansonraki görüntüsü. a) disk kaldırılmadan önce b) disk kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.....	1110
Şekil 6.30. Doğal yolla üretilen 0,2 zn sae katkılı HAP tozundan sağlanmış bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki	

görüntüsü. a) disk kaldırılmadan önce b) disk kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.....	111
Şekil 6.31. Doğal yolla üretilen 0,5 zn sae katkılı hap tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü a) disk kaldırılmadan önce b) disk kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.....	111
Şekil 6.32. Doğal yolla üretilen 0,7 ZNSAE katkılı HAP tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü a) disk kaldırılmadan önce b) disk kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.....	111

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Biyomalzeme çeşitleri ve mevcut uygulamaları.....	8
Tablo 2.2. İnsan kemiğinin mekanik özellikleri ve yaşa göre değişim.....	12
Tablo 2.3. Hidroksiapatitin mekanik özellikleri.....	13
Tablo 2.4. Kemik, diş ve bazı biyomalzemelerin mekanik özellikleri.....	13
Tablo 2.5. İmplant uygulamalarına kullanılan 316l paslanmaz çeliğin mekanik özellikleri.....	15
Tablo 2.6. Kobalt-krom alaşımları mekanik özellikleri.....	16
Tablo 2.7. Kobalt-krom alaşımlarının kimyasal bileşimi.....	16
Tablo 2.8. Bazı implant malzemelerin özgül ağırlıkları.....	17
Tablo 2.9. Titanyum ve ti6al4v alaşımının kimyasal bileşimleri (% ağırlık)...	18
Tablo 2.10. Titanyum ve alaşımlarının mekanik özellikleri.....	19
Tablo 2.11. Polimer biyomalzemeler ve uygulama alanları.....	21
Tablo 2.12. % 99.7 saflığa sahip alüminanın mekanik özellikleri.....	23
Tablo 2.13. Zirkonyanın mekanik özellikleri.....	24
Tablo 2.14. Alümina ve zirkonya biyomalzemelerinin sahip olması gereken özellikler.....	24

Tablo 2.15. Yaygın olarak kullanılan biyoaktif cam ve cam-seramiklerin % ağırlık olarak bileşimleri.....	27
Tablo 2.16. Magnezyum oksitin genel özellikleri.....	28
Tablo 3.1. Apatit $m_{10}(r_{04})x_2$ genel kimyasal formülünde m, r ve x yerine gelebilecek elementler.....	31
Tablo 3.2. 1000 ml captris çözeltisi hazırlamak için gereken reaktifler ve miktarları.....	34
Tablo 3.3. 1000 ml captris çözeltisi hazırlamak için gereken reaktifler ve miktarları.....	37
Tablo 3.4. Biyolojik ve sentetik apatitlerin mekanik ve fiziksel özellikleri.....	47
Tablo 6.1. Doğal ve sentetik hap xrf elementel analizi karşılaştırma.....	96
Tablo 6.2. Doğal ve sentetik hidroksiapatit in ıcp analiz sonucu.....	97
Tablo 6.3. Öğütme öncesi ve sonrası hidroksiapatit tozlarının tane boyutu ve yüzey alanı değerleri.....	100
Tablo 6.4. Sinterlenen numunelerin basma mukavemeti değerleri.....	102
Tablo 6.5. Sinterlenen numunelerin ortalama sertlik değerleri.....	103
Tablo 6.6. Sinterlenen numunelerin ortalama yoğunluk ve relatif yoğunluk değerleri.....	104
Tablo 6.7. Ekim yapılan besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları +: üreme görüldü, 0: üreme görülmedi.....	108
Tablo 6.8. % antibakteriyel aktivite sonuçları.....	108

ÖZET

Anahtar kelimeler: Hidroksiapatit, sinterleme, antibakteriyel test.

İnsan yaşamı için en önemli eksiklerden biri yedek parçasının olmamasıdır. Herhangi bir kaza veya hastalık sonucunda kaybedilen veya hasara uğrayan bir organ ancak implant denilen dışarıdan bir malzeme ile onarılabilir. Bu yüzden biyolojik sistemlerle etkileştiğinde uyum sağlayabilecek (biyouyumlu) ve vücudun istediği mekanik özellikleri taşıyan yeni malzemelerin geliştirilmesi için yoğun çaba harcanmaktadır. Bu konuda son yıllarda yapılan çalışmalar, insanın kemik yapısının %60 hidroksiapatit içerdiğini kanıtlanmıştır. Hidroksiapatitin üretimi temelde kimyasal ve doğal hammaddelerden üretim şeklide ayrılabilir. Bu çalışmada, ülkemizde hayvancılık gelişmiş olduğu ve doğal hammaddelerden üretim yönteminin çok daha ekonomik bir proses olması sebebiyle termal yöntem olarak bilinen doğal hammaddelerden üretim metodu kullanılmıştır. Yapılacak deneysel çalışmaları özetleyecek olursak; termal yöntem ile hayvan kemiklerinin ilik ayırma, yakma, karbon uzaklaştırma, öğütme işlemleri sonunda hidroksi apatit toz eldesi, içerisine biyouyumluluğunu bozmayacak şekilde sinterlemeyi kolaylaştırıcı ilaveler kullanarak veya kullanmadan atmosfer kontrollü fırınlarda yoğun hidroksi apatit parça üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen hidroksiapatit tozlarının anti bakteriyel testlere tabi tutularak anti bakteriyel özellikleri incelenmiştir. Kullanılacak bakteriler insan vücudunun en çok maruz kaldığı bakterilerden seçilmiştir. Üretilen hidroksi apatit tozu taramalı elektron mikroskopuyla (SEM) tane morfolojisi, X-Işını kırınımı (XRD) ile faz oluşumları karakterize edilecektir. Üretilen tozlara gerekli anti bakteriyel testler uygulanmıştır. Üretilen hidroksiapatit tozu katkısız, farklı sinterleme ilaveleriyle ve farklı oranlarda kullanılarak sinterlenme-yoğunlaşma davranışları incelenmiştir. Elde edilen nihai ürünler Arşimet prensibiyle yoğunlukları, sertlik ve basma mukavemetleri incelenmiştir. XRD analiziyle faz içeriği, SEM yoğunlaşma davranışları ve gözenek morfolojileri FTIR, ICP, XRF analizleri ile element analizleri belirlenmiştir.

NATURAL HYDROXYAPATITE POWDER PRODUCTION CHARACTERIZATION AND DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES

SUMMARY

Keywords: Hydroxyapatite, sintering, antibacterial activity

One of the most important handicaps of human body is not to be available spare parts in the event of missing body parts because of accident, illness or senility. In this case, host organ or body part can recovery and replace with implant materials. Therefore, the result of interaction of the produced implants to body tissues have to be compatible and to exhibit adequate mechanical values for the choice to use in host body. Hydroxyapatite has been intensively studied and these works revealed that human bone structure contains 60 % hydroxyapatite. Fabrication of hydroxyapatite could be mainly divided into two methods; from chemical raw materials and from natural raw materials. In our country, animal raw material source is plentiful because of the improved animal breeding. Thus, the thermal extraction method was picked to produce hydroxyapatite powder. To summary the experimental process, hydroxyapatite powder was produced from bovine bone as a natural raw material by thermal methods, which is fairly inexpensive technique. The HAp powder extraction method involves crushing to small pieces, boiling up at 100°C for 3h on hot plate, burning up the remained organic materials, heat treating of the precursor in heat treatment furnace and grinding by planetary milling.. The powder was subjected to antibacterial tests to investigate bacterial activity. Scanning electron microscopy was performed to examine particle morphology of the fabricated HAp powder. EDS Elemental analyses of the HAp powder the resulting powder were carried out to determine elements in the product. The HAp powder was analysed using XRD, XRF, ICP for identifying its phase compositions. FTIR was used to reveal the presence of the structures. Densification behaviour of the sintered samples was investigated Archimedes technique.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Bilimsel anlamda yeni bir alan olmasına karşın uygulama açısından biyomalzeme kullanımı tarihin çok eski zamanlarına kadar uzanmaktadır. Mısır mumyalarında bulunan yapay göz, burun ve dişler bunun en iyi örnekleridir. Altının diş hekimliğinde kullanımı, 2000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Bronz ve bakır kemik implantlarının kullanımı, milattan önceye kadar gitmektedir. Bakır iyonlarının zehirleyici etkisine rağmen 19. yüzyıl ortalarına kadar daha uygun bir malzeme bulunamadığından bu implantların kullanımı devam etmiştir. On dokuzuncu yüzyıl ortasından itibaren yabancı malzemelerin vücut içerisinde kullanımına yönelik ciddi ilerlemeler kaydedilmiştir. İlk metal protez, vitalyum alaşımından 1938'de üretilmiştir. 1960'lara kadar kullanılan bu protezler, metal korozyona uğradığından ciddi tehlikeler yaratmıştır. 1972'de alümina ve zirkonya isimli iki seramik yapı herhangi bir biyolojik uyumsuzluk yaratmaksızın kullanılmaya başlanmış, ancak inert yapıdaki bu seramikler dokuya bağlanamadıklarından çok çabuk zayıflamışlardır. Aynı yıllarda Hench tarafından geliştirilen biyoaktif seramikler ile bu problem çözülmüştür [1,2].

Hasta veya zarar görmüş dokuları sağlıklı olanlarıyla değiştirmeye doku nakli ya da doku aktarımı denilmiştir. Travma, kemik enfeksiyonları, konjenital anomaliler, kas iskelet sistemi tümör cerrahisi, revizyon artroplasti cerrahisi ve spinal cerrahi gibi rekonstrüktif işlemler sırasında oluşan kemik hatalarını tedavi etmek amacıyla kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek maddeler artan sıklıkla kullanılmaktadır. Kemik grefti olarak otopreftler ve allogreftler kullanılır. Kemik yerine geçebilecek maddeler arasında ise seramikler (doğal ve sentetik), demineralize kemik matriksi, otolog kemik iliği, büyüme faktörleri ve kompozit greftler tercih edilebilir [3].

Bu amaçla kullanılan en yaygın malzemeler kalsiyum fosfat seramikleridir. Vücudun hasarlı veya hastalıklı bölgelerinin onarımı için yeniden yapılandırma veya yerine

geçme amacıyla özel olarak geliştirilen seramikler ise biyoseramikler adını alır. Biyoseramikler alümina, hidroksiapatit, biyoaktif cam, biyoaktif cam-seramik veya biyoaktif kompozitlerdir [4]. Kemik yerine geçen maddeler arasında olan hidroksiapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ kimyasal formülüne sahip olup kemik ve dişin mineral yapısına çok benzeyen apatit ailesinin bir üyesidir. Bu benzerliğinden dolayı biyolojik olarak en uyumlu malzemelerden biridir. Hidroksiapatitin sert dokularla bağ yapma kabiliyeti, hastalıklı veya hasarlı bölgelerde kemik oluşumunu hızlandırmakta ve bağışıklık sisteminin neden olacağı bir takım ters etkileri önlemektedir. Bu nedenle hidroksiapatit, ortopedik uygulamalar, diş implantları ve kontrollü ilaç salım sistemleri gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Hidroksiapatit elde etmek için çeşitli yöntemler mevcut olup bunlar kimyasal çöktürme, mikroemülsiyon ve hidrolizdir. Bu yöntemlerin uygulamasının çok karışık ve biyolojik açıdan güvenilir olmamasından dolayı balık kılçığı, diş ve kemik gibi biyolojik kaynakların kalsinasyonu ile de elde edilebilir. Bu sayede daha ekonomik olarak istenilen formda hidroksiapatit elde edilebilir [5].

Bu çalışmada hayvancılık açısından gelişmiş olan Marmara bölgesinde bolca temin edilebilen hayvan kemiklerinin $850^{\circ}C$ 'de 4 saat boyunca kalsinasyonu sonucu yüksek kalitede hidroksiapatit tozları üretilmiştir. Katkı maddeleri olarak gümüş ve schiff bazı kullanılmıştır. Üretilen sinterlenmiş HAp tozları basit geometrik şekillerde soğuk preslenip izostatik presleme ile ham yoğunluğu arttırılacaktır. Ayrıca öğütme vb. ile ham yoğunluğu arttırma çalışmaları yapılmıştır. Soğuk preslenen parçalar koruyucu ortamda yatay tüp fırın veya yüksek sıcaklık basınçsız karbon element fırınında $1000-1300^{\circ}C$ sinterlenmiştir. Sinterleme sonucu elde edilen ürünlerin sertlik, basma gibi mekaniksel ve XRD, SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu), EDS, XRF, ICP gibi kullanılarak mikro yapı ve elementel analizlerle karakterizasyonu işlemleri yapıldı. Ayrıca gümüş ve schiff baz katkılı hidroksiapatite antibakterial testler yapılmıştır.

BÖLÜM 2. BİYOMALZEMELER

2.1. Giriş

Biyomalzemeler, insan vücudundaki organ ya da dokulara yapısal destek sağlamak amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemelerdir [2,6]. Biyomalzemelerin sertlik için mekaniksel kararlılığa, fizyolojik koşullarda yapısal bütünlüğün korunması için kontrol edilmiş arayüzey özelliklerine, hastanın konforu, uzun implant ömrü, kimyasal dayanım ve yapışma özelliklerine uygun çok iyi anlaşılmış yüzey kimyasına sahip olması amaçlanır [7]. Biyomalzemelerde en önemli özellik biyoyumluluktur [7]. Biyomalzemelerin kullanım yerleri; tamamen vücut dışında, kısmen vücut dışında ya da tamamen vücut içinde olabilir. Örneğin yapay kalp, kalp kapakçığı, kalp destek araçları, göğüs ve diş implantları, katarakt için intra oküler lensler, damarlar, omuz, kalça, eklem protezleri, bazı uzun süreli ilaç salınım sistemleri (özellikle doğum kontrol amaçlı), eklem protezlerinin ya da dikilmeye uygun olmayan dokuların tedavilerinde kullanılan biyolojik yapıştırıcılar tamamen vücut içinde kalan ve normalde bir daha çıkarılması planlanmamış biyomalzeme tiplerindedir [8]. Herhangi bir malzemenin vücuda yerleştirilmesinin uygun olmasını sağlayan en önemli özelliği, biyoyumlu olması ve ters bir doku tepkimesi vermemesidir. İmplant malzemenin fizyolojik veya mekaniksel yükleri taşıyabilmesi ve bulunduğu ortamda herhangi bir tepkiye ve hasara yol açmaması gerekir. Malzeme kanla etkileşime girmemelidir [3]. Biyomalzemeler yalnızca implant olarak değil ekstra korporeal cihazlarda (vücut dışına yerleştirilen ama vücutla etkileşim halindeki cihazlar), çeşitli eczacılık ürünlerinde ve teşhis kitlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır [1,6]. Ancak, halen biyomalzemelerde aşılamamış sorunlar da vardır. Bunların çözümünde doku mühendisliği ve gen tedavisi alternatif yaklaşımlar sunmaktadır.

Özellikle nanoteknoloji, bilişim teknolojileri ve imalat yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak daha mükemmel biyomalzemelerin geliştirilmesi hedeflenmektedir [2]. Biyomalzemeler temel olarak tıbbi uygulamalarda kullanılmalarına karşın, biyoteknolojik alandaki kullanımları da göz ardı edilmemelidir. Bunlar arasında hücre teknolojisinde hücre ve hücresele ürün üretiminde destek malzeme olarak, atık su arıtımında adsorban (yakalayıcı tutucu) malzeme olarak, biyosensörlerde, biyoayırma işlemlerinde, enzim, doku, hücre gibi biyoaktif maddelerin immobilasyonunda (tutuklanmasında) ve biyo çiplerdeki kullanımları sayılabilir [1,7]. Vücutta kullanılan malzemelerin performansları birkaç farklı açıdan incelenebilir. Çözünmesi gereken problemin bulunduğu alana göre, doku-organ seviyesinde veya kullanılan malzemelere göre bir sınıflandırma yapılabilir [8].

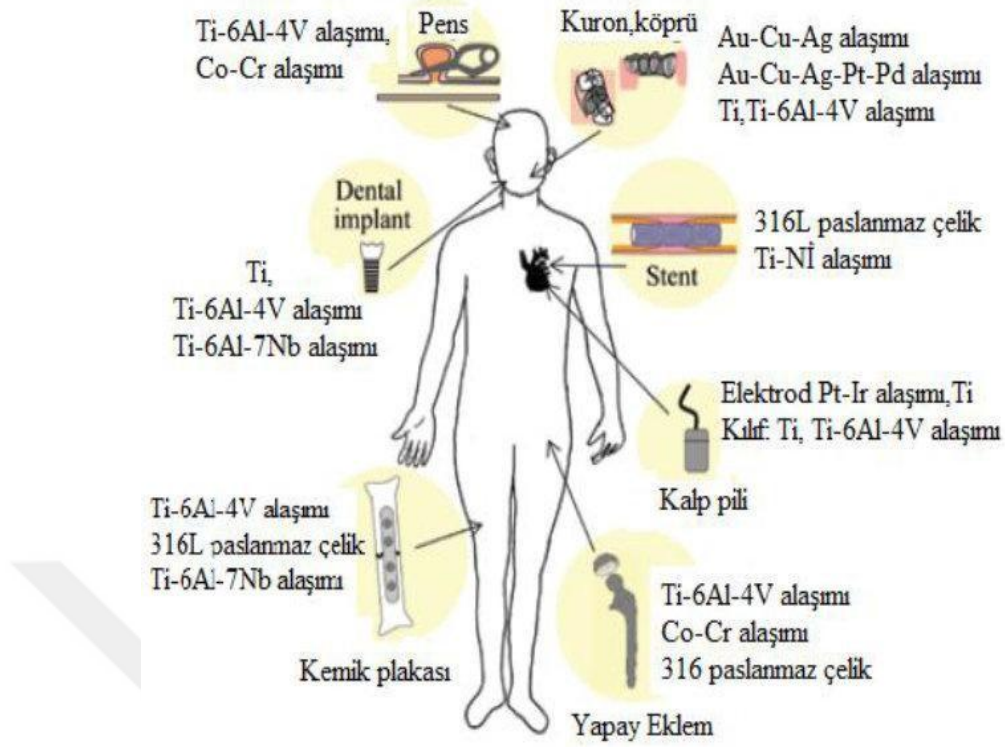
2.2. Biyomalzemelerin Tanımı ve Tarihçesi

Biyomalzemeler prostetik, teşhis ya da tedavi amaçlı kullanılan, vücut içerisinde doku, kan ve diğer vücut sıvıları ile temas halinde olan doğal veya sentetik olarak elde edilebilen ve canlıyı olumsuz olarak etkilemeyen malzemelerdir [9]. Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün kabul ettiği tanım ise; bireylerin hayat kalitesini yükseltmek amacıyla vücuttaki herhangi bir organ, doku ya da fonksiyonun görevlerini belli bir zaman aralığı için veya kalıcı olarak sağlayan doğal veya yapay yoldan elde edilmiş ilaç haricindeki tüm malzeme ve malzeme kombinasyonlarıdır [10]. Metalik, seramik, kompozit ve polimerik olarak üretilebilirler. Kullanımları 19. Yüzyılda yaygınlaşmaya başlamış olsa da ilk kez Mısır ve Romalılar tarafından altın ve fildişinden üretilerek kafatasındaki hasarları gidermede kullanılmıştır. 1860'ların başına kadar gerçekleştirilmiş olan çoğu ameliyat aseptik cerrahi tekniğinin henüz geliştirilememesinden dolayı enfeksiyon sebebiyle başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Ancak doktor J. Lister aseptik cerrahi tekniğini geliştirerek biyomalzemelerin pratik olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır. Başarılı olan ilk biyomalzeme uygulaması günümüz uygulamalarının da büyük bir kısmını oluşturan iskelet sistemi uygulamasıdır. Kemik protezleri ilk olarak 1900'lü yılların başında uzun kemik kırıklarının tedavisinde uygulamaya konmuştur. Ancak yanlış tasarımdan kaynaklanan sebeplerden ötürü çoğu implant hasara uğramıştır. Ayrıca üstün mekanik özellikleri

sebebiyle tercih edilen vanadyum çeliği gibi malzemeler vücutta çok hızlı korozyona uğrayarak iyileşmeyi olumsuz yönde etkilemiştir. 1930'larda tanışılan paslanmaz çelik ve kobalt-krom alaşımları kırıkların tedavisinde büyük başarı sağlanmasına ve ilk eklem değişimi ameliyatının gerçekleştirilmesine olanak sağlamıştır. Polimerlerin biyomalzeme olarak kullanılmasına ise 2. Dünya Savaşı sonrasında başlamıştır. Savaş sırasında pilotların uçağın bünyesinde bulunan polimetil metakrilat (PMMA) malzemesi ile yaralanması ancak vücutlarında herhangi bir kronik reaksiyona yol açmaması bu malzemelerin biyolojik uygulamalarda kullanılabilirliğinin fark edilmesini sağlamıştır. Daha sonra PMMA kornea ve kafatası hasarlarının giderilmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Kalp kapakçığı ve damar protezleri 1950'li, eklem protezleri ise 1960'li yıllarda geliştirilmiştir. Kronolojik olarak biraz daha ayrıntılı incelendiğinde; 1870'lerin sonlarına doğru doktor J. Lister aseptik cerrahi tekniğini, 1910'ların başında W.D. Sherman vanadyum çeliğinden kendi ismi ile anılan Sherman plakasını, 1920'lerin başında A.A. Zierold kobalt-krom- molibden alaşımlarını, 1930'ların başlarında M.N. Smith-Petersen paslanmaz çelikten ilk boyun sabitleme cihazını, 1930'ların sonlarında P. Wiles ilk eksiksiz kalça protezini tasarlamıştır. Tantalyumun biyomalzeme olarak kullanılması 1939'da J.C. Burch, H.M. Carney ile, polimerlerin ise 1946 yılında J. Judet ve R. Judet'in polimetil metakrilattan eklem protezi üretmesiyle başlamıştır. 1960 yılında A. Starr ve M.L. Edwards'ın katkılarıyla ilk ticari kalp kapaçıklarının ve 1970'lerde Willem J. Kolff sayesinde ise bütüncül kalp protezleri kullanılmaya başlanmıştır [9]. Dr. Kolff diyaliz ve yapay böbrek çalışmalarına da büyük katkılar sağlamıştır [11]. Biyomalzemelerin tarihini dört döneme bölmek yanlış olmayacaktır; tarih öncesi devir, cerrahi kahramanlık devri, mühendislik devri ve modern devir. Arkeologlar, Washington, ABD'de medeniyet öncesi biyomalzemeye örnek olabilecek 9000 yıllık kalıntılar bulmuşlardır. Bulunan birey uzun boylu, sağlıklı, hareketli ve kalçasında bir mızrak parçası olan bir erkektir. Vücudundaki mızrak yarası bireyin hareketlerini engellememiştir ve günümüzdeki modern biyomalzeme örneklerini andırmaktadır. İlk diş implantları ise milattan sonra 200 yıllarında Avrupa'da demirden ve 600 yılında Maya medeniyeti tarafından kullanılmış deniz kabuklarından elde edilen sedef dişlerdir [11]. Günümüz dental implantlarının temelleri ise 1809 yılında Maggiolo tarafından atılmış ancak 1937 yılında kobalt-krom-molibden alaşımları ile Strock ve Venable tarafından başarı ile

uygulanabilmiştir. Ortopedik bir cerrah olan Per Ingvar Branemark Lund Üniversitesi'nde tavşanların kemiklerine titanyum vidalar yerleştirerek iyileşme reaksiyonlarını gözlemlemek istemiştir. Ancak aylar süren gözlem sonucu yerleştirdiği implantları tavşanların kemiklerinden çıkarmak istediğinde, titanyum implantların kemik ile bütünleştiğini farketmiştir. Dr. Branemark bu olayı osseointegrasyon olarak adlandırmış ve günümüzde kullanılan titanyum dental ve ortopedik implantların geliştirilmesine vesile olmuştur [11]. Tarihte ilk yapay kalp uygulamasına ise Fransız fizyolojist Le Gallois'nin vücudu canlı tutmanın organlar boyunca pompalanacak kan ile mümkün olduğu düşüncesi ilham olmuştur. 1828-1868 yılları arasında organlar üzerinde pompa larla yapılan deneyler sonucunda 1881 yılında bilim adamı Etienne-Jules Marey yapay kalp tasarlanmış ancak hayata geçirememiştir. 1938 yılında Alexis Carrel ve Charles Lindberg tarafından yazılan 'The Culture of Organs' kitabı bu araştırmalara ışık tutmuştur ve yapay kalp patenti 1950'lerin ortalarında Dr. Paul Winchell tarafından alınmıştır [11]. Kanadalı elektrik mühendisi John Hopps'un hipotermi üzerinde çalışmalar yaptığı sırada soğutulan kalbin durduğunu ancak elektrik verilerek tekrar atmaya başladığını farketmesi ilk kalp pilin icat edilmesini sağlamıştır. Ancak ilk uygulamanın hastalarda ağrı ve yanmalara sebebiyet vermesi nedeniyle 1959 yılında mühendis Wilson Gratbatch ve kardiyolog W. M. Chardack tarafından tekrar geliştirilmiştir [9].

Biyomalzemelerin optik uygulamaları, 2. Dünya Savaşı sonrası kokpit içinde kullanılan plastik malzemeler ile gözlerinden yaralanmış askerlerin muayenesinde herhangi bir enfeksiyon tespit edilmemesi ile başlamıştır. Harold Ridley 1940'larda ilk plastik göz içi lensi icat etmiş ve yılda yedi milyondan fazla hastaya nakletmiştir. İlk kalça implantı ameliyatı ise 1891 yılında Alman cerrah Theodoro Gluck tarafından kaynaştırılmış fildişi kullanılarak uygulanmıştır. 1930 ile 1950 yılları arasında kalça protezi geliştirmek için birçok girişim olmuştur [11].



Şekil 2.1. Yaygın olarak kullanılan metalik biyomalzemeler [12].

Cerrah M. N. Smith-Petersen 1925 yılında kalça yuvarlağı yerine cam implant kullanmış ancak düşük mukavemeti nedeniyle başarıya ulaşamamıştır. 1931 yılında ise metalik malzemeden kalça protezi tasarlamıştır. 1938 yılında ilk başarılı kalça protezi ameliyatı gerçekleştirilmiştir [11]. Şekil 2.1.'de yaygın olarak kullanılan metalik biyomalzemeler gösterilmiştir [12]. Tablo 2.1.'de ise biyomalzeme çeşitleri ve mevcut uygulamaları özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Biyomalzeme çeşitleri ve mevcut uygulamaları [13].

Malzeme Çeşidi	Mevcut Kullanım Alanı
Paslanmaz Çelik	Eklem protezleri, kalp kapakçıkları, elektrodlar
Titanyum ve alaşımları	Eklem protezleri, stentler, dental protezler
Kobalt-Krom alaşımları	Eklem protezleri, kemik onarım aparatları
Altın	Dental dolgu ve kuronlar, elektrodlar
Gümüş	Dental dolgular
Platin	Elektrodlar, sinirsel uyarım cihazları
Alüminyum oksit	Kalça protezleri, dental protezler, koklear protezler
Zirkonya	Kalça protezleri
Kalsiyum fosfat	Kemik aşıları, eklem protezi kaplamaları, hücre iskeletleri
Kalsiyum sülfat	Kemik aşıları
Karbon	Kalp kapakçığı kaplamaları, ortopedik protezler
Cam	Kemik aşıları, dental dolgular
Naylon	Trekeal tüpler, sindirim sistemi segmentleri
Silikon	Parmak eklemleri, yapay deri, göğüs protezleri, göziçi lensler, kataterler
Polyester	Emilebilir dikiş , hücre iskeletleri, ilaç taşıyıcılar
Polietilen	Kalça ve diz protezleri, yapay tendonlar, vasküler graftlar, yüz implantları
Polimetil metakrilat	Kemik dolguları, göziçi lensler
Polivinil klorid	Yüz protezleri
Kolajen	Hücre iskeletleri

2.3. Biyomalzemelerden Beklenen Özellikler

Bir önceki bölümde yapılan biyomalzemeler prostetik, teşhis ya da tedavi amaçlı kullanılan, vücut içerisinde doku, kan ve diğer vücut sıvıları ile temas halinde olan doğal veya sentetik olarak elde edilebilen ve canlıyı olumsuz olarak etkilemeyen malzemelerdir tanımından yola çıkılarak bu malzeme melerden beklenen özellikler sıralanabilir. Biyomalzemeler sürekli veya aralıklı olarak vücut sıvılarıyla temas eder ve mekanik yüklemelere maruz kalırlar [14]. Bu nedenle, tasarlandığı fonksiyon için uygun kayma ve elastik modülü, çekme ve basma mukavemetinin yanında kimyasal ve ısıl dayanıma sahip olmalıdır. Ayrıca biyoyumlu yani, temasta olduğu doku ve vücut sıvılarına zarar vermemelidir. Bazı uygulamalar için aranan bir diğer özellik ise dokularla etkileşim oluşturabilmesi ve implantı bulunduğu konumda sabit tutabilmesidir [15]. Biyomalzemelerin sahip olması gereken bir diğer kritik unsur ise biyoaktivite ve yorulma dayanımıdır. Bunun yanı sıra dental, göziçi veya deri uygulamaları için uygun optik özellikler gerekir. Makul yoğunluk ve tasarım, steril edilebilme, işlenebilme ve uzun süre depolanabilme diğer önemli özelliklerdir [17]. Bu bölümde biyomalzemelerden beklenen başlıca özellikler incelenmiştir.

2.3.1. Biyoyumluluk

İnsan vücudunda bulunan sıvıların pH değeri yaşamın devamlılığı için asidik ve bazik bir dengede seyretmelidir. Bunu sağlayan ise vücut sıvılarımızdaki hidrojen iyon konsantrasyonudur. Hidrojen iyon konsantrasyonu arttığı takdirde ortam asidik, azaldığında ise bazik olacaktır. Sağlıklı bir bireyin hücre dışı pH seviyesi 7.35 ile 7.45 arasındadır. İnsan vücudunda bulunan diğer sıvıların pH seviyeleri ise, hücre içinde 6.9-7.2, idrarda 6.0, mide sıvısında 1.0-2.0, bağırsak sıvısında 6.6-7.6, safrada ise 5.0-6.0 arasında değişmektedir [16]. Anlaşıldığı üzere vücuda implante edilecek herhangi bir malzeme hedef dokunun içerdiği veya çevrelendiği sıvının pH seviyesine uygun tasarlanmalı ve sıvı tarafından olumsuz etkilenmemelidir. İnsan vücudundaki kemikler günlük hayatta yaklaşık olarak 4 MPa, tendonlar 40 ila 80 MPa değerinde gerilmelere maruz kalırlar. Örneğin bir kalça sürekli tekrarlanır [14].

Vücut-biyomalzeme etkileşimleri çift yönlüdür; her ikisi de kullanım sırasında birbirlerini etkilemektedirler. Dolayısıyla biyomalzemeler bireylere implante edilmeden önce her iki açıdan oldukça dikkatli olarak incelenmelidir [13]. En genel olarak, biyoyumluluk, malzemenin çevrelendiği doku, organ ve eklemlerde istenmeyen bir reaksiyona sebep olmaması ve bu yapıların normal gelişimlerini engellemesidir [17]. Çevrelendiği doku ve organlar tarafından kabul edilebilme olarak da tanımlanabilir. Biyoyumlu bir malzeme çevrelendiği dokuda efeksiyona, inflamasyona, alerjik reaksiyona, ve kanser oluşumuna sebebiyet vermez [9]. Bir malzemenin biyoyumlu olup olmadığının anlaşılması yaşayan organizmada yapılan testler sonucunda hassaslaşma, enfeksiyon, deri reaksiyonu, genotoksisite, hemokompatibilite, karsinojenite ve biyolojik bozunma parametreleri ile anlaşılır [17]. 1950'li yıllara kadar uygulanan implantların çoğu biyoyumluluk ve sterilizasyonun tam olarak anlaşılmasında nedeniyle başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Yaşayan organizma (in vivo) üzerinde ilk kez H. S. Levert 1829 yılında çalışmalar yapmıştır. Altın, gümüş, kurşun ve platinden ürettiği biyomalzemeleri köpekler üzerinde deneyen H. S. Levert, bu malzemeler içinde en uygun olanının platin olduğuna karar vermiştir. 1886 yılında nikel kaplamalı çelikten ortopedik plaka ve vidalar tedavi amaçlı kullanılmıştır. 1924 yılında ise A. Zierold köpekler üzerinde yaptığı çalışma sonucunda demir ve çeliğin çok hızlı korozyona uğrayıp komşu kemikte emildiğini, bakır, magnezyum ve nikelin dokularda renk değişimlerine sebep olduğunu, altın, gümüş, ve alüminyumun uygun olduğunu ancak mekanik olarak yeterli olmadığını görmüştür [11]. Eklemdeki ortalama yük bireyin vücut ağırlığının 10 katına kadar çıkabilir ve hareketlere bağlı olarak.

2.3.2. Korozyon direnci

İnsan vücudu korozyon açısından oldukça agresif bir ortamdır. Sulu bir ortam olmasının yanı sıra anyon, katyon (Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^- , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) ve proteinlerce zengindir. Biyoaktiviteden önce aranması gereken özellik malzemenin korozyona dirençli olmasıdır [18]. Bu durum metalik biyomalzemelerde korozyon riskini artırmaktadır. Metalik biyomalzemenin korozyona uğraması, implantın mekanik özelliklerinin zayıflaması, konumunun değişmesi ve çevrelendiği organ veya

dokular için zararlar ile sonuçlanabilir [9]. Vücut içinde korozyonu engellemenin etkili yolu metalik malzeme üzerinde oksit tabakası oluşturmaktır [19]. Bir malzemenin biyomalzeme olarak kullanılması için öncelikle korozyon direnci araştırılmalıdır. Örneğin, altın dental uygulamalarda kullanılabilmesine rağmen zayıf mekanik özellikleri ve yüksek yoğunluğu sebebiyle ortopedik uygulamalarda kullanılamamaktadır. Korozyon direnci söz konusu olduğunda akla gelen ilk biyomalzeme titanyumdur. Yüzeyinde korozyona uğramasını engelleyen ve fizyolojik koşullarda bunu koruyabilen pasif bir tabaka oluşturur. Mükemmel yakın korozyon direncinin yanında titanyum, çelik ve kobalt-krom alaşımları kadar sert ve dayanıklı değildir. Kobalt-krom alaşımları da yüzeylerinde pasif bir tabaka bulundururken titanyum gibi fizyolojik koşullarda korozyona dayanıklıdır ve ortopedik uygulamalarda kullanılırlar. Paslanmaz çeliklerin yüzeyinde bulunan pasif tabaka ise titanyum ve kobalt-krom alaşımlarındaki kadar dayanıklı değildir [9]. Bir implantın korozyona uğraması durumunda hastada ağrı ve şişlik belirtileri ortaya çıkar. Cerrahi gözlemlerde ise implantı çevreleyen dokuda renk değişimi ve metal parçacıklarına rastlanabilir. Korozyon ortopedik implantlarda rastlanan mekanik hasarlarda da kritikrol oynamaktadır ve yorulma hasarları vücut sıvısı gibi tuzlu ortamlarda artış göstermektedir.

2.3.3. Biyoaktivite

Vücut içerisine yerleştirildiğinde, malzeme-doku ara yüzeyinde kendine özgü biyolojik bağ oluşturabilen malzemelere biyoaktif malzemeler denir. Bağın oluşma süresi, kuvveti ve mekanizması biyomalzemelere göre farklılık gösterebilir [18]. Malzeme-doku arayüzeyinde oluşan bağ, doku tipi, yaşı, sağlığı, doku içi kan sirkülasyonu, ara yüzey hareketliliğine bağlıdır. Ayrıca implant bileşimi, implantın yüzey morfolojisi, gözeneliliği, faz sayısı ve mekanik yüklemeye göre de değişim gösterebilir. Biyoaktivitesi en yüksek malzemeler seramik ve cam-seramiklerdir [14]. Prostetik uygulamalardan kullanılacak malzemeler uygun mekanik özelliklerinin yanında biyoaktif de olmalıdırlar. Biyoaktivitenin tayini için yapay olarak laboratuvar ortamında (in vitro) hazırlanmış vücut sıvısı kullanılır. Malzeme eğer biyoaktif ise belli bir sürenin sonunda yüzeyinde apatit tabakası oluşmaya başlayacaktır [18].

2.3.4. Uygun mekanik özellikler

Biyomalzemeler uygun kimyasal ve biyolojik özelliklerinin yanısıra uygulandıkları bölgeye münasip mekanik özelliklere sahip olmalıdırlar. İmplant ile doku, kemik veya organların mekanik özelliklerinin uyuşmaması durumunda hasta vücudunda geçici veya kalıcı zararlar oluşacaktır. Bu nedenle, ortopedik imlantların mekanik özelliklerinin kemiğe oldukça yakın olması istenmektedir. İnsan vücudunda bulunan kemikler kortikal ve trabeküler kısımlardan oluşmakta ve hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ile trikalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) içermektedir. Bu kemikler gözenekli bir yapıda olup doğal kemik iliği ile doldurulmuş vaziyettedirler. Kemiklerde bulunan gözeneklerin boyutları 100 ile 500 μm arasında değişmektedir. Ayrıca yapısında bulunan kolajen esnekliği ile HA'nın gevrek kırılmasını engellerken, HA ise kolajenin plastik deformasyona uğramasını engeller. Kullanılan biyomalzeme ile çevrelendiği veya temas halinde olduğu doku, organ ve kemiklerin mekanik özelliklerinin çok farklı olması durumunda hem dokularda hem de biyomalzemede hasarlar oluşacaktır. Örneğin, vücuda implante edilen protezin mukavemetinin çevrelendiği kemiğin mukavemetinden çok fazla olması gerilme yığılmasına sebep olur [19]. Tablo 2.2.'de insan kemiğinin mekanik özellikleri ve yaşa göre değişimi verilmiştir. Tablo 2.3.'de ise hidroksiapatitin mekanik özellikleri verilmiştir. Tablo 2.4.'de ise kemik, diş ve bazı biyomalzemelerin mekanik özellikleri karşılaştırılmıştır [21].

Tablo 2.2. İnsan kemiğinin mekanik özellikleri ve yaşa göre değişimi [20].

	Kırılma Yükü (kg)	Kopma Dayanımı (kg/mm^2)	Kopma Uzaması (%)	Elastik Modül (kg/mm^2)	Yoğunluk (g/cm^3)
Genç	73.03	10.27	1.73	1766	1.93
Yaşlı	61.87	7.73	1.27	1500	1.80

Tablo 2.3. Hidroksiapatitin mekanik özellikleri [19].

Elastisite modülü (GPa)	4.0–117
Basma mukavemeti (MPa)	294
Eğilme mukavemeti (MPa)	147
Sertlik (Vickers, GPa)	3.43
Yoğunluk (teorik, g/cm ³)	3.16

Tablo 2.4. Kemik, diş ve bazı biyomalzemelerin mekanik özellikleri [21].

Malzeme	Elastik Modül (GPa)	Yoğunluk (g/cm ³)	Mukavemet(MPa)
Sert organ, diş, kemik	17	1,8	130 (çekme)
Diş Dentini	18	2,1	138 (basma)
Diş Minesi	50	2,9	-
Polimerler	1-3	0,94-1,18	30-65 (çekme)
Metaller	110-230	4,5-8,3	660-1800
Kompozitler	10-215	1,55-1,63	570-1240 (çekme) 170-260 (basma)

2.3.5. Uygun tasarım

Kimyasal, biyolojik ve mekanik özellikleri ile yeterli olan bir biyo malzeme uygun tasarlanmadığı takdirde uygulandığı bölgede beklenmedik hasarlara sebep olacaktır. Spesifik uygulama alanlarına özel tasarlanmayan malzemeler kullanım esnasında yorulma ve aşınma gibi önemli hasar mekanizmalarının devreye girmesiyle vücuda zarar verirler. Bu nedenle uygun tasarım biyo malzemelerin sahip olması gereken kritik özelliklerdendir [21].

2.4. Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

2.4.1. Metalik biyomalzemeler

Metaller biyomalzemelerde en çok tercih edilen malzemelerdir [13]. İnsan vücudunda kullanılmak üzere üretilen ilk metalik biyomalzeme 1910'ların başında W.D. Sherman'ın vanadyum çeliğinden geliştirdiği ve kendi ismi ile anılan Sherman plakasıdır. Biyomalzeme üretiminde kullanılan diğer metaller; demir, bakır, krom, kobalt, titanyum, tantalyum, niobyum, molibden, platin, altın, gümüş ve tungstendir. Ancak bu metaller vücut içerisinde sınırlı miktarda kullanıldığı takdirde insan sağlığı için bir tehlike arz etmez. Vücut sıvısı metaller için oldukça korozif bir ortam olduğundan biyomalzeme olarak kullanılması planlanan metal oldukça hassas seçilmelidir. Metaller üstün mekanik ve kimyasal dayanımları nedeniyle günümüzde ortopedik protezlerde en çok kullanılan malzemelerdir [9]. Medikal uygulamalarda malzeme seçimi oldukça kritik ve karmaşıktır. Kimyasal ve mekanik özelliklerin yanında biyolojik gereksinimler göz önünde bulundurulmalıdır. Metalik malzemelerin diz ve kalça protezleri, kemik plakaları, omurga füzyonu cihazları olarak kullanabilmelerinin sebebi mekanik ve biyolojik gereksinimlere cevap verebilmeleridir. Ayrıca metallerin seramik ve polimerlere kıyasla üstün dayanım, süneklilik ve işlenebilme gibi birçok avantajı vardır. Metaller, alternatifleri olan çoğu doğal biyomalzemeye göre yüksek yoğunluk ve dayanıma sahiptir. Metalik biyomalzemeler döküm, bilgisayar destekli tasarım ile işleme ve toz metalurjisi yöntemleri ile üretilebilirler [22]. Günümüzde kullanılan önemli metalik biyomalzemeler paslanmaz çelik, titanyum/titanyum alaşımları ve kobalt-krom alaşımlarıdır [17]. Biyomalzeme yapımında kullanılan paslanmaz ilk çelik 302 kalite çeliktir ve vanadyum çeliğinden hem mekanik özellikler hem de korozyon direnci açısından daha üstündür. Vanadyum çeliğinin, yaşayan organizmalarda (in vivo) gerçekleştirilen testler sonrası korozyon direncinin uygun olmadığını saptanmış ve biyomalzemelerde kullanılmasına son verilmiştir. Daha sonra tuz içeren sulu ortamlarda korozyon direncini artırmak amacıyla molibden ilaveli paslanmaz çelik kullanılmıştır. Bu alaşım 316 paslanmaz çelik olarak bilinmektedir. 1950'lerde 316 paslanmaz çeliğinin karbon oranı daha üstün korozyon direnci sağlamak amacıyla

%0.08'den %0.03'e düşürülmüştür. Bu yeni alaşıma ise '316L paslanmaz çelik' denmiştir. Östenitik paslanmaz çelikler biyomalzeme üretiminde en çok tercih edilen çelik grubudur [1]. % 16-30 krom, % 10-25 nikel, %7'ye kadar molibden, % 0.40'a kadar karbon ve düşük miktarda mangan titanyum, niobyum, bakır ve tantalyum gibi diğer alaşım elementlerini içermektedirler [21,22]. Östenitik çeliklerin içerdiği nikel östenit fazını sabitleyici ve korozyon direnci sağlar. Tablo 2.5.'de implant uygulamalarında kullanılan 316L paslanmaz çeliğin mekanik özellikleri verilmiştir. Korozyona oldukça dayanıklı olan bu çelikler yüksek gerilme altında ya da oksijence fakirleşmiş bölgelerde korozyona uğrayabilirler [9]. Şekil 2.3.'de paslanmaz çelik implant uygulamalarına ait örnekler gösterilmiştir [13].

Tablo 2.5. İmplant uygulamalarında kullanılan 316L paslanmaz çeliğin mekanik özellikleri [9].

İşlem	Maksimum Çekme Gerilmesi (MPa)	Akma Mukavemeti (MPa)	Uzama (%)
Tavlanmış	485	172	40
Soğuk işlenmiş	860	690	12



Şekil 2.2. Paslanmaz çelik implant uygulamalarına ait örnekler [13].

Paslanmaz çelik haricinde kullanılan metallere bir diğeri kobalt-krom alaşımlarıdır. Kobalt-krom alaşımları kobalt-krom-molibden ve kobalt-krommolibden-nikel içeren alaşımlar olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Bunlardan ilki dökülebilir iken ikincisi dövülerek üretilmektedir [9]. ASTM'ye göre biyomalzeme olarak kullanılacak dört tane kobalt-krom alaşımı vardır; F75, F90, F562, F563. Bu alaşımların mekanik özellikleri Tablo 2.6.'da gösterilmiştir. Kimyasal bileşimleri ise Tablo 2.7.'de verilmiştir.

Tablo 2.6. Kobalt-krom alaşımları mekanik özellikleri [9].

Özellik	F75(CoCrMo)	F90(CoCrWNi)	F562(CoNiCrMo)
Çekme Mukavemeti (MPa)	655	860	793-1000
Akma Mukavemeti (MPa)	450	310	240-655
Uzama (%)	8	10	50
Kesit Alanı Daralması (%)	8	-	65
Yorulma Dayanımı (MPa)	310	-	-

Tablo 2.7. Kobalt-krom alaşımları kimyasal bileşimleri [9].

Element	F75		F90		F562		F562	
	En az	En çok	En az	En çok	En az	En çok	En az	En çok
Cr	27.0	30.0	19.0	21.0	19.0	21.0	18.0	22.0
Mo	5.0	7.0	-	-	9.0	10.5	3.0	4.0
Ni	-	2.5	9.0	11.0	33.0	37.0	15.0	25.0
Fe	-	0.75	-	3.0	-	1.0	4.0	6.0
C	-	0.35	0.05	0.15	-	0.025	-	0.0
Si	-	1.0	-	1.0	-	0.15	-	0.5
Mn	-	1.0	-	2.0	-	0.15	3.0	4.0
W	-	-	14.0	16.0	-	-	3.0	4.0
P	-	-	-	-	-	0.015	-	-
S	-	-	-	-	-	0.010	-	0.1
Ti	-	-	-	-	-	1.0	0.50	3.5

Kobalt-krom alaşımlarında bulunan molibden elementi daha ince taneli bir yapı oluşturmaya yardımcı olarak malzemeye yüksek mukavemet sağlar. Krom, dayanımın yanısıra korozyon direncine katkıda bulunur [9]. Nikel ilavesi ise malzemenin yorulma direncini artırarak kullanım ömrünü uzatmaktadır. Kobalt-krom alaşımları paslanmaz çelik biyomalzemeler ile kıyaslandığında daha üstün mekanik özellikler ve talaşlı işlenebilme özelliğine sahiptirler. Şekil 2.4.'de kobalt-krom alaşımından imal edilmiş kalça protezi gösterilmiştir [23].



Şekil 2.3. kobalt krom alaşımından imal edilmiş kalça protezi.

Aşınma veya korozyon sonucu implanttan serbest kalan metalik malzemeler organ ve dokulara zarar vermektedirler. Yapılan deneyler sonucu kobaltın insan kemik hücrelerine zarar verdiği saptanmıştır [9].

Titanyumun biyomalzeme olarak kullanılmaya başlanması 1930'lara rastlamaktadır. Kediler üzerinde yapılan deneylerde kalça kemiklerine yerleştirilen titanyum implantların vücuda zarar vermediği keşfedilmiştir. Ayrıca 4.5 g/cm^3 olan düşük yoğunluğu ve üstün mekanokimyasal özellikleri biyomalzeme olarak kullanılmasına olumlu katkılar sağlamıştır. Ticari olarak kullanılan alaşımlandırılmamış titanyum (ASTM F67) dört ayrı derecede üretilir. Bunları birbirinden ayıran oksijen, demir ve azot gibi elementlerin malzeme içerisindeki oranlarıdır. Özellikle oksijen süneklik ve mukavemet üzerinde büyük etki sahibidir. Tablo 2.8.'de bazı implantların özgül ağırlıkları gösterilmiştir [9].

Tablo 2.8. Bazı implant malzemelerinin özgül ağırlıkları [9].

Alaşım	Yoğunluk (g/cm^3)
Titanyum ve alaşımları	4,5
316 Paslanmaz Çelik	7,9
CoCrMo	8,3
CoNiCrMo	9,2
NiTi	6,7

Biyomalzeme olarak en yaygın kullanılan titanyum alaşımı Ti6Al4V (ASTM F136) alaşımıdır. Başlıca alaşım elementleri alüminyumve vanadyum'dur. 550 MPa'lık yorulma direnci kobalt-krom alaşımından üretilmiş implantlara çok yakındır [1]. Tablo 2.9.'da ise titanyum ve Ti6Al4V alaşımının kimyasal bileşimleri verilmiştir [9].

Tablo 2.9. Titanyum ve Ti6Al4V Alaşımının kimyasal bileşimleri (% ağırlık) [9].

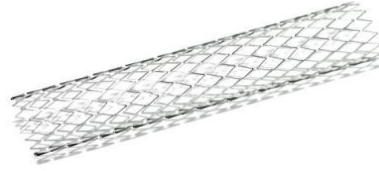
Element	Derece 1	Derece 2	Derece 3	Derece 4	Ti6Al4
N	0,03	0,03	0,05	0,05	0,05
C	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08
H	0,015	0,015	0,015	0,015	0,01
Fe	0,20	0,30	0,30	0,50	0,25
O	0,18	0,25	0,35	0,40	0,13
Diğer elemntler	< %4,0	< %4,0	< %4,0	< %4,0	< %4,0
Ti	Geriye kalan	Geriye kalan	Geriye kalan	Geriye kalan	Geriye

Titanyum allotropik dönüşüme sahip bir malzemedir. 882°C'ye kadar hegzagonal sıkı paket (α -Ti) yapısını korurken bu sıcaklığın üzerinde hacim merkezli kübik (β -Ti) yapıya dönüşür. Titanyum alaşımlandırılarak ve termomekanik işlemler ile mukavemet kazandırılabilen bir malzemedir. Alüminyum titanyumun dönüşüm sıcaklığını yükselterek α fazını stabilize ederken, vanadyum β fazını stabilize edici yönde etki eder. Alüminyum katkısı ayrıca mekanik özelliklerini iyiden mükemmele yakın seviyeye çıkarırken yüksek sıcaklıklarda (300-600 °C) oksidasyon direnci de kazandırır [9]. Bir diğer titanyum alaşımı olan Ti13Nb13Zr, %13 niobyum (Nb) ve %13 zirkonya (Zr) içerir. Su verilme sonrası martenzit yapıya sahip olan bu alaşım yüksek krozyon direnci ve düşük elastik modüle sahiptir. Titanyum ve alaşımlarının mekanik özellikleri Tablo 2.10.'da verilmiştir [9].

Tablo 2.10. Titanyum ve alaşımlarının mekanik özellikleri [9].

Özellik	Derece 1	Derece 2	Derece 3	Derece 4	Ti6Al4V	Ti13Nb13Zr
Çekme Mukavemeti(MPa)	240	345	450	550	860	1030
Akma Mukavemeti(MPa)	170	275	380	485	795	900
Uzama(%)	24	20	18	15	10	15
Kesit Daralması	30	30	30	25	25	45

Ticari saf titanyum ve Ti13Nb13Zr dışındaki alaşımlarının elastik modülü yaklaşık olarak 110 GPa'dır. Üstün biyouyumluluk ve korozyon direncinin yanında titanyum, düşük kayma mukavemetine sahiptir. Bu nedenle kemik içi vidalar, plakalar ve benzer uygulamalar için tercih edilmezler [9]. Titanyum alaşımlarından titanyum-nikel alaşımlarının en önemli özelliği sıcaklık ile şekil değiştirebilmeleridir. Titanyum-nikel alaşımlarının bu özelliği ilk kez Buehler ve Wiley 1963 yılında gözlemlenmiştir [9]. Şekil hafızalı bu alaşımlar ortodontik teller, yapay kalplerde kullanılmak üzere yapay kaslar, stentler ve ortopedik kelepçelerde kullanılmaktadırlar. Şekil 2.5.'de titanyum stent ve Şekil 2.6.'da titanyum diş protezi gösterilmiştir [24,25].



Şekil 2.4. Titanyum stent [24].



Şekil 2.5. Titanyum diş protezi [25].

Çelik, kobalt-krom alaşımları ve titanyum dışında biyomalzeme olarak kullanılan metaller tantalyum, altın, platin grubu metaller (Pt, Pd, Rh, Ir, Ru ve Os), bakır, nikel,

gümüş, civa ve alüminyumdur. Ancak mekanik veya kimyasal dezavantajlarından dolayı yeni nesil biyomalzemelerin keşfinden sonra kullanımları oldukça azalmıştır [9]. Tantalyumun mekanik dayanımı düşük, yoğunluğu yüksektir. Platin grubu metaller çok üstün korozyon direncinin yanında oldukça düşük mekanik özelliklere sahiptirler [22].

2.4.2. Polimerik biyomalzemeler

Polimerik biyomalzemeler prostetik, optik, dental ve ilaç salınımı gibi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. En büyük avantajları metal ve seramiklere göre karmaşık şekillerde üretilibilmeleridir. Polimerik biyomalzemelerden beklenen özellikler diğer biyomalzemeler gibi biyouyumluluk, uygun mekanik ve kimyasal özellikler, steril edilebilme ile işlenebilmedir [9]. Biyomalzemelerin önemli bir sınıfını teşkil eden polimerler yapı ve özellik olarak geniş bir dağılıma sahiptirler. Temel olarak kovalent bağlı moleküllerden oluşan bu yapılar ikincil bağları da bünyelerinde bulundurlar. Bu uzun zincirler kolayca bükülebilirler [15]. Polimerlerin fiziksel özellikleri kimyasal bileşimleri ve zincirlerin dizilimlerine oldukça bağlıdır. Bu da istenilen özellikte kolayca üretilibilmeleri demektir. Tablo 2.11.'de yaygın olarak kullanılan polimer biyomalzemeler ve uygulama alanları verilmiştir [9]. Doğal polimerler biyolojik olarak üretilirler. Proteinler, polisakkaritler ve polinükleotidler (DNA ve RNA) başlıca doğal polimerlerdir. Çözelti/jel, sünger, küre/mikroküre, tüp, membran ve toz formda üretilen doğal polimerler ilaç salınım sistemleri, ortopedik protezlerin kaplanması, kemik dolgu ve onarımı gibi alanlarda biyomalzeme olarak kullanılırlar. Sentetik polimerler ise kimyasal stabilite, korozyon direnci, yüksek mukavemet, düşük alerjenite ve uygun ilaç salınımı profili ile dolgu malzemesi, damar protezleri, kalp kapakçıkları, eklem, çene, burun ve dış kulak protezleri ve kalp pili gibi birçok uygulamada kullanılmaktadırlar [9,15].

Tablo 2.11. Polimer biyomalzemeler ve uygulama alanları [9].

Polimer Çeşidi	Uygulama
----------------	----------

Polivinilklorür (PVC)	Kan ve solüsyon torbası, diyaliz gereçleri, cerrahi paketler, kanül, katater şişesi
Polietilen (PE)	Katater, ortopedik implantlar
Polipropilen (PP)	Yapay damarlar, dikiş malzemeleri
Polimetil- metakrilat (PMMA)	Kemik dolgu malzemesi, göziçi lensler
Polistiren (PS)	Filtreler, doku kültür kapları
Polietilen-tereftalat (PET)	Dikiş ipi, yapay damarlar, kalp
Politetrafloroetilen (PTFE)	Katater, yapay damarlar
Poliüretan (PU)	Film ve boru sistemleri
Poliamid (Naylon)	Katater ve dikiş ipi

Polimerler sentetik veya doğal yollarla elde edilebilirken, sentetik polimerler mekanik açıdan daha elverişli olsa da doğal polimerler biyoyoumlu ve biyoçözünürdür. Ancak üretim kısıtlamaları mevcuttur. Sentetik ve doğal biyomalzemelerin olumlu katkılarından birlikte faydalanılması için bu malzemeler karıştırılmasıyla yeni malzemeler geliştirilmiştir. Böylelikle hem termal ve mekanik özellikler açısından üstün hem de biyoyoumluluk bir malzemedeki toplanmıştır. Doğal olarak hayvanlardan elde edilen polimerler çitosan, kolajen, çitin, keratin, elastin ve ipektir [21]. Metal ve seramik biyomalzemelere göre daha kolay işlenmeleri, ekonomik olmaları, geniş yelpazede kimyasal ve fiziksel özelliklerde üretilebilmeleri gibi avantajlarının yanında zayıf mekanik özellikleri, zor steril edilmeleri ve kullanımları sırasında sağlığa zararlı bazı kimyasallar açığa çıkarmaları polimerlerin biyomalzeme olarak kullanılmasını kısıtlar. Sıklıkla kullanılan polimer biyomalzemeler; polivinilklor (PVC), polistiren (PS), polietilen (PE), poliamid ve polipropilen (PP)'dir [26,27].

2.4.3. Kompozit biyomalzemeler

Kompozit kavramı, iki veya daha fazla, birbirinden kimyasal ve fiziksel olarak ayrı malzemenin üstün özelliklerinden yararlanılmak üzere bir araya gelerek ihtiva ettiği malzemelerden daha üstün özelliklere sahip yeni malzemeyi tanımlamakta kullanılmaktadır [28]. Biyomalzeme olarak üretilen kompozitlerde de bileşenlerin üstün mekanik ve biyolojik özelliklerin faydalanılması esastır [27]. Kompozit biyomalzemeler polimer matrisli kompozitler, metal matrisli kompozitler ve seramik matrisli kompozitler olmak üzere üç grupta toplanabilir. Metal matrisli kompozitlere HA katkılı titanyum matrisli kompozitler, polimer matrisli kompozitlere polietilen

matrisli HA katkıli kompozitler, seramiklere ise HA matrisli paslanmaz çelik katkıli kompozitler örnek olarak gösterilebilir. Kompozit biyomalzemeler, biyo-inert, biyoaktif ve çözünebilir olabilirler [26]. Kemik dokusu, damar sistemi, kalp kapakçıkları ve sinirdoku sistemlerinde kompozit biyomalzemeler kullanılmakta ve kullanımları giderek artmaktadır [29].

2.4.4. Seramik biyomalzemeler

Seramikler yapılarında bulunan bağlar ve sahip oldukları az sayıda kayma sistemleri nedeniyle sert ve kırılındırlar. Bu nedenle tarihte birçok uygulamaları bulunmasına rağmen biyomalzeme olarak kullanılmaları son yüzyıla kadar yaygınlaşmamıştır. Yeni geliştirilen üretim teknikleri ile birlikte seramikler biyomalzeme olarak kullanılmaya başlanmıştır [9]. Seramiklerin karakteristik özellikleri sert, kırılğan, gözenekli, korozyona ve vücut sıvılarına dirençli, yüksek basma mukavemetli ve biyouyumlu olmalarıdır. Bu özellikleri sayesinde ortopedik, dental ve kalp ile ilgili uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Seramik malzemenin biyomalzeme olarak kullanılması için, toksik olmaması, kanserojen olmaması, alerjik olmaması, biyouyumlu olması, uygulandığı bölgede etkin bir foksiyona sahip olması gerekmektedir [9].

2.4.4.1. Alümina (Al_2O_3)

Oksit biyoseramikler sınıfında yer alan alümina yüksek yoğunluk, korozyon direnci, yüksek dayanım ve biyouyumluluk özellikleri ile ortopedik ve dental uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda kullanılan kullanılan alümina polikristalin α - Al_2O_3 1600-1700°C'de sinterlenerek biyomalzeme halini alır. % 99.7 saflığa sahip alüminanın mekanik özellikleri Tablo 2.12.'de verilmiştir [30].

Tablo 2.12. % 99.7 saflığa sahip alüminanın mekanik özellikleri [30].

Özellik	Değer
---------	-------

Yoğunluk (g/cm^3)	3,96
Çekme Mukavemeti (MPa)	220
Eğme Mukavemeti (MPa)	410
Elastik Modül (GPa)	375
Kırılma Tokluğu (MPa.)	4-5

2.4.4.2. Zirkonya(ZrO_2)

Zirkonya yüksek kırılma tokluğu, yüksek mukavemet, kimyasal kararlılık, üstün aşınma ve korozyon direnci, yüksek sertlik, düşük ısı iletkenlik ve biyouyumluluk gibi özellikleri ile biyomalzeme olarak kullanılmaya elverişli bir malzemedir. Zirkonya oda sıcaklığında monoklinik, 1180 ile 1205°C arasında tetragonal, bu sıcaklığın üzerinde ise kübik yapıdadır. Bu yapılar arası geçiş, malzemede hacimsel olarak değişime neden olmakta ve üretim esnasında malzemede hasar oluşumuna sebep olmaktadır. Bunun engellenmesi kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), alüminyum (Al) ve ytriyum (Y_2O_3) ile zirkonyanın stabilize edilmesi ile sağlanabilir. Bu stabilizatörlerden en çok kullanılan ytriyumdur. Ytriyum ile stabilize edilen zirkonya oda sıcaklığında boyutsal kararlılığa ve yüksek mekanik dayanıma sahip olur [31]. Şekil 2.6.'de zirkonyadan imal edilmiş biyomalzemelere örnekler gösterilmiştir [32]. Tablo 2.13.'de zirkonyanın mekanik özellikleri sıralanmıştır [24]. Tablo 2.14.'de ise alümina ve zirkonya biyomalzemelerin sahip olması gereken özellikler gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Zirkonyadan imal edilmiş biyomalzemelere örnekler [32].

Tablo 2.13. Zirkonyanın mekanik özellikleri [31].

Özellik	Değer
Basma Dayanımı(MPa)	1700-2000
Elastik Modül(GPa)	195-210
Sertlik(HV)	1100-1200
Poisson Oranı	0.27
Yoğunluk(g/cm ³)	5.5-6.5

Tablo 2.14. Alümina ve Zirkonya Biyomalzemelerinin sahip olması gereken özellikler.

Özellik	Alümina	Zirkonya
Elastik modül(GPa)	380	190
Eğme direnci (GPa)	0,4	1,0
Sertlik (mohs)	9	6,5
Yoğunluk(g/cm ³)	3,8-3,9	5,95
Tane boyutu (µm)	4,0	0,6

2.4.4.3. Hidroksiapatit (HA)

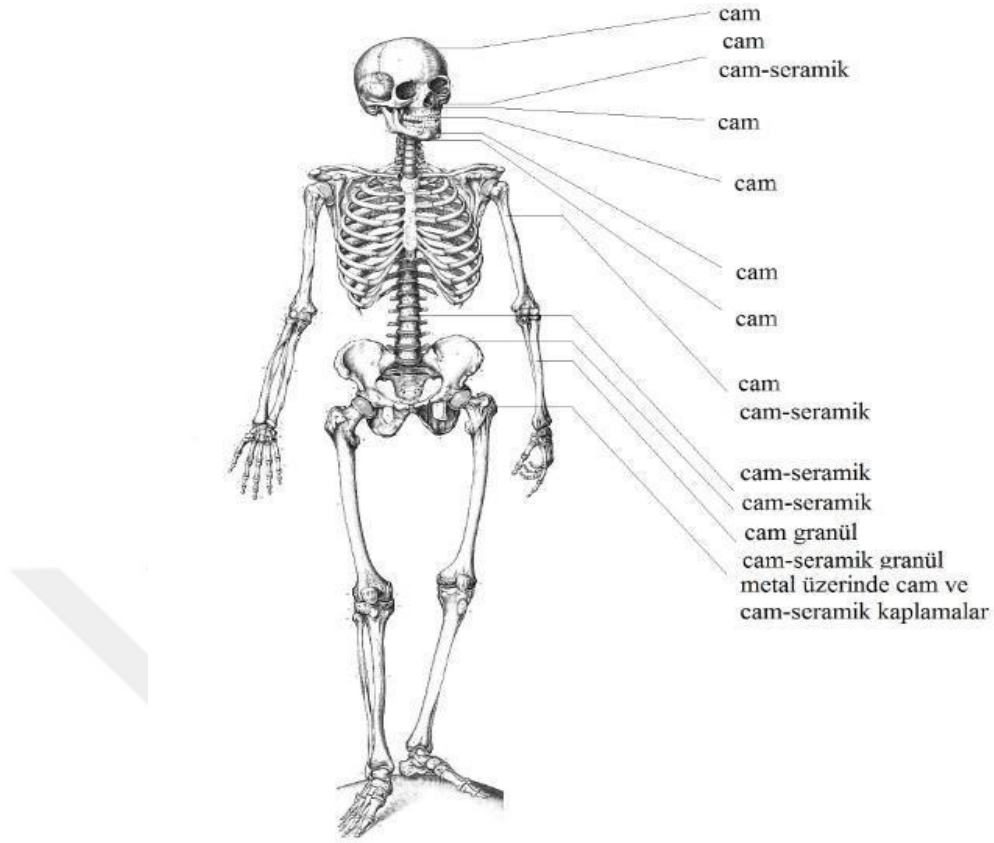
İnsan vücudunda bulunan kemikler kortikal ve trabeküler kısımlardan oluşmakta ve hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ile trikalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) içermektedir. Biyoseramiklerden biri olan ve biyoaktivitesinden dolayı kimyasal olarak canlı kemiğe bağlanabilen, mükemmel biyouyumluluğu ile bilinen ortopedik ve dental uygulamalarda kullanılabilen en popüler biyoseramik olan HA diş minesinin dokusunun inorganik yapısını oluşturan kalsiyum fosfat esaslı bir seramik olup, biyouyumluluğu nedeniyle yapay kemik olarak çeşitli protezlerin yapımında, çatlak ve kırık kemiklerin onarımında ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında kullanılmaktadır.

2.4.4.4. Trikalsiyum fosfat (TCP)

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ kimyasal formülüne sahip olan trikalsiyum fosfat α , β , γ ve α fazları olmak üzere dört şekilde kristalleşebilmektedir. Biyomalzemelerde görülen ve kullanılan fazları α - ve β - TCP fazlarıdır. Yapılan çalışmalar β - TCP fazının 1120- 1290 °C aralıklarında α - TCP fazına dönüştüğünü göstermiştir. TCP'nin Ca/P oranı 1.5'tir. Biyouyumlu bir seramik malzeme olan TCP en yaygın olarak kullanılan biyoseramiklerdendir. Ancak zayıf mekanik özellikleri geliştirilmelidir [21]. TCP granül, çimento ve blok şeklinde ortopedik ve dental tedavilerde kullanılmaktadır [23]. Ayrıca ilaç salınımı uygulamalarında da tercih edilmektedir [24].

2.4.4.5. Cam ve cam-seramikler

Cam ve cam seramikler biyoaktif ve biyo inert (temasta olduğu doku ile etkileşime girmeyen) olarak iki sınıfta incelenebilirler. Biyoaktif camlar ilk kez Hench ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Biyoaktif camlar ile temasta bulunduğu doku arasında oluşan HA tabakasının mukavemeti dokunun kohezif mukavemetine eşit veya büyük olmaktadır. Yapılan son çalışmalara göre ortalama kristal boyutu 30 μm ve ana kristal fazları $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ ile $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_5$ olan cam seramikler insan kol ve bacakları ile karşılaştırılabilen mukavemet değerlerine sahiptir. Şekil 2.7.'de biyoaktif cam ve cam-seramiklerin insan vücudundaki uygulamaları gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Biyoaktif cam ve cam-seramiklerin insan vücudundaki uygulamaları.

Ortopedik uygulamalarda kullanılan cam seramiklerden biri apatit-wolastonit (A-W) cam-seramiklerdir. Biyoaktif olan bu malzemeler $MgO-CaO-SiO_2$ cam matris içerisinde kristal apatit-wolastonit içerirler. İnsan kemiğine yakın çekme mukavemetine sahiptirler. Kokubo ağırlıkça % 34 SiO_2 , % 44.7 CaO , % 4.6 MgO , % 16.2 P_2O_5 ve % 0.5 CaF_2 kompozisyonlu bir apatit-wollastonit cam-seramik geliştirmiştir.

Biyoaktivite cam ve cam-seramiklerin bileşimlerine göre değişmektedir. Tablo 2.16.'da yaygın olarak kullanılan biyoaktif cam ve camseramiklerin % ağırlık olarak bileşimleri sıralanmıştır [33].

Tablo 2.15. Yaygın olarak kullanılan biyoaktif cam ve cam-seramiklerin % ağırlık olarak bileşimleri.

Malzeme	45S5 Biyocam	45S5-F Biyocam	45S5-B5 Biyocam	52S4.6 Biyocam	Ceravital	A-W Cam Seramik
SiO ₂	45,0	45,0	45,0	52,0	40-50	3 4
P ₂ O ₅	6,0	6,0	6,0	6,0	10-15	1 6
CaO	24,5	12,3	24,5	21,0	30-35	4 4
Na ₂ O	-	24,5	24,5	21,0	5-10	-
B ₂ O ₃	-	-	5,0	-	-	-
CaF ₂	-	12,3	-	-	-	0
K ₂ O	-	-	-	-	0,5-3,0	-
MgO	-	-	-	-	2,5-5,0	4
Al ₂ O ₃	-	-	-	-	-	-
TiO ₂	-	-	-	-	-	-
Ta ₂ O ₅	-	-	-	-	-	-

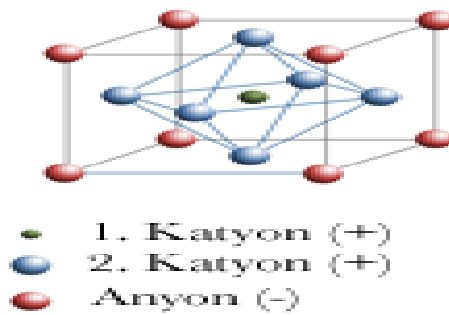
2.4.4.6. Magnezyum oksit (MgO)

Magnezyum insan vücudu için çok önemli bir elementtir. Kemik, protein, asit yapımında, B vitamini aktivasyonunda, kasların gevşeme hareketinde, kanın pıhtılaşmasında, adenozin trifosfat üretiminde aktif rol oynamaktadır. Ayrıca insülin salgılanması için magnezyuma gereksinim vardır. Magnezyum insan vücudunda en çok bulunan dördüncü elementtir. Bunun % 60'ı kemiklerde bulunmaktadır. Geri kalanı ise doku ve organları oluşturan hücrelerin içinde bulunmaktadır. Kanda bulunan magnezyum oranı yalnızca %1'dir. Yapılan çalışmalarda kemiklerin kırılabilirliğinin içerdikleri magnezyum oranıyla ilişkili olduğu saptanmıştır. Magnezyum eksikliğinde iskelet sistemi olumsuz etkilenmekte ve kemik gelişimi ile osteoblastik aktivitede düşüş meydana gelmektedir [35].

Tablo 2.16.'de magnezyum oksitin genel özellikleri verilmiştir [35,36]. Şekil 2.12.'de ise kristal yapısı gösterilmiştir [35].

Tablo 2.16. Magnezyum oksitin genel özellikleri [35,36].

Özellik	Değerler
Kristal yapısı	Yüzey merkezli kübik (a: 4.216 Å)
Yoğunluk (g/cm ³)	3.58
Kaynama noktası (°C)	3600
Erime noktası (°C)	2852
Basma direnci (MPa)	2200-2600
Sertlik (HV)	910
Elastik modülü (GPa)	250
Çözünürlük	0.00062 g/100 g su



Şekil 2.8. MgO' in kristal yapısı [35].

Karmaşık yapıda olan ortopedik dokuların yapay olarak üretilmesi, uygun mekanik, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip malzemelerin eksikliğinden dolayı oldukça zordur. Bir başka problem ise vücuda yerleştirilen implantın bakteriyel enfeksiyon sonucu ikincil ameliyatlara, implant hasarları veya enfeksiyonun vücuda yayılması gibi insan sağlığını tehdit edici yönde sonuçlar doğurmasıdır. Magnezyum oksit biyoyumlu, antibakteriyel ve uygun mekanik özellikleri ile ortopedik biyomalzeme olarak gelecek vadeden bir malzemedir. Taneboyutu küçüldükçe antibakteriyel özelliği artmakta olan bu malzeme gelişen üretim teknikleri ile birlikte biyomalzeme olarak kullanılmaktadır [37].

2.4. Biyomalzemelerin Uygulama Alanları

Şüphesiz biyomalzemeler ilk bakışta insan için geliştirilen malzemeler olarak algılanmasına karşın bunun veterinerlik uygulamalarında olduğu gibi klasik olarak adlandırılan sanayi uygulamalarında özellikle polimer teknoloji uygulamalarında da yerbulduğu bilinmektedir. Ancak bu malzemelerin insan gereksinmesine yönelik olduğu da unutulmamalıdır. Bu açıdan bakıldığında sağlık uygulamaları bu malzemelerin kullanımında ön planı almaktadır. Bu alan içinde;

1. Hastalıklı veya hasar görmüş kısımların yerine (diyaliz, protezler)
2. İyileşmeye yardımcı olmak (ameliyat ipliği, vidalar, teller)
3. Fonksiyonelliği arttırmak (Lens, kalp pili, işitme cihazı)
4. Kozmetik problemleri düzeltmek (diş teli, deri implantasyonu, silikon)
5. Tedaviye yardımcı olmak (katater, direnaj)
6. Teşhise yardımcı olmak (biyoalgılayıcılar, endoskopi, enjektör)

2.5.1. Ortopedi uygulamaları

Metalik, seramik ve polimerik biyomalzemeler ortopedi uygulamalarında, yoğun olarak kullanılmaktadır. Metalik malzemeler normalde sabitleme iğneleri, plakalar ve femoral kökler gibi yüke maruz kalan uygulamalarda kullanılmaktadır. HA ise implant uyumunu artırmaya yardımcı olan kemik bağı uygulamalarda kullanılmaktadır. Poroz alumina da hastalık nedeniyle önemli kısmı alınmış kemiklerin alınan kısmının yerine kemik arası hazne olarak kullanılmaktadır [38].

2.5.2. Dişçilik uygulamaları

Metalik biyomalzemeler dişçilik alanında kemiğe sabitlenen diş implantlarının sivri kısımları ve ortodonti cihazlarının parçaları olarak kullanılmaktadır. Seramikler alumina içeren diş implantları ve porselen dişlerde kullanılmaktadır. HA'le metalik sabitleme iğnelerinin kaplanması ve hastalık yada travma sonucu oluşan kemik

kayıplarında dolgu malzemesi olarak kullanılmaktadır. Polimerler de plaka ve takma diş gibi ortodonti uygulamalarında kullanılmaktadır [38].

2.5.3. Kardiyovasküler uygulamalar

Uygulama amacı ve tasarımına bağlı olarak pek çok farklı tür biyomalzeme kardiyovasküler uygulamalarda kullanılmaktadır. Örneğin kalp kapakçıklarında karbon kullanılmaktadır [38].

2.5.4. Estetik cerrahi uygulamaları

Silikon gibi malzemeler göğüs büyütme gibi estetik cerrahi uygulamalarında kullanılmaktadır [38].

BÖLÜM 3. HİDROKSİAPATİT

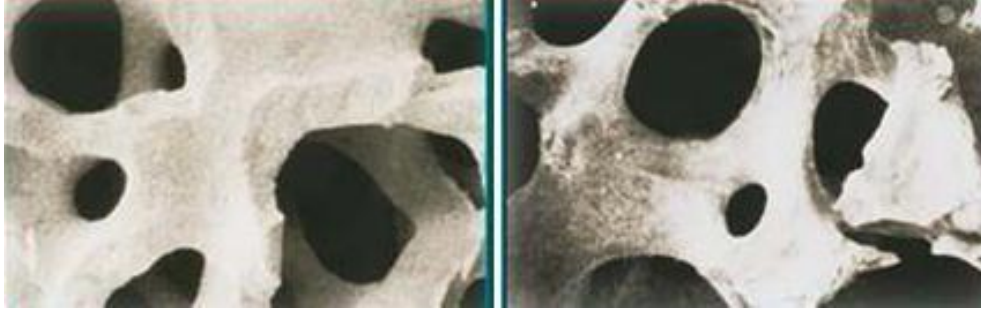
3.1. HA'nın Genel Özellikleri

Kemikler, dentin, diş minesi; HA, protein, diğer organik maddeler ve su içeren doğal kompozitlerdir. Kemik kollajen lifleri içerisine gömülmüş, düzgün sıralanmış, nanokristalin ve 25-50 nm uzunluğunda çubuksu yapıda inorganik malzemeler içeren, doğal bir organik-inorganik seramik kompozittir. Kemiğin yapısal sıralanışı daha öncede bahsedildiği üzere çeşitli hiyerarşik düzeylerden oluşur ve bileşenlerinin mekanik özelliklerini yansıtır. Diş minesi, bu dokular arasında en çok mineral içeren, en sert dokudur. Apatit, $M_{10}(RO_4)X_2$ genel kimyasal formülüne sahip bileşiklere verilen genel isimdir. Burada R genellikle fosfor, M genellikle Ca olmak üzere çeşitli metaller, X ise çoğunlukla hidroksit veya flor, klor gibi halojenlerdir. Mümkün olabilecek M, R ve X grupları Tablo 3.1.'de verilmiştir [39,40].

Tablo 3.1. Apatit $M_{10}(RO_4)X_2$ genel kimyasal formülünde M, R ve X yerine gelebilecek elementler [40].

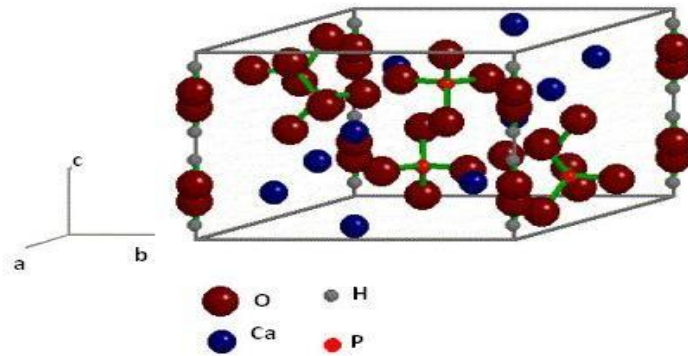
Grup	Element
M	Ca, Sr, Ba, Cd, Pb, Mg, Na, K vb
R	P, CO ₃ , V, As, S, Si, Ge, Cr, B vb
X	OH, CO ₃ , O, BO ₂ , F, Cl, Br, vb

Hidroksiapatit oldukça kompleks bir yapı olan kemik dokusunun inorganik bileşenine kimyasal olarak oldukça benzer olup, $Ca_{10}(OH)_2(PO_4)_6$ kimyasal formülüne sahiptir [41]. Doğal kemik dokusu ile HA'nın yapısı arasındaki benzerlik Şekil 3.1.'de verilen SEM görüntülerinden de anlaşılmaktadır [42].



Şekil 3.1. Kemik dokusu (sağda) ve hidroksiapatitin (solda) yapısının benzerliği [42].

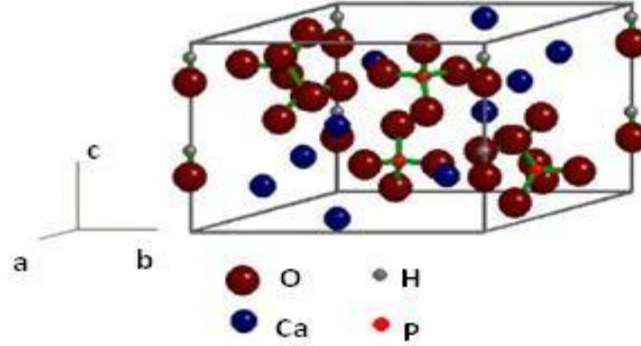
HA kristallerinin X-ışını incelemelerinden elde edilen birim hücre yapısı Şekil 3.2.'de gösterilmektedir. Hidroksil iyonları, birim hücrenin c-eksenine dik olacak şekilde paralel olarak yerleşmişlerdir. Bu birim hücre, $1/4c$ ve $3/4c$ 'deki iki ayna düzlemine bağlı olarak hidroksil iyonlarının bulunduğu bölgelerde düzensizlikler sergiler. Bu düzensizlik, birim hücre başına hidroksil iyonları sayısının iki katına çıkması ve her bir iyonun yarısının hücre boşluklarını doldurmasıyla sonuçlanır.



Şekil 3.2. HA kristallerinin birim hücre yapısı [43].

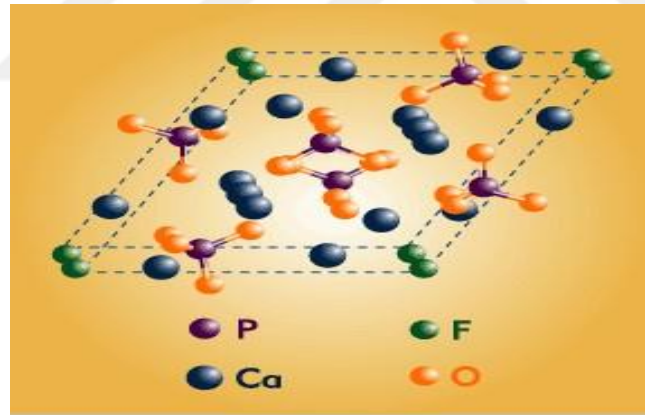
HA'ya kısmi bağlanmış OH^- grupları Şekil 3.3.'de görüldüğü üzere üst üste çakışır dahası HA yapısında bulunan bu iki OH grubu karşılıklı olarak birbirlerini iterler. Bu zorluğun üstesinden gelebilmek için süper HA kafesi olarak adlandırılan bir kafes yapısı kullanılır. Bu yapıda HA (44 atom) simetrik değildir ve OH^- gruplarının aşırısı çıkarılmıştır [43].

Hidroksiapatitin Ca/P oranı 1,67 olup, teorik yoğunluğu $3,156 \text{ g/cm}^3$ 'tür.



Şekil 3.3. OH^- gruplarının fazlasının çıkarıldığı süper HA kafes yapısı.

HA kristalleri, Şekil 3.4.'de $P6_3/m$ uzay kümesinden oluşan hekzagonal rombik (eşkenar dörtgen biçimi) prizma yapısındadır. Bu uzay kümesi, birbirine 120° 'lik açılarda bulunan, birbirine eşdeğer üç adet α -eksenine ($\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$) dikey doğrultuda bulunan c-ekseniyle tanımlanır [45].



Şekil 3.4. HA kristallerinin hekzagonal rombik prizma yapısı [45].

Hidroksiapatitin genel özellikleri aşağıdaki gibi sıralanabilir;

1. HA'in biyoyumluluğu yüksektir.
2. HA, sert dokularla doğrudan kimyasal bağ kurar. HA partiküllerinin ya da gözenekli blokların kemiğe yerleştirilmesi sonucunda 4–8 hafta içerisinde şekillenme oluşur.

3. HA gözenekli yapısı; hücrelerin, gözeneklerin içine doğru büyümesinden dolayı, dokuların implanta nüfuz etmesini sağlar. Ayrıca HA'nın yapısındaki gözenekler, bir kanallar sistemi gibi davranıp, kemik yapıya kanın ve diğer önemli vücut sıvılarının ulaşmasını sağlar.
4. Yapılan deneylerde HA implantların, öncelikle fibrovasküler doku ile kaplandığı ve zamanla bu dokudaki olgun lamellerin, kemiğe dönüştüğü tespit edilmiştir. HA'nın osteokondüktif özellikleri de implantların kemiğe sıkı yapışmasına ortam ve olanak sağlar.
5. Yapılan deneylerde HA implantların, öncelikle fibrovasküler doku ile kaplandığı ve zamanla bu dokudaki olgun lamellerin, kemiğe dönüştüğü tespit edilmiştir. HA'nın osteokondüktif özellikleri de implantların kemiğe sıkı yapışmasına ortam ve olanak sağlar.
6. Ayrıca HA'nın lokal büyüme faktörlerine, özellikle kemik proteinlerine karşı kuvvetli kimyasal bağlanma eğilimi olduğu saptanmıştır.
7. HA toksik olmayan özellikleri nedeniyle vücut reaksiyonları da minimum olmaktadır.
8. Oksijen ile tepkimeye girmediğinden yanmaz.
9. Elmasın sonra doğada bilinen en sert maddedir. Bu nedenle yalnızca elmasla aşındırılabilir.
10. Esnekliği az.
11. Kimyasal olarak kararlıdır. Organik çözücülerde ve asit haricindeki inorganik çözücülerde çözünmez.
12. Mekanik dayanımı düşüktür ve plastisitesi yoktur. HA'in sahip olduğu mekanik özellikler detaylı olarak Tablo 3.2.'de verilmiştir [46,47].

Tablo 3.2. Saf HA'nın mekanik özellikleri [48].

Elastik Modül (GPa)	40-100
Basma Dayanımı (MPa)	29
Eğilme Dayanımı (MPa)	147
Sertlik (Vickers)	6,08
Yoğunluk (teorik, g/cm ³)	3,156

3.2. Üretim Yöntemleri

Literatürde HA kristallerinin sentezlenmesine ilişkin pek çok yöntem bulunmaktadır. HA, genel olarak, çöktürme, sol-jel, mikroemülsiyon, hidrotermal ve mekanokimyasal yöntemlerle sentezlenmektedir [49].

3.2.1. Çöktürme yöntemi ile HA sentezi

Çöktürme yöntemi ile HA sentezi; sulu ortamda, CaPTris'ten ve SVS'den HA sentezi olmak üzere genelde üç şekilde gerçekleştirilir.

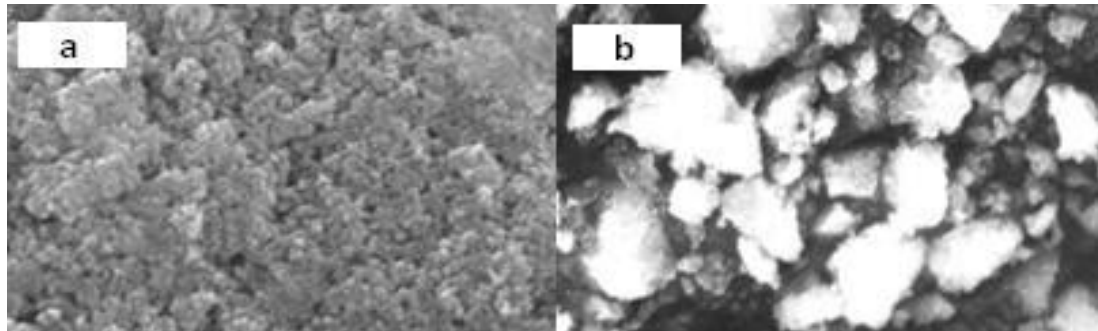
3.2.1.1. Sulu ortamda HA sentezi

Aşırı doymuş sulu çözeltilerden, HA kristallerinin sentezi, düşük maliyetli ve kolay olduğundan dolayı avantajlıdır. Buna karşın günümüze kadar uygulanan sentetik prosedürlerin çoğu sitokiyometrik olmayan ürünlerin oluşuma neden olmuştur. HA sitokiyometrisinde oluşan sapma, kristal kafes yapısında atomsal boşlukların veya karbonat, hidrojen fosfat, potasyum, sodyum, nitrat ve klorür gibi iyonların bulunmasına bağlıdır. HA'in bu iyonlarla birleşmesi veya yetersiz hidroksiapatit oluşumu, kristallografik yapıda kötü yönde değişimlere ve sitokiyometrik HA ile karşılaştırıldığında farklı kristal morfolojilerine sahip olmasına sebep olur. Sentetik HA kristallerinin sulu çözeltilerden sentezlenmesinde görülebilecek diğer zorluklar; malzemenin bazı iyonlara karşı yüksek afinitesi, kalsiyum fosfat sistemlerinin kompleks yapısı, deneysel koşullara bağlı olan kinetik parametrelerin etkisi olarak sıralanabilir.

HA kristallerinin aşırı doymuş çözeltilerden sentezi sırasında ortamda trikalsiyum fosfat ve oktakalsiyum fosfat gibi çekirdeklenmeyi tetikleyici ara fazlar bulunabilir. Çoğu durumda bu maddelerin hidrolizden sonra da bulunması son ürünün kalitesini olumsuz yönde etkileyebilir. Karbondioksitsiz üç kez distile edilmiş su analitik saflıkta kalsiyum klorür (CaCl_2), kalsiyum nitrat [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$], potasyum di hidrojen fosfat (KH_2PO_4), potasyum hidroksit (KOH), fosforik asit (H_3PO_4) ve amonyak (NH_3) kullanarak HA kristalleri sentezlemiştir [50]. Çökelme sırasında çözelti pH'ı 9,5'te

sabit tutulmuş, aşırı karbondioksit çözünmesini engellemek için çözeltilerden azot gazı geçirilmiştir. Son ürün, 24 saat geri soğutucuda ve 4 ay 37°C sıcaklık ve pH 7’de sabit kalacak şekilde yaşlandırılmıştır. Son ürün filtre edildikten sonra 90°C’de kurutularak depolanmıştır. Santos [51], kalsiyum hidroksit Ca(OH)_2 ve orto fosforik asit (H_3PO_4), amonyum fosfat $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ve kalsiyum hidrojen fosfat hidrat $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ kullanarak farklı koşullar altında HA sentezi gerçekleştirmiştir. Kalsiyum nitrat tetrahidrat $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ ve diamonyum hidrojen fosfat $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ çözeltilerini başlangıç maddeleri olarak, amonyak çözeltisini ise pH ayarlamasında kullanarak HA tozları sentezlemişlerdir [52].

Bu deneyleri oda sıcaklığında gerçekleştirmişler ve çökeltme için çözeltileri 24 saat süreyle yaşlandırmaya bırakmışlar, yaşlandırmanın sonunda çökelen kısmı filtre ettikten sonra 100°C’de kurutmuşlardır. HA tozlarının çökmesinin ardından çökelen kısım çözeltilerden 3000 rpm döndürme hızında, santrifüjle ayrılmış ve 80°C sıcaklıkta kurutulduktan sonra 100, 450, 900 ve 1000°C sıcaklıklarda 1 saat kalsine edilmişlerdir. Buradan görüleceği üzere HA sentezinde farklı başlangıç maddeleri ve farklı deneysel koşullar kullanılarak değişik özelliklerde sentetik HA seramik tozları üretilebilmiş olmasına karşın, elde edilen tozların kristallografik özelliklerinin zayıf olduğu ve yüksek oranda topaklanma eğilimi gösterdikleri görülmüştür.



Şekil 3.5. HA kristallerinin SEM görüntüleri (a) sulu çözeltilerden çöktürülen , (b) sulu çözeltilerden çöktürüldükten sonra 1200°C’de kalsine edilen [53].

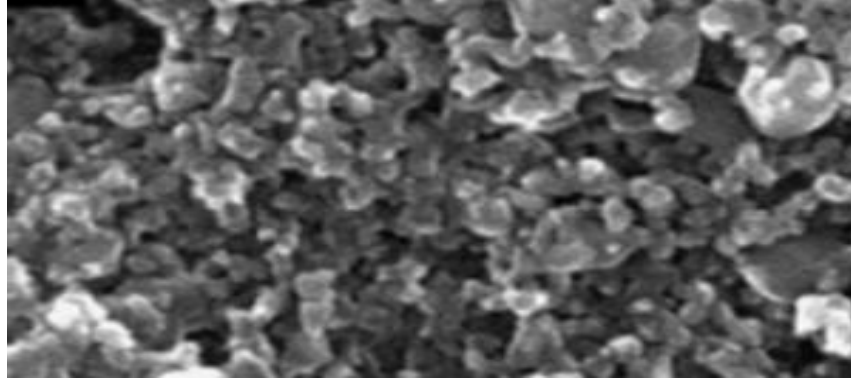
3.2.1.2. CaPTris'ten HA sentezi

CaPTris çözeltisi distile suda Tris, HCl, K₂HPO₄ ve CaCl₂'ün tablo'da verilen miktarlarının çözündürülmesi ile elde edilirler [54].

Tablo 3.3. 1000 mL CaPTris çözeltisi hazırlamak için gereken reaktifler ve miktarları [55].

Reaktif	Miktar (g/L)
Tris ((CH ₂ OH) ₃ CNH ₂)	24,22
HCl	6,57
K ₂ HPO ₄	1,74
CaCl ₂	2,775

CaCl₂ ve K₂HPO₄ başlangıç maddelerini HA sentezlemek amacıyla CaPTris çözeltisine eklemiş ve karışımı 37°C'de 1 gün boyunca yaşlanmaya bırakmışlardır. Bu çalışmada daha sonra karışım, santrifüj ile ayrıldıktan sonra 5 defa distile su ve etanol ile yıkanmıştır. Yıkama işlemlerinin ardından %1'lik PEG ve etanol santrifüj tüpüne eklenmiş ve 5 dk ultrasonik karıştırmaya tabi tutulmuştur. Çöken ürün 12 saat 70°C'de kurutulmuş ve 2 saat 700°C'de sinterlenmiştir. Sinterlenen ürünler partikül boyutunu düşürmek amacıyla ultrasonik işleme tabi tutulmuştur. CaPTris çözeltisinden sentezlenen HA kristallerinin Sherr eşitliği ile hesaplanan boyutlarının 15,88 – 16,12 nm arasında değiştiği ve herhangi bir düzene sahip olmadığı gözlenmiştir. HA parçacıklarının SEM görüntüleri ise bu çözeltilerden elde edilen taneciklerin uzunluğunun 500 nm, genişliklerinin ise 100 nm'den daha düşük değerlerde değiştiğini göstermiştir. Ayrıca elde edilen ürünün Ca/P oranının 1,58 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.6. CaPTris çözeltisi kullanılarak çöktürülen HA tozlarının SEM görüntüsü [55].

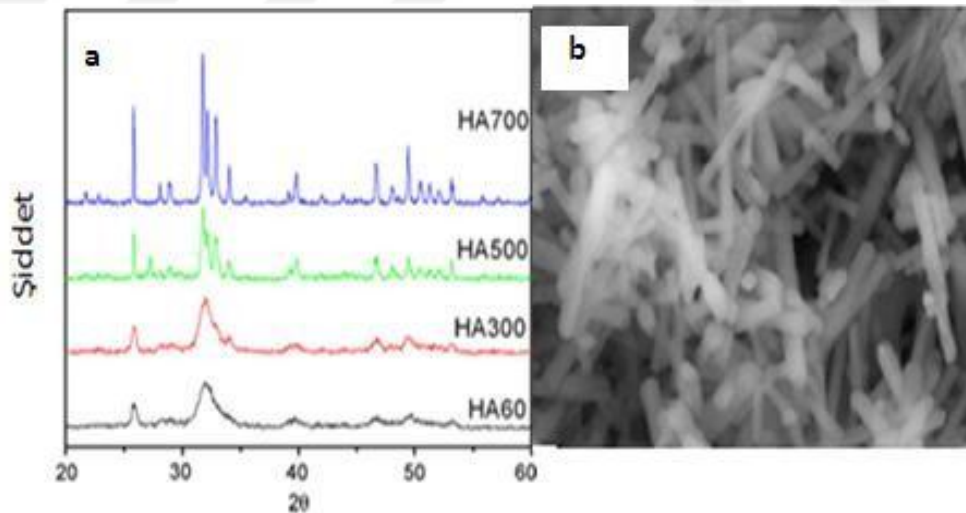
3.2.1.3. SVS'den HA sentezi

Ca(NO₃)₂.4H₂O ve (NH₄)₂HPO₄ bileşiklerini kalsiyum ve fosfor kaynağı olarak kullanarak, SVS çözeltisi içerisinde HA tozlarını sentezlemiştir. Bu çalışmada NH₄OH çözeltisi pH'ı ayarlamak amacıyla kullanılmıştır. Çalışma kapsamında ilk olarak, Ca ve P kaynaklarını SVS içerisinde çözündürmüş ve fosfor çözeltisini damla damla Ca çözeltisine eklemiştir. Bu karışımı daha sonra karıştırma yapmadan bir gün oda sıcaklığında yaşlandırmaya bırakmıştır. Çökelmenin ardından filtrasyonla çöken kısmı ayırmış ve deiyonize su ile yıkadıktan sonra 1 gün 80°C'de kurutmuştur. Kristalizasyon derecesini artırmak için kuruyan tozları 6 saat 1200°C'de işleme tabi tutmuştur. Biyomimetik koşullar altında (pH 7,4 ve 37°C) SVS çözeltilerinde sentezlenen HA tozlarının doğal kemik yapısına ve minerelojisine, saf suda sentezlenen tozlara kıyasla daha çok benzediği görülmüştür [56].

3.2.2. Sol-Jel yöntemiyle HA sentezi

Sol-jel yöntemi ile HA üretim metodunda, uygun kimyasallar kullanılarak hazırlanan çözeltiler jelleştirme işleminin ardından kurutma, kalsinasyon gibi işlem basamakları uygulanır. Sol-jel üretim yönteminin en büyük avantajı, düşük sıcaklıklarda yüksek saflıkta HA tozu üretilmesidir [48]. HA üretiminde son ürünün Ca/P oranının 1,67 olması istenir. Sol-jel yöntemiyle HA sentezinde bu amaçla, çeşitli Ca ve P içeren başlangıç maddeleri arasında farklı kombinasyonlar denenmiştir. Bu kapsamda 600°C'den yüksek sıcaklıklarda kalsiyum dietoksit Ca(OEt)₂ ve trietil fosfat

[(PO(OEt)₃ başlangıç maddeleri kullanılarak saf HA üretmişlerdir [57,58]. Ayrıca 24 saatten uzun süren yaşlandırma süresinin, monofazik HA tozlarının sentezlenebileceği daha kararlı çözelti sistemlerinin hazırlanmasında kritik bir öneme sahip olduğunu bulmuşlardır [59]. Bunun yanında ayrıca piroliz sırasında yüksek kütle kayıpları ve CaO gibi istenmeyen faz oluşumları gözlemlemişlerdir. Jilavenkatase vd., 773°C’de kalsiyum asetat (Ca(COO)₂) ve trietil fosfat [(PO(OEt)₃ başlangıç maddelerini kullanarak HA ve CaO’in bir karışımını sentezlemişlerdir. Daha sonra saf HA elde etmek için bu karışımı hidroklorik asit ile yıkmışlardır. Brendel vd, [60] 400°C gibi daha düşük sıcaklıklarda kalsiyum nitrat tetrahidrat [Ca(NO₃)₂.4H₂O] ve fenil dikloro fosfit [C₆H₅PCl₂ başlangıç maddelerini kullanarak HA elde etmiştir. Fakat elde ettikleri HA’in düşük saflıkta ve zayıf kristallografik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Daha sonra sentez sıcaklığını 900°C’ye arttırarak iyi kristallografide saf bir ürün elde etmişlerdir [60]. Ca(NO₃)₂ 4H₂O ve KH₂PO₄ kullanarak sol-jel yöntemiyle HA sentezlemiştir [61]. Çalışmasında Şekil 3.7.’de yüksek sıcaklarda kristalliğin arttığını ve topaklanma davranışının kısmen elimine edilebildiğini belirlemiştir.



Şekil 3.7. HA’in (a) XRD spektrumu ve (b) SEM görüntüsü [61].

Ca(OEt)₂ ve H₃PO₄ ün etanoldeki çözeltilerinden HA jelini elde etmiştir. Bu çalışma kapsamında, kalsiyum dietoksit çözeltisi etanol ile (1000 mL) kalsiyum bileşiğinin 6,88 gramının azot atmosferi altında 80°C’de 4 saat karıştırılmasıyla hazırlanmış ve daha sonra bu çözelti buz banyosunda soğutulmuştur. Fosforik asit çözeltisi, etanolde

(200 mL) H_3PO_4 'ün 11,67 gramının çözülmesiyle hazırlanmış ve bu çözelti damla damla kalsiyum dietoksit çözeltisine eklenmiştir. Karışım 24 saat azot atmosferi altında yaşlandırmaya bırakılmış, daha sonra 10 dk 4000 rpm hızda santrifüj edilmiştir. Elde edilen çökelti fırında $100^\circ C$ 'de 8 saat kurutulmuştur [53].

3.2.3. Mikroemülsiyon yöntemleri

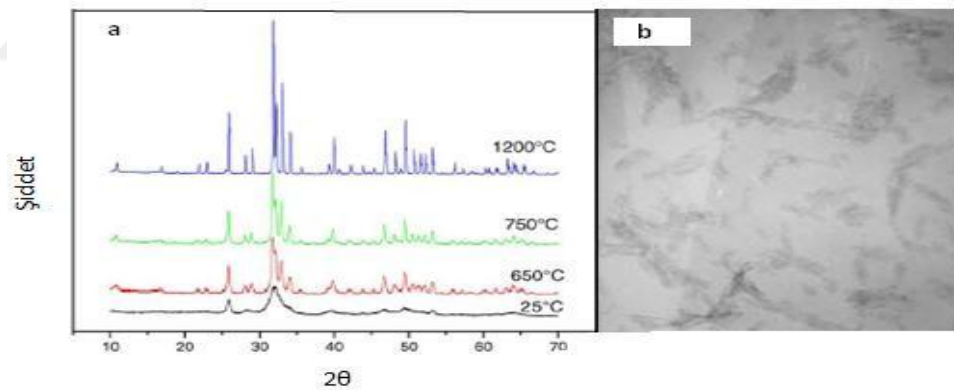
3.2.3.1. Ters-misel yöntemi ile HA sentezi

Mikroemülsiyon yöntemi, metal, oksit, halojenür, sülfid, karbonat, süperiletken ve son yıllarda biyoseramik nanopartiküllerin başarılı bir şekilde sentezlenmesinde kullanılmaktadır [62]. Ters mikroemülsiyon sistemi, optik olarak şeffaf yağ fazı içerisinde 5-20 nm çapında su damlaları içerir. Reaksiyon, tepkimeye girecek maddeleri taşıyan farklı damlalar birbirleriyle çarpıştığında başlar. Bu damlaların her biri nano boyutta parçacıklar oluşturacak nano boyutta reaktör olarak davranır. Distile su, yağ fazı olarak bitkisel yağ, nötr yüzey aktif madde olarak Triton X-100 ve yardımcı yüzey aktif madde olarak etanol kullanılarak yağ/su emülsiyon sistemindeki jelatinimsi kalsiyum fosfat bu sistemden ayırarak HA tozları sentezlemiştir. Mikroemülsiyon sisteminde, yağ fazı olarak sikloheksan, poli(oksietilen)5nonil fenol eter (NP-5) ve poli (oksietilen)9nonil fenol eter (NP-9) karışımını yüzey aktif madde ve diğer bir çalışmada da yağ fazı olarak petrol eteri ve nötr karakterde bir yüzey aktif madde kullanarak $CaCl_2$ ile $(NH_4)_2HPO_4$ 'ün reaksiyonuyla hidroksiapatit tozlarını üretmiş ve mikroemülsiyon kaynaklı başlangıç maddelerini $650^\circ C$ 'de kalsine ederek HA tozlarını elde etmiştir. Sonuçta parçacıkların boyutu, parçacık boyut dağılımı, parçacıkların topaklanma miktarı önemli miktarda düşürülmüş ve parçacıkların kristaliniteleri arttırılmıştır [63].

Yüzey aktif madde olarak TX-100 ve Tween 80 karışımını, yardımcı yüzey aktif madde olarak n-bütanol ve n-hekzanol karışımını ve yağ fazı olarak da sikloheksan kullanarak ters-mikroemülsiyon sistemi oluşturmuşlar ve 0,5 M $Ca(NO_3)_2$ ile 0,3 M $(NH_4)_2HPO_4$ çözeltilerini başlangıç maddeleri olarak kullanmışlardır. PH değerini amonyak çözeltileri kullanarak 10-11 değerine ayarlamışlardır. Sistemin 30 dk

karıştırılmasıyla şeffaf bir çözelti elde edilmiş ve 1 gün oda sıcaklığında karıştırma yapılmadan yaşlandırmaya bırakılmıştır. Son olarak çözeltiye saf alkol eklenerek, beyaz çamurumsu bir çökelek elde edilmiş ve bu beyaz jelimsi HA parçacıkları santrifüjle ayrılmıştır. Çökelekler 3 kere saf alkol ile yıkanmış, 80°C’de kurutulmasının ardından 6 saat 650°C’de sinterlenmiştir [63]. Elde ettikleri HA tozlarını çöktürme yöntemiyle sentezlenen tozlarla kıyasladıklarında, daha düşük boyutta ve daha düşük derecede topaklanma eğilimi gösteren ürün elde etmişlerdir [63].

Şekil 3.8.’de ters-mikroemülsiyon yöntemiyle sentezlenen HA tozlarının TEM görüntüsü gösterilmektedir. Bu çalışmada aynı zamanda ürettikleri HA tozunun ısıl davranışını incelemiş ve 25-1200°C arasında değişen sıcaklıklarda bu tozları sinterlemiş ve sıcaklıkla kristalinitenin arttığını buna karşın çöktürme yönteminde olduğu gibi CaO ve β -TCP gibi herhangi bir faza dönüşümünün gerçekleşmediğini belirlemiştir [63].

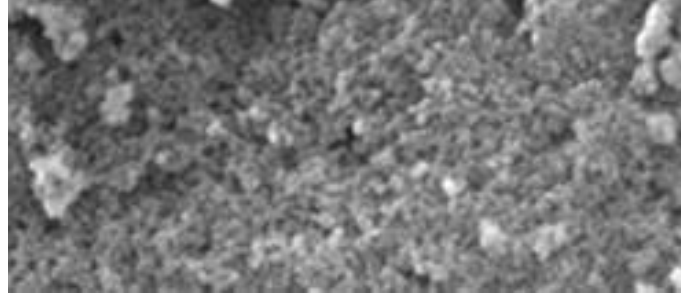


Şekil 3.8. HA seramik tozlarının (a) XRD (b) TEM görüntüleri [55].

3.2.3.2. Şok dalga yöntemi ile HA sentezi

PH-şok dalga-mikroemülsiyon yöntemiyle; başlangıç maddeleri olarak $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ile CaCl_2 , pH ayarlamak için amonyak çözeltisi, yüzey aktif maddeler olarak setiltrimetilamonyum bromid (CTAB), 1-butanol ve n-oktan maddelerini kulanlar HA sentezlemiştir. Elde ettikleri ürünün Şekil 3.9.’da parçacık boyutunun dar bir dağılım aralığında değiştiğini ve amorf topaklanmış parçacıklar

içerdiğini belirlemişlerdir. 650°C’de ısıl işleme tabi tutulan ürünün 40-120 nm parçacık boyutuna sahip olduğu ve iç yüzeyde herhangi bir por miktarına sahip olmadığı belirlenmiş.



Şekil 3.9. Şok dalga yöntemi ile sentezlenen HA’in SEM görüntüsü [56].

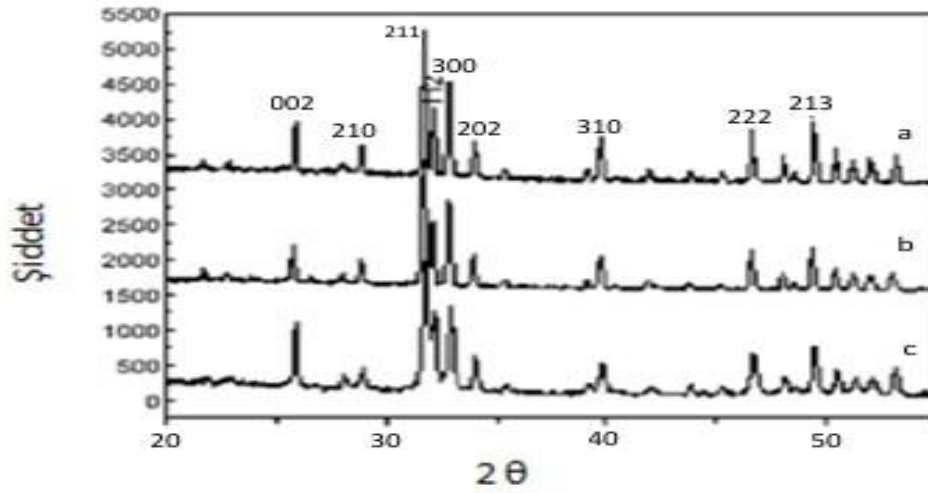
3.2.4. Hidrotermal yöntemler

3.2.4.1. Basitleştirilmiş hidrotermal yöntem ile HA sentezi

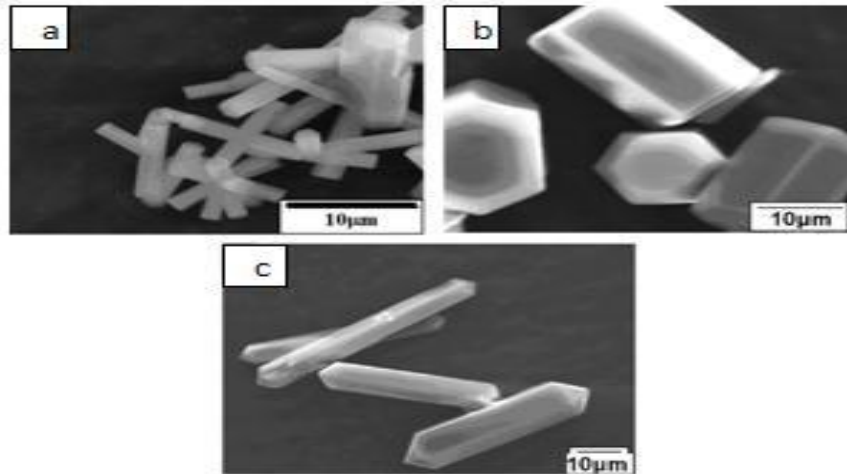
Hidrotermal sentez 25°C’den yüksek sıcaklıklarda ve 100 kPa’dan yüksek basınç değerlerinde sulu ortamda çözeltilerden doğrudan kristal seramik malzemeler elde edilen tek veya çok fazlı reaksiyon yöntemidir [64]. Fakat hidrotermal işlem sonucunda ürünün Ca/P oranı hidrotermal basıncın veya sıcaklığın artmasına bağlı olarak artar [65]. Manafı vd, CaHPO₄.2H₂O ve NaOH bileşiklerini suda çözdükten sonra sisteme 2-3 g setil trimetilamonyum bromür ekleyerek HA sentezlemişlerdir. Hidrotermal sentez elektrikli fırında 150°C’de ve 2 saatte gerçekleştirilmiştir [66]. Isıtılmış, Ca(OH)₂ ve Ca(H₂PO₄)₂. H₂O tozlarının sulu çözeltilerinin basınçlı ortamda 109°C’de 1-3 saat ısıtılması sonucu iğne yapısında, 130-170 nm uzunluğunda ve 15-25 nm genişliğinde HA kristalleri içeren tozlar elde edilmiştir. Bu tozların spesifik yüzey alanı 31–43 m²/g, Ca/P ise 1,640–1,643 olarak bulunmuştur. HA tozları 1200-1300°C sıcaklıklarda sinterlendiğinde herhangi bir dönüşüm gözlenmemiştir.

Sinterlenen tozların gözeneksiz bir yüzeye sahip olduğu, eğilme mukavemetinin 120 MPa, mikro-Vickers sertliğinin 5,1 GPa ve kırılma dayanımının da 1,2 MPa.m^{1/2} değerinde olduğu belirlenmiştir. Sinterlenen seramik tozlarının köpeklere implante

edilerek belirlenmiş biyouyumluluklarının, ticari hidroksiapatitle karşılaştırılabilecek kadar iyi olduğu görülmüştür. Bu sentezleme metodu; kolay, ekonomik ve sert dokuların tekrar yapılandırılma uygulamalarında kullanılabilecek kadar yüksek kalite de tozlar elde edilmesini sağlamıştır. Sırasıyla 12,9, 11,4, ve 9,7 pH değerlerinde 200°C’de gerçekleştirdiği hidrotermal sentez yöntemi ile HA seramik tozlarını sentezlemiştir. Sentezlenen HA tozlarına ait Şekil 3.10.’da XRD spektrumları ve Şekil 3.11’de SEM görüntüleri verilmiştir. Sonuçlar düşük pH’larda ürünün kristallografik özelliklerinin olumlu yönde geliştirilebildiğini göstermiştir [67].



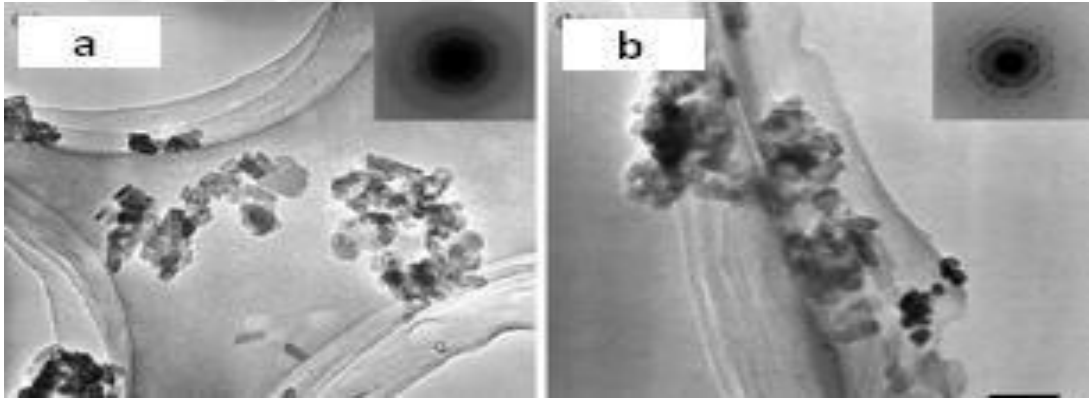
Şekil 3.10. HA seramiklerinin XRD spektrumları (a) pH 12,9 (b) 11,4 (c) 9,7 [67].



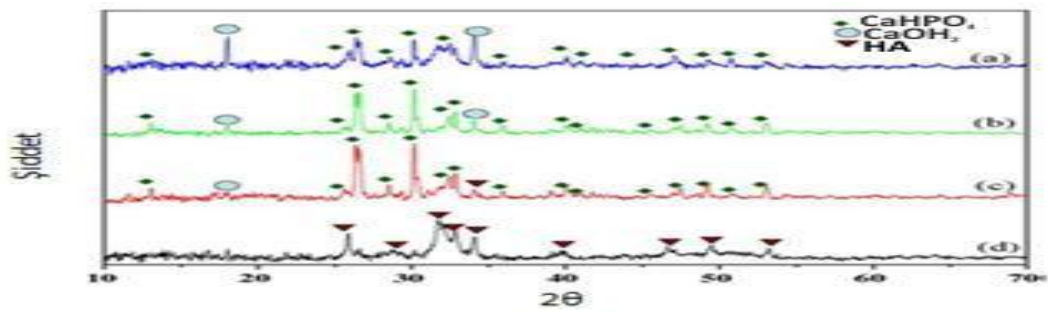
Şekil 3.11. HA seramiklerinin SEM görüntüleri (a) pH 12,9 (b) 11,4 (c) 9,7 [67].

3.2.4.2. Mikrodalga-hidrotermal yöntem ile HA sentezi

Nano boyutta HA tozları, H_3PO_4 ve $Ca(OH)_2$ başlangıç maddeleri kullanılarak soğutma hücreli mikrodalga cihazında 30 dk, 600 psi basınç ve $300^\circ C$ sıcaklık değerlerinde mikrodalga-hidrotermal yöntem kullanılarak tarafından sentezlenmiştir [60]. Tozlara uygulanan mikrodalganın gücü ve Ca/P oranı kalsiyum fosfat sentezinde göz önüne alınması gereken önemli faktörlerdir. Göreceli olarak 450 W gibi düşük mikro dalga gücünde ve 1,57 Ca/P oranında sentezlenen tozlarda $Ca(OH)_2$, $CaHPO_4$ ve HA bileşiklerinin bir karışımı elde edilmiştir. SEM görüntüleri morfolojilerden birinin 4–15 nm genişliğinde ve 20–50 nm uzunluğunda iğnesel yapıda ve diğerinin 10–30 nm çapında küresel yapıda olduğunu göstermiştir (Şekil 3.12a ve Şekil 3.12b). Şekil 3.13.'de mikrodalga enerjisi değiştirilerek sentezlenen HA tozlarının XRD spektrumu verilmiş ve yüksek güçlerde saf HA tozu elde edilebildiği görülmüştür.



Şekil 3.12. 550 W mikrodalga gücünde sentezlenen HA tozlarının TEM görüntüleri (a) iğne (b) küresel yapıda.



Şekil 3.13. Farklı mikrodalga enerjisi kullanılarak sentezlenen HA tozlarının XRD spektrumu (a) 250 W, (b) 300 W ve (c) 450 W ve (d) 550W [68].

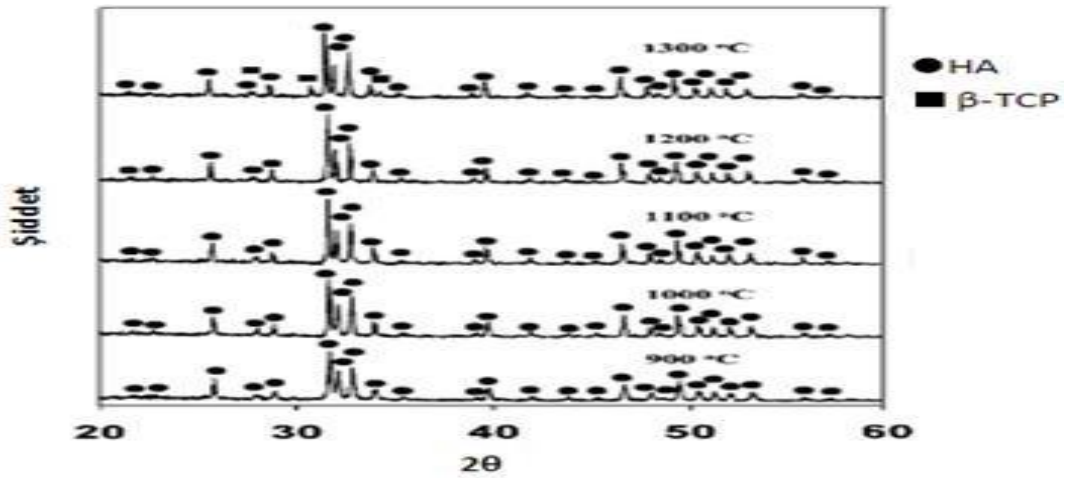
3.2.5. Mekanokimyasal yöntemle HA sentezi

Mekanokimyasal sentezler, esasen okside edilerek güçlendirilmiş alaşımlar için tasarlanmışlardır [69]. Son 20 yılda gelişerek ve çeşitlenerek, metalik ve metalik olmayan malzemelerin fabrikasyonunda da kullanılmaya başlanmıştır. Mekanik sentez metodu, reaksiyonun mekanik öğütmeyle başlatıldığı, HA veya CDHA üretimine alternatif olan bir metottur [70]. Öğütücüde, kürelerin veya küre ile duvarların (yatay ve düzlemsel öğütme küresi, titreşen öğütme küreleri) arasında kalan reaktantlar ezilir. Reaktifler, reaksiyon için gerekli olan çarpışmaların veya sürtünme tarafından sağlanan enerjinin bir kısmını absorbe ederler. Mekanik sentez, yaş veya kuru şartlar altında uygulanabilir. Yaş mekanik sentez, sıvı: toz oranı genellikle kütlece %60-95 arasında olacak şekilde, başlangıç maddelerinin sıvı süspansiyonunda öğütülmesidir (ıslak öğütme-hidrotermal metod). Kuru mekanik sentezde, reaktif tozlara herhangi bir çözücü olmadan doğrudan öğütme uygulanır. Kalsiyum fosfatların mekanik senteziyle ilgili olarak yaş yöntemine ait pek çok makale ve patent bulunmasına karşın, kuru mekanik sentez ile ilgili olarak çok az sayıda çalışma bulunmaktadır [71,72]. Kuru yöntemle gerçekleştirilen hidroksiapatitin mekanokimyasal yöntemle sentezinde, aşağıdaki bulguları gözlemişler ve daha sonra kalsiyum fosfatların sentezinde neden yaş yöntemin tercih edildiğini anlamak için dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD) ile kalsiyum oksit'in mekanokimyasal reaksiyonun kinetik sabitleri üzerine suyun etkisini incelemişlerdir.

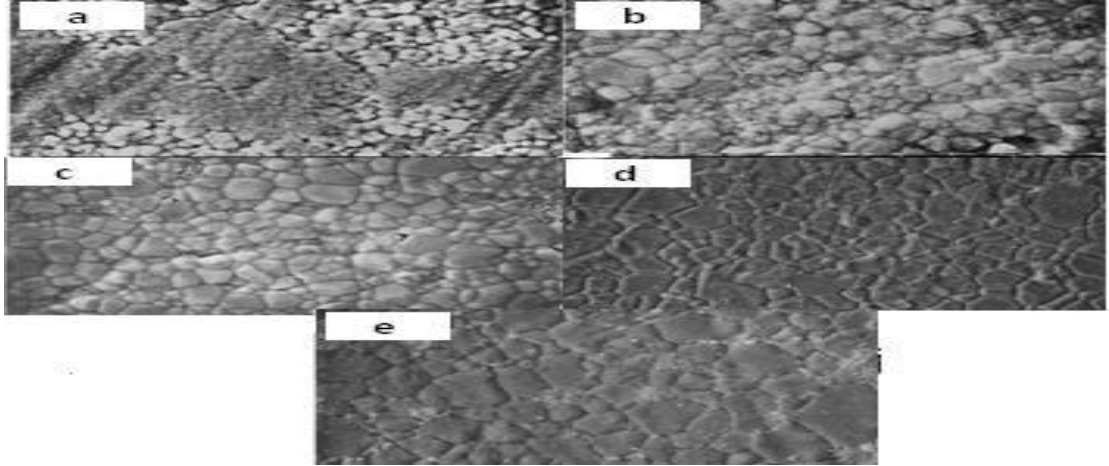
1. Asidik kalsiyum fosfatların, herhangi bir bazik kalsiyum fosfatla veya CaO, Ca(OH)₂ ve CaCO₃ gibi bileşiklerle kuru öğütülmesiyle, orta baziklikte kalsiyum fosfatların (HA, CDHA, DCPD, gibi) oluşumu gerçekleşir. Bu oluşum seçilen başlangıç malzemelerine ve onların içerdiği Ca/P oranına bağlıdır.
2. Mekanokimyasal reaksiyonlarının kinetiği takip edilebilir.
3. Reaksiyon hızı deneysel ve enstrümantal parametrelere bağlıdır.

Gerçekleştirdiği bir çalışmada ise hidroksiapatit seramiği, kalsiyum oksit (CaO) ile susuz kalsiyum hidrojen fosfatın (CaHPO₄) kuru karışımının yüksek enerjili mekanik aktivasyonu ile oluşturulmuştur. Yüksek kristalitede tek fazlı hidroksiapatit, yüksek sıcaklıkta ısı işleme maruz kalmadan 20 saatlik mekanik aktivasyonla

oluşturulabilmiş ve elde edilen ürünün ortalama parçacık boyutu ~ 25 nm, çok noktali BET tekniğiyle ölçülen spesifik yüzey alanının ise 76,06 m/g değerinde olduğu bulunmuştur. 900-1300°C arasında değişen sıcaklıklarda sinterlenen HA tozlarının XRD spektrumları Şekil 3.14.'te verilmiştir. Artan sıcaklıkla birlikte yapıda β -TCP gibi safsızlıkların oluştuğu gözlenmiştir. Şekil 3.15.'te ise değişik sıcaklıklarda sinterlenen HA tozlarının SEM görüntüleri verilmiş artan sıcaklıkla yüzey alanının küçüldüğü görülmüştür [71].



Şekil 3.14. 900-1300 sinterlenen HA tozlarının XRD spektrumları [71].



Şekil 3.15. Değişik sıcaklıklarda sinterlenen HA tozlarının SEM görüntüleri (a)900°C (b)1000°C (c)1200°C (d)1300°C.

3.3. Hidroksiapatit Çeşitleri

3.3.1. Biyolojik hidroksiapatit

Vücutta bulunan kemik, diş, enamel kısımların mineral fazını oluşturan biyolojik apatitler kompozisyon, stokiometri, fiziksel ve mekanik özellikler olarak hidroksiapatitten farklılık göstermektedir. Biyolojik apatitler genellikle kalsiyumca fakir ve hidroksiapatit latis noktalarında farklı yer alan atomları bulundurabilen yapıdadırlar. Biyolojik apatitler genel olarak $(Ca,M)_{10}(PO_4,CO_3,Y)_6(OH,F,Cl)_2$ kimyasal formülü ile bilinen ve M yerine Na,K,Mg ve Y yerine ise fosfat ve sülfatlar gibi çeşitli fonksiyonel gruplar bulundurabilen yapılardır. Biyolojik apatitler sentetik apatitler ile karşılaştırıldığı zaman yer değiştirme mekanizması gözlenerek fosfat grupları yerine karbonat grupları gelirken kalsiyum yerine sodyum iyonları gelmektedir. Yer alan atomlarının varlığı ve kompozisyondaki farklılık nedeniyle biyolojik hidroksiapatit sentetik hidroksiapatitten fiziksel ve mekanik özellikler olarak farklılık göstermektedir. Tablo 3.4.'de biyolojik apatit ve sentetik hidroksiapatitlerin mekanik ve fiziksel özelliklerini özetlemektedir [73].

Tablo 3.4. Biyolojik ve sentetik apatitlerin mekanik ve fiziksel özellikleri.

Özellik	Enamel	Kemik	Sentetik Hidroksiapatit
Latis Parametresi			
a	0,9441	0,9419	0,9422
c	0,6882	0,6880	0,6880
Kristal boyutu (nm)	130x130	25x(2.5x5.0)	mikrometrelerde
Elastik Modül (GPa)	14	7-30	10
Çekilme Mukavemeti (MPa)	70	50-150	100

Karbonapatit olarak da bilinen biyolojik hidroksiapatitler Tip A ve Tip B olmak üzere ikiye ayrılırlar. Tip A olması durumunda karbonat grubu OH grubu yerine geçerek a-

ekseninde artışa ve c-ekseninde ise düşüğe neden olurlar. Tip B olması durumunda ise karbonat grubu fosfat grubu yerine geçerek a-ekseninde düşüğe neden olup c-ekseninde artış yaratırlar. Biyolojik apatitler ise Tip B özelliği gösteren sentetik karbonapatitlere benzemektedir [74].

3.3.2. Yoğun hidroksiapatit

Trikalsiyum fosfat seramiklerin sert doku uygulamalarında kullanımı 1920'li yıllara dayanmaktadır. Fakat hidroksiapatit tozlarının sinterlenerek medikal uygulamalarda kullanımı ise ilk olarak 1970 yıllarında Monroe ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir [75].

Günümüzde kullanılan ileri teknoloji seramiklerinin çoğu önce tozların istenilen şekle sokularak kompaktanması ardından yüksek sıcaklıkta sinterlenerek porların azaltılarak daha yoğun bir yapının elde edilmesi ile üretilmiştir. Densifikasyon, sinterleme prosesinin ana amacıdır ve aynı zamanda malzemenin elektriksel, manyetik, optik ve mekanik özelliklerinin sinterleme sırasında oluşan kimyasal ve fiziksel değişikliklerden dolayı değişiklik gösterdiği gözlenmiştir [76]. Sinterleme işlemi tane boyutu, tane şekli, porozite ve por boyutu gibi özellikleri etkileyerek mikroyapısal değişiklikler yaratırken aynı zamanda taneler ve tane sınırlarında kimyasal kompozisyonda farklılık yaratarak kalsiyum-fosfat seramiklerinin mekanik ve biyolojik özelliklerini etkileyebilirler [77].

Saf HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, teorik kompozisyon olarak ağırlıkça %39.68 Ca, %18.45 P içermektedir. Ca/P oranı ise ağırlıkça 2.151 iken mol olarak 1.667 değerindedir. Yoğun hidroksiapatitlerin Ca/P oranları içerisindeki β -TCP/HA oranına göre değişim göstermektedir. Eğer Ca/P oranı 1,67 ise X ışını difraktometresi sonucunda sadece HA fazı gözlenir. Fakat Ca/P oranının 1,67'den düşük olması durumunda ise β -TCP, TTCP, $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ ve $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2$ gibi fazlar oluşmaktadır. Bu oranın 1.67'den büyük olması durumunda ise HA ile beraber CaO fazının oluşumu gözlenmiştir [78].

3.3.3. Poroz hidroksiapatit

Poroz hidroksiapatit seramikleri genelde kemik tedavi uygulamalarında kullanılmaktadır. Makroporoziteye sahip malzemelerin yoğun malzemelere kıyasla gelişmiş biyouyumluluk göstermeleri nedeniyle yük taşımayan bölgelerde kemik dolgusu olarak da kullanımlarına olan ilgi artmıştır [79].

En büyük avantajları ise yapısında bulunan makroporoziteler sayesinde kemik büyümesine ve tutunmasına olanak sağlamasıdır. Bütün bu avantajlarının yanında poroziteler mekanik özelliklerin düşüşüne ve korozyona neden olabilir. Autograft malzemelerin azlığı ve allograftların yarattığı sağlık riskinden dolayı sentetik kemik ve sert doku malzemelerine ihtiyaç artmaktadır. Bu uygulamalarda HA tercih edilmesinin sebebi ise sert doku uygulamalarında kullanılacak olan bu malzemenin kimyasal, mekanik ve morfolojik olarak dokuya benzerliğidir [81].

3.4. HA' nın Kullanım Alanları

Özellikle metal ve alaşımlar bir çok alanda biyomalzeme olarak kullanılmaktadır. Çünkü, mekanik ve kimyasal yapıları bu iş için uygundur. Metal ve alaşımlar; diş protezinde, kas iskelet sisteminde ve kalp kapakçıklarında sıklıkla kullanılmaktadır. Son zamanlarda biyomalzemelerde titanyum kullanım oranı artmıştır. Çünkü yapılan araştırmalarda titanyumun hafif olduğu, dokularla fazla reaksiyona girmediği ve vücuda karşı biyouyumluluğa sahip olduğu görülmüştür.

Metalik biyomalzemelerde Nikel ve titanyum alaşımları kullanılmaktadır. Tıp da akıllı malzemeler olarak nitelendirilmektedir. Özellikle gözlük çerçeveleri, otomobil parçaları, diş telleri ve kap-damar hastalıklarında kullanılan malzemeler başlıca akıllı malzemelerdir. Akıllı malzemeler şekil bellekli alaşımlardır.

Başka bir biyomalzeme türü ise biyoseramiklerdir. İnsan vücudunda zarar görmüş ve işlevini yitirmiş olan uzvun yerine geçmektedirler. Günlük yaşamda diş tedavilerinde, kalça protezinde ve yüz kemiklerinde kullanılmaktadır. Kalsiyum eksikliğinde meydana gelen kemik erimesinde biyoseramiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca ileri

yaşlarda meydana gelen kemik erimesi sonucunda da biyoseramiklere ihtiyaç duyulmaktadır.

Biyomalzemelerin Amaçlarını Maddeler Halinde Sayacak Olursak;

1. Vücutta hastalıklı ya da hasar görmüş organ ya da uzuvların yerine kullanılır.
2. Örneğin; diyaliz ve protezler.
3. Vücutta hasarlı organın fonksiyonelliğini arttırmak amacıyla kullanılır.
4. Örneğin; lens, kalp pili, işitme cihazı ve benzeri Kozmetik sıkıntıları gidermek amaçlı kullanılır.
5. Örneğin; diş teli ve silikon yaptırma.
6. Fonsiyon bozukluklarını gidermek amacıyla kullanılır.
7. Örneğin omurgalardaki bozukluklar.
8. Hasarlı bölgenin iyileşmesine yardımcı olur.
9. Örneğin; Ameliyat iplikleri, cerrahi vida ve teller.
10. Hastalığın teşhisine yardımcı olma amaçlı kullanılmaktadır.
11. Örneğin; endoskopi makinesi ve enjektör.

3.4.1. HA'nın diş hekimliğinde kullanımı

Diş çürükleri yaygın olarak görülen bir oral hastalıktır. Çürük başladığı dönemde, bakteriler diş minesinde hasara neden olurlar. Hasar gören mine dokusunun ticari malzemelerle doldurularak onarılması geleneksel bir tedavi yöntemidir. Fakat bu durumda diş ile yabancı malzeme ara yüzeyinde genellikle ikinci bir çürük meydana gelmektedir [82]. Nanoboyutta HA ve CDHA yapıları, mine dokusu ile kimyasal ve faz benzerliklerine bağlı olarak diş minesinin model bileşikleri olarak düşünülür [83].

Bu nedenle mine minerallerinin re-minerealizasyonunda nano boyutta apatit veya diğer kalsiyum ortofosfatların kullanımı önerilmektedir. Örneğin; nano boyutta apatit içeren diş macunları, hasara uğramış mine tabakasının kısmen onarabildiği gibi beyazlatma etkisi de göstermektedir [84]. Diş minesini oldukça kompleks bir yapıdır ve sentezlenmiş apatit kristalleri genellikle boyut, morfoloji ve yönelme bakımından

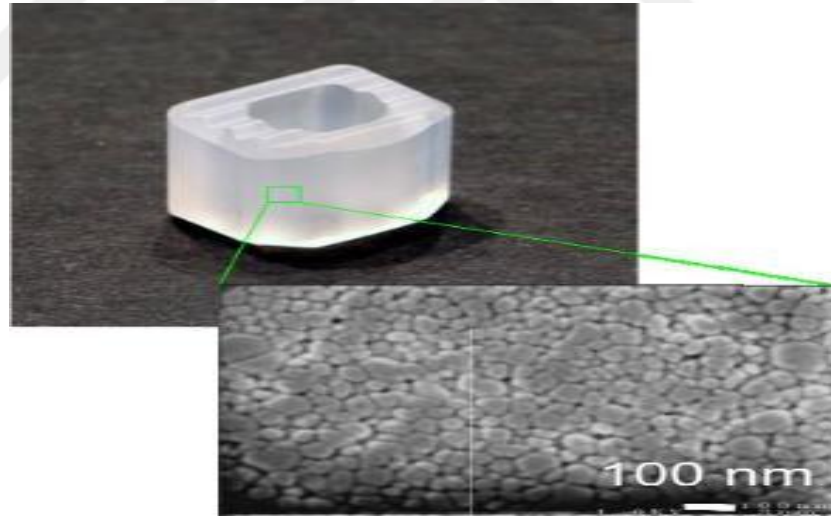
doğal olarak oluşan apatit kristallerinden farklılıklar gösterir ki bu da diş tekrar yapılandırıldığında zayıf mekanik özelliklere sahip olmasına neden olur. Son yıllarda yapılan araştırmalar, diş hasarlarının giderilmesinde daha küçük boyutta HA nano partiküllerin kullanımının avantaj sağlayacağını göstermiştir. Örneğin; laboratuvar ortamında gerçekleştirilen çalışmalarda HA nano parçacıklarının kendiliğinden oluşabileceği ispatlanmıştır [85].

Bu kapsamda, mine dokusunun bölgesel onarımı için HA nano parçacıklarının (yaklaşık 20 nm boyutunda) geliştirilmesi amacıyla biyomimetik tekniklerin kullanımı önerilmiştir. Dahası biyomimetik yöntemlerle sentezlenen nano boyutlu HA yapılarının mine yüzeyinde oldukça kuvvetli bir şekilde adsorplanabildiği ve hatta doğal mine yapısına dönüşebildiği belirlenmiştir. Şaşırtıcı olsa da mine yüzeyindeki mineral kayıpları yaklaşık 20 nm boyutunda HA nano parçacıkları kullanılarak durdurulabilmektedir. Dahası 20 nm çapındaki HA ile kaplanan mine yüzeyinin sertliği $4,6 \pm 0,4$ GPa ve elastik modülü $95,6 \pm 8,4$ GPa değerindedir. Bu değer de doğal mine dokusunun $4,2 \pm 0,2$ ve $94,1 \pm 5,4$ GPa sertlik ve elastik modül değerlerine oldukça yakındır [86]. Enamel dokusunun HA nano parçacıkları ile güçlendirilmesi, diğer dolgu maddelerinde görülen ikincil çürükleri elimine eder [87]. Bu gibi özelliklerine bağlı olarak HA esaslı malzemeler dental uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

3.4.2. HA'nın ortopedi alanında kullanımı

Modern kemik greftleri, sadece hasarlı kemik bölgesinin yenilenmesinde değil aynı zamanda osteoindüktif olup uygulandığı bölgede kemik gelişimini aktive edebilecek özellikte olmalıdır. Modern biyomalzemelerde istenilen temel özellik, malzemenin canlı dokuya bağlanabilmesini sağlayan biyolojik olarak aktif apatit tabakası üretmesidir [88]. Ayrıca iyi bir greft malzeme var olan kemik dokusu arasında köprü görevi gören yumuşak dokulara ve dokuların beslenebilmesi için gerekli olan kan damarlarına gerekli desteği sağlamalıdır [89].

Mikron boyutta kalsiyum ortofosfat biyoseramikleri, memelilerin kalsifiye olmuş dokularıyla olan kimyasal benzerliklerine bağlı olarak 30 yılı aşkın süredir dişçilikte, ortopedide ve cerrahi de geniş ölçüde kullanılmaktadır. Nanoteknolojideki hızlı gelişmelere bağlı olarak, nano boyutlu kalsiyum ortofosfat seramiklerinin kemik kusurlarında kullanımı büyük ilgi görmeye başlamıştır. Mevcut ticari formülasyonlardan biri olan ve kemik boşluklarının doldurulmasında kullanılan ve Angstrom Medika Enstitüsü tarafından üretilmiş olan NanOss™ (Şekil 4.16.), piyasadaki ilk nanoteknolojik medikal ürün olarak düşünülebilir. Bu ürün, kalsiyum ortofosfat nanoparçacıklarının sulu çözeltilerden beyaz toz şeklinde çöktürülmesinin ardından preslenme ve ısıtma işlemi uygulanması ile yoğun, şeffaf nanokristalin bir malzeme olarak üretilmiştir. Bu ürünün mikroyapısı ve kimyasal bileşiminin yanında mekanik gücü ve osteokondüktivitesi de insan kemiğine oldukça benzemektedir. Bu ürün; spor hekimliği, travma, omurga ve genellikle ortopedik alanda insan kemiğine uygulandığında, zamanla kemiğin tekrar modellenmesini sağlar [90].



Şekil 3.16. NanOss™ isimli yapısal cihazın görünümü [84].

Ostim® (Şekil 3.17.), oldukça popüler olan diğer ticari formülasyonlardan biridir. Bu ürün, 2002 yılında enjekte edilebilir kullanımda piyasaya sürülmüştür.



Şekil 3.17. Ostim® toz ve enjekte edilebilir formda.

Ostim, ortalama kristal boyutu $100 \times 20 \times 3$ nm, spesifik yüzey alanı $\sim 100 \text{ m}^2/\text{g}$ olan iğnemsî yapıda sentetik nanokristalin HA yapısıdır. Bu ürün; metafizyel kırıklarda, kistlerde, alveolar çıkıntılarının oluşması durumlarında ve kalça çöküklüğünün onarımında kullanılabilir. Ürünün kemik ile kaynaşması ve yeni kemik oluşumunun gözlenmesi 3 aylık bir sürede gerçekleşir [89]. Klinik uygulamalarda, HA biyoseramik çekirdeği olan Cerabone® veya bifazik (β -TCP + HA) granülü olan BoneSaves®, bazı ürünlerle karıştırılarak kullanılabilir. Bu şekilde nanokristalin yapıdaki Ostim® gibi ürünlerle diğer mikrokristal yapısındaki kalsiyum ortofosfat seramiklerin karıştırılması, kaval kemiği köprüsü kırıklarının ve metafizyel spongiada meydana gelen kusurların tedavisinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır [91].

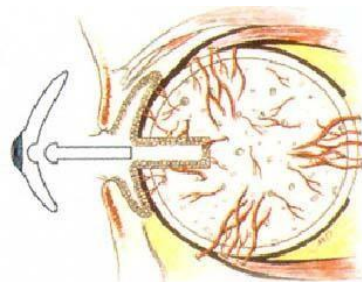


Şekil 3.18. Cerabone®; toz ve bulk formunda [91].

Zayıf mekanik özelliklerine bağlı olarak kalsiyum ortofosfatlar, yük taşınımı gerektiren uygulamalarda kısıtlı uygulama alanına sahiptirler. Çünkü bu seramikler, bu tür uygulamalar için fazla gevrek ve kırılğandır. Yük taşıyan uygulamalar için mevcut çözüm, biyolojik olarak kısmen uyumlu kobalt-krom alaşımları, titanyum ile titanyum alaşımları ve paslanmaz çelik gibi metal malzemelerin kullanımınıdır. Fakat uzun dönemde bu tür malzemelerin kullanımı başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Tüm bu metaller toksik olamamalarına karşın biyoinerttirler ve kemiğe doğrudan bağlanamazlar. Bu malzemelerin biyolojik uyumluluklarını geliştirmek için en sık kullanılan yöntem, kemik oluşumunu ve kemik onarımını geliştirmek üzere çoğunlukla apatitler olmak üzere kalsiyum ortofosfatlarla kaplanmasıdır [92].

3.4.3. HA'nın oftalmolajik alanda kullanımı

HA'nın bir diğer kullanım alanı ise oküler implant uygulamasıdır (Şekil 3.19.). 1985 yılında hidroksiapatit orbital implantın kullanıma girmesi ile birlikte anoftalmik soket cerrahisinde yeni bir dönem başlamıştır [93]. 500 µm çapında birbiriyle bağlantılı poröz yapıları sayesinde implant içine fibrovasküler doku büyütülmesine izin veren bu materyal, orbital dokularla bütünleşme özelliğine sahiptir. Dolayısıyla, poröz olmayan implantlara göre açılım, atılım, migrasyon ve enfeksiyon oluşturma riski daha az olmakta, hareket pimi takılabilmesi sayesinde de mükemmel protez hareketi elde edilebilmektedir [92]. Biyouyumluluk ve toksisite göstermeme gibi özellikler, HA'yı oküler implant uygulaması için ideal bir biyomalzeme yapmaktadır.



Şekil 3.19. Hidroksiapatitin oküler implant uygulaması.

Şekil 3.20.'de ise sinterlenmiş hidroksiapatitin oküler implant uygulaması verilmiştir. Şekilde görülen implant, köpeklerin in vivo çalışmalarında kullanılmıştır [94].



Şekil 3.20. Hidroksiapatitin oküler protez uygulaması [94].

1987 yılında yapay göz ve orta kulak implant uygulamalarında kullanılan ve başarılı bulunan HA, FDA (Food and Drug Administration) tarafından onay verilince, ticari olarak piyasaya çıkmış ve çok satılmıştır. Şekil 3.21.'de orta kulak implantına ait bir uygulama görülmektedir [95].



Şekil 3.21. Orta kulak implantına ait bir uygulama [94].

3.4.4. HA'nın eczacılık alanında kullanımı

İlaç salım sistemleri (Drug Delivery System-DDS), kemik hasarları tedavisinde kemik büyümesini ve yenilenmesini desteklemek üzere geliştirilmiş sistemlerdir [96]. Kemikte hasarın meydana geldiği bölgede kan dolaşımı zayıf olduğundan antibiyotik, antimikrobiyal ve büyüme faktörü gibi ilaçlarla etkilenen bölgelerin desteklenmesi gerekir. DDS'nin etkili olabilmesi için taşıyıcının tam anlamıyla güvenli, oldukça etkili, yan etkileri tahmin edilebilir, kontrollü ve uzun süreli salım süresi gibi özelliklere sahip olması gerekir [94].

İlçaların enkapsülasyonu için partiküler, membranel ve porlu matris yapısında, biyobozunur polimerler (sentetik veya doğal) ve biyoaktif seramikler gibi pek çok taşıyıcılar geliştirilmiştir [97]. Bu yapılar içerisinde ilaç taşıyıcı sistemler olarak, osteokondüktivitesi ve biyouyumluluğuna bağlı olarak HA özellikle ilgi görmektedir [96].

Gözenekli HA yapısı, pratikte kemik büyümesini ve osseointegrasyonu sağlamak üzere kemik iskeleleri olarak kullanılır [98]. DDS olarak kullanılacağı zaman porozitesi yani gözenek boyutu etkin bir şekilde kontrol edilebilmelidir. Daha da önemlisi ilaçlar etkin bir şekilde sisteme yüklenebilmeli ve salımı uzun süreli olmalıdır. Bu gibi gereksinimlerin optimize edilebilmesi için gözenekli iskeletin kaplanması önerilmiştir. Plastik polimerle kaplayarak, gözenekli iskelet yapının kırılabilirlik sorununun üstesinden gelinebileceği düşünülmüştür. Bu yöntemle ilaçlar, iskelet yapıya daha etkin bir şekilde kenetlenirler. Polimerin biyouyumluluğunun artırılması için polimer ile HA tozu hibritleştirilir. Uygulamada HA tozları, film ve mikroküre yapısındaki PLGA, PMMA ve polikaprolakton (PCL) gibi biyolojik polimerlerle hibritleştirilirler [99].

PCL ise düşük maliyetine, biyouyumluluğuna, düşük molekü ağırlıklı oluşuna bağlı olarak özellikle tercih edilmektedir [100].

3.4.5. HA'nın arkeolojik alanda kullanımı

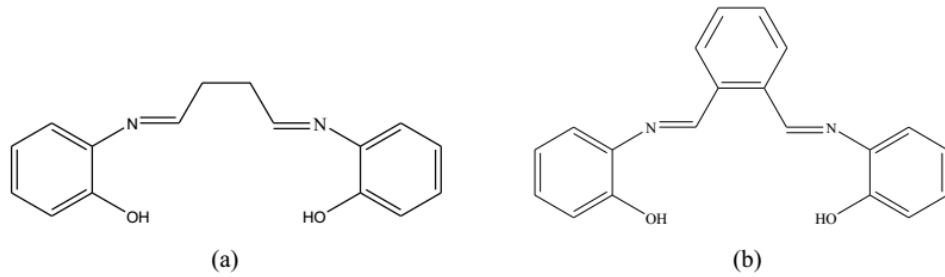
Arkeolojide insan ve hayvan fosillerinin hidroksiapatit kristalleri dönem insanının beslenme alışkanlıklarını belirlemek üzere analiz edilir. Kemik ve dişin mineral fraksiyonları stronsiyum dahil olmak üzere eser elementler için depo olarak davranır. Kemikteki stronsiyum/kalsiyum oranından yola çıkılarak bu kalıntıların beslenme alışkanlıkları tahmin edilebilir. Sr/Ca analiziyle bu canlıların etobur, otobur veya omnivor bir canlı olup olmadığı hatta hayvanlar için deniz canlısı mı yoksa karada yaşayan bir canlı mı olduğu anlaşılabilir [101].



BÖLÜM 4. SCHIFF BAZLARI, GÜMÜŞ VE BAKTERİLER

4.1. Giriş

IUPAC tarafından azot atomuna çifte bağ ile bağlı karbon atomu içeren imin grupları olarak tanımlanan ve azometinler olarak da bilinen bileşiklere Schiff bazları adı verilmektedir. Bu tür bileşiklerin ilk örneği 1860 yılında Hugo Schiff tarafından sentezlenmiştir. 1864 yılında Hugo Schiff; Schiff bazlarını, bir aldehit ve bir aminin kondenzasyonu olarak tanımlamıştır. Schiff bazları, azometin grubundaki azotun bağ yapmamış σ n moleküler orbitalindeki elektronlarını metal iyonlarına vererek ligand olarak davranır. Günümüzde halen bir çok kimyacı yeni ve iyi düzenlenmiş Schiff bazlarının sentezi üzerine çalışmaktadır. Bu tip ligandlar “ayrıcalklı ligandlar” olarak tanımlanmışlardır. Schiff bazları farklı oksidasyon basamaklarındaki çeşitli metallerle karalı hale getirilebilir. Bu sayede birçok metalin katalitik reaksiyonlardaki performansı kontrol edilebilir [102]. Schiff bazlarında genellikle NO veya N2O2 d6n6r atomları bulunur ancak buradaki oksijen atomu yerine k6k6rt, azot veya selenyum gibi bazı atomlar da yer alabilir [102]. En iyi bilinen Schiff baz Şekil 4.1.’de yapılı ligandlar salen(sal2en) ve salpen(sal2ph) dır.



Şekil 4.1. a) Salen(sal2en) ligandı b) Salpen(sal2ph) ligandı.

4.2. Gümüş Antibakteriyel Etkisi

Gümüş ve gümüş iyonlarının güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği uzun zamandan beri bilinmektedir. Gümüşün ilk kez M.Ö. 3100 yıllarında Mısırlılar ve M.Ö. 2500 yıllarında Çinliler ve Persler tarafından kullanıldığı bilinmektedir. Bu eski uygarlıklar enfeksiyonları ve gıda bozulmalarını önlemek amacıyla gümüş kap kullanmışlar, M.Ö. 800 yıllarına doğru gümüş, Nil nehri civarında para olarak kullanılmaya başlanmıştır. Fenikeliler döneminde su, şarap ve sirkenin gümüş şişelerde saklanılarak mikrobiyal bozunmalarının engellendikleri söylenmektedir. Romalıların yaralanmalarda, kırılmalarda ve deri hastalıklarında gümüş nitrat kullandığı bilinmektedir. M.Ö. 69 yılındaki ilaç kitaplarında gümüş nitrat, mikrop öldürücü etkisi ile geçmiştir. Modern tıbbın babası sayılan Hipokrat notlarında gümüşün iyileştirici ve enfeksiyon oluşumunu azaltıcı bir madde olduğunu belirtmiştir [102]. Güçlü bir antibakteriyel etkiye sahip metal iyonlarının kullanımlarında en büyük kısıtlama biyoyumluluklarıdır. Diğer metaller ile kıyaslandığında gümüş, insanlar için toksik (zehirli) etkisi en düşük olan elementtir. Gümüş iyonlarının bakteriler üzerindeki etkisi tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte genellikle iki mekanizma üzerinde durulmaktadır [103].

Bu mekanizmalardan birincisine göre gümüş iyonları, yapılarında elektron verici grup içeren proteinlerle reaksiyona girerek bu proteinleri etkisiz hale getirmektedir. Bakteri zarından besin girişi, metabolik olaylar sonucu oluşan toksik maddelerin hücre dışına atılması gibi birçok işlev zar üzerindeki proteinler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu proteinler gümüş ile kararlı kompleksler oluşturarak işlevini kaybeder dolayısıyla bakteri ölür. Gümüş iyonlarının bakteriler üzerindeki etki mekanizmalarından ikincisi ise bakteri membranından sitoplazmaya geçen gümüş iyonlarının, sitoplazmik proteinlerle ya da hücrenin DNA'sı üzerinde bulunan thio-, amino-, imidazol-, karboksil- ve fosfat gruplarıyla kompleks oluşturması ve bu molekülleri etkisiz hale getirmesiyle açıklanır. Gümüş iyonlarının E. coli ve S. aureus üzerine antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Araştırmacılar, gümüşün, proteinin -SH grupları ile etkileşime girerek proteini inaktif hale getirdiği ve DNA moleküllerine etki ederek DNA'nın

replikasyon yeteneğinin yitirilmesine yol açtıkları sonucuna varmışlardır [104,105,106].

4.3. Schiff Bazı Metal Kompleksleri

Schiff bazı metal komplekslerinin sentezi üzerinde çok sayıda metod kullanılabilir. Ancak bu yöntemler içinde özellikle üç yöntem öne çıkmaktadır. Bunlardan birincisi sentezlenen Schiff bazı ligandının metal tuzu ile doğrudan etkileşmesi [106]. İkincisi, template metot olarak tanımlanan aldehit(ketonun), amin ve metal tuzunun bir arada kondenzasyona tabi tutulması [107,108]. Üçüncü metot ise, aldehito komplekslerinin aminlerle kondenzasyonudur [108,109]. Schiff bazı komplekslerinin sentezinde en çok kullanılan metot; önce ligandın sentezi, ardından iki değerlikli (Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} ve VO^{+2} gibi) metal iyonları ile komplekslerinin oluşturulması yöntemidir. Bu komplekslerin sentezinde metal asetatlar, alkoldeki çözünürlüklerinin fazla olması ve ortamda zayıf asit tuzu oluşturduklarından dolayı en uygun bileşiklerdir. Metal tuzu olarak metal nitrür ve klorürler kullanıldığı takdirde; sentezlen ligand önce NaOH veya KOH gibi kuvvetli baz ile etkileştirildikten sonra metal atomu ile etkileşimi ve Schiff bazı kompleksinin sentezi mümkün olmaktadır. Schiff bazıları uygun metal tuzlarıyla reaksiyona sokulurken genellikle metanol veya etanol çözücü olarak kullanılır [110,111]. Ligandlardan proton kopartmak için asetat veya hidroksit tuzları kullanılır. Alternatif olarak trietilamin baz olarak kullanılabilir veya metanol ya da etanolde daha sonra baz olarak davranan metoksit veya etoksit iyonları oluşturmak üzere sodyum ya da potasyum metali kullanılabilir [112-113]. Schiff bazı ligandları, özellikle Schiff bazı komplekslerinin oluşumunda, reaksiyona girdikleri metal iyonu ile kazandıkları formal kararlılık nedeniyle koordinasyon kimyasında dikkate değer bir öneme sahiptir [114]. Ligandlar, merkez atoma elektron çiftleri verebilen Lewis bazlarıdır. İmin bağındaki azot atomu ortaklanmamış elektron bulundurduğu için elektron verici olup bazik karakterdedir. Azometin azotu olarak da tanımlanabilen bu atom bir Schiff bazı için öncelikli koordinasyon noktasıdır. Azot atomunun bir çift bağ ile bağlanmış olduğu azometin sistemindeki π^* -orbitalleri sayesinde d-metal iyonları ile geri bağlanmaya uygun koordinasyon bölgesi olabilir. Sonuç olarak, azot atomunun da

bulunduğu bu grup, hem σ -donör hem de π - akseptör fonksiyonu gösterebilmektedir. Bu durum, Schiff bazlarının oluşturduğu metal komplekslerinin yüksek kararlılıklarının nedenidir [115]. Azometin grubunun ligand olarak kararlı kompleksler oluşturabilmesinde ikinci önemli faktör, molekülde hidrojen atomunun kolay uzaklaştırılabildiği azometin bağına yakın bir fonksiyonel grup (tercihen fenolik -OH grubu) bulunmasıdır. Böylece meydana gelen beşli veya altılı şelat halkaları ortaya çıkar ki, bu kompleksler metalin kantitatif bağlandığı yapılardır.

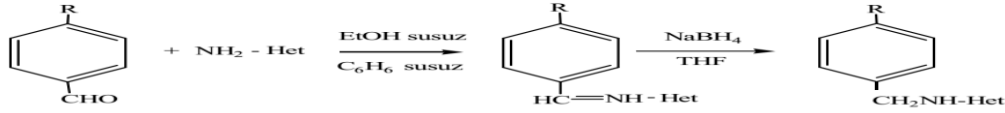
4.3.1. Schiff bazı- metal komplekslerinin tıptaki uygulamaları

Azot ve kükürt içeren çok dişli ligandların metal kompleksleri dikkat çekici biyolojik aktiviteye sahiptirler ve fizikokimyasal özelliklerinden dolayı çok fazla ilgi görmüştür. Azot ve kükürt atomları, koordinasyona giren metaller ile metalobimoleküllerin koordinasyonunda anahtar rol oynarlar. Serbest Schiff bazı ligandları ve onların metal kompleksleri bakterilerin, mantarların ve mayaların biyolojik aktivitelerini engelleyici özelliklere sahiptir. Schiff bazlarının metal kompleksleri, ligandlarına göre bu engellemeyi daha etkin olarak yapmaktadır [116]. Schiff bazlarının talyum, molibden, mangan, çinko, kadmiyum, bakır ve silikon ile yaptıkları kompleksler metalsiz Schiff bazı ile karşılaştırıldığında antimikrobiyal özelliklerin daha iyi olduğu gözlenmiştir. O-fenilendiamin'in pyrolidon ve pyridon ile oluşturulan Schiff bazlarının metal kompleksleri çok iyi antibakteriyel özellik göstermiştir. Antimon, arsenik ve bizmut metallerinin Schiff bazı komplekslerinin *A.niger* ve *A.alternata* küflerine karşı dikkate değer antifungal etkiye sahip olduğu görülmüştür. Örneğin, furan veya furilglkosal'ın aminlerle oluşturduğu Schiff bazlarının metal kompleksleri çeşitli organizmalara karşı antifungal aktivite göstermişlerdir. Gümüş ve çinko metali Schiff bazı kompleksleri dikkate değer antiviral özellik göstermişlerdir. Örneğin, salatalık mozaik virüsüne karşı gümüş ve çinko komplekslerinin inhibitör özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Yukarıda bahsedilen özelliklerin yanı sıra Schiff bazı metal komplekslerinin antiinflamatuvar, alerji inhibitörü, antioksidant ve analjezik etkiye sahip oldukları anlaşılmıştır. Bunlara örnek olarak, furan semikarbazon'un metal kompleksleri antihelmintik(bağırsak kurdu dökücü) ve analjezik etki göstermişlerdir. Diğer taraftan bazı Schiff bazı metal komplekslerinin antifertilite enzimatik aktiviteye sahip oldukları

görülmüştür. Örneğin hidrazinkarboksamid ve hidrazin Schiff bazlarının dioxo Mo(IV) ve Mn(II) komplekslerinin üremeyi engelleyici etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir [117,118].

4.4. Schiff Bazlarının Antibakteriyel Özellikleri

Heteroaril benzilaminler ve bu bileşiklerin Schiff Bazları antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Değişik azoller (imidazol, ve 1,2,4-triazol) ve heteroaril türevi bileşikler patojen bakterilere karşı kullanılmaktadır. Azol bileşikleri, Schiff Bazlarının tetrahidrofuran içerisinde NaBH₄ ile indirgenmesi ile elde edilir.



N,N'-bis(2-piridil-metilen)-1,4-butadienamin ve bu bileşiğin Çinko komplekslerinin anti-inflamator ve hepatoprotektif etkisi bulunmaktadır [103].

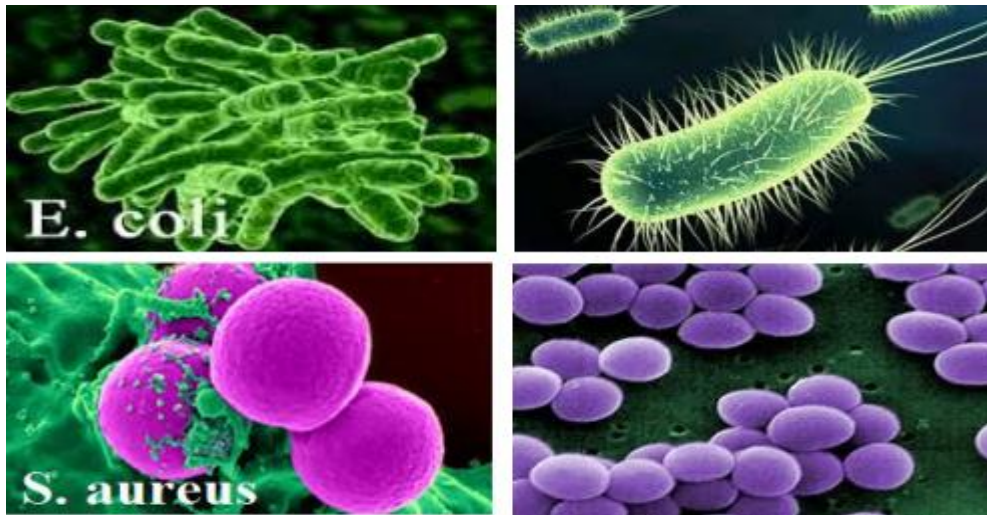
4.5. Bakteriler

4.5.1. Bakterinin tanımı

Bakteriler 0,2-2 mikron büyüklüğünde mikroorganizmalardır (1 mikron = 10⁶ m.). Bakterilerin sitoplazması “Sitoplazma zarı” denilen bir zar içinde bulunur. Bakterilerin hücre yapıları insan hücrelerinden farklıdır. Bakterilerin sahip oldukları hücresel öğeleri şu şekilde sıralayabiliriz;

1. Sitoplazma zarı
2. Hücre duvarı
3. Kapsül
4. Fimbria
5. Kamçı
6. Çekirdek maddesi
7. Ribozom Mezosom
8. İnklüzyon cisimciği

“Sitoplazma zarı” bir bakterinin en iç duvarını oluşturur. “Lipo proteinlerin” yapısında olan sitoplazma zarı, bakterinin sitoplazmasını dışarıdan sarar. Bu zar bakterinin biçimini belirlemekle görevli değildir. Başlıca görevi bakteri içine girecek besin maddelerine karşı seçici bir zar görevini üstlenmiş olmasıdır. Bakteriden dışarı atılacak bazı enzim ve artık maddelerin de seçiciliğini yapar. “Hücre duvarı” sitoplazma zarının hemen dışında bulunur. Bakterilere özel biçimlerini kazandıracak kadar sert bir yapısı vardır. Hücre duvarının hücre içiyle dışı arasındaki madde alışverişinde etkin görevi yoktur. Ancak bakteri hücresinin boyanma özelliği etkiler. Kapsül denilen üçüncü bir duvar tabakasına bazı bakteri türlerinde rastlanır. Kapsül, bulunduğu bakteriye özgün bağışıklık özellikleri kazandırır, antibiyotiklere ve fagositoza karşı dirençli kılar. Fimbrialar hareket işleviyle ilgili değildirler. Bakterinin besinle temas yüzeyini daha da artırarak, yakın bir ilişkiye girmelerini ve konak hücreye yapışmalarını sağladıkları düşünülmektedir. Bundan başka özel bir fimbria (seks fimbriyası) bakterinin aynı türden başka bakterilere yapışarak ona genetik madde aracılığı ile bazı özellikleri de aktarmasını sağlamaktır. “Kamçı”, bakterilerin hareketliliğini sağlayan bir uzantıdır. Enfeksiyona sebep olan en etkili ve tehlikeli bakterilerden iyi tanınan gram-pozitif *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve gram-negatif *Escherichia coli* Şekil 4.2.’de görülmektedir [119].



Şekil 4.2. *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerinin boyalı SEM görüntüleri.

“Çekirdek maddesi”, DNA ve/veya RNA içerebilen bakteri içi maddeleridir. Bakterilerin çekirdek zarı bulunmadığı için çekirdek maddesi bakteri içine dağılmış

olarak bulunur. “Ribozomların görevi”, insan hücrelerindeki ribozomların görevlerinin aynıdır. Bakterilerde-ki ribozomlar bakterinin çoğalma dönemlerinde sayıca artar. Bakterilerdeki “Mezosom” denilen yapılar, sitoplazma zarının bakteri içine doğru olan kıvrımlarından oluşur. Bakterilerin bölünme olaylarında görev üstlendikleri düşünülmektedir. “İnklüzyon cisimciği” denilen bakteri içi cisimciklerin de depo besin maddeleri oldukları düşünülmektedir.

4.5.2. Bakterilerin sınıflandırılması

Bakteri türlerini çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılabilir. Biz burada onları yalnız görünüşlerine göre kısaca sınıflayacağız. “Kok” grubu bakteriler tek tek yuvarlak, mum alevi ya da fasulye biçimindeki bakterilerdir. Bunlar belli bir düzende bir araya geldiklerinde değişik gruplar oluştururlar. Örneğin “Diplokok”lar iki kokun bir araya gelmesiyle oluşurlar. “Streptokok” grubu birçok kokun tespih taneleri gibi arka arkaya dizilmesiyle bir zincir görünümü oluşturur. “Stafilokok” grubunda koklar üzüm salkımına benzer biçimde bir araya toplanmışlardır. “Basil” grubu bakteriler kısa çomak biçimindedirler. Bu grupta tüberküloz ve lepra basilleri yer alır. Bakteriler, fenotipik, analitikve genotipik özelliklerine göre sınıflandırılır. Bakterilerin tanımlanmasında öncelikle fenotipikolarak, makroskobik, mikroskobik, biyokimyasal özellikleri incelenir. Bakteri kolonilerin rengi, şekli ve kokusu gibi özellikler makroskobik tanımlamada kullanılır. Mikroskobik özelliklerin incelenmesinde ise en sık Gram boyama yöntemi kullanılır. Bakterileri başlıca iki ana sınıfa ayırır. Gram pozitif ve Gram negatif bu yöntem ile, duvar yapılarının farklı olmasından dolayı, Gram pozitif bakteriler mor, Gram negatif bakteriler pembe-kırmızı boyanır. Bu boyama tekniği ile bakteriler ayrıca, yuvarlak (kok), çomak (basil) ve kıvrık (spiral) şekilli olarak sınıflandırılabilir.

4.5.3. Bakterilerin isimlendirilmesi

Bakteriler isimlendirilirken önce cins ismi (ilk harf büyük) sonra tür ismi (ilk harf küçük) kullanılır ve italik harflerle yazılır. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* v.b.

4.5.4. Antibakteriyel aktivite

Antibakteriyel aktivite, bakterinin materyal yüzeyinde büyümesini engelleyen yada bakterinin ölümüne yol açan etkidir. Klor gibi çeşitli kimyasallar ve antibiyotikler antibakteriyel etkiye sahip maddelerdir. Günümüzde, antibakteriyel özelliğe sahip yeni malzemelerin keşfi konusunda araştırmalar artmıştır. Burada tercih edilen, insan sağlığı için toksik olmayan ve doğada bozunabilen maddelerdir. Bakteriler yüzeylere bağlanıp biyofilm denen yoğun kümeler oluştururlar. Bu filmler birkaç mikrometre kalınlıktan yarım metre derinliğe kadar değişebilir ve birden çok bakteri, protista ve arke türü içerebilir. Biyofilmlerde yaşayan bakteriler, hücre ve hücre dışı bileşenler ile karmaşık bir düzen oluştururlar. Meydana gelen ikincil yapılar arasında mikrokoloniler de sayılabilir, bunların içinde bulunan kanal şebekeleri gıdaların daha kolay difüzyonunu sağlar [119].

Doğal ortamlarda, örneğin toprak ve bitkilerin yüzeyinde, bakterilerin çoğunluğu biyofilm aracılığıyla yüzeye bağlanır. Biyofilmler tıpta da önemlidir, çünkü bu yapılar kronik bakteriyel enfeksiyonlarda ve vücut içine yerleştirilmiş tıbbi cihazlarda bulunurlar. Biyofilmler içinde kendini koruyan bakterilerin imhası, tek başına ve izole durumda olan bakterilerinkinden çok daha zordur.

Bakteriler uygun sıvı ve katı ortamlarda kolayca üreyebilirler. Sıvı besi yerlerine ekilen bir tek koloni, uygun bir besiyeri, sıcaklık ve inkubasyon süresinden sonra üreyerek bir bulanıklık meydana getirir. Diğer bir ifade ile üremenin varlığı kültürün bulanık bir hal almasıyla anlaşılabilir. Ancak, bazı etkenler (mikoplazma, Leptospiralar) gözle zor görülebilen bir bulanıklık oluştururlar. Bazı bakteriler de cansız sıvı ve katı besi yerlerinde üremezler (rickettsia, chlamydia). Bir kısım mikroorganizmalar da çok uzun sürede üreyebilirler (Mikobakteriler gibi). Katı ortamlarda gözle görülebilecek büyüklükte koloniler meydana gelir. Bunlar üremenin varlığını gösteren durumlardır [119].

Bu bakterilerin patojenik türlerinden birisi de yaralarda enfeksiyona yol açabilen *Staphylococcus aureus*'dur. Bu bakteri kuru yüzeylerde yaşar ve geçirgenliği artırır.

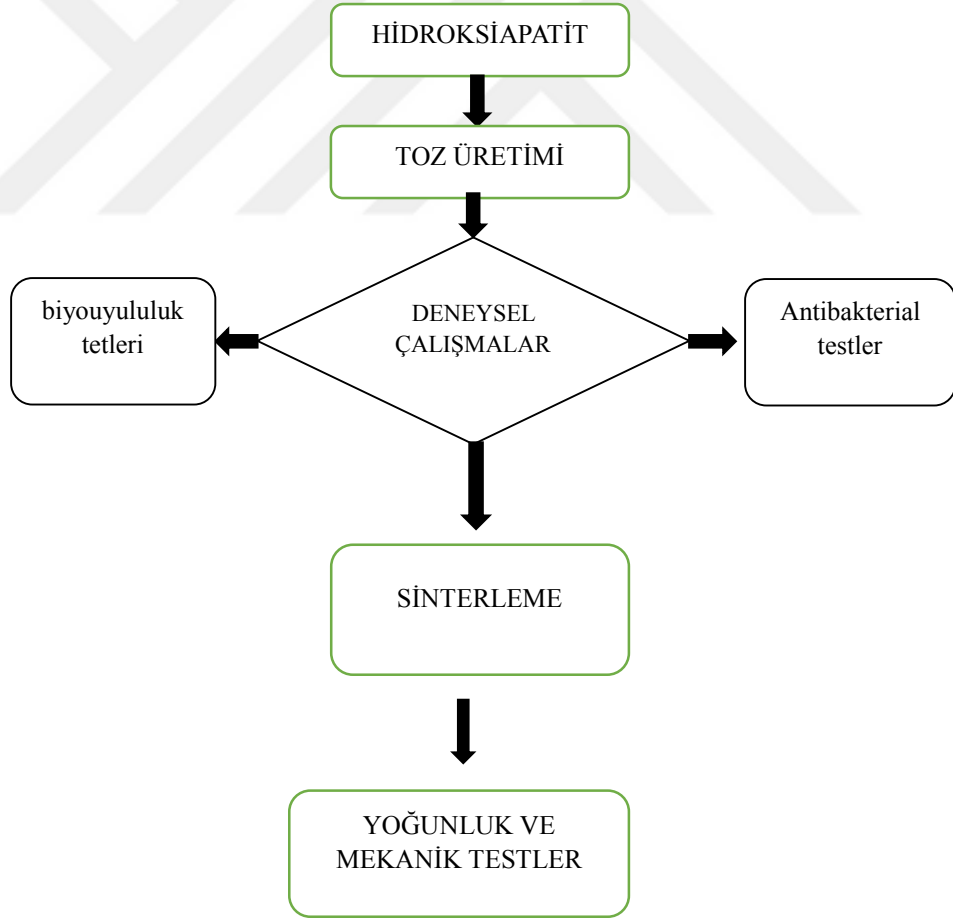
Bu türden olan metisiline-dirençli S.aureus hastaneden kazanılan enfeksiyonlarda ana etken olmuştur ve toplumdan kazanılan enfeksiyonlarda ortaya çıkışı ve sıklığındaki artışı sonucu bu özelliği anlaşılmıştır. S.aureus ayrıca toksik şok sendromuna da neden olabilmektedir. 1980'ler boyunca bazı tamponlar S.aureus'un hızla üremesine yol açmış ve bu şekilde kana karışan toksinler salınmıştır. Herhangi bir S.aureus enfeksiyonu stafiokokal haşlanmış cilt sendromuna yol açabilir. Bu durum ise derinin kana karışan ekzotoksine verdiği reaksiyon ile oluşur. Ayrıca Piyemi diye adlandırılan bir çeşit septisemiye de yol açabilir. Günümüzde S.aureus'un bir çok antibiyotiğe direnç gösteren izolatlarının meydana gelmesi çoğu sağlık kuruluşu için önemli bir problem haline gelmiştir.

Genelde E.coli kısaltılmasıyla koli basili, memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan bir bakteri türüdür. İnsanın bir günde dışkı yoluyla vücudundan geçen E.coli bakteri sayısı 100 milyar ila 10 trilyon arasındadır. Dışkıyı oluşturan bakteriler başlıca anerobik bakterilerdir, seçmeli anerobik E.coli hücrelerinin sayısı diğer bakteri türlerinin binde biri dolayındadır. Bazı E.coli tipleri içinde buldukları hayvan için zararsız olmalarına rağmen insana geçtiklerinde hastalık yapabilirler. Bu hastalıklar arasında en ünlüsü sayılan O157:H7 adlı serotip kanlı ishal olup, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastit, septisemi ve gramnegatif pnömoni de sayılabilir. E.coli'nin, tavuk, dana ve başka hayvanlarda da hastalık yapabildiği görülmüştür [119].

BÖLÜM 5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1. Giriş

Bu tez çalışmasında kemik minerali olan hidroksiapatit'in doğal kemiklerden üretilmesi, biyouyumluluk özellikleri antibakteriyel özellikleri ve doğal hidroksiapatitin mekanik özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Buna uygun olarak yapılan çalışmalar şekil 5.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. Hidroksiapatit işlem adımları.

Toz üretimi ve yapılan deneyler Sakarya Üniversitesi Teknoloji Fakültesi Laboratuvarı ve Sakarya Üniversitesi Termal Sprey Araştırma ve Uygulama Laboratuvar'ında, bakteri testleri ise Sakarya Üniversitesi Biyoloji bölümünde yapılmıştır.

Yapılan çalışmanın uygunluğunun denetlenmesi açısından aşağıda listelenen bir dizi test üretilen Hidroksiapatit ve katkılı hidroksiapatit tozuna uygulanmıştır. Tüm çalışmada aynı parametreler, aynı hammadde ve aynı deney ortamları kullanılmıştır.

5.2. Doğal Hidroksiapatit Toz Üretimi

Hayvanın Femur kemikleri ilk olarak sıcak suda üç kere kaynatılmış ve iliklerinden ayrılmıştır. Daha sonra bir şaloma yardımıyla yakılarak organikler uzaklaştırılmıştır. Takiben kemikler Heraus marka elektrik ısıtmalı fırında 850°C'de iki saat kalsinasyona tabi tutulmuştur.

Fırından alınan kemikler havanda ezilerek toz haline getirilmiştir. Öğütme işlemine Turbula marka gezegensel değirmende devam edilmiştir. Daha sonra kemik tozlarının elek analizi yapılarak -75+38 µm boyutlarında HA tozu elde edilmiştir. Kaplama öncesi HA tozun faz bileşenleri X-ışınları difraksiyonu (XRD) ile belirlenmiştir.

Öğütme öncesi ve öğütme sonrası elde edilen tozların tane boyutu, yüzey alanı ve morfolojileri (Vega Tescan II) Taramalı Elektron Mikroskobu) kullanılarak incelenmiştir.

Hidroksiapatit toz üretimi Bölüm 3'te anlatıldığı çeşitli yöntemlerle yapılmaktadır çöktürme yöntemi Sol jel yöntemi Mikroemülsiyon ve Hidrotermal yöntemlerle üretilmekte ayrıca vucut sıvısında, mercan kabugundan veya balık kılçıklarındanda doğal olarak üretilmektedir ancak biz ülkemizde bol miktrada bulunan Sığır kemiklerini kullandık [78].

Üretilen tozlardan 3 çeşit numune hazırlanmıştır;

1. Soğuk izostatik pres yardımıyla 380 MPa basınç ile ISO BS 13779 standardına göre çapı 8mm, boyu 12 mm olan silindirik numuneler hazırlanmış, bu numuneler 1000°C, 1100°C, 1200°C ve 1300°C sıcaklık değerlerinde 4°C/dk ısıtma hızı ile 4 saat boyunca sinterlenmiştir.
2. Üretilen doğal hidroksiapatit tozuna sitrat metodu kullanılarak antibakteriel özellik kazandırmak için schiff bazı ve gümüş ilave edilmiştir.
3. Saf doğal hidroksiapatit toz formada kullanılmıştır.

5.3. Toz Üretimi Adımları

5.3.1. Hammadde (kemik) temin edilmesi

Hidroksiapatit üretimi için hammadde olarak kullanılan hayvan kemiği (sığırın femur kemiği) Sakarya Et ve Balık Kurumu tarafından temin edilmektedir. Bölgemizde bol ve ucuz olarak temin edilebilmiş olması çalışmanın öne çıkan başka bir yönüdür.



Şekil 5.2. Et Balık Kurumu logosu.

5.3.2. Hammaddeye yapılan ilk işlem

1. Baş kısmının kesilmesi Baş kısmı fazla yağlı ve aşırı poröz yapıya sahip olduğu için toz üretiminde istenmemektedir.
2. Kemikler boyuna 2 veya 4 kısma ayrılarak ilik kısımları temizlenir.



Şekil 5.3. Deneylerde kullanılan hayvan kemikleri.

5.3.3. Parçalanmış kemiklere yapılan işlemler

1. Parçalanmış kemikler organik katkılardan ayrıştırılır.
2. Yeterli süre ve sıcaklıkta beklemeden sonra soğutulan malzemeler sonraki işleme hazır hale getirilmiş olur.



Şekil 5.4. Kemiklerin iliklerinden ayrılması işlemi.

5.3.4. Yağ tabakasını uzaklaştırma

Elde edilen ilik vb. den ayrılmış kemik parçaları kemiğin dış yapısında bulunan ince film şeklindeki yağ tabakası uygun yakıcı kaynağı yardımı ile yakılarak uzaklaştırılarak temizlenir.



Şekil 5.5. Organik maddelerden ayrıştırma.

5.3.5. Yanmış kemiklerin kalsinasyonu

Yakma işleminden sonra fazla karbonun uzaklaşması için 1000°C’de yakma işlemine tabi tutularak kemik içindeki C kararlılığını kaybeder ve saf hidroksiapatit tozu olmaya

hazır kemikler elde edilir. Elde edilen tozların bu işleme yeterli süre tabi tutulduğunu renk dönüşümünden anlaşılmaktadır.



Şekil 5.6. Organiklerin uzaklaştırılmasında kullanılan kül fırını.

5.3.6. Kalsine edilmiş kemiklere yapılan işlem

Isıl işlem görmüş kemikler Havanlarda (agat) kırma ve parçalama yaparak öğütülmeye hazır hale getirilir.



Şekil 5.7. HA kütlelerinin kaba öğütülmesi.

5.3.7. Kalsinasyon sonrası kemik parçalarından toz eldesi.

Kırılma işlemine tabi tutulan ısıl işlem görmüş kemikler uygun bir polimer kap içerisine yerleştirilir. Zirkonya bilyalar yardımıyla sıvı ortamda (izopropil alkol) karıştırılır. Yapılan karışım Sakarya Üniversitesi Termal Sprey Araştırma Uygulama Laboratuvarında bulunan gezegen değirmende 8 saat karıştırılarak istenilen toz boyutuna getirilmiştir.



Şekil 5.8. Gezegen değirmeni.

5.3.8. Öğütülmüş hidroksiapatit

Öğütülen karışım haldeki hidroksiapatit tozu rotary evaporatör yardımıyla homojen bir şekilde karıştırılarak içerisindeki alkolden ayrıştırılır. Böylelikle 1 saat gibi kısa bir sürede neredeyse tamamen ayrışma gerçekleşmiş olur. Alkolden arındırılan tozlar etüvde beklemeye bırakılır.



Şekil 5.9. Rotary Evaporatör.



Şekil 5.10. Manyetik karıştırıcı.

5.3.9. Ögütülmüş hidroksiapatit tozlarının son hali

Ögütülen tozlar farklı eleklerden geçirilerek istenilen boyutlara göre ayrılmaktadır. Bu yöntemle ülkemizde henüz üretilmeyen ve insan vücudu için yedek parça niteliği taşıyan hidroksi apatitin toz formunda sistem seri hale getirilerek yüksek miktarlarda üretimi mümkündür.



Şekil 5.11. Üretilen HA tozu.

Doğal apatitlerin on yıllık sonuç taramaları, bize sentetik yapılardan daha kolay biyoyum sağladıklarını göstermiştir. Doğal apatitlerin orijinleri, mercan, domuz ve sığırdır. Halkımızın Müslüman oluşu, Müslüman ülkelere satış kolaylığı açısından, çalışmalarımız sığır ile yapılmıştır.

Sonuçta, kompozit yapıların, kemiğin yarı iletken yapısına benzer iletkenlikte olmasıyla kemik hücrelerinin çoğalmasını aktive ettiği bulgusuna varılmıştır. Doğal yapıların (deniz kestanesi, sand dolar, deniz ve kara salyangozu, şeytan minaresi, kara midye, sülünes, yumurta kabuğu, inci tozu,) bileşimindeki kalsiyum oranı gerekli deneylerde tespit edilmiştir.

Çalışmalarımız sonucunda, kemik apatitler başta olmak üzere kompozitleri ve diğer nano yapılarda doğal HA kristalleri üretebilmekte. Üretimin kar oranları, fevkalade yüksek olmaktadır, zira yöntemimiz ekonomik ve basittir. Elde edilen ürün kalitesi ise emsallerinden üstündür. “Bioss” adlı Amerikan kaynaklı üründe kullanılan hayvanların birkaç jenerasyonu takip edilebilmekte, organik ürünlerle doğal

beslenmektedir. Hayvanların, hastalık ve pirojen taşımadığından emin olunmaktadır. Bu özellikleriyle tercih edilmektedirler.

Çalışmalarımızda, halen kullanılan HA lardan daha yüksek sıcaklıkta çalışarak, Organik olarak üretilen sığır kemiklerinden giderek sağlıklı ve kimlik takibi yapılmış hayvanlar üzerinden üretim planlamaktayız [19].

5.4. Doğal Hidroksiapatit Tozların Sinterlenmesi

Büyükbaş hayvan kemiğinin 850°C’de kalsinasyonu ile elde edilen hidroksiapatit tozu, öğütme işleminin ardından oda sıcaklığında, manyetik karıştırıcıda kurutulmuş ve agat havanda karıştırılarak presleme ve sinterleme işlemine hazır hale getirilmiştir. Şekil 6.6.’da gösterilen soğuk izostatik pres yardımıyla 380 MPa basınç ile ISO BS 13779 standardına göre çapı 8mm, boyu 12 mm olan silindirik numuneler hazırlanmış, bu numuneler 1000°C, 1100°C, 1200°C ve 1300°C sıcaklık değerlerinde 4°C/dk ısıtma hızı ile 4 saat boyunca sinterlenmiş.



Şekil 5.12. Soğuk İzostatik Pres.

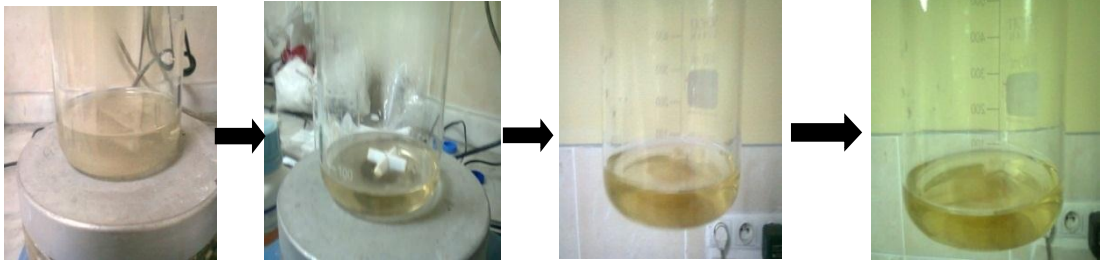


Silindirik Numune

5.5. Schiff Baz ve Gümüş Katkılı Hidroksiapatit Toz Numune Hazırlanması

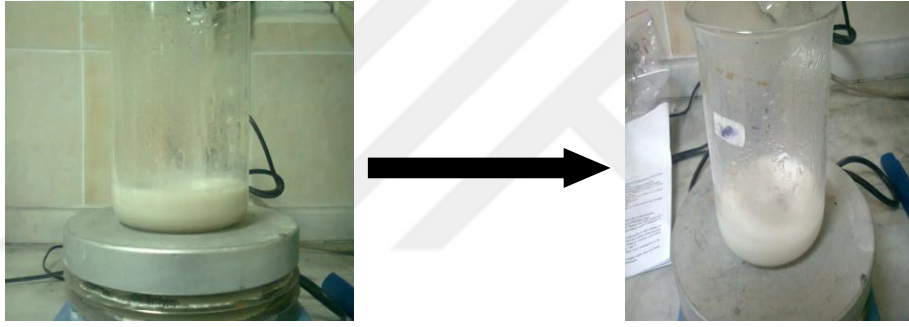
Schiff Bazı ve Gümüş nanoparçacıklar, Lee ve Meisel yöntemine göre sentezlendi (Lee ve Meisel, 1982). Bu senteze göre, 0,03 gr Çinko SAE schiff bazı ve Gümüş Nitrat tozları ayrı ayrı tartıldı ve 100 ml saf su içerisinde çözüldü. Hazırlanan çözelti kaynatıncaya kadar ısıtıldı, ve üzerine 50 ml %5’lik trisodyumsitrat çözeltisi ısıtılarak

eklendi. Çözelti yaklaşık 100 ml kalana kadar kaynatıldı. Oluşan çözelti sarımsı renk aldı.



Şekil 5.13. Sitrata metodu işlem adımı 1.

Hazırladığımız schiff bazı nanoparçacıklı ve Gümüş çözelti içerisinde 100 gr doğal hidroksiapatit manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtılıyor beyaz renk alan çözültiden saf su uçurularak schiff baz ve Gümüş kaplanmış doğal hidroksiapatitler dibe çöktürülüyor.



Şekil 5.14. Sitrata metodu işlem adımı 2.

Ağır metallerin bakterilere karşı toksik etki gösterdikleri bilinmektedir. Ancak ağır metal iyonlarının pek çoğu mikroorganizmaları öldürmesine rağmen toksik, alerjik etki yaratmaları ve çevresel sorunlara yol açmaları nedeniyle kullanılmamaktadır. Schiff bazları ve Gümüş antibakteriyel özelliğiyle tedavilerde ve endüstride kullanılmaktadır.



Şekil 5.15. Schiff baz katkılı Hidroksiapatit.



Şekil 5.16. Gümüş katkılı Hidroksiapatit.

5.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM-EDS)

SEM ve EDS cihazı tozların yüzey kesitlerinin yüksek büyütmelede morfolojik ve kimyasal analizi için kullanılmaktadır. Malzeme yüzeyi ve kesitinde bulunan her türlü hatalar rahatlıkla incelenebilir ve mikron boyutunda bölgelerin kimyasal analizleri, faz haritalaması, renkli kompozisyon görüntülemesi ve benzeri analizleri yapılabilir. Bu çalışmada numunelerin SEM mikroyapı fotoğraflarının çekilmesinde Vega Tescan II marka taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır.

Ayrıca EDS analizi SEM cihazına entegre edilmiş Bruker Quantax marka cihaz ile üretilen tozların kimyasal bileşimini elementel olarak analiz etmek amacıyla yapılmıştır.



Şekil 5.17. Vega Tescan II marka SEM cihazı.

5.7. X Işını Kırınım (XRD) Analizi

XRD analizi doğal hidroksiapatitin bünyesinde bulunan mineral bileşiklerinin kalitatif ve yarı kantitatif ölçümleri için yapılmaktadır. Mineralin kimyasal yapısı ve mineralojik kompozisyonu RIGAKU XRD D/MAX/2200/PC marka cihaz ile Cu-X ışın tüpü kullanılarak tespit edilmiştir. Analiz sonuçları tezin sonuçlar bölümünde verilmiştir. Bu yöntemle karakteristik X-ışınları kristal yapılı bir maddeye çarptırıldığı zaman kristal düzlemlerinde bulunan atomlar tarafından kırınıma uğrayarak belli

açılarda yansıtılırlar. Bu paternler bileşimi belli standart paternler ile karşılaştırılması sonucu, maddenin kristal özellikleri ve bileşimi saptanmış olur.



Şekil 5.18. Rigaku marka SEM cihazı.

5.8. XRF (Xray Flüoresans) Analizi

XRF analizi S8 TIGER marka cihaz ile yine hidroksiapatit tozundaki elementlerin belirlenmesi ve doğal kemik yapısından elde edilen hidroksiapatit ile ticari hidroksiapatitin karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır.



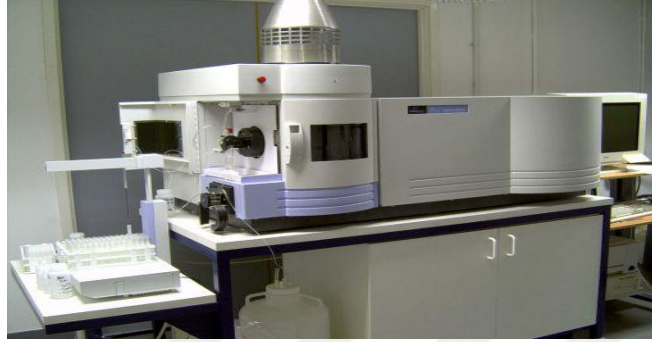
Şekil 5.19. S8 TIGER marka XRF cihazı.

5.9. ICP (İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma) Analizi

ICP-MS İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) ve Kütle Spektrometresi (MS) olmak üzere iki ünitenin bileşiminden oluşmuştur.

Numunedeki elementler ICP'de iyonlaştırıldıktan sonra kütle spektroskopisine (MS) gönderilir ve burada kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılıp ölçülür. ICP analizi Perkin

Elmer Optima 2100 marka cihaz ile Ticari hidroksiapatit tozundaki elementlerin belirlenmesi ve doğal kemik yapısından elde edilen hidroksiapatit ile karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Analiz için hidroksiapatit tozu sitrik asit içerisinde çözündürülerek çözelti oluşturulmuştur.



Şekil 5.20. Perkin Elmer Optima 2100 marka ICP cihazı.

5.10. FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) Analizi

Kızılötesi (IR) absorpsiyon spektroskopisi bir tür titreşim spektroskopisidir; IR ışınları molekülün titreşim hareketleri tarafından soğurulmaktadır. Matematiksel Fourier dönüşümü spektroskopisinde ışın şiddeti, zamanın bir fonksiyonu olarak alınır. Her dalga boyunu ayrı ayrı tarama gereksizdir hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar elde edilebilir. Bu yöntem ile, moleküler bağ karakterizasyonu yapılarak; katı, sıvı, gaz veya çözelti halindeki organik bileşiklerin yapısındaki fonksiyonel gruplar, iki bileşiğin aynı olup olmadığı, yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri ve yapının aromatik yada alifatik olup olmadığı belirlenebilir. Ayrıca biyokimyasal olarak; karbonhidrat, fosfolipit, aminoasit ve proteinlerin yapı analizlerinde belirleyicidir.

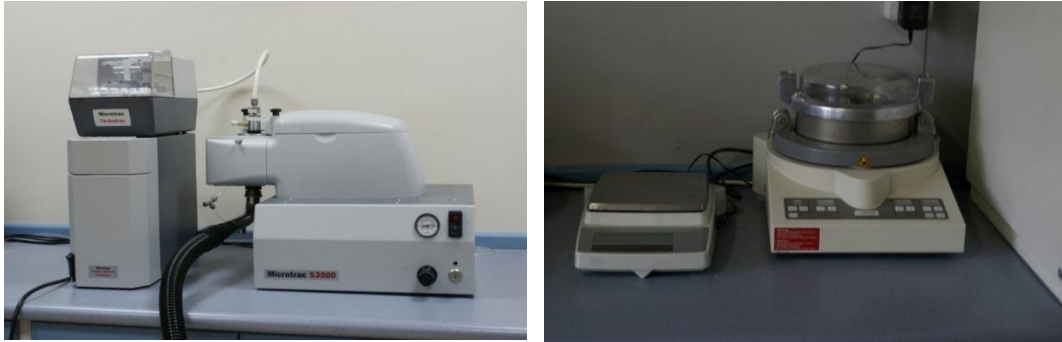
Doğal hidroksiapatitin IR spektrumunu alıp gözlenen bantlardan faydalanarak yapısında hangi fonksiyonel grupların bulunduğunu ve molekül içindeki bağ türlerinin neler olduğu PERKİN ELMER SPECTRUM 100 marka cihaz ile Sakarya üniversitesi kimya bölümünde yapılmıştır.



Şekil 5.21. Perkin Elmer Spectrum 100 marka FTIR cihazı.

5.11. Tane Boyut Ölçüm ve Elek Analizi

Doğal hidroksiapatit biyoseramik tozların toz boyut dağılımını öğrenmek amacıyla önce titreşimli otomatik eleme cihazıyla elek analizi daha sonra tane boyut dağılım histogramı veren tane boyut dağılım analizi yapılmıştır. Bu analiz için MICROTRACK S3500 marka cihaz elek analizi için FRİTSCH marka cihaz kullanılmıştır.



Şekil 5.22. Microtrack S3500 Marka tane boyut dağılım cihazı ve Titreşimli Otomatik Eleme Cihazı (Fritsch).

5.12. Hidroksiapatit Basma Testi

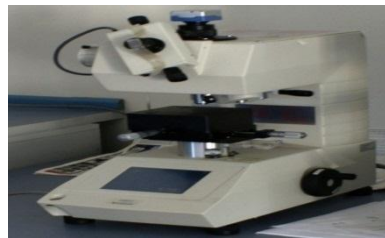
TSE ASTM C 133 standardına göre kare kalıpta 12x12x12 ebatında hazırlanan basma numuneleri 5 ton kapasiteye sahip zwick marka çekme /basma makinasında yapılmıştır.



Şekil 5.23. Zwick marka çekme/basma test cihazı.

5.13. Hidroksiapatit Sertlik Ölçümü

Hidroksiapatit sertlikleri, Vickers sertlik ölçme yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntem, sertliği ölçülecek malzeme yüzeyine tabanı kare olan piramit bir ucun belirli bir yük altında daldırılması ve yük kaldırıldıktan sonra meydana gelen izin köşegenlerinin ölçülmesi prensibine dayanır. Vickers sertlik değeri, piramit şeklindeki dalıcı ucun belirli bir yük altında belirli bir süre uygulanması ile malzeme yüzeyinde meydana getirdiği izin büyüklüğü ile ilgili bir değerdir. Ölçümler disk numuneler üzerinde bir SHIMADZU marka mikrosertlik cihazında tepe açısı 136° tabanı kare olan Vickers ucu ve 300 gr yük 15 sn uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Mikrosertlik ölçümleri, en az 20 alandan alınıp ortalamaları değerlendirilmiştir.



Şekil 5.24. Shimadzu marka vickers sertlik cihazı.

5.14. Yoğunluk Değerlerinin Belirlenmesi

Üretilen numunelerin yoğunluk değerleri Denklemde verilen Arşimed prensibi kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\rho = \rho_{su} \times W_s / (W_s - W_{sa})$$

ρ : Yoğunluk (g/cm^3)

ρ_{su} : Suyun yoğunluk değeri (g/cm^3)

WS: Sinterleme sonrası numune ağırlığı(g)

W_{sa} : Sinterleme sonrası numunenin suda asılı ağırlığı(g) Ölçülen yoğunluk değeri doğal hidroksiapatitin teorik yoğunluğu olan 3.17 g/cm^3 'e oranlanarak numunelere ait relatif yoğunluk değerleri bulunmuştur.



Şekil 5.25. Yoğunluk ölçme aleti.

5.15. Antibakteriyel Testler

Antibakteriyel testleri doğal yolla üretilen saf hidroksiapatit, schiff baz katkılı hidroksiapatit ve gümüş katkılı hidroksiapatite antibakteriyel aktivite ölçümü amacıyla Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde yapılmıştır. Katkısız olan materyal kontrol grubu olarak kullanılmış ve ilaveli materyallerin bakteri öldürücü etkisi (bakterisidal) ya da büyümeyi durdurucu etkisi (bakteriostatik) test edilmek istenmiştir.

Çinko ve gümüş kırılğan bir metal olup, biyokimyasal reaksiyonlarda önemli role sahiptir. Özellikle enzimin yapısına katılmasından dolayı, heterotrofik bakterilerin büyümesi ve çoğalması için elzemdir. Bunun yanı sıra çinkonun ve gümüşün belli bir dozundan fazlası bakteri kolonileri için toksiktir ve mikrobiyal aktiviteleri inhibe etmektedir. Test uygulamasında Escherichia coli bakterisinin patojenik olmayan bir suşu (DHS α) kullanılmıştır. E.coli heterotrofik bir bakteridir. Gerekli besin şartları sağlandığında rahatlıkla üreyebilir.

Antibakteriyel test uygulamalarında bakteri için toksik etki yaptığını ve bakteri büyümesini inhibe ettiğini gözlemlemek için farklı dozlarda schiff baz katkılı diskler kullanılarak disk difüzyon testi uygulanmıştır. Gümüş katkılı tozlar ise toz halde koloni sayma metoduna göre test edilmiştir.

Deneysel çalışmada kullanılan numuneler

Katkısız olarak hazırlanan numuneler;

1. Ticari Hidroksiapatit tozu (Disk haline getirilmiş, 1.4 cm çap)
2. Kemikten üretilen Hidroksiapatit tozu (Disk haline getirilmiş, 1.4 cm çap)

İlk olarak katkısız olarak ticari ve doğal hidroksiapatitin antibakterial test numuneleri disk difüzyon yöntemine göre hazırlanmıştır.

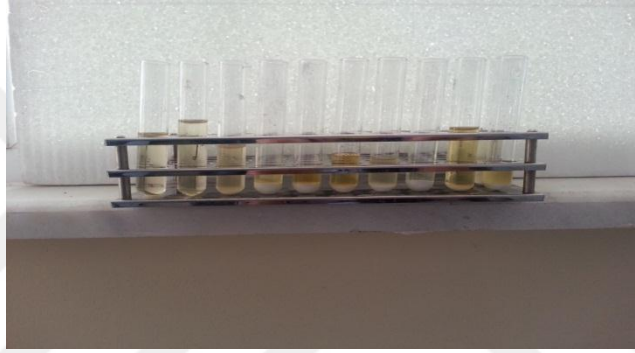
Gümüş ilaveli hidroksiapatite toz halde yapılan koloni sayma metodu test numuneleri;

1. Hidroksiapatit toz (Kontrol)
2. %0.5 Ag ilaveli Hidroksiapatit
3. %1 Ag ilaveli Hidroksiapatit
4. %1.5 ilaveli Ag Hidroksiapatit
5. %2 Ag ilaveli Hidroksiapatit

Çalışmada test mikroorganizması olarak kullanılan *Escherichia coli* DHS α Microbiologics'den temin edilmiştir. Besi ortamı olarak kullanılan LB Broth sıvı besiyeri ve LB Agar katı besiyeri Merck'den sağlanmıştır.

Bakteri kültürünün çoğaltılması için gerekli LB broth sıvı besiyeri hazırlanmasında 40 gr toz besiyerine 1000 ml distile su lave edilmiştir. Besiyer karışımı erlenmeyerde manyetik karıştırıcı yardımıyla homojenize hale getirilmiştir. Daha sonra ağzı pamuk ve gazlı bez yardımıyla kapatılan tüpler otoklav aleti ile 121°C'de, 1 atm basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Otoklav işlemi biten besiyerin ağzı sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra ekim işlemine kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Antibakteriyal testin uygulanması için gerekli LB agar katı besiyeri hazırlanmasında 40 gr toz besiyerine 1000 ml distile su lave edilmiştir. Besiyer karışımı erlenmeyerde manyetik karıştırıcı yardımıyla homojenize hale getirilmiştir. Daha sonra ağzı pamuk ve gazlı bez yardımıyla kapatılarak otoklav aleti ile 121°C’de, 1 atm basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri 50°C’ye kadar soğutulmuştur. Aseptik şartlarda steril petri kaplarına 4 mm (~20 ml) kalınlığında dökülerek katılaşması beklenmiştir. Katılaştıran besiyerleri ekim işlemine kadar +40 °C’de buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 5.26. Toz hidroksiapatitlerin eklendiği tüpler.

Çalışmada test mikroorganizması olarak *Escherichia coli* DHS α suşu kullanılmıştır. Çizgi ekim yöntemi ile saf koloni elde edilmiştir. Bütün tüplere 10 ml LB broth sıvı besiyeri koyulduktan sonra birinci tüp (negatif kontrol) ve ikinci tüp hariç (pozitif kontrol) diğerlerine Hap tozları tartılıp eklenmiştir. Sonrasında ağzı pamuk ve gazlı bez yardımıyla kapatılarak otoklav aleti ile 121°C’de, 1 atm basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Aseptik koşullar altında saf koloniler seçilmiş ve birinci tüp haricinde diğerlerine öze yardımıyla ekim işlemi uygulanmıştır. 24 saat 37 \pm 1°C’de inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonunda spektrofotometre ile 600 nm’de ölçüm yapılmıştır. Daha sonra ölçümü yapılan bakteri kültürleri steril koşullarda LB agar bulunan petri kaplarına ekilmiştir ve 48 saat 37 \pm 1 °C’de inkübe edilmiştir.



Şekil 5.27. koloni sayma metodunda kullanılan spektrometre cihazı.

Schiff baz katkılı (Çinko SAE) hidroksiapatit disk difüzyon test numuneleri;

1. Katkısız hidroksiapatit disk
2. %0.1 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
3. % 0.2 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
4. %0.5 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
5. %0.7 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
6. E.coli DHS α suşu
7. Luria-Bertani broth sıvı besiyeri (LB broth)
8. Luria-Bertani agar katı besiyeri(LB agar)

Çalışmada test mikroorganizması olarak kullanılan Escherichia coli DHS α Microbiologics'den temin edilmiştir. Besi ortamı olarak kullanılan LB Broth sıvı besiyeri ve LB Agar katı besiyeri Merck'den sağlanmıştır.

Bakteri kültürünün çoğaltılması için gerekli LB broth sıvı besiyeri hazırlanmasında 40 gr toz besiyerine 1000 ml distile su lave edilmiştir. Besiyer karışımı erlenmeyerde manyetik karıştırıcı yardımıyla homojenize hale getirilmiştir. Daha sonra ağzı pamuk ve gazlı bez yardımıyla kapatılarak otoklav aleti ile 121°C'de, 1 atm basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Otoklav işlemi biten besiyerin ağzı sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra ekim işlemine kadar +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

Antibakteriyel testin uygulanması için gerekli LB agar katı besiyeri hazırlanmasında 40 gr toz besiyerine 1000 ml distile su lave edilmiştir. Besiyer karışımı erlenmeyerde

manyetik karıştırıcı yardımıyla homojenize hale getirilmiştir. Daha sonra ağzı pamuk ve gazlı bez yardımıyla kapatılarak otoklav aleti ile 121°C’de, 1 atm basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri 50°C’ye kadar soğutulmuştur. Aseptik şartlarda steril petri kaplarına 4 mm (~20 ml) kalınlığında dökülerek katılaşması beklenmiştir. Katılaştıran besiyerleri ekim işlemine kadar +4°C’de buzdolabında saklanmıştır.

Çalışmada test mikroorganizması olarak Escherichia Coli DHS α suşu kullanılmıştır. Daha önce çizgi ekim yöntemi ile saf koloni elde edilmiş, saf kolonilerden bir tanesi seçilerek LB broth besiyerine ekilmiştir. Mikroorganizma kültürü elde edilmesi için 24 saat boyunca 37±1°C’ de inkübe edilmiştir.

Katkısız ve çinko SAE ekli Hap disklerin her iki yüzü 30 dakika boyunca UV (Philips Ultra Violet TUV 30w) ışınına maruz bırakılmış ve yüzeyindeki bütün mikroorganizmalar öldürülmüştür.

Antibakteriyel testte disk difüzyon metodu kullanılmıştır. LB agar besiyeri üzerine E.Coli kültüründen alınan numune bageet yardımıyla yaygın ekim yöntemi ile ekilmiştir. UV ışınına maruz bırakılarak steril hale getirilen hidroksiapatit diskler (katkısız Hap, %0.1, %0.2, %0.5 ve %0.7 Zn SAE katkılı HAp)aseptik koşullar altında bakteri ekili petri üzerine yerleştirilmiştir. 48 saat 37±1°C’de inkübe edilmiştir. Sonrasında, diskler aseptik koşullarda petri kabından ayrılmış ve tekrar 48 saat 37±1°C’de inkübe edilmiştir.

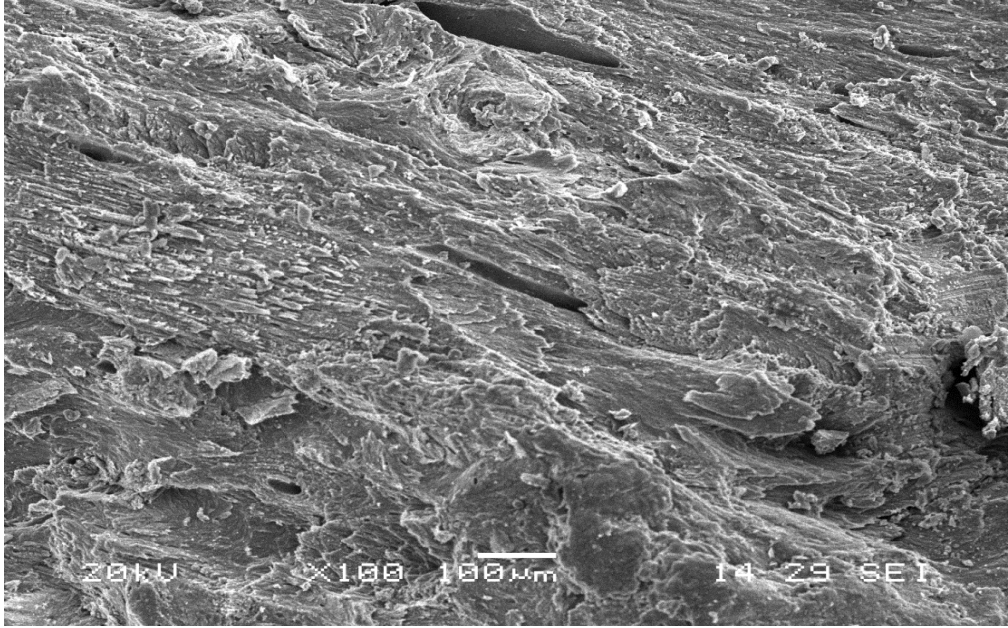
BÖLÜM 6. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

6.1. Giriş

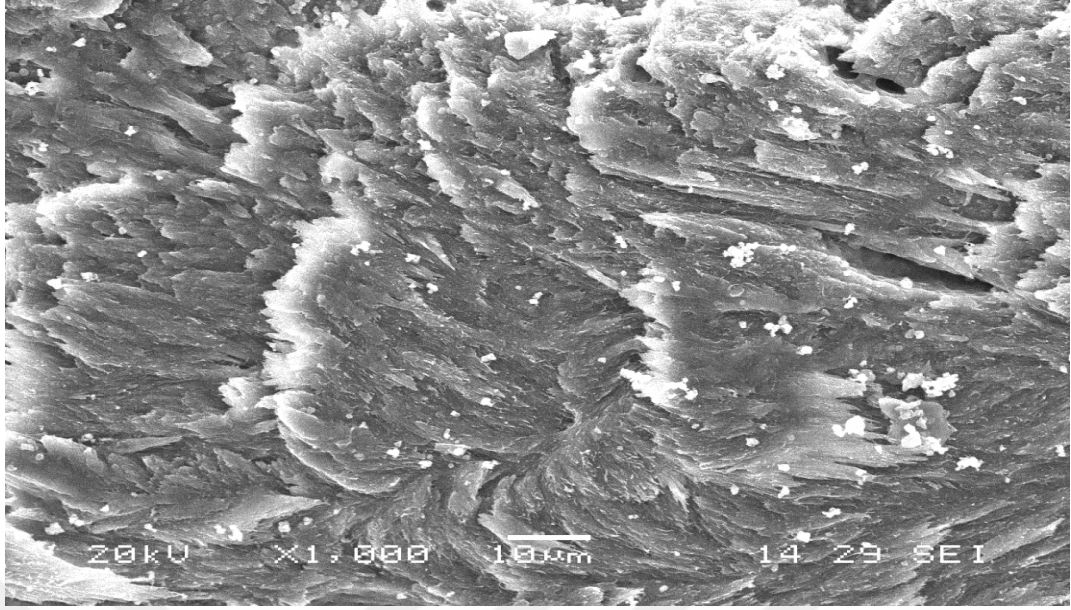
Bu bölümde, tez çalışmasında Doğal yollardan üretilen hidroksiapatit tozunun karakterizasyon mekanik ve antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi için yapılan deneylerin sonuçları sunulmuştur.

6.2. SEM ve EDS Analiz Sonuçları

Numunelerin Mikroyapı analizleri tescan vega3 sb marka taramalı elektron mikroskobu ile yapılmıştır. Et balık kurumundan alınan kemiklerin femur bölümlerinin taramalı elektron mikroskonu görüntüleri Şekil 6.1. ve Şekil 6.2.'de gösterilmiştir.



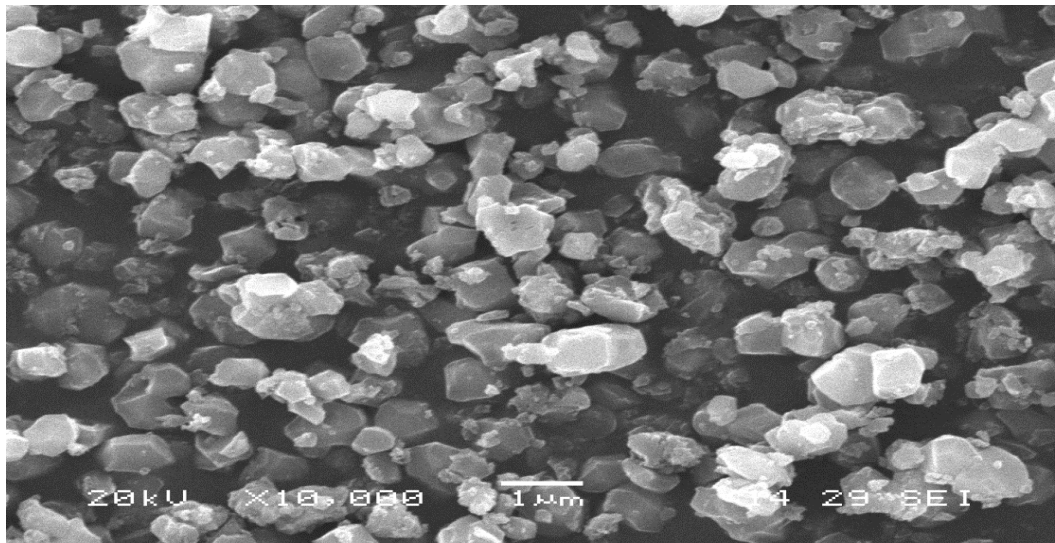
Şekil 6.1. İşlem görmemiş sığırın femur kemiğinin 100X.



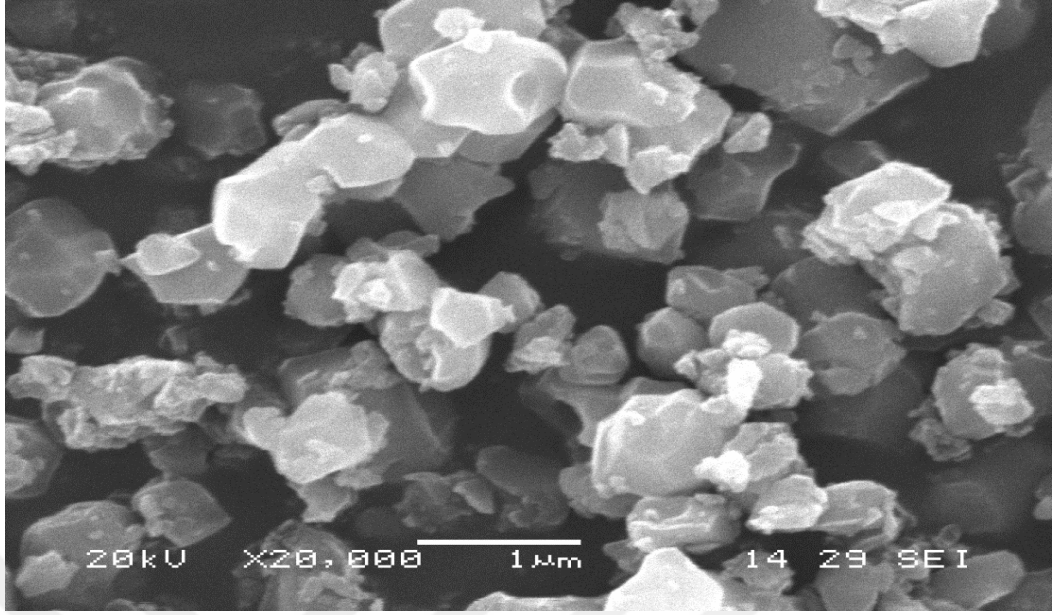
Şekil 6.2. İşlem görmemiş sığırın femur kemiğinin 1000X.

Kemiklerde bulunan, % 25 su, % 45 inorganik madensel tuzlar (kalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat, magnezyum fosfat az miktarda sodyum ve demir) kemiğin sert yapısını, %30 organik maddeler ise esnekliği sağlar.

Canlı kemik hücrelerine osteosit ve bu hücreler tarafından salgılanan organik ara maddeye osein denir. Bu iki yapı kemik dokusunu meydana getirir. Mikroyapılarda görüldüğü gibi hayvanın femur kemiğininin yeterince yoğun olmadığı ve patikül kümeleri arasında derin ve geniş yarıklar olduğu görülmektedir.



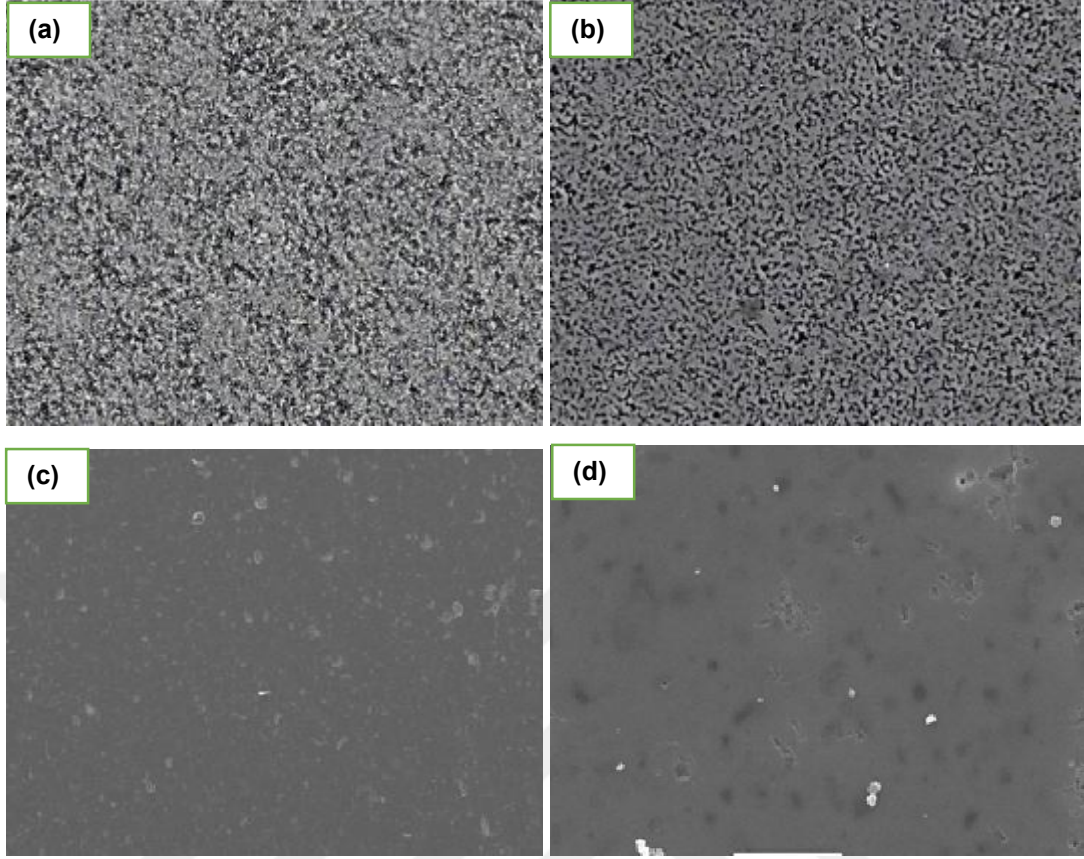
Şekil 6.3. Üretilen hidroksiapatit tozlarının X10.000 SEM mikro yapı görüntüsü.



Şekil 6.4. Üretilen hidroksiapatit tozlarının X20.000 SEM mikro yapı görüntüsü.

Hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatit seramiğin 10000 büyütme ile çekilen yüzey fotoğrafında por boyutları 1-3 arasında görülmektedir. Hayvan kemiklerinden elde edilen hidroksiapatitin 20000 büyütmedeki fotoğrafında 75-100 mikronluk partiküller halinde hidroksiapatitin stabil ve homojen bir yapıya sahip olduğu görülmektedir.

Hidroksiapatit oluşumu sonrasında asıl olan hammadde yani femur kemiğinin yapısına göre daha homojen bir yapı ve istenmeyen maddelerin kalsinasyon ile uzaklaştırılması istenilen yapıda bir toz formu elde edildiği görülmektedir. Hidroksiapatitkimyasal formülündeki Ca ve P oranı %1,5 oranında olunca istenilen kimyada toz elde edilmiş olacaktır.



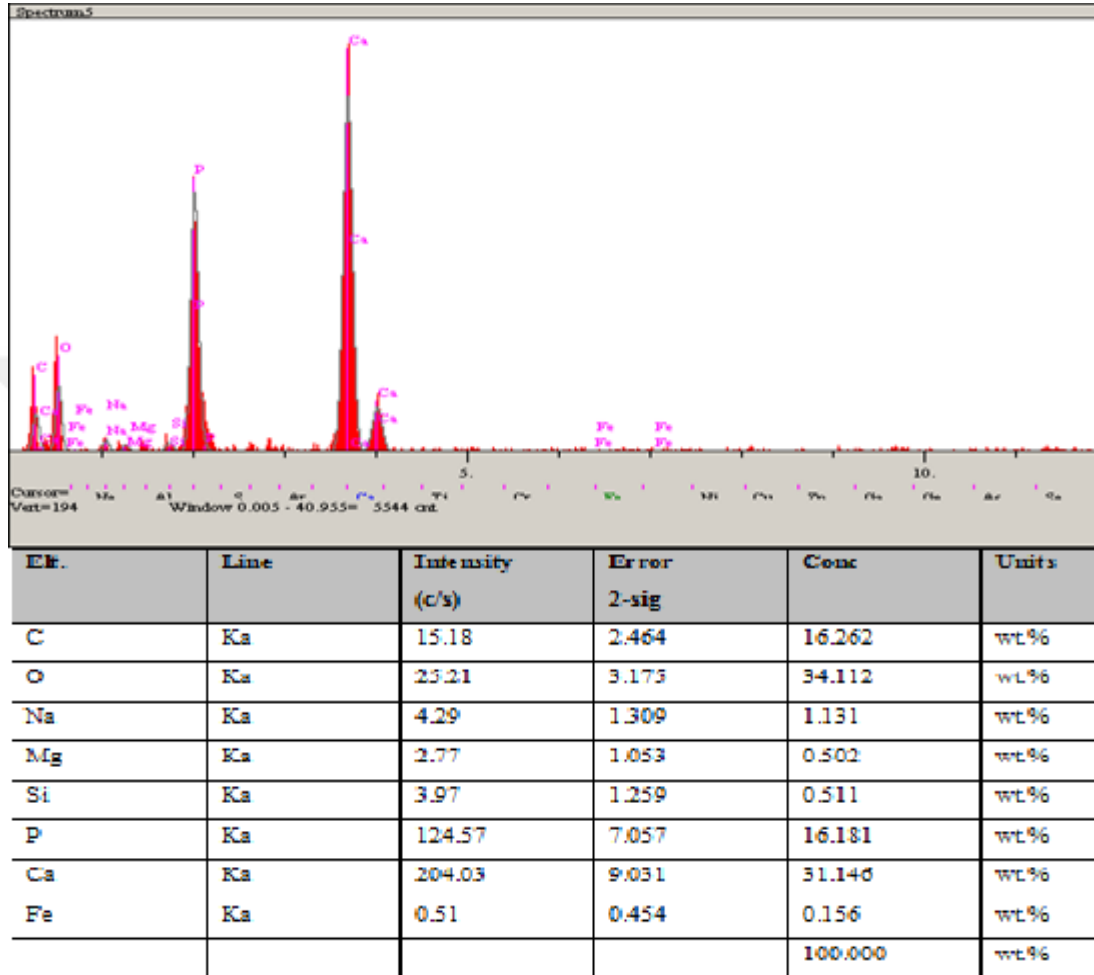
Şekil 6.5. Sinterlenen numunelerin SEM görüntüleri (a)1000°C (b)1100°C (c)1200°C (d)1300°C.

Yukarıda Sinterleme sıcaklığının densifikasyon üzerindeki etkisi incelenmiş olup Şekil 6.5.'de sırasıyla 1000°C, 1100°C, 1200°C ve 1300°C sinterleme sıcaklıklarındaki numunelerin SEM görüntüleri verilmiştir.

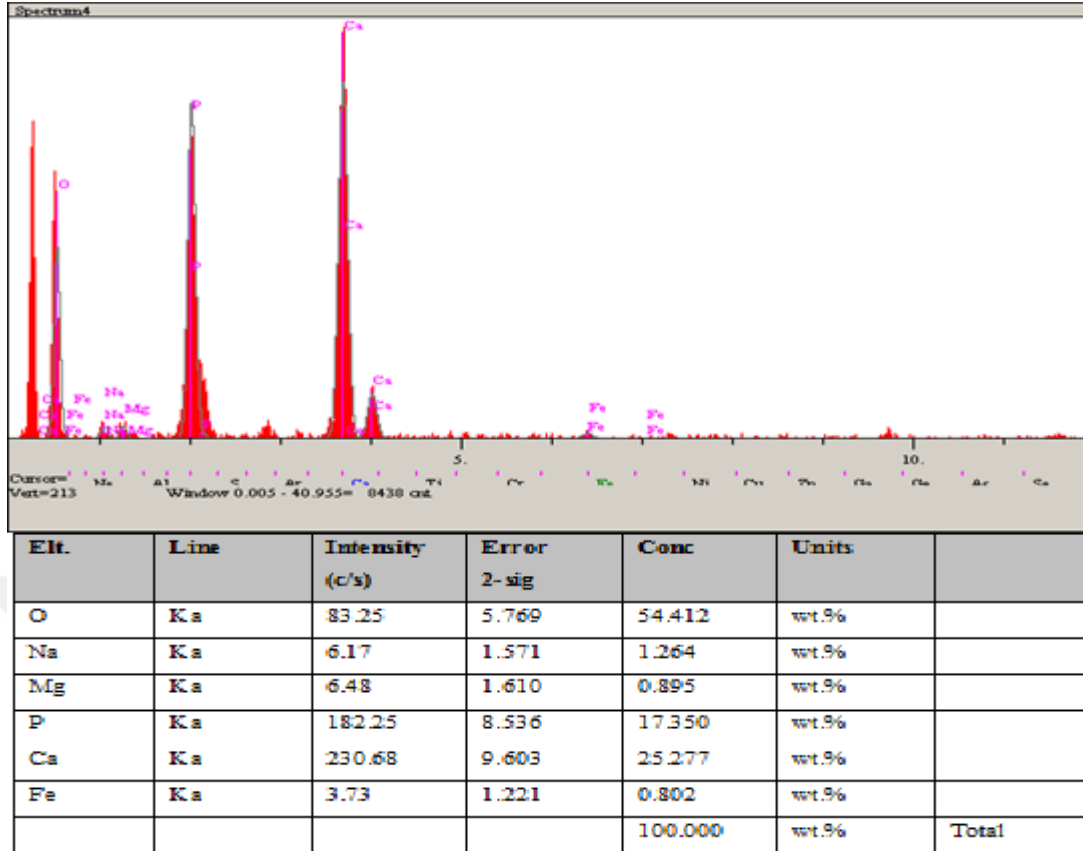
Sinterleme sıcaklığının etkisi ile yapıda oluşan fazların elementel analizi EDS ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 6.6.'da hayvanın femur kemiğinin hiç işlem görmeden önce elementel analizi yapılmıştır. Yapılan EDS sonucunda bol miktarda Ca,P,O ve C elementlerine rastlanmıştır.

Şekil 6.7.'de gösterilen doğal hidroksiapatitin bu yapıdaki fazlar içerisinde bulunan elementlerin ağırlıkça yüzdeleri mevcuttur. SEM ile elde edilen geri saçılan elektron mikroskobu görüntüleri üzerinden farklı renk tonuna sahip bölgelerde EDS analizi yapılarak sodyum, magnezyum, potasyum, kalsiyum ve oksijen gibi elementlerin olduğu belirlenmiştir.

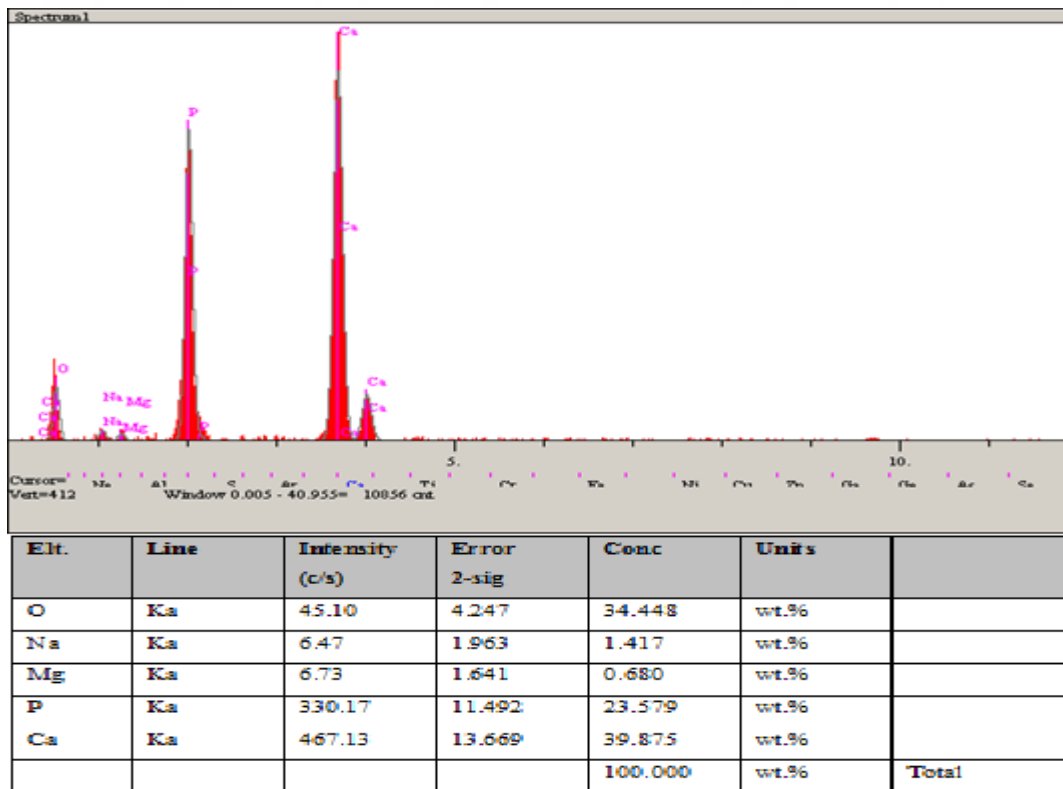
Şekil 6.8.'de sinterleme sonrasında sodyum miktarları ağırlıkça %0,53-6,47'ye yükselmiştir. Ayrıca C,P ve O oranlarında Sıcaklığın artışı ile beraber bu fazların miktarında artış görülmüştür.



Şekil 6.6. Ham maddenin (kemik) numunelerin EDS analizi sonuçları.



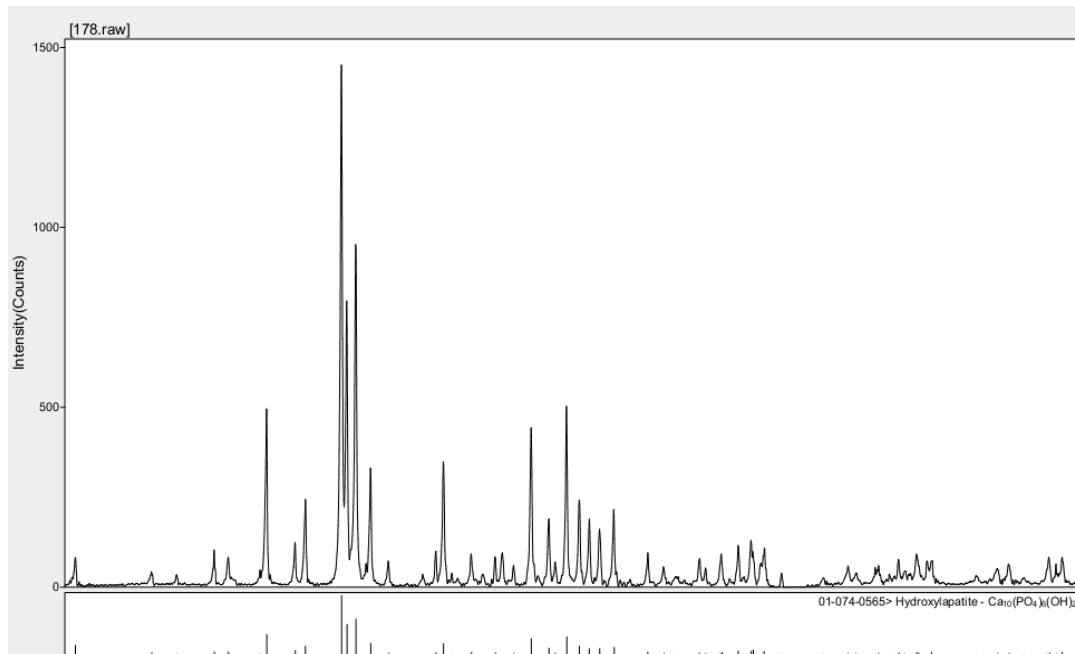
Şekil 6.7. Sinterleme öncesi doğal hidroksiapatit numunelerin EDS analizi sonuçları.



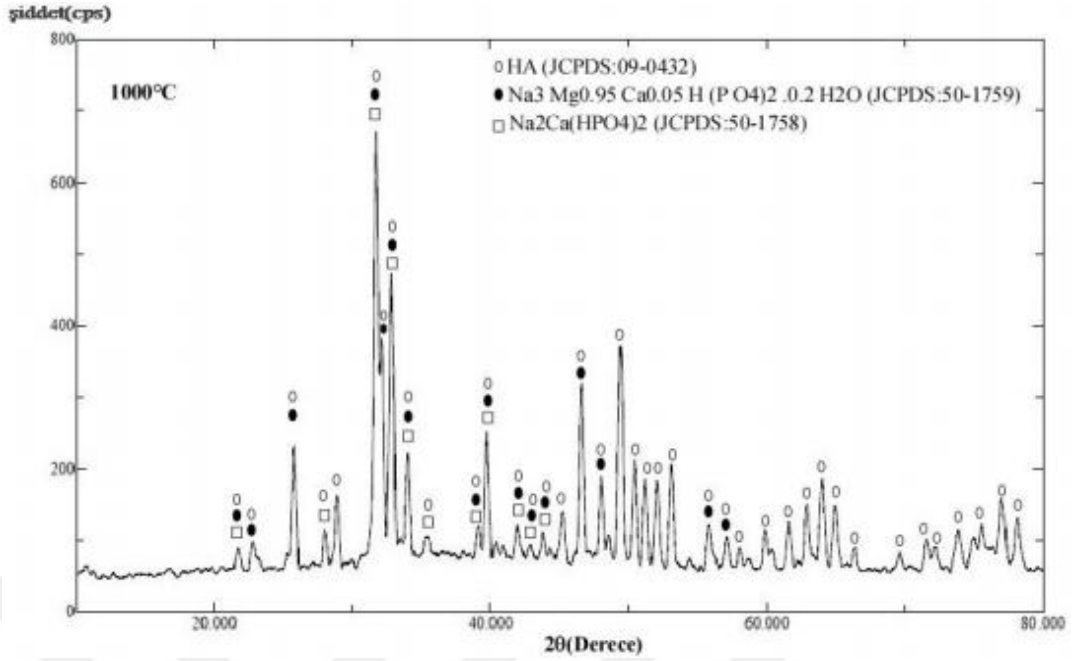
Şekil 6.8. Sinterleme sonrası doğal hidroksiapatit numunelerin EDS analizi sonuçları.

6.3. XRD Analizi Sonuçları

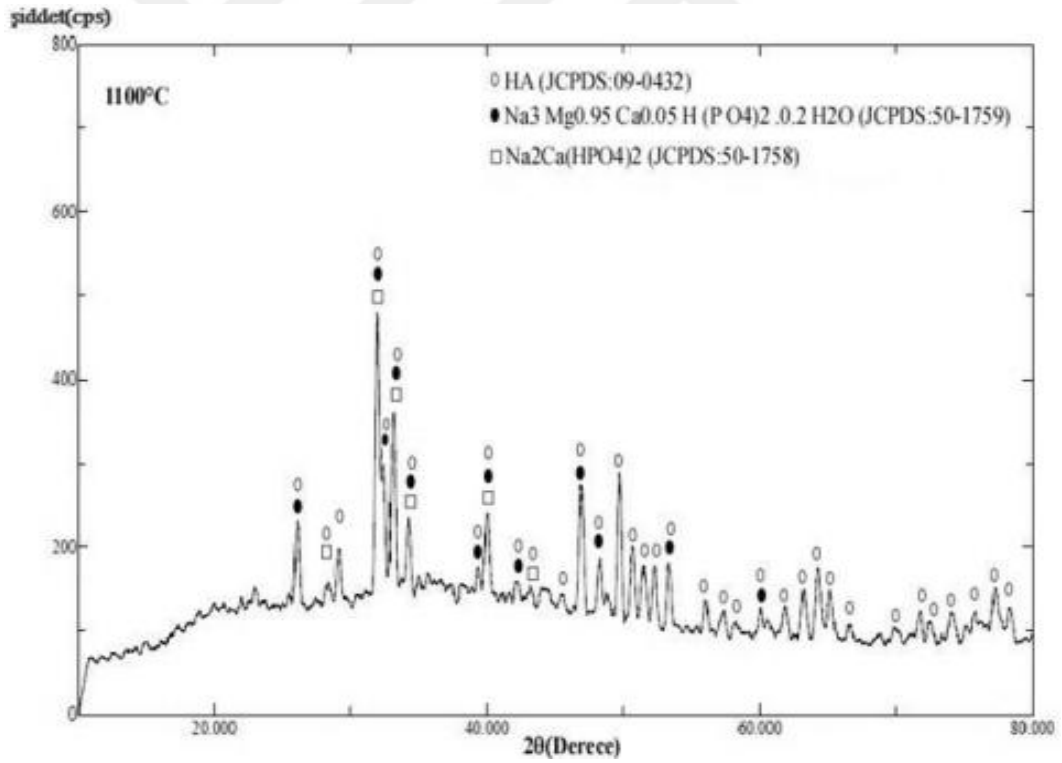
Bu çalışmada kullanılan ve büyükbaş havyan kemiğinin kalsinasyonu sonucu elde edilen doğal hidroksiapatit tozlarının X-Işınları Difraktometresi kullanılarak Cu-K α radyasyonu ile, 20-80° arasında gerçekleştirilen faz analizlerinden, tozların JCPDS:09-432 kart numarasına sahip olan hidroksiapatit ile uyduğu Şekil 6.9.'te belirlenmiştir. 1000°C, 1100°C, 1200°C ve 1300°C'de 4°C/dk ısıtma hızı ile sinterlenen numunelerde faz analizleri rigaku xrd d/max/2200/pc cihazı yardımıyla 2 θ :20-80° arasında, 2°C/dk tarama hızı ile Cu-K α radyasyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 6.10-6.13.'de sırasıyla 1000°C, 1100°C, 1200°C ve 1300°C'de sinterlenen numunelerin faz analizi sonuçları verilmiştir. Sıcaklık artışı ile beraber her numunede ana faz olarak JCPDS numarası 09-432 olan hidroksiapatit fazı ve JCPDS numaraları sırasıyla 47-0262, 50-1758, olan Na₃Mg 0.95Ca 0.05H(PO₄) 2.0.2H₂O ve Na₂Ca(HPO₄)₂ fazlarına rastlanırken 1300°C'de β -TCP fazının oluştuğu görülmüştür. Sıcaklığının artışı ile beraber ana faz olan hidroksiapatit fazı zamanla termal dekompozisyona uğramıştır. Şekil 6.14.'de sıcaklık artışı ile beraber dekompozisyon meydana geldiği görülmektedir.



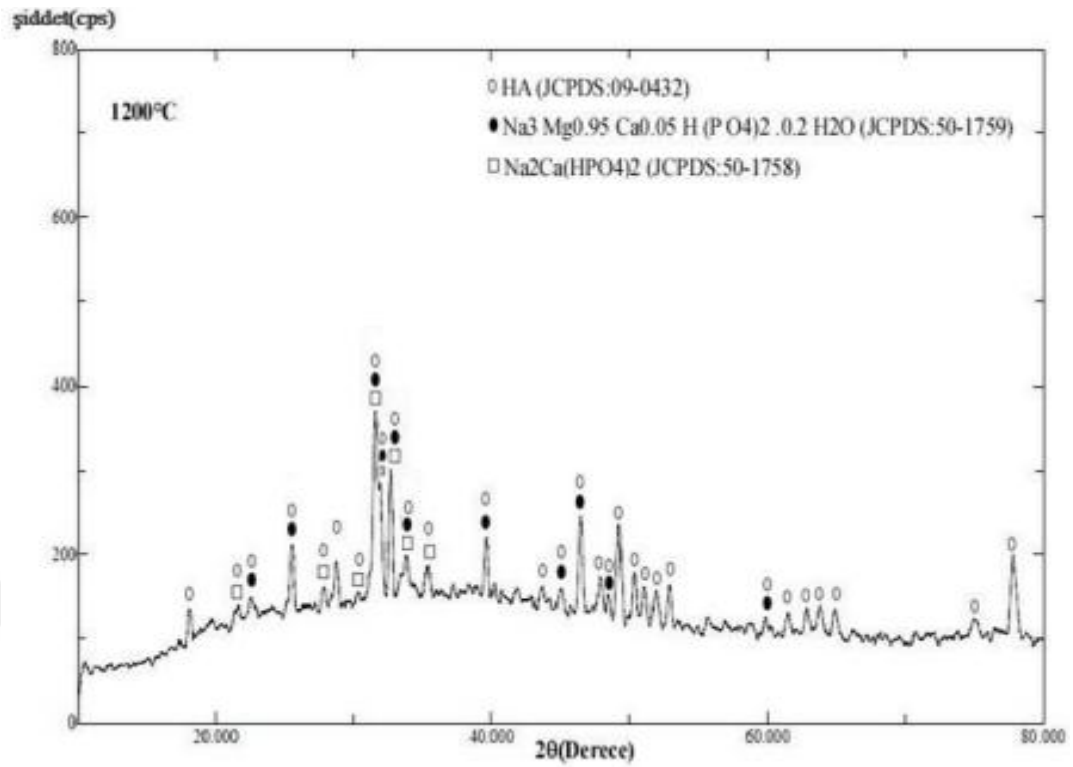
Şekil 6.9. Isıl işlem görmemiş saf doğal hidroksiapatit XRD analizi.



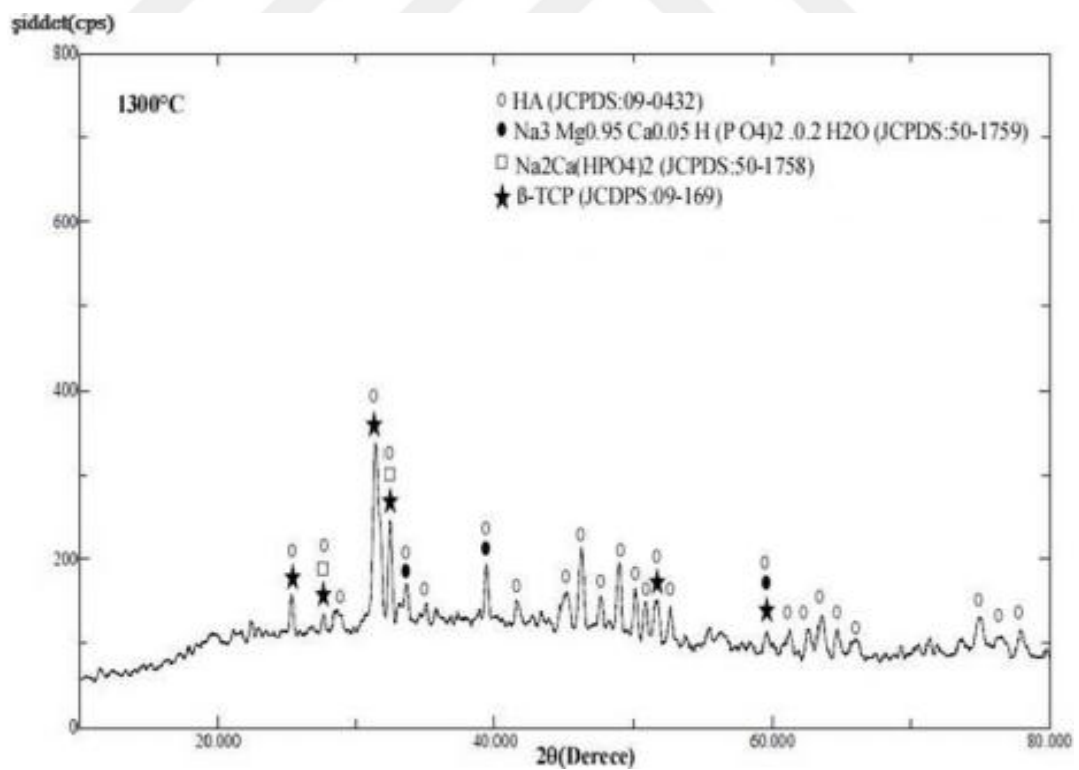
Şekil 6.10. 1000°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.



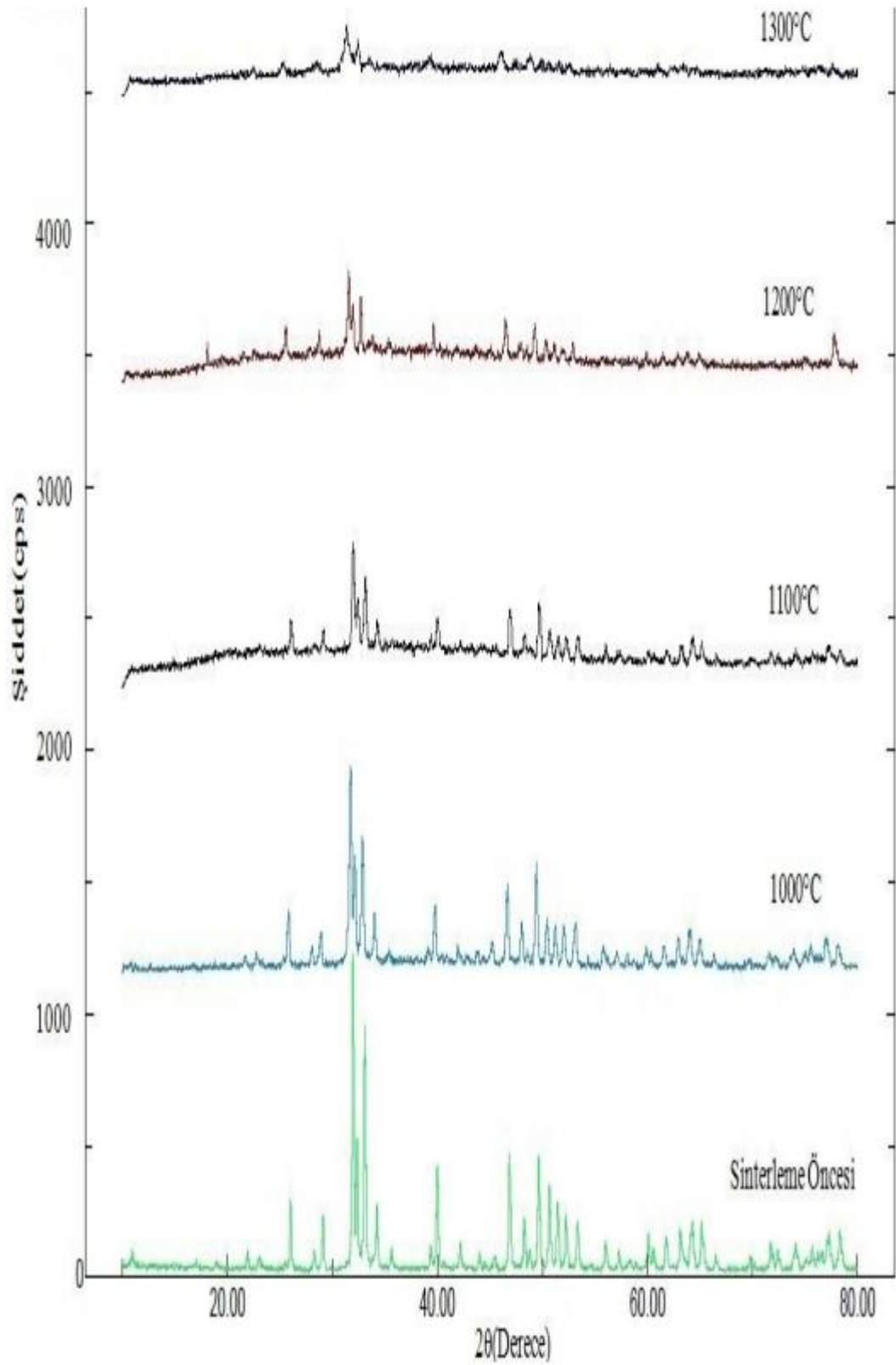
Şekil 6.11. 1100°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.



Şekil 6.12. 1200°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.



Şekil 6.13. 1300°C'de sinterlenen numunenin XRD sonucu.



Şekil 6.14. Doğal hidroksiapatit tozlarının sinterleme sıcaklığının değişimine göre oluşturduğu fazların x ışınları difraksiyon diyagramı.

6.4. XRF (Xray flüoresans) Analizi Sonucu

XRF analizi S8 TIGER marka cihaz ile doğal hidroksiapatit tozundaki elementlerin Sakarya Üniversitesi Termal Sprey Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında üretilen sentetik Hidroksiapatit ile karşılaştırması yapılmıştır.

Tablo 6.1. Doğal ve Sentetik Hidroksiaptitin XRF elementel analizi Karşılaştırma.

Elementler	Doğal HAp	Sentetik Hap
% CaO	59,06	64,68
% P2O5	37,26	34,77
% Na2O	1,72	0,475
% MgO	1,67	0,064
% K2O	0,0611	0,0148
% SiO2	0,058	-
% SrO	0,0558	-
% SO3	0,053	-
% Cl	0,046	-
% ZrO2	0,013	-
% ZnO	0,004	-

Tablo 6.1.'de analiz sonucunda doğal yoldan ve sentetik yoldan üretilen tozların kimyasal kompozisyonlarının birbirine yakın olduğu görünmektedir. EDX analizinde belirlenemeyen Fe, Mg, Zn gibi elementler ICP analizi sonucu saptanmıştır. XRF, ICP analizinden daha detaylı bir sonuç vermektedir ve doğal HAp yapısında SrO ve Cl gibi bileşiklerin olduğunu göstermektedir. Sentetik Hap bir kalsiyum fosfat reaksiyonu olduğundan başka bileşikler yapıda bulunmamıştır. Doğal ve sentetik HAp için kalsiyum ve fosfat bileşikleri birbirlerine yakın değerlerdedir.

6.5. ICP (İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma) Analizi Sonucu

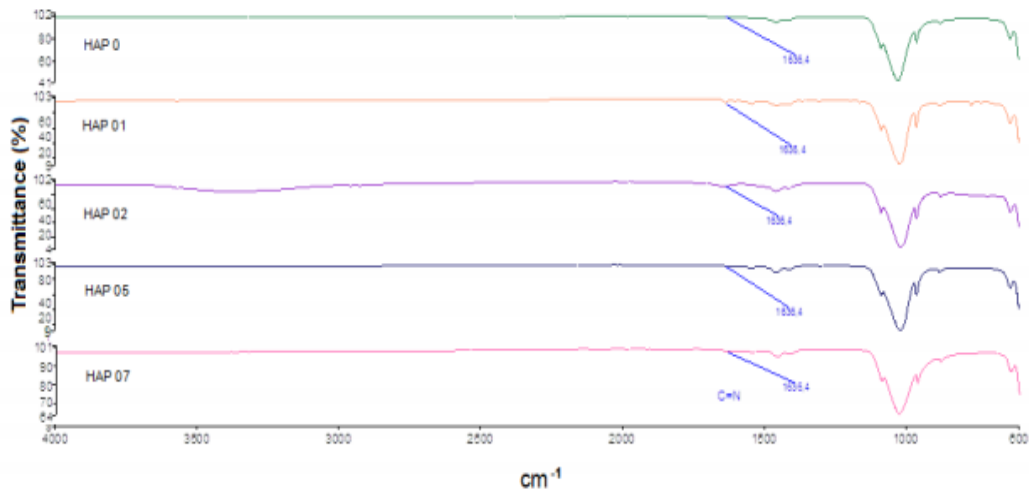
ICP analizi Perkin Elmer Optima 2100 marka cihaz ile ticari hidroksiapatit tozundaki elementlerin belirlenmesi ve doğal kemik yapısından elde edilen hidroksiapatit ile karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Analiz için hidroksiapatit tozu sitrik asit içerisinde çözündürülerek çözelti oluşturulmuştur. Tablo 6.2.'te görüldüğü gibi ticari olarak üretilen Hidroksiapatit tozu ile doğal olarak ürettiğimiz hidroksiapatit hemen hemen aynı özelliklere sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 6.2. Doğal ve Sentetik Hidroksiapatit in ICP analiz sonucu.

	Doğal Hap	Sentetik Hap
%PO4	63,14	61,05
%Ca	36,70	38,50
%Fe	0,0520	0,0030
%Mg	0,1660	0,12
%Zn	0,012	0,0068

6.6. FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) Analiz Sonuçları

HAP ve schiffbaz-HAP tozlarının bağ yapıları FTIR spektroskopi tekniği ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla Perkin Elmer Spectrum 100 Fourier Transform Infrared (FTIR) cihazı kullanılarak 4000-400 cm⁻¹ aralığındaki FTIR spektrum taraması gerçekleştirilmiş, sonuçlar FTIR Spectrum Software (Perkin Elmer) yazılımında değerlendirilmiş ve literatürde verilen spektrumlarla karşılaştırılmıştır. HAP ve gümüş katkılı HAP tozlarındaki bağ yapılarının karakterize edilmesine yönelik olarak yapılan FTIR çalışmasında elde edilen spektrumlar ve gözlenen fonksiyonel gruplar Şekil 6.15.'de verilmiştir.



Şekil 6.15. Doğal hidroksiapatit FTIR analizi.

Fonksiyonel gruplar Saf HAP ZnSaE HAP % 1 ZnSaE HAP % 2 ZnSaE HAP % 5 ZnSaE HAP % 7 ZnSaE HAP Dalga boyu (cm-1) v2 PO4 titreşim bandı 471 471 472 472 472 471 472 v4 PO4 titreşim bandı 562 563 560 562 562 559 561 v4 PO4 titreşim bandı 600 602 601 601 602 601 601 v1 PO4 titreşim bandı 962 962 962 962 962 962 962 v3 PO4 titreşim bandı 1025 1025 1025 1024 1024 1024 1023 -OH bandı 632 632 632 633 632 631 632 v3 PO4 titreşim bandı 1090 1090 1090 1090 1090 1090 1090 -OH bandı 3570 Şekilde yer almamaktadır. Çalışmalarda hidroksiapatitin önemli karakteristik bandların; 962 cm⁻¹ etrafındaki v1 PO4³⁻ bandı, 472 cm⁻¹ etrafındaki v2 PO4³⁻ 72 bandı, 1025 and 1090 cm⁻¹ etrafındaki v3 PO4³⁻ bandı, 565, 559 and 603 cm⁻¹ etrafındaki v4 PO4³⁻ bandı olduğunu FTIR spektrumlarından ortaya koymuşlardır. Çalışmalarda ~ 1090 ve 962 cm⁻¹'de uzanan bandların zayıf kristalize olan hidroksiapatit yapısını belirten P-O titreşim modlarını yansıttığını, ~ 602 cm⁻¹'de uzanan bandın ise (PO4)³⁻ iyonlarının gerilme modlarına tekabül eden hidroksiapatit piklerini yansıttığını belirtmişlerdir. 600°C'de ısıtılmış HAP ile ısıtılmamış ZnSaE-HAP'in FTIR spektrumlarını incelemişler ve 3571 cm⁻¹ ile 631 cm⁻¹'deki keskin piklerin O-H titreşimi ile ilişkili olduğunu, 1090 cm⁻¹, 1041 cm⁻¹, 962 cm⁻¹, 601 cm⁻¹, 567 cm⁻¹ and 474 cm⁻¹'deki piklerin PO4³⁻ titreşimini yansıttığını bildirmişlerdir. etüvde kurutulmuş ve 900°'de ısıtılmış ZnSaE-HAP'in FTIR spektrumlarında her iki örnekte HAP için karakteristik piklerini; 900–1200 cm⁻¹'de PO4³⁻ gerilme ve eğilme modları; 602 cm⁻¹'de PO4³⁻ eğilme modu, 632 and 3571 cm⁻¹ -OH titreşim modu olarak gözlemlemişlerdir. Zn₂O ve ZnO

fazlarına ait Zn-O bandının 400 – 4000 cm⁻¹ dalga boyu FTIR tarama limiti ile tespit edilemediğini, bu nedenle, 3570 cm⁻¹'daki O-H grubu titreşim pikinin değişimi dışında Zn schiff baz katıldığını FTIR sonuçları göstermediğini ifade etmişlerdir. HA'e Zn schiff baz dopleymca 400–4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığındaki FTIR spektrumunda herhangi bir ekstra pikin gözlenmediğini ifade etmişlerdir. Sr²⁺ doplanan HAP ile ilgili çalışmalarında da benzer sonuçlara karşılaştıklarını ve 3570 cm⁻¹ dalga boyundaki O-H piki yoğunluğunun düşmesini Sr²⁺ iyonlarının O-H grubunu zayıflattığından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bu nedenle, HAP'in dağılmadığının yanı sıra O-H grubunun HAP kafesinde Zn iyonu varlığında modifiye olduğu sonucunu çıkarmışlardır. Simgesel olarak, HAP'in kompleks kristal yapısı OH sütünü etrafındaki Ca üçgeni ile tanımlanır. Zn mevcut olduğunda (katıldığında) Ca²⁺ bir tarafı Zn ile yer değiştirebilir.

Bu nedenle, FTIR sonuçlarında gözleendiği gibi, OH grubunun gerilme titreşimi değişebilecektir. Çalışmamızda hem saf HAP hem Zn SAE-HAP FTIR spektrumunda hidroksiapatite ait karakteristik pikler literatürdeki verilerle uygun çıkmıştır. Ancak, Zn SAE-HAP FTIR spektrumunda 3570 cm⁻¹ hidroksil grubuna ait pik gözlenmemiştir. Gözlenmeme sebebinin, yukarıda anlatıldığı gibi HAP'e yapılan schiff baz ikamelerinin, Ca₉Zn_x(PO₄)₆(OH)₂ formülü uyarınca gerçekleştiğine işaret ettiği düşünülmektedir.

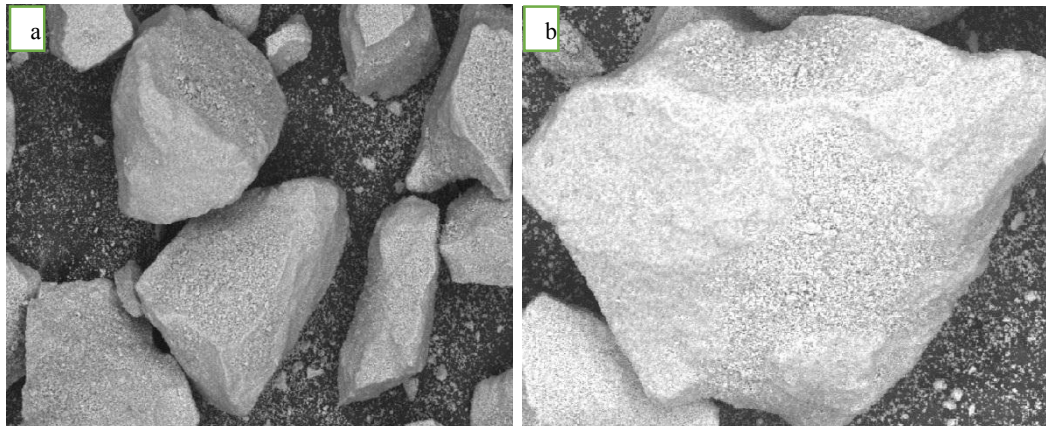
6.7. Tane Boyut Ölçüm ve Elek Analiz Sonuçlar

Üretilen hidroksi apatit tozları değişik öğütme yöntemleriyle (halkalı değirmen, gezegen değirmen, bilyalı değirmen) farklı boyutlara öğütülmüştür. İlk olarak elek analizleri gerçekleştirilen tozlar sonrasında gezegen değirmende öğütülmesine karar verilmiştir. Gezegen değirmende uniform bir toz boyutu izopropil alkol kullanılarak farklı sürelerde öğütülen tozlara toz boyut analizi yapılarak elde edilen tozların karakterizasyonu yapılmış ve böylelikle kullanım durumları değerlendirilmiştir. Kaplama için kullanılacak tozların düşük toz boyutlu olması gerekmektedir. Bu sebepten 12 saat süreyle yapılan gezegen değirmende öğütme sonucu elde edilen tozların %50 oranında 40 mikron civarı olduğu görülmüştür.

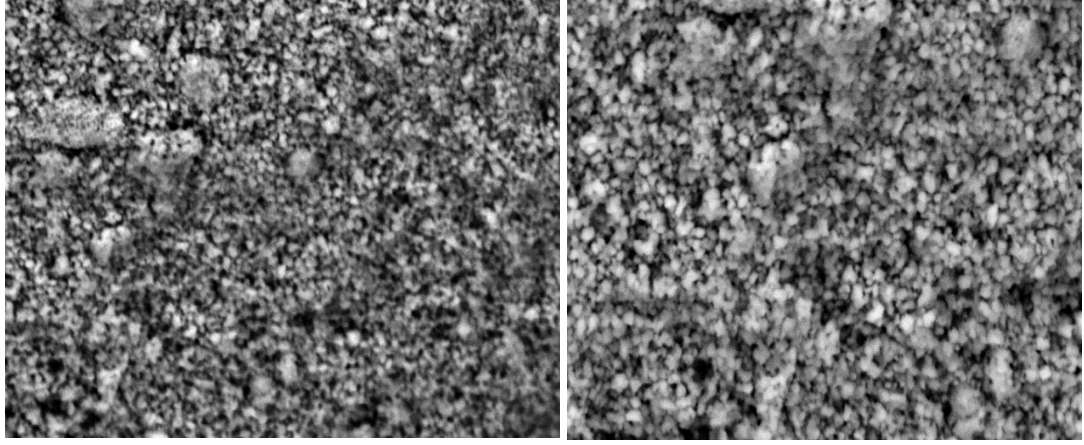
Bu boyutlar kaplama için uygun sayılabilir. Gerekirse spray drier ile küresel forma getirilerek kullanılması yine diğer bir husustur. Daha kısa süreyle yapılan öğütme işlemi sonucu elde edilen tozların boyutunun 100 mikronun üzerinde olduğu görülmüştür. Bu boyutlar sinterleme için kullanılabilir. Ancak katkısız yoğunlaşmanın sağlanabilmesi ve yüksek yoğunlukta bulk parçalar üretilebilmesi için daha yüksek reaktiviteye sahip olan daha düşük toz boyutuna ihtiyaç vardır. Bu sebepten öğütme süresi olarak en az 7-8 saat gibi bir süre optimum olarak görülmüştür. Tane boyut dağılımı ve elek analizi değerleri tablo 6.3.'de gösterilmektedir.

Tablo 6.3. Öğütme öncesi ve sonrası hidroksiapatit tozlarının tane boyutu ve yüzey alanı değerleri.

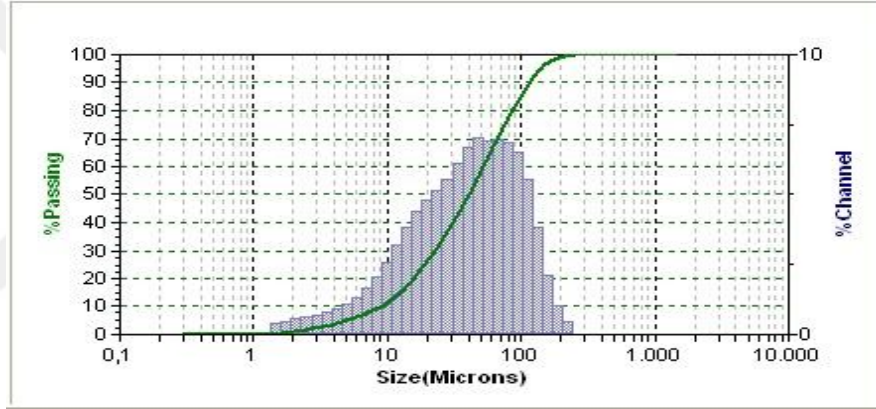
Doğal hidroksiapatit tozu		
Öğütme öncesi (3 farklı toz)		
Elek Analizi Sonucu (μm)	Ortalama Partikül Boyutları (μm)	Yüzey Alanları (m^2/g)
(-170+160)	5.95	5.35
(-210+170)	8.07	5.43
(-260+210)	10.92	4.09
Öğütme Sonrası (5-12 saat Gezegen Tipi Değirmende)		
Ortalama Partikül Boyutu (μm)	Yüzey Alanı (m^2/g)	
1.65	4.90	



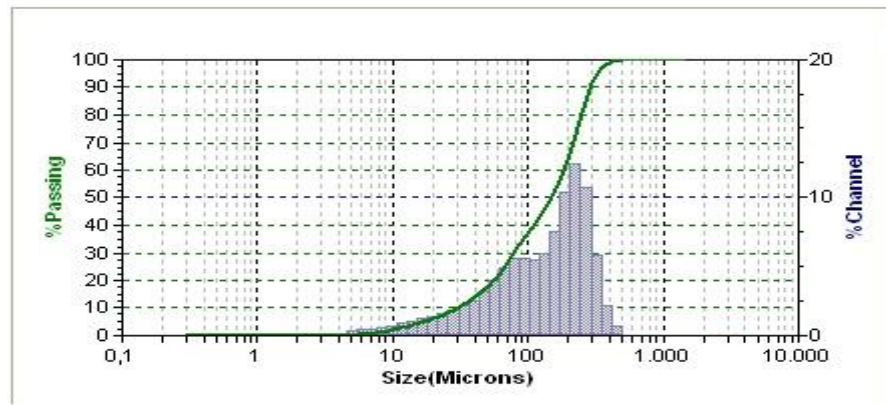
Şekil 6.16. Elek analizi sonrası tozlarının (a)X500 ve (b)X1000 Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüleri.



Şekil 6.17. Gezegen değirmende öğütme sonrası tozlarının (a)X300 ve (b)X500 Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüleri.



Şekil 6.18. Doğal hidroksiapatitin gezegen değirmende izopropil alkol ile 12 saat öğütülmesi sonucu alınan tane boyut analizi.



Şekil 6.19. Doğal hidroksiapatitin gezegen değirmende izopropil alkol ile 5 saat öğütülmesi sonucu alınan tane boyut analizi.

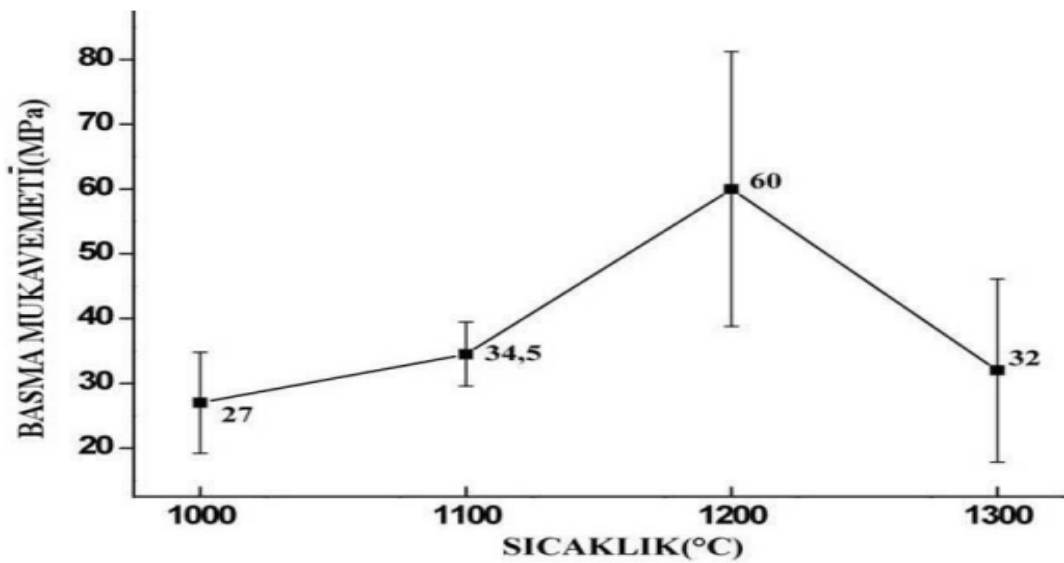
6.8. Hidroksiapatit Basma Testi Sonuçları

Universal test cihazı ile sabit çekme hızında ölçülen basma mukavemeti değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ile beraber Tablo 6.4.'te verilmiştir.

Tablo 6.4. Sinterlenen numunelerin basma mukavemeti değerleri.

Sıcaklık (°C)	Basma Mukavemeti (MPa)
1000	27±9
1100	34±5
1200	60±20
1300	32±15

Sıcaklık artıka basma mukavemeti değerlerinde artış gözlenmiştir. 1200°C'den sonra yapıda meydana gelen dekompozisyon ve sodyum kalsiyum esaslı farklı fazların oluşmaya başlamasıyla beraber basma mukavemeti değerinde belirgin bir düşüş görülmüştür. Şekil 6.20.'da sinterleme sıcaklığının basma mukavemetine etkisi gösterilmiştir. Literatürde Tablo 3.2.'de görüldüğü gibi ortalama basma mukavemeti 29 Mpa ya yakın değerler elde edilmiştir.



Şekil 6.20. Hidroksiapatit Sıcaklık-basma mukavemeti grafiği.

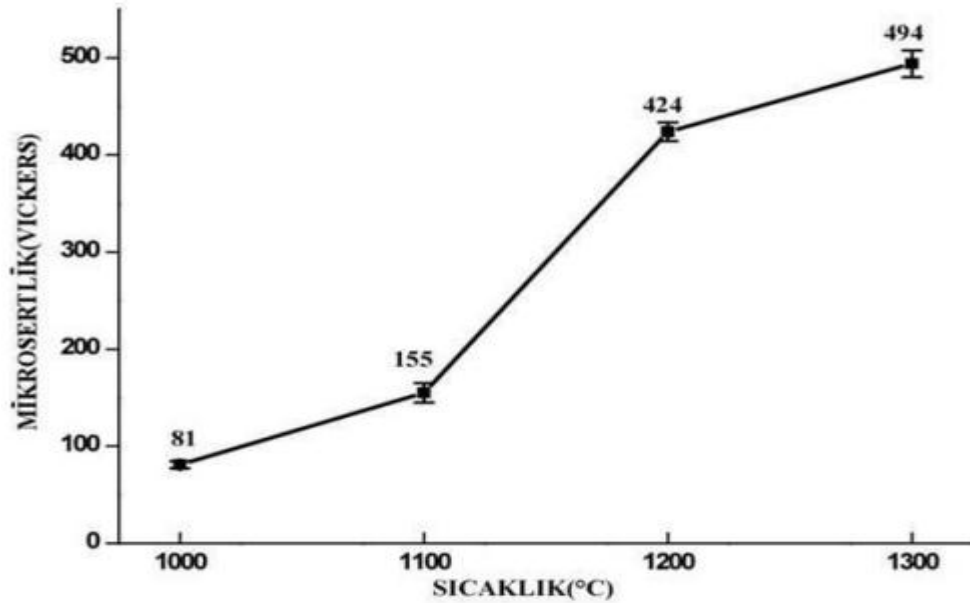
6.9. Hidroksiapatit Sertlik Ölçüm Testi Sonuçları

Vickers mikrosertlik değerleri her bir sıcaklık değerinde numunelerden 20 ölçüm alınarak hesaplanmıştır. Tablo 6.5.'de ortalama sertlik değerleri Vickers cinsinden standart sapma miktarları ile beraber gösterilmiştir.

1000°C'de en düşük sertlik değeri 81 HV elde edilirken en yüksek sertlik değeri olan 494 HV'ye ise 1300°C'de rastlanmıştır. Şekil 6.20.'de sinterleme sıcaklığı sertlik grafiği verilmiştir.

Tablo 6.5. Sinterlenen numunelerin ortalama sertlik değerleri.

Sıcaklık (°C)	Sertlik (HV)
1000	81±5
1100	155±10
1200	424±10
1300	494±15



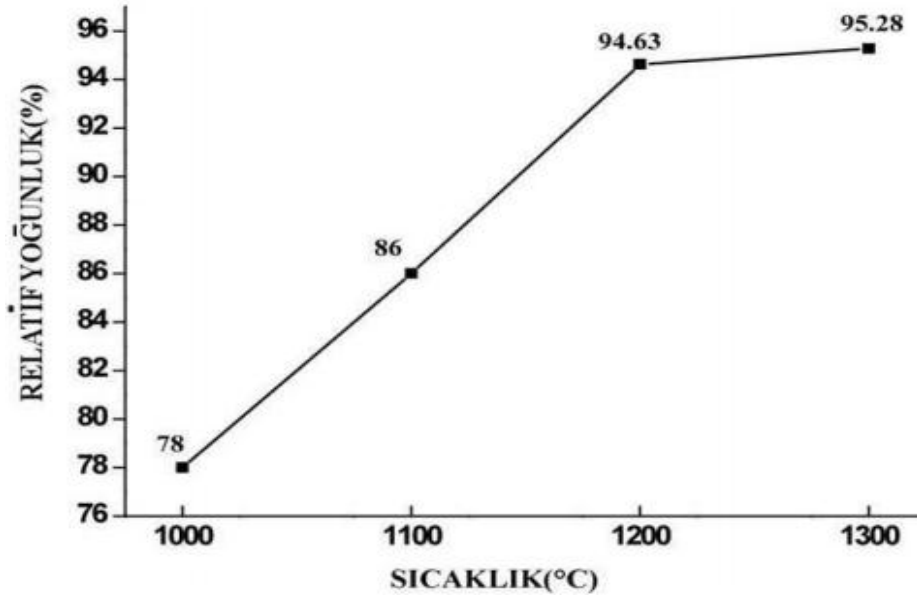
Şekil 6.21. Hidroksiapatit Sıcaklık-mikrosertlik grafiği.

6.10. Hidroksiapatit Yoğunluk Testi Sonuçları

Sinterlenen numunelerin yoğunlukları Arşimet prensibi ile belirlenmiştir. Tablo 7.4.'de her bir sıcaklık için ölçülen ortalama yoğunluk değeri ve relatif yoğunluk değeri gösterilmiştir. En yüksek relatif yoğunluk değeri olan %95, 1200°C ve 1300°C'de elde edilmiştir. Şekil 6.22.'de sinterleme sıcaklığı-yoğunluk grafiği verilmiştir.

Tablo 6.6. Sinterlenen numunelerin ortalama yoğunluk ve relatif yoğunluk değerleri.

Sıcaklık (°C)	Yoğunluk (g/cm ³)	Relatif Yoğunluk (%)
1000	2,46	78
1100	2,73	86
1200	2,99	94,63
1300	3,02	95,28



Şekil 6.22. Hidroksiapatit yoğunluk değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi.

6.11. Antibakteriyel Test Analiz Sonuçları

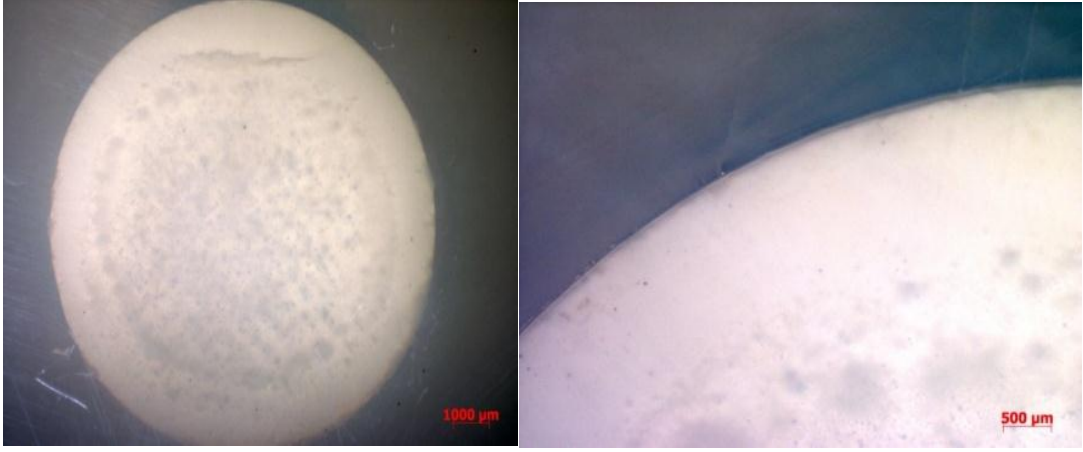
Doğal hidroksiapatitin antibakteriyel özelliğinin tayini için Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde tüm testler aynı ortam ve parametrelerle yapıp sonuçlanmıştır.

Katkısız doğal ve ticari hidroksiapatitin disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel test sonucu;

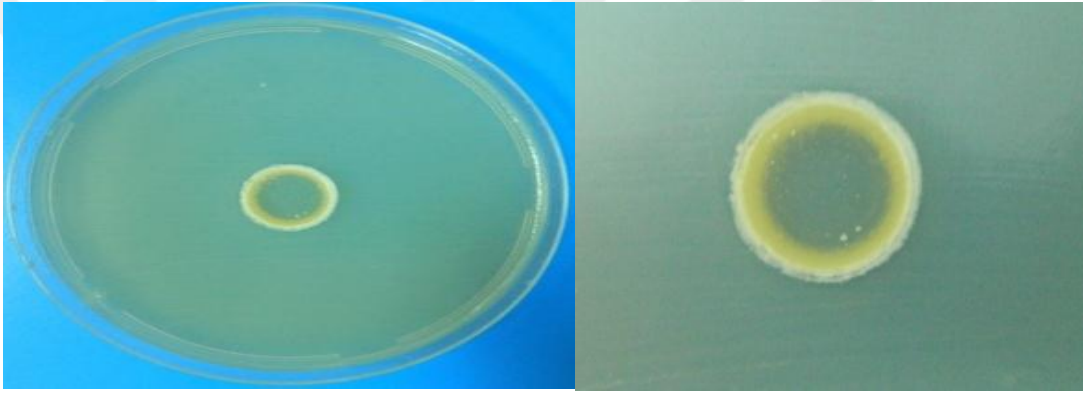
1. Ticari Hidroksiapatit tozu (Disk haline getirilmiş, 1.4 cm çap)
2. Kemikten üretilen Hidroksiapatit tozu (Disk haline getirilmiş, 1.4 cm çap)



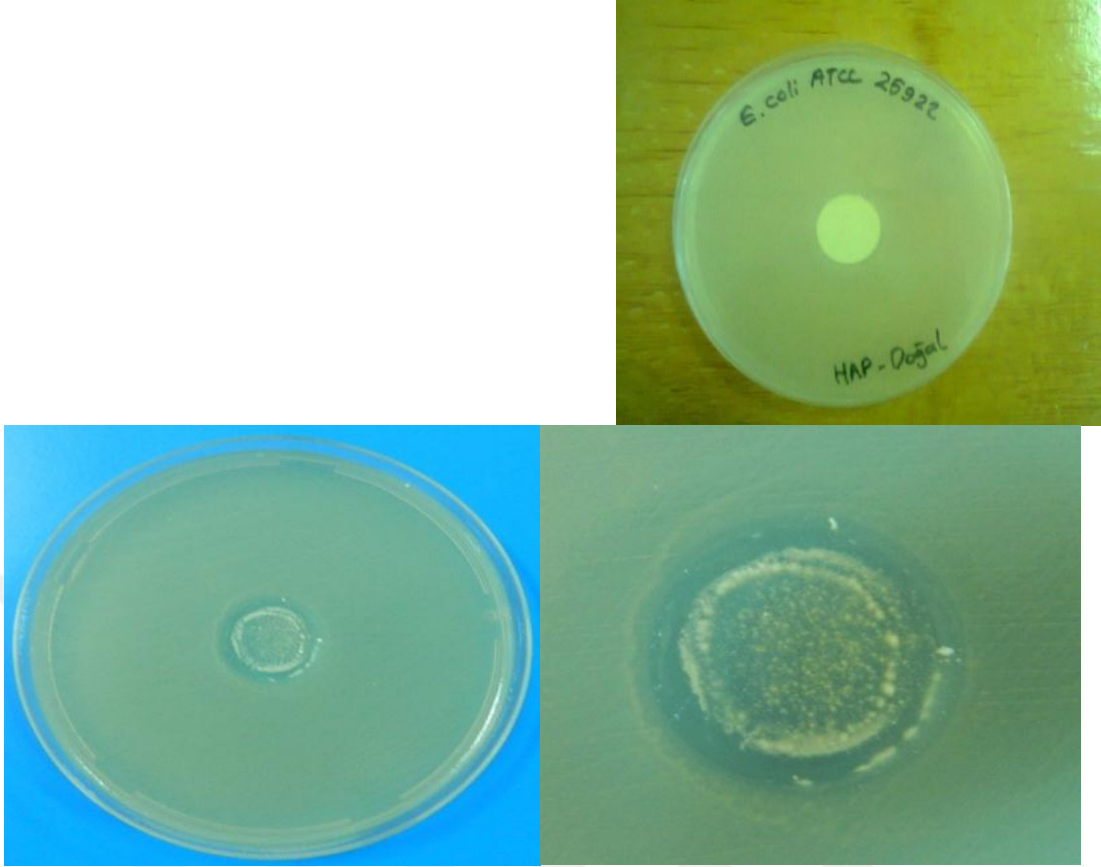
Şekil 6.23. 48 saatlik inkübasyon ardından ticari hidroksiapatit disk yüzeyinde ve etrafında meydana gelen E. coli bakteri üremesi.



Şekil 6.24. 48 saatlik inkübasyon ardından kemikten üretilen Doğal hidroksiapatit disk yüzeyinde ve etrafında meydana gelen *E. coli* bakteri üremesi.



Şekil 6.25. Sentetik yolla üretilen hidroksiapatit disk, besiyerinden kaldırıldıktan sonra 48 saatlik inkübasyonun ardından gözlemlenen *E. coli* bakteri üremesi.



Şekil 6.26. Kemikten üretilen hidroksiapatit disk, besiyerinden kaldırıldıktan sonra 48 saatlik inkübasyonun ardından gözlemlenen E. coli bakterisi üremesi.

Sonuç olarak uygulanan disk difüzyon testi sonucu kemikten ve ticari üretilen her iki hidroksiapatit disk numunenin antibakteriyel aktivite göstermedikleri belirlenmiştir. Her iki disk numunenin besiyerine temas eden yüzeylerinde ve etraflarında yoğun bakteri üremesi meydana geldiği gözlemlenmiştir.

Gümüş ilaveli hidroksiapatite toz halde yapılan koloni sayma metodu test numuneleri;

1. Hidroksiapatit toz (Kontrol)
2. %0.5 Ag ilaveli Hidroksiapatit
3. %1 Ag ilaveli Hidroksiapatit
4. %1.5 ilaveli Ag Hidroksiapatit
5. %2 Ag ilaveli Hidroksiapatit

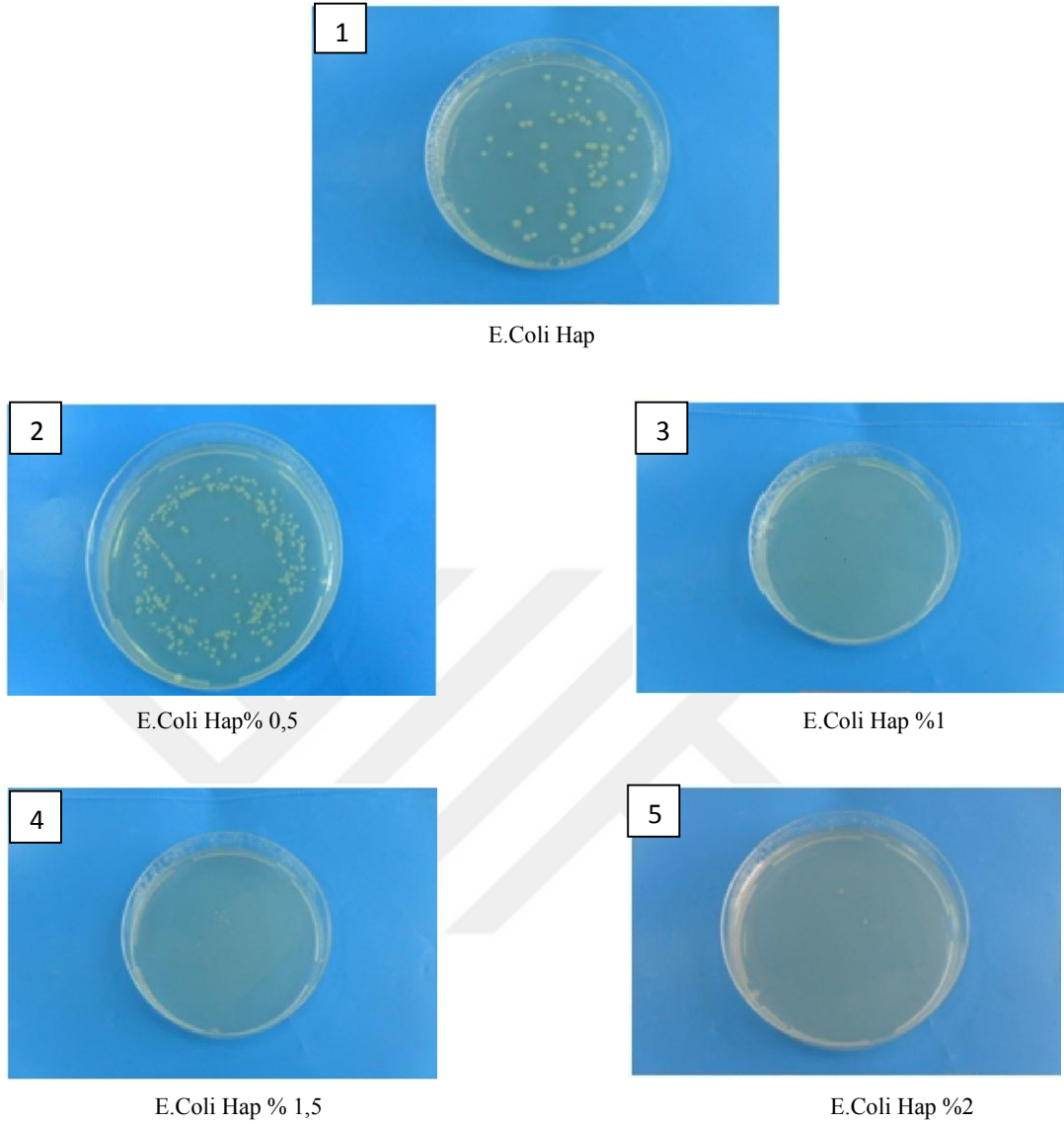
Tablo 6.7. Ekim yapılan besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, 0: üreme görülmedi).

Bakteriler	Hap Kontrol Tozu	%0,5 Ag HAp	%1 Ag HAp	%1,5 Ag HAp	%2 Ag HAp
E.Coli	+63	+147	0	+7	+2

Tablo 6.8. % Antibakteriyel aktivite sonuçları.

%R: Antibakteriyel Aktivite				
Bakteriler	%0,5 Ag Hap	%1 Ag HAp	%1,5 Ag HAp	%2 Ag Hap
E.Coli	69.2	100	94,4	98,4

Spektrofotometrede absorbans ne kadar düşükse içerisinde üreyen bakteri sayısı o kadar düşüktür sonucuna varılır. HAp tozu katılarak ve katılmadan oluşturulan bakteri kültürlerinin spektrofotometre sonuçları incelendiğinde, gümüş katkılı HAp tozu eklenen kültürlerin, katkısız HAp eklenen kültürlere göre daha az absorbans verdiği görülmüştür. Bu duruma aykırı olarak, negatif kontrol olarak kullanılan LB broth ile hazırlanan bakteri kültürünün absorbansı, HAp tozu ekli olan örneklerden daha düşük absorbans vermiştir. Spektrofotometre sonuçları alındıktan sonra yaygın ekim yöntemiyle ekilen bu kültürlerden elde edilen sonuçlara göre, katkısız HAp tozu ekli LB brotha ekilen koloni sayısı ile %0,5-1,5-2 gümüş katkılı HAp tozu ekli LB broth koloni sayısı arasında büyük bir fark oluşmazken, %1 gümüş ilaveli kültürden ekilen örnekte gözle görünür bir bakteri azalması oluşmuştur. Testin de sonucuna göre, gümüş eki Hap'ın antibakteriyel özelliği olduğu tespit edilmiştir ve bu özellik gümüşün nin dozu arttıkça değil sadece %1 oranında eklendiğinde antibakteriyel etki gösterdiği görülmektedir. Gümüş ilavesinin %1 in altında veya üstünde kaldığında bakteri üremesi görülmüştür. Beklendiği gibi, kontrol grubu olarak kullanılan katkısız Hap'ın bakteri üremesi üzerinde olumsuz etkiye sahip olmadığı sonucuna varılmıştır.

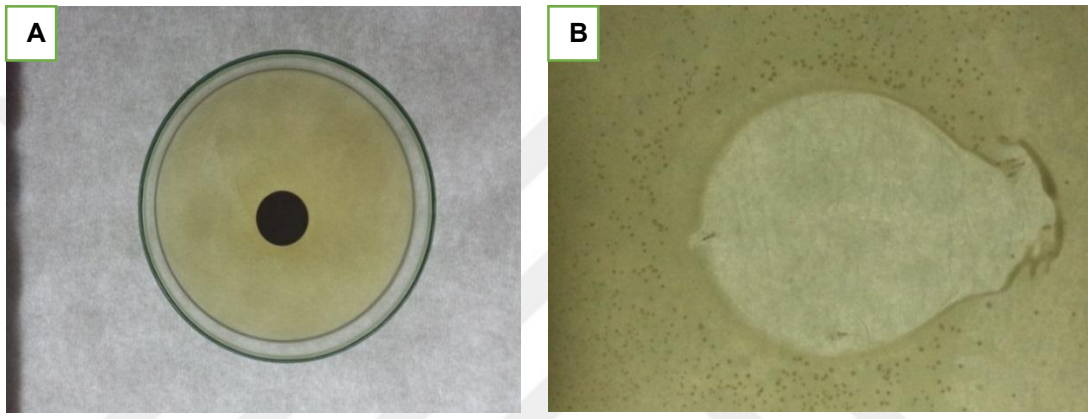


Şekil 6.27. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen E. coli kolonileri, 1) Hap(kontrol), 2) %0.5 Ag Hap,3) %1 AgHap 4) %1.5 AgHap, 5) %2 Ag Hap.

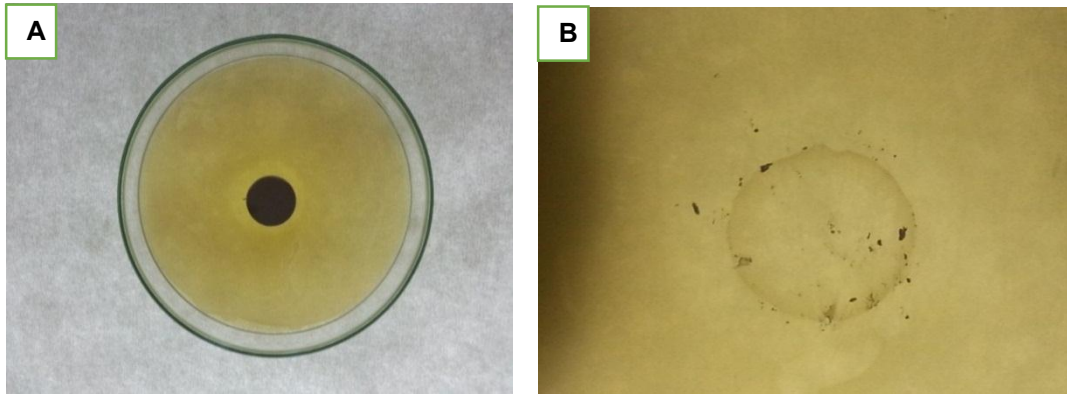
Schiff baz katkılı (Çinko SAE) hidroksiapatit disk difüzyon test sonuçları;

1. Katkısız hidroksiapatit disk
2. %0.1 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
3. % 0.2 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
4. %0.5 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
5. %0.7 çinko SAE ekli hidroksiapatit disk
6. E.coli DHS α suşu
7. Luria-Bertani broth sıvı besiyeri (LB broth)
8. Luria-Bertani agar katı besiyeri(LB agar)

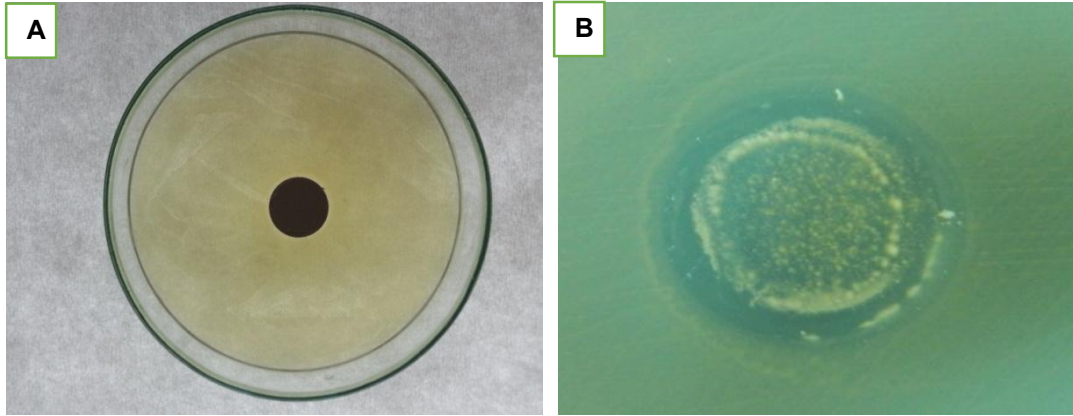
Antibakteriyel testte disk difüzyon metodu kullanılmıştır. LB agar besiyeri üzerine E.coli kültüründen alınan numune baget yardımıyla yaygın ekim yöntemi ile ekilmiştir. UV ışınına maruz bırakılarak steril hale getirilen hidroksiapatit diskler (katkısız Hap, %0.1, %0.2, %0.5 ve %0.7 Zn SAE katkılı HAp)aseptik koşullar altında bakteri ekili petri üzerine yerleştirilmiştir. 48 saat $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Sonrasında, diskler aseptik koşullarda petri kabından ayrılmış ve tekrar 48 saat $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki şekillerde görülmektedir.



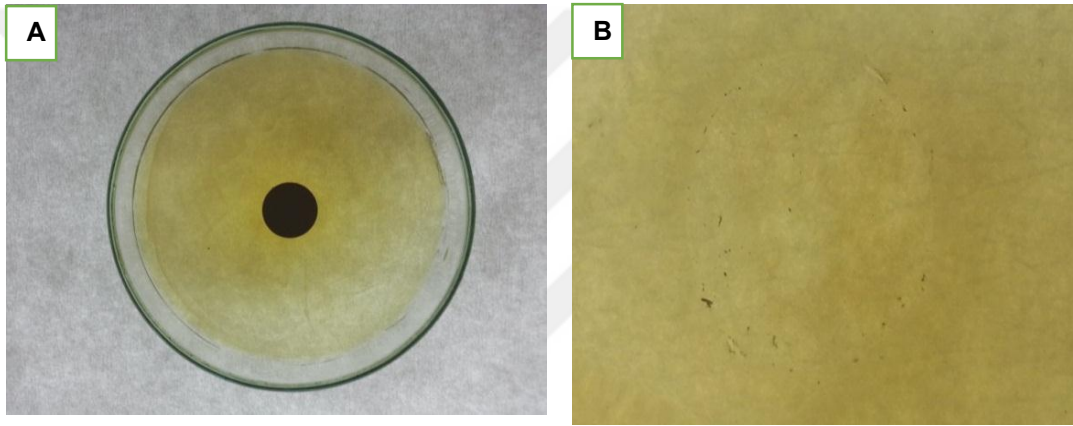
Şekil 6.28. Doğal yolla üretilen katkısız Hap tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü. A) disk kaldırılmadan önce B) disk kaldırıldıktan sonra.



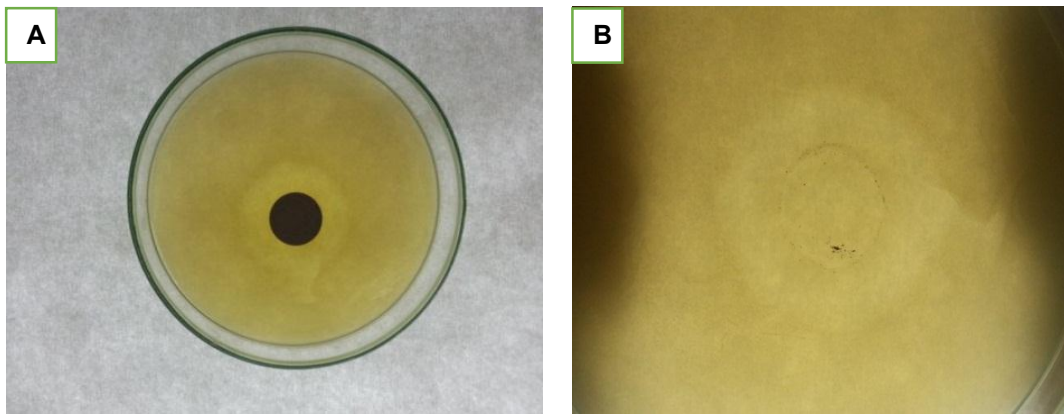
Şekil 6.29. Doğal yolla üretilen üretilen 0,1 Zn SAE katkılı HAp tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş . petrikabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü. A) disk kaldırılmadan önce B) disk kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.



Şekil 6.30. Doğal yolla üretilen 0,2 Zn SAE katkılı HAp tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü. A) disk kaldırılmadan önce B) disk kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.



Şekil 6.31. Doğal yolla üretilen 0,5 Zn SAE katkılı HAp tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü. A) disk kaldırılmadan önce B) disk kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.



Şekil 6.32. Doğal yolla üretilen 0,7 Zn SAE katkılı HAp tozundan sağlanmış diskin bakteri ekilmiş petri kabındaki 48 saatlik inkübasyonundan sonraki görüntüsü. A) disk kaldırılmadan önce B) diski kaldırıldıktan sonra 48 saat inkübasyon sonucu.

Disk difüzyon testi uygulamasında, tüm yüzeye yaygın ekim yöntemi ile bakteri ekilir ve tüm yüzeyde bakteri üremesi sağlanır. Aseptik koşullarda petri kabına yerleştirilen disk antibakteriyel özelliğe sahip olduğunda etrafındaki bakterilerin üremesini engeller ve bir boşluk oluşturur. Bu duruma inhibisyon zonu denir.

Antibakteriyel özellik ne kadar yüksekse zon o kadar büyük çaplı olur. Sonuçlar incelendiğinde Şekil 6.28.'de doğal yolla üretilen Hap diskte zon oluşmamıştır ve antibakteriyel bir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Şekil 6.29. ve Şekil 6.30.'da %0.1 Zn SAE katkılı Hap ve %0.2 Zn SAE katkılı Hap diskte inhibisyon zonu gözlenmemiştir. Şekil 6.31.'de %0.5 Zn SAE katkılı diskin bulunduğu petride küçük çaplı bir zon gözlenmiştir. Şekil 6.32.'de %0.7 Zn SAE katkılı Hap diskte oluşan inhibisyon zonu %0.5 Zn SAE katkılı Hap disklerden daha büyük çaplıdır. Sonuç olarak, çinko SAE ekli Hap disklerde antibakteriyel etki gözlenmiş ve bu etki en yüksek dozda en fazla inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Diskler kaldırıldıktan sonra hiçbir bakteri kolonisi gözlenmemiştir. Buradan çıkarılacak sonuç, diskin temas ettiği yüzeyler bakteriler üzerinde bakterisidal etki yaratmıştır. Fakat kontrol grubu olarak kullandığımız katkısız HAp ve 0.1, 0.2, 0.5 Zn SAE katkılı diski çıkarılıp, 48 saat inkübasyon yapıldığında diskin çıkarıldığı yere yakın bakteri büyümesi gözlemlenmiştir.

BÖLÜM 7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

7.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmasında insan vücudunda kullanmak için doğal kemiklerden biyoseramik bir malzeme olan hidroksiapatit ekonomik olarak üretilmiş. Üretilen organik hidroksiapatitin 1000°C, 1100°C, 1200°C ve 1300°C'lerde sinterlenmesi sonucu elde edilen sonuçlar özetlenmiştir ve Üretilen hidroksiapatit antibakterial özellik kazandırılmak için schiff bazı (ZnSAE) ve gümüş tozu katılmıştır.

Büyükbaş hayvan kemiğinin kalsinasyonu sonucu elde edilen hidroksiapatit toz saf hidroksiapatit olarak bilinen JCPDS: 09-432 ile uyumaktadır. Sinterleme sıcaklıklarının artırılmasıyla beraber yapıda dekompozisyondan dolayı β -TCP ve sodyum içerikli fazlar oluşmuştur. Bu fazların sinterleme sıcaklığının arttırılmasıyla beraber miktarlarında artış görülmüştür.

Mikroyapı görüntüleri incelendiğinde, sıcaklık artışı ile beraber densifikasyonun gerçekleştiği gözlenmiştir. Sinterlenen numunelere ait mikroyapı görüntülerinde açık, koyu gri ve siyah bölgelerin oluşumu gözlenmiş ve mikroyapıdaki bu bölgeler XRD analizleri sonucu yapıda varlığı belirlenen sodyumca zengin fazlara dayandırılmıştır. Yoğunluk değerlerinde sinterleme sıcaklığının artmasıyla beraber artış görülmüştür.

En düşük yoğunluk değeri olan 2.46 g/cm³ değerine 1000°C'de rastlanırken 1300°C'de yoğunluk değeri 3.02 g/cm³'e yükselmiştir. Relatif yoğunluk değeri de %78'den %95'e yükselmiştir.

Sıcaklıkla beraber densifikasyon sonucu sertlik değerlerinde artış görülmüştür. Numunelere ait en düşük sertlik değeri 81 HV iken en yüksek değer 494 HV'dir.

Basma mukavemeti sonuçları incelendiğinde en düşük değer 1000°C’de 27 MPa iken en yüksek değer 1200°C’de 60 MPa’dır ve 1300°C’de basma mukavemeti değeri 32 MPa’ya düşmüştür.

Yapılan XRF ve ICP Testleri ile Ticari olarak üretilen sentetik Hidroksiapatit ile doğal üretilen hidroksiapatitin temel olarak aynı özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Büyükbaş hayvan kemiğinin kalsinasyonu sonucu elde edilen doğal hidroksiapatite disk difüzyon yöntemi ve koloni sayma metodu ile antibakterial testler yapılmıştır.

Öncelikle ticari saf hidroksiapatit ve doğal hidroksiapatite disk difüzyon yöntemi ile test yapıldı yapılan test sonuçlarında ticari hidroksiapatitte hiç zone oluşmadı doğal hidroksiapatitte zone gözlemlendi ancak dikler kaldırıldıklarında her iki hidroksiapatit disk numunesinde altında bakteri üzeremesi gözlemlendi buda kontrol olarak denediğimiz doğal hidroksiapatitin antibakteriyel özelliği olmadığı görülmüştür.

İkinci olarak doğal hidroksiapatite toz halde koloni sayma metodu denenmiştir bunun için 1 adet kontrol hidroksiapatit % 0,5 % 1 %1,5 %2 oranında gümüş katkılı hidroksiapatit olmak üzere 5 adet numune yapılan koloni sayma metodunda %1 gümüş katkılı hidroksiapatitte %100 antibakteriyel özellik gözlemlenmiştir. Üçüncü olarak schiff baz katlı doğal hidroksiapatite disk difüzyon testi uygulandı antibakteriyel özellik ne kadar yüksekse zon o kadar büyük çaplı olur.

Sonuçlar incelendiğinde doğal yolla üretilen Hap diskte zon oluşmamıştır ve antibakteriyel bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. %0.1 Zn SAE katkılı Hap ve %0.2 Zn SAE katkılı Hap diskte inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. %0.5 Zn SAE katkılı diskin bulunduğu petride küçük çaplı bir zon gözlemlenmiştir. %0.7 Zn SAE katkılı Hap diskte oluşan inhibisyon zonu %0.5 Zn SAE katkılı Hap disklerden daha büyük çaplıdır.

Sonuç olarak, çinko SAE ekli Hap disklerde antibakteriyel etki gözlemlenmiş ve bu etki en yüksek dozda en fazla inhibisyon zonu oluşturmuştur. Diskler kaldırıldıktan sonra hiçbir bakteri kolonisi gözlemlenmemiştir. Buradan çıkarılacak sonuç, diskin temas ettiği yüzeyler bakteriler üzerinde bakterisidal etki yaratmıştır. Fakat kontrol gurubu olarak

kullandığımız katkısız HAp ve 0.1, 0.2, 0.5 Zn SAE katkılı diski çıkarılıp, 48 saat inkübasyon yapıldığında diskin çıkarıldığı yere yakın bakteri büyümesi gözlemlenmiştir.

7.2. Öneriler

1. Daha farklı bakteriler ile antibakterial testler yapılabilir.
2. Tozlar spray drayer ile küreselleştirilebilir.
3. Mekanik testler arttırılabilir Örn:3 nokta eğme testi vs.
4. Daha ayrıntılı iç yapı incelemesi için TEM çekilmelidir.
5. Schiff baz katkılı doğal hidroksiapatitin antiinflamatuvar özellikleri test edilmelidir.
6. İlerleyen aşamalarda tozlar kaplama tozu formuna getirilerek termal sprey kaplamalar ile metal implantlara kaplanabilir.
7. Kaplama yapılan metal implantlar önce etik kurul izni ile hayvan deneylerinde sonra ise insan üzerinde denenmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] Gümüşderelioğlu, M., “Biyomalzemeler”, Bilim ve Teknik Dergisi, Tübitak, Temmuz 2002.
- [2] Pasinli, A., “Biyomedikal Uygulamalarda Kullanılan Biyomalzemeler”, Teknolojik Araştırmalar, Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi, s. 25-34, İzmir, 2004.
- [3] Dobrucalı M., “Plazma Sprey Yöntemi ile Elde Edilmiş Hidroksiapatit Kaplama Özelliklerinin İncelenmesi” Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, 2005.
- [4] Hency, L.L. (1998). Bioceramics, Journal of American Ceramic Society, 81, 1705-28.
- [5] Hilmi, I., Rinastiti, M. ve Herliansyah, M.K. (2011). Synthesis of Hydroxyapatite From Local Bovine Bones For Biomedical Application, International Conference on Instrumentation, Communication, Information Technology and Biomedical Engineering, Bandung, Indonesia.
- [6] Demirkıran, H., “Biyocam Takviyeli Hidroksiapatit Kompozitlerinin Geliştirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, İtü, İstanbul, 2003.
- [7] Ying, J.Y., Ahn, E.S., Nakahira, A., “Nanocrystalline Apatites And Composites, Prostheses Incorporating Them, And Method For Their Production”, United States Patent 6, 013, 591, Jan. 11, 2000.
- [8] Keskin, A.O., “Hidroksiapatit Seramiklerin Mekanik Özelliklerinin Zirkonya İlavesi İle Geliştirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, İtü, İstanbul, 2000.
- [9] Wong, J. Y., Bronzino, J. D. (2007). Biomaterials, Crc Press, Taylor&Francis Group, Llc.
- [10] Williams, D.F. (1999). Williams Dictionary Of Biomaterials, Liverpool University Press.
- [11] Ratner, B., D., Hoffman A., S., Schoen, F., J., Lemons, J. (2013). Biomaterials Science: An Introduction To Materials In Medicine, Elsevier Press.

- [12] Kiyici, I.A. (2011). Plazma Püskürtme Yöntemiyle Üretilen Hidroksiapatit-Cam Kompozit Kaplamaların Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [13] Kuhn, T.L. (2012). Biomaterials Introduction To Biomedical Engineering, Third Edition, Elsevier Press, Chapter 5.
- [14] Gümüşderelioğlu, M. (2002). Yeni Ufuklara: Biyomalzemeler, TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi Eki, Ankara.
- [15] Szycher, M. (1988). Biomaterials, Academic Press, Massachusetts, Chapter 18.
- [16] Kee, J., Paulanka, B., Polek, C. (2010). Handbook of Fluids, Electrolytes and Acid Base Imbalances, Third Edition.
- [17] Anderson, JM. (2012). Biocompatibility, Elsevier Press, ABD.
- [18] Lutišanová, G., Kuzielová, E., Palou, M.T., Kozánková, J. (2011). Static And Dynamic In Vitro Test Of Bioactivity Of Glass Ceramics, Ceramics – Silikáty, 55, 2, 106-113.
- [19] Pasinli, A., Aksoy, R.S. (2010). Yapay Kemik Uygulamaları İçin Hidroksiapatit, BiyoTeknoloji Elektronik Dergisi, 1, 41-51.
- [20] Evans, F.G. (1976). Mechanical Properties and Histology of Cortical Bone from Younger and Older Men, Anat. Rec. 185, 1-12.
- [21] Demirkol, N. (2013). Koyun Hidroksiapatit Esaslı Kompozitlerin Üretimi Ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [22] Joseph, E., Bronzino, D. (2000). The Biomedical Engineering Handbook, Second Edition. Boca Raton: CRC Press LLC.
- [23] C Kiyıcı, İ.A. (2011). Plazma Püskürtme Yöntemiyle Üretilen Hidroksiapatitcam Kompozit Kaplamaların Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [24] URL-1 <http://admet.com/blogposts/astm-f2516-tension-testing-of-nitinol-howto-guide/>, Erişim Tarihi:12.01.2016.
- [25] URL-2 <http://www.drhowardweeks.com> , Erişim Tarihi:12.01.2014.
- [26] Muhaffel, F. (2010). Mikro Ark Yöntemiyle Titanyum Esaslı İmplantların Yüzey Özelliklerinin Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

- [27] Gökçek, E. (2006). Ortopedik İmplant Ve Protez Tasarımı İçin Biyomalzemelerin Mekanik Özelliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, Türkiye.
- [28] Kainer, K.U. (2006). Metal Matrix Composites, Custom-made Materials for Automotive and Aerospace Engineering, chapter 1.
- [29] Davis, H.E., Leach, J.K. (2008). Hybrid and Composite Biomaterials in Tissue Engineering, chapter 10.
- [30] Davis, K. (2010). Material Review: Alumina (Al₂O₃), School of Doctoral Studies (European Union) Journal.
- [31] Manicone, P.F., Iometti, P.R., Rafaelli, L. (2007). An overview of zirconia ceramics: Basic properties and clinical applications, Journal Dentistry, 35, 819-826.
- [32] URL-3 <http://www.morgantechnicalceramics.com>, Erişim Tarihi:25.02.2016.
- [33] Leffler, B., Iversen, A. (2010). Aqueous Corrosion of Stainless Steel, Corrosion and Degradation of Engineering Materials, 3, 1802-1878.
- [34] URL-4 <<http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult>. Erişim Tarihi:26.02.2014.
- [35] Bernard, S.A. (2005). Influence Of Silicon Dioxide, Magnesium Oxide And Zinc Oxide On Resorbable Tricalcium Phosphate Based Bioceramics, Yüksek Lisans Tezi, Washington State University, ABD.
- [36] Baghchesara, M.A., Abdizadeh, H., Baharvandi, H.R. (2010). Microstructure and Mechanical Properties of Aluminum Alloy Matrix Composite Reinforced with Nano MgO Particles, Asian Journal of Chemistry, 22, 6769-6777.
- [37] Hickey, D.J. (2014). MgO Nanocomposites as Antibacterial Biomaterials for Orthopedic Tissue Engineering, Department of Chemical Engineering Northeastern University.
- [38] Karakuş, A., Sentetik Vucut sıvısında Hidroksiapatit Hazırlama, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2011.
- [39] Weiner, S. Ve Wagner, H.D., (1998). "The Material Bone: Structure-Mechanical Function Relations" Annu Rev Mater Sci, 28: 271-298.
- [40] Weiner, S. Ve Wagner, H.D., (1998). "The Material Bone: Structure-Mechanical Function Relations" Annu Rev Mater Sci, 28: 271-298.

- [41] Zhou, H. Ve Lee, J., Review. ” Nanoscale Hydroxyapatite Particles For Bone Tissue Engineering”, Acta Biomaterialia.
- [42] Tirrell, M., Kokkoli, E., (2001). The Role Of Surface Science In Bioengineer Materials, Firt Edition, Springer, California.
- [43] Comodi, P., Liu, Y., Zanazzi, P.F., Ve Montagnoli, M., (2001). “Structural And Vibrational Behaviour Of Fluorapatite With Pressure. Part I: In Situ Single-Crystal X-Ray Diffraction Investigation” Phys. Chem. Miner., 28: 219-224.
- [44] Mostafa, N.Y. Ve Brown, P.W., (2007). “Computer Simulation Of Stoichiometric Hydroxyapatite: Structure And Substitutions “, Journal Of Physics And Chemistry Of Solids, 68(3): 431-437.
- [45] Shi, D., (2004). Biomaterials And Tissue Engineering, First Edition, Springer, New York.
- [46] Devreker, F., Hardy, K., Van Den Berg, M., Vanin, A. S., Emilian, S. Ve Englert, Y., Hum. Repord., 16, 749 (2001).
- [47] Yetkin, H., 2001. Ortopedi Ve Travmatolojide Biomateriyaller. 8th Biomedical Science And Technology Symposium (BIOMED8), IL02, METU Ankara/TURKEY, September 5-8, 2001.
- [48] HA-HSY3-Kompozitleri, [Http://Www.Scribd.Com/Doc/40480117/](http://Www.Scribd.Com/Doc/40480117/), Erişim Tarihi:19.04.2015.
- [49] Chen, H., Chen, Y., Orr, B.G., Banaszak-Holl, M., Majoros, I. Ve Clarkson, B.H., (2004). “Nanoscale Probing Of The Enamel Nanorod Surface Using Polyamidoamine Dendrimers”, Langmuir, 20: 4168-4171.
- [50] Koutsopoulos, S., (2002). “Synthesis And Characterization Of Hydroxyapatite Crystals: A Review Study On The Analytical Methods”, Journal Of Biomedical Materials Research, 62(4): 600-612.
- [51] Santos, M.H., De Oliveira, M., De Freitas Souza, L.P., Mansur, H.S. Ve Vasconcelos, W.L., (2004). “Synthesis Control And Characterization Of Hydroxyapatite Prepared By Wet Precipitation Process”, Materials Research, 7(4): ISSN 1516-1439.
- [52] Bonegraftingmaterial,http://Heraeusdental.Com/En/Products/Dentistry/Bonegraftingmaterial/Bone_Grafting_Material.aspx, Erişim Tarihi:19.04.2011.
- [53] Mobasherpour, I., Heshajin, M.S., Kazemzadeh, A., Zakeri, M., (2007). “Synthesis Ofnanocrystalline Hydroxyapatite By Using Precipitation Method”, Journal Of Alloys And Compounds 430:330–333.

- [54] Mucalo, M.R., Yokogawa, Y., Suzuki, T., Kawamoto, K., Nagata, F. Ve Nishizawa, K., (1995). "Further Studies Of Calcium Phosphate Growth On Phosphorylated Cotton Fibres", *Journal Of Materials Science: Materials In Medicine*, 6(11): 658-669.
- [55] Cengiz, B., Gokce, Y., Yildiz, N., Aktas, Z., Calimli, A., (2008), "Synthesis And Characterization Of Hydroxyapatite Nanoparticles", *Colloids And Surfaces A:Physicochem. Eng. Aspects* 322:29–33.
- [56] Tas, A.C., (2000), "Combustion Synthesis Of Calcium Phosphate Bioceramic Powders", *Journal Of The European Ceramic Society* 20:2389-2394.
- [57] Gross, K.A., Chai, C.S., Kannangara, G.S.K., Bin-Nissan, B. Ve Hanley, L., (1998). "Thin Hydroxyapatite Coatings Via Sol-Gel Synthesis", *J Mater Sci Mater Med*, 9: 839-843.
- [58] Liu, D.M., Troczynski, T., Tseng, W.J., (2001), "Water-Based Sol-Gel Synthesis Of Hydroxyapatite: Process Development", *Biomaterials* 22: 1721-1730.
- [59] Chai, C.S., Gross, K.A. Ve Ben-Nissan, B. (1998). "Critical Ageing Of Hydroxyapatite Solgel Solutions", *Biomaterials*, 19: 2291-2296.
- [60] Haddow, D.B., James, P.F. Ve Van Noort, R., (1998). "Sol-Gel Derived Calcium Phosphate Coatings For Biomedical Applications", *J Sol-Gel Sci Tech*, 13: 261-265.
- [61] Layrolle, P. Ito, A: Ve Tateishi, T., (1998). "Sol–Gel Synthesis Of Amorphous Calcium Phosphate And Sintering Into Microporous Hydroxyapatite Bioceramics", *J. Am. Ceram. Soc.*, 81(6): 1421–1428.
- [62] Lim, G.K., Wang, J., Ng, S.C., Chew, C.H. Ve Gan, L.M., (1999). "Formation Of Nanocrystalline Hydroxyapatite In Nonionic Surfactant Emulsions", *Langmuir*, 15:7472.
- [63] Guo, G., Sun, Y., Wang, Z., Guo, H., (2005), "Preparation Of Hydroxyapatite Nanoparticles By Reverse Microemulsion", *Ceramics International* 31:869.
- [64] Suchanek, W.L. Ve Riman, R.E., (2006). "Hydrothermal Synthesis Of Advanced Ceramic Powders", *Adv Sci Technol*, 45: 184-193.
- [65] Sadat-Shojai, M., (2009). "Preparation Of Hydroxyapatite Nanoparticles: Comparison Between Hydrothermal And Treatment Processes And Colloidal Stability Of Produced Nanoparticles In A Dilute Experimental Dental Adhesives", *J Iranian Chem Soc.*, 6(2): 386-392.

- [66] Nayak, A.K., (2010). "Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview", *International Journal Of Chemtech Research*, 2(2): 903-907.
- [67] Zhu, R., Yu, R., Yao, J., Wang, D., Ke, J., A (2008), "Morphology Control Of Hydroxyapatite Through Hydrothermal Process", *Journal Of Alloys And Compounds* 457:555–559.
- [68] Hang Chau, J.L., Hsu, M.K. Ve Kao, C.C, (2006). "Microwave Plasma Synthesis Of Co And Sic-Coated Co Nanopowders", *Materials Letters*, 60(7), 947-951.
- [69] Yeong, K.C.B., Wang, J., Ng, S.C., (2001), "Mechanochemical Synthesis Of Nanocrystalline Hydroxyapatite From Cao And Cahpo₄", *Biomaterials* 22:2705-2712.
- [70] Avvakumov, E.G., Senna, M. Ve Kosova, N.V., (2001). *Soft Mechanochemical Synthesis, A Basis For New Chemical Technologies*, First Edition, Kluwer Academic Publishers, Boston.
- [71] Shuk, P., Suchanek, W.L., Hao, T., Gulliver, E. Ve Riman, R.E., (2001). "Mechanochemical–Hydrothermal Preparation Of Crystalline Hydroxyapatite Powders At Room Temperature", *J Mater Res*, 16: 1231–1234.
- [72] Mochales, C., El Briak-Benabdeslam, H., Ginebra, M.P., Boudeville, P., Ve Planell, J.A., (2004). "Obtention Of Silicate-Substituted Calcium Deficient Hydroxyapatite By Dry Mechanochemical Synthesis", *Key Eng Mater*, 254–256: 107.
- [73] Shi, D. (2004). *Biomaterials And Tissue Engineering*.
- [74] Kokubo, T. (2008). *Bioceramics And Their Clinical Applications*, Woodhead Publishing In Materials.
- [75] Monroe, E.A, Votava, W., Bass D.B. Ve McMullen J. (1971). *New Calcium Phosphate Ceramic Material For Bone And Tooth Implants*, *J, Dental Res*, 50, 860–861.
- [76] Max, Lu, G.Q. (1996). *Evolution Of The Pore Structure Of The Ceramic Powder Compact During Sintering*, *Journal Of Materials Processing Technology*, 59, 297-302.
- [77] Champion, E. (2012). *Sintering Of Calcium-Phosphate Ceramics*, *Acta Biomaterialia*.
- [78] Metin, N, (2013). *Organik Hidroksiapatit Tozlarının Sinterlenmesi Ve Karakterizasyonu*.

- [79] Toykan, D. (2003). Biyomedikal Uygulamalar İçin Titanyum Takviyeli Hidroksiapatit Kompozitlerinin Geliştirilmesi.
- [80] Li-Hong He, Owen C. Standard, Tiffany T.Y. Huanga, Bruno A. Latella Ve Michael V. Swaina. (2008). Mechanical Behaviour Of Porous Hydroxyapatite, *Acta Biomaterialia*, 4, 577-586.
- [81] Genç, Y. (2003). Use Of Factorial Design Of Experiments İn The Development Of Zirconia To Toughened Hydroxyapatite Composites.
- [82] Barling, P.M., Gupta, D.K., Lim, C.E.L., (1999). "Involvement Of Phosphodiesterase İn Mineralization: Histochemical Studies Using Antler From Red Deer (*Cervus Elaphus*) As A Model", *Calcif. Tissue Int.*, 65: 384.
- [83] Stein, H.H., Kadzere, C.T., Kim, S.W. Ve Miller, P.S., (2008). "Influence Of Dietary Phosphorus Concentration On The Digestibility Of Phosphorus İn Monocalcium Phosphate By Growing Pigs", *J.Animal Sci.*, 86: 1861-1867.
- [84] URL-5. Hidroksiapatit, <http://Tr.Wikipedia.Org/Wiki/> Erişim Tarihi:10.02.2016.
- [85] Kumar, R., Prakash, K.H., Cheang, P. Ve Khor, K.A., (2004). "Temperature Driven Morphological Changes Of Chemically Precipitated Hydroxyapatite Nanoparticles", *Langmuir*, 20: 5196-5200.
- [86] Dorozhkina, E.I. Ve Dorozhkin, S.V., (2002). "Mechanism Of The Solid-State Transformation Of A Calciumdeficient Hydroxyapatite (CDHA) İnto Biphasic Calcium Phosphate (BCP) At Elevated Temperatures", *Chem. Mater.*, 14: 4267-4272.
- [87] Kierdorf, U. Ve Kierdorf, H., (2000). "The Fluoride Content Of Antlers As An İndicator Of Fluoride Exposure İn Red Deer (*Cervus Elaphus*): A Historical Biomonitoring Study", *Fluoride*, 33: 92-94.
- [88] Bilezikian, J.P., Raisz, L.G. Ve Martin, T.J., (2008). *Principles Of Bone Biology*, Third Ed., Academic Press, New York.
- [89] Sahar, N.D., Hong, S.I. Ve Kohn, D.H., (2005). "Micro- And Nano-Structural Analyses Of Damage İn Bone", *Micron*, 36: 617-629.
- [90] Chen, H., Chen, Y., Orr, B.G., Banaszak-Holl, M., Majoros, I. Ve Clarkson, B.H., (2004). "Nanoscale Probing Of The Enamel Nanorod Surface Using Polyamidoamine Dendrimers", *Langmuir*, 20: 4168-4171.
- [91] URL-6Cerabone, <http://Www.Hayatmedikal.Net/Default.Asp?Page=Cerabone&Lan,TR>, Erişim Tarihi:19.04.2015.

- [92] Liao, .L., Kao, S.C.S., Ts Eng, J.H.S. Ve Lin, L.L.K., (2005). “Surgical Coverage Ofexposed Hydroxyapatite İmplant With Retroauricular Myoperiosteal Graft”, Br J Ophthalmol, 89: 92-95.
- [93] Sherman, DD., (1999). Current Techniques Of Enucleation And Evisceration. In Ophthalmic Surgery, First Edition, Blackwell Science, USA.
- [94] Kundu, B., Sinha, M.,K., Mitra, M. K. Ve Basu, D., (2004), “Fabrication And Characterization Of Porous Hydroxyapatite Ocular İmplant Followed By An İn Vivo Study İn Dogs”, Bull. Mater. Sci., 27:133-140.
- [95] Tietze, H.W., (2002). Urine The Holy Water, Third Edition, Harald Tietze Publishing, New Delhi.
- [96] Gittens, S.A. Ve Uludag, H., (2001). “Growthfactor Delivery For Bone Tissue Engineering”, J Drug Target, 9: 407–429.
- [97] Sohier, J., Haan, R.E., De Groot, K. Ve Bezemer, J.M., (2003). “A Novel Method To Obtain Protein Release From Porous Polymer Scaffolds: Emulsion Coating”, J Control Rel, 87: 57–68.
- [98] Zeltinger, J., Sherwood, J.K., Graham, D.A., Mueller, R. Ve Griffith, L.G., (2001). “Effect Of Pore Size And Void Fraction On Cellular Adhesion, Prolifleration, And Matrix Deposition”, Tissue Eng, 7: 557–572.
- [99] Ural, E., Kesenci, K., Fambri, L., Migliaresi, C. Ve Piskin, E., (2000). “Poly/Hydroxyapatite Composites”, Biomaterials, 21: 2147–2154.
- [100] Elfick, A.P.D., (2002). “Poly(E-Caprolactone) As A Potential Material For A Temporary Joint Spacer”, Biomaterials, 23: 4463–4467.
- [101] Pollard, M.; Heron, C. (2008). Archaeological Chemistry, 2nd Ed., Cambridge: Royal Society Of Chemistry. Doi:10.1039/9781847558299. ISBN 9780854042623.
- [102] Anonim, 2012, Escherichia coli tip 1, www.mikrobiyoloji.org, Erişim Tarihi: 17.02.2015.
- [103] Yan, J and Cheng, J., 2003, Antimicrobial yarn having nanosilver particles and methods for manufacturing the same, United States Patent 6979491, Beijng, China.
- [104] Goodman, L. and Gelman, A., 1975, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 5th Edition, New York, NY: MacMillian; 930 p.
- [105] Searle, A., 1919, The Use of Metal Colloids in Health and Disease, E. P. Dutton and Company, New York, 70 p.

- [106] Koizhaiganova, M., Gümüş Katkılı Hidroksiapatitin Bazı Deri İşlenti Basamaklarında Kullanılabilirliği Ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 2012.
- [107] Mccarthy, P.J., Ueno, K. Ve Martell, A.E., Inner Complex Chelates. I. Analogs Of Bisacetylacetonediimmine And Its Metal Chelates. *Journal Of The American Chemical Society*. 1955; 77: 5820- 5824.
- [108] Krygowski, T.M., Woźniak, K., Anulewicz, R., Pawlak, D., Kolodziejcki, W., Grech, E. Ve Szady, A., Through-Resonance Ionic Hydrogen Bonding In 5-Nitro-N-Salicylideneethylamine. *Journal Physical Chemistry A*. 2001; 101: 9399-9404.
- [109] Nathan, L.C. Ve Traina, C.A., Tautomerism In Complexes With Neutral Tetradentate Schiff Base Ligands: The X-Ray Structures Of Cadmium(II) Nitrate Complexes Of Bis(Acetylacetonediimmine)-M Phenylenediimmine And Bis(Acetylacetonediimmine)-P-Phenylene Dimine. *Polyhedron*. 2003; 22: 3213-3221.
- [110] Tuna M., Poli Hidroksi Schiff Bazı Metal Komplekslerinin Hazırlanması, Karakterizasyonu Ve Polimerleşebilme Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, 2011.
- [111] Rivastava, T.N., Chauhan, A.K.S., Mehrotra, G.K., *Indian Journal Of Chemistry*. 1983; 22: 712.
- [112] Yamada, S. Ve Nishikawa, N., *Sci. Rep., Coll. Gen. Educ. Osaka Univ.*, 1973; 45: 615.
- [113] Küçükdumlu, A., Bazı Oksim Ve Schiff Bazları İle Metal Komplekslerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [114] Naemi, H., Safarı, J. Ve Heidarneshak, A., Synthesis Of Schiff Base Ligands Derived From Condensation Of Salicylaldehyde Derivatives And Synthetic Diamine. *Dyes And Pigments*. 2007; 73:251-253.
- [115] Canpolat, E., İmin Ve Oksim İçeren Ligandların Sentezi, Karakterizasyonu Ve Bu Ligandların Bazı Metal Komplekslerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2003.
- [116] Frenzel, T., Solodenko, W. Ve Kischning A., Solid-Phase Bound Catalysis: Properties And Applications. *Polymeric Material In Organic Synthesis And Catalysis*, Edited By Buchmeiser, M. R., Wiley-Vch. 2002; Pp.201-234.
- [117] Kumar, S., Dhar, D.N. Ve Sexana, P.N., Application Of Metal Complexes Of Schiff Bases-A-Reviews. *Journal Of Scientific & Industrial Research*. 2009; 68:181-187.

- [118] Gupta, K.C., Sutar, A.K. Ve Lım, C.C., Polymer-Supported Schiff Base Complexes İn Oxidation Reactions. *Coordination Chemistry Reviews*. 20099; 253:1926-1946.
- [119] Kolan,A., Antibakteriyel Özelliği Geliştirilmiş Yeni Bir Nano Biyomalzemenin Hazırlanması Ve Karakterizasyonu, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2015.



ÖZGEÇMİŞ

Serdar Gökhan AKÇA, 12.01.1990'da Hatay Dörtyol'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Dörtyol'da tamamladı. 2008 yılında Süleyman Demirel Anadolu Lisesin'den mezun oldu. 2009 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Metal Eğitimi bölümünden 2013 yılında bölüm birincisi olarak mezun oldu. Bölüm stajlarını Sakarya Üniversitesi Termal Sprey Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında tamamladı. 2013 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İmalat Mühendisliği anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Türk Hava Yolları Teknik A.Ş.'de uçak bakım mühendisi olarak çalışma hayatına devam etmektedir.