

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EDTA ŞELAT DEKOMPOZİSYONU YÖNTEMİ İLE GÜMÜŞ KATKILI
HİDROKSİAPATİT ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kübra ÇELİK**

Anabilim Dalı : İleri Teknolojiler Ana Bilim Dalı

Programı : Malzeme Bilimi Ve Mühendisliği

Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Hüseyin KIZIL

HAZİRAN 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EDTA ŞELAT DEKOMPOZİSYONU YÖNTEMİ İLE GÜMÜŞ KATKILI
HİDROKSİAPATİT ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kübra ÇELİK
(521081019)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 05 Mayıs 2011

Tezin Savunulduğu Tarih : 08 Haziran 2011

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç Dr. Hüseyin KIZIL (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Celaletdin ERGUN (İTÜ)
Doç. Dr. Murat BAYDOĞAN (İTÜ)**

HAZİRAN 2011

Sevgili Eşim Ümit Çelik'e ve aileme,

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans çalışmalarında her zaman destek veren hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Kızıl'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Yardım ve önerileri ile katkılarını esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Celaletdin Ergun'a teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında anlayış ve desteklerini gördüğüm arkadaşlarım Ramazan Şahin'e, Berat Doğan'a, Burak Karabel'e ve kardeşim Süleyman Çelik'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında hep yanımda olan sevgili ailem Hüseyin Zeytin, Sevgi Zeytin ve Sevda Zeytin'e gösterdikleri sabır, sevgi ve anlayış için çok teşekkür ederim.

Bilimsel alanda her zaman yanımda olan, maddi ve manevi her türlü desteği sağlamış olan kalbimin sahibi, can yoldaşım, sevgili eşim Ümit Çelik'e çok teşekkür ederim.

Haziran 2011

Kübra Çelik

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 Biyomalzemelere Genel Bakış	1
1.2 Biyomalzemelerde Antibakteriyel Özellikler.....	4
1.2.1 Gümüş iyonlarının vücut ortamındaki etkileri	5
1.3 Biyoseramikler	6
1.3.1 Kalsiyum-fosfat biyoseramikleri ve genel özellikleri	7
1.3.1.1 Sinterleme	9
1.3.1.2 Mekanik özellikler	10
1.3.1.3 Elektriksel özellikler	11
1.3.1.4 Porozite	11
1.3.1.5 Kalsiyum-fosfatların mevcut ticari uygulamaları	12
1.3.2 Kalsiyum fosfat biyoseramiklerinin biyolojik özellikleri	15
1.3.2.1 Çevre dokularla etkileşim	16
1.3.2.2 Biyoçözünürlük	19
1.3.2.3 Biyoaktivite	20
1.3.2.4 Kalsiyum fosfat biyoseramiklerinde hücre tepki	20
1.3.2.5 Doku mühendisliğinde kalsiyum fosfat biyoseramikleri	21
1.3.2.6 Kalsiyum fosfat uygulamaları örneği olarak scafoltilar.....	21
2. HİDROKSİAPATİT	25
2.1 Hidroksiapatit Elde Etme Yöntemleri	27
2.1.1 Hidrotermal yöntemlere genel bakış	27
2.1.2 EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile HA üretme ve detayları.....	29
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	31
3.1 Kullanılan Malzemeler	31
3.2 Kullanılan Cihazlar	31
3.3 Deneylerde Kullanılan Numuneler.....	32
3.3.1 Gümüş katkılı hidroksiapatit tozlarının üretimi	33
3.3.2 Numunelerin hazırlanması	35
3.4 Karakterizasyon Çalışmaları	36
3.4.1 X-Işınları kırınım cihazı ile karakterizasyon	36
3.4.2 Tarama elektron mikroskobu ile karakterizasyon	40
3.4.3 Atomik kuvvet mikroskobu ile karakterizasyon	54
3.4.4 Disk difüzyon testi ile karakterizasyon	61
4. GENEL SONUÇLAR	63

KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	69

KISALTMALAR

HA : Hidroksiapatit
pH : Ortam asitlik birimi

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Var olan kalsiyum-fosfatlar ve bazı özellikleri [13]	8
Çizelge 1.2 : Ticari, kalsiyum-fosfat bazlı biyomalzeme örnekleri [13]	13
Çizelge 1.3 : Metal implantlarda kalsiyum-fosfat ve biyoçözünür kaplamalar biriktirmek için çeşitli teknikler [13]	14
Çizelge 1.4 : İdeal skafoltda olması gereken por boyutu dağılımı [13]	22
Çizelge 1.5 : Doku mühendisliği için üretilen kalsiyum-fosfat skafoldların üretim yöntemleri ve detayları [13]	23
Çizelge 2.1 : Ca/P molar oranına göre Kalsiyum-Fosfat karakteristikleri [21]	25
Çizelge 3.1 : Deneylerde kullanılan numunelerin özellikleri	33
Çizelge 3.2 : Numune hazırlama esnasında kullanılan hammaddeler ve miktarları..	35
Çizelge 3.3 : 1100°C’de havada 2 saat sinterlenen Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA numuneleri için XRD-Sonuçları	39
Çizelge 3.4 : 700°C SEM görüntülerinde görülen iğnesel yapıların En/Boy oranı değerlerini veren çizelge	46
Çizelge 3.5 : Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA Ortalama Pürüzlülük Verileri	55
Çizelge 3.6 : Numune etrafında oluşan inhibisyon zonu verileri	62

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : İmplantasyon sonrası bakteri enfeksiyonunu gösteren grafik [10]	5
Şekil 1.2 : Kalsiyum-Fosfat esaslı biyoseramiklerin çeşitli uygulama örnekleri [13].	8
Şekil 1.3 : Biyoseramik ve biyolojik doku arasındaki etkileşim şeması [13].....	17
Şekil 1.4 : HA'ten yapılmış scafolt çene implantı kullanım örneği [20].....	22
Şekil 2.1 : Poroz yapıdaki HA'ten yapılmış scafolt fabrikasyonu örnekleri [18]	25
Şekil 2.2 : Hidrotermal yöntemler ile HA üretimi	26
Şekil 2.3 : (a) HA kristal yapısı, (b) (x,y) projeksiyonunda (001) düzleminde, 4 adet HA birim hücresi, (c) HA kristali [22,24].....	26
Şekil 2.4 : (a,b) Kristalografik eksen ve düzlemleri gösterilen tek kristal HA modeli, (c) HA tek kristali SEM görüntüleri [23]	26
Şekil 2.5 : HA kristal yapısında atomların yerleşimi (Dental enamel) [26]	27
Şekil 2.6 : EDTA şelat yönteminde reksiyon mekanizmasını gösteren şematik resim	29
Şekil 2.7 : EDTAşelat yönteminde artan karıştırma hızlarında oluşan kristaller	30
Şekil 3.1 : Deneysel çalışmalar kapsamında kullanılan cihazlar	32
Şekil 3.2 : Sinterlenmemiş Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA numuneleri	33
Şekil 3.3 : EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi üretim aşamaları şeması.....	34
Şekil 3.4 : Deneylerde kullanılan Hidroksiapatit numunelerinin hazırlama aşamaları	35
Şekil 3.5 : 1100°C'de havada 2 saat süreyle sinterlenmiş Ag-HA numuneleri.....	36
Şekil 3.6 : Havada 2 saat 1100°C'de sinterlenmiş Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA için XRD sonuçları ve referans malzeme pikleri	37
Şekil 3.7 : Havada 2 saat 1100°C'de sinterlenmiş Ag5-HA numunesi için XRD verileri	37
Şekil 3.8 : Havada 2 saat 1100°C'de sinterlenmiş Ag2-HA numunesi için XRD verileri	38
Şekil 3.9 : Havada 2 saat 1100°C'de sinterlenmiş Ag0,5-HA numunesi için XRD verileri	38
Şekil 3.10 : Havada 2 saat 1100°C'de sinterlenmiş Ag0-HA numunesi için XRD verileri	39
Şekil 3.11 : Tarama elektron mikroskopisi için Au Kaplanmış Ag-HA numuneleri	40
Şekil 3.12 : Ag0-HA için 500°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	41
Şekil 3.13 : Ag0-HA için 700°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	41
Şekil 3.14 : Ag0-HA için 900°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	42
Şekil 3.15 : Ag0-HA için 1100°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	42
Şekil 3.16 : Ag0-HA için 1300°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	43

Şekil 3.17 : Ag ₂ -HA için 500°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	44
Şekil 3.18 : Ag ₂ -HA için 700°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	44
Şekil 3.19 : Ag ₂ -HA için 900°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	45
Şekil 3.20 : Ag ₂ -HA için 1100°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	45
Şekil 3.21 : Ag ₂ -HA için 1300°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü	46
Şekil 3.22 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag ₀ -HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	47
Şekil 3.23 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag _{0,5} -HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	47
Şekil 3.24 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag ₂ -HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	48
Şekil 3.25 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag ₅ -HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	48
Şekil 3.26 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag ₀ -HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	49
Şekil 3.27 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag _{0,5} -HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	50
Şekil 3.28 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag ₂ -HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	50
Şekil 3.29 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag ₅ -HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri	51
Şekil 3.30 : 900°C’de sinterlenen Ag ₅ -HA’ için nanoyapı oluşumlarını gösteren SEM görüntüsü. (a) Geniş alan görüntüsü, (b) a’da kareyle gösterilen detay.	52
Şekil 3.31 : 900°C’de sinterlenen Ag ₅ -HA’ için kristal oluşumlarını gösteren SEM görüntüsü	53
Şekil 3.32 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag ₀ -HA numunesi için AFM topografi	55
Şekil 3.33 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag ₀ -HA numunesi için AFM 3D görüntü	56
Şekil 3.34 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag ₀ -HA numunesi için AFM Faz görüntüsü	56
Şekil 3.35 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag _{0,5} -HA numunesi için AFM topografi	57
Şekil 3.36 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag _{0,5} -HA numunesi için AFM 3D görüntü	57
Şekil 3.37 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag _{0,5} -HA numunesi için AFM Faz görüntüsü	58
Şekil 3.38 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag ₂ -HA numunesi için AFM topografi	58
Şekil 3.39 : Ag ₂ -HA numunesi detay kısımdaki yükseltelerin çizgi boyunca grafiği	59
Şekil 3.40 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag ₂ -HA numunesi için AFM 3D görüntü	59
Şekil 3.41 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag ₂ -HA numunesi için AFM Faz görüntüsü	60

Şekil 3.42 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag5-HA numunesi için AFM topografi	60
Şekil 3.43 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag5-HA numunesi için AFM 3D görüntü	61
Şekil 3.44 : Disk difüzyon testi sonucunda numune çevrelerinde oluşan inhibisyon zonları.....	62
Şekil 3.45 : Gümüş Oksit (Ag_2O) kristal yapısı şematik gösterimi [29]	63
Şekil 3.46 : NaCaPO_4 ile eşyapılı $\beta\text{-K}_2\text{SO}_4$ mineralinin kristal yapısı şeması [29] ..	64

EDTA ŞELAT DEKOMPOZİSYONU YÖNTEMİ İLE GÜMÜŞ KATKILI HİDROKSİAPATİT ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Kimyasal bileşimi $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ olan Hidroksiapatit (HA), diş ve kemiğin temel inorganik bileşenine yakın minerolojik ve kimyasal özellikler göstermesi nedeniyle biyomalzemeler arasında önemli bir yere sahiptir. HA kemik bileşeninin yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır ve tıpta kullanım alanları iç kulak kemiği yada dolgu malzemeleri gibi yüke maruz kalmayan uygulamalardır.

Modern tıp uygulamalarında steril ortamlarda çalışılmasına rağmen implantasyon sonrası oluşan enfeksiyon hasarı sonucu klinik başarısızlık oranları implant tipine bağlı olarak %1 ile %9 arasında değişmektedir. Ortopedik hastalar üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki enfeksiyon hasarının neden olduğu tahmini ortalama harcamalar yıllık 15000\$ ve 30000\$'ı bulmaktadır. Ayrıca hastaların ek olarak 14 gün hastanede kalmaları söz konusudur. Dental implantasyon uygulamalarında ise enfeksiyon hasarı hastanın hastanede kalmasını gerektirmemesine rağmen hastanın yaşam kalitesinde düşmeye neden olmaktadır. Bu bağlamda antibakteriyel özellik gösteren biyomalzemelerin geliştirilmeleri ve uygulama alanı bulmaları önemlidir.

İmplantasyon sonrası oluşan bakterilerin neden olduğu iltihaplanmayı önlemek için biyomalzemelerin yapısına gümüş iyonları katkılanması biyomühendislikte sıkça tercih edilen bir yöntemdir. Bu çalışma gümüş katkılı hidroksiapatit (HA) malzemenin EDTA şelat dekompozisyonu metodu ile üretilmesi aşamalarını içermektedir. Amaç bu yöntemle hidroksiapatit üretimi esnasında yapıya antibakteriyel özellik kazandırmak için gümüş iyonları katkılatabilmektir.

Yapılan karakterizasyon çalışmalarında; elementel analiz ve faz analizi için X-Işınları Kırınımı cihazı (XRD) ve oluşan yapısal farklılıkların tayini için Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Yüzey ve faz karakterizasyonu için Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) kullanılmıştır.

Bu çalışma kapsamında EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile HA oluşturma esnasında gümüş katkısının Gümüş Oksit (Ag_2O) olarak yapıya eklenebildiği sonucuna ulaşılmıştır. Gümüş katkısı ile sinterlenebilirlik artmış, tane boyutunda büyüme meydana gelmiştir. Gümüş katkısının artması ile malzemenin antibakteriyellik özelliği artmıştır.

Aynı zamanda EDTA şelatından gelen Na^+ iyonları sebebiyle beklenmeyen CaNaPO_4 (Rhenanite) fazı oluşumu tespit edilmiştir. Bu fazın HA yapısında bulunmasının biyoçözünürlük ve biyouyumluluk özelliklerine olumlu etkisi olduğu bilinmektedir.

PRODUCING AND CHARACTERIZATION OF SILVER DOPED HYDROXYAPATITE WITH EDTA CHELATE DECOMPOSITION METHOD

SUMMARY

Among calcium phosphates, hydroxyapatite, (HA), $(\text{Ca}_{10}(\text{PO})_6(\text{OH})_2)$ is known to be the major constituent (70%) of the bones. As a bioceramic, particular attention has been given to HA due to its bioresorbability and non loaded applications.

Despite the use of perioperative antimicrobial prophylaxis and laminar flow operating rooms, the infection rates associated with prosthetic joints range between 1% and 9%, depending on the type of implant. Studies on orthopaedic patients revealed that the estimated average total direct cost associated with an infected case ranges between \$15 000 and \$30 000 and shown that the patients spent on average 14 extra days in the hospital after readmission. On dental implantation applications, although the infection does not require the patient to remain in hospital, patient's life quality falls.

Silver ions are generally preferred to use to prevent inflammation caused by bacteria after implantation in bioengineering. This study contains producing of silver doped hydroxyapatite (HA) by EDTA chelate method. The aim is to gain antibacterial property to hydroxyapatite with this producing method.

On characterization studies X-Ray Diffraction Measurements (XRD) technique, Scanning Electron Microscopy (SEM) technique and Atomic Force Microscopy (AFM) technique is used.

In this study silver ions are joined to the hydroxyapatite structure as Silver Oxide (Ag_2O). With silver ratio the sinterability has increased and also the grain size has increased. With silver addition the antibacterial properties has increased.

The new unexpected NaCaPO_4 phase has occurred, the Na^+ ions has come to the structure from EDTA chelate. This phase increases the bioresorbability and biocompatibility of hydroxyapatite.

1. GİRİŞ

Günümüzde teknolojinin hızla gelişmesinin ardından malzeme bilimine olan gereksinim artmıştır. Son yıllarda biyolojide ve tıpta ileri teknoloji malzemelerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Biyolojik malzemelerdeki araştırma geliştirme çalışmaları sayesinde her geçen gün yeni uygulamalar ile karşılaşmaktayız.

Kullanılan çeşitli biyomalzemeler arasında, kimyasal bileşimi $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ olan Hidroksiapatit (HA) diş ve kemiğin temel inorganik bileşenine yakın mineralojik ve kimyasal özellikler göstermesi nedeniyle biyomalzemeler arasında önemli bir yere sahiptir. HA, kemik bileşeninin yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır ve tıpta kullanım alanları iç kulak kemiği ya da dolgu malzemeleri gibi yüke maruz kalmayan uygulamalardır [1-6].

Modern tıp uygulamalarında steril ortamlarda çalışılmasına rağmen implantasyon sonrası oluşan enfeksiyon hasarı oranları %1 ile %9 arasında implant tipine bağlı olarak değişmektedir. Ortopedik hastalar üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki enfeksiyon hasarının neden olduğu tahmini ortalama hasta maliyeti yıllık 15000\$ ve 30000\$'ı bulmaktadır. Ek olarak hastaların fazladan 14 gün daha hastanede kalmaları söz konusudur. Dental implantasyon uygulamalarında ise enfeksiyon hasarı hastanın hastanede kalmasını gerektirmemesine rağmen hastanın yaşam kalitesinde düşmeye neden olmaktadır [7].

Bu çalışmada, Hidroksiapatit yapısına Gümüş katkısı yapılarak antibakteriyel özellik kazandırılması amaçlanmaktadır. Bu sebeple EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile HA üretimi sırasında Gümüş Nitrat (AgNO_3) kullanarak yapıya gümüş katkılama çalışmaları yapılmıştır.

1.1 Biyomalzemelere Genel Bakış

Biyomalzemeler insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla temas eden malzemelerdir [8].

Teknolojinin gelişmesiyle malzeme biliminde çığır açan biyomalzeme uygulamalarının tarihine bakıldığında çok eski zamanlara kadar uzanmakta olduğu görülmektedir. 2000 yıl önce antik çağlarda mısır mumyalarında kullanılan yapay göz, yapay burun ve yapay dişler bunun en büyük kanıtıdır. Diş hekimliğinde altının kullanımı, bronz ve bakır kemik implantların kullanımı milattan önceye kadar gitmektedir [8].

Biyomalzemelerin tarihine baktığımızda ilk metal protezin 1938 yılında kullanılan Co-Cr-Mo alaşımlı yapay kalça kemiği olduğu görülür. 50'lerde yapay kalp vanaları kullanımda olup 60'lara kadar metal alaşım protezleri kullanılmıştır, ne var ki korozyona uğramaları sebebiyle sağlık açısından tehdit oluşturmuşlardır. 1972 yılında alümina ve zirkonya kullanılmaya başlanmıştır, fakat inert olan bu malzemedede de biyouyumluluk sorunları görülmüştür. Bu sebeple yeni malzeme arayışı devam etmiş ve biyo uyumluluğu yüksek olan biyoaktif cam ve seramikler geliştirilmiştir. Hidroksiapatit malzemesi biyoaktif seramiklere örnek gösterilebilir. Günümüzde teknolojiye gelişmelerin getirdiği olanaklar yüzlerce çeşit biyomalzeme ile 2700'ü aşkın çeşitlilikte tıbbi cihaz, 2500 kadar farklı teşhis ürünü ve yaklaşık 39000 civarında değişik eczacılık ürünü üretilmesine imkân sağlamaktadır [8].

Biyomalzemelerin sınıflandırmasına baktığımızda; metalik, polimerik, seramik ve kompozit malzemeler olarak yaygın bir gruplandırma olduğunu görmekteyiz [8].

Metallerin biyomalzeme alanındaki en büyük avantajları kristal yapıları ve üstün mekanik özellikleridir. Ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak kullanımlarının yanında diş implantı uygulamaları, yapay kalp parçaları, katater, vana ve kalp kapakçığı olarak kullanımları da yaygındır. Metalik biyomalzemelerin üretiminde yaygın olarak kullanılan metallere demir, bakır, krom, kobalt, nikel, titanyum, tantal, molibden ve vanadyum örnek gösterilebilir. Metalik malzemelerin en büyük dezavantajı korozyon direncinin zayıf olmasıdır. Korozyona uğrayan metal vücut içerisine yayılır ve hücrelere toksik etki yapar ve korozyon sonucu mekanik özelliklerinde düşme görülür. Bu sebepler sonucunda yeni malzeme arayışlarına gidilmiş ve seramik malzemelerin geliştirilmesine çalışılmıştır [8].

Seramik esaslı biyomalzemeler polikristalin yapıları seramikler olarak alümina ve hidroksiapatit olarak veya biyoaktif cam, biyoaktif cam seramikler veya biyoaktif

kompozitler şeklinde üretilebiliyor. İnorganik esaslı bu malzemeler sağlık sektöründe çeşitli alalarda kullanılmaktadır. Vücut ortamında mikroorganizmalara, sıcaklığa, çözücülere, pH değişimlerine ve yüksek basınçlara olan dirençlilikleri seramik biyomalzeme gruplarına bu uygulamalar açısından büyük avantaj sağlıyor [8].

Polimer esaslı biyomalzemelere baktığımızda etilen ($H_2C=CH_2$), polietilen, politetrafloretilen ve PDMS gibi yaygın polimer malzemelerin biyolojik uygulamalarda da yer bulduğunu görebiliriz. Bu türdeki biyomalzemelerin en büyük dezavantajı mekanik dayanımlarının düşük olmasıdır. Bu sebeple tek başına vücut içerisinde kullanılmak yerine kompozit olarak kullanılması tercih edilmektedir [8].

Kompozit biyomalzemeler ihtiyaca göre cevap vermek amacıyla oluşturulmuş farklı malzeme gruplarını bir arada kullanan biyolojik uygulamalardır. Matris olarak çeşitli polimerler, güçlendirici olarak ise çoğunlukla cam, karbon ya da polimer lifler, bazen de mika ve çeşitli toz seramikler kullanılır. Kompozitler, yüksek dayanıma ve düşük elastik modülüne sahip olduklarından, özellikle ortopedik uygulamalar için öngörülmüştür. Ayrıca, kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek, implantın vücuttaki kullanım alanlarına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması kolaylaştırılabilir [8].

Tüm bu gelişmelere rağmen halen aşılamamış sorunlar olup disiplinler arası çalışmalar ile bunların çözümünde ilerleme kaydedilmektedir. Doku mühendisliği ve gen tedavisi alternatif yaklaşımlar sunmaktadır. İleri teknoloji fonksiyonel biyomalzemelerin geliştirilmesi; nanoteknoloji, bilişim teknolojileri ve fabrikasyon yöntemlerindeki gelişmeler ile mümkündür. Biyoteknoloji alanındaki kullanımlara baktığımızda hücre ve hücresel ürün üretiminde destek malzeme olarak atık su arıtımında adsorban malzeme olarak biyosensorlerde, biyoayırma işlemlerinde, enzim, doku, hücre gibi biyoaktif maddelerin immobilizasyonunda ve biyoçiplerdeki kullanımları sayılabilir [8].

Biyomalzeme konusundaki araştırmalar, vücudun kendini yenileme kapasitesini kullanacak veya artıracak yöne kaymalıdır. Böylelikle doğal dokuların yeniden yapılanmasını sağlayacak biyomalzemelerden yapılabilecek protezlerin kullanım süresi artırılabilir. Doku yenilenmesi, son derece kapsamlı bir olay. Doku yapısının yeniden inşası; doku işlevinin, metabolik ve biyokimyasal davranışların ve biyomekanik performansın yeniden kazanılmasını içerir. Bu nedenle, doku

yenilenmesi, biyoloji, genetik mühendisliği, hücre ve doku mühendisliği, görüntüleme teknikleri ve teşhis, mikro-optik ve mikro-mekanik cerrahideki ilerlemelerin ışığında gerçekleşecektir. Gözenekli, inorganik-organik hibrid malzemelerden, kontrol edilebilir hızlarda bozunabilen, kontrol edilebilir yüzey özelliklerine sahip doku iskeleleri (skafolt) hazırlanarak doku yenilenmesi sağlanabilir. İnorganik ve organik bölümlerin miktarı değiştirilerek, malzeme üzerindeki hücre üremesi ve farklılaşması kontrol edilebilir. Biyoaktif cam jeller, kalsiyumoksit-fosforpentaoksit-silisyumdioksit bileşimine sahip inorganik malzemelerdir. Hayvan deneyleri, bu malzemenin kemik dokusunun yenilenmesinde başarılı olduğunu göstermiş. Şu anda doku yenilenmesi için büyük bir gelecek vaat ediyor. Bileşiminde yapılacak değişimler, istenilen üç-boyutlu mimariye ulaşacak şekilde işlenmesini sağlayacak fabrikasyon tekniklerindeki gelişmelerle, bu malzemenin, yumuşak bağ dokusu ve kalp-damar dokularının tekrar yenilenmesinde de kullanımı hedefleniyor. Biyomalzemelerin doku yenilenmesinden farklı yöndeki geleceği ise nanoteknolojiye dayalı uygulamalar. Bu teknolojinin ürünü olarak geliştirilecek nanorobotların bakteri ve virüs enfeksiyonlarını tedavi etmesi, kanser hücrelerini saptayıp yok etmesi, dolaşım sistemindeki zararlı maddeleri temizlemesi, hasarlı dokulara oksijen sağlaması ve çeşitli hastalıkların izlenmesi ve teşhisinde kullanımı amaçlanmaktadır [8].

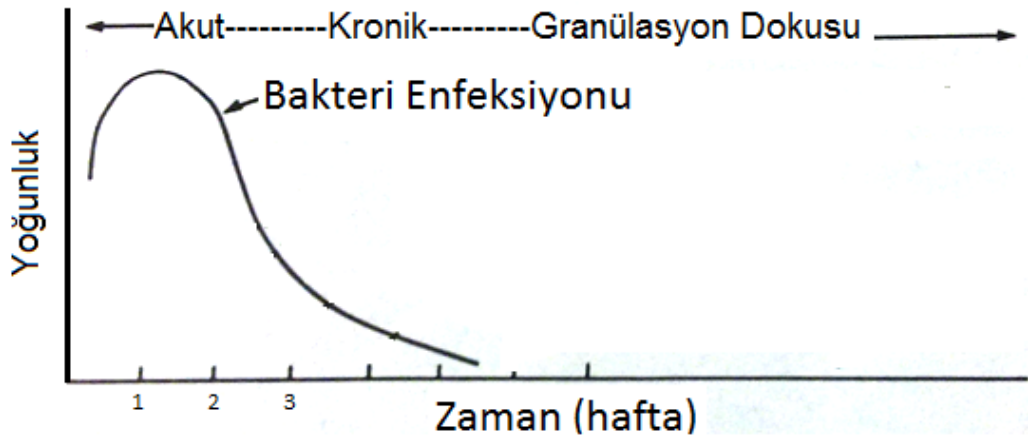
1.2 Biyomalzemelerde Antibakteriyel Özellikler

Biyomalzeme çalışmaları vücuda uygulandığında vücut dokusu ve implant arayüzeyinde bir etkileşim oluşur. Bu etkileşimler şu şekilde sınıflandırılabilir; malzeme toksik ise çevresindeki doku ölür, malzeme toksik değil ve biyoinert ise arayüzeyde değişik kalınlıklarda fibroz doku oluşumu gerçekleşir. Malzeme toksik değil ve biyoaktif ise doku implant arayüzeyinde bağlanma gerçekleşir, malzeme toksik değil ve çözünür yapıda ise çevresindeki doku implantın yerini alır [8].

İmplant uygulamalarında karşılaşılan en büyük sorun yüzey ve doku arasında oluşan bakteri oluşumu ve sonucunda klinik başarısızlıktır. Bu sorundan kaçınmak için biyomalzemelere antibakteriyel özellik katmaya çalışılmıştır. Antibakteriyel özellik katabilmek için metal iyonlarının kullanılması literatürde yaygındır. Metal iyonları vücuda salındığında bakterileri ve enzimlerini inaktive ederler. Veya bazı metal iyonları hidrojen peroksit oluşumu sağlayarak bakterileri öldürürler. Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} ,

Pb^{+2} , Cd^{+2} , Mn^{+2} , Co^{+2} gibi birçok metal iyonu antimikrobiyal özellikte malzeme üretimi için kullanılabilir [9].

Gümüş iyonlarının antibakteriyel özellik katılmak için malzeme yapılarında kullanılması son yıllarda sıkça gündeme gelmektedir. Hidroksiapatit'ten yapılmış scaffold malzemeleri yüksek poroziteden dolayı implantasyon sırasında ve sonrasında içerisinde bakteriyel aktivite bulundurabilir. Bu sebeple Hidroksiapatit yapısına farklı iyon katkılama yöntemleri ile implantın antibakteriyel direnç kazanmasını sağlayacak çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar özellikle implantın uygulanmasından sonra ilk haftalarda oluşan enfeksiyon riskini azaltmak için yapılmak istenmektedir. Şekil 1.1 :’de görüldüğü gibi implantasyondan sonra bakteri aktivitesi yoğunluğu ilk 2 haftaya kadar maksimum düzeye çıkmaktadır. Bunu önleyebilmek için gümüş iyonları katkılayarak bakteri aktivitesi ve iltihap sonucu klinik başarısızlık riski azaltılmak istenmektedir [10].



Şekil 1.1 : İmplantasyon sonrası bakteri enfeksiyonunu gösteren grafik [10]

Bakterilerin neden olduğu enfeksiyonunun fazla olması klinik başarısızlıkla sonuçlanmaktadır ve başarısız olunan bir implantın çıkarılıp yerine yenisinin takılması ağırlı bir ameliyatla mümkündür. İmplant gereksinimi duyan bir hastaya bu süreçleri yaşatmamak için bakteri enfeksiyonu yoğunluğunun azaltılması gereklidir. [7].

1.2.1 Gümüş iyonlarının vücut ortamındaki etkileri

Gümüş iyonlarının vücut ortamındaki etkilerine baktığımızda insan vücudunda ~1mg gümüş bulunduğu görülmektedir. Gümüşün normal kan değeri 5 ng/ml'dir. Günlük gıdalar ile günde 0,02 ile 0,08 mg arasında gümüş oral yolla vücuda girer. Gümüşün

hemen hemen tamamı böbrekler yolu ile atılır. Yüksek dozda alınan gümüş ise akciğer, mide ve bağırsak dokuları tarafından absorblanır. Ancak toksik bir etkisi yoktur [11,12].

Yüksek dozda biriken gümüş dokularda gümüş sülfür oluşturur ve cilt renginin maviye dönmesiyle sonuçlanan bir hastalığa neden olur. Arjiri hastalığı uzun süre gümüş bileşikleriyle zehirlenenlerin derilerinin koyu mavi gri arası bir renk almasıdır. Gümüş birikimi sonucu gerçekleşen bu renk değişikliği, sadece deride değil mukoza zarlarında ve iç organlarda da görülür. Endüstride kullanılan gümüş bileşiklerinin sayısı azaldıkça bu duruma giderek daha az rastlanmaktadır. Buna rağmen fotoğrafçılıkla uğraşanlarda ve sık sık gümüş bileşikli burun damlası kullananlarda görülmektedir. Tedavisi çok güçtür. Fakat arjiri hastalığına sebep olacak gümüş miktarı çok yüksek dozdadır. Genel olarak gümüş iyonları insanlar için kanserojen veya mutajen bir potansiyel taşımaz [11,12].

1.3 Biyoseramikler

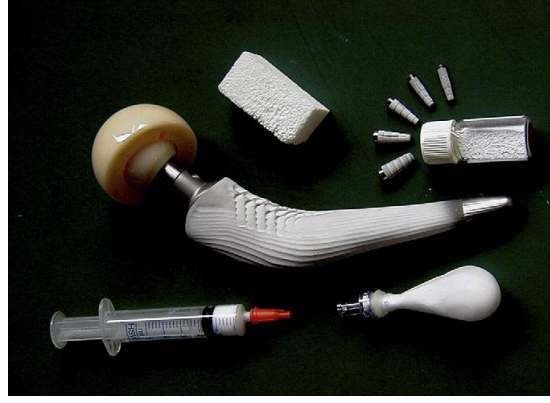
Yaşayan dokuların performansı milyonlarca yıllık evrim sonucudur, insanoğluna kabul edilebilir yapay katkılar sert doku hasarlarını tamir için dizayn edilen yapay implantların geçmişi çok eski değildir. Müzelerde sergilenen arkeolojik bulgular, eksik insan kemiklerinin ya da dişlerinin yerine hayvan veya insan kemiği (cesetten) ve dişi, deniz kabukları, mercan, fildişi, tahta yanı sıra bazı metaller (altın yada gümüş) kullanıldığını göstermektedir. Örneğin antik Fenikeliler kayıp dişleri altın kablo bağı kullanarak yapay diş ile komşusunu birbirine tuttururlarken antik etruskler kayıp dişleri öküz kemiklerinden yapılan yapay bağlantılar ile köprü yaparak tamamlamayı öğrendiler. 17. yy.'da bir parça kemik iskeleti başarı ile bir Hollanda Dükü'nün hasarlı kemiğine yerleştirdi. Çinliler ilk diş amalgamı kullanımını 559 MS çürük dişlerin tamiri için kullanıldığını kaydetmiştir. Columbian medeniyetleri beyin ameliyatlarında kafatası kemik boşluklarını iyileştirmek için altın yaprakları kullandılar. Ayrıca 1970'de Amodeo Bobbio ~4000 yıldan eski Maya iskeletlerini keşfetti, bu iskeletlerde kayıp dişler sedef ile tamamlanmıştı. [13-17].

Geçmişte birçok implantasyon enfeksiyondan ya da seçilen malzemenin toksik etkileri hakkında bilgi yetersizliğinden klinik başarısızlıkla sonuçlandı. Bu çerçevede kalsiyum-fosfat kullanımı kemik ve dişin mineral fazına olan benzerliğinden dolayı mantıklıdır. Fakat literatürde ilk kalsiyum-fosfat (TCP idi) kullanımı ameliyatta

oluşan hasarların tamiri için tavşanlar üzerinde 1920’de gerçekleştirildi. 50 yıldan fazla zaman sonra ilk dental kalsiyum-fosfat uygulaması HA yapay diş kökü uygulaması olarak yapılmıştır ve ilk biyoseramik terimini kullanan makale 1971’de yayınlanmıştır. Fakat seramik malzemelerin uygulamalarında protez olarak kullanımı daha önceden de biliniyordu. 26 Nisan 1988’de Kyoto Japonya’da ilk uluslararası biyoseramik sempozyumu düzenlenmiştir. HA esaslı biyoseramiklerin dental ve cerrahi uygulamalarının ticarileşmesi 1980’lerde büyük ölçüde Joracho, Grot, Aoki’nin öncü çabası ile olmuştur. Böylece HA biyomedikal uygulamalar için kalsiyum-fosfat alanında referans biyoseramik olmuştur [13-17].

1.3.1 Kalsiyum-fosfat biyoseramikleri ve genel özellikleri

Kalsiyum-fosfatların kemik katkı malzemesi olarak kullanılmalarının sebebi memelilerin kemik ve diş mineral bileşimlerine kimyasal olarak benzemeleridir. Sonuç olarak, toksik olmamasının yanı sıra, biyouyumludurlar, vücutta yabancı madde olarak algılanmazlar ve en önemlisi hepsi biyoaktif davranış gösterir ve sağlıklı kemik oluşumuyla aynı aktif prosesle yaşayan dokuya entegre olurlar. Biyoaktif özellikleri kemik ile implant arasında osteointegrasyon denen detaylı fizikokimyasal bağ oluşumuna liderlik eder. Dahası kalsiyum-fosfatlar osteokondüktif (skafolt içerisinde kemik oluşumun sağlayabilen) malzeme olarak bilinir ve osteoblast tutunmasını ve hücre çoğalmasını destekler. Kalsiyum-fosfatların yük taşıyan biyoseramikler olarak kullanımını sınırlayan tek şey mekanik özellikleridir, bu malzemeler zayıf yorulma dayanımlı kırılgen malzemeler olarak adlandırılırlar. Zayıf mekanik davranış yüksek poroziteli biyoseramiklerde daha fazladır. Çünkü $\sim 100\mu\text{m}$ ’den daha büyük porozite damarlanma ve kemik hücresi oluşumunda gereklidir. Bu yüzden biyomedikal uygulamalarda büyük kemik hasarlarının onarımında kalsiyum-fosfatları kullanmayı imkânsız hale getiren mekanik özelliklerinden dolayı kalsiyum-fosfatlar Şekil 1.2 :’de görüldüğü gibi birincil olarak dolgu malzemesi ve kaplama olarak kullanılırlar [13-17].



Şekil 1.2 : Kalsiyum-Fosfat esaslı biyoseramiklerin çeşitli uygulama örnekleri [13]

Çizelge 1.1 :’de standart kısaltmaları ve önemli özellikleri ile birlikte kalsiyum-fosfatların listesi verilmiştir. Çizelgede var olan kalsiyum-fosfatlar arasında sadece belli bileşimler biyomedikal uygulamalar için uygundur, çünkü Ca/P iyonik oranı 1’den az olanlar yüksek çözünürlük ve asiditeden dolayı vücuda implantasyon için uygun değildir. Fakat biyomedikal uygulamalar için uygun olmayan kalsiyum-fosfatlar diğer kalsiyum-fosfatlar ile ya da diğer kimyasallar ile kombine edilebilirler [13-17].

Çizelge 1.1 : Var olan kalsiyum-fosfatlar ve bazı özellikleri [13]

Ca/P	Bileşim	Formül	Çöz. 25°C, log(K _s)	Çöz. 25°C, g/L	Sulu çöze.de pH stabilite oranı
0,5	Monocalcium phosphate monohydrate (MCPM)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O	1,14	~18	0,0-2,0
0,5	Monocalcium phosphate anhydrous (MCPA)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1,14	~17	^c
1,0	Dicalcium phosphate dihydrate (DCPD), mineral brushite	CaHPO ₄ .2H ₂ O	6,59	~0,088	2,0-6,0
1,0	Dicalcium phosphate anhydrous (DCPA), mineral monetite	CaHPO ₄	6,90	~0,048	^c
1,33	Octacalcium phosphate (OCP)	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ .5H ₂ O	96,6	~0,0081	5,5-7,0
1,5	a-Tricalcium phosphate (a-TCP)	α- Ca ₃ (PO ₄) ₂	25,5	~0,0025	^a
1,5	b-Tricalcium phosphate (b-TCP)	β- Ca ₃ (PO ₄) ₂	28,9	~0,0005	^a
1,2-2,2	Amorphous calcium phosphate (ACP)	Ca _x H _y (PO ₄) _z .nH ₂ O n= 3-4,5; 15-20% H ₂ O	^b	^b	~5-12 ^d
1,5-1,67	Calcium-deficient hydroxyapatite (CDHA) ^e	Ca _{10-x} (HPO ₄) _x (PO ₄) _{6-x} (OH) _{2-x} ^f (0<x<1)	~85,1	~0,0094	6,5-9,5
1,67	Hydroxyapatite (HA or OHAp)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	116,8	~0,0003	9,5-12
1,67	Fluorapatite (FA or FAp)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂	120,0	~0,0002	7-12
2,0	Tetracalcium phosphate (TTCP or TetCP), mineral hilgenstockite	Ca ₄ (PO ₄) ₂ O	38-44	~0,0007	^a

^a bu bileşim sulu çözeltilerden üretilemez, ^b Hassas olarak ölçülemiyor, ^c 100 derecenin üstünde kararlı, ^d Her zaman metastabil (yarı kararlı), ^e bazen CDHA HA olarak adlandırılır, ^f x=1 (sınır koşulları Ca/P=1,5 kimyasal formülü Ca₉(HPO₄)₅(OH) şeklinde de gösterilebilir

Günümüzde kalsiyum-fosfat biyoseramikleri birçok kaynaktan üretilmektedir. Kimyasal olarak kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin büyük çoğunluğu HA, β -TCP, α -TCP ya da BCP (α -TCP+Hap ya da β -TCP+Hap karışımı) esaslıdır. Fizyolojik şartlar altında HA; β -TCP α -TCP ile karşılaştırıldığında daha kararlı bir fazdır. Çizelge 1.1 :’de görüldüğü üzere HA düşük çözünürlük ve böylece yavaş çözünme kinetiğine sahiptir. BCP konsepti ise daha kararlı bir faz olan HA ve daha çözünür TCP’nin optimum dengesi için geliştirilmiştir. α -TCP ya da β -TCP bileşiminin yüksek biyoçözünürlüğünden dolayı BCP’nin reaktivitesi TCP/HA oranının artması ile artar. Böylece in-vivo biyoçözünürlükte BCP faz kompozisyonu kontrolü ile kontrol edilebilir. Bu kısa bilgilendirmenin arından kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin özellikleri ilerleyen bölümlerde detaylı olarak anlatılmaktadır. [13-17].

1.3.1.1 Sinterleme

Sinterleme aşaması istenen özelliklerde biyoseramikleri üretmede büyük bir öneme sahiptir. Kalsiyum-fosfatların sinterlenmesinde birçok adım meydana gelir. İlk olarak nem, karbonatlar ve tüm uçucu kimyasallar (sentez aşamasından gelen amonyak, nitratlar ve organik bileşimler) gaz ürün olarak sistemden uzaklaşır. İkincil olarak kimyasal değişiklikler meydana gelir. Üçüncü olarak bu kimyasal değişiklikler kristal boyutunda eşzamanlı artış ve yüzey alanında azalma ile devam eder. Dördüncül olarak asidik fosfatların kimyasal dekompozisyonu ve diğer fosfatlara dönüşümü meydana gelir. (Örn: $2\text{HPO}_4^{-2} \longrightarrow \text{P}_2\text{O}_7^{-7} + \text{H}_2\text{O}$). Bunların yanında sinterleme toklaşma ve mekanik kuvvette artışa neden olur. İyonik difüzyon derecesi sinterleme süresine bağlı iken yoğunluk derecesi sinterleme sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. HA tozları 1000-1200°C’de teorik yoğunlukta basınçsız olarak sinterlenebilir. Yüksek sıcaklık prosesleri aşırı tane büyümesine ve dekompozisyona neden olabilir çünkü HA kararsız hale gelir yaklaşık 1250-1500°C’yi aşan sıcaklıklarda HA biyoseramiklerinin dekompozisyon sıcaklığının, kısmi buhar basıncının bir fonksiyonu olduğu literatürde açıklanmıştır. Kalsiyum-fosfatların sinterlenme davranışlarının anlaşılması, üretim esnasında faz kontrolü açısından büyük önem taşımaktadır. [13-17].

1.3.1.2 Mekanik özellikler

Kalsiyum-fosfatların mekanik özelliklerine baktığımızda ise, seramik kökenli tüm kalsiyum-fosfattan yapılmış biyoseramikler düşük mekanik özelliklere sahiptir. Yük taşıyan alanlarda yapay dişler ya da kemikler gibi, kullanılmaya izin vermezler. Örneğin HA biyoseramiklerinin kırılma tokluğu yaklaşık $1.0 \text{ MPa m}^{1/2}$ değerini aşmaz (insan kemiği $2-12 \text{ MPa m}^{1/2}$). Bu değer porozitenin artması ile neredeyse doğrusal olarak azalır. Genellikle kırılma tokluğu azalan tane boyutu ile artar. Fakat bazı malzemelerde özellikle kübik olmayan seramiklerde kırılma tokluğu maksimuma ulaşır ve azalan tane boyutu ile hızlıca düşer. Örneğin Halouani sıcak preslenmiş $0,2$ ve $1,2 \text{ }\mu\text{m}$ tane boyutundaki HA'nın kırılma tokluğunu araştırdı. Araştırması sonucunda yaklaşık $0,4 \text{ }\mu\text{m}$ tane boyutunun üzerinde azalan tane boyutu ile kırılma tokluğunun arttığı ve sonradan azalan tane boyutu ile azaldığı görülmüştür. Maksimum kırılma tokluğu $0,4 \text{ }\mu\text{m}$ 'de $1,20 \pm 0,05 \text{ MPa m}^{1/2}$ ölçülmüştür. Islak ortamda HA biyoseramiğinin kırılma enerjisi $2,3-20 \text{ J/m}^2$ aralığındadır. Bu HA implantının tipik kırılma seramikler gibi davrandığı ve düşük güvenilirlik gösterdiği anlamına gelir. Ayrıca dayanımın artan Ca/P oranı ile arttığı görüldü, Ca/P yaklaşık $1,67$ (HA sitokiyometrik oranı) oranında maksimuma gelerek ve aniden $\text{Ca/P} > 1,67$ 'den sonra azalacak şekilde eğilim gösterir. Dahası porozitenin artması ile dayanım neredeyse exponansiyel olarak azalır. Buna rağmen por geometrisini değiştirerek poroz biyoseramiklerin gücünü etkileme mümkündür. Kalsiyum fosfat biyoseramiklerde tane boyutu ve porozitenin kırılma yolunu etkilediği kırılma tokluklarında küçük etkisi olduğu literatürde görülmüştür [13-17].

Yoğun HA biyoseramiklerinin young modülü $35-120 \text{ GPa}$ aralığındadır, doğal kalsifiye dokuların en dayanıklı bileşimlerinin young modülü değerleri ile aşağı yukarı benzerdir (dental enamel: $\sim 74 \text{ GPa}$, dentin: $\sim 21 \text{ GPa}$, sert kemik: $18-22 \text{ GPa}$). Bununla birlikte, yoğun katı sert HA'nın mekanik direnci insan kemiği ile karşılaştırıldığında 100 MPa 'a 300 MPa 'dır. Doku ile bağlanmada elastik modülü 44 ve 88 GPa arasında ölçülmüştür. Yoğun HA biyoseramiklerinin Vickers sertliği $3-7 \text{ GPa}$ arasındadır. Ayrıca yoğun HA biyoseramikleri tane sınırı kayması esaslı deformasyon mekanizması ile süperelastisite sergiler. Dahası yoğun HA biyoseramiklerinin akma direnci ve sürtünme katsayısı diş enameli ile kıyaslanabilir düzeydedir [13-17].

Düşük çatlak ilerlemesi direnci ile ilgili olarak yüksek kırılgenlik sebebiyle kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin biyomedikal uygulamaları yük taşımayan implantların üretimine odaklanmıştır, örneğın orta kulak ameliyatları, ağız yollu ya da ortopedik cerrahide kemik hasarlarının doldurulması, yanı sıra metalik protezlerin ve diş implantlarının kaplanması. Son yıllarda kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin dayanıklılığını geliştirmek için birçok katkılar (seramikler, metaller ya da polimerler) biyokompozit ve hibrid biyomalzemeler üretmek için kullanılmaktadır ve halen geliştirme çalışmaları devam etmektedir [13-17].

1.3.1.3 Elektriksel özellikler

Zaman zaman kalsiyum ortofosfatların elektriksel özellikleri literatürde incelenmiştir. Örneğın oda sıcaklığının iletimi bağıl nem ile etkilendiğinden dolayı poroz ve yoğun HA biyoseramiklerinin yüzey iyonik iletkenliğı nem sensörü uygulamalarında kullanılmıştır. Başka bir deyişle iyonik iletkenliğı HA'in alkol, karbondioksit ve karbonmonoksit nem sensörü olası uygulamalarının geliştirilmesine konu olmuştur. Kalsiyum-fosfatların elektriksel özellikleri kalsiyum-fosfatların biyomedikal uygulamalarını etkiliyor görölmektedir. 200°C'den yüksek sıcaklıklarda elektrik alan uygulamaları yüzey yükü oluşturarak HA biyoseramiğinin polarizasyon çalışmalarına olan ilgiyi arttırmıştır. HA biyoseramiklerinde yüzey elektrik yükü varlığı biyolojik apatitin in vivo ve in vitro kristalizasyonunda önemli etki gösterdiği literatürde incelenmiştir. Dahası HA biyoseramiklerinin yüzeylerindeki kemik büyümesinin negatif yüklü yüzeylerde hızlandığı, pozitif yüklü yüzeylerde yavaşladığı görölmektedir Kalsiyum-fosfatların bu gibi elektriksel özellikleri potansiyel uygulama alanlarının keşfedilmesinde önemlidir [13-17].

1.3.1.4 Porozite

Ciddi mekanik sınırlandırıcı özelliklerine rağmen kalsiyum-fosfat biyoseramikleri; tozlar, granüller, granüetler, yoğun bloklar, poroz scaffoldlar, enjekte edilebilir formülasyonlar, kendi kendini tamir eden karışımlar, implant kaplamaları ve değışik esaslı kompozit bileşenleri (doğal, biyolojik veya sentetik) olarak değışik fiziksel formlarda bulunabilir. Poroz scaffoldların yüzey alanı mekanik tutturması iyi ve buna ek olarak biyoseramik ve kemik yüzeyi arasında kimyasal bağı izin vererek oldukça yüksektir. Dahası por boyutları hücre yapışması ve kemik içine doğru büyümesi için yüzey ve boşluk sağladığından direkt olarak kemik oluşumu ile ilgilidir. Bir yandan

da porlar arası bağlantılar etkin in vivo damar oluşumunda ve muhtemel yeniden oluşumda yeni oluşan kemik dokusunu beslemek için uygun hücre dağılımı ve yer değiştirmesini sağlar. Şöyle ki poroz Ha biyoseramikleri kemik dokuları ile kolonileşebilir. Kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin farklı porozitelerde in vivo etkileri araştırılmıştır ve makropor boyutunun (150, 260, 510 ve 1220 μm) neredeyse hiçbir etkisi olmadığı görülmüştür. Biyoseramiklerin mikroporozitesinde ($<10 \mu\text{m}$ por boyutu) mikropor boyutu ana olarak malzeme kompozisyonuna, termal döngüye ve sinterleme süresine bağlıdır. Mikroporozite protein adsorpsiyonu için daha büyük yüzey alanı sağlar ve iyonik çözünübilirliğin artmasına neden olur. Genellikle yüksek sinterleme sıcaklığı biyoseramiklerde mikroporozite miktarının azalması ve spesifik yüzey alanının azalması yönünde etki yapar. Yani 1200°C 'de sinterlenen HA biyoseramikleri belirgin olarak daha az mikroporozite ve kristal boyutunda dramatik değişiklikler gösterir 1050°C 'de sinterlenen yapıyla kıyaslandığında. Kalsiyum ortofosfat biyoseramiklerinin toplam porozitesi (makroporozite+ mikroporozite) biyoseramik hacminin %70'i olduğu şeklinde deneysel veriler raporlanmıştır. Mercansı HA yada sığırdan elde edilmiş apatitlerin olayında orjinal biyolojik malzemelerinin (mercan yada sığır kemiği) porozitesi proses esnasında korunmuştur [13-17].

Örneğin antibiyotik şarjı deneylerinde, nanoporoz kalsiyum-fosfat biyoseramikleri, hiç nanoporozite içermeyen ticari kalsiyum-fosfata nazaran daha yüksek şarj kapasitesi gösterdiği rapor edilmiştir ($1621 \mu\text{g/g}$ 'a $100\mu\text{g/g}$). Ne yazık ki porozite ciddi olarak implantın gücünde düşmeye neden olur. Böylece poroz kalsiyum-fosfat implantları yük taşıyamazlar ve sadece küçük kemik hasarlarının doldurulmasında kullanılırlar. Buna rağmen kemik, poroz kalsiyum-fosfat implantlarının gözenek ağında büyürken güç dayanımları kademe kademe artar [13-17].

Çalışmalar göstermiştir ki spesifik yüzey alanı ve por hacmi biyoseramiklerin biyolojik apatit birikimini hızlandırmakta ve böylece kemik oluşum biyoaktivitesi artmaktadır. Biyoseramiklerde boşluklu yapıdaki por boyutunun ve por geometrisinin hassas kontrolü ve yapı-biyoaktivite ilişkisi önem arz etmektedir [13-17].

1.3.1.5 Kalsiyum-fosfatların mevcut ticari uygulamaları

Levit ve arkadaşları 1969'da apatit biyoseramiklerinin Flora-Apatit'ten hazırlanma yöntemini geliştirmesi ve göstermesi ile kalsiyum-fosfat biyoseramikleri medikal ve

klirik uygulamalarda geniş olarak kullanılmaya başlamıştır. Örneğin katı malzemeler, yoğun ve poroz formlar, diş çukurları arttırılması, acele diş protezlerinde çene kemiklerinin yeniden oluşturulmasında kullanıma uygundur. Diğer örnekler göz implantlarında, (biyo-göz), kulak kemiklerinde arttırma, omurga birleştirme ve kemik hasarı tamirinde kullanılır. Aksi takdirde, fibroz doku oluşumu hasarlarında kemik oluşumunu engelleyebilir. Günümüzde çok sayıda farklı kalsiyum-fosfat biyoseramikleri, birçok hasarın etkinleştirilmesinde kullanılmaktadır, ticari olarak mevcut olan kalsiyum-fosfatlar ve üreticileri izelge 1.2 :’de görölmektedir [13-17].

Çizelge 1.2 : Ticari, kalsiyum-fosfat bazlı biyomalzeme örnekleri [13]

Kalsiyum Fosfat	Marka ismi ve üretici
CDHA	Cementek (Teknimed, France) Osteogen (Impladent, NY, USA)
HA	Calcitite (Zimmer, IN, USA) Bonefil (Mitsubishi Materials Corp., Japan) Bonetite (Mitsubishi Materials Corp., Japan) Boneceram (Sumitomo Osaka Cement Co., Japan) Osteograf (Ceramed, CO, USA) Cerapatite (CeraVer, France) Syntatite (SBM, France) Ostim (Heraeus Kulzer, Germany) Bioroc (Depuy-Bioland, France)
HA/polietilen	HAPEX (Gyrus, TN, USA)
HA/CaSO₄	Hapset (LifeCore, MIN, USA)
Mercansı HA	Interpore, ProOsteon (Interpore, CA, USA)
Alęsi HA	Algipore (Dentsply Friadent, Germany)
Sığır kemiği apatiti (sinterlenmemiş)	Tutoplast (IOP, CA, USA) Lubbock (Ost-Developpement, France) Laddec (Ost-Developpement, France) Oxbone (Bioland biomateriaux, France) BioOss (Geitslich, Switzerland)
β-TCP	Bioresorb (Sybron Implant Solutions, Germany) Biosorb (SBM S.A., France) Calciresorb (CeraVer, France) ChronOS (Synthes, PA, USA) Ceros (Thommen Medical, Switzerland) Cerasorb (Curasan, Germany) Conduit (DePuy Spine, USA) JAX (Smith and Nephew Orthopaedics, USA) Graftys BCP (Graftys, France) Osferion (Olympus Terumo Biomaterials, Japan)
BCP (HA+β-TCP)	MBCP (Biomatlante, France) Triosite (Zimmer, IN, USA) Ceraform (Teknimed, France) Biosel (Depuy Bioland, France) TCH (Kasios, France) Calciresorb (CeraVer, France) Osteosynt (Einco, Brazil) 4Bone (MIS, Israel) Kainos (Signus, Germany) SBS (Expanscience, France) Eurocer (FH Orthopedics, France) OptiMX (Exactech, USA) BCP (Medtronic, MN, USA) Hatric (Arthrex, Naples, FL, USA) Tribone (Stryker, Europe)
BCP (HA+α-TCP)	Skelite (Millennium Biologix, ON, Canada)
BCP/Kollajen	Allograft (Zimmer, IN, USA)
BCP/Fibrin	TricOS (Baxter BioScience, France)
BCP/Silisyum	FlexHA (Xomed, FL, USA)
Karbonatlapatit	Healos (Orquest, CA, USA)

Kalsiyum-fosfat temelli biyoseramiklerin klinik uygulamaları düşük mekanik özellikleri yüzünden iskelette yükleme gerektiren bölümlerde kullanımları sınırlıdır.

Bu konuda son 20 yılın büyük gelişimlerinden biri mekanik olarak güçlü biyoinert veya biyotolerant protezleri kalsiyum-fosfat ile kaplanmış olan metalik protezlerdir. Metal malzemeleri kalsiyum-fosfat biyoseramikleri ile kaplamanın amacı genellikle metal ve kemik arasında bağlanma yeteneği oluşturmaktır. Yaygın olarak kullanılan kaplama teknikleri Çizelge 1.3 :’te avantajları ve dezavantajları ile açıklanmıştır [13-17].

Çizelge 1.3 : Metal implantlarda kalsiyum-fosfat ve biyoçözünür kaplamalar biriktirmek için çeşitli teknikler [13]

Teknik	Kalınlık	Avantajları	Dezavantajları
Termal spreyleme	30-200 μm	Yüksek depolama hızları; düşük maliyet	Yüksek sıcaklıklarda ayrışma; hızlı soğutma amorf yapıya neden olur
Sıçratma kaplaması	0,5-3 μm	Düz yüzeylerde homojen kaplama kalınlığı; yoğun kaplama	Pahalı; zaman gerektirir; amorf kaplamaya neden olur
Darbeli lazerle depolama	0,05-5 μm	Kristal ve amorf fazlar kaplama; yoğun ve poroz kaplama	Görüş tekniği hattı
Dinamik karıştırma yöntemi	0,05-1,3 μm	Yüksek yapışma direnci	Pahalı; amorf kaplamalara neden olur
Daldırma kaplaması	0,05-0,5 mm	Maliyeti az; karmaşık parçalar kaplanabilir	Yüksek sinterlenme sıcaklığı gerektirir; termal genleşme uyumsuzluğu
Sol-jel tekniği	<1 μm	Karmaşık şekiller kaplanabilir; düşük işlem sıcaklığı; kaplamalar çok ince olurken göreceli olarak maliyeti az	Bazı prosesler kontrollü atmosfer gerektirir; pahalı ham malzemeler
Elektroforetik kaplama	0,1-2,0 nm	Homojen kaplama kalınlığı; hızlı biriktirme hızı; karmaşık parçalar kaplanabilir	Çatlaksız kaplama üretimi zor; yüksek sinterleme sıcaklığı gerektirir
Biyomimetrik kaplama	<30 μm	Düşük işlem sıcaklığı; karmaşık parçalar kaplanabilir; kemik büyümesini uyaran eklentiler yapılabilir	Zaman alıcıdır; ikmal ve yapay vücut sıvısında pH sabitliği gerektirir
Sıcak izostatik pres	0,2-2,0 μm	Yoğun kaplama üretme	Karmaşık parçalar kaplanamaz; yüksek sıcaklık gerektirir; termal genleşme uyumsuzluğu; elastik özellik farklılığı; pahalı
Elektrokimyasal biriktirme	0,05-0,5 μm	Homojen kaplama kalınlığı; hızlı depolama hızı; karmaşık parçalar kaplanabilir; düşük maliyet	Kaplama/yüzey bağlanması yeterince güçlü değil

İmplantlardaki kaplamalar güçlü ana altlık malzemenin dayanımını; kalsiyum-fosfatların biyoyuymurluğu ve biyoaktivitesinin arasında kombine eder [13-17].

Klinik sonuçlar kalsiyum-fosfat kaplanmış implantların kaplanmamış implantlara göre implantasyon sonrası daha uzun ömürlü olduğunu ortaya koymuştur. Kalsiyum-fosfat kaplamalarının özelliklerini etkileyen faktörler şunlardır; kaplama kalınlığı

(kaplama yapışmasını ve tutturmasını etkiler, optimum 50-100 μm 'dir), kristallik (çözünürlüğü ve biyolojik davranışları etkiler), faz saflığı, kimyasal saflık, porozite ve yapışma [13-17].

Kaplama yöntemleri ve özellikleri geniş şekilde standartlaştırılmıştır ve önümüzdeki yıllarda özellikle genç hastaların implant uygulamalarında yüksek başarı beklenmektedir [13-17].

Bir diğer ticari uygulama örneği ise fonksiyonel olarak geliştirilmiş malzemelerdir (FGM). Bu malzemeler, yüzeyden içine kadar yapısal ya da kompozisyonel olarak farklılıklar göstermektedir. FGM in çıkış fikri bir cihazın iki farklı özelliği kullanması üzerinedir. FGM biyomalzemelerdeki en önemli kombinasyon mekanik dayanım ve biyouyumluluğun kombinasyonudur. Yani bir başka deyişle sadece kalsiyum-ortofosfat içeren FGM biyoseramikler geliştirilmiştir. Örneğin yoğun sinterlenmiş gövde kompozisyon olarak TCP den HA' e değişim gösteren elmas kaplı diskler hazırlanmıştır. Elmas kaplı HA disklerinin 1280°C'de azalan basınç altında atmosferik koşullarda ısıtmayı izleyen adımlar ile α -TCP içeriği kademe kademe azalırken HA içeriği artar. Yüzeyden içe doğru artan derinlik incelendiğine fonksiyonel olarak oluşturulmuş HA gövdesi ve α -TCP yüzeyi içeren bir yapıya sahip bir malzeme elde edilir ve böylece kemikle yer değiştiren malzemelerin kullanım alanları geliştirilebilmektedir. Dahası kademeli poroziteye sahip Kalsiyum-Fosfat biyoseramikleri de hazırlanabilir. Fonksiyonel olarak geliştirilecek malzemelerin önümüzdeki yıllarda sıkça karşımıza çıkacağı düşünülmektedir [13-17].

1.3.2 Kalsiyum fosfat biyoseramiklerinin biyolojik özellikleri

Biyoaktif biyoseramiklerin diğer implante edilebilir malzemeler ile en önemli farkı organik proseslerin metabolizmalarına inklüzyonu, yüzey ya da malzemenin içerisine biyoortama adaptasyonudur, biyoaktif implantın kemik dokusu ile moleküler seviyede ya da çözünebilir malzemenin sağlıklı kemik dokusuna tamamen yer değiştirmesinin entegrasyonudur. Sıralanan tüm prosesler implant üzerindeki organizma ile ilgilidir. İmplantasyonun başka bir boyutu da önemlidir. Örneğin hayvanlardan ya da cesetlerden alınan kemik implantlarının kullanımlarında, hatta çeşitli yollarla işlem görmüş olsalar bile, ciddi anlamda organizmada negatif immun reaksiyonları teşvik ederler (neden olurlar). Bu bağlamda esas olarak biyoseramik

implantların, özellikle zamanla tamamen çözünen Kalsiyum-fosfatların biyolojik özelliklerinin üzerinde durmak önemlidir. Kalsiyum-fosfatların çevre dokularla etkileşimi, biyoçözünürlük, biyoaktivite ve hücrel tepkileri ilerleyen adımlarında incelenmektedir [13-17].

1.3.2.1 Çevre dokularla etkileşim

Canlı vücuduyla yer değiştiren yabancı bir malzemenin tamamen uyumlu olmadığı kabul edilen yaygın bir görüştür [13-17].

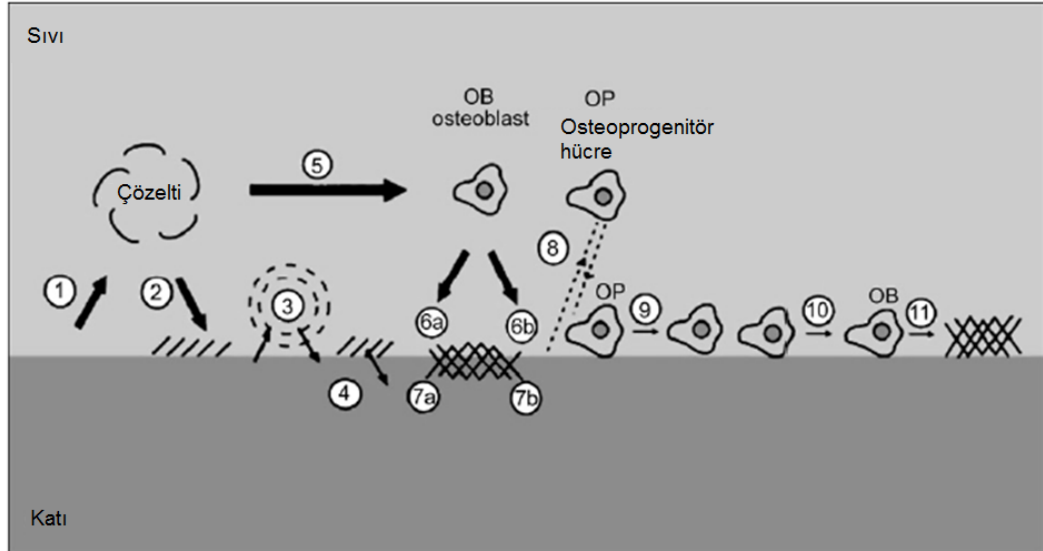
Vücudun kendisinin otojen ürettiği (tamamen uyumlu maddeler) ve yabancı olarak kabul edilen diğer malzemeler bazı türde reaksiyonlar başlatır. Bu reaksiyonlara konak (host) doku yanıtı reaksiyonları adı verilir. Hücre-doku arayüzeyinde oluşan reaksiyonlar implante edilen malzeme yüzeyinin karakteristiklerinde ve arayüzeydeki dokuların karakteristiklerinde zamana bağlı değişiklikler meydana getirmektedirler [13-17].

Yeni ürünlerin geliştirilmesinde in-vivo host yanıtın anlaşılması istenmektedir. Genelde yaşayan organizmalar yapay implantları; biyotoksik, biyoinert (biyostabil) , biyotolerant (veya biyouyumlu), biyoaktif ve biyoçözünebilir malzemeler olarak kabul ederler [13-17].

Biyotoksik (örn. Kadmiyum, vanadyum, kurşun ya da diğer toksik elementleri içeren alaşımlar) malzemeler vücuda toksik konsantrasyonlar ve\veya basit alerji ile ilişkili imün reaksiyonlara neden olabilir. Ayrıca antijenlerin oluşumunu tetikleyen inflamasyondan ciddi sağlık sonuçlarına varan septik (bulaşıcı, çürütücü, mikroplu) reddinin tetiklenmesine kadar ciddi olaylara neden olabilirler. Biyotoksik malzemeler ortrofiye, patolojik değişikliğe veya malzemenin yakınındaki yaşayan dokuların kimyasal, galvanik ya da diğer prosesler ile reddedilmesine yol açmaktadırlar [13-17].

Biyoinert (örn. zirkonyum, alüminyum, karbon ve titanyum ve Ca-Cl alaşımı) malzemeler herhangi bir toksik etki göstermiyor fakat canlı dokular ile pozitif etkileşimler de göstermemektedir. Onlar malzemeyi vücuttan izole eden fibroz kapsül oluşturarak fizyolojik cevap uyandırmazlar. Bazı durumlarda malzemeyi canlı dokulardan ayıran fibroz doku tabakasının kalınlığı biyoinertliğin bir ölçüsü olarak kullanılabilmektedir [13-17].

Biyoaktif bir malzeme ise (örn. biyocamlar) yavaşça çözünecektir fakat atomik boyutta doku ile direkt olarak arayüzey oluşturmada önce biyolojik apatitin yüzey tabakası oluşumunu teşvik edecektir ve bu kemik ile direk kimyasal bağ oluşumunu sağlayacaktır. Bu tip bir implant mekanik yüklenmeye tabi malzemeler için iyi bir sabitleme sağlayacaktır. Şekil 1.3 :’te biyoseramikler için hücresel tepkiyi modelleyen şematik resim görülmektedir. Hücresel tepki adımları; biyoseramiğin çözünmesi, solüsyondan birikme, biyoseramik-doku arayüzeyinde iyon değişimi ve yapısal yeniden oluşum, yüzeydeki tabakadan biyoseramiğe difüzyon, hücresel aktivitede solüsyon ortamının etkisi, organik fazda ya da biyoseramik yüzeyinde mineral faz birikimi, biriken fazın entegrasyonu, biyoseramik yüzeyine kimyasal yönelme, hücre tutunması ve yayılması, hücre başkalaşması, ekstra hücre matriksi oluşumu aşamalarıyla gerçekleşmektedir [13-17].



(1) Biyoseramiğin çözünmesi, (2) Solüsyondan birikme, (3) biyoseramik-doku arayüzeyinde iyon değişimi ve yapısal yeniden oluşum, (4) yüzeydeki tabakadan biyoseramiğe difüzyon, (5) hücresel aktivitede solüsyon ortamının etkisi, (6) mineral faz birikimi (a) organik fazda (b) ya da biyoseramik yüzeyinde, (7) biriken fazın entegrasyonu, (8) biyoseramik yüzeyine kimyasal yönelme, (9) hücre tutunması ve yayılması, (10) hücre başkalaşması, (11) ekstra hücre matriksi oluşumu

Şekil 1.3 : Biyoseramik ve biyolojik doku arasındaki etkileşim şeması [13]

Biyoçözünür bir malzeme (örn. hidroksiapatit) çözünecektir ve malzeme ile doğrudan arayüzey oluşturmaya gerek kalmayacak şekilde herhangi bir yüzey düzensizliklerinin içine doğru yeni doku oluşumuna izin verecektir. Dolayısı ile biyoçözünür malzemelerin işlevleri kemik dokusunda yer alacak oluşum ve yeniden emilim proseslerinin dinamiklerine katılabilir durumdadır, böylece biyoçözünür

malzemeler dokulara infiltrasyon ve katkısına skafoltlar veya dolgu elemanları olarak kullanılmasına izin verilmektedir [13-17].

Biyoaktif ve biyoçözünür biyoseramikler arasında belki de sadece yapısal faktörlerde farklılık vardır. Örneğin gözeneksiz, yoğun veya yüksek kristalin HA'den yapılan biyoseramikler biyoinert davranır, fakat biyoaktif malzemelerden yapılan biyoseramikler organizmada en azından 5-7 yıl hiçbir değişiklik olmadan organizmada korunurken aynı kompozisyona sahip yüksek poroziteli biyoseramikler aşağı yukarı 1 yıl içerisinde çözünmektedirler. Üstelik ince HA tozları, yüksek poroz HA skafoltlarına göre daha hızlı çözünmektedir. Diğer bir örnek olarak poroz biyoseramikler BCP (β -TCP+HAP karışımı ya da α -TCP+HAP karışımı) ya da CDHA, TCP ve/veya ACP'den yapılan kemik nakli uygulamaları biyoçözünür malzemeler içerir. Son zamanlarda biyoaktif ve biyoçözünür malzemelerin konseptinde birbirine yaklaşma görülmüştür ve biyoçözünür malzemeler biyoaktif yapılırken biyoaktif maddeler, biyoçözünür yapılmaktadır [13-17].

İmplantasyondan sonra malzeme sağlıklı kemiklere bağlı olduğunda, osteoid direkt olarak biyoseramik yüzeylerinden yumuşak doku arayüzeyinin varlığında oluşur. Sonuç olarak osteoid mineralize olur ve yeni kemik oluşumunu modeller. Ancak, çeşitli raporlar zaten bazı belli tipte kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin osteoindüktif özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Şöyle ki, makroporoz biyoseramiğin yoğun yüzeyinin içinde kemik yapısı gözlemlenmezken yüzey mikroporozitesi içeren poroz kalsiyum-fosfat biyoseramiğinin içerisinde bulunan köpek kasından kemik oluşumu gerçekleştiği görülmüştür. Yanı sıra, poroz metal implantlar üzerinde karbonatlı apatitin düzgün bir tabaka olarak bulunduğu durumda kemik oluşumunu teşvik etmek mümkün değil iken, bu metal implantlar üzerine mikroporoz OCP tabakası ile kaplanmış uygulamaların keçi kasında ektopik kemik oluşumunu uyardığı rapor edilmiştir [13-17].

Reddi, belli osteokondüktif özelliklerin biyolojik sıvılarda bulunan biyoseramiklerin kemik büyüme faktörlerini yoğunlaştıran bir özellik olduğunu açıkladı. Bu büyüme faktörleri kemik oluşumuna neden olur. Ripamonti ve Kuboki ve arkadaşları bağımsız olarak, kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin geometrilerinin, kemik oluşumunun başlamasında kritik bir parametre olduğunu ortaya attı. Diğer bir çalışma grubunda nanoyapılı pürüzlü yüzeylerin ya da implantların yüzey şarjının

kök hücrelerden osteoblastlara asimetrik ayrışımına neden olabileceği öne sürülmüştür [13-17].

Son zamanlardaki in vivo deneylerde kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin implantasyonundan sonra iltihaplı reaksiyonlar görülmüş olmasına rağmen, iyonik oranı 1,0-1,7 arasında olan kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinden yapılan implantların (çeşitli porozitelerde ve yapılar, toz veya granüler biyoseramikler) kullanımındaki genel sonuç sadece non-toksik olmadıkları aynı zamanda iltihaplı reaksiyonlara neden olmamaları ve yabancı-vücut reaksiyonlarına neden olmadığıdır. İmplantlar ve kemikler arasında orta tabaka fibroz doku hiç gözlemlenememiştir. Dahası kalsiyum-fosfat implantları kemiklere direkt bağlanma özelliği göstermektedir [13-17].

Dikkat edilmelidir ki bahsi geçen iltihaplı reaksiyonların olduğu nadir vakalar diğer sebeplerden dolayı olmaktadır. Örneğin çok yoğun bir iltihaplanma reaksiyonu gösteren HA poroz biyoseramiği implantı uygulamasında iltihaplanma keskin implant kenarlarının yumuşak dokuları irrite etmesi ile açıklanmıştır. Poroz HA kullanımındaki iltihaplanmadaki başka bir neden de biyoseramiğin porlarında oluşmakta olan mikro-kanal ağının implantın mikro hareketliliğinden dolayı bozulmasıdır. Ya da implantasyon sırasında sterilizasyonun yeterli yapılamadığı durumlarda iltihaplanma ve sonrasında klinik başarısızlık görülebilmektedir [13-17].

1.3.2.2 Biyoçözünürlük

Genellikle kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin in-vitro biyobozunumu malzemenin asidik tamponda bekletilmesi ve Ca^{2+} iyonları salınımının zamana göre incelenmesi ile ölçülmüştür. Asidik tampon osteoklastik aktivite (kemik bozunum) sırasında asidik ortamı taklit eder. Kalsiyum ortofosfat biyoseramiklerinin in-vitro ve in-vivo biyoçözünürlükleri kompozisyonlarına, partikül boyutuna, kristaliniteye (yansıtıcı kristal boyutu), poroziteye ve hazırlanma koşullarına bağlıdır [13-17].

In-vivo biyoçözünün kinetiği β -TCP>büyükbaş hayvan kemiği apatiti (sinterlenmemiş)>büyükbaş hayvan kemiği apatiti (sinterlenmiş)>mercansı HA>HA olarak deneysel sonuçlar ile gösterilmiştir. BCP'de biyoçözünme kinetiği HA/TCP oranına bağlıdır, HA/TCP oranı yüksekken bozulma oranı küçüktür. Farklı iyonların katkılındığı durumlarda biyoçözünürlük artabilir de (örn. CO_3^{2-} , Mg^{2+} veya Sr^{2+}), azalabilir de (örn. F^-). Bu durumun tersine β -TCP'nin çözünürlüğü Mg^{+2} veya Zn^{2+} iyonları katkısı ile azalır [13-17].

1.3.2.3 Biyoaktivite

Kemik/biyomalzeme arayüzeyinde karbonatlı-HA tabakası ile direkt bağ kurar. Garip ama literatürde kalsiyum-fosfatların biyoaktivite mekanizmasını açıklayan az sayıda yayın vardır. Örneğin sentetik bir HA biyoseramikte *in-vivo* ve *in-vitro* şartlarda olağan kimyasal değişimleri inceleyen bir çalışma yapılmıştır. Küçük bir miktar HA fagosit olmuştur fakat kalan büyük kısmı yeni oluşum mineral görünümüyle kanıtlanan ikincil çekirdekleyici olarak davranmıştır. *In vivo* deneylerde, hücresel aktivite (örneğin makrofajlar veya osteoclastlar), mikroortama kalsiyum ve fosfat iyonlarının serbest bırakılmasına neden olan kalsiyum-fosfatların kısmi çözünmesi sonucu asidik ortam ile ilişkili bulunmuştur. Serbest bırakılan iyonlar biyolojik apatit nanokristallerinin eşzamanlı olarak sıvılardaki çeşitli iyonlara katılması ile biyolojik sıvıların aşırı doygunluk derecelerini arttırdığı görülmüştür. Infrared spektroskopisi analizleri bu nanokristallerin biyolojik sıvılardan ya da serumdan ileri gelen biyoorganik bileşikler (muhtemelen proteinler) ile çok yakından ilişkili olduğunu göstermiştir [13-17].

1.3.2.4 Kalsiyum fosfat biyoseramiklerinde hücresel tepki

İnsan vücuduna bir implant yerleştirilmesi, implant ve yaşayan doku arasında moleküler boyuttan hücresel ve dokusal morfolojiye kadar tüm boyutlarda ilk saniyeden implantasyon sonrası birçok yıllara kadar arayüzey bölgesini yeniden modelleyen dinamik bir prosestir. İmplantasyonun hemen ardından, implant yüzeyinde biyolojik sıvılarla dolu bir boşluk oluşur. Zamanla proteinler biyoseramik yüzeyine absorbe edilecek, bu hücrelerin başkalaşması ve kemik hücrelerine değişimleri sonrasında osteoindüksiyonun artması ile damar oluşumu devam edecektir. İdealde implant ile çevreleyen dokular arasında güçlü bir bağ oluşacaktır [13-17].

Ha biyoseramiklerinde oluşan osteobastların genellikle tamamen düz ve 2 saat inkübasyon sonrası HA yüzeyindeki sitoplazmik kenarların ayırt edilmesinin zor olduğu rapor edilmiştir. Bu gözlemler HA'ten beklenen biyoaktivitenin altını çizer ve HA biyoseramiklerini kemik yeniden oluşumuna uygun kılar. Poroz HA biyoseramiklerinde oluşturulan osteoblast kültürlerinde yüksek yapışma özelliği vardır, poroz olmayan kontrollere karşılaştırıldığında artan bir farklılaşma ve baskılanmış profilerasyon oranı vardır. Dahası osteoclastların varlığında HA ve β -

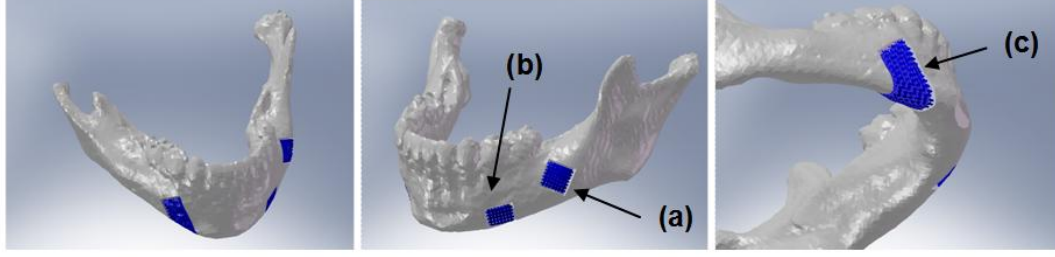
TCP yüzeylerinde çukur oluşumu şeklinde çözünme varlığı açık olarak ortaya konulmuştur. Kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinde yüzey pürüzlülüğünün osteoclast öncü oluşumu olan mononükleerlerin aktivasyonunu oldukça etkilediği rapor edilmiştir. Kalsiyum-fosfat biyoseramiklerinin içerdiği hücresel bozunmasının fazlara bağlı olduğu bilinmektedir. Örneğin β -TCP'nin yüksek çözünürlüğü L-929 fibroblast hücre yapışmasını engeller görünmektedir ayrıca hasara ve hücrelerin kopmasına neden olmaktadır. 80:20 β -TCP-HA çift fazlı formülasyonu bir fare ektopik model çalışması diğer kalsiyum-fosfatlarla karşılaştırıldığında azami kemik büyümesi göstermiştir. Dahası son çalışmalar, 3D skafoltların 2D yüzeyler ile karşılaştırıldığında daha güçlü stress sinyali tepkisi gösterdiğini ortaya koymuştur [13-17].

1.3.2.5 Doku mühendisliğinde kalsiyum fosfat biyoseramikleri

Günümüzde tüm ortopedik implantlar yaşayan dokuların sahip olduğu üç kritik özellikten yoksundur (i) kendi kendini tamir, (ii) kan desteği ile devamlılığını sağlamak, (iii) mekanik yükleme gibi dış ortamdan etkilere karşı kendi kendini (özelliklerini ve yapısını) modifiye etmek. Dahası gerçek kemikler bu özelliklerin yanında yeniden oluşum, hiyerarşik, çok fonksiyonlu, lineer olmayan, kompozit ve biyoçözünürdür, bu yüzden ideal yapay kemik benzer özelliklere sahip olmalıdır. Doku mühendisliği çalışmaları yaşayan dokular ile eş özelliklere sahip biyomalzemelerin geliştirilmesi çalışmalarına son hızla devam etmektedirler. Doku mühendisliğinin geliştirmekte olduğu malzemeler bu çalışmada değinilemeyecek kadar uzundur, ilgilenenlere bu konuda ekstra araştırma yapmalarını öneririm [13-17].

1.3.2.6 Kalsiyum fosfat uygulamaları örneği olarak skafoltlar

Kemik doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılan ve gözenekli bir yapıya sahip malzemelere skafolt adı verilmektedir. Skafoltlar hücre büyümesini desteklemek ve dokudaki hatalı bölgenin yeniden büyümesine olanak sağlamak amacıyla implant malzemesi olarak kullanılmaktadır. Şekil 1.4 :’te ortopedik alandaki çene cerrahisi uygulamasında skafolt kullanım örneği modellenmesi görülmektedir.



Şekil 1.4 : HA'ten yapılmış skafolt çene implantı kullanım örneği [20]

Skafoltrlar yapılarından dolayı geçirgen özellik gösterirler, çünkü besin difüzyonunun, iç sıvıların, kan akışının, hücre büyümesinin ve fonksiyonların optimum düzeyde devamı için Çizelge 1.4 :’te açıklandığı gibi gözenekli bir yapı ve uygun gözenek mimarisi ve uygun gözeneklilik değerinin olması gerekir [18,19].

Çizelge 1.4 : İdeal skafoltda olması gereken por boyutu dağılımı [13]

3D Skafold’un por boyutu	Biyokimyasal etkisi yada fonksiyonu
<1µm	Proteinlerle etkileşim Biyoaktiviteden sorumlu
1-20 µm	Hücreleri çekici tipte Hücresel gelişim Hücre içbüyümesinde oryantasyon ve yönelme
100-1000 µm	Hücresel büyüme Kemik içbüyümesi Mekanik güç için ön şart
>1000 µm	İmplant fonksiyonelliği İmplant tipi İmplant estetiği

Bu özellikleri sayesinde hasarlı dokuların kendi kendini tamirine cerrahi müdahale gerektirmeyerek yardımcı olurlar. Doku mühendisliği skafoltrların kullanımı ile hücre büyümesini kolaylaştırarak yenilenme sürecini hızlandırmayı amaçlamıştır. Ayrıca vücuda implante edilen skafoltrların ana doku ile adaptasyonu çok kısa sürede gerçekleşir. Çizelge 1.5 :’te kalsiyum fosfat skafoltrların üretim yöntemleri ve detayları verilmiştir [18,19].

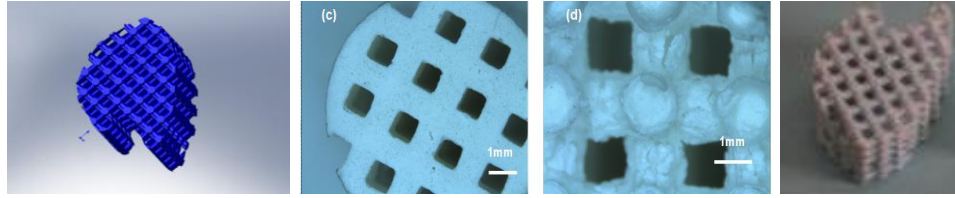
Çizelge 1.5 : Doku mühendisliği için üretilen kalsiyum-fosfat skafoldların üretim yöntemleri ve detayları [13]

Yıl	Kişi-Yer	Proses	Kalsiyum fosfat	Sinterleme °C	Basınç Dayanımı	Por Boyutları	Porozite
2006	Deville ve arkadaşları, Berkeley, CA	PTFE kalıpta HA+ amonyum metakrilat, kurutulmuş ve sinterlenmiş	HA	1300	16 MPa, 65 MPa, 145 MPa	50-150 µm	>%60, %56, %47
2006	Saiz ve arkadaşları, Berkeley, CA	Polimer köpük kaplı, infiltrasyon sonrası sıkıştırılmış, kalsine edilmiş	HA tozu	700-1300	-	100-200 µm	-
2006	Xu ve arkadaşları, Maryland, ABD	Direkt enjekte edilebilir kalsiyum fosfat cement	Nanokristalin HA	-	2.2-4.2 MPa (Felixural)	0-%50 makropor	%65-82
2004	Landi ve arkadaşları, İtalya+Endonezya	Köpük impregnation, izotaktik presleme, SBF'te HA sinterlenmesi	Kalsiyum hidroksit+ortofoforik asit DCPD+kalsit	1250 1 sa	23±3.8 MPa	%6 kapalı, %60 açık	%66
2003	Charriere ve arkadaşları, EPFL, İsviçre	İnk-jet prosesi le termoplastik negatif porozite	Kalsiyum hidroksit+ortofoforik asit DCPD+kalsit	- 90 1 gün	12.5±4.6 MPa	-	%44
2003	Ramay ve arkadaşları, Seattle, WA, ABD	Slurries of HA prepared jel döküm+polimer sünger tekniği, sinterlenmiş	HA tozu	600 1 sa 1350 2 sa	0.5-5 MPa	200-400 µm	%70-77
2003	Miao ve arkadaşları, Singapur	TTCPden kalsiyum fosfat cement, polimer köpük üzerine slurry döküm, sinterlenmiş	TTCP fosfat	1200 2 sa	-	1 mm makro, 5 µm mikro	~%70
2003	Ma ve arkadaşları, Singapur+ ABD	HA'nın elektroporotik depozisyonu, sinterlenmiş	HA tozları	1200 2 sa	860 MPa	0.5 µm, 130 µm	~%20
2002	Battalet ve arkadaşları, Birmingham, Londra	Kalsiyum fosfat cement+sodyum fosfat buzu buharlatılması	Kalsiyum karbonat+DCDP	1400 1 gün	0.6±0.27 MPa	2µm	62±%9

Son yıllarda skafoltların en sık kullanıldığı alanlar ortopedi, kalp ve sinirsel uygulamalardır. Bu uygulama alanlarının hepsi hücre yenilenmesinin azami miktarda olması gereken durumlardır [18-19].

2. HİDROKSİAPATİT

Hidroksiapatit, (HA), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; kalsiyum ortofosfatlar arasında kemiklerin temel bileşeninin yaklaşık %70'ini oluşturan en önemli fazdır. Yüksek biyoaktivitesi ve biyoçözünürlüğünün yanı sıra poroz yapıya sahip olmasından dolayı içerisinde kemik büyümesine olanak sağlar ve scaffolt malzemesi olarak kullanımı yaygındır [6,18].



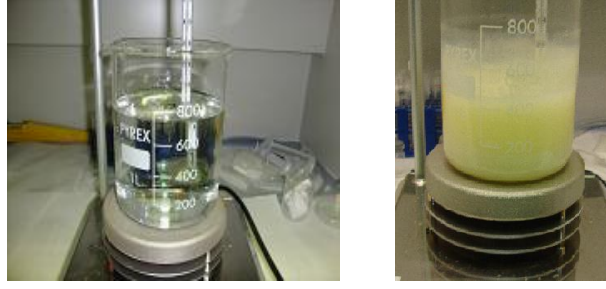
Şekil 2.1 : Poroz yapıdaki HA'ten yapılmış scaffolt fabrikasyonu örnekleri [18]

Seçilen üretim yöntemi ve sitokiyometrik orana göre çok çeşitli kristal yapılarda ve değişik kafes parametrelerinde hidroksiapatit üretimi mümkündür [21].

Örneğin literatürde yapılan çalışmalarda kalsiyum fosfat apatitlerinin değişik Ca/P atomik oranlarında sulu çözeltilerden üretilmesi sonucu elde edilen veriler Çizelge 2.1 : 'de görülmektedir. Çizelge 2.1 : 'e göre sitokiyometrik oranın (Ca/P 1,667) olarak seçildiği çözeltide $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ bileşimindeki 100% HA elde edilebilmiştir [21].

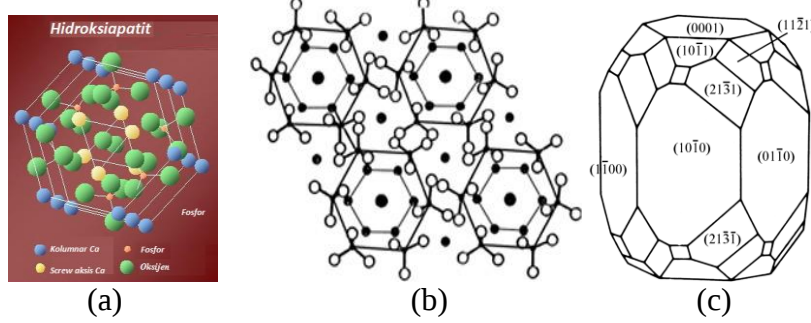
Çizelge 2.1 : Ca/P molar oranına göre Kalsiyum-Fosfat karakteristikleri [21]

Ca/P Molar Oranı	Toz Kompozisyonu
1,44±0,02	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})+\text{CaHPO}_4$
1,535±0,004	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$; $x=0,79$
1,631±0,004	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$; $x=0,21$
1,644±0,002	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$; $x=0,14$
1,659±0,001	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$; $x=0,05$
1,667±0,003	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
1,71±0,01	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2+\text{Ca}(\text{OH})_2$

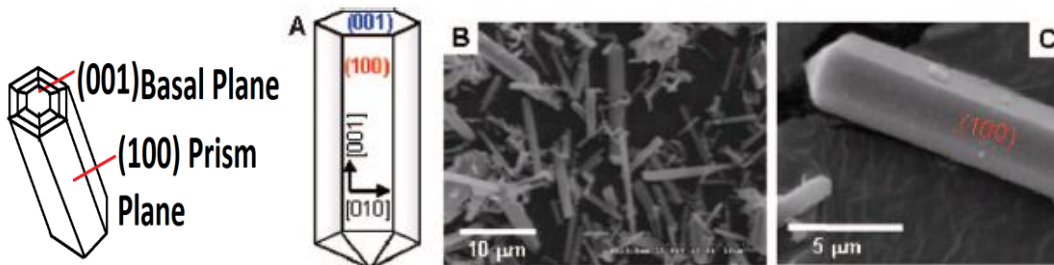


Şekil 2.2 : Hidrotermal yöntemler ile HA üretimi

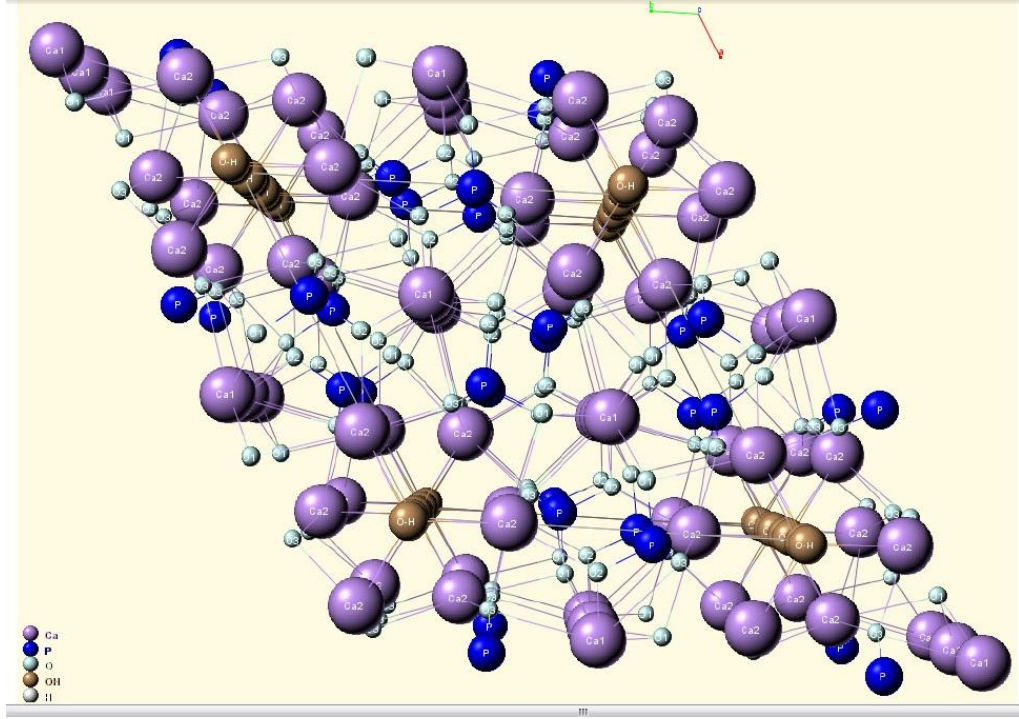
Hidrotermal yöntemler ile üretim örneği Şekil 2.2 :’de görülmektedir. Şekil 2.3 :, Şekil 2.4 : ve Şekil 2.5 :’te görüldüğü gibi hegzagonal kristal yapısına sahip $a=0.943$ nm ve $c=0.688$ nm kafes parametrelerindeki HA kristal taneleri oluşmaktadır HA’nın bu kristal yapısından dolayı birçok arayer ve yer alan iyon boşlukları mevcuttur. Apatit yapısında bulunan katyonik ve anyonik boşluklar çok çeşitli iyon katkılanabilirliğine izin verir ve bu HA’nın özelliklerini değiştirmek için etkili bir yöntemdir [23,25].



Şekil 2.3 : (a) HA kristal yapısı, (b) (x,y) projeksiyonunda (001) düzleminde, 4 adet HA birim hücresi, (c) HA kristali [22,24]



Şekil 2.4 : (a,b) Kristalografik eksen ve düzlemleri gösterilen tek kristal HA modeli, (c) HA tek kristali SEM görüntüleri [23]



Şekil 2.5 : HA kristal yapısında atomların yerleşimi (Dental enamel) [26]

2.1 Hidroksiapatit Elde Etme Yöntemleri

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ bileşimindeki hidroksiapatit doğal olarak ya da yapay yollarla elde edilebilir. Sentetik olarak HA sentezleme yöntemleri üç ana başlıkta incelenir. Katı-hal reaksiyonu, sıçratma yöntemi, hidrotermal yöntemler. Hidrotermal yöntemler ise şu şekilde sınıflandırılabilir; çökeltme, şelat ile biriktirme, üre ile biriktirme, kalsiyum-fosfat bileşiklerinin hidrolizi ile. Birçok apatit hazırlama tekniği vardır, fakat morfoloji kontrollü üretim için sınırlı sayıda teknik mevcuttur. Hidrotermal yöntemlerde sıcaklık ve pH değerleri kontrol edilerek istenen belirli morfolojide HAP kristali üretmek mümkündür [27].

2.1.1 Hidrotermal yöntemlere genel bakış

Genel anlamda sulu çözeltilerden tozların üretilmesini esas alan yöntemler hidrotermal prosesler olarak tanımlanır. Bu yöntemler genellikle rekasyon mekanizmasına göre şu şekilde gruplandırılır şelat ile dekompozisyon, üre ile dekompozisyon, biriktirme ve kalsiyum fosfatların hidrolizi [27].

Şelat dekompozisyonu metodu ilk defa HA kristalografisinde büyük kristaller gerektiren çalışmalarda 1993 yılında Yoshimura tarafından patenti alınan bir

yöntemdir. Şelat dekompozisyon yöntemleri şelat ajanları içeren tüm metotları içerir, genellikle karboksil asitler homojen kimyasal çözeltide kalsiyum iyonlarını bağlamak için kullanılır. Karboksil asitler içerisinde geniş bir aralık kullanılabilir, en yaygınları asetik asit, laktik asit, sitrik asit ve etilendiamin tetraasetik asittir (EDTA). Solüsyonun ısıtılması esnasında ya da buharlaştırma ile solüsyon konsantrasyonunun artması ile kimyasal denge kayar ve kalsiyum karboksilat bileşenlerine ayrılır, kalsiyum fosfat içeren solüsyona salınır. Solüsyonun aşırı doygun hale gelmesi ile kalsiyum fosfat kristalleri çekirdeklenir ve büyür. Şelat dekompozisyonu yöntemi ile üretilen HA kristallerinin boyutu ve morfolojisi mikrölçekte çok fazla çeşitlilik gösterir [27,28].

Üre dekompozisyonu; solüsyonda pH'ın artmasına sebep olan ürenin sulu çözeltide yavaş hidrolizi sebebiyle avantajlıdır. Kalsiyum-fosfat kaynak bileşimlerini içeren asidik homojen solüsyonlar ya da süspansiyonlar HA'nın kararlı olmadığı 2-4 pH aralığında hazırlanırlar. Başlayan üre dekompozisyonu solüsyonun pH'ını kademe kademe HA'nın kararlı olduğu pH değerinin üzerine çıkarır. HA kristalleri Kalsiyum-fosfat kaynak bileşimlerinin oluşumlarının çözünmesi ve tekrar birikmesi sonucu çekirdeklenir. Üre dekompozisyonu ile üretilen HA kristalleri diğer yöntemlere göre genellikle daha büyük boyuta ve en-boy oranı değerine sahiptir [27].

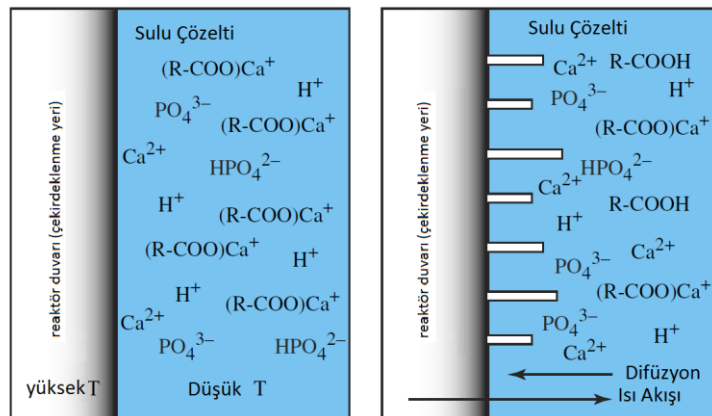
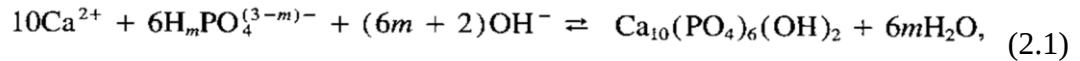
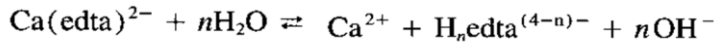
Biriktirme yöntemleri solüsyonun kimyasal dengesini manipüle etmek için kimyasal katkıları kullanılmayan yöntemlerdir. Kalsiyum ve fosfat içeren çözünebilir reaktifler 100 derecenin altında direkt olarak HA kristalleri biriktirmek için kullanılır. Katkıları kalsiyum solüsyonlarına değil fosfat solüsyonlarına katılır ve solüsyon pH'ı katkılardan bağımsız olarak sabit değerde tutulur. Biriktirme yöntemi ile üretilen HA kristalleri diğer yöntemlerle üretilenlere göre belirgin olarak daha küçük boyuttadır, genel olarak nano boyutadır [27].

Kalsiyum fosfat kaynak bileşimlerinin hidrolizi sıcaklığın veya pH'ın kontrolü ile yönetilir ve kalsiyum-fosfat kaynak bileşimlerinin çözünmesi ve HA olarak yeniden biriktirilmesi ile devam eder. Kalsiyum fosfat kaynak bileşimleri 37 ile 450 derece arasında işlem görmüş amorf kalsiyum fosfat (ACP), anhidroz dikalsiyum fosfat (DCPA) veya monetit, dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD) veya brushite, alfa tri kalsiyum fosfat (α -TCP), monokalsiyumfosfat momohidrat (MCPM), kalsiyum pirofosfat, ve kalsiyum sülfat bileşiklerinden herhangi birini içerebilir. Biriktirme

yöntemine benzer olarak HA kristalleri diğer yöntemlere göre belirgin olarak daha küçük boyutta üretilir, genellikle nano boyuttadır [27].

2.1.2 EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile HA üretme ve detayları

Yoshimura ve grubu 1993'te hidrotermal yöntemlerle şelat olarak adlandırılan kimyasal bağlayıcıları kullanarak HAP üretiminin patentini almıştır. Daha sonra bu yöntem üzerinde araştırmalar ve geliştirmeler halen devam etmektedir. Bu yöntemde kalsiyum iyonları, homojen kimyasal çözelti içerisinde şelat ajan iyonları tarafından tutulur. Şelat ajanları olarak karboksil asitler geniş olarak kullanılabilir, en yaygını; etilendiamin tetra asetic asit (EDTA) $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$ 'dir. Kalsiyum ve fosfat kaynağı olan kimyasal çözeltiler $70^\circ C$ ye çıkarılarak; bağlanmış olan kalsiyum iyonları fosfat içeren çözeltiye kontrollü olarak salınır. Kontrollü salınımın gerçekleşmesi kimyasal dengenin kayması prensibine dayanarak gerçekleşir. Solüsyon aşırı doygun hale geldiğinde kalsiyum-fosfat kristalleri reaksiyon kabının yüzeyinde çekirdeklenir ve büyümeye başlar. Şekil 2.6 : 'da reaksiyon kabında çekirdeklenmenin nasıl olduğu görülmektedir. Çekirdeklenme sonucu iğnesel kristal taneleri oluşmaktadır. Şelat dekompozisyonu yönteminde HA tozlarının oluşumu (2.1) reaksiyonuna göre gerçekleşir [27,28].



(a) çekirdeklenme (b) tane büyümesi, (R=CH₃CH(OH))

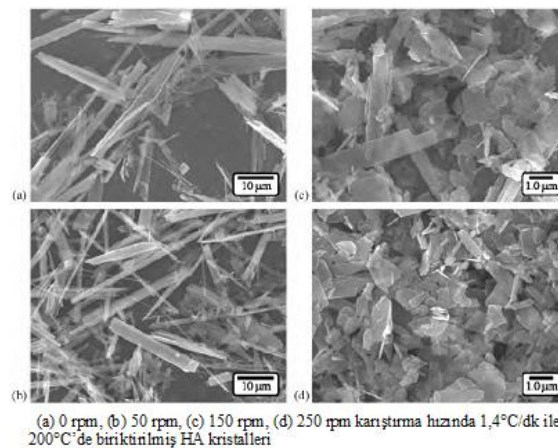
Şekil 2.6 : EDTA şelat yönteminde reaksiyon mekanizmasını gösteren şematik resim

Şelat ile dekompozisyon yönteminde hegzagonal tane formunda iğnesel taneler oluşmaktadır. Yüksek çözünürlüklü AFM çalışmaları bu yöntemle üretilen HA

iğnesel yapılarının Şekil 2.4 :’te görüldüğü gibi c-yönünde <001> yanal düzleme sahip ve bazal düzlemi a-yönünde olan hezgzagonal prizma formunda tek kristal yapısında olduğunu göstermiştir. Bu yöntemde azalan ısıtma hızı, azalan karıştırma hızı ve artan reaksiyon sıcaklığı ile iğnesel kristallerin uzunluğu ve en-boy oranı artar. En belirgin etkiye ısıtma ve karıştırma hızı neden olur. Kristallerin ortalama uzunluğu ve en-boy oranı azalan ısıtma hızı ile yaklaşık iki kat artar. Böylece reaksiyon ısıtma hızı HA kristal morfolojisini kontrol etmek için gelecek çalışmalarda anahtar değişken olarak kullanılabilir.

Reaksiyon ısıtma hızı ve sıcaklığı HA tanelerinin en değerlerinde bağıl olarak çok küçük etki eder buna rağmen morfoloji artan karıştırma hızı ile mikro boyuttaki iğnesel kristal yapılardan nano boyuttaki düz kristallere değişim gösterir.

Şekil 2.7 :’de EDTA şelat yöntemi ile üretilmiş düz HA kristallerinin görüntüsü görülmektedir. Artan karıştırma hızı ile oluşan düz kristaller sentetik ya da biyolojik (örn. apatit kemik minerali) olmasına bakılmaksızın aynı olarak c-ekseninde uzama gösterir ve a-ekseninde genişliği vardır, düz yüzeylerinin düzlem yüzleri yaklaşık olarak {100} düzlem ailesi ile ilişkilendirilmektedir. Böylece kristal morfolojisi çözelti kimyasındaki değişikliklerden bağımsız olarak reaksiyon kinetiği ile dramatik olarak değişim gösterir. Dahası sentetik düz HA kristallerinin kemikteki apatit kristallerine benzerliği; biyolojik apatitlerin morfolojisinin kinetik etkilerle yönetiliyor olabileceğini ve bu mineralizasyonun canlı ortamında daha hızlı olabileceğini akıllara getirmektedir.



Şekil 2.7 : EDTAşelat yönteminde artan karıştırma hızlarında oluşan kristaller

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Tez kapsamında yapılan deneysel çalışmalar İstanbul Teknik Üniversitesi Makine Mühendisliği bölümü laboratuvarları, Jeoloji Mühendisliği bölümü laboratuvarları, Fizik Mühendisliği Nanomekanik laboratuvarı, İTÜ-MEMS laboratuvarı ve Sabancı Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Mühendisliği bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Deneylerde kullanılan malzemeler, kullanılan cihazlar ve yapılan karakterizasyon çalışmaları ilerleyen bölümlerde anlatılmaktadır.

3.1 Kullanılan Malzemeler

Bu çalışmada başlangıç malzemeleri olarak; Kalsiyum nitrat $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, Amonyum dihidrojen fosfat $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, Titriplex-III (Ca-EDTA) $(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$, Gümüş nitrat (AgNO_3) kimyasal bileşik tozları (Merck KGaA, Almanya) Gümüş katkılı Hidroksiapatit yapımında kullanılmıştır.

3.2 Kullanılan Cihazlar

İTÜ makine mühendisliği bölümü laboratuvarında kimyasal çözeltiler yardımı ile üretilen Ag katkılı Hidroksiapatit tozları laboratuvarında bulunan öğütme değirmeninde (Retsch PM100, Almanya) öğütülmüştür. 4000 psi kapasiteli hidrolik pres ve kalıp (Alfa, ABD) kullanılarak üretilen tozlar numune haline getirilmiştir. 1600°C kapasiteli tüp fırın (Protherm, Türkiye) yardımı ile elde edilen numuneler sinterlenmiştir.

İTÜ-MEMS laboratuvarı bünyesinde bulunan Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) (Zeiss EVO/MA10, Almanya), numunelerin yapısal farklılıklarının karakterizasyonunda kullanılmıştır.

İTÜ Jeoloji Mühendisliği bünyesinde bulunan X-ışınları Kırınım Cihazı (Bruker D8 Advance D8X-ray diffractometer) ile numunelerin faz yapısı karakterizasyonları yapılmıştır.

İTÜ Fizik Mühendisliği bölümü Nanomekanik laboratuvarı bünyesinde bulunan PVD cihazı (Nanovak,Türkiye) ve Atomik Kuvvet Mikroskobu (Nanomanyetik Bilimsel Cihazlar, Türkiye) ile numunelerin yapısal karakterizasyonları yapılmıştır.

Sabancı Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Mühendisliği bölümü laboratuvarında bulunan Disk Difüzyon test kiti ile E. Coli bakteri direnci incelenmiştir.



a) Öğütme Değirmeni



b) Sinterleme Fırını



c) Hidrolik Pres



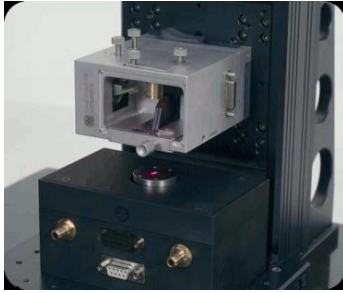
d) Tarama Elektron Mikroskobu



e) Fiziksel Buhar Biriktirme Cihazı



f) Pres Kalıbı



g) Atomik Kuvvet Mikroskobu



h) X-Işını Kırınım Cihazı

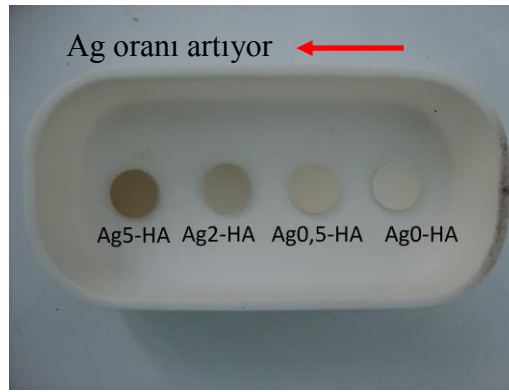
Şekil 3.1 : Deneysel çalışmalar kapsamında kullanılan cihazlar

3.3 Deneylerde Kullanılan Numuneler

Tez konusu kapsamındaki karakterizasyon çalışmalarında 4 farklı kompozisyon için %0, %0,5, %2 ve %5 gümüş içeriği oranlarında hazırlanan Ag katkılı Hidroksiapatit (Ag-HA) numuneleri 5 farklı sıcaklık değerlerinde (500°C, 700°C, 900°C, 1100°C ve 1300°C) sinterlenerek kullanılmıştır. Numune özellikleri Çizelge 3.1 :’de görülebilir.

Çizelge 3.1 : Deneylerde kullanılan numunelerin özellikleri

Numune Adı	Açıklama	Sinterleme Sıcaklığı °C					Beklenen Bileşim
Ag0-HA	Saf HAP	500	700	900	1100	1300	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Ag0,5-HA	%0,5 mol Ag içeren HAP	500	700	900	1100	1300	$\text{Ca}_{9,95}\text{Ag}_{0,05}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Ag2-HA	%2 mol Ag içeren HAP	500	700	900	1100	1300	$\text{Ca}_{9,8}\text{Ag}_{0,2}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Ag5-HA	%5 mol Ag içeren HAP	500	700	900	1100	1300	$\text{Ca}_{9,5}\text{Ag}_{0,5}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$



Şekil 3.2 : Sinterlenmemiş Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA numuneleri

Bu çalışmada numunelerin adlandırılması toz hazırlama aşamalarında çözeltilerin içerdikleri gümüş mol oranlarına göre (%0, %0,5, %2, %5) Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA, Ag5-HA kısaltmaları ile kullanılmıştır. Şekil 3.2 :’de görüldüğü gibi kırmızı ok yönünde gümüş oranı arttıkça sinterlenmemiş numunelerin renkleri beyazdan kahverengiye doğru değişmektedir. Ag-HA tozlarının hazırlanması, numune üretimi ve karakterizasyonları ilerleyen bölümlerde sırasıyla anlatılmaktadır.

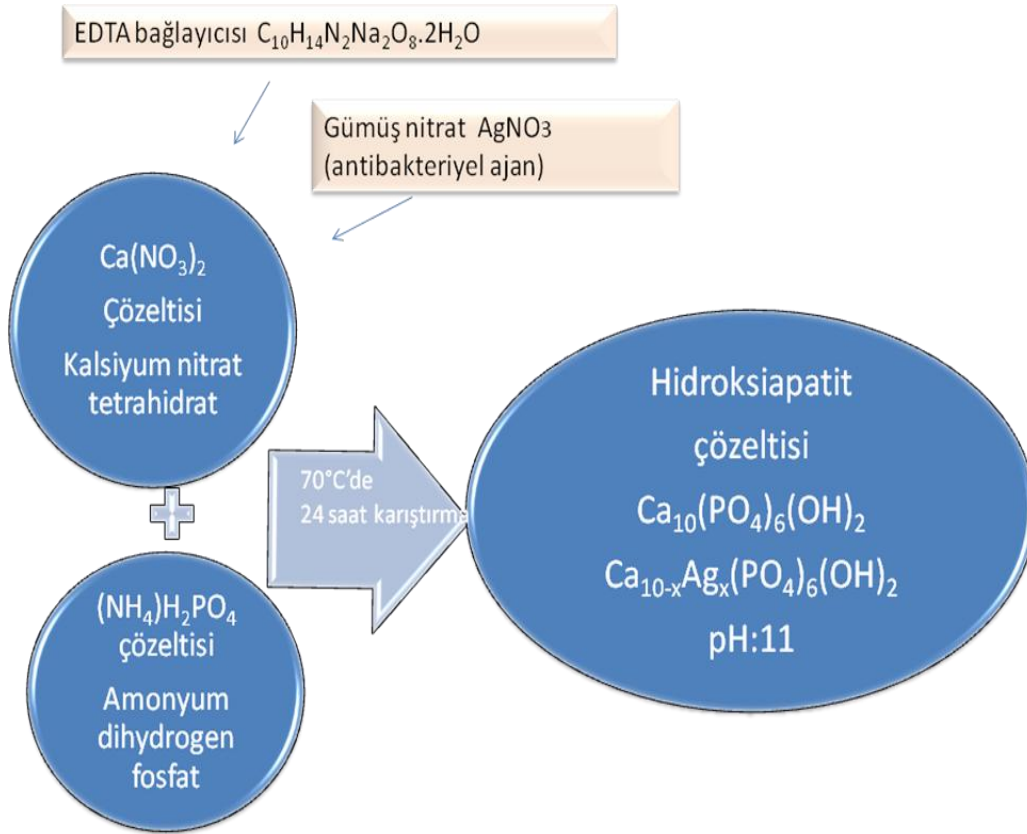
3.3.1 Gümüş katkılı hidroksiapatit tozlarının üretimi

Gümüş katkılı hidroksiapatit numuneler EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile laboratuvar koşullarında üretilmiştir. Öncelikle *Kalsiyum nitrat* ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) çözeltisi ve *Amonyum dihidrojen fosfat* ($(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$) çözeltileri ayrı ayrı saf suda karıştırılarak çözündürülür.

Kalsiyum nitrat çözeltisinde *Gümüş Nitrat* (AgNO_3) tuzunun çözündürülmesi ile *Gümüş* (Ag) katkısı aşağıdaki tabloda belirtilen mol oranlarına göre yapılır. EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) şelatı önce az bir miktar saf suda karıştırılarak çözündürülür

daha sonra *Gümüş Nitrat* (AgNO_3) içeren *Kalsiyum Nitrat* ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) çözeltisi ile karıştırılır. Böylece Kalsiyum iyonları EDTA şelatı ile kimyasal olarak bağlanır.

Kimyasal olarak bağlanmış *Kalsiyum-EDTA* çözeltisi *Amonyum dihidrojen* fosfat çözeltisi ile karıştırılır. 500ml *Hidrojen Peroksit* (H_2O_2) elde edilen çözeltiye eklenir. Yeterli miktarda *Amonyak* (NH_3) kullanılarak çözelti pH değeri 11 olarak ayarlanır. 80°C sıcaklıkta yavaş karıştırma hızında (500-700 RPM) manyetik karıştırıcı yardımı ile 24 saat süreyle karıştırılır. Artan sıcaklık ile Kalsiyum iyonları ile EDTA şelatı arasında oluşan kimyasal bağlar kopmaya başlar ve Ca^{+2} iyonları PO_4^{-3} iyonları içeren çözeltiye yavaş yavaş salınmaya başlar ve Hidroksiapatit kristallerini oluşturur. 24 saat sonunda çözeltideki Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları Hidroksil grubu ile tamamen birleşerek Hidroksiapatit kristallerinden oluşan bir çökelti oluşturur. Hidroksiapatit tozları üretme aşamaları Şekil 3.3 :’te şematik olarak anlatılmaktadır.



Şekil 3.3 : EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi üretim aşamaları şeması

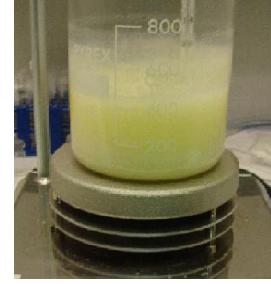
Çizelge 3.2 : Numune hazırlama esnasında kullanılan hammaddeler ve miktarları

Numune	Açıklama	Ca(NO ₃) ₂	AgNO ₃	(NH ₄)H ₂ PO ₄	EDTA C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ *2H ₂ O
Ag0-HA	Saf HAP	59.0375gr	-	17.2545gr	93 gr 0.25mol
Ag0,5-HA	%0,5 mol Ag içeren HAP	58.4935gr	0.212gr	17.2545gr	93 gr 0.25mol
Ag2-HA	%2 mol Ag içeren HAP	57.6117gr	0.849gr	17.2545gr	93 gr 0.25mol
Ag5-HA	%5 mol Ag içeren HAP	55.8481gr	2.1234gr	17.2545gr	93 gr 0.25mol

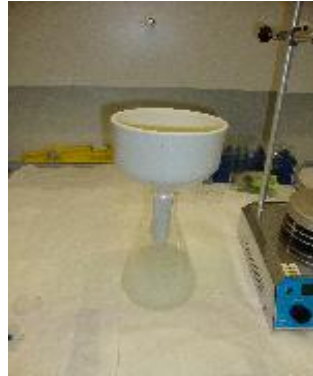
Daha sonra üretilen tozlar 10 µm gözenekli filtre kâğıdından süzülür ve kurutulmak üzere 50°C sıcaklığındaki kurutucuya konulur. 3 gün kurutucuda bekletilmesi istenen kurutma miktarı için yeterlidir. Şekil 3.4'te üretim aşamalarının resimleri görülmektedir.



a) Kalsiyum-EDTA ve Fosfat çözeltileri



b) Çöken Ag-HA tozları



c) Ag-HA tozlarının süzdürülmesi



d) Kurutulan Ag-HA tozları

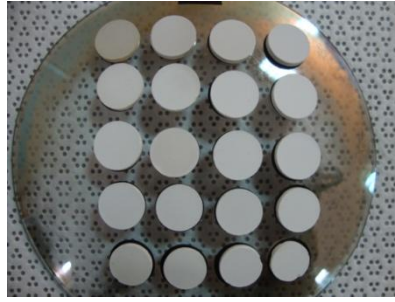
Şekil 3.4 : Deneylerde kullanılan Hidroksiapatit numunelerinin hazırlama aşamaları

3.3.2 Numunelerin hazırlanması

Kurutulan Ag-HA tozları havan ve değirmen yardımı ile toz haline getirilip disk şeklinde numune üretimi yapılmıştır. Bu numunelerin hazırlanabilmesi için kurutulmuş katı haldeki Ag-HA tozları değirmen (Retsch PM100, Almanya) yardımı

ile 100 devir/dk öğütme hızında, 10 dk öğütülerek homojen toz haline getirilmişlerdir.

Ede edilen homojen tozlar hidrolik pres ve kalıp yardımı ile disk şeklinde şekillendirilmiştir. Bu işlem sırasında standart numuneler elde edebilmek için 0,40 gramlık tozlar 500 psi basınç altında şekillendirilmiştir. Elde edilen numunelerin çapları 12 mm kalınlıkları ise yaklaşık ortalama 1,6 mm'dir. Hazırlanan numuneler tüp fırında (Protherm, Türkiye) havada 500°C, 700°C, 900°C, 1100°C, 1300°C sıcaklıklarında 5°C/dk ısıtma hızı ile 2 saat süresince sinterlenerek nihai yapıya ulaşmıştır. Üretilen sinterlenmiş numuneler Şekil 3.5 : 'de görülmektedir.



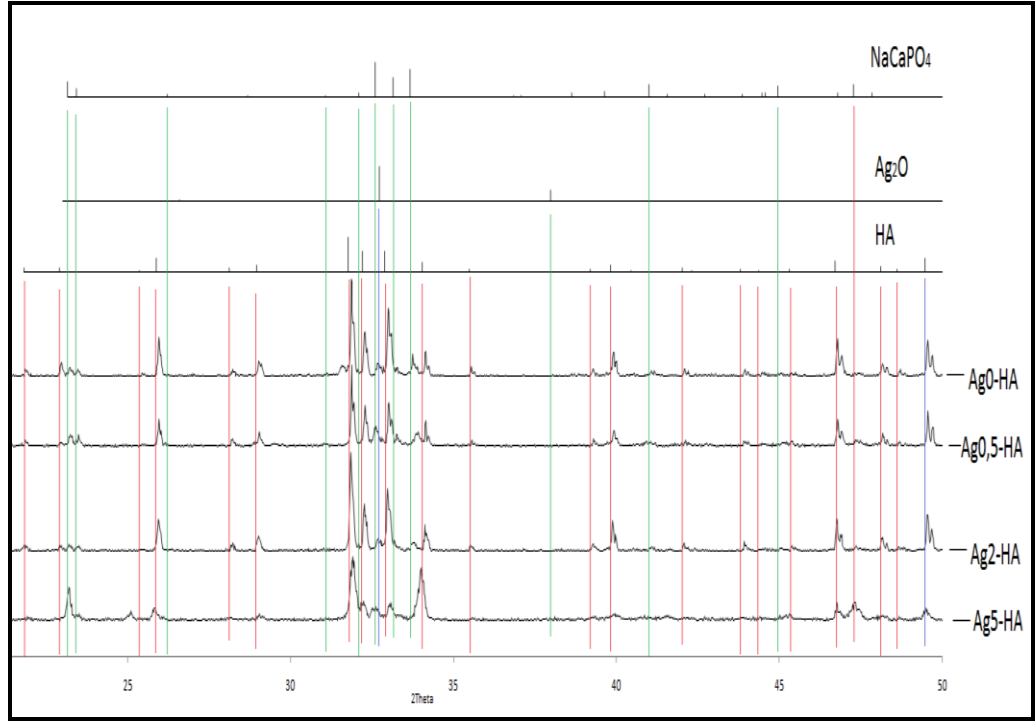
Şekil 3.5 : 1100°C'de havada 2 saat süreyle sinterlenmiş Ag-HA numuneleri

3.4 Karakterizasyon Çalışmaları

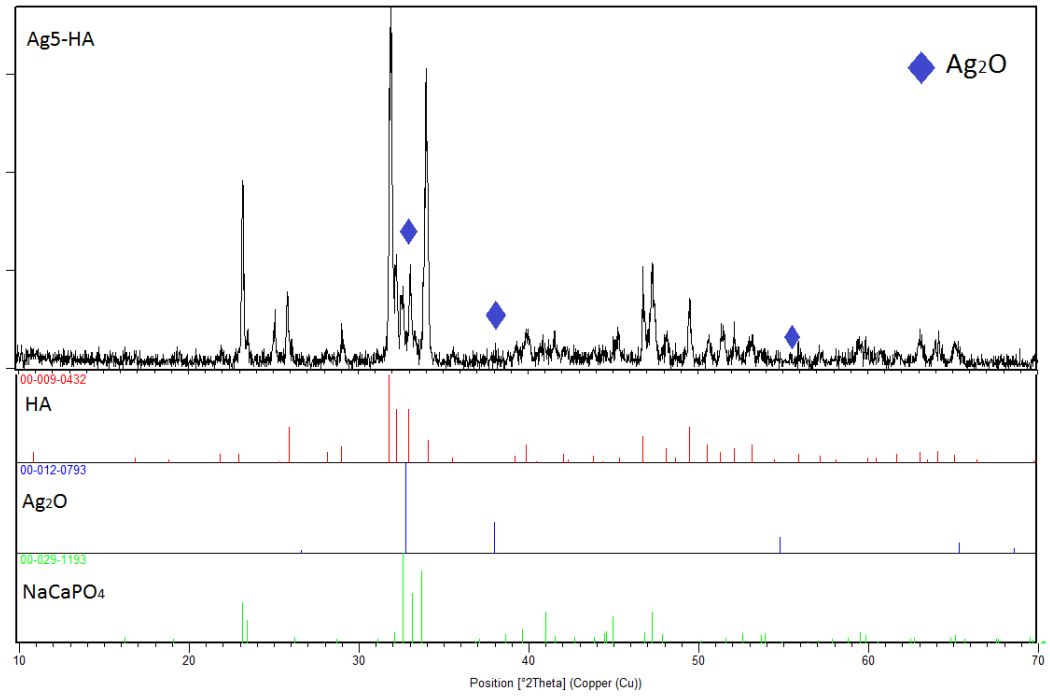
Karakterizasyon çalışmaları; X-Işınları Kırınım Cihazı ile karakterizasyon, Tarama Elektron Mikroskobu ile karakterizasyon (Fiziksel Buhar Biriktirme Cihazı ile numune hazırlanması), Atomik Kuvvet Mikroskobu ile karakterizasyon ve Antibakteriyel Özelliklerin karakterizasyonu adımlarını içermekte ve gelecek bölümlerde anlatılmaktadır.

3.4.1 X-Işınları kırınım cihazı ile karakterizasyon

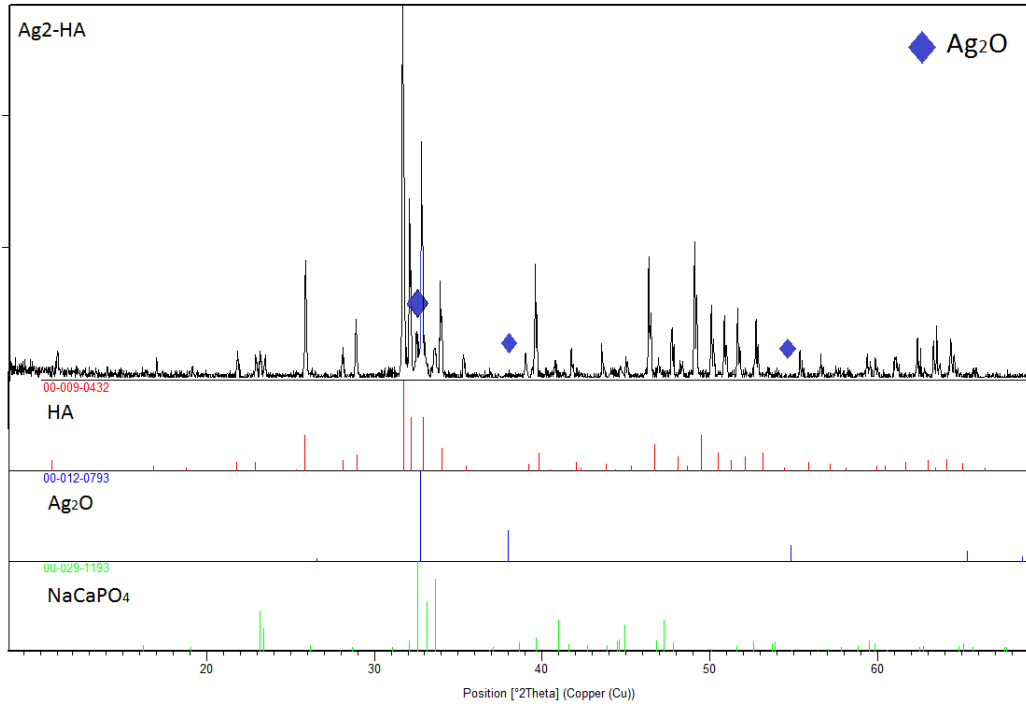
Şekil 3.6 : 'te Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA numunelerinin 2 saat boyunca 1100°C'de havada sinterlenmesi sonucu elde edilen XRD sonuçları gösterilmektedir. Ayrıca 1100 °C'de sinterlenen her numune için ayrı ayrı detaylı XRD sonuçları grafikleri Şekil 3.7 :, Şekil 3.8 :, Şekil 3.9 : ve Şekil 3.10 : 'da görülmektedir. Bu şekiller referans malzeme piklerini de içermektedir.



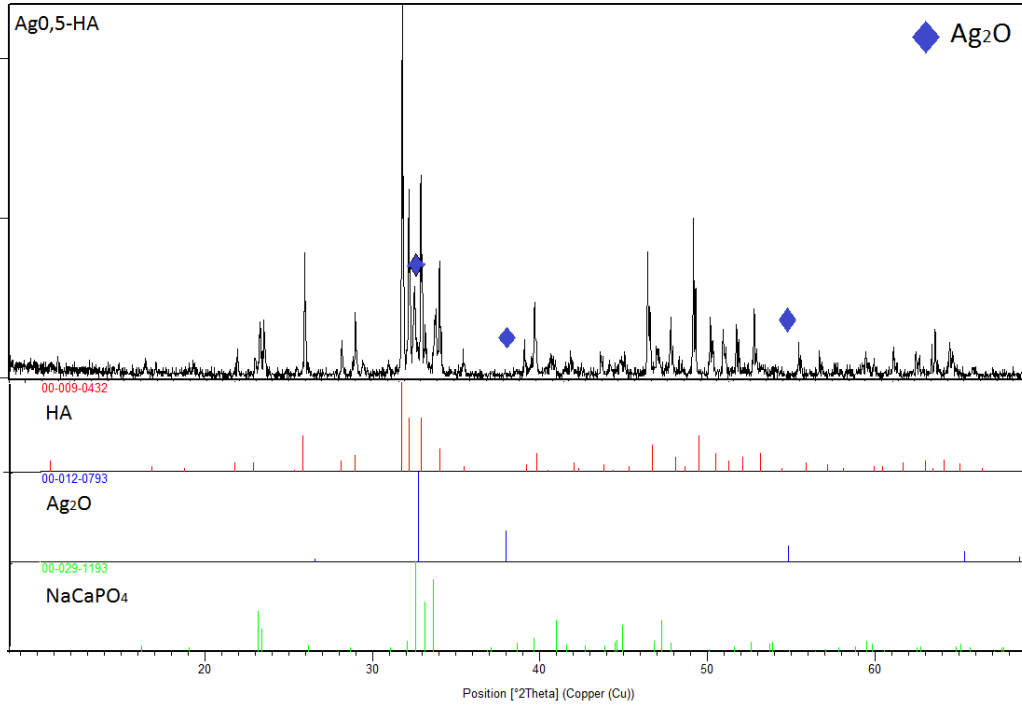
Şekil 3.6 : Havada 2 saat 1100°C’de sinterlenmiş Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA için XRD sonuçları ve referans malzeme pikleri



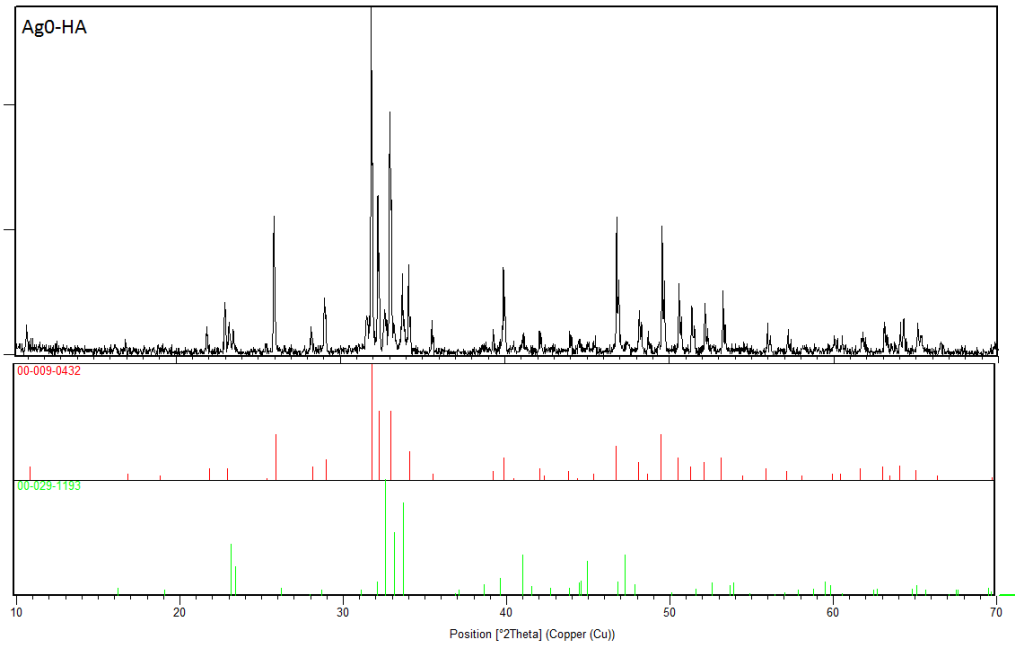
Şekil 3.7 : Havada 2 saat 1100°C’de sinterlenmiş Ag5-HA numunesi için XRD verileri



Şekil 3.8 : Havada 2 saat 1100°C’de sinterlenmiş Ag₂-HA numunesi için XRD verileri



Şekil 3.9 : Havada 2 saat 1100°C’de sinterlenmiş Ag_{0,5}-HA numunesi için XRD verileri



Şekil 3.10 : Havada 2 saat 1100°C’de sinterlenmiş Ag0-HA numunesi için XRD verileri

Şekil 3.6 : 1100°C’de havada sinterlenen Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA numuneleri için XRD sonuçlarını göstermektedir. X-Işınları kırınım analizi verileri hazırlanan numunelerin yapısında HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ve Sodyum Kalsiyum Fosfat (NaCaPO_4) fazlarının olduğunu göstermiştir. Gümüş ise yapıya Ag_2O fazında katılmıştır. Beklenmeyen NaCaPO_4 fazının oluşumunun EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) şelatından gelen Na^+ iyonlarının HA yapısına katılarak meydana geldiği düşünülmektedir. Çizelge 3.5’te numunelerin içerdikleri fazlar verilmiştir

Çizelge 3.3 : 1100°C’de havada 2 saat sinterlenen Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA numuneleri için XRD-Sonuçları

HA Numune	(HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	NaCaPO_4	Ag_2O
Ag0-HA	+	+	-
Ag0,5-HA	+	+	+
Ag2-HA	+	+	+
Ag5-HA	+	+	+

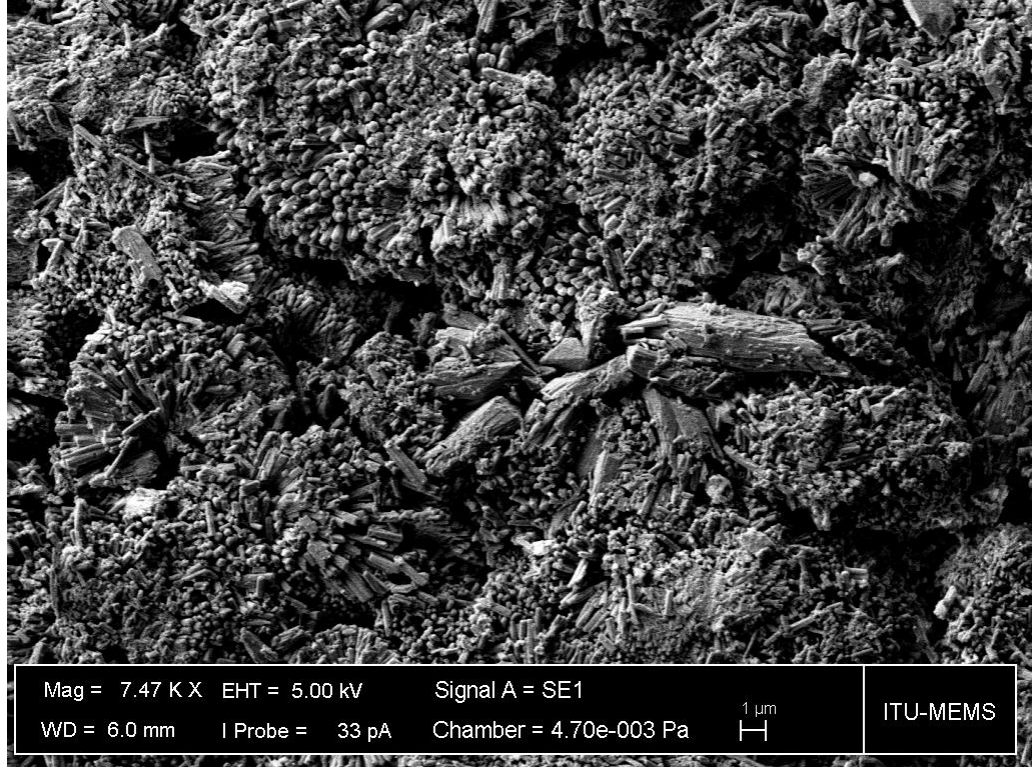
3.4.2 Tarama elektron mikroskobu ile karakterizasyon

Ag-HA numuneleri yalıtkan özellikte olduğundan dolayı SEM’de görüntü alınması çok zordur. Bu zorluğu aşabilmek için numuneler Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD) cihazında 50nm Altın (Au) kaplanmıştır. Altın kaplanmış numunelerin fotoğrafı Şekil 3.11 :’de görülmektedir.

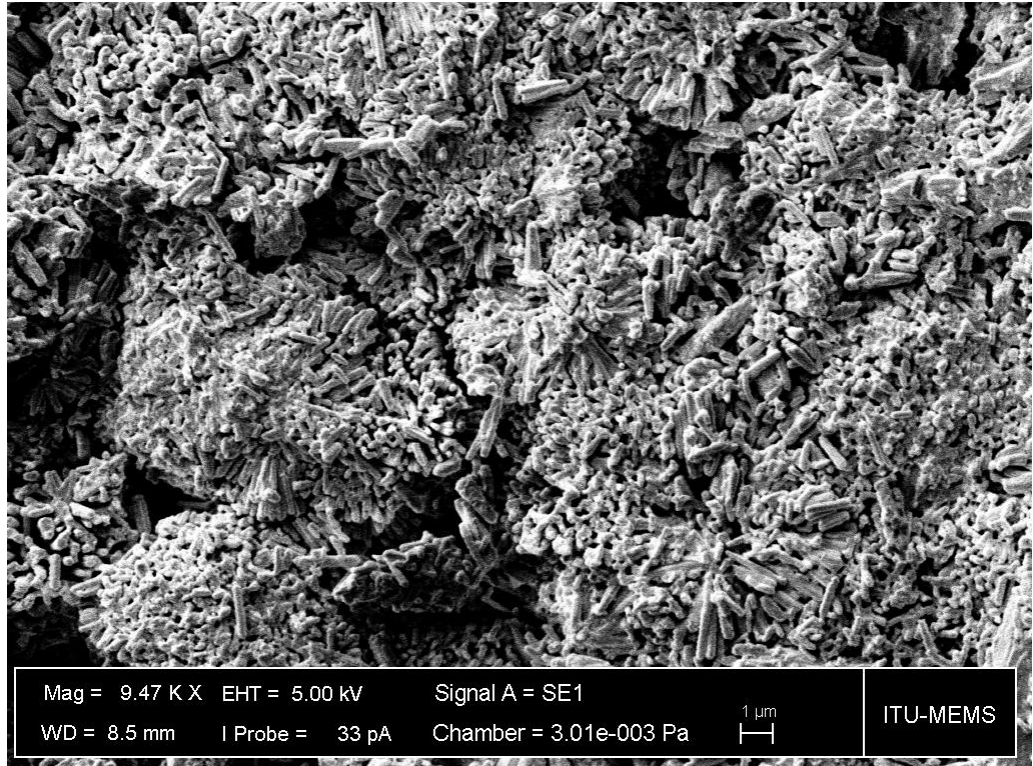


Şekil 3.11 : Tarama elektron mikroskopisi için Au Kaplanmış Ag-HA numuneleri

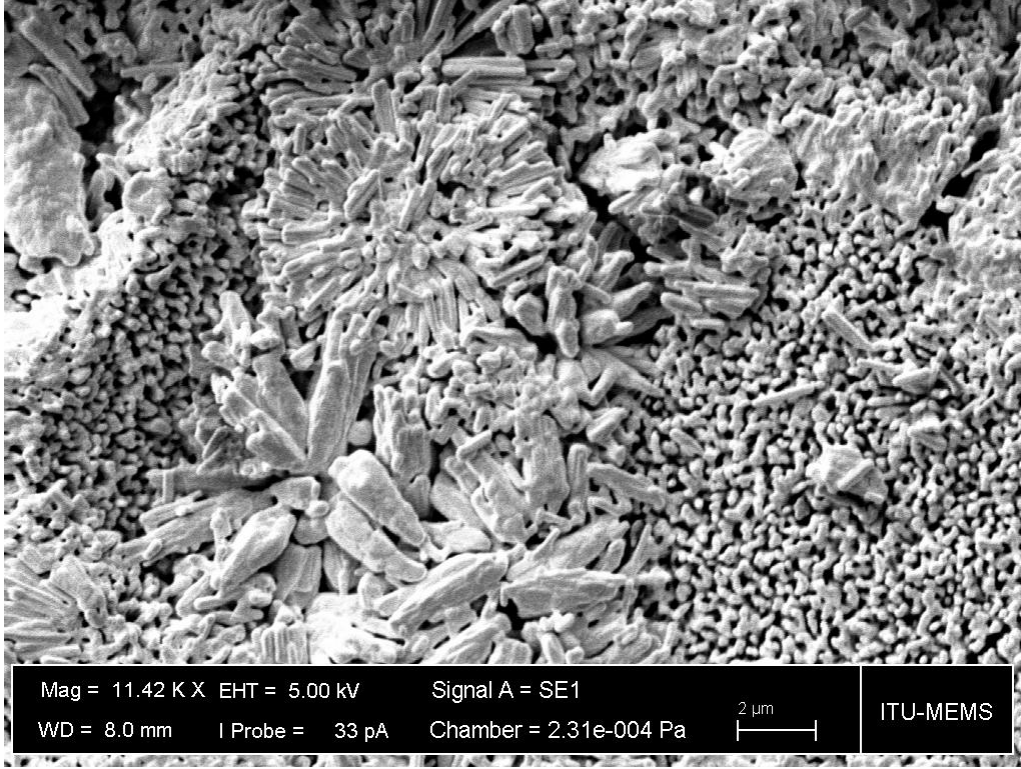
Şekil 3.12 :, Şekil 3.13 :, Şekil 3.14 :, Şekil 3.15 : ve Şekil 3.16 :’de Ag₀-HA için değişen sinterleme sıcaklığının etkisi ile yapının nasıl değiştiği görülmektedir. 500°C, 700°C, 900°C’de iğnesel hegzagonal prizmatik tanelerin oluştuğu gözlemlenirken literatürde de açıklandığı gibi 1100°C’de optimum sinterleme gerçekleşmiştir. 1300°C’de ise tane büyümesi gözlenmiş porlarda azalma olmuştur.



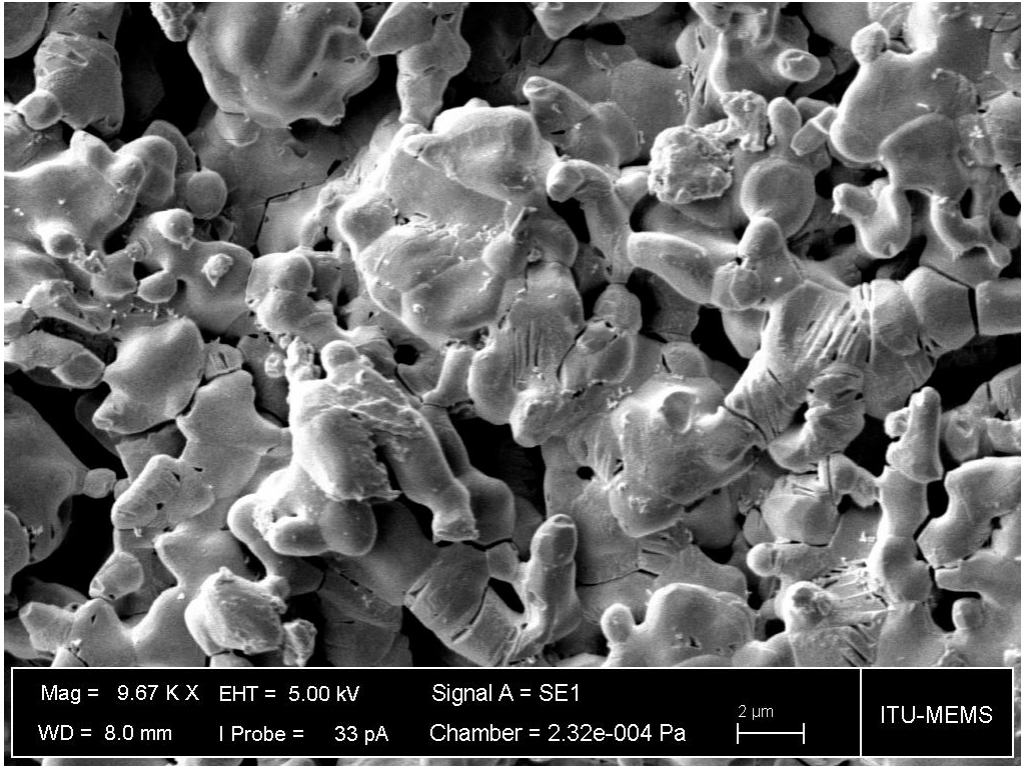
Şekil 3.12 : Ag0-HA için 500°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü



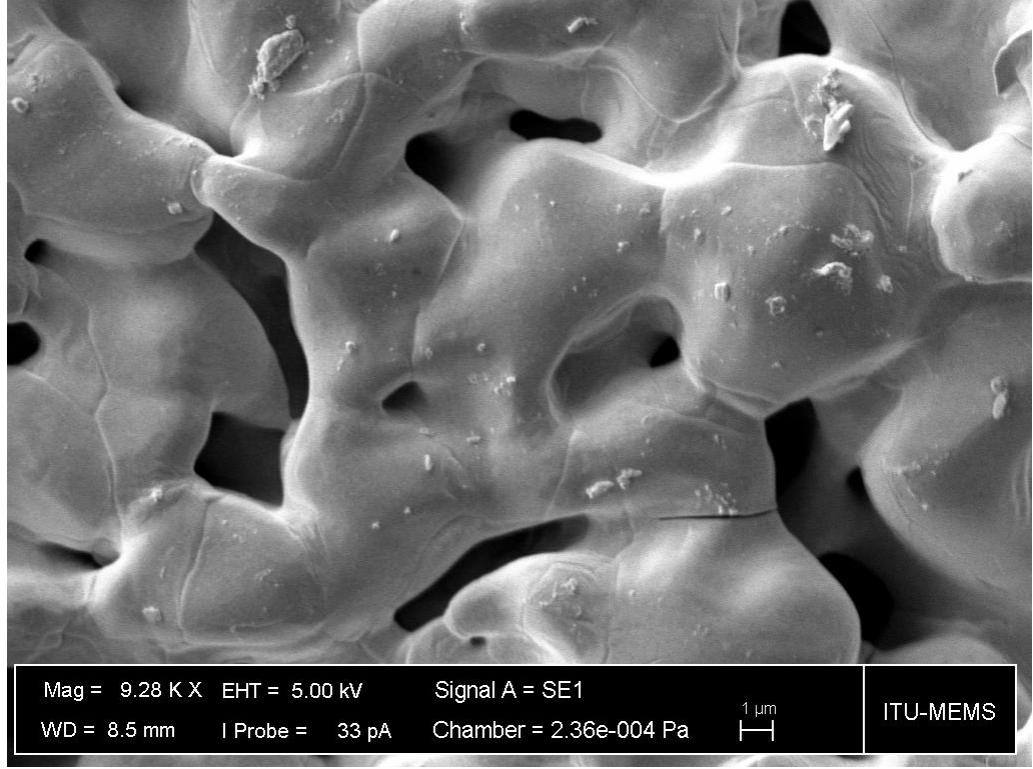
Şekil 3.13 : Ag0-HA için 700°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü



Şekil 3.14 : Ag0-HA için 900°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü

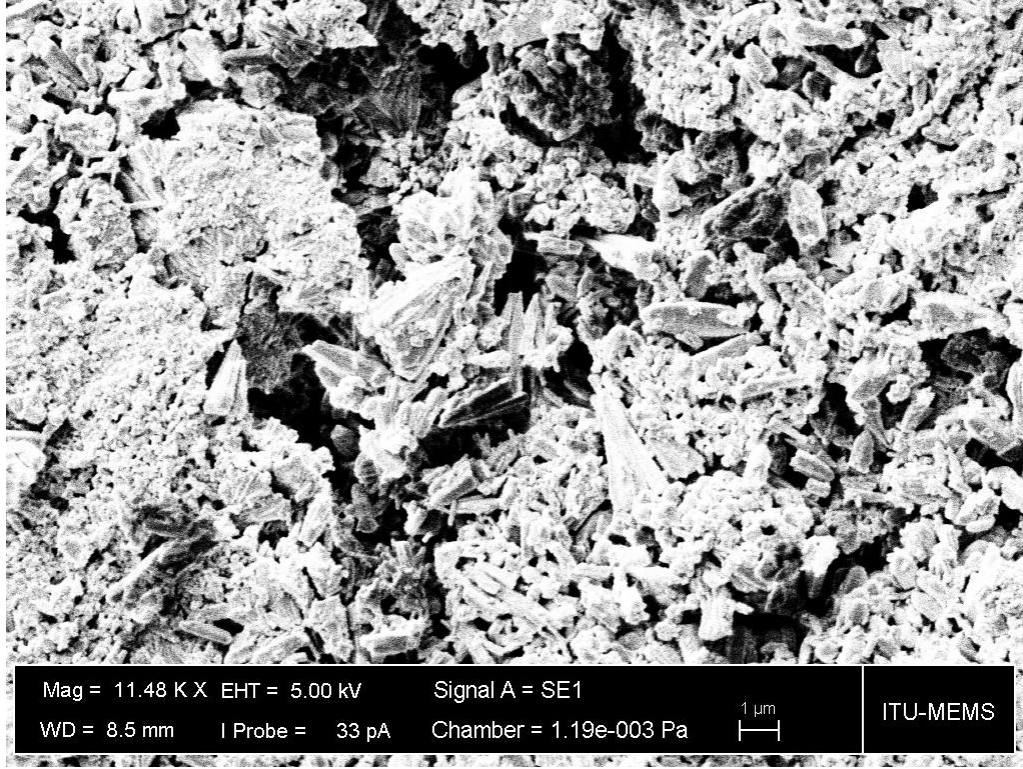


Şekil 3.15 : Ag0-HA için 1100°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü

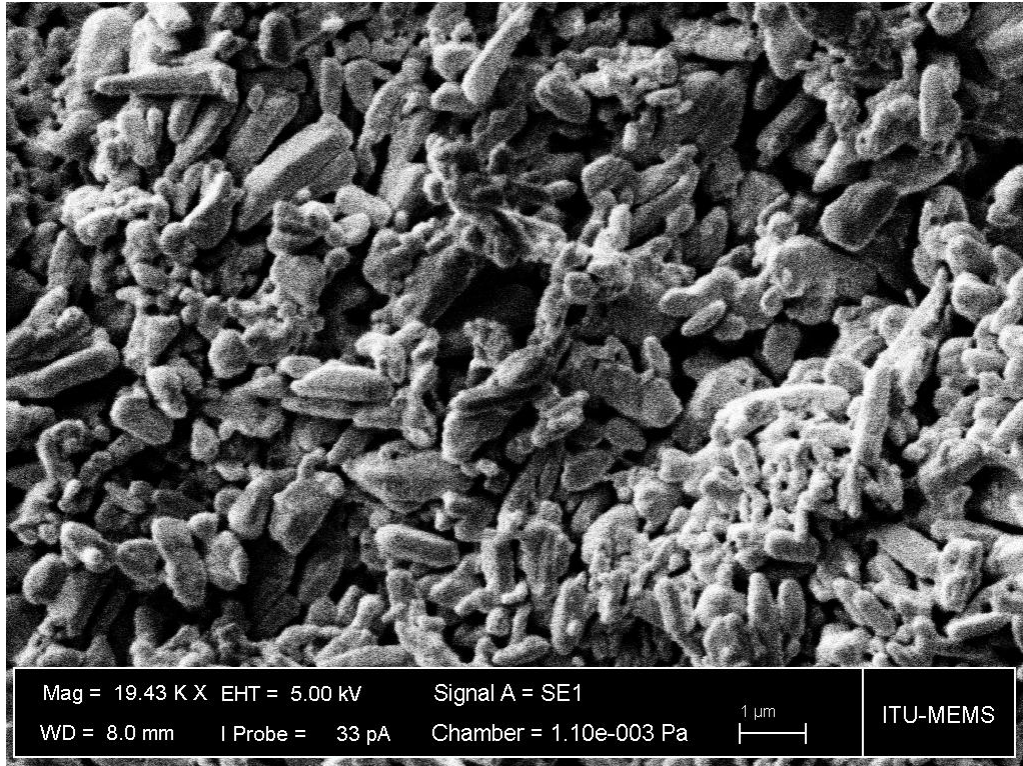


Şekil 3.16 : Ag0-HA için 1300°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü

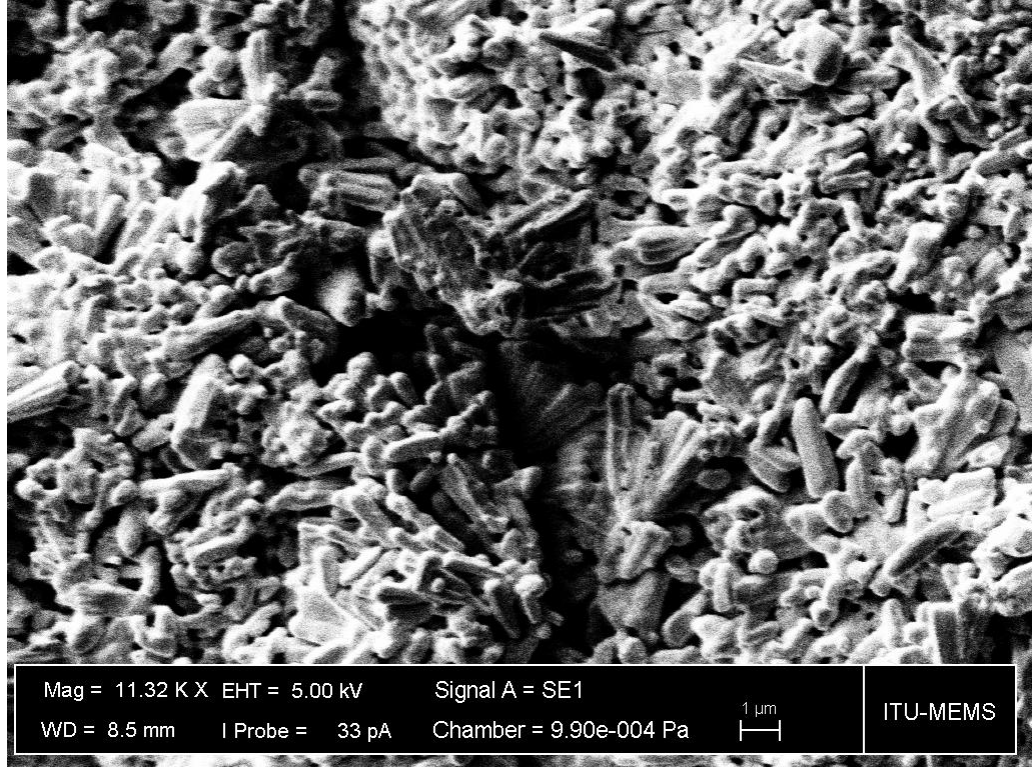
Şekil 3.17 :, Şekil 3.18 :, Şekil 3.20 : ve Şekil 3.21 :’de Ag2-HA için değişen sinterleme sıcaklığının etkisi ile yapının nasıl değiştiği görülmektedir. 500°C, 700°C ve 900°C’de iğnesel hegzagonal prizmatik tanelerin olduğu gözlemlenirken literatürde de açıklandığı gibi 1100°C’de optimum sinterleme gerçekleşmiştir. 1300°C’de ise tane büyümesi gözlenmiş porlarda azalma olmuştur. Gümüş katkısı olmasına rağmen oluşan kristal tipinde değişiklik gözlenmemiştir. Gümüş katkısının etkisi 700°C için Şekil 3.22 :, Şekil 3.23 :, Şekil 3.24 : ve Şekil 3.25 :’da açıklanmaktadır. Ve 1100°C için gümüş katkısının etkisi Şekil 3.26 :, Şekil 3.27 :, Şekil 3.28 : ve Şekil 3.29 :’da açıklanmaktadır.



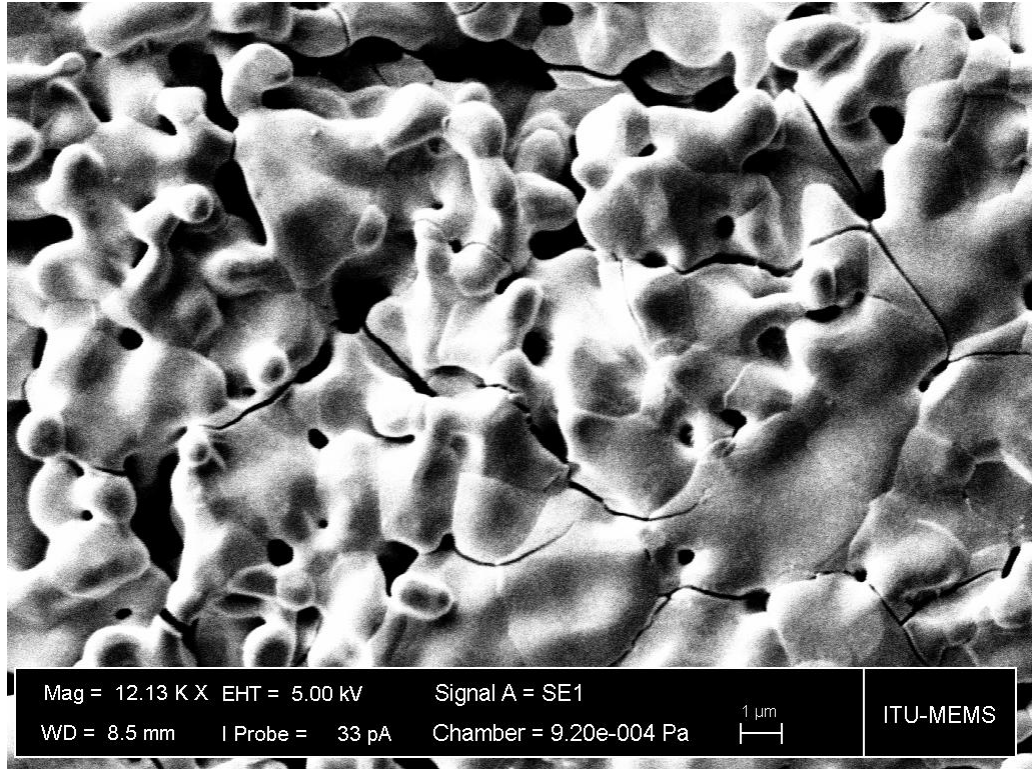
Şekil 3.17 : Ag₂-HA için 500°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü



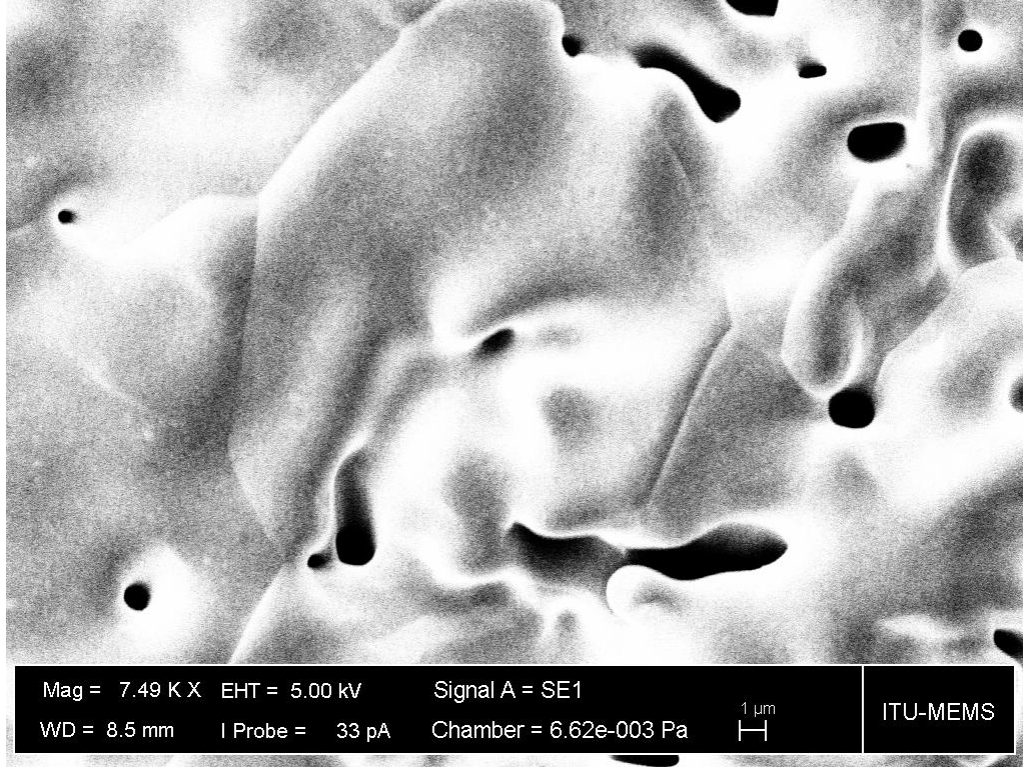
Şekil 3.18 : Ag₂-HA için 700°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü



Şekil 3.19 : Ag2-HA için 900°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü



Şekil 3.20 : Ag2-HA için 1100°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü

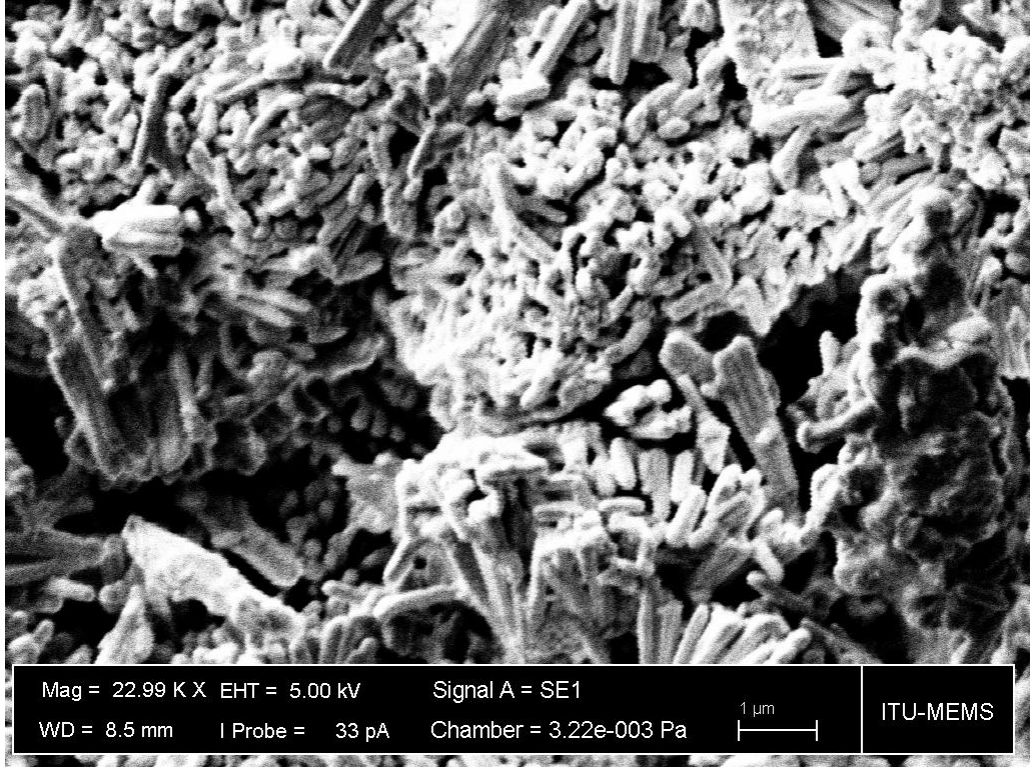


Şekil 3.21 : Ag2-HA için 1300°C sinterleme sıcaklığına göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüsü

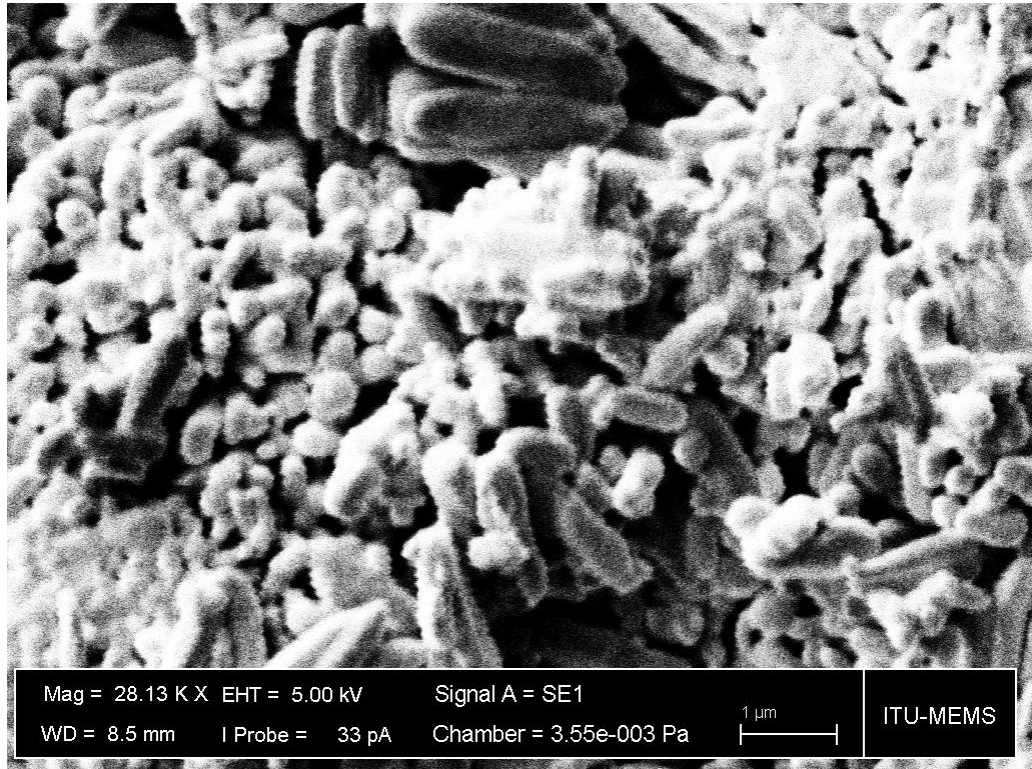
Şekil 3.22 :, Şekil 3.23 :, Şekil 3.24 : ve Şekil 3.25 :’de gümüş katkısı ile iğnesel prizmatik tanelerin en-boy oranındaki değişimler görülmektedir. İğnesel tanelerin ortalama en-boy oranı değerleri Çizelge 3.4 :’de görülmektedir. Gümüş katkısının artması ile en-boy oranı değerleri artmıştır. Bunun sebebinin gümüş katkısı ile kristal kafes yapısındaki değişimler olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 3.4 : 700°C SEM görüntülerinde görülen iğnesel yapıların En/Boy oranı değerlerini veren çizelge

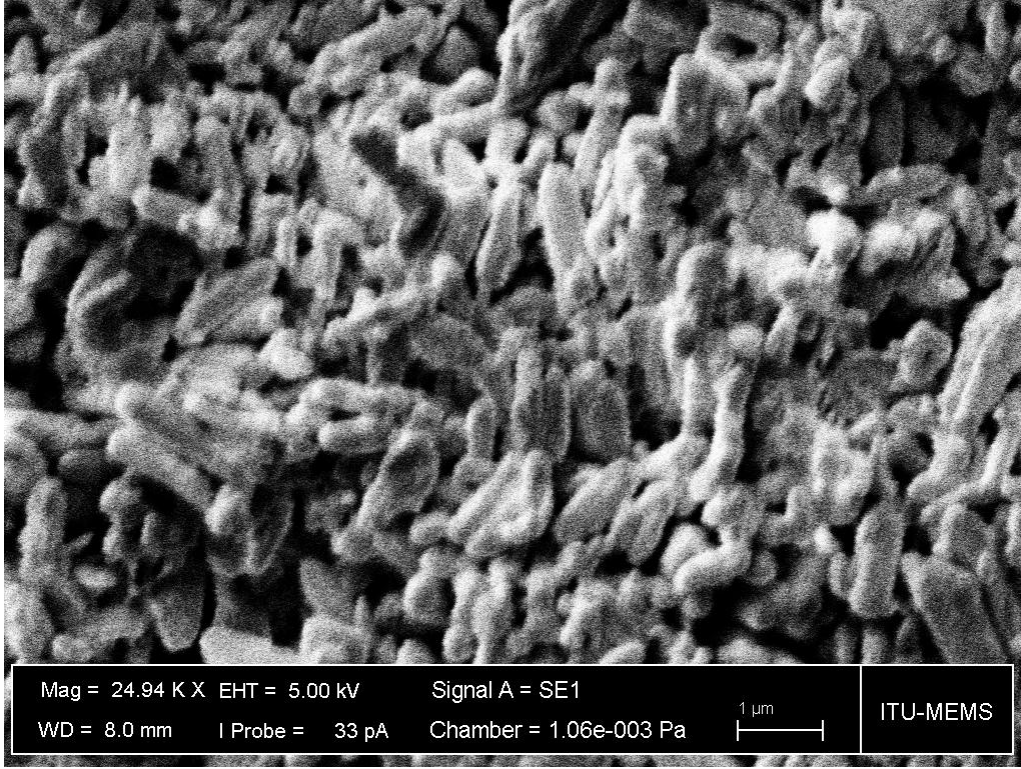
Numune Adı	En/Boy Oranı
Ag0-HA	0.057
Ag0,5-HA	0.275
Ag2-HA	0.405
Ag5-HA	0.545



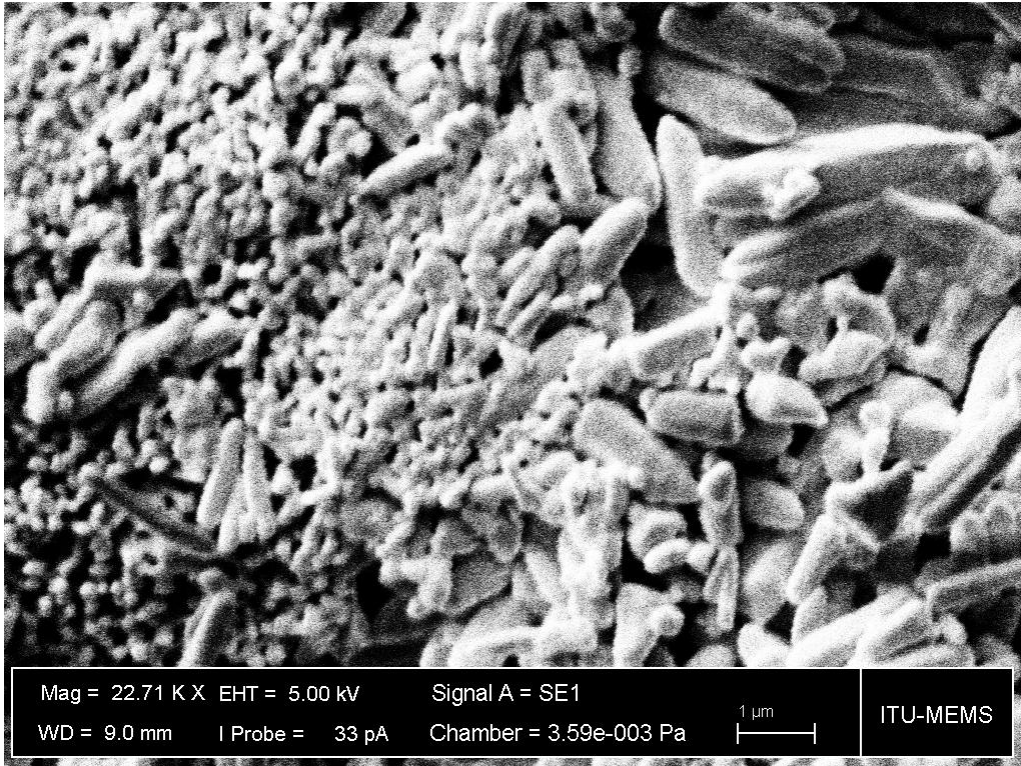
Şekil 3.22 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag0-HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri



Şekil 3.23 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag0,5-HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri

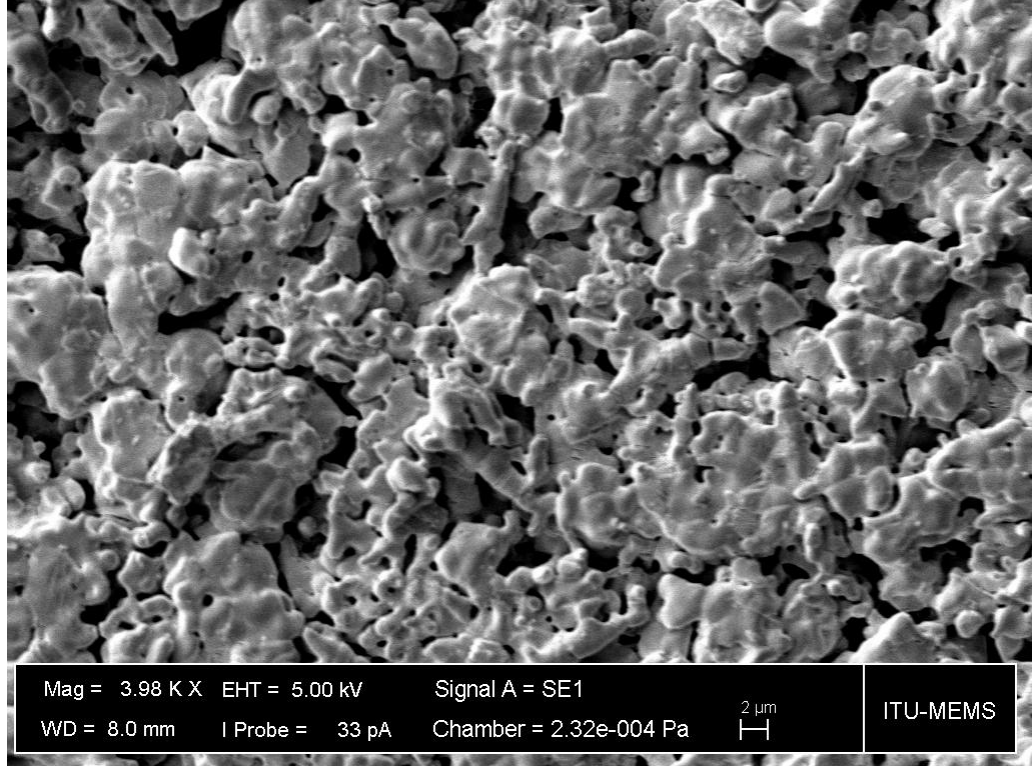


Şekil 3.24 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag₂-HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri

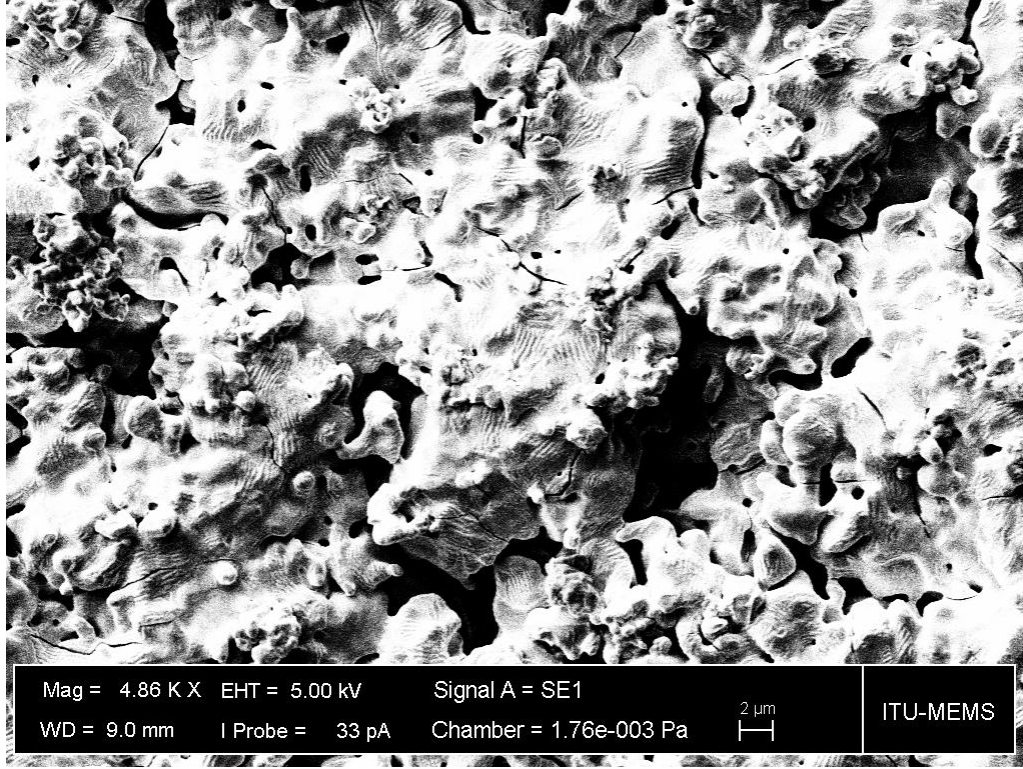


Şekil 3.25 : 700 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag₅-HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri

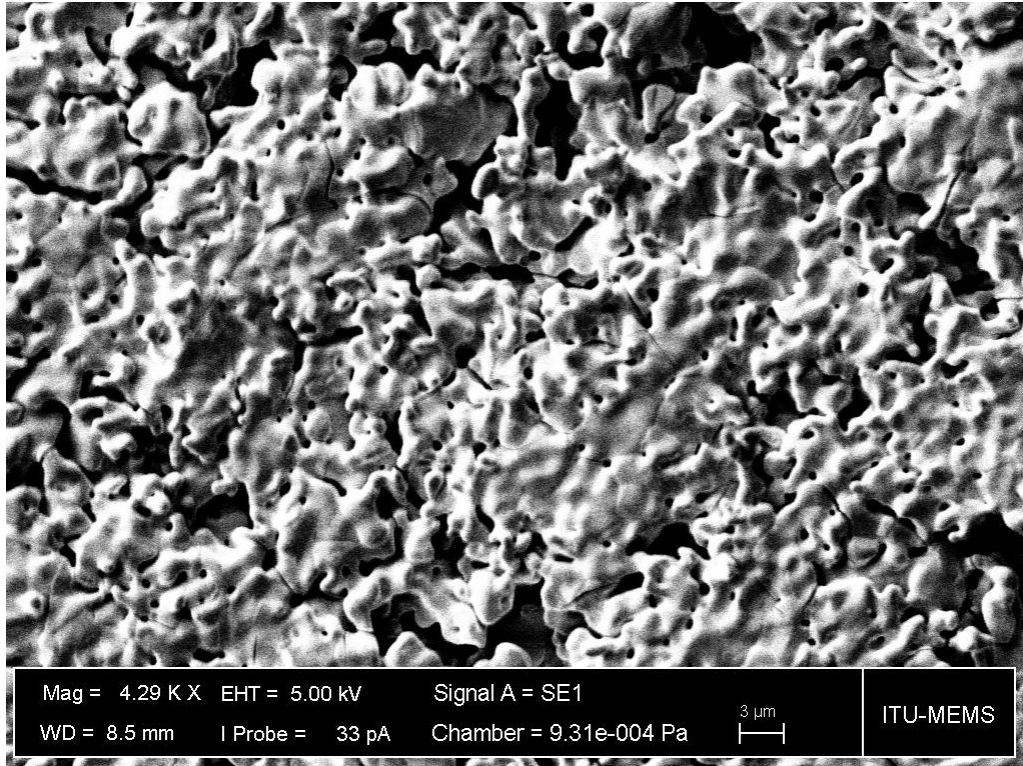
Şekil 3.26 :, Şekil 3.27 :, Şekil 3.28 : ve Şekil 3.29 :’da gümüş katkısının sinterleme sonrasındaki etkileri görülmektedir. EDTA şelat dekompozisyonu ile biriktirme yönteminde gümüş katkısı HA yapısında porların azalması, tane büyümesi ve yuvarlaklaşması etkisi yapmıştır, sinterlenebilirlik artmıştır.



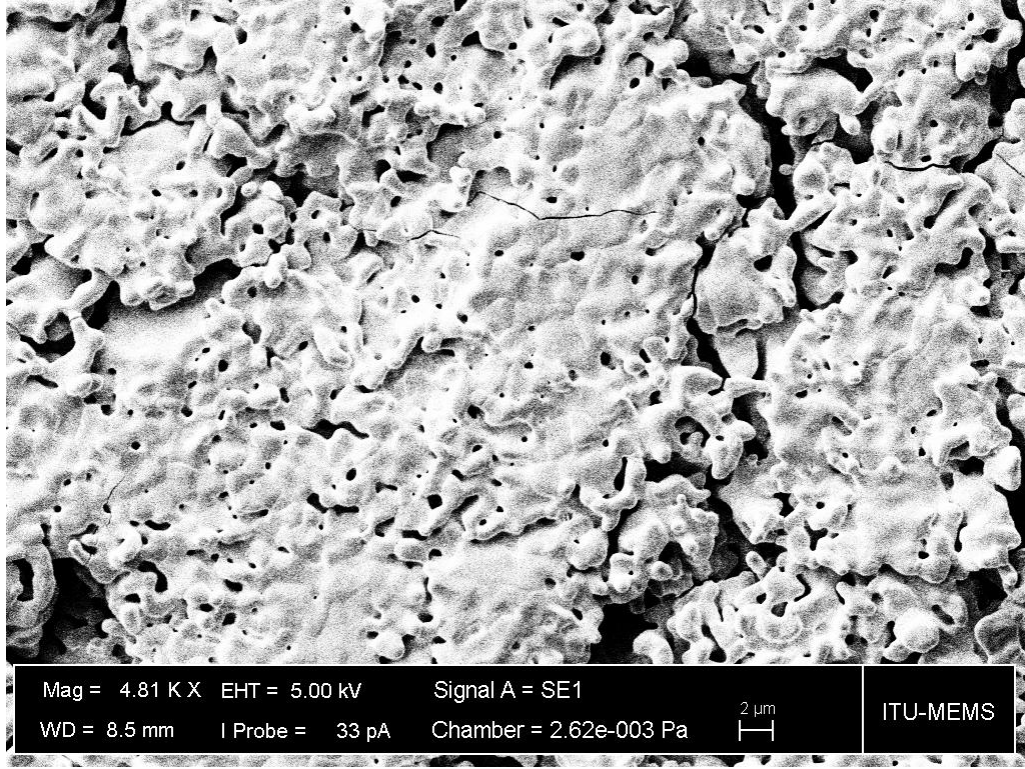
Şekil 3.26 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag₀-HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri



Şekil 3.27 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag_{0,5}-HA, için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri

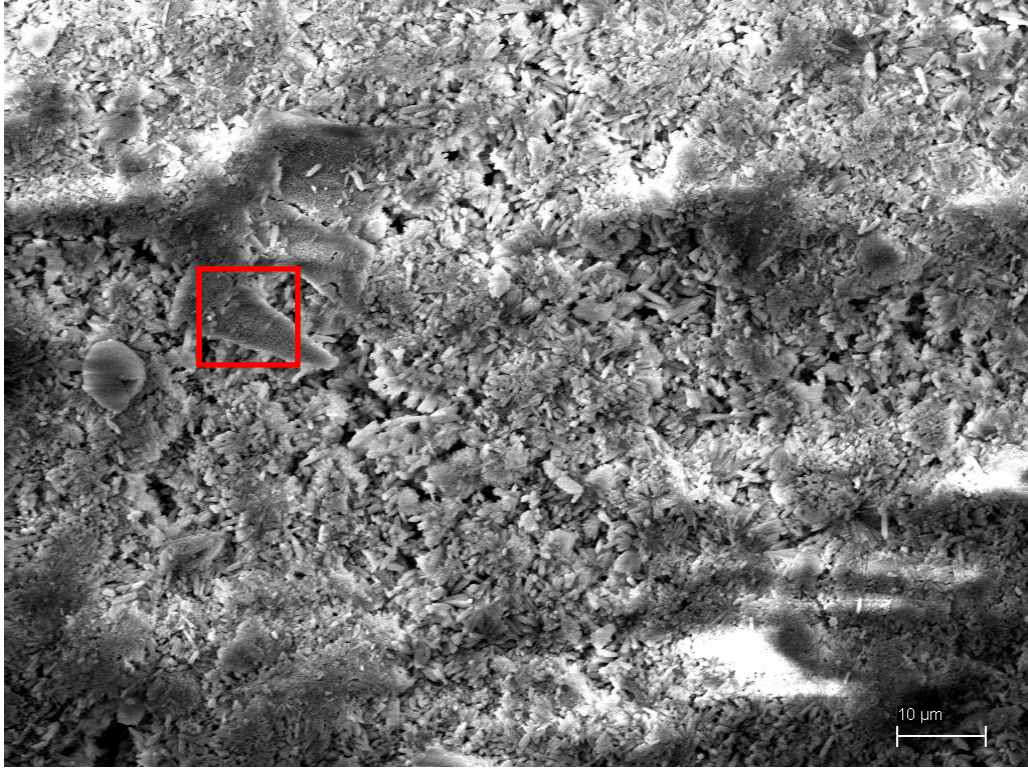


Şekil 3.28 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag₂-HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri

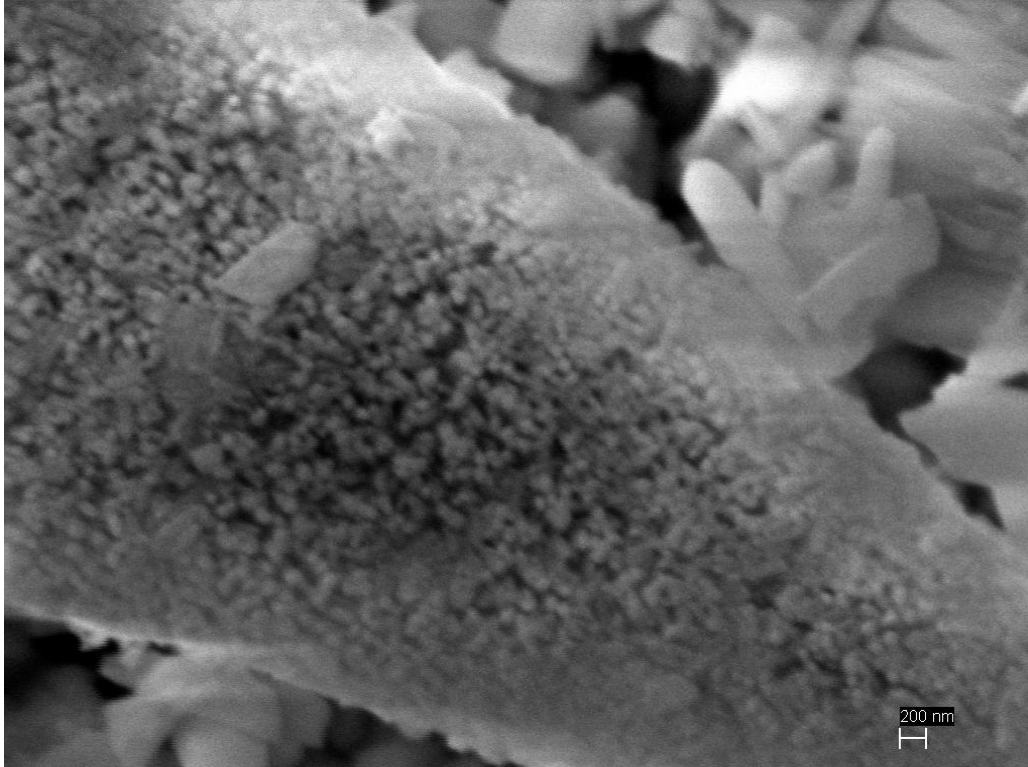


Şekil 3.29 : 1100 °C’de havada 2 saat sinterlenen Ag5-HA için değişen Ag kompozisyonuna göre yapısal farklılıkları gösteren SEM görüntüleri

Şekil 3.30 :’deki kare ile gösterilen detayda 900°C’de sinterlenen Ag5-HA için nanoyapı oluşumları görüntülenmiştir.

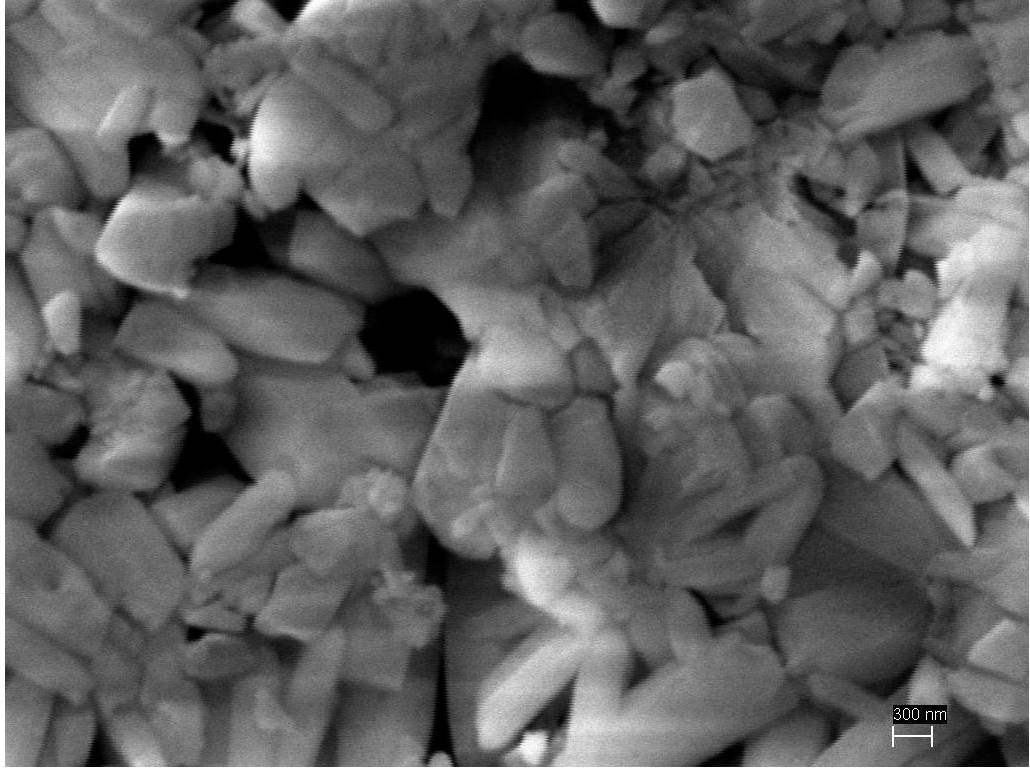


(a)



(b)

Şekil 3.30 : 900°C’de sinterlenen Ag5-HA’ için nanoyapı oluşumlarını gösteren SEM görüntüsü. (a) Geniş alan görüntüsü, (b) a’da kareyle gösterilen detay



Şekil 3.31 : 900°C’de sinterlenen Ag5-HA’ için kristal oluşumlarını gösteren SEM görüntüsü

SEM görüntülerinden sıcaklıkla yapının nasıl değiştiği ve gümüş katkısı ile yapının nasıl değiştiği hakkında bilgiler elde edildi. EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile Ag0-HA numunesi için sinterleme esnasında 500°C, 700°C ve 900°C’ye kadar prizmatik iğnesel tanelerden oluşan yapılar gözlemlendi

1100°C ve 1300°C ye çıkıldığında sinterlenmiş yapı oluşmuştur. Bu çıkarımlar literatürde HA sinterlenebilmesi için en uygun sıcaklığın 1100°C olduğu bulgularıyla desteklenmektedir. Ag0,5-HA, Ag2-HA, Ag5-HA yapısındaki numune sinterleme esnasında farklı sıcaklıklarda Ag0-HA numunesine benzer oluşumlar göstermiştir.

1100 °C’ye ulaşıldıktan sonra sinterlenme sağlanmış ve poroz taneler oluşmuştur. Gümüş katkısı ile iğnesel yapıda oluşan kristal tanelerinin en/boy oranı artmıştır iğnesel uçlarda yuvarlaklaşma görülmüştür. 700°C SEM görüntülerinde görülen iğnesel yapıların En/Boy oranı değerleri Çizelge 3.4 :’da görülmektedir. Gümüş katkısı arttıkça sinterlenen yapı daha homojen hale gelmiştir. Sinterlenen yapıda porlarda azalma görülmüştür.

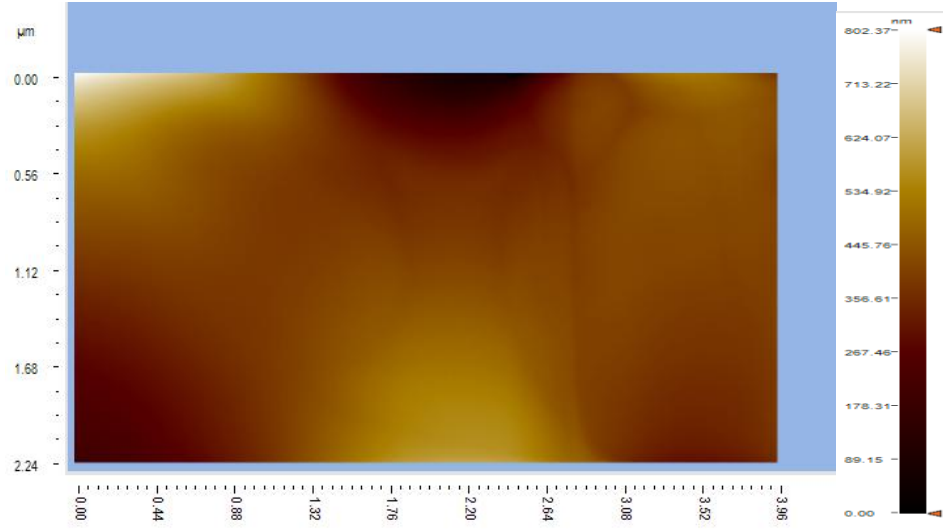
EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile gümüş yapıya katkılanabilmiştir. EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile gümüş katkılандığında hegzagonal kristal yapıda iğnesel taneler biriktirilmiştir. Kristal oluşumu esnasında enerji minimizasyonu için bazal düzlemlerin adımlar oluşturarak küçülmesi, gümüş katkısının artması ile iğnesel tane yapısında en/boy oranında artma görülmüş, bazal düzlemlerde yuvarlaklaşma gözlemlenmiştir. EDTA şelat dekompozisyonu ile biriktirme yönteminde gümüş katkısı HA yapısında porların azalması, tane büyümesi ve yuvarlaklaşması etkisi yapmıştır, sinterlenebilirlik artmıştır.

3.4.3 Atomik kuvvet mikroskobu ile karakterizasyon

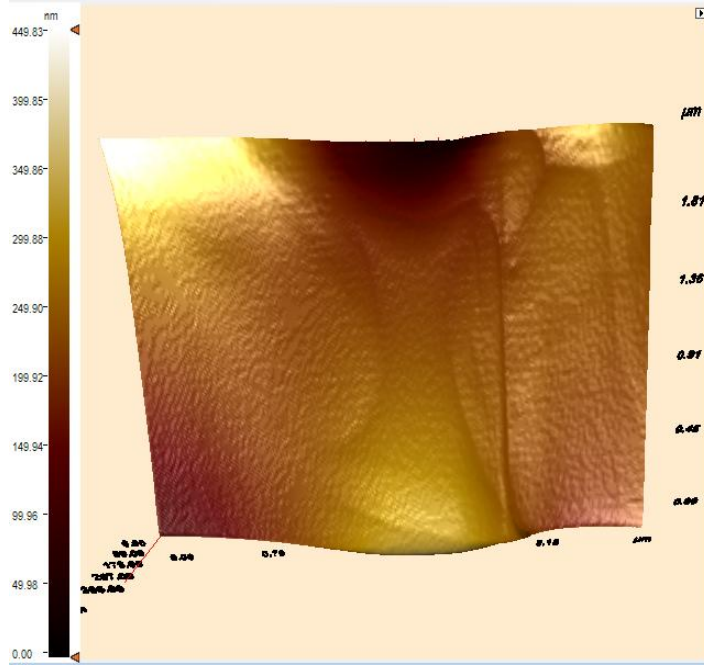
AFM topografi verilerinden adımsal kristal oluşumları gözlenmiştir. HA kristalleri birbiri üzerinde adımsal yapılar oluşturarak büyümüştür, örneğin birçok kristal düz bir taneyi meydana getirdiğinde bu tane üzerinde yeni oluşacak HA kristali önce birbirini tekrar eden teraslı yapılar oluşturmuş sonra yeni tane oluşumuna geçmiştir. Bunun nedeninin kristal oluşumu esnasında enerji minimizasyonu için yüzey alanını küçültmek için yaptığı sanılmaktadır. Bu durum gümüş katkılı numunelerde de benzer şekildedir. Çizelge 3.5 :’de bulunan pürüzlülük verileri incelendiğinde Ag₀-HA numunesinin ortalama pürüzlülük değeri diğer numunelerden fazladır. Gümüş katkısı ile pürüzlülük değerlerinde belirgin azalma görülmüştür. Faz görüntüleri incelendiğinde yapıda birden fazla faz olduğu görülmektedir. XRD verilerini destekleyen bu sonuca göre farklı kontrastta görülen bölgeler farklı fazları içermektedir (örn. HA, NaCaPO₄ veya Ag₂O). Şekil 3.30 :’de kare içerisinde görülen detaya göre HA kristal taneleri üzerinde yaklaşık 80 nm boyutta dağılım gösteren nanoyapılar mevcuttur. Bu yapıların tepeden görünen nanokolonlar olduğu düşünülmektedir. Bu nanoyapılar diğer örnekler için de tesbit edilmiştir. Bu durum EDTA şelat yöntemi ile HA üretmenin karakteristiği olarak görülebilir. Biyouyumluluk özellikleri açısından yüzeyleri nanoyapı oluşumu gösteren malzemeler vücut ortamında hücre-malzeme etkileşiminde hücrelerin yüzeye yapışmasını ve büyümesini hızlandırırlar.

Çizelge 3.5 : Ag0-HA, Ag0,5-HA, Ag2-HA ve Ag5-HA ortalama pürüzlülük verileri

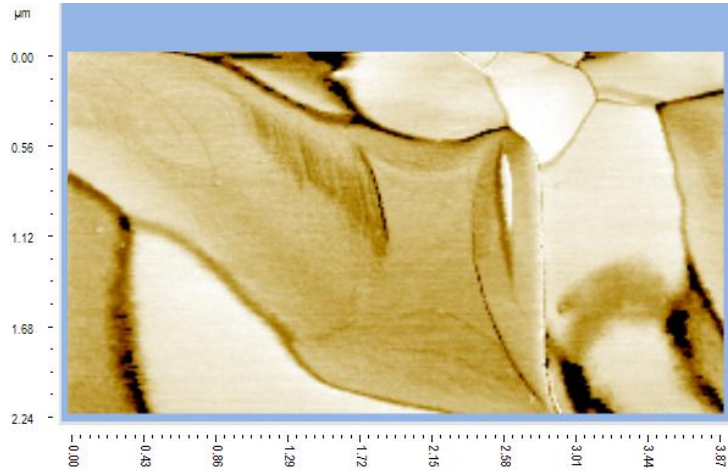
RMS (Ortalama Pürüzlülük)	nm
Ag0-HA Ortalama Pürüzlülük	3455,648 nm
Ag0,5-HA Ortalama Pürüzlülük	1955,52 nm
Ag2-HA Ortalama Pürüzlülük	66,9344 nm 0,088 nm (detay kısmı)
Ag5-HA Ortalama Pürüzlülük	102,9194 nm



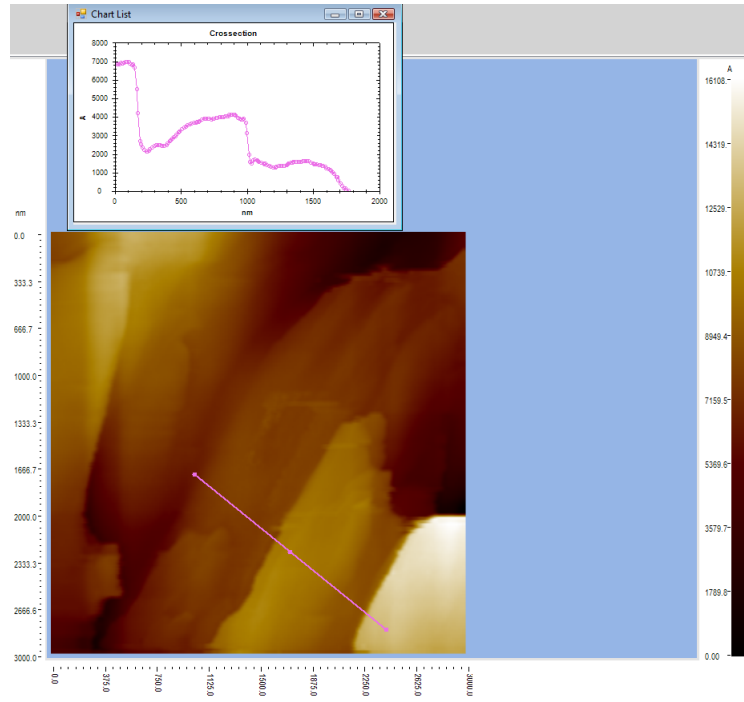
Şekil 3.32 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag0-HA numunesi için AFM topografi



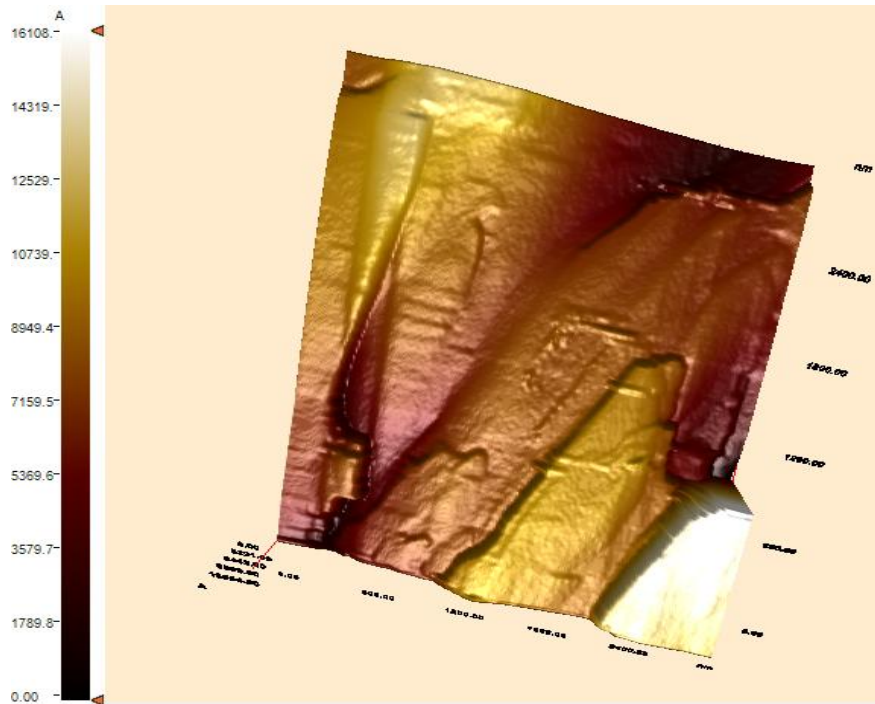
Şekil 3.33 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag0-HA numunesi için AFM 3D görüntü



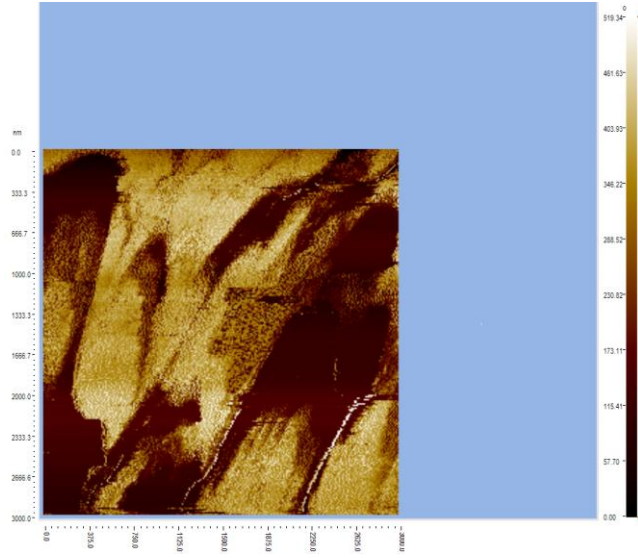
Şekil 3.34 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag0-HA numunesi için AFM Faz görüntüsü



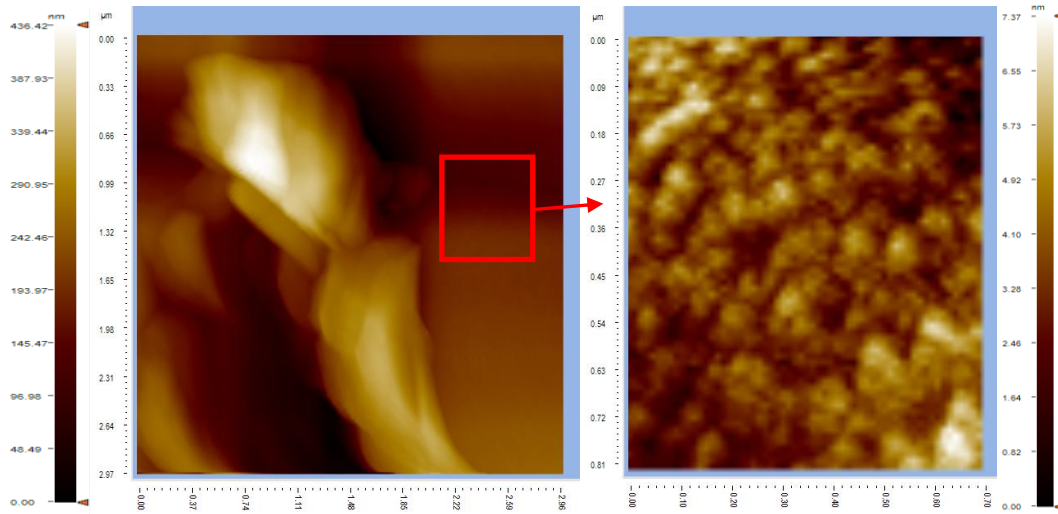
Şekil 3.35 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag_{0,5}-HA numunesi için AFM topografi



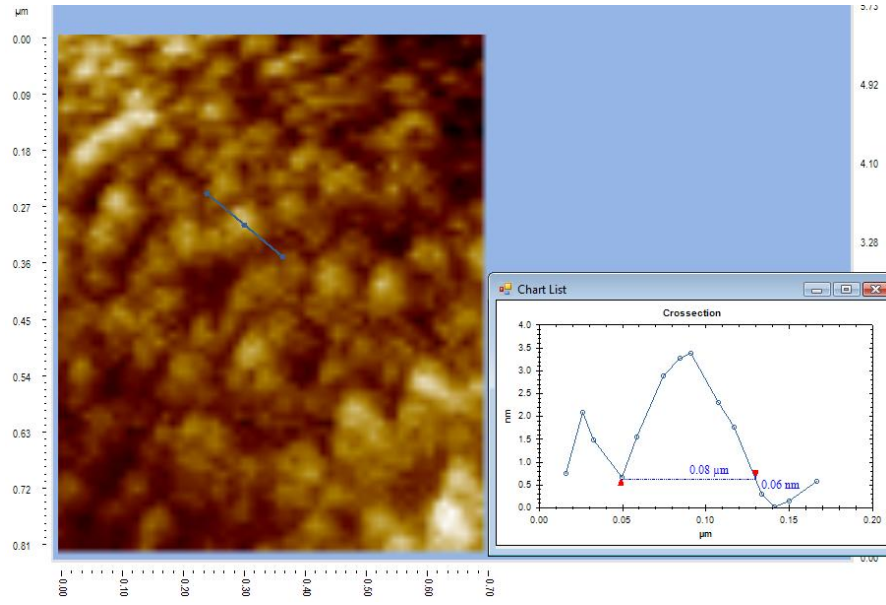
Şekil 3.36 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag_{0,5}-HA numunesi için AFM 3D görüntü



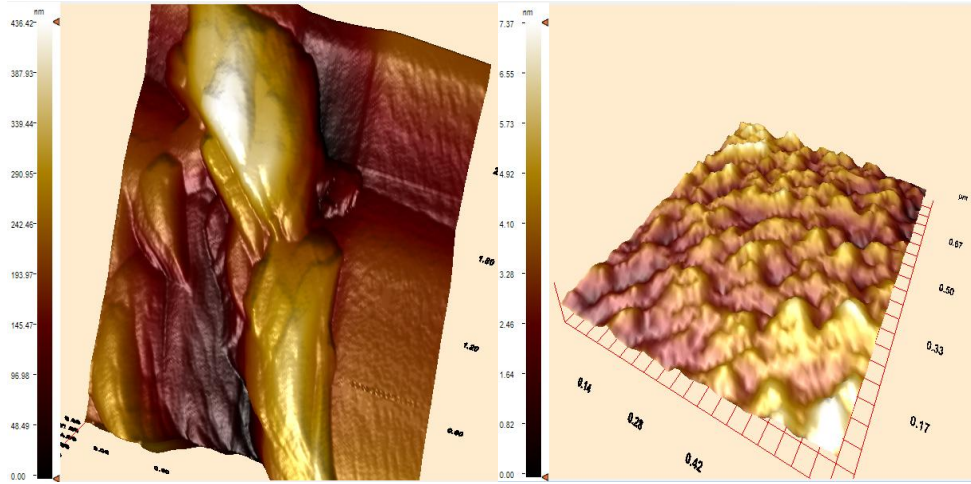
Şekil 3.37 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag_{0,5}-HA numunesi için AFM Faz görüntüsü



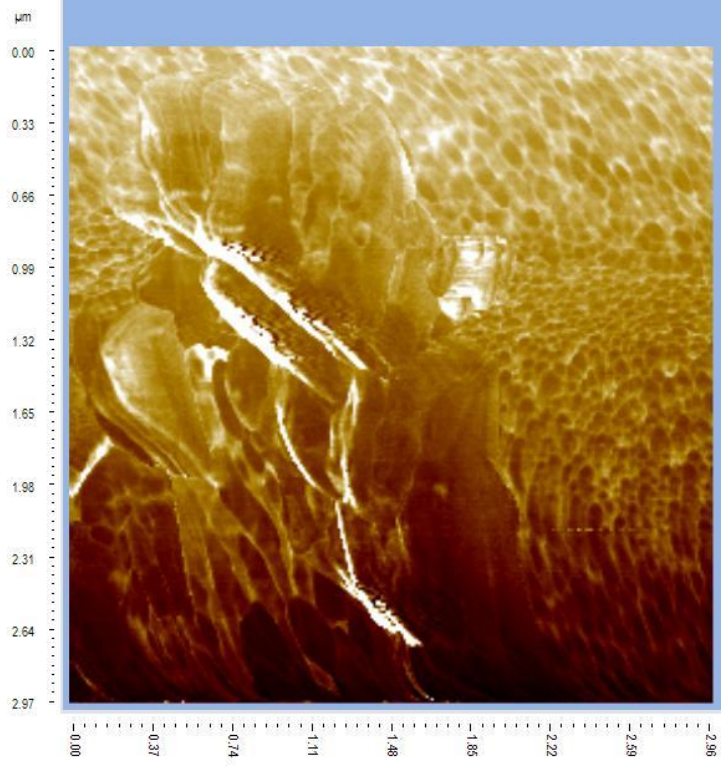
Şekil 3.38 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag₂-HA numunesi için AFM topografi



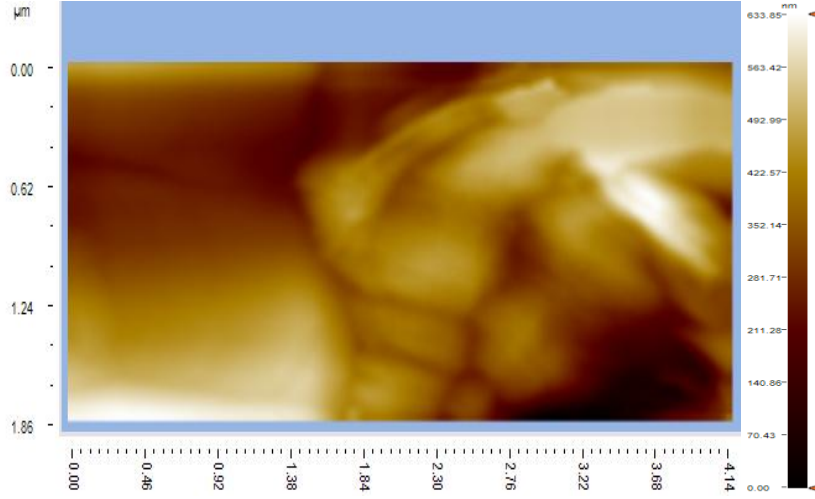
Şekil 3.39 : Ag₂-HA numunesi detay kısımdaki yükseltelerin çizgi boyunca grafiği



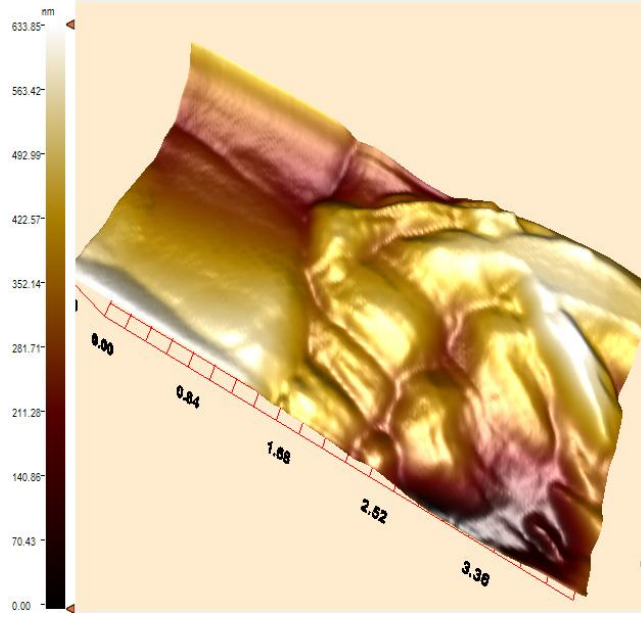
Şekil 3.40 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag₂-HA numunesi için AFM 3D görüntü



Şekil 3.41 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag2-HA numunesi için AFM Faz görüntüsü



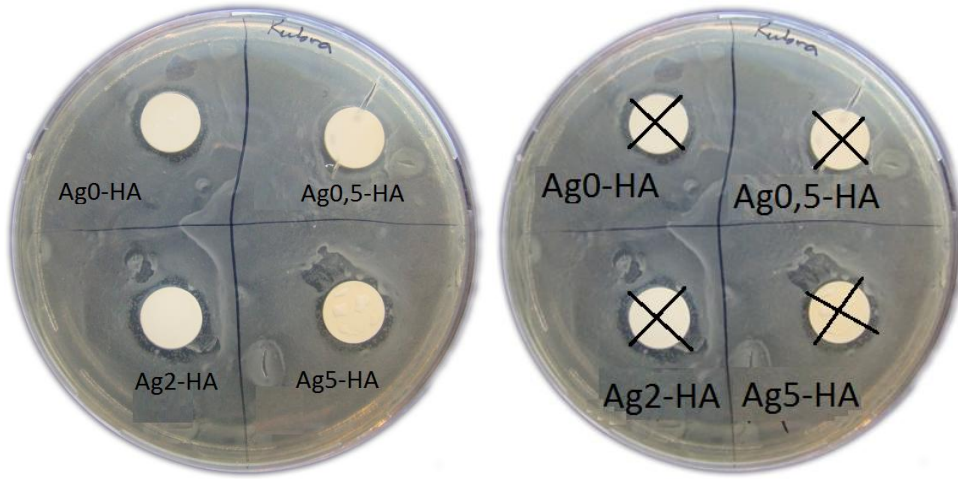
Şekil 3.42 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag5-HA numunesi için AFM topografi



Şekil 3.43 : 1100°C’de 2 saat havada sinterlenen Ag5-HA numunesi için AFM 3D görüntü

3.4.4 Disk difüzyon testi ile karakterizasyon

Gümüş katkılı hidroksiapatit numunelerinin antibakteriyel özellikleri disk difüzyon testi ile incelendi. Bakterilerin çoğalabileceği sıvı besi ortamında (LB besi ortamı) 37°C’de 5 ml bakteri kültürü oluşturuldu. Daha sonra bu bakterilerden steril koşullarda 100 µL E. coli (BL 21) OD600 = 2.1 yoğunlukta içinde agar ihtiva eden petri kabına inoküle edildi. Ekim drigalski öze aracılığıyla petri kabına yapıldı. E. Coli ekildikten sonra petri etüvde 1 saat kurutuldu. Petrinin 4 ayrı bölgesine test edilmek istenen numune diskleri eklendi (birbiri arasında 22 mm ve petri kabı duvarlarına 14 mm’den uzak konulmalıdır). 24 saat 37°C da inkübe edildi. Ekimden 24 saat sonra test edilen bakteri çevresinde inhibisyon zonunda E.Colinin üreyemediği alan ölçülerek göreceli olarak antibakteriyellik özelliği yorumlandı.



Şekil 3.44 : Disk difüzyon testi sonucunda numune çevrelerinde oluşan inhibisyon zonları

İnhibisyon zonları ve numune çapları kumpas yardımı ile ölçüldü. Ölçülen inhibisyon zonlar numunelerin içerdikleri gümüş oranıyla doğru orantılıdır. İnhibisyon zonu verileri Çizelge 3.6 :’de görülmektedir.

Çizelge 3.6 : Numune etrafında oluşan inhibisyon zonu verileri

Numune	Ag Katkısı	Bakterilerin Etki Etmediği Mesafe (mm)
Ag0-HA	%0	2,43
Ag0,5-HA	%0,5	3,02
Ag2-HA	%2	4,45
Ag5-HA	%5	5,05

Bu yöntemde numune yüzeyinden Ag iyonları difüzyonu esastır. Bakterilerin bulunduğu katı besi ortamına Ag iyonları difüze olarak bakterilerin etki alanını azaltmıştır. Hiç gümüş içermeyen N1 numunesinin çevresinde bakterilerin büyümemesinin nedeni inorganik yapıda olması ve yeterli besin içermemesidir. Gümüş içeren numunelerde 37°C’de 24 saat inkübasyon sonrası; gümüş oranının artması ile numune çevresinde oluşan bakteri bulunmayan bölgenin çapı artmıştır yani bakterilerin etki alanı azalmıştır. Gümüş oranının artması ile Hidroksiapatit (HA) malzemesinin antibakteriyellik özelliği göreceli olarak artmıştır.

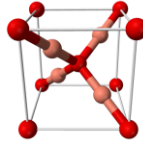
4. GENEL SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında yapılan araştırmalar ve deneyler sonucunda şu sonuçlara ulaşılmıştır:

EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile HA yapısına %0,5-5 oranlarında gümüş katkısı yapılması mümkün gözükmemektedir. Bu uygulamada Ag^+ iyonları HA kristal yapısına girmemiş fakat yapıda Ag_2O fazını oluşturup HA tozları ile birlikte çökelmiş ve süzme, kurutma işlemlerinden sonra preslenerek sinterlenen numunelerin yapısında kalmıştır.

Gümüş Oksit (Ag_2O) fazını daha detaylı şekilde açıklamak gerekirse bu faz kübik kristal sisteminde ve Pn-3m uzay grubundadır. Yoğunluğu $7,24 \text{ (g/cm}^3\text{)}$, kafes parametreleri ise a: $4,7360 \text{ Å}$, b: $94,7360 \text{ Å}$, c: $4,7360 \text{ Å}$ 'dur.

280°C 'de $Ag_2O \rightarrow 2Ag + O$ reaksiyonuna göre dekompozisyona uğrar. Şekil 3.45 : 'de Ag_2O mineralinin kristal yapısının şematik resmi görülmektedir [29].



Şekil 3.45 : Gümüş Oksit (Ag_2O) kristal yapısı şematik gösterimi [29]

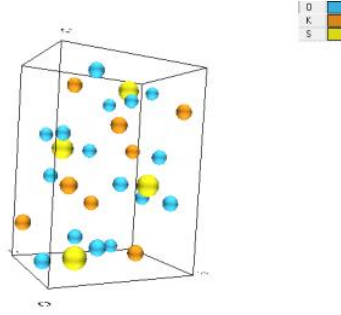
Ag_2O mukavemeti yüksek metalik bir faz olduğu için kalsiyum-fosfat fazlarının implante edildiği ortamda dayanımını arttırabilir. En önemli özelliği ise bakterilere karşı gösterdiği direnç ile implantasyondan sonra HA'e vücudun vereceği iltihaplanma gibi tepkileri azaltacak özelliklere sahip olmasıdır.

Bir diğer beklenmeyen faz ise $NaCaPO_4$ fazıdır. Bu faza tüm gümüş katkısı oranlarındaki numunelerde rastlanmıştır. $NaCaPO_4$ fazının oluşmasının sebebi $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$ bileşimindeki EDTA şelatından gelen Na^+ iyonlarının HA yapısına difüzyonu ile meydana geldiği düşünülmektedir.

Sodyum Kalsiyum Fosfat ($NaCaPO_4$) fazını daha detaylı şekilde açıklamak gerekirse mineral ismi Rhenanite olarak da adlandırıldığı ilk başta söylenmelidir. Bu faz

ortorombik kristal sisteminde ve Pnam 62 uzay grubundadır. Yoğunluğu 3,12 (g/cm³), kafes parametreleri ise a: 6,7970 Å, b: 9,1650 Å, c: 5,4060 Å'dur.

650°C'de α -formuna dönüşüm gösterir. Literatürde NaCaPO₄'e ait kristal yapının şematik resmi bulunmamaktadır. Bu faz β -K₂SO₄ minerali ile eşyapılıdır. Aşağıdaki şekilde NaCaPO₄ ile eş yapıya sahip β -K₂SO₄ mineralinin kristal yapısının şematik resmi görülmektedir [29].



Şekil 3.46 : NaCaPO₄ ile eşyapılı β -K₂SO₄ mineralinin kristal yapısı şeması [29]

Bu veriler X-pert high score plus programında varolan bilgilerden derlenmiştir. *The International Centre for Diffraction Data (1992)* veritabanı bilgilerini içerir [29].

NaCaPO₄ yüksek biyoyumluluk ve biyoaktiflik gösteren bir kalsiyum-fosfat fazıdır. 1100°C'de HA'in sinterlenebilirliğini geliştirir, NaCaPO₄ varlığında HA yapısında sinterleme esnasında TCP veya CaO gibi istenmeyen fazlar oluşmaz. HA'in biyoyumluluğunu ve dayanımını arttıracak şekilde kompozit biyomalzeme yapımına uygun bir fazıdır. Ayrıca HA'in dekompozisyonuna (ayrışmasına) neden olmaz dahası efektif bir sinterleyici ajandır. Literatürde yapılan çalışmalara göre sinterlenmiş β -NaCaPO₄ parçasının in-vivo biyoçözünme hızı HA'ten daha fazladır fakat β -TCP'den daha azdır. Fakat β -NaCaPO₄ partikülleri diş soketlerinde implante edilmesinden 6 ay sonra kadar emilim göstermezler fakat tamamen HA'e dönüşürler [30].

Isıl işlem sıcaklığı 800°C'den büyük olduğu durumlarda çok az bir Na⁺ iyonunun sentetik HA yapısının içine katılmasından dolayı (CaNaPO₄) fazı görülebilir. CaHPO₄, CaCO₃ ve Na₂CO₃ karışımları 800°C ve 1000°C'de ısıtıldıklarında Na⁺ iyonlarının whitlockite ve apatit yapısına difüze olabileceği belirtilmiştir. Isıl işlem sıcaklığı arttıkça HA yoğunluğu azalır, NaCaPO₄ fazı yoğunluğu artar. Ortamda CaCO₃ varlığı HA oluşumunu tetiklerken, NaCaPO₄ fazı oluşumunu da hızlandırır.

Kafes parametrelerine bakıldığında NaCaPO_4 fazı HA yapısında olduğunda a kafes parametresi değeri azalırken c kafes parametresi değeri artar [30-32] .

HA kristal kafesi yapısında fosfat iyonlarının yerleşimi kalsiyum atomlarına iki farklı yerleşim yeri sağlar. Kristal kafeste karbonat türlerinin yapıya katılması ise fosfat yerlerine yada hidroksil grubu yerlerine olabilir. Bu faktörler HA malzemesine birçok arayer katılmasında çeşitli hata yapılarının oluşumlarında rol oynarlar. Tüm bu bilgilere ek olarak iyon çaplarına baktığımızda ; Ca ve Na iyon çapları arasındaki fark %15'ten azdır, böylece apatit yapısında Na iyonları Ca iyonları ile yer değiştirebilir. Bu durumda bizim hazırladığımız gümüş katkılı HA numunelerde NaCaPO_4 fazının oluşma nedenleri için birkaç sav önerilebilir. Solüsyonlardaki Na HA yapısına difüze olmuş olabilir yada tam tersi HA yapısındaki Ca oluşum esnasında solüsyona difüze olmuş olabilir. Ca yerine Na atomları oturmuş olabilir. Ya da Na-Ca arasında iyon değişim reaksiyonu olmuş olabilir. Ca fakir, Na zengin HA taneleri işlemler sırasında NaCaPO_4 fazına dönüşmüş olabilir [30-32].

Hidrotermal EDTA şelat biriktirme yöntemi ile üretilen gümüş katkılı HA kristalleri hegzagonal prizmatik şekilde iğnesel tanelerdir. Gümüş katkısının artması ile iğnesel tane yapısında en/boy oranında artma görülmüş, bazal düzlemlerde yuvarlaklaşma gözlemlenmiştir. EDTA şelat dekompozisyonu ile biriktirme yönteminde gümüş katkısı HA yapısında porların azalması, tane büyümesi ve yuvarlaklaşması etkisi yapmıştır, sinterlenebilirlik artmıştır.

Bu yöntem sonucunda oluşan taneler karakteristik teras oluşumu göstermiştir ve bu adımsal yapı oluşumlarının nedeni enerji minimizasyonu için kristal yüzey alanını küçültme gereğidir.

HA tanelerinin yüzeylerinde 80 nm çapında nanoyapılar oluşmuştur. Bu yapıların tepeden görünen nanokolonlar olduğu düşünülmektedir. Bu nanoyapılar diğer örnekler için de tesbit edilmiştir. Bu durum EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile HA üretmenin karakteristiği olarak görülebilir. Bu yapıların HA malzemesinin biyoyumluluğunu arttırabileceği düşünülmektedir. Çünkü biyoyumluluk özellikleri açısından yüzeyleri nanoyapı oluşumu gösteren malzemeler vücut ortamında hücre-malzeme etkileşiminde hücrelerin yüzeye yapışmasını ve büyümesini hızlandırırlar.

XRD verilerini destekleyen AFM faz görüntülerinde farklı kontrastta görülen bölgeler farklı fazları içermektedir (örn. HA, NaCaPO_4 veya Ag_2O).

Topografi verilerinden adımsal kristal oluşumları gözlenmiştir. HA kristalleri birbiri üzerinde adımsal yapılar oluşturarak büyümüştür, örneğin birçok kristal düz bir taneyi meydana getirdiğinde bu tane üzerinde yeni oluşacak Ha kristali önce birbirini tekrar eden teraslı yapılar oluşturmuş sonra yeni tane oluşumuna geçmiştir.

Gümüş oranının artması ile Hidroksiapatit (HA) malzemesinin antibakteriyellik özelliği göreceli olarak artmıştır. E. Coli bakterisi gram-negatif bir bakteridir, rastlanan enfeksiyonların %80'i gram-negatif bakterilerin meydana getirdiği enfeksiyonlardır. Bu çalışma sonucunda Gümüş katkılı HA malzemesinin gram-negatif bakteri ailesinin en yaygın türü olan E. Coli'ye direnç geliştirdiği gözlenmiştir. Gümüş katkısının artması ile bu direnç lineer olarak artmaktadır.

Elde edilen veriler biyomühendislik alanında implantasyon sonrası oluşan ve implantasyonun başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olan enfeksiyon hasarını önleme çalışmalarına katkı sağlamaktadır. Hidroksiapatit biyomalzemesinin üretimi esnasında oluşan CaNaPO_4 (Rhenanite) ve Ag_2O fazları in-vitro biyolojik prosesslerdeki hücre etkileşimlerinin incelenmesine katkı sağlayacaktır.

EDTA şelat dekompozisyonu yöntemi ile oluşturulan Ag katkılı HA malzemelerin biyolojik özellikleri ilerleyen çalışmalarda daha detaylı bir şekilde incelenecektir. Çalışmanın devamında biyoyumluluk testleri yapılması planlanmaktadır. Osteoblast hücreleri ile in-vitro biyoyumluluk testleri ile, hücre canlılık (MTT Assay), Alkalen Phosphate değerleri, NO (Nitric oxide) değerleri ve hücre yapışması gibi özellikler incelenecektir.

KAYNAKLAR

- [1] **Hench, L. L.**, 1991: J. Am. Ceram. Soc., **74**, 1487–1510.
- [2] **Lavernia, C., Schoenuna, J. M.**, 1991: J. Am. Ceram. Soc. Bull. **70**, 95.
- [3] **Klein, C. P. A. T., Wolke, J. G. C., Vrisde, R. C., Blieck-Hogervorst and J. M. A.**, 1994: J. Mater. Sci. Mater. Med., **5**, 569.
- [4] **Hanker, J. S., Gimmara, B. L.**, 1998: Science, **242**, 885.
- [5] **Constantz, B. R., Ison, I. C., Fulmer, M. T., Poser, R. D., Smith, S. T., Van wagoner, M., Ross, J., Goldstein, S. A., Jupiter and J. B., Rosenthal, D. I.**, 1995: Science, **267**, 1796.
- [6] **Anee, T. K., Ashok, M., Palanichamy, M., Narayana Kalkura, S.**, 2003: A novel technique to synthesize hydroxyapatite at low temperature, Materials Chemistry and Physics, **80**, 725–730.
- [7] **Diaz, M., Barba, F., Miranda, M., Guitian, F., Torrecillas, R., and Moya, J. S.**, 2009: Synthesis and Antimicrobial Activity of a Silver-Hydroxyapatite Nanocomposite, Journal of Nanomaterials, doi: 10.1155/2009/498505.
- [8] **Gümüşderelioğlu, M., Prof. Dr.**, 2002: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü,
<<http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bdergi/yeniufuk/icerik/biyomalzemeler.pdf>>, 26.04.2011.
- [9] **Kim, T. N., Feng, Q. L., Kim, J. O., Wu, J., Wang, H., Chen, G. C., Cui, F. Z.**, 1998: Antimicrobial effects of metal ions (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+}) in hydroxyapatite, J. Mater. Sci.: Materials In Medicine, **9**, 129-134.
- [10] **Ratner, D. B., Hoffman, S. A., Schoen, J. F. and Lemons, E. J.**, 1996: Biomaterials science-An introduction to materials in medicine, Academic Press, California.
- [11] <<http://www.nanoenarge.com/sayfa.asp>>, 26.04.2011.
- [12] <<http://www.saglikkaynagi.net/arjiri-gumus-zehirlenmesi>>, 26.04.2011.
- [13] **Dorozhkin, Sergey V.**, 2010: Bioceramics of calcium orthophosphates, Biomaterials, **31**, 1465–1485.
- [14] **Dorozhkin, Sergey V.**, 2009: Calcium orthophosphate-based biocomposites and hybrid biomaterials, J. Mater. Sci., **44**, 2343–2387.
- [15] **Dorozhkin, Sergey V.**, 2008: Calcium orthophosphate cements for biomedical application, 2008, J. Mater. Sci., **43**, 3028–3057.
- [16] **Dorozhkin, Sergey V.**, 2007: Calcium orthophosphates, J. Mater. Sci., **42**, 1061–1095.
- [17] **Dorozhkin, Sergey V.**, 2002, A Review on the Dissolution Models of Calcium Apatites, Crystal Growth and Characterization of Materials 45-61.
- [18] **Bahadır, A.**, 2008: Gümüş Katkılı Kalsiyum Fosfat Malzemelerden Karmaşık Mimarili Skafolt Fabrikasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

- [19] **Ergun, C., Webster, T. J., Bizios, R. and Doremus, R. H.** 2002: Hydroxylapatite With Substituted Magnesium, Zinc, Cadmium And Yttrium. I. Structure And Microstructure, *J. Biomed. Mater. Res.*, **59**, 305-311.
- [20] <<http://web.itu.edu.tr/ergunce/>>, 26.04.2011.
- [21] **Raynaud, S., Champion, E., Bernache-Assollant, D.**, 2002: Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio II. Calcination and sintering, *Biomaterials*, **23**, 1073–1080.
- [22] **Kaneda, K., Prof. Dr.**, <http://www.cheng.es.osaka-u.ac.jp/~kanedalabo/resarch_english.html>, 26.04.2011.
- [23] **Kwon, K. Y., Wang, E., Chung, A., Chang, N., Saiz, E., Choe, U. J., Koobatian, M., and Lee S. W.**, 2008: Defect Induced Asymmetric Pit Formation on Hydroxyapatite, *Langmuir*, **24**, 11063-11066.
- [24] <<http://www.chemistry.upatras.gr/studs/sotk/hap.htm>>, 26.04.2011.
- [25] **Ergun, C.**, 2008: Effect of Ti ion substitution on the structure of hydroxylapatite, *J. European Ceramic Society*, **28**, 2137–2149.
- [26] **Rabelo Neto, J. D. S.**, 2009: Nanostructured synthetic hydroxyapatite and dental enamel heated e irradiated by ER, Cr:YSGG. Characterized by FTIR and XRD, Master Tesis, IPEN – Nuclear and Energy Research Institute, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.
- [27] **Roeder, R. K., Converse, G. L., Leng, H. and Yue W.**, 2006: Kinetic Effects on Hydroxyapatite Whiskers Synthesized by the Chelate Decomposition Method, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 2096–2104.
- [28] **Yoshimura, M., Ioku, K., Okamoto, K. and Takeuchi, H.**, 1993: Apatite Whisker and Method for Preparation Thereof; U.S. Pat., No: 5227147.
- [29] The International Centre for Diffraction Data (1992).
- [30] **Suchanek, W., Yashima, M., Kakihana, M. and Yoshimura M.**, 1998: β -Rhenanite (β -NaCaPO₄) as Weak Interphase for Hydroxyapatite Ceramics, *J. European Ceramic Society*, **18**, 1923-1929.
- [31] **Groot, K. de**, 1983: *Bioceramics of Calcium Phosphate*, CRC Press, Boca Raton, FL, p. 11
- [32] **Shih, W., Chen, Y. F., Wang, M. C. and Hon, M. H.**, 2004: Crystal growth and morphology of the nano-sized hydroxyapatite powders synthesized from CaHPO₄·2H₂O and CaCO₃ by hydrolysis method, *Journal of Crystal Growth*, **270**, 211–218

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Kübra Çelik

Doğum Yeri ve Tarihi : 1987, Kütahya

Lise : Kütahya Fen Lisesi

Lisans Üniversite : Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü

Yüksek Lisans Üniversite : İstanbul Teknik Üniversitesi, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü