

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİBAKTERİYEL POLİKAPROLAKTON-
HİDROKSİAPATİT KOMPOZİT FİMLERİN ÜRETİMİ**

DOKTORA TEZİ

Ayşegül HOŞ

Enstitü Anabilim Dalı : **BİYOLOJİ**
Tez Danışmanı : **Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ**
Ortak Danışman : **Doç. Dr. Uğursoy OLGUN**

Haziran 2016

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


ANTİBAKTERİYEL POLİKAPROLAKTON-
HİDROKSİAPATİT KOMPOZİT FİMLERİN ÜRETİMİ

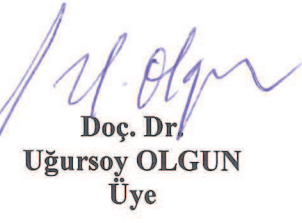
DOKTORA TEZİ

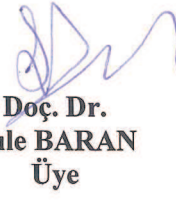
Ayşegül HOŞ

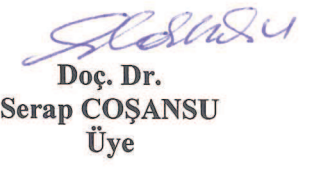
Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

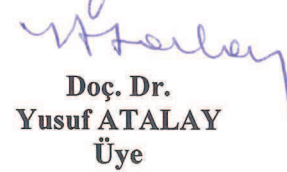
Bu tez 27/06/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



Yrd. Doç. Dr.
Kenan TUNÇ
Jüri Başkanı

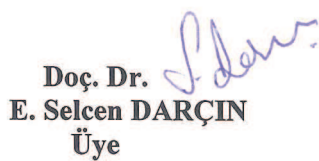

Doç. Dr.
Uğursoy OLGUN
Üye


Doç. Dr.
Şule BARAN
Üye


Doç. Dr.
Serap COŞANSU
Üye

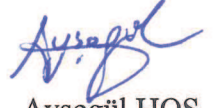

Doç. Dr.
Yusuf ATALAY
Üye


Doç. Dr.
Ayşe KAPLAN
Üye


Doç. Dr.
E. Selcen DARÇIN
Üye

BEYAN

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



Ayşegül HOŞ

27.06.2016

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca sonsuz ilgi ve desteğini benden esirgemeyen, en zor zamanlarımda beni yüreklendiren, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum saygıdeğer hocam ve danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ'a,

Tez çalışmasının her aşamasında sabır ve hoşgörüsüyle bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve beni yönlendiren saygıdeğer hocam ve ortak danışmanım Sayın Doç. Dr. Uğursoy OLGUN'a,

Destek ve katkılarından dolayı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fatih ÜSTEL'e,

ICP-OES ölçümlerindeki katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Mustafa GÜLFEN'e ve SEM analizlerindeki katkılarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Ekrem ALTUNCU'ya,

Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Doç. Dr. Atilla EVCİN ve Arş. Gör. Fatih Erdem BAŞTAN'a, analizlerde yardımcı olan uzman Fuat KAYIŞ, Murat KAZANCI, Semih YÜCEL, Samet TÜRKAN ve Pınar ŞEN'e,

Hayatımın her aşamasında beni destekleyen ve her zaman yanımda olan ablam Nurgül TEKİN ve yeğenim Taha TEKİN'e ve bu günlere gelmemde sonsuz emekleri olan rahmetli annem Kerime HOŞ ve rahmetli babam İsmail HOŞ'a minnetle teşekkürü bir borç bilirim.

Not: Bu çalışma SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje no: BAPK 2013-50-02-020 ve BAPK 2012-02-04-037)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xix
ÖZET.....	xxi
SUMMARY.....	xxii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
TEST MİKROORGANİZMALARI.....	4
2.1. Patojen Mikroorganizmalar.....	4
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	4
2.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	9
2.4. <i>Escherichia coli</i>	10
BÖLÜM 3.	
BİYOMALZEMELER.....	15
3.1. Biyomalzemelere Genel Bakış.....	15
3.2. Biyouyumluluk.....	17
3.3. Kemik ve Mineralojik Yapısı.....	20
3.4. Osseointegrasyon.....	23
3.5. Biyomalzeme Çeşitleri.....	25
3.5.1. Biyoseramikler.....	26

3.5.2. Polimer biyomalzemeler.....	27
3.6. Biyomalzemelerin Kullanım Alanları.....	28
3.7. Biyomalzemelerin Avantaj ve Dezavantajları.....	30
3.8. Biyomalzemeler ve Enfeksiyon.....	30
BÖLÜM 4.	
ANTİMİKROBİYAL KOMPOZİTLER.....	35
4.1. Kompozit Malzemeler.....	35
4.2. Gümüş.....	39
4.3. Antimikrobiyal Kompozit Malzemeler.....	45
BÖLÜM 5.	
POLİKAPROLAKTON.....	51
5.1. Polimerik Malzemelere Genel Bakış.....	51
5.2. Polimerik Malzemelerin Kullanım Alanları.....	52
5.3. Biyobozunur Polimerler.....	55
5.4. Polikaprolakton.....	58
BÖLÜM 6.	
HİDROKSİAPATİT	60
6.1. Biyoseramikler	60
6.2. Kalsiyum Fosfatlar	63
6.3. Hidroksiapatit	65
6.4. Hidroksiapatit Uygulamaları	70
BÖLÜM 7.	
MATERYAL VE METOD.....	76
7.1. Materyal.....	76
7.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	80
7.3. Bakteri Kültürünün Hazırlanması.....	81
7.4. Hidroksiapatit Toz Üretimi.....	81
7.5. Nanogümüş Kaplı Hidroksiapatit Toz Hazırlanması	83

7.6. Nanogümüş Kaplı Hidroksiapatit Tozların Karakterizasyonu.....	83
7.7. ICP-OES Analizi için Numune Hazırlanması	84
7.8. Nanogümüş Kaplı Hidroksiapatit Tozların Antibakteriyel Aktivitelerinin Ölçümü.....	84
7.9. Kompozit Filmlerin Hazırlanması.....	85
7.10. Kompozit Filmlerin Karakterizasyonu	86
7.11. Kompozit Filmlerin Antibakteriyel Aktivitesinin Ölçümü.....	86

BÖLÜM 8.

DENEYSEL ÇALIŞMA VE BULGULAR.....	87
8.1. Ticari Hidroksiapatitin Nanogümüş ile Kaplanması ve Karakterizasyonu.....	87
8.1.1. AgHAP-1 hazırlanması ve karakterizasyonu.....	88
8.1.2. AgHAP-2 hazırlanması ve karakterizasyonu.....	90
8.1.3. AgHAP-3 hazırlanması ve karakterizasyonu.....	93
8.1.4. AgHAP-4 hazırlanması ve karakterizasyonu.....	95
8.2. Nanogümüş Kaplı Ticari Hidroksiapatit Tozların Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri.....	98
8.3. AgHAP-T(0,24) Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	103
8.4. AgHAP-T(0,24) Tozunun Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri.....	106
8.5. POX Kullanılarak Gözenekli Hidroksiapatit Üretimi ve Karakterizasyonu.....	108
8.5.1. Yapı yönlendirici kullanılmadan 20 °C’de hidroksiapatit (HAP-S ve HAP-SK) üretimi ve karakterizasyonu	108
8.5.2. POX yapı yönlendirici ile 20 °C’de hidroksiapatit (HAP-SP20 ve HAP-SPK20) üretimi ve karakterizasyonu.....	114
8.5.3. POX yapı yönlendirici ile 70 °C’de hidroksiapatit (HAP-SP70 ve HAP-SPK70) üretimi ve karakterizasyonu.....	120
8.6. Üretilen Gözenekli Hidroksiapatit Tozların Nanogümüş Kaplanması ve Karakterizasyonu	126
8.6.1. AgHAP-SP70(4,3) hazırlanması ve karakterizasyonu	126
8.6.2. AgHAP-SPK70(6,36) hazırlanması ve karakterizasyonu	131

8.6.3. AgHAP-SP70(0,46) hazırlanması ve karakterizasyonu	136
8.6.4. AgHAP-SPK70(0,46) hazırlanması ve karakterizasyonu	143
8.7. AgHAP-S(0,09) Hazırlanması ve Karakterizasyonu (POX İçeren Çözelti Kullanılarak Nanogümüş Kaplanması İşlemi).....	149
8.8. AgHAP-SK(0,23) Hazırlanması ve Karakterizasyonu (POX İçeren Çözelti Kullanılarak Nanogümüş Kaplanması İşlemi).....	155
8.9. Nanogümüş Katkılı Gözenekli Hidroksiapatit ile Nano Ag-HAP- PCL Kompozit Filmlerin Üretimi ve Karakterizasyonu.....	161
8.9.1. Nano Ag-HAP-PCL (%30 HAP) filmlerin hazırlanması	161
8.9.2. Nano Ag – HAP- PCL (%30 HAP) filmlerin karakterizasyonu.....	163
8.10. Üretilen Nano Ag-HAP-PCL (%30 HAP) Kompozit Filmlerin Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri.....	191
8.11. Diğer Karakterizasyon ve Analiz (TEM, ICP-OES, EDX) Sonuçları.....	197
BÖLÜM 9.	
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	205
KAYNAKLAR.....	215
ÖZGEÇMİŞ	224

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Å	: Ångström
ATCC	: Amerikan Kültür Koleksiyonu Merkezi
atm	: Atmosfer basıncı
A/W	: Apatit/Volastonit
°C	: Derece Celsius
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EDX	: Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi
FDA	: Food and Drug Administration
FFT	: Fast Fourier Transform
FTIR	: Fourier Transform Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi
GPa	: Giga Paskal
HA	: Hidroksiapatit
HAP	: Hidroksiapatit
hcp	: Hexagonal close-packed
HR-TEM	: Yüksek Çözünürlüklü Geçirimli Elektron Mikroskobu
ICP-OES	: İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometri
<i>in vitro</i>	: Canlı dışında
<i>in vivo</i>	: Canlı içinde
KOB	: Koloni oluşturan birim
mg	: Miligram
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
µL	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre

MPa	: Mega Paskal
MRSA	: Metisiline dirençli <i>S. aureus</i>
nm	: Nanometre
PCL	: Polikaprolakton
PDMS	: Polidimetilsiloksan
pH	: Hidrojenin gücü
PLA	: Polilaktik asit
PLGA	: Poli(laktik-ko-glikolik) asid
PMMA	: Polimetilmetakrilat
POX	: Poli(2-etil-2-oksazolin)
PP	: Polipropilen
ppb	: Parts per billion (milyarda bir)
ppm	: Parts per million (milyonda bir)
PUR	: Poliüretan
PVC	: Poli(Vinil Klorid)
%R	: Antimikrobiyal aktivite
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
<i>S. epidermidis</i>	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
subsp.	: Subspecies
TCP	: Trikalsiyum fosfat
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
UHMWPE	: Ultra yüksek moleküler ağırlıkta polietilen
UV	: Ultraviyole
UV-vis.	: Ultraviolet visible
XRD	: X-ışını difraksiyonu
λ_{\max}	: Lambda max

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	5
Şekil 2.2.	Gram pozitif hücre duvarının şematik çizimi.....	6
Şekil 2.3.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10
Şekil 2.4.	<i>Escherichia coli</i>	11
Şekil 2.5.	Gram negatif hücre duvarının şematik çizimi.....	11
Şekil 3.1.	Biyomalzeme biliminin diğer bilim dallarıyla ilişkisi.....	15
Şekil 3.2.	Kemik-implant arayüzeyinde gerçekleşen olaylar (a)Kandan ve doku sıvılarından biyomalzemeye protein adsorbsiyonu, (b)protein desorbsiyonu, (c)yüzey değişimleri ve malzeme salınımı, (d)inflamatuvar ve bağlantılı doku hücrelerinin implanta ulaşması, (e)matriks protenlerinin hedeflenmiş salınımı ve çeşitli proteinlerin seçilmiş adsorbsiyonu, (f)lamina limitanlarının oluşumu ve osteogenik hücrelerin adhezyonu, (g)ekspoze olmuş kemik ve implant yüzeyinde kemik birikimi, (h)yeni oluşmuş kemiğin şekillenmesi.....	24
Şekil 5.1.	Polimerlerin yaygın klinik uygulamaları.....	53
Şekil 5.2.	Polikaprolaktonun kimyasal yapısı.....	58
Şekil 6.1.	Hidroksiapatitin kristal yapısı	66
Şekil 6.2.	Hidroksiapatitin kristal yapısı.....	66
Şekil 6.3.	Hidroksiapatit oküler implant uygulaması, çeşitli türde yapay gözler.....	73
Şekil 7.1.	POX'e ait genel görünüm ve ışık mikroskobu görüntüsü (×4).....	76
Şekil 7.2.	POX (poly(2-ethyl)-2-oxazoline)) FTIR spektrumu.....	77
Şekil 7.3.	Ticari hidroksiapatite (HAP-T) ait genel görünüm.....	77

Şekil 7.4.	Ticari hidroksiapatite (HAP-T) ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	78
Şekil 7.5.	Ticari hidroksiapatite (HAP-T) ait SEM görüntüsü.....	78
Şekil 7.6.	Ticari hidroksiapatit toza ait XRD analizi.....	79
Şekil 7.7.	Ticari hidroksiapatit toza ait UV-vis. spektrumu.....	79
Şekil 7.8.	Ticari hidroksiapatit toz FTIR spektrumu.....	80
Şekil 7.9.	Kimyasal çöktürme yöntemi ile hidroksiapatit üretim akış diyagramı.....	82
Şekil 7.10.	Hidroksiapatit tozlarını nanogümüş ile kaplama mekanizması..	83
Şekil 7.11.	Çift silindirli hadde (solda) ve roll milling metodu (sağda).....	85
Şekil 8.1.	Nano Ag kaplı ticari hidroksiapatit numunelerine ait ışık mikroskobu görüntüleri (×20), 1) AgHAP-1, 2) AgHAP-2, 3) AgHAP-3, 4) AgHAP-4.....	87
Şekil 8.2.	AgHAP-1 genel görünüm.....	88
Şekil 8.3.	AgHAP-1 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)...	89
Şekil 8.4.	AgHAP-1 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları.....	89
Şekil 8.5.	AgHAP-1 numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	90
Şekil 8.6.	AgHAP-2 genel görünüm.....	91
Şekil 8.7.	AgHAP-2 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)....	91
Şekil 8.8.	AgHAP-2 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları.....	92
Şekil 8.9.	AgHAP-2 numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	92
Şekil 8.10.	AgHAP-3 genel görünüm.....	93
Şekil 8.11.	AgHAP-3 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)....	94
Şekil 8.12.	AgHAP-3 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları.....	94
Şekil 8.13.	AgHAP-3 numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	95
Şekil 8.14.	AgHAP-4 genel görünüm.....	96
Şekil 8.15.	AgHAP-4 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)....	96

Şekil 8.16.	AgHAP-4 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları.....	97
Şekil 8.17.	AgHAP-4 numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	97
Şekil 8.18.	Yapışkan yüzölçümü asetata kaplanarak hazırlanan numuneler 1) Ticari hidroksiapatit toz (HAP-T) (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4	98
Şekil 8.19.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>S. aureus</i> kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4.....	99
Şekil 8.20.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>E. coli</i> kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4.....	100
Şekil 8.21.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>Staphylococcus epidermidis</i> kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4.....	101
Şekil 8.22.	AgHAP-T(0,24) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 40$).....	103
Şekil 8.23.	AgHAP-T(0,24) numunesine ait SEM görüntüsü.....	104
Şekil 8.24.	AgHAP-T(0,24) numunesine ait noktasal EDX analizleri.....	104
Şekil 8.25.	AgHAP-T(0,24) numunesine ait XRD analiz sonucu.....	105
Şekil 8.26.	AgHAP-T(0,24) numunesine ($\lambda_{\max}=364$ nm ve $\lambda_{\max}=435$ nm) ve Ticari hidroksiapatite ($\lambda_{\max}=287$ nm) ait UV-vis. spektrumu.....	105
Şekil 8.27.	AgHAP-T(0,24) numunesine ait FTIR spektrumu.....	106
Şekil 8.28.	Yapışkan yüzeyli asetata kaplanarak hazırlanan numuneler 1) Ticari hidroksiapatit toz (kontrol), 2) AgHAP-T(0,24).....	106
Şekil 8.29.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>E. coli</i> kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-T(0,24).....	107
Şekil 8.30.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>S. aureus</i> kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-T(0,24).....	108
Şekil 8.31.	Üretilen hidroksiapatit toza ait genel görünüm A) HAP-S, B) HAP-SK.....	109

Şekil 8.32.	HAP-S numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	110
Şekil 8.33.	HAP-SK numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	110
Şekil 8.34.	HAP-S numunesine ait SEM görüntüsü.....	111
Şekil 8.35.	HAP-SK numunesine ait SEM görüntüsü.....	111
Şekil 8.36.	HAP-S numunesine ait XRD analiz sonucu.....	112
Şekil 8.37.	HAP-SK numunesine ait XRD analiz sonucu.....	112
Şekil 8.38.	HAP-S numunesine ait FTIR spektrumu.....	113
Şekil 8.39.	HAP-SK numunesine ait FTIR spektrumu.....	114
Şekil 8.40.	Üretilen hidroksiapatit toza ait genel görünüm A) HAP-SP20, B) HAP-SPK20.....	115
Şekil 8.41.	HAP-SP20 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)...	116
Şekil 8.42.	HAP-SPK20 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)	116
Şekil 8.43.	HAP-SP20 numunesine ait SEM görüntüsü.....	117
Şekil 8.44.	HAP-SPK20 numunesine ait SEM görüntüsü.....	117
Şekil 8.45.	HAP-SP20 numunesine ait XRD analiz sonucu.....	118
Şekil 8.46.	HAP-SPK20 numunesine ait XRD analiz sonucu.....	118
Şekil 8.47.	HAP-SP20 numunesine ait FTIR spektrumu.....	119
Şekil 8.48.	HAP-SPK20 numunesine ait FTIR spektrumu.....	120
Şekil 8.49.	Üretilen hidroksiapatit toza ait genel görünüm A) HAP-SP70, B) HAP-SPK70.....	121
Şekil 8.50.	HAP-SP70 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)...	122
Şekil 8.51.	HAP-SPK70 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)	122
Şekil 8.52.	HAP-SP70 numunesine ait SEM görüntüsü.....	123
Şekil 8.53.	HAP-SPK70 numunesine ait SEM görüntüsü.....	123
Şekil 8.54.	HAP-SP70 numunesine ait XRD analiz sonucu.....	124
Şekil 8.55.	HAP-SPK70 numunesine ait XRD analiz sonucu.....	124
Şekil 8.56.	HAP-SP70 numunesine ait FTIR spektrumu.....	125
Şekil 8.57.	HAP-SPK70 numunesine ait FTIR spektrumu.....	126
Şekil 8.58.	AgHAP-SP70(4,3) tozuna ait genel görünüm.....	127
Şekil 8.59.	AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	127
Şekil 8.60.	AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait SEM görüntüsü.....	128

Şekil 8.61.	AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait noktasal EDX analizi.....	128
Şekil 8.62.	AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait alansal EDX analizi.....	129
Şekil 8.63.	AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait XRD analiz sonucu.....	129
Şekil 8.64.	AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	130
Şekil 8.65.	AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait FTIR spektrumu.....	131
Şekil 8.66.	AgHAP-SPK70(6,36) tozuna ait genel görünüm.....	132
Şekil 8.67.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$).....	132
Şekil 8.68.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait SEM görüntüsü.....	133
Şekil 8.69.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait noktasal EDX analizi...	133
Şekil 8.70.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait alansal EDX analizi.....	134
Şekil 8.71.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait XRD analiz sonucu.....	134
Şekil 8.72.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	135
Şekil 8.73.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait FTIR spektrumu.....	136
Şekil 8.74.	AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C.....	136
Şekil 8.75.	AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$).....	137
Şekil 8.76.	AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait SEM görüntüsü.....	137
Şekil 8.77.	AgHAP-SP70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alanlar(1 ve 5) ve noktalar(2,3 ve 4).....	138
Şekil 8.78.	AgHAP-SP70(0,46) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	139
Şekil 8.79.	AgHAP-SP70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	139
Şekil 8.80.	AgHAP-SP70(0,46) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	140
Şekil 8.81.	AgHAP-SP70(0,46) numunesi 4 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	140
Şekil 8.82.	AgHAP-SP70(0,46) numunesi 5 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	141
Şekil 8.83.	AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait XRD analizi sonucu.....	141

Şekil 8.84.	AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	142
Şekil 8.85.	AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait FTIR spektrumu.....	143
Şekil 8.86.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C.....	143
Şekil 8.87.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	144
Şekil 8.88.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait SEM görüntüsü.....	144
Şekil 8.89.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alan(1) ve noktalar(2 ve 3).....	145
Şekil 8.90.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	146
Şekil 8.91.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	146
Şekil 8.92.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	147
Şekil 8.93.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait XRD analiz sonucu.....	147
Şekil 8.94.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	148
Şekil 8.95.	AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait FTIR spektrumu.....	149
Şekil 8.96.	AgHAP-S(0,09) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C.....	150
Şekil 8.97.	AgHAP-S(0,09) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	150
Şekil 8.98.	AgHAP-S(0,09) numunesine ait SEM görüntüsü.....	151
Şekil 8.99.	AgHAP-S(0,09) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alan(1) ve noktalar(2 ve 3).....	151
Şekil 8.100.	AgHAP-S(0,09) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	152
Şekil 8.101.	AgHAP-S(0,09) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	152
Şekil 8.102.	AgHAP-S(0,09) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	153
Şekil 8.103.	AgHAP-S(0,09) numunesine ait XRD analiz sonucu.....	153

Şekil 8.104.	AgHAP-S(0,09) numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	154
Şekil 8.105.	AgHAP-S(0,09) numunesine ait FTIR spektrumu.....	155
Şekil 8.106.	AgHAP-SK(0,23) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C.....	156
Şekil 8.107.	AgHAP-SK(0,23) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	156
Şekil 8.108.	AgHAP-SK(0,23) numunesine ait SEM görüntüsü.....	157
Şekil 8.109.	AgHAP-SK(0,23) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alan(1) ve noktalar(2 ve 3).....	157
Şekil 8.110.	AgHAP-SK(0,23) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	158
Şekil 8.111.	AgHAP-SK(0,23) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	158
Şekil 8.112.	AgHAP-SK(0,23) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	159
Şekil 8.113.	AgHAP-SK(0,23) numunesine ait XRD analiz sonucu.....	159
Şekil 8.114.	AgHAP-SK(0,23) numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	160
Şekil 8.115.	AgHAP-SK(0,23) numunesine ait FTIR spektrumu.....	161
Şekil 8.116.	Roll milling metodu.....	161
Şekil 8.117.	Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin fotoğraf görüntüleri...	162
Şekil 8.118.	PCL film (kontrol) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×10).....	163
Şekil 8.119.	PCL-HAP-SP70 kompozit film (kontrol) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×10).....	164
Şekil 8.120.	PCL-HAP-SPK70 kompozit film (kontrol) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×10).....	164
Şekil 8.121.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×10).....	165
Şekil 8.122.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×10).....	165
Şekil 8.123.	PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×10).....	166

Şekil 8.124.	PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	166
Şekil 8.125.	PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	167
Şekil 8.126.	PCL film (kontrol) numunesine ait SEM görüntüsü.....	167
Şekil 8.127.	PCL-HAP-SP70 kompozit film (kontrol) numunesine ait SEM görüntüsü.....	168
Şekil 8.128.	PCL-HAP-SPK70 kompozit film (kontrol) numunesine ait SEM görüntüsü.....	168
Şekil 8.129.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü.....	169
Şekil 8.130.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü.....	169
Şekil 8.131.	PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü.....	170
Şekil 8.132.	PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü.....	170
Şekil 8.133.	PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü.....	171
Şekil 8.134.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) kompozit filmine ait haritalama.....	172
Şekil 8.135.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) kompozit filmine ait haritalama...	173
Şekil 8.136.	PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit filmine ait haritalama.....	174
Şekil 8.137.	PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit filmine ait haritalama...	175
Şekil 8.138.	PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit filmine ait haritalama.....	176
Şekil 8.139.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan.....	177
Şekil 8.140.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	177
Şekil 8.141.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	178
Şekil 8.142.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	178

Şekil 8.143.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan.....	179
Şekil 8.144.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	179
Şekil 8.145.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	180
Şekil 8.146.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	180
Şekil 8.147.	PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan.....	181
Şekil 8.148.	PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	181
Şekil 8.149.	PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	182
Şekil 8.150.	PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	182
Şekil 8.151.	PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan.....	183
Şekil 8.152.	PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	183
Şekil 8.153.	PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	184
Şekil 8.154.	PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	184
Şekil 8.155.	PCL-AgHAP-T(0,24) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan.....	185
Şekil 8.156.	PCL-AgHAP-T(0,24) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları.....	185
Şekil 8.157.	PCL-AgHAP-T(0,24) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	186
Şekil 8.158.	PCL-AgHAP-T(0,24) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları.....	186

Şekil 8.159.	PCL filme ait UV-vis. spektrumu ($\lambda_{\max}=223$ nm).....	187
Şekil 8.160.	PCL-HAP-SP70 kompozit filmine ait UV-vis. spektrumu ($\lambda_{\max}=216$ nm).....	187
Şekil 8.161.	PCL-HAP-SPK70 kompozit filmine ait UV-vis. spektrumu ($\lambda_{\max}=212$ nm).....	188
Şekil 8.162.	PCL-AgHAP-SP70(0,46) ($\lambda_{\max}=449$ nm) ve PCL-AgHAP- SP70(4,3) ($\lambda_{\max}=444$ nm) numunelerine ait UV-vis. spektrumu.....	188
Şekil 8.163.	PCL-AgHAP-SPK70(0,46) ($\lambda_{\max}=449$ nm) ve PCL-AgHAP- SPK70(6,36) ($\lambda_{\max}=485$ nm) numunelerine ait UV-vis. spektrumu.....	189
Şekil 8.164.	PCL-AgHAP-T(0,24) numunesine ait UV-vis. spektrumu.....	189
Şekil 8.165.	Kalsinasyon işlemi (600 °C'de 1 saat) uygulanmamış HAP kullanılarak üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerine ait FTIR spektrumları.....	190
Şekil 8.166.	Kalsinasyon işlemi (600 °C'de 1 saat) uygulanmış HAP kullanılarak üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerine ait FTIR spektrumları.....	190
Şekil 8.167.	Ticari HAP kullanılarak üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunesine ait FTIR spektrumu.....	191
Şekil 8.168.	Hazırlanan test numuneleri 1) PCL (kontrol), 2) PCL-HAP- SP70 (kontrol), 3) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 4) PCL- AgHAP-SP70(0,46), 5) PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 6) PCL- AgHAP-T(0,24), 7) PCL-AgHAP-SP70(4,3), 8) PCL- AgHAP-SPK70(6,36).....	191
Şekil 8.169.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>S. aureus</i> kolonileri, 1) PCL-HAP-SP70 (kontrol), 2) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 3) PCL (kontrol), 4) PCL-AgHAP-T(0,24), 5) PCL- AgHAP-SP70(0,46), 6) PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 7) PCL- AgHAP-SP70(4,3), 8) PCL-AgHAP-SPK70(6,36).....	193

Şekil 8.170.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>E. coli</i> kolonileri, 1) PCL-HAP-SP70 (kontrol), 2) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 3) PCL (kontrol), 4) PCL-AgHAP-T(0,24), 5) PCL-AgHAP-SP70(0,46), 6) PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 7) PCL-AgHAP-SP70(4,3), 8) PCL-AgHAP-SPK70(6,36).....	194
Şekil 8.171.	24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen <i>S. epidermidis</i> kolonileri, 1) PCL-HAP-SP70 (kontrol), 2) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 3) PCL (kontrol), 4) PCL-AgHAP-T(0,24), 5) PCL-AgHAP-SP70(0,46), 6) PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 7) PCL-AgHAP-SP70(4,3), 8) PCL-AgHAP-SPK70(6,36).....	195
Şekil 8.172.	AgHAP-T(0,24) numunesine ait HR-TEM görüntüsü.....	197
Şekil 8.173.	AgHAP-T(0,24) numunesine ait HR-TEM görüntüsü.....	198
Şekil 8.174.	Nanogümüşe ait HR-TEM görüntüsü, 1) Hcp kristal yapısı, 2) FFT paterni.....	198
Şekil 8.175.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait TEM görüntüsü.....	199
Şekil 8.176.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait TEM görüntüsü.....	199
Şekil 8.177.	AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait TEM görüntüsü.....	200

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1.	Sağlıklı kemiğin kompozisyonu.....	21
Tablo 3.2.	Sağlıklı kemiğin biyomekanik özellikleri.....	22
Tablo 3.3.	Biyoseramiklerin doku cevabına göre sınıflandırılması.....	26
Tablo 3.4.	Biyoseramiklerin klinik kullanımları.....	27
Tablo 3.5.	Uygulama alanlarına göre biyomalzemeler.....	29
Tablo 3.6.	Biyomalzemelerin avantajları ve dezavantajları.....	30
Tablo 5.1.	İmplant olarak kullanılan polimerler.....	55
Tablo 6.1.	Farklı form ve fazlardaki seramikler ve fonksiyonları.....	62
Tablo 6.2.	Biyoseramik implantların doku ile etkileşimi.....	62
Tablo 6.3.	Hegzagonal HA yapısında bulunan atomların pozisyonları.....	65
Tablo 6.4.	Hidroksiapatitin fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri.....	68
Tablo 8.1.	Nanogümüş ile kaplı ticari hidroksiapatit tozların hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve miktarları.....	87
Tablo 8.2.	Ekim yapılan besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmeydi).....	102
Tablo 8.3.	Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozların antibakteriyel aktivite (%R) sonuçları.....	102
Tablo 8.4.	Ekim yapılan besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları ve nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozun antibakteriyel aktivite (%R) sonuçları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmeydi).....	108
Tablo 8.5.	Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin içeriği.....	163

Tablo 8.6.	Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmler için besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi).....	196
Tablo 8.7.	Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin antibakteriyel aktivite (%R) sonuçları.....	197
Tablo 8.8.	Üretilen hidroksiapatit tozların Scherrer formülü ile hesaplanmış kristal boyutu sonuçları.....	200
Tablo 8.9.	Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara(sentezlenmiş) ait ICP-OES sonuçları.....	201
Tablo 8.10.	Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara(sentezlenmiş) ait alansal EDX sonuçları.....	202
Tablo 8.11.	Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara(sentezlenmiş) ait karşılaştırmalı alansal EDX ve ICP-OES sonuçları.....	202
Tablo 8.12.	Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara(ticari) ait ICP-OES sonuçları.....	203
Tablo 8.13.	Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara(ticari) ait noktasal EDX sonuçları.....	203
Tablo 8.14.	Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara(ticari) ait karşılaştırmalı noktasal EDX ve ICP-OES sonuçları.....	204
Tablo 8.15.	Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlere ait alansal EDX ve ICP-OES sonuçları.....	204

ÖZET

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel Kompozit, Biyopolimer Film, Hidroksiapatit, Nanogümüş, Polikaprolakton

Antibakteriyel ajanlara karşı dirençli patojen mikroorganizmaların gelişmesi çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavisini zorlaştırmaktadır. Bu yüzden yeni, güvenilir ve uygun maliyetli antimikrobiyal malzemelerin geliştirilmesi, kontamine malzemelerin yüzeylerinde mikroorganizmaların kolonizasyonunun önlenmesi yönünden büyük teknolojik öneme sahiptir. Bu çalışmanın amacı, farklı medikal uygulamalar için yeni antimikrobiyal biyopolimer yüzeylerin geliştirilmesidir. Bu amaçla antibakteriyel polikaprolakton (PCL)-hidroksiapatit (HAP)-nanogümüş kompozit filmlerin üretilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada nano Ag-HAP-PCL kompozit filmler roll milling metodu kullanılarak üretilmiştir. İlk aşamada bilinen hazırlama teknikleri kullanılarak HAP partiküllerinin sentezi yapılmıştır. İkinci aşamada indirgeyici ajan olarak poli(dimetilsiloksan) (PDMS) kullanılarak HAP tozunun nanogümüş ile kaplanması gerçekleştirilmiştir. Üçüncü aşamada nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlar eritilmiş polikaprolaktona ilave edilerek karıştırılmış ve kompozit karışım roll mill kullanılarak tek aşamada ince film haline getirilmiştir. Nano Ag-HAP tozlarının karakterizasyonu XRD, SEM, TEM, ICP-OES, UV-vis. ve FTIR analizleri ile yapılmıştır. Benzer şekilde nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerinin karakterizasyonu SEM, UV-vis. ve FTIR analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Son aşamada kompozit filmlerin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerindeki antibakteriyel aktivitesi plate counting metodu kullanılarak belirlenmiştir.

Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozların yüzeyinin TEM analizinde nanogümüş partiküllerinin büyüklüğünün yaklaşık 0-30 nm olduğu gözlenmiştir. %0,07-1,90 Ag içeren nano Ag-HAP-PCL kompozit filmler, nano Ag-HAP'ın %30 oranında polikaprolaktona karıştırılması ile hazırlanmıştır. Kompozit filmlerin kalınlığı yaklaşık 0,25 mm olarak ölçülmüştür. %4,3 ve %6,36 Ag katkılı nano Ag-HAP içeren kompozit filmler (%1,28 Ag ve %1,90 Ag), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerinde %100 antibakteriyel aktivite göstermiştir. %0,46 Ag ve %0,24 Ag katkılı nano Ag-HAP içeren kompozit filmler (%0,13 Ag ve %0,07 Ag) *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerinde %100 antibakteriyel aktivite, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerinde %0 antibakteriyel aktivite ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerinde %99 antibakteriyel aktivite göstermiştir. Sonuç olarak, HAP-PCL kompozit filmlerde %0,1 nano Ag kullanımı, *E. coli* ve *S. epidermidis* üzerinde etkili antibakteriyel yüzey sağlamıştır. Diğer yandan HAP-PCL kompozit filmlerde %1,0-2,0 nano Ag kullanımı, *E. coli*, *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerinde %100 antibakteriyel etkinlik göstermiştir.

PRODUCTION OF ANTIBACTERIAL POLYCAPROLACTONE-HYDROXYAPATITE COMPOSITE FILMS

SUMMARY

Keywords: Antibacterial Composite, Biopolymer Film, Hydroxyapatite, Nanosilver, Polycaprolactone

The formation of the resistant pathogen microorganisms against the antimicrobial agents complicates the treatment of various infectious diseases. Therefore, the development of new, reliable and the cost effective antimicrobial materials has a great technological importance for preventing the colonization of microorganisms on the surfaces of the contaminated materials. The aim of this study is the development of new antimicrobial biopolymer surfaces for different medical applications. For this purpose, the production of antibacterial polycaprolactone (PCL) - hydroxyapatite (HAP) - nanosilver composite films has been investigated. In this study, nano Ag-HAP-PCL composite films were produced by using the roll milling method. First, the synthesis of HAP particles was performed using a classical preparation methods. In the second step, the nanosilver coating of HAP powder has been carried out using poly(dimethylsiloxane) (PDMS) as the reducing agent. In the third step, the nanosilver coated hydroxyapatite powders were incorporated into the polycaprolactone in the melted form and the composite mixture was roll milled into the thin film form in one step. The characterizations of nano Ag-HAP powders have been studied by XRD, SEM, TEM, ICP-OES, UV-vis. and FTIR analysis. Similarly, the nano Ag-HAP-PCL composite films was also analyzed by SEM, UV-vis. and FTIR. Finally, the antibacterial activity of this composite films was determined by the plate counting method against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

The TEM analysis of the surface of the nanosilver coated hydroxyapatite powders showed that the size of the nanosilver particles was about 0-30 nm. Nano Ag-HAP-PCL composite films containing 0.07-1.90% Ag were prepared by incorporating nano Ag-HAP (30%) into the polycaprolactone. The thickness of the composite films was measured as approximately 0.25 mm. The composite films (1.28% Ag and 1.90% Ag) that have contained 4.3% Ag and 6.36% Ag nano Ag-HAP showed 100% antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. The composite films (0.13% Ag and 0.07% Ag) that have contained 0.46% Ag and 0.24% Ag nano Ag-HAP showed 100% antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922, 0% antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and 99% antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. In conclusion, the use of 0.1% nano Ag in HAP-PCL composite films provided an effective antibacterial surface against *E. coli* and *S. epidermidis*. On the other hand the use of 1.0-2.0% nano Ag in HAP-PCL composite films provided 100% antibacterial effectiveness against *E. coli*, *S. aureus* and *S. epidermidis*.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Kolonize oldukları yüzeylerde meydana getirdikleri biyofilm tabakasıyla patojen mikroorganizmaların ciddi klinik enfeksiyonlara sebep oldukları bilinmektedir. Patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç, mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde oldukça önemli güçlükler yol açmaktadır. Bu nedenle malzeme yüzeylerinde mikroorganizmaların kolonizasyonlarının önlenmesi amacıyla son yıllarda antimikrobiyal madde katkılı malzemelerin araştırılması, geliştirilmesi ve üretilmesi önem kazanmıştır.

Mikrobiyal kontaminasyon, özellikle medikal cihazlar, ilaçlar, tedavi hizmetleri, hijyenik uygulamalar, su arıtma sistemleri, hastane ve diş cerrahisi ekipmanı, tekstil, gıda paketlenme, gıda saklama gibi çeşitli alanların en ciddi sorunlarından biridir. Antimikrobiyaller, birçok malzemeye kalite ve güvenilirlik kazandırmaları sebebiyle akademik ve endüstriyel araştırmaların ilgisini çekmektedir. Bununla birlikte düşük moleküler ağırlığa sahip organik antimikrobiyal ajanların, çevreye toksik olmaları ve kısa süreli antimikrobiyal etkilerinin olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Antimikrobiyallerle ilgili bu sorunların aşılması amacıyla antimikrobiyal fonksiyonel grupların polimer moleküllerine katılarak hazırlandığı antimikrobiyal polimerlerin bazı mevcut antimikrobiyal ajanların etkisini genişletmek, çevresel problemleri minimize etmek, antimikrobiyal ajanların etkilerini, seçiciliklerini ve ömrünü artırmak için ümit verici oldukları savunulmaktadır. Bu polimerlerin geliştirilmesine ilişkin çalışmalar gerek akademik gerekse endüstriyel araştırmalar yönünden büyük öneme sahiptirler (Kenawy ve ark., 2007).

Biyoaktif seramikler ve bozunabilir polimerleri birleştiren kompozit yaklaşımı, sert doku rejeneratif malzemelerin tasarımı ve geliştirilmesi için umut verici bir stratejidir (Kim, 2007a). Hidroksiapatit iyi biyoyumu nedeniyle kemik onarımında ve kemik

yerine yaygın olarak kullanılmaktadır (Mo ve ark., 2008). Hidroksiapatit, kemiğin majör komponentidir. Biyouyum ve yapısal esnemezlik kombinasyonu, vücut içinde medikal destek yapısı olarak kullanımını kolaylaştırır. Bununla birlikte, böyle biyomalzemelerin kullanımının önemli komplikasyonu, zayıf van der Waals kuvvetleri aracılığıyla dış yüzeylerinde reversibl bakteriyel adhezyon başlatan biyofilm oluşturma eğilimidir (Buckley ve ark., 2010).

Hücre uyumunun yanı sıra mükemmel antibakteriyel aktiviteyi başarmak için implant yüzeyi modifiye edilebilen antibakteriyel malzeme geliştirmek önemli görülmektedir. Son yıllarda, inorganik antibakteriyel ajanların kullanımı mikroorganizmaların kontrolü için ilgi çekmiştir. İnorganik antibakteriyel ajanlar güvenlik ve kararlılığın artması gibi önemli avantajlar sağlamaktadır. Yüksek antibakteriyel etkiye sahip inorganik malzemeler seramiklerde immobilize edilen gümüş ve bakır gibi antibakteriyel metallerdir (Mo ve ark., 2008).

Fiziksel difüzyon bariyerleri ve fizyolojik farklılıklar nedeniyle biyofilm oluşturan bakteriler, antibakteriyel ajanlara karşı doğası gereği planktonik bakterilerden daha dirençlidir. Bu nedenle, planktonik bakterilere etkili olan antibiyotik konsantrasyonları sesil bakterilere karşı etkisizdir. Antibiyotiğe dirençli bakteri suşlarının oluşması ve sayısındaki büyük artış, antibakteriyel ajan olarak gümüş kullanılmasında yeniden ilgiye sebep olmuştur (Ruan ve ark., 2009). Antibiyotiğe dirençli bakterilerin insidansı ciddi bir sorun olmasına rağmen, gümüşün antibakteriyel etkisine dirençli bir bakteri suşuna henüz rastlanılmamıştır (Noda ve ark., 2008).

İmplant enfeksiyonunun biyofilm oluşumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir ve biyofilm içinde büyüyen bakteri hücreleri antibakteriyel ajanlara karşı yüksek direnç göstermektedir. Bakteriyel biyofilmler herhangi bir yapay yüzey üzerinde oluşabilir (Ruan ve ark., 2009). Medikal cihaz ve implantlar, primer bakteriyel adherens ve biyofilm oluşumu için seçkin yüzeylerdir çünkü cihazlar, implantlar ve kateterler sıcak, nemli, besin açısından zengin ortamlarda sert yüzeyler sağlar. Biyofilmler bir kere oluşunca onları eradike etmek çok zordur. Antimikrobiyal ajanın biyofilmi

ortadan kaldırması planktonik bakterileri öldürmesinden 1500 kat daha zordur (Storey, 2005).

Gümüş katkılı antimikrobiyal malzemelere olan ilgi, insan ve çevre sağlığına ilişkin kaygılar nedeniyle artmıştır. Bakterilere karşı en dirençli metal olması, kontrollü kullanımında vücuda zararlı etkilerinin bulunmadığının bilinmesi, çoğu malzemeye göre son ürün haline getirilmesinin daha ucuz olması ve kolay üretimi gibi özellikleriyle gümüş diğer metallere tercih edilmektedir (Üreyen ve ark., 2009).

Hastane ortamında, mikroorganizmalar antibiyotik direnci kazanır ve kolaylıkla tedavi edilemez. Bunların üremesini önlemek için anahtar, medikal cihazın yüzeyine tutunmalarının önlenmesidir. Hızlı mutasyona uğrayan patojenler bile aynı anda birkaç farklı şekilde hücreye saldıran gümüşün antimikrobiyal özelliklerine dayanamaz. Bu nedenle gümüş, medikal cihaz ile ilgili enfeksiyonun yayılmasını önlemek için uygundur (Storey, 2005).

BÖLÜM 2. TEST MİKROORGANİZMALARI

2.1. Patojen Mikroorganizmalar

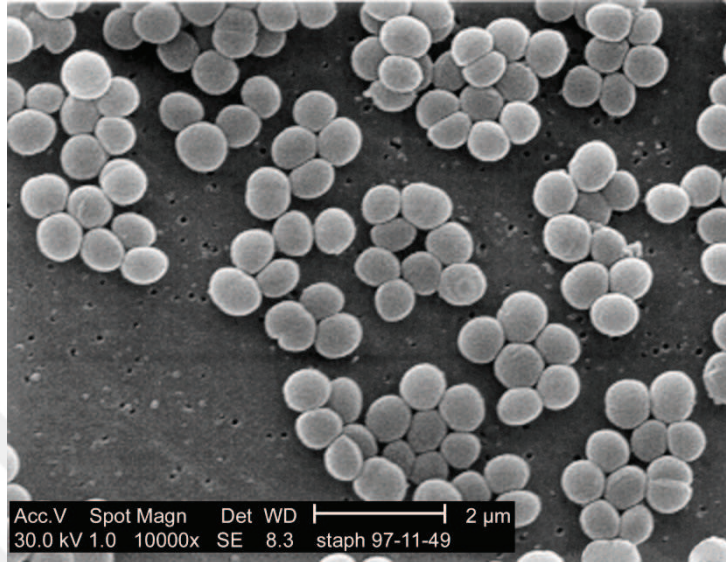
Patojen mikroorganizma, hastalık oluşturan veya hastalık oluşturma yeteneğine sahip olan mikroorganizmadır. Enfeksiyon sürecinde konağın primer savunma mekanizmasını aşarak konak organizmaya giriş, konak hücrelerine adhezyon, çoğalma, toksinler ve inflamatuvar yanıtla konak hücrelerinin tahribatı, konağın ikincil savunma sistemlerinin aşılması aşamaları bulunur (Strohl ve ark., 2006).

Bakteriler ciddi hastalıklara neden olabildikleri gibi masum bir biçimde deriyi kolonize de edebilirler. Bakterilerin yol açtığı enfeksiyon hastalıkları geniş bir spektruma sahiptir. Bakteriler buldukları ortamlarda yaşamlarını sürdürürler ve çoğalırlar, uyum yetenekleri çok fazladır, uygun olmayan koşullarda ise spor oluşturarak onlarca yıl canlılıklarını korurlar. Bakterilerin çoğu, saatler veya günlerle ifade edilen replikasyon süresine sahip olduğu halde bir kısım bakteriler ise çok daha yavaş ürerler dolayısıyla kronik enfeksiyonlara yol açarlar. Bakteriler genetik varyasyonlar için güçlü bir potansiyele sahiptirler ve çoğunda genetik madde alışverişini sağlayan plazmit DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) bulunur. Bu önemli özellikleri sayesinde bakteriler, antimikrobiyal maddelere dirençlerini arttırlar ve güçlenirler (Hart ve Shears, 2001).

2.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus yuvarlak (ortalama 1 µm büyüklüğünde), hareketsiz, sporsuz, gram pozitif koktur (Ağaçfıdan ve ark., 2005). Hücre bölünmesinin farklı düzlemlerde gerçekleşmesinden dolayı preparatlarda üzüm salkımı şeklinde görüldükleri gibi (Kayser ve ark., 1997) tek tek, ikili veya dörtlü gruplar halinde de

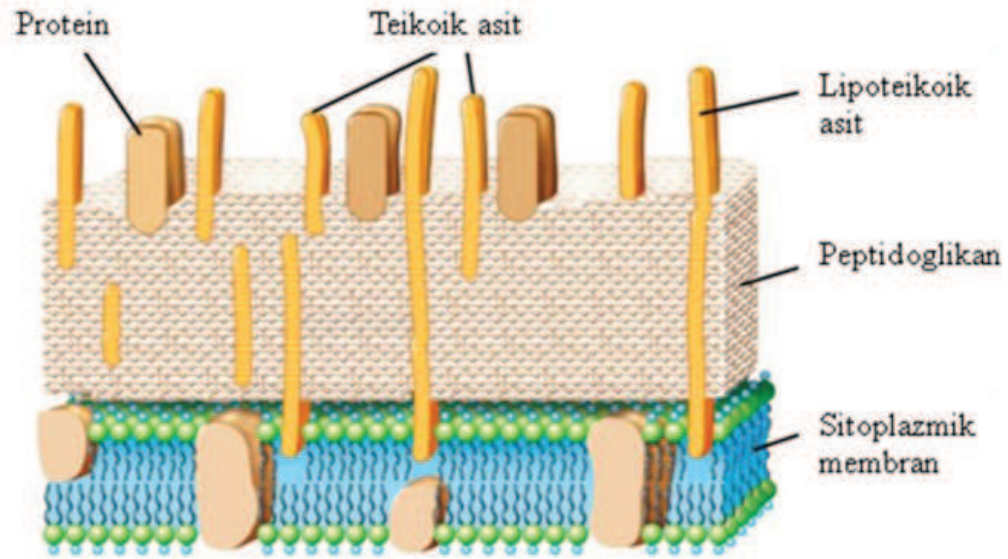
görülebirlirler (Ağaçfıdan ve ark., 2005). *S. aureus*'a ait mikroskop görüntüsüne Şekil 2.1.'de yer verilmiştir.



Şekil 2.1. *Staphylococcus aureus* (URL-1, 2016)

Hücre duvarı temel maddesi olan peptidoglikan tabakası gram negatif hücre duvarına göre *S. aureus*'ta daha kalındır ve hücre duvarının total ağırlığının yaklaşık %50-60'ını oluşturur. Hücre duvarında bulunan diğer önemli bileşik ise fosfat içeren bir polisakkarit olan teikoik asittir, bu polisakkarit hücre duvarı ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturur. Peptidoglikan tabakası ve sitoplazma zarına bağlı olan teikoik asit, stafilokokların mukoza hücrelerinin yüzeylerindeki reseptörlere tutunmasını sağlar. Hücre duvarında bulunan bir diğer yapı ise peptidoglikan tabakaya bağlı olarak bulunan antifagositik özelliğe sahip protein A'dır. *S. aureus*'ta özgül olarak bulunan protein A, aktif üreme safhasındaki kültürlerde hücre dışına salgılanır. Birçok memeli serumunda bulunan immünoglobulin G'nin Fc ucuna bağlanarak reaksiyona giren bu madde ayrıca komplemanı inaktive ederek opsonizasyonu engeller (Ağaçfıdan ve ark., 2005). Ayrıca hemen hemen tüm *S. aureus* suşlarında hücre yüzeyinde kümelenme, clumping faktör olarak adlandırılan fibrinojeni fibrine dönüştüren bir enzim bulunur (Kayser ve ark., 1997). *S. aureus*'a ait hücre duvarının (gram pozitif hücre duvarı) şematik çizimi Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.

Bazı *S. aureus* suşlarında hücre duvarının etrafında bakteriyi fagositozdan koruyan polisakkarit yapıda bir kapsül bulunurken, bazı bakterilerin etrafında ise ancak elektron mikroskopu ile görülebilen ince müköz bir tabaka (slime) vardır. Slime tabaka daha çok klinik araç kullananlardan izole edilen suşlarda saptanır ve bakterinin bu araçlara tutunmasını sağlar (Ağaçfıdan ve ark., 2005).



Şekil 2.2. Gram pozitif hücre duvarının şematik çizimi (Madigan ve Martinko, 2010)

Kanlı jeloz besiyerinde 24 saatlik inkübasyonun ardından porselen görümlü, konveks, düzgün yüzeyli koloniler meydana getirirler (Kayser ve ark., 1997). Koloniler çoğu kez karotenoid sebebiyle altın sarısı (latince aureus altın anlamına gelmektedir) rengindedir (Wilson ve Sande, 2004). Bununla birlikte pigment üretimi değişiklik gösterir, örneğin bazı *S. aureus* suşları beyaz koloniler meydana getirirler ve oldukça patojeniktirler (Duerden ve ark., 1987). Kanlı agardaki kolonilerin çevresinde oluşan hemoliz bölgesi salgıladıkları hemolizinin eritrositleri eritmesinden kaynaklanmaktadır. Optimum üreme derecesi 37 °C olmakla beraber 18-40 °C arasında üreyebilirler ve *S. aureus* subsp. *anaerobius* hariç fakültatif anaeropturlar (Ağaçfıdan ve ark., 2005). Buyyonda başlangıçta homojen bulanıklık meydana getirirken, sonra besiyeri durulanır ve dipte ince bir çökelti oluşur (Bilgehan, 1992).

Birçok karbonhidratı parçalayarak son ürün olarak laktik asit meydana getirir. Mannitole etki eder. Nitratları nitritlere indirger. Üreaz (zayıf) ve katalaz pozitif, genellikle oksidaz negatiftir. %10 NaCl ortamında ürer. Chapman besiyerinde (tuz katılmış) izolasyon oranı yüksektir (Ağaçfidan ve ark., 2005).

S. aureus virulansla ilgili çeşitli enzimler ve toksinler salgılar: (Ağaçfidan ve ark., 2005)

- a. Katalaz: Bu enzim hidrojen peroksiti H_2O ve O_2 'e parçalar ve bakteriyi polimorf nüveli lökositlerin etkisinden korur.
- b. Koagülaz: Kan plazmasını pıhtılaştırır ekstrasellüler bir proteindir. Serbest ve hücreye bağlı olmak üzere iki tipi bulunur. Serbest tipi plazmada bulunan koagülaz reaktif faktörü aktive ederek pıhtılaşmaya yol açar. Hücreye bağlı olan tipi kümeleşme (clumping) faktörü olarak isimlendirilir. Kümeleşme esnasında koagülaz reaktif faktör gerektirmez ve doğrudan plazmadaki fibrinojene etki eder. Oluşan plazma pıhtısı içinde kalan bakteriler fagositozdan korunur.
- c. Stafilokinaz: Plazmadaki plazminojeni aktive ederek plazmine dönüşmesini sağlar ve fibrinin erimesine neden olur böylece bakterinin dokular arasında yayılmasını sağlar.
- d. Hiyalüronidaz: Hiyalüronik asidi depolimerize ederek bakterinin yayılmasını sağlar.
- e. Beta laktamaz: Beta laktam antibiyotikleri etkisiz hale getirerek bakterinin bu antibiyotiklere karşı direnç kazanmasını sağlar.
- f. Lipaz: Lipitleri hidrolize eden lipaz, bakterinin vücudun yağlı bölgelerinde kolonize olmasını sağlar.
- g. Hemolizinler: Belirli hayvan eritrositlerini eritmelerine göre hemolizinlerin alfa, beta, gamma ve delta olmak üzere çeşitli tipleri vardır.
- h. Lökosidin (Panton-Valentin): Polimorf nüveli lökosit, monosit ve makrofajlar üzerinde etkili olan lökosidin, lökositlerin hücre hareketini kaybederek şişmesine ve granüllü, yuvarlak bir şekle dönüşerek parçalanmasına yol açar.
- i. Enterotoksin: Isıya dirençli, sindirim sistemi enzimlerine dayanıklıdır ve besin zehirlenmesine neden olur.

- j. Epidermolitik toksin (Eksfoliatin veya eksfoliatif toksin): Proteaz aktivitesine sahiptir ve soyulmuş deri sendromuna neden olur.
- k. Toksik şok sendromu toksini-1: Süper antijen olarak bilinir ve interlökin-1'in üretilmesini stimüle ettiği kabul edilir. Toksik şok sendromuna sebep olur.

İnsan ve sıcakkanlı hayvanlarda çeşitli infeksiyonlara neden olan ve çevrede yaygın olarak bulunan önemli bir patojendir. Vejetatif bakteriler olmalarına rağmen stafilokoklar, ısıya, bazı dezenfektan ve antiseptik maddelere ve diğer çevre koşullarına vejetatif şekildeki diğer bakterilere göre daha fazla direnç gösterirler. Sporsuz bakteriler genellikle 60 °C'de 30 dakikada canlılıklarını yitirdikleri halde stafilokoklar daha yüksek ısıya daha uzun süre dayanırlar, bu yüzden sporsuz olan bakteriler arasındaki en dayanıklı cinstir. Yüksek tuz konsantrasyonunda (%10-15) üreyebilen stafilokoklar, organik maddelerin bulunduğu cerahat ve balgam içerisinde uzun süre canlılıklarını yitirmezler ve kuruluğa oldukça dirençlidirler (Ağaçfidan ve ark., 2005).

S. aureus normal insanların %10-40'ının, hastanelerde çalışanların ve hospitalize hastaların %70'inin burun deliği mukozasında kolonizedir ve günümüz için *S. aureus*'un en önemli yönü kemoterapötik maddelerin birçoğuna hızla dayanıklılık kazanmasıdır. Antibiyotik maddelere karşı genellikle diğer bakterilere göre dayanıklı olan stafilokoklar, hızla kemoterapötiklere direnç kazanırlar. Her yeni çıkan antibiyotik başlangıçta etkili olduğu halde, zamanla bu bakteriler üzerindeki etkisini kaybeder. Bu durum özellikle kemoterapinin en çok uygulandığı hastane ortamlarında meydana gelir (Bilgehan, 1992).

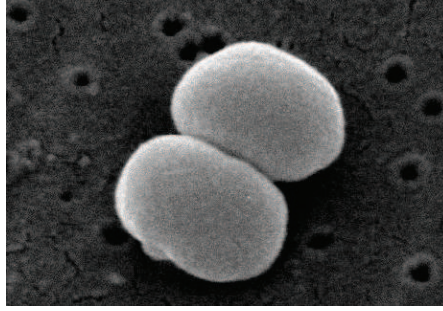
Günümüzde kullanılan kemoterapötik maddelerin çoğuna *S. aureus* direnç kazanmıştır. Penisilin 1946-1950 yıllarında en etkili antibiyotik iken, salgıladığı beta laktamaz ile bakteri bu antibiyotiğe karşı direnç kazanmıştır. Bu direnci önlemek amacıyla yarı sentetik penisilinler (metisilin, oksasilin) geliştirilmiş ancak bu antibiyotiklere de kısa sürede direnç ortaya çıkmıştır. Penisilin direnci, penisilin bağlayan proteinlerin penisiline olan duyarlılığının azalması veya yok olması sonucu da meydana gelir (Ağaçfidan ve ark., 2005).

Stafilokoklar deri, vajen, nazofarenks ve gastrointestinal sistemin normal flora üyeleri olmalarına rağmen, hayatı tehdit edici ciddi infeksiyonlara yol açabilirler (Wilson ve Sande, 2004). *S. aureus*'un tipik lezyonu absedir (Levinson ve Jawetz, 2004). *S. aureus* deri ve yumuşak doku infeksiyonları, gastroenterit, yara infeksiyonları, septik artrit, bakteriyemi, endokardit ve osteomyelit gibi çeşitli klinik tablolara yol açar. Bakteriyel nedenli piyojenik deri infeksiyonlarında en önemli etkindir (Wilson ve Sande, 2004).

2.3. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis, koagülaz negatif stafilokoklar arasında hastalık etkeni olarak en sık izole edilen türdür. Bu bakterinin meydana getirdiği enfeksiyonlar yabancı cisimlerin varlığı ile ilişkilidir. Bu tür enfeksiyonların patogeneğinde stafilokokların yabancı cismin yüzeylerine yapışması ve bu yüzeylerde biyofilm oluşturmaları söz konusudur. Yabancı cisimler fibronektin, fibrinojen, vitronektin gibi konak proteinleri tarafından sarılırlar. Bu proteinlerle kaplı yüzeylere yapışan stafilokoklar ürerler ve mukoz bir madde üreterek içine gömülürler. Böylece bakteriyi kemoterapötiklerin etkisinden, bağışıklık sisteminin humoral ve hücrel mekanizmalarından koruyan biyofilm oluşur. Bu şekilde oluşan bir odaktan kana karışan bakteriler, septisemi benzeri hastalık tabloları meydana getirirler. Bunun sonucunda yabancı cismin uzaklaştırılması gerekli hale gelmektedir. Koagülaz negatif stafilokoklar pek çok kemoterapötiğe karşı dirençli olduklarından etken oldukları enfeksiyonların antibiyotik tedavisinde sıklıkla sorunlar ortaya çıkar (Kayser ve ark., 1997). *Staphylococcus epidermidis*'e ait mikroskop görüntüsüne Şekil 2.3.'te yer verilmiştir.

Derinin normal flora üyesi olan *S. epidermidis*'in kan kültürlerinde sıklıkla izole edilmesi genellikle deriyle kontaminasyon nedeniyledir. Plastik yüzeylere tutunmasını sağlayan hücre yüzeyi faktörleri virulans faktörleri arasındadır (Strohl ve ark., 2006).



Şekil 2.3. *Staphylococcus epidermidis* (URL-2, 2016)

Penisilin ve metisiline büyük oranda direnç gösteren *S. epidermidis*'in metisiline dirençli suş oranı, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'lardan çok daha fazladır. Bu sebeple izolasyon oranları yüksektir (Ağaçfıdan ve ark., 2005).

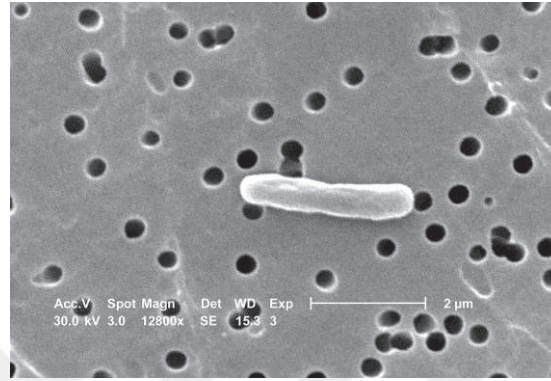
Koagülaz negatif stafilocoklar genellikle yabancı cisim, kateter, protez ve shunt enfeksiyonlarına sebep olur. Yapay kalp kapağına bağlı endokardit, prostetik kalça eklemi enfeksiyonları, santral sinir sistemi shunt enfeksiyonları, vasküler greft enfeksiyonları ve periton diyalizine bağlı enfeksiyonlarda koagülaz negatif stafilocoklar ve özellikle *S. epidermidis* en önemli etkendirler (Tünger ve ark., 1998).

Staphylococcus epidermidis'in ortopedik implantlarda meydana gelen tüm bakteriyel kolonilerin yaklaşık %30'u ile ilgili olduğu bilinmektedir. Düşük steriliteden dolayı deri, tüm protez enfeksiyonlarının %60'ından sorumlu olan stafilocok türlerinin en yaygın kaynağıdır (Trujillo, 2011). Son zamanlarda MRSA ve metisilin dirençli *S. epidermidis* enfeksiyon sıklıkları endişe verici oranda artmıştır (Noda ve ark., 2008).

2.4. *Escherichia coli*

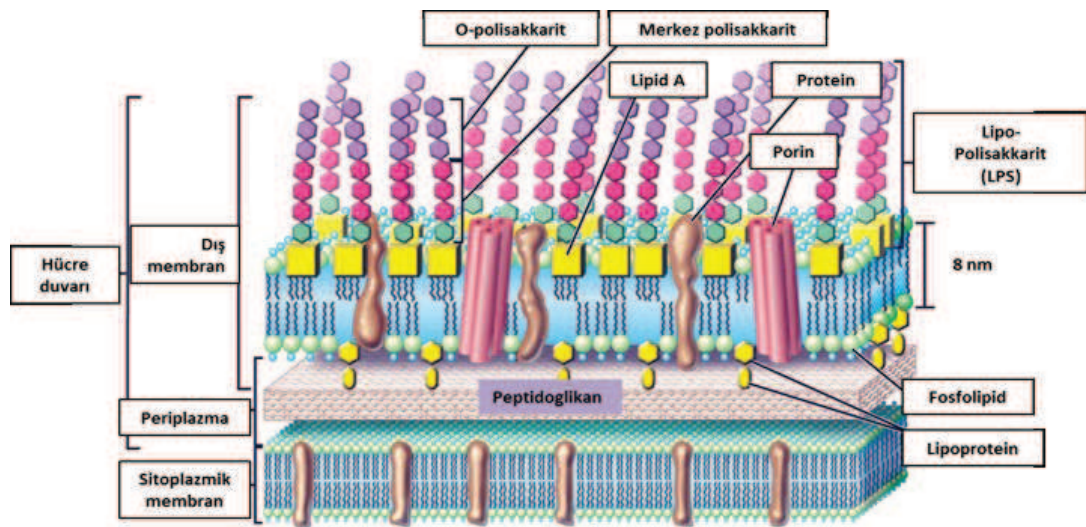
Enterobacteriaceae familyasında *Escherichia* genusu içinde yer alan *Escherichia coli*, insan ve hayvanların kalın bağırsağında normal flora bakterisi olarak bulunur (Baysal, 2004). İnsan ve sıcakkanlı hayvanlarda doğumu takiben 1-2 saat veya gün içinde su ve besinlerle birlikte alınarak ince bağırsakların son kısmına ve kalın bağırsak mukozasına tutunurlar. Bir *E. coli* suşu yerleşiminin ardından aylarca veya yıllarca normal florada kalır ve zararlı mikroorganizmaların kolonizasyonunu engeller. Bununla birlikte enterik enfeksiyonlar ve antibiyotik kullanımı nedeniyle

ortamdan kaybolur (Kılıçturgay ve ark., 1994). *E. coli* yaklaşık 2-6 μm boyunda ve 1-1,5 μm eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklindedir. Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa, bazı kültürlerde ise normalden uzun, Y harfi biçiminde dallanan flamanlı şekilde olabilirler (Baysal, 2004). *E. coli*'ye ait mikroskop görüntüsüne Şekil 2.4.'te yer verilmiştir.



Şekil 2.4. *Escherichia coli* (URL-3, 2016)

Kirpiklere sahip olduklarından dolayı hareketlidirler ancak yavaş hareket ederler, hatta hareketsiz bile görünebilirler. Organizmada bağırsak dışındaki yerlerde çoğunda kapsül veya mikrokapsül bulunur. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanan *E. coli* gram negatiftir (Baysal, 2004). Gram negatif hücre duvarının şematik çizimi Şekil 2.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Gram negatif hücre duvarının şematik çizimi (Madigan ve Martinko, 2010)

E. coli basit besiyerinde 18 saatte 3-4 mm çapında S tipi, kapsüllü olanlar M tipi (mukoid) koloniler meydana getirir (Ağaçfidan ve ark., 2005). Buyyonda homojen bulanıklık yaparlar ve optimal üreme ısıları 37 °C olduğu halde 15-45 °C'de üreyebilirler özellikle 44 °C'de üreyebilmeleri ile benzer bazı bakterilerden (*Enterobacter* ve *Serratia*) ayırt edilirler. Ortalama pH 7,2'de ürerler (Bilgehan, 1992). Triptofandan indolu metabolize etmelerinden dolayı Koyun Kanlı Agarda ayırt edici bir koku oluştururlar (Wilson ve Sande, 2004).

E. coli'nin laktozu fermente etme özelliği *Shigella* ve *Salmonella* gibi barsak patojenlerinden ayırt edilmesini sağlar (Levinson ve Jawetz, 2004). Bu nedenle *E. coli*'nin dışkıda bulunan laktoz olumsuz bakterilerden ayırt edilebilmesi için içeriğinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. Bu amaca yönelik olarak kullanılan EMB (Eozin Metilen Blue) besiyeri laktoz ve eozin metilen mavisi içerir. *E. coli* bakterilerinin bu besiyerindeki laktozu parçalayıp asit oluşturmalarından dolayı koloniler mavi siyah parlaktır, laktoz parçalayamayan bakterilerin kolonileri ise renksizdir. MacConkey jelozu ve SS agar (*Salmonella Shigella* Agar) vb. gibi besiyerlerinde koli basilleri kırmızı koloniler oluştururlar. Bazı koli kökenleri laktozu geç parçaladığı halde (48 saat sonra), pek nadir bazı kökenler ise hiç etki etmezler (Baysal, 2004).

Glikoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz sorbitol, trehaloz ve gliserolu asit ve gaz yaparak parçayan koli basillerinin sükroz, salisin dulsitol ve rafinoz üzerine etkileri ise değişkendir. Adonitol, inozitol ve sellobiozu nadiren fermente ederler. Nişastadan gaz oluşturmazlar. *E. coli* bakterileri triptofandan indol meydana getirirler. Metil kırmızısı testi olumlu; Voges Proskauer testi ise olumsuzdur. Simon'un sitratlı besiyerinde üremezler. Bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar. Sisteinli besiyerlerinde bazı kökenler hariç az miktarda H₂S yaptıkları belirlenmiştir (Baysal, 2004).

Mikrobiyolojinin model objesi olmasından dolayı ayrıntılı olarak incelenen *E. coli* 60 °C'de 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak şartı ile uzun süre canlı kalabilen oldukça dirençli bir bakteridir. Soğuğa dirençli, dezenfektanlara karşı dirençsizdir.

Malaşit yeşili, brillant yeşili ve fuksin gibi boyalar, safra, safra tuzları, sodyum tetrasyonat, bizmut sitrat, sodyum sülfat, sodyum deoksikolat, selenit tuzlarına karşı dirençleri *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilere kıyasla daha azdır. Bu yüzden bu maddelerden belli konsantrasyonlarda besiyerlerine eklenerek *E. coli* basili inhibe edilir böylece besiyerleri *Salmonella* ve *Shigella* için ayırt edici ve çoğaltıcı özellik kazanır. *E. coli*'nin %7 NaCl içeren besiyerinde üremesi engellendiğinden bu tür besiyerleri dışkıdan stafilokok izolasyonu amacıyla kullanılır. *E. coli* kökenlerinin çoğunda bakteriden bakteriye kolayca geçebilen bulaşıcı direnç plazmitleri bulunur. Dışkıdan izole edilen *E. coli* bakterilerinin bir kısmı ve özellikle hastane ortamlarından izole edilenlerin önemli bir kısmı ampicillin, cephalothin, streptomycin, tetrasiklin ve sulfonamide, bir kısmı da chloramphenicol, kanamycin ve trimetoprim'e ve başka kemoterapötiklere karşı sahip oldukları direnç plazmitleri ile direnç kazanmışlardır (Baysal, 2004).

E. coli'nin yapısal faktörler, enzimler, hücre dışına salgılanan toksinler gibi çok sayıda virülans faktörleri vardır. *E. coli* toksinleri arasında enterotoksigen *Escherichia coli* (ETEC) suşları tarafından salgılanan ısıya duyarlı LT (labil toksin) ve ısıya dirençli ST (stabil toksin) ve enterohemorajik *Escherichia coli* tarafından salgılanan sitotoksik etki yapabilen verotoksin bulunmaktadır (Baysal, 2004).

Ayrıca virülans faktörleri arasında bakterinin sahip olduğu O, H ve K antijenleri bulunur. O antijenleri somatik, ısıya dayanıklı, kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksız antijenlerdir. *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter* ve *Providencia* O antijenleri ile *E. coli* O antijenleri arasında çapraz reaksiyonlar meydana gelir. Kirpik antijenleri (H antijenleri) ise protein yapısındadır, termolabildir, 100 °C ısıtmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle bozulurlar, formole dayanıklıdırlar. Kapsül antijenleri (K antijenleri) ise ısıya dayanıklı olmakla birlikte 100 °C ve bazen 120 °C'de 1-2 saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilmektedirler (Bilgehan, 1992).

Konak hücrelerine tutunmalarını sağlayan fimbriyaların tutunma özelliğine göre enfeksiyon yaptıkları anatomik bölge farklılık gösterir (P fimbriyalı bakteriler idrar yolu enfeksiyonu, S fimbriyalı olanlar yeni doğan sepsis ve menenjit). Kolonizasyon

faktörleri gastroenteritten sorumlu olan virülans faktörleridir. Bazı suşlar ise hemolizin salgılar. Alfa hemolizin bağırsak dışı organlarda infeksiyonlara neden olur (Ağaçfıdan, 2005).

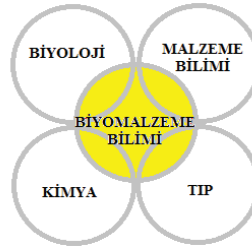
E. coli, besinlerdeki, içme suları ve kullanma sularındaki fekal kirlenmenin bir göstergesidir (Baysal, 2004). Memeli ve kuşlarda normal bağırsak florasında bulunan *E. coli* diğer flora bakterileri ve organizma ile birlikte denge içinde bulunduğu sürece hastalığa yol açmaz. Normal koşullarda kokuşma (putrefaksiyon) – mayalanma (fermantasyon) dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı hususlarda yardımcı olarak rol oynamakla birlikte belirli koşullar altında insan ve hayvan için patojen hale gelir (Bilgehan, 1992). Bağırsak patojeni olarak adlandırılan serotipleri gruplara ayrılır. Yalnız insanda bulunan Enterotoksijenik *E. coli* gastroenterite sebep olur. Gelişmemiş ülke çocuklarında ve başka ülkelere seyahat edenlerde diyareye yol açar. Enterohemorajik *E. coli* salgıladığı verotoksin ile kanlı diyare, Enteroinvaziv *E. coli* besin kaynaklı diyare ve Enteropatojenik *E. coli* ise yenidoğanlarda diyare etkenidir. Ayrıca Enteroaggregatif *E. coli* ve diffüz aderans gösteren *E. coli* bulunmaktadır (Ağaçfıdan ve ark., 2005).

Üropatojenik suşlarla oluşan idrar yolu infeksiyonları ve enteropatojenik suşlarla oluşan ishaller en yaygın görülen *E. coli* enfeksiyonlarıdır. Ayrıca kolesistit, kolanjit, peritonit, perineal abseler, yeni doğan sepsisemi ve menenjitleri ve daha seyrek olarak sinüzit, otit, endokardit, flebit, apandisit, yara infeksiyonları gibi hastalıklara da yol açar (Baysal, 2004). İdrar yolu infeksiyonlarında ve gram negatif sepsiste en sık rastlanan etken *E. coli*'dir (Levinson ve Jawetz, 2004).

BÖLÜM 3. BİYOMALZEMELER

3.1. Biyomalzemelere Genel Bakış

İnsan vücudundaki organ ya da dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan biyomalzemeler, metaller, seramikler, polimerler ve kompozitler olmak üzere 4 gruba ayrılırlar. Bu malzemeler, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı vb.) oluşturmayan malzemelerdir (Pasinli, 2004). Biyomalzemenin sentezlenmesi, optimizasyonu, karakterizasyonu, test metodları ve doku-malzeme etkileşimi çeşitli bilim dallarının yardımıyla incelenmektedir. Biyomalzeme bilimi malzemelerin fiziksel ve biyolojik çalışmalarını ve onların biyolojik ortamdaki etkileşimlerini inceleyen disiplinlerarası bir bilim dalı olarak tanımlanabilir (Metin, 2013).



Şekil 3.1. Biyomalzeme biliminin diğer bilim dallarıyla ilişkisi

Hangi işlev için kullanılacak olursa olsun bir biyomalzemenin üretiminde birbirinden ayrıntılı basamaklar yer alır. Bu süreç şu şekilde işlemektedir (Metin, 2013):

- Malzemede kullanılacak hammaddelerin özelliklerinin incelenmesi
- Malzemenin en fonksiyonel şekilde tasarlanması ve yerleştirileceği vücut dokularıyla uyumluluğunun belirlenmesi
- Malzemenin üretimi için uygun yöntemin saptanması ve üretimin gerçekleştirilmesi

- d. Yapay vücut sıvısı kullanılarak ürüne gerekli vücut dışı (*in-vitro*) karakterizasyon analizlerinin gerçekleştirilmesi
- e. Etik kurul izni ile vücut içi (*in-vivo*) testlerin uygulanması amacıyla öncelikle bir denek hayvanında ve daha sonra gönüllü hastalar üzerinde malzemenin denenmesi

Biyomalzemelerin toksik ve kanserojen özellikte olmaması, mekanik dayanımlarının yeterli olması, vücutta meydana gelen reaksiyonların dışında reaksiyonlara sebep olmaması ve korozyona uğramaması gereklidir. Korozyon, metalin çevresiyle istenmeyen kimyasal reaksiyona girmesi sonucunda oksit, hidroksit ve diğer başka bileşiklerin oluşmasıyla metalin bozunması ve hasara uğramasıdır. Oluşan bu korozyon ürünlerinin doku içerisine girerek hücrelere zarar vermesi söz konusudur (Güven, 2010).

İnsan vücudundaki biyolojik sıvılar, su, tuz, çözülmüş oksijen, bakteriler, proteinler ve çeşitli iyonları (örneğin klorür ve hidroksit) içerir. Sonuç olarak metal veya herhangi bir diğer malzeme biyomalzeme olarak kullanılmak istenirse insan vücudu bu malzemeler için çok agresif bir ortamdır. Bu nedenle ideal bir malzeme veya malzeme kombinasyonu şu karakteristiklere sahip olmalıdır: olumsuz doku reaksiyonundan kaçınmak için biyoyumlu kimyasal kompozisyon, insan vücut ortamında korozyona (bozulma) mükemmel bir direnç, eklemler tarafından çekilen döngüsel yüklemeyi sürdürmek için kabul edilebilir dayanma gücü, kemik rezorpsiyonunu en aza indirmek için düşük modül, aşınma kalıntısı oluşumunu en aza indirmek yüksek aşınma mukavemeti (Türkan, 2004).

İmplant uygulamalarındaki biyomalzemelerden, biyoyumluluğun yanı sıra yük taşıma, yük iletme gibi gereksinimleri karşılamaları beklenir. Yük taşıma fonksiyonu, hareket, destekleme dokuları ve implant malzeme arasında optimum yükün iletilmesi niteliğindedir. Ayrıca implant malzemelerde elastisite modülünün kemiğe en yakın değerde olması, tokluk, sertlik, aşınma-yorulma dayanımı ve çekme dayanımı gibi mekanik özelliklerin kemik malzemeyle uyumlu olması istenir (Yalçın, 2007).

Trafik kazalarının sayısının artmasından dolayı kemik kırıklarının meydana gelmesi yanı sıra insan yaşam süresindeki uzamadan kaynaklanan rekonstrüktif cerrahi gerektiren kas-iskelet koşulları, dünyadaki en az bir ortopedik veya diş implantı olan insanların sayısının giderek artmasına yol açmıştır (Díaz ve ark., 2009).

3.2. Biyouyumluluk

Vücutun implante edilen malzemeye verdiği yanıt iyi huylu bir tepkiden kronik inflamatuvar reaksiyona kadar değişebilmektedir. İmplant edilmiş malzemelerin uygun performans göstermeleri için uygun mekanik dayanıklılık, biyouyumluluk ve fizyolojik ortamda yapısal biyostabilite gibi özelliklere sahip olmaları gerekmektedir. Bu yüzden biyomateryal bilimiyle ilgili olarak implante edilebilir malzemeler öncelikle malzemelerin kimyasal kompozisyonu ve biyolojik uyumlulukları göz önüne alınarak geliştirilmektedir (Kes, 2008).

İmplant ve biyolojik dokular arasında kimyasal veya biyolojik bir etkileşme olmadığı; olduğu takdirde olumsuz olabileceği yıllarca düşünülmüştür. Bu yüzden ideal biyomateryallerin bütünüyle biyoinert yani organizma tarafından tamamen göz ardı edilecek özellikte olması gerektiği kanısına varılarak titanyum, alüminyum, polietilen ve akrilikler gibi inert olduğu düşünülen materyallerin kullanılması yoluna gidilmiştir. Bu görüş doğru olmamakla birlikte bazı sakıncalarının olması da mümkündür. Aslında hiçbir materyal tam olarak biyoinert değildir ve mikro çevrede bazı etkileşimlerin olması kaçınılmazdır. Yeni görüş ise böyle bir etkileşimin olduğunu kabul eder ve bu durumdan organizma için en faydalı olabilecek bir biçimde faydalanmanın yollarını arar. Bu görüşle birlikte biyouyumluluğun yeni tanımı şu şekilde yapılır: belli bir durum veya ortamda implantın konak için uygun yanıt oluşturabilme yeteneğidir (Atilla ve Alpaslan, 2002).

Son zamanlardaki çalışmaların çoğu biyomalzemelerin hızlı bir şekilde ve istenilen düzeyde hücre ve proteinleriyle etkileşimini konu almaktadır ve bu da biyouyumluluk olarak tanımlanmaktadır (Metin, 2013).

Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olması; yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına gösterdiği optimum uyumu şeklinde tanımlanabilir (Baştan, 2012).

Canlı dokuya yerleştirilen tüm malzemeler, yerleştirildikleri dokudan tepki alırlar. Bu tepki doku implant ara yüzeyinde meydana gelir. İmplant malzemeye karşı dört tür doku cevabı oluşabilir (Cengiz, 2007):

- a. Malzeme toksik olduğunda, çevresindeki doku ölür.
- b. Malzemenin toksik olmadığı ve biyoinert olduğu durumda, değişik kalınlıklarda fibröz doku oluşumu meydana gelir.
- c. Malzemenin toksik olmadığı ve biyoaktif olduğu durumda, doku implant arayüzeyinde bağlanma gerçekleşir.
- d. Malzemenin toksik olmadığı fakat çözünür yapıda olduğu durumda, çevresindeki doku implantın yerini alır.

Korozyon direncinin iyi olması implant malzemelerde dikkat edilmesi gereken önemli konulardan birisidir. Dinamik bir ortama sahip vücut sıvısı metallerin korozyona uğramasına neden olur. Metaller korozyona uğradığında vücut için zararlı kimyasal salınımlar yapabilirler, kanserojen ve alerjik tepkimelere yol açabilirler. Bu sebepten dolayı kullanılacak implant malzemelerin korozyon direnci yüksek olan malzemelerden üretilmesi gerekmektedir (Bahadır, 2008).

ISO 10271 korozyonu, bir metalin ya da alaşımın çevresi ile arasında oluşan, materyalin tamamen ya da kısmen bozulmasına veya özelliklerinin değişmesine neden olan fizikokimyasal etkileşim olarak tanımlamaktadır. Korozyon estetikte kötüleşmeye, fiziksel özelliklerin zayıflamasına ya da biyolojik irritasyonlara sebep olabilir. Korozyon genel olarak implant ve üstyapı alaşımlarının mekaniksel özelliklerinin kötüleşmesine ve protezin ömrünün azalmasına, vücutta korozyon ürünlerinin neden olduğu hem lokal, hem de sistemik zararlı reaksiyonların oluşmasına neden olur. Alaşımın korozyona uğramasına *in vivo* birçok biyolojik

faktörler, oral mikroorganizmalar tarafından üretilen ya da gıdaların içeriğinde bulunan organik asitler ve enzimler yardım eder (Tuna, 2006).

Yoğun malzemelere kıyasla makroporoziteye sahip malzemelerin gelişmiş biyouyumluluk göstermeleri yük taşımayan bölgelerde kemik dolgusu olarak kullanımlarına olan ilgiyi arttırmıştır. Bu malzemelerin en büyük avantajları makroporoziteler sayesinde kemik büyümesine ve tutunmasına olanak sağlamasıdır. Buna karşın poroziteler mekanik özelliklerin düşüşüne neden olabilir (Metin, 2013).

Sert doku değişimlerinde çevre dokuların protezlere nüfuzu ve tutturulması için belirli oranda gözeneklilik önemlidir ancak burada daha önemli olan mukavemettir. Protezin mukavemeti çevre kemik dokusunun mukavemetinden fazla olduğu takdirde gerilme yığılmasına (stress shielding) neden olur. Biyoseramik malzemelerde mukavemet, yoğunlukla doğru orantılıdır. Eğer bir biyoseramiğin mukavemeti arttırılmak isteniyorsa, yoğunluk arttırıcı işlemlerden geçirilmelidir. Doku ve implant birleşimlerinde gözeneklilik, dokunun gelişimi ve biyoseramiğin implant ile birleşmesi bakımından önemlidir. Gözenekli malzemelerin, yüksek alan/hacim oranına sahip olmaları biyouygun olmalarını sağlar. Gözenekli seramik implantların en büyük avantajı; kemik, seramik malzemenin gözenekleri içerisinde büyüdüğünde, meydana gelen ara yüzeyin mekanik bakımdan yüksek kararlılığa sahip olmasıdır. Gözenekli implantların kemik oluşumu için yapı iskelesi olarak da kullanım alanları mevcuttur. Mercanlar mikro yapıları sayesinde kontrollü gözenek büyüklüğüne sahip seramiklerin oluşturulması açısından en ideal malzemedir. Gözenekli malzemelerde artan gözenekliliğe bağlı olarak, malzemenin dayanımı daha da azalmaktadır. Gözenekler dokuların iç büyümesine izin verdiklerinden dolayı protezin desteklenme ve korunması sağlanır. Ayrıca, gözenekler bir kanal sistemi gibi işlev görerek, kemik içerisine kan ve diğer vücut sıvılarının ulaşımını sağlarlar. Ancak gözenekliliğin fazla olması mukavemeti düşürdüğünden optimum bir oran kullanılmalıdır (Pasinli ve Aksoy, 2010). Skafoltilar kemik doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılan ve gözenekli bir yapıya sahip malzemelerdir. Skafoltilar hücre büyümesini destekleyen ve dokudaki hatalı bölgenin yeniden büyümesine olanak sağlayan implant malzemesi olarak kullanılmaktadır. Skafoltiların en önemli malzeme özelliği geçirgen oluşlarıdır.

Besin (nutrient) difüzyonunun, iç sıvıların (interstitial fluid), kan akışının, hücre büyümesinin ve fonksiyonlarının maksimum olarak sağlanabilmesi için gözenek yapının ve gözenekliliğin belirli bir sınırdan daha büyük olması ve gözenek bağlantı mimarisinin bu işlevlere uygun olmasını gerekir (Bahadır, 2008).

Birçok çalışmada osteoblast hareketlerinin, mikron boyutundaki tanelere sahip malzemelere göre nano yapıdaki malzemeler üzerinde daha fazla ve gelişkin olduğu belirlenmiştir. Kemikte bulunan doğal hidroksiapatit ile olan tane boyutlarının benzerliğinden dolayı nano taneli hidroksiapatit medikal uygulamalarda oldukça önemlidir. Nano taneli hidroksiapatitlerin hem mekanik hem de biyolojik özellikleri açısından geleneksel hidroksiapatite göre üstün olduğu görülmüştür (Evis, 2011).

İmplantlarda öncelikli olarak biyouyumlu malzemelerin kullanılmasının yanı sıra bu ürünlerin hızlı iyileşmeyi sağlaması, kemik matriksi ve implant arasında karakteristik bir ara yüzey tabakası oluşturması, biyomekanik dayanımının yüksek olması beklenmektedir. Belirtilen bu özellikler implant tasarımı ve şekli, malzemenin yüzey topografisi ve yüzey kimyası, mekanik yükleme, cerrahi yöntem, hastanın kemik kalitesi ve kantitesi gibi birçok parametreye bağlılık gösterir. Yüzey modifikasyonları, malzemelerin yüzey kimyasını değiştirmek amacıyla gerçekleştirilmektedir (Kes, 2008).

Autograft malzemelerin azlığı ve allograftların yarattığı sağlık riski, sentetik kemik ve sert doku malzemelerine ihtiyacı arttırmaktadır. Bu uygulamalarda hidroksiapatit (HA) tercih edilmesinin nedeni bu malzemenin kimyasal, mekanik ve morfolojik olarak dokuya olan benzerliğidir (Metin, 2013).

3.3. Kemik ve Mineralojik Yapısı

İnsan kortikal kemiği yaklaşık üçte ikisi hidroksiapatit nanokristalden oluşan doğal olarak meydana gelen kompozit bir malzemedir (Jang ve ark., 2014). Kemik kandan sonra en çok implante edilen dokudur (Wahl ve Czernuszka, 2006).

Kemik, organik matriks içinde depolanmış hidroksiapatit kristallerinden oluşan bir yapıdır. Kemik dokusunda dört hücre tipi mevcuttur: osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve kemik astar hücreleri. Kemik, yeni kemik matriksini mineralize eden ve üreten osteoblastlar, matriksi sürdüren osteositler ve matriks rezorbe eden osteoklastlar ile sabit hızda yeniden yapılır. Kemik astar hücreleri, osteoblastların prekürsörleri olduğuna inanılan inaktif hücrelerdir (Swain, 2009).

Hemen hemen tüm omurgalı organizmaların trabeküler kemikleri esas olarak makrogözenekli (%55-70 birbirine bağlı gözeneklilik) kemik mineralinden (örneğin kalsiyum hidroksiapatit) oluşur. Trabeküler kemiklerde gözlenen makrogözeneklilik kemik matriks içine yumuşak dokuların ve hücrelerin büyümesine izin verir (Engin ve Tas, 1999).

Kompleks mikro yapılara sahip olmaları nedeniyle kemikler, seramik organik kompozitler olarak tanımlanabilirler. Kemik yaklaşık olarak ağırlıkça %20 kollajen, %69 kalsiyum fosfat ve %9 oranında su ve diğer organik minerallerden meydana gelmektedir. Ana yapısı Ca^{+2} ve P'dan oluşan kemik ayrıca Na^{+} , Mg^{+2} , K^{+} , CO_3^{-2} , F^{-} , Cl^{-} ve H_2O içerir (Yeşilay, 2006). Doğal kemikler esas olarak kollajen ve hidroksiapatit içerirler (Tablo 3.1.) (Ficai ve ark., 2011).

Tablo 3.1. Sağlıklı kemiğin kompozisyonu (Ficai ve ark., 2011)

Bileşenler	%wt
Mineral faz	
Hidroksiapatit	60-66
Karbonat (çoğunlukla karbonatlı hidroksiapatit olarak)	~4
Sitrat	~0,9
Na^{+}	~0,7
Mg^{2+}	~0,5
Diğer	Eser
Organik faz	
Kollajen	20-25
Non-kollajenöz proteinler (osteokalsin, osteonektin, osteopontin, sialoprotein, BMP)	2-3
Diğer (polisakkaritler, lipitler, sitokinler)	Eser
Su	8-9

Stokiometrik hidroksiapatitte, kalsiyum ve fosfor yüzdelerinin ağırlıkça sırasıyla 39,84 ve 18,52 olduğu; yetişkin bir insan kemik bileşiminde ise kalsiyum ve fosfor yüzdelerinin sırasıyla 34,8 ve 15,2 olduğu belirlenmiştir ki bu durum kemiğe yoğunluğunu ve mukavemetini veren yapının hidroksiapatit olduğunu göstermektedir (Metin, 2013). Sağlıklı kemiğin biyomekanik özellikleri Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Sağlıklı kemiğin biyomekanik özellikleri (Ficai ve ark., 2011)

Özellik	Kortikal kemik	Süngerimsi kemik
Young modülü (GPa)	7-30	0,05-0,5
Sıkıştırma mukavemeti (MPa)	100-230	2-12
Eğilme mukavemeti (MPa)	50-150	10-20
Kırılma tokluğu (MPa m ^{1/2})	2-12	0.1
Kopma uzaması	1-3	5-7
Görünür yoğunluk (g/cm ³)	1,8-2,0	0,1-1,0
Yüzey alanı/hacim oranı (mm ² /mm ³)	2.5	20

Kemik makroskopik olarak kortikal (sıkı yapılı) ve trabeküler (süngerisi) kemikten oluşur. Kortikal (sıkı yapılı) kemiğin ağırlıkça %69'unu kalsiyum fosfat mineraller, %22'sini organikler ve %9'unu su oluşturur. Organik fazın ise ağırlıkça %95'ini kollajen (tip I), geri kalan kısmını ise proteoglikanlar ve başka kollajen olmayan proteinler meydana getirir. Sıkı kemik dokusunda Havers kanalları, Volkman kanalları, lakün ve kanaliküli diye adlandırılan yapılar bulunur. Kollajen faz içinde iğneler şeklinde bulunan biyolojik apatitlerin kalınlıkları 1,5-7,5 nm ve uzunlukları da 20-70 nm arasındadır (Evis, 2011).

İnsan kemiklerinin kortikal ve trabeküler kısımlarının matrisleri iki fazdan meydana gelmektedir. Bunlar: Kalsiyum HA ve Trikalsiyum fosfat (TCP:Ca₃(PO₄)₂). Asıl faz olan doğal kalsiyum HA, kortikal kemiklerde %50'den az olmamak üzere gözenekli bir yapı meydana getirir. Diğer yandan, trabeküler kemikler ise %75'in üzerinde gözenekli olan bir kafese sahiptirler. İnsan kemiklerindeki gözeneklerin boyutları, 100-500 µm aralığında olup doğal kemik iliği ile doldurulmuşlardır. Kemikler, dentin ve diş minesini, HA, protein, diğer organik maddeler ve sudan oluşan doğal kompozitlerdir. Kemik dokusunun mukavemeti, bütün bileşenlerinin ayrı ayrı mukavemetlerinden daha büyüktür. Kemik yapısındaki kollajen, HA'nın gevrek kırılmasını önler, HA ise sertliğiyle kollajenin plastik deformasyon bölgesine girmesini engeller (Pasinli ve Aksoy, 2010).

3.4. Osseointegrasyon

Osseointegrasyon "yük taşıyan implantın yüzeyi ve canlı kemik arasında düzenlenmiş yapısal ve işlevsel doğrudan bağlantı" olarak tanımlanır. Osseointegrasyon meydana geldiğinde biyolojik olmayan malzeme kemik ile doğrudan temas halindedir ve reddin veya enflamatuvar yanıtın olmaması belirgindir (Besu, 2007).

Osseointegrasyon insan iskeleti içerisine red olayı başlamadan biyolojik olmayan malzemenin birleşmesini ve kronik inflamatuvar yanıt oluşmadan sürekli penetrasyonunu içeren bir olaydır (Kes, 2008).

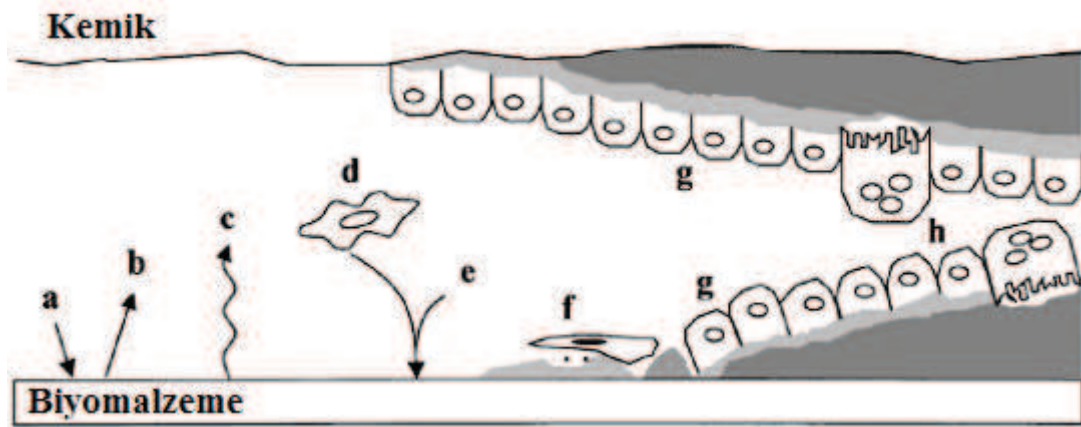
Mineralize kemik temas ettiği implant yüzeyinin uzunluğunca büyür. Osseointegrasyonun implantların etrafındaki yumuşak dokular, koroner uçta sıkı bir doku bariyeri oluştururlar. Doğal dokulardaki ile karşılaştırıldığında bu doku bariyeri oranca daha yüksek kollajene karşılık daha düşük fibroblast içermektedir. Çimento eksikliğinden dolayı kollajen fiber oluşumu için dental implantlar etrafındaki fiberler implant yüzeyine paralel olarak yerleşirler. Epitelyum hücreler implant yüzeyine doğal dişlerdeki gibi hemidesmozomlar, bazal lamina, epitel ile sürekli apikal olan sulkular epitelten oluşan sulcus yardımıyla bağlanır (Kes, 2008).

Kemik kırıklarının iyileşmesi boyunca gerçekleşen prosesler ile implante edilmiş biyomalzemeler etrafındaki osseointegrasyon mekanizmasının temelinde yatan süreçler çok benzerdir. İmplantın yerleştirilmesinin sonrasındaki ilk faz boyunca implant ve kemik arasındaki boşluğu dolduran kan pıhtısının yerini osteoid doku ve yeni trabeküler kemik alır. Ardından doku, implant yüzeyinin büyük çoğunluğuyla temas halinde bulunan lamellar kemiğe dönüşerek osseointegrasyonun biyolojik süreci tamamlanmış olur. Kemik kalsifikasyonu, aktif osteoblast ve osteositleri de içeren kemik oluşturan hücreler tarafından ekstraselüler organik matriks salgılanmasıyla gerçekleşir. Osseointegrasyonun tamamlanmasıyla da peri-implant kemik iyileşmesi sağlanmış olur (Kes, 2008).

Peri-implant osteogeneziste temel süreçler kollajence zengin matriks sentezinden ve mineralizasyondan sorumlu osteoblastlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Kemik resorpsiyonu yapan osteoklastlar, immün hücreler, fibroblastlar gibi diğer hücre tipleri de osseointegrasyon mekanizmasında yer alır (Kes, 2008).

İmplantasyon sonrası implantın kemiğe entegrasyonunu etkileyen birçok kompleks faktör bulunmaktadır. Bu faktörler implantın malzemesi, şekli, topografisi ve yüzey kimyası gibi implantla ilgili faktörler ve mekanik yükleme, cerrahi teknik ve kemik kalitesi gibi hastaya bağımlı değişkenlerdir (Kes, 2008).

Biyomalzemelerin performansı iki etkenden oluşmaktadır. Konağın implanta olan yanıtı ve implantın konaktaki davranışı Şekil 3.2.'de şematik olarak sunulmuştur (Kes, 2008).



Şekil 3.2. Kemik-implant arayüzünde gerçekleşen olaylar (a) Kandan ve doku sıvılarından biyomalzeme üzerine protein adsorpsiyonu, (b) protein desorpsiyonu, (c) yüzey değişimleri ve malzeme salınımı, (d) inflamatuvar ve bağlantılı doku hücrelerinin implanta ulaşması, (e) matriks proteinlerinin hedeflenmiş salınımı ve çeşitli proteinlerin seçilmiş adsorpsiyonu, (f) lamina limitanlarının oluşumu ve osteogenik hücrelerin adhezyonu, (g) ekspoze olmuş kemik ve implant yüzeyinde kemik birikimi, (h) yeni oluşmuş kemiğin şekillenmesi (Kes, 2008)

Diş implantının orta derecede pürüzlü yüzeyinin osseointegrasyonu arttırdığı bilinmektedir. Ancak, ağız boşluğuna maruz kaldığında düz yüzeyler ile karşılaştırıldığında pürüzlü implant yüzeyinin daha yüksek bakteriyel akümülyasyon riski olduğu düşünülmektedir (Mo ve ark., 2008).

3.5. Biyomalzeme Çeşitleri

Önceleri biyouyumlu malzemeler hastaya zarar vermeyen; inert olan, toksik ve trombojenik olmayan malzemeler olarak algılanırken; bu kavram zamanla malzemenin belirli bir durumda ana dokunun verdiği cevabı vermesi, yani inertlik yanında pozitif bir etkiyi de içermesi olarak değiştirilmiştir. Böylece bazı biyomalzemelerin kemikler ile direk kimyasal bağ oluşturabilmesine olanak sağlayan bir durum ortaya çıkmıştır. Biyoinertlikten farklı olan bu özellik biyoaktiflik olarak tanımlanmaktadır. Biyoaktif malzemeler özel biyolojik aktivite amacıyla tasarlanmaktadır. Birçok durumda biyoaktiflik, malzemenin vücut dokusu ile kaynaşıp, temas halinde olduğu kemik ile ara yüzeyde kuvvetli bir bağ oluşturmasıdır. Uygun biyoaktif malzemedan üretilen implant malzemesi doku ile implant arasında çabuk bir şekilde kuvvetli bir bağ oluşumunu sağlar. Böylece implant malzemesinin herhangi bir mekanik destek sağlayıcı (vidalama gibi) olmadan sabitlenmesi sağlanır. Meydana gelen bu bağ o kadar sağlamdır ki implantı vücuttan ayırmak için ya çevreleyen dokunun kırılması veya implant malzemesinin deforme edilerek yerinden çıkarılması gerekmektedir (Bahadır, 2008).

Son zamanlarda kemik replasmanı için canlı konak doku ile kararlı bir arayüz oluşturma yeteneğinin yanı sıra mekanik mukavemete sahip yeni jenerasyon biyomalzemeleri geliştirmek için malzeme bilimi alanında aktiviteler gözlemlenmiştir. Bu şekilde üretilen malzemeler biyoinert (örneğin, alümina ve zirkonya), emilebilir (örneğin, trikalsiyum fosfat), biyo-aktif (örneğin, hidroksiapatit, biyoaktif cam ve cam seramik) veya doku içebüyümesi için gözenekli (örneğin, hidroksiapatit kaplı metaller) olabilir (Dasgupta ve ark., 2004).

Biyouyumluluğu yüksek olup kullanılmakta olan biyomalzemeler; metalik biyomalzemeler, biyoseramikler, polimer biyomalzemeler ve biyokompozitlerdir (Güven, 2010).

3.5.1. Biyoseramikler

Kas-iskelet sisteminin hastalıklı ve hasarlı parçasının rekonstrüksiyonu ve onarımı ile ilgili seramikler biyoseramikler olarak adlandırılır (Dasgupta ve ark., 2004). Biyoseramikler, kimyasal reaktifliklerine göre biyo inert (oksit seramikleri), biyoaktif (kalsiyum seramikleri) ve biyobozunur (cam seramikleri) olmak üzere üç grupta sınıflandırılabilir. Biyo inert seramikler doku ile mekanik bağ; biyoaktif seramikler kimyasal bağ yaparak etkileştikleri halde biyobozunur seramikler ise doku ile yer değiştirmektedirler. Bazı klinik uygulamalardaki yavaş ilerleyen çatlaklar, yorulma ve değişik darbe ve basınçlara dayanımlarının tam olarak bilinmemesi biyoseramiklerin kullanımını sınırlayan nedenlerin en önemlileridir. Bunları önlemek için kullanılan yeni yaklaşımlar biyoaktif kompozitler ve biyoaktif seramiklerle yapılan kaplamalardır (Cengiz, 2007). Biyoseramiklerin doku cevabına göre sınıflandırılması yapılmıştır (Tablo 3.3.).

Tablo 3.3. Biyoseramiklerin doku cevabına göre sınıflandırılması (Baştan, 2012)

İMLANT TÜRÜ	DOKU CEVABI	ÖRNEK
Gözeneksiz, yoğun ve inert seramikler	Çok ince fibröz doku oluşumu (morfolojik sabitleme)	Alümina, Zirkonya
Gözenekli, inert seramikler	Gözenek içerisinde doku büyümesi (biyolojik sabitleme)	HA
HA ile kaplanmış metaller, gözeneksiz, biyoaktif seramikler	Doku-implant arayüzey bağlanması (biyoaktif sabitleme)	Biyoaktif camlar, Cam-seramikler, HA
Rezorbe olan seramikler	Emilme	Trikalsiyum fosfat, Biyoaktif camlar

Biyoseramik malzemeler, insan iskeletinin zarar görmüş parçalarını tamir etmek ve yeniden yapılandırmak için özellikle kemik defektlerini doldurmada kemik ikameleri olarak yaygın bir şekilde kullanılır. Kalsiyum fosfat seramikler özellikle hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat klinik pratikte büyük ilgi görmüştür. Mükemmel biyolojik uyumluluk, biyoaktivite ve osteokondüksiyondan dolayı bu bileşikler, kemik ikame malzemeleri olarak gittikçe artan oranda kullanılmaktadır. Bu malzemeler enjekte edilebilir sement, granüller veya makro gözenekli bloklar şeklinde mevcuttur (Descamps ve ark., 2009). Biyoseramiklerin klinik kullanımları Tablo 3.4.'te görülmektedir.

Tablo 3.4. Biyoseramiklerin klinik kullanımları (Çiftçioğlu, 2000)

UYGULAMA	MALZEME
Ortopedik	Al ₂ O ₃ Stabilize ZrO ₂ Hidroksiapatit toz Biyoaktif cam toz
Biyoaktif bağlanma için kaplamalar	Hidroksiapatit Biyoaktif cam seramikler
Kemik boşluğu dolguları	Trikalsiyum fosfat Kalsiyum fosfat tuzları
Dental implantlar	Al ₂ O ₃ Hidroksiapatit Biyoaktif camlar
Yapay tendon ve ligament	Poli(laktik asit)-karbon-fiber kompozit
Periodontal cep obliterasyonu	Hidroksiapatit Hidroksiapatit-Poli(laktik asit) kompozit Trikalsiyum fosfat Kalsiyum fosfat tuzları Biyoaktif camlar
Alveoler sırt augmentasyonu	Hidroksiapatit Hidroksiapatit-otojen kemik kompozit Biyoaktif camlar
Maksillofasiyel rekonstrüksiyon	Al ₂ O ₃ Hidroksiapatit Polietilen-Hidroksiapatit kompozit Biyoaktif camlar
Spinal cerrahi	Biyoaktif cam-seramik Hidroksiapatit
Tümörler için terapötik tedavi	Nadir element doplu alumino silikat Camlar
Yapay kalp kapakçıkları	Pirolitik karbon kaplama
Kulak, burun, boğaz	Al ₂ O ₃ Hidroksiapatit Biyoaktif camlar Biyoaktif cam seramikler Polietilen-Hidroksiapatit kompozit

3.5.2. Polimer biyomalzemeler

Vücudun büyük bir kısmını su oluşturur ve dokular oldukça esnek bir yapıya sahiptirler. Oysa metal ve seramikler esnek değildir, serttirler ve özellikle yoğunlukları suya göre çok yüksektir o yüzden bu malzemelerin biyomalzeme olarak kullanımlarının polimerlere nazaran iyi bir seçenek olmadığı görülmektedir. Polimer biyomalzemeler biyomedikalde en çok kullanılan malzemeler olup kardiyovasküler veya yumuşak dokuların transplantasyonunda (değiştirilme uygulamaları), yapay kalplerde, yapay kalp kapakçıklarında, kontak lenslerde kullanılmaktadır (Bahadır, 2008).

Polietilen (PE), poliüretan (PU), politetrafloroetilen (PTFE), poliasetal (PA), polimetilmetakrilat (PMMA), polietilenteraftalat (PET), silikon kauçuk (SR), polisülfon (PS), polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA) gibi çok sayıda polimerin tıbbi uygulamaları mevcuttur. Çok değişik bileşimlerde ve şekillerde (lif, film, jel, boncuk, nanopartikül) hazırlanabilen polimerler, sıvıları yapısına alarak şişebilir, istenmeyen zehirli ürünler (monomerler, antioksidanlar gibi) salgılayabilir ve sterilizasyon işlemlerinden etkilenebilirler (Güven, 2010).

3.6. Biyomalzemelerin Kullanım Alanları

Metal, seramik, polimer ve bunların kompozitlerinden oluşan biyomalzemeler, insan vücudundaki organ ya da dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla tıp ve diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu malzemelerdeki en önemli özellik olan biyouyumluluk sayesinde bu malzemeler, kendisini çevreleyen dokularda istenmeyen tepkiler oluşturmadan işlevlerini yerine getirebilirler. Biyolojik sistemlerle uyumlu olan yeni malzemelerin geliştirilmesi için araştırmalar devam etmekte ve gün geçtikçe önemi artmaktadır (Pasinli ve Aksoy, 2010).

Biyomalzemelerin genel kullanım alanları şu şekildedir (Güven, 2010):

- a. Hastalıklı veya hasar görmüş kısımların yerine kullanmak (diyaliz, protezler)
- b. İyileşmeye yardımcı olmak (ameliyat ipliği, vida ve tel olarak)
- c. Fonksiyonelliği artırmak için (lens, kalp pili, işitme cihazı)
- d. Kozmetik problemleri düzeltmek için (diş teli, deri implantasyonu, silikon)
- e. Tedaviye yardımcı olmak için (kateter, direnaj)
- f. Teşhise yardımcı olmak için (biyogilayıcılar, endoskopi, enjektör)
- g. Fonksiyon bozukluklarını düzeltmek için (omurga fiksatorleri)

Biyomedikal malzemeler modern dünyada çeşitli protez cihazların üretiminde önemli ve kritik bir rol oynamaktadır. Protez cihazlar, orijinal parçanın fonksiyonu sağlamak için insan vücudu gibi biyolojik sistemde kullanılan yapay replasmanlardır. Bu

cihazlar kullanım amacına bağlı olarak, genellikle polimerik, metalik ve seramik malzemeler veya bu malzemelerin kombinasyonlarından yapılır (Gurappa, 2002).

Tıbbi uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler sert doku yerine kullanılacak biyomalzemeler ve yumuşak doku yerine kullanılacak biyomalzemeler olarak iki gruba ayrılabilir. Ortopedik ve diş implantları, genelde metal ve seramiklerden; kalp damar sistemi ve genel plastik cerrahi malzemeleri ise polimerlerden üretilir. Ancak, bu tür bir gruplandırma her zaman geçerli değildir. Örneğin, bir kalp kapakçığı polimer, metal ve karbondan hazırlanabildiği halde; bir kalça protezi de metal ve polimerlerin kompozitlerinden üretilir (Cengiz, 2007). Uygulama alanlarına göre biyomalzemeler Tablo 3.5.'te yer almaktadır.

Tablo 3.5. Uygulama alanlarına göre biyomalzemeler (Verma, 2008)

Uygulama Alanı	Malzeme Türü
İskelet Sistemi	
Eklemler replasmanları	Titanyum, Ti-Al-V alaşımı, Paslanmaz çelik, Polietilen
Kemik plaka	Paslanmaz çelik, Kobalt-Krom alaşımı
Kemik sementi	Poli(metil metakrilat)
Kemik hasarı tamiri	Hidroksiapatit
Yapay tendon ve ligament	Teflon, Sentetik kumaş
Dental implant	Titanyum, Ti-Al-V alaşımı, Paslanmaz çelik, Alümina
	Kalsiyum Fosfat
Kardiyovasküler Sistem	
Kan damarı protezi	Sentetik kumaş, Teflon, Poliüretan
Kalp kapakçığı	Yeniden işlenmiş doku, Paslanmaz çelik, Karbon
Kateter	Silikon kauçuk, Teflon, Poliüretan
Organlar	
Yapay kalp	Poliüretan
Deri tamiri	Silikon-Kollajen kompozit
Yapay böbrek	Selüloz, Poliakrilonitril
Kalp-Akciğer makinesi	Silikon kauçuk
Duyular	
Koklear replasmanı	Platin elektrot
İntraokular lens	Poli(metil metakrilat), Silikon kauçuk, Hidrojel
Kontak lens	Silikon-Akrilat, Hidrojel
Korneal bandaj	Kollajen, Hidrojel

3.7. Biyomalzemelerin Avantaj ve Dezavantajları

Malzeme türüne göre biyomalzemelerin sahip oldukları avantajlar ve dezavantajlar Tablo 3.6.'da sunulmuştur.

Tablo 3.6. Biyomalzemelerin avantajları ve dezavantajları (Baştan, 2012)

Malzeme Türü	Avantajları	Dezavantajları	Örnekler
Polimerler	Esnektiler, fabrikasyonları kolaydır, düşük dansitelidirler.	Mekanik güçleri düşüktür ve zamanla bozunurlar.	Cerrahi iplikler, arter ven damarları, tendonlar, burun, kulak, elmacık kemiği
Metaller	Gerilme dirençleri yüksektir, kullanımda dayanıklıdır.	Biyouyumlulukları düşüktür, dansiteleri yüksektir ve canlı ortamda korozyona uğramaktadırlar.	Ortopedik birleştiriciler (tabaka, çivi vb.), diş implantları
Seramikler	İnerttirler, biyouyumlulukları iyidir, korozyona ve fazla sıkıştırmaya dayanıklıdır.	Mekanik güvenleri düşüktür, esneme özellikleri olmadığından ve yüksek dansiteli olduklarından fabrikasyonları zordur.	Kalça protezleri, dişler, derialtı sistemleri
Kompozitler	Biyouyumlulukları iyidir, inerttirler, korozyona dayanıklı ve gerilme dirençleri yüksektir.	Materyal üretimi zordur.	Kalp kapakçıkları, diz kapağı implantları

3.8. Biyomalzemeler ve Enfeksiyon

Biyomalzemelerin kullanımının daha fazla yaygınlaşmasını önleyen faktörler arasında en önemlileri doku integrasyonunun sağlanamaması ve biyomalzeme enfeksiyonlarıdır. Doku integrasyonunu artırmak amacıyla biyomalzeme yüzeyinde yapılan değişiklik bakterilerin adezyon riskini de arttırabilir (Göksan, 2003).

Doğada bakterilerin %99'u biyofilm olarak kümelenir. Biyofilmler antimikrobiyal ajanlar tarafından öldürülmeye direnç sağlamak için kaynaklarını biraya toplayan

milyarlarca bakteriden oluşan kompleks kolonilerdir. Medikal cihazlar primer bakteriyel adherens ve biyofilm oluşumu için sıcak, nemli, besin açısından zengin ortamlarda ideal yüzeyler sağlar. Biyofilm mikroorganizmalarını antibiyotik terapisi ile eradike etmek zor olduğundan akut, lokal ve kan enfeksiyonları sıklıkla gelişir. Biyomedikal implantlar ve plastik kateterlerin artan kullanımıyla hastane kökenli enfeksiyonlar son yıllarda yaygın hale gelmiştir. Kalıcı cihazların bakteriyel kolonizasyonu, sistemik enfeksiyon ve cihazın arızalanmasına yol açabilir (Storey, 2005). İmplant cihazların yüzeyinde mikrobiyal kolonizasyon ve biyofilm oluşumu peri-implantitis ve kemik kaybına neden olabilir (Liao ve ark., 2010).

Biyofilm bir biyomateryal varlığı nedeniyle oluştuğunda ciddi klinik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Biyomateryal vücuda yerleştirildiğinde yara ortamındaki makromoleküllerden oluşan bir tabaka ile kaplanır (conditioning film). Bir başka deyişle biyomateryal plazma proteinlerini adsorbe eder. Bu süreç saniyeler içinde gerçekleşir. Mikroorganizmalar genellikle çıplak biyomateryal yüzeyi yerine bu film tabakasına tutunurlar. Mikroorganizmaların geri dönüşümlü gevşek olan ilk adhezyonu, ekzopolimer üretimi ile sıkı bir tutunmaya dönüşebilir. Ekzopolimerler, glikokaliks (slime) tabakayı oluştururlar ve bakteriler bu tabaka içinde vücudun savunma mekanizmalarından ve antibiyotiklerden korunurlar (Göksan, 2003). İmplantların etrafındaki enfeksiyon patogeneğinde biyomalzeme yüzeylerine bakterilerin ilk adhezyonunun kritik bir olay olduğuna inanılır ve bu nedenle implant yüzeyine ilk bakteriyel adhezyonu önlemek önemli bir stratejidir (Zhao ve ark., 2009).

Bakteri adhezyonunda biyolojik bir sıvı ortamında iki yüzeyin birbirleri ile etkileşimi söz konusudur. Bu yüzden etkileşen mikroorganizma ve substratum yüzeylerinin özellikleri önemlidir. Bakterilerin biyomateryal yüzeyine tutunmasında Van der Waals kuvvetleri, asit-baz etkileşimleri, elektrostatik etkileşimler rol oynarlar. Van der Waals kuvvetlerinin oluşması yüzeyin hidrofobik veya hidrofilik olmasıyla ilgilidir. Bakterilerin adhezyon ve çoğalmasının biyomateryalin hidrofobisitesi, elektrik yükü ve pürüzlülüğü gibi yüzey özellikleri tarafından kontrol edildiği, ayrıca bakteri hücre yüzeyindeki bazı spesifik moleküllerin de etkili olduğu

düşünülmektedir. Biyomateryal yüzeyinin hidrofobik olması plazmadan hangi proteinlerin adsorbe olacağını belirler. Enfeksiyona dirençli biyomalzeme tasarlanmasında bu etkileşimlerin daha iyi anlaşılması yardımcı olabilir (Göksan, 2003).

Biyomalzeme yüzeylerinin farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olması sebebiyle bakterilerin bu yüzeylere tutunabilmesi de farklıdır. Dolayısıyla enfeksiyona yatkınlıkları da farklıdır. Polimer enfeksiyonlarında sıklıkla *S. epidermidis* ile, metal implant yada ölü kemik enfeksiyonlarında ise *S. aureus* ile karşılaşmaktadır. Kemik çimentosu (polimetilmetakrilat) enfeksiyona eğilimli bir malzemeyken, titanyum (Ti) ve kobalt-krom (CoCr) ise enfeksiyona göreceli olarak dirençlidir. Yapılan deneysel çalışmalarla malzeme yüzeyinin pürüzlü olması durumunda enfeksiyon oluşması için gereken inokulum miktarının azaldığı görülmüştür (Göksan, 2003).

Sağlıklı deneklere 2-8 milyon *S. aureus*'un enjekte edildiği deneysel çalışmalarda enfeksiyon gelişirken; dikiş materyali benzeri bir yabancı cisim varlığında minimum infektif dozun 10000 kez azaldığı belirlenmiştir (Atilla ve Alpaslan, 2002).

Biyofilm, yapışık bakterileri konak savunma sistemi ve bakterisidal ajanlardan mekanizmalar yoluyla korur. Dolayısıyla implant üzerindeki konak bağışıklık yeteneği bozulur. İmplantasyon sonrası erken safhada lokal savunma sistemi cerrahi travma yüzünden ciddi olarak bozulur ve dolayısıyla enfeksiyon için en tehlikeli zamandır. Hatta doku integrasyonunun tamamlanmasından sonra bile, implant / doku arayüzünde savunma yeteneği hala bu bölgede kan damarlarının az sayıda olması nedeniyle tehlikeye düşer. İndirgenmiş savunma mekanizması bakteriyel kolonizasyonunu kolaylaştırır ve sonuç enfeksiyon olabilir. Enfeksiyon oluştuktan sonra onu ortadan kaldırmak için hala hiçbir iyi yol bulunmamaktadır ve implantın çıkarılması genellikle sorunu yok etmek için tek etkili yoldur (Zhao ve ark., 2009).

Ciddi postoperatif komplikasyonlardan biri olan cerrahi alan enfeksiyonun da dahil olduğu bakteriyel enfeksiyon, hastalar ve cerrahlar için zor olmakla birlikte aynı zamanda medikal maliyetleri de arttırır (Shimazaki ve ark., 2009).

Biyomateryal-bakteriyel interaksiyonlar, birçok tıbbi cihazın uygulanmasında önemlidir. Kalp kapakçıklarının uygulanmasıyla oluşabilen bakteriyel endokardit, üriner kateterlerin kullanımıyla ortaya çıkan kronik üriner enfeksiyonlar, ventriküler kateterlerin uygulanmasıyla gelişen fatal enfeksiyonlar ve ortopedik protezlerden sonra ortaya çıkabilen protez enfeksiyonları tıpta en dirençli ve en tehlikeli enfeksiyonlar olarak gösterilmektedir (Atilla ve Alpaslan, 2002). Sıkı aseptik prosedürler, biyolojik temiz oda kullanımı ve uygun antibakteriyel ajanların kullanımı gibi önleyici tedbirler rapor edilmiştir, fakat problem devam etmektedir. Bunun nedenlerinden biri protezlerin bağışıklık kontrolü dışında özel şartlar altında konumlandırılmasıdır (Shimazaki ve ark., 2009).

Perioperatif antimikrobiyal profilaksi ve laminar flow işlem odalarının kullanımına rağmen, prostetik eklemler ile ilgili enfeksiyon oranları implant tipine bağlı olarak %1 ile %9 arasındadır. Bu yüzden implant ilişkili enfeksiyonların etkili engellenmesi, cerrahi revizyonlar, pahalı ve uzun hastane kalış sürelerinden kaçınmak için çok büyük öneme sahiptir. Yaygın ve kabullenmiş bir strateji, ortopedik implantlar ile ilişkili enfeksiyonları tedavi etmek ve önlenmek için implantasyon yerinde sistemik toksisiteyi aşmadan yüksek lokal dozları sağlamak amacıyla kontrollü bir şekilde antibiyotikleri dağıtmaktır. Antibiyotik salınımı geniş çeşitlilikteki kaplama ve boncuk (bead) şeklindeki biyouyumlu malzemeler kullanılarak başarılmıştır. Bu malzemelerden bazıları polimerler (poliüretan, polihidroksialkonatlar, polimetilmetakrilat (PMMA), poli L-laktik asit (PLA), poli(laktik-ko-glikolik) asid (PLGA), vb.) ve sentetik hidroksiapatittir (HA) (Díaz ve ark., 2009).

Bu dağıtımın etkisi ilaç ve polimer arasındaki kimyasal benzerliğin fonksiyonu olarak polimerden antibiyotik salınım profiline ve ayrıca polimerin kendi fiziksel özelliklerine bağlıdır. Biyobozunur olmayan polimerler rezorbe olmaz ve çıkarılmaları için operasyon gerektirirler (Díaz ve ark., 2009).

Biyobozunur antibiyotik yüklü polimer kaplamalar, PLA veya PLGA gibi, rezorbe olabilir fakat yüksek hidrofobisitesi önemli bir başka sorundur çünkü antimikrobiallerin güvenilir dağıtım için yeterli antibiyotik yüklemesi ve dispersiyonu olan cihazların formülasyonunda pratik kısıtlamalar ortaya koyar. Antibiyotik dağıtım için HA kaplama kullanımı bu malzemenin osteokondüktif özelliklerinden dolayı implant ilişkili infeksiyonların lokal tedavisi için güzel bir yoldur. Bununla birlikte yükleme ve salınım oranı antibiyotiklerin asidik ve bazik karakterine bağlıdır. Asidik antibiyotikler karboksilat gruplarının kalsiyum-kelat özelliklerinden dolayı bazik antibiyotiklerden daha verimli olarak bağlanır (Díaz ve ark., 2009).

Biyomalzeme kaynaklı enfeksiyonları önlemek amacıyla farklı stratejiler kullanışlı görünür (Gottenbos, 2001):

- a. Biyomalzemenin fizikokimyasal yüzey özellikleri optimize edilerek bakteriler ve biyomalzeme arasındaki çekim gücünün azaltılması amaçlanır.
- b. Ekstrem hidrofobik yüzeylerde bakteriyel adezyon düşüktür.
- c. Negatif yüklü biyomalzemeler daha az bakteriyi kendisine çeker.
- d. Albumin ve heparin kaplamalar biyomalzemenin aderans kapasitesini düşürür.

Biyofilm oluşumunu önlemenin bir başka yolu yapışan mikroorganizmaların gelişimini önlemektir. Bu, biyomalzeme yüzeyine antimikrobiyal ajan uygulanmasıyla başarılır. Bunu yapmanın bir yolu antibiyotik salan biyomalzemeler tasarlamaktır. Ancak bu malzemeler birkaç günden bir haftaya kadar etkilidir, salınan antibiyotik miktarı sınırlıdır. Antibiyotik salan malzemeler ve düşük doz ile ilgili daha tehlikeli problem ise antibiyotiğe dirençli mikrobiyal suşların gelişmesidir. Daha iyi yol, biyomalzeme yüzeyine antimikrobiyal ajanın kovalent olarak bağlanmasıdır. Antimikrobiyal ajan mikrobiyal hücrenin dışına erişebilir, hücre duvarı veya membran düzeyinde görevini yapabilir (Gottenbos, 2001).

BÖLÜM 4. ANTİMİKROBİYAL KOMPOZİTLER

4.1. Kompozit Malzemeler

Kompozit malzeme; farklı kimyasal yapıdaki iki ya da daha fazla sayıda malzemenin, sınırlarını ve özelliklerini muhafaza ederek meydana getirdiği çok fazlı malzemedir. Kompozit malzeme, matriks olarak adlandırılan bir malzeme içerisine çeşitli güçlendirici malzemelerin eklenmesiyle hazırlanır. Çeşitli polimerler matriks olarak; cam, karbon, polimer, mika ve çeşitli toz seramikler güçlendirici olarak kullanılmaktadır (Güven, 2010).

Kompozit malzemeler, sıklıkla mukavemet ve sertlik arasında mükemmel bir denge ve genellikle bileşenlerin tek başına sahip olduğu özelliklerden daha geliştirilmiş özellikler gösterirler (Liu ve Ma, 2004).

Nanokompozitler boyutlarından en az biri 100 nm ya da daha az olan partiküllerin bir matriks içine dispersiyonundan oluşan malzemelerdir. Matriks, tek veya çok-bileşenli olabilir. Takviye, iletkenlik ve tokluk gibi sisteme başka fonksiyonlar ekleyen ilave malzemeler içerebilir. Matrikse bağlı olarak, nanokompozitler metalik, seramik veya polimerik malzemeler olabilir. Birçok önemli kimyasal ve fiziksel etkileşim yüzey özellikleri tarafından kontrol edildiğinden, nano yapılı malzeme aynı bileşimdeki büyük boyutlu malzemedan önemli derecede farklı özelliklere sahip olabilir (Almulla ve Ibrahim, 2012).

Yüksek dayanıma ve düşük elastisite modülüne sahip olan kompozit malzemeler, özellikle ortopedik uygulamalar için öngörülmektedir. Ayrıca, kompozit malzemelerin bileşiminde değişiklik yapılarak mekanik ve fizyolojik şartlara uyum göstermeleri sağlanabilir. Bu yüzden kompozit malzemeler, homojen malzemelere oranla, yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlıdır. Özellikle

polimer kompozitler, manyetik özellik taşımadıklarından, manyetik rezonans (MRI) ve tomografi çekimlerinde olumsuz bir etki göstermezler (Güven, 2010).

Birbirlerinin zayıf yönünü düzelterek üstün özellikler elde etmek amacıyla bir araya getirilen değişik tür malzemelerden veya fazlardan oluşan kompozit malzemere örnek olarak cam elyafı poliester levhalar, çelik donatılı beton elemanlar, otomobil lastikleri ve seramik metal karışımı olan sermetler verilebilir. Günümüzde, otojenik ve allojenik kemiklere katılan tek veya çok fazlı yapay kemik aşı malzemeleri sıklıkla kullanılmaktadır. Tek faz malzemeler kemik büyümesinin gerektirdiği esas özellikleri her zaman sağlayamadığından dolayı, bileşim ve yapısal olarak doğal kemiğe benzeyen çok fazlı materyallerin (kompozit) tasarlanmasına gereksinim duyulmaktadır. Son zamanlarda nanokompozitler, özellikle hidroksiapatit ve kollajen bazlı olanlar doğal kemiğe bileşim ve yapısal olarak benzerliklerinin yanı sıra tek fazlı olanlara göre daha iyi mekanik dayanım sağlamalarından dolayı daha çok kullanılmaktadırlar (Cengiz, 2007).

Biyomalzemeler doku substitüsyonu ve protez implantasyonu için artan sıklıkla kullanılmaktadır. Total eklem protezleri gibi kompleks cihazlar genellikle polimerler ve metal alaşımların kombinasyonlarından oluşur. Bu cihazların uzun süreli kullanımındaki esas problemler komponentlerin, özellikle metal ve konak kemik, arasındaki mekanik ve biyolojik uyumsuzluk ile ilişkilidir. Metallerde alternatifler olarak yeni nesil izoelastik, yapısal ortopedik implant uygulamaları için kompozit malzemelerin geliştirilmesi dikkate alınmaktadır (Zhang ve ark., 1999).

Sert doku ikamesi durumunda uygun strateji, istenmeyen sakıncaları en aza indiren ve bileşenlerin dayanımını kombine eden seramik polimer malzemeleri tasarlamaktır (Román ve ark., 2011).

Seramiklerin ve polimerlerin avantajlarının birleştirildiği seramik polimer kompozitler, bazı durumlarda, kemik grefti ikameleri olarak kullanılırlar. Bu kompozitlerde, polimerin ve seramiğin sırasıyla kemik kolajenini ve mineralini taklit ettiği varsayılır. Polimerdeki hidroksiapatit partiküllerinin hücrelerin bağlanması için

tespit noktası sağladığı görülmüştür. Ayrıca apatit kristallerin, ortamının pH'sını fizyolojik aralık içinde koruduğu görülmüştür. Polimerler apatitler ile birlikte kullanıldığında, PLA ve poliglikolid (PGA) implantları ile implantasyon yeri etrafındaki asit reaksiyon önlenir. Böylece güçlü yangısal yanıt, kompozitlere katıldıklarında bile 24 ayda polimerin bozunması üzerine görülmüştür. Polimer ve seramik arasındaki dengenin hassas olduğu ve polimer bozunması sırasındaki kimyasal olayların ve hücrel reaksiyonun komplementer kemik içbüyümesine engel olabildiği sonucuna varılmıştır (Korkusuz ve Korkusuz, 2004).

Kemik rejenerasyonu alanında, komponentlerin faydalı etkilerini birleştiren kompozit yaklaşım, insan sert dokularına benzeyen malzeme özelliklerinin (yapısal, mekanik ve biyolojik) ayarlanmasında büyük ümit vaat etmektedir. Uygulamada, bu kompozit yaklaşım için itici güç, organik matriks içinde düzenlenen inorganik nanokristallerden oluşan kemiklerin hiyerarşik yapısını taklit etmektir. İnorganikler (hidroksiapatit (HA), trikalsiyum fosfat ve biyoaktif camlar) ve sentetik polimerlerden (poli(laktik asit), poli(glikolik asit), polikaprolakton (PCL) ve bunların kopolimerleri) oluşan birçok sistem tasarlanmış ve geliştirilmiştir. Bu kompozit yaklaşımla, seramik komponentler kompozit sisteme sertlik ve mukavemet sağlarken, seramiklerin içsel kırılabilirliği organize edilmiş polimerik matrikslerin esnekliği ile aşılmıştır (Kim, 2007a).

Bugüne kadar geliştirilen biyomedikal kompozitler arasında, HA-PCL kompozitler son zamanlarda çeşitli gruplar tarafından incelenmiş ve sert doku yenileyicileri için potansiyel aday oldukları bildirilmiştir. Bununla birlikte, hidrofilik HA ve hidrofobik PCL'nin farklı kimyasal karakteristiklerinden dolayı PCL matriksi içinde HA'nın homojenleştirilmesi sorunu vardır. Aglomera HA partikülleri, polimerin mekanik mukavemetini azaltan başarısızlığın kaynağı olarak rol oynar (Kim, 2007a).

HA nanopartiküllerin PCL matriks içinde homojen olarak disperse edildiği hidroksiapatit ve polikaprolaktondan oluşan yeni bir nanokompozit sistem geliştirmeyi amaçlayan bir çalışmada strateji, HA ve PCL arasında bir amfifilik sürfaktan (oleik asit) uygulanmasına dayandırılmıştır. Yağ asidi ailesine ait olan oleik

asit çalışmada sitotoksik olmayan düzeyde kullanılmıştır. Oleik asidin hidrofilik HA ile hidrofobik PCL arasındaki interaksyona aracılık ettiğine inanılmaktadır. HA partiküllerin ciddi olarak aglomera olduğu konvansiyonel olarak karıştırılmış HA-PCL kompozitlerin tersine, oleik asit aracılığıyla HA nanopartiküller PCL matriks içinde homojen bir şekilde dağıtılmıştır. Geliştirilmiş olan bu nanokompozitin geleneksel kompozit ve saf PCL'den önemli derecede daha yüksek mekanik mukavemete sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, osteoblastik hücrelerin nanokompozit üzerinde konvansiyonel kompozit üzerindeki göre daha iyi bir proliferasyon davranışı gösterdiği belirlenmiştir. Bu oleik asit aracılı HA-PCL nanokompozitin kemik rejenerasyonu alanında faydalı olabileceği ve bu metodolojinin diğer biyomedikal malzemelerin nanokompozit prosesine uygulanabileceği ileri sürülmüştür (Kim, 2007a).

Hidroksiapatitin kataliz, gübre ve farmasötik ürün sanayisi, protein kromatografisi, su arıtma prosesleri, kemik ve diş tamiri gibi birçok uygulamaları olmasına rağmen, kırılabilirliğinden dolayı saf hidroksiapatit uygulamaları çok sınırlıdır. Doğal kemik esas olarak nano-boyutlu, iğnemsiz hidroksiapatit kristalleri ve kollajen liflerden meydana gelen kompozit olduğundan hidroksiapatiti polimer ile modifiye etmek için pek çok çaba harcanmıştır (Cengiz ve ark., 2008).

Hidroksiapatit muhteşem biyouyumluluk ve biyoaktivite özellikleri gösteren kemiğin en önemli mineral bileşenidir. Bununla beraber mekanik özelliği, kemik ikamesi için uygun değildir. Bu nedenle uygun kemik skafoldu üretmek için genellikle hidroksiapatit ve biyobozunur polimerden oluşan kompozit hazırlanır. Polikaprolakton dikkat çekici tokluğu ve iyi biyouyumluluğu ile biyobozunur bir polimerdir ve hidroksiapatit gibi osteojenik ve osteoindüktif inorganik fazları içeren kompozitlerde polimer matriks olarak sıklıkla kullanılır (Rezaei ve Mohammadi, 2012).

4.2. Gümüş

Biyomalzeme merkezli enfeksiyon, revizyon cerrahisinin ana nedenlerinden biridir. Vücudun içinde implant malzemelerin varlığı konak savunma mekanizması ile çatışacak ve enfeksiyonlara karşı korumak için gerekli olan antibiyotiklerin klinik dozunu etkileyecektir. İmplant malzemelerdeki yüklü antibiyotik konsantrasyonu, biyomalzeme doku arayüzünde bakteriyel enfeksiyonların önlenmesi için yeterince yüksek olmalıdır. Bununla birlikte, implant malzemelerden salınan antibiyotik sistemik toksisite için gerekli olan eşik değerinin altında olmalıdır böylece yan etkiler beklenmez. Gümüş kullanımı son zamanlarda biyomalzeme ve medikal cihazlara mikrobiyal dayanıklılık kazandırmak için tercih edilen uygulamalardan biri haline gelmiştir. Gümüş bazlı antimikrobiyaller yüksek termal stabilite ve düşük volatilite ile uzun ömürlü biyosit olmanın yanı sıra aktif gümüş iyonunun insan hücrelerine düşük toksisitesi nedeniyle çok dikkat çekmektedir (Rameshbabu ve ark., 2006).

Gümüşün antimikrobiyal aktivitesinin ilk modern tanımı 1869'da gümüş kaplarda *Aspergillus niger* yetiştiremediğini gözlemleyen Raulin tarafından yapılmıştır (Clement ve Jarrett, 1994).

Uzun zamandır bakterisidal doğası ile tanınan gümüş, biyofilmleri öldürmede çok etkilidir. Fenikeliler uzun askeri ve keşif seferleri sırasında şarap ve sirkeyi korumak için gümüş kavanoz kullanmıştır. Gümüşün ilk belgeye dayalı kullanımı bakteriyel gelişmeyi önlemek için gümüş sikkelerin su kaplarına atıldığı su arıtımında Antik Yunan'a kadar dayanır. Seyreltilmiş gümüş nitrat çözeltilerinin bebeklerde körlük hafifletmeye yardım ettiği göz enfeksiyonlarının tedavisi için gümüşün tıbbi faydalarını detaylandıran ilk bilimsel makale 1880'lerde yayımlanmıştır. Sonradan topikal gümüş tedavileri gümüş sulfadiyazin, çözünebilir Ag (I) kompleksiyle 1965'te yanıklara genişletilmiş ve 1968'de yara enfeksiyonlarını azaltmak için bugün kullanımını sürdüren önemli tedavi tanıtılmıştır. Gümüşün antimikrobiyal ajan olarak yükselen farkındalığı, zeolitlerin, reçine kompozitlerin ve camların dahil olduğu

çeşitli inorganik Ag içeren malzemelerin sentezine yol açmıştır (Buckley ve ark., 2010).

Metal iyonlarının mikroorganizmalara karşı gösterdikleri direnç $Ag > Hg > Cu > Cd > Cr > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn$ şeklinde sıralanmaktadır. Gümüş metalinin diğer metallere göre daha sık kullanılmasının nedeni, bakterilere karşı en dirençli metal olması, vücuda karşı zararlı etkilerinin bulunmaması, çoğu malzemeye göre daha ucuz olması ve kolay üretim işlemidir. Gümüş nitrat, gümüş iyonlarını en çabuk serbest bırakabildiği için tıbbi klinik ürünlerde en çok kullanılan gümüş bileşimidir (Doğan ve Pekşen, 2005).

Spadaro tarafından gümüş iyonunun *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'un dahil olduğu 16 tür bakteri üzerinde biyosidal etkisinin olduğu bulunmuştur. Bu, antimikrobiyal aktivitesinin geniş spektrumlu olduğu anlamına gelir ve 9,45 nmol/L konsantrasyonundaki gümüşün, *E. coli*'nin gelişiminde gecikmeye; 18,90 nmol/L konsantrasyonundaki gümüşün, *E. coli*'nin gelişiminde tamamen inhibisyona neden olduğu kanıtlanmıştır. Bir başka araştırmada tiyol grupları ile Ag etkileşiminin bakteriyel inaktivasyonda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Zhao ve ark., 1999).

İnorganik antimikrobiyal ajanlar iyi antibakteriyel yetenek, mükemmel biyoyoum ve yeterli kararlılık gibi birçok avantaja sahip olduğundan biyomateriyalleri doplama açısından çok ilgi çekici alternatiflerdir. Çeşitli dopantlar arasında gümüş en bilinenidir. Antibakteriyel doplama uygulamalarında gümüşün yararları aşağıda listelenmiştir (Zhao ve ark., 2009):

- a. Çok düşük ppb konsantrasyonlarında gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere ve bazı ilaç dirençli bakterilere karşı geniş antibakteriyel spektrum.
- b. Gümüş doplama, biyomalzeme üzerine bakteriyel tutunmayı inhibe edebilir.
- c. Gümüşün antibakteriyel etkisi uzun ömürlüdür.
- d. Altta yatan mekanizmalar hala iyi bilinmemesine rağmen, gümüş direnç gelişimine az yatkındır.

- e. *In vitro* çalışmalar, gümüş kaplamaların genotoksisiteye veya sitotoksisiteye neden olmadan mükemmel biyoyuma sahip olduğunu; *in vivo* çalışmalar ise gümüş kaplamaların lokal veya sistemik yan etkileri olmadığını göstermiştir.
- f. Gümüş nispeten kararlıdır.
- g. Gümüş, polimerler, elmasımsı karbon, biyoaktif cam ve seramikler, metaller ve benzerlerinin dahil olduğu sayısız biyomalzemeyi doplamak için rahatlıkla kullanılabilir.

Gümüş bileşiklerinin hücre toksisitesine neden olmadan, bakteriyel yapışmayı ve kolonizasyonu önlediği *in vitro* gösterilmiştir (Gourin ve Hubbell, 1999). Gümüş iyonlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* ve *Bacillus subtilis* için MİK değerleri 4,0–7,9 ppm'dir (Noda ve ark., 2011).

Gümüşün kemik çimentosu, kateterler, ortopedik tespit çivileri, diş implantları, kardiyak protezler gibi birçok medikal cihazda kullanıldığı bilinmektedir. En iyi bilinen kullanımlarından biri tıpta topikal kremler gibi tedavilerle ciddi yanıkların iyileşmesinde primer antimikrobiyal ajan olarak kullanılmasıdır (Trujillo, 2011).

Biyoyumluluğu arttırmak amacıyla malzemelerin partikül büyüklüğünü azaltmak, etkili ve güvenilir bir yöntemdir. Nanoteknoloji boyut kısıtlamalarını gidermeye yardımcı etmektedir ve nanomalzemeler, biyobilim ve tıp gibi farklı alanlardaki uygulamaların kolaylaştırılmasında daha iyi verim elde etmek için modifiye edilebilmektedir (Kim ve ark., 2007b). Nano ölçekli metal partiküllerin biyoaktivitesi ve moleküler problemler olarak kullanımı gibi araştırma alanlarına giderek artan bir ilgi mevcuttur. Geniş yüzey alanına ve yüksek reaktiviteye sahip nano ölçekli metal partiküller, normal metal ile karşılaştırıldığında dikkate değer fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptirler. Nano Ag'nin kullanımına biyosidal ajanların özel bir sınıfı olarak giderek artan bir ilgi mevcuttur (Lok ve ark., 2007).

Gümüş nanopartiküllerin düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etki gösterdiği, antibakteriyel özelliklerin nanopartiküllerin yüzey alanı ile ilişkili olduğu, partikül

boyutunun küçülmesinin dolayısıyla yüzey alanının artışının daha fazla antibakteriyel etki sağladığı belirlenmiştir (Baker ve ark., 2005).

Nanokristal gümüşün, sadece gümüş katyonunun (Ag^+) hızlı salınmasından değil aynı zamanda Ag^0 gibi diğer gümüş türlerinin salınmasından dolayı gümüş nitrat veya gümüş sülfadiyazın gibi diğer mevcut gümüş antimikrobiyal ajanlara kıyasla mükemmel antimikrobiyal etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (Rameshbabu ve ark., 2006).

Son yıllarda yeni fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler gösteren inorganik nanopartiküllerin geliştirilmesine yönelik büyük çaba harcanmaktadır. Bakteriler, virüsler ve mantarlara karşı gösterdiği güçlü antimikrobiyal aktivitesinden dolayı nanogümüş malzemenin potansiyel yararları birçok endüstri kolu tarafından bilinmektedir. Genellikle gümüş iyonlarının bulunduğu gümüş esaslı antimikrobiyal katkıları, seramik, cam veya zeolitten oluşan inert matrikslere katılırken; gümüş tuzları veya metalik gümüş esaslı diğer gümüş katkıları ise termoplastik polimerlere katılır (Egger ve ark., 2009).

Nanogümüş, inert doğası ve güçlü antimikrobiyal etkisi nedeniyle gıda işleme ve medikal ekipman endüstrisinde cazip bir seçenek haline gelmiştir. Nanogümüşün medikal plastiklerde ve gıda işleme alanında antimikrobiyal kullanımının iki ana sebebi vardır. Sebeplerden biri, bakterilerin ve mantarların nesnenin fiziksel özellikleri üzerindeki etkilerini durdurmak, diğeri ise infeksiyon kaynağı olabilecek zararlı bakterilerin gelişimini önlemektir (Simpson, 2003).

Gümüş nanopartiküller yara pansuman malzemeleri, skafold, hastanelerdeki steril malzemeler, medikal kateterler, kontraseptif aletler, cerrahi aletler, kemik protezleri, yapay dişler ve kemik kaplamalar gibi medikal cihazlarda ve gereçlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kozmetikler, losyonlar, kremler, diş macunları, çamaşır deterjanları, sabunlar, yüzey temizleyiciler, oda spreyleri, oyuncaklar, antimikrobiyal boyalar, ev aletleri, hava ve su filtreleri, otomobil döşemeleri,

ayakkabı iç tabanları, süpürgeler, gıda saklama kapları ve tekstil gibi tüketici ürünlerinde yaygın kullanımı vardır (Ciobanu ve ark., 2011).

Gümüş katyonu (Ag^+), sülfür, oksijen veya azot içeren elektron verici gruplara güçlü olarak bağlanır ve genellikle biyolojik moleküller, bu komponentleri thio-, amino-, imidazol, karboksilat ve fosfat grupları formunda içerirler (Schierholz ve ark., 1998).

Gümüş iyonlarının bakterilerde proteinlerdeki nukleofilik aminoasit rezidüleri ile reaksiyon verdiği ve membranın veya enzim proteinlerinin sülfidril, amino, imidazol, fosfat ve karboksil gruplarına bağlanarak protein denatürasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Gümüşün ayrıca maya alkol dehidrogenaz gibi bir takım oksidatif enzimleri, membran vezikülleri tarafından süksinat alımını ve *E. coli* solunum zincirini inhibe ettiği; ayrıca metabolit sızıntısına neden olduğu ve Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) replikasyonunu engellediği bilinmektedir. Gümüşün hücre duvarı, sitoplazma, hücre zarfı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Düşük Ag^+ seviyelerinde bakteri membranlarındaki proton itici kuvvetin çöktüğü Chappell ve Greville tarafından bildirilmiştir ve bu, Mitchell'in 1961 ve 1966'daki çalışmaları ile desteklenmiştir. Düşük Ag^+ konsantrasyonlarının bakteriyel membrandan masif proton sızıntısına neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Ag^+ ile bakteri ölümünün gerçekleşmesindeki en önemli mekanizmanın yüzeye bağlanma ve membran fonksiyonlarına hasar verme olduğuna dair fikir birliğine varılmıştır (Percival ve ark., 2005).

Gümüş iyonlarının antimikrobiyal etki mekanizması, enzim ve proteinlerindeki tiyol (sülfidril, -SH) gruplarıyla yakın ilişkisine bağlı olmakla birlikte muhtemelen başka hedef yerleri de vardır. Gümüş iyonları *Pseudomonas aeruginosa*'nın bölünmesini inhibe eder; hücre zarı ve içeriğini bozar. Virüsid etki ise -SH gruplarına bağlanma ile ortaya çıkar. Gümüş, mikroorganizmalardan K^+ salınımına neden olur; ayrıca sitoplazma ve sitoplazma membranında bulunan pek çok enzim gümüş etkisinin hedef yeridir. Gümüş iyonları nükleik asitlere de etki eder (Doğan ve Pekşen, 2005).

Yapılan bir çalışmada gümüş iyonlarının mikroorganizmalarda inhibisyon mekanizmasını araştırmak amacıyla gram negatif *E. coli* ve gram pozitif *S. aureus* AgNO₃ ile muamele edilmiştir. Elektron mikroskopisi ve X-ray mikroanalizinden elde edilen sonuçlara göre *E. coli* ve *S. aureus*'un her ikisinde benzer değişiklikler meydana geldiği saptanarak gümüş muamelesinden sonra Deoksiribo Nükleik Asitin (DNA) replikasyon yeteneğini kaybettiği ve proteinlerin inaktive olduğu ileri sürülmüştür (Feng ve ark., 2000).

Gram pozitif ve gram negatif bakteriler arasındaki farklar esas olarak hücre duvar yapılarına dayanır. Gram negatif bakterilerin dış kısmında lipopolisakkarit bir tabaka ve onun altında ince bir peptidoglikan tabaka (yaklaşık 7-8 nm) bulunur. Lipitler ve polisakkaritlerin kovalent olarak bağlanmasıyla oluşan lipopolisakkaritlerin sertlik ve mukavemetleri azdır. Lipopolisakkaritteki negatif yükler, gümüş nanopartiküllerindeki pozitif yüklere karşı ilgi duyarlar. Diğer yandan gram pozitif bakterilerdeki hücre duvarı, 3 boyutlu rijit yapıyı oluşturmak için kısa peptidlerle çapraz bağlanmış lineer polisakkarit zincirlerinden oluşan kalın peptidoglikan (yaklaşık 20-80 nm) tabakasından oluşur. Rijidite ve çapraz bağlar hücre duvarında gümüş nanopartikülleri için daha az bağlantı yeri sağlar; ayrıca hücre duvarlarını penetrasyon için zorlaştırır. Bakteri gelişim inhibisyon derecesinin ortamdaki nanopartikül konsantrasyonuna bağlı olduğu rapor edilmiştir. Nanopartiküller ve bakteri hücre duvarı arasındaki etkileşim, gram negatif bakterilerdeki negatif yükün göreceli olarak fazla olmasıyla kolaylaştırılır. Bu durum, gram pozitif bakterilere göre gram negatif bakterilerin gelişiminin gümüş nanopartiküllerden daha fazla etkilendiği gerçeği ile uyumludur. Nanopartiküllerin antibakteriyel etkisinden dolayı nanopartiküller ile etkileşim sonucunda hücre duvarında delikler meydana geldiği bildirilmiştir (Shrivastava ve ark., 2007).

Song ve ark. tarafından yapılan çalışmada 10 nm'den daha küçük gümüş nanopartiküller üretilerek, bunların *S. typhi*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *M. tuberculosis* üzerinde mükemmel antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlenmiş ve antimikrobiyal mekanizmalar tespit edilmiştir. Bu mekanizmalar arasında gram negatif bakterilerde gözlemlenen plazmolizis, bakteriyel hücre duvarının bakteri

sitoplazmasından ayrılması, *S. aureus*'ta bakteriyel hücre duvarı sentezinin inhibe edilmesi ve *M. tuberculosis* sitoplazmasında bulunan nanogümüş partiküllerin metabolik bozukluğa sebep olması yer almaktadır (Song ve ark., 2006).

4.3. Antimikrobiyal Kompozit Malzemeler

Antimikrobiyal sistemlerde aktif komponentler hem organik hem de inorganik olabilir. İnorganik sistemler gümüş, bakır ve platinyum gibi metal iyonlardan oluşmaktadır. Gümüş iyonları antimikrobiyal olarak aletler, inşaat ürünleri, medikal cihazlar, su filtrasyonu, dağıtım sistemi, gıda işleme ve ambalajlama gibi oldukça geniş uygulamalarda kullanılmaktadır (Dursun ve ark., 2010).

Antibiyotiklere karşı bakteri suşlarının direnç geliştirme kapasitesi, diğer antibakteriyel ajanlara olan ilgiyi arttırmıştır. Gümüş, geniş aktivitesi ve düşük direnç meydana gelme sıklığı ile yapışkan bakteriyel filmlerin oluşumundan kaçınmak için alternatif strateji olarak görülmektedir. Patojenlere karşı gümüşün düşük konsantrasyonlardaki etkisi ve memeli hücreleri üzerindeki toksisitesinin olmadığı iyi bilinmektedir (Díaz ve ark., 2009).

İnfeksiyonları önlemek için mikroorganizmaları ortadan kaldırma ve etkenle kişinin temasını önleme şeklinde iki temel yol vardır. Etkenle teması önlemek için alınacak tedbirler, kişiye ve çevreye yöneliktir. Bu amaçla antimikrobiyal toz katkısı ile hazırlanan iç cephe kaplama malzemelerinin hastanelerde kullanımı çevre ve çevredeki malzemeye yönelik bir korunma yoludur. Oldukça geniş bir uygulama alanına sahip olan metal iyon katkılı antimikrobiyal tozun seramik karo ve sağlık gereci, su ve plastik bazlı boyaların içerisine belirli yüzdelerde katılması, özellikle hastane infeksiyonlarının önlenmesinde önemlidir. Antimikrobiyal seramik, iç cephe malzemeleri, hava filtre sistemleri ve su filtre sistemleri için kullanılabilir. Hava filtre sistemlerinde kullanılan aktif karbonun bakterileri öldürmediği sadece tuttuğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu durum göz önüne alınarak yapılan çalışmalarda, aktif karbona metal iyon katkılı antimikrobiyal toz ilave edilerek antimikrobiyal etkinlik kazandırıldığı gösterilmiştir (Doğan ve Pekşen, 2005).

Antibakteriyel seramiklerde bir taşıyıcı bünyenin yer alması ve metal iyonlarının yapıya kolay katılması gereklidir. Antibakteriyel seramikler, taşıyıcı bünye temel alınarak amorf silika, zeolit ve kalsiyum fosfat bünyeli olarak sınıflandırılabilirler. Bu malzemelerde ortak özellik geniş kristal yapısına sahip olmalarıdır dolayısıyla metal iyonları sisteme girebilmekte ve bakteriler üzerinde etkin olabilmektedirler (Doğan ve Pekşen, 2005). Antimikrobiyal seramikler kumaşlar, yapı malzemeleri, kozmetik, elektrikli aletler gibi geniş uygulama alanlarından dolayı gittikçe artan bir öneme sahiptir. Kim ve ark. tarafından $AgNO_3$, $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ ve $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ eklenerek yaş kimyasal metod ile hidroksiapatit üretilmiştir. Elde edilen antimikrobiyal seramiklerin *E. coli* bakterisine karşı etkileri araştırılmış ve en bariz etkinin gümüş eklenen antimikrobiyal seramikte olduğu belirlenmiştir (Kim ve ark., 1998).

Hidroksiapatit insan sert dokusuna güçlü bağ oluşturma kabiliyeti ve insan kemik kompozisyonuna benzerliğinden dolayı implant malzemesi olarak kapsamlı bir şekilde kullanılmıştır. Bununla birlikte, proteinler, amino asitler ve diğer organik maddeler hidroksiapatit üzerinde kolayca adsorbe olur hidroksiapatitte bakterilerin adsorpsiyonunu ve replikasyonunu kolaylaştırır. Gümüş yüklü hidroksiapatit tozunun, besin açısından zengin ve fakir ortamlarda antibakteriyel etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Rameshbabu ve ark., 2006).

Antibakteriyel özelliklere sahip Ag katkılı hidroksiapatit nano boyutlu partikül sentezine yeni biyomedikal uygulamaların geliştirilmesinde büyük ilgi vardır. Bir çalışmada gümüş katkılı nanokristal hidroksiapatit deiyonize suda 100 °C'de sentezlenmiştir. Diğer faz ya da safsızlıklar gözlemlenmemiştir. Gümüş katkılı nanokristal hidroksiapatitin *Staphylococcus aureus* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır (Ciobanu ve ark., 2011).

Díaz ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada nano-nano hibrid kompozit elde etmek için gümüşü hidroksiapatit yüzeyinde destekleyen basit ve düşük maliyetli bir metod uygulanmış ve kompozitlerin antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada sol gel metodu ile HA nanopartiküllerin sentezlenmesi, ardından gümüş nitrat

çözeltisinden Ag₂O presipitasyonu ve Ar/H₂ gaz karışımı ile redüksiyonu sonucunda nano-HA'ya bağlanmış gümüş nanopartikül elde edilmiştir. Bu nanokompozitlerin en yaygın gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına karşı güçlü bakterisidal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu malzemelerin antimikrobiyal biyomalzeme olarak implantlarda ve rekonstrüktif cerrahi uygulamalarında kullanılabilmesi belirtilmiştir. nAg-HA kompozitlerinin osteokondüktif ve bakterisit özelliklerinden dolayı potansiyel klinik uygulamaları olmasına rağmen, bu kompozitlerle ilgili literatürde az sayıda çalışma vardır (Díaz ve ark., 2009).

Gümüş içeren çoğu antimikrobiyal biyomalzeme, elemental gümüş veya Ag⁺ (gümüş tuzları veya gümüş kompleksleri)'nin organik (polimerler) veya inorganik (biyocamlar ve HA) matrikslere katılmasıyla meydana getirilir. Gümüş içeren polimerlerin (poliamidler, poliüretan ve PMMA) *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi geniş olarak çalışılmıştır. Ag-HA malzemelerin bakterisit etkisi ise daha az çalışılmıştır. Son zamanlarda gümüş yüklü HA kompozitlerin iyon değişim metodları ile (sol-gel veya kopresipitasyon) elde edildiği rapor edilmiştir. Bu metodlarda gümüşün kalsiyum ile yer değiştirmesi kalsiyum yetersiz hidroksiapatit ile sonuçlanır. Bu malzemelerin antimikrobiyal cevabı iyidir fakat iki ana sakıncaya sahiptir; birincisi kalsiyum azalması, nano hidroksiapatitin yapısal stabilitesinde ve osteokondüksiyonunda negatif etkiye neden olur. İkinci sakınca ise gümüşün hızlı salınımının meydana gelmesidir. Bu yüzden nanogümüş sıvı ortamda düşük çözünürlüğü ile bakterisidal rezervuar olarak artan bir ilgiye sahiptir (Díaz ve ark., 2009).

Antimikrobisideri içeren biyoaktif ajanların polimerler içine katılması ilaç ve pestisit dağıtımında, ev eşyalarında, tekstilde, cerrahi implantlarda ve diğer biyomedikal cihazlarda ticari olarak uygulanmıştır. Antimikrobisiderin polimer özellikleri üzerindeki etkisi göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin, antimikrobiyal taşıyan partiküllerin polimer matriksine katılması, filmin mekanik, bariyer ve optik özelliklerini değiştirebilir. Bu nedenle bu özelliklerdeki değişiklikler, her bir antimikrobiyal-polimer çifti için spesifik olacaktır. Polimer yüzeyler üzerine adsorbe

ya da immobilize edilen antimikrobiyaller plastiklerin ısıl yapıştırma dayanımı, adhezyon ve baskı özelliklerini değiştirebilir (Appendini ve Hotchkiss, 2002).

Antimikrobiyal maddeler plastiklerde uygulanabilmeleri için mikroorganizmalara karşı etkili olma özelliğinin yanında ısıya dayanıklılık, plastikleştiricilerde çözünebilme, polimer ile uyum, düşük sızma hızı, ultraviyoleye dayanıklılık, çevreye zararsız olma gibi özelliklere de sahip olmalıdırlar (Borgmann-Strahsen, 2002).

Antimikrobiyal polimerler gıda işleme ekipmanlarının yüzeylerini kaplamak için kullanılabilir böylece bu ekipmanlar kullanım boyunca kendikendilerini temizleyebilir. Örnekler dolgu contalarını, konveyörleri, eldivenleri, giysileri ve diğer kişisel hijyen ekipmanlarını içerir. Antimikrobiyal polimerler ayrıca paketleme dahil olmak üzere birçok gıda ile ilgili uygulamalarda kullanılabilir. Antimikrobiyal paketleme seçiminde polimer filmde antimikrobiyallerin konsantrasyonu, film kalınlığının aktivite üzerindeki etkisi ve son ürüne dönüşüm sonrası polimerlerin fiziksel ve mekanik özellikleri önemli hususlardır. Örneğin, polimer filmleri üzerine kaplanmış ya da immobilize edilmiş bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi film kalınlığına bağlı olmayabilir. Bununla birlikte eğer antimikrobiyal, malzemenin bulku içine hapsedilmişse, kalınlık filmin yüzeyindeki konsantrasyon ve difüzyonda rol oynayacaktır (Appendini ve Hotchkiss, 2002).

Polimer yüzeylere antimikrobiyal bağlanması, polimer yüzey üzerinde antimikrobiyal solüsyonun basit yayılması gibi çeşitli yollarla veya antimikrobiyalin bağlayıcılarla kombine edilmesi gibi daha sofistike yollar ile başarılmıştır. Bu bağlayıcı maddeler, selülozik, akrilik veya VAE (vinil asetat etilen) ko-polimer nitelikte olabilir. Gümüş içeren zeolit bileşikler gıda ile temas eden yüzey olarak kullanımı için FDA (Food and Drug Administration) onayı almıştır. Gümüş içeren gıda paketleme malzemelerinin antimikrobiyal özelliklerini açıklayan nispeten az sayıda çalışma yayınlanmıştır. Yakın zamanda, nano-gümüş ve gümüş zeolitler içeren filmler üretilmiştir ve bu filmlerin yiyecek olmayan sistemlerde 8 saatlik deneylerde güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Joerger, 2007).

Gıda yüzeyinde görülen mikrobiyal gelişmenin kontrol altına alınmasında ambalaj materyali ile antimikrobiyal ajanların birlikte kullanılması antimikrobiyal ambalajlamanın en yeni ve gelişmekte olan şeklidir. Antimikrobiyal nitelikli biyoaktif ajanların dahil edildiği polimerin gıdalardaki kullanımı yeni gelişmeler arasında değerlendirilmektedir. Gıda ambalaj materyaline antimikrobiyal maddelerin ilavesine ilişkin araştırmalar son yıllarda yoğunluk kazanmıştır. Küfler, bozulma etmeni mikroorganizmalar ve patojenlere karşı etkili antimikrobiyal maddeler, kağıt ambalajlara, termoplastiklere ve termosetlere ilave edilerek uygulanmaktadır. Ambalaj materyaline dahil edilen antimikrobiyal ajanlar, etkilerini temas noktasında gösterirler. Çeşitli şekillerde vakum paketlenmiş taze kırmızı et, kanatlı ve balık etleri ve bazı süt ürünlerinin ambalajlanmasında potansiyel uygulaması olabilir. Plastik filmler, kağıt bazlı ambalajlar ve diğer bazı gıda ambalaj materyalleri bir ya da birkaç antimikrobiyal bileşiğin taşıyıcısı olarak kullanılır. Antimikrobiyal bileşikler ambalaj materyallerine film formülasyonuna katılarak, ambalaj materyaline kaplanarak ya da ambalaj materyaline immobilize edilerek dahil edilebilirler (Karagöz ve Candoğan, 2007).

Uygulanan antimikrobiyal ajanların gıda sistemi içerisine hareketi kritik öneme sahiptir. Antimikrobiyal ajanlar veya gelişim inhibitörleri gıda formülasyonuna katıldığında ürün bileşenlerince aktifleştirilen maddeler kısmen inaktive olur ve bu nedenle yüzey florası üzerinde sadece sınırlı bir etki oluşur. Antimikrobiyal ajanların gıda yüzeyine daldırma veya spreylemeyle direkt olarak uygulanması ise gıda içindeki aktif maddelerin hızlı difüzyonu nedeniyle etkisiz olmaktadır. Buna karşılık antimikrobiyal ajanlar film veya kaplama halinde uygulandıklarında sinerjistik bir etki ortaya çıkmakta ve koruma sisteminin sürekliliği daha da uzatılmaktadır (Dursun ve ark., 2010). Gıda yüzeyi boyunca kontrollü göçü sağlayabilmek amacıyla çok katmanlı filmler (kontrol katmanı/matriks katmanı/bariyer katmanı) önerilmektedir. Bu filmlerde iç katman, aktif maddenin difüzyon hızını kontrol eder, matriks katmanı aktif ajanı içerir ve bariyer katmanı da ambalaj dışına doğru antimikrobiyal ajanın göçünü önler (Karagöz ve Candoğan, 2007). Ambalajlama uygulamaları için son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan biyobozunur nanokompozitler, nişasta ve

derivatları, polilaktik asit (PLA), poli(bütillen süksinat) (PBS), polihidroksibütirat (PHB) ve polikaprolaktondur (Dursun ve ark., 2010).

Günümüzde enfeksiyona direncin artırılması yönündeki çözümlerden biri implantların bazı maddeler ile kaplanmasıdır. Bu amaçla yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda kullanılan hidroksiapatit kaplı vidaların doku integrasyonunun daha iyi olduğu ve enfeksiyona direncin arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte lokal enfeksiyon varlığında yüzey için yarışı bakteriler kazanmaktadır. Bu açıdan kontaminasyonun ve/veya enfeksiyonun önlenmesi hidroksiapatit kaplı implantlarda daha fazla önem kazanmaktadır. İnfekte implantların tedavi edilmesinde implantın çıkarılması ve biyofilmin eradike edilmesi gerekebilmektedir. Cerrahi debridmanın ardından ölü boşluğa antibiyotikli kemik çimentosu koyulması yaygın bir uygulama haline gelmiştir. Bu yolla lokal olarak yüksek antibiyotik seviyeleri sağlanır, ancak zamanla antibiyotik salınımının düşük seviyelere inmesiyle kemik çimentosunun kendisinin bir substratum oluşturması ve antibiyotik direnci gelişme riski bulunmaktadır. Bu sebeple yapılan çalışmalar, antibiyotik içeren osteokondüktif ve vücut tarafından emilebilir malzemelere yönelmiştir (Göksan, 2003).

Gümüş esaslı örtüler son yıllarda tanıtılan yara bakım ürünlerindeki en son ve en büyük yenilik olmuştur. Bu örtülerden bazıları şunlardır (Atiyeh ve ark., 2007):

- a. Acticoat-7, nanokristal (<20 nm çap) gümüş ile kaplanmış üç tabaka polietilen mesh ve iki tabaka suni ipek polyesterden oluşur.
- b. Actisorb silver 220, gümüşün bağlandığı aktif kömür örtüdür.
- c. Contreet-H, yoğun gümüşün hidrokolloide bağlandığı yoğun hidrokolloid örtüdür.
- d. SilvaSorb, gümüş halojenür rezervli poliakrilat matrikstir.
- e. Silverlon, metalik gümüş ile kaplanmış polimerik bezdir.

BÖLÜM 5. POLİKAPROLAKTON

5.1. Polimerik Malzemelere Genel Bakış

Polimerler C, N, O, Si gibi atomların birbirleri ile kovalen bağ yapımları ile meydana gelir (Baştan, 2012). Polimer biyomalzemelerin mekanik özellikleri çok düşük, süneklik ve tokluk değerleri ise yüksektir (Bahadır, 2008).

Polimerlere doku reaksiyon aşamaları şu şekilde özetlenebilir: (1) erken aşama: birkaç lenfosit ile ince bağ dokusu enkapsülasyonu, (2) orta aşama: daha yoğun bağ dokusu içinde fibroblastlar ve (3) geç aşama: dev hücreler ve makrofajların malzeme parçacıklarını temizlemesi (Korkusuz ve Korkusuz, 2004).

Biyomedikal amaçlı polimerlerin genellikle biyolojik ortamda bozunmadan kalmaları istenirse de bazı uygulamalarda bunun tam tersi istenir. Örneğin, kalça protezlerinin eklem bölgesindeki seramik ve metal kısımların birbirine zarar vermesini önlemek ve sürtünmeyi azaltmak amacıyla kullanılan polimerlerin biçim ve yapısını hastanın yaşamı boyunca koruması istendiği halde; kırık tedavisi amacı ile kullanılan polimer bir vidanın kırık iyileştikten sonra ya da vücuda uzun süreyle ilaç salmak amacıyla yerleştirilen kontrollü ilaç salınım sistemlerinin içerdikleri ilacın bitmesi ile işlevlerinin sona ermesinin ardından vücuttan çıkarılmadan oldukları yerlerde kontrollü bir biçimde parçalanması tercih edilmektedir. Bu sebeple kalça protezlerinde vücutta parçalanmayan, yüksek yoğunluklu polietilen kullanılır. Oysa diğer örneklerde poliaktid, poliglikolid, polihidroksibütirik asit gibi vücutta bozunan polimerler seçilir (Bahadır, 2008).

Çok çeşitli maddeler, hasarlı ya da tramvaya uğramış kemik dokularının tamir ve replasmanı için kullanılmıştır. Bu malzemeler, metaller, seramikler, polimerler (doğal

ve sentetik) ve bunların kombinasyonlarını içerir. Metaller ve seramikler doku mühendisliği uygulamaları için iki önemli dezavantaja sahiptir: biyolojik ortamda parçalanabilme yetersizlikleri vardır ve işlenebilirlikleri çok sınırlıdır. Tersine, polimerler çok iyi tasarım esnekliğine sahiptir çünkü kompozisyonu ve yapısı özel ihtiyaçlara göre geliştirilebilir. Bu nedenle, ilgi çeken adaylardır (Liu ve Ma, 2004).

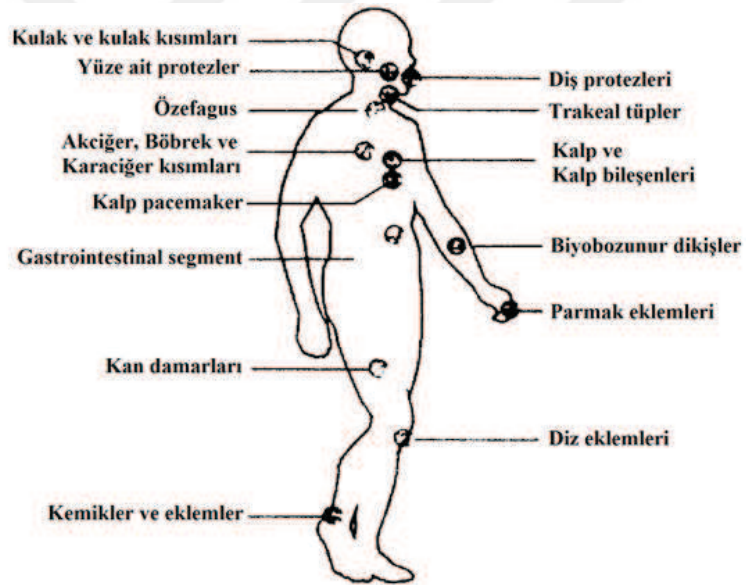
Polimerlerin olumsuzluğu ise bu malzemeler üretilirken vücut ortamında bozunmamaları için yapım ortamlarına ilave edilen kimyasalların yanı sıra üretim sırasında içlerinde kalan bazı reaksiyon başlatıcı malzemelerin ve üretim kolaylığı için kullanılan bazı maddelerin zamanla vücut ortamına sızabilmeleridir. Bunu önlenmek için biyomedikal polimerler ve onlardan yapılan cihaz ve sistemler biyoyumluluklarının tespit edilmesi amacıyla laboratuvar ortamında veya vücut sıvısı içerisinde klinik deneme protokollerine uygun olarak çok zorlayıcı koşullarda denenmektedir (Bahadır, 2008).

5.2. Polimerik Malzemelerin Kullanım Alanları

Polimerik malzemelerin biyomedikal alanlarda çok çeşitli uygulamaları vardır ve arayüzlerdeki reaksiyonların önemi üzerinde özellikle durulması ile biyomalzeme olarak kullanımları polimer kimyasının gelişen bir alanı olarak vurgulanmıştır (Jones, 2001).

Polimerler, birçok kimyasal kompozisyon ve biçimde yapılabilmeleri, çok değişik kaynaklardan elde edilebilmeleri (petrokimya ürünü, mikrobiyolojik kökenli, canlı dokusu kökenli), üretim teknolojisinin çok gelişmiş olması, çok karmaşık tasarımların kolaylıkla gerçekleştirilebilmesi gibi özelliklere sahip olduklarından yapay doku, organ veya cihazların yapımında tercih edilirler. Polimer biyomalzemeler tamamen vücut dışında, kısmen vücut dışında ya da tamamen vücut içerisinde kullanılabilir. Yapay kalp, kalp kapakçığı, kalp destek araçları, göğüs ve dış implantları, katarakt için intra-oküler lensler, damarlar, omuz, kalça, eklem protezleri, bazı uzun süreli ilaç salınım sistemleri (özellikle doğum kontrol amaçlı), eklem protezlerinin ya da dikilmeye uygun olmayan dokuların tedavilerinde

kullanılan biyolojik yapıştırıcılar tamamen vücut içerisinde kalan ve normal şartlar altında çıkarılması düşünülmeyen biyomalzemelere örnek olarak verilebilir. Vücut içi ve dışı arasında kullanılan malzemeler arasında kalp akciğer cihazında ve hemodiyaliz sistemlerinde kullanılan polimerik membran ve kataterler ile vücut içi bilgi toplamaya (sıcaklık, pH, glikoz miktarı, vb.) yönelik bazı biyosensörler yer alır. Vücut dışı kalan polimerik biyomalzemeler ise kontak lensler, yapay deri, derinin dış yüzeyinden vücut içerisine uzun sürelerle ve sabit düzeyde ilaç salınan kontrollü ilaç salınım sistemleri (nitrogliserin gibi kalp ilaçları, skopolamin gibi mide bulantısı ilaçları), göz kapağı içine yerleştirilen ilaç salınım sistemleri (glokom için atropin) yada kozmetik amaçlı yapay doku malzemeleridir (Bahadır, 2008). Polimerlerin yaygın klinik uygulamaları Şekil 5.1.'de görülmektedir.



Kulak ve kulak kısımları: Akrilik, Polietilen, Silikon, Poli(Vinil Klorid)(PVC)

Diş protezleri: Akrilik, UHMWPE, Epoksi

Yüze ait protezler: Akrilik, PVC, Poliüretan(PUR)

Trakeal tüpler: Akrilik, Silikon, Naylon

Kalp ve kalp bileşenleri: Poliester, Silikon, PVC

Kalp pacemaker: Polietilen, Asetal

Akciğer, böbrek ve karaciğer kısımları: Poliester, Polialdehit, PVC

Özefagus: Polietilen, Polipropilen(PP), PVC

Kan damarları: PVC, Poliester

Biyobozunur dikişler: PUR

Gastrointestinal segment: Silikon, PVC, Naylon

Parmak eklemleri: Silikon, UHMWPE

Kemikler ve eklemler: Akrilik, Naylon, Silikon, PUR, PP, UHMWPE

Diz eklemleri: Polietilen

Şekil 5.1. Polimerlerin yaygın klinik uygulamaları (Visser ve ark., 1996)

Polimerler esas olarak kırık fiksasyonunda, kemik replasmanında, kırık onarımında, ligamentlerin fiksasyonunda ve ilaç dağıtımında kullanılır. Polilaktitler (PLA), poliglaktitler (PGA) ve polihidroksibütiratlar (PHBV) sert doku mühendisliğinde en yaygın kullanılan polimerler türleridir (Korkusuz ve Korkusuz, 2004).

Hasta morbiditesini arttıran cerrahi revizyonlar, pahalı ve uzun hastanede kalış süresinden kaçınmak için implant ile ilişkili enfeksiyonların etkili önlenmesi çok önemlidir. Ortopedik implantlar ile ilişkili enfeksiyonları önlemek ve tedavi etmek için yaygın ve kabul edilen bir strateji, implantasyon yerinde antibiyotikleri bu ilaçların sistemik toksisitelerini aşmadan yüksek lokal dozları sağlamak için kontrollü bir şekilde dağıtmaktır. Antibiyotik salınımı kaplama veya boncuklar biçimindeki çeşitli biyouyumlu malzemeler kullanılarak başarılmıştır. Bu malzemelerin bazıları polimerler (poliüretan, polihidroksilalkanatlar, polimetilmetakrilat (PMMA), poli-L-laktik asit (PLA), poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA) vs) ve sentetik hidroksiapatit (HA). Kontrollü ilaç dağıtımı, PMMA gibi biyobozunur olmayan polimerler için gösterilmiş olmasına rağmen, etkinliği ilaç ve polimer arasındaki kimyasal benzerliğe yanısıra polimerin kendisinin fiziksel özelliklerinin fonksiyonu olan polimerden antibiyotik salım profiline fazlasıyla bağlıdır. Ayrıca, biyobozunur olmayan polimerler rezorbe olmaz ve çıkarılması için müteakip işlem gerekir. Antibiyotik yüklü biyobozunur polimer kaplamalar rezorbe olabilir, bu yüzden ikinci dezavantajın üstesinden gelir, fakat yüksek hidrofobisite bir başka önemli sorundur, çünkü antimikrobialerin güvenilir dağıtımı için yeterli antibiyotik yükleme ve dispersiyon ile formüle edilmiş cihazlarda pratik kısıtlamalar ortaya koyar (Díaz ve ark., 2009).

Polimerik biyomateryaller çok değişik şekillerde ve özelliklerde hazırlanabilir ve bu malzemelerin yüzey özellikleri modifiye edilebilir. Yüksek dayanım ve düşük esneme özelliklerine sahip olan polietilenin (PE) yüksek molekül ağırlığına sahip formları ortopedik implantlarda kullanılmaktadır. Politetrafloroetilen (PTFE), ticari adıyla teflon, yüksek kristalinite, düşük yoğunluk, elastik modül, yüzey gerilimi ve sürtünme katsayısından dolayı yapay damarlar şeklinde kullanılmaktadır. Poliamidler

işlenebildikleri için ameliyat ipliği ya da yara örtü materyali olarak; Polietilenteraftalat (PET) ise kalp kapakçıklarını dikmek için kullanılmaktadır (Kes, 2008).

Polimer implantların en yaygın kullanım alanları kalça ve diz protezleri için metal yuvaya karşılık olarak kullanılan ultra yüksek moleküler ağırlıkta polietilen (UHMWPE) uygulamasıdır. Aşınma direncine dayanıklılığı ve korozyon direnci açısından diğer birçok polimerden üstün özellikler gösteren UHMWPE'nin moleküler ağırlığı 1 milyonu aşar (Bahadır, 2008). İmplant olarak kullanılan polimerler Tablo 5.1.'de listelenmiştir.

Tablo 5.1. İmplant olarak kullanılan polimerler (Baştan, 2012)

CF: Karbon fiberleri	PBT: Polibutilentereftalat
PELA: Laktik asidin blok ko-polimeri	PC: Polikarbonat
GF: Cam fiberleri	PCL: Polikaprolakton
PET: Polietilentereftalat	PMA: Polimetakrilat
HDPE: Yüksek Yoğunluklu Polietilen	PMMA: Polimetilmetakrilat
PGA: Poli(glikolik asit)	MMA: Metilmetakrilat
KF: Kevlar fiberi	Poliglaktin: PLA ve PGA'nın kopolimeri
PHB: Polihidroksibutirat	PE: Polietilen
LCP: Sıvı kristal polimer	PP: Polipropilen
PHEMA: Poli(HEMA) yada Poli(hidroksietilmetakrilat)	PEA: Polietakrilat
LDPE: Düşük Yoğunluklu Polietilen	PS: Polisülfon
PLA: Poli(Laktik asit)	PEEK: Polietherekton
PLLA: Poli(L-Laktik asit)	PTFE: Politetrafloritin
PLDLA: Poli(L-DL-Laktik asit)	PEG: Polietilen glikol
PA: Poliaktal	PU: Poliüretan
PVC: Polivinilklorür	UHMWPE: Ultra Yoğunluklu Polietilen

5.3. Biyobozunur Polimerler

Çevre sorunları, doğada bozunabilen, üretiminde zehirli ve toksik bileşen kullanımının olmadığı polimerik malzemelerin geliştirilmesine yönelik acil bir gereksinim yaratmıştır. Bu nedenlerle, bugün dünyada kontrollü özellikleri olan

biyobozunur malzemelerin geliştirilmesi malzeme bilimciler ve mühendisler topluluğu için büyük bir araştırma konusu haline gelmiştir. Biyobozunur polimerler yalnızca biyo-kaynaktan üretilmiş olmayabilir, petrol kaynağından da türetilmektedir (Al-Mulla ve Ibrahim, 2012).

Öngörülen süre içinde gerekli tüm özellikleri karşılayabilen ve daha sonra ameliyata gerek kalmadan vücutta kendini degrade etmeye başlayabilen materyal geliştirmek esastır. Aslında, bilim adamları ve cerrahlar için gerçek bir sorundur ve gelecekteki araştırmalar için büyük bir potansiyele sahiptir. Bu, kesinlikle akıllı bir malzeme olan mükemmel biyoyumlu ve biyobozunur polimerik malzeme geliştirmeye dikkatleri yönlendirecektir ve böylece ameliyat sonrası iyileşme masrafları elimine edilecektir (Gurappa, 2002).

Biyomilebilir malzemeler hidroliz ile bozunmaya uğrar ve enzimler tarafından daha küçük boyutlara parçalanır. Daha küçük ürünlere bozunduğundan fagositler tarafından yutulur ve toksik doku birikimi olmadan su ve CO₂ formunda doğal vücut metabolizması yoluyla elimine edilir. Biyomilebilir cihazlarla osteofiksasyon metaller tarafından sağlanan kadar sert değildir. Bazı derecelerde mikrohareket oluşabilir. Polimer yavaş yavaş mukavemetini kaybederken, yük kemiğe aktarılır. Biyomilebilir cihazlar radyolüsenttir ve MRI'nın (manyetik rezonans görüntüleme) müteakip kullanımını engellemez ve CT (bilgisayarlı tomografi) taramasında artefaktlara neden olmaz. Biyomilebilir cihazların radyolüsent olması postoperatif radyoterapi için daha fazla X-ray penetrasyonuna izin verir (Ashammakhi ve ark., 2004).

Vücuda yerleştirildiğinde zamanla vücutta hiçbir yapay madde kalmaması biyobozunur polimerlerin en büyük avantajıdır. Biyobozunur polimerler ile kompozitleri sert doku onarımında dolgu maddesi olarak kullanıma sahiptir (Cengiz, 2007).

Araştırmacılar, kemik defektlerinin veya kırıklarının fiksasyonu için emilebilir polimerler geliştirmiştir. Birçok durumda kırık bir kemiğin tamamen iyileşmesi için

hasta genellikle iğne, çubuk, vida, plaka veya çimento enjeksiyonu gibi donanım implantasyonuna ihtiyaç duyacaktır. Bu uygulamalar için ticari olarak kullanılan malzemelerin çoğu, sıklıkla enflamasyon veya tahriş gibi ciddi yan etkilere sahip olan emilemeyen polimerler, metaller ve seramiklerdir. Bu yan etkiler, bazen implantın çıkarılmasını gerektirmektedir. Emilemeyen implantlar kemik formunun implantın olduğu boşluğa büyümesini engeller. Bu, zayıflatılmış kemik ve sıklıkla refraktüre yol açabilir. Emilebilen polimerlerden üretilen implantların emilemeyen polimerlerden üretilenlere göre pek çok avantajları vardır. İmplantın fonksiyonunu gösterdikten sonra çıkartılması için ikinci ameliyat ihtiyacını ortadan kaldırır. Polimer emildiği için bunlar, kemiğin polimer matriks içine büyümesine izin verir, kemik bütünlüğünü daha iyi sürdürür ve daha erken yük taşımaya başlayabilir. Ayrıca, emilebilir implantlar kemik büyümesini arttıran ve kırık iyileşmesini hızlandıran biyoaktif moleküller içerebilir. Emilebilir polimer implantların belirgin avantajları bu alanda büyük ilgiye ve araştırmaların yapılmasına yol açmıştır (Beil ve ark., 2004).

Kemik onarım uygulamaları için emilebilir polimerin kullanılabilirliği şu kriterleri yerine getirme yeteneklerine bağlıdır (Beil ve ark., 2004):

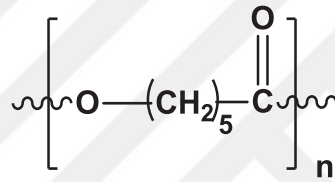
- a. Polimerin emilme hızı kemiğin polimerin içine büyüme hızı ile uygun olmalıdır.
- b. Polimer, kemik büyümesini kolaylaştırmalı ya da en azından inhibe etmemelidir.
- c. Polimer ve onun bozunma ürünleri olumsuz reaksiyonu önlemek için biyouyumlu olmalıdır.
- d. Polimerin mekanik özellikleri uygulama için uygun olmalı ve bozunmanın son aşamalarına kadar kalmalıdır.

Biyorezorbe olabilen malzeme için, osteokondüktif, osteoindüktif olmak ve de novo doku oluşumunu teşvik etmek önemlidir. Biyolojik implantın hedefi çevreleyen konak kemikten ayırtedilemez olmaktır. Yeni doku oluşturmanın hasta için yaşam kalitesi sağlayacağı ve çevreleyen dokunun fonksiyonu açısından en iyi sonuca yol açacağı açıktır. Sentetik polimerler biyomalzeme uygulamalarında yaygın olarak kullanılır. Doku mühendisliğindeki örnekler alifatik poliesterleri (poliglikolik asit (PGA) ve poli-L-laktik asit (PLLA)), bunların kopolimerlerini (polilaktik-ko-glikolik

asit (PLGA)) ve polikaprolaktonu (PCL) içerir. Doku tamiri için biyobozunur malzeme kullanıldığında, malzemenin kendisinin ve degradasyon yan ürünlerinin toksisitesinin ve/veya biyoyumunun göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Wahl ve Czernuszka, 2006).

5.4. Polikaprolakton

Tamamen biyobozunur az sayıdaki sentetik polimerlerden biri olarak bilinen polikaprolakton (PCL) petrol bazlı doğrusal polimerdir. Biyobozunurluğu, malzeme kaynağı ile değil, kimyasal yapısı ile belirlenir (Akos ve ark., 2013). Polikaprolaktonun kimyasal yapısı Şekil 5.2.'de verilmiştir.



Şekil 5.2. Polikaprolaktonun kimyasal yapısı

Polikaprolakton (PCL) iyi biyoyumluluğu ile biyobozunur alifatik poliesterin bir türüdür (Xiao ve ark., 2009). Biyoemilebilir poliesterler, ester bağları üzerinde progresif ataklar ile sonuçta monomerlerin salımına yol açan hidroliz ile parçalanır. Enzimlerin etkisinden dolayı bozunmaları *in vivo* hızlanabilir. Ortaya çıkan monomerler toksik organ birikimi riski olmadan metabolize ve elimine edilir (Ashammakhi ve ark., 2004).

Son yıllarda doku mühendisliği uygulamalarında polikaprolaktonun kullanımı dikkat çekmektedir. Görevini geçici bir süre yapması amaçlanan doku iskelelerinin üretiminde PCL, biyobozunur olması ve işleme kolaylığından dolayı tercih edilmektedir (Şaşmazel, 2007). Organizma için toksik olmaması, implantasyondan sonra yavaş yavaş emilmesi ve iyi mekanik özellikleri gibi değerli özellikleri ile ideal bir iskele (skafold) malzemesidir. Bununla birlikte, doku mühendisliğinde PCL, öncelikle oldukça yüksek hidrofobik doğasından dolayı zayıf biyoregülasyon aktivitesine sahip olması, yavaş biyobozunma oranı ve mikrobiyal etkiye duyarlılık

gibi dezavantajlara sahiptir. Düşük erime noktası (60 °C) ve cam geçiş sıcaklığı (-60 °C) nedeniyle PCL, diğer polimerler ile karıştırılabilir (Xiao ve ark., 2009).

PCL'nin bir takım medikal aletlerin ve ilaç salım cihazlarının üretiminde kullanılması geniş çaplı *in vitro* ve *in vivo* testlerin ardından FDA tarafından onaylanmıştır (Duan ve ark., 2007).



BÖLÜM 6. HİDROKSİAPATİT

6.1. Biyoseramikler

Vücudun zarar gören veya işlevini yitiren organlarının onarımı, yeniden yapılandırılması veya yerini alması için özel olarak tasarlanan seramikler biyoseramikler olarak adlandırılırlar (Pasinli, 2004).

Biyoseramik malzemeler biyoyumluluklarının üstün olması, zehirleyici etki göstermemesi, alerjik ve kanserojen olmamaları, kararlı kimyasal yapıları nedeniyle paslanma risklerinin olmaması, aşınmaya karşı dayanıklı ve oldukça da hafif olmalarından dolayı tıp teknolojisinde yaygın kullanımları olan inorganik malzemelerdir. Polikristalin yapıya sahip olan biyoseramik malzemeler, mikroorganizmalara, sıcaklığa, çözücülere ve pH değişimlerine karşı direnç göstermektedir (Güven, 2010).

Biyoseramikler biyo inert, biyoaktif ve biyobozunur olmak üzere üç ana gruba ayrılırlar. Biyo inert seramikler, inert yapıda olan ve oksijen iyonlarının oluşturduğu düzlemde metal iyonlarının dağılmasıyla oluşan polikristalin seramiklerdir. İki önemli türü mevcuttur. Alümina (Al_2O_3) ve zirkonya (ZrO_2). Alümina yüksek yoğunluk ve yüksek saflık (>%99,5), korozyon direnci, yüksek dayanım ve biyoyumluluk özellikleriyle kalça protezlerinde ve diş implantlarında yaygın kullanım alanına sahiptir. İri tane yapısına sahip polikristalin alfa- Al_2O_3 'ün, 1600-1700 °C sıcaklıkta sinterlenmesi sonucu elde edilen alümina, 20 yılı aşkın süredir ortopedik uygulamalarda kullanılmaktadır. Fiziksel ortamda inert etki gösteren zirkonya, yüksek çatlama ve bükülme direncine sahiptir ve uyluk kemiği protezlerinde başarıyla kullanılmaktadır. Ancak bu uygulamalarda fizyolojik sıvılar nedeniyle zamanla gerilme direncinin azalması, kaplama özelliklerinin zayıf oluşu ve

potansiyel radyoaktif malzemeler içermesi gibi önemli problemlerle karşılaşmaktadır. Zirkonya içerisinde bulunan yarılanma ömrü çok uzun olan radyoaktif elementleri (uranyum, toryum, vb) yapıdan ayırmak çok zor ve pahalı işlemler gerektirir (Pasinli, 2004).

Biyoinert seramiklerin doku ile etkileşimi esnasında çok ince, birkaç mikrometre ya da daha az kalınlıkta, fiberimsi bir yapı oluşur ve bu yapı zamanla bütün implant malzemesini sarar. Oluşan bu yapı nedeniyle biyoinert seramikler uzun süre fiziksel ve mekanik özelliklerini koruyarak doku ile etkileşime girmeden kullanılabilir olanağına sahip olurlar. Doku ile temas ettikleri zaman neredeyse yok denecek kadar az reaksiyona neden olmalarına rağmen inert olan seramikler de zamanla degradasyona ve mekanik aşınmaya maruz kalırlar. Bu sırada oluşan aşınma ürünlerinin konsantrasyonu ise vücut tarafından düzenlenir. Biyoaktif seramikler ise gelişmiş kemik-doku yanıtı oluşturup kemik ile bağlanma sağlar bununla birlikte yetersiz çekme mukavemeti ve kırılma tokluğuna sahiptirler. Emilebilir olanlar ise zamanla bozunup doğal dokuların yerini alacak şekilde tasarlanırlar (Metin, 2013).

Biyoaktif malzemelerin (Biyocam, Apatit/Volastonit (A/W) camseramik, Hidroksiapatit) canlı kemik dokusuna direkt bağ oluşturma yeteneklerine ilave olarak CP titanyum veya titanyum alaşımı, Ti6Al4V gibi biyoinert malzemelerin tersine osteokondüktif özellikler de sergilediği bilinmektedir. Osteokondüktif özelliklerin, yeni kemiğin kademeli oluşumu sırasında osteoblast için kafes olarak rol oynayan malzemenin özelliğinden kaynaklandığı anlaşılır. Biyoaktif malzemelerin bu spesifik özelliği, malzemenin türüne bağlı olarak dakikalardan günlere uzanan bir periyod boyunca vücut sıvıları ile reaksiyon sonucu implantın yüzeyi üzerinde ince bir kalsiyum fosfat tabakası oluşturma yeteneklerinin bir sonucu olarak beklenebilir. Bu kalsiyum fosfat fazının kimyasal ve kristalografik özellikleri kemik apatit ile hemen hemen aynıdır. Bu osteokondüktif yeteneği ile biyoaktif implantların, implant iyileşmesi sırasında implant ile kemik matriksi arasındaki uygun olmayan koşullara daha fazla tolerans gösterebileceği varsayılabilir (Strnad ve ark., 2000).

Biyoseramikler farklı fazlarda üretilebilirler (Tablo 6.1.). Tek kristal (safir), polikristal (alümina ve hidroksiapatit), cam (bioglass), cam-seramikler (A/W cam-seramik) ve kompozitler (polietilen-hidroksiapatit) biyoseramiklerin farklı fazlarıdır. Örneğin, yüksek mukavemet uygulaması gerektiren dental uygulamalarda tek kristal safir tercih edilmektedir. A/W cam seramikler ise yüksek mukavemeti ve kemiğe iyi bağlanma özelliği ile omurganın iyileştirilmesinde kullanılır. Bulk formda olan seramikler genellikle implant malzemesi olarak ve kemikte oluşan boşlukları doldurmak amacıyla kullanılır. Kompozitlerin biyomekanik özelliklerinin iyileştirilmesi ve metallerin biyouyumluluk oranının yükseltilmesi için kaplama malzemesi olarak da uygulama alanları bulunmaktadır (Metin, 2013).

Tablo 6.1. Farklı form ve fazlardaki seramikler ve fonksiyonları (Metin, 2013)

FORM	FAZ	FONKSİYON
Toz	Polikristal Faz	Boşluk doldurma, terapötik tedaviler, dokuların yenilenmesi
Kaplama	Polikristal Cam, Cam-Seramik	Doku bağlanması, pıhtılaşma direnci, korozyon direnci
Bulk	Tek Kristal, Polikristal Cam, Cam-Seramik, Kompozit	Dokuların iyileştirilmesi, fonksiyonel kısımların yer değiştirmesi

Biyoseramikler dokulara bağlanma şekillerine göre dört gruba ayrılır (Tablo 6.2.) (Metin, 2013).

Tablo 6.2. Biyoseramik implantların doku ile etkileşimi (Metin, 2013)

İMLANT MALZEMESİ	BAĞLANMA ŞEKLİ	ÖRNEK
İnert	Mekanik bağlanma	Al_2O_3 , ZrO_2
Poröz	Kemik büyümesi	HA, HA kaplanmış poröz metal
Biyoaktif	Dokularla ara bağlanma	Biyoaktif camlar, Biyoaktif cam-seramikler, HA
Emilebilir	Dokularla yer değiştirir	TCP, Biyoaktif cam

Seramik malzemeler yüksek basma dayanımına, düşük çekme veya eğme dayanımına sahiptirler. Seramik biyomalzemeler genel anlamda yük taşıyıcı implant malzemesi olarak kullanılmak yerine daha çok yük taşımamanın gerekmediği uygulama alanlarında tercih edilmektedirler (Bahadır, 2008).

Biyoseramikler, sağlık sektöründe gözlük camları, teŖhis cihazları, termometreler, doku költür kapları ve endoskopi gibi çok çeŖitli uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Ayrıca sert doku implantı olarak iskeletteki sert bağ dokusunun tamiri veya yenilenmesinde ve diŖçilikte dolgu malzemesi olarak da yaygın bir biçimde kullanılmaktadırlar. İlerleyen yaŖa bağlı olarak azalan kemik yoğunluğu, dayanımı, osteoblastların yeni kemik üretiminde ve kemikte oluŖan mikro çatlakların kapanmasındaki üretkenliğinin azalması ile bu malzemelere gereksinim duyulmaktadır. Biyoseramiklerin kullanımını sınırlayan nedenler arasında bazı klinik uygulamalardaki yavaŖ ilerleyen çatlaklar, düşük mekanik dayanım, kırılganlık ve işlenmelerinin zor olması bulunmaktadır. Bunları önlemek için kullanılan yaklaŖımlardan birisi biyoaktif kompozitler, diğeri ise biyoaktif seramiklerle yapılan kaplamalardır (Pasinli, 2004).

6.2. Kalsiyum Fosfatlar

Kalsiyum fosfat, kimya, biyoloji, tıp, diŖ hekimliği ve jeoloji bilimlerini içeren disiplinlerarası alanda kullanılmıŖtır. Kalsiyum fosfat seramikler arasında dikalsiyum fosfat dihidrat ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD), trikalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, TCP), tetrakalsiyum fosfat ($\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$, TetTCP), oktakalsiyum fosfat ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6$, OCP) ve hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HA) medikal alanlarda uygulama için çalıŖılmıŖtır (Cengiz ve ark., 2008).

Son yıllarda kalsiyum fosfatlarla ilgili yapılan çalıŖmaların sonucunda, bu malzemelerin sağlık alanındaki uygulamaları ve kullanımında artış meydana gelmiŖtir. Kalsiyum fosfatların element kompozisyonunun, kemik ve diŖte bulunan minerallerle büyük benzerlik göstermesi, biyoseramikler içinde dikkat çekmelerine neden olmuŖtur. Kalsiyum fosfatlar, kırılma tokluklarının düşük olması veya mekanik özelliklerinin zayıflığı nedeniyle aşırı yüklere karşı dayanıksızdırlar (Evis, 2011). Seramik kırılğandır ve kortikal kemiğin mekanik özellikleri ile karşılaştırılmaz. Bu nedenle kalsiyum fosfatlar, kemik/diŖ dolguları veya implant cihazları üzerindeki kaplamalar gibi göreceli olarak düşük çekme gerilimi alanlarında kullanılmıŖtır (Wahl ve Czernuszka, 2006).

Bir dereceye kadar camla güçlendirme ile yük probleminin üstesinden gelinebilir. Biyoaktif cam ve cam-seramiklerin geliştirilmesine büyük ilgi vardır. Bununla birlikte bunlar, yüksek modülüs ve düşük kırılma tokluğuna meyillidir ve klinik yük mukavemeti durumlarında kullanımları sınırlı kalmaktadır. Mekanik özellikler polimer matriks kullanımı ile geliştirilebilir. Kalıcı matrikslerin (örneğin polietilen) kullanımı biyoaktivite konusunda bazı kuşkuları arttırmıştır. Biyoaktivitesi sabit kalırken geliştirilmiş mekanik özellikler gösteren ve kollajen gibi doğal malzeme bazlı rezorbe olabilen matriksler geliştirilmiştir (Jones, 2001).

Kalsiyum fosfatlar, biyouyumluluğu, düşük yoğunluğu, kimyasal kararlılığı ve kemik mineral fazına kompozisyonal benzerliğinden dolayı kemik ikamesi olarak öncelikle biyomedikal sanayide kullanılır. Kalsiyum fosfatların emilme özelliği Ca/P oranına, kristal yapısına ve kristallenme derecesine bağlıdır (Fathi ve ark., 2008). Kalsiyum fosfat seramiklerin vücut içi çözünürlük miktarları α -TCP > β -TCP > HA şeklindedir. (Metin, 2013). HA ve TCP bozunma hızı, üreticiye, por büyüklüğüne, poroziteye, kompozisyona ve sinterleme sıcaklığına bağlı olarak değişebilir. Bozunma hızı yılda yaklaşık olarak TCP için %35 ve hidroksiapatit için %1-3'tür (Korkusuz ve Korkusuz, 2004).

Kalsiyum fosfatlar arasında en öne çıkan malzemeler ise hidroksiapatit (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ve üç-kalsiyum fosfattır (TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). HA yüksek biyouyumluluğu, yavaş bozunması, kimyasal yapısının kemik mineraline benzerlik göstermesi gibi özellikleri nedeniyle, TCP ise vücut içindeki yüksek bozunma hızı gibi özelliklerinden dolayı önemlidir (Evis, 2011).

Kalsiyum fosfat, biyomalzeme olarak sentetik kemik grefti, ilaç taşıyıcısı ve metal protezlerde (kalça endoprotezi ve dental implantlar) kaplama olarak kullanılır (Vijayalakshmi ve Rajeswari, 2006). Trikalsiyum fosfat seramikler sert doku uygulamalarında 1920'li yıllarda kullanıldığı halde, hidroksiapatit tozlarının sinterlenerek medikal uygulamalarda kullanımı ise ilk olarak 1970 yıllarında Monroe ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (Metin, 2013).

6.3. Hidroksiapatit

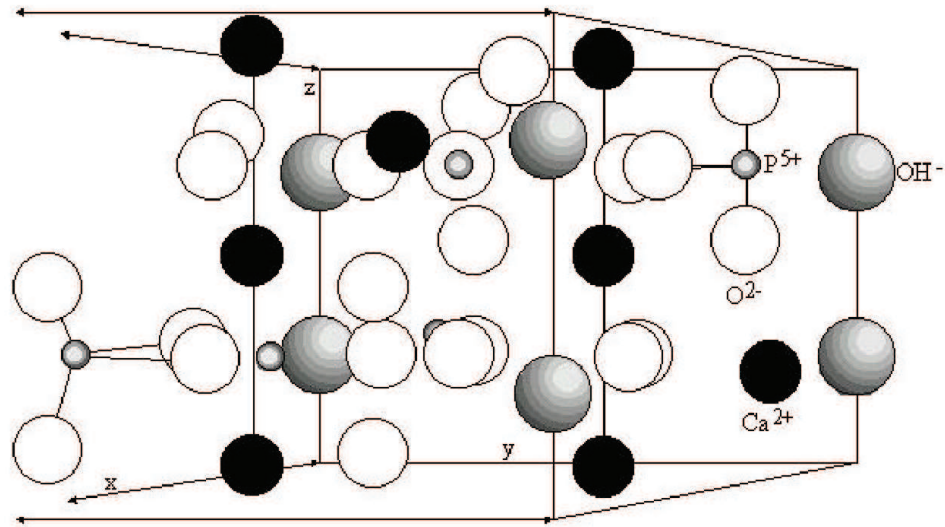
Kimyasal analiz ile kalsiyum fosfatların kompozisyonunu belirlemek için ilk girişimler, 18 yüzyılın ilk yarısında Berzelius tarafından başlatılmıştır. Hidroksiapatit normal sıcaklıkta ve pH 4 ile 12 arasında en stabil kalsiyum fosfat tuzudur (Koutsopoulos, 2002). Apatit terimi kristallografik yapıları benzerlik gösteren bileşikler ailesini tanımladığından bir kompozisyon belirtmemektedir. Hidroksiapatit, $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ bu ailenin en bilinen önemli üyesidir ve $3Ca_3(PO_4)_2 \cdot Ca(OH)_2$ olarak da tanımlanır. HA'nın bulunduğu aile $M_{10}(XO_4)Y_2$ şeklinde gösterilebilir. Burada M çeşitli metalleri ya da H_3O^{+} 'i, X ise P, As, Si, Ge, S, ya da Cr'yi ve Y de OH, F, Cl, Br, CO_3 'ü temsil etmektedir. Apatit, diğer iyonlarla yer değiştirmeye olanak sağlayan bir yapıda olduğundan Ca, PO_4 veya OH gruplarıyla meydana gelen yer değiştirmeler, özellikler üzerinde değişimlere neden olur (Yeşilay, 2006).

HPO_4^{2-} veya CO_3^{2-} ilave edilmiş veya Ca^{2+} ve OH^- eksik apatitler biyomedikal alanda kullanılan apatitler arasındadır. Biyomedikal alanda kullanılan bu apatitler arasında en ön planda olan hidroksiapatittir. HA, hegzagonal yada monoklinik olarak adlandırılan 2 farklı kristal yapıya sahip olabilir. Hegzagonal HA, $P6_3/m$ uzay grubuna dahildir ve her bir birim kafeste iki adet formül mevcuttur ve kafes parametreleri $a=b=9,4225 \text{ \AA}$ ve $c=6,8850 \text{ \AA}$ boyutlarındadır. HA yapısında bulunan atomların pozisyonları ve birim kafes hücrede bulunan ilgili atom sayıları Tablo 6.3.'te yer almaktadır (Evis, 2011).

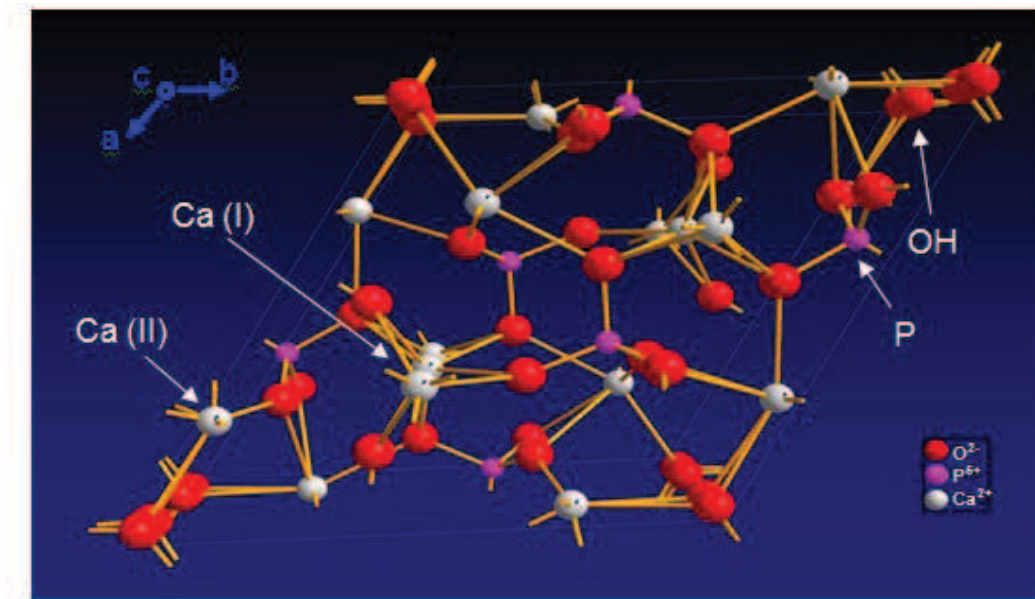
Tablo 6.3. Hegzagonal HA yapısında bulunan atomların pozisyonları (Evis, 2011)

Atom	Birim kafeste bulunan atom sayısı	X	Y	Z
Ca(I)	4	0,333	0,667	0,001
Ca(II)	6	0,246	0,993	0,250
P	6	0,400	0,369	0,250
O(I)	6	0,329	0,484	0,250
O(II)	6	0,589	0,466	0,250
O(III)	12	0,348	0,259	0,073
OH	2	0,000	0,000	0,250

Monoklinik kristal yapısına sahip HA $P2_1/b$ uzay grubuna aittir ve kafes parametreleri $a=9,4114 \text{ \AA}$, $b \sim 2a$ ve $c=6,8814 \text{ \AA}$ olarak hesaplanmıştır. Hegzagonal ve monoklinik HA arasındaki esas fark hidroksil iyonlarının sıralanış şekliyle kaynaklanmaktadır. Monoklinik HA'da hidroksil iyonları O-H, O-H, O-H sırası ile dizilirken, hegzagonal HA'daki hidroksil iyonları O-H, H-O, O-H, H-O sırası ile dizilmişlerdir (Evis, 2011). Hidroksiapatitin kristal yapısı Şekil 6.1., Şekil 6.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 6.1. Hidroksiapatitin kristal yapısı (Evcin ve ark., 2009)



Şekil 6.2. Hidroksiapatitin kristal yapısı (Rivera-Muñoz, 2011)

Diğer fazlara göre (alfa/beta tri-kalsiyum fosfat, tetra-kalsiyum fosfat, okta kalsiyum fosfat) %100 saf, kristalin hidroksiapatit (HA), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, en az çözünürlüğe, en fazla kararlılığa ve en yüksek dayanıma sahip olan kalsiyum fosfat fazıdır. Polikristalin HA çok yüksek elastik modülüne (40–117 GPa) sahiptir. Kemik, diş minesi gibi sert dokular yapılarında proteinler, su ve diğer organik malzemelerin yanında HA bulunduklarından dolayı doğal kompozit olarak kabul edilir. Doğal kemiğin Poisson oranı $\approx 0,3$ 'tür ve sentetik HA Poisson oranı ise 0,27'dir (Bahadır, 2008).

Gevrek bir biyoseramik malzeme olan hidroksiapatitin (HA) kırılma tokluğu 1,0 MPa $\text{m}^{1/2}$ yi geçmezken, insan kemiğinde 2-12 MPa $\text{m}^{1/2}$ dir. Mekanik özellikleri zayıf olup yorulma dayanımı da düşüktür (Güven, 2010).

Bu özelliklerine ilaveten hidroksiapatitin Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ag^+ , Co^{2+} gibi ağır metal iyonları veya zararlı iyonlar ile katyon değişim hızı yüksektir (Kim ve ark., 1998). Hidroksiapatitin fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri Tablo 6.4.'te sunulmuştur.

Doğal HA'da Mg^{2+} , F^- , CO_3^{2-} gibi pek çok sayıda iyonlar bulunmaktadır. Bu sebeple HA'ya pek çok değişik elementler eklenerek çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Mekanik ve içyapısal özellikler, biyouyumluluk ve biyoaktivite özellikleri yönünden çok daha faydalı ürünler geliştirebilmek amacıyla farklı iyonlar saf HA'nın içyapısına eklenebilir. Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} ve Y^{3+} iyonlarının eklendiği HA'ların kafes parametrelerinde değişiklikler ortaya çıktığı görülmüştür. Bu elementler Ca katyonunun yerini aldıklarında malzemenin hegzagonal hücre hacminin azaldığı gözlemlenmiştir. Saf HA'ya göre Y^{3+} eklenmiş HA'lara osteoblast hücrelerinin yapışmasının daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca metal iyonu katılmış malzemede bozunma (kütle kaybı) hızlarının daha düşük olduğu saptanmıştır (Evis, 2011).

Tablo 6.4. Hidroksiapatitin fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri (Cengiz, 2007)

ÖZELLİK	DEĞER
Molekül Formülü	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$
Ca/P oranı	1,67
Kristal yapısı	Hekzagonal
Young modülü (GPa)	80-110
Elastiklik modülü (GPa)	114
Baskı dayanımı (MPa)	400-900
Gerilme dayanımı (MPa)	115-200
Yoğunluk (g/m^3)	3,16
Bağıl yoğunluk (%)	95-99,5
Kırılma dayanımı ($\text{MPa m}^{1/2}$)	0,7-1,2
Sertlik (HV)	600
Bozunma sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	> 1000
Erime noktası ($^{\circ}\text{C}$)	1614
Dielektrik sabiti	7,40
Isıl iletkenlik (W/cmK)	0,013
Biyoaktiflik	Yüksek
Biyoygunluk	Yüksek
Biyobozunma	Düşük
Hücreyel uygunluk	Yüksek
Kemik iletkenliği	Yüksek

En önemli özellikleri arasında mükemmel biyolojik uyumluluğu yer alan HA sert dokularla direk kimyasal bağ kurar. HA partikülleri yada gözenekli bloklar kemiğe yerleştirildiğinde yeni doku 4–8 haftada şekillenir. HA'nın gözenekli yapısı, hücrelerin gözeneklerin içine doğru büyümesini dolayısıyla, dokuların implanta nüfuz etmesini, kemik yapıya kanın ve diğer önemli vücut sıvılarının ulaşmasını sağlar. Yapılan deneylerde HA implantların, öncelikle fibrovasküler doku ile kaplandığı ve zamanla bu dokudaki olgun lamellerin, kemiğe dönüştüğü belirlenmiştir. HA osteokondüktif özelliği ile implantların kemiğe sıkı yapışmasına ortam ve olanak sağlar. Ayrıca HA'nın lokal büyüme faktörlerine, özellikle kemik proteinlerine karşı kuvvetli kimyasal bağlanma eğilimi olduğu tespit edilmiştir. HA non-toksik (zehir etkisi olmayan) özelliklere sahip olmasından dolayı meydana gelebilecek vücut reaksiyonları da minimumdur (Pasinli ve Aksoy, 2010).

HA yüksek osteoiletkenliğe (yüzeyinde kemik oluşumuna izin verme) ve düşük bozunma hızına sahiptir. HA'nın kendisinin tek başına ya da bir kompozit parçası olarak kullanımı ilgi çekmektedir. Kaplama olarak birçok biyotıbbi uygulamada kullanılan hidroksiapatit polimerin yapışmasını ve kemik oluşumunu arttırmaktadır.

HA biyoaktif olmasının yanı sıra aynı zamanda osteokondüktif, toksik olmayan bir maddedir (Cengiz, 2007).

HA'nın kimyasal yapısı içerisinde Ca ve P elementleri yer almaktadır. Bunlar kemik ve dişin inorganik kısmında bulunan elementlerdir. Hidroksiapatit, kompozisyonunda aynı elementleri içerdiği için, vücudun yabancı malzemelere karşı gösterdiği tepkiler çok daha az meydana gelmekte ve genç kemik hücreleri HA yüzeyine yapışabilmekte ve çoğalabilmektedirler. HA'nın yüksek biyoaktivitesi nedeniyle kemikle malzeme ara yüzeyinde çok kuvvetli bağlar oluşabilmektedir. Bu bağların kuvveti bazen o kadar yüksek olmaktadır ki, HA'lara genç kemik hücrelerinin kuvvetli yapışması sonucunda, HA kaplamayı metal yüzeyinden söküp alabilmektedir ve bu durum enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Sentetik HA, doğal kemiğe göre mekanik yönden daha zayıftır ve doğal kemikte bulunan HA, sentetik HA'ya göre biyolojik olarak daha aktiftir. Nano-tane boyutlarında HA üretimi, kemikte bulunan HA'ya daha çok benzerlik gösterecektir, çünkü kemik minerallerini oluşturan HA'lar nano tanelere sahiptir (Evis, 2011). Son yıllarda, yüksek yüzey/hacim oranından kaynaklanan ilginç özelliklerinden dolayı nanomalzemelerin sentez ve karakterizasyonuna çok dikkat harcanmıştır. Nanokristal hidroksiapatitin osteoblast adhezyonu, proliferasyon, osseointegrasyon ve yüzeyi üzerinde yeni kemik oluşumu açısından daha yüksek biyolojik etkinliği olduğu kanıtlanmıştır (Rameshbabu ve ark., 2006).

Gözenekli hidroksiapatit kemiğe güçlü bir bağlanma sergiler ve gözenekler malzemenin sıkı fiksasyonuna yol açan mekanik kenetlenmeyi sağlar. Gözeneklilik, katıdaki boşluk yüzdesi olarak tanımlanır ve malzemedeki bağımsız morfolojik özelliktir. Gözenekler, kemik dokusu oluşumu için gereklidir çünkü bunlar osteoblastların ve mezenkimal hücrelerin çoğalmasına ve göçüne yanı sıra vaskülarizasyona izin verir. Buna ek olarak, gözenekli yüzey, implant biyomalzemesi ile çevreleyen doğal kemik arasındaki kritik arayüzde daha fazla mekanik kararlılık sağlayarak mekanik kenetlenmeyi geliştirir. Gözenekli hidroksiapatit yoğun olan hidroksiapatitten daha fazla emilebilir, daha fazla osteokondüktiftir ve yoğun hidroksiapatite göre gözenekli hidroksiapatitte yüzey alanı daha fazla hücrenin

taşınmasını fazlasıyla arttırır. Gözenekli hidroksiapatit, hücre yükleme, ilaç salan ajanlar ve en kapsamlı olarak sert doku iskeleleri için uygulanmıştır (Swain, 2009).

Hidroksiapatit, kırıkta artrit, ateromatöz plak, böbrek, mesane ve safra taşları oluşumu ve transplant kalp kapakçıklarının kalsifikasyonu ile sonuçlanan işlevsel düzensizlikler sonucunda patolojik olarak da oluşur. Bu bağlamda hidroksiapatit, biyomineralizasyon fenomenini çalışmak için model bileşik olarak kabul edilir. Bu nedenle detaylı fizikokimyasal *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, medikal uygulamalarda ve cerrahide (örneğin orta kulak implantları, rekonstrüktif kemik replasmanı, vb.) kullanımı için sentetik, saf ve iyi tanımlanmış hidroksiapatit kristallere güçlü ilgi vardır (Koutsopoulos, 2002).

6.4. Hidroksiapatit Uygulamaları

Kalsiyum ortofosfat bazlı inorganik biyomalzemeler tıpta geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir. Bunlar arasında sentetik hidroksiapatit, biyoyumluluğu, biyoaktivitesi ve osteokondüktivitesi nedeniyle en umut verici olanıdır. Hidroksiapatit, ortopedik ameliyatlarda, çene, yüz ameliyatlarında ve diş hekimliğinde kemiksel defektleri doldurmak için kullanılmıştır (Ciobanu ve ark., 2011).

Hidroksiapatit, toksik (zehir etkisi) olmamasından dolayı vücudu en alt düzeyde olumsuz etkileyen ve kemik grefti olarak kullanımlarda avantaj olarak sayılabilecek kimyasal ve fiziksel özelliklerin yanı sıra, biyoyumlu olduğu için klinikte en çok kullanılan seramikler arasında yer alır. HA, yavaş rezorbe (yılda %5-10) olan klasik Ca-P seramiğidir. Blok HA fibrovasküler (lifli ve damarsal) doku tarafından invaze olduktan sonra matür lameller kemiğe dönüşür (Pasinli ve Aksoy, 2010).

Hidroksiapatit seramikler, ortopedik ve diş hekimliği alanlarında kemik ve diş için ikame malzemesi olarak tanınmıştır. Hasarlı insan kalsifiye dokusunu restore etmek için kullanılabilen biyoaktif ve biyoyumlu malzemedir (Swain, 2009).

Hidroksiapatitin sentetik formu, lokal veya sistemik toksisitesinin olmaması ile birlikte osteokondüktif özelliklerinden dolayı iskelet rekonstrüksiyonu için en yaygın olarak kullanılan biyomalzemelerden biridir. İmplantların başarı oranları kemik-implant osseointegrasyonuna bağlı olmasına rağmen, implantların uzun dönem kullanılabilmesi ve başarısı, implant yerleştirildikten sonraki bakteriyel enfeksiyonun önlenmesine de bağlıdır (Díaz ve ark., 2009).

İyi biyouyum ve insan sert dokusuna güçlü bağ oluşturma yeteneğinden dolayı hidroksiapatit implant malzemesi olarak kullanılmıştır. Ancak, zayıf sinterleme özellikleri ve düşük kırılma mukavemeti kemik veya eklemlerin normal işlem yüklerine dayanamaz (Feng ve ark., 1998). Bu nedenle, yük taşıyıcı implantlar olarak kullanılamaz (Qu ve ark., 2011). Hayvan testi çalışmaları, implante edilmiş HA etrafında inflamasyon olmadığını, hidroksiapatitin kemik dokuları ile çevrelediğini ve kemik dokuları ile kemiksel kombinasyon oluşturduğunu göstermiştir. Bunlar, hidroksiapatitin kemik iskeletinin bir parçası haline gelebildiğini, kemik dolgu ve desteği rolünü oynadığını gösterir (Xiao ve ark., 2009).

HA, biyoaktif bileşiklerin oluşturulması için yüksek yoğunluklu polietilen, poli-L-laktit, polimetilmetakrilat ve poliester eter gibi polimerler ile güçlendirme ajanı olarak değerlendirilmiştir (Xiao ve ark., 2009).

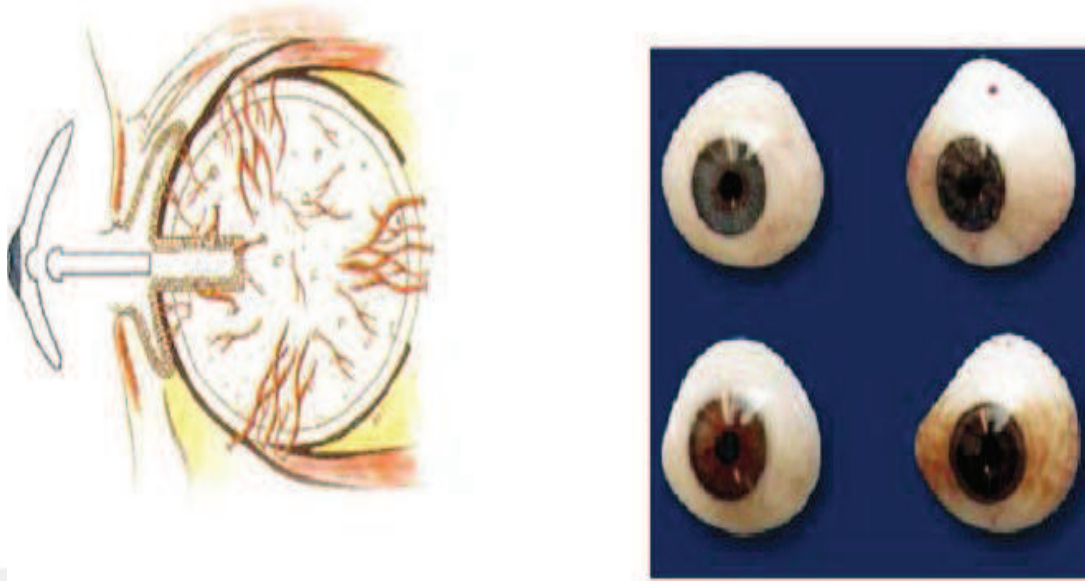
Hidroksiapatit yüksek osteokondüktivitesi ve biyoaktivitesi nedeniyle sert doku uygulamalarında yoğun ilgi görmüştür. Çoğu *in vivo* çalışmalar, hidroksiapatitin doğrudan konak dokular ile bağlandığını ve tam osseointegrasyona yol açtığını kanıtlamıştır. Doku iskelesi olarak kullanılmak üzere, vaskülarizasyon ve doku rejenerasyonu amacıyla gerekli olan boşluk ve alan sağlanarak doğal kemiğin 3 boyutlu inorganik bileşenini taklit eden hidroksiapatit tasarlanmıştır (Bae ve ark., 2006).

Hidroksiapatit, fizyolojik sıvının pH, sıcaklık ve kompozisyonuna en yakın, termodinamik olarak en kararlı kalsiyum fosfat seramik bileşiktir. Son zamanlarda, hidroksiapatit kontrollü ilaç salım matrislerini içeren çeşitli biyomedikal

uygulamalar için kullanılmıştır. İlaçların yavaş, lokal ve sürekli salınması için bir sistem olarak tanınan ilaç salım sistemleri birçok hastalığın tedavisi için tartışmasız bir avantaj olacaktır. Bu tür kontrollü ilaç dağıtım sistemleri için potansiyel adaylardan biri gözenekli seramiklerdir ve bu yüzden poröz hidroksiapatite çok ilgi gösterilmiştir. Kemik ilaç dağıtım sistemleri, biyobozunur polimerik matriks içinde antibiyotikler ile bağlanmış poröz kalsiyum fosfat seramikler kullanılarak geliştirilmiştir (Swain, 2009).

Ortopedi alanında hidroksiapatit gözenekli granüller, ilaç dağıtım taşıyıcısı olarak kullanılabilir. Örneğin, büyüme faktörleri, antikanser ilaçlar veya antibiyotik ajanlar. Bu ilaç dağıtım taşıyıcıları progresif salınım ile implantasyon yerinde bu biyoaktif maddelerin lokal konsantrasyonunun artmasına izin verir. İlaç konsantrasyonu minimum etkili seviyenin altına düşmeden ve toksik seviyeye ulaşmadan uzun süre istenen bir seviyede sürdürülür. Bu biyolojik ajanların etkinliği vaskülarizasyonun düşük olduğu kemik sahalarında fazlasıyla artar. Bu ürünler arasında, gentamisin antibiyotiği profilaktik etkisi için sıklıkla kullanılır. Bu antibiyotik, enfeksiyonlardan ve post-operatif osteomyelitten sorumlu bakteri kolonizasyonunu önler (Descamps ve ark., 2009).

HA'nın kullanım alanlarından biri de oküler implant uygulamasıdır. Biyoyumlu olması ve toksik olmaması gibi özellikleri ile HA oküler implant uygulaması için ideal bir biyomalzemedir (Şekil 6.3.). Bu implantlarda kullanılan HA, 500 µm çapında, birbiriyle bağlantılı gözeneklere sahiptir. Bu gözenekler sayesinde dokuların implanta doğru büyümesi ve implantın göz boşluğuna tutunması sağlanır (Pasinli ve Aksoy, 2010).



Şekil 6.3. Hidroksiapatit oküler implant uygulaması, çeşitli türde yapay gözler (Pasinli ve Aksoy, 2010)

Metal implantlar üzerine kaplama, HA'nın önemli uygulama alanları arasında yer alır. PMMA'nın kullanımında oluşan komplikasyonu engellemek için bir fiksasyon (sabitlenme) aracı olarak femur protezlerinde ve kapsüllerinde geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda HA'nın implant üzerinde kemik iç büyümesini arttığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmalarda, kaplamadan iyi bir sonuç elde etmek için anahtar faktörler, kaplama kalınlığı, malzemenin kimyasal kompozisyonu ve metalin yüzey pürüzlülüğüdür. Metal yüzeyine HA kaplama uygulaması ile metalik malzemelerin mekanik özellikleri ve HA'nın yüksek biyouygunluğu ve biyoaktifliği birleştirilmektedir. Metalik biyomalzemeler HA ile kaplandığında, ince bir HA tabakası biyoaktivite sağlar. Ancak HA ile metal arasındaki yapışma dayanımının düşüklüğü, HA tabakasının metal yüzeyinden kaybına neden olabilmektedir. Ayrıca, kaplama sırasında meydana gelecek yüksek sıcaklık, gerek kaplama gerekse de kaplanacak malzemede yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Metalik biyomalzemelerin HA ile kaplanması, doğal dokuların yeniden yapılanmasını sağlar ve protezlerin kullanım süresinin uzamasına katkıda bulunur. Yapılan çalışmalarda kimyasal ve ısı işlem sonrası yüzeyi apatit kaplanmış titanyum implantların kemiğe bağlanmalarının iyi olduğu rapor edilmiştir. HA ile kaplanmış bağlantı vidalarında (pedicle screws) gevşeme riskinin azaldığı ve vidaların daha iyi bağlandığı görülmüştür. Uygulamaların çoğunda vidanın bir kısmını HA kaplama yeterli iken, kemik erimesi

olan hastalarda ve tümör ameliyatı gibi belirli durumlarda tam kaplama daha iyi tutunma sağlayabilir. 1987 yılında yapay göz ve orta kulak implant uygulamalarında kullanılması ve başarı sağlanması ile HA, FDA (Food and Drug Administration) tarafından verilen onay ile, ticari olarak piyasaya çıkmış ve çok satılmıştır. HA, plastik cerrahide yanak, alt ve üst çene, burun, alın gibi kısımların rekonstrüksiyonunda kullanılmaktadır (Pasinli ve Aksoy, 2010).

Sadece biyomedikal implant malzemesi olarak değil, aynı zamanda Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) izolasyonu ve protein saflaştırmada biyolojik kromatografi desteği olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hidroksiapatit ayrıca geniş çeşitlilikteki biyolojik moleküllerin fraksiyonasyonu ve saflaştırmasında kullanılmaktadır. Kristal hidroksiapatit kolonu yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (high-performance liquid chromatography) yaygın olarak kullanılmaktadır. Kromatografik kolon genellikle zayıf mekanik mukavemete sahip düzensiz şekilli hidroksiapatit jel ile doldurulur. Son zamanlarda mekanik özellikleri, fiziksel ve kimyasal stabilitesi iyileştirilmiş küresel hidroksiapatit seramik boncuklar geliştirilmiştir (Luo ve Nieh, 1996).

Bileşenlerin kendi özelliklerini koruyarak tek başına sahip olamadığı özelliklere sahip oldukları kompozit malzemeler, homojen malzemelere göre daha avantajlı malzemelerdir. Mikroorganizmaların mevcut antimikrobiyal ajanlara direnç kazanması nedeniyle bakteriler, küfler, mayalar ve virüsler gibi mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların önlenmesi bilimsel araştırmalarda öncelikli konular arasında yerini almıştır. Bu nedenle yeni tipte, güvenilir ve uygun maliyetli antimikrobiyal malzemelerin geliştirilmesi ve üretimi son yıllarda önem kazanmıştır. Kompozit malzemelerin geliştirilmesi, üretimi ve bu malzemelere antimikrobiyal özellik kazandırılması mikroorganizmaların neden oldukları enfeksiyonların önlenmesinde önem kazanmıştır. Bu çalışmada antibakteriyel özelliğe sahip polikaprolakton-hidroksiapatit kompozit film geliştirilmesi ve üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla hidroksiapatit toz sentezi, sentezlenen hidroksiapatit tozların ve ticari hidroksiapatit tozların nanogümüşi ile kaplanması, elde edilen antibakteriyel hidroksiapatit tozların polikaprolaktona katılarak antibakteriyel kompozit film

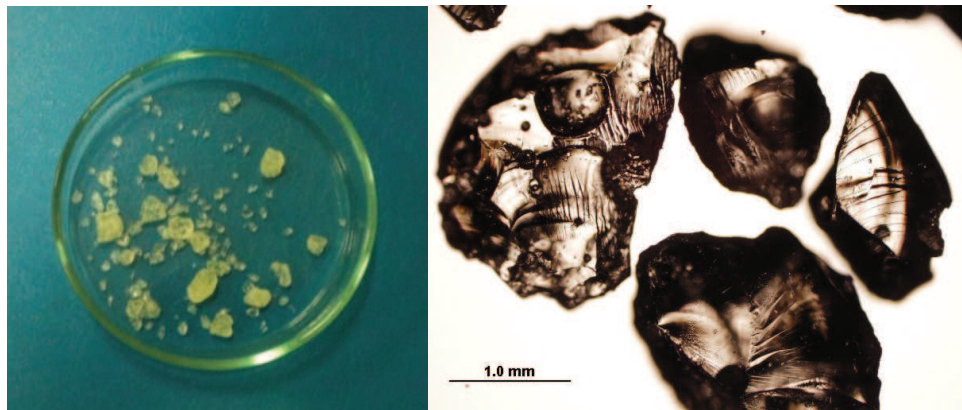
üretimi ve üretilen antibakteriyel hidroksiapatit tozların ve antibakteriyel kompozit filmlerin karakterizasyonu ve antibakteriyel aktivite tayinlerinin yapılması hedeflenmiştir.



BÖLÜM 7. MATERYAL VE METOD

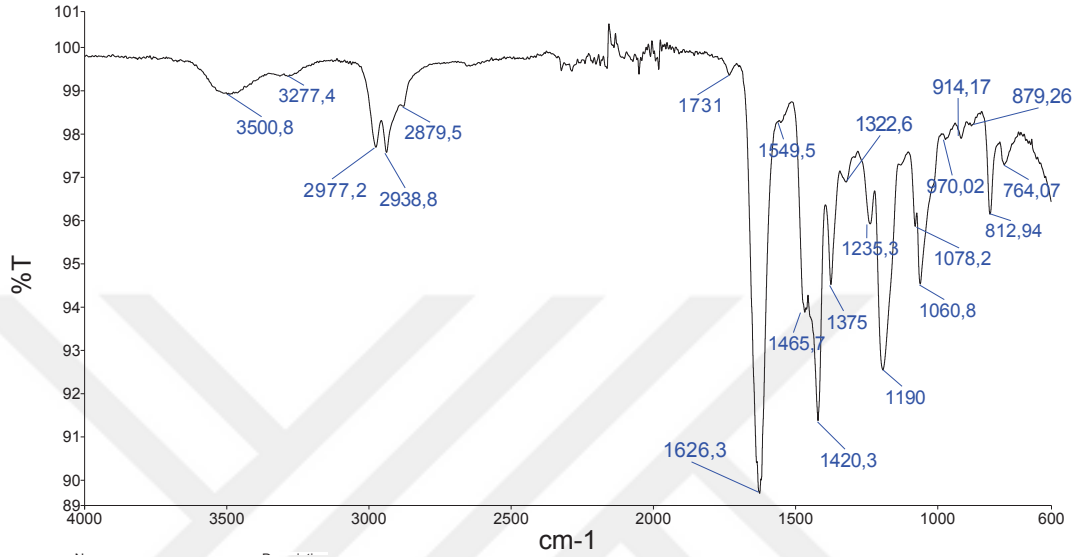
7.1. Materyal

Gümüş nitrat (AgNO_3 , %99,8) Carlo Erba'dan satın alınmıştır. Çalışmada test mikroorganizmaları olarak kullanılan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir. Besiyerleri olarak kullanılan Triptik Soy Broth dehidre besiyeri (Merck), Nutrient Agar dehidre besiyeri (Merck) ve kullanıma hazır halde Koyun Kanlı Agar besiyeri Mikrokimyadan ticari olarak temin edilmiştir. Hidroksiapatit toz üretiminde kullanılan kalsiyum kaynağı ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Merck KGaA), fosfat kaynağı (H_3PO_4 , %85 saflıkta, Merck KGaA) ve pH düzenleyici (NH_4OH , %25 saflıkta, Merck KGaA) Mikrokimyadan satın alınmıştır. Polikaprolakton (typical M_n :42,500; typical M_w : 65,000; melt index 1,90 g/10min.(80 °C/0,3 Mpa); mp 60 °C; d 1,145) ve poli(2-etil-2-oksazolin) (typical M_w :50.000, Tg 69,0-71,0 °C, d 1,14) Aldrich'ten; hidroksiapatit toz Sulzer metco'dan ticari olarak temin edilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan poli(2-etil-2-oksazolin) (POX)'e ait genel görünüm ve ışık mikroskobu görüntüsü (Şekil 7.1.).



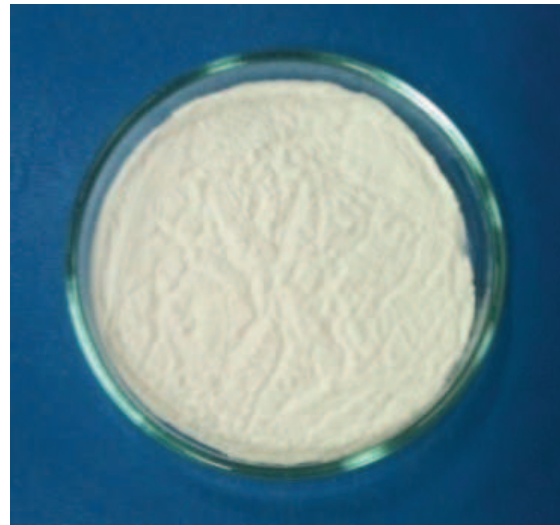
Şekil 7.1. POX'e ait genel görünüm ve ışık mikroskobu görüntüsü (x4)

POX'in karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 7.2.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki 2977,2-2879,5 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik alifatik C-H; 1626,3 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik C=O; 1465,7-1375 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik C-C aittir.

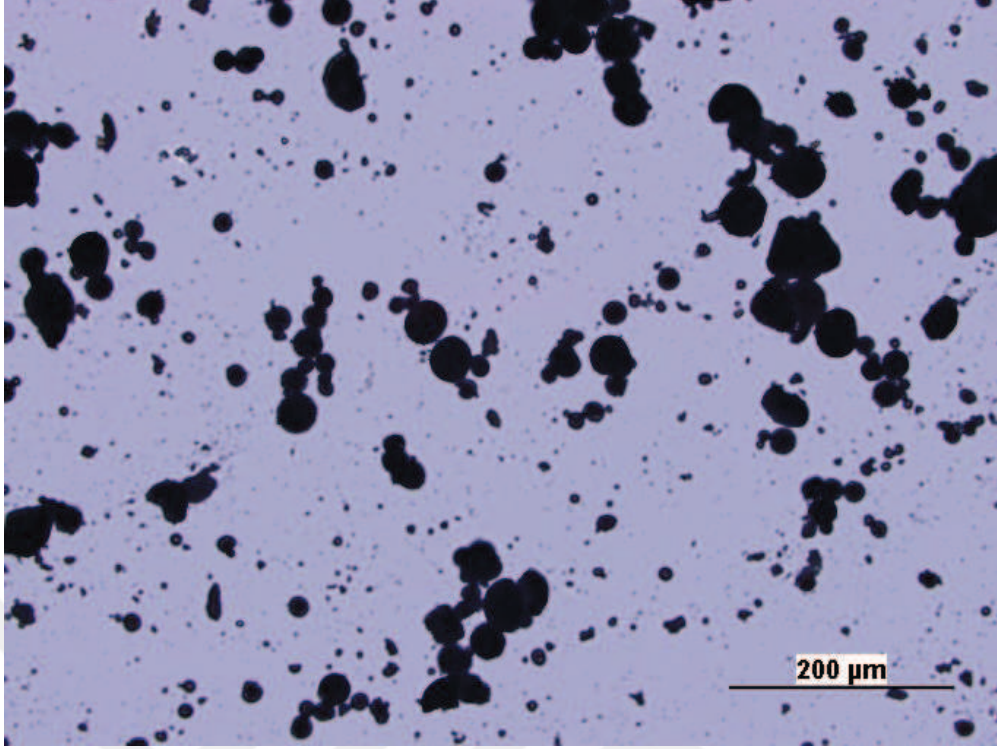


Şekil 7.2. POX (poly(2-ethyl)-2-oxazoline)) FTIR spektrumu

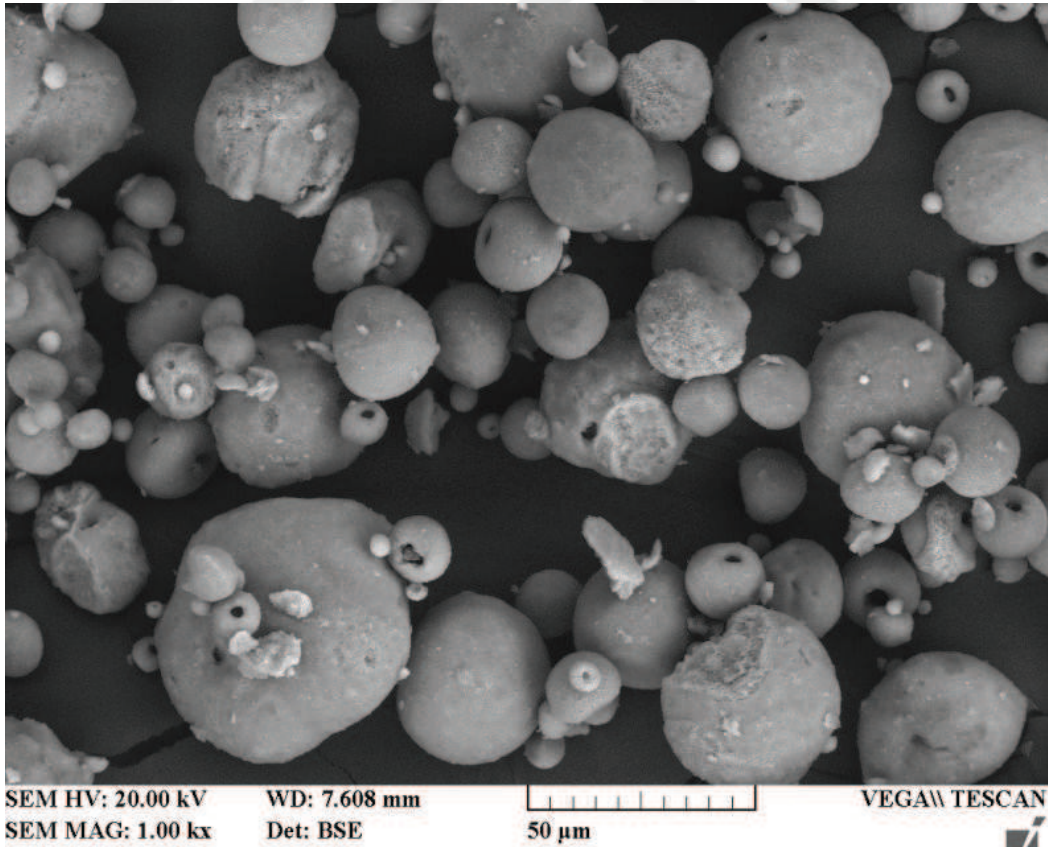
Ticari hidroksiapatit toz partiküllerinin 1-50 μm boyutlarında ve küresel olduğu ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir. Ticari hidroksiapatit (HAP-T) toza ait genel görünüm Şekil 7.3.'te, ışık mikroskobu görüntüsü Şekil 7.4.'te ve SEM görüntüsü Şekil 7.5.'te verilmiştir.



Şekil 7.3. Ticari hidroksiapatite (HAP-T) ait genel görünüm

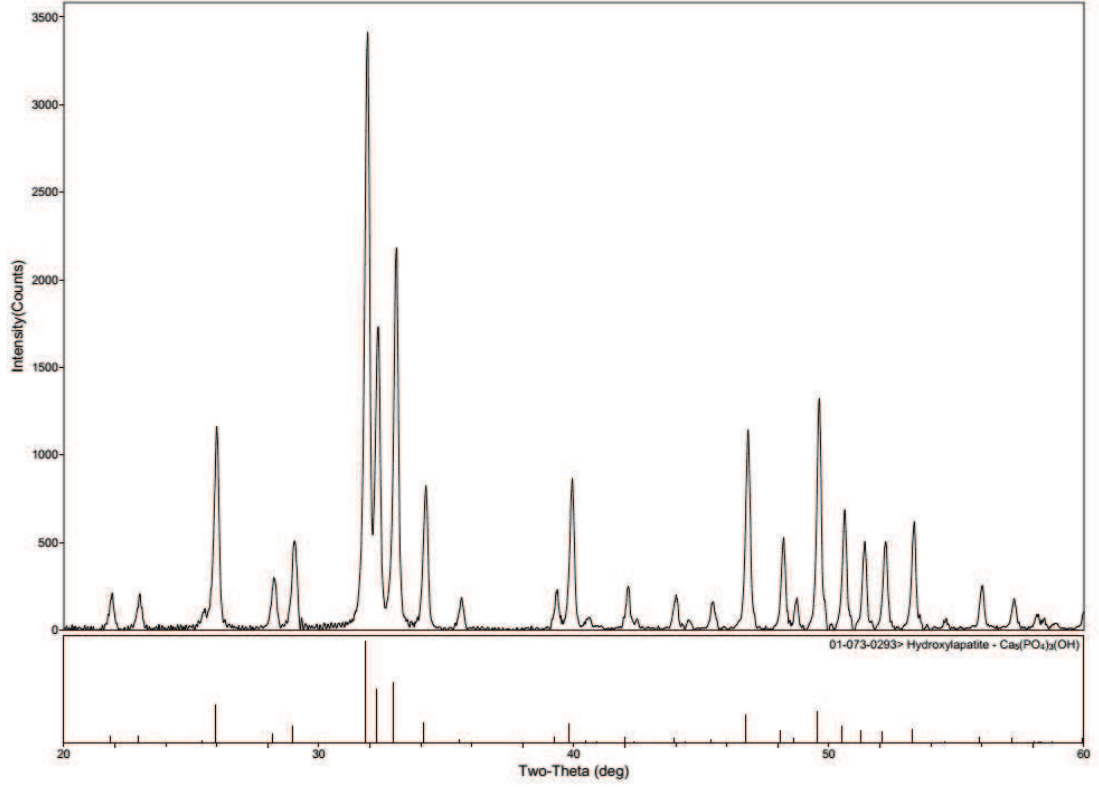


Şekil 7.4. Ticari hidroksiapatite (HAP-T) ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)



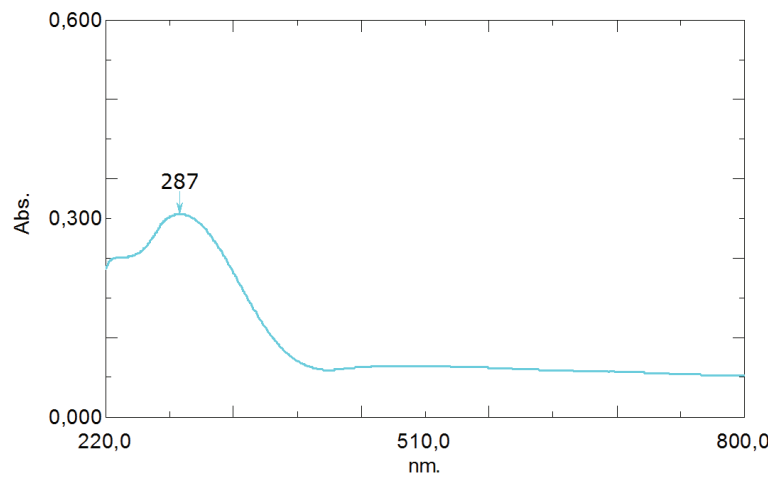
Şekil 7.5. Ticari hidroksiapatite (HAP-T) ait SEM görüntüsü

Ticari hidroksiapatit tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu belirlenmiştir (Şekil 7.6.).



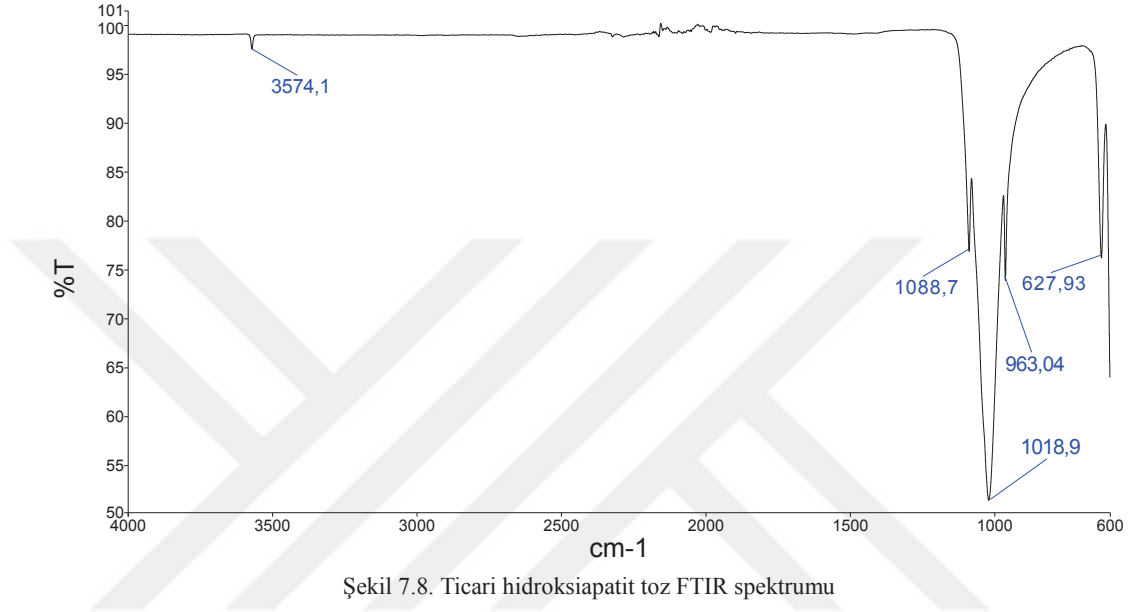
Şekil 7.6. Ticari hidroksiapatit toza ait XRD analizi

Ticari hidroksiapatit tozun UV-visible spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda 287 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 7.7.).



Şekil 7.7. Ticari hidroksiapatit toza ait UV-vis. spektrumu

Ticari hidroksiapatit toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 7.8.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3574,1 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1018,9 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir.



7.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan Nutrient Agar besiyerini hazırlamak için 23 g Nutrient Agar (toz) üzerine distile su ilave edilerek 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Balon jodedeki besiyeri çözeltisi iyice karıştırıldıktan sonra jopenin ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak $121 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, 1 atm. basınç altında 15 dakika boyunca steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyeri $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulmuştur. Aseptik şartlarda steril petri kaplarına 4 mm (~20 mL) kalınlığında dökülerek katılaşması beklenmiştir. Katılaşan besiyerleri kullanılıncaya kadar $+4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında bekletilmiştir.

Triptik Soy Broth besiyerini hazırlamak için 30 g Triptik Soy Broth (toz) üzerine distile su ilave edilerek 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Balon jodedeki besiyeri çözeltisi iyice karıştırıldıktan sonra vida kapaklı kısa deney tüplerinin her birine 5 mL besiyeri aktarıldıktan sonra $121 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, 1 atm. basınç altında 15 dakika boyunca steril

edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyerlerinin kapakları sıkıca kapatılmıştır ve kullanılmıncaya kadar +4 °C’de buzdolabında bekletilmiştir.

7.3. Bakteri Kültürünün Hazırlanması

Çalışmada test mikroorganizmaları olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşları kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları 24 saat süre ile 37±1 °C’de Triptik Soy Broth besiyerinde üretildikten sonra Koyun Kanlı Agara ekilerek 24 saat süre ile 37±1 °C’de inkübe edilmiştir. 24 saatlik taze bakteri kültüründen 1×10⁶ KOB/mL bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır.

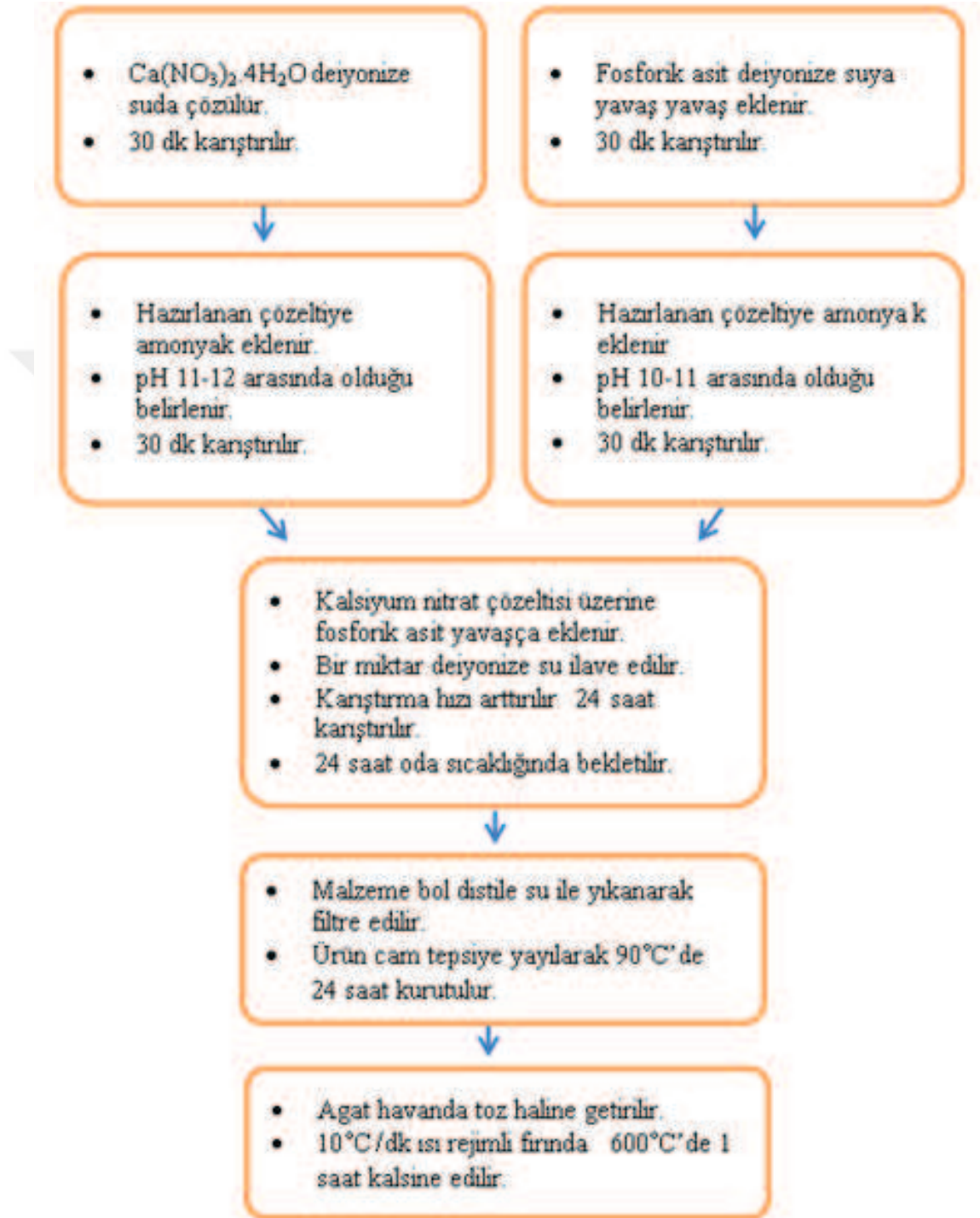
7.4. Hidroksiapatit Toz Üretimi

Literatürde hidroksiapatit biyoseramik malzemelerin hazırlanmasında sol-jel, hidrotermal proses, mikrodalga, presipitasyon, emülsiyon sistemi ve sonokimyasal sentez gibi farklı yaklaşımların kullanıldığı belirtilmektedir (Swain, 2009). Ayrıca atık yumurta kabuğundan poröz hidroksiapatit üretmek için yeni bir prosedür de bildirilmiştir (Dasgupta ve ark., 2004).

HA tozların sentezlenmesi için kullanılan yaş sentez, katı-hal reaksiyonu ve hidrotermal yöntemlerin ilk amacı istenen karakteristiklerde HA üretmektir. Nano boyutta hidroksiapatitin iri partiküllerden daha fazla biyoaktiviteyi teşvik ettiği birtakım araştırmalarda ileri sürülmüştür. HA tozların bu özelliklerinin tümü gerçekleştirilen prosese bağlıdır. Çökelmiş tozların yüksek homojen saflığı nedeniyle presipitasyon yöntemi özellikle ve en yaygın kullanılır. İşlemler basittir ve herhangi bir özel ekipman gerektirmez (Monmaturapoj ve Yatongchai, 2010).

Bu çalışmada hidroksiapatit tozlarının üretiminde kimyasal çöktürme yöntemi kullanılmıştır (Baştan, 2012). Bu amaçla bir Ca kaynağı (Ca(NO₃)₂.4H₂O) ve bir P kaynağı (H₃PO₄ (%85 saflıkta)) seçilmiştir. Hidroksiapatit bileşiminin Ca/P mol oranı 1,67 olacak şekilde gerekli hesaplamalar yapılarak reaksiyona girecek

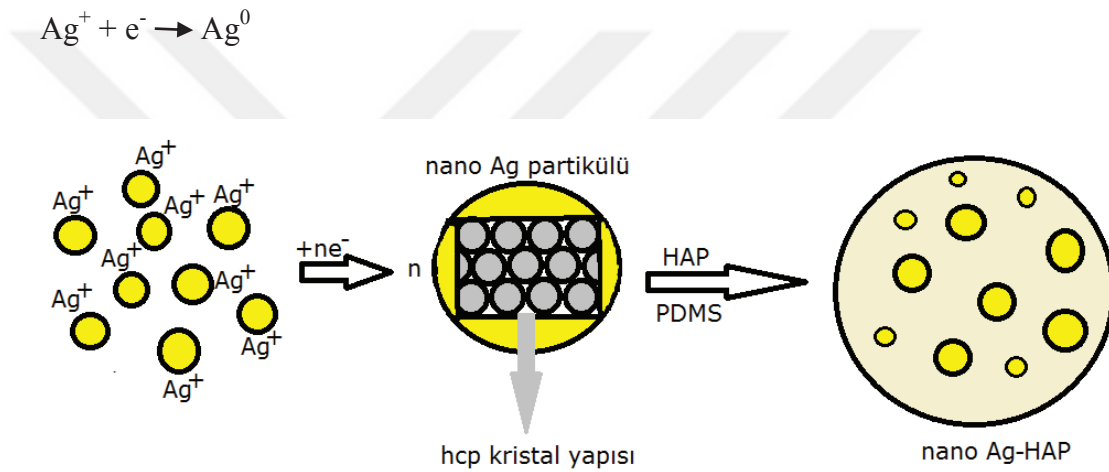
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve H_3PO_4 miktarı belirlenmiştir. Kimyasal çöktürme yöntemi ile hidroksiapatit üretim akış diyagramı Şekil 7.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 7.9. Kimyasal çöktürme yöntemi ile hidroksiapatit üretim akış diyagramı

7.5. Nanogümüş Kaplı Hidroksiapatit Toz Hazırlanması

Saf suda çözülerek hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine aseton ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu karışım üzerine hidroksiapatit ve polidimetilsiloksan (PDMS) eklenmiştir. Kaplama işlemi sonunda dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller aseton ile yıkandıktan sonra kurutulmuştur (Olgun ve Üstel, 2015). Hidroksiapatit tozlarını nanogümüş ile kaplama mekanizması Şekil 7.10.'da şematize edilmiştir.



Şekil 7.10. Hidroksiapatit tozlarını nanogümüş ile kaplama mekanizması

7.6. Nanogümüş Kaplı Hidroksiapatit Tozların Karakterizasyonu

Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozların karakterizasyonu optik mikroskop, taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM), yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM), Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX), İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometri (ICP-OES), Fourier Transform Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FTIR), UV-vis. ve X-ışını difraksiyonu (XRD) enstrümental analiz teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optik mikroskop incelemesinde Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarındaki inverted optik mikroskop (Olympus IX81); taramalı elektron mikroskobu ve EDX incelemesinde Sakarya

Üniversitesi Termal Sprey Araştırma Laboratuvarındaki taramalı elektron mikroskobu (Vega Tescan) ve Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme Mühendisliği Bölümündeki taramalı elektron mikroskobu (JEOL JSM-6060LV); TEM analizinde Sabancı Üniversitesi Malzeme Analiz ve Karakterizasyon Laboratuvarındaki geçirimli elektron mikroskobu (JEOL 2000FX); HR-TEM analizinde Marmara Araştırma Merkezi Malzeme Enstitüsündeki yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (JEOL 2100); FTIR analizinde Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Laboratuvarındaki FTIR spektrofotometre cihazı (PerkinElmer UATR Two); ICP-OES (indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometri) analizinde Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümündeki ICP-OES cihazı (Spectro Arcos); XRD analizinde Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme Mühendisliği bölümündeki XRD cihazı (Rigaku); UV-vis. analizinde Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Laboratuvarındaki UV-vis. spektrofotometre cihazı (Shimadzu UV-2600 UV-vis.-spectrophotometer) kullanılmıştır.

7.7. ICP-OES Analizi için Numune Hazırlanması

Analiz edilecek her bir numuneden 50'şer mg hassas terazi ile tartılmıştır. Tartılan miktarların üzerine 10'ar mL %6,5 HNO₃ ilave edilmiştir ve 30 dakika bekletilmiştir. Ardından mavi bantlı filtre kağıdı ile süzme işlemi yapılmıştır ve 50 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır.

7.8. Nanogümüş Kaplı Hidroksiapatit Tozların Antibakteriyel Aktivitelerinin Ölçümü

Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozların yapışkan yüzeyli asetata (2 cm×5 cm) kaplanarak hazırlanmasıyla elde edilen numunelerin yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla kaplamaların her bir yüzü 30 dakika boyunca UV (Philips Ultra Violet TUV 30w) ışıkla steril edilmiştir.

Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozların antibakteriyel aktivite ölçümü için plate counting metodu kullanılmıştır (Zhang ve ark., 2006). 1×10^6 KOB/mL bakteri süspansiyonundan numune yüzeylerine 100 μ L inoküle edilmiştir. Numunenin üzeri asetat film (1,5 cm \times 4 cm) ile kaplanmıştır. Numuneler %90'nın üstünde nem içeren inkübasyon cihazında 37 ± 1 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından numuneler 20 mL %0,87 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama çözeltisinden 100 μ L alınarak Nutrient Agar besiyerine ekim yapılmıştır. 24 saat süre ile 37 ± 1 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılmıştır ve antimikrobiyal etki formülü kullanılarak % antibakteriyel aktivite hesaplanmıştır.

$$R = [(B-C)/B] \times 100$$

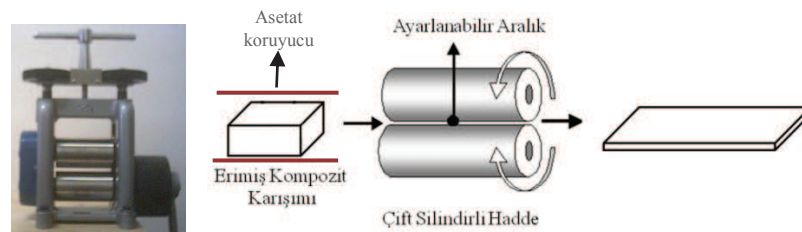
R: Antimikrobiyal etki (%)

B: Kontrol örnekteki bakteri sayısı (KOB/örnek)

C: Modifiye örnekteki bakteri sayısı (KOB/örnek)

7.9. Kompozit Filmlerin Hazırlanması

Kompozit filmler yaklaşık 100 °C'de eritilen polimer içerisine gerekli katkı maddelerinin karıştırılması ile hazırlanmıştır. Daha sonra erimiş haldeki kompozit karışımı roll mill kullanılarak ince filmler haline getirilmiştir (Olgun ve ark., 2011). Daha önce nano Ag-SiO₂-PCL kompozit filmlerin üretilmesi ve antibakteriyel aktiviteleri tarafımızca çalışılmıştır. Dolgu malzemesi olan SiO₂ bileşeninin %20-40 aralığında olmasının antibakteriyel etki açısından önemli olduğu tespit edilmiştir (Hoş, 2010). Dolayısıyla bu çalışmada kullanılan hidroksiapatit oranı çalışılan kompozit filmlerde %30 olarak belirlenmiştir. Kompozit filmlerin hazırlanmasında kullanılan roll milling metodu Şekil 7.11.'de şematize edilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan test numuneleri belirli boyutlarda (2 cm \times 5 cm) kesilerek hazırlanmıştır.



Şekil 7.11. Çift silindirli hadde (solda) ve roll milling metodu (sağda)

7.10. Kompozit Filmlerin Karakterizasyonu

Kompozit filmlerin karakterizasyonu optik mikroskop, taramalı elektron mikroskobu (SEM), Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX), haritalama, Fourier Transform Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FTIR) ve UV-vis. enstrümental analiz teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optik mikroskop incelemesinde Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarındaki inverted optik mikroskop (Olympus IX81); taramalı elektron mikroskobu ve EDX incelemesinde Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme Mühendisliği Bölümündeki taramalı elektron mikroskobu (JEOL JSM-6060LV); FTIR analizinde Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Laboratuvarındaki FTIR spektrofotometre cihazı (PerkinElmer UATR Two); UV-vis. analizinde Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Laboratuvarındaki UV-vis. spektrofotometre cihazı (Shimadzu UV-2600 UV-vis.-spectrophotometer) kullanılmıştır.

7.11. Kompozit Filmlerin Antibakteriyel Aktivitesinin Ölçümü

Kompozit film numunelerin yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla filmlerin her bir yüzü 30 dakika boyunca UV (Philips Ultra Violet TUV 30w) ışıkla steril edilmiştir.

Hazırlanan kompozit filmlerin antibakteriyel aktivite ölçümünde plate counting metodu uygulanmıştır (Zhang ve ark., 2006). 1×10^6 KOB/mL bakteri süspansiyonundan numune yüzeylerine 100 μ L inoküle edilmiştir. Numunenin üzeri asetat film (1,5 cm \times 4 cm) ile kaplanmıştır ve %90'nın üstünde nem içeren inkübasyon cihazında 37 ± 1 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Inkübasyonun ardından kompozit filmler 20 mL %0,87 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama çözeltisinden 100 μ L alınarak Nutrient Agar besiyerine ekim yapılmıştır. 24 saat süre ile 37 ± 1 °C'de inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda oluşan kolonilerin sayımı gerçekleştirilmiştir ve antimikrobiyal etki formülü kullanılarak % antibakteriyel aktivite hesaplanmıştır.

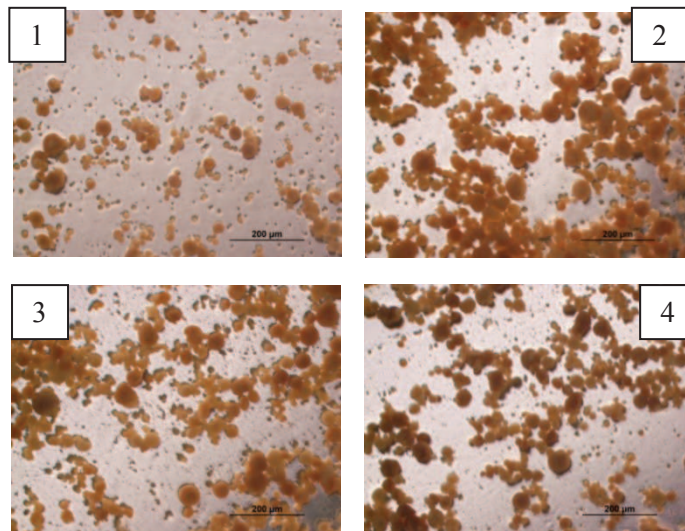
BÖLÜM 8. DENEYSEL ÇALIŞMA VE BULGULAR

8.1. Ticari Hidroksiapatitin Nanogümüş ile Kaplanması ve Karakterizasyonu

Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozların hazırlanmasında kullanılan AgNO_3 , PDMS ve hidroksiapatit (HAP-T, 1-50 μm) miktarları Tablo 8.1.'de verilmiştir. Nano Ag kaplanmış ticari hidroksiapatit toz partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüleri Şekil 8.1.'de sunulmuştur.

Tablo 8.1. Nanogümüş ile kaplı ticari hidroksiapatit tozların hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve miktarları

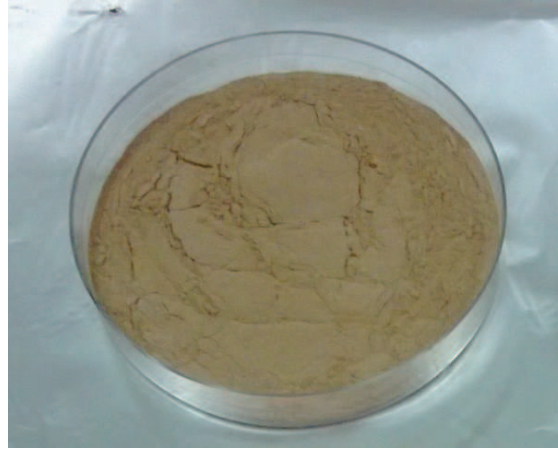
NUMUNE	AgNO_3 miktarı (g)	PDMS miktarı (mL)	HAP-T miktarı (g)
AgHAP-1	0,15	0,5	10
AgHAP-2	0,3	0,5	10
AgHAP-3	0,15	0,5	5
AgHAP-4	0,15	2	5



Şekil 8.1. Nano Ag kaplı ticari hidroksiapatit numunelerine ait ışık mikroskobu görüntüleri ($\times 20$), 1) AgHAP-1, 2) AgHAP-2, 3) AgHAP-3, 4) AgHAP-4

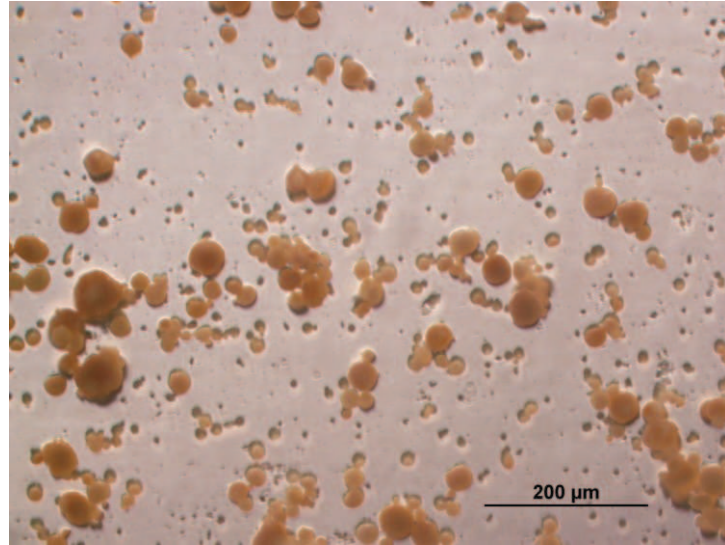
8.1.1. AgHAP-1 hazırlanması ve karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 0,15 g AgNO_3 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 10 g ticari hidroksiapatit (HAP-T) toz eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler $23\text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Çözelti rengi sarı kahverengi olarak gözlenmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri $105\text{ }^\circ\text{C}$ 'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin belirgin bir şekilde değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen AgHAP-1 numunesi (%0,11 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.2.).



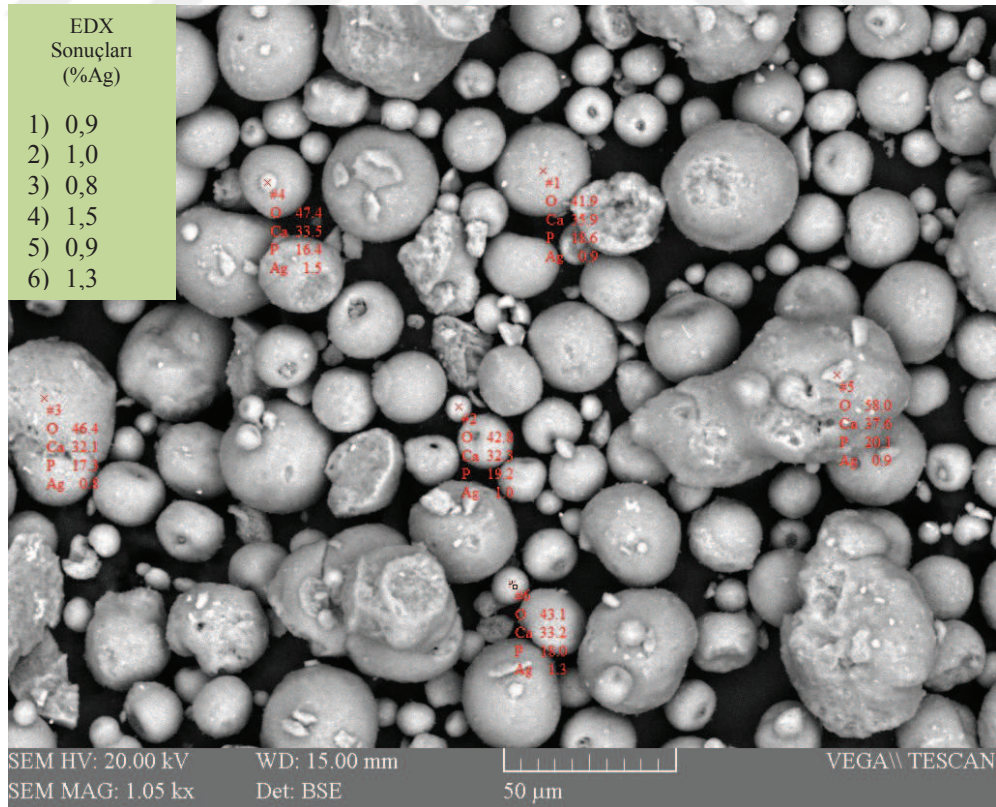
Şekil 8.2. AgHAP-1 genel görünüm

Hazırlanan AgHAP-1 numunesinde partiküllerin 1-50 μm boyutlarında olduğu ve nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.3.).



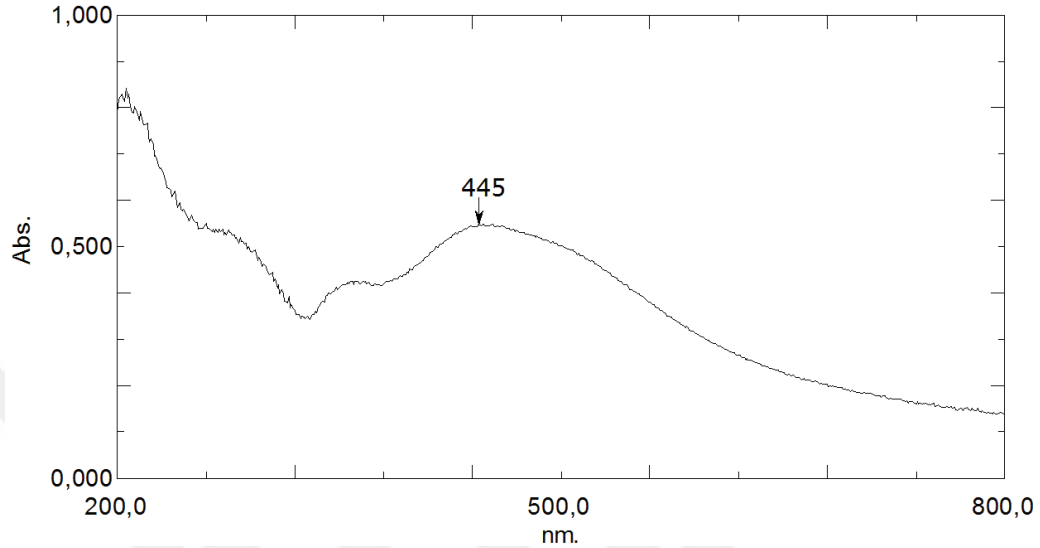
Şekil 8.3. AgHAP-1 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

Hazırlanan AgHAP-1 numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 1-50 μm büyüklüğünde ve küresel morfoloji gösterdikleri gözlenmiştir. AgHAP-1 numunesine 6 farklı noktadan yapılan noktasal EDX analizinde ortalama %1,06 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.4.).



Şekil 8.4. AgHAP-1 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları

AgHAP-1 toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 445 nm’de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.5.).



Şekil 8.5. AgHAP-1 numunesine ait UV-vis. spektrumu

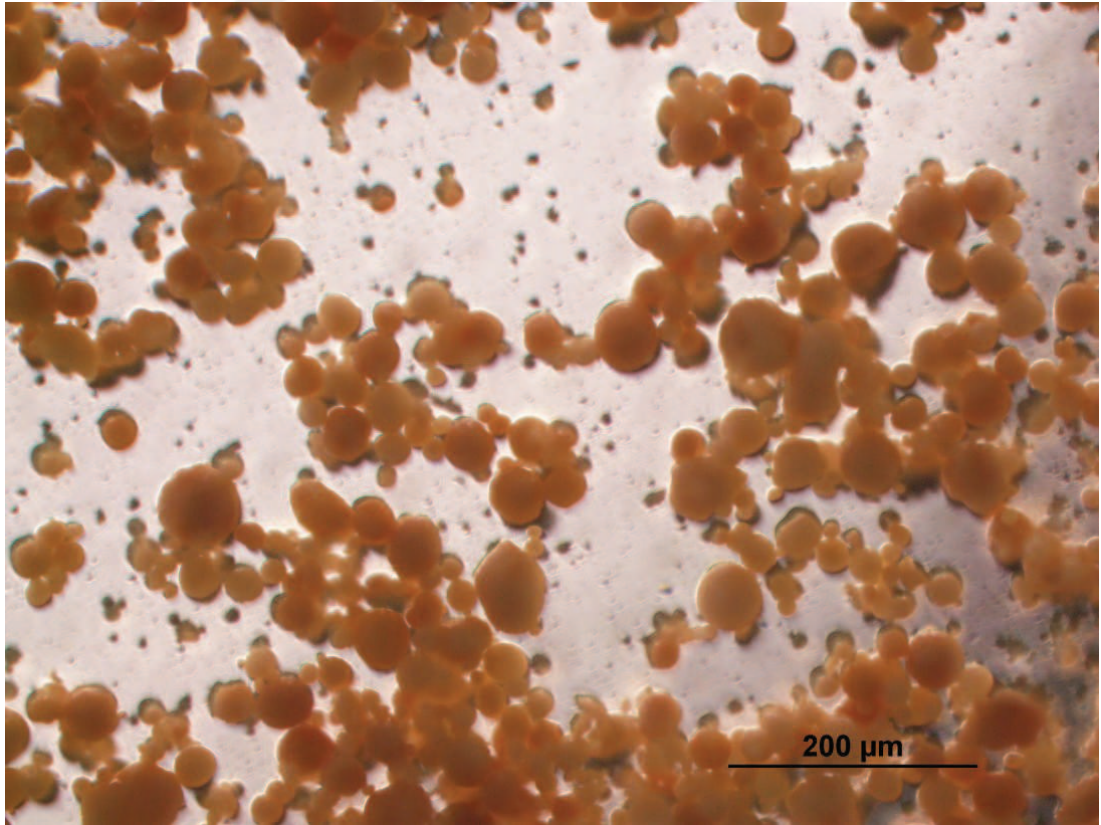
8.1.2. AgHAP-2 hazırlanması ve karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 0,3 g AgNO_3 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 10 g ticari hidroksiapatit toz (HAP-T) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler 23 °C’de gerçekleştirilmiştir. Çözelti rengi sarı kahverengi olarak gözlenmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C’de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin belirgin bir şekilde değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen AgHAP-2 numunesi (%0,25 Ag) ağzı kapalı bir kapta ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.6.).



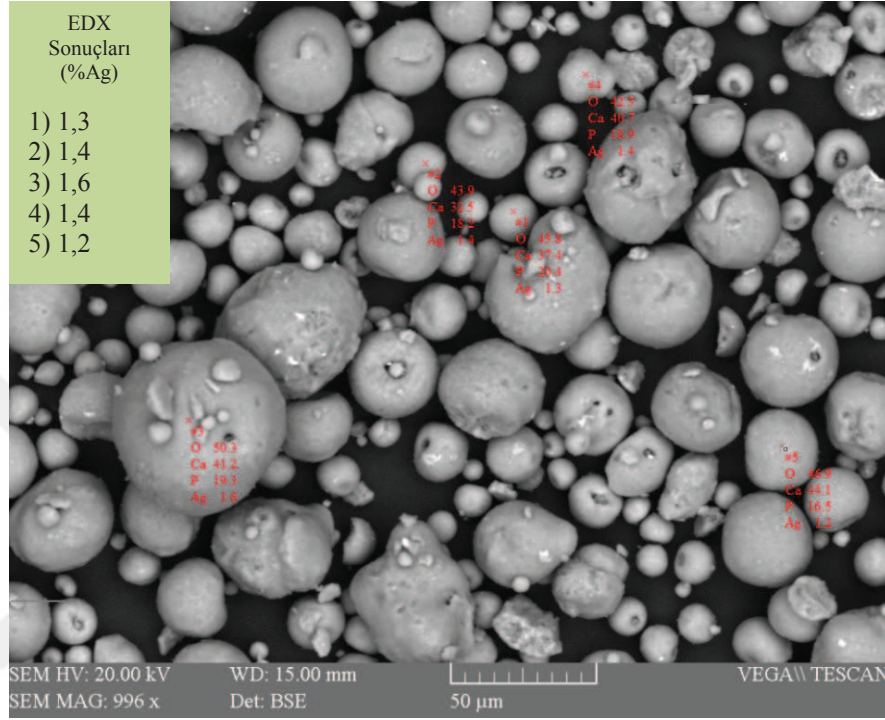
Şekil 8.6. AgHAP-2 genel görünüm

Hazırlanan AgHAP-2 numunesinde partiküllerin 1-50 μm boyutlarında olduğu ve nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.7.).



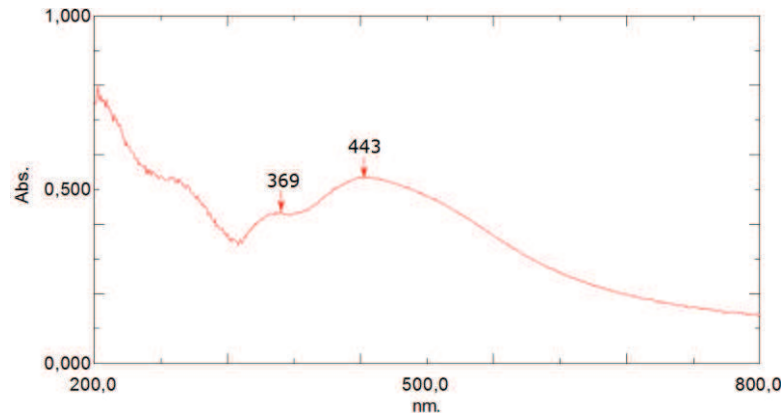
Şekil 8.7. AgHAP-2 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

Hazırlanan AgHAP-2 numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 1-50 μm büyüklüğünde ve küresel morfoloji gösterdikleri gözlenmiştir. AgHAP-2 numunesine 5 farklı noktadan yapılan noktasal EDX analizinde ortalama %1,38 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.8.).



Şekil 8.8. AgHAP-2 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları

AgHAP-2 toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 443 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.9.).



Şekil 8.9. AgHAP-2 numunesine ait UV-vis. spektrumu

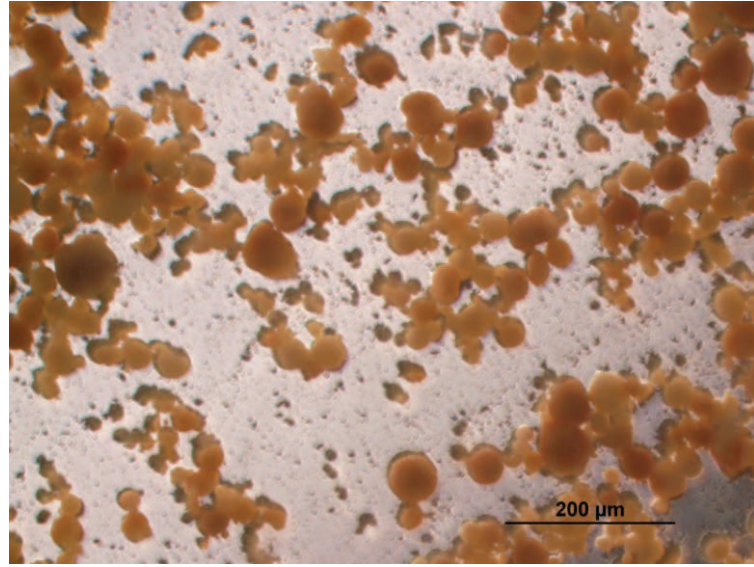
8.1.3. AgHAP-3 hazırlanması ve karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 0,15 g AgNO_3 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 5 g ticari hidroksiapatit toz (HAP-T) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler $23\text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Çözelti rengi sarı kahverengi olarak gözlenmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri $105\text{ }^\circ\text{C}$ 'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin belirgin bir şekilde değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen AgHAP-3 numunesi (%0,10 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.10.).



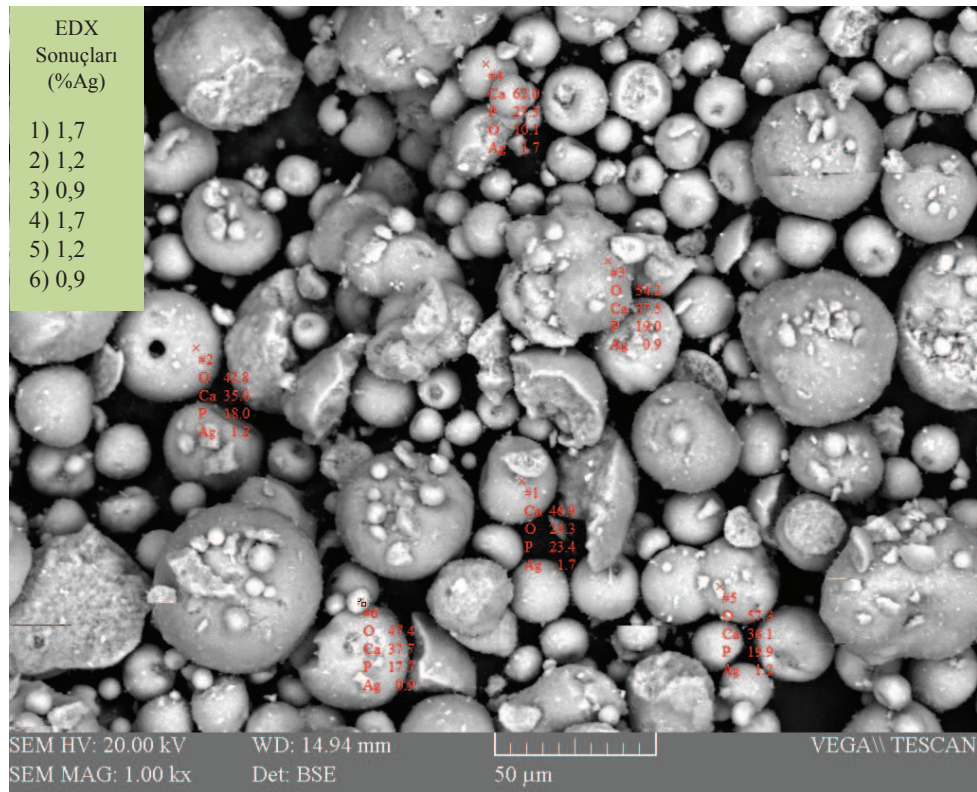
Şekil 8.10. AgHAP-3 genel görünüm

Hazırlanan AgHAP-3 numunesinde partiküllerin 1-50 μm boyutlarında olduğu ve nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.11.).



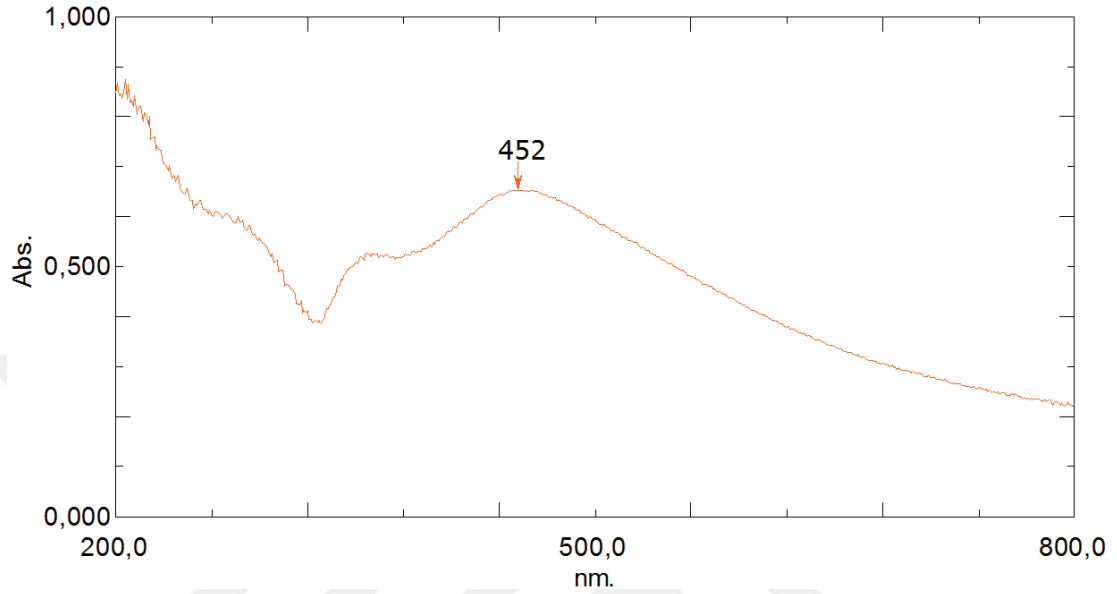
Şekil 8.11. AgHAP-3 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)

Hazırlanan AgHAP-3 numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 1-50 µm büyüklüğünde olduğu ve küresel morfoloji gösterdikleri gözlenmiştir. AgHAP-3 numunesine 6 farklı noktadan yapılan noktasal EDX analizinde ortalama %1,26 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.12.).



Şekil 8.12. AgHAP-3 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları

AgHAP-3 toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 452 nm’de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.13.).



Şekil 8.13. AgHAP-3 numunesine ait UV-vis. spektrumu

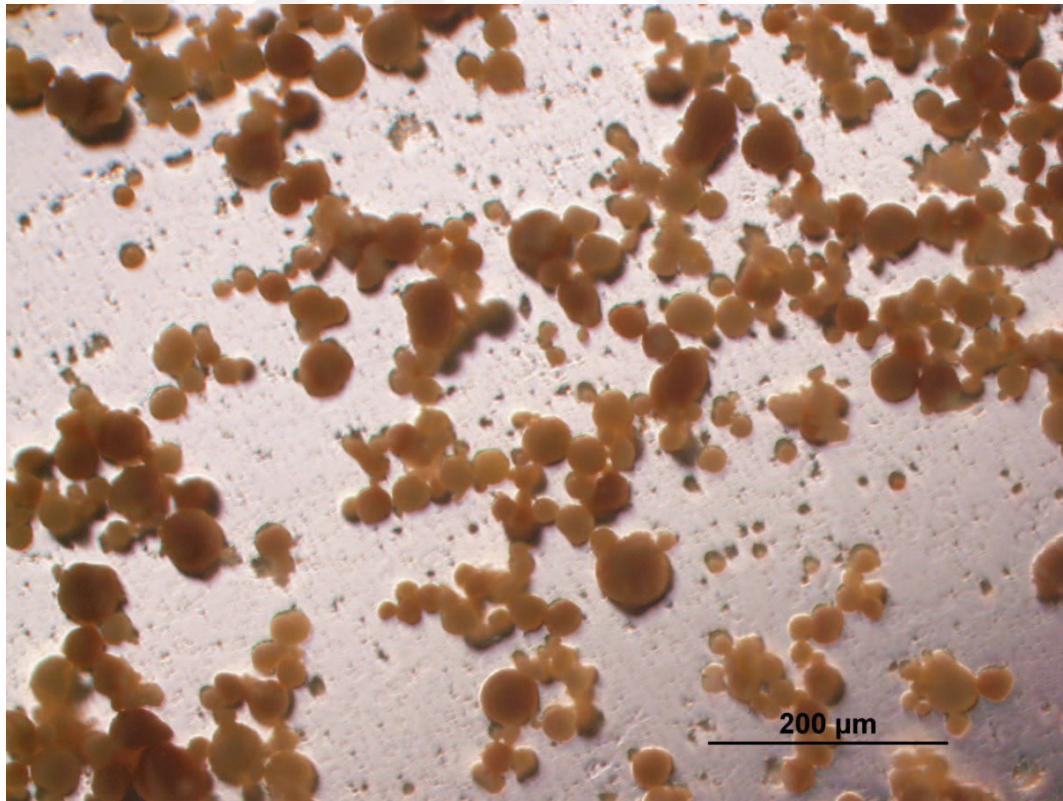
8.1.4. AgHAP-4 hazırlanması ve karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 0,15 g AgNO_3 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 5 g ticari hidroksiapatit toz (HAP-T) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 2 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler $23\text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Çözelti rengi sarı kahverengi olarak gözlenmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri $105\text{ }^\circ\text{C}$ 'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin belirgin bir şekilde değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen AgHAP-4 numunesi (%0,13 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.14.).



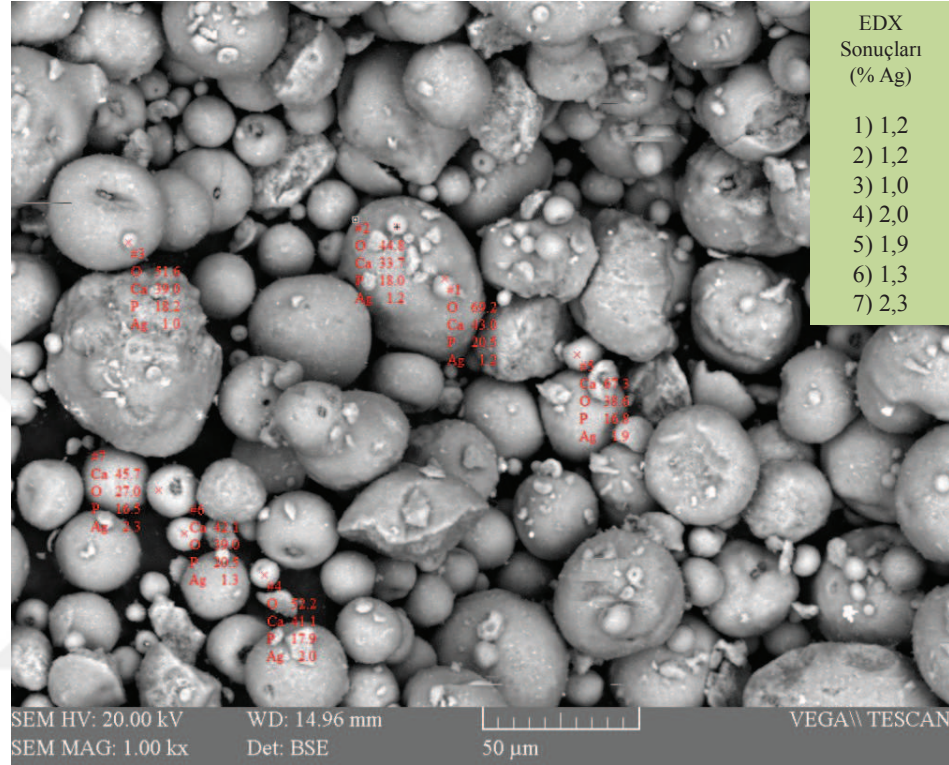
Şekil 8.14. AgHAP-4 genel görünüm

Hazırlanan AgHAP-4 numunesinde partiküllerin 1-50 μm boyutlarında olduğu ve nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.15.).



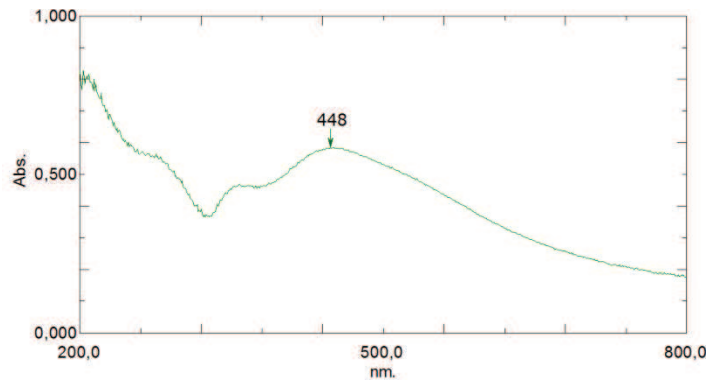
Şekil 8.15. AgHAP-4 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

Hazırlanan AgHAP-4 numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 1-50 μm büyüklüğünde olduğu ve küresel morfoloji gösterdikleri gözlenmiştir. AgHAP-4 numunesine 7 farklı noktadan yapılan noktasal EDX analizinde ortalama %1,55 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.16.).



Şekil 8.16. AgHAP-4 numunesine ait SEM görüntüsü ve noktasal EDX sonuçları

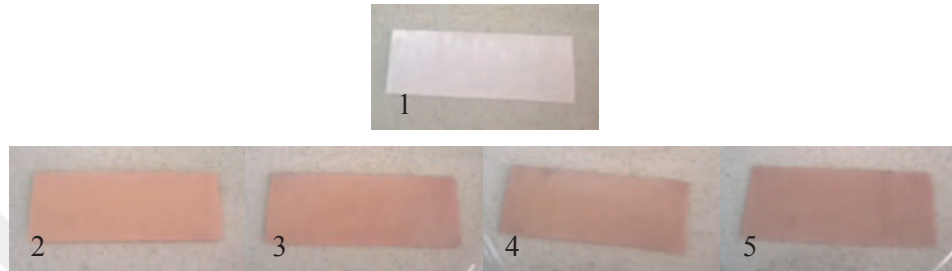
AgHAP-4 toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 448 nm’de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.17.).



Şekil 8.17. AgHAP-4 numunesine ait UV-vis. spektrumu

8.2. Nanogümüş Kaplı Ticari Hidroksiapatit Tozların Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri

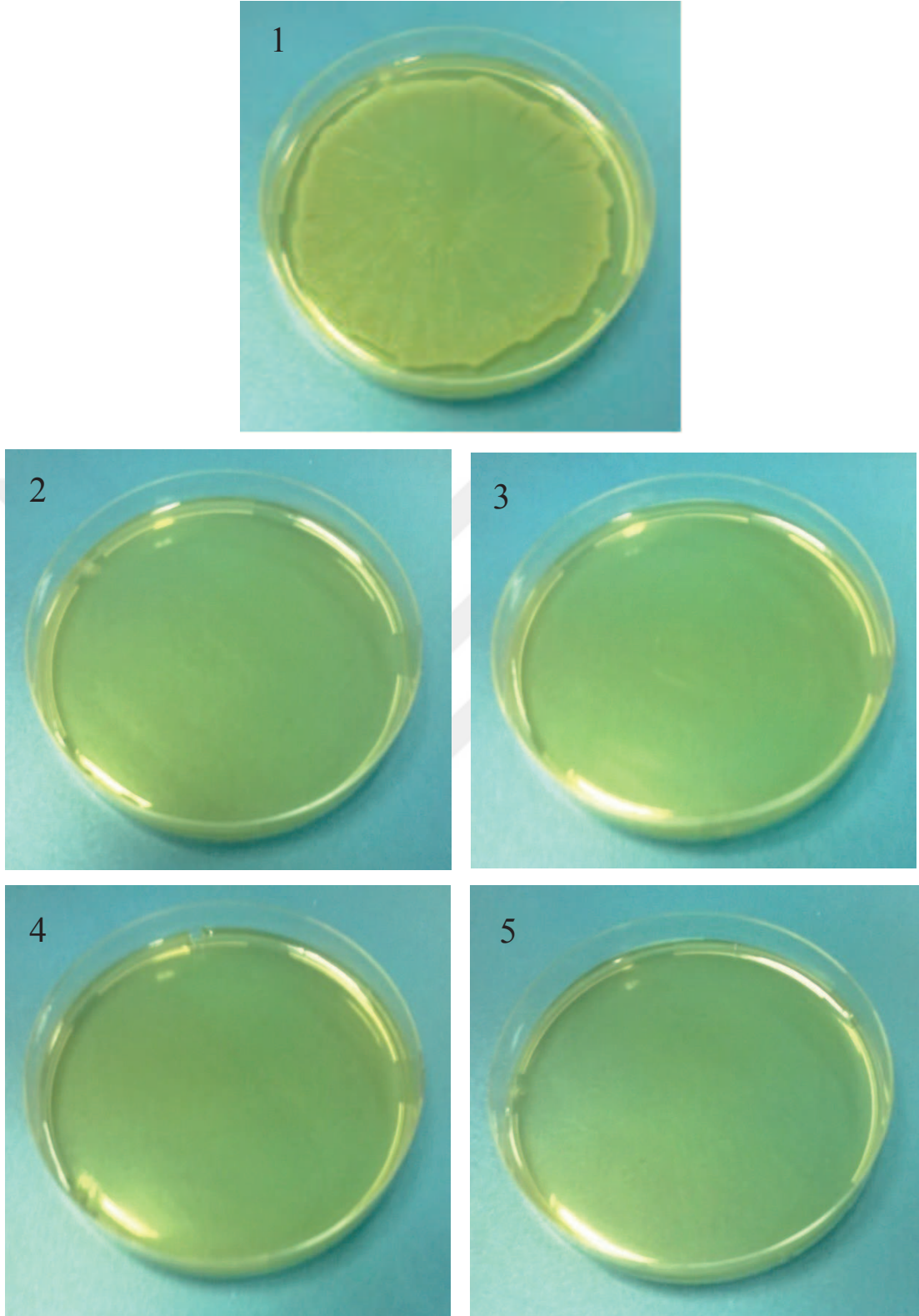
Yapışkan yüzeyli asetata (2 cm×5 cm) kaplanarak hazırlanan numunelerin (Şekil 8.18.) yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla kaplamaların her bir yüzü 30 dakika boyunca UV (Philips Ultra Violet TUV 30w) ışıkla steril edilmiştir.



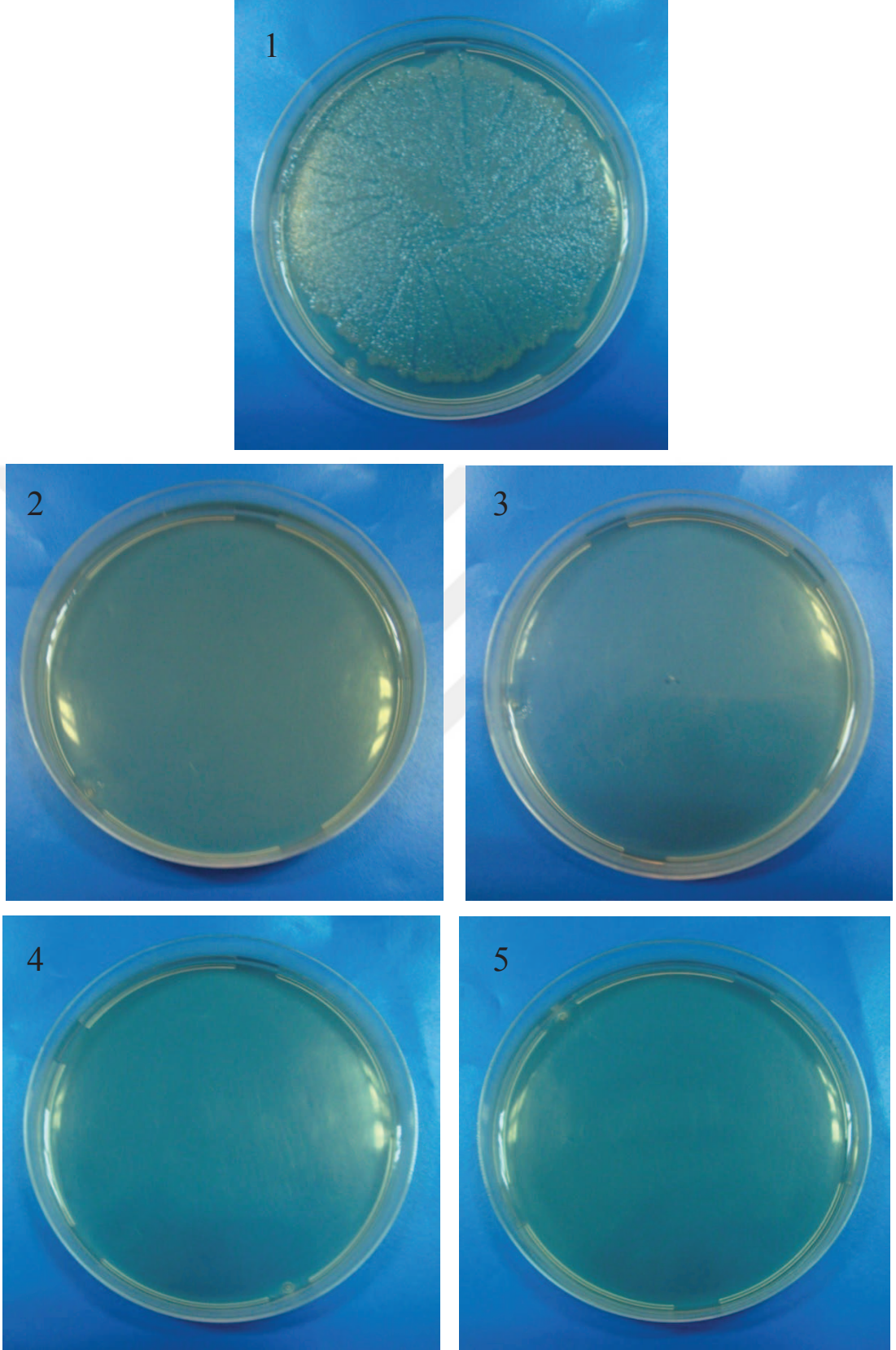
Şekil 8.18. Yapışkan yüzüli asetata kaplanarak hazırlanan numuneler 1) Ticari hidroksiapatit toz (HAP-T) (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4

Antibakteriyel aktivite ölçümü için plate counting metodu kullanılmıştır. 1×10^6 KOB/mL bakteri süspansiyonundan numune yüzeylerine 100 μ L inoküle edilmiştir. Numunenin üzeri asetat film (1,5 cm×4 cm) ile kaplanmıştır. Numuneler %90'nın üstünde nem içeren inkübasyon cihazında 37 ± 1 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından numuneler 20 mL %0,87 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama çözeltisinden 100 μ L alınarak Nutrient Agar besiyerine ekim yapılmıştır. 24 saat süre ile 37 ± 1 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan kolonilerin sayımı gerçekleştirilmiş ve antimikrobiyal etki formülü kullanılarak % antibakteriyel aktivite hesaplanmıştır.

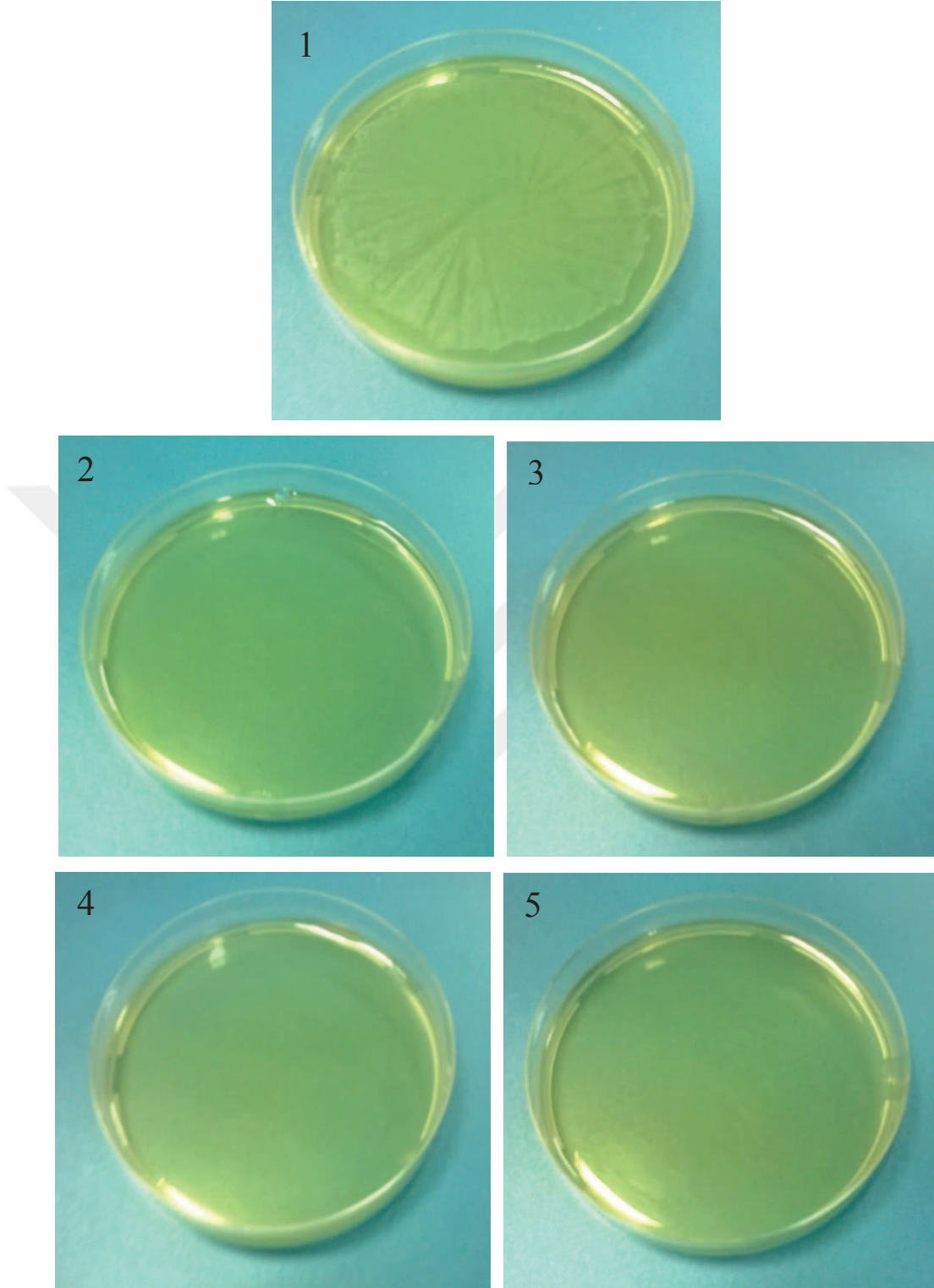
Hazırlanan nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozların *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin tayini yapılmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen bakteri kolonilerine ait görüntüler Şekil 8.19. - Şekil 8.21.'de verilmiştir.



Şekil 8.19. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *S. aureus* kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4



Şekil 8.20. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *E. coli* kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4



Şekil 8.21. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *Staphylococcus epidermidis* kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-1, 3) AgHAP-2, 4) AgHAP-3, 5) AgHAP-4

Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozların (AgHAP-1, AgHAP-2, AgHAP-3, AgHAP-4) herbirinin *E. coli* üzerinde %100, *S. aureus* üzerinde %100 ve *S. epidermidis* üzerinde %100 antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 8.2., Tablo 8.3.). Kontrol olarak kullanılan ticari hidroksiapatit (HAP-T) tozunun antibakteriyel etki göstermediği görülmüştür.

Tablo 8.2. Ekim yapılan besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

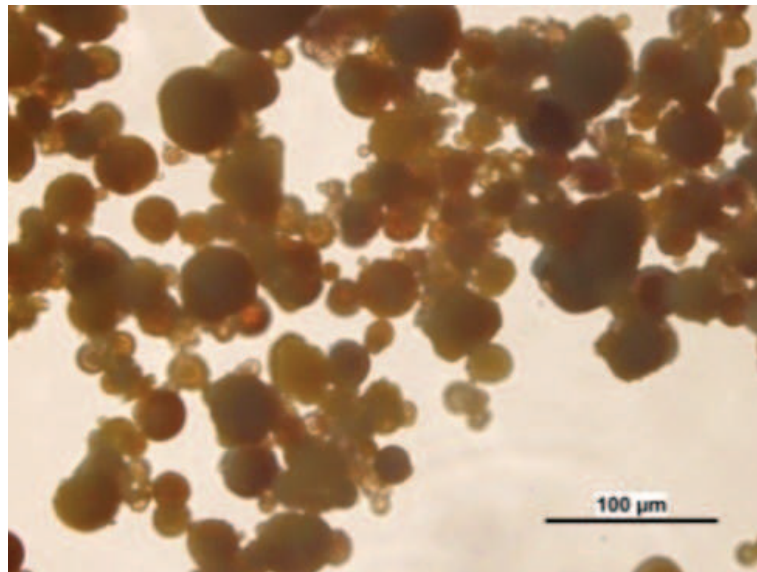
Bakteriler	HAP-T (Kontrol)	AgHAP-1	AgHAP-2	AgHAP-3	AgHAP-4
<i>S. aureus</i>	+	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	+	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	+	-	-	-	-

Tablo 8.3. Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozların antibakteriyel aktivite (%R) sonuçları

Bakteriler	% R: Antibakteriyel Aktivite				
	HAP-T (kontrol)	AgHAP-1 (%0,11 Ag)	AgHAP-2 (%0,25 Ag)	AgHAP-3 (0,10 Ag)	AgHAP-4 (%0,13 Ag)
<i>S. aureus</i>	0	100	100	100	100
<i>E. coli</i>	0	100	100	100	100
<i>S. epidermidis</i>	0	100	100	100	100

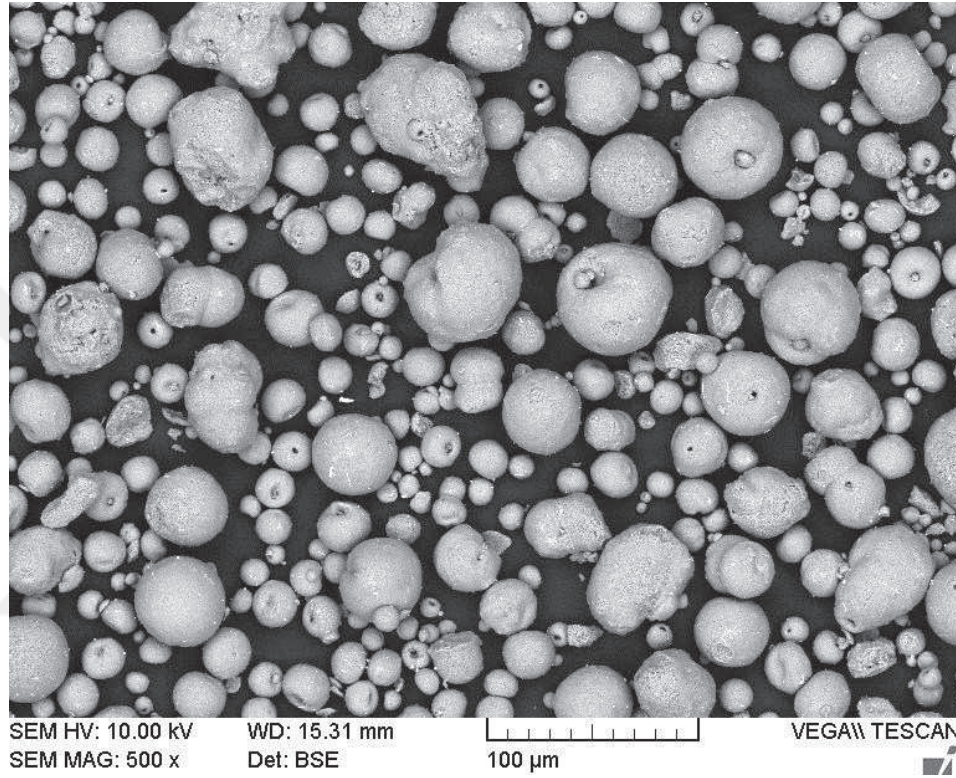
8.3. AgHAP-T(0,24) Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 3 g AgNO_3 5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 40 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 100 g ticari hidroksiapatit toz (HAP-T) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır (Olgun ve Üstel, 2015). 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 50 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirilmiştir. Çözelti rengi sarı kahverengi olarak gözlenmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 200 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin değiştiği gözlenmiştir. Ağzı kapalı olarak karanlıkta muhafaza edilmiştir. Hazırlanan AgHAP-T(0,24) numunesinde partiküllerin 1-50 μm boyutlarında olduğu ve nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir. AgHAP-T(0,24) numunesine (%0,24 Ag) ait ışık mikroskobu görüntüsü Şekil 8.22.'de gösterilmiştir.

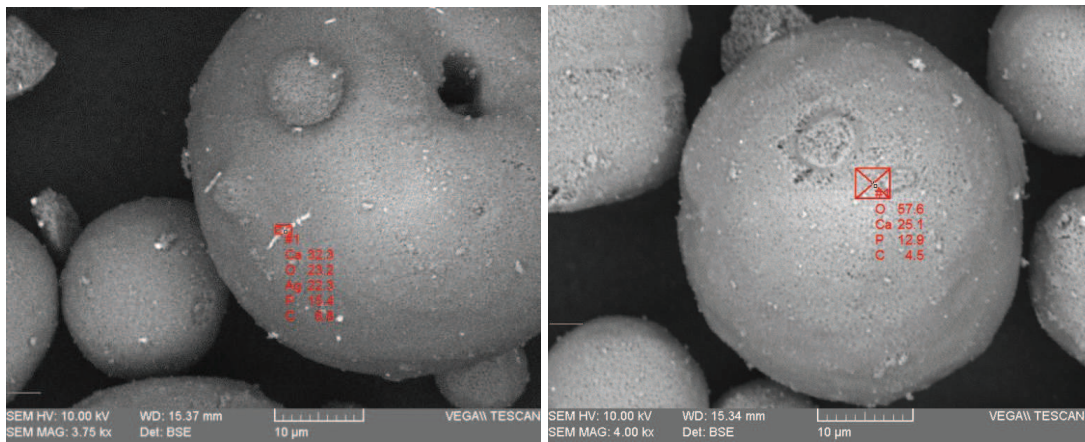


Şekil 8.22. AgHAP-T(0,24) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 40$)

Hazırlanan AgHAP-T(0,24) numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 1-50 μm büyüklüğünde olduğu ve küresel morfoloji gösterdikleri gözlenmiştir (Şekil 8.23.). AgHAP-T(0,24) numunesinde nanogümüş yüzeyinden yapılan EDX analizinde %22,3 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.24.).

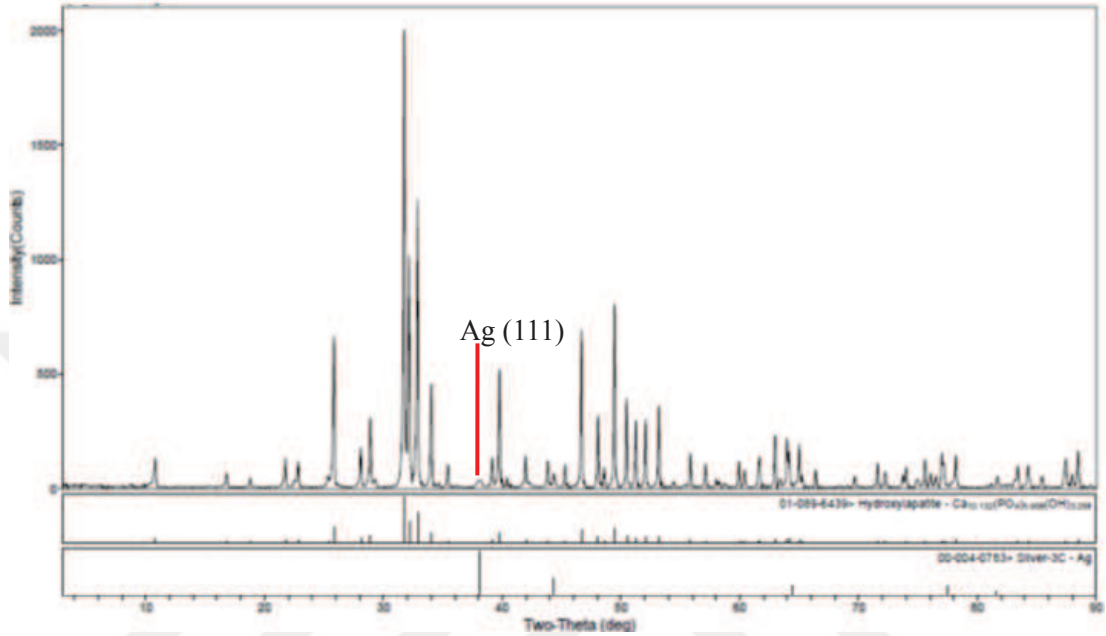


Şekil 8.23. AgHAP-T(0,24) numunesine ait SEM görüntüsü



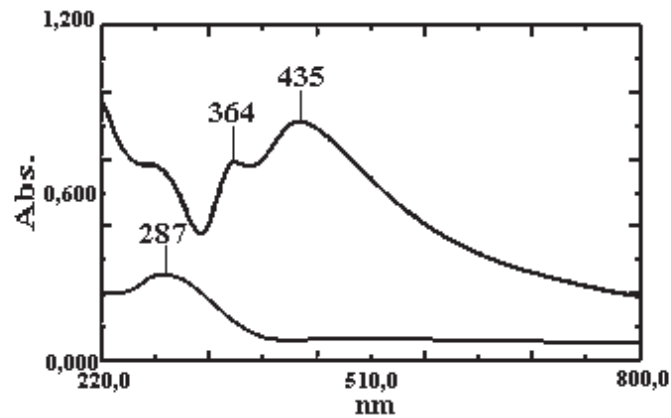
Şekil 8.24. AgHAP-T(0,24) numunesine ait noktasal EDX analizleri

AgHAP-T(0,24) tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu ve nanogümüş kristali içerdiği belirlenmiştir (Şekil 8.25.).



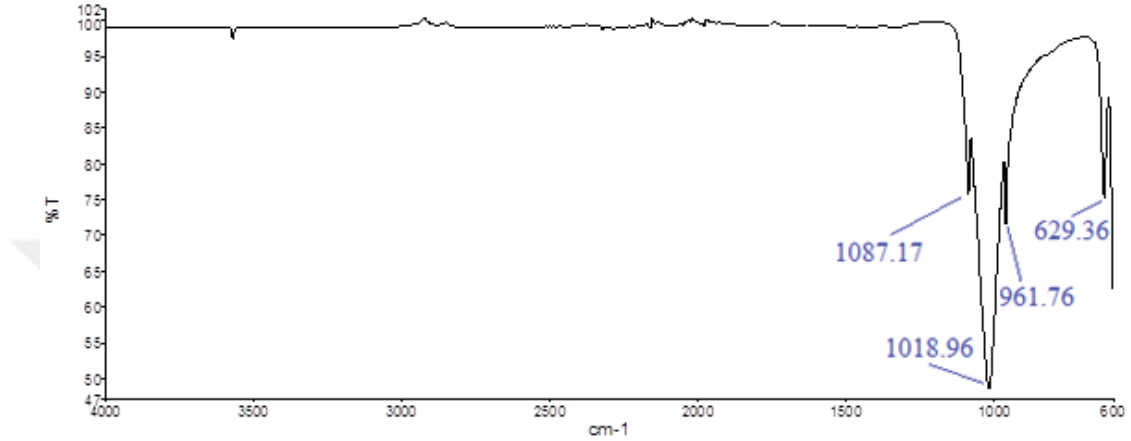
Şekil 8.25. AgHAP-T(0,24) numunesine ait XRD analiz sonucu

AgHAP-T(0,24) toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 435 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.26.).



Şekil 8.26. AgHAP-T(0,24) numunesine ($\lambda_{\max}=364$ nm ve $\lambda_{\max}=435$ nm) ve Ticari hidroksiapatite ($\lambda_{\max}=287$ nm) ait UV-vis. spektrumu

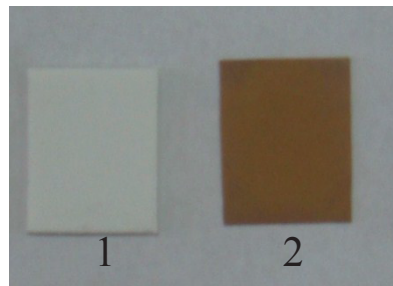
AgHAP-T(0,24) toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.27.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $1087,17\text{ cm}^{-1}$, $1018,96\text{ cm}^{-1}$ ve $961,76\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $629,36\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir.



Şekil 8.27. AgHAP-T(0,24) numunesine ait FTIR spektrumu

8.4. AgHAP-T(0,24) Tozunun Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri

Yapışkan yüzeyli asetata kaplanarak hazırlanan numunelerin (Şekil 8.28.) yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla kaplamaların her bir yüzü 30 dakika boyunca UV (Philips Ultra Violet TUV 30w) ışıkla steril edilmiştir.

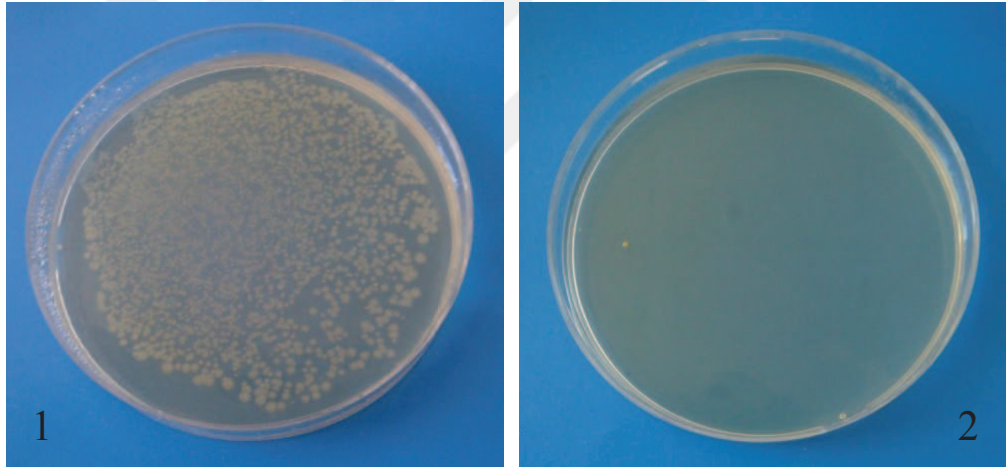


Şekil 8.28. Yapışkan yüzeyli asetata kaplanarak hazırlanan numuneler 1) Ticari hidroksiapatit toz (kontrol), 2) AgHAP-T(0,24)

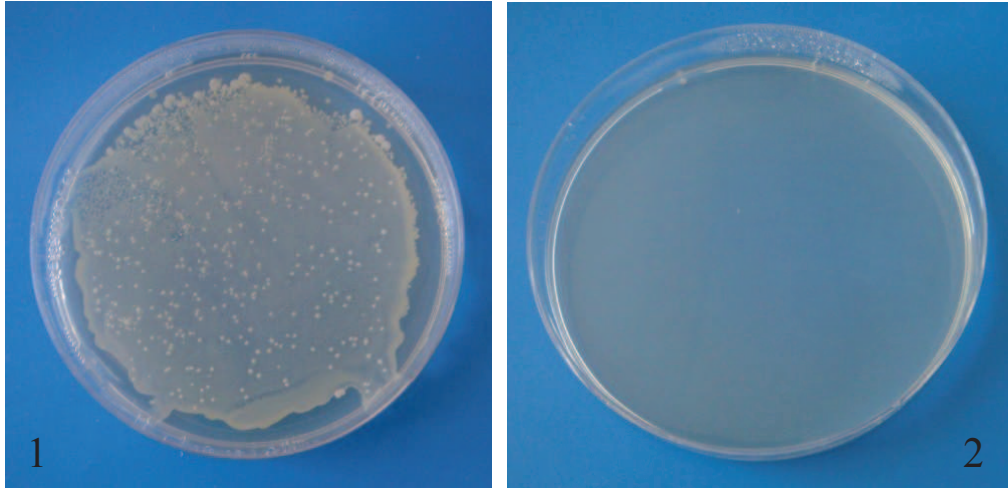
Antibakteriyel aktivite ölçümü için plate counting metodu kullanılmıştır (Zhang ve ark., 2006; Olgun ve Üstel, 2015). 1×10^6 KOB/mL bakteri süspansiyonundan

numune yüzeylerine 100 µL inoküle edilmiştir. Numunenin üzeri asetat film ile kaplanmıştır. Numuneler %90'nın üstünde nem içeren inkübasyon cihazında 37±1 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından numuneler 20 mL %0,87 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama çözeltisinden 100 µL alınarak Nutrient Agar besiyerine ekim yapılmıştır. 24 saat süre ile 37±1 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan kolonilerin sayımı gerçekleştirilmiştir ve antimikrobiyal etki formülü kullanılarak % antibakteriyel aktivite hesaplanmıştır.

AgHAP-T(0,24) nununesinin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin tayini yapılmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen bakteri kolonilerine ait görüntüler Şekil 8.29., Şekil 8.30.'da gösterilmiştir.



Şekil 8.29. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *E. coli* kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-T(0,24)



Şekil 8.30. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *S. aureus* kolonileri, 1) HAP-T (kontrol), 2) AgHAP-T(0,24)

AgHAP-T(0,24) numunesinin *E. coli* üzerinde %99, *S. aureus* üzerinde %100 antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 8.4.). Kontrol olarak kullanılan ticari hidroksiapatit (HAP-T) tozunun antibakteriyel etki göstermediği görülmüştür.

Tablo 8.4. Ekim yapılan besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları ve nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozun antibakteriyel aktivite (%R) sonuçları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

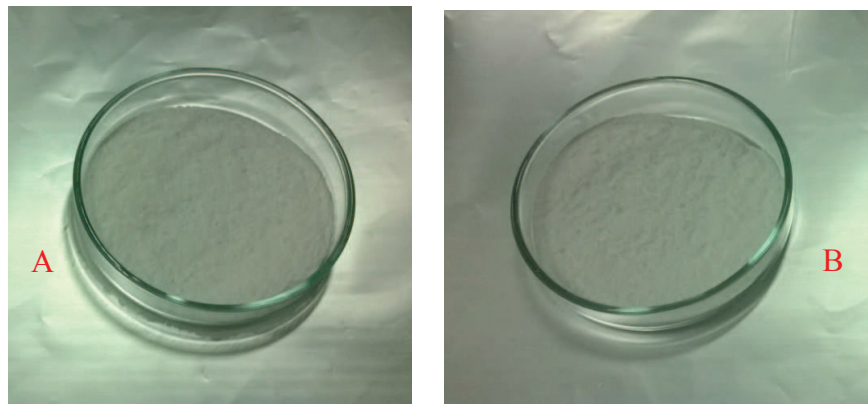
Bakteriler	Koloni sayıları		%R: Antibakteriyel aktivite	
	HAP-T (Kontrol)	AgHAP-T(0,24) (%0,24 Ag)	HAP-T (Kontrol)	AgHAP-T(0,24) (%0,24 Ag)
<i>S. aureus</i>	+	-	0	100
<i>E. coli</i>	+	+(1)	0	99

8.5. POX Kullanılarak Gözenekli Hidroksiapatit Üretimi ve Karakterizasyonu

8.5.1. Yapı yönlendirici kullanılmadan 20 °C'de hidroksiapatit (HAP-S ve HAP-SK) üretimi ve karakterizasyonu

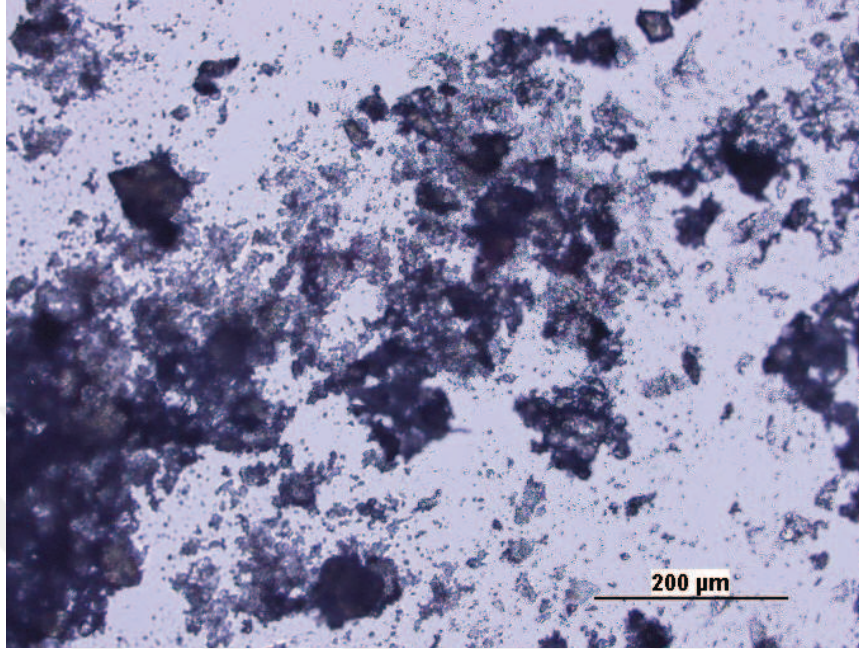
Hidroksiapatit tozlarının üretiminde kimyasal çöktürme yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla bir Ca kaynağı ve bir P kaynağı seçilmiştir. Başlangıç maddeleri olarak

Ca(NO₃)₂.4H₂O (Merck) ve H₃PO₄ (%85 saflıkta, Merck) kullanılmıştır. Ca/P mol oranı 1,67 olacak şekilde gerekli hesaplamalar yapılarak reaksiyona girecek Ca(NO₃)₂.4H₂O miktarı 197,18525 g ve H₃PO₄ (%85 saflıkta) miktarı 33,71 mL olarak belirlenmiştir. 197,18525 g kalsiyum nitrat 1 litre deiyonize suda çözülmüştür. 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. 1 litre deiyonize suya pipetle yavaş yavaş fosforik asit (33,71 mL) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcının hızı taşmayacak şekilde arttırılmıştır. 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Fosforik asit çözeltisi 1,5 litreye amonyak ile tamamlanmıştır. pH indicator strip (Merck) ile pH'nın 10-11 arasında olduğu belirlenmiştir. 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Kalsiyum nitrat çözeltisi 1,5 litreye amonyak ile tamamlanmıştır. pH indicator strip (Merck) ile pH'nın 11-12 arasında olduğu belirlenmiştir. 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Kalsiyum nitrat çözeltisi üzerine fosforik asit çözeltisi yavaşça eklenmiştir. Bir miktar deiyonize su ilave edilmiştir. Hız arttırılmıştır. 24 saat boyunca karıştırılmıştır ardından ağzı kapalı olarak 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. 24 saat boyunca bekletilen malzeme bol distile su ile yıkanarak filtre edilmiştir. Ürün cam tepsiye yayılmıştır. 90 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Agat havanda toz haline getirilmiştir ve 94,868 g olarak tartılmıştır. Elde edilen ürün HAP-S olarak adlandırılmıştır (Şekil 8.31.). HAP-S tozundan 44,525 g kalsinasyon işlemi için tartılmıştır. 10 °C/dk ısı rejimli fırında 600 °C'de 1 saat kalsine edilmiştir. Elde edilen ürün HAP-SK olarak adlandırılmıştır (Şekil 8.31.). Kalsinasyon işleminin ardından 38,121 g ürün kaldığı belirlenmiştir. 6,404 g kütle azalması olduğu belirlenmiştir.



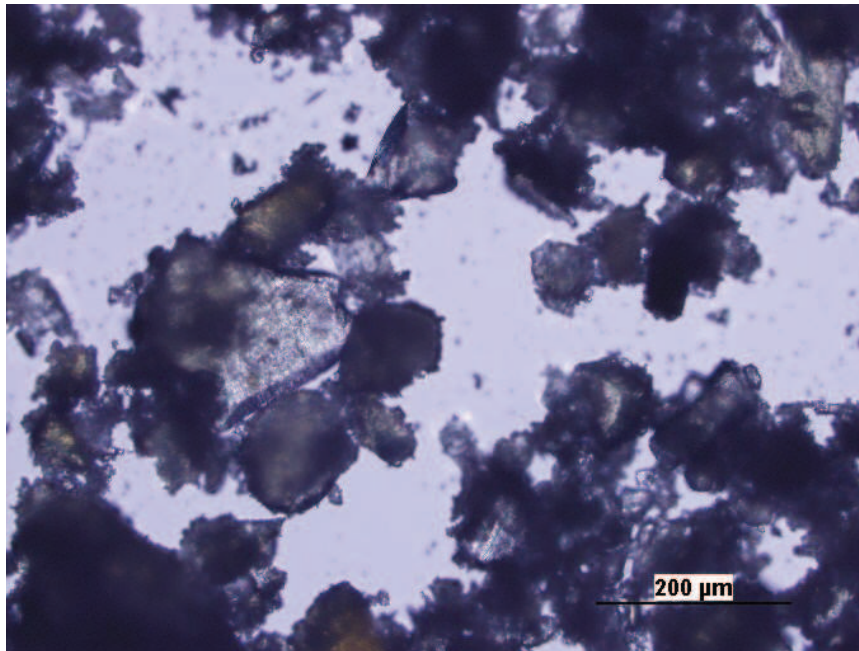
Şekil 8.31. Üretilen hidroksiapatit toza ait genel görünüm A) HAP-S, B) HAP-SK

Üretilen HAP-S numunesinde partiküllerin pleomorfik oldukları ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.32.).



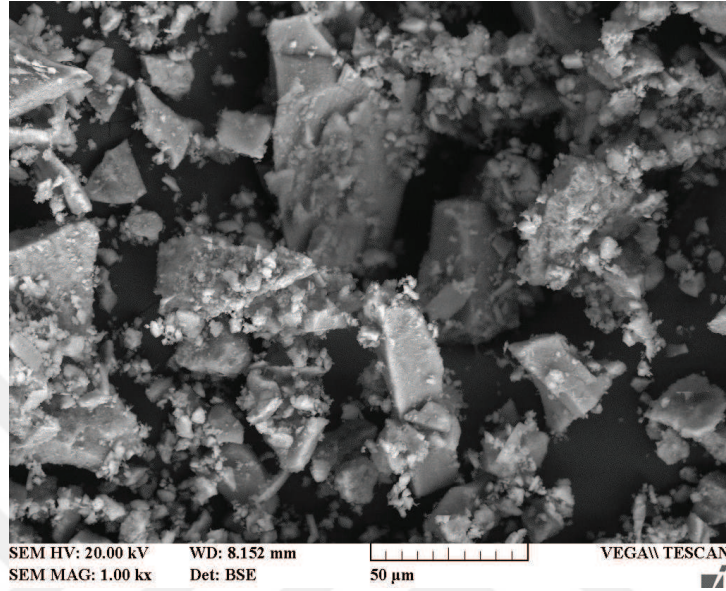
Şekil 8.32. HAP-S numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)

Üretilen HAP-SK numunesinde partiküllerin pleomorfik oldukları ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.33.).



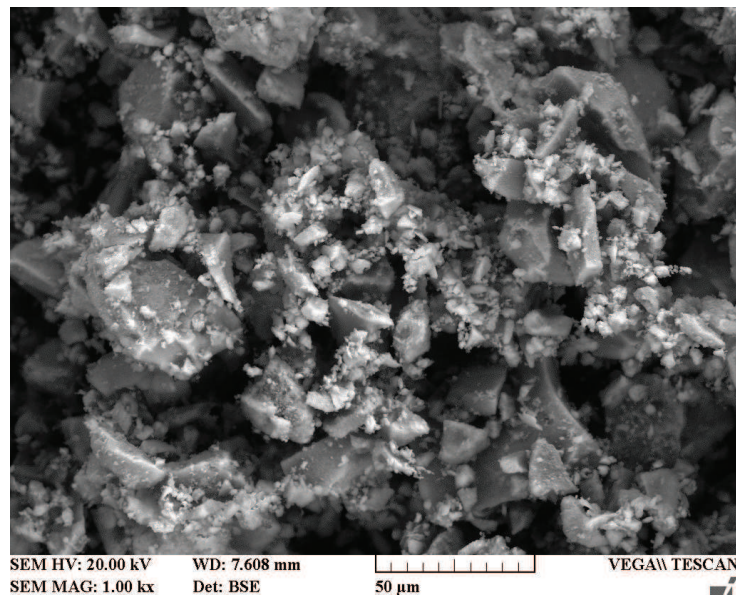
Şekil 8.33. HAP-SK numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)

Üretilen HAP-S tozunun taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-50 μm büyüklüğünde ve pleomorfik oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.34.).



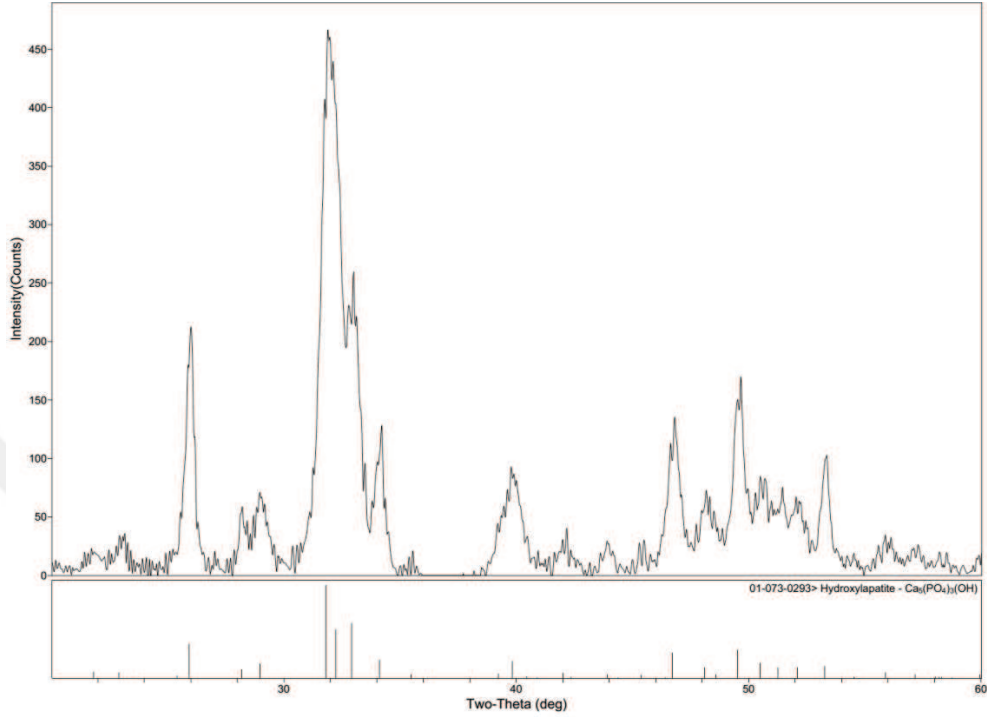
Şekil 8.34. HAP-S numunesine ait SEM görüntüsü

Üretilen HAP-SK tozunun taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-50 μm büyüklüğünde ve pleomorfik oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.35.).

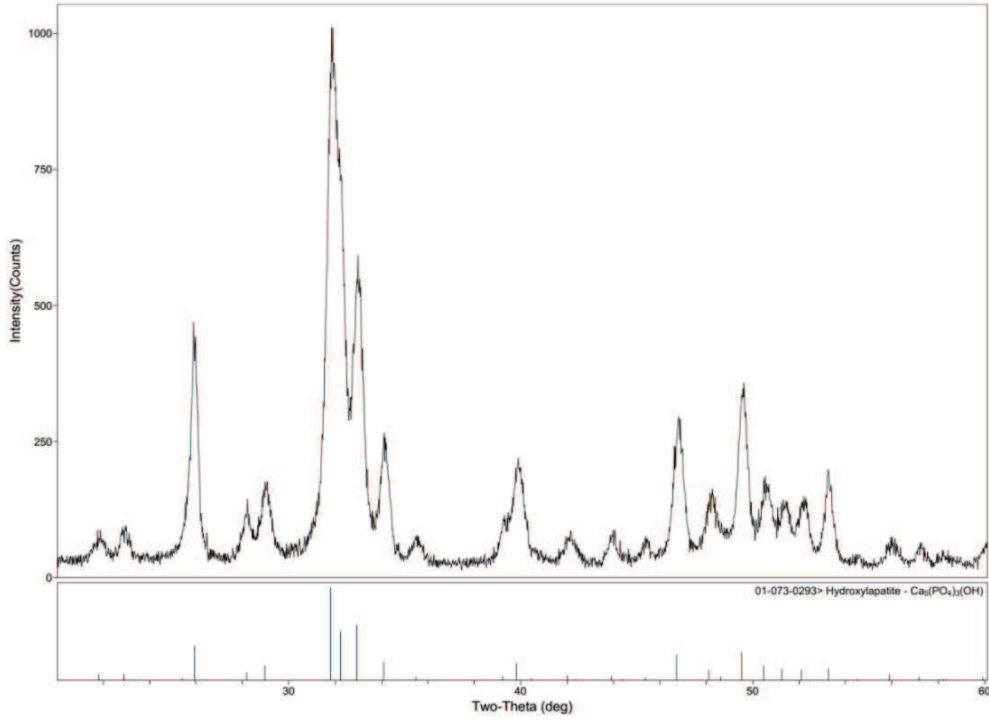


Şekil 8.35. HAP-SK numunesine ait SEM görüntüsü

Üretilen HAP-S ve HAP-SK tozlarının X-ışını difraksiyonu (XRD) analizleri ile numunelerin hidroksiapatit fazında olduğu belirlenmiştir. (Şekil 8.36., Şekil 8.37.).

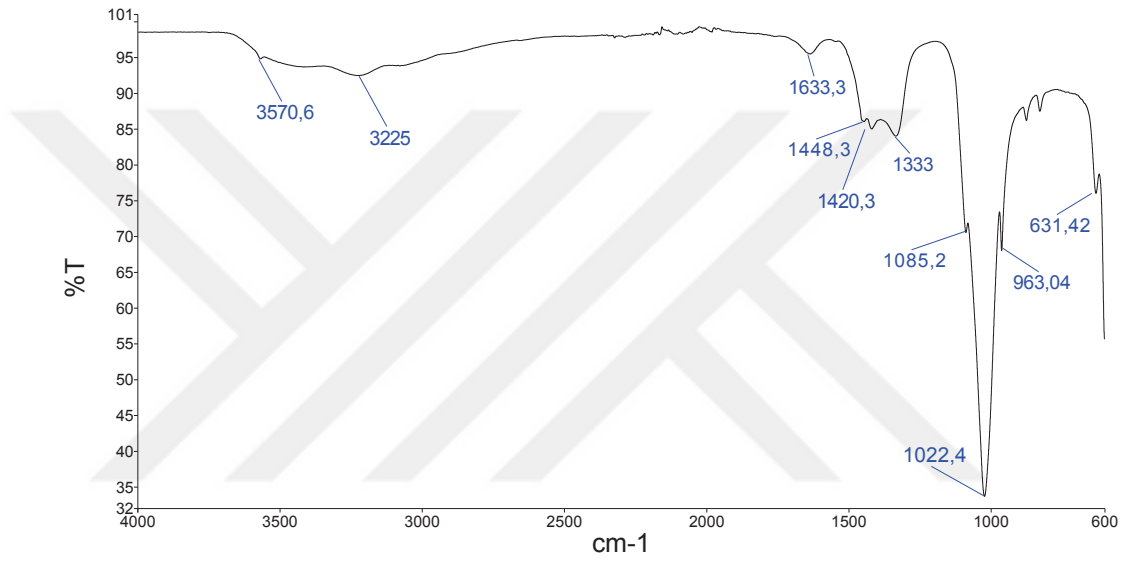


Şekil 8.36. HAP-S numunesine ait XRD analiz sonucu



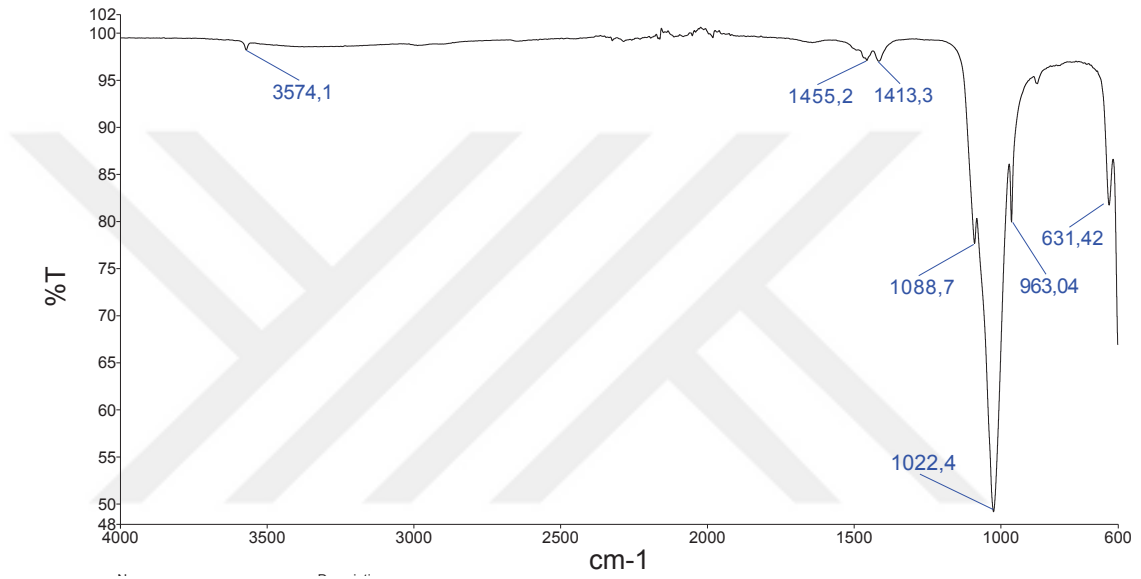
Şekil 8.37. HAP-SK numunesine ait XRD analiz sonucu

HAP-S toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.38.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3570,6 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1085,2 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $631,42 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. HAP-S numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.



Şekil 8.38. HAP-S numunesine ait FTIR spektrumu

HAP-SK toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.39.'da sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3574,1 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $631,42 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. HAP-SK numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.



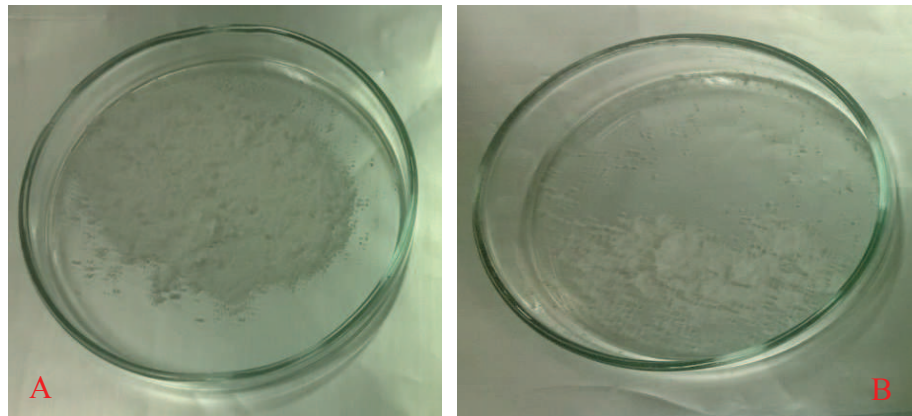
Şekil 8.39. HAP-SK numunesine ait FTIR spektrumu

8.5.2. POX yapı yönlendirici ile 20 °C'de hidroksiapatit (HAP-SP20 ve HAP-SPK20) üretimi ve karakterizasyonu

1.Çözelti: 1,9718 g kalsiyum nitrat 10 mL distile suda çözülmüştür. 0,1 g POX oda sıcaklığında (20 °C) çözeltiye eklenmiştir (ağırlıkça %1'lik çözelti) ve cam bagetle karıştırılarak çözülmüştür. Manyetik karıştırıcıda 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Herhangi bir bulanma gözlenmemiştir. Karıştırma işlemi sonunda 5 mL amonyak yavaşça ilave edilmiştir. pH indicator strip (Merck) ile pH 12 olarak belirlenmiştir. Bulanma gözlenmemiştir. 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi boyunca beherin ağzı parafilm ile kapatılmıştır.

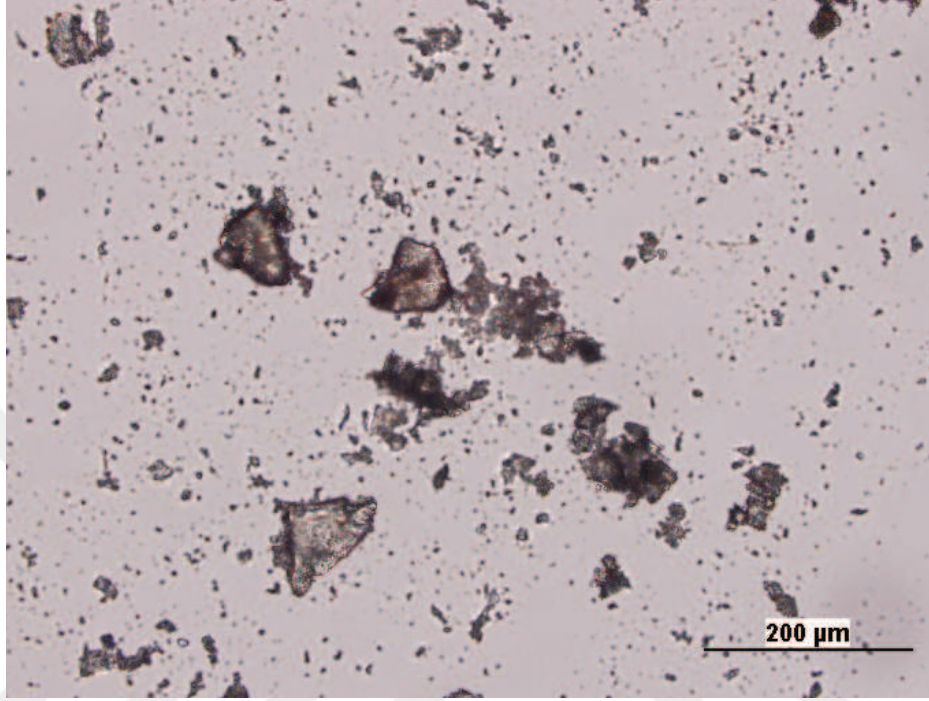
2. Çözelti: 0,3371 mL fosforik asit 10 mL distile suya eklenmiştir. 0,1 g POX oda sıcaklığında (20 °C) çözeltiliye eklenmiştir (ağırlıkça %1'lik çözeltili) ve cam bagetle karıştırılarak çözülmüştür. Manyetik karıştırıcıda 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Bulanma gözlenmemiştir. Karıştırma işlemi sonunda 9 mL amonyak yavaşça ilave edilmiştir. Amonyak ilave edildiği anda çökeltme olduğu gözlemlenmiştir. pH indicator strip (Merck) ile pH 12 olarak belirlenmiştir. 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi boyunca beherin ağzı parafilm ile kapatılmıştır.

30 dakikalık karıştırma işlemi sonunda 1 nolu çözeltilinin üzerine 2 nolu çözeltili karıştırma işlemi devam ederken çok yavaş olarak ilave edilmiştir. Hız arttırılmıştır. 10 mL distile su ilave edilmiştir. 24 saat boyunca karıştırılmıştır ve karıştırma işlemi boyunca beherin ağzı parafilm ile kapatılmıştır. Ardından ağzı kapalı olarak 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. 24 saat boyunca bekletilen malzeme bol distile su ile yıkanarak filtre edilmiştir. Ürün petri kabına yayılarak 90 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Agat havanda toz haline getirilmiştir. Hassas terazide tartılmıştır. 0,7799 g ürün elde edildiği belirlenmiştir. Elde edilen ürün HAP-SP20 olarak adlandırılmıştır (Şekil 8.40.). HAP-SP20 tozundan kalsinasyon işlemi için 0,169 g tartılmıştır. 10 °C/dk ısı rejimli fırında 600 °C'de 1 saat kalsine edilmiştir. Elde edilen ürün HAP-SPK20 olarak adlandırılmıştır (Şekil 8.40.). Kalsinasyon sonunda 0,1531 g ürün kaldığı belirlenmiştir. 0,0159 g kütle azalması olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen ürünün SEM (SE ve BSE) görüntüleri alınmıştır, XRD (20-60 derece arasında 2 saat) ve FTIR analizleri yapılmıştır.

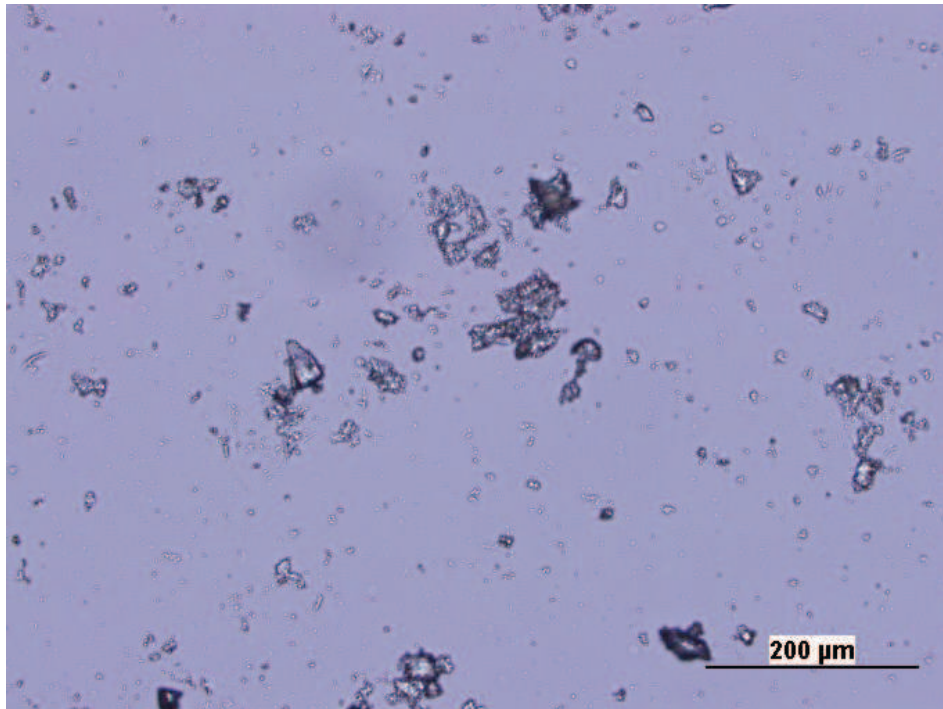


Şekil 8.40. Üretilen hidroksiapatit toza ait genel görünüm A) HAP-SP20, B) HAP-SPK20

Üretilen HAP-SP20 ve HAP-SPK20 numunelerinde partiküllerin pleomorfik olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir. (Şekil 8.41., Şekil 8.42.).

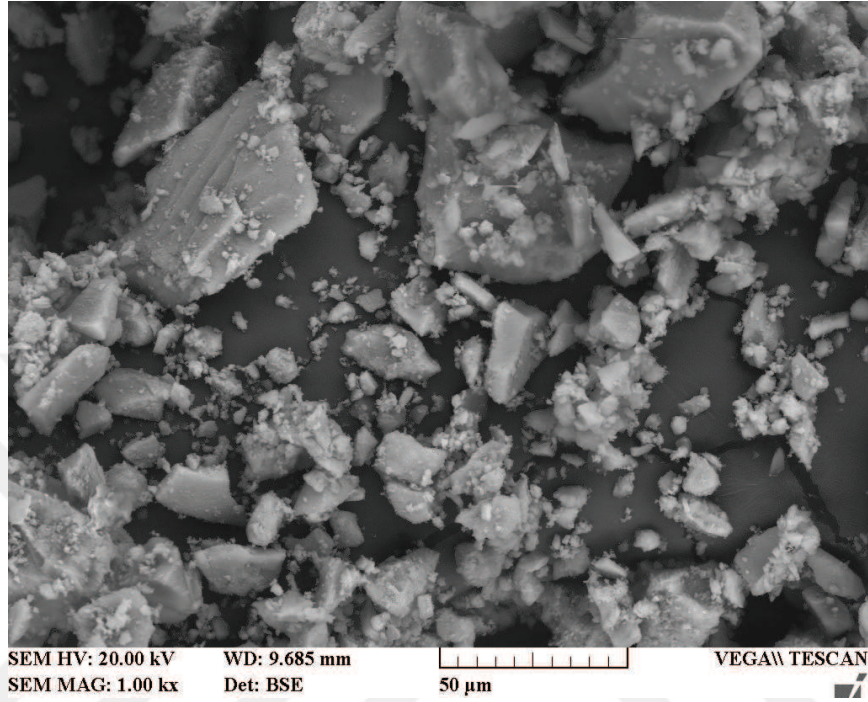


Şekil 8.41. HAP-SP20 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

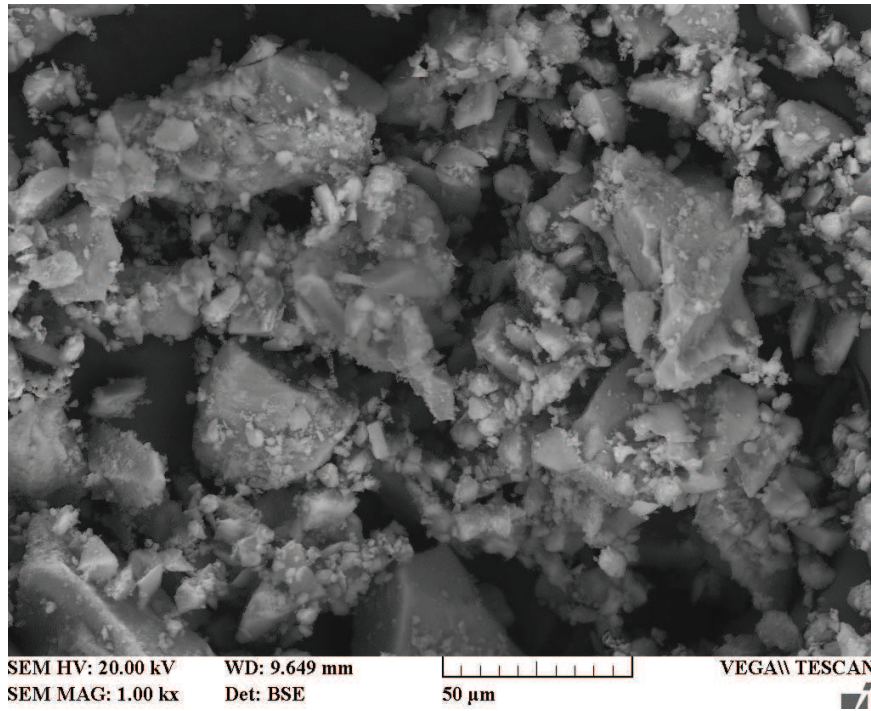


Şekil 8.42. HAP-SPK20 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

Üretilen HAP-SP20 ve HAP-SPK20 tozlarının taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelemelerinde partiküllerin 0-50 μm büyüklüğünde ve pleomorfik oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.43., Şekil 8.44.).

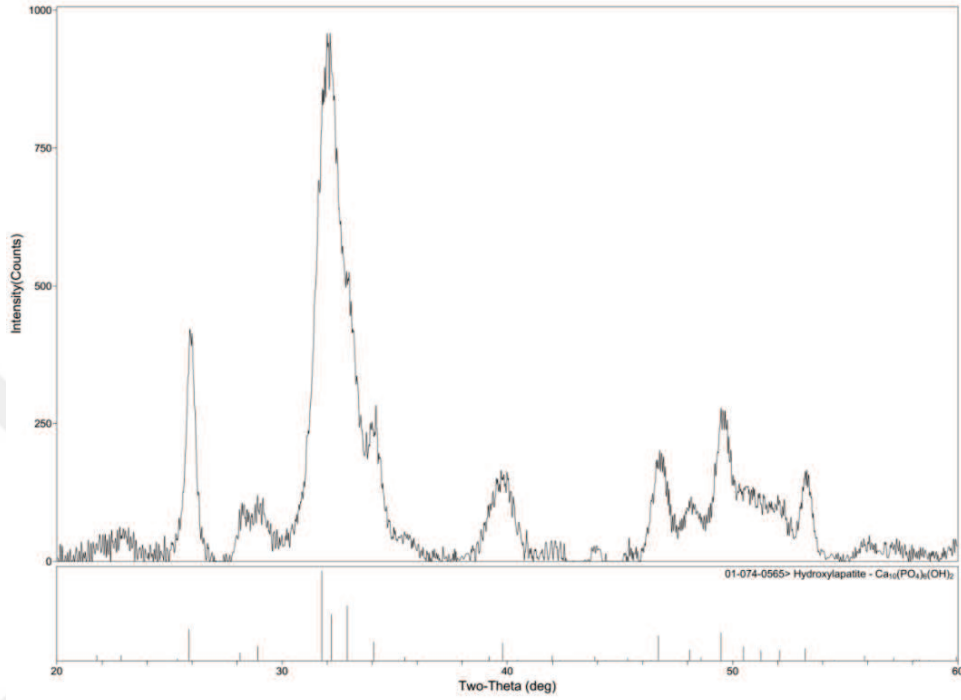


Şekil 8.43. HAP-SP20 numunesine ait SEM görüntüsü

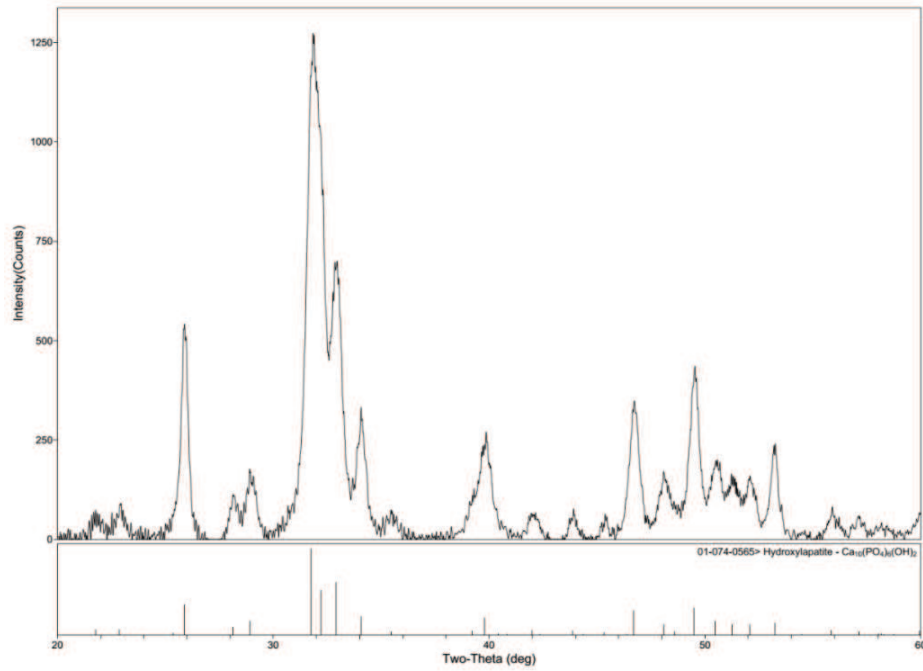


Şekil 8.44. HAP-SPK20 numunesine ait SEM görüntüsü

Üretilen HAP-SP20 ve HAP-SPK20 tozlarının X-ışını difraksiyonu (XRD) analizlerinde numunelerin hidroksiapatit fazında olduğu belirlenmiştir (Şekil 8.45., Şekil 8.46.).

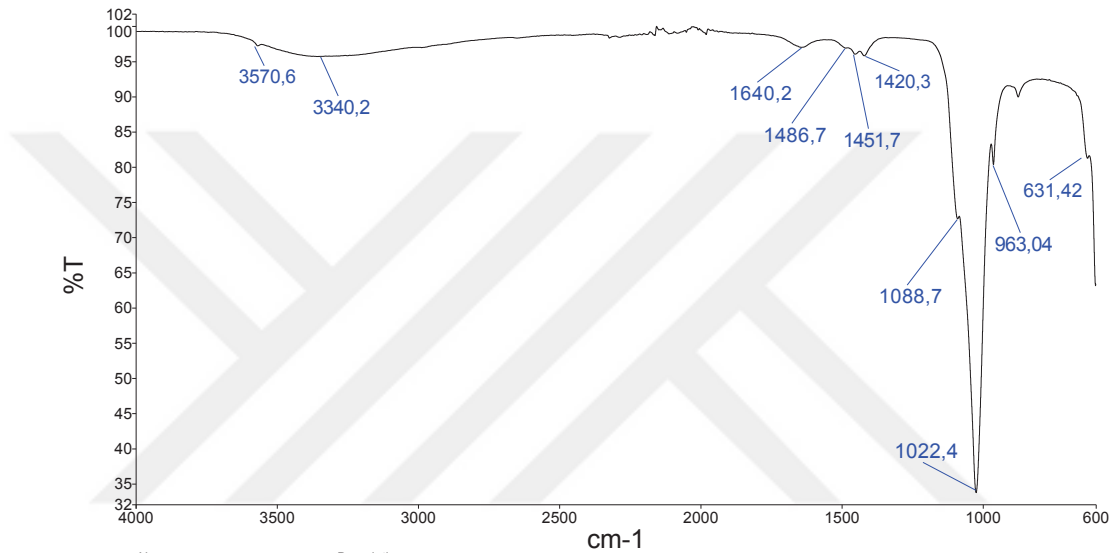


Şekil 8.45. HAP-SP20 numunesine ait XRD analiz sonucu



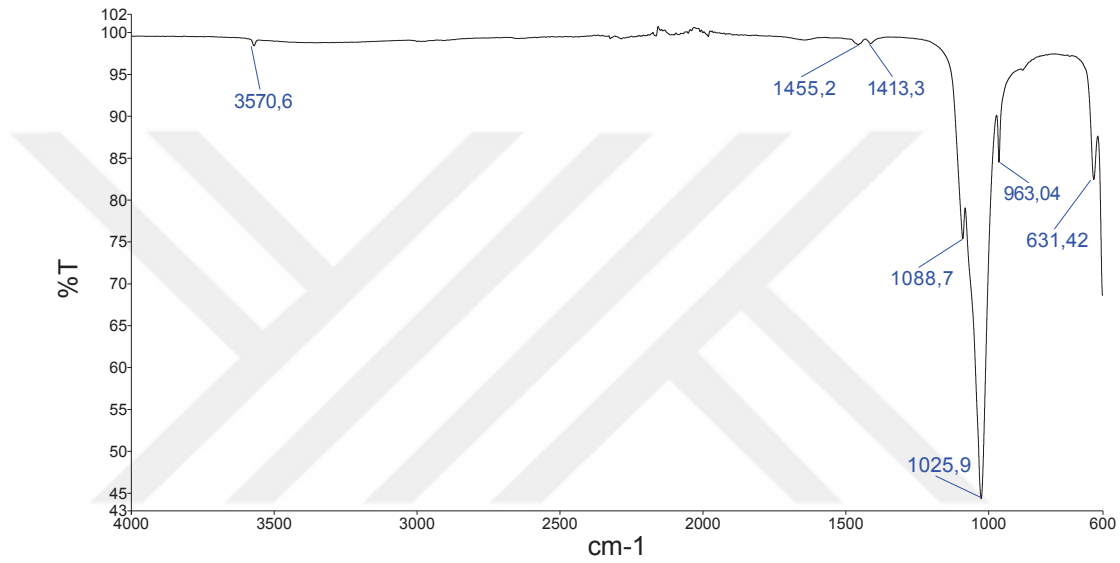
Şekil 8.46. HAP-SPK20 numunesine ait XRD analiz sonucu

HAP-SP20 toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.47.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3570,6 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $631,42 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. HAP-SP20 numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.



Şekil 8.47. HAP-SP20 numunesine ait FTIR spektrumu

HAP-SPK20 toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.48.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3570,6 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1025,9 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $631,42 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. HAP-SPK20 numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.



Şekil 8.48. HAP-SPK20 numunesine ait FTIR spektrumu

8.5.3. POX yapı yönlendirici ile $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de hidroksiapatit (HAP-SP70 ve HAP-SPK70) üretimi ve karakterizasyonu

1.Çözelti: 19,718 g kalsiyum nitrat 100 mL distile suda çözülmüştür. 1 g POX oda sıcaklığında ($20 \text{ }^{\circ}\text{C}$) çözeltiye eklenmiştir (ağırlıkça %1'lik çözelti) ve cam bagetle karıştırılarak çözülmüştür. Isıtıcı manyetik karıştırıcıda ısı yavaş yavaş artırılarak 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ulaşıldığında çok az bulanma gözlenmiştir. Karıştırma işlemi sonunda çözelti $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'deyken 50 mL amonyak yavaşça ilave edilmiştir. pH indicator strip (Merck) ile pH 12 olarak belirlenmiştir. 30 dakika boyunca ısıtıcı manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi boyunca beherin ağzı parafilm ile kapatılmıştır.

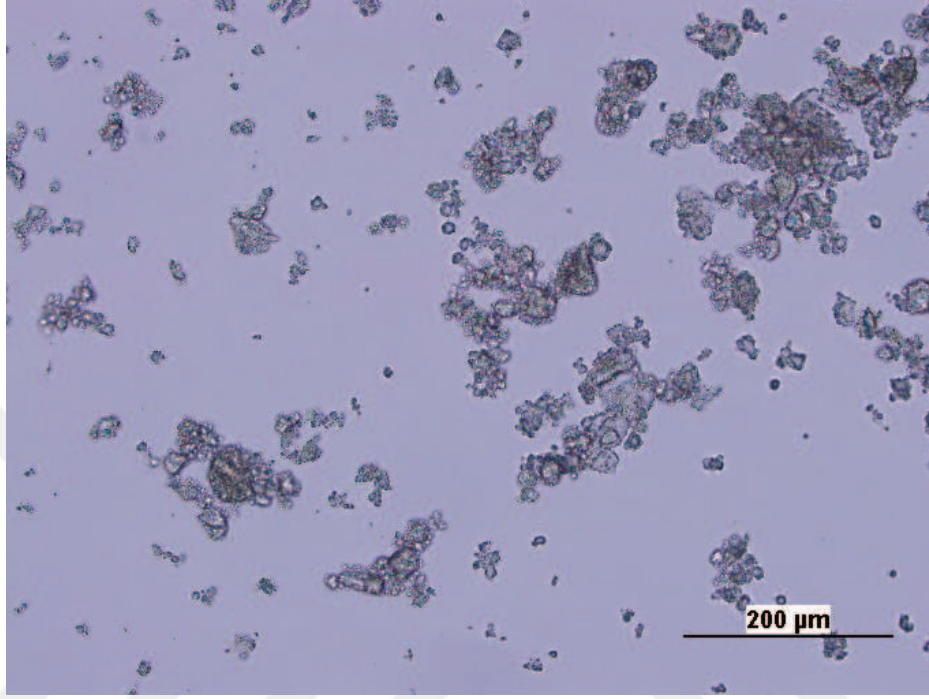
2.Çözelti: 3,371 mL fosforik asit 100 mL distile suya eklenmiştir. 1 g POX oda sıcaklığında (20 °C) çözeltiliye eklenmiştir (ağırlıkça %1'lik çözeltili) ve cam bagetle karıştırılarak çözülmüştür. Isıtıcıli manyetik karıştırıcıda ısı yavaş yavaş arttırılarak 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. 66 °C'ye ulaşıldığında bulanma gözlenmiştir. Karıştırma işlemi sonunda çözeltili 70 °C'deyken 50 mL amonyak yavaşça ilave edilmiştir. Sıcaklığın aniden 90 °C'ye çıktığı gözlemlenmiştir. pH indicator strip (Merck) ile pH 5-6 olarak belirlenmiştir. 30 mL daha amonyak ilave edilmiştir. pH indicator strip (Merck) ile pH 12 olarak belirlenmiştir. Sıcaklık azaltılarak karıştırma işlemine başlanmıştır. 70 °C'de 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi boyunca beherin ağzı parafilm ile kapatılmıştır. Sıcaklık 70 °C'deyken çözeltilinin yüzeyinde polimerimsi bir tabaka olduğu gözlenmiştir.

30 dakikalık karıştırma işlemi sonunda 1 nolu çözeltilinin üzerine 2 nolu çözeltili karıştırma işlemi devam ederken çok yavaş olarak ilave edilmiştir. Hız arttırılmıştır. 70 °C'deki 100 mL distile su ilave edilmiştir. 24 saat boyunca karıştırılmıştır ve karıştırma işlemi boyunca beherin ağzı parafilm ile kapatılmıştır. Ardından ağzı kapalı olarak 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. 24 saat boyunca bekletilen malzeme bol distile su ile yıkanarak filtre edilmiştir. Ürün petri kabına yayılarak 90 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Agat havanda toz haline getirilmiştir. Hassas terazide tartılmıştır. 7,9562 g ürün elde edildiği belirlenmiştir. Elde edilen ürün HAP-SP70 olarak adlandırılmıştır (Şekil 8.49.). HAP-SP70 tozundan kalsinasyon işlemi için 3,533 g tartılmıştır. 10 °C/dk ısı rejimli fırında 600 °C'de 1 saat kalsine edilmiştir. Elde edilen ürün HAP-SPK70 olarak adlandırılmıştır (Şekil 8.49.). Kalsinasyon sonunda 3,307 g ürün kaldığı belirlenmiştir. 0,226 g kütle azalması olduğu tespit edilmiştir.

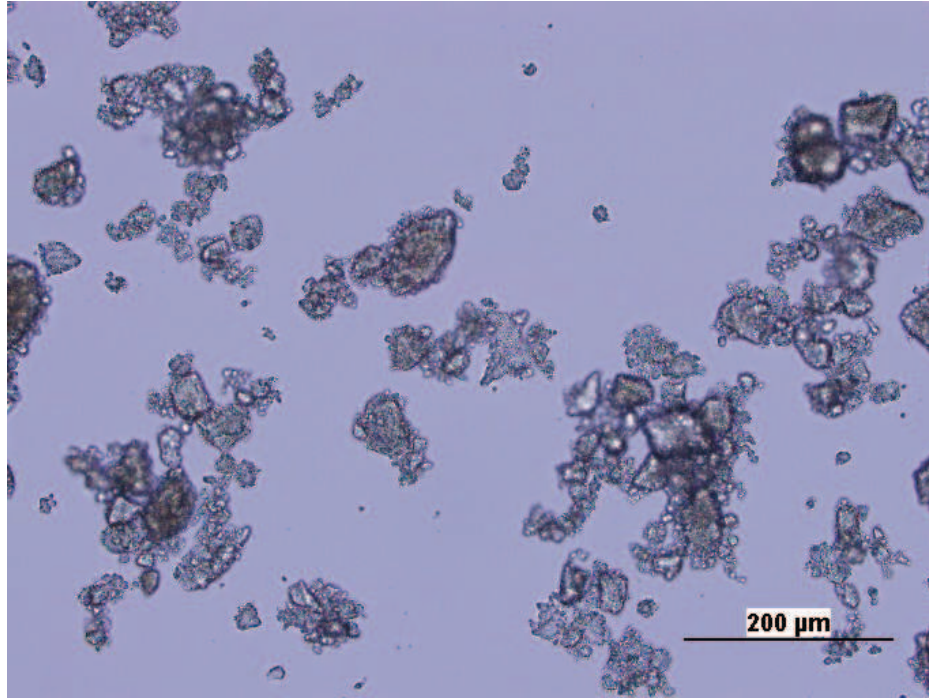


Şekil 8.49. Üretilen hidroksiapatit toza ait genel görünüm A) HAP-SP70, B) HAP-SPK70

Üretilen HAP-SP70 ve HAP-SPK70 numunelerinde partiküllerin yuvarlak yapıda oldukları ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.50., Şekil 8.51.).

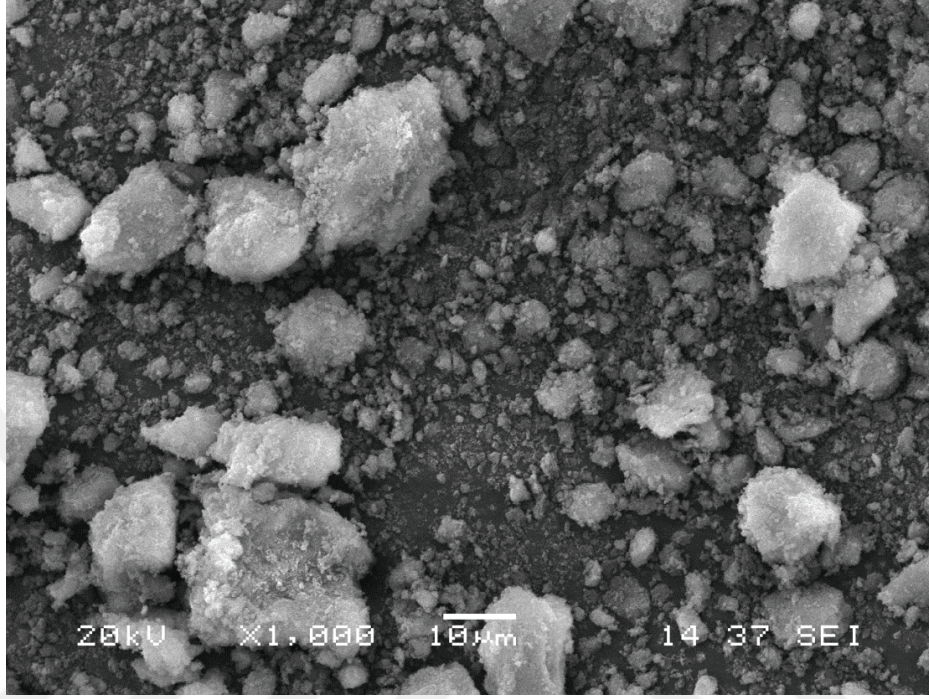


Şekil 8.50. HAP-SP70 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)

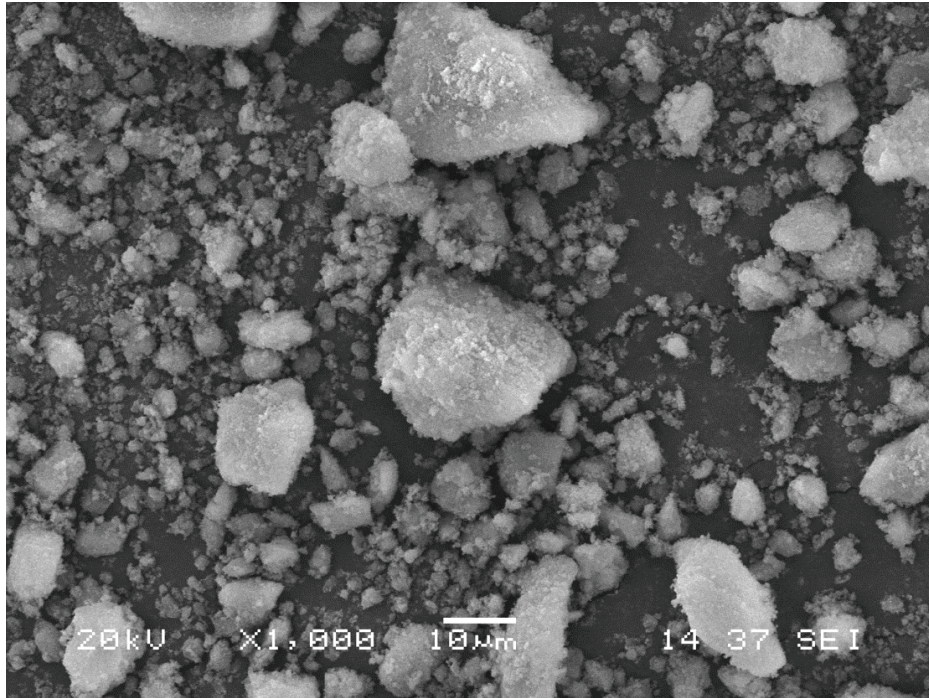


Şekil 8.51. HAP-SPK70 numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×20)

Üretilen HAP-SP70 ve HAP-SPK70 tozlarının taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelemelerinde partiküllerin 0-25 μm büyüklüğünde ve yuvarlak yapıları gözlemlenmiştir (Şekil 8.52., Şekil 8.53.).

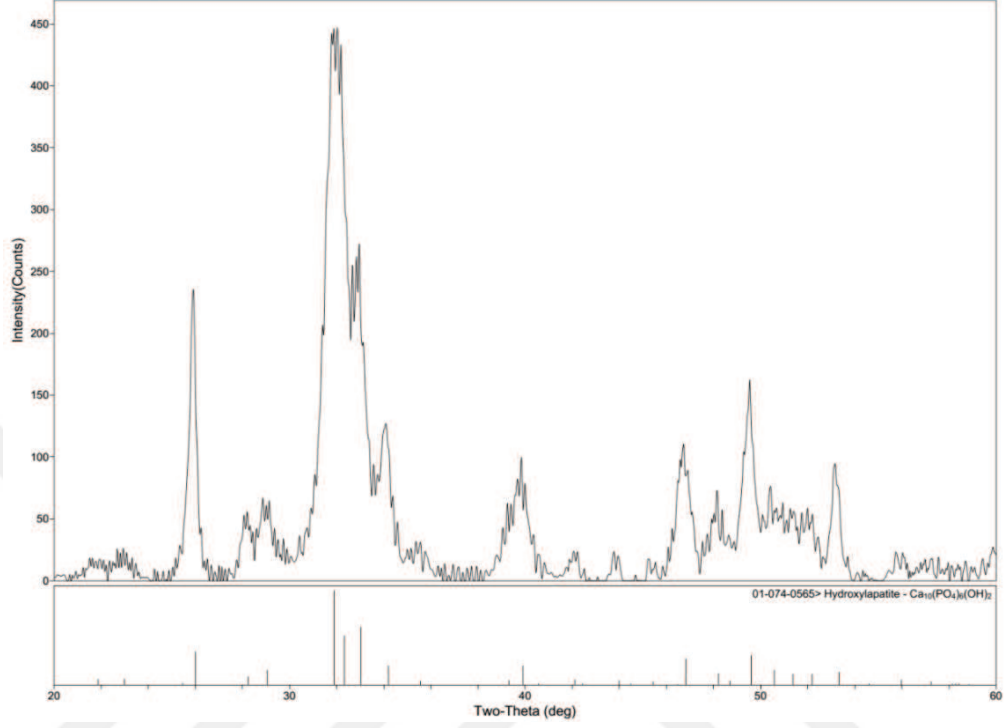


Şekil 8.52. HAP-SP70 numunesine ait SEM görüntüsü

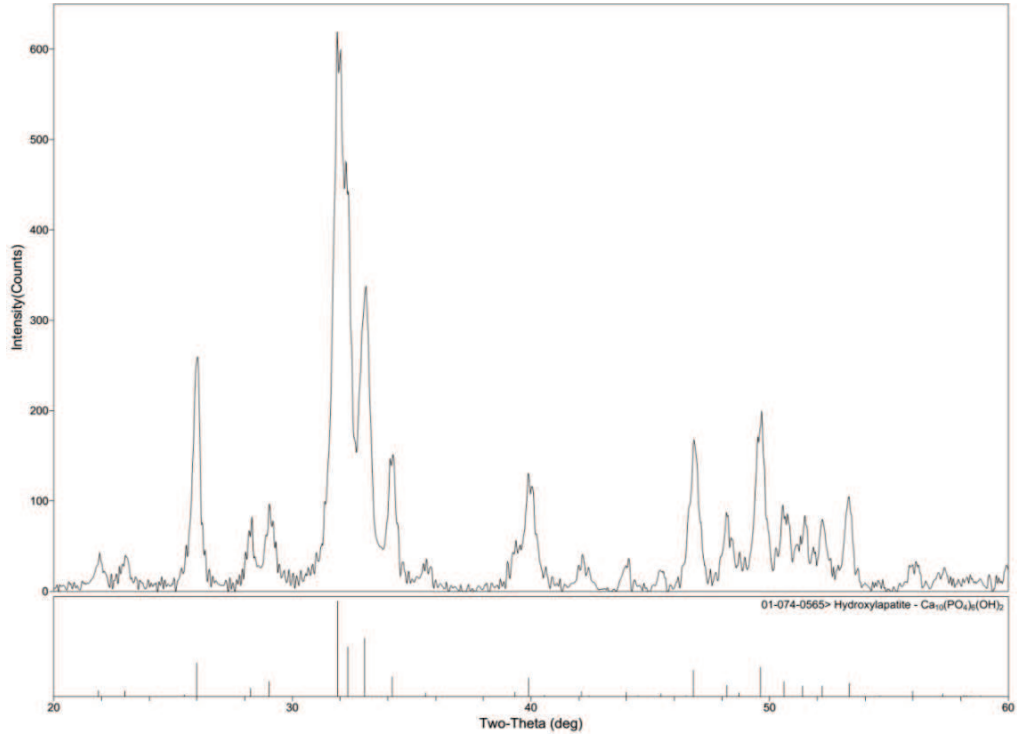


Şekil 8.53. HAP-SPK70 numunesine ait SEM görüntüsü

Üretilen HAP-SP70 ve HAP-SPK70 tozlarının X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunelerin hidroksiapatit fazında olduğu belirlenmiştir (Şekil 8.54., Şekil 8.55.).

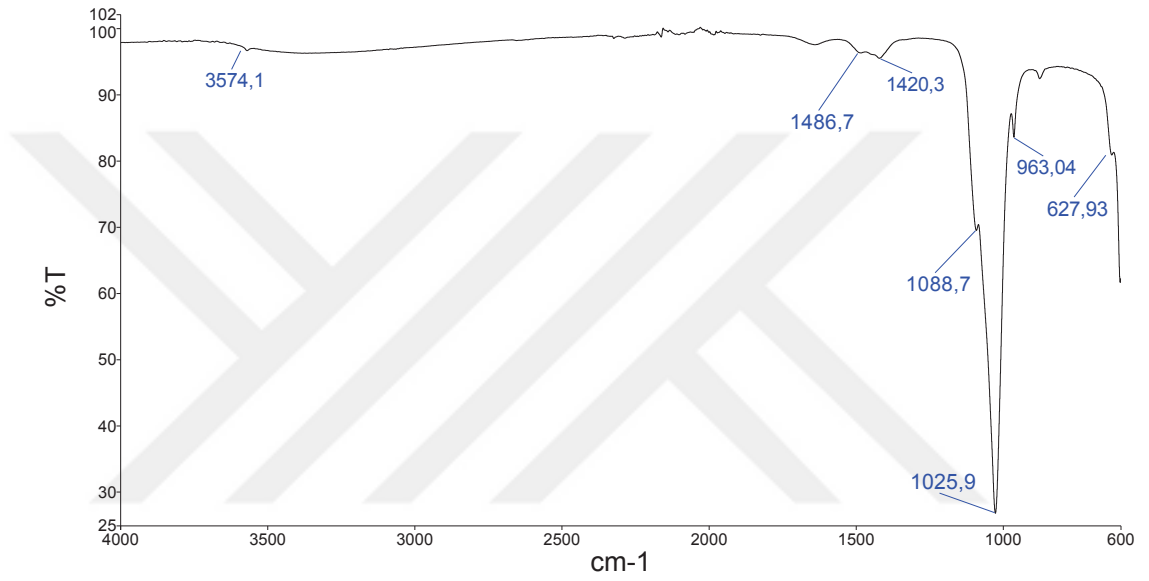


Şekil 8.54. HAP-SP70 numunesine ait XRD analiz sonucu



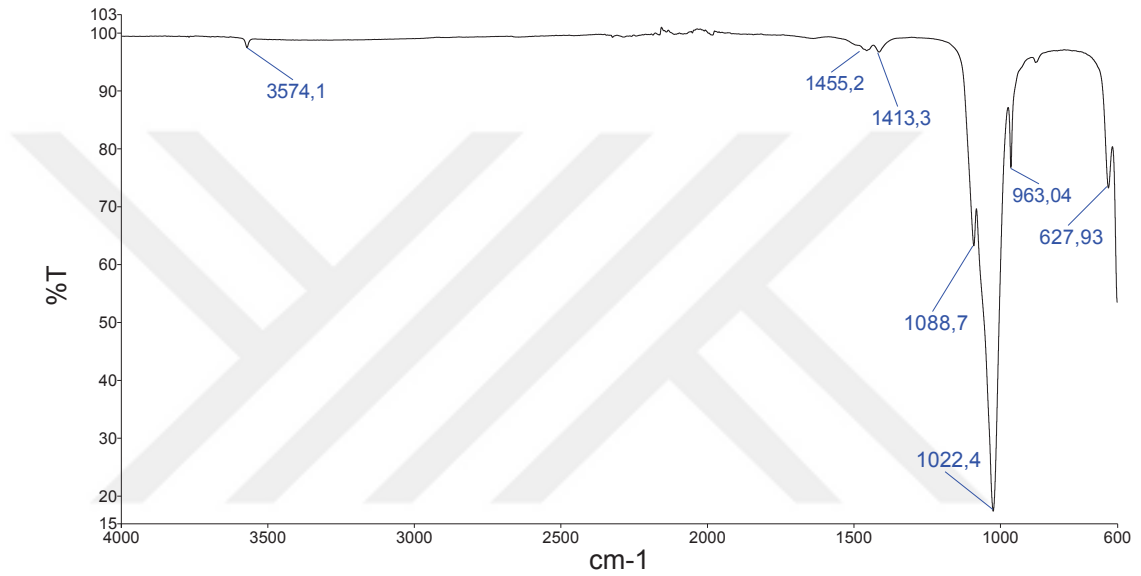
Şekil 8.55. HAP-SPK70 numunesine ait XRD analiz sonucu

HAP-SP70 toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.56.'da sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3574,1 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1025,9 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. HAP-SP70 numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.



Şekil 8.56. HAP-SP70 numunesine ait FTIR spektrumu

HAP-SPK70 toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.57.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3574,1 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. HAP-SPK70 numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.



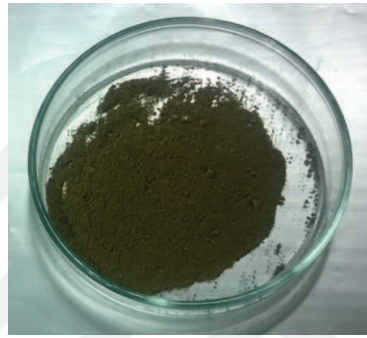
Şekil 8.57. HAP-SPK70 numunesine ait FTIR spektrumu

8.6. Üretilen Gözenekli Hidroksiapatit Tozların Nanogümüş Kaplanması ve Karakterizasyonu

8.6.1. AgHAP-SP70(4,3) hazırlanması ve karakterizasyonu

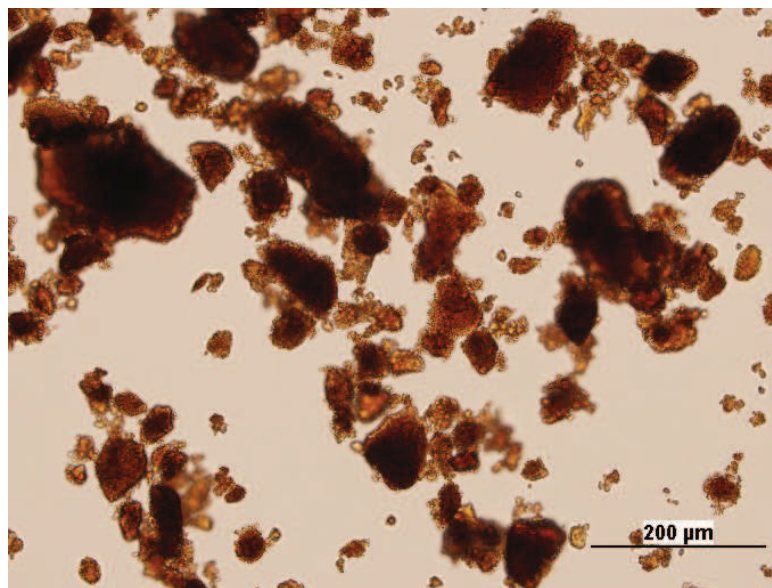
Hassas terazi ile tartılan 0,15 g AgNO_3 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 1 g hidroksiapatit toz (HAP-SP70) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. PDMS'in ilave edilmesiyle çözeltinin renginin açık sarı olduğu gözlemlenmiştir. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler

23 °C’de gerçekleştirilmiştir. Çözelti rengi sarı-kahverengi olarak gözlenmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C’de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin belirgin bir şekilde değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen ürün (%4,3 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.58.).



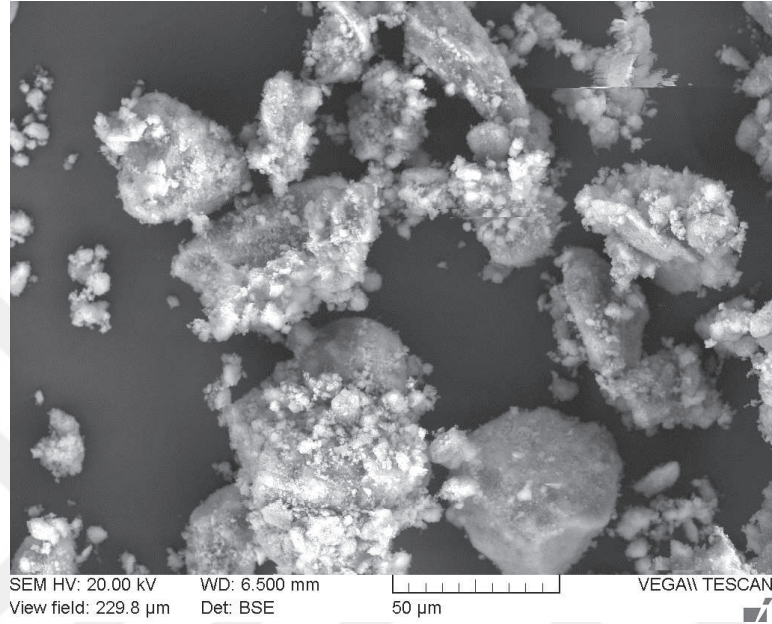
Şekil 8.58. AgHAP-SP70(4,3) tozuna ait genel görünüm

Hazırlanan AgHAP-SP70(4,3) numunesinde nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.59.).

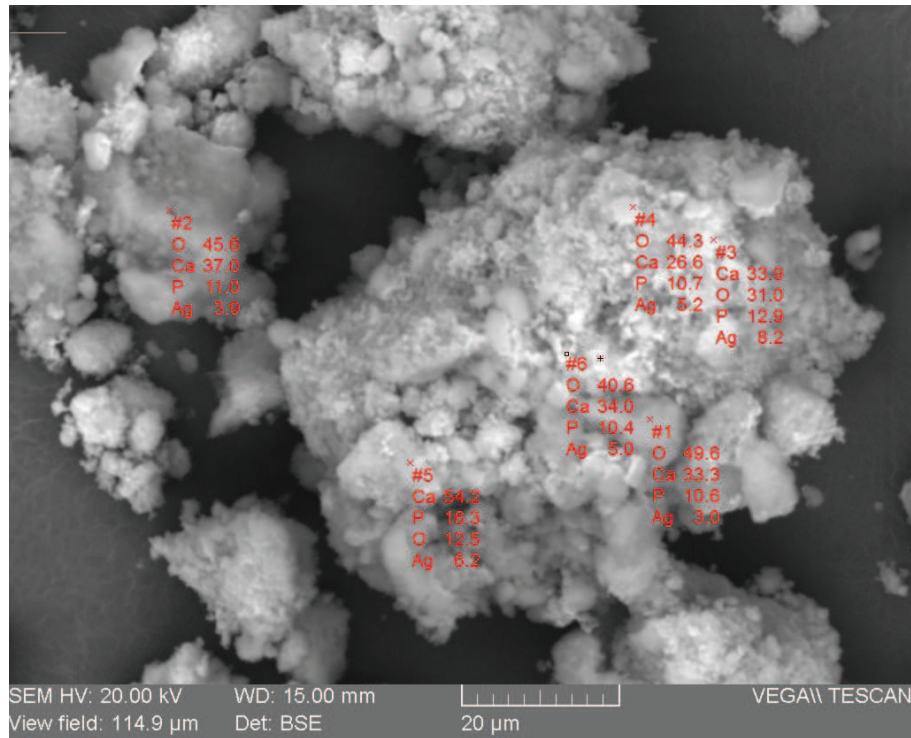


Şekil 8.59. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

AgHAP-SP70(4,3) numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-25 μm büyüklüğünde ve yuvarlak yapılı oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.60.). AgHAP-SP70(4,3) numunesine 6 farklı noktadan noktasal EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.61.).

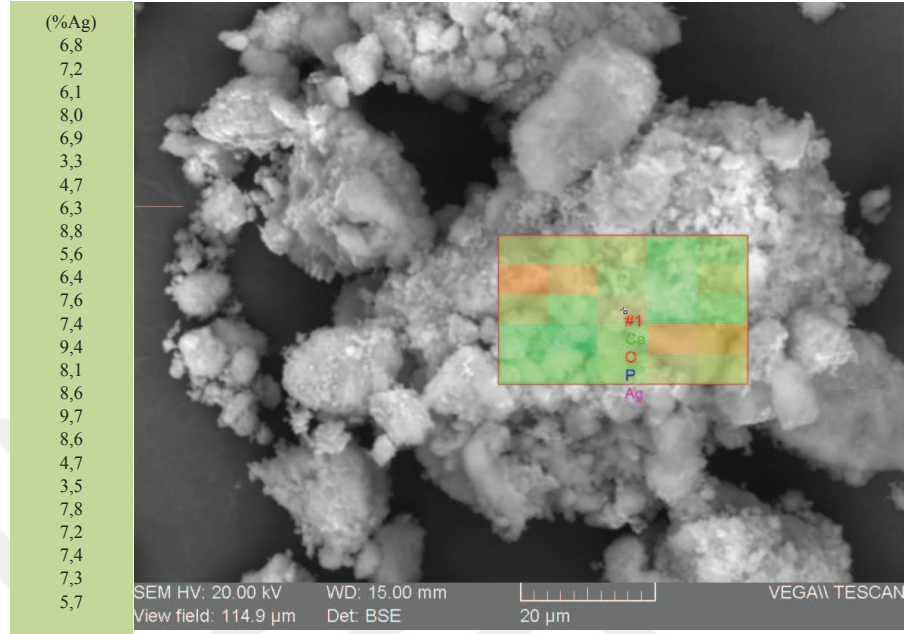


Şekil 8.60. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait SEM görüntüsü



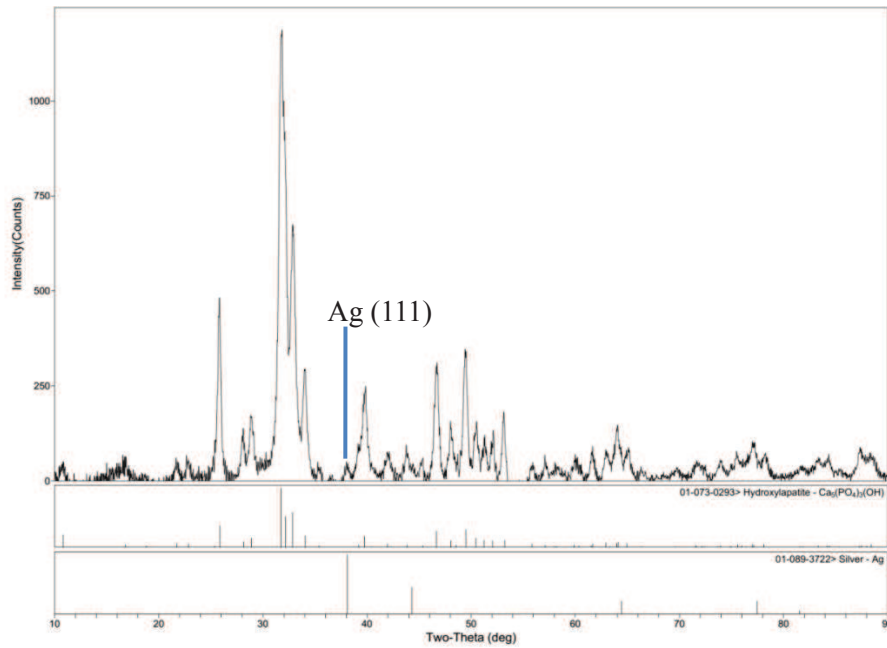
Şekil 8.61. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait noktasal EDX analizi

AgHAP-SP70(4,3) numunesine 25 adet alandan yapılan alansal EDX analizinde ortalama %6,92 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.62.).



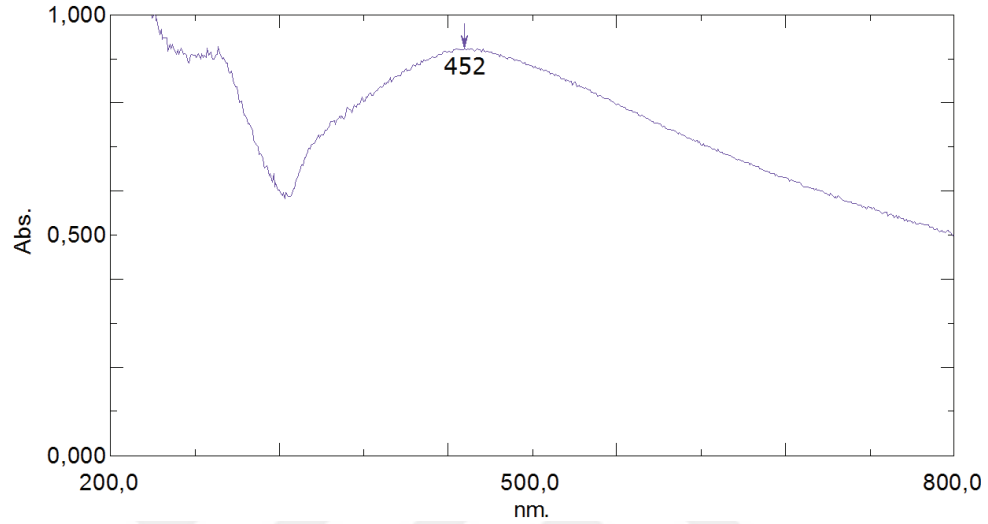
Şekil 8.62. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait alansal EDX analizi

Üretilen AgHAP-SP70(4,3) tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu ve nano Ag kristali içerdiği belirlenmiştir (Şekil 8.63.).



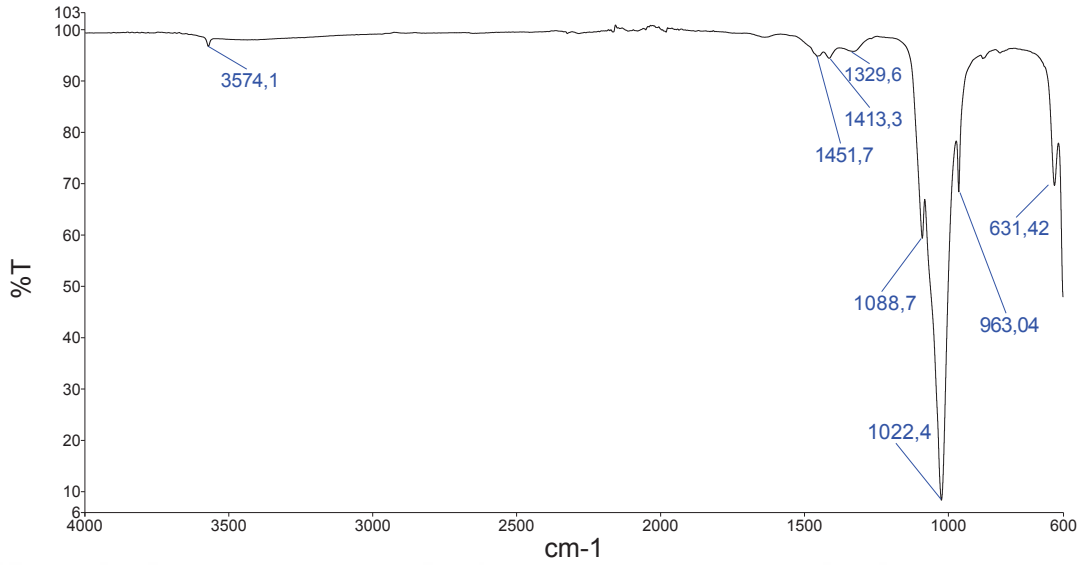
Şekil 8.63. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait XRD analiz sonucu

AgHAP-SP70(4,3) toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 452 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.64.).



Şekil 8.64. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait UV-vis. spektrumu

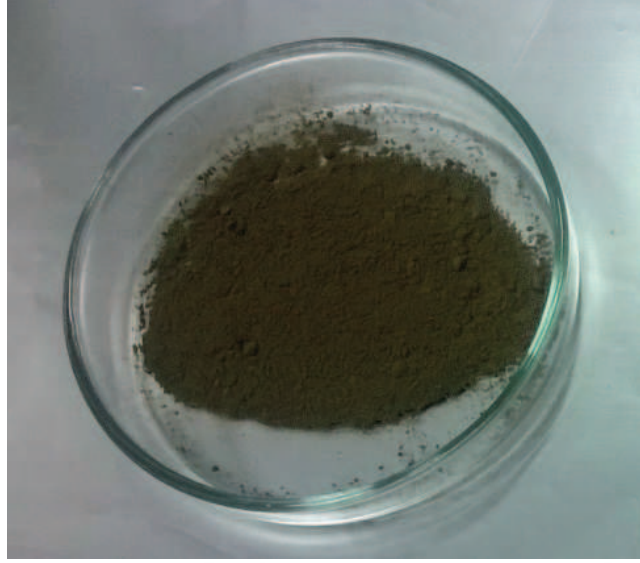
AgHAP-SP70(4,3) toz numunesinin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.65.'te sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3574,1 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $631,42 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlemlenmiştir.



Şekil 8.65. AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait FTIR spektrumu

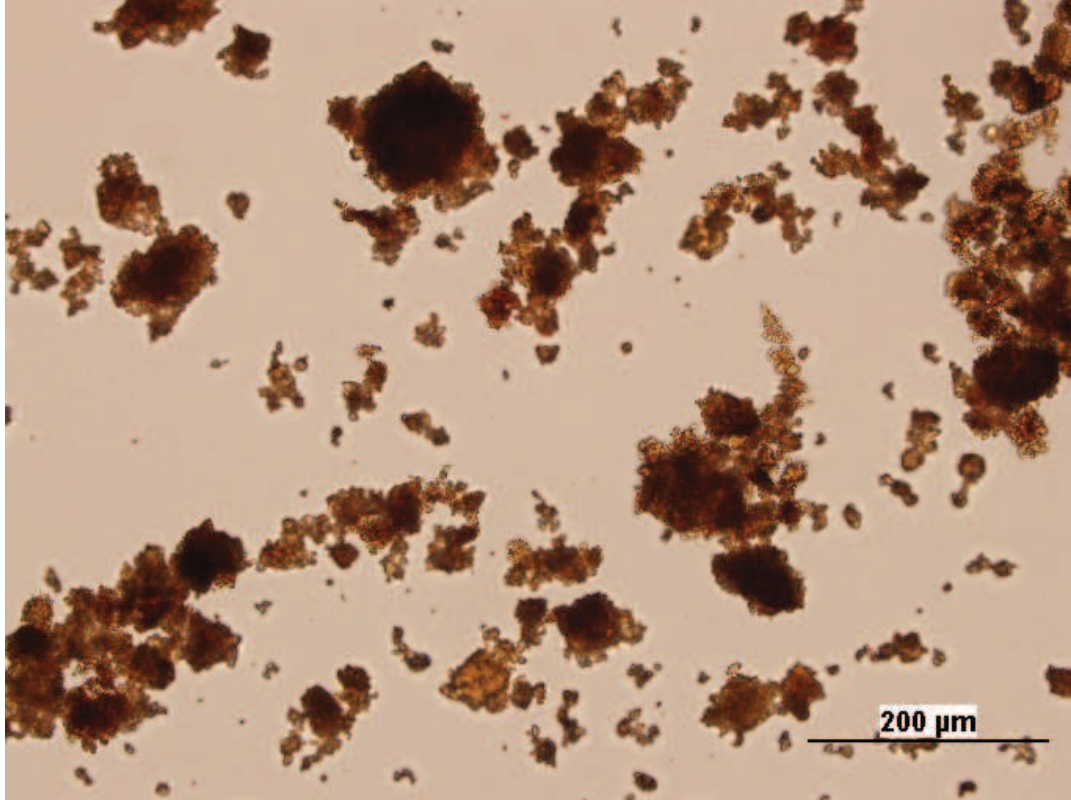
8.6.2. AgHAP-SPK70(6,36) hazırlanması ve karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 0,15 g AgNO₃ 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 1 g hidroksiapatit toz (HAP-SPK70) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. PDMS'in ilave edilmesiyle çözeltinin renginin sarı olduğu gözlemlenmiştir. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirilmiştir. Çözelti rengi sarı-açık kahverengi olarak gözlenmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin belirgin bir şekilde değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen ürün (%6,36 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.66.).



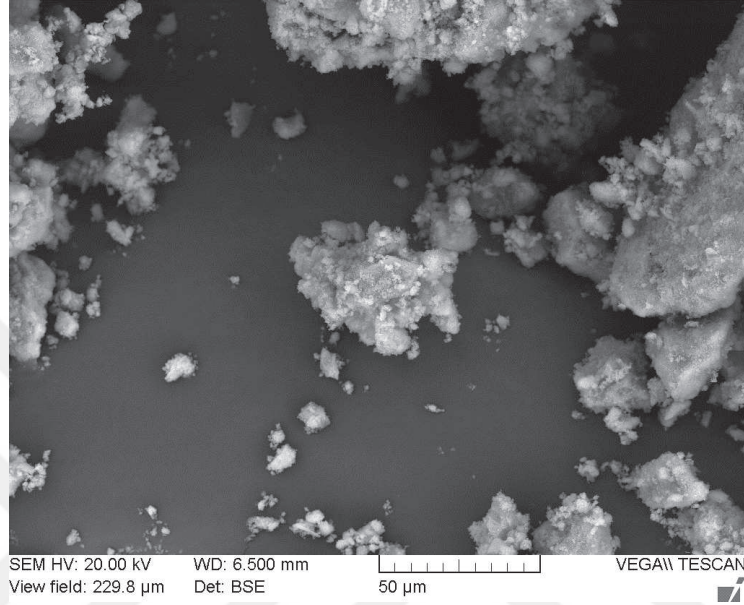
Şekil 8.66. AgHAP-SPK70(6,36) tozuna ait genel görünüm

Hazırlanan AgHAP-SPK70(6,36) numunesinde nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.67.).

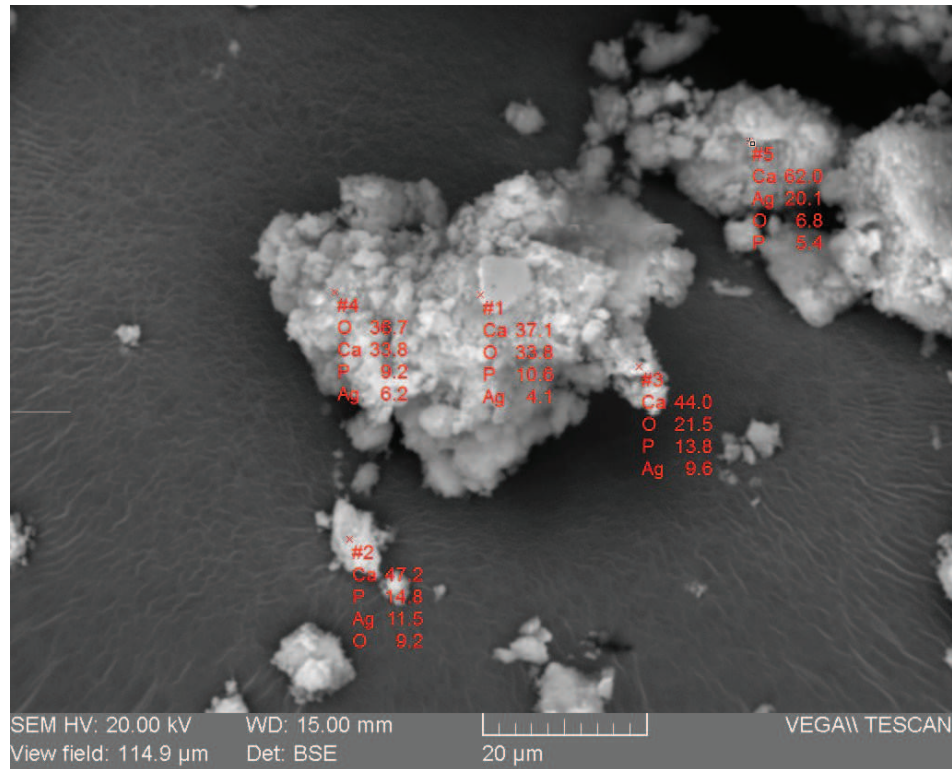


Şekil 8.67. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

AgHAP-SPK70(6,36) numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-25 μm büyüklüğünde ve yuvarlak yapılı oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.68.). AgHAP-SPK70(6,36) numunesine 5 farklı noktadan noktasal EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.69.).

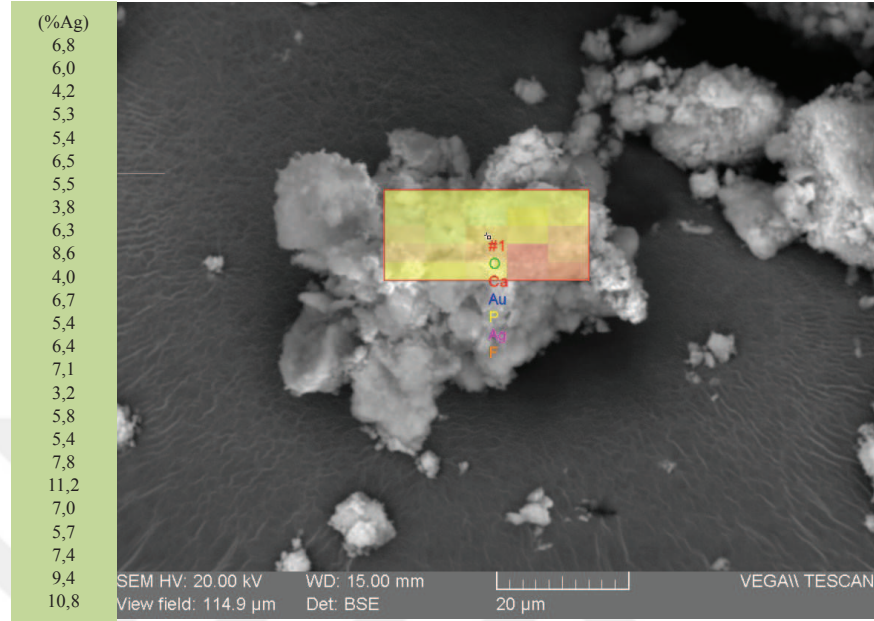


Şekil 8.68. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait SEM görüntüsü



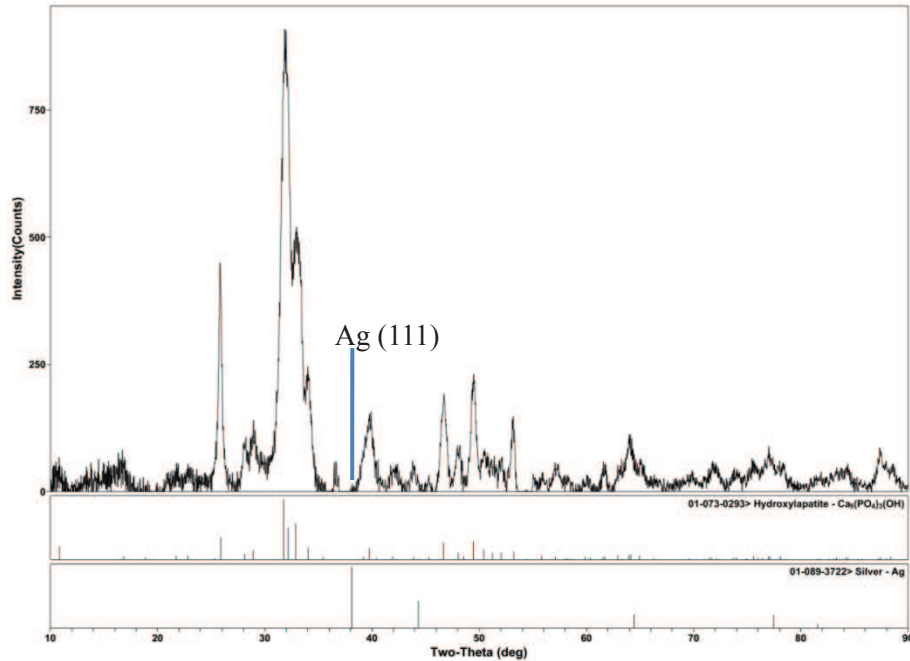
Şekil 8.69. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait noktasal EDX analizi

AgHAP-SPK70(6,36) numunesine 25 adet alandan yapılan alansal EDX analizinde ortalama %6,46 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.70.).



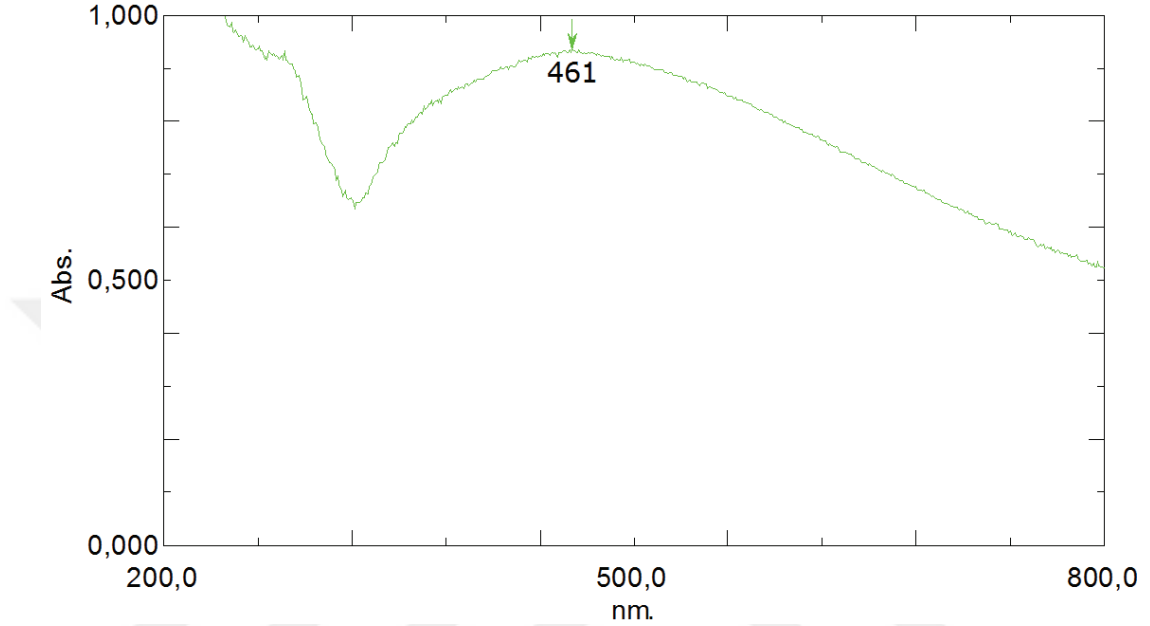
Şekil 8.70. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait alansal EDX analizi

Üretilen AgHAP-SPK70(6,36) tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu ve nano Ag kristali içerdiği belirlenmiştir (Şekil 8.71.).



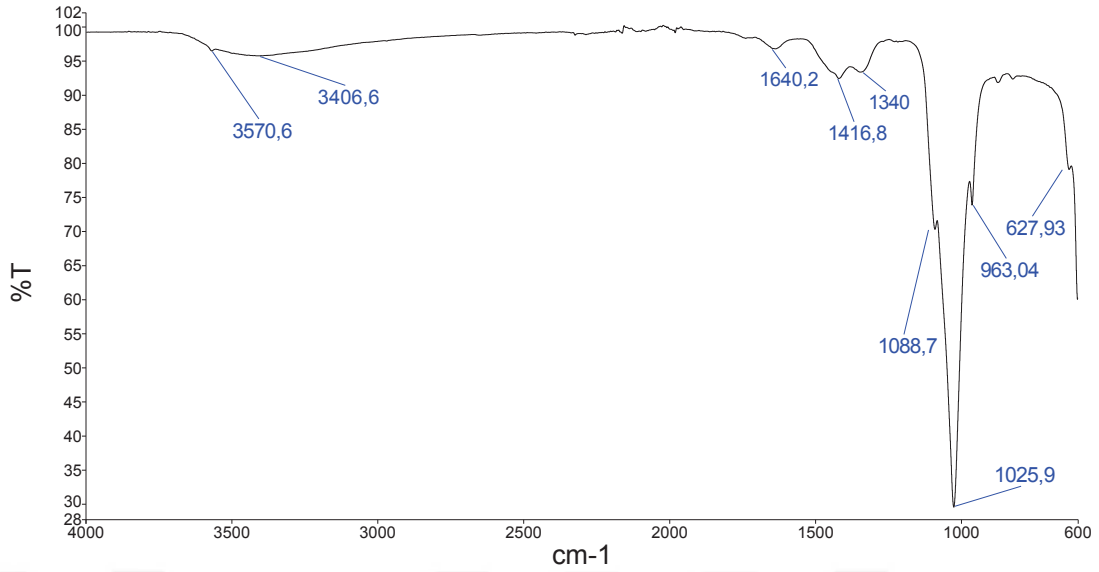
Şekil 8.71. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait XRD analiz sonucu

AgHAP-SPK70(6,36) toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 461 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.72.).



Şekil 8.72. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait UV-vis. spektrumu

AgHAP-SPK70(6,36) toz numunesinin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.73.'te sunulmuştur. Numunesinin FTIR spektrumundaki $3570,6 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1025,9 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlemlenmiştir.



Şekil 8.73. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait FTIR spektrumu

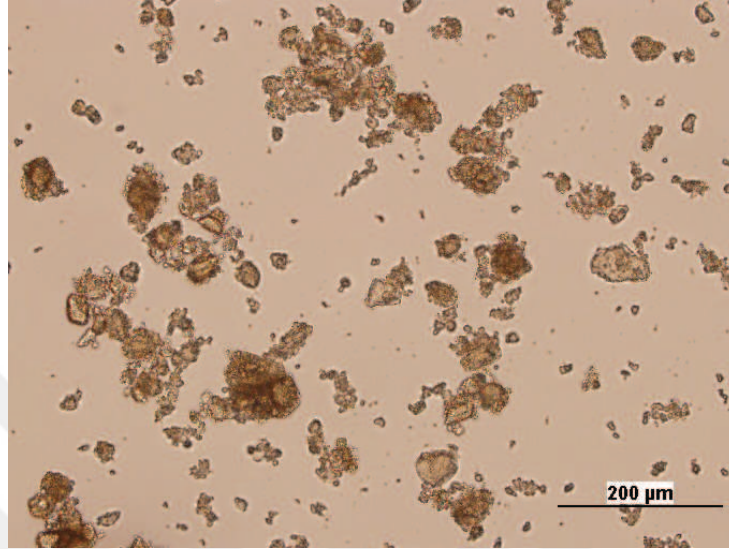
8.6.3. AgHAP-SP70(0,46) hazırlanması ve karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 0,015 g AgNO₃ 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 1 g hidroksiapatit toz (HAP-SP70) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirilmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen ürün (%0,46 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.74.).



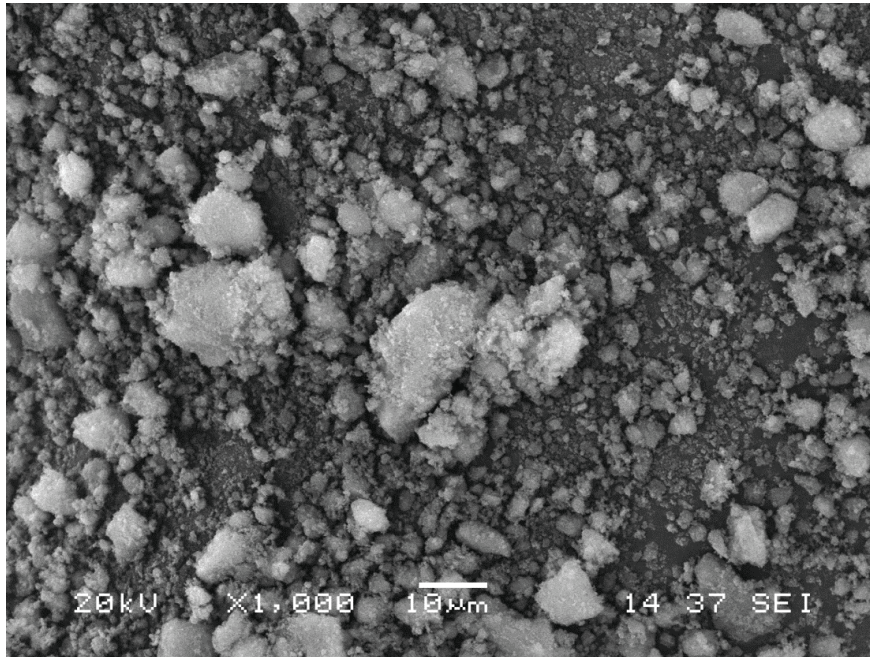
Şekil 8.74. AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C

Hazırlanan AgHAP-SP70(0,46) numunesinde nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.75.).



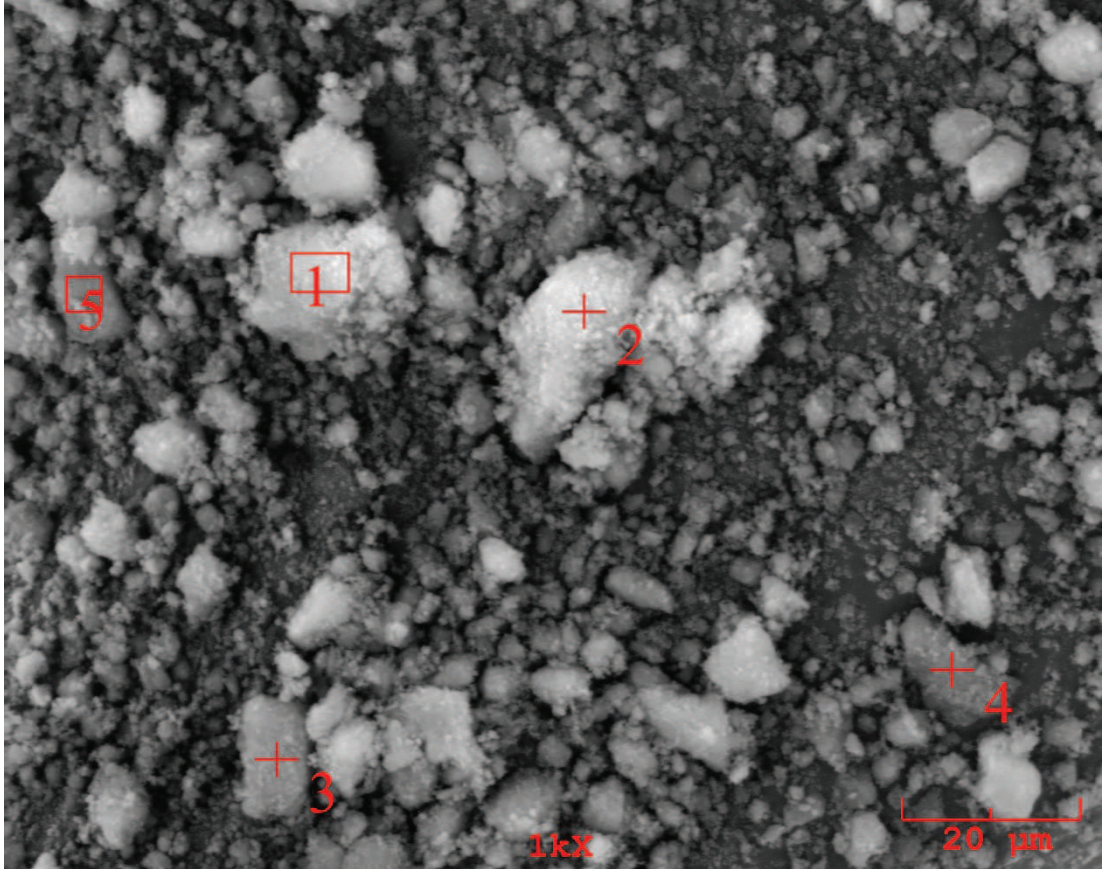
Şekil 8.75. AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

AgHAP-SP70(0,46) numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-25 µm büyüklüğünde ve yuvarlak yapılı oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.76.).

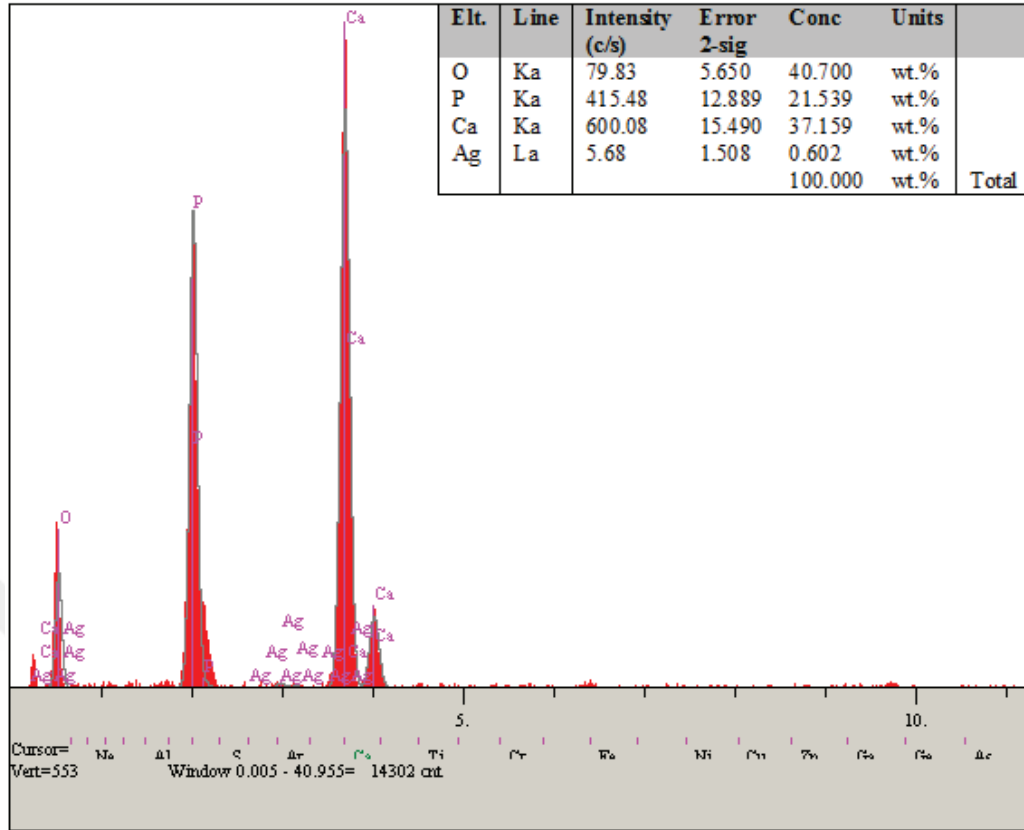


Şekil 8.76. AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait SEM görüntüsü

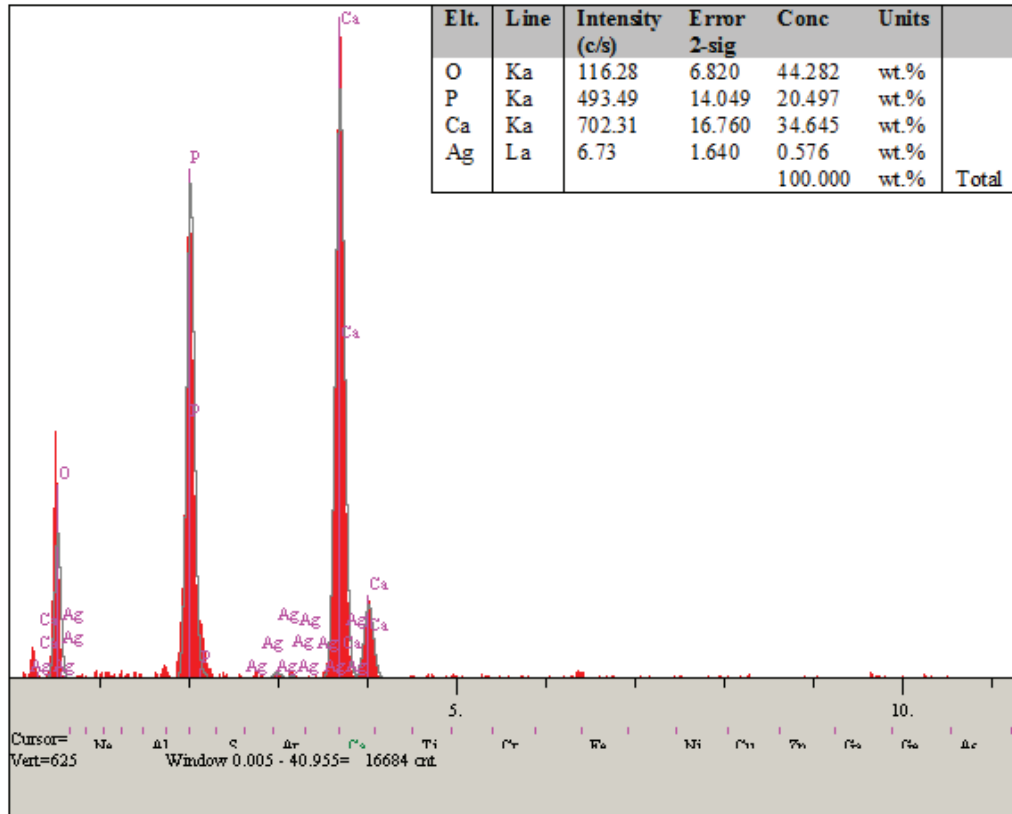
AgHAP-SP70(0,46) numunesine 3 farklı noktadan ve 2 farklı alandan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.77.). 2 farklı alandan yapılan EDX analizi sonucunda (1 nolu alan %0,602 Ag ve 5 nolu alan %0,772 Ag) ortalama %0,687 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.78., Şekil 8.82.). 3 farklı noktaya (2 nolu, 3 nolu ve 4 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.79. - Şekil 8.81.'de verilmiştir.



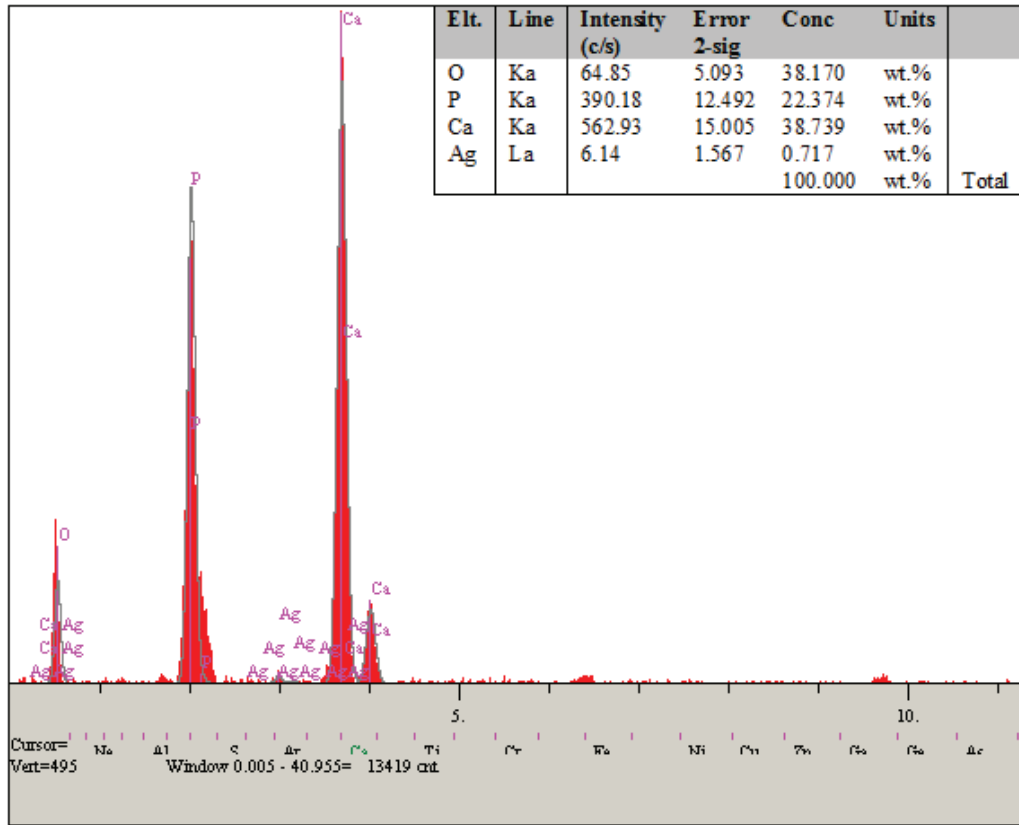
Şekil 8.77. AgHAP-SP70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alanlar(1 ve 5) ve noktalar(2,3 ve 4)



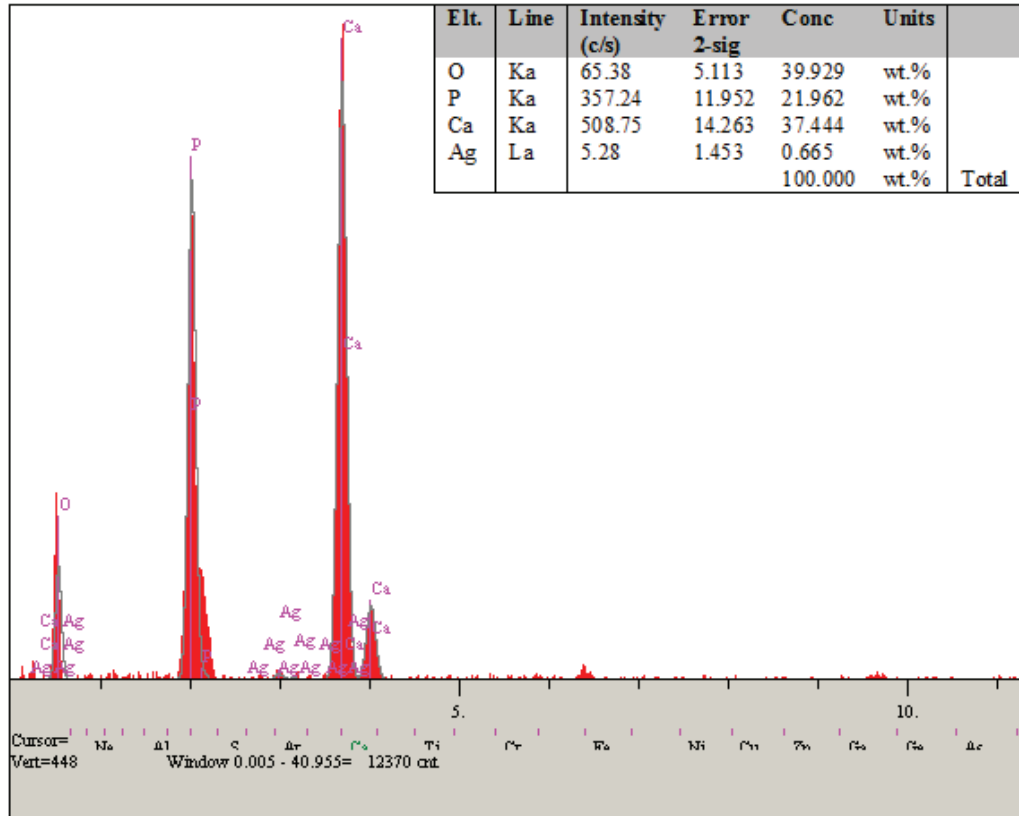
Şekil 8.78. AgHAP-SP70(0,46) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları



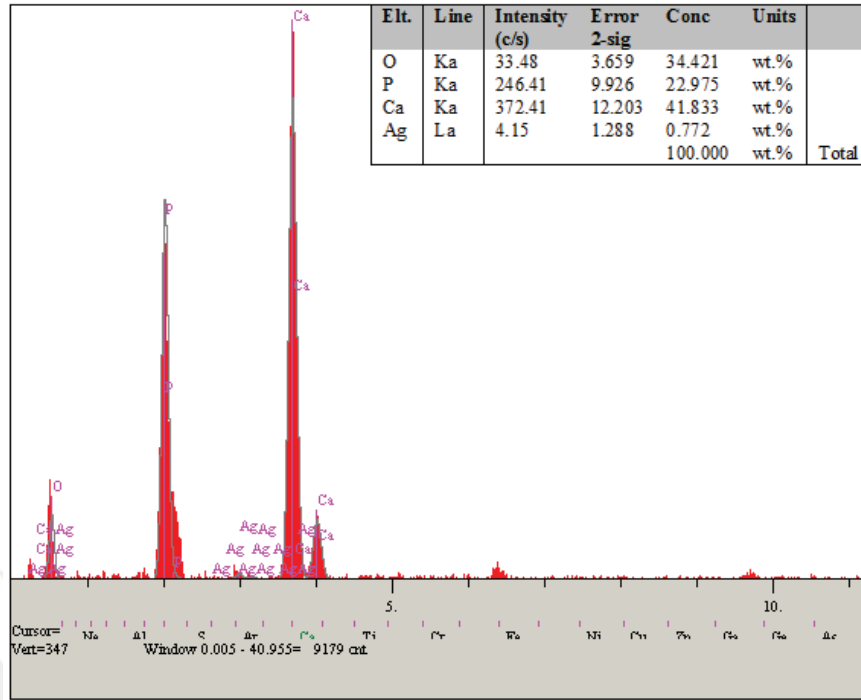
Şekil 8.79. AgHAP-SP70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları



Şekil 8.80. AgHAP-SP70(0,46) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

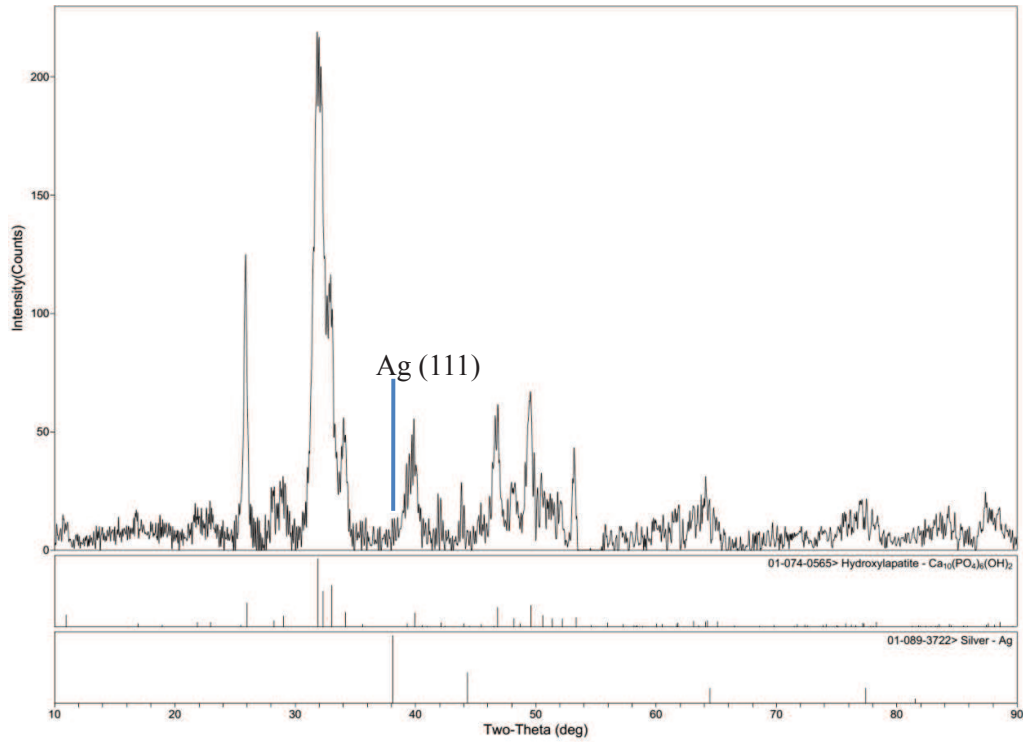


Şekil 8.81. AgHAP-SP70(0,46) numunesi 4 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları



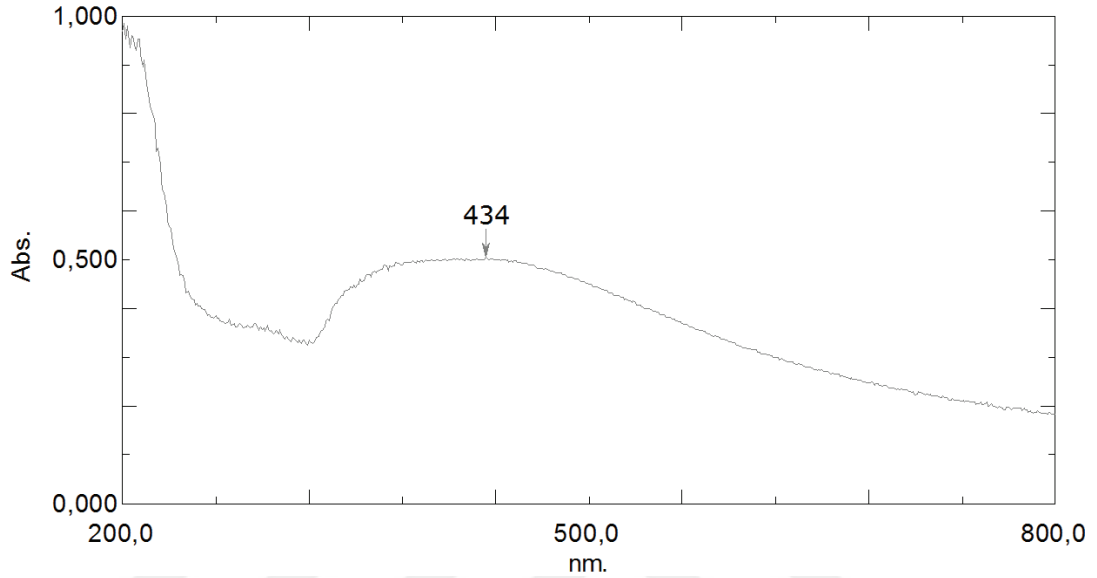
Şekil 8.82. AgHAP-SP70(0,46) numunesi 5 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

Üretilen AgHAP-SP70(0,46) tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu ve nano Ag kristali içerdiği belirlenmiştir (Şekil 8.83.).



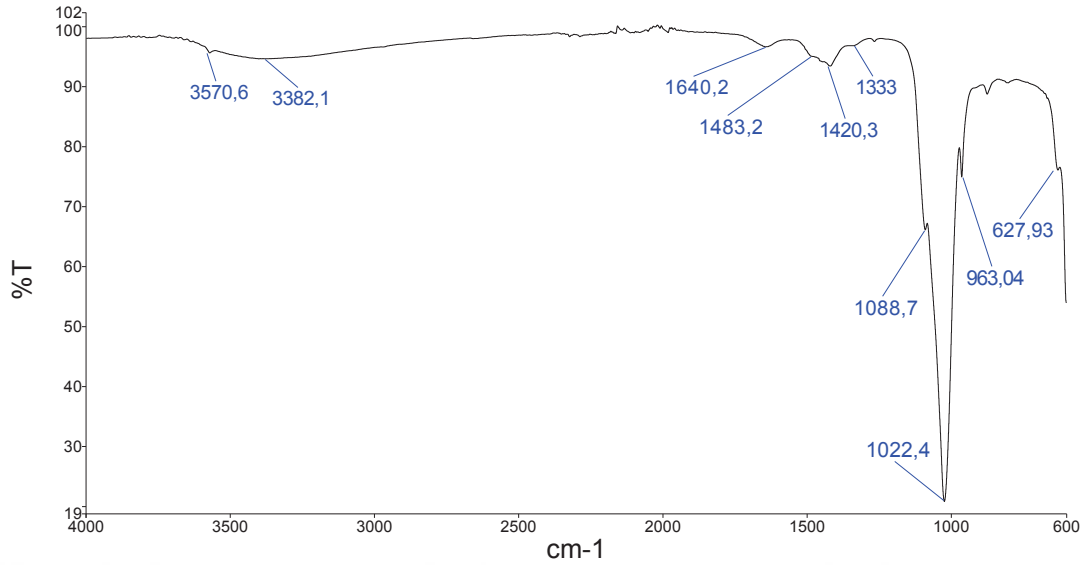
Şekil 8.83. AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait XRD analizi sonucu

AgHAP-SP70(0,46) toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 434 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.84.).



Şekil 8.84. AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait UV-vis. spektrumu

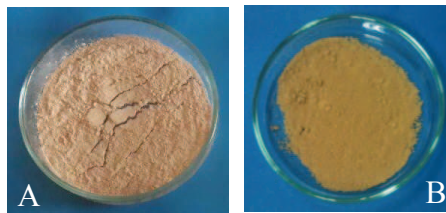
AgHAP-SP70(0,46) toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.85.'de sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3570,6 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.



Şekil 8.85. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait FTIR spektrumu

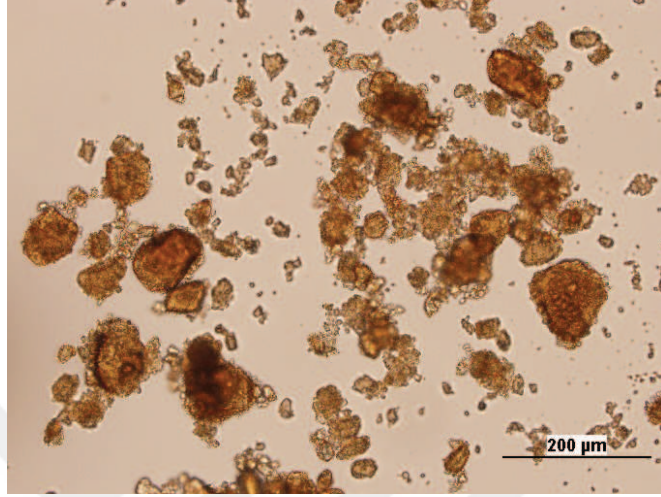
8.6.4. AgHAP-SPK70(0,46) hazırlanması ve karakterizasyonu

Hassas terazi ile tartılan 0,015 g AgNO_3 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 1 g hidroksiapatit toz (HAP-SPK70) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 5-10 dakikalık karıştırma işleminin ardından 5 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirilmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. Partiküller 20 mL aseton ile karıştırılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen ürün (%0,46 Ag) ağzı kapalı bir kapta ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.86.).



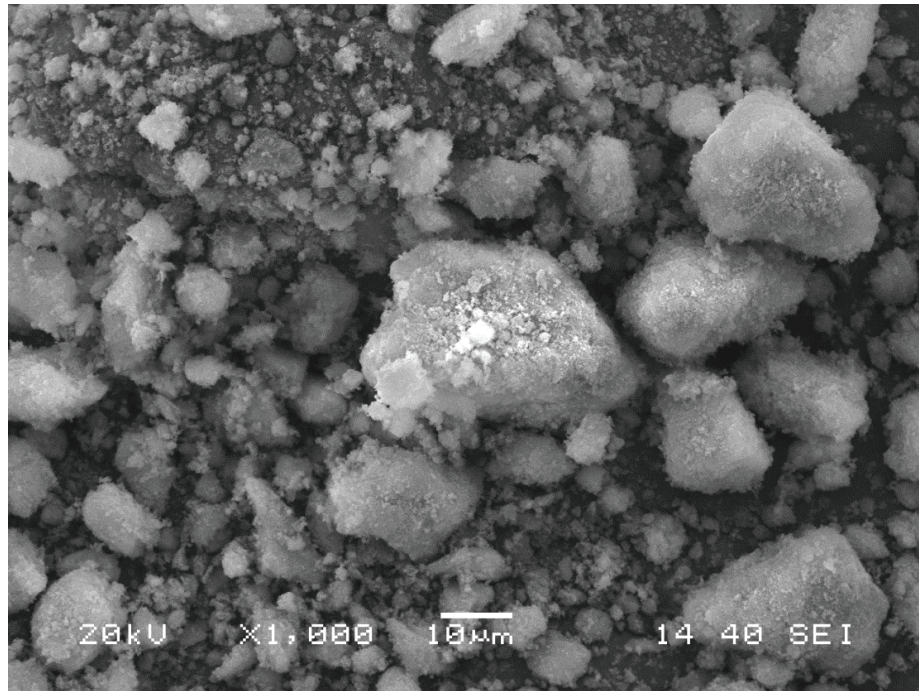
Şekil 8.86. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C

Hazırlanan AgHAP-SPK70(0,46) numunesinde nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.87.).



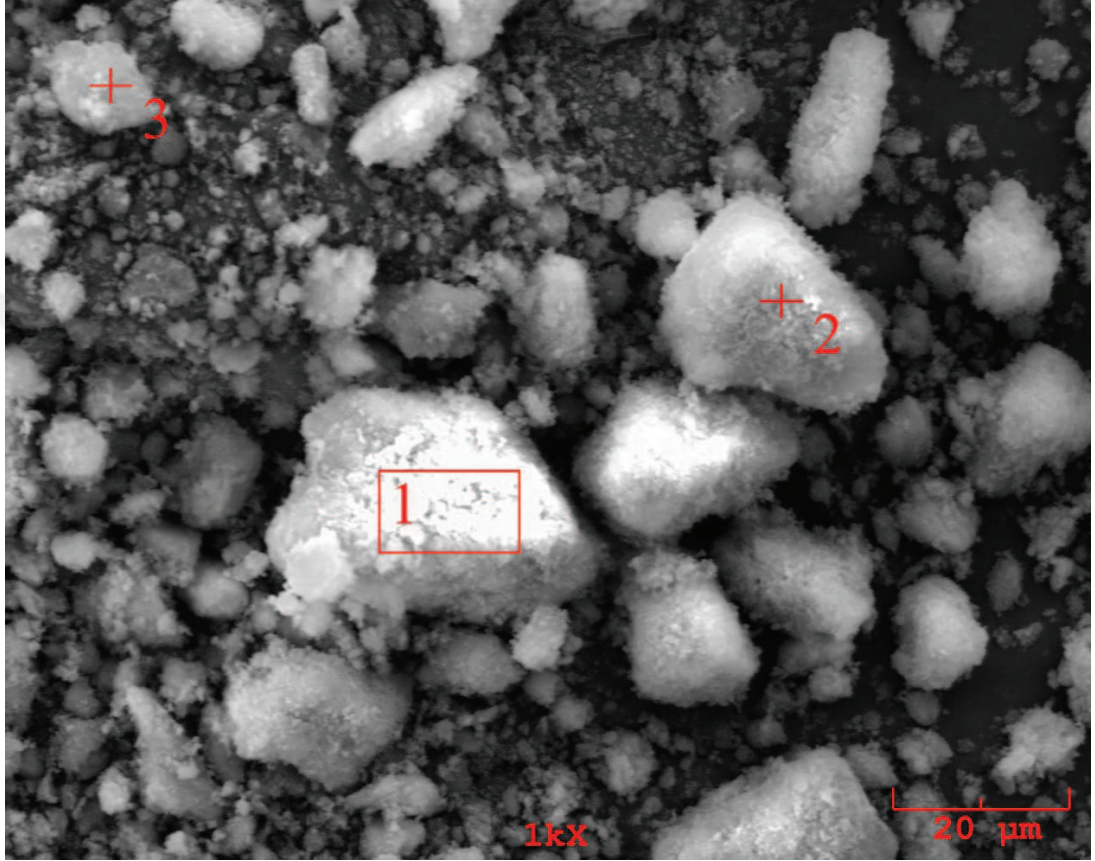
Şekil 8.87. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

AgHAP-SPK70(0,46) numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-25 µm büyüklüğünde ve yuvarlak yapıları gözlenmiştir (Şekil 8.88.).

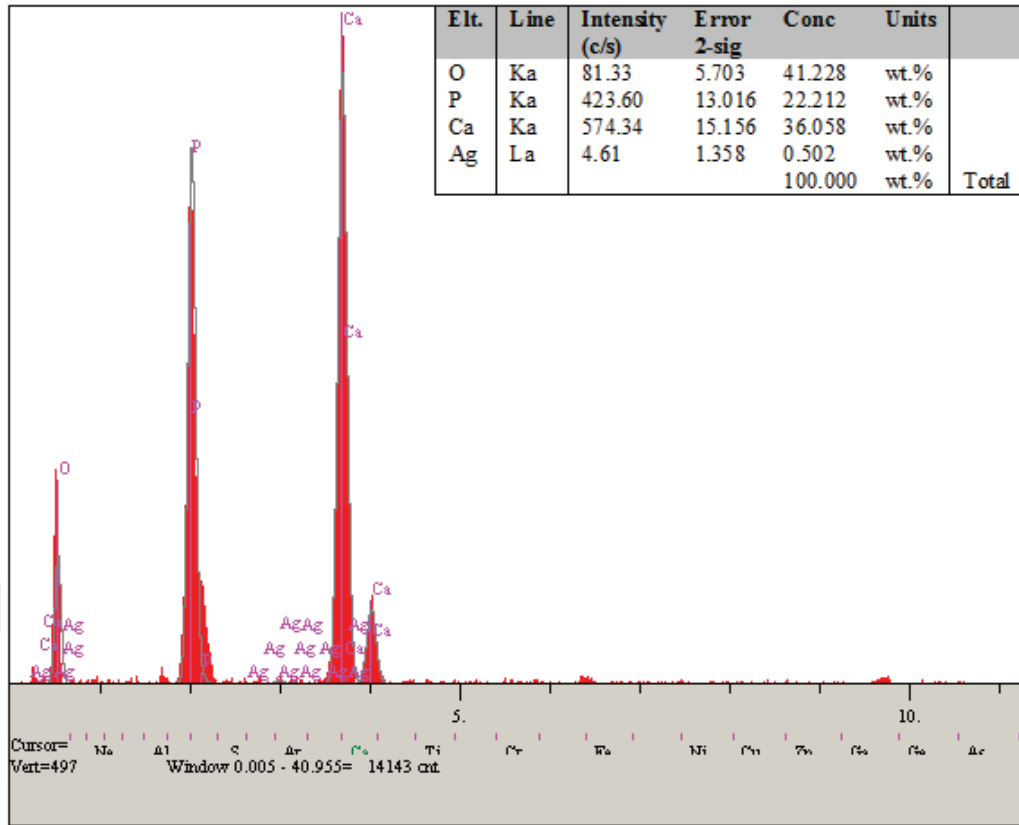


Şekil 8.88. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait SEM görüntüsü

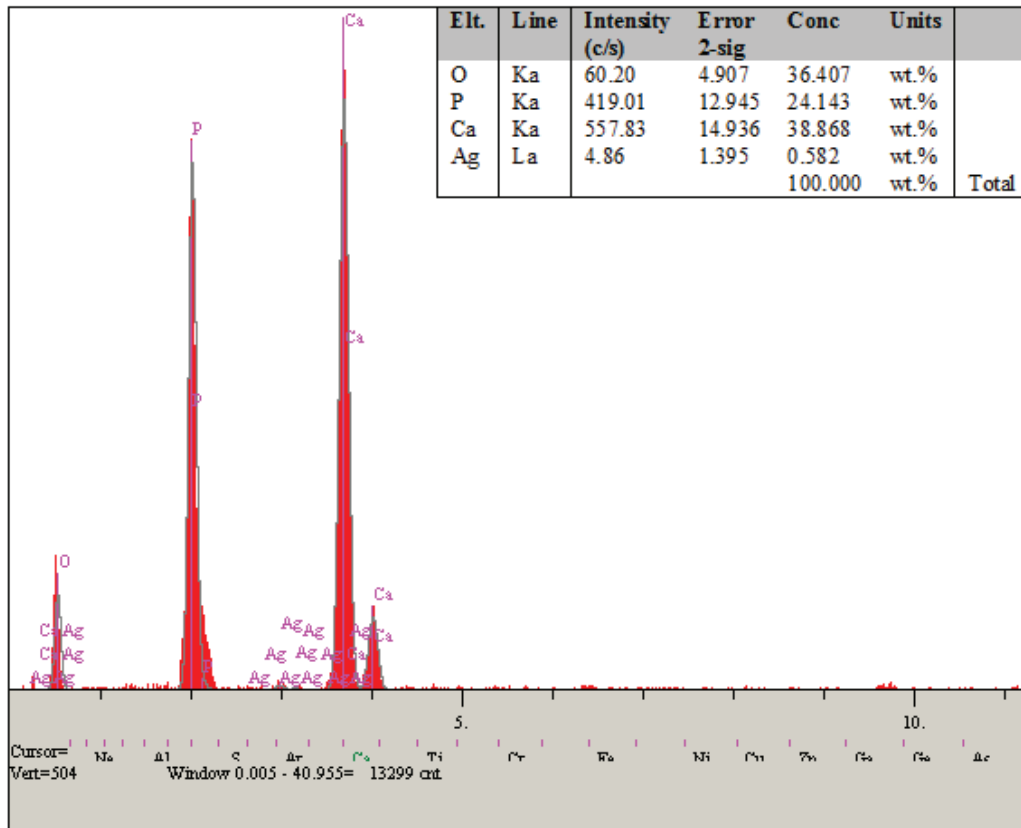
AgHAP-SPK70(0,46) numunesine 2 farklı noktadan ve 1 adet alandan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.89.). Alandan (1 nolu alan) yapılan EDX analizi sonucunda %0,502 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.90.). 2 farklı noktaya (2 nolu ve 3 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.91., Şekil 8.92.'de verilmiştir.



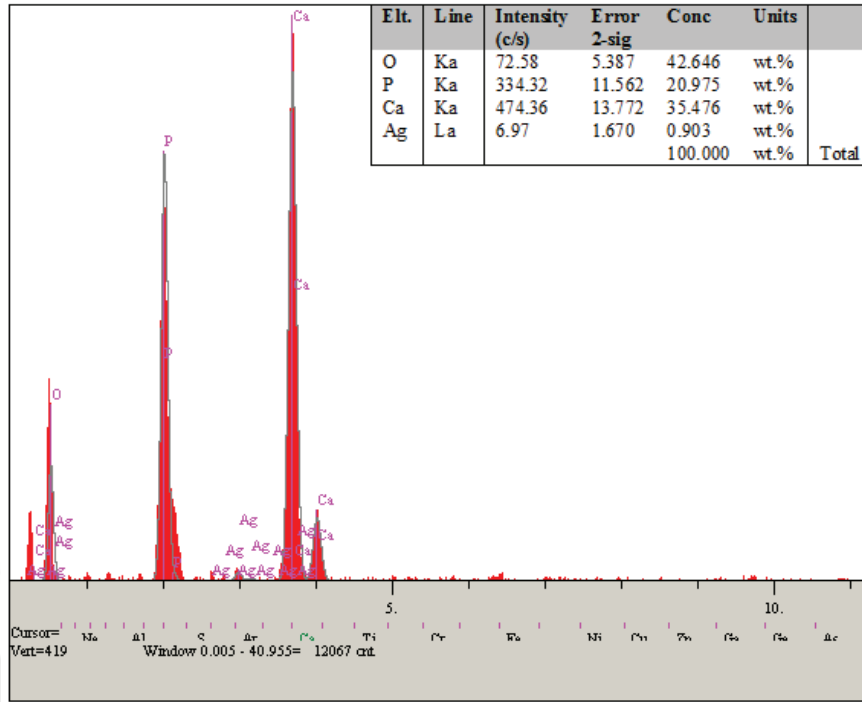
Şekil 8.89. AgHAP-SPK70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alan(1) ve noktalar(2 ve 3)



Şekil 8.90. AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

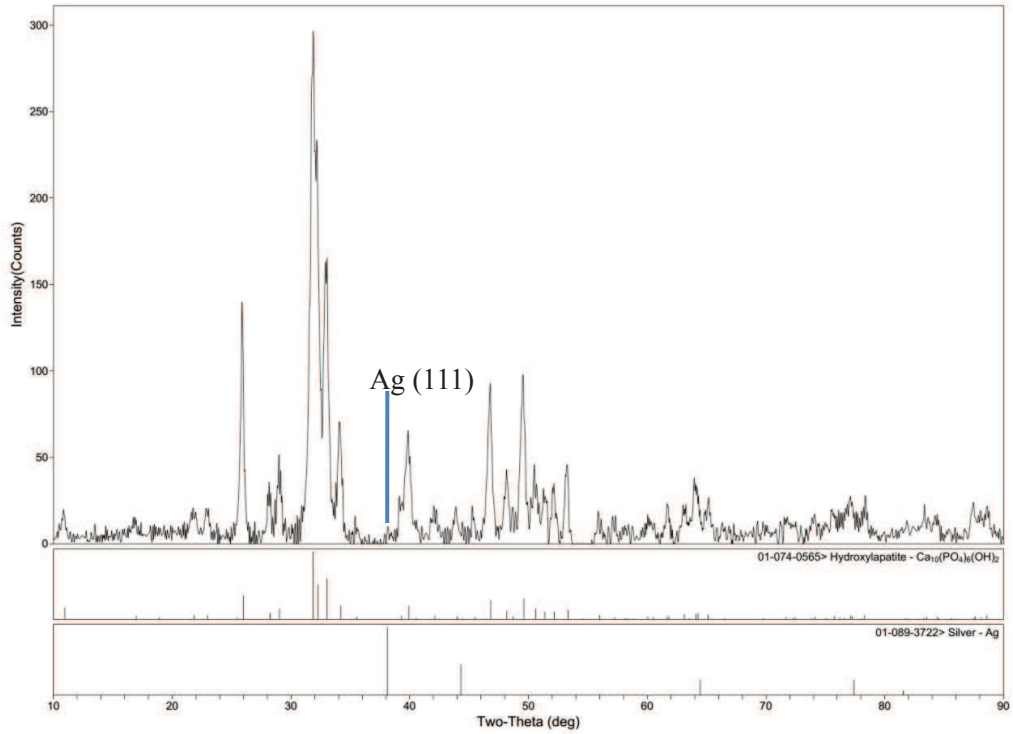


Şekil 8.91. AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları



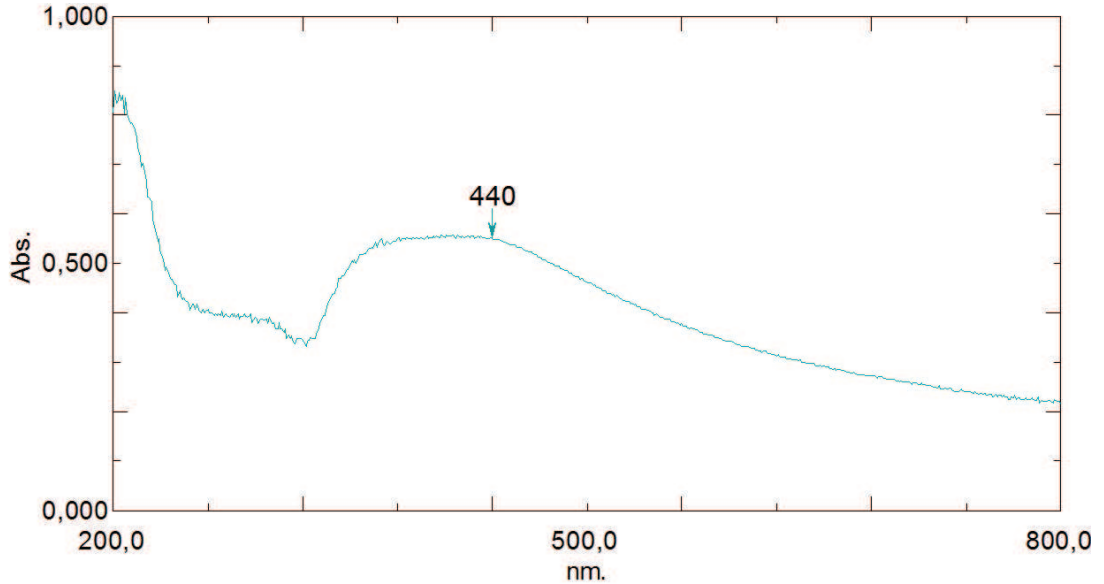
Şekil 8.92. AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

Üretilen AgHAP-SPK70(0,46) tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu ve nano Ag kristali içerdiği belirlenmiştir (Şekil 8.93.).



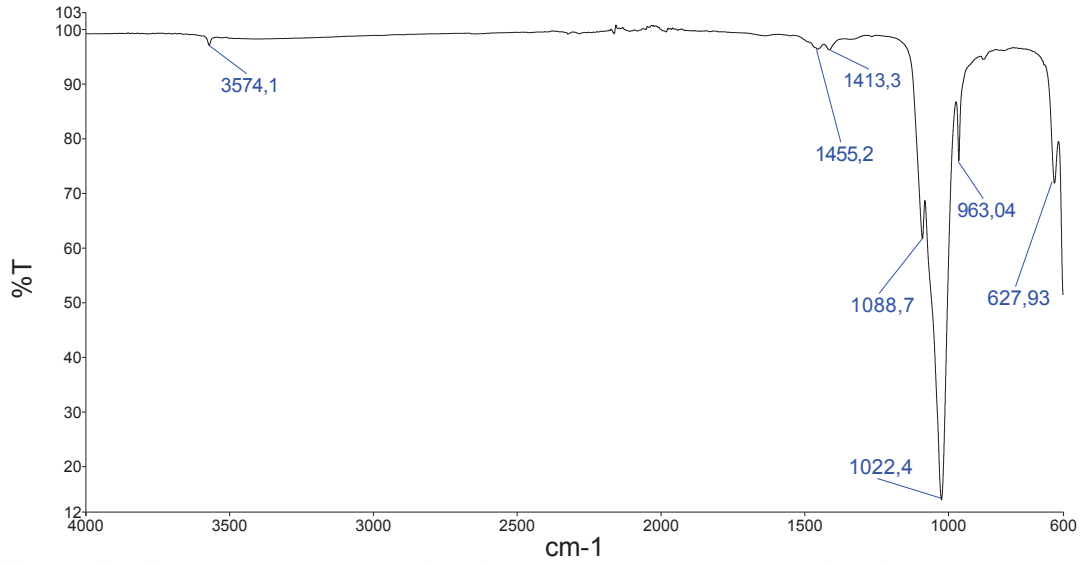
Şekil 8.93. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait XRD analiz sonucu

AgHAP-SPK70(0,46) toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 440 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.94.).



Şekil 8.94. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait UV-vis. spektrumu

AgHAP-SPK70(0,46) toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.95.'te sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3574,1 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.

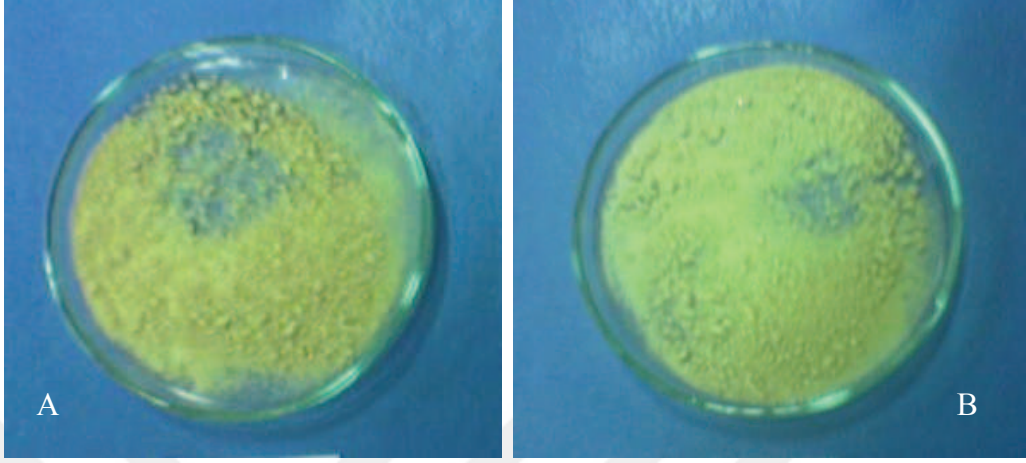


Şekil 8.95. AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait FTIR spektrumu

8.7. AgHAP-S(0,09) Hazırlanması ve Karakterizasyonu (POX İçeren Çözelti Kullanılarak Nanogümüş Kaplanması İşlemi)

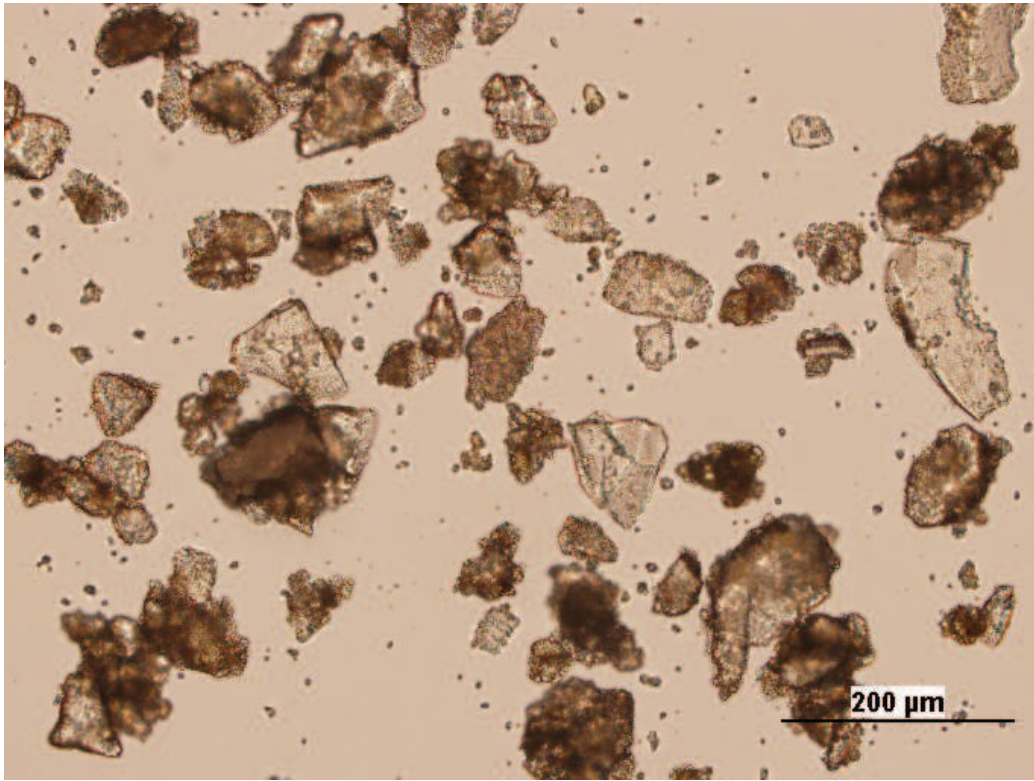
Hassas terazi ile tartılan 0,5 g POX 10 mL asetonda çözülmüştür (%5(w/v) POX-aseton çözeltisi). Hassas terazi ile tartılan 0,015 g AgNO₃ 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 1 g hidroksiapatit toz (HAP-S) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 30 sn sonra 5 mL %5(w/v) POX-aseton çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirilmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. 20 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. 30 dakika bekletilmiştir. Üst fazın renginin değişmediği ancak bulanık olduğu gözlemlenmiştir. Üst faz dekante edilmiştir. 20 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. 30 dakika bekletilmiştir. Üst fazın renginin değişmediği ancak bulanık olduğu gözlemlenmiştir. Üst faz dekante edilmiştir. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partikülerin renginin değiştiği

gözenmiştir. Elde edilen ürün (%0,09 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 8.96.).



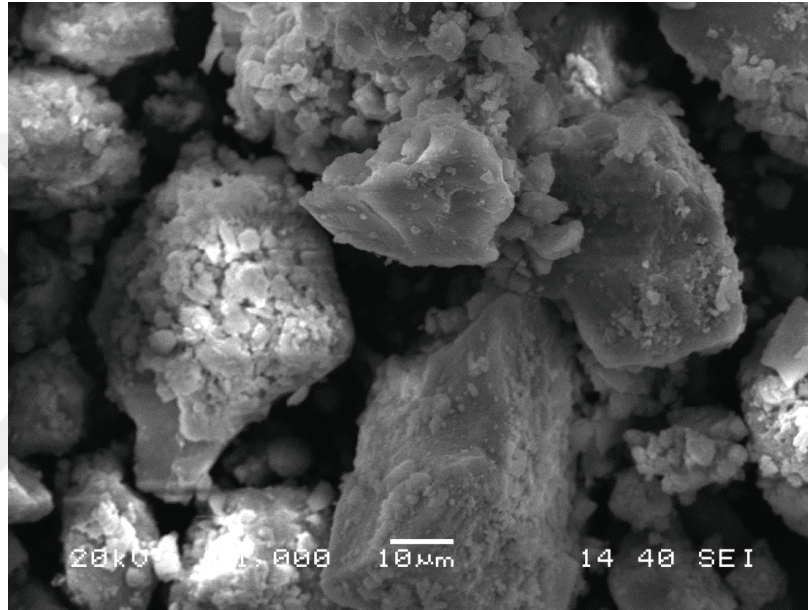
Şekil 8.96. AgHAP-S(0,09) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C

Hazırlanan AgHAP-S(0,09) numunesinde nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (Şekil 8.97.).

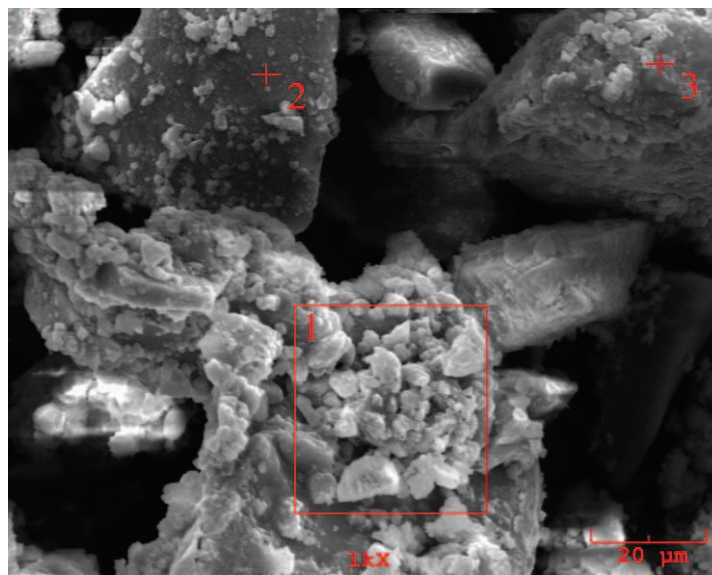


Şekil 8.97. AgHAP-S(0,09) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

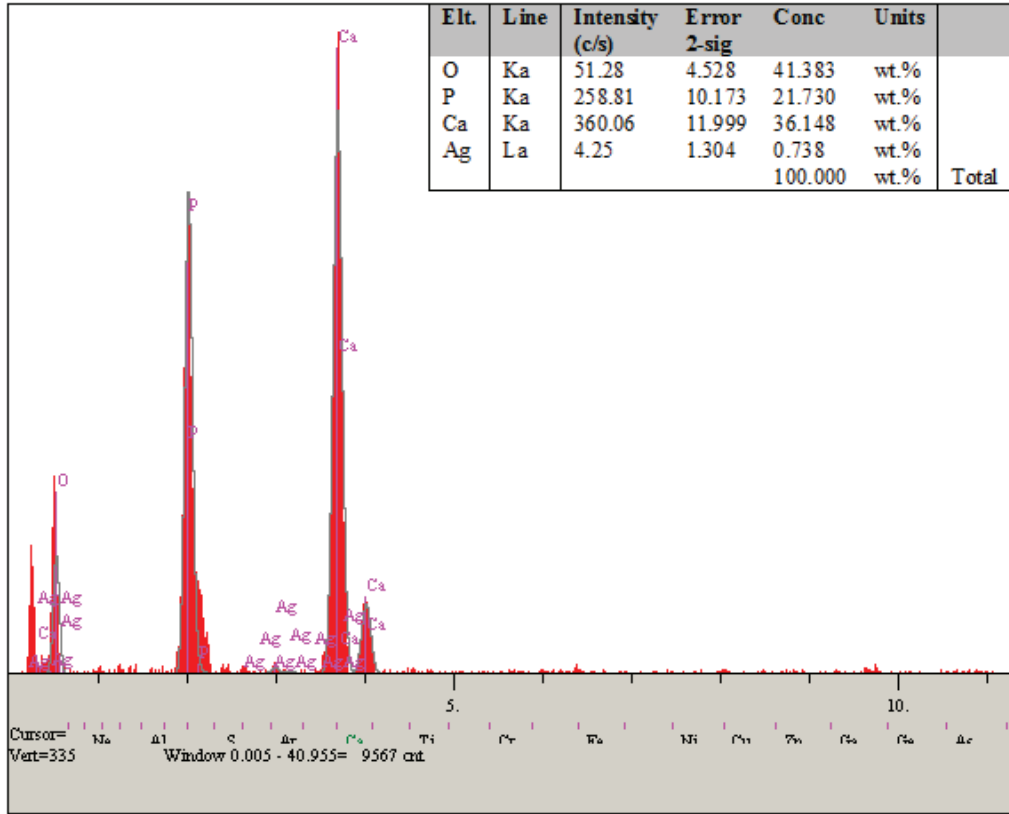
AgHAP-S(0,09) numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-50 μm büyüklüğünde ve pleomorfik oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.98.). AgHAP-S(0,09) numunesine 2 farklı noktadan ve 1 adet alandan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.99.). Alandan (1 nolu alan) yapılan EDX analizi sonucunda %0,738 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.100.). 2 farklı noktaya (2 nolu ve 3 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.101., Şekil 8.102.'de verilmiştir.



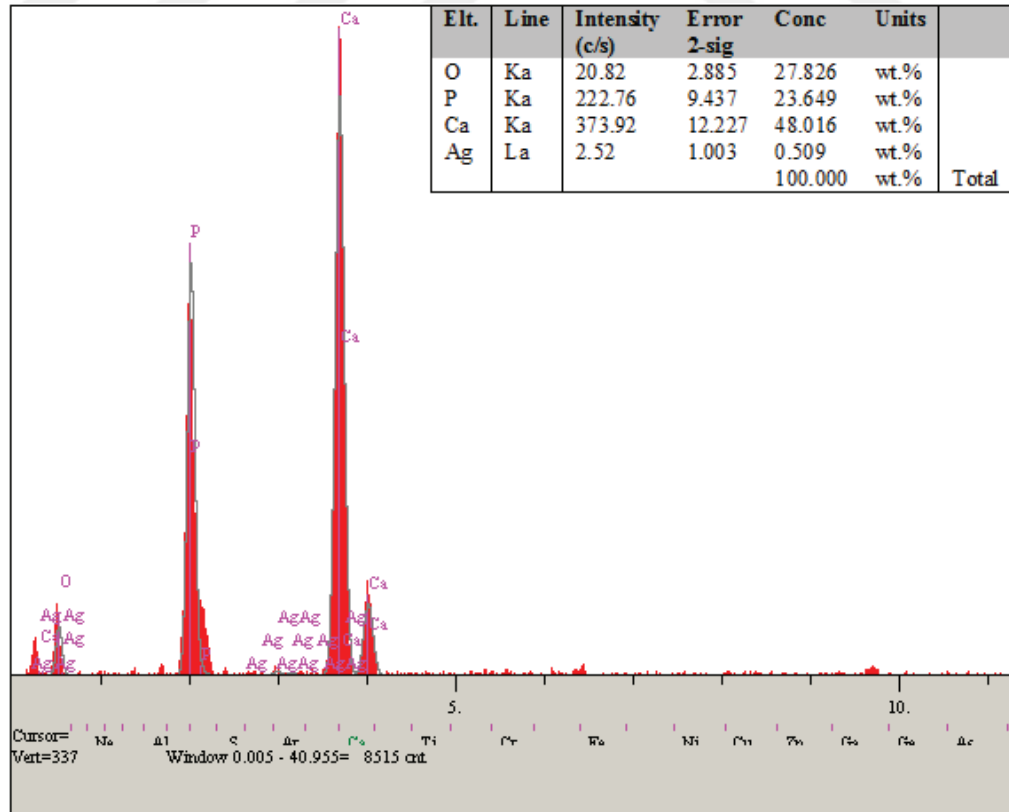
Şekil 8.98. AgHAP-S(0,09) numunesine ait SEM görüntüsü



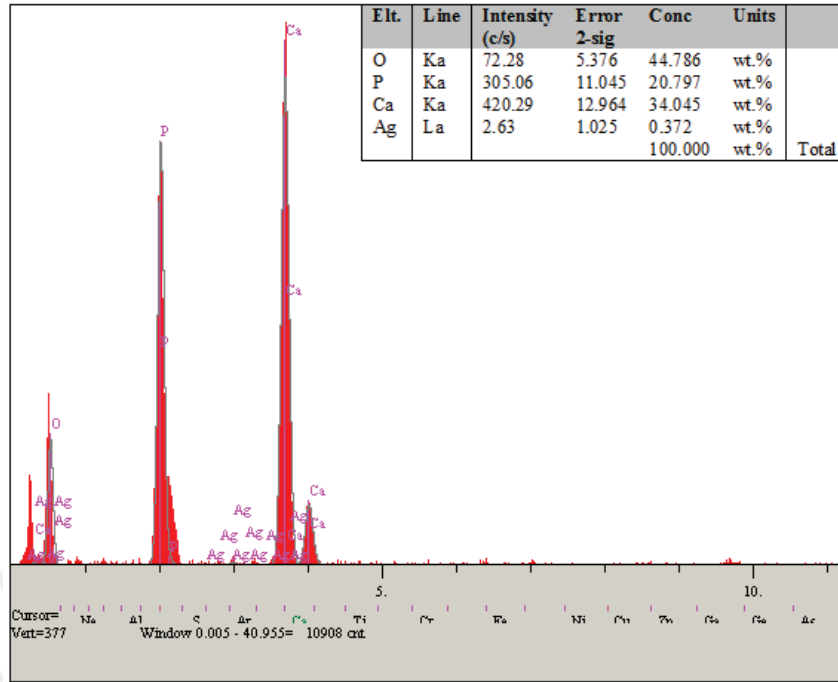
Şekil 8.99. AgHAP-S(0,09) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alan(1) ve noktalar(2 ve 3)



Şekil 8.100. AgHAP-S(0,09) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

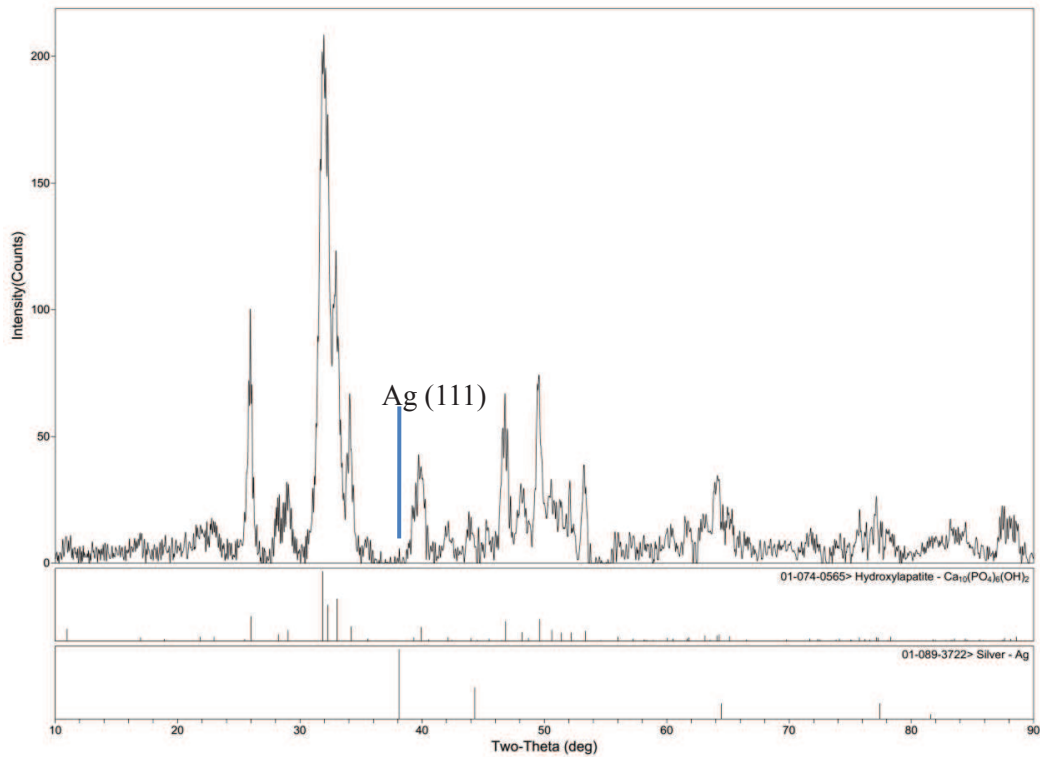


Şekil 8.101. AgHAP-S(0,09) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları



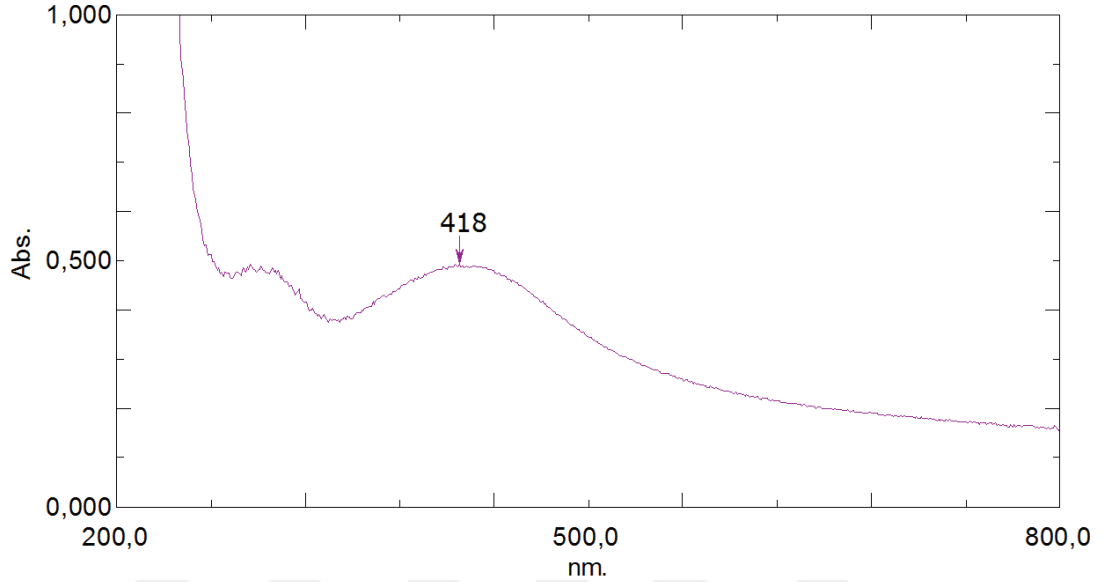
Şekil 8.102. AgHAP-S(0,09) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

Üretilen AgHAP-S(0,09) tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu ve nano Ag kristali içerdiği belirlenmiştir (Şekil 8.103.).



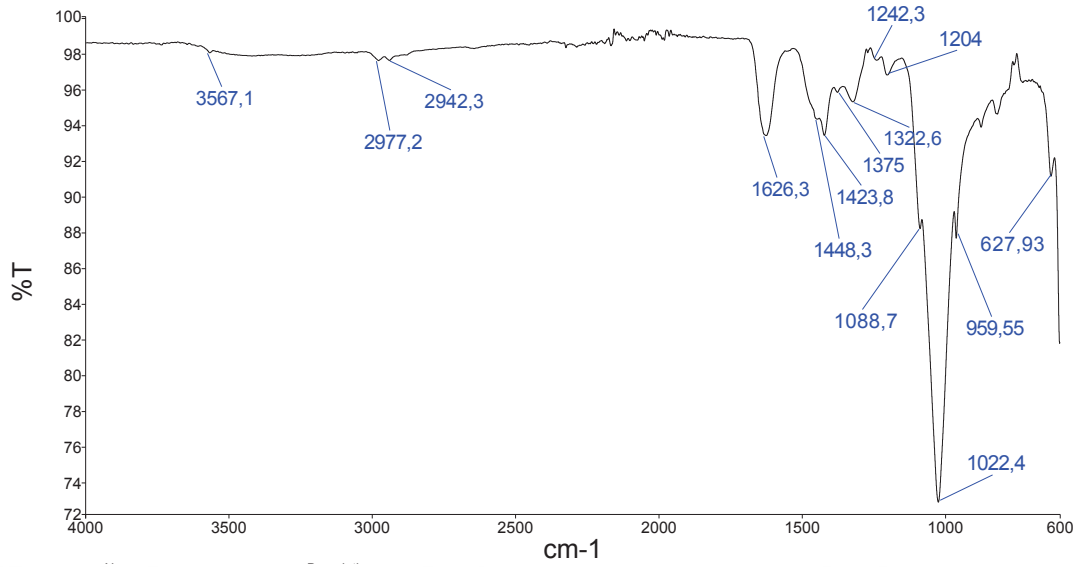
Şekil 8.103. AgHAP-S(0,09) numunesine ait XRD analiz sonucu

AgHAP-S(0,09) toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 418 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.104.).



Şekil 8.104. AgHAP-S(0,09) numunesine ait UV-vis. spektrumu

AgHAP-S(0,09) toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.105.'te sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $3567,1 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil(O-H) gerilmesine; $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1022,4 \text{ cm}^{-1}$ ve $959,55 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. AgHAP-S(0,09) numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlemlenmiştir.

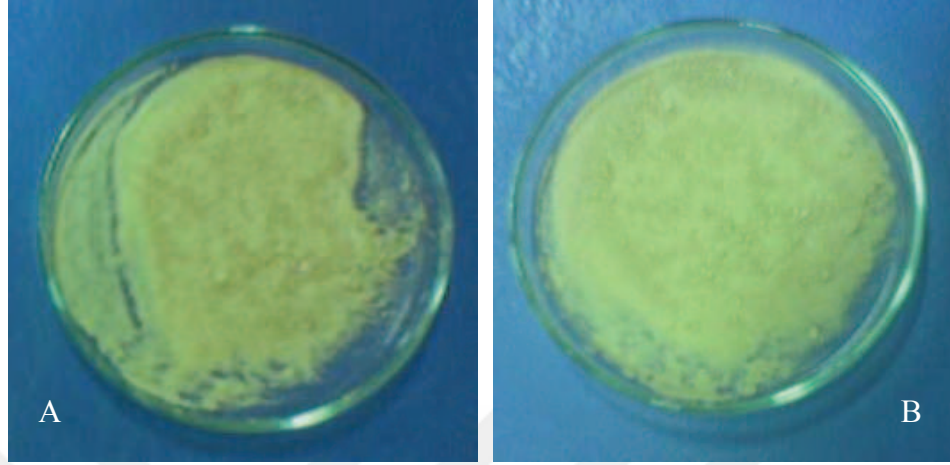


Şekil 8.105. AgHAP-S(0,09) numunesine ait FTIR spektrumu

8.8. AgHAP-SK(0,23) Hazırlanması ve Karakterizasyonu (POX İçeren Çözelti Kullanılarak Nanogümüş Kaplanması İşlemi)

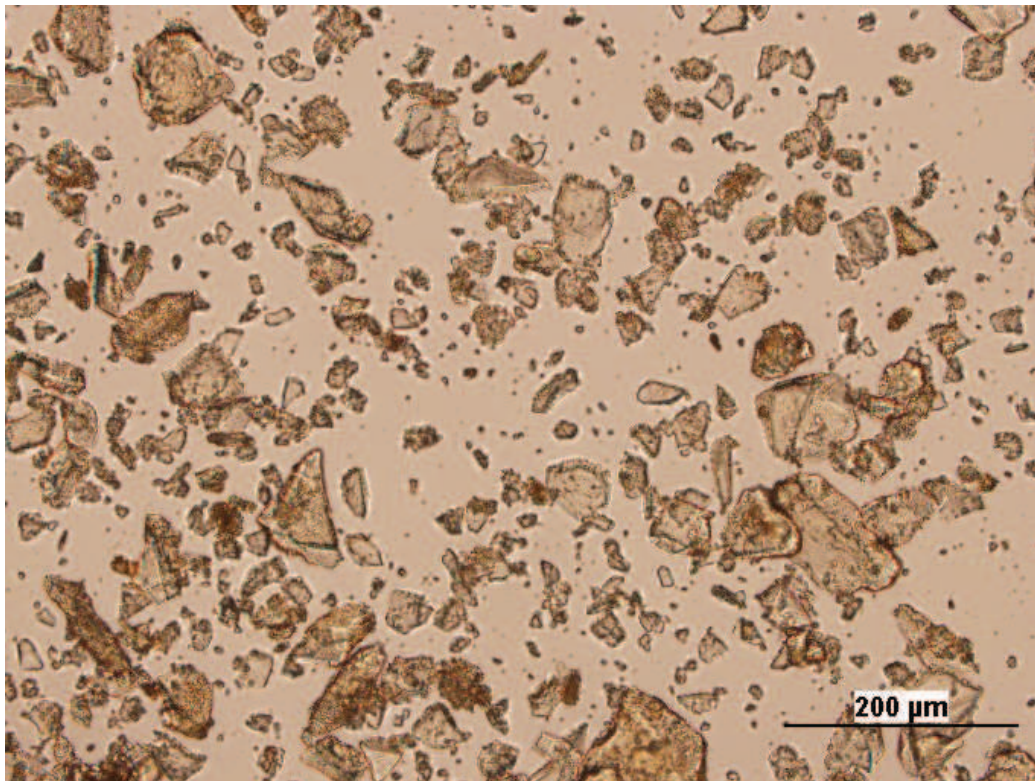
Hassas terazi ile tartılan 0,5 g POX 10 mL asetonunda çözülmüştür (%5(w/v) POX-aseton çözeltisi). Hassas terazi ile tartılan 0,015 g AgNO₃ 0,5 mL saf suda çözülmüştür. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 4 mL aseton ilave edilerek karıştırılmaya başlanmıştır. Bu karışım üzerine 1 g hidroksiapatit toz (HAP-SK) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 10 dakika süren karıştırma işleminin ardından indirgen yüzey etken madde olarak 0,5 mL PDMS ilave edilmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. 30 sn sonra 5 mL %5(w/v) POX-aseton çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirilmiştir. 24 saat karanlıkta ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Dibe çöken nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerini ayırabilmek için üst faz dekante edilmiştir. 20 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. 30 dakika bekletilmiştir. Üst fazın renginin kahverengi olduğu gözlemlenmiştir. Üst faz dekante edilmiştir. 20 mL aseton ilave edilerek karıştırılmıştır. 30 dakika bekletilmiştir. Üst fazın renginin 1. yıkama işleminde gözlemlenen renge göre daha açık tonda olduğu gözlemlenmiştir. Üst faz dekante edilmiştir. Yıkama işleminin ardından nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda partiküllerin

renginin değiştiği gözlenmiştir. Elde edilen ürün (%0,23 Ag) ağzı kapalı bir kaptaki ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (şekil 8.106.).



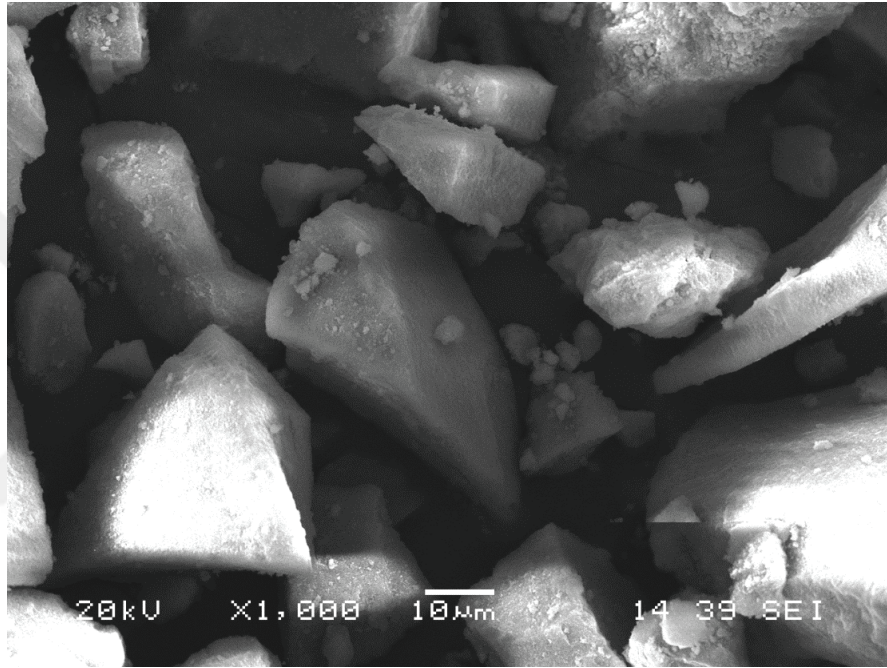
şekil 8.106. AgHAP-SK(0,23) numunesine ait genel görünüm A) oda sıcaklığında, B) 105 °C

Hazırlanan AgHAP-SK(0,23) numunesinde nanogümüş ile kaplama işleminden sonra partiküllerde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlenmiştir (şekil 8.107.).

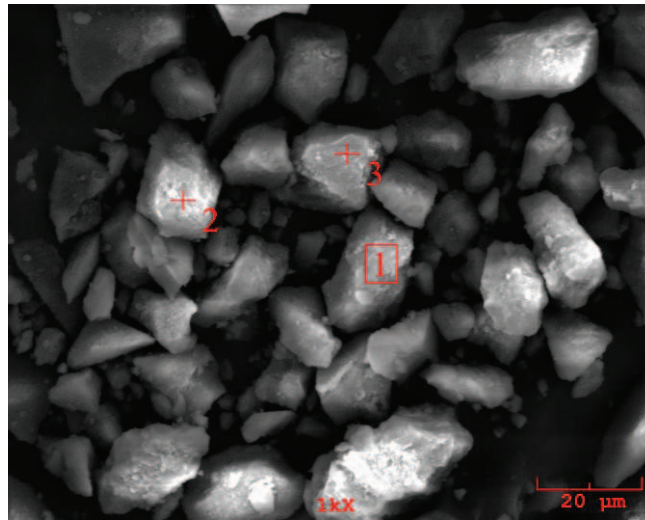


şekil 8.107. AgHAP-SK(0,23) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)

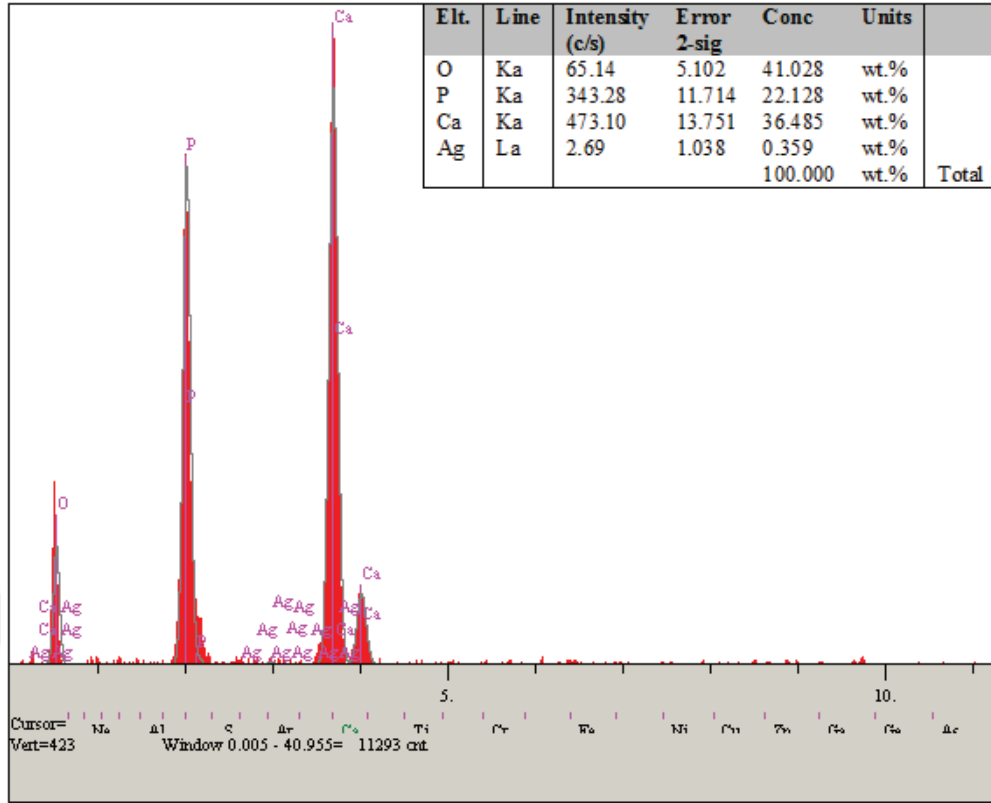
AgHAP-SK(0,23) numunesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan incelenmesinde partiküllerin 0-50 μm büyüklüğünde ve pleomorfik oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.108.). AgHAP-SK(0,23) numunesine 2 farklı noktadan ve 1 adet alandan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.109.). Alandan (1 nolu alan) yapılan EDX analizi sonucunda %0,359 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.110.). 2 farklı noktaya (2 nolu ve 3 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.111., Şekil 8.112.'de verilmiştir.



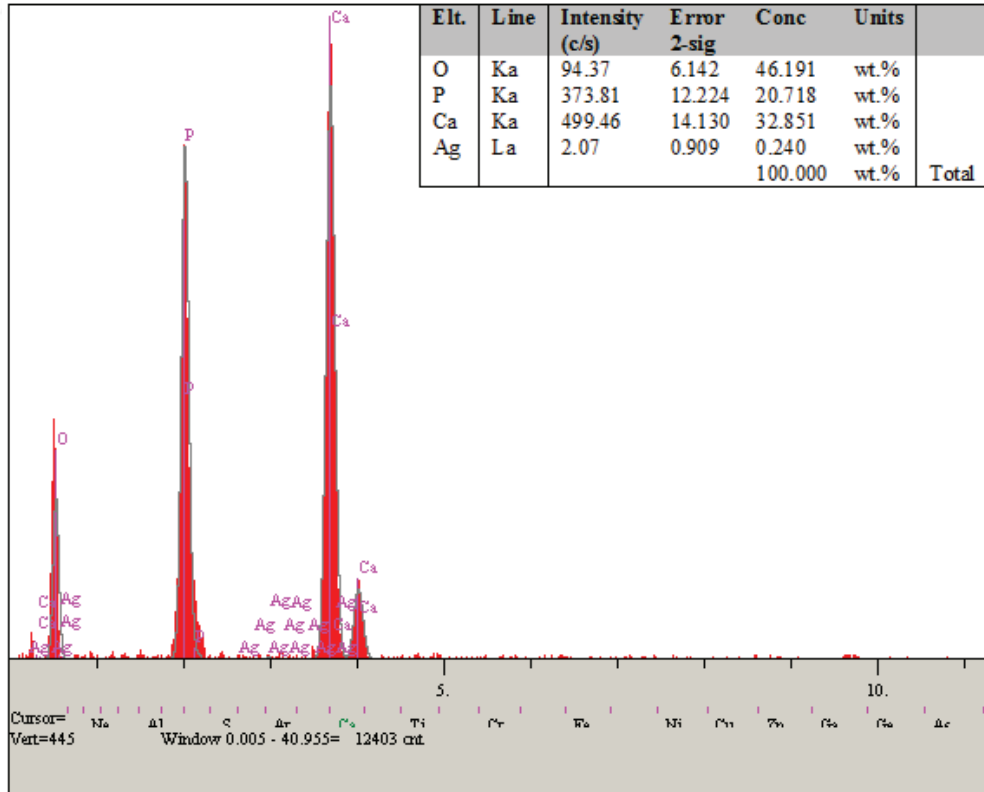
Şekil 8.108. AgHAP-SK(0,23) numunesine ait SEM görüntüsü



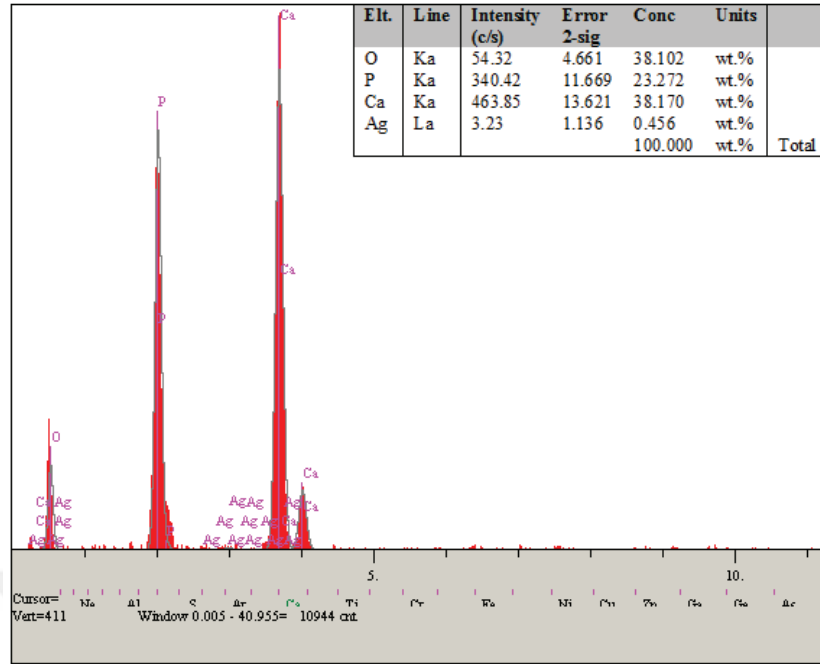
Şekil 8.109. AgHAP-SK(0,23) numunesinde EDX analizinin yapıldığı alan(1) ve noktalar(2 ve 3)



Şekil 8.110. AgHAP-SK(0,23) numunesi 1 nolu alana ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

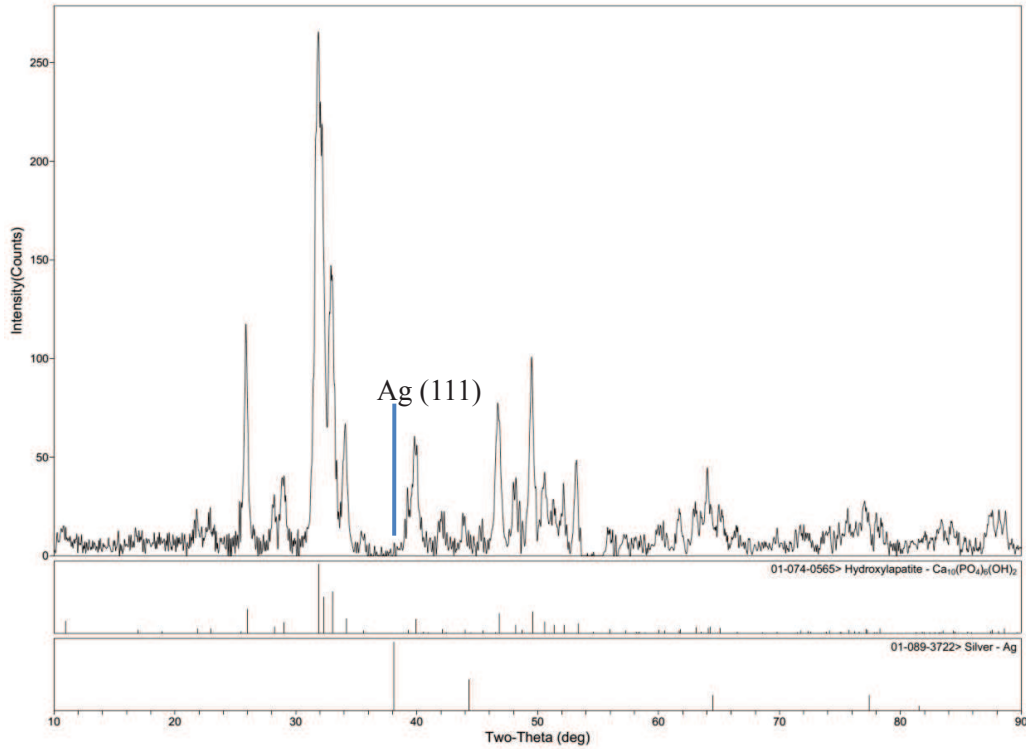


Şekil 8.111. AgHAP-SK(0,23) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları



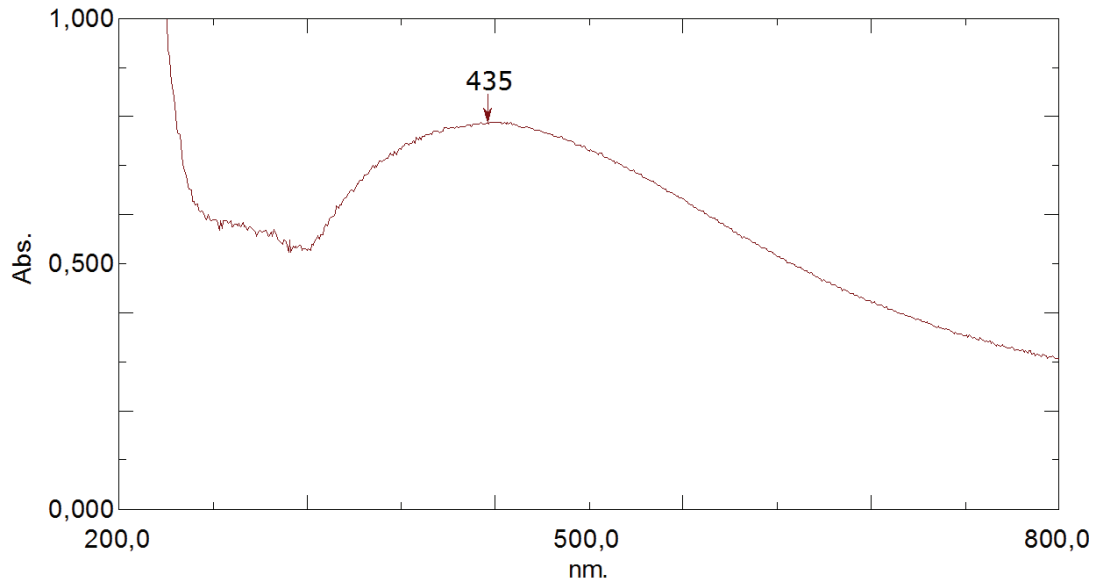
Şekil 8.112. AgHAP-SK(0,23) numunesi 3 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

Üretilen AgHAP-SK(0,23) tozunun X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi ile numunenin hidroksiapatit fazında olduğu ve nano Ag kristali içerdiği belirlenmiştir (Şekil 8.113.).



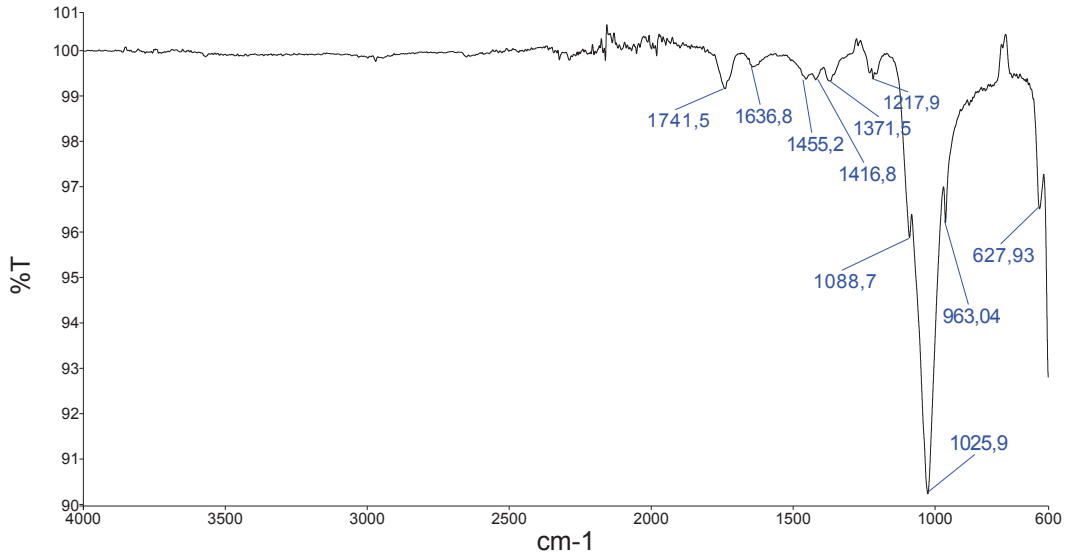
Şekil 8.113. AgHAP-SK(0,23) numunesine ait XRD analiz sonucu

AgHAP-SK(0,23) toz numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 435 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.114.).



Şekil 8.114. AgHAP-SK(0,23) numunesine ait UV-vis. spektrumu

AgHAP-SK(0,23) toz numunenin karakterizasyonu amacıyla FTIR analitik tekniği kullanılmıştır ve elde edilen spektrum Şekil 8.115.'te sunulmuştur. Numunenin FTIR spektrumundaki $1088,7 \text{ cm}^{-1}$, $1025,9 \text{ cm}^{-1}$ ve $963,04 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik fosfat grubu P-O bağı gerilmesine; $627,93 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen pik hidroksil grubu titreşimine aittir. AgHAP-SK(0,23) numunesine ait FTIR spektrumunda hidroksiapatitin karakteristik pikleri gözlenmiştir.

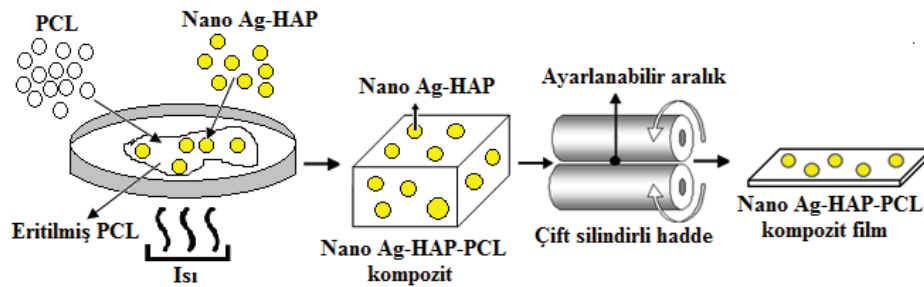


Şekil 8.115. AgHAP-SK(0,23) numunesine ait FTIR spektrumu

8.9. Nanogümüş Katkılı Gözenekli Hidroksiapatit ile Nano Ag-HAP-PCL Kompozit Filmlerin Üretimi ve Karakterizasyonu

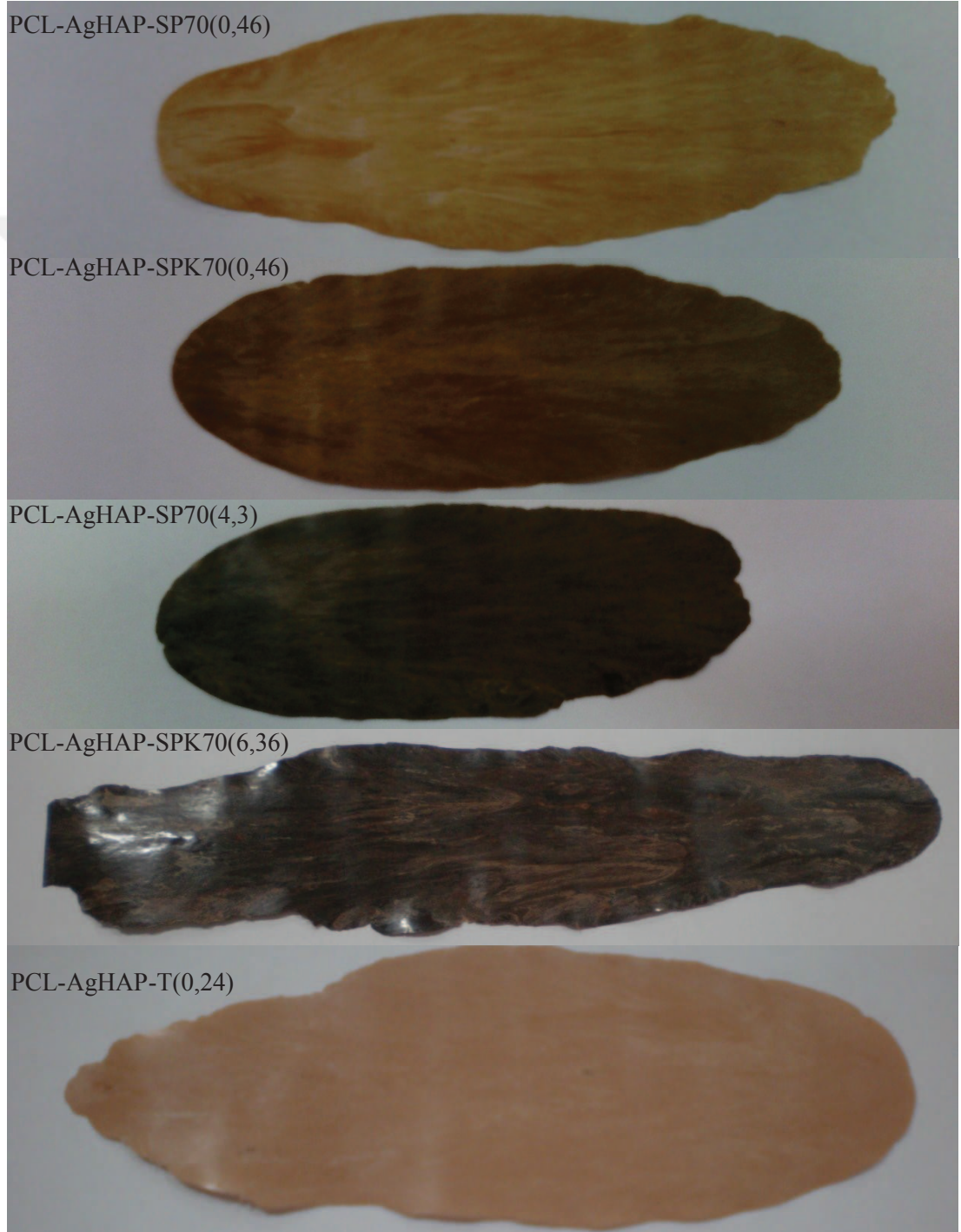
8.9.1. Nano Ag-HAP-PCL (%30 HAP) filmlerin hazırlanması

Kompozit filmler, nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerinin yaklaşık 100 °C'de eritilen polikaprolaktona (PCL) %30 oranında karıştırılması ve bu şekilde hazırlanan eriyiğin iki asetat film arasında alınarak roll mill aracılığıyla ince filmler haline getirilmesiyle hazırlanmıştır. Kirlilik bulaşmasını önlemek amacıyla asetat filmler arasında alınan kompozit karışımın roll milling metodu ile ince bir aralıktan geçirilerek basınç altında şekillendirilmesi (Şekil 8.116.) ile daha aktif ve geniş bir yüzey alanının elde edilmesi ve nanogümüş kaplı hidroksiapatitin polimer içerisinde daha homojen bir şekilde dağılması amaçlanmıştır.



Şekil 8.116. Roll milling metodu

Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit filmleri çıplak gözle incelendiğinde nanogümüş miktarının fazla olduğu (PCL-AgHAP-SP70(4,3) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36)) kompozit filmlerin renginin, nanogümüş miktarının az olduğu (PCL-AgHAP-SP70(0,46) ve PCL-AgHAP-SPK70(0,46)) kompozit filmlere göre daha koyu olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 8.117.).



Şekil 8.117. Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin fotoğraf görüntüleri

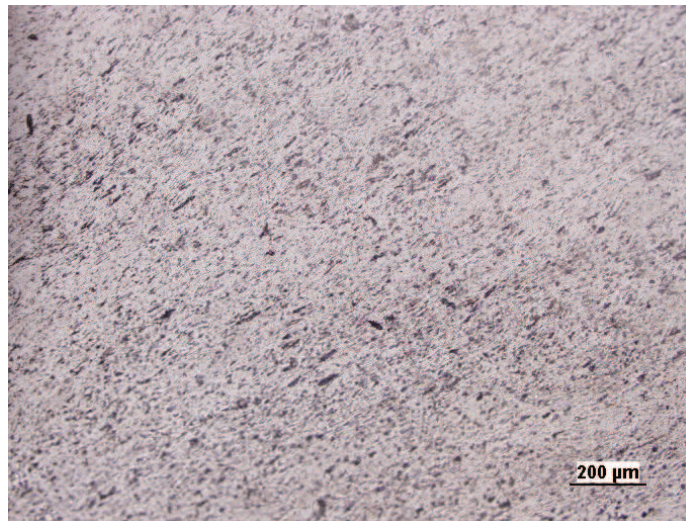
Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin içeriği Tablo 8.5.'te belirtilmiştir.

Tablo 8.5. Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin içeriği

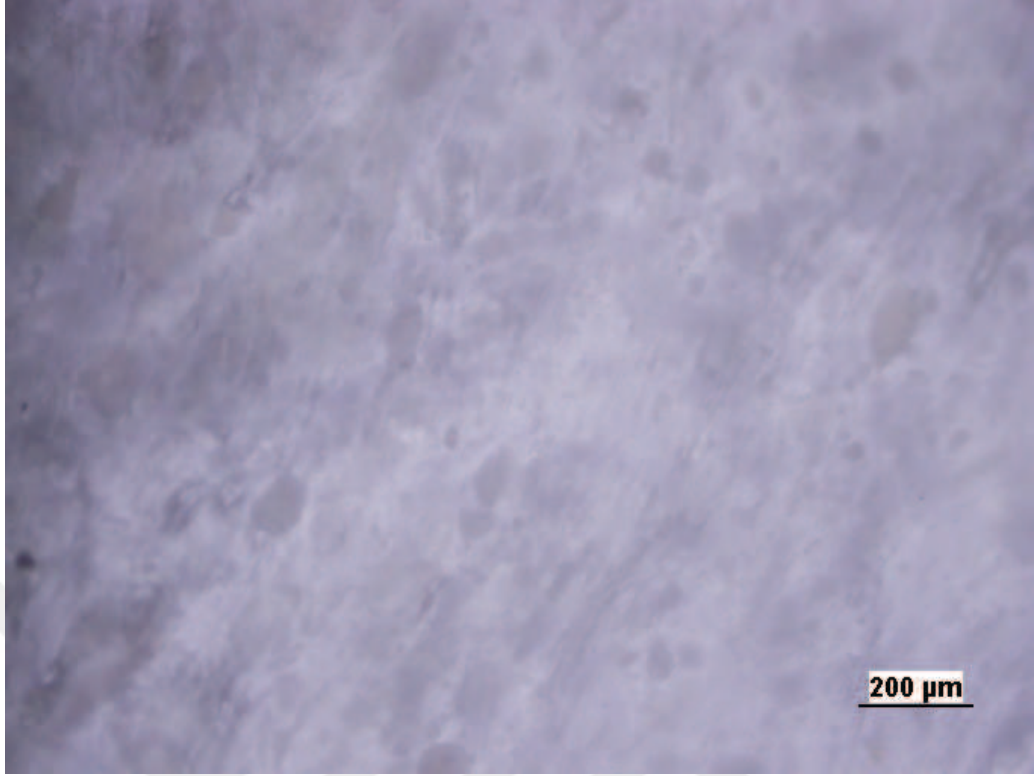
Filmler	Toz numunesinin kodu	Toz miktarı (g)	PCL miktarı (g)
PCL	-	-	1,4
PCL-HAP-SP70	HAP-SP70	0,6	1,4
PCL-HAP-SPK70	HAP-SPK70	0,6	1,4
PCL-AgHAP-SP70(0,46)	AgHAP-SP70(0,46)	0,6	1,4
PCL-AgHAP-SPK70(0,46)	AgHAP-SPK70(0,46)	0,6	1,4
PCL-AgHAP-SP70(4,3)	AgHAP-SP70(4,3)	0,6	1,4
PCL-AgHAP-SPK70(6,36)	AgHAP-SPK70(6,36)	0,6	1,4
PCL-AgHAP-T(0,24)	AgHAP-T(0,24)	0,6	1,4

8.9.2. Nano Ag-HAP-PCL (%30 HAP) filmlerin karakterizasyonu

Üretilen kompozit filmlerin ışık mikroskobu ile yapılan incelemelerinde partiküllerin kompozit filmlerde homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerinin ışık mikroskobu incelemelerinde nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerinin kompozit filmleri renklendirdiği; partiküllerdeki nanogümüş miktarının artmasıyla kompozit filmlerin ve partiküllerin renklerinin koyulaştığı gözlemlenmiştir. Kompozit filmlere ait ışık mikroskobu görüntüleri Şekil 8.118. - Şekil 8.125.'te gösterilmiştir.



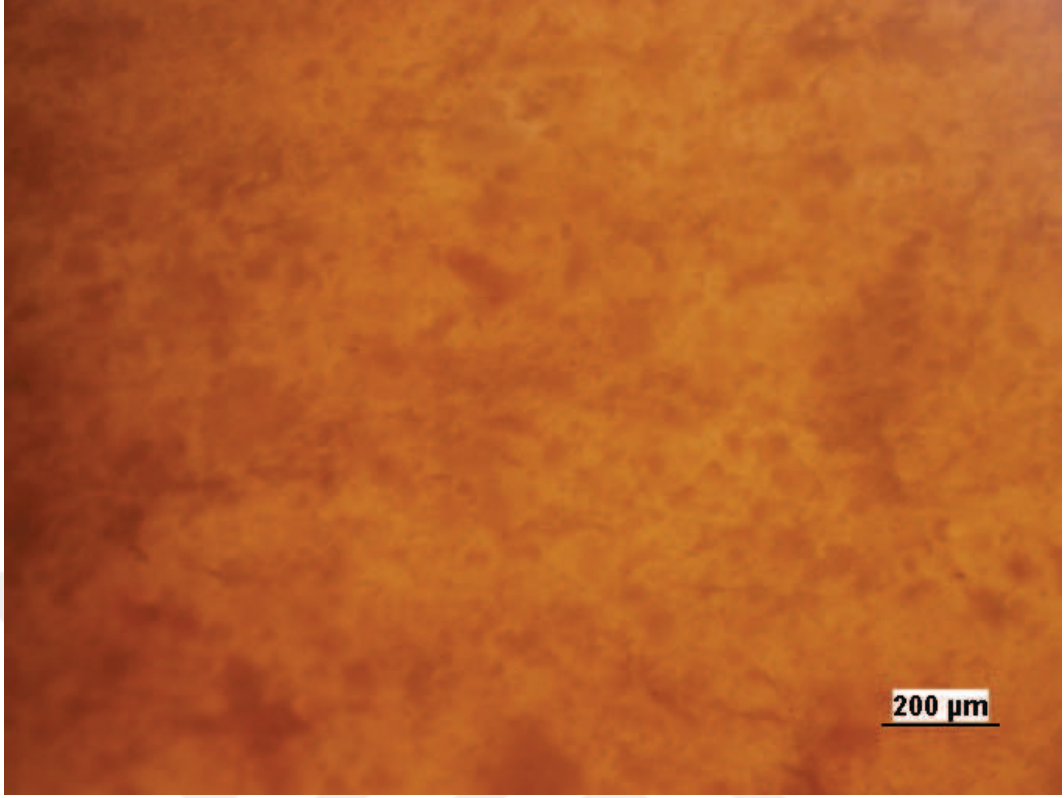
Şekil 8.118. PCL film (kontrol) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü (×10)



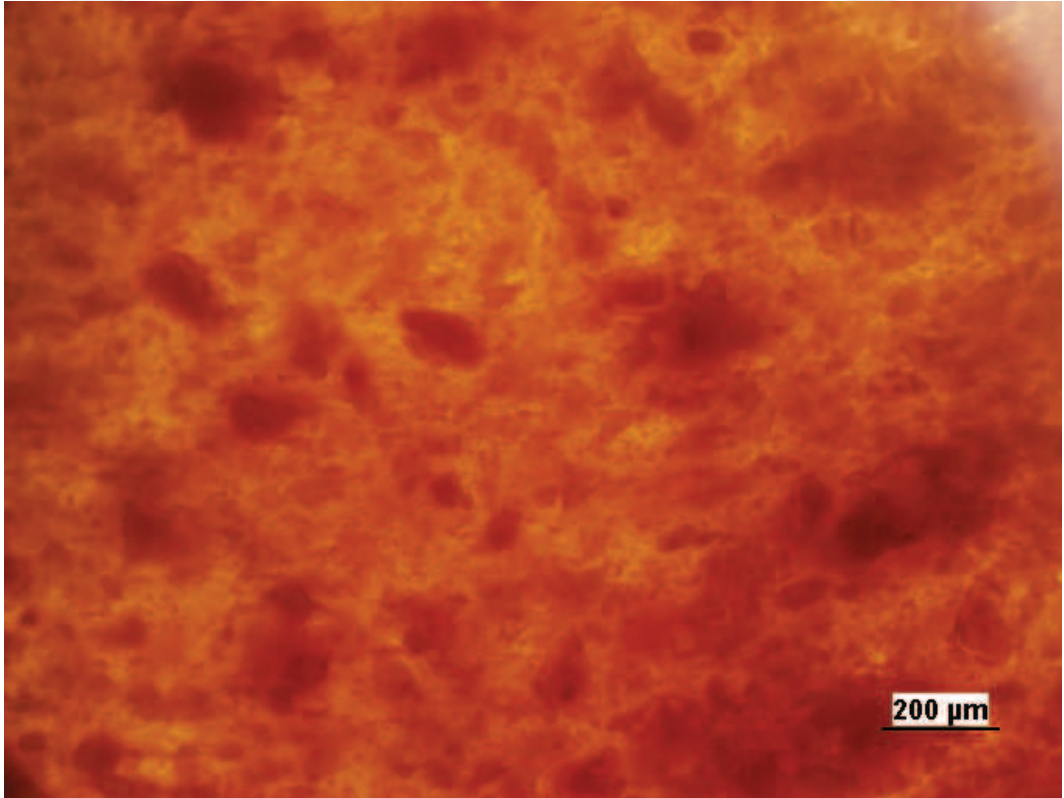
Şekil 8.119. PCL-HAP-SP70 kompozit film (kontrol) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



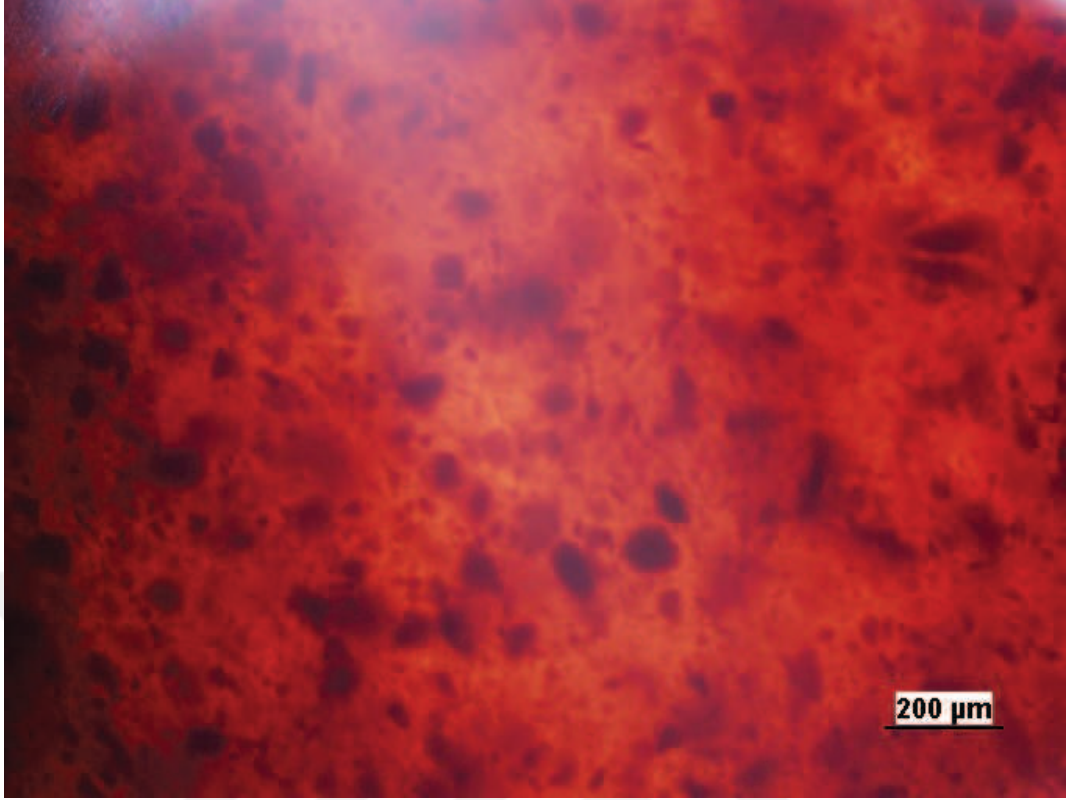
Şekil 8.120. PCL-HAP-SPK70 kompozit film (kontrol) numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



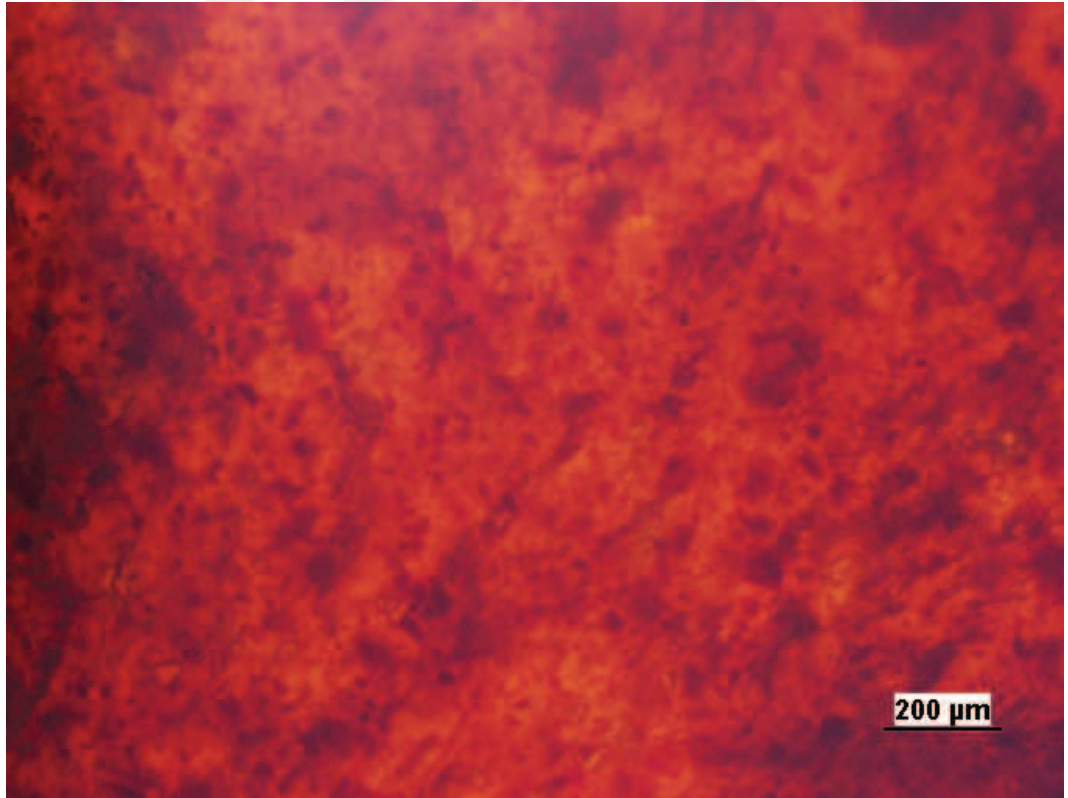
Şekil 8.121. PCL-AgHAP-SP70(0,46) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



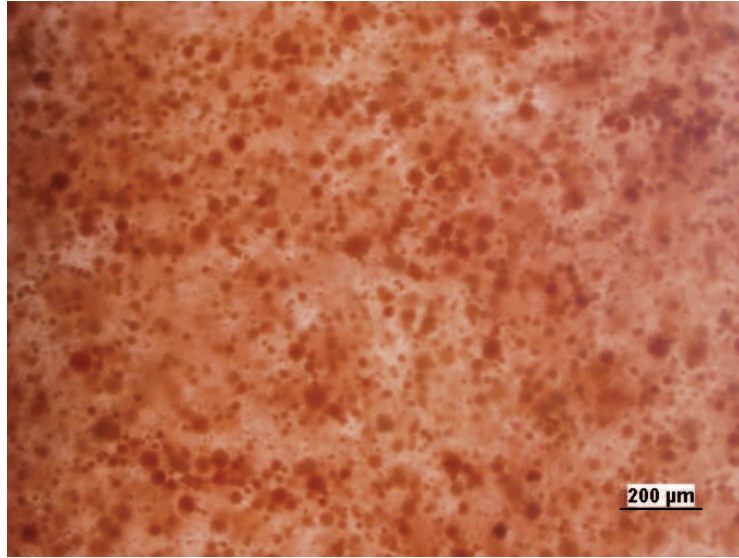
Şekil 8.122. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



Şekil 8.123. PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)

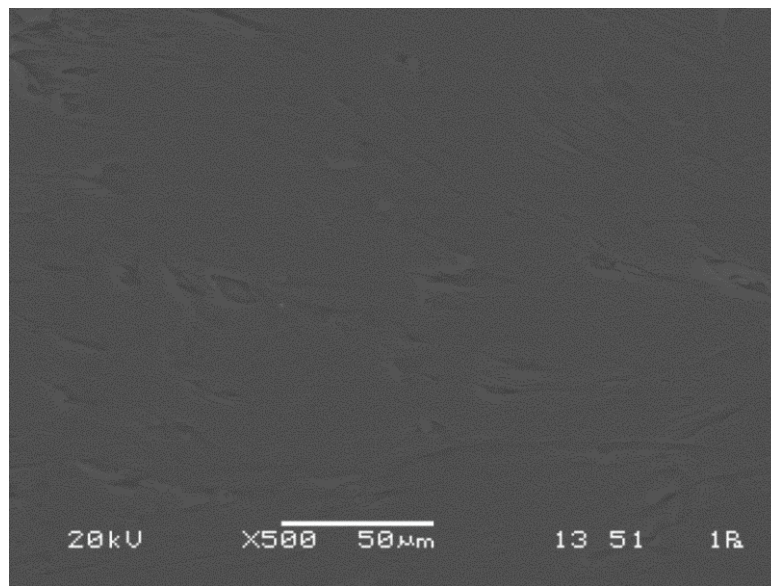


Şekil 8.124. PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)

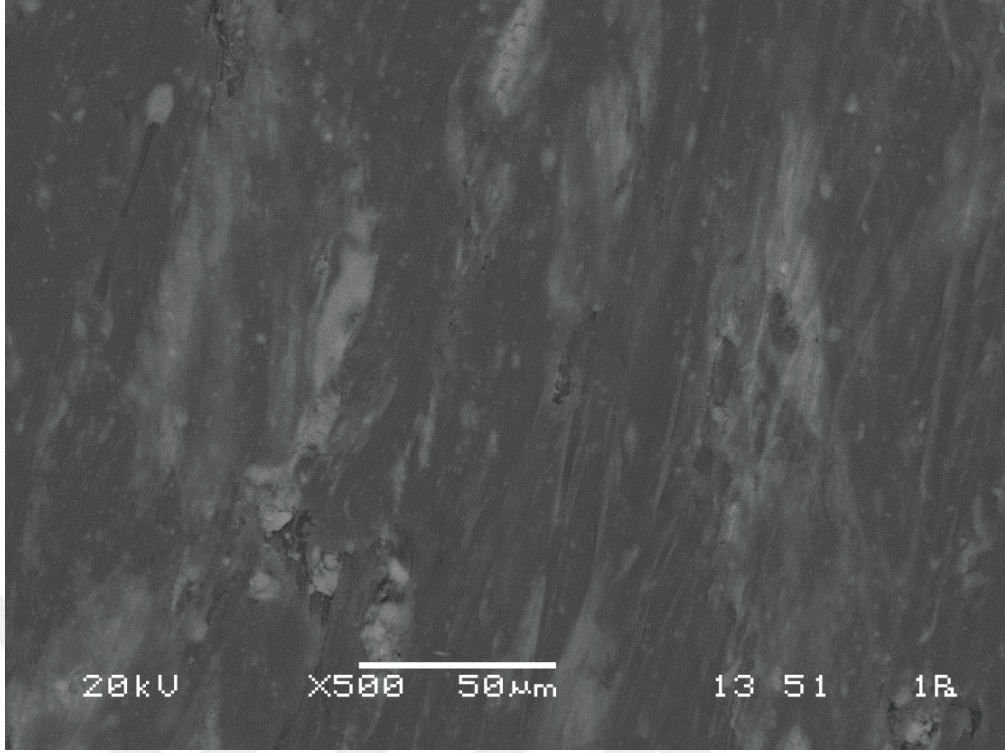


Şekil 8.125. PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit film numunesine ait ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)

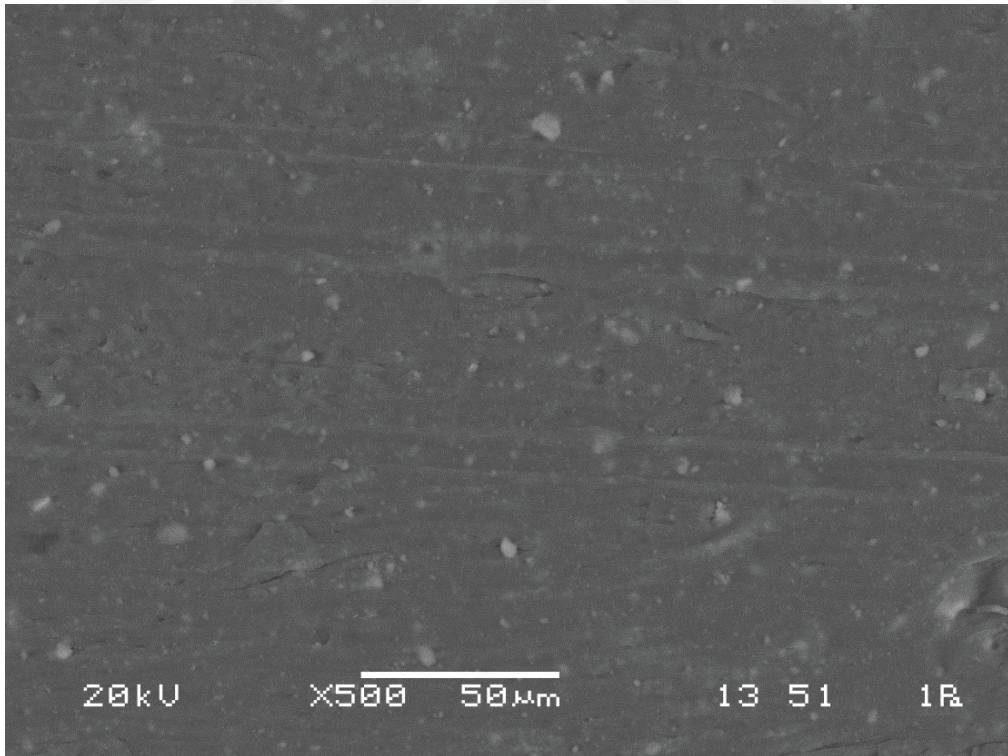
Taramalı elektron mikroskobu ile kompozit filmlerde yapılan incelemelerde partiküllerin kompozit filmlerde homojen bir dağılım gösterdiği görülmüştür. Kontrol olarak hazırlanan kompozit filmlerde hidroksiapatit partiküllerinin mat görüldüğü belirlenmiştir. Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerinde yapılan incelemelerde ise nanogümüş kaplı hidroksiapatit partikülleri parlak olarak gözlemlenmiştir. Bunun nedeninin hidroksiapatit partikül yüzeyindeki nanogümüşten kaynaklandığı düşünülmüştür. Üretilen kompozit filmlere ait taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 8.126. - Şekil 8.133.'te gösterilmiştir.



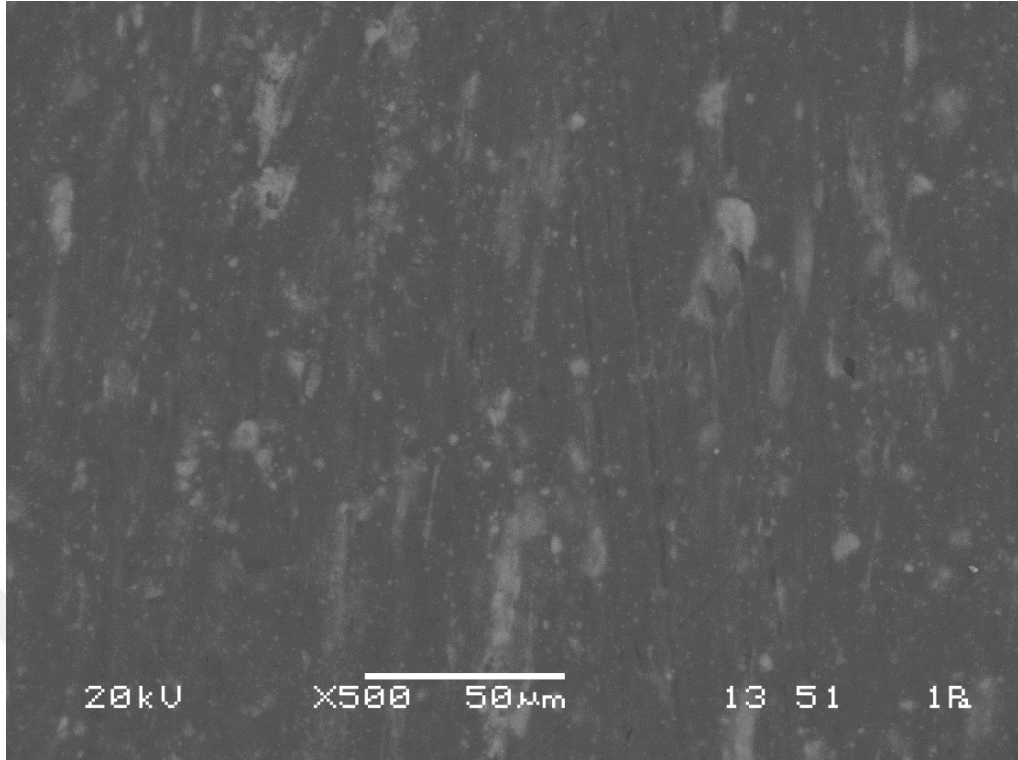
Şekil 8.126. PCL film (kontrol) numunesine ait SEM görüntüsü



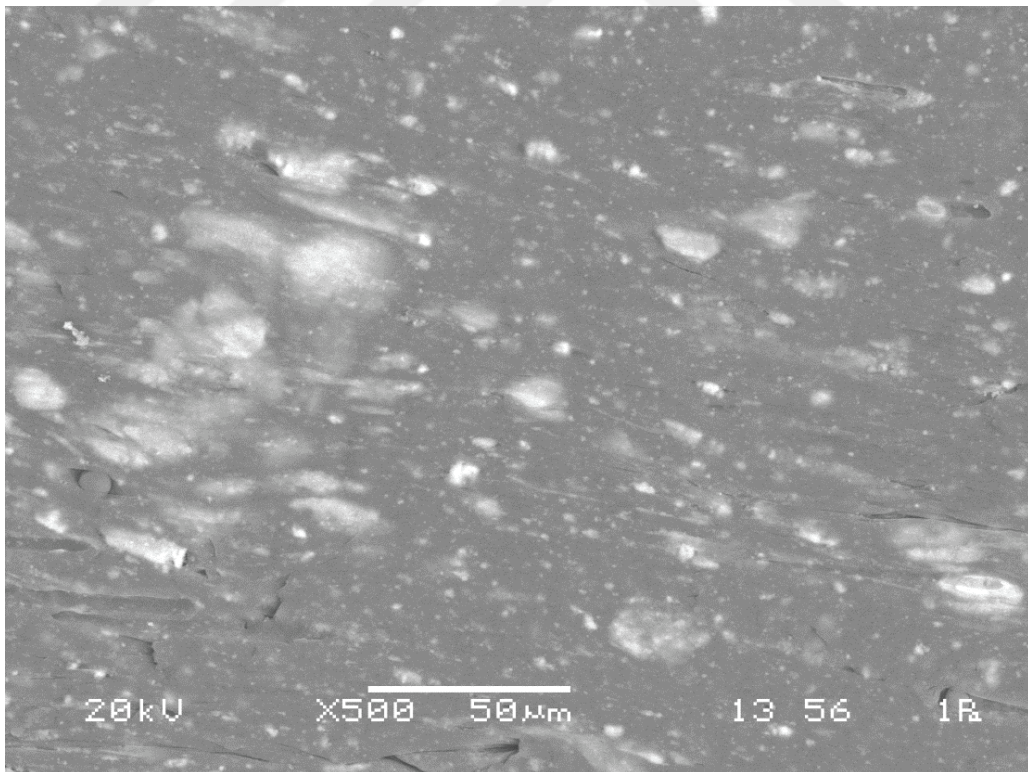
Şekil 8.127. PCL-HAP-SP70 kompozit film (kontrol) numunesine ait SEM görüntüsü



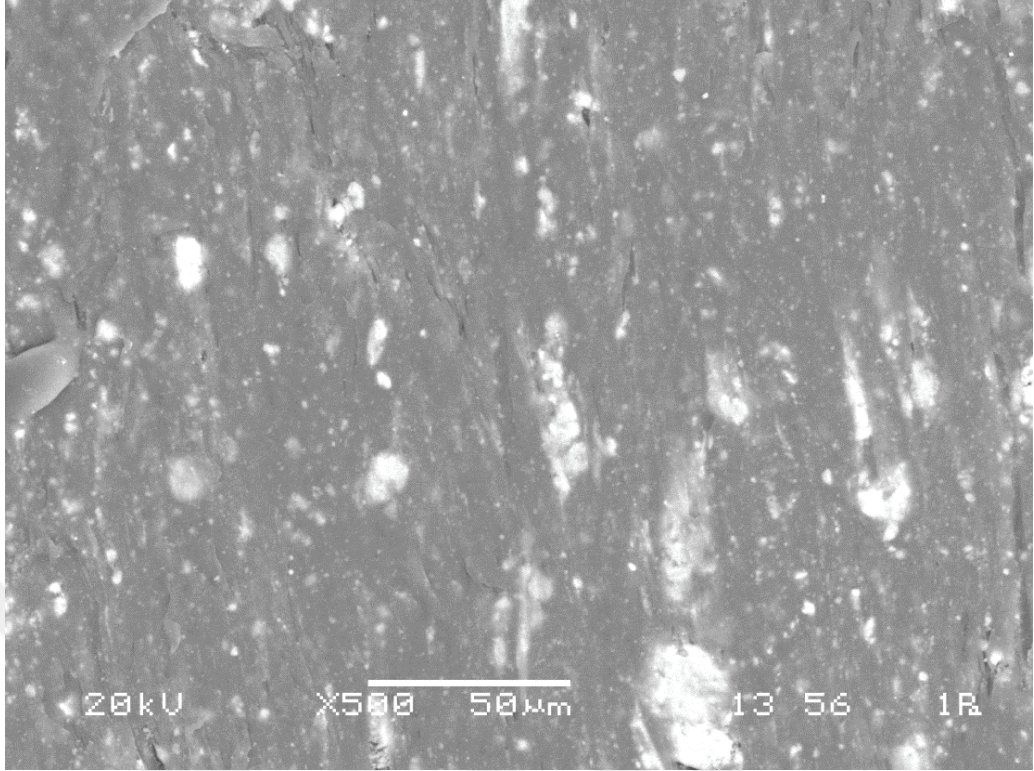
Şekil 8.128. PCL-HAP-SPK70 kompozit film (kontrol) numunesine ait SEM görüntüsü



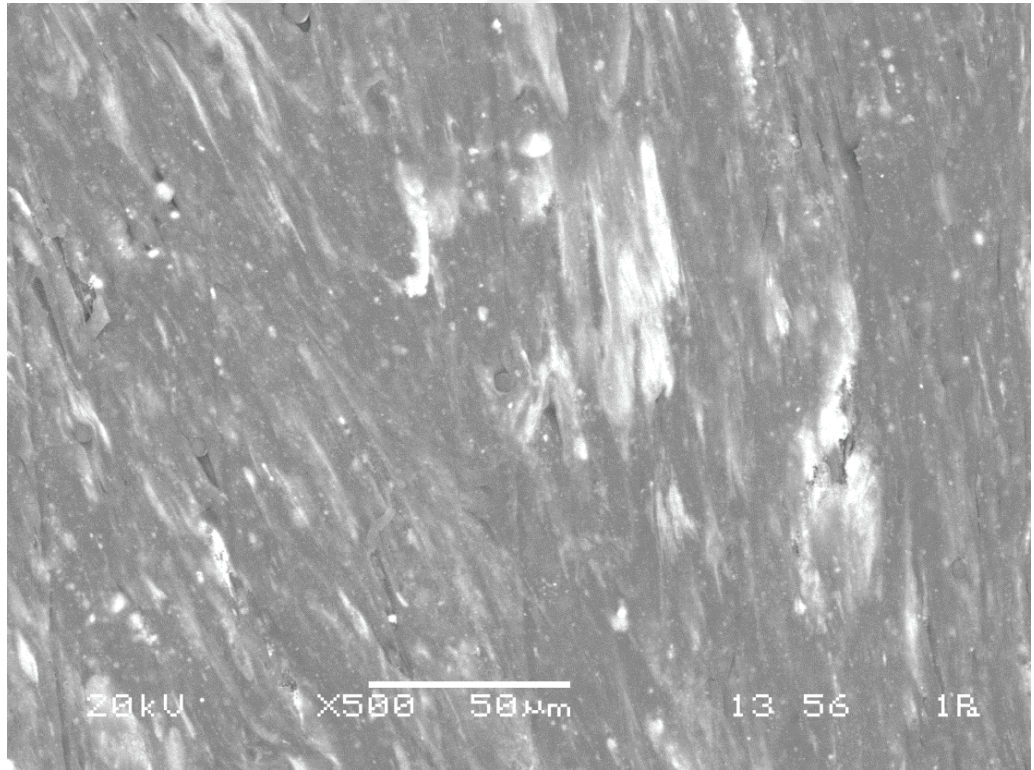
Şekil 8.129. PCL-AgHAP-SP70(0,46) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü



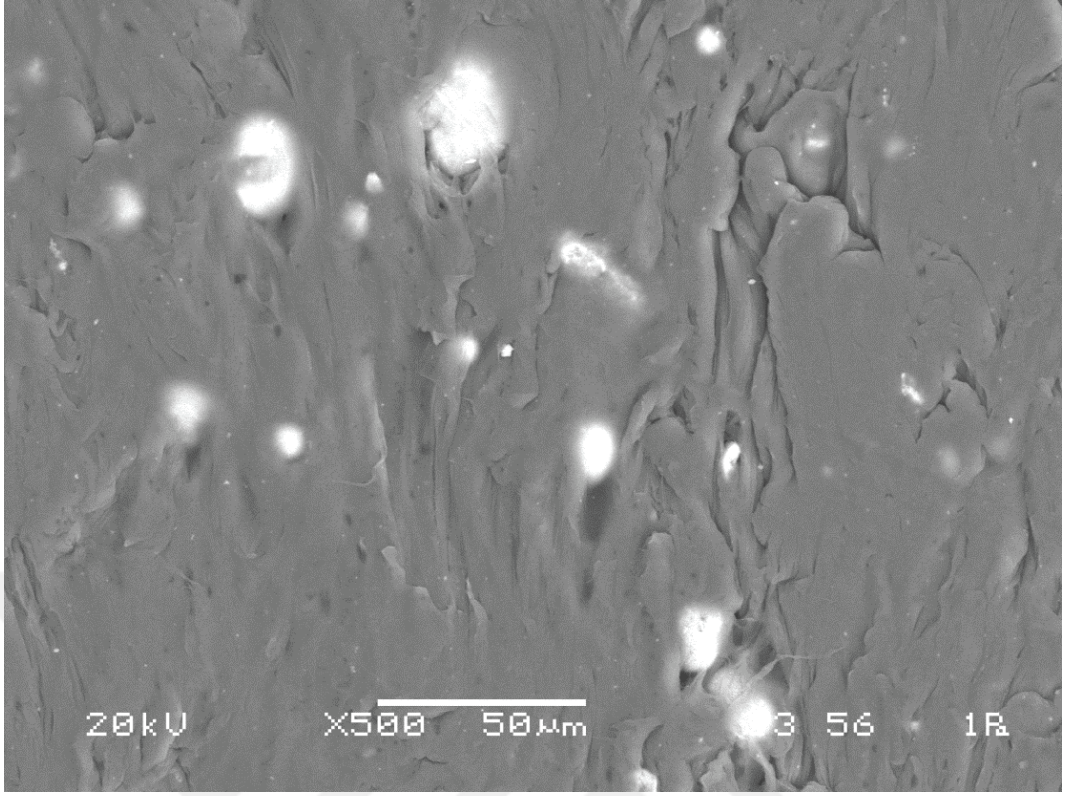
Şekil 8.130. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü



Şekil 8.131. PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü

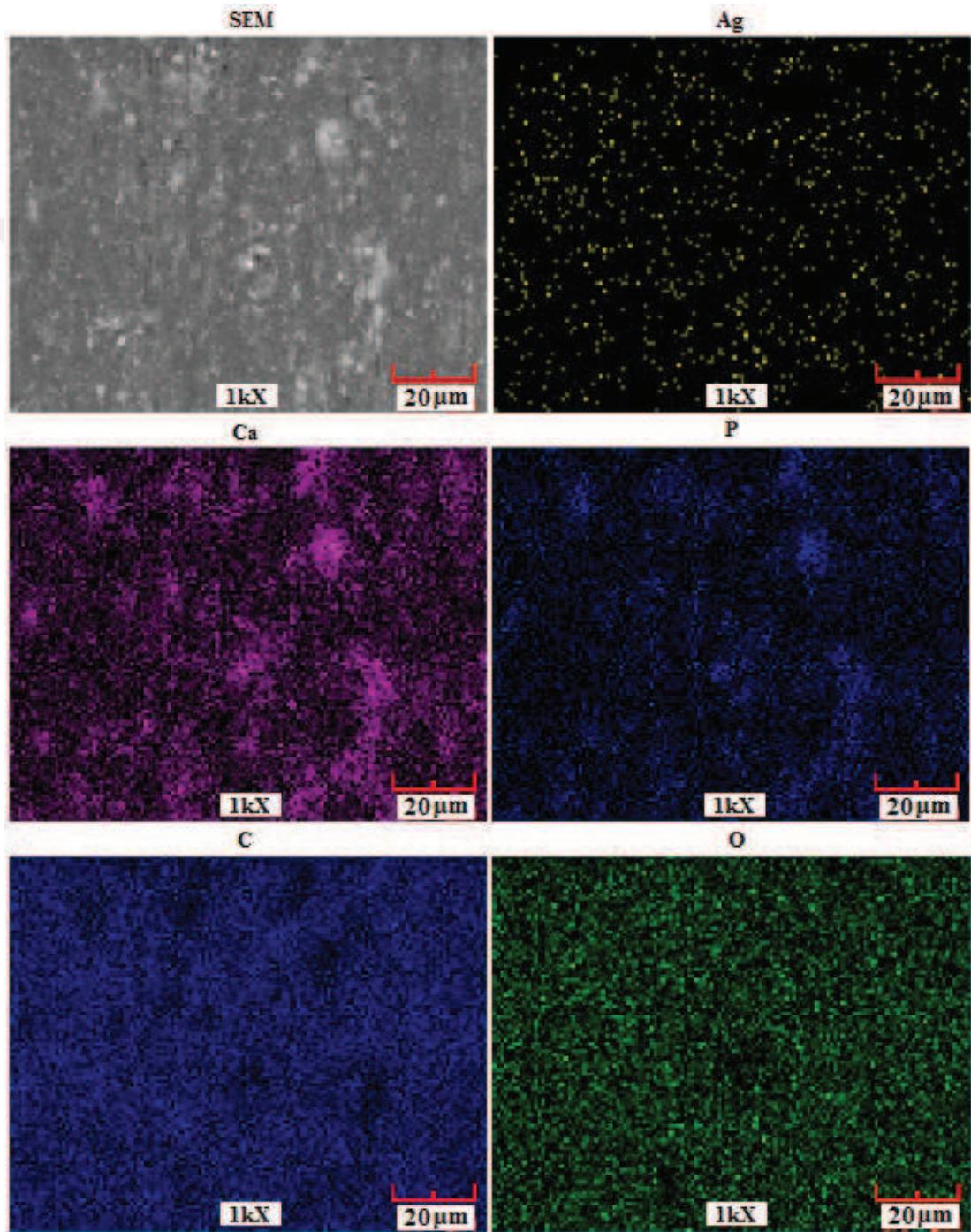


Şekil 8.132. PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü



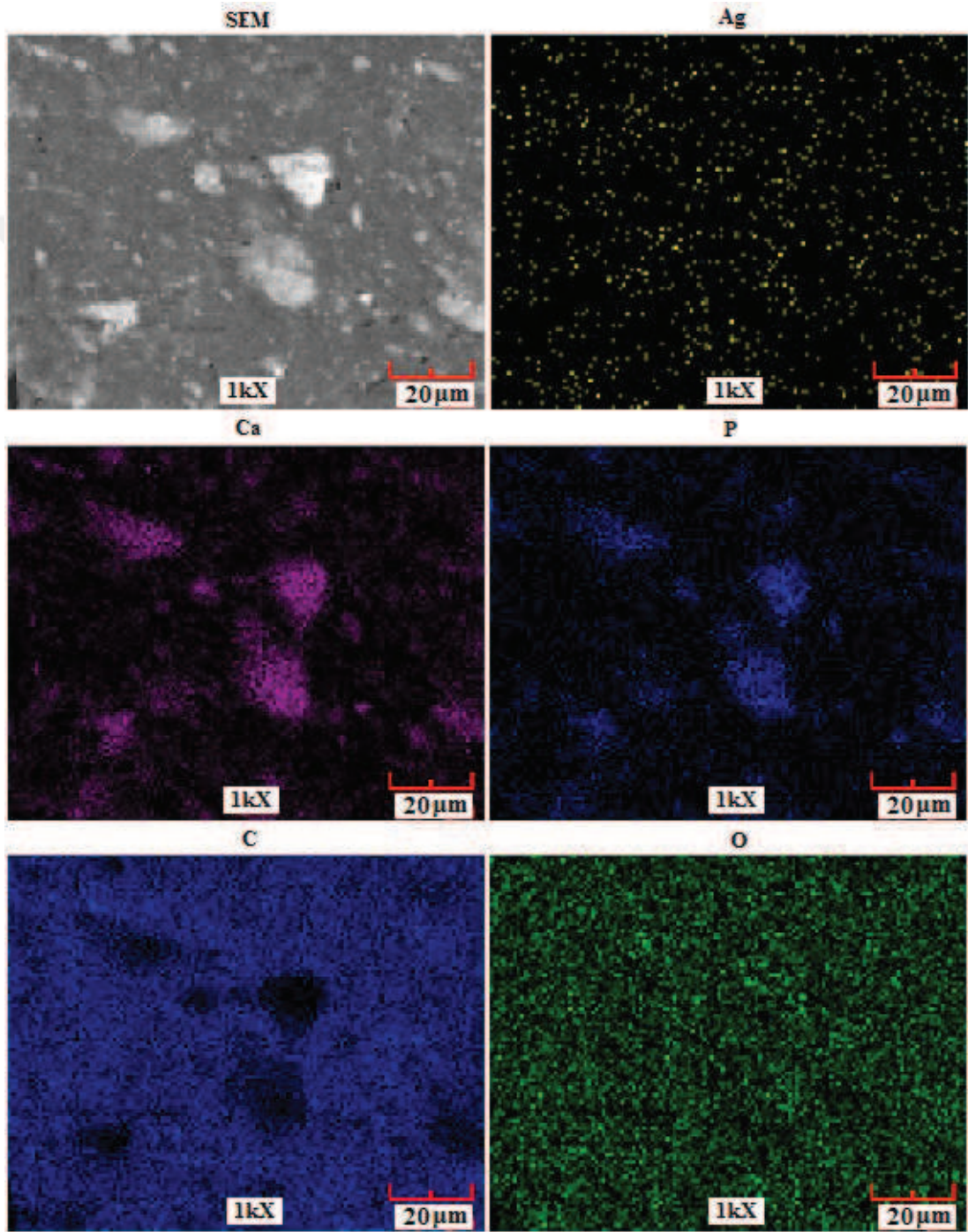
Şekil 8.133. PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit film numunesine ait SEM görüntüsü

PCL-AgHAP-SP70(0,46) kompozit filmi için yapılan haritalama analizi (Şekil 8.134.) sonucunda Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen olarak dağılım göstermesinin nanogümüş kaplı hidroksiapatitin kompozit film içinde homojen olarak dağıldığının bir göstergesi olduğu düşünülmüştür.



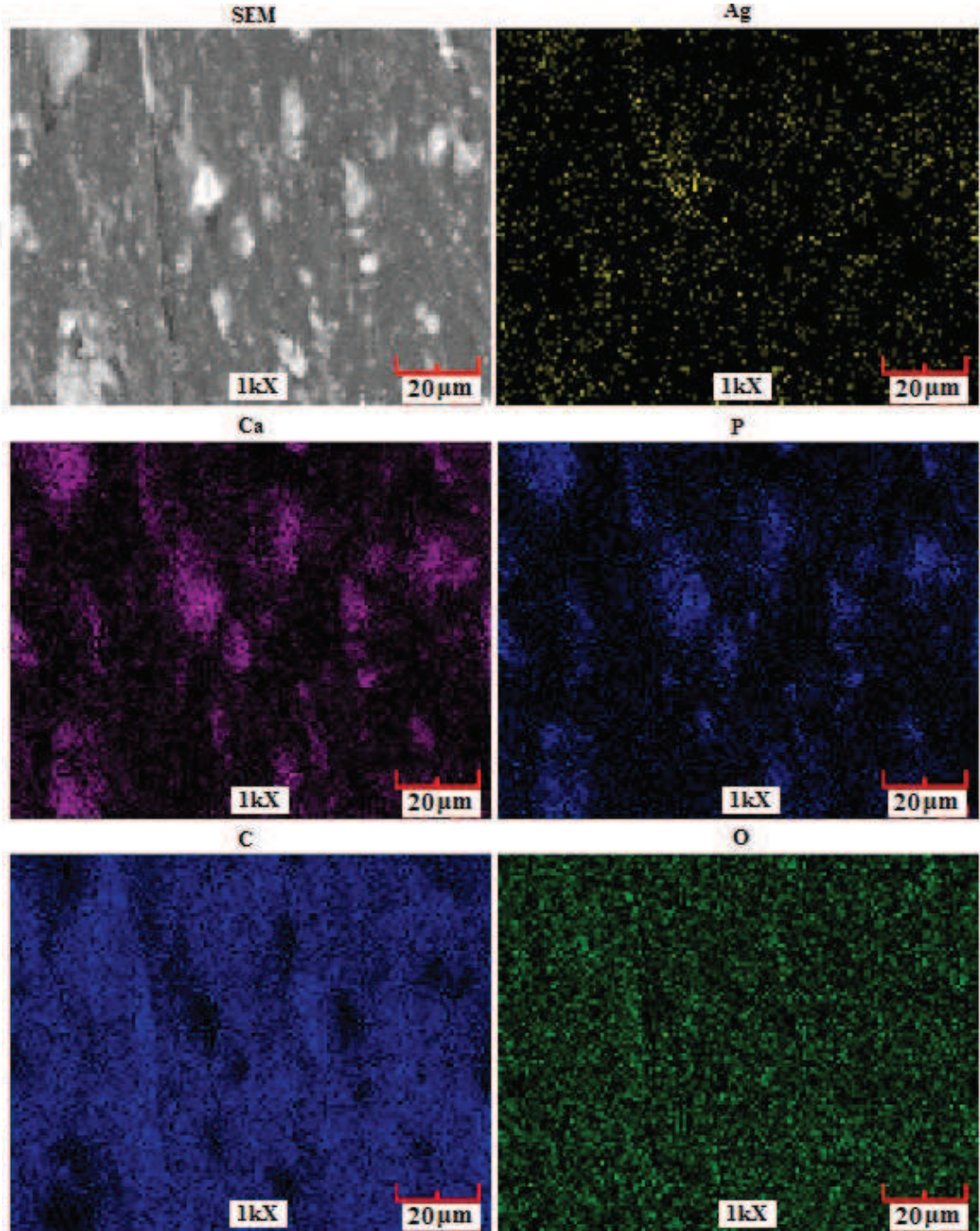
Şekil 8.134. PCL-AgHAP-SP70(0,46) kompozit filmine ait haritalama

PCL-AgHAP-SPK70(0,46) kompozit filmi için yapılan haritalama analizi (Şekil 8.135.) sonucunda Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen olarak dağılım göstermesinin nanogümüş kaplı hidroksiapatitin kompozit film içinde homojen olarak dağıldığının bir göstergesi olduğu düşünülmüştür.



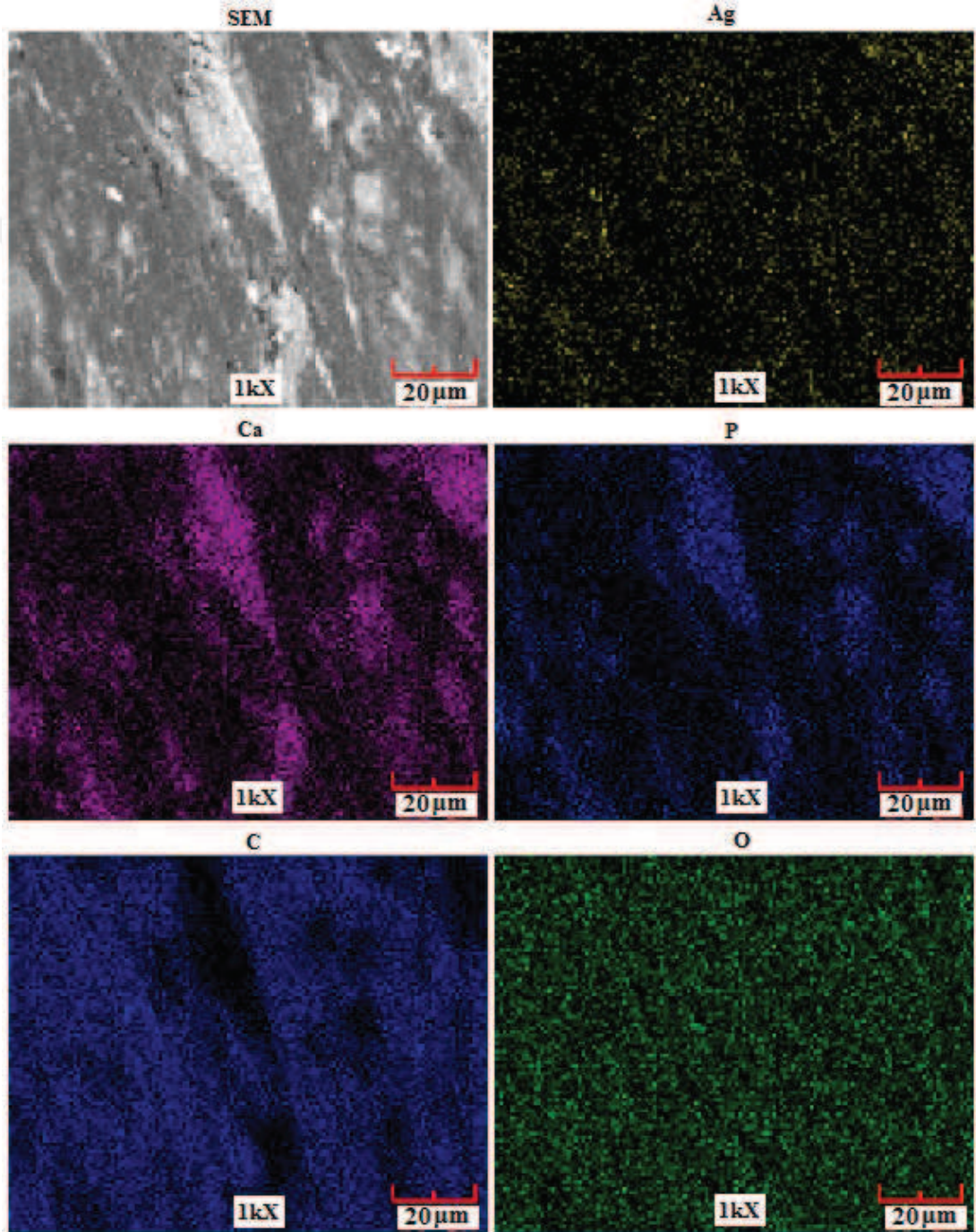
Şekil 8.135. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) kompozit filmine ait haritalama

PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit filmi için yapılan haritalama analizi (Şekil 8.136.) sonucunda Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen olarak dağılım göstermesinin nanogümüş kaplı hidroksiapatitin kompozit film içinde homojen olarak dağıldığının bir göstergesi olduğu düşünülmüştür.



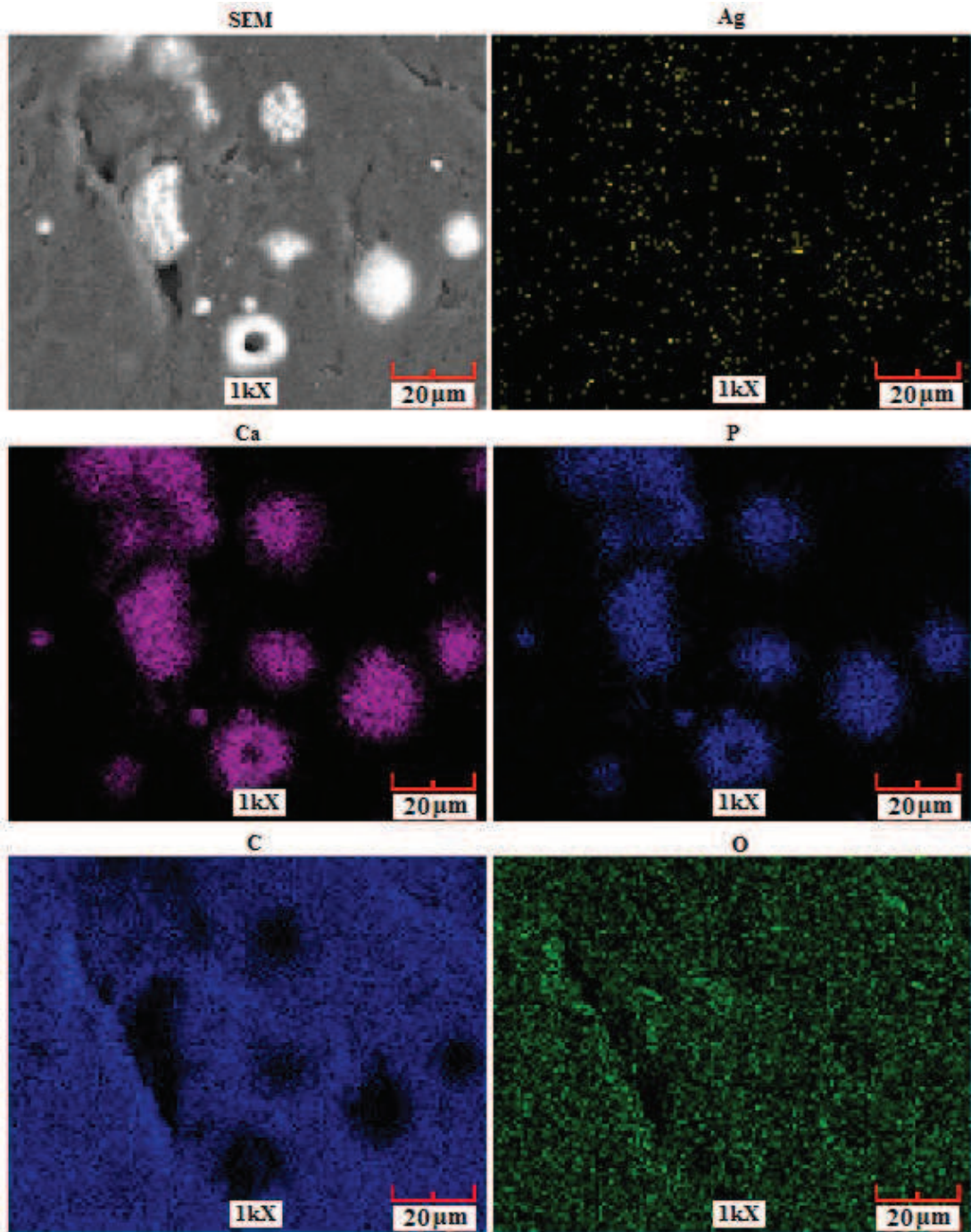
Şekil 8.136. PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit filmine ait haritalama

PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit filmi için yapılan haritalama analizi (Şekil 8.137.) sonucunda Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen olarak dağılım göstermesinin nanogümüş kaplı hidroksiapatitin kompozit film içinde homojen olarak dağıldığının bir göstergesi olduğu düşünülmüştür.



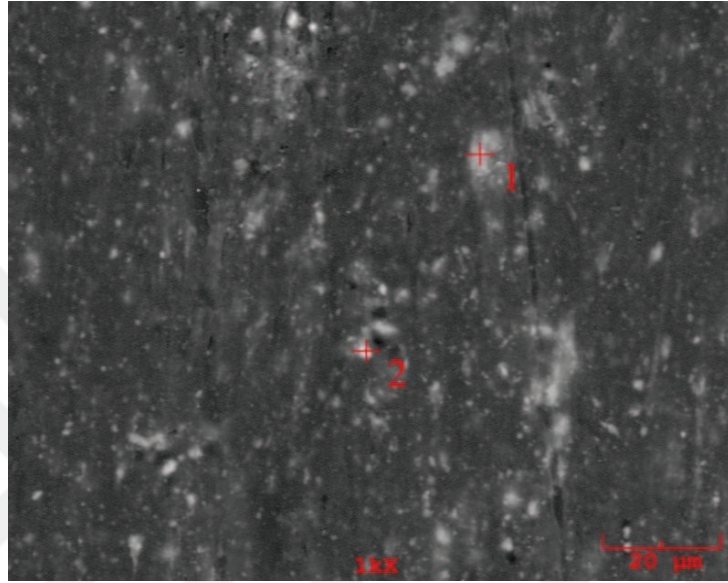
Şekil 8.137. PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit filmine ait haritalama

PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit filmi için yapılan haritalama analizinde (Şekil 8.138.) nano Ag'nin alanda homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada sentezlenen hidroksiapatit partiküllerine göre tane boyutu daha büyük olan küresel ticari hidroksiapatit partiküllerinin olduğu bölgelerde Ca ve P yoğun olarak görülmüştür.

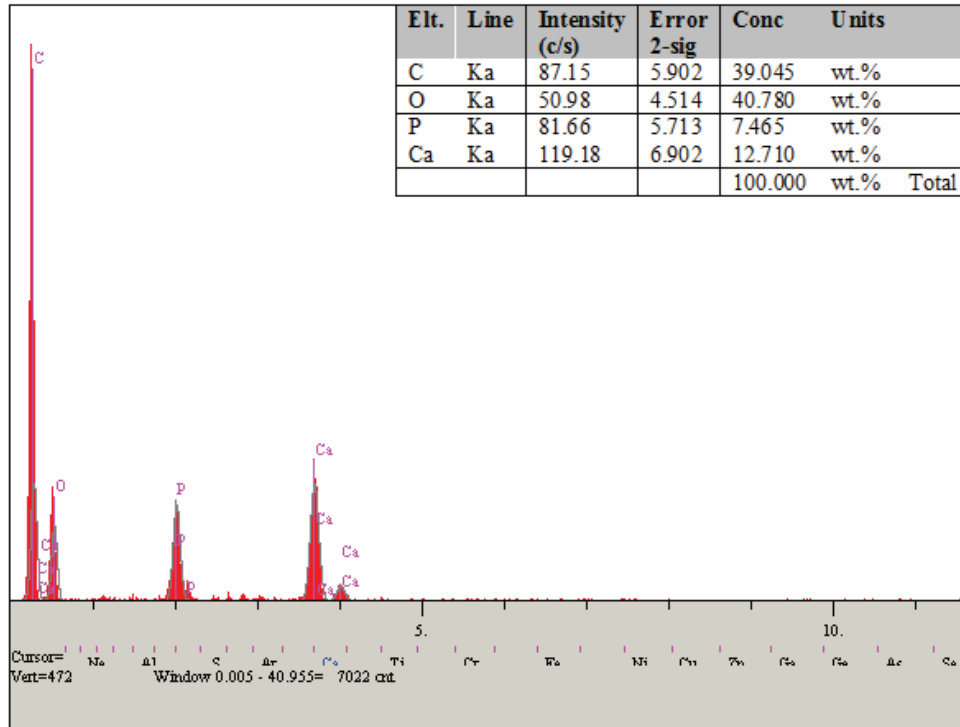


Şekil 8.138. PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit filmine ait haritalama

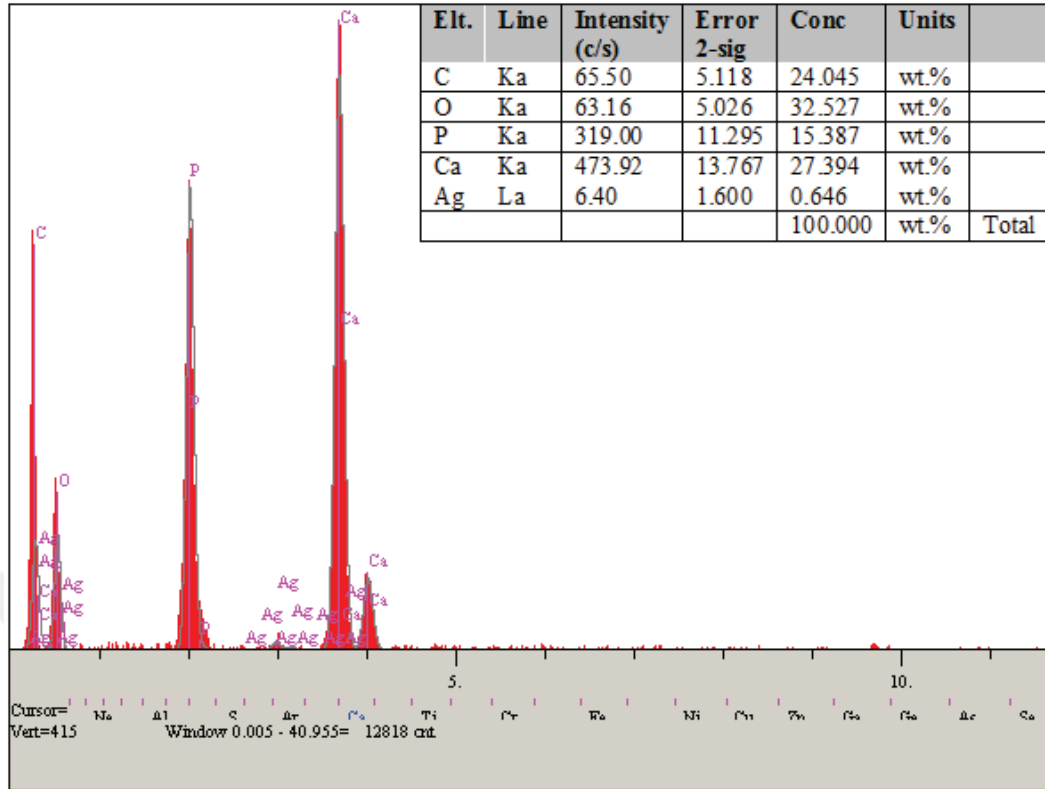
PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesine görüntü alanının tümünden ve 2 farklı noktadan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.139.). Görüntü alanının tümünden yapılan EDX analizi sonucunda %0 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.140.). 2 farklı noktaya (1 nolu ve 2 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.141., Şekil 8.142.'de verilmiştir.



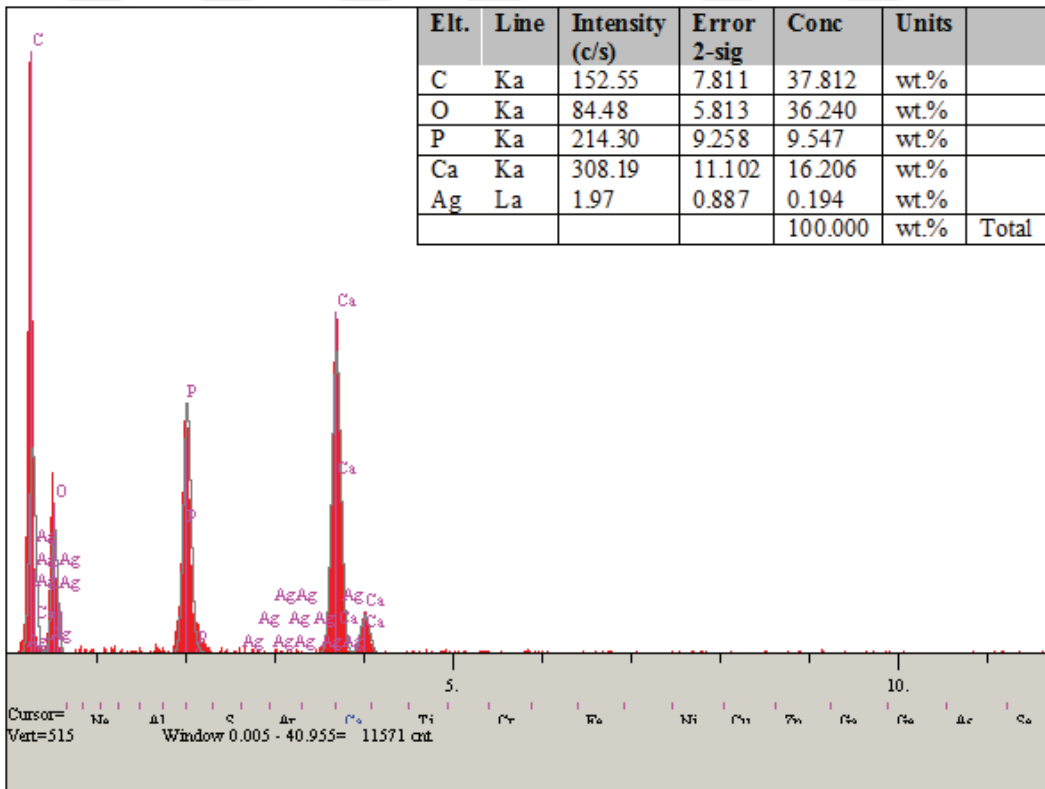
Şekil 8.139. PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan



Şekil 8.140. PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

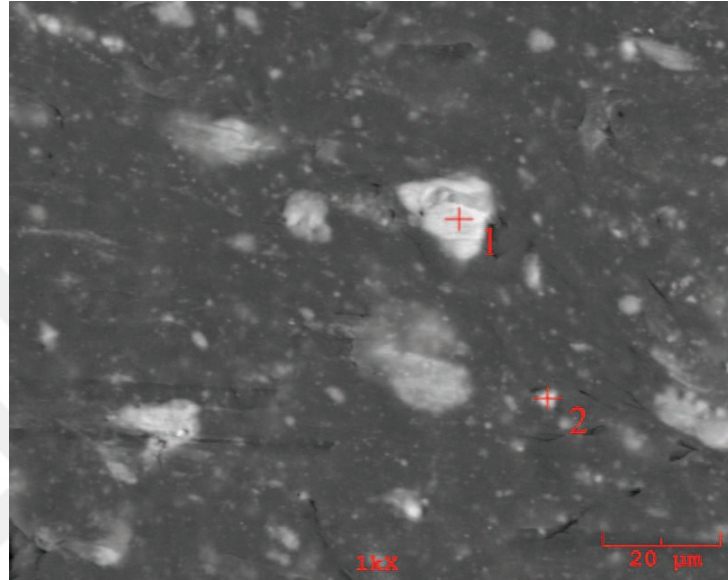


Şekil 8.141. PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

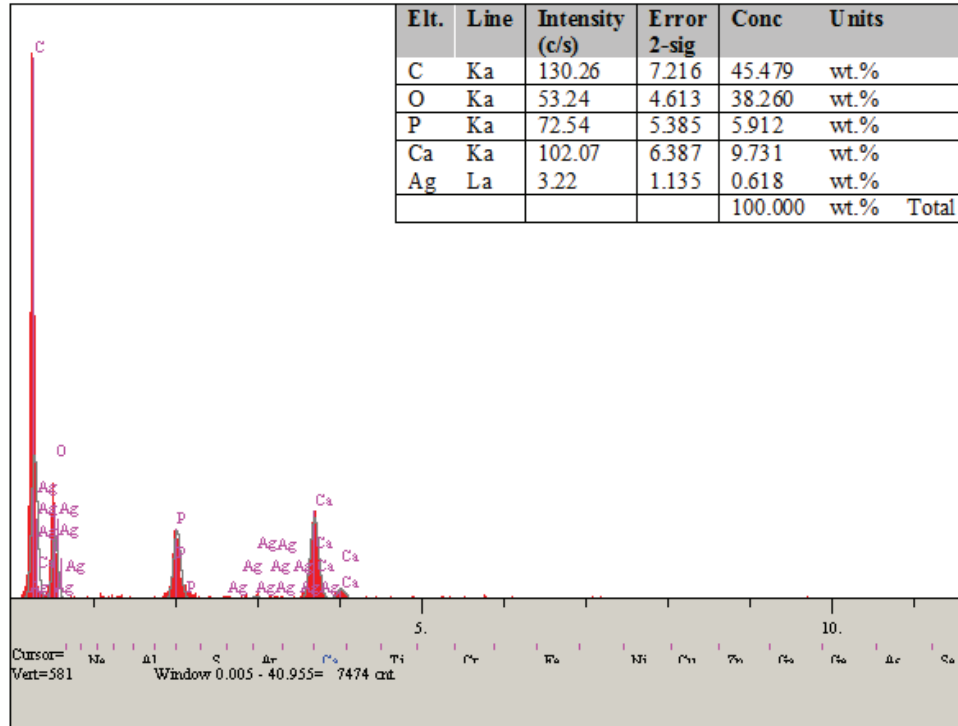


Şekil 8.142. PCL-AgHAP-SP70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

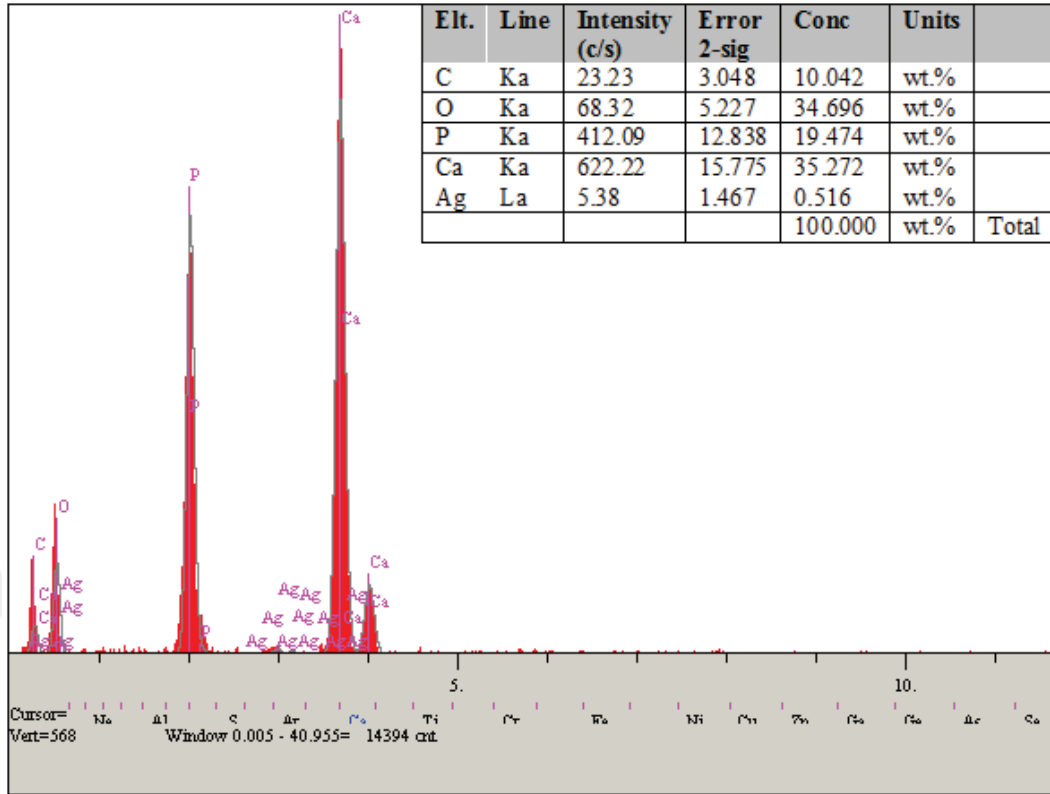
PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesine görüntü alanının tümünden ve 2 farklı noktadan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.143.). Görüntü alanının tümünden yapılan EDX analizi sonucunda %0,618 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.144.). 2 farklı noktaya (1 nolu ve 2 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.145., Şekil 8.146.'da verilmiştir.



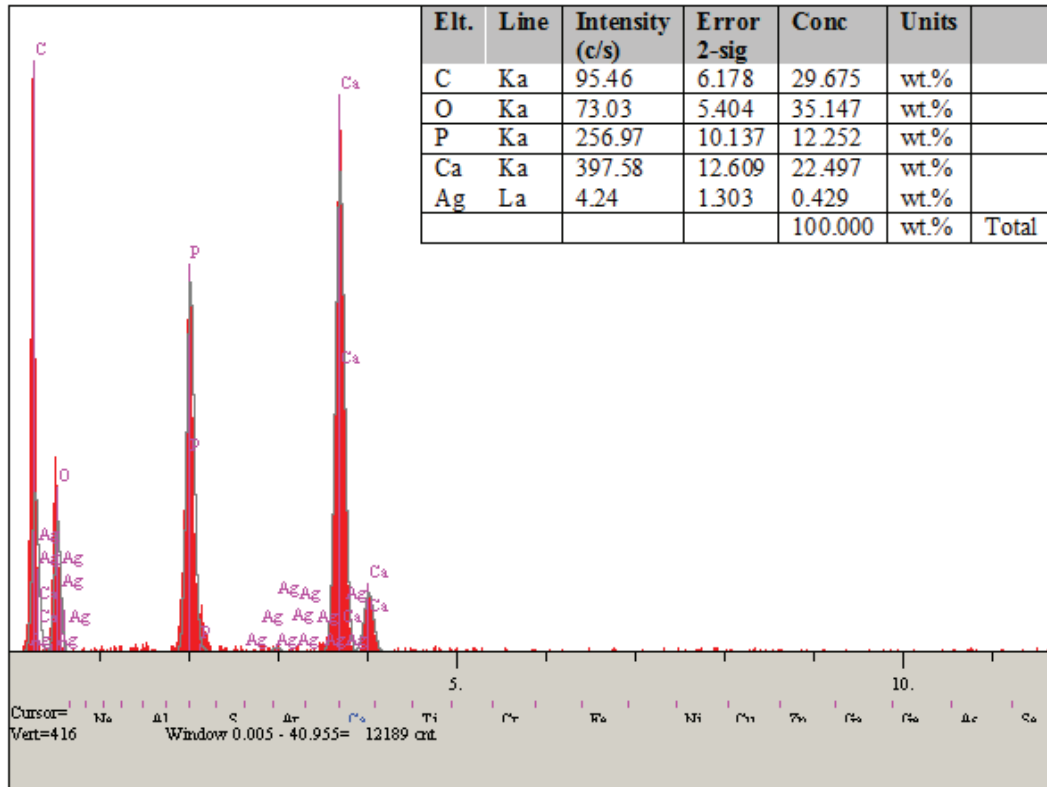
Şekil 8.143. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan



Şekil 8.144. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

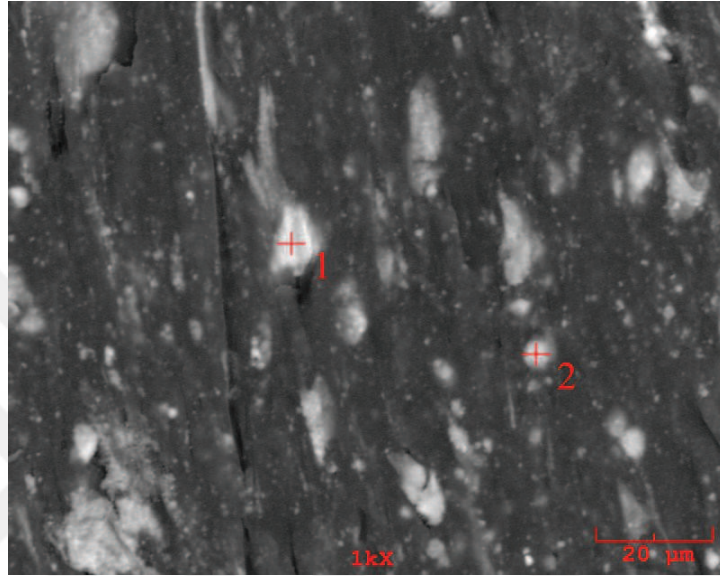


Şekil 8.145. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

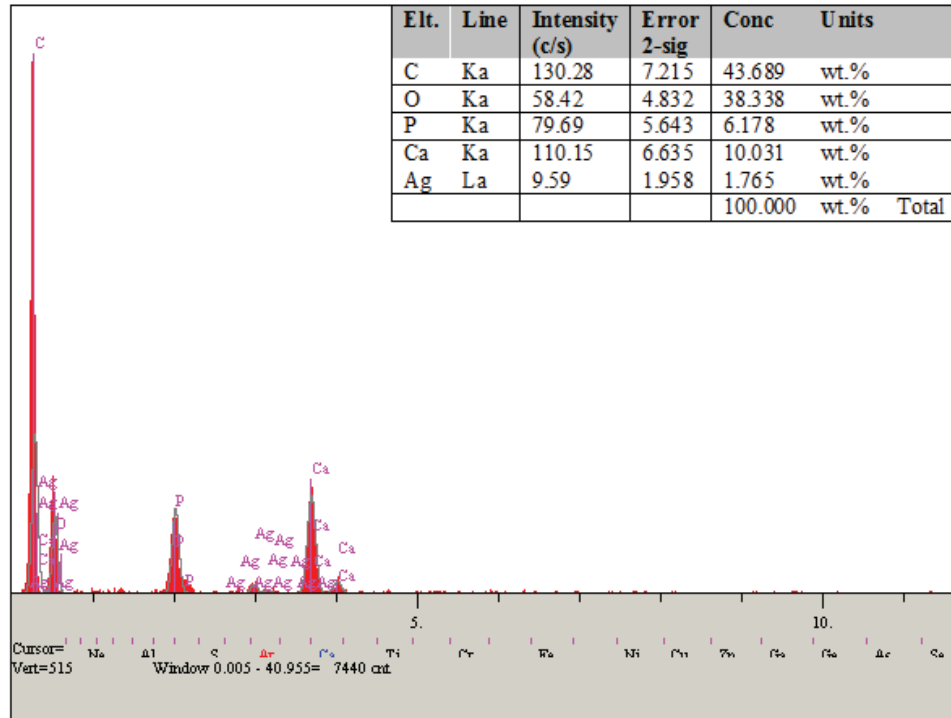


Şekil 8.146. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

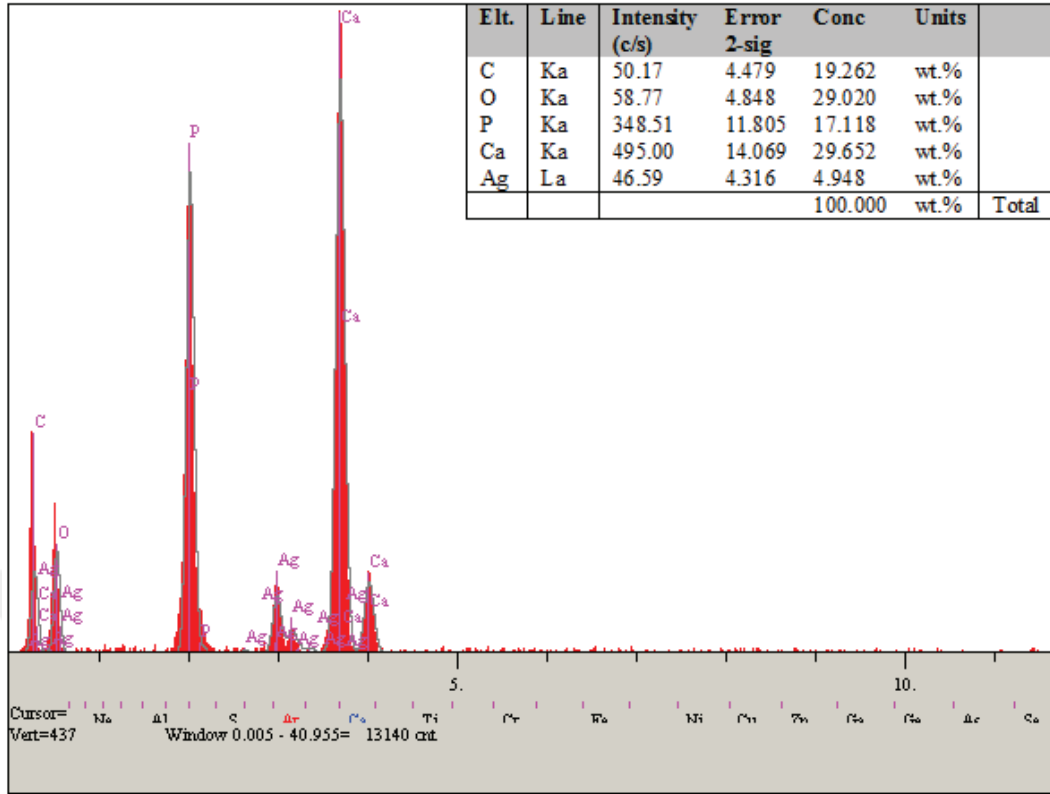
PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesine görüntü alanının tümünden ve 2 farklı noktadan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.147.). Görüntü alanının tümünden yapılan EDX analizi sonucunda %1,765 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.148.). 2 farklı noktaya (1 nolu ve 2 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.149., Şekil 8.150.'de verilmiştir.



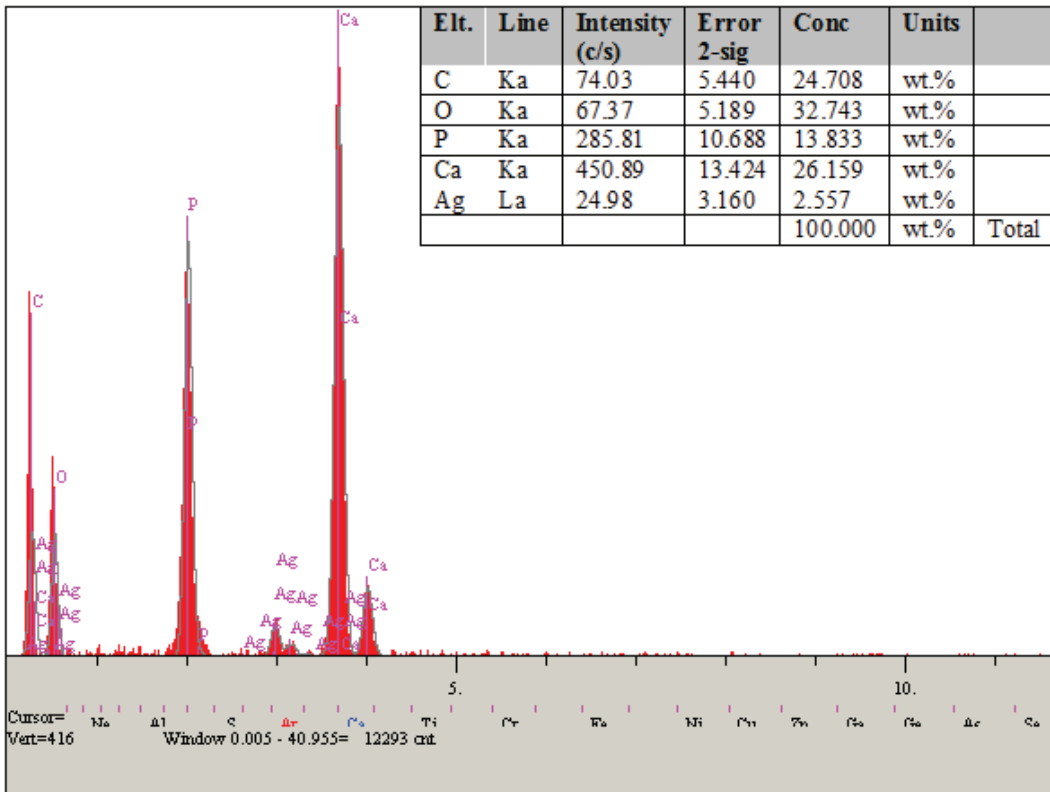
Şekil 8.147. PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan



Şekil 8.148. PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

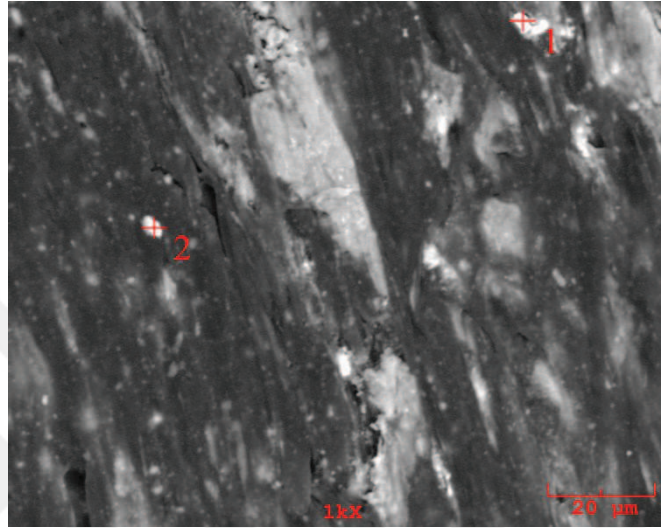


Şekil 8.149. PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

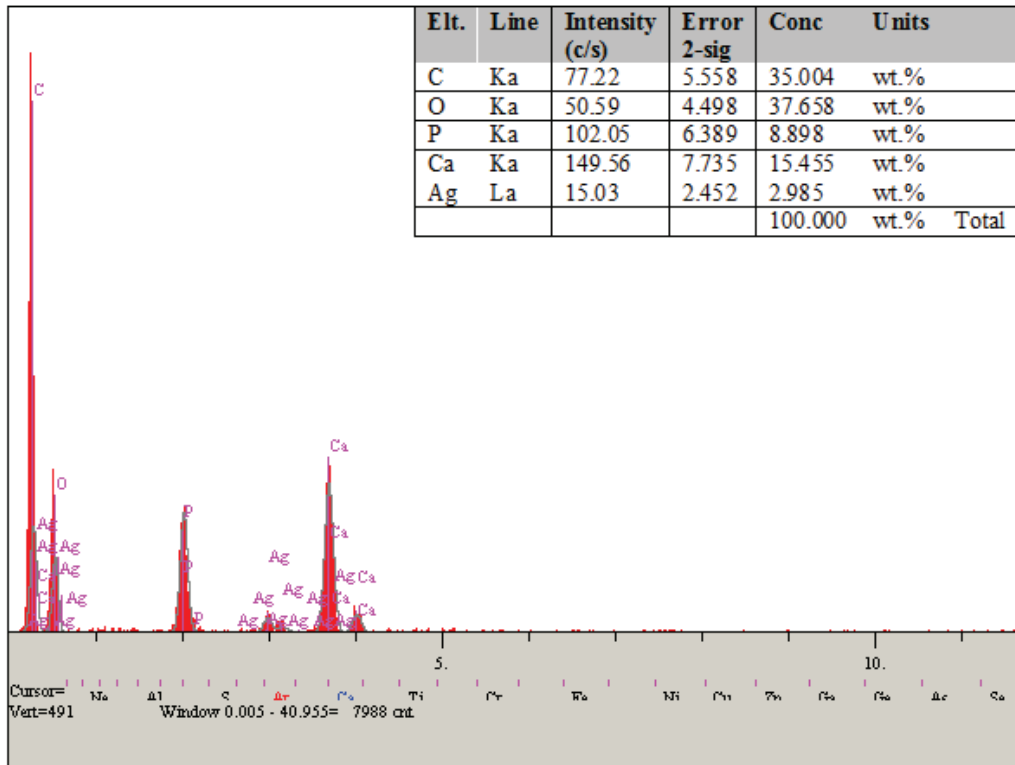


Şekil 8.150. PCL-AgHAP-SP70(4,3) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

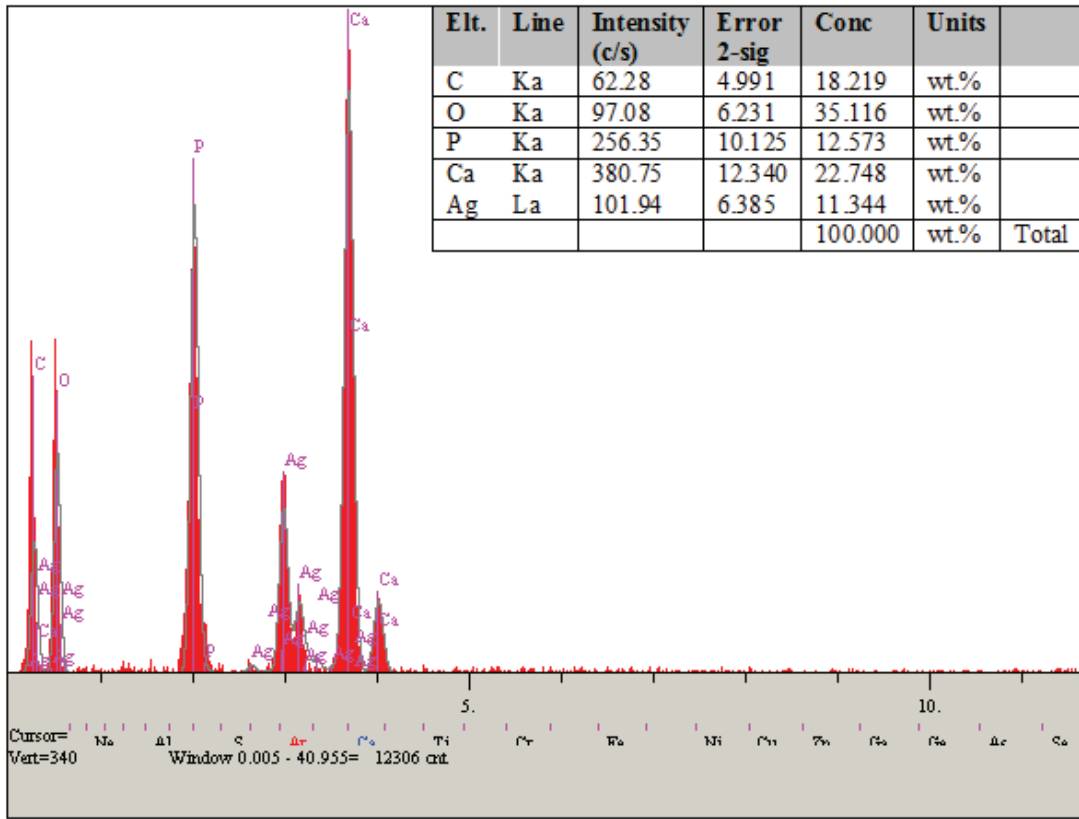
PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesine görüntü alanının tümünden ve 2 farklı noktadan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.151.). Görüntü alanının tümünden yapılan EDX analizi sonucunda %2,985 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.152.). 2 farklı noktaya (1 nolu ve 2 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.153., Şekil 8.154.'te verilmiştir.



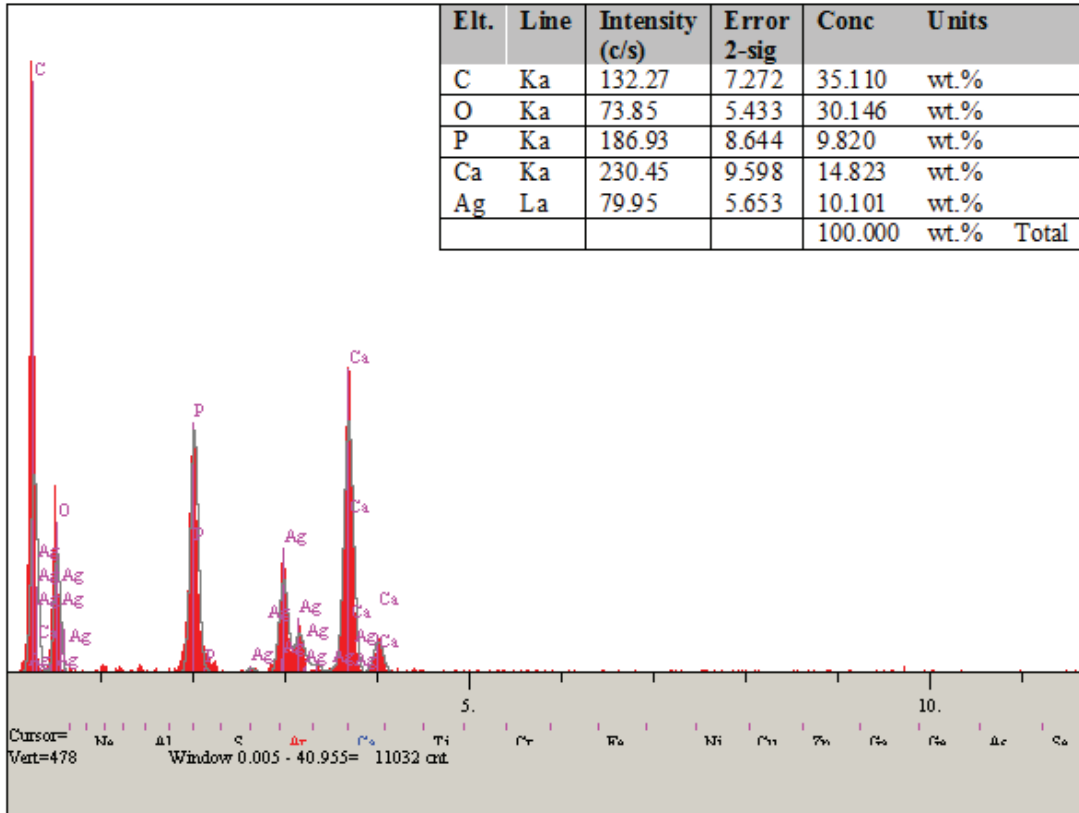
Şekil 8.151. PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan



Şekil 8.152. PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

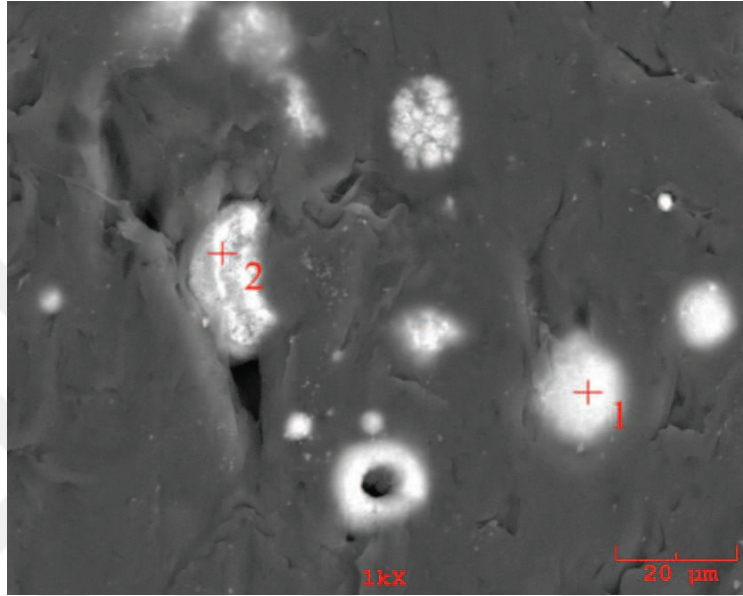


Şekil 8.153. PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

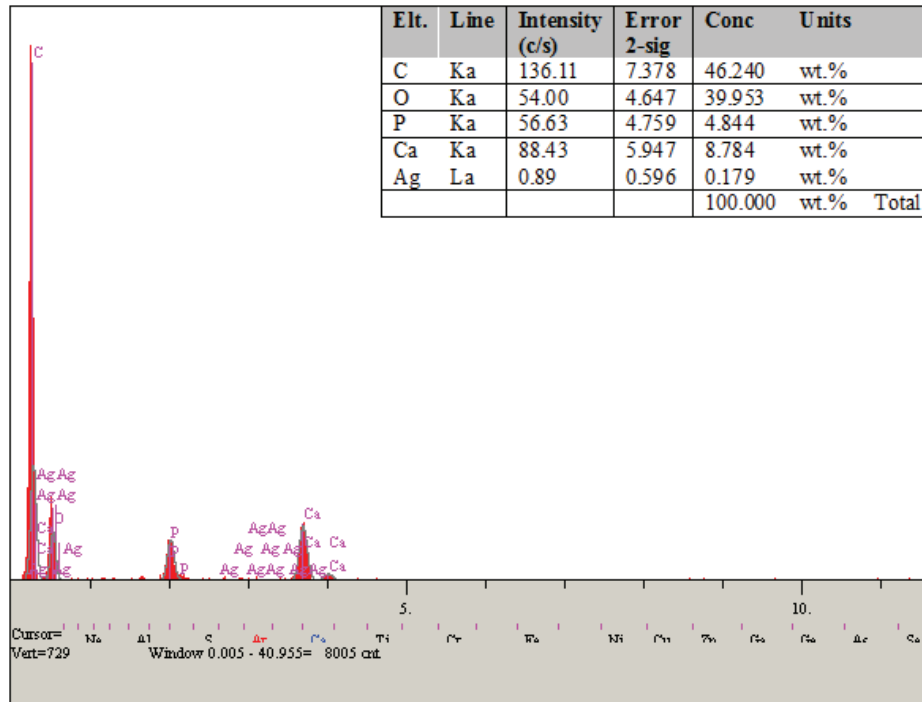


Şekil 8.154. PCL-AgHAP-SPK70(6,36) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

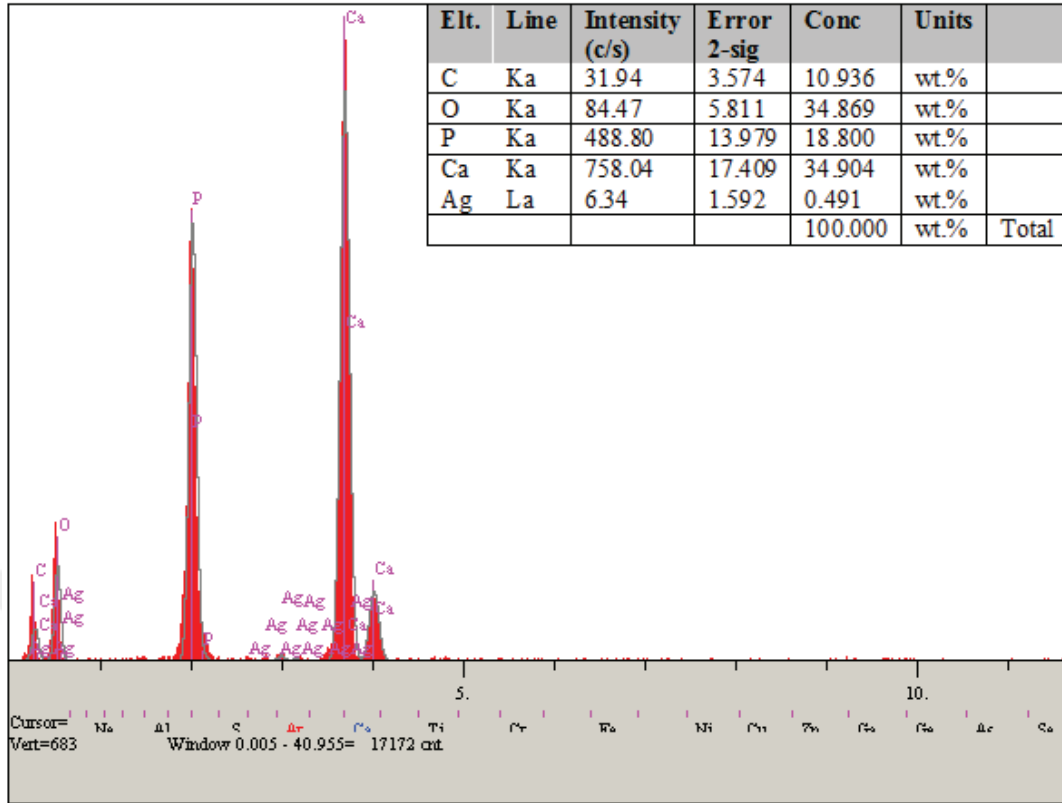
PCL-AgHAP-T(0,24) numunesine görüntü alanının tümünden ve 2 farklı noktadan EDX analizi yapılmıştır (Şekil 8.155.). Görüntü alanının tümünden yapılan EDX analizi sonucunda %0,179 Ag belirlenmiştir (Şekil 8.156.). 2 farklı noktaya (1 nolu ve 2 nolu noktalar) ait EDX spektrumu ve sonuçları Şekil 8.157., Şekil 8.158.'te verilmiştir.



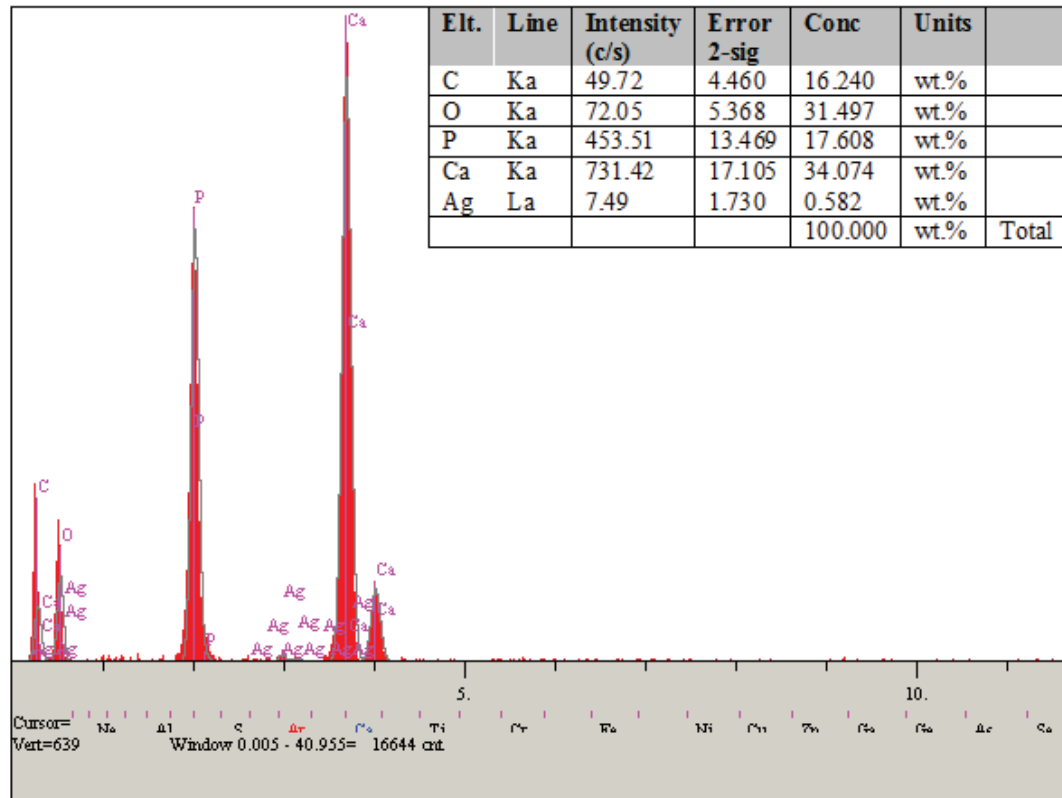
Şekil 8.155. PCL-AgHAP-T(0,24) numunesinde EDX analizinin yapıldığı noktalar(1 ve 2) ve alan



Şekil 8.156. PCL-AgHAP-T(0,24) numunesine ait alansal EDX spektrumu ve sonuçları

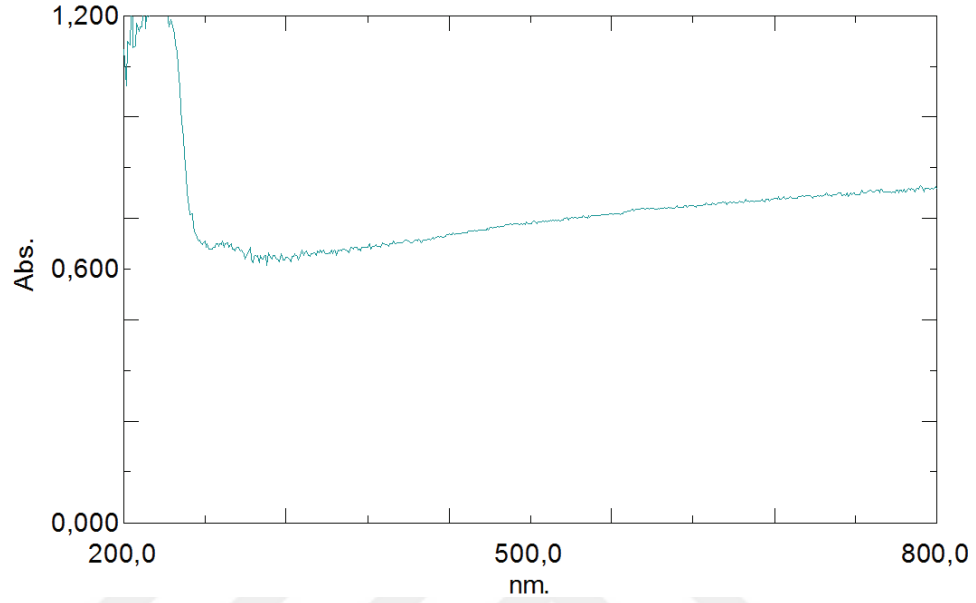


Şekil 8.157. PCL-AgHAP-T(0,24) numunesi 1 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları



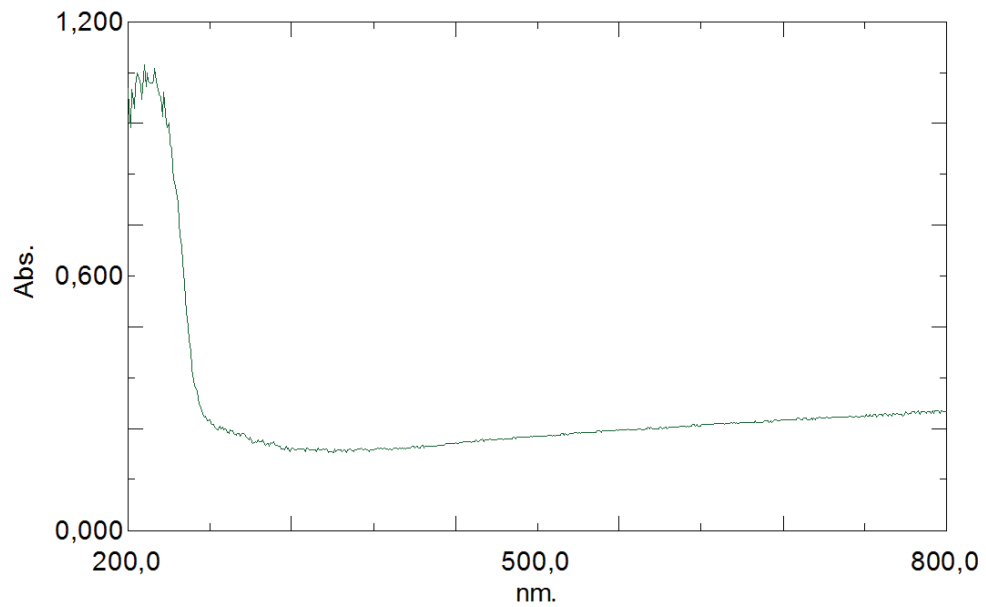
Şekil 8.158. PCL-AgHAP-T(0,24) numunesi 2 nolu noktaya ait noktasal EDX spektrumu ve sonuçları

PCL film numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda 223 nm’de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.159.).



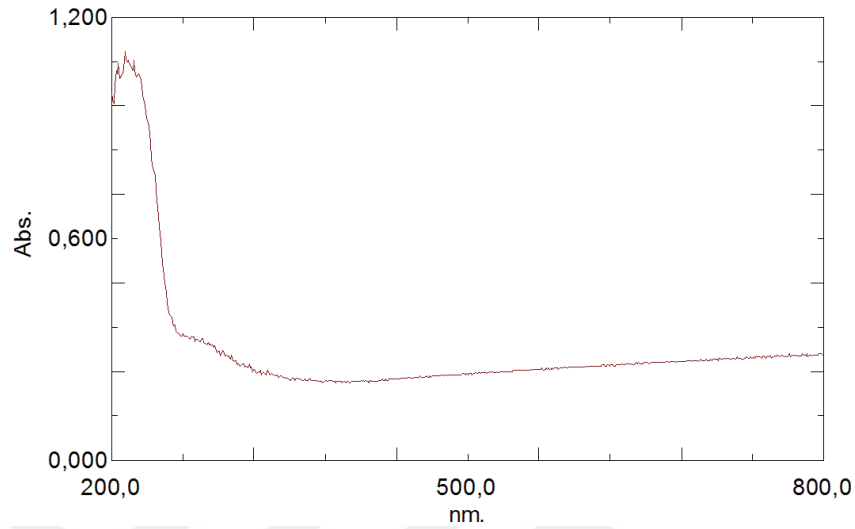
Şekil 8.159. PCL filme ait UV-vis. spektrumu (λ_{\max} =223 nm)

PCL-HAP-SP70 kompozit film numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda 216 nm’de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.160.).



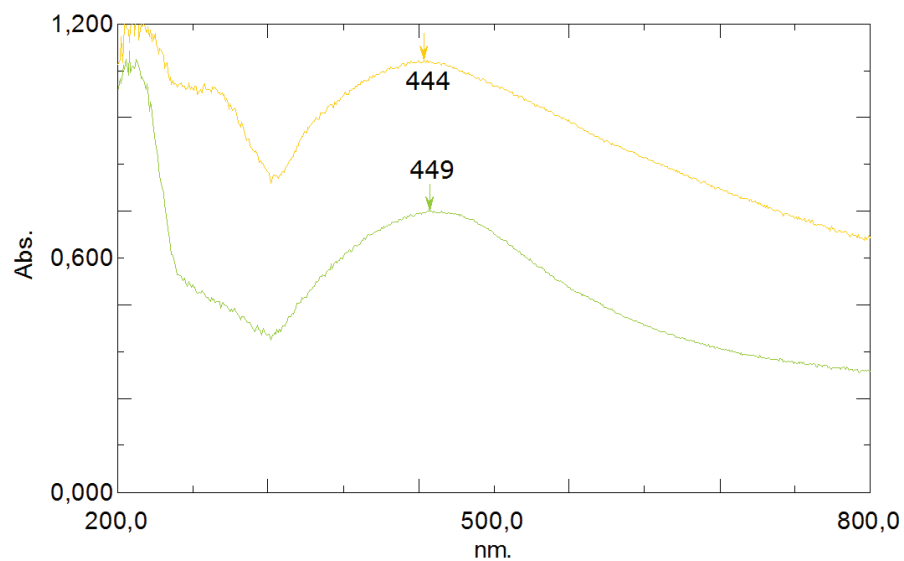
Şekil 8.160. PCL-HAP-SP70 kompozit filmine ait UV-vis. spektrumu (λ_{\max} =216 nm)

PCL-HAP-SPK70 kompozit film numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda 212 nm’de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.161.).



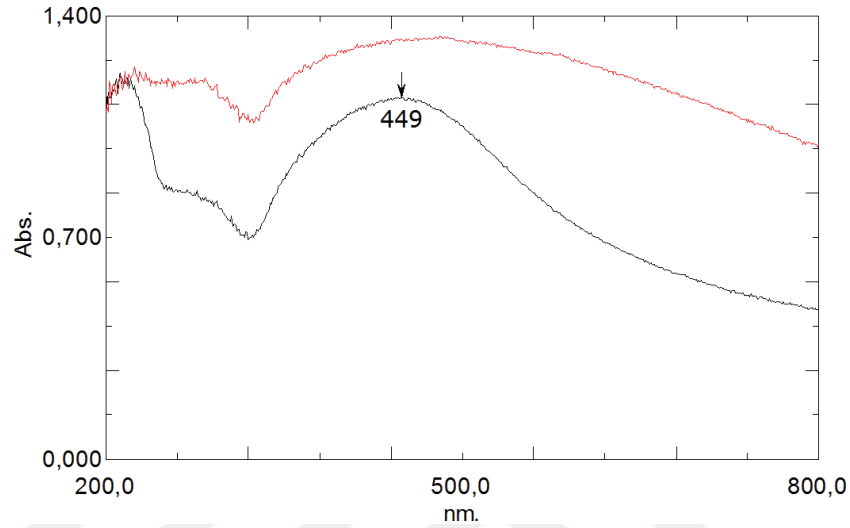
Şekil 8.161. PCL-HAP-SPK70 kompozit filmine ait UV-vis. spektrumu ($\lambda_{\max}=212$ nm)

Farklı oranlarda gümüş içeren PCL-AgHAP-SP70(0,46) ve PCL-AgHAP-SP70(4,3) kompozit film numunelerinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı sırasıyla 449 nm (%0,46 Ag) ve 444 nm’de (%4,3 Ag) absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.162.).



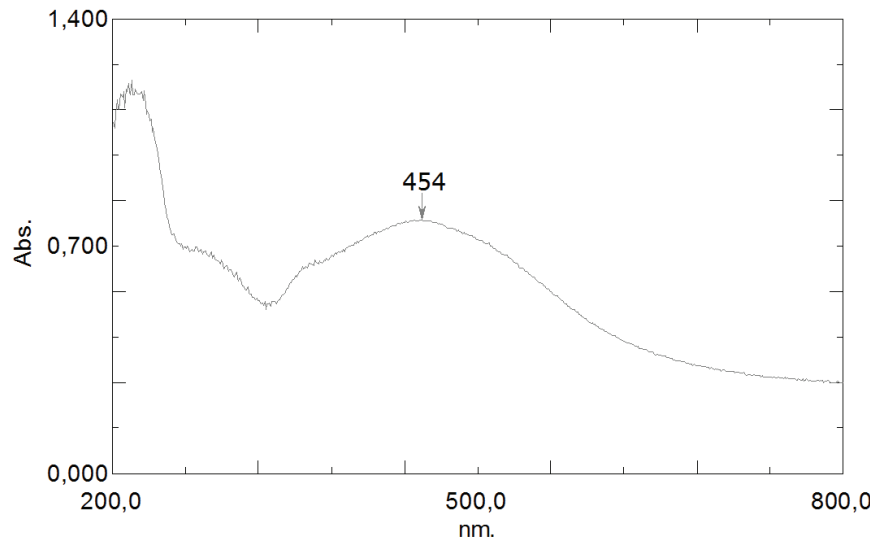
Şekil 8.162. PCL-AgHAP-SP70(0,46) ($\lambda_{\max}=449$ nm) ve PCL-AgHAP-SP70(4,3) ($\lambda_{\max}=444$ nm) numunelerine ait UV-vis. spektrumu

Farklı oranlarda gümüş içeren PCL-AgHAP-SPK70(0,46) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit film numunelerinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı sırasıyla 449 nm (%0,46 Ag) ve 485 nm'de (%6,36 Ag) absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.163.).



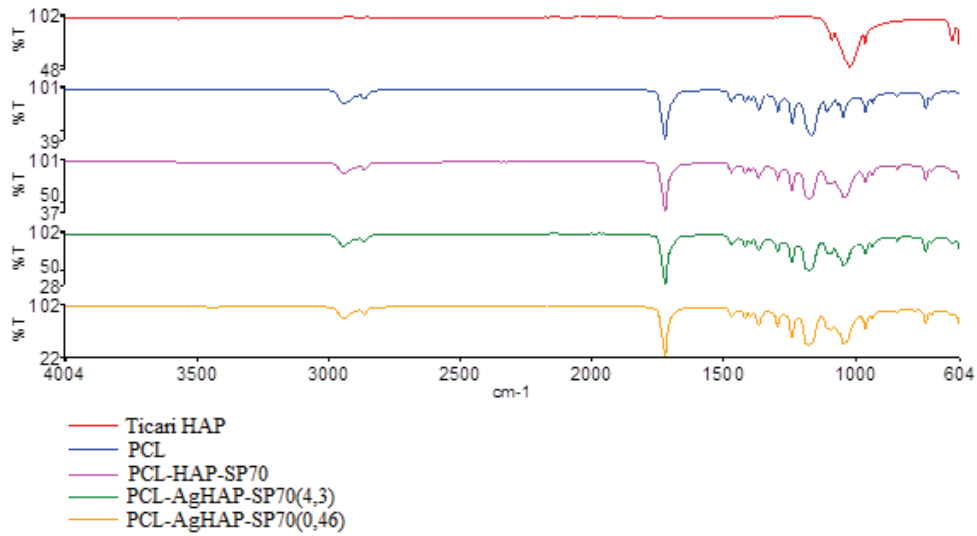
Şekil 8.163. PCL-AgHAP-SPK70(0,46) ($\lambda_{\max}=449$ nm) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36) ($\lambda_{\max}=485$ nm) numunelerine ait UV-vis. spektrumu

PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit film numunesinin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı 454 nm'de absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (Şekil 8.164.).

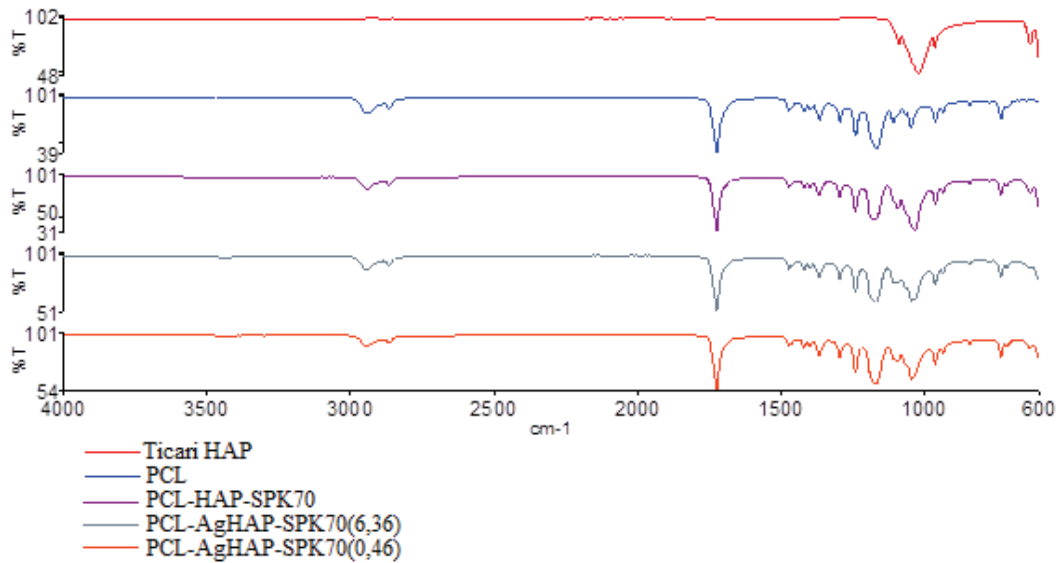


Şekil 8.164. PCL-AgHAP-T(0,24) numunesine ait UV-vis. spektrumu

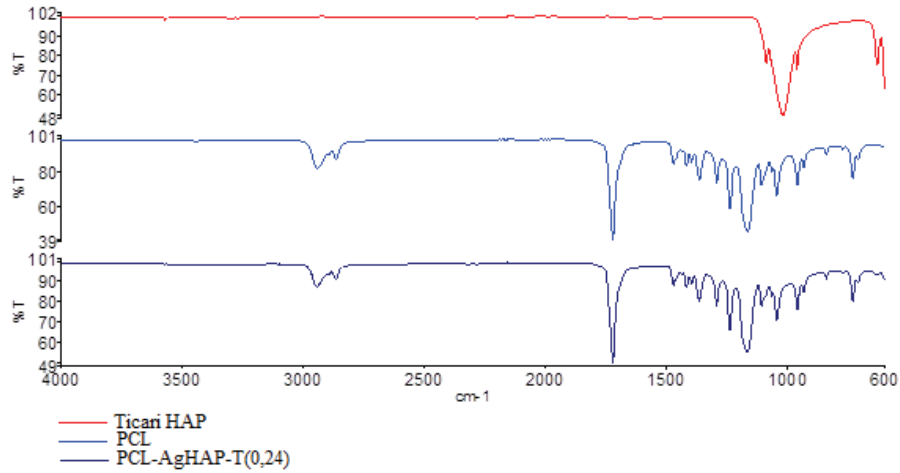
Nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerine FTIR analitik tekniği kullanılarak yapılan analiz sonucu elde edilen spektrumlar Şekil 8.165.-Şekil 8.167.'de gösterilmiştir. Karşılaştırma yapabilmek amacıyla sunulan hidroksiapatit toz ve PCL film numunelerine ait spektrumlarda karakteristik pikler gözlemlenmiştir. Nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerine ait spektrumlarda da hidroksiapatite ve PCL'ye ait karakteristik pikler olduğu görülmüş ve nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlere ait spektrumların birbirlerine benzer oldukları gözlemlenmiştir.



Şekil 8.165. Kalsinasyon işlemi (600 °C'de 1 saat) uygulanmamış HAP kullanılarak üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerine ait FTIR spektrumları



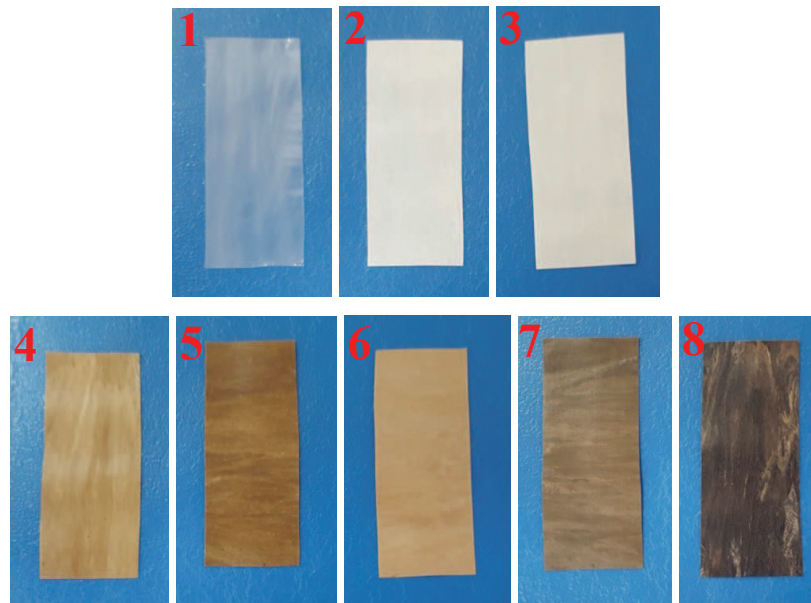
Şekil 8.166. Kalsinasyon işlemi (600 °C'de 1 saat) uygulanmış HAP kullanılarak üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerine ait FTIR spektrumları



Şekil 8.167. Ticari HAP kullanılarak üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunesine ait FTIR spektrumu

8.10. Üretilen Nano Ag-HAP-PCL (%30 HAP) Kompozit Filmlerin Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri

Elde edilen kompozit filmler belirli boyutlarda ($2 \text{ cm} \times 5 \text{ cm} \times (0,25 \text{ mm} \pm 0,02 \text{ mm})$) kesilerek test numuneleri hazırlanmıştır (Şekil 8.168.). Antimikrobiyal aktivite ölçümü öncesinde hazırlanan numunelerin yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla kompozit filmlerin her bir yüzü, 30 dakika boyunca UV (Philips Ultra Violet TUV 30w) ışıkla steril edilmiştir.



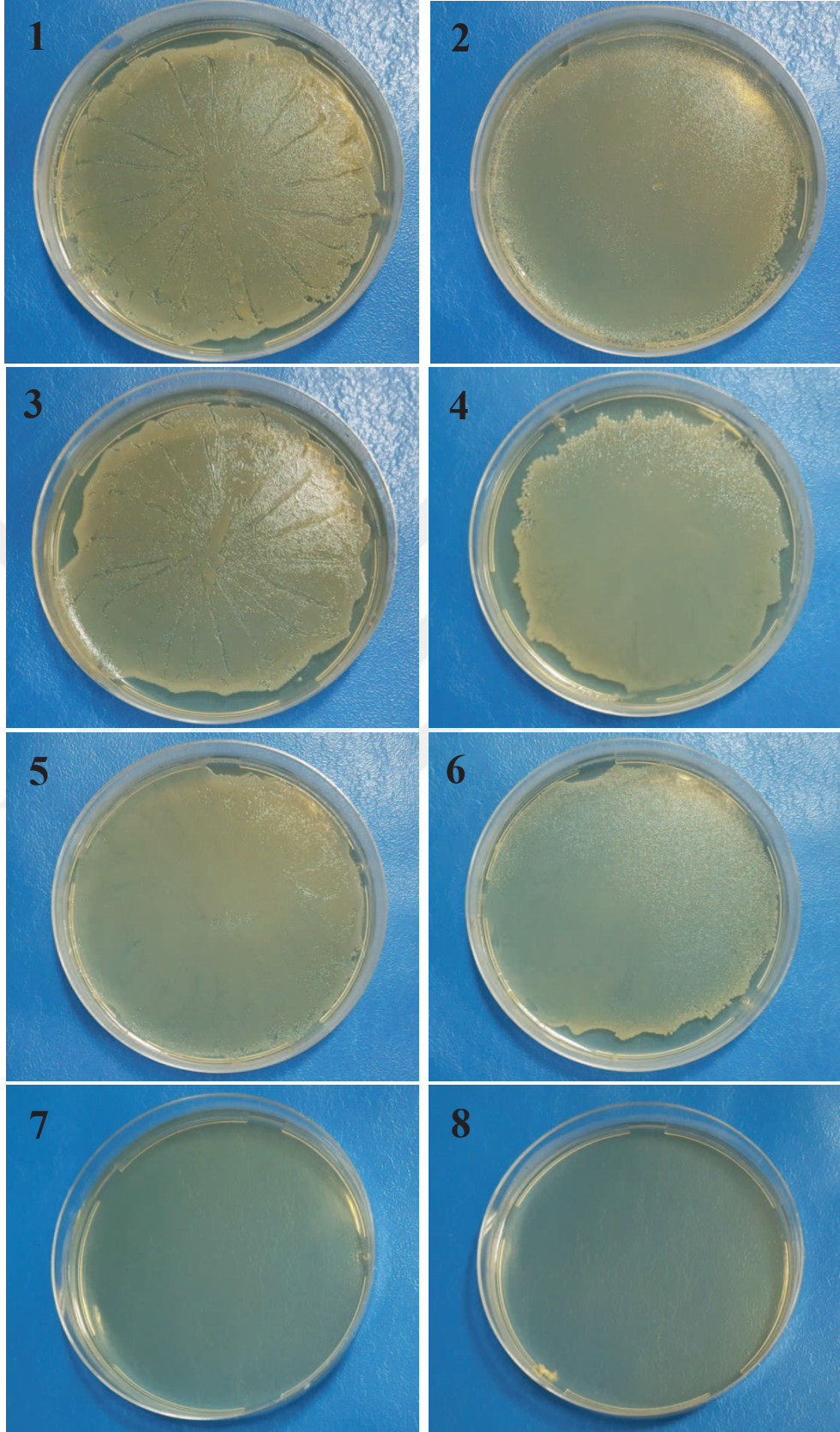
Şekil 8.168. Hazırlanan test numuneleri 1) PCL (kontrol), 2) PCL-HAP-SP70 (kontrol), 3) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 4) PCL-AgHAP-SP70(0,46), 5) PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 6) PCL-AgHAP-T(0,24), 7) PCL-AgHAP-SP70(4,3), 8) PCL-AgHAP-SPK70(6,36)

Nanogümüş kaplı hidroksiapatit-PCL kompozit film yüzeylerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri ölçülmüştür. Antibakteriyel aktivite ölçümü için plate counting metodu kullanılmıştır. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus epidermidis* Triptik Soy Broth besiyerlerine ekilmiştir ve 37 ± 1 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen sıvı kültürlerden Koyun Kanlı Agara ekim yapılarak 24 saat süre ile 37 ± 1 °C’de inkübe edilmiştir.

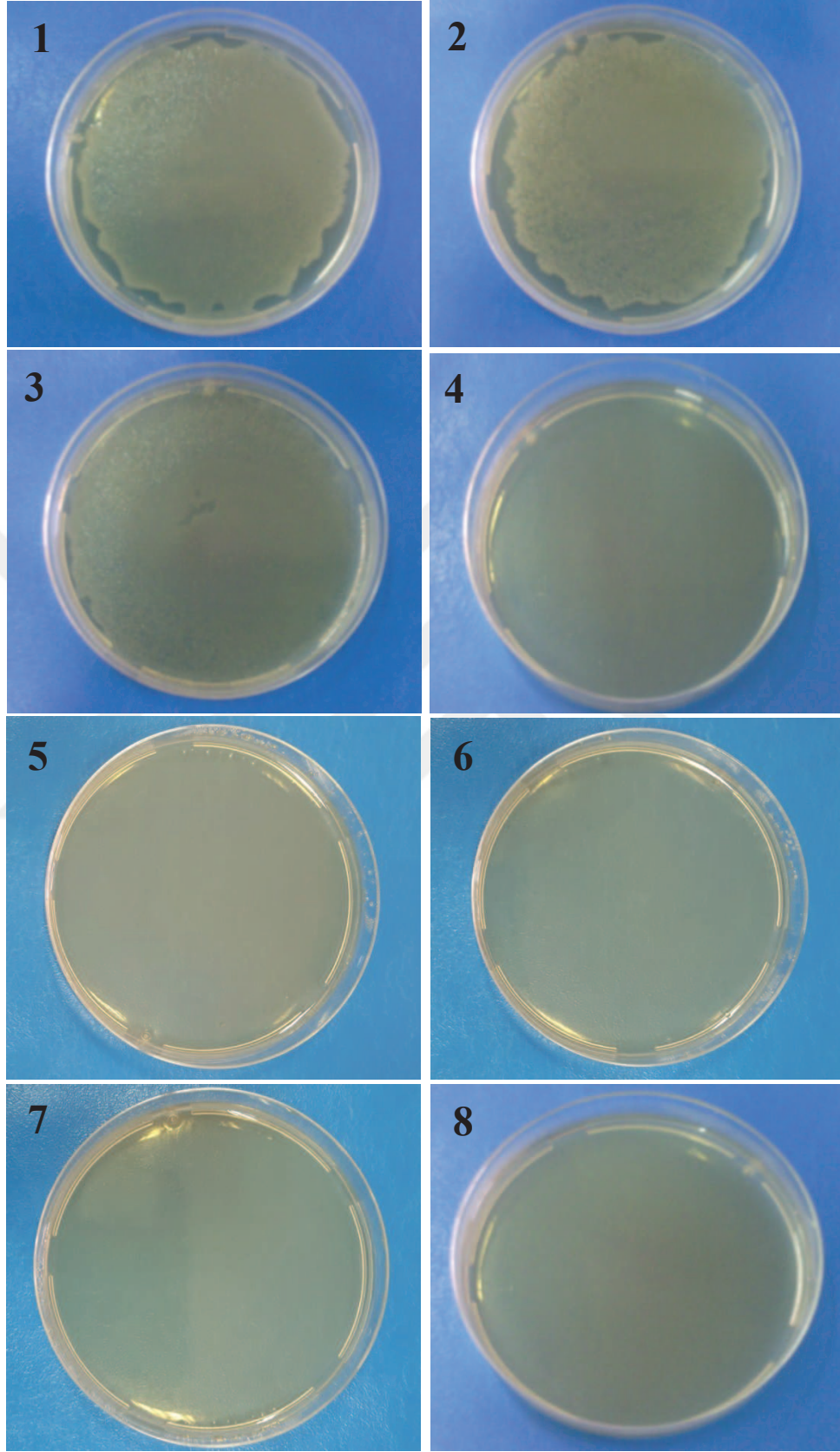
1×10^6 KOB/mL *S. aureus* bakteri süspansiyonu Triptik Soy Broth ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan kompozit filmlerin yüzeyine 0,1 mL inokule edilmiştir. Numunenin üzeri asetat film (1,5 cm×4 cm) ile kaplanmıştır. Filmler %90’nın üzerindeki nemde ve 37 ± 1 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından filmler 20 mL %0,87 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama çözeltisinden 0,1 mL alınarak Nutrient Agar besiyerine yayma ekim yapılmıştır. 37 ± 1 °C’de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir.

1×10^6 KOB/mL *E. coli* bakteri süspansiyonu Triptik Soy Broth ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan kompozit filmlerin yüzeyine 0,1 mL inokule edilmiştir. Numunenin üzeri asetat film (1,5 cm×4 cm) ile kaplanmıştır. Filmler %90’nın üzerindeki nemde ve 37 ± 1 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından filmler 20 mL %0,87 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama çözeltisinden 0,1 mL alınarak Nutrient Agar besiyerine yayma ekim yapılmıştır. 37 ± 1 °C’de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir.

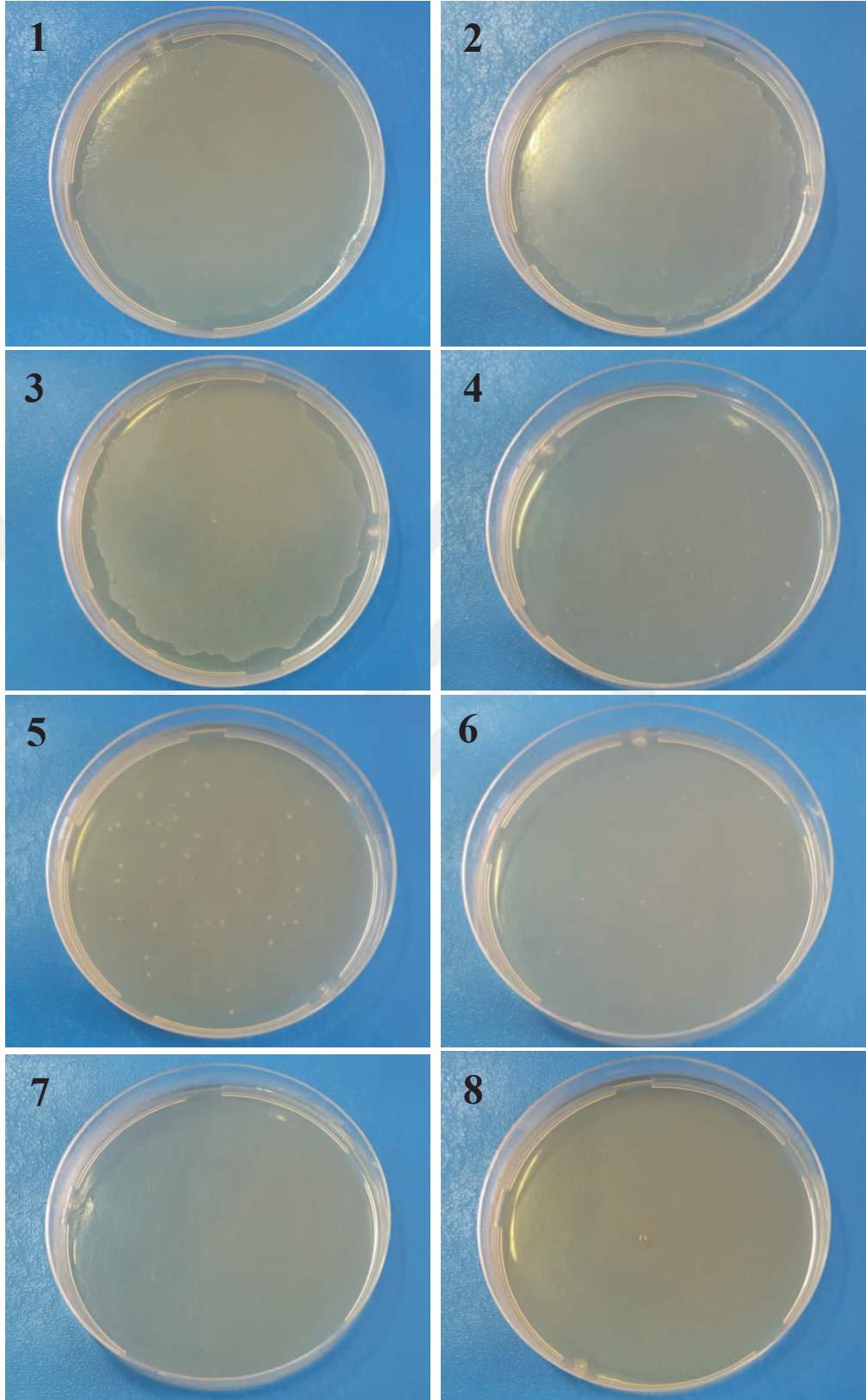
1×10^6 KOB/mL *S. epidermidis* bakteri süspansiyonu Triptik Soy Broth ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan kompozit filmlerin yüzeyine 0,1 mL inokule edilmiştir. Numunenin üzeri asetat film (1,5 cm×4 cm) ile kaplanmıştır. Filmler %90’nın üzerindeki nemde ve 37 ± 1 °C sıcaklıkta 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından filmler 20 mL %0,87 NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama çözeltisinden 0,1 mL alınarak Nutrient Agar besiyerine yayma ekim yapılmıştır ve 37 ± 1 °C’de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Meydana gelen bakteri kolonilerine ait görüntüler Şekil 8.169. – Şekil 8.171.’de gösterilmiştir.



Şekil 8.169. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *S. aureus* kolonileri, 1) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 2) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 3)PCL (kontrol), 4)PCL-AgHAP-T(0,24), 5)PCL-AgHAP-SP70(0,46), 6)PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 7) PCL-AgHAP-SP70(4,3), 8)PCL-AgHAP-SPK70(6,36)



Şekil 8.170. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *E. coli* kolonileri, 1) PCL-HAP-SP70(kontrol), 2) PCL-HAP-SPK70(kontrol), 3) PCL(kontrol),4) PCL-AgHAP-T(0,24), 5) PCL-AgHAP-SP70(0,46), 6) PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 7) PCL-AgHAP-SP70(4,3), 8) PCL-AgHAP-SPK70(6,36)



Şekil 8.171. 24 saatlik inkübasyon sonunda meydana gelen *S. epidermidis* kolonileri, 1) PCL-HAP-SP70 (kontrol), 2) PCL-HAP-SPK70 (kontrol), 3) PCL (kontrol), 4) PCL-AgHAP-T(0,24), 5) PCL-AgHAP-SP70(0,46), 6)PCL-AgHAP-SPK70(0,46), 7) PCL-AgHAP-SP70(4,3), 8) PCL-AgHAP-SPK70(6,36)

İnkübasyon sonunda oluşan kolonilerin sayımı gerçekleştirilmiştir (Tablo 8.6.).

Tablo 8.6. Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmler için besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

KOMPOZİT FİMLER	TEST SONUÇLARI		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i>
PCL (kontrol)	+ (yoğun)	+ (yoğun)	+ (yoğun)
PCL-HAP-SP70 (kontrol)	+ (yoğun)	+ (yoğun)	+ (yoğun)
PCL-HAP-SPK70 (kontrol)	+ (yoğun)	+ (yoğun)	+ (yoğun)
PCL-AgHAP-SP70(4,3)	-	-	-
PCL-AgHAP-SPK70(6,36)	-	-	-
PCL-AgHAP-SP70(0,46)	+ (yoğun)	-	+ (57)
PCL-AgHAP-SPK70(0,46)	+ (yoğun)	-	+ (15)
PCL-AgHAP-T(0,24)	+ (yoğun)	-	+ (27)

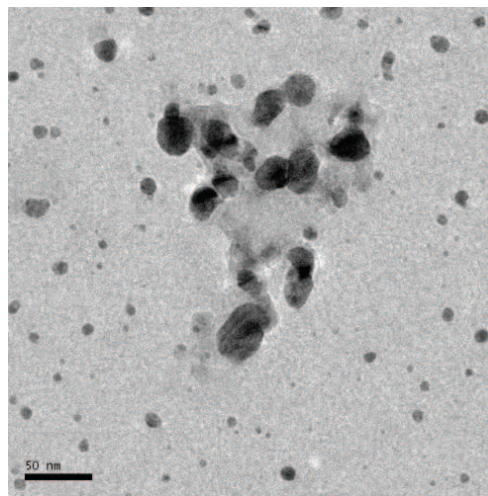
Antimikrobiyal etki formülü kullanılarak % antibakteriyel aktivite hesaplanmıştır (Tablo 8.7.). Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin tümünün *Escherichia coli* üzerinde %100 antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. PCL-AgHAP-SP70(4,3) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit filmlerinin *Staphylococcus aureus* üzerinde %100 antibakteriyel aktivite gösterdiği; PCL-AgHAP-SP70(0,46), PCL-AgHAP-SPK70(0,46) ve PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit filmlerinin ise *Staphylococcus aureus* üzerinde antibakteriyel aktivite göstermediği tespit edilmiştir. PCL-AgHAP-SP70(4,3) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit filmlerinin *Staphylococcus epidermidis* üzerinde %100 antibakteriyel aktivite gösterdiği; PCL-AgHAP-SP70(0,46), PCL-AgHAP-SPK70(0,46) ve PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit filmlerinin ise *Staphylococcus epidermidis* üzerinde %99 antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 8.7. Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin antibakteriyel aktivite (%R) sonuçları

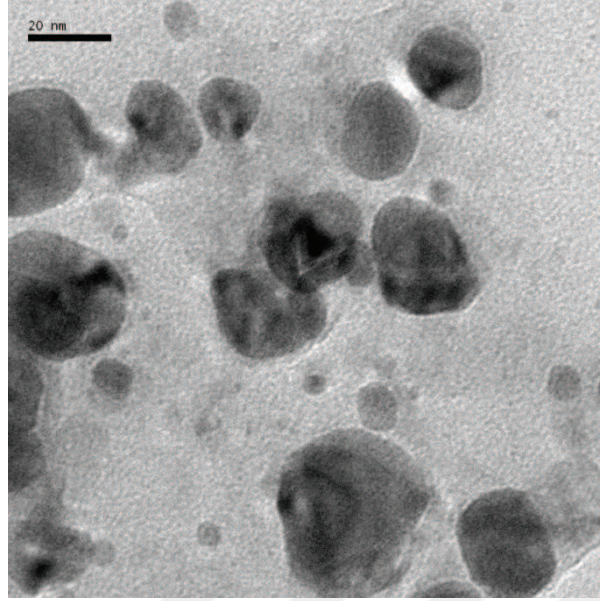
KOMPOZİT FİMLER	% ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTE			%Ag
	Test Mikroorganizmaları			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i>	
PCL(kontrol)	0	0	0	0
PCL-HAP-SP70(kontrol)	0	0	0	0
PCL-HAP-SPK70(kontrol)	0	0	0	0
PCL-AgHAP-SP70(4,3)	100	100	100	1,2885
PCL-AgHAP-SPK70(6,36)	100	100	100	1,9068
PCL-AgHAP-SP70(0,46)	0	100	99	0,1365
PCL-AgHAP-SPK70(0,46)	0	100	99	0,1365
PCL-AgHAP-T(0,24)	0	100	99	0,0729

8.11. Diğer Karakterizasyon ve Analiz (TEM, ICP-OES, EDX) Sonuçları

AgHAP-T(0,24) toz numunesine yapılan yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) analizinde hidroksiapatit yüzeyinde 0-40 nm boyutlarında nanogümüş partiküllerinin oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 8.172., Şekil 8.173.).

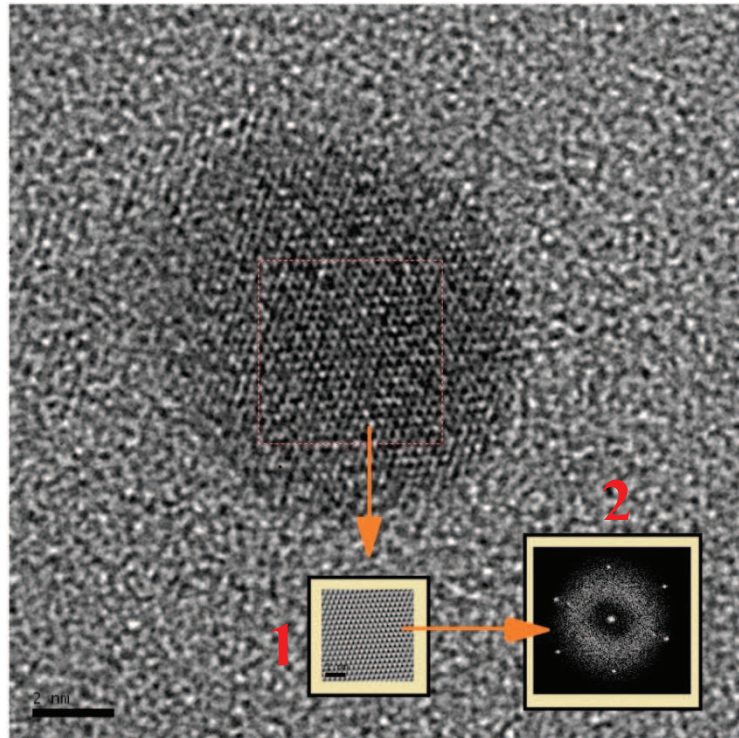


Şekil 8.172. AgHAP-T(0,24) numunesine ait HR-TEM görüntüsü



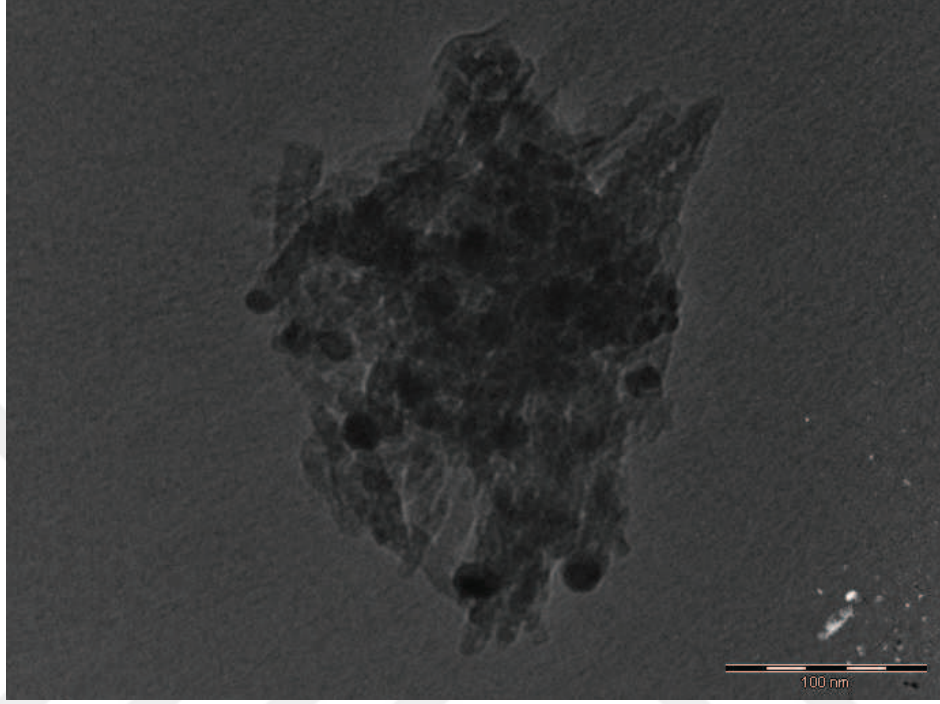
Şekil 8.173. AgHAP-T(0,24) numunesine ait HR-TEM görüntüsü

AgHAP-T(0,24) toz numunesine yapılan yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) analizinde nanogümüşe ait HR-TEM görüntüsü elde edilmiştir. Nanogümüşün hcp (hexagonal close-packed) kristal yapısında olduğu FFT paterninde gözlemlenmiştir (Şekil 8.174).

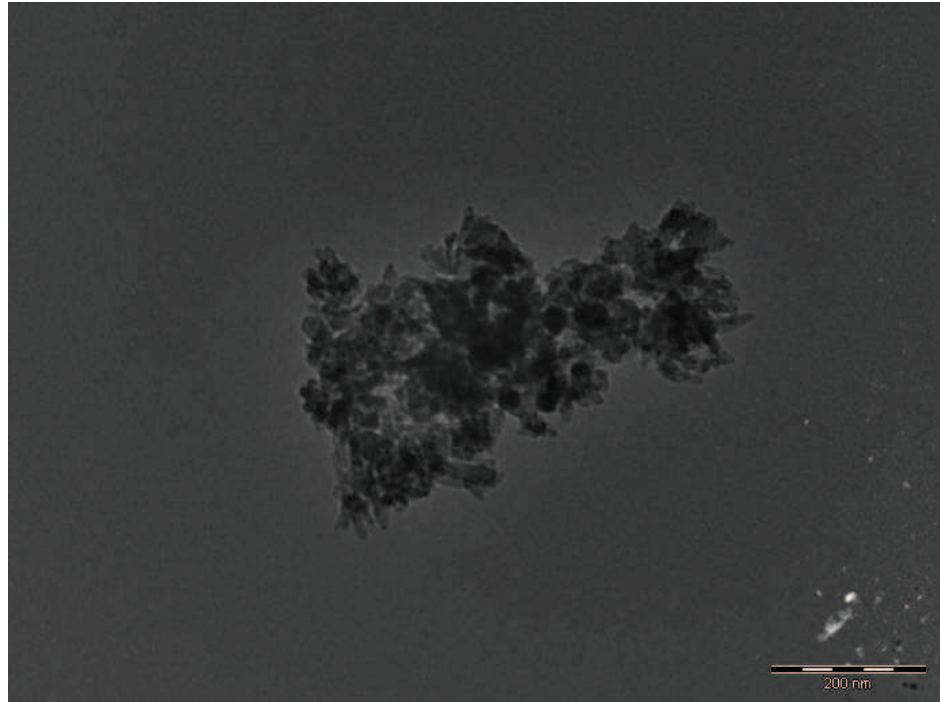


Şekil 8.174. Nanogümüşe ait HR-TEM görüntüsü, 1) Hcp kristal yapısı, 2) FFT paterni

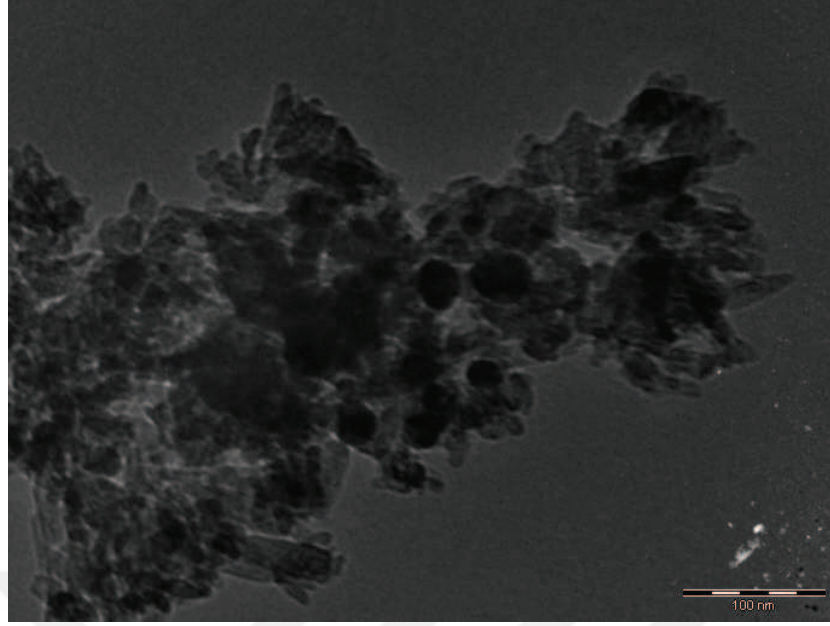
AgHAP-SPK70(6,36) toz numunesine yapılan geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizinde hidroksiapatit yüzeyinde 0-30 nm boyutlarında nanogümüş partiküllerinin oluştuğu gözlemlenmiştir (şekil 8.175. - şekil 8.177.).



şekil 8.175. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait TEM görüntüsü



şekil 8.176. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait TEM görüntüsü



Şekil 8.177. AgHAP-SPK70(6,36) numunesine ait TEM görüntüsü

Faz kompozisyonunu, kristaliniteyi ve kristal boyutunu belirlemek amacıyla yapılan XRD analizlerinden elde edilen bulgulardan faydalanarak üretilen hidroksiapatit tozların kristal boyutları hesaplanmıştır (Tablo 8.8.). Kristal boyutlarını hesaplamak için Scherrer formülü kullanılmıştır. Kalsine edilmemiş hidroksiapatit tozlarda kristal boyutunun 7-10 nm olduğu; buna karşın kalsine edilmiş hidroksiapatit tozlarda kristal boyutunun 11-12 nm olduğu belirlenmiştir. 600 °C'deki kalsinasyon işlemi sonucunda kristal boyutlarında bir büyümenin olduğu görülmüştür. Üretilen hidroksiapatit tozlarının kristal boyutlarının ticari hidroksiapatit tozunun (HAP-T) kristal boyutundan küçük olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 8.8. Üretilen hidroksiapatit tozların Scherrer formülü ile hesaplanmış kristal boyutu sonuçları

Numuneler	Düzlem	Kristal boyutu (nm)
HAP-S	121	9,926
HAP-SK	121	12,161
HAP-SP20	211	7,886
HAP-SPK20	211	11,044
HAP-SP70	211	9,637
HAP-SPK70	211	12,50
HAP-T	211	32,951

Üretilen nanogümüş kaplı hidroksiapatit toz numunelerinde %Ag belirlenmesi amacıyla ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy) analizi yapılmıştır. Bu amaçla öncelikle analiz için numuneler hazırlanmıştır. Analiz edilecek her bir numuneden 50'şer mg hassas terazi ile tartılmıştır. Tartılan miktarların üzerine 10'ar mL % 6,5 HNO₃ ilave edilmiştir ve 30 dakika bekletilmiştir. Ardından mavi bantlı filtre kağıdı ile süzme işlemi yapılmıştır ve 50 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Numune hazırlama işleminin ardından yapılan ICP-OES analiziyle elde edilen sonuçlardan %Ag hesaplanmıştır (Tablo 8.9.). AgHAP-SP70(0,46) ve AgHAP-SPK70(0,46) numunelerinde nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,015 g AgNO₃ eklenmiştir. Buna karşılık AgHAP-SP70(4,3) ve AgHAP-SPK70(6,36) numunelerinde ise nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,15 g AgNO₃ katılmıştır. ICP-OES analiz sonuçları incelendiğinde nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama katılan AgNO₃ miktarının 10 kat artırılmasıyla hidroksiapatit yüzeyine kaplanan nanogümüşün de yaklaşık 10 kat arttığı görülmüştür.

Tablo 8.9. Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara (sentezlenmiş) ait ICP-OES sonuçları

Numuneler	%Ag	Ag (ppm) (50 mg AgHAP/50 mL)
AgHAP-S(0,09)	0,093	0,937
AgHAP-SK(0,23)	0,230	2,302
AgHAP-SP70(0,46)	0,455	4,553
AgHAP-SPK70(0,46)	0,455	4,55
AgHAP-SP70(4,3)	4,295	42,956
AgHAP-SPK70(6,36)	6,356	63,563

Üretilen nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara alansal EDX analizi %Ag belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Farklı alanlardan yapılan EDX analizinde elde edilen %Ag sonuçlarının ortalaması alınmıştır (Tablo 8.10.). AgHAP-SP70(0,46) ve AgHAP-SPK70(0,46) numunelerinde nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,015 g AgNO₃ eklenmiştir. Buna karşılık AgHAP-SP70(4,3) ve AgHAP-SPK70(6,36) numunelerinde ise nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,15 g

AgNO₃ katılmıştır. EDX analiz sonuçları incelendiğinde nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama katılan AgNO₃ miktarının 10 kat artırılmasıyla hidroksiapatit yüzeyine kaplanan nanogümüşün de yaklaşık 10 kat arttığı görülmüştür.

Tablo 8.10. Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara (sentezlenmiş) ait alansal EDX sonuçları

Numuneler	%Ag
AgHAP-S(0,09)	0,738
AgHAP-SK(0,23)	0,359
AgHAP-SP70(0,46)	0,687
AgHAP-SPK70(0,46)	0,502
AgHAP-SP70(4,3)	6,92
AgHAP-SPK70(6,36)	6,46

Üretilen nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara yapılan alansal EDX ve ICP-OES analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 8.11.'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 8.11. Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara (sentezlenmiş) ait karşılaştırmalı alansal EDX ve ICP-OES sonuçları

Numuneler	%Ag Yüze, EDX	%Ag Bulk, ICP-OES
AgHAP-S(0,09)	0,738	0,093
AgHAP-SK(0,23)	0,359	0,230
AgHAP-SP70(0,46)	0,687	0,455
AgHAP-SPK70(0,46)	0,502	0,455
AgHAP-SP70(4,3)	6,92	4,295
AgHAP-SPK70(6,36)	6,46	6,356

Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit toz numunelerinde %Ag belirlenmesi amacıyla ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy) analizi yapılmıştır. Bu amaçla öncelikle analiz için numuneler hazırlanmıştır. Analiz edilecek her bir numuneden 50'şer mg hassas terazi ile tartılmıştır. Tartılan miktarların üzerine 10'ar mL % 6,5 HNO₃ ilave edilmiştir ve 30 dakika

bekletilmiştir. Ardından mavi bantlı filtre kağıdı ile süzme işlemi yapılmıştır ve 50 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Numune hazırlama işleminin ardından yapılan ICP-OES analiziyle elde edilen sonuçlardan %Ag hesaplanmıştır (Tablo 8.12.). AgHAP-1 numunesinde nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,15 g AgNO₃ eklenmiştir. Buna karşılık AgHAP-2 numunesinde ise nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,3 g AgNO₃ katılmıştır. ICP-OES analiz sonuçları incelendiğinde nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama katılan AgNO₃ miktarının 2 kat artırılmasıyla hidroksiapatit yüzeyine kaplanan nanogümüşün de yaklaşık 2 kat arttığı görülmüştür.

Tablo 8.12. Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara (ticari) ait ICP-OES sonuçları

Numuneler	%Ag	Ag (ppm) (50 mg AgHAP/50 mL)
AgHAP-1	0,113	1,131
AgHAP-2	0,258	2,58
AgHAP-3	0,104	1,04
AgHAP-4	0,132	1,326
AgHAP-T(0,24)	0,243	2,428

Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozlara noktasal EDX analizi %Ag belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Farklı noktalardan yapılan EDX analizinde elde edilen %Ag sonuçlarının ortalaması alınmıştır (Tablo 8.13.).

Tablo 8.13. Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara (ticari) ait noktasal EDX sonuçları

Numuneler	%Ag
AgHAP-1	1,06
AgHAP-2	1,38
AgHAP-3	1,26
AgHAP-4	1,55
AgHAP-T(0,24)	22,3*

*Nanogümüş yüzeyinden yapılan inceleme

Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozlara yapılan noktasal EDX ve ICP-OES analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 8.14.'te karşılaştırılmıştır.

Tablo 8.14. Nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlara(ticari) ait karşılaştırmalı noktasal EDX ve ICP-OES sonuçları

Numuneler	%Ag Yüzey, EDX	%Ag Bulk, ICP-OES
AgHAP-1	1,06	0,113
AgHAP-2	1,38	0,258
AgHAP-3	1,26	0,104
AgHAP-4	1,55	0,132
AgHAP-T(0,24)	22,3*	0,243

*Nanogümüş yüzeyinden yapılan inceleme

Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerinde %Ag belirlenmesi amacıyla alansal EDX analizi yapılmıştır. Ayrıca nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlarının ICP-OES analizlerinden elde edilen verilerden nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerdeki %Ag hesaplanmıştır. Taramalı elektron mikroskopundaki tüm görüntü alanından yapılan EDX analizinde elde edilen %Ag sonuçları ve ICP-OES verilerinden hesaplanan %Ag sonuçları Tablo 8.15.'te karşılaştırılmıştır.

Tablo 8.15. Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlere ait alansal EDX ve ICP-OES sonuçları

Numuneler	%Ag Yüzey, EDX	%Ag Bulk, ICP-OES
PCL-AgHAP-SP70(0,46)	0	0,1365
PCL-AgHAP-SPK70(0,46)	0,618	0,1365
PCL-AgHAP-SP70(4,3)	1,765	1,2885
PCL-AgHAP-SPK70(6,36)	2,985	1,9068
PCL-AgHAP-T(0,24)	0,179	0,0729

BÖLÜM 9. TARTIŞMA VE SONUÇ

Patojen mikroorganizmaların mevcut antimikrobiallere direnç kazanması nedeniyle yeni tipte, güvenilir ve uygun maliyetli antimikrobiyal malzemelerin geliştirilmesi ve üretimi son yıllarda önem kazanmıştır. Bakteriler, küfler, mayalar ve virüsler gibi mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların önlenmesine yönelik olarak ilgi antimikrobiyal özelliklere sahip kompozit malzemelerin araştırılması ve geliştirilmesine yoğunlaşmıştır. Antimikrobiyal özellikli polimer kompozitler, medikal cihaz endüstrisi, hastaneler, biyoyumlu implantlar, yapı elemanları, oyuncak endüstrisi, gıda üretimi ve paketlenmesi gibi pek çok uygulama alanında kullanılmaya elverişli malzemelerdir.

Bu çalışmada antibakteriyel özelliğe sahip polikaprolakton-hidroksiapatit kompozit film geliştirilmesi ve üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla hidroksiapatit toz sentezi, sentezlenen hidroksiapatit tozların ve ticari hidroksiapatit tozların nanogümüş ile kaplanması, elde edilen antibakteriyel hidroksiapatit tozların polikaprolaktona katılarak antibakteriyel kompozit film üretimi ve üretilen antibakteriyel hidroksiapatit tozların ve antibakteriyel kompozit filmlerin karakterizasyonu ve antibakteriyel aktivite tayinleri yapılmıştır.

Bu çalışma dört aşamada gerçekleştirilmiştir ve aşamalara ait sonuçlar 4 kısım halinde sunulmuştur.

a. Nanogümüş ile kaplanan ticari hidroksiapatit tozlara ait sonuçlar

Çalışmanın birinci aşamasında ticari hidroksiapatit toz nanogümüş ile kaplanmıştır. Ticari hidroksiapatit tozunun nanogümüş ile kaplanması işleminde PDMS ve hidroksiapatit toz miktarları sabit tutularak farklı miktarlarda (0,15 g ve 0,3 g olmak üzere) $AgNO_3$ kullanılmıştır. Nanogümüş kaplanmış ticari hidroksiapatit tozlarda

yapılan ICP-OES analizi sonucunda kaplama işlemi sırasında 0,15 g AgNO_3 kullanılan AgHAP-1 numunesinde %0,11 Ag olduğu; 0,3 g AgNO_3 kullanılan AgHAP-2 numunesinde ise %0,25 Ag olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde AgNO_3 miktarı 2 kat artırıldığında hidroksiapatit tozuna kaplanan nanogümüş miktarının da 2 katından fazla arttığı görülmüştür.

Ticari hidroksiapatit tozunun nanogümüş ile kaplanması işleminde AgNO_3 ve hidroksiapatit toz miktarları sabit tutularak farklı miktarlarda (0,5 mL ve 2 mL olmak üzere) PDMS kullanılmıştır. Nanogümüş kaplanmış ticari hidroksiapatit tozlarda yapılan ICP-OES analizi sonucunda kaplama işlemi sırasında 0,5 mL PDMS kullanılan AgHAP-3 numunesinde %0,10 Ag olduğu; 2 mL PDMS kullanılan AgHAP-4 numunesinde ise %0,13 Ag olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında kaplama işlemi sırasında kullanılan PDMS miktarındaki değişimin hidroksiapatit tozuna kaplanan nanogümüş miktarını önemli ölçüde değiştirmediği görülmüştür.

Ticari hidroksiapatit tozunun nanogümüş ile kaplanması işleminde AgNO_3 ve PDMS miktarları sabit tutularak farklı miktarlarda (5 g ve 10 g olmak üzere) ticari hidroksiapatit kullanılmıştır. Nanogümüş kaplanmış ticari hidroksiapatit tozlarda yapılan ICP-OES analizi sonucunda kaplama işlemi sırasında 10 g ticari hidroksiapatit toz kullanılan AgHAP-1 numunesinde %0,11 Ag olduğu; 5 g ticari hidroksiapatit toz kullanılan AgHAP-3 numunesinde ise %0,10 Ag olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde kaplama işlemi sırasında kullanılan ticari hidroksiapatit toz miktarındaki değişimin hidroksiapatit tozuna kaplanan nanogümüş miktarını önemli ölçüde değiştirmediği görülmüştür.

Nanogümüş ile kaplama işleminden sonra ticari hidroksiapatit tozların hepsinde (AgHAP-1, AgHAP-2, AgHAP-3 ve AgHAP-4) belirgin bir renk değişimi olduğu gözlenmiştir. Kplama işlemi sonrası 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutma ile partiküllerin renginin koyulaştığı görülmüştür. Nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit toz numunelerinin hepsinde UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizden elde edilen absorpsiyon spektrumunda nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon

rezonansından kaynaklı absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (AgHAP-1 için 445 nm, AgHAP-2 için 443 nm, AgHAP-3 için 452 nm ve AgHAP-4 için 448 nm).

Plate counting metodu ile % antibakteriyel aktiviteleri belirlenen nanogümüş kaplı ticari hidroksiapatit tozların (AgHAP-1, AgHAP-2, AgHAP-3, AgHAP-4) *E. coli* üzerinde %100, *S. aureus* üzerinde %100 ve *S. epidermidis* üzerinde %100 antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Hidroksiapatite nanogümüş kaplanması işleminde kullanılan malzemelerin miktarları 10 kat artırılarak ölçek arttırmanın kaplama prosesine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla AgHAP-2 tozunun nanogümüş ile kaplanması işleminde kullanılan malzemeler (0,3 g AgNO₃, 0,5 mL PDMS, 10 g ticari hidroksiapatit toz) 10 kat artırılarak (3 g AgNO₃, 5 mL PDMS, 100 g ticari hidroksiapatit toz) ticari hidroksiapatit toz nanogümüş ile kaplanmış ve AgHAP-T(0,24) tozu elde edilmiştir. Yapılan ICP-OES analizi sonucunda AgHAP-2 numunesinde %0,25 Ag ve AgHAP-T(0,24) numunesinde %0,24 Ag olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında nanogümüş kaplama prosesinin ölçek arttırmaya uygun olduğu görülmüştür. Büyük ölçekli uygulamalarda kullanılabileceği ileri sürülebilir.

AgHAP-T(0,24) toz numunesine yapılan yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) analizinde hidroksiapatit yüzeyinde 0-40 nm boyutlarında nanogümüş partiküllerinin olduğu ve nanogümüşün hcp (hexagonal close-packed) kristal yapısında olduğu FFT paterninde gözlemlenmiştir. AgHAP-T(0,24) numunesinde yapılan XRD analizi sonucunda tozun hidroksiapatit fazında olduğu ve yaklaşık 38 derecede nanogümüş kristallerine ait (111) yansıma sinyali zayıf pik olarak görülmüştür.

b. Sentezlenen hidroksiapatit tozlara ait sonuçlar

Çalışmanın ikinci aşamasında farklı koşullarda olmak üzere hidroksiapatit toz sentezleri yapılmıştır. İlk olarak 20 °C'de saf hidroksiapatit toz sentezi kimyasal çöktürme metodu ile gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon analizleri kalsine edilmemiş ve kalsine edilmiş hidroksiapatit tozlara ayrı ayrı uygulanmıştır Elde

edilen tozların (HAP-S ve HAP-SK) ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu incelemelerinde partiküllerin 0-50 µm büyüklüğünde ve pleomorfik oldukları gözlemlenmiştir. FTIR analizleri ile elde edilen spektrumlarda hidroksiapatit toza ait karakteristik pikler görülmüştür. Yapılan XRD analizlerinde hidroksiapatit fazın gerçekleştiği belirlenmiş ve Scherrer formülüyle yapılan hesaplamalarda kalsine edilmemiş hidroksiapatit tozunda (HAP-S) kristal boyutunun 9,9 nm olduğu; kalsine edilmiş hidroksiapatit tozunda (HAP-SK) kristal boyutunun 12,1 nm olduğu tespit edilmiştir.

İkinci olarak fosforik asit çözeltisi ve kalsiyum nitrat çözeltisine POX eklenerek 20 °C'deyken kimyasal çöktürme metodu ile hidroksiapatit toz sentezi yapılmıştır. Karakterizasyon analizleri kalsine edilmemiş ve kalsine edilmiş hidroksiapatit tozlara ayrı ayrı uygulanmıştır. Elde edilen tozların (HAP-SP20 ve HAP-SPK20) ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu incelemelerinde partiküllerin 0-50 µm büyüklüğünde ve pleomorfik oldukları gözlemlenmiştir. FTIR analizleri ile elde edilen spektrumlarda hidroksiapatit toza ait karakteristik pikler görülmüştür. Yapılan XRD analizlerinde hidroksiapatit fazın gerçekleştiği belirlenmiş ve Scherrer formülüyle yapılan hesaplamada kalsine edilmemiş hidroksiapatit tozunda (HAP-SP20) kristal boyutunun 7,8 nm olduğu; kalsine edilmiş hidroksiapatit tozunda (HAP-SPK20) kristal boyutunun 11,0 nm olduğu tespit edilmiştir.

Üçüncü olarak POX eklenen fosforik asit çözeltisi ve kalsiyum nitrat çözeltisinin sıcaklığı 70 °C'deyken kimyasal çöktürme metodu ile hidroksiapatit toz sentezi yapılmıştır. Karakterizasyon analizleri kalsine edilmemiş ve kalsine edilmiş hidroksiapatit tozlara ayrı ayrı uygulanmıştır. Elde edilen tozların (HAP-SP70 ve HAP-SPK70) ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu incelemelerinde partiküllerin 0-25 µm büyüklüğünde ve yuvarlak yapıda oldukları gözlemlenmiştir. FTIR analizleri ile elde edilen spektrumlarda hidroksiapatit toza ait karakteristik pikler görülmüştür. Yapılan XRD analizlerinde hidroksiapatit fazın gerçekleştiği belirlenmiş ve Scherrer formülüyle yapılan hesaplamada kalsine edilmemiş hidroksiapatit tozunda (HAP-SP70) kristal boyutunun 9,6 nm olduğu; kalsine edilmiş

hidroksiapatit tozunda (HAP-SPK70) kristal boyutunun 12,5 nm olduğu tespit edilmiştir.

Kimyasal çöktürme metoduyla 20 °C'deyken POX eklenerek yapılan hidroksiapatit sentezinde partiküllerin yüzey morfolojisi (pleomorfik yapıda) değişmezken; 70 °C'deyken POX eklenerek yapılan hidroksiapatit sentezinde partiküllerin yüzey morfolojilerinde (yuvarlak yapıda ve pürüzlü) belirgin bir değişiklik meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bunun sebebinin 70 °C'de POX'den kaynaklı bulanmayla oluşan nano misel yapıli süspansiyon oluşumundan kaynaklandığı düşünülmüştür. POX'in termotropik bir polimer olarak yaklaşık 70 °C civarında bulanarak nanomisel yapılar oluşturduğu bilinmektedir. Bu özelliğinden yola çıkarak hidroksiapatit kristalizasyon işleminde nanoyapı yönlendirici template olarak kullanılmıştır. Yapılan deneysel çalışmada bu durumun öngörüldüğü şekilde etkili olduğu belirlenmiştir.

Sentezlenen hidroksiapatit tozların XRD analiz spektrumları karşılaştırıldığında kalsinasyon işleminin kristaliniteyi ve kristal boyutunu arttırdığı görülmüştür. Ayrıca POX katılarak sentezlenen hidroksiapatit tozların XRD analiz spektrumları karşılaştırıldığında 20 °C'de sentezlenen hidroksiapatite göre 70 °C'de sentezlenen hidroksiapatitte kristalinitenin daha az olduğu belirlenmiştir. 70 °C'de bu etkinin ortaya çıkmasının sebebinin POX polimerinin bulanma noktasında oluşturduğu nanomisel kürecikler nedeni ile meydana gelen muhtemel gözenekli yapılar olduğu ileri sürülebilir.

c. Nanogümüş ile kaplanan sentezlenmiş hidroksiapatit tozlara ait sonuçlar

Çalışmanın üçüncü aşamasında saf hidroksiapatit ve 70 °C'de sentezlenen hidroksiapatit tozlar nanogümüş ile kaplanmıştır. 70 °C'de sentezlenen kalsinasyon işlemi görmüş ve kalsinasyon işlemi görmemiş hidroksiapatit tozların nanogümüş ile kaplanmasında farklı miktarlarda (0,015 g ve 0,15 g olmak üzere) AgNO₃ kullanılmıştır. Nanogümüş ile kaplanan hidroksiapatit tozlarda (AgHAP-SP70(0,46), AgHAP-SPK70(0,46), AgHAP-SP70(4,3) ve AgHAP-SPK70(6,36)) belirgin bir renk değişimi olduğu gerek çıplak gözle gerekse ışık mikroskobu incelemelerinde görülmüştür. Kaplama işlemi sırasında 0,15 g AgNO₃ kullanılan numunede renk

değişiminin 0,015 g AgNO₃ kullanılan numuneye göre daha koyu olduğu gözlemlenmiştir. Kaplama işlemi sonrası 105 °C’de etüvde 2 saat boyunca kurutma ile partiküllerin renginin koyulaştığı görülmüştür ve uzun süre partiküllerin bu renklerini muhafaza ettikleri gözlemlenmiştir. Yapılan XRD analizi sonucunda tozların hidroksiapatit fazında oldukları belirlenmiş ve yaklaşık 38 derecede nanogümüş kristallerine ait (111) yansıma sinyali zayıf pik olarak görülmüştür.

AgHAP-SPK70(6,36) toz numunesine yapılan geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizinde hidroksiapatit yüzeyinde 0-30 nm boyutlarında nanogümüş partiküllerinin olduğu gözlemlenmiştir.

Nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,015 g AgNO₃ eklenen AgHAP-SP70(0,46) ve AgHAP-SPK70(0,46) tozlarında yapılan ICP-OES analizi sonucunda %0,46 Ag tespit edilmiştir. Buna karşılık nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama 0,15 g AgNO₃ eklenen AgHAP-SP70(4,3) ve AgHAP-SPK70(6,36) tozlarında yapılan ICP-OES analizi sonucunda sırasıyla %4,29 Ag ve %6,35 Ag tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama katılan AgNO₃ miktarının 10 kat artırılmasıyla hidroksiapatit yüzeyine kaplanan nanogümüşün de yaklaşık 10 kat arttığı belirlenmiştir.

Nanogümüş kaplı toz numunelerde UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizden elde edilen absorpsiyon spektrumlarında nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (AgHAP-SP70(4,3) için 452 nm, AgHAP-SPK70(6,36) için 461 nm, AgHAP-SP70(0,46) için 434 nm ve AgHAP-SPK70(0,46) için 440 nm). ICP-OES analizi sonucu %4,29 Ag tespit edilen AgHAP-SP70(4,3) tozu ve %6,35 Ag tespit edilen AgHAP-SPK70(6,36) tozunun UV-vis. spektrumlarında absorbans, ICP-OES analizi sonucu %0,46 Ag tespit edilen AgHAP-SP70(0,46) ve AgHAP-SPK70(0,46) tozlarına göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre nanogümüş miktarı arttıkça UV-vis. spektrumunda absorbansın arttığı görülmüştür.

Ayrıca sentezlenen hidroksiapatit tozlar (HAP-S ve HAP-SK) nanogümüş kaplama prosesi sırasında ortama AgNO_3 , PDMS'in yanısıra POX'in de katılmasıyla nanogümüş ile kaplanmıştır. Nanogümüş kaplama aşamasında ortama 5 mL POX-aseton çözeltisi (%5(w/v)) eklenmiştir. Nanogümüş ile kaplanan hidroksiapatit tozlarda (AgHAP-S(0,09) ve AgHAP-SK(0,23)) belirgin bir renk değişimi olduğu gerek çıplak gözle gerekse ışık mikroskobu incelemelerinde görülmüştür. Kaplama işlemi sonrası 105 °C'de etüvde 2 saat boyunca kurutma ile partiküllerin renginin koyulaştığı görülmüştür ve uzun süre partiküllerin bu renklerini muhafaza ettikleri gözlemlenmiştir. Yapılan XRD analizi sonucunda tozların hidroksiapatit fazında oldukları belirlenmiş ve yaklaşık 38 derecede nanogümüş kristallerine ait (111) yansıma sinyali zayıf pik olarak görülmüştür. Numunelerin UV-görünür spektrofotometre ile yapılan analizinden elde edilen absorpsiyon spektrumlarında nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir (AgHAP-S(0,09) için 418 nm ve AgHAP-SK(0,23) için 435 nm). AgHAP-S(0,09) ve AgHAP-SK(0,23) tozlarında yapılan ICP-OES analizi sonucunda sırasıyla %0,09 Ag ve %0,23 Ag tespit edilmiştir. Nanogümüş ile kaplama prosesi sırasında ortama AgNO_3 , PDMS katılan numunelerde yapılan ICP-OES analizi sonuçları (AgHAP-SP70(0,46) için %0,46 Ag ve AgHAP-SPK70(0,46) için %0,46 Ag) ile kaplama prosesi sırasında ortama AgNO_3 , PDMS'in yanısıra POX'in de katıldığı numunelerde yapılan ICP-OES analizi sonuçları (AgHAP-S(0,09) için %0,09 Ag ve AgHAP-SK(0,23) için %0,23 Ag) karşılaştırıldığında nanogümüş kaplama işlemi sırasında ortama POX eklemenin hidroksiapatit toz yüzeyine kaplanan nanogümüş miktarını azalttığı görülmüştür. Ortamda oluşan nanogümüşün kısmen POX'e bağlanarak yıkama sırasında ortamdan ayrıldığı düşünülmüştür.

d. Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlere ait sonuçlar

Çalışmanın dördüncü ve son aşamasında hazırlanan nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozların (AgHAP-SP70(4,3), AgHAP-SPK70(6,36), AgHAP-SP70(0,46), AgHAP-SPK70(0,46) ve AgHAP-T(0,24)) polikaprolaktona (PCL) %30 oranında karıştırılmasıyla roll millling metodu kullanılarak nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Çıplak gözle ve ışık mikroskobuyla yapılan incelemelerde nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerinin kompozit filmleri

renklendirildiği; nanogümüş miktarının fazla olduğu (PCL-AgHAP-SP70(4,3) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36)) kompozit filmlerin renginin, nanogümüş miktarının az olduğu (PCL-AgHAP-SP70(0,46) ve PCL-AgHAP-SPK70(0,46)) kompozit filmlere göre daha koyu olduğu gözlemlenmiştir.

Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerinde nanogümüş kaplı hidroksiapatit partiküllerinin kompozit filmlerde parlak bir şekilde görüldüğü ve homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Partiküllerin parlak görölme nedeninin partikül yüzeyindeki nanogümüşten kaynaklandığı düşünülmüştür.

Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmleri için yapılan haritalama analizlerinde Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Ca, P ve nano Ag'nin alanda homojen olarak dağılım göstermesinin nanogümüş kaplı hidroksiapatitin kompozit film içinde homojen olarak dağıldığının bir göstergesi olduğu düşünülmüştür.

UV-görünür spektrofotometre ile nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerde yapılan analizlerden elde edilen absorpsiyon spektrumlarında nanogümüş partiküllerinin yüzey plazmon rezonansından kaynaklı absorpsiyon bandı gözlemlenmiştir. ICP-OES analizi sonucu %4,29 Ag tespit edilen AgHAP-SP70(4,3) tozu ve %6,35 Ag tespit edilen AgHAP-SPK70(6,36) tozunun katıldığı kompozit filmlerin UV-vis. spektrumlarında absorbans, ICP-OES analizi sonucu %0,46 Ag tespit edilen AgHAP-SP70(0,46) ve AgHAP-SPK70(0,46) tozlarının katıldığı kompozit filmlerin absorbansından daha yüksek olarak belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre kompozit filmlerdeki nanogümüş miktarı arttıkça UV-vis. spektrumunda absorbansın arttığı görülmüştür.

Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerinde %Ag belirlenmesi amacıyla nanogümüş kaplı hidroksiapatit tozlarının ICP-OES analizlerinden elde edilen verilerden nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerdeki %Ag hesaplanmıştır.

Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerdeki gümüşün %0,07-1,90 aralığında olduğu belirlenmiştir (Tablo 8.15.).

Nano Ag-HAP-PCL kompozit film numunelerine yapılan FTIR analizinden elde edilen spektrumlarda hidroksiapatite ve PCL'ye ait karakteristik pikler olduğu görülmüş ve nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlere ait spektrumların birbirlerine benzer oldukları gözlemlenmiştir.

Üretilen nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri plate counting yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Nano Ag-HAP-PCL kompozit filmlerin tümünün *Escherichia coli* üzerinde %100 antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. PCL-AgHAP-SP70(4,3) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit filmlerinin *Staphylococcus aureus* üzerinde %100 antibakteriyel aktivite gösterdiği; PCL-AgHAP-SP70(0,46), PCL-AgHAP-SPK70(0,46) ve PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit filmlerinin ise *Staphylococcus aureus* üzerinde antibakteriyel aktivite göstermediği belirlenmiştir. PCL-AgHAP-SP70(4,3) ve PCL-AgHAP-SPK70(6,36) kompozit filmlerinin *Staphylococcus epidermidis* üzerinde %100 antibakteriyel aktivite gösterdiği; PCL-AgHAP-SP70(0,46), PCL-AgHAP-SPK70(0,46) ve PCL-AgHAP-T(0,24) kompozit filmlerinin ise *Staphylococcus epidermidis* üzerinde %99 antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada üretilen antibakteriyel polikaprolakton hidroksiapatit kompozit filmler ile ilgili literatürde daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunmadığından çalışma orijinal niteliktedir.

Tüketilen gıdalara ait paketlerin tüketimin ardından kısa sürede ve çevreye zarar vermeden ortadan kaldırılması günümüzde çevre kirliliğinin önlenmesi açısından önemli bir yer tutmaktadır. Polikaprolaktonun biyobozunur özellikte bir polimer olmasından dolayı üretilen antibakteriyel polikaprolakton-hidroksiapatit kompozit

filmlerin gıda üretimi ve paketlenmesinde uygulama alanı bulabileceği düşünülmüştür.

Sterilizasyon ve operasyonlardaki önemli gelişmeler implantların erken safha enfeksiyon sıklığının önemli derecede düşmesine neden olmuştur. Ancak operasyondan haftalar veya aylar sonra oluşan gecikmiş enfeksiyonların sıklığında çok az düşüş meydana getirmiştir ve bu durum önemli problemler oluşturmaya devam etmektedir. Bakterilerin implantların yüzeylerinde koloni oluşturmaları ve bunun sonucu olarak enfeksiyon meydana gelmesi, hasta, hasta yakınları ve hekim açısından istenmeyen bir durumdur. Bakterilerin mevcut antibakteriyellere karşı direnç kazanmış olması tedavileri zorlaştırmakta reoperasyonla implantın çıkarılmasını bile gerektirebilmektedir. Bu durum hasta açısından ciddi sağlık riskleri oluşturmakla birlikte önemli maliyetleri de beraberinde getirmektedir. Bu çalışmada üretilen antibakteriyel polikaprolakton-hidroksiapatit kompozit filmlerin gerek antibakteriyel özellikte olmalarından gerekse polikaprolaktonun ve hidroksiapatitin biyoyumlu özellikte olmasından dolayı implant yüzeylerinde kullanılmaya elverişli olduğu ileri sürülebilir.

KAYNAKLAR

- Ağaçfıdan, A., Anđ, Ö., Bal, Ç., Berkiten, R., Büyükbaba Boral, Ö., Bozkaya, E., Büget, E., Erturan, Z., Gürler, N., Anđ Küçüker, M., Öner, Y.A., Töreci, K., Uzun, M., Yeğenoğlu, Y. 2005. Tıbbi Mikrobiyoloji 2, Emel Bozkaya (ed), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Akos, N.I., Wahit, M.U., Mohamed, R., Yussuf, A.A. 2013. Preparation, characterization, and mechanical properties of poly(ϵ -caprolactone)/polylactic acid blend composites. *Polym. Compos.*, 34:763–768.
- Al-Mulla, E.A.J., Ibrahim, N.A. 2012. Poly(lactic acid) as a biopolymer-based nanocomposite. In: *Products and applications of biopolymers*, Dr. Johan Verbeek (Ed.), InTech.
- Appendini, P., Hotchkiss, J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3:113-126.
- Ashammakhi, N., Waris, T., Serlo, W., Törmälä, P. 2004. Self-reinforced bioabsorbable devices for osteofixation of craniofacial bones. in: *Biomaterials in orthopedics*, Michael J. Yaszemski, Debra J. Trantolo, Kai-Uwe Lewandrowski, Vasif Hasirci, David E. Altobelli, Donald L. Wise (eds), Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.
- Atilla, B., Alpaslan, M. 2002. Materyaller ve enfeksiyon. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi*, 1(2):111-113.
- Atiyeh, B.S., Costagliola, M., Hayek, S.N., Dibo, S.A. 2007. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns*, 33:139-148.
- Bae, C-J., Kim, H-W., Koh, Y-H., Kim, H-E. 2006. Hydroxyapatite (HA) bone scaffolds with controlled macrochannel pores. *J Mater Sci: Mater Med*, 17:517–521.
- Bahadır, A. 2008. Gümüş katkılı kalsiyum fosfat malzemelerden karmaşık mimarili skafolt fabrikasyonu, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 74 sayfa.

- Baker, C., Pradhan, A., Pakstis, L., Pochan, D.J., Shah, S.I. 2005. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5(2):244-249.
- Baştan, F.E. 2012. Kimyasal çöktürme yöntemiyle gümüş ilaveli hidroksiapatit üretimi ve spray dryer ile şekillendirilmesi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 85 sayfa.
- Baysal, B. 2004. *Escherichia coli*. İçinde: Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, A.Tevfik Cengiz (ed), Güneş Kitabevi, Ankara.
- Beil, J.B., Heller, J., Andriano, K.P. 2004. Rational design of absorbable polymers for orthopedic repair. In: *Biomaterials in Orthopedics*, Michael J. Yaszemski, Debra J. Trantolo, Kai-Uwe Lewandrowski, Vasif Hasirci, David E. Altobelli, Donald L. Wise (eds), Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.
- Besu, N. 2007. Silver doped hydroxyapatite coating on titanium surfaces and its effect on early bone response and osseointegration, The University of Tennessee, Health Science Center, Yüksek Lisans Tezi, 33 sayfa.
- Bilgehan, H. 1992. Klinik Mikrobiyoloji: Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir.
- Borgmann-Strahsen, R. 2002. Microbiocides for PVC and other polymers. In: *Industrial biocides selection and application*, D. R. Karsa, David Ashworth(eds), Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Buckley, J.J., Lee, A.F., Olivi, L., Wilson, K. 2010. Hydroxyapatite supported antibacterial Ag_3PO_4 nanoparticles. *J. Mater. Chem.*, 20:8056–8063.
- Cengiz, B. 2007. Hidroksiapatit nanoparçacıklarının sentezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 68 Sayfa.
- Cengiz, B., Gokce, Y., Yildiz, N., Aktas, Z., Calimli, A. 2008. Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 322:29–33.
- Ciobanu, C.S., Massuyeau, F., Constantin, L.V., Predoi, D. 2011. Structural and physical properties of antibacterial Ag-doped nano-hydroxyapatite synthesized at 100°C. *Nanoscale Research Letters*, 6:613.
- Clement, J.L., Jarrett, P.S. 1994. Antibacterial silver. *Met Based Drugs*, 1(5-6):467-482.
- Çiftçiöğlü, R. 2000. The preparation and characterization of hydroxyapatite bioceramic implant material, Izmir Institute of Technology, Yüksek Lisans Tezi, 98 sayfa.

- Dasgupta, P., Singh, A., Adak, S., Purohit, K.M. 2004. Synthesis and characterization of hydroxyapatite produced from eggshell. International Symposium of Research Students on Materials Science and Engineering, India.
- Descamps, M., Hornez, J.C., Leriche, A. 2009. Manufacture of hydroxyapatite beads for medical applications. *Journal of the European Ceramic Society*, 29:369–375.
- Doğan, A., Pekşen, C. 2005. Metal iyon katkılı antimikrobiyal malzemelerin hastane infeksiyonlarını önlemede katkıları ve uygulamaları. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 59-68.
- Duan, Y-Y., Jia, J., Wang, S-H., Yan, W., Jin, L., Wang, Z-Y. 2007. Preparation of antimicrobial poly(ϵ -polycaprolactone) electrospun nanofibers containing silver-loaded zirconium phosphate nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 106:1208-1214.
- Duerden, B.I., Reid, T.M.S., Jewsbury, J.M., Turk, D.C. 1987. *A New Short Textbook of Microbial and Parasitic Infection*. English Language Book Society, London.
- Dursun, S., Erkan, N., Yeşiltaş, M. 2010. Doğal biyopolimer bazlı (biyobozunur) nanokompozit filmler ve su ürünlerindeki uygulamaları. *J FisheriesSciences.com*, 4(1):50-77.
- Díaz, M., Barba, F., Miranda, M., Guitián, F., Torrecillas, R., Moya, J.S. 2009. Synthesis and antimicrobial activity of a silver-hydroxyapatite nanocomposite. *Journal of Nanomaterials*, doi:10.1155/2009/498505.
- Egger, S., Lehmann, R.P., Height, M.J., Loessner, M.J., Schuppler, M. 2009. Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(9):2973-2976.
- Engin, N.O., Tas, A.C. 1999. Manufacture of macroporous calcium hydroxyapatite bioceramics. *Journal of the European Ceramic Society*, 19:2569-2572.
- Evcin, A., Kepekçi, D.B., Barut, İ. 2009. Hidroksiapatit tozlarının plazma sprey yöntemiyle paslanmaz çelik üzerine kaplanması. 5. Uluslararası İleri Teknolojiler Sempozyumu (IATS'09), Karabük.
- Evis, Z. 2011. Çeşitli iyonlar eklenmiş nano-hidroksiapatitler: üretim yöntemleri, içyapı, mekanik ve biyouyumluluk özellikleri yönlerinden incelenmesi. *International Journal of Research and Development*, 3(1):55-61.
- Fathi, M.H., Hanifi, A., Mortazavi, V. 2008. Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder. *Journal of Materials Processing Technology*, 202:536–542.

- Feng, Q.L., Kim, T.N., Wu, J., Park, E.S., Kim, J.O., Lim, D.Y., Cui, F.Z. 1998. Antibacterial effects of Ag-HAp thin films on alumina substrates. *Thin Solid Films*, 335:214-219.
- Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N., Kim, J.O. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*, 52:662-668.
- Ficai, A., Andronescu, E., Voicu, G., Ficai, D. 2011. Advances in collagen/hydroxyapatite composite materials. In: *Advances in Composite Materials for Medicine and Nanotechnology*, Dr. Brahim Attaf (Ed.), InTech.
- Gottenbos, B. 2001. The development of antimicrobial biomaterial surfaces. Rijksuniversiteit Groningen, Faculty of Medical Sciences, Institute of Biomedical Materials Science and Applications, Ponsen & Looijen.
- Gourin, C.G., Hubbell, R.N. 1999. Otorrhea after insertion of silver oxide-impregnated silastic tympanostomy tubes. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 125:446-450.
- Göksan, S.B. 2003. Yabancı cisim infeksiyonlarının patogenezi. XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, KLİMİK, 101-102.
- Gurappa, I. 2002. Characterization of different materials for corrosion resistance under simulated body fluid conditions. *Materials Characterization*, 49:73-79.
- Güven, Ş.Y. 2010. Ortopedik malzemelerin biyouyumlulukları ve mekanik özelliklerine göre seçimi. 2. Ulusal tasarım imalat ve analiz kongresi, 472-484, Balıkesir.
- Hart, T., Shears, P. 2001. Tıp Mikrobiyolojisi Renkli Atlas, Özdem Anğ, Mine Anğ Küçüker, O.Şadi Yenen(Editörler), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Hoş, A. 2010. Antibakteriyel nano gümüş katkılı polimer filmler. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 89 sayfa.
- Jang, D-W., Franco, R.A., Sarkar, S.K., Lee, B-T. 2014. Fabrication of porous hydroxyapatite scaffolds as artificial bone preform and its biocompatibility evaluation. *ASAIO Journal*, DOI: 10.1097/MAT.0000000000000032, 216-223.
- Joerger, R.D. 2007. Antimicrobial films for food applications: a quantitative analysis of their effectiveness. *Packag. Technol. Sci.*, DOI: 10.1002/pts.774.
- Jones, F.H. 2001. Teeth and bones: applications of surface science to dental materials and related biomaterials. *Surface Science Reports*, 42:75-205.
- Karagöz, Z., Candoğan, K. 2007. Et teknolojisinde antimikrobiyal ambalajlama. *Gıda*, 32(3):113-122.

- Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., Lindenmann, J. 1997. Tıbbi Mikrobiyoloji, 8.Baskı, Mine Anđ Küçüker, Emel Tümbay, Özdem Anđ (editörler), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Kenawy, el-R., Worley, S.D., Broughton, R. 2007. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: A state-of-the-art review. American Chemical Society, 8(5):1359-1384.
- Kes, P. 2008. Düşük enerjilerle implante edilmiş ISO 5832-2 grade-4 titanyum numunelerinde osteoblast ve fibroblast hücre tutunmasının *in vitro* ortamlarda incelenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 84 Sayfa.
- Kılıçturgay, K., Gökırmak, F., Töre, O., Gedikoğlu, S., Göral, G., Helvacı, S. 1994. Klinik Mikrobiyoloji, Kaya Kılıçturgay (ed), Bursa Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- 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. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 9:129 -134.
- Kim, H-W. 2007a. Biomedical nanocomposites of hydroxyapatite/ polycaprolactone obtained by surfactant mediation. J Biomed Mater Res, 83A: 169–177.
- Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J-H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C-Y., Kim, Y-K., Lee, Y-S., Jeong, D.H., Cho, M-H. 2007b. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, 3:95-101.
- Korkusuz, P., Korkusuz, F. 2004. Hard tissue–biomaterial interactions. In: Biomaterials in Orthopedics, Michael J. Yaszemski, Debra J. Trantolo, Kai-Uwe Lewandrowski, Vasif Hasirci, David E. Altobelli, Donald L. Wise (eds), Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.
- Koutsopoulos, S. 2002. Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. J Biomed Mater Res, 62:600–612.
- Levinson, W., Jawetz, E. 2004. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Yedinci baskı, Tuncay Özgüven (ed), Güneş Kitabevi, Ankara.
- Liao, J., Anchun, M., Zhu, Z., Quan, Y. 2010. Antibacterial titanium plate deposited by silver nanoparticles exhibits cell compatibility. International Journal of Nanomedicine, 5:337–342.
- Liu, X., Ma, P.X. 2004. Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. Annals of Biomedical Engineering, 32(3):477-486.

- Lok, C-N., Ho, C-M., Chen, R., He, Q-Y., Yu, W-Y., Sun, H., Tam, P.K-H., Chiu, J-F., Che, C-M. 2007. Silver nanoparticles: Partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem*, 12:527-534.
- Luo, P., Nieh, T.G. 1996. Preparing hydroxyapatite powders with controlled morphology. *Biomaterials*, 17(20):1959-1964.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2010. Brock mikroorganizmaların biyolojisi, onbirinci baskıdan çeviri, Cumhuriyet Çökmüş (ed), Palme yayıncılık, Ankara.
- Metin, N. 2013. Organik hidroksiapatit tozlarının sinterlenmesi ve karakterizasyonu. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 49 Sayfa.
- Mo, A., Liao, J., Xu, W., Xian, S., Li, Y., Bai, S. 2008. Preparation and antibacterial effect of silver-hydroxyapatite/titania nanocomposite thin film on titanium. *Applied Surface Science*, 255:435-438.
- Monmaturapoj, N., Yatongchai, C. 2010. Effect of sintering on microstructure and properties of hydroxyapatite produced by different synthesizing methods. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 20(2):53-61.
- Noda, I., Miyaji, F., Ando, Y., Miyamoto, H., Shimazaki, T., Yonekura, Y., Miyazaki, M., Mawatari, M., Hotokebuchi, T. 2008. Development of novel thermal sprayed antibacterial coating and evaluation of release properties of silver ions, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 89B:456-465.
- Noda, I., Miyaji, F., Ando, Y., Miyamoto, H., Shimazaki, T., Yonekura, Y., Miyazaki, M., Mawatari, M., Hotokebuchi, T. 2011. Next generation antibacterial hydroxyapatite coating: antibacterial activity of Ag ions in serum. *Bioceramics Development and Applications*, 1, doi:10.4303/bda/D101102.
- Olgun, U., Tunç, K., Özasan, V. 2011. Preparation of antimicrobial polycaprolactone-silica composite films with nanosilver rods and triclosan using roll-milling method, *Polym. Adv. Technol.*, 22:232-236.
- Olgun, U., Üstel, F. 2015. Antibacterial nano-silver coating, Patent başvuru No: PCT/TR2015/050102.
- Pasinli, A. 2004. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4:25-34.
- Pasinli, A., Aksoy, R.S. 2010. Yapay kemik uygulamaları için hidroksiapatit. *Biyoteknoloji Elektronik Dergisi*, 1(1):41-51.
- Percival, S.L., Bowler, P.G., Russell, D. 2005. Bacterial resistance to silver in wound care. *Journal of Hospital Infection*, 60:1-7.

- Qu, J., Lu, X., Li, D., Ding, Y., Leng, Y., Weng, J., Qu, S., Feng, B., Watari, F. 2011. Silver/hydroxyapatite composite coatings on porous titanium surfaces by sol-gel method. *Journal of biomedical materials research B: applied biomaterials*, 97B(1):40-48.
- Rameshbabu, N., Kumar, T.S.S., Prabhakar, T.G., Sastry, V.S., Murty, K.V.G.K., Rao, K.P. 2006. Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: Synthesis and characterization. *J Biomed Mater Res*, 80A: 581–591.
- Rezaei, A.R., Mohammadi, M.R. 2012. Synthesis of slightly carbonated-hydroxyapatite nano-rods and polycaprolactone composites by a wet chemical route. *Proceedings of the 4th International Conference on Nanostructures (ICNS4)*, 160-162, Iran.
- Rivera-Muñoz, E.M. 2011. Hydroxyapatite-based materials: Synthesis and characterization, In: *Biomedical Engineering—Frontiers and Challenges*, Reza Fazel-Rezai (ed), InTech, 75-98.
- Román, J., Cabañas, M.V., Peña, J., Vallet-Regí, M. 2011. Control of the pore architecture in three-dimensional hydroxyapatite-reinforced hydrogel scaffolds. *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 12, doi:10.1088/1468-6996/12/4/045003.
- Ruan, H.J., Fan, C.Y., Zheng, X.B, Zhang, Y., Chen, Y.K. 2009. *In vitro* antibacterial and osteogenic properties of plasma sprayed silver-containing hydroxyapatite coating. *Chinese Sci Bull*, 54:4438-4445.
- Schierholz, J.M., Lucas, L.J., Rump, A., Pulverer, G. 1998. Efficacy of silver-coated medical devices. *Journal of Hospital Infection*, 40:257-262.
- Shimazaki, T., Miyamoto, H., Ando, Y., Noda, I., Yonekura, Y., Kawano, S., Miyazaki, M., Mawatari, M., Hotokebuchi, T. 2009. *In vivo* antibacterial and silver-releasing properties of novel thermal sprayed silver-containing hydroxyapatite coating. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, DOI: 10.1002/jbm.b.31526.
- Shrivastava, S., Bera, T., Roy, A., Singh, G., Ramachandrarao, P., Dash, D. 2007. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 18.
- Simpson, K. 2003. Using silver to fight microbial attack. *Plastics Additives & Compounding*, September/October, 32-35.
- Song, H.Y., Ko, K.K., Oh, I.H., Lee, B.T. 2006. Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms. *European Cells and Materials*, 11:58.
- Storey, D.M. 2005. Low temperature IPD AgO bacterial static / bactericidal coatings for medical applications. *ASM Materials & Processes for Medical Devices Conference*, November.

- Strnad, Z., Strnad, J., Povýřil, C., Urban, K. 2000. Effect of plasma sprayed hydroxyapatite coating on osteoconductivity of commercially pure titanium implants. *Int. J. Oral. Maxillofac Implants*, 15(4).
- Strohl, W.A., Rouse, H., Fisher, B.D. 2006. Lippincott illustrated reviews: Mikrobiyoloji, Özdem Anđ (çeviri editörü), Nobel tıp kitabevleri, İstanbul.
- Swain, S.K. 2009. Processing of porous hydroxyapatite scaffold. Department of Ceramic Engineering, National Institute of Technology, Rourkela, Yüksek Lisans Tezi, 34 sayfa.
- Şaşmazel, H.T. 2007. Üç-boyutlu, biyobozunur/biyobozunur olmayan polimerik taşıyıcıların biyosinyallerle plazma modifikasyonu ve hücre kültür uygulamaları, Hacettepe Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Trujillo, N.A. 2011. Antibacterial effects of sputter deposited silver-doped hydroxyapatite thin films. Colorado State University, School of Biomedical Engineering, Yüksek Lisans Tezi, 62 sayfa.
- Tuna, S.H. 2006. Titanyum implantla farklı üstyapı çiftlerinde oluşan elektrokimyasal davranışların analizi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 102 sayfa.
- Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M. 1998. Mikrobiyoloji 2000, Birinci baskı, Asya Tıp Yayıncılık Ltd. Şti., İzmir.
- Türkan, U. 2004. Biocompatibility and microstructural characterization of PVD coated and nitrogen implanted Co-Cr alloy. İzmir Institute of Technology, Yüksek Lisans Tezi, 87 sayfa.
- URL-1, <https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus>. Erişim Tarihi: 18.04.2016.
- URL-2, https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis. Erişim Tarihi: 18.04.2016.
- URL-3, https://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli. Erişim Tarihi: 18.04.2016.
- Üreyen, M.E., Çavdar, A., Koparalı, A.S., Doğan, A. 2009. Yeni geliştirilen gümüş katkılı antimikrobiyal tekstil kimyasalı ve bu kimyasal ile işlem görmüş kumaşların antibakteriyel performansları. *The Journal of Textiles and Engineers*, 15(69):25-31.
- Verma, D. 2008. Design of polymer-biopolymer-hydroxyapatite biomaterials for bone tissue engineering: through molecular control of interfaces. North Dakota State University, Program of Materials and Nanotechnology, Doktora Tezi, 191 sayfa.

- Vijayalakshmi, U., Rajeswari, S. 2006. Preparation and characterization of microcrystalline hydroxyapatite using sol gel method. Trends Biomater. Artif. Organs, 19(2):57-62.
- Visser, S.A., Hergenrother, R.W., Cooper, S.L. 1996. Polymers. In: Biomaterials Science: an Introduction to Materials in Medicine, Buddy D. Ratner, Allan S. Hoffman, Frederick J. Schoen, Jack E. Lemons (eds), Academic Press, USA.
- Wahl, D.A., Czernuszka, J.T. 2006. Collagen-hydroxyapatite composites for hard tissue repair. European Cells and Materials, 11:43-56.
- Wilson, W.R., Sande, M.A. 2004. Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi, İsmail H.Dündar (ed), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Xiao, X., Liu, R., Huang, Q., Ding, X. 2009. Preparation and characterization of hydroxyapatite/polycaprolactone–chitosan composites. J Mater Sci: Mater Med, 20:2375–2383.
- Yalçın, B. 2007. Toz metalurjisi yöntemiyle imal edilen titanyum alaşımı implantların temel özelliklerinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 148 sayfa.
- Yeşilay, S. 2006. Sentetik hidroksiapatitin kemik porseleni bünyesinde kullanımı. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Seramik Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 115 Sayfa.
- Zhang, X. S., Revell, P. A., Evans, S. L., Tuke, M. A., Gregson, P. J. 1999. *In vivo* biocompatibility and mechanical study of novel bone-bioactive materials for prosthetic implantation. J Biomed Mater Res, 46:279–286.
- Zhang, W., Chu, P. K., Ji, J., Zhang, Y., Fu, R.K.Y., Yan, Q. 2006. Antibacterial properties of plasma-modified and triclosan or bronopol coated polyethylene. Polymer, 47: 931-936.
- Zhao, K., Feng, Q., Chen, G. 1999. Antibacterial effects of silver loaded hydroxyapatite. Tsinghua science and technology, 4(3):1570-1573.
- Zhao, L., Chu, P.K., Zhang, Y., Wu, Z. 2009. Antibacterial coatings on titanium implants. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 91B: 470–480.

ÖZGEÇMİŞ

Ayşegül HOŞ 1978’de Kırıkkale’de doğdu. 1989 yılında Isparta Ülkü İlkokulundan, 1996 yılında Kocaeli Anadolu Lisesinden mezun oldu. 1997’de başladığı İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü 2001’de bitirdi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Alan Öğretmenliği Anabilim Dalı’ndan 2002 yılında mezun oldu. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda 2007 yılında başladığı yüksek lisans eğitimini 2010 yılında tamamlamasını takiben yine aynı üniversitede Biyoloji Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladı. Bu süre içerisinde endüstriyel uygulama ve disiplinlerarası bilimsel araştırma projelerinde aktif rol aldı. Medikap medikal kaplama-savunma, enerji-mühendislik-danışmanlık hizmetleri-ithalat-ihracat ticaret ve sanayi limited şirketinde araştırmacı olarak çalıştı.