T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİTOSAN KAPLAMALI BİYOBOZUNUR MAGNEZYUM ALAŞIMINDAN ÜRETİLEN İMPLANT MALZEMELERİNİN ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Derya UĞURLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Malzeme Programı

Danışman

Doç. Dr. Cem AKÇA

Mart, 2019

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİTOSAN KAPLAMALI BİYOBOZUNUR MAGNEZYUM ALAŞIMINDAN ÜRETİLEN İMPLANT MALZEMELERİNİN ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Derya UĞURLU tarafından hazırlanan tez çalışması çalışması 27.03.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı, Malzeme Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Cem AKÇA

Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Cem AKÇA, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Aygül YEPREM, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Sezen CANIM ATEŞ, Üye
Yeni Yüzyıl Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Cem AKÇA sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Kitosan Kaplamalı Biyobozunur Magnezyum Alaşımından Üretilen İmplant Malzemelerinin Antibakteriyel Etkinliğinin Araştırılması başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Derya Uğurlu

İmza

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü' nün FYL-2018-3177 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

“Hayallerinizin esiri olmayın, onları aşkla gerçekleştirin.”

Clarrissa P. Estés

Aşkla yazdığım bu tez çalışmasını, mimarı oldukları, beni bu günlere taşıyan, yaşamım boyunca hep hayallerimin peşinden koşmayı öğreten ve bunu sağlayan kıymetlilerim; babam, annem, ablam ve ikizim, canım aileme armağan ediyorum. Aşkla, aileyle, hep kol kola olabilmek dileğiyle.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her konuda bana destek olan, benden bilgisini, ilgisini ve hoşgörüsünü esirgemeyen çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Cem AKÇA'ya,

Uzun zamandır öğrencisi olduğum Yıldız Teknik Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliğindeki tüm hocalarıma,

Her konuda en büyük destekçim, yol arkadaşım Furkan'a,

Ayrıca hayatım boyunca, her şartta arkamda olup attığım adımlarda beni destekleyen ve yardımcı olan canım babama, canım anneme ve biricik kardeşlerime çok teşekkür ederim.

Derya UĞURLU

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ x

KISALTMA LİSTESİ xi

ŞEKİL LİSTESİ xiii

TABLO LİSTESİ xvi

ÖZET xviii

ABSTRACT xx

1 GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1

1.2 Tezin Amacı 5

1.3 Hipotez 6

2 İMPLANT MALZEMELERİ 7

2.2 Nesillerine Göre İmplantlar 9

2.3 Biyomalzemelerde Etkileşim 10

2.4 Malzemelerine Göre İmplantların Sınıflandırılması 11

2.4.1 Metalik İmplantlar 11

2.4.2 Polimerik İmplantlar 11

2.4.3 Seramik İmplantlar 12

2.4.4 Kompozit İmplantlar 12

3 METALİK İMPLANTLAR 14

3.1 Titanyum ve Alaşımları 15

3.2 Talyum ve Alaşımları 17

3.3 Ni-Ti Alaşımları 18

3.4 Amalgam 21

3.5 Magnezyum 21

3.5.1 Magnezyumun Doğada Bulunuşu 21
3.5.2 Magnezyumun Özellikleri 22
3.5.3 Magnezyum Alaşımının Kullanım Alanları 24
3.5.4 Magnezyumun Alaşımlandırılması 25
3.5.5 Magnezyum Alaşımlarının Sınıflandırılması 28
3.5.6 Biyomalzeme Olarak Magnezyum 29
3.5.7 Magnezyumun ve Magnezyum Alaşımlarının Korozyon Davranışı 32
3.5.8 Mg-Zn Alaşımı ve İmplant Malzemesi Olarak Kullanımı 36
4 POLİMERLER 38
4.1 Biyopolimerler 40
4.2 Biyopolimerlerin Sınıflandırılması 40
4.2.1 Doğal Biyopolimerler 40
4.2.2 Sentetik Biyopolimerler 41
4.3 Kitosan 48
4.3.1 Kitosanın Elde Edilişi 50
4.3.2 Kitosanın Genel Özellikleri 51
4.3.3 Kitosanın Önemli Özellikleri 52
4.3.4 Kitosanın Antimikrobiyal Etki Mekanizması 56
4.3.5 Kitosanın Antimikrobiyal Aktivitesine Etki Eden Faktörler 57
4.3.6 Suda Çözünebilir Kitosan 60
4.3.7 Kitosanın Uygulama Alanları 60
4.4 Polimer Kaplama 61
4.4.1 Polimer Kaplama Yöntemleri 62
4.5 Sentetik Vücut Sıvısı 68
5 BAKTERİYEL VE FUNGAL ENFEKSİYONLAR 71

5.2 Cerrahi Alan (Yara) Enfeksiyon Gelişmesinde Etkili Olan Faktörler..... 72
5.3 Cerrahi Alan Enfeksiyonlarında Karşılaşılan Mikroorganizmalar 72
5.3.1 Staphylococcus aureus 73
5.3.2 Escherichia coli..... 73
5.4 Bakterilerin Yüzeye Yapışma Mekanizması 73
6 ANTİMİKROBİYAL TESTLER..... 76
6.1 Dilüsyon Checkerboard Yöntemi..... 77
6.1.1 Tüp Dilüsyon (Sıvı Dilüsyon) Yöntemi 78
6.1.2 Agar Dilüsyon (Agar Kuyucuk) Yöntemi..... 79
6.2 Time-kill Yöntemi (Zamana Bağlı Öldürme Yöntemi)..... 79
6.3 Disk Difüzyon Yöntemi 79
6.4 E-test Yöntemi..... 80
7 DENEYSEL ÇALIŞMALAR..... 81
7.1 Magnezyum Numunelerin Kimyasal Analizi ve Metalografik Hazırlanması 83
7.2 Öncül Polimer Deneyleri..... 85
7.3 Kitosan Çözeltisi Hazırlama 87
7.4 Magnezyum Numunelerin Ağırlık ve Yüzey Alanı Ölçümleri 88
7.5 Daldırma Kaplama Yöntemi ile Kitosan Kaplama..... 89
7.6 SBF Hazırlama 90
7.7 Kromik Asit Temizleme Çözeltisinin Hazırlanması..... 93
7.8 Daldırma (İmmersiyon) Deneyleri 93
7.9 Karakterizasyonlar ve Testler..... 96
8 SONUÇ VE ÖNERİLER..... 98
8.1 FTIR..... 98

8.2 SEM 101
8.3 ICP-OES 106
8.4 Ağırlık Kaybına Göre Bozunma Oranları 110
8.6 Korozyon Hızı 115
8.7 Antibakteriyel Test 117
8.8 Öneriler 119
KAYNAKÇA 121
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR 128

SİMGE LİSTESİ

°A	Angström
β	Beta
E^0	Elektrokimyasal standart potansiyeli
€	Epsilon
HB	Sertlik
μ	Mikro
M_W	Ortalama molekül ağırlığı
wt.	Ağırlıkça
~	Yaklaşık

KISALTMA LİSTESİ

AAS	Atomik absorbsiyon spektrometresi
AFM	Atomik güç mikroskopisi
ASTM	American Society for Testing and Materials
AZ91	Alüminyum-çinko alaşım elementli magnezyum alaşımı
AZ91E	Alüminyum çinko ve nadir toprak elementli magnezyum alaşımı
CAE	Cerrahi alan enfeksiyonnları
CVD	Kimyasal buhar biriktirme
DCM	Diklorometan
DD	Deasetilasyon derecesi
DDR	Double date rate
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EBSS	Earle'in dengeli tuz çözeltisi
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	Fouier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi
HBSS	Hanks'ın dengeli tuz çözeltisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ICP-OES	İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi
LbL	Katman katman kaplama
MBK	Minimum bakterisidal konsantrasyonu
MİK	Minimum inhibatör konsantrasyonu
NA	Nutrient Agar
NMR	Nükleer manyetik rezonans
PC	Polikarbonat

PCL	Polikaprolakton
PE	Polietilen
PEA	Polietakrilat
PGA	Poliglikolik asit
PLA	Polilaktik asit
PLGA	Polilaktik-ko-glikolik asit
PMMA	Polimetil metakrilat
PP	Polipropilen
PTMC	Politrimetilen karbonat
PU	Poliüretan
PVA	Polivinil alkol
PVC	Polivinil klorür
PVD	Fiziksel buhar biriktirme
RNA	Ribo nükleik asit
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SBF	Yapay vücut sıvısı
TGA	Tyiglikolik asit
TVC	Total Viable Count
ZX50	Çinko kalsiyum alaşım elementli magnezyum alaşımı
WE43	İtriyum ve nadir toprak elementlı magnezyum alaşımı
WZ21	Çinko ve nadir toprak elementlı magnezyum alaşımı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Malzemelerine göre implant malzemelerinin sınıflandırılması [13] .. 11
Şekil 3.1 Titanyum diş implantı [18] 16
Şekil 3.2 Titanyum ortopedik (diz) implantı [23] 16
Şekil 3.3 Talyum alaşımı [23] 17
Şekil 3.4 NiTi şekil hafızalı intermetalik alaşımının faz diyagramı [27] 19
Şekil 3.5 Ni-Ti metalinin kemik kırıklarında (ortopedide) kullanım şekli [27]. 20
Şekil 3.6 Tıkanık olan damarın NiTİ alaşımlı stent ile tedavi edilmesi [27] 20
Şekil 3.7 Alüminyumun magnezyum alaşımlarının mekanik özelliklerine etkisi [30] 26
Şekil 3.8 Biyobozunur metallerin biyokorozyon diyagramı [40] 33
Şekil 3.9 Magnezyum ve alaşımlarının yapay vücut sıvısı içerisinde çözünmesi [40] 34
Şekil 3.10 Herbir element için tolerans sınırı [38] 35
Şekil 3.11 AZ91 magnezyum alaşım yüzeyinde oluşan arayüzeyleri [38] 37
Şekil 4.1 Polimerlerin sınıflandırılması [44] 39
Şekil 4.2 Biyobozunur polimerlerin sentezlerine bağlı olarak sınıflandırılması [47] 43
Şekil 4.3 Ortopedide kullanılan polimer kompozitler ve kullanım yerleri [50] 45
Şekil 4.4 PLGA'nın molekül formülü [52] 47
Şekil 4.5 Polikaprolakton molekül yapısı [53] 47
Şekil 4.6 Selüloz, kitin ve kitosanın kimyasal yapıları [54] 50
Şekil 4.7 Kitinin bazik ortamda deastilasyonu ile kitosan oluşumu [56] 51
Şekil 4.8 pH'a bağlı olarak kitosan çözünürlüğü [55] 54
Şekil 4.9 Daldırma kaplama yöntemi şematik gösterimi: daldırma, ıslatma, geri çekme [62] 65
Şekil 4.10 Kaplama kalınlığı ile geri çekilme hızı arasındaki ilişki [62] 67
Şekil 4.11 Çözelti viskozitesi ile film kalınlığı arasındaki ilişki [61] 68
Şekil 5.1 Metal-çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen süreçler [38] 75
Şekil 7.1 Deneysel çalışmaların akış şeması 82
Şekil 7.2 Magnezyum dilimleri 84
Şekil 7.3 Magnezyum numunelerin talaşlı işlem ile küçültülmesi 84

Şekil 7.4 Magnezyum deney numunelerin şekil verilmiş son hali..... 84
Şekil 7.5 %1 derişimde asetik asit içerisinde magnezyum numunenin durumu 86
Şekil 7.6 Daldırma kaplama işlemi..... 87
Şekil 7.7 Polimerlerin hazırlanışı..... 88
Şekil 7.8 Numunelerin kumpasla ölçümleri..... 88
Şekil 7.9 Daldırma kaplama cihazı..... 90
Şekil 7.10 Tris eklendikten sonra SBF çözeltisi..... 93
Şekil 7.11 Daldırma deneyi ilk aşaması..... 94
Şekil 7.12 Daldırma deneyinin 24 saat sonunda beherlerdeki durum..... 95
Şekil 7.13 Daldırma deneyleri sırasında alınan numune görüntüleri..... 95
Şekil 7.14 SEM kaplama cihazı..... 96
Şekil 8.1 Standart düşük molekül ağırlıklı kitosan FTIR spektrumu..... 98
Şekil 8.2 %1 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış Mg numunenin spektrumu..... 99
Şekil 8.3 %3 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış Mg numunenin spektrumu... 100
Şekil 8.4 %3 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış Mg numunenin spektrumu... 101
Şekil 8.5 Kaplamasız numuneninin SEM görüntüsü, 200 X büyütme..... 102
Şekil 8.6 Kaplamasız numunenin SEM görüntüsü, 1.00 KX büyütme..... 102
Şekil 8.7 %1 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 200 X büyütme 103
Şekil 8.8 %1 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 10.00 KX büyütme 103
Şekil 8.9 %1 kitosan kaplamalı numunenin kaplama kalınlığı SEM görüntüsü, 10.00 KX büyütme..... 104
Şekil 8.10 %3 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 200 X büyütme 104
Şekil 8.11 %3 kitosan kaplamalı numunenin kaplama kalınlığı SEM görüntüsü, 1.00 KX büyütme..... 105
Şekil 8.12 %5 kitosan kaplamalı numunenin kaplama kalınlığı SEM görüntüsü, 200 X büyütme..... 105
Şekil 8.13 %5 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 1.00 KX büyütme 106
Şekil 8.14 ICP-OES sonuçlarına göre daldırma deneyi süresince Mg'nin bozunma miktarı..... 108
Şekil 8.15 ICP-OES sonuçlarına göre daldırma deneyi süresince Zn'nin bozunma miktarı..... 109

Şekil 8.16 ICP-OES sonuçlarına göre daldırma deneyi süresince Al'nin bozunma miktarı..... 109

Şekil 8.17 Daldırma deneyi sırasında numunelerin temizlik öncesi ve temizlik sonrası ağırlık farkları 112

Şekil 8.18 Kaplamasız numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler 113

Şekil 8.19 %1 wt. konsantrasyonlu kitosan çözeltisi ile kaplanmış numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler..... 113

Şekil 8.20 %3 wt. konsantrasyonlu kitosan çözeltisi ile kaplanmış numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler..... 113

Şekil 8.21 %5 wt. konsantrasyonlu kitosan çözeltisi ile kaplanmış numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler..... 114

Şekil 8.22 Ağırlık kayıplarına göre bozunma miktarları 115

Şekil 8.23 Tüm numunelerin korozyon hızları 116

Şekil 8.24 Kontaminasyon gözlenmemiş numune görselleri..... 117

Şekil 8.25 Sırasıyla kaplamasız, %1-%3 ve %5 kitosan kaplamalı numunelerde agar kuyucuk yöntemi ile *Staphylococcus aureus* bakterisinin araştırılması..... 118

Şekil 8.26 Sırasıyla kaplamasız, %1-%3 ve %5 kitosan kaplamalı numunelerde agar kuyucuk yöntemi ile *E.coli* bakterisinin araştırılması 118

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 İmplant malzemeleri, özellikleri ve kullanım alanları [13] 13
Tablo 3.1 Metalik malzemeler ve yoğunlukları [18] 21
Tablo 3.2 Magnezyum ile diğer metallerin fiziksel kıyaslanması [33] 23
Tablo 3.3 Magnezyum alaşımlarının karakteristik özellikleri [33] 24
Tablo 3.4 Magnezyum alaşımlandırmada kullanılan elementlerin isimlendirmede kullanılan kodları [30] 25
Tablo 3.5 Magnezyuma ilave edilen bazı alaşım elementlerinin alaşıma kattığı bazı özellikler [35] 27
Tablo 3.6 Alaşım elementlerinin magnezyuma etkileri [36] 28
Tablo 3.7 Yaygın kullanılan implant malzemelerinin ve kemik dokusunun mekanik özellikleri [39] 31
Tablo 4.1 Doğal polimerler [47] 41
Tablo 4.2 Ortopedide kullanılan polimer kompozit isimleri [50] 46
Tablo 4.3 İmplant malzemelerine uygulanan enfeksiyon önleyici yüzey kaplamaları [15] 49
Tablo 4.4 Bazı yapısal parametreler ve özellikler arasındaki ilişki [54] 55
Tablo 4.5 Kitosanın bazı biyomedikal uygulamalarda kullanım alanları ve nedenleri [55] 61
Tablo 4.6 İnsan vücut sıvısı ve sentetik solüsyonlardaki iyon konsantrasyonları [63] 69
Tablo 5.1 Cerrahi alan enfeksiyonlarına etki eden faktörler [67], [68] 72
Tablo 5.2 CAE'de karşılaşılan mikroorganizmalar [67] 73
Tablo 6.1 Antimikrobiyal testlerin detaylı ayrımı [72], [73] 76
Tablo 6.2 Antimikrobiyal testlere genel bakış [73], [75] 80
Tablo 7.1 AZ91E nominal kompozisyonu [76] 83
Tablo 7.2 AAS ile belirlenen temin edilen AZ91E kimyasal kompozisyonu 83
Tablo 7.3 Kaplama işleminden önce numunelerin ağırlıkları ve yüzey alanları 89
Tablo 7.4 Cüneyt Taş SBF reçetesi [64] 91
Tablo 8.1 ICP-OES sonuçları 107
Tablo 8.2 Daldırma deneyi belirli günlerde numunelerden alınan ağırlık ölçümleri 110

Tablo 8.3 Daldırma deneyinde numunelerden belirli günlerde alınan temizlik öncesi ve temilik sonrası arasındaki ağırlık farkları 111

Tablo 8.4 Numunelerin daldırma deneyi sonucunda ilk ağırlıklarına göre ağırlık kayıpları 114

Tablo 8.5 Tüm numunelerin bozunma hızları 116

ÖZET

Kitosan Kaplamalı Biyobozunur Magnezyum Alaşımından Üretilen İmplant Malzemelerinin Antibakteriyel Etkinliğinin Araştırılması

Derya UĞURLU

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Cem AKÇA

Magnezyum ve alaşımlarının sahip oldukları nadir ve üstün özellikleri sebebiyle canlı dokularına yönelik çeşitli amaçlarla kullanımı her geçen gün çok daha fazla dikkat çekmektedir. Biyouyumlu magnezyum alaşımlarının yüksek elastisite modülü, yoğunlukları ve özgül dayanımlarının kemik dokuya yakın olmasının yanında biyobozunur özellik göstermeleri sahip oldukları başlıca önemli özellikleridir. Bununla birlikte magnezyum alaşımlarının canlı ortamında kullanılmasında karşılaşılan en önemli sorun çözünme hızının genellikle iyileşme sürecine nazaran hızlı oluşudur. Bu da iyileşme sürecinin tamamlanmasından önce implant malzemenin vücuttan uzaklaşmasına sebep olmaktadır. Ayrıca her implant işleminde görülebilen, özellikle magnezyum gibi metal implant kullanımlarında implantasyon işlemi sırasında enfeksiyon oluşabilmektedir. Bahsi geçen sorunların çözümüne yönelik olarak bu proje kapsamında, AZ91E magnezyum-çinko alaşımlı implant malzemelerin biyobozunur ve en önemlisi antibakteriyel etki gösterdiği bilinen kitosan biyopolimeri ile daldırma kaplama yöntemi kullanılarak kaplanması planlanmıştır. Böylelikle kaplamanın, magnezyum alaşımının çözünmesini geciktirmesinin yanında antibakteriyel etkisi

sayesinde enfeksiyon oluşumuna engel olması amaçlanmaktadır. Kitosan ile kaplanmış numunelerin vücut içerisinde bozunmaya karşı dayanımlarını, bozunma hızlarını ve aynı zamanda bakteriyel enfeksiyona karşı dirençlerini incelemek amacıyla in vitro çözeltisine daldırma deneyi uygulanmıştır. Belirli aralıklarla ağırlıklar ölçülmüş, içerisinde bulundukları sıvılardan örnekler alınmış ve sonrasında yüzey görüntüleri alınmış, bozunma hızları tespit edilmiş, aynı zamanda *Staphylococcus aureus* ve *Esherichia coli* mikroorganizmalarının oluşum durumu incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: implant, magnezyum, magnezyum implant, biyobozunur, kitosan, SBF, daldırma kaplama, polimer kaplama, antibakteriyel

ABSTRACT

Investigation of Antibacterial Activity of of Implant Materials Produced with Chitosan Coated Biodegradable Magnesium Alloy

Derya UĞURLU

Department of Metalurgical and Materials Engineering

Master Thesis

Advisor: Doc. Dr. Cem AKÇA

Due to the rare and superior properties of magnesium and its alloys, its use for various purposes for living tissues is getting more and more noticeable every day. The high modulus of elasticity, density and specific strength of biocompatible magnesium alloys as well as their close proximity to bone tissue, as well as their biodegradable properties are the main characteristics they have. However, the most important problem encountered in the use of magnesium alloys in living environment is that the rate of dissolution is generally faster than the healing process. This causes the implant material to move away from the body before the healing process is completed. In addition, during implantation, infection may occur in the use of metal implants, especially magnesium, which can be seen in every implant procedure. Within the scope of this project, AZ91E magnesium-zinc alloy implant materials are planned to be coated with chitosan biopolymer, which is known to show antibacterial effect, by using dip coating method. Thus, the coating is intended to prevent the formation of infection due to its antibacterial

effect while delaying the dissolution of the magnesium alloy. In order to investigate the resistance of the chitosan-coated samples to their degradation in the body, their degradation rates as well as their resistance to bacterial infection, an in-vitro immersion test was performed. Weights were measured at certain intervals, samples were taken from the fluid they were taken and then surface images were taken, decay rates were determined, as well as the occurrence of Staphylococcus aureus and Esherichia coli microorganisms were investigated.

Keywords: implant, magnesium, magnesium implant, biodegradable, chitosan, SBF, dip coating, polymer coating, antibacterial

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Chen Yongjun ve arkadaşlarının yaptığı derlemede biyobozunur magnezyum alaşımlarının implant olarak kullanımının tarihsel gelişim süreci konu edilmiştir. Magnezyum alaşımlarının ilk klinik olarak ilk uygulaması 1878 yılında Edward C. Huse tarafından hasarlı bir kan damarının magnezyum tel yardımıyla onarılmasıdır. İzleyen yıllarda klinik araştırmacılar magnezyumun çok kırılgan, mekanik özelliklerinin sınırlı olduğunu ve çabuk çözündüğünü belirlemişler ve bunun sonucu olarak medikal implantlar da kullanılan magnezyum ve alaşımlarının uygulamaları neredeyse durma noktasına gelmiştir. Mg esaslı alaşımların biyolojik uygulamalarda tekrar kullanılması 1900 yılında Payr tarafından mevcut Mg tellerinin 2000-2003 yıllarında Heublen tarafından başlatılmıştır. Heublen, magnezyum alaşımlarının bozunmasından yararlanarak kardiyovasküler stentleri geliştirmiştir. Teknolojik gelişmelere paralel olarak magnezyum alaşımlarının mekanik özellikleri ve korozyon performansları da her geçen gün gelişmektedir [1].

Hoi Man Wong ve arkadaşları yine 2009 yılında, Li ve arkadaşlarının araştırmalarından yola çıkarak magnezyum implantların özelliklerini, çözünme oranını kontrol amacıyla ağırlıkça %9 oranında alüminyum %1 oranında çinko içeren AZ91 magnezyum külçe numunesine çeşitli kaplama yöntemleri denemişlerdir. 5 mm çapında ve 4 mm kalınlığındaki plak örneğini elektrokimyasal aşınma testi ve daldırma testini vücut dışı çalışmalar için hazırlamışlar ve hayvan deneyleri için ise mekanik bütünlük testi uygulamışlardır. Bu araştırmalar neticesinde polikaprolakton (PCL) ve diklorometandan (DCM) yapılmış biyoçözünür polimer tabakalarını numunelerin yüzeyine püskürtme cihazı ile kaplamışlardır. Spreyleme işlemini %50 nem oranı 22 °C ve atmosfer basıncı koşulları ile sınırlandırmışlardır [2].

Juan Wang ve arkadaşları magnezyum alaşımının üzerine kaplanan yüzey aşındırıcı poli-1,3-trimetilen karbonat (PTMC) üzerine çalışmışlardır ve dinamik bozunma davranışı, elektrokimyasal korozyon, biyouyumluluk ve hemouyumluluklarını incelemişlerdir. PTMC kaplamanın dinamik bozunma testinde etkili olarak Mg alaşımının korozyonunu engellediğini görmüşlerdir. Bunun yanında kontrol polimer olarak polikaprolakton (PCL) kullanmışlardır. PTMC ile kaplanmış implantı fare kemiğine yerleştirmiş kemik dokudaki implantın %55 oranında muhafaza ettiğini gözlemlemişlerdir. PCL kaplı kontrol ise PTMC kaplı implantın aksine daha fazla aşınma göstermiştir [3].

Sangeetha Kunjukunju ve arkadaşları, Alkalin ve önceden işlenmiş floridli (CaF_2) AZ31 substratlarında aljinit, poly-L-lysine çok katmanlı kaplamaların üretimlerinin raporlarında fizyolojik şartlar altında katman katman (LbL) tekniği kullanılmakta olduğunu görmüşlerdir. Üstelik bu kaplamaların yüzeylerini kimyasal çapraz bağlı ve hareketsizleştirme ile işlevselleştirmişlerdir. Bu kaplanmış substratların fizikokimyasal özelliklerini azaltılmış toplam reflektanslı kızılötesi (FTIR), spektroskopi Fourier Analizi, atomik güç mikroskopisi (AFM), elektron mikroskopisi taraması (SEM) gibi testler kullanarak belirlemişlerdir. Ön sonuçları doğrultusunda LbL kaplamalarının magnezyum tabanlı bozulabilir iskeletler üzerinde yüzey biyoaktivitesini geliştirmek amacıyla kullanımı alternatif olarak kullanmışlardır [4].

Lokesh Choudhary ve arkadaşları fizyolojik gerilimler ve korozif insan vücut sıvısı arasındaki karmaşık etkileşim nedeniyle çatlama sonucu metalik biyomalzemede hatalar meydana geldiğini görmüşlerdir. Bu nedenle çalışmalarında biyolojik olarak parçalanabilen ve alüminyum içermeyen magnezyum alaşımlarının korozyon çatlamasına karşı duyarlılığı düşük gerilme hızı çekme testi ile insan vücut sıvısında ölçümünü gerçekleştirmişlerdir. Alüminyum içermeyen ZX50, WZ21 ve WE43 magnezyum alaşımlarını kullanmışlardır. Düşük gerilme hızı çekme testi sonuçları ile her alaşımın korozyona karşı duyarlı olduğunu görmüşlerdir. Ancak alaşımların korozyona karşı duyarlılık farklılıklarının onların

elektrokimyasal ve mikroyapı özelliklerinin karakteristikleriyle ilgili olduğu belirlemişlerdir [5].

M. Dash ve arkadaşlarının 2011'de hazırladığı derlemede, kitosan esaslı biyoaktif uygulamalardaki yeni gelişmeleri özetlenmektedir. Kitosanın, reaktif fonksiyonel gruplara, jel oluşturan kabiliyete, yüksek adsorpsiyon kapasitesine ve biyolojik olarak bozunurluğa sahip bir polielektrolit olduğunu; ek olarak doğal dokulara biyolojik olarak uyumlu, toksik olmaması, antibakteriyel, antifungal ve antitümör aktiviteye sahip olduğunu ve bu özelliklerinin onu doku mühendisliği için doku iskelesi malzemesi olarak uygun bir aday olduğunu söylemişlerdir [6].

2006 yılında Caiqin Qin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, farklı molekül ağırlığına sahip kitosan örnekleri, hemiselülaz ile depolimerizasyon yöntemiyle hazırlamışlardır. Molekül ağırlığı $1,4x10^3$ ile $4,0x10^5$ g/mol arasında değişiklik gösteren kitosanın *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicanların* büyümesi üzerine etkisi mikrokalorimetre kullanılarak saptanmak amaçlanmıştır. Suda çözünür yarım kitosanların önemli antimikrobiyel aktiviteye sahip olmadığını tespit etmişler ve dahası, suda çözünür kitosanlar *Candida albicanlarının* büyümesini arttırdıklarını görmüşlerdir. Fakat bunun aksine, asidik ortamda çözünüp suda çözünmeyen molekül ağırlığı yaklaşık $5x10^4$ olan kitosanın, bu mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel etki için en uygun olanları olduğu anlaşılmıştır [7].

Khalid Ziani ve çalışma arkadaşları 2009 yılında yapılan bu çalışmanın amacı farklı konsantrasyonlarda farklı molekül ağırlıklı kitosan bazlı film ve solüsyonların antifungal özelliklerini değerlendirmektir. Bu antifungal etki *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* ve *Rhizopus oryzae* olmak üzere üç mantar üzerine geliştirilmiştir. Tedavinin antifungal etkisi uygulanan mantar türüne bağlı olarak değişkenlik göstermiş, kitosan bazlı filmlerin çözeltilerine nazaran *A. niger* türüne önemli derecede etkisi olduğu saptanmıştır. Öte yandan, solüsyon tedavisinin *A. alternata* veya *R. oryzae* mantarlarına uygulandığında daha yüksek koruyuculuk sağladığı, en yüksek koruyuculuğun kitosan solüsyonu kullanarak *A. alternata'ya* (%97) karşı oluştuğu gözlenmiştir. Bir başka deyişle kitosanın

antifungal kapasitesinin gerçek olduğu ancak kontrolünün kolay olmadığı anlaşılmış, kitosanın etkinliği sadece kitosan formülasyonuna değil aynı zamanda mantar türüne ve tedavi yöntemine bağlılığı kanıtlanmıştır [8].

M. Abd El-Fattah ve arkadaşları 2016 yılında, oldukça bol, yenilenebilir bir deniz polimeri olan kitosanın ekstraksiyonu ve karakterizasyonunu, element analizi, FTIR, 1H NMR ve deasetilasyon derecesi gibi çeşitli analizlerle araştırmış, aynı zamanda yüzey kaplama amaçları için mükemmel film oluşturma yeteneğine sahip en potansiyel çevre dostu adaylardan biri, bariyer özelliği ve metallere olan yakınlığından ötürü korozyona karşı koruma yeteneğini incelemeyi amaçlamışlardır. Bu çalışma, kitosan ve epoksi kaplamayla oluşturulan bir bileşiğin korozyon direncini ve antimikrobiyel aktivitesini incelemiş ve bu amaçla kitosan doğal organik dolgu maddesi olarak, epoksi kaplamayla, %2 ile %20 arasında değişen yükleme seviyelerinde, kitosan-epoksi kaplama bileşimi oluşturmak üzere karıştırılmıştır. Kitosanın korozyon direnci, antimikrobiyel aktivitesi, viskoelastik özellikleri, mekanik ve kimyasal direnci araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, kitosan-epoksi kaplama kompozitinin, boş epoksi kaplamaya göre daha düşük korozyon oranları verdiğini, kitosan yüklemesi arttıkça antimikrobiyel etkinin arttığını, mekanik ve kimyasal direncin de iyileştirildiğini ve bu iyileşmenin kitosan yüklemesi arttıkça artmış olduğu sonuçlarda belirtilmiştir [9].

Hüsnügül Yılmaz Atay ve Erdal Çelik 2017 yılında yaptıkları çalışmada, bir akrilik reçine ile kitosanı birleştirerek antibakteriyel bir kompozit malzeme elde etmişlerdir. Bu kompozitin *Staphylococcus aureus'a* karşı antibakteriyel etkinliği in vitro deneyler ile incelemişlerdir. Sonuç olarak, kitosanın etkili bir antibakteriyel katkı maddesi olarak kabul edilebileceği sonucuna varmışlar, koloid kitosan güdümlü kompozitlerin kitosan takviyeli olanlar ile karşılaştırıldığında daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir [10].

Ammara Rafique ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları araştırmada, biyouyumluluk, biyobozunurluk, antibakteriyel özellikler ve toksik olmayan, muko-yapışkanlık, adsorpsiyon özellikleri vb. gibi yüksek özelliklere sahip olan kitin ve kitosanın, iyi mekanik, kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip olan sentetik

bir malzeme olan polivinil alkol (PVA) ile işlevselleştirilmesi, bu oluşan yapının biyobozunur filmler, membran ayırma, doku mühendisliği, gıda ambalajlama, yara iyileşmesi ve biyomalzemelerin geliştirilmesi için çok uygun alan olduğunu kabul etmesi konu edilmiştir [11].

Nandakumar ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, AZ31 magnezyum alaşım numunesinin antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. İn vitro olarak yaptıkları laboratuvar çalışmalarda, *Pseudomonas sp*. bakterisinin magnezyum yüzeyine tutunma ve biyofilm oluşturma aşamaları ile oluşum sonucu malzeme yüzey özelliklerinde ortaya çıkan değişimler gözlenmiştir. Deneysel çalışmaların ilk periyodunda, bakterilerin yüzeye yapışma oranlarının belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Çalışmaların ikinci günü, yüzey alanının %33,69 + %10,2'inde bakteri tutunmasının gerçekleştiği belirlenmiştir. Daha sonraki zaman diliminde, tutunma oranının hızlı bir şekilde düştüğü ve altıncı günde en düşük olarak %2,71 + %1,36 minimum değere ulaşmıştığı gözlenmiştir. Dökme kültürel sayım yöntemi ile yapılan değerlendirmeler sonucu, ortamda bulunan bakteri miktarının (TVC, "Total Viable Count"), ikinci günden itibaren hızlı bir şekilde düştüğü görülmüştür. Magnezyum su ile temas ettiği zaman ortamda $Mg(OH)_2$ film tabakası oluşumu malzeme yüzeyini koruyarak biyofilm oluşumunu engellemektedir. Bu özelliği, magnezyum alaşımlarının antibakteriyel özellik kazanmasını sağlamaktadır Ayrıca oluşan bu yapı suda bozunarak ortam pH değerini artırarak, malzeme yüzeyine tutunan bakteri oranının düşmesini sağlamaktadır [12].

1.2 Tezin Amacı

Kemik dokusu; anlık sakatlanma, değişken yük altında meydana gelen kırılmalar, enfeksiyon ve tümör kaynaklı kırılmalar gibi sebeplerden ötürü hasar görebilmektedir. Gerek yetişkinlerde gerekse genç yaştaki hastalarda, bu tür durumlarda cerrahi müdahale ile yapay biyomalzemelerin istenilen boyut ve şekilde hasarlı dokuya implantasyonu bölgenin iyileşme sürecini kolaylaştırmaktadır. Ancak kalıcı implantların mekanik özellikleri kemiğin mekanik özelliklerinin kemiğinkinden çok daha farklı olmasının yanında aynı

zamanda vücut içinde uzun süre kalmaları durumunda toksik etki gösterebilecek iyon salımı durumu oluşabilmektedir. Bu sebeple magnezyum implantlar ortopedik uygulamalarda cazip bir malzemedir. Ancak magnezyumun en büyük dezavantajı vücut içerisinde hızlı bozunmaya uğramalarıdır. Bununla beraber her implant işleminde karşılaşma ihtimali olan bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar da söz konusudur.

Bu tez çalışmasında magnezyum implantın hızlı bozunması sonucu vücut içinde bulunması gereken süreye ulaştırmak için biyobozunur ve antimikrobiyal özellikteki kitosan ile kaplamak, bu sayede de herhangi bir mikroorganizma oluşumu sonucu gözlenebilecek enfeksiyona engel olmak amaçlanmıştır. Bu hedef doğrultusunda kaplamasız, ağırlıkça %1, %3 ve %5 kitosan ile AZ91E alaşımlı magnezyum numuneleri 1 saniye ve 3 daldırma sayısı koşullarında daldırma kaplama yöntemi kaplanmıştır. Yapılan bu çalışmayla hedefe ulaşılacağı düşünülmüştür.

1.3 Hipotez

Magnezyumun üstün özelliklerinin yanında kitosan polimeri eşsiz bir biyopolimerdir. Kitosanın seçilmesindeki en önemli etken antibakteriyel ve antifungal özellik göstermesidir. Bu tez çalışmasında biyobozunur magnezyum alaşımlarının kitosan ile kaplanarak vücut içine yerleştirildiğinde belirlenen süre kalabileceği ve aynı zamanda kitosanın kendiliğinden antimikrobiyal etkisi sayesinde gerçekleşmesi muhtemel enfeksiyon oluşumuna engel olunacağı savunulmaktaıdır. Bu hipotez doğrultusunda yapılan çalışmalar ilerleyen bölümlerde incelenmiştir.

2
İMPLANT MALZEMELERİ

Vücut dokularının bir kısmı zaman zaman bazı durumlarda fonksiyonlarını yerine getiremez. Bu durum insanlar tarafından yapay olarak geliştirilen malzemelerin kullanımını gündeme getirmiştir. Geçici veya kalıcı vücut içi ya da kısmen vücut içi olarak, tedavi onarım gibi amaçlarla vücuda dahil edilen malzemeler implant malzemeler olarak adlandırılır. Tarihi çok eski zamanlaraa dayanan implant malzemelerinin başarılı olabilmesi gayesi, malzeme bilimi ve teknolojisindeki gelişmeleri ve yenilikleri beraberinde getirmiştir. İlk başarılı sentetik implantlar, iskeletteki kırıkların tedavisinde kullanılan kemik plakalarıdır [13].

İnsan sert dokusundaki onarımlar için büyük öneme sahip olan biyomalzemeler kemik cerrahisinde, ortopedide ve dişçilikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Travma, iltihaplanma ve tümör gibi nedenlerden kaynaklı kemik hastalıklarına sahip hasta sayısı oldukça fazladır. Bu nedenle özellikle ortopedi alanında kemik tedavisi ve değişimine olan ihtiyaç hasta sayısı bu durum paralelinde büyümüştür. Sonuç olarak kemik tedavilerinde kullanılan malzemelerin geliştirilmesine olan ilgi gün geçtikçe artmıştır [14].

İmplant dendiği zaman aslında akla ilk olarak biyomalzeme gelmektedir. Biyomalzemeler, insan vücudundaki organ ya da dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan malzemeler olup vücut içerisinde çeşitli fizyolojik ve mekanik etkilere maruz kalmaktadırlar [15]. Bununla beraber implant yalnızca vücut içinde kullanılabilirlen biyomalzeme kısmen vücut sıvısıyla temasta olarak da kullanılabilmektedir.

Biyomalzemelerin seçimi ve tasarımı, planlanan medikal uygulamanın ve tedavinin türüne göre belirlenir. Yeni malzemelerin tasarımı, malzeme bilimi ve mühendisleri, biyomedikal mühendisleri, patoloji uzmanlarının ve klinik tedavi uzmanlarının işbirliği ile gerçekleştirilir [15].

İdeal bir implantın yumuşak dokular tarafından fiziksel olarak etkilenmemesi, yabancı cisim reaksiyonuna, enflamasyona, alerjiye neden olmaması, kimyasal

olarak inert olması, vücutta bulunduğu süre boyunca yapısını ve devamlılığını koruyabilmesi, istenilen şekli alabilmesi, sterilize edilebilmesi ve yeterli mekanik özelliklere sahip olması gerekmektedir [13].

İmplant malzemelerinin insan vücudunda etkin bir biçimde kullanımını sağlamak için sahip olması gereken özellikler aşağıdaki şekilde maddelendirilebilir.

Mekanik özellikler: Belirli bir amaca yönelik yani spesifik uygulamalarda kullanılmak üzere seçilen malzemelerin sertlik, çekme dayanımı, elastisite modülü ve uzama gibi mekanik özellikleri, kullanılacak malzemenin tipini belirler. Biyomedikal uygulamalarda, mekanik özellikleri uygulanacak dokuya yakın olan malzemeler tercih edilmelidir.

Biyouyumluluk: Biyomedikal alanda kullanılan malzemelerin toksik olmaması, insan vücudunda alerjik reaksiyon vb. olmaması beklenir. Sonuç olarak bir biyomalzemenin başarısı, insan vücudunun implanta karşı gösterdiği reaksiyona bağlıdır ve gösterilen tepki biyomalzemenin biyouyumluluğunu belirler.

Yüksek korozyon ve aşınma dayanımı: Düşük korozyon ve aşınma dayanımına sahip olan malzemeler, vücut sıvıları içerisinde çevre dokulara uyumsuz olabilecek metal iyonlarının salımına sebep olurlar. Bu iyonlar çevre dokularda birikerek alerjik ve toksik reaksiyonlara neden olurlar. Bu da biyomalzemenin verimini düşürerek istenmeyen durumlara yol açar.

Osseointegrasyon: Biyouyumluluğun yanı sıra implantın başarısı malzeme yüzeyinin çevre doku ile bütünleşebilmesine de bağlıdır. İmplant yüzeyinin komşu kemik doku veya diğer dokularla entegrasyonundaki yetersizlikler implantın kaybına kadar gidebilecek durumlara sebep olur [15].

İmplantların çeşitli sınıflandırılmaları bulunmakla beraber bu tez çalışmasında nesillerine göre ve malzemelerine göre olan implantlardan bahsedilecek ve özellikle malzemelerine göre implantlar detaylıca incelenecektir.

2.2 Nesillerine Göre İmplantlar

Biyomalzemeler işlevini yerine getiremeyen dokuların yerine dokunun görevini daimî ya da doku iyileşmesi sırasında doku kendini yenileyene kadar geçici süre ile yerine getiren malzemelerdir [16].

Canlı vücut ortamı ile temas eden herhangi bir malzeme, bazı reaksiyonlara ve bu reaksiyonlar sonucu zararlı iyon salımına neden olarak sağlık açısından potansiyel riskler ortaya çıkarabilmektedir. Bu nedenle kullanılacak malzemelerin özelliklerinin, avantaj ve dezavantajlarının iyi bilinmesi gereklidir [16].

Biyomalzemelerin sınıflandırılmasında üç farklı nesil biyomalzeme kullanımı söz konusu olmuştur.

Birinci nesil biyomalzemeler biyoinert malzemeler, ikinci nesil malzemeler olarak biyoaktif ve biyoçözünür malzemeler ve üçüncü nesil olarak moleküler düzeyde bazı hücresel yanıtları uyaran malzemeler kullanıma girmiştir. Bu evrim süreci kronolojik değil kavramsal bir gelişimdir [16].

Birinci nesil biyomalzemeler biyoinert malzemeler olup immün sistemle uyumsuzluğu ve yabancı cisim reaksiyonunu en aza indiren malzemelerdir. Ortopedik cerrahi alanında birinci nesil metalik biyomalzemeler olarak paslanmaz çelik, kobalt-krom alaşımlar, titanyum ve titanyum alaşımları, seramik biyomalzemeler olarak alümina, zirkonya ve bazı poroz seramikler, polimer biyomalzemeler olarak da silikon, polietilen, poliüretan, polipropilen ve polimetilmetakrilat yaygın olarak kullanılmaktadır. Kalıcı olan bu implantlar klinik çalışmalarda yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu implantlar özellikle kemik sabitleme uygulamalarında şüphesiz başarı göstermelerine rağmen bazı önlenemez problemleri vardır [16].

1900'lerin başından beri çoğunlukla kırık kemikleri sabitlemek için kullanılan malzemeler, genellikle paslanmaz çelik, saf titanyum ve titanyum alaşımları, kobalt-krom bazlı alaşımlar kullanılır. Ancak bununla birlikte implantın bozunmama özelliği zaman içerisinde sorun yaratmıştır. Söz konusu kalıcı implantların uzun süreli yan etkileri ve artan lokal enflamasyon riski, metalik

implantın yabancı olduğu insan vücudu dokusu için ciddi bir risk oluşturmaktadır. Bu durumda, daha sonradan ikinci ameliyat ile implantın alınması gerekmektedir. Bununla birlikte tekrarlanan ameliyat sadece hastaların hastalık hızını artırmamış aynı zamanda yüksek sağlık bakım masrafları ve hastanede uzun süreli tedavi ile sonuçlanmıştır. Bahsedilen sebeplerden dolayı günümüzde biyomalzemelerin, iyileşme sürecinde hasarlı dokuya gerekli mekanik desteği sağladıktan sonra tamamen bozunması ve bu bozunma esnasında sağlıklı dokunun yeniden oluşumuna izin vermesi beklenmektedir. Böylece hem hasta hem de cerrahlar ikinci bir operasyonun külfetinden kurtulmaktadırlar. Böyle komplikasyonları azaltmak için bozunabilir metaller üzerinde araştırmalar yapılmıştır. İşte söz konusu bu biyomalzemeler ikinci nesil olarak isimlendirilmişlerdir [2].

İkinci nesil biyomalzemeler ilk nesilde karşılaşılan sorunlara çözüm olarak doğmuş bir implant grubudur. Kalıcı implantlarda zamanla karşılaşılan birtakım sorunlara çözüm olarak biyobozunur implantlar geliştirilmiştir. Bunlara örnek olarak biyobozunur magnezyum alaşımlar, biyobozunur polimerler örnek gösterilebilir.

2.3 Biyomalzemelerde Etkileşim

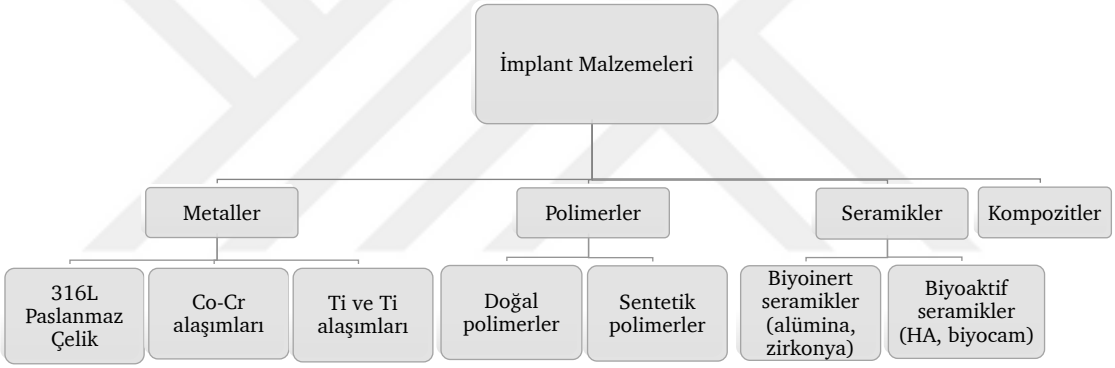
Biyomalzemeler vücut içerisine yerleştirildiğinde doku ile tepkimeye girerler. Bu tepkimeler toksik ve toksik olmayan şeklinde ikiye ayrılır. Eğer verilen tepkime toksik ise, canlı dokunun o malzemeyi kabul etmediği ve çevre dokuların ölümünün gerçekleştiği anlamına gelir. Eğer verilen tepki toksik değil ise biyomalzemeler biyoaktif (canlı dokuları etkileyen) veya biyoetkisiz (yapay eklem implantasyonundan sonra dokuyu değiştirmeden doku ile bir arada bulunan) olarak değerlendirilir.

Malzeme biyoetkisiz ise bu durumda implant malzemenin üzerinde farklı kalınlıkta fiberimsi bir doku oluşur. Bir diğer olasılık ise malzemein emilen olması durumudur. Vücut tarafından hidroliz veya enzimatik yolla gerçekleşir. Malzeme çevre dokular tarafından emilerek onların yerine geçer. Böylece vücutta yabancı cisim kalmaz. Bir de vücut tarafından emilemeyen ve sürekli konulduğu yerde

kalan malzemeler vardır. Bu malzemeler sürekli doku desteğine ihtiyaç duyarlar. Vücutta sürekli yabancı cisim olark bulunurlar [17].

2.4 Malzemelerine Göre İmplantların Sınıflandırılması

İmplant malzemelerin kullanıldığı uygulamalardaki en önemli etken uygun malzeme seçimidir. Kullanılacak malzemenin vücut koşulları içinde korozyona dayanıklı, biyouyumlu olması, dokularda alerjik reaksiyon oluşturmaması, vücut ağırlığı göz önüne alındığında fiziksel olarak basma ve çekme dayanımlarının, vücut tarafından iletilen yükleri taşıyacak düzeyde olup tüm bu koşulları sağlamış olması gerekmektedir. Bu özellikleri sağlayan biyomalzemeler; metalik biyomalzemeler, biyoseramikler, biyopolimerler ve biyokompozitlerdir [18].



Şekil 2.1 Malzemelerine göre implant malzemelerinin sınıflandırılması [13]

2.4.1 Metalik İmplantlar

Geçmişten günümüze kullanımı en fazla olan implant malzemeleri üstün özellikleri sebebiyle metallerdir. Bu implant çeşiti Bölüm 3'te detaylıca incelenecektir.

2.4.2 Polimerik İmplantlar

Biyomalzeme alanında polimerik malzemeler yumuşak dokulara benzer fiziksel özelliklere sahiptirler. Bu nedenle biyomedikal alanda geniş bir kullanım alanına sahiptir. Polimerlerin özellikleri, yapı taşları olan monomerlerden büyük farklılık

gösterir. Bu nedenle uygulama alanına yönelik olarak uygun polimer seçimi oldukça önemlidir ve dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Polietilen, poliüretan, politetrafloroetilen, poliasetal, polimetilmetakrilat, polietilenteraftalat, silikon kauçuk, polisülfon, polilaktik asit ve poliglikolik asit gibi çok sayıda polimer biyomedikal alanlarda kullanılmaktadır [13].

Polimerler fiziksel yapıları açısından vücuttaki yumuşak dokulara benzer özellik göstermektedirler ve vol., kaas, kıkırdak, damar ve lens gibi dokusu özel olan bölgelerde protez olarak sıklıkla kullanılan malzemelerdir [18].

2.4.3 Seramik İmplantlar

Vücudun zarar gören veya işlevini yitiren parçalarının onarımı, yeniden yapılandırılması ya da yerini alması için özel tasarımlı seramikler geliştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan seramikler biyoinert ve biyoaktif seramikler olmak üzere iki grupta incelenir [13].

Biyoseramik malzemelerin, biyouyumluluklarının üstün olması, zehirleyici etki göstermemesi, alerjik ve kanserojen olmamaları, kararlı kimyasal yapıları nedeniyle paslanma risklerinin olmaması, aşınmaya karşı dayanabilir ve çok da hafif olmaları sebebiyle biyomedikal alanlarda kullanımı oldukça yaygındır. Al_2O_3 biyomedikal alanda kullanılan ilk seramik malzemedir [18].

2.4.4 Kompozit İmplantlar

Kompozit, farklı kimyasal yapıdaki iki veya daha fazla sayıda malzemenin sınırlarını ve özelliklerini koruyarak oluşturduğu çok fazlı malzeme olarak tanımlanır. Kompozit malzeme üretimindeki amaç, kendisini oluşturan bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere birden fazla malzeme sayesinde istenen özelliğe ulaştırmaktır. Kompozitler, yüksek dayanıma ve düşük elastik modülüne sahip olduklarından özellikle ortopedik uygulamalarda tercih edilir. Ayrıca kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek, implantın vücuttaki kullanım alanlarına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması kolaylaştırılabilir [13].

İmplant malzemelerin özellikleri ve kullanım alanları Tablo 2.1'de özetlenmiştir [13].

Tablo 2.1 İmplant malzemeleri, özellikleri ve kullanım alanları [13]

Malzeme	Avantajları	Dezavantajları	Kullanım Alanları
Metaller	Dayanıklı, sağlam, şekillendirilebilir, korozyona dayanıklı	Yüksek yoğunluk	Eklem protezleri, kemik plakları, vida, diş implantları
Polimerler	Elastik, üretimi kolay	Güçlü değil, zamanla deformasyona uğrar	Dikişler, kan damarları, kalça protezi soketi
Seramikler	Yüksek biyouyumluluk, inert	Kırılgan, elastik değil, üretimi zor	Diş, kalça protezi kafası, implant kaplaması
Kompozitler	Dayanıklı, özel tasarım	Üretimi zor	Eklem implantları, kalp kapakları

Bu tez çalışmasında metalik implantlar incelenecektir.

3
METALİK İMPLANTLAR

Kristal yapıları ve sahip oldukları kuvvetli metalik bağlar sayesinde üstün mekanik özellikler taşıyan metal ve metal alaşımlarının implant malzemesi olarak kullanımı oldukça fazla ve yaygındır [13]. Metalik bağlarının dışında, metalik biyomalzemeler belirli sınırlarda, ağır, uzun süreli, değişken ve ani yüklemelere karşı özelliklerini kaybetmeden dayanabilmeleri nedeniyle tercih edilmektedirler [19].

Metalik malzemeler 19. yüzyıldan bu yana medikal implant malzemeleri olarak kullanılmaktadır. Metalik implantların gelişmesi öncelikle kemik onarımı vb. dolayı kullanılması hız kazanmıştır [20].

Metaller mekanik özellikleri, termal iletkenlikleri ve elektriksel özelliklerinden dolayı dabiyomalzeme olarak kullanılırlar. Korozyon dayanımı ve mekanik özellikleri iyi olan metalik biyomalzemeler, kalça ve diz eklemleri, omurga ve dişteki kırık bölgelerin implantlarla değiştirilerek veya kırık bölgenin tabaka ve vidalar kullanılarak birleştirilip daha hızlı iyileşmesine yardımcı olurlar [21].

Kas iskelet sistemine binen kuvvetli yükler ve bu sistemin biyomekanik özelliklerine en uyumlu biyomalzemeler yüksek elastisite modülleri, yüksek yorulma direnci nedeniyle yine metalik biyomalzemelerdir. Metalik biyomalzemelerin stabilitesi diğer malzemelerden üretilen biyomalzemelere göre daha yüksektir ve sterilizasyonu daha kolaydır. Günümüzde saf ya da alaşımlı olarak birçok metal, biyomalzeme olarak kullanılmaktadır. En yaygın olarak kullanılan metalik biyomalzemeler paslanmaz çelik, kobalt-krom bazlı alaşımlar ve titanyum alaşımlarıdır [16].

Temel biyouyumlu ve geçmişten günümüze yüksek oranda kullanılan metalik malzemeler paslanmaz çelikler, Co esaslı alaşımlar, Ti ve Ti esaslı alaşımlardır. Yüksek yoğunlukları ve alerjik doku reaksiyonlarına reaksiyonlarına neden olabilecek metal iyonu salımı gibi dezavantajlarına rağmen, kristal yapıları ve sahip oldukları güçlü metalik bağlar nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan;

titanyum ve titanyum alaşımları, paslanmaz çelikle ve kobalt gibi metal ve metal alaşımlarının biyomalzeme alanındaki payı büyüktür. Bu malzemeler yüz çene cerrahisinde, diş implantında, kalça ve diz gibi eklem bölgelerinde ya da diğer ortopedik uygulamalarda kullanılmaktadır.

Şimdi ise bu metalik implanlar daha detaylı incelenecektir.

3.1 Titanyum ve Alaşımları

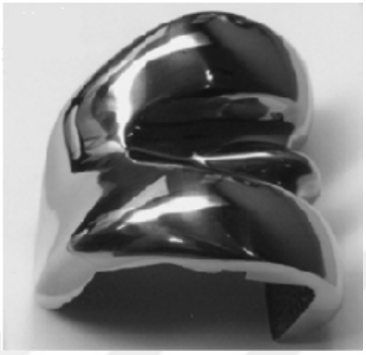
Titanyum, Reverend William Gregor tarafından 1790 yılında keşfedilmiştir. Yeryüzünde alüminyum, demir ve magnezyumundan sonra en yüksek rezerve sahip dördüncü element olan titanyum reaktif bir metaldir ve saf olarak elde edilmesi zordur. Saf titanyum, Dr. Wilhelm Kroll tarafından açıklanan 'Kroll prosesi' yöntemiyle titanyum cevherinin karbon ve klor bulunan bir ortamda ısıl işlemle elde edilen titanyum klorür, öncül titanyum elde etmek için erimiş sodyumla indirgenir. Yumuşak haldeki titanyum öncülü ise, basınç altında ya da argon atmosferinde eritilip birleştirilerek titanyum ingotlar elde edilir [22].

Titanyum, 1950'li yıllarda ilk olarak havacılık endüstrisinde kullanılmaya başlanmıştır. Sonraki dönemde ise medikal ve dental uygulamalarda geniş kullanım alanı bulmuştur. Titanyum ve alaşımlarının mükemmel biyolojik uyumları ve korozyon dirençleri, düşük elastiklik değerleri ve yüksek dirençleri, nisbeten düşük maliyetleri gibi özellikleri dental implant gibi bazı uygulamalarda titanyumu vazgeçilmez hale getirmiştir [22].

Ti6Al4V titanyum alaşımı piyasada bulunan titanyum alaşımları arasında en yaygın kullanılanıdır. Titanyum ve alaşımları, diş ya da ortopedik implant alanında 1960'lı yıllardan itibaren kullanılmaya başlanan ve kullanımı günümüze kadar hızla artan malzeme grubunu oluşturmaktadır. 1969 yılında ise titanyum diş implant uygulamaları alanında yeni bir çağın başlangıcı sayılmaktadır. O tarihten bugüne kadar bu uygulama temelde farklılaşmadan devam etmekte ve sadece implantın şekli ve yüzey özelliklerinin değiştirilmesi yönünde çalışmalar yapılmaktadır [23].



Şekil 3.1 Titanyum diş implantı [18]



Şekil 3.2 Titanyum ortopedik (diz) implantı [23]

Diş ve ortopedik alanlarında kullanılan en ideal metalik biyomalzeme olan titanyum alaşımlarının tercih edilme sebepleri aşağıda sıralanmıştır.

- Yoğunluk
- Bileşimde çok az olan ya da hiç olmayan zehirli maddeler
- Yüksek dayanım ve yorulma ömrü
- Düşük elastiklik modülü (kemiğin dış tabakası ile karşılaştırıldığında)
- Oda sıcaklığında kolay şekillendirilebilirlik
- Kusursuz bileşenlerle kalıplanabilirlik [23]
- İnert olması
- Manyetik özelliği olmaması [16]

Titanyum ve titanyum alaşımları üzerlerinde oluşan titanyum dioksit (TiO_2) film tabakası sayesinde korozyona karşı dirençli olurlar. Titanyum ve titanyum alaşımlarının bu avantajlarının yanı sıra göreceli olarak pahalı olmaları,

işlenmelerinin daha zor olması, düşük sürtünme direnci ve mekanik özelliklerinin kemiğe yakın olmaması gibi dezavantajları vardır.

3.2 Talyum ve Alaşımları

Talyum 1861'de Sir William Crookes adlı bir İngiliz tarafından keşfedilmiştir. Talyum, zehirli ve aktif ve dünyada bol bulunan bir elementtir. Zehirli bileşikleri sebebiyle çok dikkat edilmesi gereken reaktif bir maddedir. Zehirli zehir olarak anılan talyumun zehri, arsenikle yarışacak kadar etkilidir. Fare zehirlerinin de ana maddesini oluşturan talyum tuzlarının kullanımı bazı ülkelerde yasak veya sınırlıdır [24].



Şekil 3.3 Talyum alaşımı [23]

Talyumun kimyasal sembolü Tl, atom numarası 81, atom ağırlığı 204,39 g/mol, yoğunluğu 11,85 g/cm^3'tür. Erime noktası 304 °C, kaynama noktası 1473 °C'dir. Periyodik tablonun 3A grubunda, zayıf metaller element serisinde yer alır. Ara geçiş metaller arasında bulunan yumuşak bir metaldir. Fiziksel özellikleri bakımından kalayla benzerlikler gösterir. Kimyasal özellikleri bakımından da alkali metallerle benzerdirler. Elektron yapısı kurşun ve cıva ile benzerlik gösterir. Bileşiklerinin özellikleri alüminyum ile benzerdir. Elektrik iletkenliği iyi düzeydedir. Nemli havada yüzeyi oksit tabakası ile kaplanır ve parlaklığını kaybeder, mavimsi gri bir renk alır [24].

Talyum zehirli etkilerinden dolayı ekolojiyi ciddi anlamda etkileyen bir elementtir. Talyumun yüksek zehirliliği nedeniyle çok düşük bulaşma durumlarında bile saç kaybı, sinir hastalıkları, görme zayıflığı, büyüme gecikmesi gibi hasarlara neden olabilmektedir. Talyum optik sistemler düşük sıcaklık termometreleri, boya pigmentleri, fotoelektrik hücreleri ve kimyasal sentezler gibi kullanım alanlarına

sahiptir. Saf talyum, iyi olmayan mekanik özellikleri ve oksitlenme eğiliminin yüksek olması sebebiyle doğrudan kullanıma uygun değildir [25], [26].

3.3 Ni-Ti Alaşımları

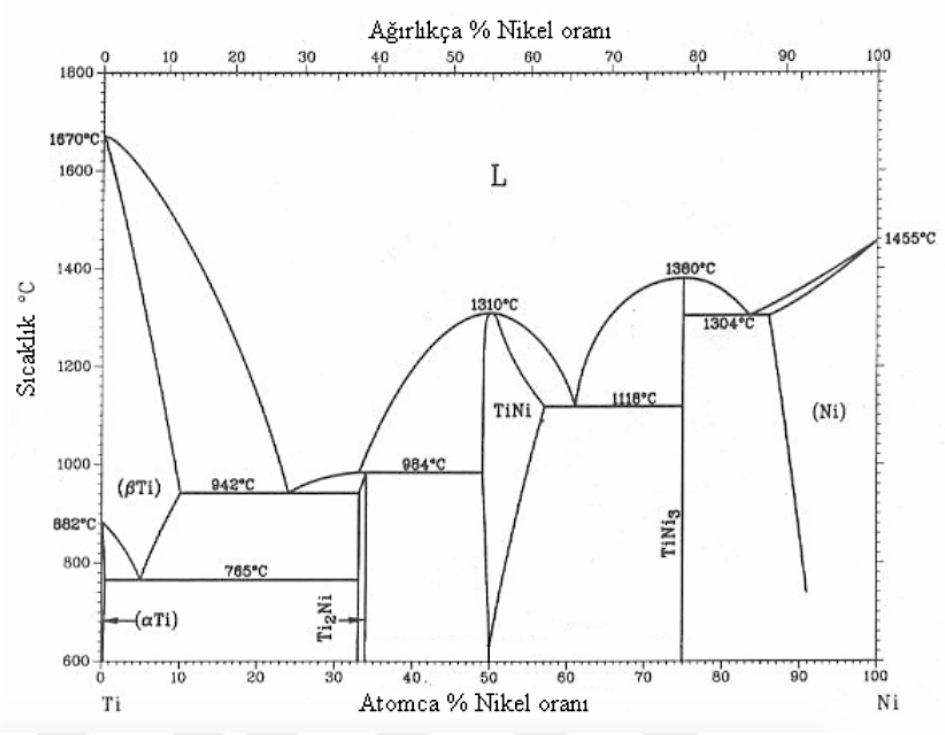
NiTi alaşımları ikili alaşım sistemidir ve eş atomlu sünek özelliğe sahip intermetalik bir bileşiktir. Belirli sınırlar dahilinde nikel ve titanyumu çözebilir olan bu bileşik tasarlanan malzemenin mekanik özelliklerini istenilen tarzda değiştirmek için uygun bir alaşım sistemidir [26].

NiTi alaşımlarını anlamak için öncelikle bahsedilmesi gereken konu şekil hafızalı alaşımlardır.

Şekil bellekli alaşımlar, deformasyona maruz kaldıklarında, sıcaklık ve gerilmelere bağlı olarak daha önceki şekil veya boyutuna geri dönebilen metalik malzemedir. [27].

Şekil bellekli alaşımların temel karakteristiği, alaşıma katılan elementlerin oranlarının belirlediği bir dönüşüm sıcaklığının hem üzerinde hem altında farklı iki şekil ve kristal yapısına sahip olabilmeleridir. Bu sıcaklığın üzerinde östenitik altında ise martenzitik yapı oluşur. Alaşım martenzitik yapıda iken deformasyona uğradıktan sonra dönüşüm sıcaklığı üzerine ısıtıldığında ana faza dönüşürken ilk şekline geri döner. Şekil bellekli alaşımların bu özelliğine şekil bellek özelliği denir. Şekil bellek özelliği tek yönlü (TYD) ve çift yönlü şekil bellek davranışı (ÇYD) olmak üzere ikiye ayrılır. [27].

Endüstride en fazla görünen şekil hafızalı akaşım NiTi ve bakır esaslı alaşımlardır. alaşımlar. Şekil 3.4'teki titanyum-nikel faz diyagramı incelendiğinde, aynı miktarda titanyum ve nikel atomlarından meydana gelen atomca %50 nikel bölgesinde intermetalik NiTi oluşur [26], [27].



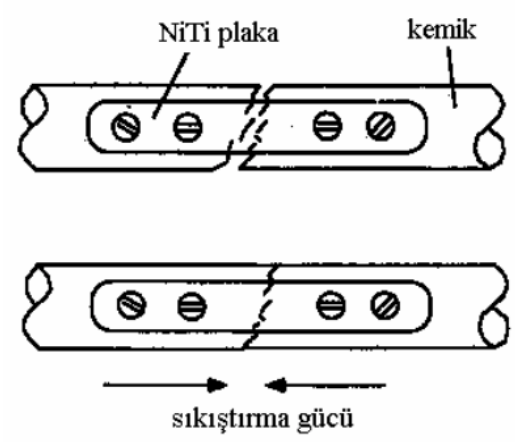
Şekil 3.4 NiTi şekil hafızalı intermetalik alaşımının faz diyagramı [27]

Şekil hafızalı alaşımlardan NiTi, ilk kullanılma yerlerinden biri 1969'da F-14 Jet uçaklarında hidrolik boru bağlama bileziğidir. Ortam sıcaklığına göre kendiliğinden açılıp kapanan sera pencereleri ve fan kapakları ise alaşımın diğer kullanım alanlarındandır [27].

Son yıllarda süpersonik uçakların dış kısımlarında hava basıncı ile oluşan büzülmelerin engellenmesi için NiTi şekil bellekli alaşım takviyeli grafit-epoksi kompozit kullanılmaktadır. Şekil bellekli alaşımların süperelastik özelliği sayesinde cep telefonu anteni, gözlük çerçevesi gibi deformasyonu sorun yaratabilen parçalarda kullanımını genişletmiştir. Endüstriyel uygulamalarda kullanılan nikel-titanyum alaşımının yanı sıra bu tezin de konusunu oluşturan biyolojik uygulamalarda da biyolojik uyumu yüksek olduğu için NiTi alaşımı kullanılabilmektedir. Ortodontide ve endodontide diş teli ve döner kök kanalı aparatı olarak, kardiyoloji alanında kalp damar tıkanıklığını açan stentler ve ortopedide implantlar gibi birçok alanda tercih edilmektedirler [27].

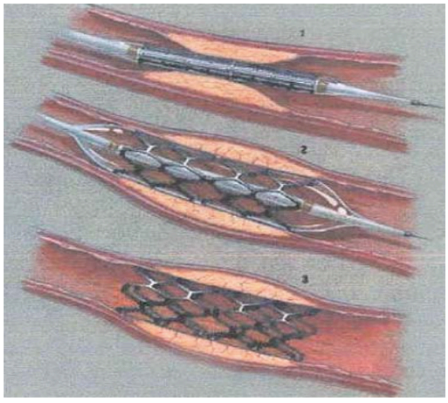
NiTi alaşımının ortopedik kullanımı biyomedikal alanda geniş yer almaktadır. Şekil 3.5'te kırılmış kemiğe vidalanan NiTi plakaların vücut sıcaklığına geldiğinde

iki parçayı sıkıştırma yönünde (zıt yönlerde) kuvvet uygulayarak kırık olan kemiğin birbirine yaklaşarak birleşmesini sağlayan bir çalışma gösterilmiştir.



Şekil 3.5 Ni-Ti metalinin kemik kırıklarında (ortopedide) kullanım şekli [27]

Nikel-titanyum alaşımları kardiyolojik uygulamalarda kalp damar tıkanıklıklarının ameliyatsız bir şekilde tedavi edilebilmesini sağlayan stentlerde kullanılır. Stentler, Şekil 3.6'da radyal bir yay şekline sahip stentin tıkanık bir damarda kullanımı gösterilmiştir. Tıkanıklığın bulunduğu bölgeye, martenzitik yapıda büzülmüş şekildeki baloncuk vasıtasıyla yerleştirilir. Baloncuğun çekilmesi ile vücut sıcaklığına ulaşan stent şekil bellek özelliği sayesinde dönüşüm gösterir, yapısı değişir ve genişler. Bu genişleme sayesinde damardaki stentin bulunduğu bölgede damar iç cidarı açılmış olur. Böylece daha önce tıkanık olan kalp damarının ameliyatsız olarak yüksek oranda açılması sağlanmış olur.



Şekil 3.6 Tıkanık olan damarın NiTİ alaşımlı stent ile tedavi edilmesi [27]

3.4 Amalgam

Kalay ve bakır alaşımının cıva ile karıştırılmasıyla amalgam meydana gelir. Gümüş dolgular olarak da tanınırlar. Cıva, metalleri birbirine bağlayarak dayanıklılık olgusu oluşturmaya yardımcı olan bir elementtir. Bu sebeple, genellikle minimum %50 kadarını tek başına cıva elementi oluşturur [28].

Amalgam biyomedikal uygulamalarda diş dolgularında çok fazla kullanılır. Amalgam diş dolguları %50 civarında cıvadan oluşmaktadır. İçerisinde bulunan yüksek oranda cıvanın zararlı olup olmadığı ise hala tartışmalar devam etmektedir [29].

Yukarıda bahsedilen metalik implantlara ait yoğunluk değerleri Tablo 3.1'de verilmiştir [18].

Tablo 3.1 Metalik malzemeler ve yoğunlukları [18]

MALZEME	YOĞUNLUK (gr/cm^3)
Ti ve Alaşımları	4,5
CoCrMo	8,3
CoNiCrMo	9,2
NiTi	6,7

3.5 Magnezyum

18. yüzyılda keşfedilen rengi gümüş byazlığında olan magnezyum 1,74 g/cm^3 gibi oldukça düşük bir yoğunluğa sahiptir ve toprak alkali, demir dışı bir metaldir [30]

3.5.1 Magnezyumun Doğada Bulunuşu

Magnezyum saf halde bulunmaz. Manyezit ($MgCO_3$) (%29 Mg), dolomit ($MgCO_3CaCO_3$) (%13 Mg), bişofit ($MgCl_2.6H_2O$) (%12 Mg), karnalit ($MgCl_2.KCl.6H_2O$) (%9 Mg), serpantin ($3MgO.2SiO_2.2H_2O$) (%26 Mg) ve deniz suyu magneyumun en çok bilinen hammaddeleridir. Magnezyum genel olarak elektroliz ya da dolomitten elde edilerek kullanılır [30].

Magnezyum bileşiklerinin kullanım alanları aşağıda sıralanmıştır:

Magnezyum karbonat: İzolasyon malzemesi, mürekkep, seramik, boya, eczacılık ve kozmetik

Magneyum hidroksit: Eczacılık ve şeker üretimi

Magnezyum klorür: Magnezyum metal üretimi, tekstil, kâğıt, seramik ve çimento [31]

3.5.2 Magnezyumun Özellikleri

Magnezyum (Mg), çok düşük yoğunluğu ile endüstride kullanılan metalik malzemeler arasında en hafif olanıdır. Mg alaşımları, düşük yoğunluk, yüksek özgül mukavemet (mukavemet/yoğunluk), kolay işlenebilme ve geri kazanım, yüksek titreşim ve darbe sönümleme kapasitesi gibi özellikleri ile endüstride fazlasıla kullanılan malzemelerdir [32].

Magnezyumun 1,74 gr/cm^{3}'lük yoğunluğu, alüminyuma göre %33, demir ve çeliğe göre %75 daha düşüktür. Düşük yoğunluğu sayesinde özellikle hafiflik gerektiren uygulamalarda sıklıkla tercih edilirler [33]. Tablo 3.2'de saf magnezyum ile endüstride sıklıkla kullanılan diğer metallerin fiziksel kıyaslanması gösterilmiştir.

Tablo 3.2 Magnezyum ile diğer metallerin fiziksel kıyaslanması [33]

Metal Adı	Mg	Al	Fe
Yoğunluk (gr/cm^3)	1,74	2,74	7,86
Erime Noktası (°C)	650	660	1535
Kaynama Noktası (°C)	1110	2486	2754
Ergime Gizli Isısı (kJ/kg)	368,640	398,108	272,213
Isıl Genleşme Isısı ($x10^{-6}$)	25,5	23,9	11,7
Akma Gerilmesi (N/mm^2)	98	88	265
Uzama (%)	5	45	45
Sertlik (HB)	30	23	67

Magnezyum alaşımsız olarak yetersiz tokluk ve dayanım özelliklerine sahip olduğundan genellikle alaşımlandırılarak kullanılırlar [34].

Magnezyum alaşımları diğer hafif olan alüminyumla kıyaslandığında yüksek özgül dayanım, rijitlik, iyi sönümleme, dökülebilme ve işlenebilme özelliklerine sahiptir. Bunlara rağmen magnezyum düşük korozyon, sürünme ve yorulma dayanımına

sahiptir [35]. Bunlar içerisinde özellikle korozyon direnci bu tez konusundaki en önemli noktalardan bir tanesidir. Tablo 3.3'te magnezyum alaşımlarının genel özellikleri listelenmiştir.

Tablo 3.3 Magnezyum alaşımlarının karakteristik özellikleri [33]

Avantajları	Dezavantajları
Günümüzde kullanılan çoğu metale kıyasla çok daha düşük yoğunluğu	Oda sıcaklığında düşük süneklik ve tokluğu
Yüksek özgül direnci	Geliştirilen alaşımların yetersizliği
İyi dökülebilirlik kabiliyeti ve basınçlı döküme uygunluğu	Yüksek sıcaklık özelliklerinin (ısıl direnç ve sürünme direnci) sınırlılığı
Kolay işlenebilmesi	Kimyasal reaksiyona girme yatkınlığı
Doğada yüksek oranda bulunuşu	Düşük korozyon direnci

3.5.3 Magnezyum Alaşımının Kullanım Alanları

Magnezyum alaşımları Bölüm 3.5.2'de bahsedilen karakteristik özellikleri dolayısıyla endüstride sıklıkla tercih edilirler. Düşük yoğunlukları ve hafiflikleri sayesinde otomıtiv ve havacılık gibi alanlarda kullanılır. Bu alanlarda magnezyum kullanımı ile, ağırlık kazancının yanı sıra yakıttan da tasarruf edilmiş olur. Düşük ağırlık ve ufak boyutlar, taşınabilir elektronik ve haberleşme cihazlarında istenilen özelliklerdir. Bilgisayarlar, cep telefonları gibi tüm elde taşınabilir elektronik cihazlarda magnezyum alaşımları kullanılmaktadır [30].

Yukarıdaki avantajlarına rağmen magnezyum, özellikle Cl^- bulunan ortamlarda korozyona direnç gösteremedikleri için bazı kullanımları kısıtlıdır [30].

3.5.4 Magnezyumun Alaşımlandırılması

Magnezyumun saf halde kullanımı özellikle mühendislik uygulamalarda oldukça sınırlıdır. Kullanım alanını genişletmek ve kullanımlarını elverişli hale getirmek amacıyla magnezyum metali alüminyum, zirkonyum, çinko vb. gibi elementlerle alaşımlandırılırlar. Bu elementler kullanılarak magnezyum alaşımlarının mekanik özellikleri çökelme sertleşmesi ve/veya katı eriyik sertleşmesi ile geliştirilebilir [30].

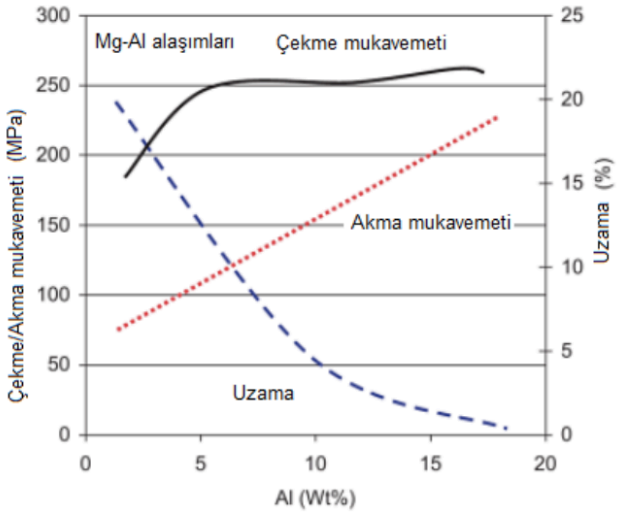
Magnezyum alaşımlarını isimlendiriken genellikle ASTM'nin (American Society for Testing and Materials) belirlediği sistem tercih edilir. Bu sistem üç kademeden oluşur. İlk kademede iki ana alaşım elementinin kodları vardır. İkinci kademe en çok kullanılan bu elementlerin yuvarlatılmış yüzdelerini ifade eder. Son kademe ise aynı ana kimyasal yapıya sahip alaşımların ayırt edilmesinde kullanılır. Tablo 3.4'te alaşım elementlerinin isimlendirmede kullanılan kodları verilmiştir [30].

Tablo 3.4 Magnezyum alaşımlandırmada kullanılan elementlerin isimlendirmede kullanılan kodları [30]

Harf	Alaşım Elementi
A	Alüminyum
C	Bakır
E	Nadir toprak elementi
H	Toryum
K	Zirkonyum
L	Lityum
M	Manganez
Q	Gümüş
S	Silisyum
W	İtriyum
Z	Çinko

Şimdi bazı alaşım elementlerinin alaşım özelliklerine etkisi detaylıca incelenecektir.

Alüminyum (Al): Magnezyum metaline arzu edilen özellikleri verebilmek amacıyla en çok kullanılan element alüminyumdur. Mukavemet ve sertliği artırır ve dökülebilirliği sağlar. Bununla beraber miktarı arttıkça alaşım gevrekleşebilir. Dayanımı artırmak amacıyla ilave edilen alüminyum sebebiyle alaşım gevrekleşir. Bu sebeple sevrekiğin istenmediği uygulamalarda alüminyum miktarının artırılması uygun değildir. Alüminyumun magnezyum alaşımlarının mekanik özelliklerine Şekil 3.7'deki gibi etki eder [32].



Şekil 3.7 Alüminyumun magnezyum alaşımlarının mekanik özelliklerine etkisi [30]

Çinko (Zn): Magnezyum alaşımlandırmada en sık kullanılan metaller arasında çinko vardır. Magneyzuma çinko katkı oranı, alüminyumla benzerdir. Alüminyum ile birlikte dayanım artırmak amacıyla ilave edilir. Bununla birlikte çinko, demir nikel gibi emprüritelerin zararlı etkilerini de yok eder [30].

Manganez (Mn): Manganez ilavesi, alaşımın akma dayanımı ciddi oranda artırır [30].

Yukarıda bahsedilen elementler ve diğer alaşım elementlerinin etkisi ise Tablo 3.5'te kısaca belirtilmiştir.

Tablo 3.5 Magnezyuma ilave edilen bazı alaşım elementlerinin alaşıma kattığı bazı özellikler [35]

Alaşım Elementi	Ergitme ve Döküm Özellikleri	Mekanik ve Teknolojik Özellikler	Korozyon Özelliklerine Etkisi
Ag	-	Yüksek sıcaklıkta çekme ve sürünme dayanımlarını iyileştirir.	Zararlıdır.
Al	Dökülebilirliği iyileştirir.	Katı ergiyik sertleştiricidir.	Az etkilidir.
Ca	Etkili tane incelticidir ve ergimiş metalin oksidasyonunu önler.	Sürünme özelliklerini iyileştirir.	Zararlıdır.
Fe	Magnezyum çelik kalıplarla çok yavaş reaksiyona girer.	-	Zararlıdır.
Si	Dökülebilirliği arttırır.	Sürünme özelliklerini iyileştirir.	Zararlıdır.
Th	Mikroporoziteyi bastırır.	Yüksek sıcaklıkta çekme ve sürünme dayanımlarını iyileştirir.	-
Zn	Ergimiş metalin akışkanlığını arttırır.	Çökelme sertleşmesi ortam sıcaklığında dayanımı arttırır.	Az etkilidir.
Zr	Etkili tane incelticidir.	Ortam sıcaklığında çekme iyileştiricidir.	Az etkilidir.
Toprak alkali metal	Dökülebilirliği iyileştirir.	Yüksek sıcaklıklarda çökelme sertleşmesini iyileştirir.	İyileştirir.

Tablo 3.6'da ise birçok alaşım elementinin magnezyumla alaşımlandırıldıklarında mekanik özelliklere yaptıkları etki verilmiştir.

Tablo 3.6 Alaşım elementlerinin magnezyuma etkileri [36]

Nitelikler	Al	Zn	Mn	Cu	Zr	Cd	Ce
Çekme dayanımı	++	+	+		++	+	
Elastikiyet sınırı	+	++			+	++	
Sertlik	+			+	+		
Süneklik	-	+		+		+	
İletkenlik				++			
Talaşlı işlenebilirlik	+	+	+				
Döküme uygunluk	+	-	-				
Korozyona mukavemet	++	+	++	+			
Ateşe dayanım	-	-			+	-	++
++: Önerilir			+ : İyi		-: Ortanın altında		

3.5.5 Magnezyum Alaşımlarının Sınıflandırılması

Genelde magnezyum alaşımları döküm ve dövme olmak üzere ikiye ayrılabilir. Magnezyum döküm alaşımları kum ve kalıba döküm alaşımları olarak, dövme alaşımlar ise şerit, plaka ekstrüzyonlar ve dövmeler olarak alt bölümlere ayrılabilir [35].

3.5.5.1 Döküm Magnezyum Alaşımları

Magnezyum özellikle korozyon dirençlerini ve dayanımlarını geliştirmek amacıyla Al, Zn, Zr ve nadir toprak elementleri ile döküm yöntemiyle üretilir.

Mg-Al Döküm Alaşımları: Alüminyum, magnezyum ile mukavemeti ve bozunma direncini geliştirmek için alaşımlandırılır. Mg-Al faz diyagramından anlaşıldığı gibi (Şekil 3.7) çözünebilirlik sıcaklıkla artışı ile düşer. Bu durumda alaşım istenilen gibi olmaz ve kaba taneli bir yapı oluşur. AM60 magnezyum alaşımı buna bir örnektir [35].

Mg-Al-Zn Döküm Alaşımları: Mg-Al-Zn alaşımları, magnezyum alaşımları için, hafiflik, dayanım ve kısmen iyi korozyon direnci kombinasyonlarından ötürü oldukça önemli alaşım grubudurlar [35].

Mg-Zn-Zr Döküm Alaşımları: Bu alaşım gruplarının (ZK51, ZK61) kullanımı kısıtlıdır [35].

Mg-Zn-Nadir Toprak-Zr Döküm Alaşımları: Bu alaşımların (EZ33, ZE43) kısmen iyi dökülebilirlik özellikleri vardır. Nadir toprak elementlerinin ilavesi ile mikro seviyedeki boşluklar azalır ve dökülebilirlik de bu oranda iyileşir [35].

3.5.5.2 Dövme Magnezyum Alaşımları

Dövme magnezyum alaşımları haddelenmiş levha, folyo, ektrüzyon çubuk, boru ve şekilli parçalar ve yapısal uygulamalar için üretilirler. Bu alaşımlar düşük fiyatlı, yüksek mukavemetli ve sünekliktedirler. Dolayısıla bu özellikleri onların kullanım alanını genişletir [35].

3.5.6 Biyomalzeme Olarak Magnezyum

Kemik cerrahisinde yıllardır biyolojik olarak kendiliğinden bozunabilen implantlar kullanılmaktadır. Bozunabilir metal biyomalzemeleri gelecekteki ortopedik uygulamalarda potansiyeli yüksek malzemelerdendir. Bu amaçla magnezyum alaşımları biyobozunue implantlar için oldukça iyi bir alternatiftir [37].

3.5.6.1 İmplant Malzemesi Olarak Magnezyumun Sağladığı Avantajlar

Kalıcı metalik implantlar, doku iyileştikten sonra ikinci bir cerrahi işlem ile vücuttan alınmalıdır. Tekrarlanan operasyonlar, hastanın sağlığını ve yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemekte ve gün geçtikçe istenmeyen bir durum haline gelmektedir. Biyobozunur magnezyum implantlar ise kemiğin iyileşmesi için gerekli süre tamamlandığında kendiliğinden bozunabilir ve vücuttan tekrar bir operasyon ile çıkarılmasına ihtiyaç duyulmaz [38].

In-vivo çalışmaları göstermiştir ki, magnezyum alaşımları biyobozunur implant malzemesi olarak kullanım için oldukça uygundur. Özellikle biyouygulamalar için mekanik özellikleri diğer bilinen metalik biyomalzemelerden çok daha iyi olduğundan oldukça önemli bir malzeme haline gelmiştir.

Elastisite modülü, yoğunluğu, çekme dayanımı vb. gibi mekanik özellikler kemiğe oldukça yakın değerlerdedir (Tablo 3.7). Bu sayede kemik iyileşmesi esnasında oluşan yük implant ve kemik arasında paylaşılmaktadır. Böylece kobalt krom, titanyum gibi elastisite modülü kemiğin yaklaşık 10 katı olan diğer metalik implanlarda olduğu gibi gerinme yoğunlaşması adı verilen problem oluşmaz. Bu sayede kemik büyümesi esnasında oluşan yük yalnızca implant tarafından taşınmaz ve böylece kemik dokusu doğru şekilde modellenebilir [39]. Ayrıca, magnezyumun biyomalzeme olarak kullanımın en önemli noktalarından biri de kemik dokusunda bulunan hidroksiapatit kristallerinde kalsiyumun yerine geçebilmesi ile kemiğin büyümesine yardımcı olabilmesidir [37].

Tablo 3.7 Yaygın kullanılan implant malzemelerinin ve kemik dokusunun mekanik özellikleri [39]

Malzeme	Yoğunluk (g/cm^3)	Young modülü (GPa)	Çekme dayanımı (MPa)	Kopma uzaması (%)
Cerrahi çelik (X2CrNiMo18164)	8,0	193	585	55
Titanyum (Ti6Al4V)	4,43	100-110	930-1140	8-15
Kemik dokusu	1,7-2,0	3-30	80-150	3-4
DL-PLA (DL-Poli laktik asit)	1,24	1,9	29	5,0
Magnezyum AZ91	1,81	45	240	3
Magnezyum MgCa (0,8 wt. % Ca)	1,75	n/a	290-300	2-6

Yukarıda sıralanan bu durumlar neden magnezyumun implant malzemesi olarak seçilebileceğinin açıkça göstergeleridir. Ancak elbette hiçbir malzeme mükemmel değildir. Magnezyumun da implant malzemesi olarak kullanımı sınırlayan bazı durumlar vardır.

3.5.6.2 İmplant Malzemesi Olarak Magnezyumun Dezavantajları

Magnezyum ve magnezyum alaşımları sahip oldukları eşsiz özelliklerinin yanı sıra implant malzemesi olarak kullanımlarında bazı problemlere karşılaşılmaktadır. Elektrokimyasal standart potansiyeli E_o = -2.375 V olan magnezyum kullanımını sınırlayan düşük korozyon direncine sahiptir ve magnezyum in vitro ortamında pH (7,4-7,6) seviyesinde ve fizyolojik ortamın yüksek klorür içeren ortamında

kemik dokusu iyileşemeden bozunuma uğrar. Bu sırada da istenmeyen hidrojen gazının ortaya çıkmasına sebep olur [37].

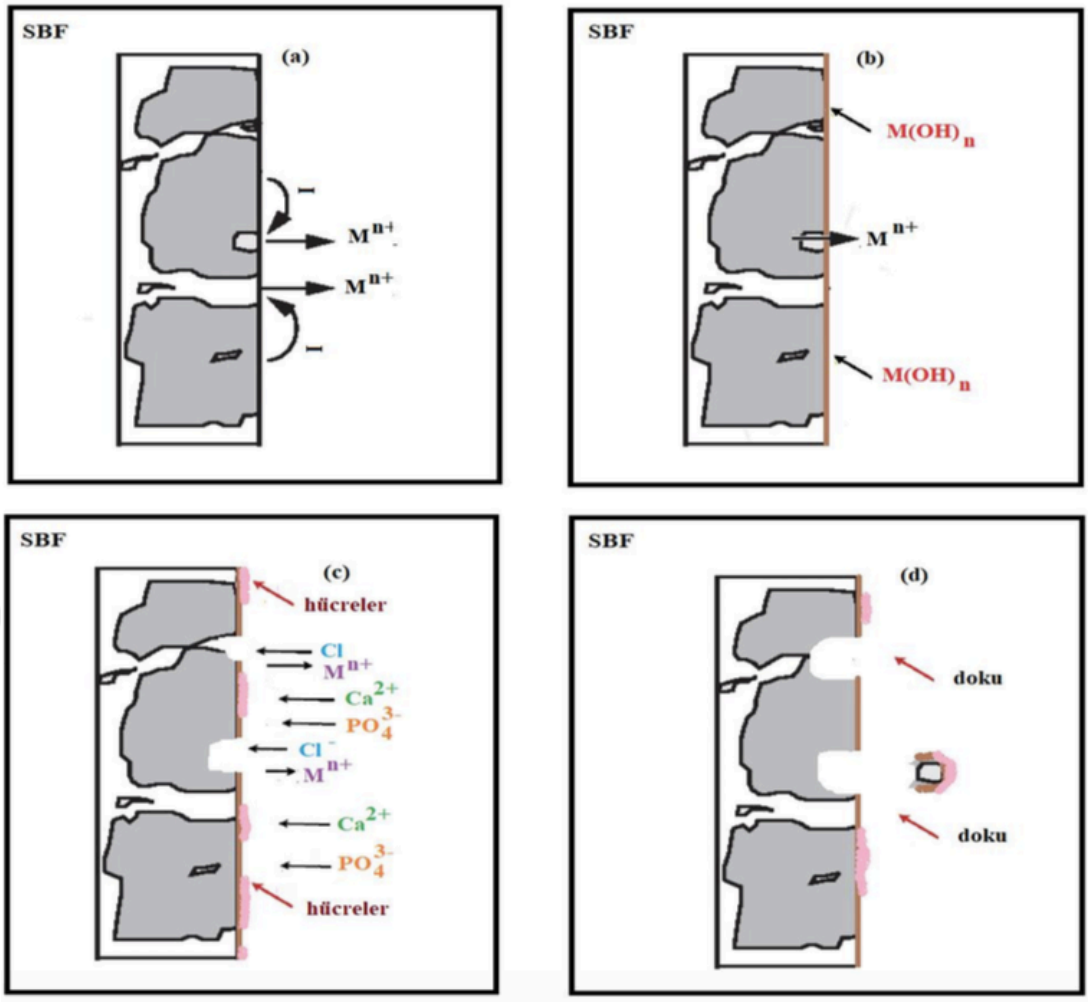
3.5.7 Magnezyumun ve Magnezyum Alaşımlarının Korozyon Davranışı

Magnezyum biyobozunurluk, hafifilik, kolay dökülebilirlik vb. iyi özellikleri sayesinde günümüzde ve gelecekte umut vaat eden malzemelerdendir. Buna karşın düşük korozyon direnci magnmezyumun kullanımını sınırldırmaktadır. Özellikle de vücut içi gibi yüksek klorür iyonu bulunan ortamlarda bu durum daha fazla sorun haline gelir [38].

Magnezyum ve alaşımlarının korozyona dayanıksız olmalarının temelde iki sebebi bulunmaktadır. Bunlardan birincisi emprütelerin (kalıntıların) ya da ikincil fazların yapıda mikro galvanik hücre oluşturmalarıdır. Diğeri ise alüminyum ya da paslanmaz çelik gibi metallerde oluşan koruyucu pasif tabakanın aksine magnezyumda oluşan kararsız yarı pasif magnezyum hidroksit tabakadır [38].

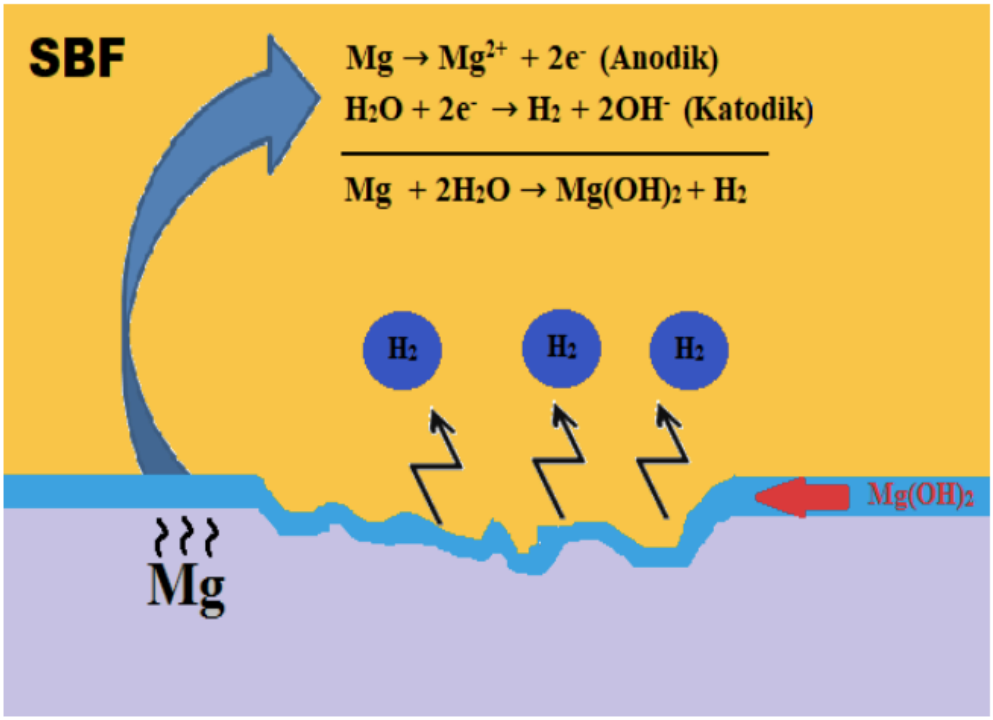
Bu problem nedeniyle, magnezyumun çok iyi biyobozunur özellikte implant olabilmesine rağmen, maalesef kullanımı kısıtlanmaktadır. Günümüzde bozunma hızını düşürmek amacıyla elementleri veya bozunmasına engel olabilecek koruyucu özellikteki kaplamaların geliştirilmesi, bitobozunur implant kullanımı artırmaya yönelik çaışmalardandır [37].

İnsan vücudundaki akışkanlar; su, çözünmüş oksijen, protein, klorür ve hidroksit gibi çeşitli iyonlar içermektedir. Bu nedenle; insan vücudu, biyomalzeme olarak kullanılan metaller için oldukça korozif bir ortamdır [40]. Özellikle klorür, çeşitli reaksiyonlar sonucu magnezyumun yüzeyinde oluşan yarı pasif kararsız tabakayı bozar ve burada bölgesel bozunmaya neden olur [38]. Dolayısıyla bu ortamda biyobozunur metaller ve dolayısıyla magnezyum alaşımı da korozyona karşı istenen oranda dayanıklı olamamaktadır (Şekil 3.8) [40].



Şekil 3.8 Biyobozunur metallerin biyokorozyon diyagramı [40]

Daha önce bahsedildiği üzere; magnezyumun korozyon direncinin düşük olmasının bazı sebepleri vardır. Oda koşulları, hava vb. gibi ortamlarda magnezyumun yüzeyinde gri bir oksit film oluşur. Bu oksit yapı özellikle asidik ya da nötr koşullarda, sulu ya da sıvı vb. gibi ortamlarda nem ile karşılaştığında kararsız magnezyum hidroksit tabakasını dönüşür. Bu dönüşüm sonucu Mg^{+2}'ye dönüşür ve bu dönüşümle beraber istenmeyen hidrojen gazı açığa çıkar. Sonuçta, magnezyum hidroksit film tabakası $Mg(OH)_2$ bir koruma sağlayamaz [30], [38].



Şekil 3.9 Magnezyum ve alaşımlarının yapay vücut sıvısı içerisinde çözünmesi [40]

Biyobozunur metaller vücut içerisinde; proteinlerin, amino asitlerin, çeşitli tuzların, lipitlerin ve diğer organik bileşiklerin etkilerine maruz kalmaktadır. Şekil 3.8(a)'da görüldüğü üzere metaller vücut sıvısına maruz kaldıklarında anodik reaksiyonun etkisiyle yükseltgenir (Eşitlik 3.2) [40].

Genel korozyon reaksiyonu:

$$Mg + 2H_2O \rightarrow Mg(OH)_2 \tag{3.1}$$

Anot ve katot reaksiyonları:

$$Mg \rightarrow Mg^{+2} + 2e^- \ (anodik\ reaksiyon) \tag{3.2}$$

Anodik reaksiyonda ortaya çıkan bu elektronlar suyun indirgenmesine karşılık gelen katodik bir reaksiyon ile tüketilir [40].

$$2H_2O + 2e^- \rightarrow H_{2(g)} + 2OH^- \ (katodik\ reaksiyon) \tag{3.3}$$

Biyobozunur metallerde çözünmüş oksijen indirgenir [40].

$$2H_2O + O_2 + 4e^- \rightarrow 4OH^- \ (katodik\ reaksiyon) \tag{3.4}$$

$$Mg^{+2} + 2(OH)^- \rightarrow Mg(OH)_2 \ (\text{ürün}) \tag{3.5}$$

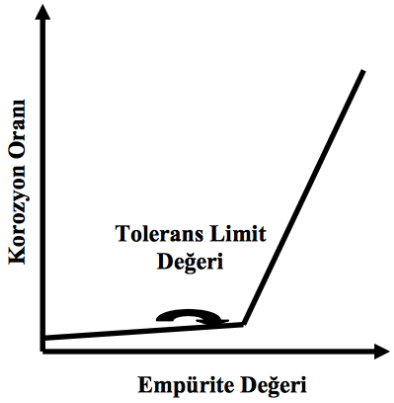
Karşılıklı yürüyen anodik ve katodik reaksiyonların hızı magnezyum metalinin bozunma hızını doğrudan belirler. Sonuç olarak Şekil 3.8(b)'de görüldlüğü gibi $Mg(OH)_n$ korozyon ürünü tabakası metal yüzeyinde oluşur (Eşitlik 3.1, Eşitlik 3.5). Esasında bu tabaka alkali ortamlarda kararlıdır. Ancak vücut içindeki iyonlar (Cl^- gibi) ortamın fazlaca agresif hale gelmesine neden olur, bölgede klor iyonları birikir ve en sonunda magnezyum hidroksit tabakası parçalanarak magnezyumun bozunmasına neden olur (Şekil 3.8(c)) [38], [40]. Eşitlik 3.6'da ise korozyon reaksiyonları sonucu hidrojen gazının açığa çıktığı gösterilmiştir [38].

Asidik ortamlarda;

$$Mg + 2H^+ \rightarrow Mg^{+2} + H_2 \quad (3.6)$$

3.5.7.1 Magnezyumun Korozyonuna Emprütelerin Etkisi

Yapılan çalışmalarda magnezyumun bozunmasına etkili olan etkenlerden birinin de magnezyum metalinin saflığı olduğu görülmüştür. Fe, Ni, Co ve Cu elementleri %0,2 ve daha düşük derişimlerde bozunmaya etkili olabilirlerken, Ag, Ca ve Zn elementleri %0,5-5 deişimde etkili olmaktadırlar. Al, Sn, Cd, Mn, Si ve Na gibi elementler ise %5 konsantrasyona kadar herhangi bir etkiye sahip değillerdir. Mn, Zn gibi elementler ise belirli kritik derişim değerleri altında tutularak korozyon direncini artırmaktadır [38].



Şekil 3.10 Herbir element için tolerans sınırı [38]

Alaşım element ilavesine ek olarak magnezyumun biyobozunur ve biyouyumlu polimerler ile kaplanması da korozyon sürecini uzatmak için son zamanlarda sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Wong ve arkadaşlar [2] AZ91 alaşımını

biyobozunur PCL ile kaplayarak vücut içerisinde bozunma sürecini uzatmışlardır. Yine Wang ve arkadaşları da [3] PCL polimerini kullanarak alaşımın bozunma sürecini yüksek oranda uzatmayı başarmışlardır.

İmplant malzemesi olarak magnezyum en çok Al, Zn, Ca, nadir toprak elementi ilave edilmiş alaşımlar ile kullanılmaktadır. Elbette alaşım elementi katkısı etkisi inceleyebilmek amacıyla da bu ilavelerin konsantrasyonları değiştirilerek de implant malzemesi elde edilebilmektedir. Bunlardan bazıları AZ91, AZ63, AZ31, AM60 gibi alaşımlardır. Bazen ise yalnızca tek alaşım elementi ilave edilerek özel alaşımlardan da implant malzemesi tasarlama çalışmaları yapılmaktır.

Bu tez çalışmasında ilave edilen alaşım elementinin magnezyum implantın korozyon hızına ve antibakteriyel ve antifungal karakteristiğine yaptığı etkiyi belirleyebilmek amacıyla özel bir alaşım kullanılması planlanmıştır. Bu amaçla yalnızca Zn katkılı bir magnezyum implant kullanılacaktır.

3.5.8 Mg-Zn Alaşımı ve İmplant Malzemesi Olarak Kullanımı

Magnezyuma çinko ilavesi genellikle dayanım artırmak amacıyla yapılırken bu tez çalışmasındaki amacı farklıdır. Çinko magnezyum alaşımlarında bulunabilen demir ve nikel gibi empüritelerin korozyona sebep olmalarını engeller [30].

Bu tez çalışmasında Zn'nun alaşım elementi olarak seçilmesinin ilk önemli sebebi antibakteriyel etki göstermesidir. Nandakumar ve arkadaşlarının da [12] tespit ettiği gibi Zn'nun antibakteriyel etki göstermesi beklenmektedir. Ayrıca çinko yine vücut için faydalı ve gerekli olan bir element de olduğu için bozunma sırasında açığa çıkan çinko iyonları yalnızca antibakteriyel etki sağlamakla kalmayacak, vücut için gerekl, çinko için de iyi bir kaynak olmuş olacaktır.

Çinkonun alaşım elementi olarak tercih edilmesinin bir diğer sebebi ise magnezyum alaşımlı implantın korozyon hızını düşürmesidir. Çinkonun eklenmesiyle alaşımın klorürlü ortamlarda korozyon direnci geliştirilir [30].

Çinkonun kullanımının diğer bir sebebi ise hidrojen gazı oluşumunu önemli derecede azaltmasıdır. Eşitlik (3.6)'da da görüldüğü üzere magnezyum metalinin korozyon reaksiyonları sonucu hidrojen gazı çıkışı gerçekleşir. Eğer ortopedik

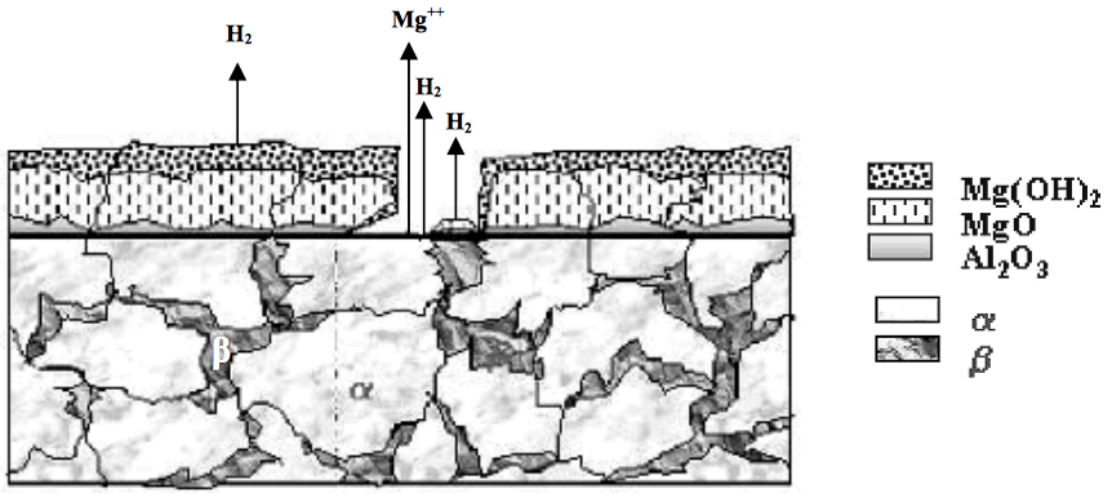
uygulamalarda kullanırsa bu hidrojen gazının küçük bir miktarı bile vücuda zarar verir. Zn ilavesi sayesinde zararlı H_2 gazı büyük ölçüde azaltılmış olur [41].

Magnezyum-çinko alaşımında kullanılan çinko aşağıdaki reaksiyonlara sebep olur:

$$Zn_{(s)} + 2H_2O \rightarrow Mg(OH)_2 + H_{2(g)} \quad (3.7)$$

$$Zn_{(s)} \rightarrow Zn^{+2} + 2e^- \quad (3.8)$$

Şekil 3.11' de AZ91 alaşımının korozyona uğramış görüntüsü vardır. Saf magnezyumlarda homojen olmayan transgranular bir korozyon gerçekleşmesine rağmen çinko ilae edilmiş bu alaşımda homojen bir yapı gözlenmiştir [38].



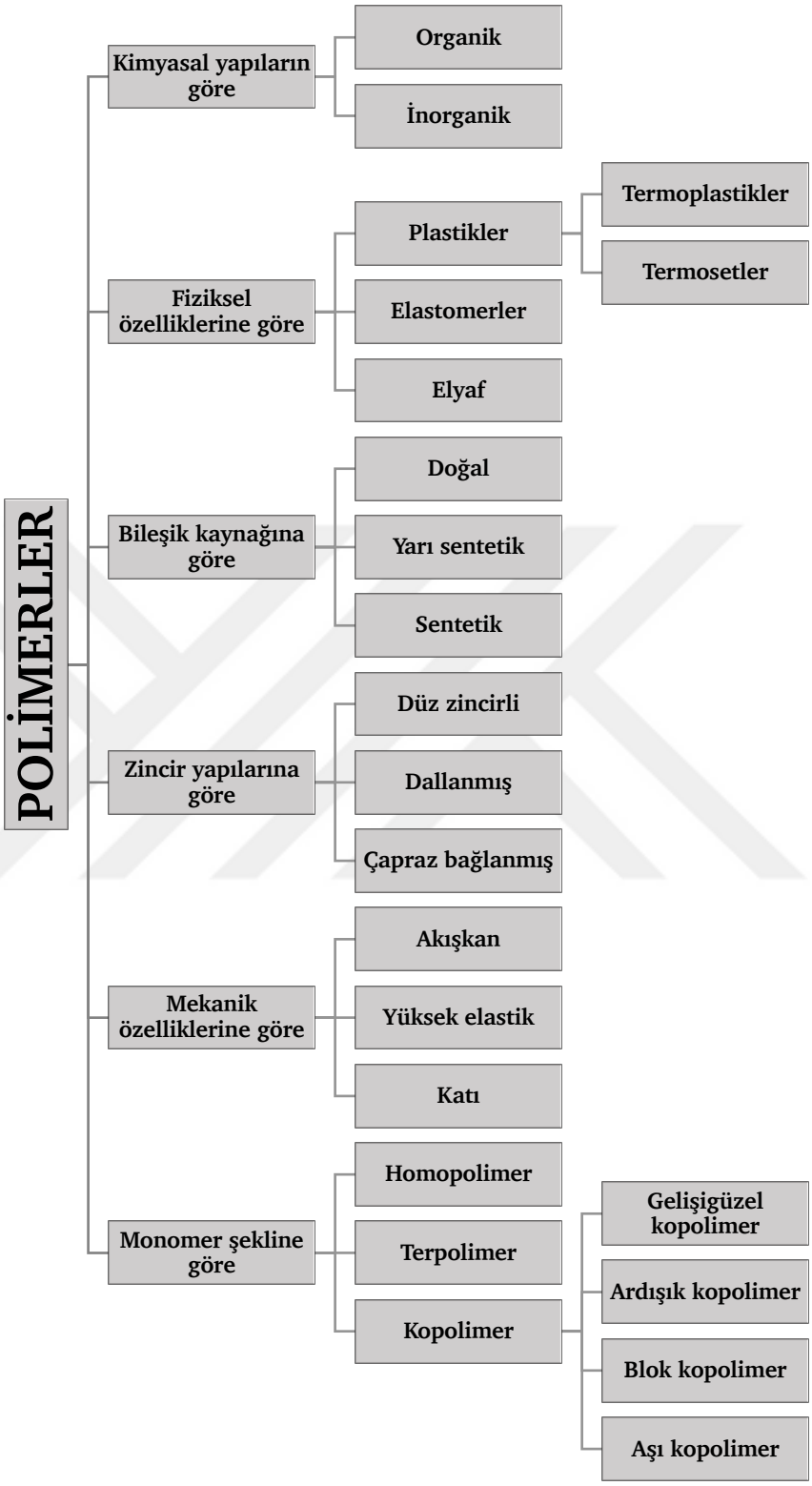
Şekil 3.11 AZ91 magnezyum alaşım yüzeyinde oluşan arayüzeyleri [38]

Bölüm 4'te bu tez konusunun deneysel çalışmalarında kullanılacak bir diğer malzeme olan polimerlerden bahsedilecektir.

4
POLİMERLER

Polimerler, en basit tanımı ile çok sayıda aynı veya farklı atomların kimyasal bağlarla, az ya da çok düzenli bir biçimde bağlanarak oluşturduğu uzun zincirler ya da başka bir ifadeyle yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir [42]. Yunancada gelen poli çok, mer fazla anlamına gelen ikili kelimenin birleştirilmesiyle oluşan polimerler, basit kimyasalyapıdaki monomerlerin birleşmesiyle oluşurlar [43].

Polimer büyük moleküllü oldukları için katı ve genellikle serttir. Polimerler genellikle kolayca katlananabilir ve esneyebilirler. Küçük moleküllü bileşikler genellikle çözücülerde kolay çözünür, polimerler ise uzun molekülller oldukları için hem zor çözünür hem de çözünme şekilleri küçük moleküllü bileşiklerden tamamen farklıdır. Küçük moleküllü bileşiklerin çözeltileri kolay kristallenebilir ve belirli bir kristallenme sıcaklıkları vardır. Uzun ve büyük moleküllü polimerler için ise kristalleşme olayı oldukça zor ve geniş bir sıcaklık aralığında olur. Polimerin kristalleşme derecesi kimyasal yapısı ve zincir uzunluğuna bağlıdır.



Şekil 4.1 Polimerlerin sınıflandırılması [44]

Şekil 4.1'de gösterildiği gibi polimerler çok farklı şekilde sınıflandırılmaktadırlar. Kaynaklarına göre sentetik, yarı sentetik ve doğal biyopolimerler ayrım yapılır ve en. çok bilinenlerden biri de bu şekilde sınıflandırmadır. Bir diğeri ise fiziksel özelliklerine göre ayrımdır [43].

4.1 Biyopolimerler

Polimerler günlük yaşantımızda, mühendislik endüstrisinde, kimya ve malzeme alanında vb. birçok alanda önemli rol üstlenmiştir. Fakat, sentetik polimerlerin yaygın kullanımı insan sağlığı ve çevre açısından ciddi tehlike oluşturur. Örneğin çoğu plastik malzeme, biyolojik olarak bozunamaz, doğada çok uzun süre kalır ve yenilenebilme özelliği yoktur. Bunun yanında bazı polimerlerin sentezi sırasında da zararlı bileşik kullanımı ve dolayısıyla da tehlikeli son ürün oluşumu zorunlu hale gelir. Bu sorunlar, biyolojik ve toksik olmayan polimer üretimini gündeme getirmiştir [45].

Biyopolimer terimi vücut içi kullanıma uygun polimer anlamına gelir. Biyopolimerlerin çok sayıda kullanım alanı vardır. oldukça yaygın kullanım alanlarına sahiptir. Özellikle mühendislik bilimleri, tıp, gıda gibi alanlarda biyopolimerler vazgeçilmez malzemelerdendir [46].

4.2 Biyopolimerlerin Sınıflandırılması

Biyopolimerler birkaç şekilde sınıflandırılabilirler. İlk olarak doğal ve sentetik olarak sınıflandırılmaları incelenektir.

4.2.1 Doğal Biyopolimerler

Yenilenebilir kaynaklardan, doğal olarak meydana gelen polimerler doğal biyopolimer olarak adlandırılırlar. Doğal polimerler farklı şekilde sınıflandırılabilirler. Tablo 4.1'de bazı doğal polimerlerin listesini içermektedir. Bu listedeki doğal polimerler kendilerine özgü çeşitli özelliklere sahiptirler [47].

Tablo 4.1 Doğal polimerler [47]

Polisakkaritler • Bitkisel: Nişasta, selüloz, pektin, konjak, aljinat, karragenan, gumlar • Hayvansal: Hyluronik asit • Fungal: Pullulan, elsinan, sikleroglukan • Bakteriyal: Kitin, kitosan, levan, ksantan, poligalaktozamin, kürdlan, jellan, dekstran
Proteinler Soya, zein, buğday gluteni, kazein, serum, albumin, kollajen/jelatin, deri, resilin, polilisin, poliamino asitler, elastin
Lipidler/sürfaktanlar Asetogliseridler, vakslar, sürfektanlar, emülsan
Özel polimerler Lignin, şellak, doğal kauçuk

Doğal polimerlerin büyük çoğunluğu suda çözündüğünden, birçok doğal polimer çözeltisi üretiminde ya da hazırlanmasında solvent, dispersiyon aracı ve plastikleştirici olarak su kullanılabilmektedir. Proteinler ve polisakkaritler doğal polimerlerin temel bileşenleridir [47].

Doğal kaynaklı biyopolimerler özellikleri (Kollajen, jelatin, kitosan, hiyalüronat, vb.);

- Biyouyum özellikleri çok yüksektir,
- Mekanik özellikleri yetersizdir,
- Hücre ile etkileşimleri yüksektir,
- Biyobozunma özelliğine sahiptirler. Doğada bol miktarda bulunmalarının yanında, kompleks yapıları sebebiyle modifikasyonları ve saflaştırılmaları oldukça zordur [48].

4.2.2 Sentetik Biyopolimerler

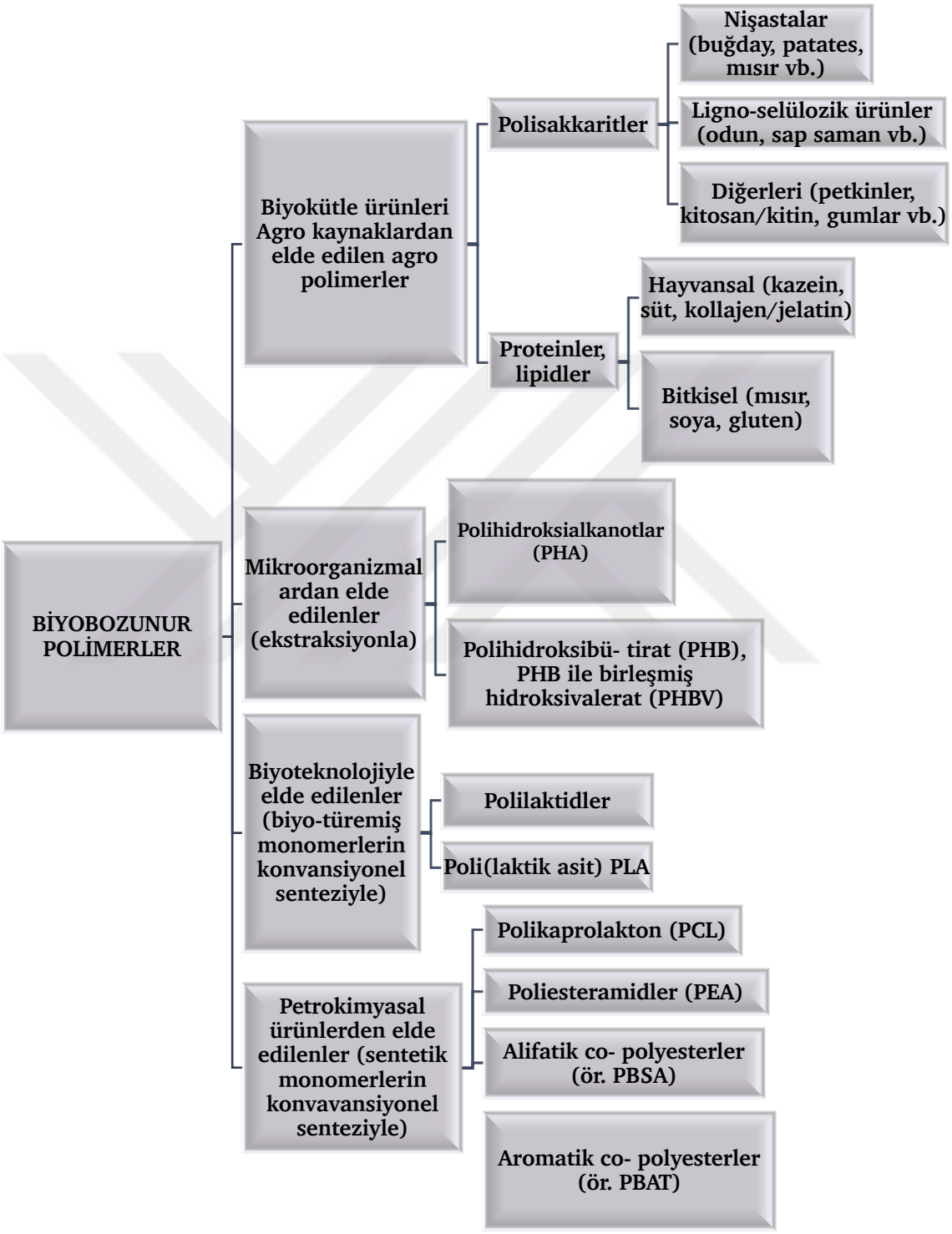
Sentetik polimerler kimyasal yolla sentezlenirler. Bu sentezde temel amaç özel doku uygulamalarına polimerin uyumlu olmasını sağlamaktır. Şekil, porozite, mekanik özellikler vb. geliştirilen özelliklerdendir. Bunun yanı sıra kimyasal sentez ile polimerin safsızlığı da kontrol altına alınabilir. [49].

Sentetik kaynaklı polimerlerin genel özellikleri (PLA, PGA, PLGA, PVA, PMMA, vb.);

- Biyouyum karakterleri değişir.
- Sıcaklığa ve neme karşı duyarlılıkları söz konusuddur.
- Yüksek sayıda üretilebilirler.

Polimerler doğal ve sentetik olarak incelenebildiği gibi aynı zamanda sentezlerine göre ayrım yapılarak da incelenebilirler.

Biyobozunur biyopolimerler farklı şekilde sentezlenebilir ve çeşitli sınıflandırlamalrı vardır. Biyobozunur polimerlerin sentezlenmelerine göre farklı şekilde sınıflandırılırlar (Şekil 4.2) [47].

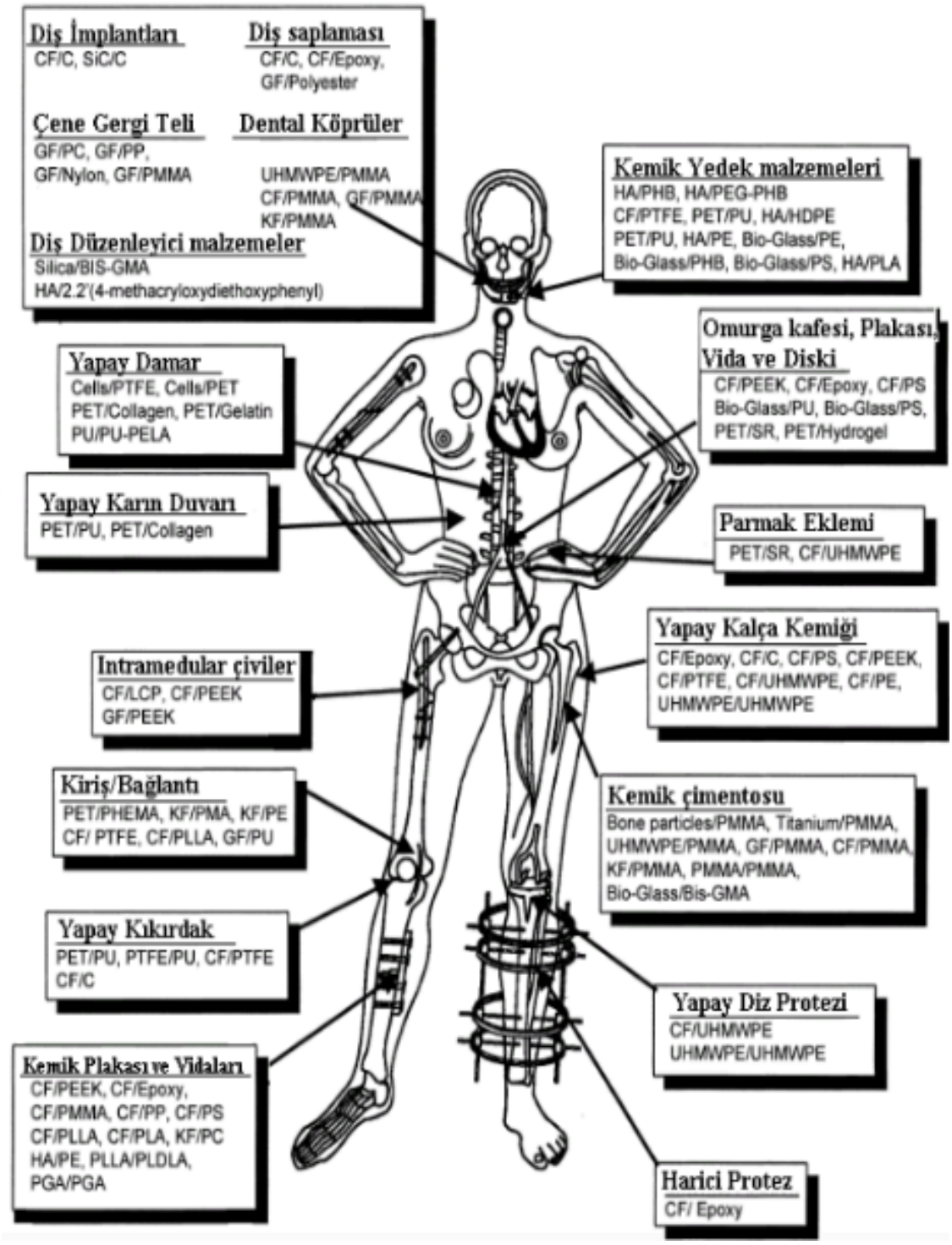


Şekil 4.2 Biyobozunur polimerlerin sentezlerine bağlı olarak sınıflandırılması [47]

1. Tarımsal kaynaklardaki agro polimerler gibi biyokütlelerden elde edilen polimerler, ör. nişasta, selüloz,
2. Mikrobiyal üretimden elde edilen polimerler, ör. polihidroksilalkanotlar,
3. Tarımsal kaynaklardan elde edilen monomer- ler kullanılarak kimyasal olarak sentezlenen polimerler, ör. poli (laktik asit),
4. Hem monomerleri hem de polimerleri fosil kaynakların kimyasal sentezinden elde edilen polimerler [47]

En temel biyopolimerlere örnek olarak polietilen (PE), poliüretan (PU), polimetilmetakrilat (PMMA), politetrafloroetilen (PTFE), polivinilklorür (PVC), polikarbonat (PC) ve polipropilen (PP) verilebilir. Polimerler, çok değişik bileşimlerde ve şekillerde (lif, film, jel, boncuk veya nanopartiküller) hazırlanabilmektedir [50].

Şekil 4.3'te ortopedide biyomalzeme olarak kullanılan bazı polimer çeşitlerinin vücut üzerinde kullanım yerleri gösterilmiş ve Tablo 4.2'te ise bu polimerler tanımlanmıştır [50].



Şekil 4.3 Ortopedide kullanılan polimer kompozitler ve kullanım yerleri [50]

Tablo 4.2 Ortopedide kullanılan polimer kompozit isimleri [50]

CF: Karbon fiberleri	**LDPE**: Düşük yoğunluklu polietilen	**PMA**: Polimetaakrilat
PELA: Laktik asidin blok ko-polimeri	**PLA**: Poli (laktik asit)	**PMMA**: Polimetilmetaakrilat
GF: Cam fiberleri	**PLLA**: Poli (L-laktik-asit)	**MMA**: Metilmetaakrilat
PET: Polietilenterafitalat	**PLDLA**: Poli (L-DL-Laktik asit)	**PE**: Polietilen
HDPE: Yüksek yoğunluklu polietilen	**PA**: Poliaktal	**PEA**: Polietakrilat
PU: Poliüretan	**PBT**: Polibutilenterepyalat	**PEEK**: Polietherekton
KF: Kevlar fiberi	**PC**: Polikarbonat	**PTFE**: Politetrafloritin
PHB: Polihidroksibutrat	**PCL**: Polikaprolakton	**PEG**: Polietilen glikon
LCP: Sıvı kristal polimer	**UHMWPE**: Ultra yüksek moleküler ağırlıklı PE	**PS**: Polisülfon

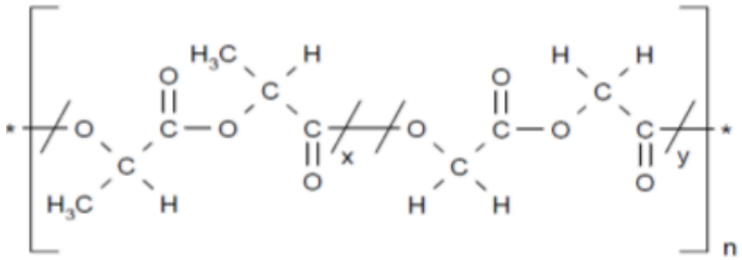
Sık kullanılan biyopolimerler ile ilgili bilgiler aşağı verilmiştir.

4.2.2.1 Poli-laktik-ko-glikolik asit (PLGA)

PLGA uzun yıllardır özellikle ameliyat ipliği malzemelerinde ve ilaç salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılan biyobozunur bir biyopolimerdir. PLGA laktik asit ve glikolik asit monomerlerinin kopolimerizasyonu ile sentezlenmektedir. Laktik asit ve glikolik asit oranlarına bağlı olarak farklı özellikte PLGA'lar elde edilmektedir. Yine sentezlenmesine bağlı olarak camsı geçiş sıcaklıkları 40 °C ile 60 °C arasında değişmektedir. Tetrahidrofuran, aseton, etil asetat ve diklormetan gibi pek çok çözücüde çözünebilmektedir [51].

PLGA'nın hidrolititik yıkımda sentezinde kullanılan laktik ve glikolik asit meydana gelmektedir. Laktik asit, trikarboksilik asit döngüsüne girerek metabolize edilir ve enerji metabolizma döngüsünde CO_2 ve H_2O'ya dönüştürülür ve idrarla atılır [51].

PLGA, biyouyumlu, biyobozunur fakat gevrek bir polimerdir. PLGA, fizyolojik ortamda inert, biyobozunur, biyouyumlu olması ve toksik özellik göstermemesi sebebiyle biyomalzemeler olarak sıklıkla kullanılmaktadır [51].



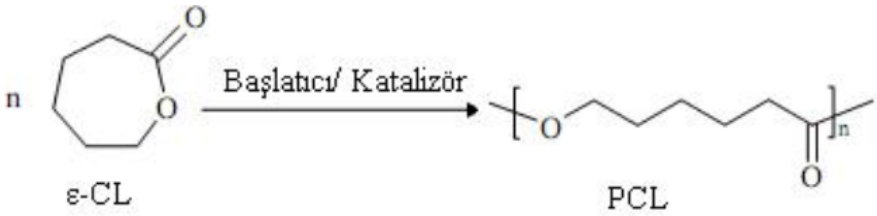
$-[(C_6H_8O_4)_x(C_4H_4O_4)_y]_n-$

Şekil 4.4 PLGA'nın molekül formülü [52]

4.2.2.2 Polikaprolakton (PCL)

Polikaprolaktonun (PCL) biyouyumlu ve biyobozunur bir biyopolimerdir. Medikal uygulamalarda ameliyat ipliklerinde, ,ilaç salım sistemlerinde vb. PCL sıklıkla kullanılır [53].

Polikaprolakton (PCL), monomeri ε- kaprolakton olan, hidrofobik, yarı kristalin yapıda bir homopolimerdir ve camsı geçiş sıcaklığı -60 °C,'dir. PCL oda sıcaklığında kloroform, diklorometan gibi çözücülerde iyi, aseton, etil asetat gibi çözücülerde düşük çözünürlüğe sahipken, alkol, petrol eteri ve dietil eter gibi çözücülerde ise hiç çözünmemektedir [53].



Şekil 4.5 Polikaprolakton molekül yapısı [53]

PCL zinciri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Lineer zincir yapısı monomerdeki oksijen bağının koparak açılması sonucu oluşmaktadır. Geçmişteki çalışmalar PCL'ın toksik olmadığı canlı doku ile etkişelime girmediğini göstermiştir.

Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi'nin (FDA) ilaç kullanımında onay almış sınırlı polimerlerinden olan PCL, ilaç üretiminde ilaç salım sistemlerinde, doku mühendisliğinde doku mühendisliğinde sıklıkla kullanılmaktadır [53].

Bazı diğer sentetik polimerler ise aşağıda kısaca bahsedilmiştir.

Polietilen (PE): Medikal uygulamalarda yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) oldukça fazla kullanılır. Yapay kalça protezlerinde ve plastik cerrahi polietilenin kullanım alanlarındandır. Polietilene alternatif olarak polipropilen de kullanılabilir. PP, PE'e göre daha serttir [50].

Polimetil Metakrilat (PMMA): Polimetil metakrilat hidrofobik bir polimerdir. Oda sıcaklığında camsı halde bulunur. Işık geçirgenliği ve yapısal kararlılığı nedeniyle göziçi lensler ve kontakt lenslerin üretiminde kullanılır. Çeşitli işlemler ile çapraz bağ içeren hidrojel formu elde edilir. Bu form bozunmaya dirençlidir ve vücut tarafından emilmez [50].

Polilaktik Asit (PLA): Polilaktik asit yarı kristalin ya da amorf yapıda olan, rijit termoplastik ve alifatik polimerlerdir. Biyoçözünür yapay tendon parçası olarak kullanıldığı gibi bağ doku, tendon yapıları, vasküler ve ürolojik cerrahi için olan stent uygulamalarında da kullanılır [50].

Şimdi ise bu tez çalışmasında magnezum alaşımını kaplamak amacıyla kullanılacak olan kitosan biyopolimerinden bahsedilecektir.

4.3 Kitosan

Ortopedik ve dental uygulamalardaki en önemli sorunlardan biri implant kaynaklı enfeksiyon oluşumudur. İmplant operasyonu esnasında kullanılan steril aletler, operasyon tekniği seçimi, ameliyat sonrası antibiyotik kullanımı enfeksiyon oluşma riskini azaltan yöntemlerden olmakla beraber bazı durumlarda yetersiz kalmaktadırlar [15].

İmplant malzemelerin yüzeylerinde bakteri kolonizasyonunu biyofilm oluşumunu takip eder. Biyofilm oluşumu da çevre dokularda enfeksiyona sebep olur. İmplant kaynaklı enfeksiyon oluşumunu sorununu tamamen ortadan kaldırmak için bakeri oluşumuna engel olmak gerekir. İmplant yüzeyine bakterilerin yapışmasını engellemek amacıyla antibakteriyel yüzey kaplamaları geliştirilmiştir. Kaplamalar antibakteriyel ajan salımına bağlı olarak aktif ve pasif kaplamalar olarak ikiye ayrılır [15].

Tablo 4.3 İmplant malzemelerine uygulanan enfeksiyon önleyici yüzey kaplamaları [15]

Aktif Kaplamalar	Kullanılan Malzemeler
Antibiyotik içeren kaplamalar	Gentamicin, Cephalothin, Carbenicilin, Amoxicilin, Cefamandol, Tobramycin, Vancomycin
Antibiyotik olmayan organik antimikrobiyal ajan içeren kaplamalar	Kloroheksidin, Kloroksilenol, Poli(hekzametilenbiguanid)
İnorganik antimikrobiyal ajan içeren kaplamalar	Gümüş (Ag), Navaron
Pasif Kaplamalar	**Kullanılan Malzemeler**
Yapışma dirençli kaplamalar	-Fiziksel ve kimyasal yüzey özelliklerinin değiştirilmesi -Yapışma engelleyen polimer kaplamalar
Antibakteriyel biyoaktif polimerlerle işlevselleştirilmiş kaplamalar	Kitosan, Hyaluronik asit

Aktif kaplamalar; bakterisit ajan salımı yaparak implant kaynaklı enfeksiyon oluşumunu engelleyen kaplamalardır. Bu kaplamalar yalnızca ameliyat sonrası kısa dönemdeki enfeksiyonları önleyebilir. Yeterince bakterisit içeren kaplamalar üretememek ve ilaç salım miktarlarının kontrolü en büyük sorunlarındandır [15].

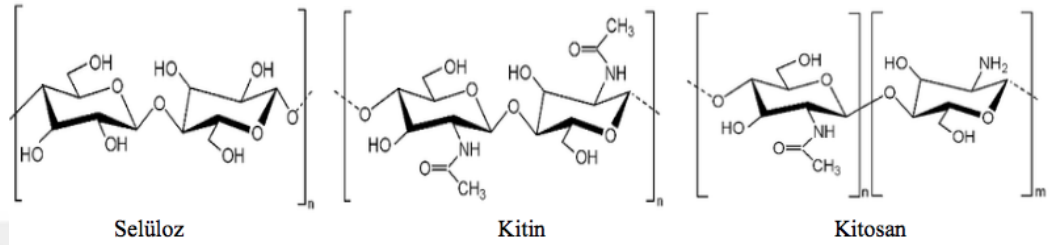
Pasif kaplamalar; çevre dokulara bakterisit ajan göndermeden, bakteri uapışmasını ve temasını önleyerek enfeksiyon oluşumuna engel olurlar. Pasif kaplamalar, vücut içerisinde herhangi istenmeyen yan etkilere sebebiyet vermeden uzun süre antibakteriyel özelliklerini korurlar [15].

Kitosan polimerinin içinde olduğu antibakteriyel biyoaktif polimerlerle işlevselleştirilmiş kaplamalar ise bakteri yapışmasını ve çoğalmasını engellemektedir. Bu polimerler implant yüzeyine antibakteriyel özellik kazandırdığı için biyomedikal uygulamalarda özellikle kaplama malzemesi olarak kullanılırlar [15]. Bu amaçla bu tez çalışmasında kitosan kullanımı planlanmıştır.

Kitin ve kitosan polimerleri eşsiz yapıya sahip, çok boyutlu özelliklere, yüksek gelişmiş fonksiyonlaram ve biyokimyasal-endüstriyel geniş alanlarda kullanıma sahip doğal aminopolisakkaritlerdir [54].

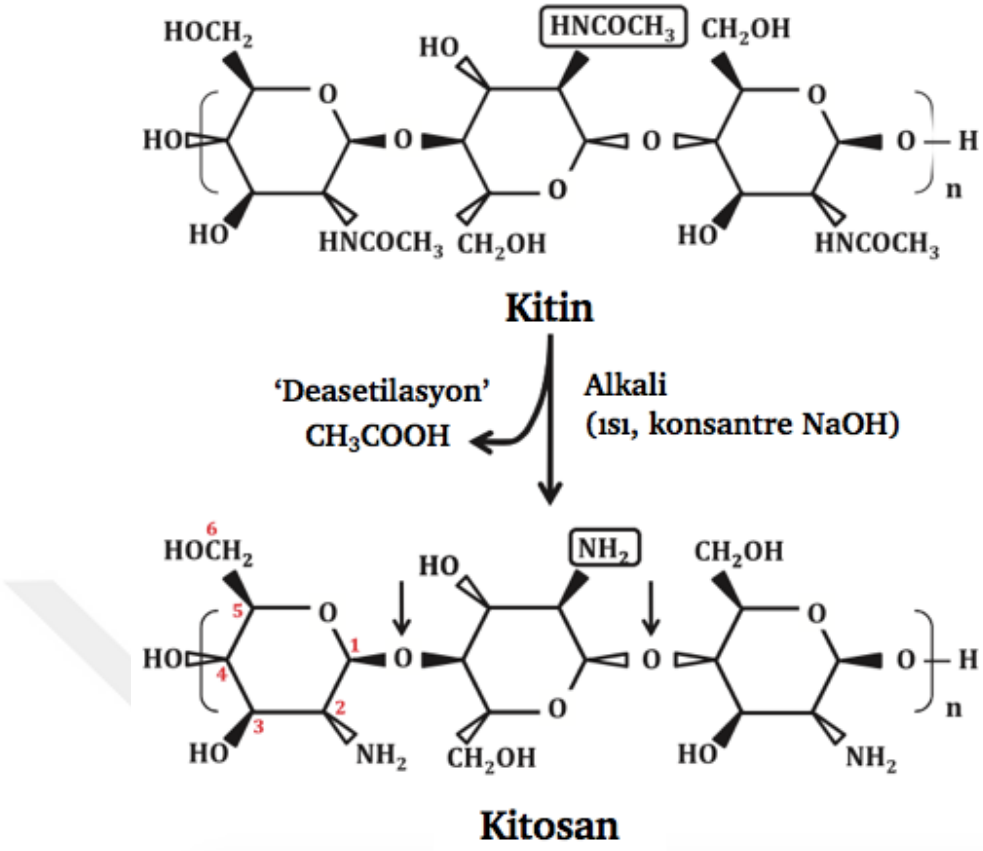
4.3.1 Kitosanın Elde Edilişi

Kitin selülozdan sonra doğada en fazla var olan yenilenebilen biyopolimerdir. Kitin polimeri kabuklular ve böceklerin destek malzemesidir ve kimyasal olarak aminopolisakkarit yapısına sahip, 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucose monomerlerden β-(1→4)oluşur. Kitosan ise kitinin deasetillenmiş formudur (Şekil 4.6) [55].



Şekil 4.6 Selüloz, kitin ve kitosanın kimyasal yapıları [54]

Kitosan [$(C_6H_{11}NO_4)_n$ $(C_8H_{13}NO_4)_m$], Bradconnot tarafından 1811 yılında keşfedilmiştir [54]. Kitin ve kitosanın farkı konusunda net bir ölçü olmamakla birlikte kitosan genellikle kitinin (β- 1,4-poli-N-asetil-D-glukozamin) kısmen veya tamamen deasetilasyonu ile elde edilen, antimikrobiyal özelliğe sahip bir heteropolisakkarittir. Deasetilasyon ise kitinin yapısında bulunan aminoasetil grubunun bazik ortamda uzaklaştırılmasıdır (Şekil 4.7) [55]. Deasetile edilmiş amino grupları ($-NH_2$) sayısının, asetil amino grupları ($-NH-CO-CH_3$) sayısına oranı deasetilasyon derecesidir. Ticari kitosanların deasetilasyon derecesi genellikle %85'ten büyük olup molekül ağırlıkları 100 ile 1000 kDa arasında değişiklik göstermektedir. Üretim koşullarına bağlı olarak kitosanın molekül ağırlığı değişkenlik gösterir. Buna bağlı olarak molekül ağırlığı 50 kDa ve daha küçük olanlar düşük, 50-150 kDa arasında olanlar orta ve 150 kDa ve daha büyük olanlar ise yüksek molekül ağırlıklı olarak tanımlanmaktadır [54], [55].



Şekil 4.7 Kitinin bazik ortamda deastilasyonu ile kitosan oluşumu [56]

4.3.2 Kitosanın Genel Özellikleri

Günümüzde kitosana karşı ilgi giderek artmaktadır. Kitosanın özellikle biyouyumluluk ve biyobozunurluk fonksiyonlarından dolayı biyomalzeme olarak kullanımı son yıllarda çok fazla sayıda çalışmaya da konu olmuştur [55].

Amino fonksiyonu, kitosana çok fazla özellik yükler ve kitosanın kitosan olmasını sağlar [55]. Günümüzde kullanılan pek çok polimer genellikle doğal değillerdir. Doğal bir polimer olan kitosana kıyasla sentetik polimerlerin biyouyumlulukları ve biyobozunurlukları oldukça sınırlıdır. Dolayısıyla yukarıda bahsedilen kitosana bağlı bazı fonksiyonel grupların sağladığı bu özellikler kitosanı eşsiz ve oldukça özel bir biyopolimer haline getirir [55].

4.3.3 Kitosanın Önemli Özellikleri

Selüloz, dekstrin, pektin, agar vb. gibi polisakkaritler genellikle benzer özellikle gösterdikleri düşünülmektedir. Buna karşın kitosan ise kendine has üstün özellikler sergilemektedir [57].

Kitosan kitin ile kıyaslandığında Bölüm 4.3.2'de anlatıldığı gibi amino grubunun varlığı sayesinde daha çok yönlü özellikler göstermektedirler.

Kimyasal Özellikler

Kitosanın kimyasal özellikleri aşağıdaki şekilde sıralanır;

- Doğrusal polimer,
- Reaktif amino grubu,
- Reaktif hidroksil grubu mevcut,
- Birçok geçiş metal iyonu şelatlama [57].

Fiziksel Özellikler

Kitosanın fiziksel özellikleri ise aşağıdaki gibidir;

- Doğal bir polimer,
- Biyouyumluluk,
- İn vitro koşullarında biyobozunur,
- Non-toksik ve tehlikesiz,
- Bağ dokuları üzerinde rejeneratif etki,
- Kemik oluşumundan sorumlu osteoblast oluşumu hızlandırıcı,
- Hemostatik,
- Antifungal,
- Sperm öldürücü,
- Antitümör etki,
- Kolestrol düşürücü,
- Kemik oluşumu hızlandırıcı [57].

Şimdi ise kitosanın bazı özellikleri detaylıca incelenecektir.

4.3.3.1 Molekül Ağırlığı

Kitosanın uygulamalarının altında yatan kimyasal ve fiziksel süreçler hala ayrıntılı ve tam olarak bilinmese de biyolojik aktivitelerinin ve fonksiyonel özelliklerinin çoğunun molekül ağırlıklarına bağlı olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Ham bir kimyasal kitosanın Mw dağılımı, deasetilasyon işleminde kullanılan değişken koşullardan etkilenir. Polimer bileşiminin ve Mw aralığının kitosanın çeşitli fizyokimyasal özellikleri üzerindeki etkisi nedeniyle, üretilen her bir polimer partisini yeterince ve doğru karakterize etmek çok önemlidir. Kitosanın molekül ağırlğı diğer polimerlerde olduğu gibi ışık saçılım spektrofotometrisi, jel geçirgenlik kromatografisi ve viskometri gibi çeşitli yöntemlerle belirlenebilir [56].

Ortamda var olan çözünmüş oksijen, kitosanın parçalanmasına neden olmakta ve bu da molekül ağırlığını azaltmasına sebep olmaktadır. Aynı zamanda 280 °C gibi polimerler için çok yüksek sıcaklıklarda kitosanın zinciri kırılmaya başlar ve yine bu durum da molekül ağırlığının azalmasına neden olur [55].

4.3.3.2 Deasetilasyon Derecesi (DD)

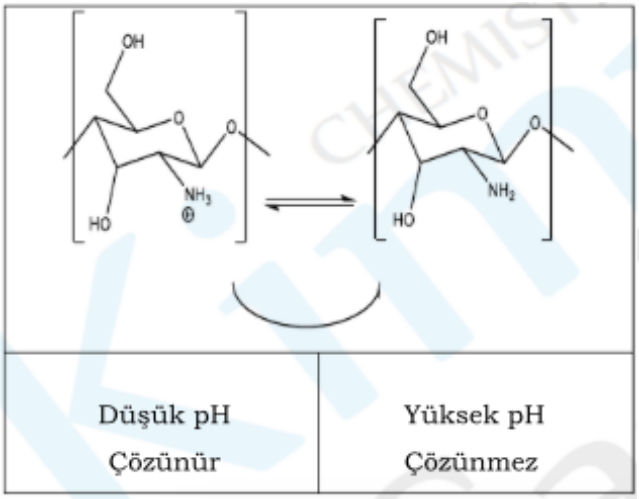
Kitosanı incelemenin ve doğru seçimini yapabilmek için bilinmesi gereken bir diğer öenmli nokta da deasetilasyon derecesidir. Örneğin in vitro uygulamalarda artan tedavi süresi ile doğru orantılı olarak DD'nin de artması gerekmektedir. Deasetilasyon derecesi kitosanın çözünürlüğünü, sulu çözeltilerdeki nem emilimini, yük dağılımını vb. etkiler. DDR spektroskopisi, UV spektrofotometrisi, 1H-NMR ve 13C katı hal NMR spektroskopisi, çeşitli titrasyon yöntemleri, denge boya adsorpsiyonu, element analizi, asit degradasyonu ve ardından HPLC gibi DD'yi tanımlamak için bir dizi analitik araç kullanılabilmektedir [56].

4.3.3.3 Çözünürlük ve Çözelti Özellikleri

Kitinin kısmen deasetilasyonu ile elde edilen kitosanın arasında temel fark çözünürlüklerinde yatmaktadır [56]. Kitin seyreltik asitlerde ve birçok oganik çözücülerde çözünememesi kitinin kullanımı kısıtlar. Buna karşın kitosan ise katyonik amin grupları (-NH_3) sayesinde asidik ortamlar bazı çözeltilerde

çözünebilmektedir [54], [55]. Bu nedenle kitosan için kitinin seyreltik çözeltilerde çözünür hali olduğu söylenebilmektedir [56].

Kitosanın çözünürlüğü ortam pH'ına göre değişiklik gösterir. Organik çözücülerde, nötral ve alkali pH'larda çözünmemektedir. Şekil 4.8'de ifade edildiği üzere düşük pH'da (6'dan düşük) amin grupları protanlanır ve polikatyonik özellik gösterir. Yüksek pH'da ise (6,5 ve üzeri) kitosanın aminleri deprotonlanır [54], [55].



Şekil 4.8 pH'a bağlı olarak kitosan çözünürlüğü [55]

Kitosanın çözünürlüğü onu tanımak ve anlamak için önemli parametrelerden biri olup çözünürlüğünün ana belirleyici etmeni deasetilasyon derecesidir [55].

Günümüzde alkali ve nötral ortamlarda karşılaşılan sınırlı çözünürlük sorununu gidermek ve organik çözücülerde çözünürlüğünü artırmak amacıyla kitosanın kimyasal yapısını değiştirme çalışmaları yapılmaktadır. Bu durum başarılı olduğu taktirde, özellikle bu durum biyomedikal alanda karşılaşılan çözünürlük sorununu ortadan kaldıracaktır [57].

4.3.3.4 Kimyasal Reaktivite ve Türevlendirme

Kitosan üç farklı tip reaktif fonksiyonel gruba sahiptir; her bir deasetillenmiş ünitenin C-2 pozisyonundaki bir amino grubu ve her tekrar biriminin C-6 ve C-3 pozisyonlarında birincil ve ikincil hidroksil grupları (Şekil 4.7). Bu reaktif gruplar mekanik ve fizikokimyasal özelliklerin geliştirilmesi ve türevlendirilmesinde önemli görev alırlar [56].

4.3.3.5 Biyobozunurluk

Kitosan biyobozunur polimerler arasında yer almaktadır. Bu bozunma asit ya da alkali ortamlarda kimyasal olarak parçalanmayla gerçekleşir. Deasetilasyon derecesinin artışı ile bozunma oranı düşmektedir [54].

4.3.3.6 Biyouyumluluk

İmplante edilecek herhangi bir malzemenin en kritik özelliği biyouyumluluğudur. Konak dokudan etkilenmemeli ve aynı zamanda istenmeyen lokal veya sistemik etkilere yol açmamalıdır. Kitosan, vol., oküler membranlar ve nazal epitelyumu gibi yaşayan canlı dokuları iyi tolere edebilir ve herhangi bir enfeksiyona yol açmaz. Bu nedenle çok çeşitli biyomedikal uygulamalar için oldukça değerlidir [56].

4.3.3.7 Güvenilirlik

Kitosanın çekici bir başka özelliği de diğer doğal polisakkaritlere kıyasla düşük toksisite özelliğidir. İnertliği, düşük toksikliği ya da hiç toksik olmaması gibi özellikler geçmişteki in vivo ve in vitro çalışmalara fazlaca konu olmuştur [56].

Tablo 4.4 Bazı yapısal parametreler ve özellikler arasındaki ilişki [54]

Özellik	**Deasetilasyon Derecesindeki Artışın Etkisi**	**Molekül Ağırlığındaki Artışın Etkisi**
Çözünürlük	Artar	Azalır
Kristalin yapı	Azalır	Artar
Biyolojik parçalanabilme	Azalır	Azalır
Viskozite	Artar	Artar
Biyouyumluluk	Artar	-
Antimikrobiyal özellik	Artar	Azalır-artar
Antioksidan özellik	Artar	Azalır

4.3.4 Kitosanın Antimikrobiyal Etki Mekanizması

Özellikle kitosan olmak üzere, kitin ve kitosanın farklı formlarının (solüsyon, membran, kompozit vb.) in vivo ve in vitro çalışmaları alg, bakteri, maya ve mantar gibi çok çeşitli hedef organizmalara karşı antimikrobiyal özellik gösterdii geçtiğimiz uzun yıllarda kanıtlanmıştır [58].

Kitosan ve türevlerinin medikal uygulamalardaki en önemli avantajı antimikrobiyal (antibakteriyel, antifungal ve antivital) özelliğidir. biyolojik özelliklerinden en önemlisi sahip oldukları antimikrobiyal aktivitedir. pH<6 değerlerinde kitosanın antimikrobiyal aktivitesini sağlayan pozitif yüklü (NH_3^+) amino grubudur. Glukozamin bileşeninin ikinci karbonundaki amino grubu (NH_2) proton bağlayıp pozitif yüklü (NH_3^+) polikatyonik forma dönüşür ve bu sayede kitosanın antimikrobiyal aktivitesi kitine göre daha yüksektir. Kitosan hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı etkilidirler. Bunlar dışında *Listeria monocytogenes, Bacillus megaterium, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, E. coli, Pseudomonas fluorescens, Salmonella Typhymurium, Vibrio parahaemolyticus, Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus brevis* bakterilerine karşı da antibakteriyel etki gösterirlerirler. Kitosan bakterilerin çoğalma hızını durdurup yavaşlatmasından ziyade bakterilerin ölmesini, yok olmasına sebep olarak kökten ve kalıcı bir çözüm sunduğudur [54].

Antibakteriyel ve antifungal etkisinin dışında kitosanın bitkilerde viral enfeksiyonlara karşı dayanıklılığı artırdığı da yapılan çalışmalardan çıkarılmıştır [54].

4.3.4.1 Kitosanın Antibakteriyel Mekanizması

Kitosanın antimikrobiyal etkisi net olarak bilinmemesine rağmen polikatyonik yapı antimikrobiyallik için şarttır. Kitinden farklı olarak kitosan yapısında serbest amino grupları mevcuttur. Antibakteriyel aktivite başlıca, pH<6-6,5 ortamlarında polikatyonik yapıdaki kitosan ile mikroorganizmaların yüzeyinde bulunan anyonik bileşenler (örneğin Gram-negatif bakterilerde lipopolisakkaritler ve hücre yüzey proteinleri) arasında meydana gelen elektrostatik etkileşim rol

oynamaktadır. Elektrostatik etkileşim sonucunda hücre yüzeyinde negatif ve pozitif yüklerin dağılımı farklılaşır ve böylece membran stabilitesi bozularak geçirgenliği değişmektedir. Membran geçirgenliğinin değişmesi ile istenmeyen organizmalar hücre içerisine girememekte veya istenmeyen hücre içi bileşenleri hücre dışına sızmakta ve bunların sonucunda da hücre ölümü gerçekleşmektedir [54].

4.3.4.2 Kitosanın Antifungal Mekanizması

Kitosanın antifungal etkisi de henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda birden fazla görüş vardır. İlk görüş antibakteriyele benzer şekilde polikatyonil kitosan mayalarda bulunan negatif yüklerle reaksiyona girer ve istenmeyen fungal enfeksiyon oluşumuna engel olur. İkinci görüş ise kitosan, mikroorganizmaların içine nüfuz ederek enfeksiyona engel olduğunu savunmaktadır. İki görüşte de kitosanın molekül ağırlığı etkilidir, düşük molekül ağırlığında mikroorganizmaya nüfuz etmek daha kolay olacağından iknci mekanizma, yüksek molekül ağırlıklı kitosanda ise birinci görüş gerçekleşmektedir [54].

Kitosanın konsantrasyonu fungal enfeksiyonlar açısından kritik öneme sahiptir. *Colletrotichum gloeosporioides, Fusarium oxysporum* ve *Penicillium digitatum* küflerinin %3 kitosan konsantrasyonunda önleyebilmek mümkündür. Yüksek molekül ağırlıklı kitosanlar *Fusarium oxysporum, Alternaria solani* ve *Valsa malide* miselyumları, düşük molekül ağırlıklı kitosanlar ise *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum* mantarını inhibe edebilmektedir [54].

4.3.4.3 Kitosanın Antiviral Mekanizması

Kitosanın bakteriyofajların çoğalmasını birden fazla mekanizma ile engel olduğu savunulmaktadır. Kitosan ve türevlerinin molekül ağırlığı, molekül yapısı, deasetilasyon derecesi ve virüsün tipine göre antiviral etki gösterirler. [54].

4.3.5 Kitosanın Antimikrobiyal Aktivitesine Etki Eden Faktörler

Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi birçok etkene bağlıdır. Bunlar, mikrobiyal faktörler, kitosanın moleküler özellikleri, kitosanın fiziksel özellikleri ve çevresel faktörler olmak üzere başlıca 4 grupta incelenmektedir.

4.3.5.1 Kitosanın Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Mikrobiyal Faktörlerin Etkisi

Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi kitosan ile hücre duvarı molekülleri arasında meydana gelen reaksiyonlar sonucunda oluşmaktadır [54]. Mikrobiyal faktörler mikroorganizma türü ve hücre yaşıdır.

Mikroorganizma Türü

Bazı araştırmalar kitosanın Gram-negatif bakteriler üzerine daha kuvvetli olduğunu belirtmesine karşın bazı araştırmalarda ise Gram-negatif bakterilerin koruyucu dış membrana sahip olmaları nedeniyle Gram-pozitif bakterilerin kitosana daha fazla duyarlı olduklarını işaret ederler [54].

Hücre Yaşı

Hücre yaşı mikrobiyal hücrenin yüzeysel yük dağılımına etki edeceğinden bu da antimikrobiyal etkinin değişimine sebep olur [54].

4.3.5.2 Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Kitosanın Moleküler Özelliklerinin Etkisi

Pozitif Yük Yoğunluğu

Yüksek pozitif yük yoğunluğu daha güçlü elektrostatik çekime neden olur ve bu da antimikrobiyal etki açısından oldukça önemlidir. Pozitif yük de deasetilasyon derecesine bağlıdır. Yüksek oranda deasetilasyon derecesi (%97,5) daha fazla pozitif yük yoğunluğu anlamına geldiğinden kitosanın da antimikrobiyal etkisini artırır [54].

Moleküler Ağırlık

Kitosanın molekül ağırlığı ile ilgili görüşler çeşitlilik göstermektedir. Bazı çalışmalarda molekül ağırlık artışı ile birlikte *E.coli* bakterisine karşı aktivitenin azaldığını, bazıları ise arttığını söylemektedir [54].

Hidrofilik/Hidrofobik Oran

Kitosan türevlerinin hidrofilik/hidrofobik oranlarının değişimi de antimikrobiyal özelliklerini etkileyen bir faktördür. Kitosanın amino grubuna farklı zincir uzunluğundaki akil gruplarının bağlanması ile hidrofobik özelliği arttırması nedeniyle antibakteriyel etkisi de artmaktadır [54].

Şelatlama Kapasitesi

Kitosan (Au, Ag, Cu, Cr, Ni, Zn, Mn, Co, Mo, Fe, Hg, Pd, Cd gibi ağır metaller) yalnızca geçiş metallerini bağlayabilmektedir. Bu sayede de seçici bağlama özelliğine sahip olmuş olur [54].

4.3.5.3 Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Kitosanın Fiziksel Özelliklerinin Etkisi

Kitosanın antimikrobiyal aktivitesinde, hücre duvarı ile kendisi arasında gerçekleşen reaksiyonlardan sorumlu olan moleküllerin yapıları etkilidir [54].

Çözünür Durumda Antimikrobiyal Aktivite

Çözünür durumdaki kitosanın antibakteriyel etkileri diğerlerine göre daha yüksektir. Çünkü çözünür haldeki kitosan reaksiyona hazır haldedir ve hızlıca reaksiyona girerler [54].

Katı Durumda Antimikrobiyal Aktivite

Çözünmmüş kitosanla kıyaslandığında; lif, membran, nanopartikül gibi katı kitosanlar oluşturdukları yüzeysel temas sebebiyle düşük antimikrobiyal etki gösterirler [54].

4.3.5.4 Kitosanın Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Çevresel Faktörlerin Etkisi

pH

Çevresel faktörler ele alındığında, pH kitosanın antimikrobiyal aktivitesi üzerinde oldukça etkilidir. Düşük pH değerlerinde yüksek antimikrobiyal özelliğe sahipken, pH artışıyla beraber bu aktivite düşmektedir. Bunun sebebi düşük pH değerlerinde kritik polikatyonik forma dönüşebilmesidir [54].

İyonik Güç

Ortamdaki iyonik gücün değişimi antibakteriyel etkinin değişimşne sebep olur. Kitosan ortamında özellikle iki değerlikli iyon derişiminin (Mg^{+2}, Zn^{+2}, Ba^{+2}, Ca^{+2} gibi) artması şelatlama kapasitesini azaltacağından, antibakteriyel akktivitesini de azaltır. Bunun dışında ortamdaki katyonlar bakteri hüre duvarında ulunan negatif yüklere bağlanmak için yarışa girerler ve polikatyonik formu bozarlar [54].

4.3.6 Suda Çözünebilir Kitosan

Kitin ve kitosan, ilgili antimikrobiyal özelliklere sahip, çekici biyomakromoleküller olarak belirtilmiş olsalar da malesef ki her ikisi de suda çözünmez olması nedeniyle uygulamalar biraz sınırlıdır. Suda çözünebilen kitosan türevleri ancak polimer zincirlerinde kalıcı pozitif yüklerin eklenmesiyle elde edilebilir. Ancak yine de suda çözünebilir kitosan üretimi ve kullanımı çok yaygın bir çalışma değildir [58].

4.3.7 Kitosanın Uygulama Alanları

Kitosan için son yirmi yıldır ticari kullanımını amaçlayan çeşitli teknolojilerde ciddi gelişmeler yaşanmıştır. Kitosan, oligomerleri ve bir dizi türevi, farmasötik, kozmetik, medikal, gıda ve tekstilden tarımsal uygulamalara kadar birçok uygulama alanına sahiptir. Ancak en çok kullanılan, birçok araştırmaya konu olan ve bu tez konusu için de önemli olan bir diğeri de sahip olduğu biyouyumluluk ve biyobozunurluk fonksiyonlarından dolayı biyomalzeme olarak kullanımıdır [55], [57].

Doku mühendisliği, yanık tedavileri, diş tedavileri, antitümör antioksidan uygulamaları, spermisit etki aranan uygulamalar, yapay deri nakilleri, ortopedik uygulamalar bv gibi saymakla bitmeyecek biyomedikal alanlarda kitosan ve türevleri kullanılmaktadır [56], [57].

Tablo 4.5 Kitosanın bazı biyomedikal uygulamalarda kullanım alanları ve nedenleri [55]

Potansiyel Biyomedikal Uygulamalar	Ana Karakteristik
Ameliyat dikiş ipliği Diş implantı Yapay deri Kemiğin yeniden modellenmesi Kornea kontakt lensler İn vitro ve in vivo uygulamalarda zaman ayarlamalı ilaç salımı Malzemelerin kapsül kaplaması	Biyouyumluluk Biyobozunurluk Yenilebilme Film oluşumu Hidratlama ajanı Toksik olmayan, biyolojik tolerans Lizozimler tarafından hidrolizlenme Yara iyileşme özellikleri Bakteri, virüs, mantara karşı etkinlik

4.4 Polimer Kaplama

Ortopedik ve dental implantlarda implantasyon esnasında ya da sonrasında o bölgede bazı bakteri vb. nedenlerden dolayı enfeksiyon oluşabilmektedir. Özellikle ortopedik implantlarda sıklıkla gözlenen enfeksiyon oluşumu; hasta şikayetleri, implant kaybı, maddi kayıplar ve ölüm gibi birçok yaygın ve önemli sorunu beraberinde getirmektedir. İmplantasyonun gerçekleştiği erken fazlarda cerrahi uygulamanın yapıldığı bölgede savunma sistemi bozulmuş olur ve bu dönem enfeksiyon oluşumu için en tehlikeli dönemdir. İmplant malzemelerinin hijyenik olnayan koşullarda implantasyonu veya kullanılan malzemelerin kontamine olması enfeksiyon oluşumuna neden olabildiği gibi, özellikle eksternal fiksasyon çivileri ve dental implantlarda gözlenen hasta vücut florası bakterileri de enfeksiyonlara neden olabilir. Çeşitli sterilizasyon uygulamaları ve operasyon sonrası antibiyotik tedavileri ile implant kaynaklı enfeksiyon oluşumları azaltılabilmesine rağmen, bu durum hala implant malzemelerindeki en büyük sorunlardan birini oluşturmaktadır [15]. Bu problemleri giderebilmek amacıyla bu tez çalışmasında da Zn alaşım elementi ilave edilmiş magnezyum implantının kullanılmasının yanı sıra antimikrobiyal olduğu bilinen kitosan polimeri ile implantlar kaplanacaktır. Böylece oluşabilecek enfeksiyonarın önüne geçilmesi beklenmektedir.

4.4.1 Polimer Kaplama Yöntemleri

Yüzey, bir malzemenin dış ortamla temas halinde olan kısmı, çevre ile sınırı anlamına gelir. Bir başka deyişle yüzey, malzemeyi saran, onun şeklini alan ve malzeme ile aynı bileşimdeki tabakadır. Malzemelerin çevreyle olan tüm etkileşimi, reaksiyonları yüzeyden gerçekleşmektedir.

Malzemelerin yüzeyi tarafından belirlenen bazı özellikler aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Sürtünme ve aşınma özelliği
- Korozyon davranışı
- Yüzeye bağlı mekanik özelliği
- Dış görünüm ve renkleri
- Optik özellikleri
- Fotoelektrik özellikleri
- Komşu maddeye difüzyon özellikleri
- Yapışma özellikleri
- Elektrik kontakt özellikleri
- Isıl elektron emisyon özellikleri

Malzemenin yukarıda bahsedilen özellikleri aslında onun yüzey özelliklerini ifade eder. Zaman zaman yukarıdaki özellikler göz önüne alındığında, malzemenin yüzeyi beklenen özellikleri karşılamayabilir ya da daha farklı yüzey özelliklerine ihtiyaç duyulabilir. Bu durumda tüm malzemeyi değiştirmek yerine farklı çözümler düşünülür. Malzemelerin yüzey özelliklerini değiştirmek, iyileştirmek ya da malzemeyi istenmeyen dış etkilerden korumak amacıyla malzeme yüzeyini farklı bir malzeme ile ince bir film şeklinde örtme ya da kapatma işlemine kaplama denmektedir [59], [60]. Söz konusu amaçlara ulaşmak için uygulanan bu polimer kaplamaların birçok çeşidi vardır. Bunlardan bazıları sol-jel, döndürme ile (spin) kaplama, püskürtme ile kaplama, daldırma ile kaplama, fiziksel buhar biriktirme (PVD) ve kimyasal buhar biriktirme (CVD) gibi yöntemlerdir. Bu tez çalışmasında ise daldırma ile kaplama yöntemi uygulanacaktır.

4.4.1.1 Sol-jel Yöntemi

Sol-jel yöntemi cam, metal ve seramik malzemelerin üretiminde kullanılarak malzemelere optik, elektronik, kimyasal ve mekanik açıdan yeni özellikler kazandrmak amacıyla yapılan kaplama yöntemidir. Burada sol, katı maddenin çözücü içinde dağılmasıyla oluşan kolloidal süspansiyon yapıdır. Jel ise gözenekli, üç boyutlu sıvı fazın her yanına dağılmış katı ağ yapılı kısımdır. Sol yapının üç boyutlu ağ yapı oluşturmasıyla jelleşme meydana gelir. Sol-jel yapıdaki kısmın farklı yöntemlerle yüzey üzerine aktarılıp kurutulmasıyla sol-jel kaplama işlemi tamamlanır [60], [61].

4.4.1.2 Döndürme ile Kaplama Yöntemi

Organik ve inorganik ince filmleri kaplanmada kullanılan bir yöntemdir. Organik ince film kaplamada uygulanmasının kolay olması, maliyetinin düşük olması ve uygulama süresinin kısa olması nedeniyle tercih edilmektedir. Döndürerek kaplama, her türlü yüzey üzerine homojen bir şekilde kaplanabilmektedir.

Döndürerek kaplama yöntemini üç aşamada inceleyebiliriz. İlk aşamada belli bir hızda dönen yüzey üzerine kaplanacak malzemenin çözeltisi bir mikro şırınga yardımıyla dökülür. Merkezkaç kuvvetinin etkisiyle çözelti yüzey üzerinde homojen bir şekilde dağılmaya başlar. İkinci aşamada istenilen kalınlığa ulaşıncaya dek çözelti dökülmeye devam edilir. Üçüncü ve son aşamada ise çözücü buharlaştırılarak ince film kaplama işlemi sonlandırılır [60].

Döndürme kaplama yönteminde numune kaplama alanına dik bir eksen etrafında döndürülerek kaplanmaktadır. Özellikle dönel simetriye sahip numuneleri kaplama işleminde fazlaca tercih edilmektedir [61].

4.4.1.3 Püskürtme ile Kaplama Yöntemi

Püskürtme ile kaplama yönteminde katı veya çözelti halindeki maddeler nozullar yardımıyla kaplanacak yüzeye küçük parçacıklar halinde gönderilirler, havada kuruyarak yüzeye yapışan maddeler ince bir film oluştururlar. Katı maddeler termal yöntemlerle parçalanıp püskürtülürler. Polimer gibi alkol veya asetonda çözünebilen maddeler çözücülerinde çözülüp basınç yardımıyla yüzeye

püskürtülürler. Altlık yüzeyine ulaşan sıvı damlacıkların yüksek reaktiviteler nedeniyle süreklı bir film oluşur ve bu film çözücünün buharlaşması ile kurumaya başlar ve film tabakası oluşumu gerçekleşir. Bu yöntemle ince film kaplamak kolay ve ucuzdur. Ancak bu yöntemde homojen film elde etmek zordur [60], [61].

4.4.1.4 Fiziksel Buhar Biriktirme Yöntemi (PVD)

Bu teknik kaplanacak olan malzemenin vakum ortamında bir ısıtıcı veya plazma yardımıyla buhar veya iyonik gaz haline getirilerek yüzey üzerinde ince bir film haline getirilerek kaplanması işlemidir. PVD yöntemi çok sayıda inorganik malzemelerin (metal, alaşım, bileşik) yanı sıra organik malzemelerin kaplanmasında da kullanılmaktadır. Bu yöntemle nanometre ölçeğinde çok ince filmler de kaplanabilmektedir. Aynı zamanda çok katmanlı kaplamalar da yapılmaktadır. Sıçratma ve buharlaştırma olmak üzere iki teknikle uygulanmaktadır.

Buharlaştırma tekniğinde katı madde, seramik pota gibi özel bir kaba yerleştirilir, uygun bir enerji ile (elektrik akımı, bir elektron ışını, lazer, yay deşarj) ısıtılarak buharlaştırılır. Termal olarak ısınan atomlar ya da moleküller katı madde yüzeyini terk ederek kaplanacak yüzeyde ve vakum sisteminin duvarlarında birikerek kaplamayı oluştururlar. Buharlaştırma işlemi yüksek vakum koşullarında yapılır.

Sıçratma yöntemi, plazma veya iyon tabancası kullanarak hızlandırılmış atomik boyuttaki yüksek enerjili gaz iyonlarıyla kaplama malzemesi bombardıman edilerek, atomlar yüzeyden sıçratılır ve bu atomlar buhar fazına geçerek kaplanacak yüzey üzerinde biriktirirler. Öylece yüzey üzerinde ince bir film tabakası oluşmaya başlar [60].

4.4.1.5 Kimyasal Buhar Biriktirme Yöntemi (CVD)

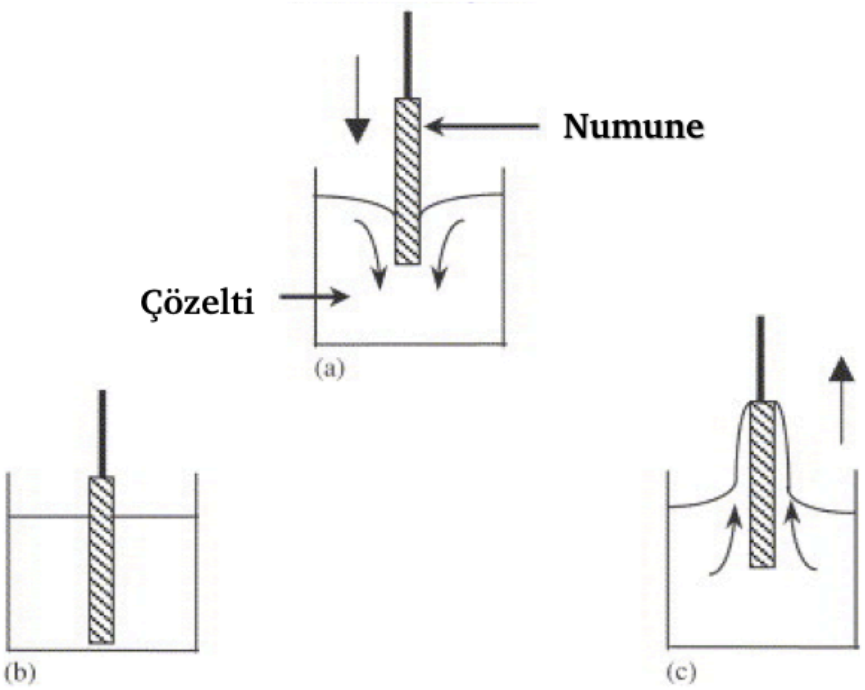
Kimyasal buhar biriktirme (CVD) yöntemi tozlar ve liflerin üretiminde tercih edilmektedir. Bu yöntem ince film kaplamaları için uygun ve çok sık kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle metal, plastik, optik veya kâğıt gibi farklı yüzeyleri yüzeye zarar vermeden kaplamak mümkündür. Film kaplama tabakasının yanı sıra yüksek saflıkta toz üretiminde de kullanılabilir [60], [61].

Kimyasal buhar biriktirme yöntemi, kaplanacak malzemenin buhar fazına getirilip rektör içinde ısı ya da manyetik etkiyle yüzey üzerinde biriktirilmesi işlemidir. Bu yöntemde düşük yüzey sıcaklıklarında bile kaplama yapılabilmektedir.

Bu yöntem sayesinde derin girintileri, delikleri olan parçalar ince film ile kaplanabilir. Yüksek hızda kaplama yapılabilmesinin yanı sıra homojen ve yüksek saflıkta ince filmler elde edilebilmektedir [60].

4.4.1.6 Daldırma ile Kaplama Yöntemi (Dip-coating)

Daldırma kaplama yöntemi ilk olarak Landeu ve Levich tarafından 1942 yıllında ortya çıkmıştır [62]. Bu yöntem ile endüstriyel uygulamalarda birçok malzemenin kaplanması mümkündür [60]. Bu yöntemde kapalanacak malzemenin yani substratın sol-jel ya da kaplama sıvısına daldırılarak tamamen ıslatılması ve ardından substratın çözelti banyosundan çekilerek kaplanması temeline dayanmaktadır [60], [62].



Şekil 4.9 Daldırma kaplama yöntemi şematik gösterimi: daldırma, ıslatma, geri çekme [62]

Bu yöntem için bazı kaynaklar beş aşamadan bahsetse de temel olarak üç aşamadan oluşmaktadır (Şekil 4.9). İlk aşamada substrat çözelti içine daldırılır ve tamamen ıslatılır. Sonrasında beklenmeden aynı hızda yukarı geri çekilir ve çözelti

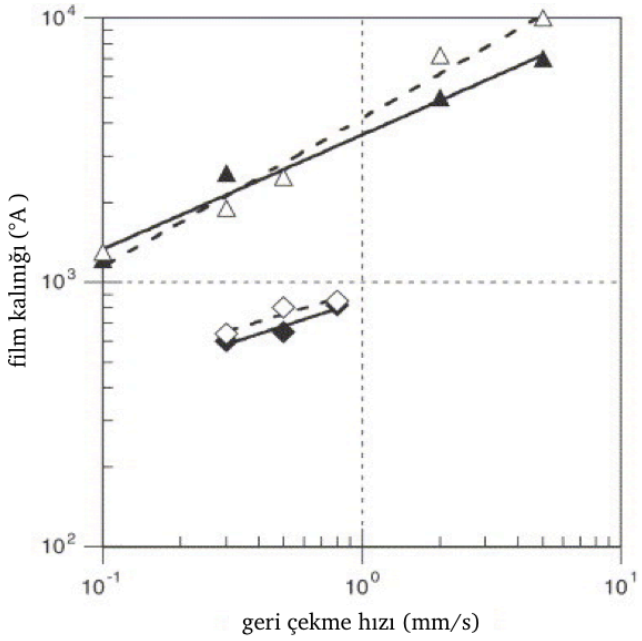
numune yüzeyinden süzülür. Ardından ise numunenin yüzeyinde fazla olan çözelti buharlaşır ve son olarak kuruyan numunede muntazam bir katı film birikmiş olur [60], [62].

Daldırma kaplama yöntemi ile 20 nm'den 50 μm'ye kadar kaplama kalınlığı elde etmek mümkündür. Bu yöntem ile özellikle güneş enerji kontrol sistemlerinde, camlarda, pencerelerde ve optik uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır [61].

Kaplama filminin oluşmasında birçok güç vardır. Ana kuvvetler viskoz sürükleme, yerçekimi kuvveti, kılcal kuvvet (sonuç olark yüzey gerilimi kuvveti) ve atalet kuvvetidir. Viskoz sürükleme, daldırma işleminden sonra çözeltiyi substratla yukarı doğru hareket ettiren kuvvettir ve sıvı viskozitesi ve çekilme hızı ile orantılıdır. Yerçekimi süzülen sıvının aşağı doğru hareketi için önemlidir [62].

Çekilme hızı daldırma kaplama yönteminde oldukça önemli bir etkendir. Çünkü geri çekilme hızı film kalınlığını belirleyen bir faktördür.

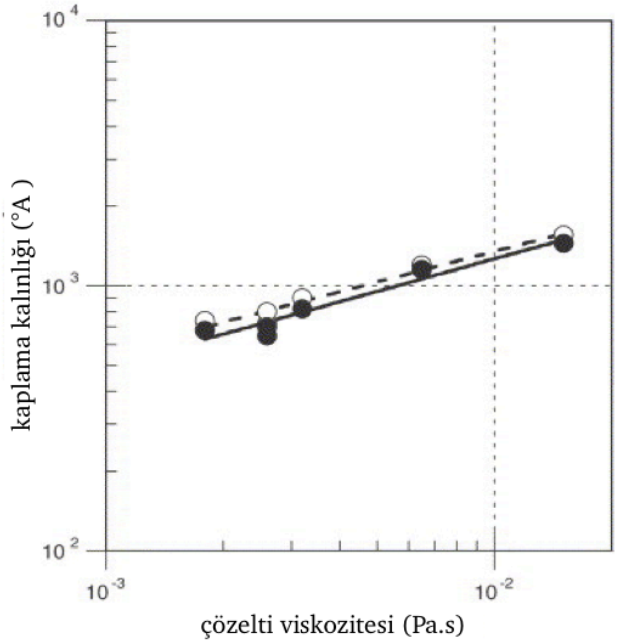
Şekil 4.10'da çekme hızı ve film kalınlığı arasındaki bağlantı buharlaşma hızı (kuruma koşullarına göre) ve polimer konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Burada görülmektedir ki; çekme hızı arttıkça film kalınlığı artar. Bunun sebebi, hareketli alt tabakanın viskoz bir çekişinin çekilme hızıyla orantılı olmasıdır. Daha yüksek bir geri çekme hızı daha büyük bir kuvvet demektir ve bu da substrat ile yukarı doğru hareket eden sıvının daha büyük bir miktarına ve dolayısıyla daha kalın bir film oluşumu anlamına gelir [62].



Şekil 4.10 Kaplama kalınlığı ile geri çekilme hızı arasındaki ilişki [62]

Geri çekilme hızına ek olarak, buharlaşma hızı film kalınlığı üzerinde çok büyük bir etkiye sahip değildir, çünkü yavaş ve hızlı kuruma için film kalınlığı benzerlik gösterir. Bunun nedeni, substratla çekilen bir miktar sıvı miktarının küçük olması ve dolayısıyla çok azının çözelti banyosuna geri akmasıdır. Şekil 4.10'da yüksek bir konsantrasyon için yüksek çekilme hızlarında sıcak hava ile kurutmadan daha kalın filmler elde edilebilir. Bunun nedeni, yüksek bir geri çekme hızındaki yüksek bir konsantrasyonun, oldukça büyük miktarlarda sürüklenmiş ve süzülmesi az olmuştur. Sıcak hava, sıvı boşalmasını önler, böylece daha kalın bir film elde edilir [62].

Çekilme hızından sonra daldırma kaplama yöntemine çözelti viskozitesi önemli derecede etki etmektedir. Şekil 4.11 belli bir geri çekme hızında hem yavaş hem de hızlı kurutma için çözelti viskozitesinin bir fonksiyonu olarak film kalınlığının grafiğini göstermektedir. Grafik, her iki durumda da daha yüksek bir viskoziteye sahip bir çözelti ile daha kalın bir film oluştuğunu göstermektedir. Bunun nedeni, aynı çekme hızında, alt tabaka ile yukarı doğru hareket eden sıvının daha viskoz olduğu durumda sürtünme kuvvetinden dolayı yüzeyde biriken sıvı miktarının fazla olmasıdır [62].



Şekil 4.11 Çözelti viskozitesi ile film kalınlığı arasındaki ilişki [61]

Bu tez çalışmasında daldırma kaplama yöntemiyle kaplanacak numuneler ardından immersiyon yöntemiyle yapay vücut sıvısına daldırılacaktır ve böylece vücut içerisindeki davranışları incelenecektir. Bu süreç sonucunda magnezyum alaşımın bozunma hızı antimikrobiyal etki ile ilgili bilgiler edinilecektir.

4.5 Sentetik Vücut Sıvısı

Sentetik vücut sıvısı implant malzemesinin vücut içerisinde nasıl davrandığını (bozunma hızı, antimiktobiyal etki, enfeksiyon, toksik etki, herhangi bir reaksiyon vb.) tespit etmek amacıyla hazırlanan bir hücresel insan kan plazmasını taklit eden çözelti karışımıdır [63]. İnsan kan plazmasını taklit eden Tris-HCl-tamponlu sentetik vücut sıvısı (SBF) çözeltisi, birtakım iyon konsantrasyonları içererek, 37 °C ve pH 7,4 olarak adlandırılan biyomimetik koşullar altında bir dizi kemik ikame malzemesinin (implant) kullanılabilmesi için bir sulu ortam olarak da adlandırılır [63]. Bu çözelti Tris-SBF-27 mM olarak adlandırılmaktadır.

Sentetik veya simüle vücut sıvıları tarihsel Ringer'in 1880, Earle'in dengeli tuz çözeltisi (EBSS) 1943 ve Hanks'in 1949'un dengeli tuz çözeltisi (HBSS) ile geliştirilmiştir. Ardından T. Kokubo tarafından 1990 ve 2006 yılları arasında geliştirilen SBF çözeltileri de EBBS ve HBBS ile benzerlik göstermektedir.

Günümüzde HBSS ve EBBS çözeltileri ya glikoz takviye edilmiş ya da amino asitler ve vitaminler ile piyasada bulunabilmektedir. Mühendislik veya hücre kültürü çalışmalarında HBSS ve EBSS gibi çözeltiler hücre içi ozmotik dengeyi korumakla beraber, hücre metabolizması için gerekli olan toplu inorganik iyonları sağlar ve aynı zamanda ortamı fizyolojik pH aralığında tutmak için bir tampon sistem oluşturur [63].

EBSS, HBSS, Kokubo ve Taş olmak üzere bu dört farklı tarifli reçetelerin iyon içerikleri değişiklik gösterir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 İnsan vücut sıvısı ve sentetik solüsyonlardaki iyon konsantrasyonları [63]

İyonlar-Bileşikler	**İnsan Plazması**	**Ringer**	**EBSS**	**HBSS**	**Kokubo-SBF**	**Taş-SBF**
Na^+	142	130	143,6	138	142	142
K^+	5	4	5,37	6,14	5	5
Ca^{+2}	2,5	1,4	1,8	1,26	2,5	2,5
Mg^{+2}	1,5		0,81	0,81	1,5	1,5
Cl^-	103	109	125,3	144,8	147,8	125
HCO_3^-	27	-	26,2	4,2	4,2	27
HPO_4^{2-}	1	-	1	0,78	1	1
SO_4^{2-}	0,5	-	0,81	0,81	0,5	0,5
Ca/P	2,5	-	1,8	1,62	2,5	2,5
Buffer	-	-	-	-	Tris	Tris
pH	7,4	6,5	7,2-7,6	6,7-6,9	7,4	7,4

Orjinal SBF, c-SBF olarak adlandırılır ve bu Tris-tamponlu çözelti, 27 mM HCO_3^- içeren insan kan plazmasının aksine 4,2 mM'lik bir HCO_3^- iyon konsantrasyonuna sahiptir. Kokubo'nun SBF çözeltisi bu nedenle, önemli bir (HCO_3^-) bikarbonat iyon eksikliğine sahiptir. Aynı şekilde Kokubo'nun yanı sıra HBSS solüsyonunda da yine yüksek oranda bikarbonat eksikliği söz konusudur. c-SBF solüsyonları ayrıca, sadece 103 mM Cl^- iyonu içeren insan kan plazmasına kıyasla, daha fazla (148 mM) Cl^-iyon içerirler [64].

Kokubo'nun c-SBF çözümleri yukarıda bahsedilen sapmalarından ötürü tercih edilememektedir. Bu amaçla Cüneyt Taş 1999 yılında ilk kez ciddi ölçüde azaltılmış bir Cl^- iyonuna (125 mM) ve 27 mM HCO_3^- iyonuna sahip olan SBF solüsyonu içeren Tris-tamponlu çözeltiyi geliştirmiştir [64].

27-Tris-SBF çözeltileri, uygun HCO_3^- konsantrasyonu nedeniyle c-SBF çözeltisine kıyasla vücut plazmasıyla yüksek benzer iyon içeriği sebebiyle çok daha kullanılır hale gelmiştir [64].

Bu tez çalışmasında Cüneyt Taş'ın [64] 27-Tris-SBF çözeltisi tarifi kullanılacaktır. Hazırlanış detayları deneysel çalışmalar kısmında detaylandırılacaktır.

5
BAKTERİYEL VE FUNGAL ENFEKSİYONLAR

İmplantlar; tıpta, özellikle ortopedi alanında (örneğin kemik ve eklem bozukluklarında, kompleks kemik kırıklarında vb.) sıkça kullanılan, genellikle metal alaşımlı protezler olarak bilinmektedirler [65].

Günümüzde sıklığı giderek artan metal implantların kullanıldığı cerrahi girişimlerde iki önemli sorun vardır. İlki biyomalzeme merkezli enfeksiyonlar, diğeri ise implant ile konak arasındaki doku uyuşmazlığıdır [66]. İmplantasyon işleminden sonra biyomalzeme yüzeyine yapışmak için doku hücreleri ile bakteriler arasında bir yarış başlar. İmplant yüzeyinin geleceği bu durumun sonucuna bağlıdır. Eğer doku yüzeye yapışırsa yüzey korunmuş olur ve böylece implant bakteriyel enfeksiyonlara daha az elverişli hale gelir. Aksi olur ise, implant yüzeyi bakteriler tarafından çevrilir ve enfeksiyon süreci hızlıca başlar [66].

Özellikle magnezyum gibi metal implant kullanılan hastalarda, implantın yerleştirilmesi ya da kullanılması sırasında sıkça karşılaşılan bir sorun, metal implantın genellikle bakteri ve nadiren ise mantarlarca çevrilip, hastada enfeksiyona sebep olmasıdır [65].

Cerrahi operasyondan sonraki ilk 30 gün içinde ameliyat yerinde ve cerrahi işlem uygulanan organ ya da alanda görülebilen enfeksiyona cerrahi alan enfeksiyonu (CAE) denir. Vücut içine yerleştirilen implant veya protez gibi yabancı cisimlerde ise bu süre bir yıla çıkmaktadır.

İmplant ilişkili enfeksiyonlar kemik dokusunda yıkım, implant yetmezliği, hatta ölüme neden olabileceği için hem hasta hem de sağlıkçılar için çok önemli bir sorundur. Dolayısıyla bu cerrahi alan enfeksiyonu, implantasyon içeren cerrahi uygulamalarda en korkulan ve sorun yaratan komplikasyondur. Enfeksiyon sonucunda revizyon cerrahi işlemi, geciken yara iyileşmesi, antibiyotik kullanımının artması ve hastanede kalma sürelerinin uzamasına gibi istenmeyen durumlara sebep olmaktadır [67].

5.2 Cerrahi Alan (Yara) Enfeksiyon Gelişmesinde Etkili Olan Faktörler

Yara çevresindeki dokunun bir gramında 105 adetten az sayıda bakteri bulunuyorsa, riske rağmen enfeksiyon oluşumu gözlenmemesi beklenir. Ancak vücudun savunması, lokal ya da sistemik nedenlerle bozulursa, az sayıda bakteri dahi enfeksiyon oluşumuna yol açabilir. Enfeksiyon oluşumuna sebep olan faktörler Tablo 5.1'de ifade edilmiştir [68].

Tablo 5.1 Cerrahi alan enfeksiyonlarına etki eden faktörler [67], [68]

Risk Faktörleri	Detaylı Açıklaması
Hastaya ait faktörler	Hasta bakımı Yanlış beslenme Şişmanlık Var olan farklı rahatızlıklar Yaş Sigara kullanımı vb.
Operasyon yarasına bağlı faktörler	Kan pıhtısı İskemik doku Yabancı cisimler Ölü doku
Operasyon ekibine ait faktörler	Cerrahın elleri Kullanılan aletlerin sterilizasyonu Hasta önlüğü sterilizasyonu Cilt hazırlığı Cerrahi teknik

5.3 Cerrahi Alan Enfeksiyonlarında Karşılaşılan Mikroorganizmalar

Tablo 5.2'de CAE'de sıklıkla karşılaşılan mikroorganizmalar belirtilmiştir. Ancak implanta bağlı enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* mikroorganizma türleri [65], [66]. Bu organizmalara ek olarak *Peptokoklar*, *Pseudomonas aeroginosa* ve *Proteus mirabilis* biyomalzeme implantasyonunda karşılaşılan mikroorganizmalardır [66].

Tablo 5.2 CAE'de karşılaşılan mikroorganizmalar [67]

Patojen	Yüzde Oranı
Staphylococcus aureus	%9 - %50,3
Koagülaz negatif stafilokoklar	%12 - %25
Enterococcuus spp	%13 - %21
Escherichia coli	%8 - %10
Pseudomonas aeroginosa	%8 - %9
Enterobacter	%8 - %27
Proteus mirabilis	%4 - %6
Klebsiella pneumonia	%3
Candida albicans	%13

5.3.1 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus açık yaralarda ortopedik ameliyatlarda, kalp kapakçığı protez işlemlerinde, kemik, eklem ve yumuşak doku enfeksiyonlarında vb. sıklıkla karşılaşılır. Ölü ya da hasar görmüş kemik dokularında en sık görülen enfeksiyon ajanıdır [65], [66]. Bu ajanla karşılaşılan dokuda iltihap oluşumu ve çeşitli enfeksiyonlar gözlenir. Hastanede yatan hastalarda görülen enfeksiyonların birçoğu *Staphylococcus aereus* bakterisi sorumludur [65].

5.3.2 Escherichia coli

Esherichia coli insanlarda bağırsak ya da bağırsak dışı enfeksiyonlara sebep olan fırsatçı bir ajan olarak bilinir. İdrar yolu, yara apandisit, safra kesesi ve safra yolları enfeksiyonlarından sorumlu ajandır. Ayrıca bir diğeri ve bu tez çalışmasının da konusu için oldukça önemli olan kısmı ise hastane enfeksiyonu olarak bilinmesidir. Hastanede tedavi olmakta olan hastalarda karşılaşılan komplikasyonlar, ikincil enfeksiyonlardan diğer mikroorganizmalara göre daha çok sorumludur [65].

5.4 Bakterilerin Yüzeye Yapışma Mekanizması

Bu bölümde yukarıda bahsedilen enfeksiyonların nasıl oluştuğundan bahsedilecektir.

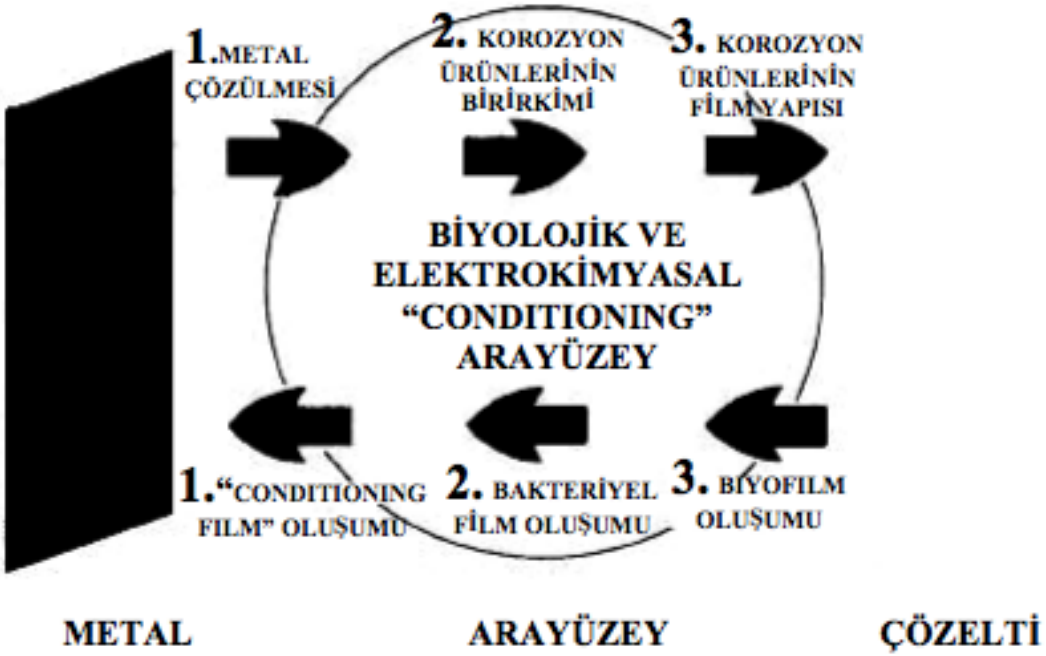
Enfeksiyon oluşumunun oldukça önemli olan en temel aşaması, bakterinin biyomalzeme yüzeyine tutunmasıdır. Bakterilerin hücrelere tutunmasını implant yüzeyinde çoğalma ve biyofilm oluşumu takip eder. Biyofilm tabakası, mikroorganizmaların kendilerini antibiyotik, antikor ve bakteri öldürücü gibi çeşitli ajanlardan korumak için ürettikleri bir matrikstir [15].

Bakterilerin malzeme yüzeyine yapışması şartlanma evresi birinci olmak üzere iki bakteriyel yapışma evresiyle toplam üç basamakta gerçekleşmektedir. Bu basamakları takiben de biyofilm oluşumu görülebilmektedir.

Birincil yapışma (docking stage): Bakteriler güçlü olmayan fiziksel yollarla geri dönüşümlü olarak yüzeye tutunurlar [15].

İkincil yapışma (locking stage): Bakterilerin geri dönüşümü olmaksızın malzeme yüzeyine yapıştığı fazdır. Birincil yapışma ile gevşek yapıda yüzeye bağlanmış olan mikroorganizmalar, bu fazda sağlam bir şekilde laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretimi ile yüzeye tutunurlar [15], [69].

Biyolojik değişimlerde ilk olarak organik ya da inorganik birikimler sonucu ince bir film tabakası oluşur. İkinci adımda ise mikroorganizmalar yüzeye yapışırlar ve koloni oluşturular. İlk adımda bu moleküller zayıf ve kolayca kopabilir durumdalarken ikinci adımda güçlenirler ve tutunurlar. Bu tutunma işlemi ile biyofilm yapısı oluşmaya başlar. Bu adımı, metal bozunması (korozyonu) ve oluşan bozunma ürünlerinin yüzeyde birikmesi sonucu pasifleşme takip eder. Gerçekleşen bu değişimler zıt yönlüdürler. Bozunma metalden yüzeye doğru gerçekleşerek pasif tabaka oluşurken, sıvı ortamda serbestçe hareket eden mikroorganizmalar metal yüzeyine tutunarak biyofilm oluştururlar. Bu şekilde pasif film ve biyofil arasında bir ara yüzey oluşur [38].



Şekil 5.1 Metal-çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen süreçler [38]

6
ANTİMİKROBİYAL TESTLER

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, antimikrobiyal bir ajanın in vitro etkinliğini saptayarak belirli bakteri türüne karşı gösterdiği duyarlılığı tespit eden çalışmalardır. Özellikle klinikte uygulanan tedavilerin belirlenmesinde antimikrobiyal duyarlılık testleri sonuçları esas alınır [70]. İn vitro duyarlılık testleri hastalık etmesi mümkün olan mikroorganizmalarda, özellikle etkenin kullanımda olan antibiyotiklere direnç gösterme olasılığı olduğu düşünüldüğünde yapılmaktadır [71].

Antimikrobiyal testleri incelerken iki ayrı şekilde ayrım yapılabilse de esasında her ikisi de aynı temele dayanır ve aynı yöntemlerden bahseder. Bu ayrım daha etkili anlaşılması amacıyla Tablo 6.1'de detaylandırılmıştır.

Tablo 6.1 Antimikrobiyal testlerin detaylı ayrımı [72], [73]

<table>
<tr><td rowspan="5">ANTİMİKROBİYAL TESTLER</td><td rowspan="3">Numerik Ayrımına Göre</td><td>1. Kalitatif</td><td>Disk Difüzyon Yöntemi (Bauer-Kirby)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">2. Kantitatif</td><td>MIC Belirleyen Testler
• Sıvı Dilüsyon
• Mikrodilüsyon
• Makrodilüsyon
• Agar Dilüsyon</td></tr>
<tr><td>Bakterisid Duyarlılık Testleri
• MBC Belirleyen Testler
• Serum Bakterisid Testleri</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Sinerjist Etkisine Göre Ayrım</td><td colspan="2">Dilüsyon Checkerboard (Dama Tahtası) Yöntemi
• Tüp dilüsyon
• Mikrodilüsyon
• Makrodilüsyon
• Agar Dilüsyon</td></tr>
<tr><td colspan="2">1. Time-kill Yöntemi (Zamana Bağlı Öldürme Yöntemi)</td></tr>
<tr><td colspan="2">2. Disk Difüzyon Yöntemi</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. E-test Yöntemi</td></tr>
</table>

Yukarıdaki tablonun varlığına rağmen genellikle sinerjist etkisine göre ayrım şekli yaygın olarak bilinmektedir. Dolayısıyla yöntemler deteylandırılırken bu ayrım kullanılacaktır.

Bu yöntemleri incelemeden önce bilinmesi gerekan bazı tanımlar vardır.

MİK: Belirli bir sürede bir mikroorganizmanın gözle görülebilen üremesini engelleyen antibiyotik konsantrasyonu (mg/L) minimum inhibatör konsantrasyonu (MİK-MİC) olarak tanımlanmaktadır. Bu değer o mikroorganizmanın uygulanan antibiyotik için duyarlılığına ilişkin bilgi verir ve doğru tedavinin seçilmesine yardımcı olur [71].

MBK: Minimum bakterisidal konsantrasyon başlangıçtaki canlı bakterierin azalmasını sağlayan en düşük konsantrasyon olarak bilinir [71].

6.1 Dilüsyon Checkerboard Yöntemi

Dilüsyon yönteminde kombinasyonların inhibisyon etkisinden yararlanılır. Dilüsyon checkerboard yöntemi antibiyotiklerin in vitro etkisini ölçmede sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Bunun sebebi bu yöntemin anlaşılabilmesi, uygulanması ve matematiksel hesaplarının bir mantığı vardır ve kolaydır. Bu test birden fazla antibiyotiklerin kombinasyonları kullanılarak belirli bir sıcaklıkta ve sürede yapılmaktadır. Dilüsyon testleri antibiyotiklerin minimum inhibatör konsantasyonunu (MİK) saptamak amacıyla yapılırlar. Bu yöntemde yeni ilaçların kıyaslanması, mikroorganizmaların duyarlılıklarının saptanması, rutin olan ancak doğruluğu çok kesin olmayan testlerin doğrulanmasında tercih edilir. Checkerboard yöntemi makrodilüsyon, mikrodilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere üçe ayrılır [71], [73].

Bu yöntemlerde yalnızca MİK elde edilir. Testler çok tekrarlanabilir değildirler, bu nedenle kombinasyonun güvenilirliğini sağlamak oldukça önemlidir [73].

6.1.1 Tüp Dilüsyon (Sıvı Dilüsyon) Yöntemi

Tüp dilüsyon yönteminde test edilecek antibiyotikler özel çözücüler içinde hazırlanır. Mikroorganizmanın standart bir hali hazırlanıp antimikrobiyal ajanın çeşitli dilüsyonlarını içeren her bir tüpe eşit miktarda paylaştırılır. Bunun yanında antibiyotik içermeyen üreme göstergesi olarak kullanılan bir kontrol tüpü, bakteri olmayan sadece besiyeri konmuş bir tüp, çukur ya da kuyu olarak adlandırılabilen bir bölge de besiyeri olarak hazırlanır. Besiyerleri 35 °C civarlarında bir gecelik beklemenin ardından bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Bakterinin üremesini önleyen gözle görülür bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilk konsantrasyonu MİK tespit edilmiş olur [70].

Sümerkan B. ve arkadaşına göre bu yöntem belirli sayıda bakteri ilave edilmiş sıvı besiyeri ile antibiyotik içeren sıvı besiyerleri eşit hacimlerde tüplere ya da kuyucuklara doldurulur. Antibiyotik konsantrasyonları geometrik olarak artar ve amaç MİK'i tespit etmektir [72].

Sıvı dilüsyon yönteminde hem bakteriyel hem de fungal etki edebilecek mikroorganizmalar incelenebilir. Fungal olarak *C. glabrata, Candida, Cryptococcus, Aspergillus, Fusarium, Rhizopus* mantarları incelenebilir [74].

Makrodilüsyon ve mikrodilüsyon tüp dilüsyon metoduyla yapılır. Tüp dilüsyon metodunda besiyeri olarak katyon (kalsiyum ve magnezyum) eklenerek Mueller-Hinton Broth kullanılır [70].

6.1.1.1 Mikrodilüsyon Yöntemi

Mikrodilüsyon yönteminde bakteri üremesini tespit etmek amacıyla mikropleyt kuyucuklar kullanılır. İki farklı antibiyotik kombinasyonu söz konusudur. Bu yöntem en az 2 mL hacim içerisinde yapılmalıdır [72], [73].

6.1.1.2 Makrodilüsyon Yöntemi

Makrodilüsyon yöntemi genel olarak mikrodilüsyon ile aynı adımlara sahiptir ancak temel farkı, bu yöntemde kuyucuk değil deney tüpleri kullanılarak makro hacimlerde çalışılır. En fazla 500 mL hacim kapasiteli tüpler kullanılır [72], [73].

6.1.2 Agar Dilüsyon (Agar Kuyucuk) Yöntemi

Çok sayıda bakteri incelemesi yapılacak ise agar dilüsyon yöntemi sıklıkla kullanılır. Az sayıda antibiyotik kombinasyonu ve çok sayıda bakteriyle çalışabilmek mümkündür [73]. Burada da amaç yine bakteri üremesini engelleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonunu (MİK) tespit etmektir. Bu yöntemde 36'ya kadar bakteri üreme testi yapılabilmektedir. Burada da antibiyotik konsantrasyonu geometrik artış gösterir ve buradaki temel agar katılaşmadan besiyerine ilave edilmesi ve bu besiyerine bakteri katılmasıdır [72].

Yukarıda bahsedilen avantajlardan ve oldukça fazla sayıda bakterinin MİK'ini belirleyebildiği için kullanılacak antimikrobiyal testlerden biri agar kuyucuk (agar dilüsyon) yöntemidir.

6.2 Time-kill Yöntemi (Zamana Bağlı Öldürme Yöntemi)

Checkerboard yönteminde yalnız nhibisyon verileri elde edilmesine rağmen zamana bağlı öldürme yöntemiyle (time-kill) ya da başka bir deyişle öldürme eğrisi tekniğiyle, incelenen kombinasyonun bakterisidal etkisi (MBK) ölçülebilmektedir. Dolayısıyla tedavilerde, deneylerde vb. daha anlamlı sonuç veren bir yöntemdir. Ayrıca dilüsyonlarda neredeyse bir günü bulan zaman dilimlerdinde tek ölçüm yapılabilirken time-kill yönteminde zamanla birlikte değişen etki belirlenebilmektedir. Diğer yöntemlerde olduğu gibi burada da iki antibiyotiğin kombinasyonu ile işlem yapılır. Uzun ve zahmetli bir yöntem olduğundan, fazla sayıda kombinasyon yapmak pek mümkün değildir [73].

MIB ölçülebilen, etkili ve verimli sonuçlar veren bir yöntem olan time-kill, bu tez çalışmasında kullanılacak olan bir diğer antimikrobiyal testtir.

6.3 Disk Difüzyon Yöntemi

Rutin ve daha günlük laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığının saptanmasında sıklıkla kullanılan test disk difüzyon testidir. Ucuzdur ve uygulaması en basit olan yöntemdir. Bu yöntem, kâğıt disklere yerleştirilmiş antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılan mikroorganizmanın ilave edildiği besiyerine difüze edilmesiyle

uygulanır. Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise diskin etrafında oluşan inhibisyon belirtisi de o kadar geniş ve belirgin olacaktır [70].

6.4 E-test Yöntemi

E-test yönteminde test edilecek bakteri belirli bir yoğunluğa getirilip agar yüzeyine yayındırılır. Ardından agar yüzeyine antibiyotikler içeren E-test şeritleri yerleştirilir ve MİK belirlenir [70].

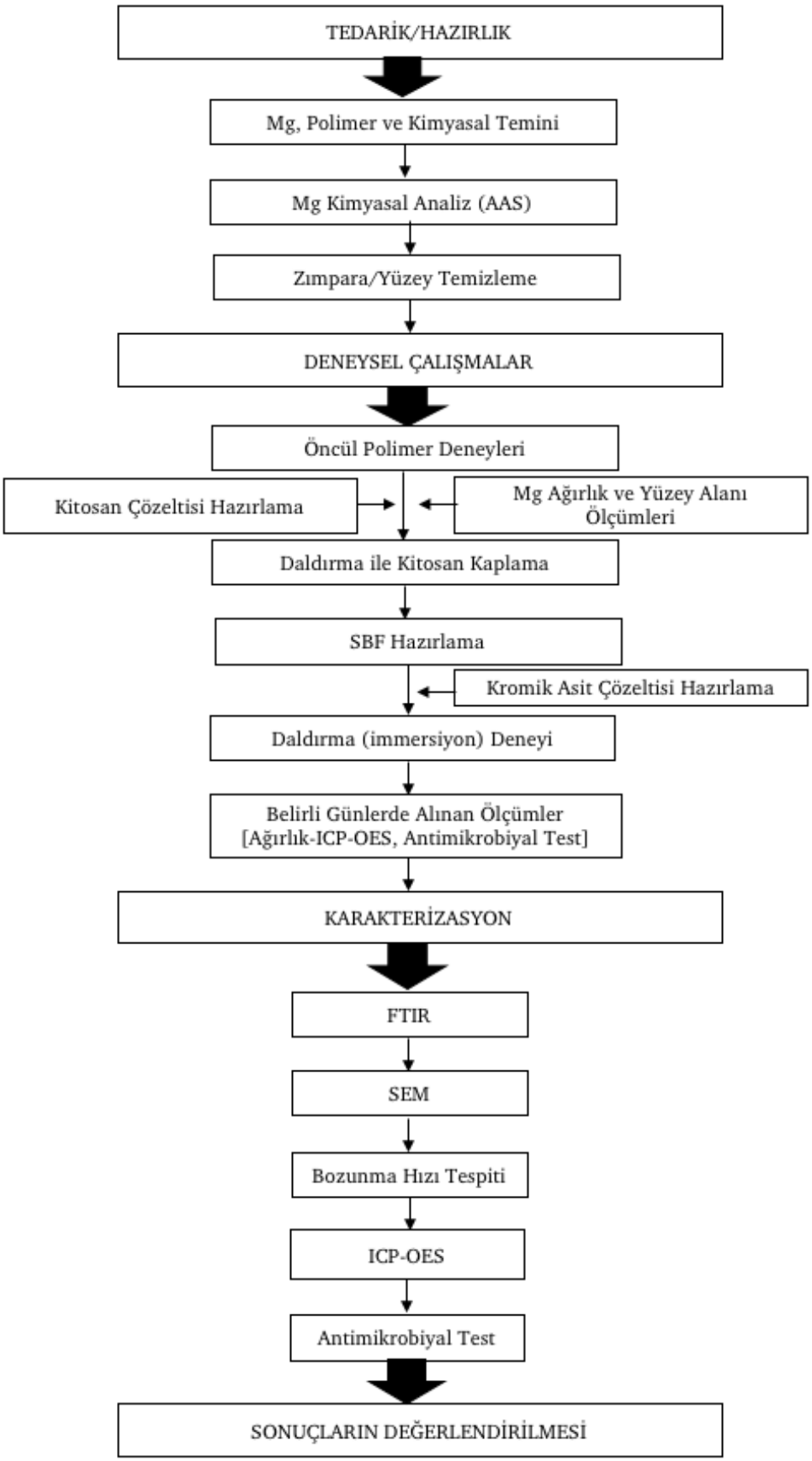
Bölüm 6 da bahsedilen tüm yöntemlere genel bir bakış Tablo 6.2'de gösterilmiştir [73].

Tablo 6.2 Antimikrobiyal testlere genel bakış [73], [75]

Yöntem	**Ölçülebilen antibakteriyel etki**	**Avantaj**	**Dezavantaj**
Checkerboard • Makrodilüsyon • Mikrodilüsyon • Agar dilüsyon	 Bakteriyostatik Bakteriyostatik Bakteriyostatik	Üreme olmayan tüp ya da kuyucuklardan yayınma yapılarak ölçüm yapılabilir. Çok sayıda kombinasyon ve konsantrasyon denenebilir.	Bakterisidal etki datasını elde etmek zordur, öldürme hızını vermez.
Ölüm eğrisi (time-kill)	Bakterisidal**	Belirli ilaç konsantrasyonundaki bakteri ölümünü gösteren iyi bir tekniktir.	Az sayıda kombinasyon denenebilir.
Disk difüzyon	Bakteriyostatik*		Bakterisidal etki elde etmek zordur.
*Antibiyotiklerin etkisiyle bakteri çoğalmasının durması, antibiyotik baskısı ortadan kalktığında bakterilerin çoğalmasının devam etmesi (MİK etki gösterenler) **Antibiyotik etkisi ile bakterilerin ölümü (MBK etki gösterenler)			

7
DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Deneysel çalışmalarda izlenen yollar ve süreçlere genel bir bakış olması ve kolay anlaşılabilmesi amacıyla Şekil 7.1'de akış şeması verilmiştir. Alt başlıklarda ise akış şemasındaki her bir basamak detaylandırılmıştır.



Şekil 7.1 Deneysel çalışmaların akış şeması

7.1 Magnezyum Numunelerin Kimyasal Analizi ve Metalografik Hazırlanması

İngot halinde Cellmark China' dan temin edilen AZ91E magnezyum döküm alaşımının nominal kompozisyonu Tablo 7.1'de gösterilmiştir.

Tablo 7.1 AZ91E nominal kompozisyonu [76]

AZ91E Nominal Kompozisyonu(%)								
Al	Mn	Zn	Si	Fe	Cu	Ni	Diğer (Her biri)	Diğer (Toplam)
8,1-9,3	0,17-0,35	0,4-1,0	0,20 maks	0,005 maks.	0,0015 maks.	0,001 maks.	0,01 maks.	0,030 maks.

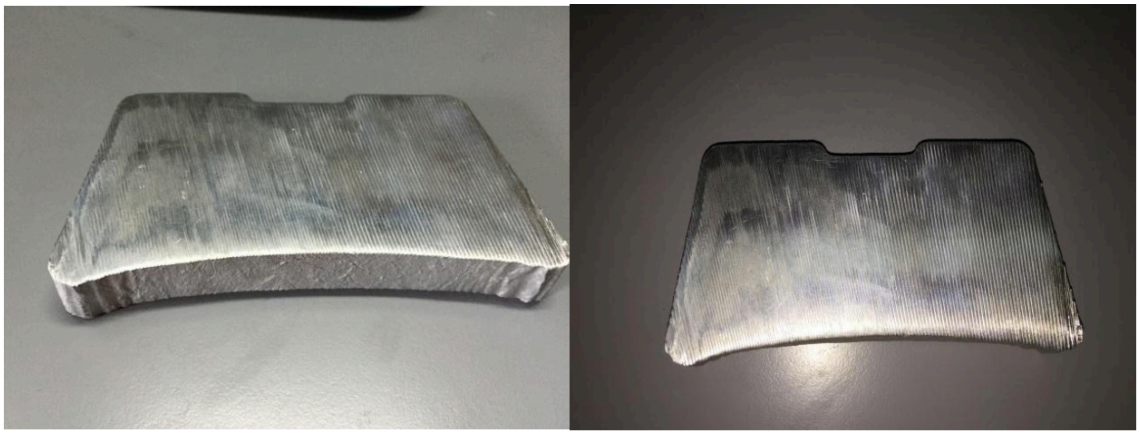
Temin edilen magnezyum döküm alaşımının kimyasal bileşimini belirlemek ve nominal kompozisyonla uyumlu olduğunda emin olmak amacıyla YTÜ Metalurji Malzeme Mühendisliği Laboratuvarında Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (AAS) ile kimyasal kompozisyonu analizi yapılmıştır (Tablo 7.2). Nominal kompozisyon ile temin edilen alaşımın kimyasal bileşimlerinin uyumluluğundan emin olunca sonraki adıma geçildi.

Tablo 7.2 AAS ile belirlenen temin edilen AZ91E kimyasal kompozisyonu

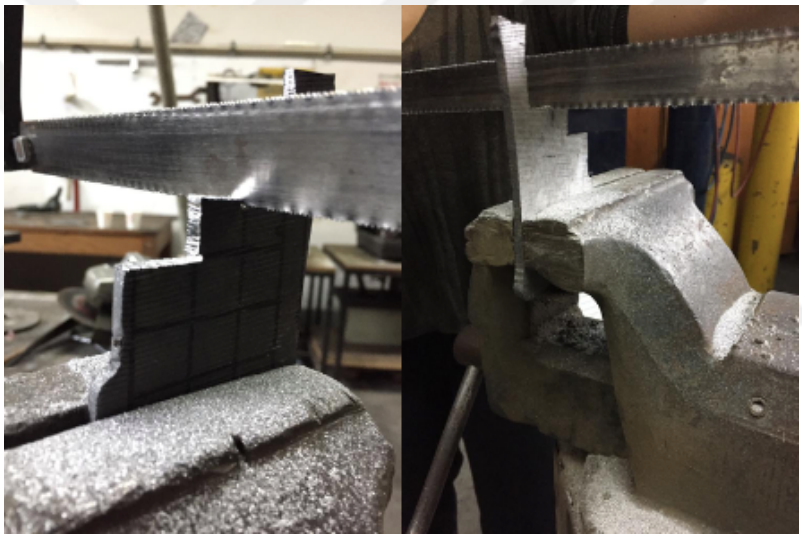
Alaşım Elementleri	**AZ91E Kimyasal Bileşimi (%)**
Mg	90,253
Al	8,95
Zn	0,56
Mn	0,19
Fe	0,0022
Be	0,0006
Si	0,024
Cu	0,0010
Ni	0,0002
Ca	0,00012
Diğer	0,0036

Kimyasal kompozisyon belirleme kısmının ardından magnezyum külçe ilk olarak talaşlı işlemde dilimlenerek belirli bir boyuta indirildi (Şekil 7.2). Dilimlemenin ardında ise yine talaşlı işlemle yaklaşık 5 cm^2 olacak şekilde çok sayıda ufak boyutlu parçalar haline getirildi (Şekil 7.3). En son olarak ise daldırma işleminde

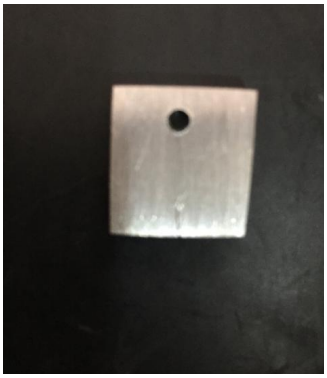
kolaylık sağlaması açısından üst ortalarından delikler açılarak son şekilleri verildi (Şekil 7.4).



Şekil 7.2 Magnezyum dilimleri



Şekil 7.3 Magnezyum numunelerin talaşlı işlem ile küçültülmesi



Şekil 7.4 Magnezyum deney numunelerin şekil verilmiş son hali

Boyutları küçüktülerek kaplama işlemine hazırlanan numuneler, metalografik yöntemler kullanılarak kaplamanın istenilen kalitede olması için sırasıyla, kaba zımparalama (180 grit) ve ince zımparalama (320, 600, 1200 grit) teknikleriyle el ile zımparalandı. Bir zımparadan diğerine geçileceği zaman, bir önceki zımpara tanelerinin, kendisinden daha ince taneli olan zımparaya geçmesini önlemek amacıyla numuneler ayrı ayrı yıkanarak temizkendi. Zımparalama işleminden sonra, yüzeyde olabilecek çatlaklara ve porozitelere yerleşebilecek zımpara tanelerini temizlemek amacıyla, numuneler önce aseton içerisinde belli bir süre bekletildi. Daha sonra etil alkol ile temizlendi ve etil alkol yüzeyden uzaklaştırmak için ön kurutma işlemi yapıldı. Ardından numuneler yaklaşık 37 ^{0}C de etüvde 30 dakika kurutularak kaplama işlemine hazır hale getirildi.

7.2 Öncül Polimer Deneyleri

Öncül polimer deneylerini yapmamızın esas amacı; Sigma Aldrich'ten alınan düşük molekül ağırlıklı kitosan polimerinin çözücüsü olarak kullanılan (molekül ağırlığı 60.05 g/mol, yoğunluğu 1.049 g/ml, % 99.8-100.5 saflıkta, Sigma Aldrich) asetik asitin konsantrasyonunu belirlemektir. Çünkü yüksek derişimde asetik asit ile hazırlanmış olan kitosan çözeltisi kaplama esnasında magnezyuma zarar verecektir.

İlk olarak %1 derişimde asetik asit çözeltisinin içerisine magnezyum daldırıldı. Ancak saniyeler içerisinde bu çözeltinin magnezyum yüzeyinde kabarcıklar çıkardığı ve yüzeye kısa sürede zarar verdiği görüldü (Şekil 7.5).

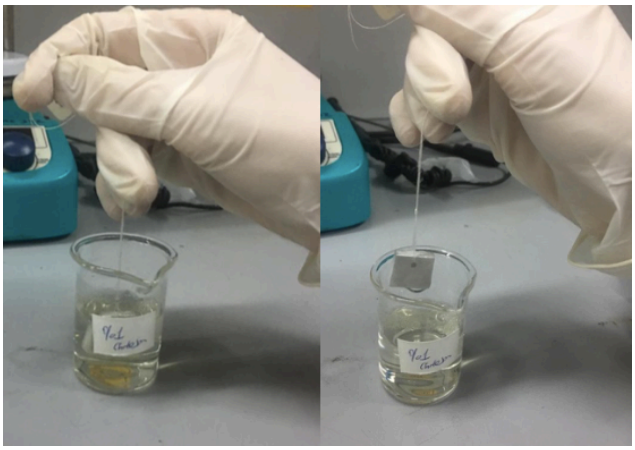


Şekil 7.5 %1 derişimde asetik asit içerisinde magnezyum numunenin durumu

Şekil 7.5'teki gibi bir görünüm oluştuğu için asetik asit çözeltisini binde beş (5/1000) konsantrasyonunda seyrelterek hazırlandı. Herhangi bir kazaya engel olmamak adına saf suyun üzerine asit damlatıldı. 20 ml saf su içerisine 0,1 ml asit eklenerek seyreltik asetik asit çözeltisi hazırlandı.

$$Asetik\ asit\ miktarı = \frac{Kullanılan\ saf\ su\ miktarı\ (20\ mL)\times 5}{1000} = 0{,}1\ mL \qquad (7.1)$$

Asetik asit derişimine karar verdikten sonra Bölüm 7.3'te anlatılan kitosan polimer çözeltisi hazırlarak deneme magnezyum numunesiyle daldırma kaplama parametreleri belirlendi. Bu amaçla yine iple tutulan magnezyum numunesi belirli daldırma sayısı ve daldırma süreleri denendi (Şekil 7.6). Bu deneme sonunda kaplama homojenliği ve kalınlığının gözle görülebilirliğinin varlığı ön planda tutularak daldırma sayısı 3, daldırma süresi olarak 1 saniye olarak belirlendi.



Şekil 7.6 Daldırma kaplama işlemi

7.3 Kitosan Çözeltisi Hazırlama

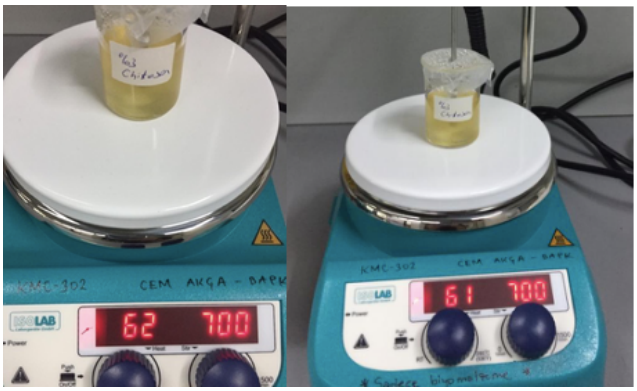
Kitosan konsantrasyonunun magnezyumun vücut içerisindeki bozunma hızına ve tasarlanan implantın antimikrobiyal etkisini tespit edebilmek için farklı konsantrasyonlarında polimer çözeltileri hazırlandı Literatür çalışmalarına göre 900 ml hacimindeki bir çözelti içerisine 1 g kitosan ilavesi ile %0,1 derişimde kitosan çözeltisi hazırlanır. Söz konusu literatür çalışmalarının ışığında, (7.2) eşitliği kullanılarak ağırlıkça (wt.) %1, %3 ve %5 olmak üzere üç farklı derişimde kitosan polimer çözeltisi hazırlandı.

$$Polimer\ miktarı = mçözücü \times \frac{\%konsantrasyon}{900} \qquad (7.2)$$

Bu çalışmaların ışığında %1 wt. kitosan çözeltisi için önceden hazırlanmış 20 ml seyreltik asetik asit çözücüsüne 0,001 g hassasiyetteki Denver Instrument markalıdarası alınmış hassas teraziide tartılan 0,22 g kitosan eklendi. Isolab ısıtıcılı manyetik karıştırıcı cihazında, 60 °C de ve 2 saat boyunca karıştırılarak %1 wt. konsantrasyonda çözelti hazırlandı.

%3 konsantrasyonunda çözelti için 20 ml hacimdeki çözücüye 0,66 g kitosan ilave edildi ve 60 °C de yüksek devirde 8 saat boyunca karıştırılarak hazırlandı.

%5 derişimli çözelti içn 20 ml hacimdeki çözücüye 1,1 g kitosan ilave edildi ve 60 °C de yüksek devirde 12 saat boyunca karıştırılarak hazırlandı.



Şekil 7.7 Polimerlerin hazırlanışı

7.4 Magnezyum Numunelerin Ağırlık ve Yüzey Alanı Ölçümleri

Metalografik yöntemlerle kaplama işlemine hazır hale getirilen numunelerin kaplanmasından önce sonuçlar kısmında ağırlık kayıplarından faydalanılarak hesaplanacak olan bozunma hızlarının tespit edebilmek amacıyla tüm numuneler teker teker hassas terazide tartıldı. Kaplama işlemine yardımcı olabilmesi açısından vücut içi kullanılabilir özellikteki bir ip numunelere geçirildi. Dolayısıyla hem sadece magnezyumun hem de ip takılmış olanların tartımları ayrı ayrı yapıldı. Tartım işleminin ardından son olarak yüzey alanları hesabını yapmak amacıyla en ve boy uzunlukları kumpasla (NSK MASK-CAL) ölçüldü (Şekil 7.8). Ölçülen numuneler kaplamasız ve üç ayrı konsantrasyonda polimer kaplamalı numuneler olmak üzere 4 ayrı gruba ayrıldı. Tüm numunelerin ağırlıkları ve yüzey alanları Tablo 7.3'te verilmiştir.



Şekil 7.8 Numunelerin kumpasla ölçümleri

Tablo 7.3 Kaplama işleminden önce numunelerin ağırlıkları ve yüzey alanları

Magnezyum Numune Numaraları	Ağırlık (g)		Boyutlar (mm)		Yüzey Alanları (cm^2) (En x Boy)
	İpli ağırlık	İpsiz ağırlık	En	Boy	
1	1,6440	1,6582	14,81	15,72	2,32
2	1,5894	1,5998	13,52	16,13	2,18
3	1,4253	1,4412	13,84	13,68	1,89
4	1,6369	1,6498	14,68	15,15	2,22
5	1,6550	1,6704	14,28	15,44	2,20
6	2,0890	2,1042	16,07	16,16	2,59
7	1,5128	1,5338	13,88	14,29	1,98
8	1,4011	1,4191	13,28	14,81	1,96
9	1,4767	1,4930	13,88	13,98	1,94
10	1,3183	1,3383	12,47	13,66	1,70
11	16289	1,6397	14,04	16,09	2,25
12	1,2878	1,3001	12,15	15,00	1,82
13	1,2572	1,2681	12,29	13,57	1,66
14	1,2542	1,2660	13,25	13,53	1,79
15	2,0776	2,0866	14,05	18,48	2,59
16	1,6535	1,6646	15,41	16,41	2,52
17	2,4545	2,4694	14,77	22,17	3,27
18	1,4185	1,4293	13,58	13,88	1,88

7.5 Daldırma Kaplama Yöntemi ile Kitosan Kaplama

Önceden hazırlanan ağırlıkça %1, %3 ve %5 konsantrasyonundaki polimer ile Tablo 7.3'teki numuneler Dekstop Dip Coater kaplama cihazı kullanılarak kaplandı.

%1 wt. derişimdeki kitosan polimeri ile kaplama işlemi için 1, 2, 3, 4 ve 5 numaralı magnezyumlar seçildi. Oda sıcaklığında, daldırma süresi 1 saniye ve daldırma sayısı 3 olmak üzere seçilen 5 numunenin hepsi sırayla daldırılarak kaplandı ve sonrasında havada kurutma işlemi yapıldı (Şekil 7.9).



Şekil 7.9 Daldırma kaplama cihazı

%3 wt. derişimdeki kitosan polimeri ile kaplama işlemi için 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı magnezyum numuneleri seçildi. Kaplama işlemi 1 saniye daldırılarak 3 defada tamamlandı ve havada kurutuldu.

%5 wt. konsantrasyonundaki kitosan polimeri ile kaplama için 11, 12, 13, 14 ve 15 numaralı numuneler seçildi. 1 saniye süre ile 3 defa daldırma işlemi yapıldı, kurutma işleminin ardından kaplama işlemi tamamlandı. 16, 17, 18 numuralı numuneler ise kaplamasız olarak bırakıldı.

7.6 SBF Hazırlama

Kitosan polimeri kullanılarak farklı konsantrasyonlarda kaplanan numunelerin vücut içerisinde korozyon davranışlarını incelemek amacıyla immersiyon (daldırma) deneyi uygulandı. Daldırma deneyi için ilk olarak in vitro çözeltisi hazırlandı.

Daldırma deneyi için Bölüm 4.5'te bahsedildiği gibi Cüneyt Taş'ın tarifi kullanılarak sentetik vücut sıvısı (SBF) hazırlandı.

Tablo 7.4 Cüneyt Taş SBF reçetesi [64]

SBF Çözeltisi	
Kimyasal Adı	**Miktarı**
Ultra saf Su	960 mL
HCl	39 mL
NaCl	6,5456 g
$NaHCO_3$	2,2682 g
KCl	0,373 g
Na_2HPO_4	0,1419 g
$MgCl_2,6H_2O$	0,3049 g
$CaCl_2.2H_2O$	0,3675 g
Na_2SO_4	0,071 g
$(CH_2OH)_3CNH_2$ (Tris)	6,057 g

$$M = \frac{n}{V} \tag{7.1}$$

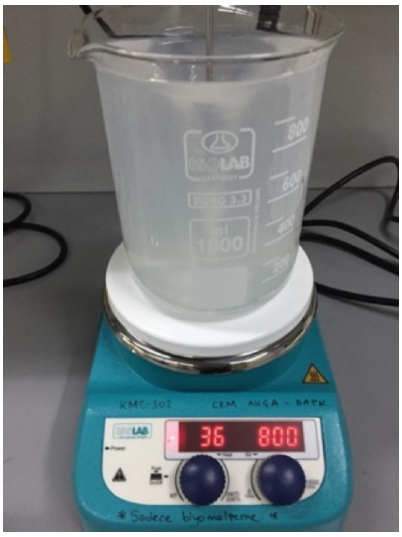
$$d = \frac{m}{V} \tag{7.2}$$

$$n = \frac{m}{mA} \tag{7.3}$$

İn vitro çözeltisinin hazırlamak amacıyla lk etapta kullanılması gereken HCl hazırlandı. 100 mL hacimde ve 1 molar HCl çözelti hazırlamak amacıyla %37 wt. saflıkta ve M_A=36,46 g olan HCl'den (Sigma-Aldrich) eşitlik (7.1), (7.2) ve (7.3) kullanılarak 8,21 ml HCl kullanılması gerektiği hesaplandı. Kalan hacim ultra saf su ile tamamlanarak çeker ocakta 1 M HCl çözeltisi hazırlandı.

Vücut içerisindeki sıvıyla benzer özellikte SBF solüsüyonu çözeltisi, kaynak [64] tarifi esas alınarak hazırlandı. Yukarıda verilen reçetedeki kimyasallar sırayla eklendi ve her ilaveden sonra diğer kimyasal eklenmeden önce çözelti manyetik karıştırıcı vasıtasıyla 3 dakika boyunca karıştırıldı. İlk olarak manyetik karıştırıcı

üzerinde bulunan ve çözelti hazırlama süreci boyunca devamlı karıştırılacak olan 1000 ml kapasitesindeki bir beher içerisine atmosferik sıcaklıkta 960 ml ultra saf su eklendi. Bu ultra saf suyun içerisine ilk olarak 6,5456 g Sigma-Aldrich NaCl ilave edildi ve 3 dakika karıştırıldı. Ardından sırasıyla ve 3 er dakika ara ile 2,2682 g $NaHCO_3$ (Sigma-Aldrich), 0,373 g KCl (Sigma-Aldrich) ve 0,1419 g Na_2HPO_4 (Sigma-Aldrich) eklendi. Eklenen kimyasalların karışması sağlandıktan sonra çözelti sıcaklığı 36,5-37 ˚C ye ayarlandı ve bu sıcaklığa ulaşana kadar herhangi bir kimyasal eklenmeden karıştırıldı. Bu sıcaklıkta ulaştıktan sonra çözeltiye 0,3049 g $MgCl_2.6H_2O$ (Fluka Analytical) ilave edildi. Daha sonra önceden hazırlanmış olan HCl solüsyonundan pipet ile 9 ml çekilerek karıştırılmakta olan çözelti içerisine yavaş yavaş eklendi. Sonrasında $CaCl_2.2H_2O$ (Sigma-Aldrich) kimyasalından 0,3675 g, devamında 0,071 g Na_2SO_4 (Sigma-Aldrich) ve son olarak ise 6,057 g Tris ($C_4H_{11}NO_4$) Sigma kimyasalından eklendi ve güçlü bir şekilde karıştırılmaya devam edildi. Tris ilavesinden sonra çözelti renginde beklenildiği gibi bulanıklık gözlendi (Şekil 7.10). Ardından 37 ˚C sıcaklıkta tutulan SBF solüsyonu içerisine kalibre edilmiş pH metre daldırıldı. Önceden hazırlanmış olan 1 M HCl'den kontrollü bir şekilde yavaş yavaş pH metrede 7.4 okunana kadar ilave edidi. Böylece pH= 7.4 ve sıcaklığı 37 ˚C olan bir yapay vücut sıvısı çözeltisi hazırlanmış oldu. Hazırlanan çözelti 24 saat boyunca çökelme olup olmadığını kontrol etmek amacıyla oda sıcaklığında bekletildi. 24 saatin sonunda çökelti olmadığından emin olduktan sonra 4 ˚C sıcaklıkta muhafaza edildi. Gerektiği takdirde bu solüsyon tekrar tekrar hazırlandı.



Şekil 7.10 Tris eklendikten sonra SBF çözeltisi

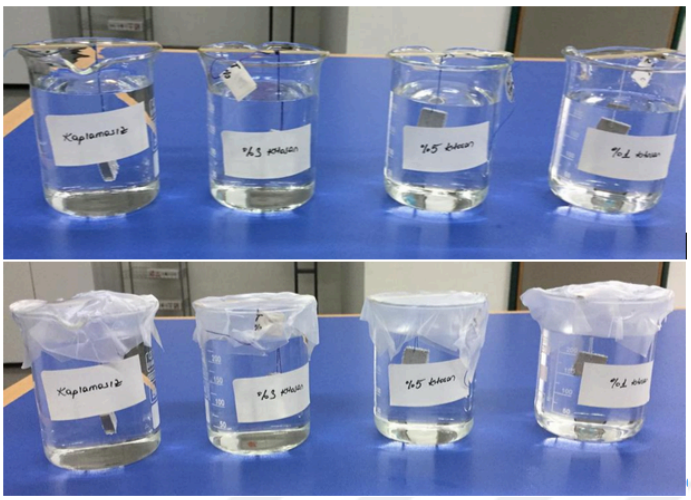
7.7 Kromik Asit Temizleme Çözeltisinin Hazırlanması

Bölüm 7.8'de anlatılacak olan daldırma deneyleri sırasında numunelerin yüzeyinde oluşan korozyon ürünlerini temizlemek amacıyla krom oksit çözeltisi hazırlandı. Bunun için 1 litre ultra saf su içerisine 180 g/l krom oksit (Sigma-Aldrich) ile 10 g/l gümüş nitrat (Sigma-Aldrich) ilave edilerek 1 saat boyunca karıştırıldı. Elde edilen bu kırmızı çözelti bozunmasını önlemek amacıyla güneş ışınlarından uzak bir ortamda saklandı ve gerektikçe tekrar tekrar hazırlandı.

7.8 Daldırma (İmmersiyon) Deneyleri

Yapay vücut sıvısının hazırlanışının ardından farklı özellikteki numunelerin vücut içerisindeki bozunma hızını ve antimikrobiyal etkilerini tespit etmek amacıyla daldırma deneyi başlatıldı. Bu deney için hazırlanan 1000 ml hacmindeki SBF çözeltisi dört ayrı 250 ml hacmindeki beherlere paylaştırıldı. Her birine kaplamasız, %1 wt. konsantrasyonlu kitosanla kaplanmış, %3 wt. konsantrasyonlu kitosanla kaplanmış ve %5 wt. konsantrasyonlu kitosanla kaplanmış farklı özellikteki önceden hazırlanmış magnezyum numuneler daldırıldı. Tablo 7.3'te ifade edilmiş numunelerden kaplamasız olarak 18 numaralı, %1 konsantrasyonlu kitosan için 2 numaralı, %3 konsantrasyonlu kitosan için 6 numaralı ve %5'lik için ise 12 numaralı numuneler seçildi. Deneyde daldırılan numunelerin ve SBF

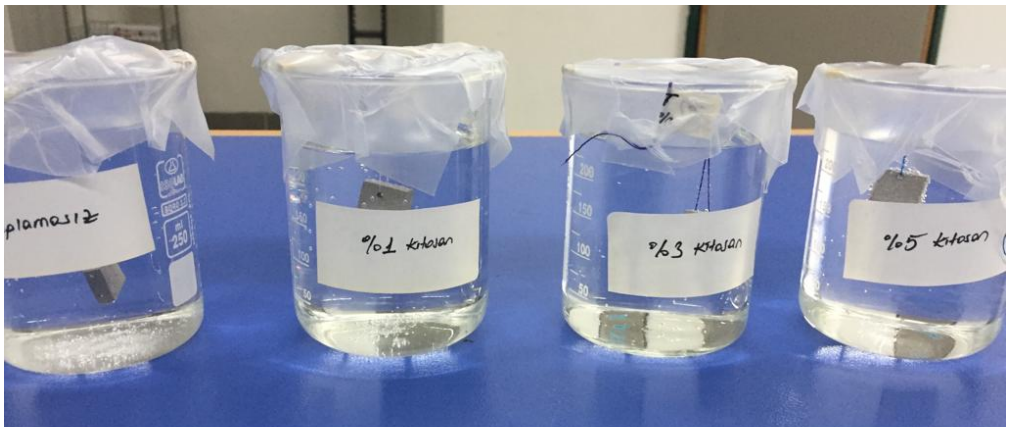
çözeltisinin hava ile temasını kesmek ve dışarıdan gelecek herhangi bir etkiden korunmak amacıyla her bir beherin yüzeyi parafilm ile kapatıldı (Şekil 7.11).



Şekil 7.11 Daldırma deneyi ilk aşaması

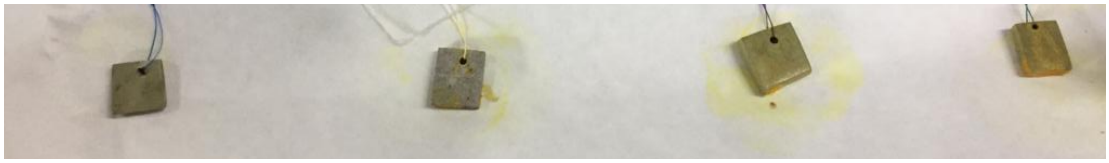
Daldırma işleminden sonra beherler vücut sıvısının sıcaklığında bekletilerek gerçek bir vücut içi etkisi sağlayabilme amacıyla 36,5-37 ˚C sıcaklıktaki etüvde bekletildi.

24 saatin sonunda belirli ölçümler alınması amacıyla numuneler etüvden çıkarıldı ve çıkarıldığı anda beher tabanlarında numune özelliklerine bağlı olarak bozunan magnezyum alaşımlı partiküller gözlendi. (Şekil 7.12). Çıkarılan numunelerin ilk olarak hızlı kurutmanın ardından tartımları alındı. İlk tartımın ardından numuneler önceden hazırlanan kromik asit çözeltii içerisine 30 s boyunca daldırıldı. Sonrasında ise Blulab marka ultrasonik banyo kullanılarak 1'er dk boyunca temizlendiler. Ardından ultra saf su ile muamele edildikten sonra 50 ˚C sıcaklıktaki etüvde kurutuldu.



Şekil 7.12 Daldırma deneyinin 24 saat sonunda beherlerdeki durum

Yukarıda bahsedilen işlemlerden farklı olarak dört ayrı numunelerin daldırılmış olduğu dört ayrı beherdeki in vitro sıvılarının her birinden bozunma hızını anlamak amacıyla seçilen ICP-OES testi için 15'er ml ve antibakteriyel ve antifungal etkiyi anlamak amacıyla Agar kuyucuk testi için ise 3'er ml solüsyon örnekleri steril falkon tüplere aktarıldı. ICP-OES testi için alınan örnekler oda sıcaklığında muhafaza edilirlen, antimikrobiyal test için alınan sıvılar test zamanı gelene kadar herhangi bir bakteri oluşumunu önlemek amacıyla -18 ˚C sıcaklıkta dondurularak muhafaza edildi.



Şekil 7.13 Daldırma deneyleri sırasında alınan numune görüntüleri

Son olarak ise temizlenmiş ve kuru numunelerin ağırlıkları ölçüldü. Bu işlemden sonra numuneler tekrar aynı yapay vücut sıvıları içerisine daldırılarak 36,5-37 ˚C sıcaklıktaki etüve konuldu.

Yukarıda bahsedilen işlemler deneyin başladığı gün başlangıç kabul edilerek 1.gün, 2. gün, 3. gün, 7.gün, 14.gün, 21. ve 28. gün olmak üzere 7 defa tekrarlandı ve 28. günün sonunda deney sonlandırıldı. Alınan ölçümler ile tez çalışmasının hedefleri doğrultusunda birtakım karakterizasyonlar ve testler yapıldı.

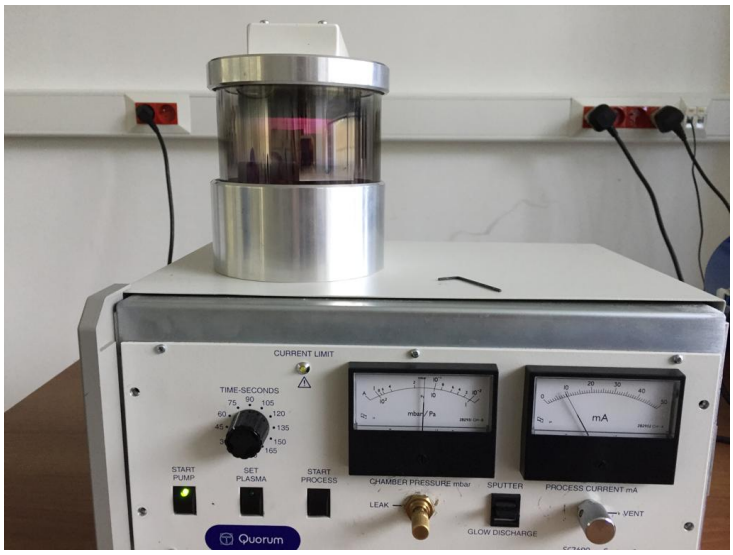
7.9 Karakterizasyonlar ve Testler

FTIR

Kaplamanın varlığından emin olmak ve farklı konsantrasyonlarındaki polimerlerin etkilerini incelemek amacıyla Yıldız Teknik Üniversitesi (YTÜ) Merkez Laboratuvarında Perkin Elmer markalı Spectrum 100 FTIR (Fourier Trandsform Infrared Spektrometre) ile karakterize edildi. Bu işlemde amaç kaplama karakterizasyonu olduğu için kaplamasız numune test edilmedi. Sırasıyla %1, %3 ve %5 kitosan kaplamalı numuneler için Tablo 7.3'teki numunelerden yine sırasıyla 5, 10 ve 11 numaralı numuneler seçildi.

SEM

Kaplama varlığının görmek, üç ayrı konsantrasyonlu kitosan polimeri ile kaplanmış numunelerin kaplama kalınlıklarını ve farklarını anlamak amacıyla taramalı elektron mikroskobunda inceleme yapılmıştır. Öncelikle yalıtkan olan kaplamasız ve kaplamalı toplam 4 numune, aynı anda Quorum marka SEM kaplama cihazında Au-Pd ile kaplandı ve iletkenliği sağlandı (Şekil 7.14). YTÜ Merkez Laboratuvarında Zeiss marka Evo LS10 model numaralı SEM (Scanning Electron Microscope) tercih edildi. Bunun için kaplamasız, %1, %3 ve %5 kitosanlı kaplamalı numuneler için sırasıyla 16, 4, 8 ve 14 numaralı numuneler seçildi.



Şekil 7.14 SEM kaplama cihazı

ICP-OES

Vücut içerisinde magnezyum numunelerin bozunma hızlarının tespitini incelemek amacıyla YTÜ Merkez Laboratuvarında Shimadzu ICPE-9000 Plasma Atomic Emission Spectrometer cihazı ile her ölçüm gününde daldırılan sıvılardan alınan örnekler ile ölçüm yapıldı.

Antimikrobiyal Test

Magnezyum numunelerin yapay vücut sıvısı içerisinde antimikrobiyal etkilerinin olup olmadığını var ise hangi oranda olduğunu anlamak amacıyla YTÜ Mikrobiyoloji Laboratuvarında Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU tarafından, besiyeri olarak genellikle in vitro ortamlarında yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde tercih edilen genel katı besiyeri olan Nutrient Agar (NA) [77] kullanılarak Agar Kuyucuk yöntemiyle antimikrobiyal deneyler yapıldı.

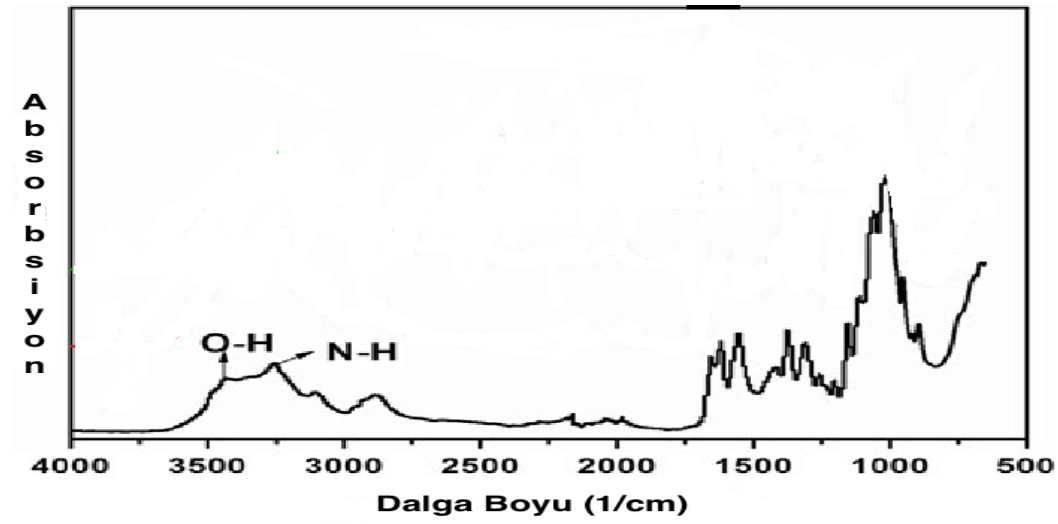
Antimikrobiyal çalışmaya ilaveten deneysel çalışmalar esnasında çalışma koşullarına bağlı olarak herhangi bir bakteri kontaminasyonu olup olmadığını anlamak amacıyla da bir çalışma yapıldı. Bunun için birçok mikroorganizmanın üremesi için zengin bir besiyeri olan Tyiglikolik asit (TGA) [78] tercih edildi.

8
SONUÇ VE ÖNERİLER

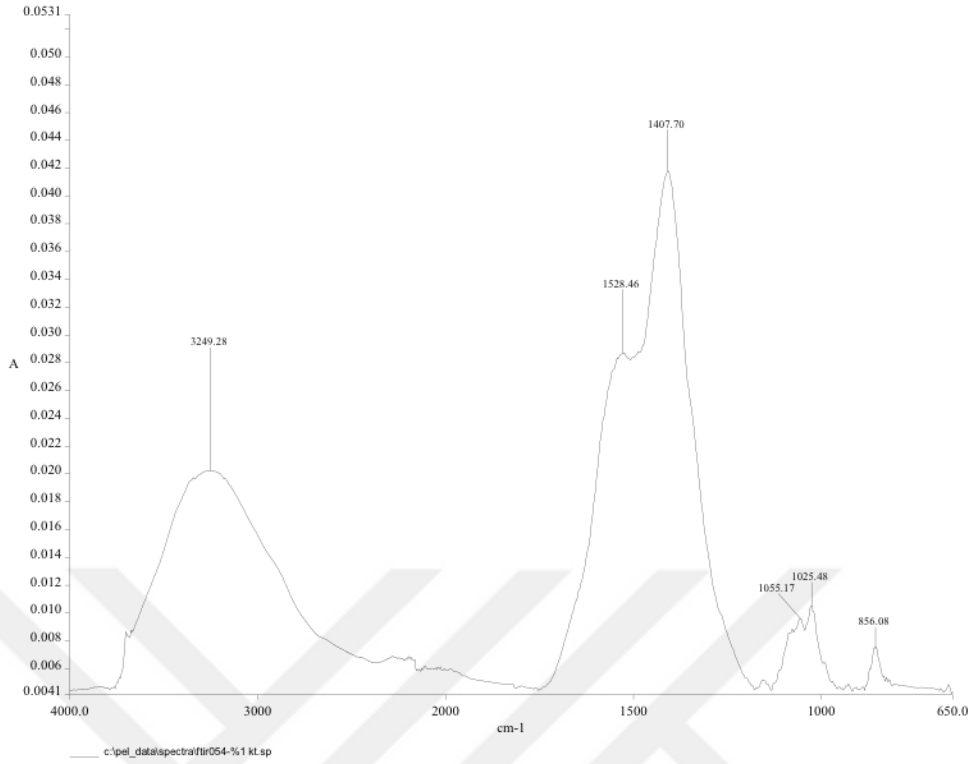
Bölüm 7'de yapılan tüm deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar ve çıkarımlar aşağıda incelenmiştir.

8.1 FTIR

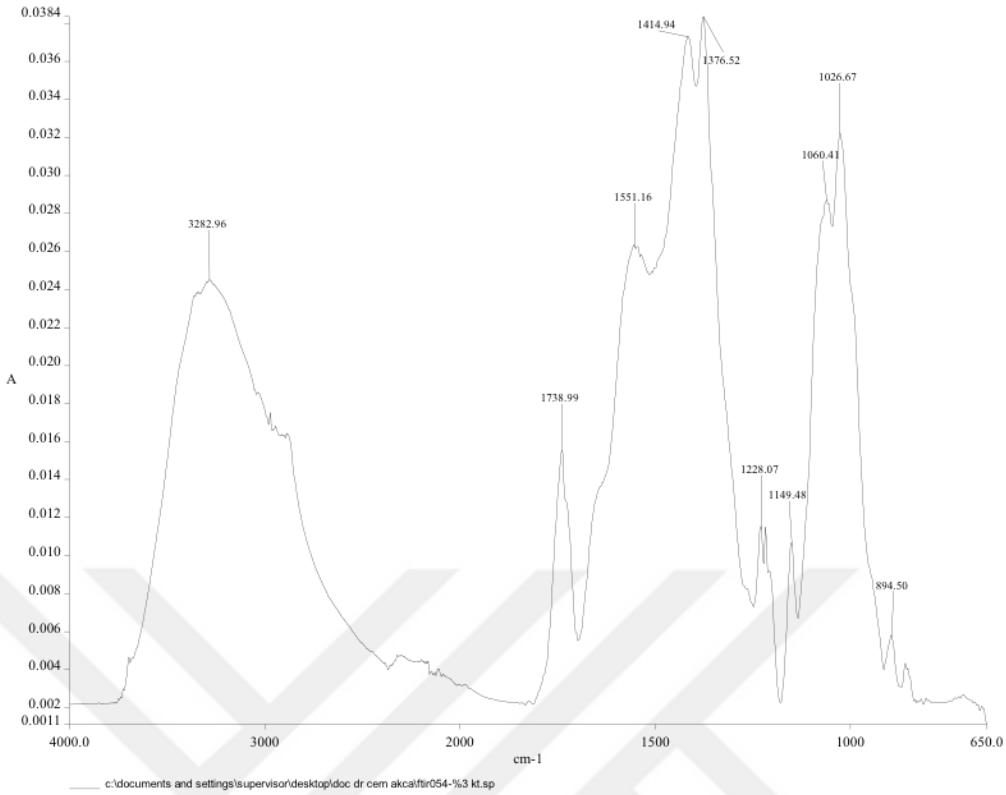
Üç farklı konsantrasyonlu kitosan çözeltisi ile kaplanan numunelere kaplama karakterizasyonu yapmak amacıyla uygulanan FTIR sonuçları Şekil 8.1 ile Şekil 8.4 arasında gösterilmiştir.



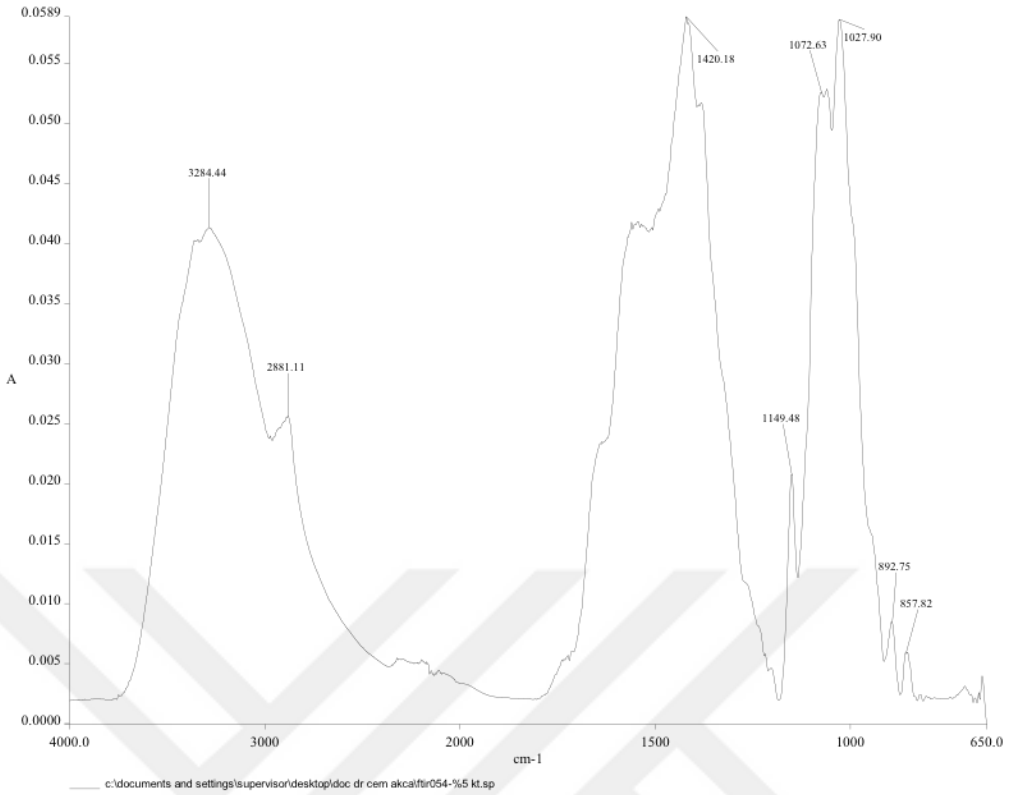
Şekil 8.1 Standart düşük molekül ağırlıklı kitosan FTIR spektrumu



Şekil 8.2 %1 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış Mg numunenin spektrumu



Şekil 8.3 %3 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış Mg numunenin spektrumu



Şekil 8.4 %3 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış Mg numunenin spektrumu

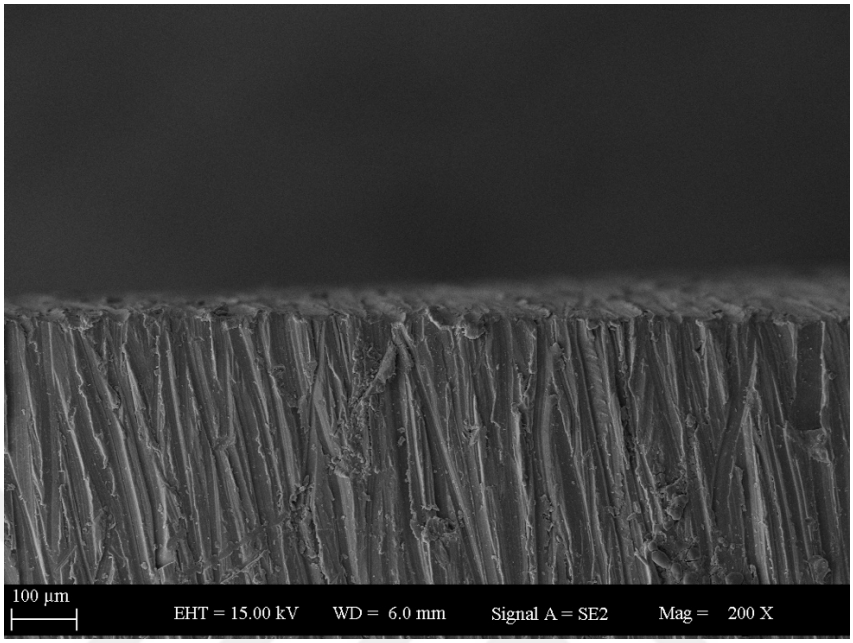
Yukarıdaki görseller incelendiğinde kitosanın standart absorbans eğrisinin verdiği pikler ile bu tezde çalışılan üç farklı konsantrasyondaki kitosanın gösterdiği eğriler benzerlik göstermektedir. Standart kitosanda 3500-3300 dalga boyunda (1/cm) var olan N-H ve O-H bağları diğerlerinde de görülmektedir. Bununla birlikte %1 konsantrasyonlu kitosan kaplamasında 1000 1/cm dalga boyunda beklenen pik görülememiştir. %3 ve %5 kitosan ile yapılan kaplamalarda FTIR sonuçları kaplamanın yeterli olduğunu %1 ile kaplanan numunelerde ise yetersiz olduğunu göstermiştir.

8.2 SEM

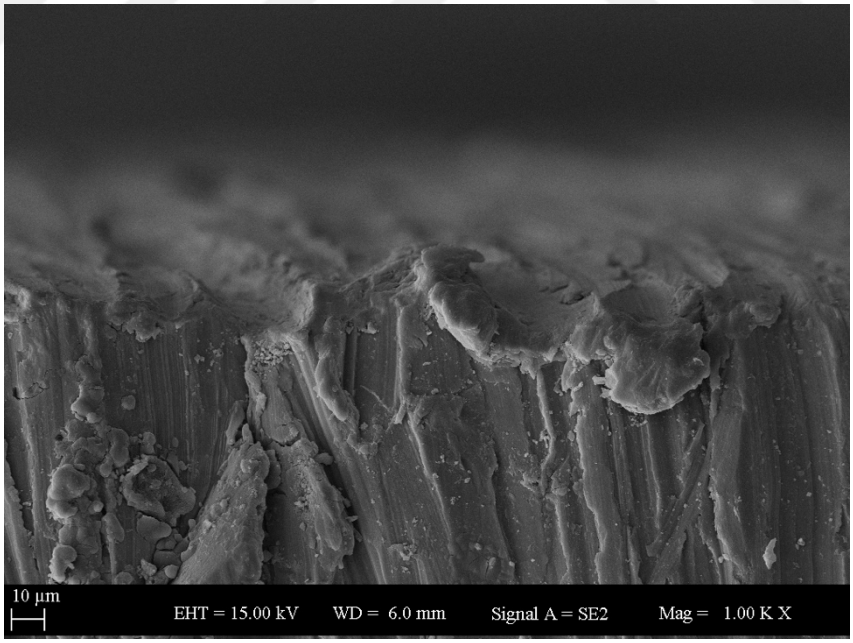
Kaplamanın topografik yapısını incelemek, homojenliği hakkında fikir edinmek ve kaplama kalınlıklarını tespit edebilmek amacıyla taramalı electron mikroskobunda inceleme yapılmıştır.

Kaplamasız magnezyum

Kaplamasız magnezyum incelenirken elde edilen görüntüler daha anlamlı olduğu için ikincil elektronların (secondary electron) yansıması ile alındı.



Şekil 8.5 Kaplamasız numuneninin SEM görüntüsü, 200 X büyütme

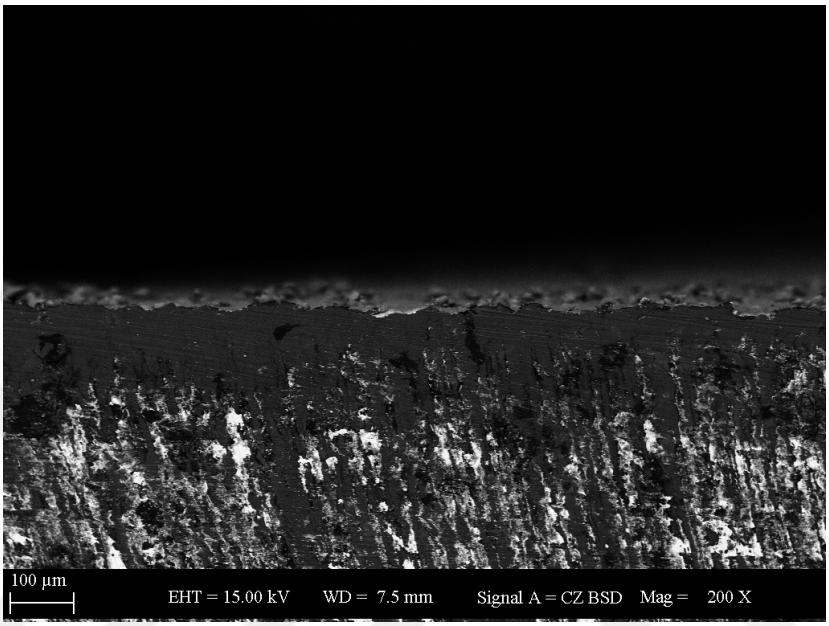


Şekil 8.6 Kaplamasız numunenin SEM görüntüsü, 1.00 KX büyütme

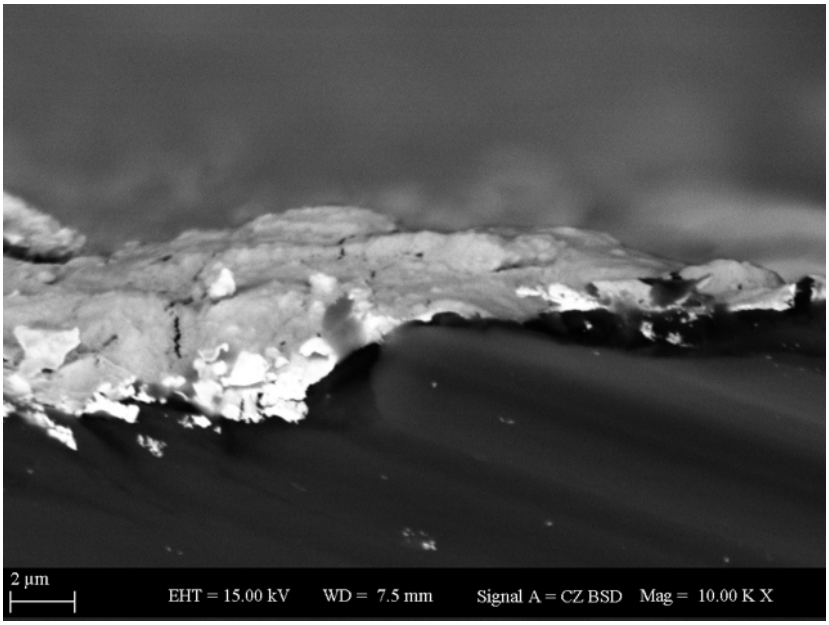
Kaplamasız magnezyum numune incelendiğinde beklendiği gibi yalnızca zımpara gibi metalografik hazırlıklardan kalma izler görülmüştür.

%1 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış magnezyum

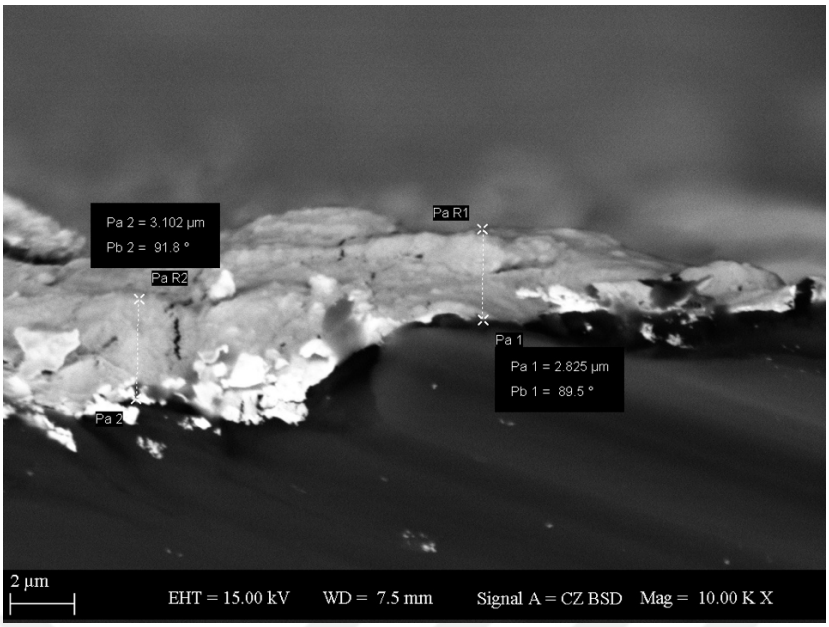
%1 konsantrasyonlu kitosan ile kaplanmış numune incelenirken kaplamanın varlığı, kaplama ile altlık numune arasında faz farkı sayesinde kontrastlık sağlayabildiği ve görüntüleri daha anlaşılır kıldığı için geri saçılan elekronlar (back scattered electron) kullanıldı.



Şekil 8.7 %1 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 200 X büyütme



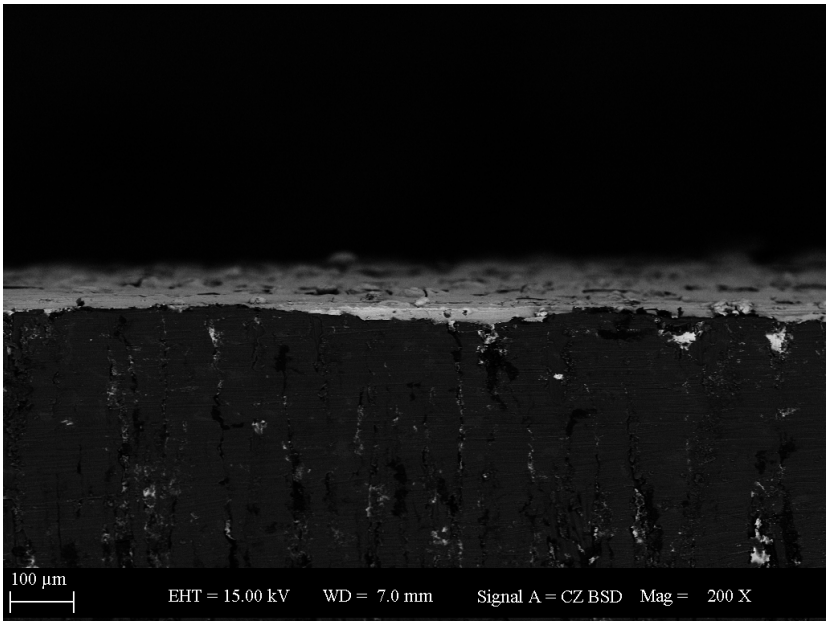
Şekil 8.8 %1 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 10.00 KX büyütme



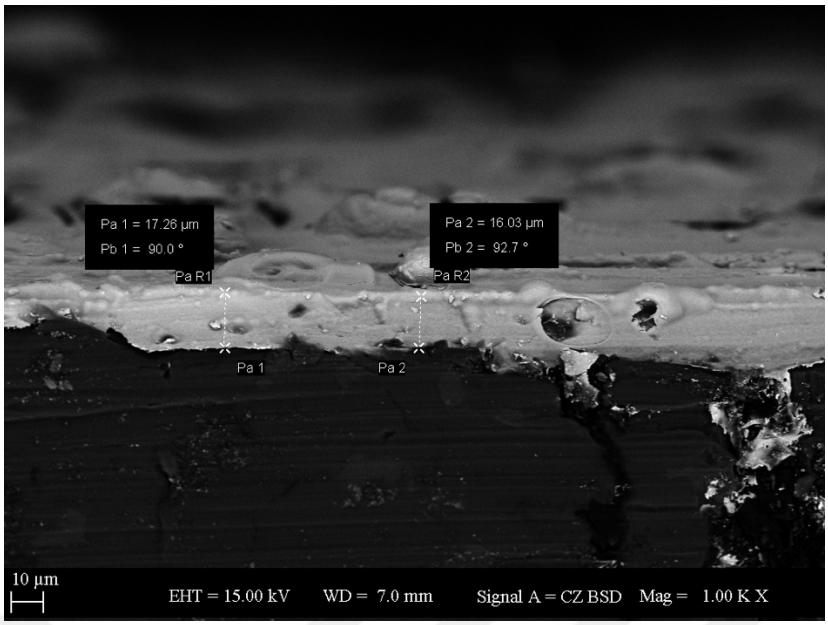
Şekil 8.9 %1 kitosan kaplamalı numunenin kaplama kalınlığı SEM görüntüsü, 10.00 KX büyütme

Şekil 8.7, Şekil 8.8 ve Şekil 8.9 farklı büyütmelerde elde edilmişlerdir. SEM mikrograflarında magnezyum alaşımı (koyu) ve kitosan (açık) tonlu olarak açıkça görülmektedir. Kaplamanın farklı bölgelerinden alınan ölçümlere göre ortalama kaplama kalınlığı $\sim$2,96 μm olarak hesaplanmıştır.

%3 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış magnezyum



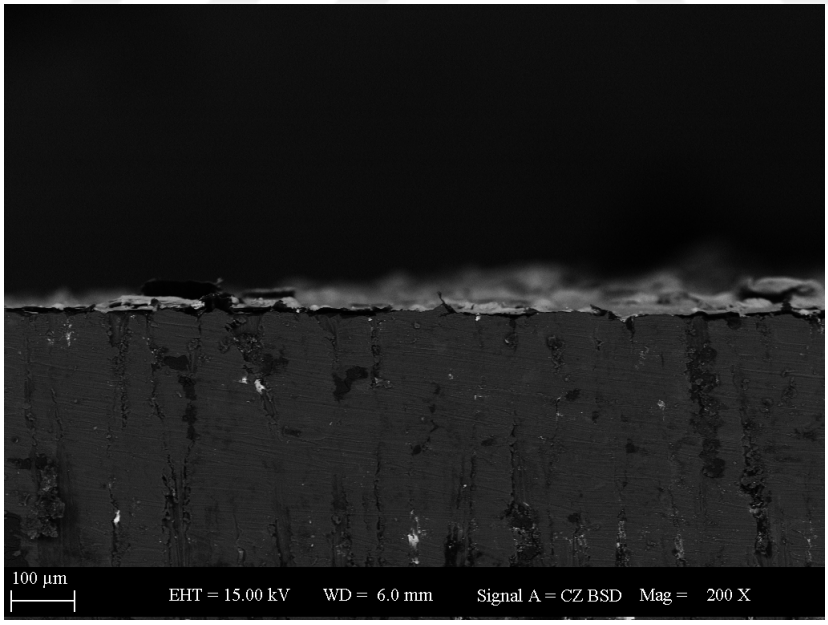
Şekil 8.10 %3 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 200 X büyütme



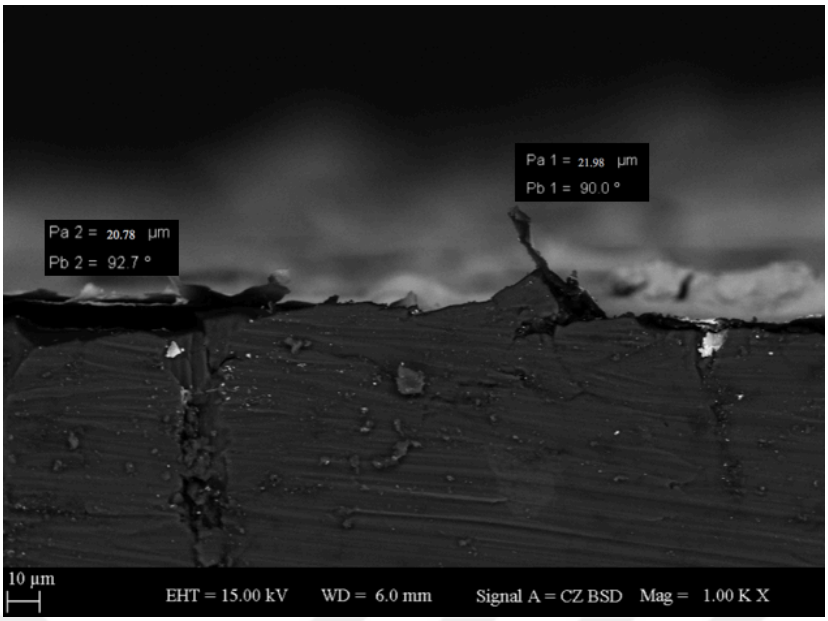
Şekil 8.11 %3 kitosan kaplamalı numunenin kaplama kalınlığı SEM görüntüsü, 1.00 KX büyütme

Bu incelemede de geri saçılan elektronlar kullanılarak görüntüler alındı. Şekil 8.11 da görüldüğü gibi ortalama kaplama kalınlığı ~16,64 μm'dir. %1 kitosanlı kaplamaya nazaran konsantrasyon artışı ile beraber kaplama kalınlığı da artmıştır.

%5 wt. kitosan çözeltisi ile kaplanmış magnezyum



Şekil 8.12 %5 kitosan kaplamalı numunenin kaplama kalınlığı SEM görüntüsü, 200 X büyütme



Şekil 8.13 %5 kitosan kaplamalı numunenin SEM görüntüsü, 1.00 KX büyütme

%5 wt. kitosan ile kaplanmış numunede ortalama kaplama kalınlığı ~21,38 μm olarak hesaplandı.

8.3 ICP-OES

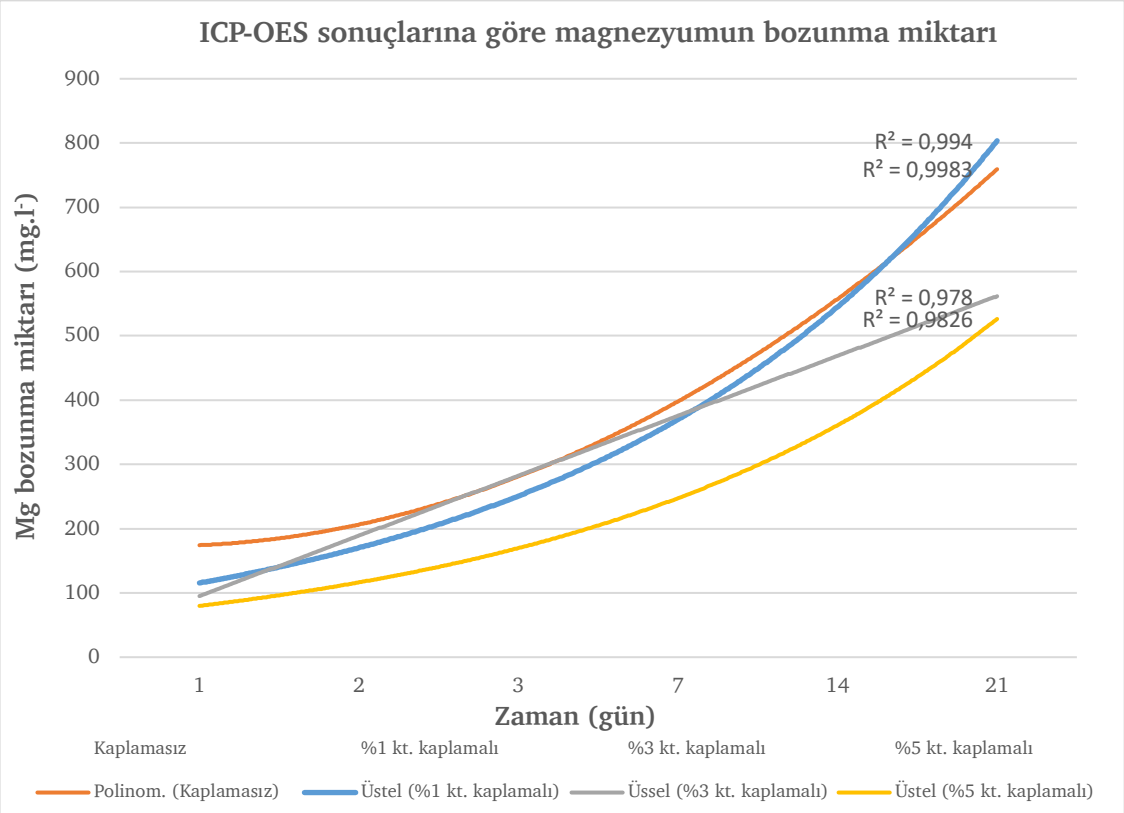
ICP-OES testinin amacı daldırma deneyi esnasında numunelerin daldırıldığı sıvılardan alınan örnekler kullanılarak, bozunarak SBF çözeltisine geçen magnezyum miktarı tespiti ile bozunma hızları hakkında bilgi edinmektir. AZ91E magnezyum alaşımlı numuneden bozunan Mg, Al, Zn elementlerine bakılmıştır. Elde edilen kantitatif sonuçlar Tablo 8.1'de gösterilmiştir.

Tablo 8.1 ICP-OES sonuçları

Gün	Numune Özellikleri	Mg (mg.l^{-})	Al (mg.l^{-})	Zn (mg.l^{-})
1	Kaplamasız	165,4±7,3	4,81±0,18	1,40±0,05
	%1	119±5,3	4,66±0,17	0,30±0,01
	%3	106,7±4,7	4,63±0,17	0,19±0,01
	%5	75,3±3,3	4,69±0,17	0,17±0,01
2	Kaplamasız	221,3±9,7	4,80±0,18	0,16±0,01
	%1	164,8±7,3	4,69±0,17	0,11±0,01
	%3	163,7±7,2	4,72±0,17	0,11±0,01
	%5	116,6±5,1	4,77±0,18	0,12±0,01
3	Kaplamasız	283,1±12,5	5,00±0,19	0,12±0,01
	%1	245,4±10,8	4,76±0,18	0,10±0,01
	%3	257,3±11,3	4,71±0,17	0,10±0,01
	%5	169,7±7,5	4,55±0,17	0,06±0,01
7	Kaplamasız	390,4±17,2	4,18±0,15	0,12±0,01
	%1	360,6±15,9	4,56±0,17	0,12±0,01
	%3	383,3±16,9	4,44±0,16	0,13±0,01
	%5	270,0±11,9	4,88±0,18	0,10±0,01
14	Kaplamasız	551±24,3	3,46±0,13	0,14±0,01
	%1	603,6±26,6	3,28±0,12	0,14±0,01
	%3	488,3±21,5	3,33±0,12	0,12±0,01
	%5	404,1±17,8	4,60±0,17	0,14±0,01
21	Kaplamasız	765,3±33,7	3,33±0,12	0,19±0,01
	%1	763,9±33,6	3,20±0,12	0,18±0,01

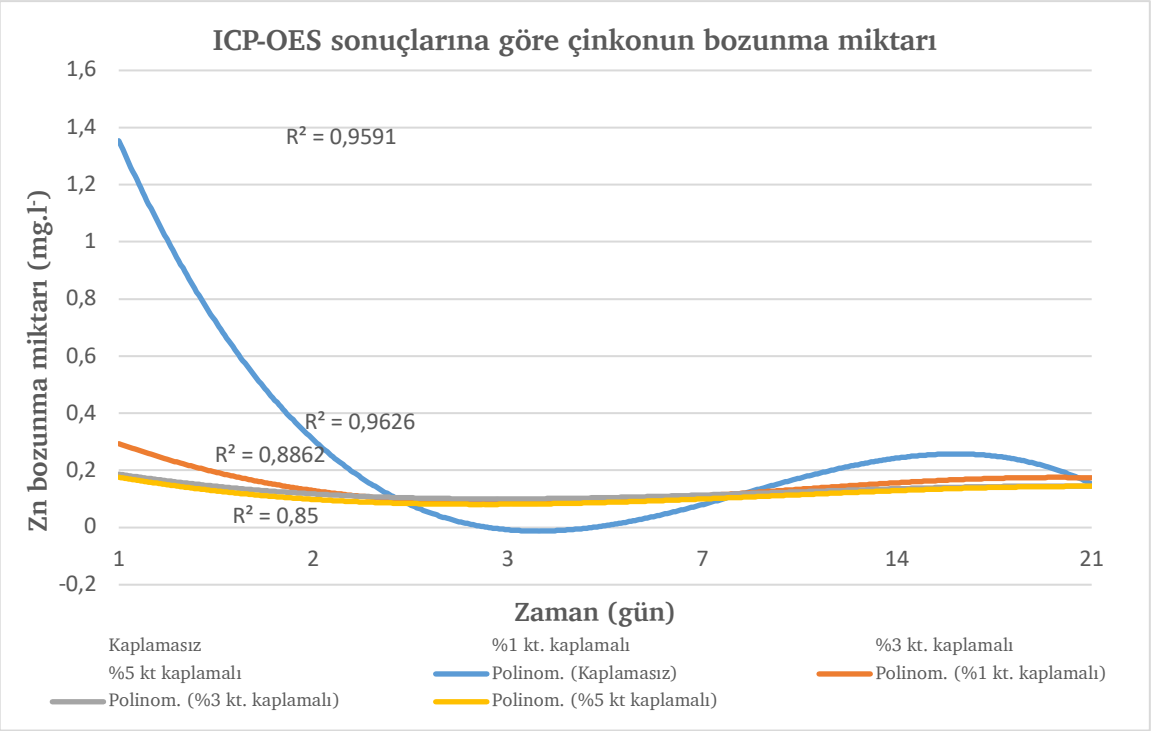
	%3	596,9±26,3	3,30±0,12	0,15±0,01
	%5	456,3±20,1	3,84±0,14	0,14±0,01

Yapılan çalışmalar sonucunda bozunan magnezyum miktarı incelendiğinde, ağırlıkça %5 derişimli kitosan çözeltisi ile kaplanmış magnezyumun daldırıldığı sıvıdan alınan örneklerdeki bozunan magnezyum iyon miktarı en azdır. Dolayısıyla SEM sonuçlarından da bilindiği ve Şekil 8.13'ten görüldüğü gibi üzere kaplama kalınlığı en yüksek olan %5 wt. derişimli magnezyumun bozunma hızı en düşüktür. Diğer örnekler incelendiğinde konsantrasyon düştükçe bozunma hızında ciddi oranda artış gözlenmiştir.

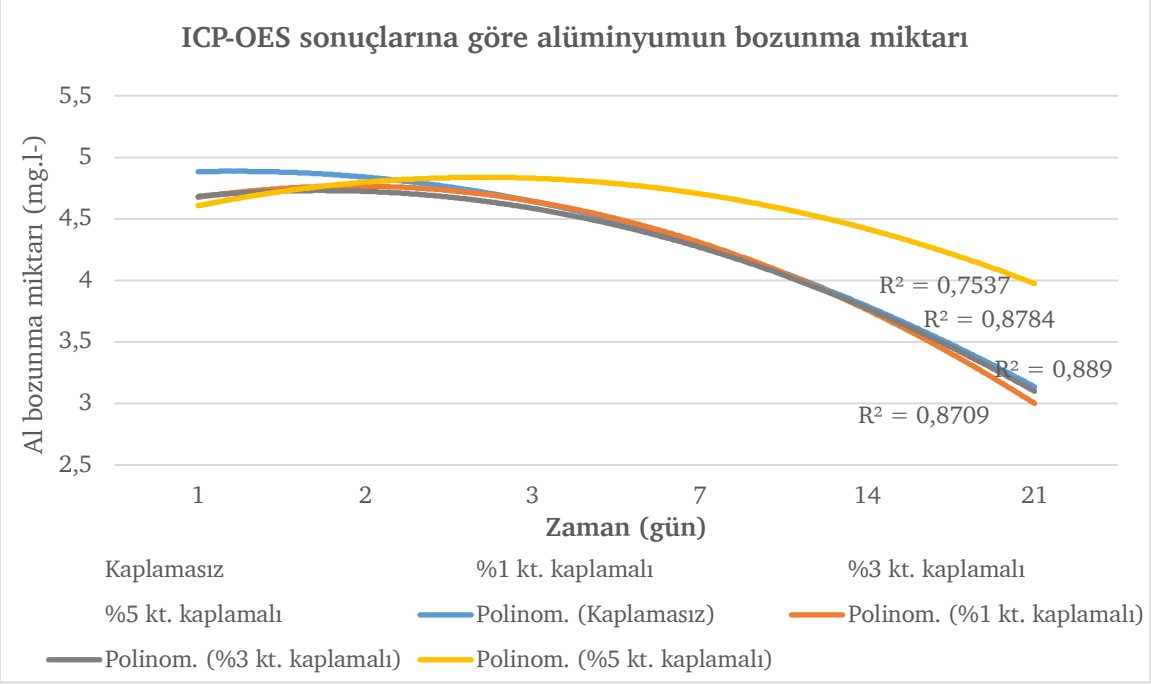


Şekil 8.14 ICP-OES sonuçlarına göre daldırma deneyi süresince Mg'nin bozunma miktarı

Magnezyum 1.gündeki bozunma miktarı en fazla kaplamasız olan numunede gözlenmiştir. Kaplamaların büyük oranda çözünmesinin tamamlandığı zaman aralığı 7.gün civarında olduğu yukarıda grafikteki değişimden (Şekil 8.14) açıkça görülmektedir.



Şekil 8.15 ICP-OES sonuçlarına göre daldırma deneyi süresince Zn'nin bozunma miktarı



Şekil 8.16 ICP-OES sonuçlarına göre daldırma deneyi süresince Al'nin bozunma miktarı

Magnezyuma benzer şekilde Al ve Zn alaşım elementlerinin de bozunma miktarı kaplanan kitosan konsantrasyonunun artışı ile düşmüştür (Şekil 8.15, Şekil 8.16).

Kaplamadan ve daldırma süresinden bağımsız olarak alüminyumun in vitro çözeltisindeki çözünürlüğü çok düşük olmakla beraber sabite yakın değerler göstermiştir. Alüminyumun toksik etkisi göz önünde bulundurulduğunda bu durum olumlu olarak yorumlanmaktadır.

%1 wt. ve %3 wt. konsantrasyonlu kitosan çözeltileri ile kaplanan numunelerin daldırıldığı sıvıların gösterdiği sonuçlar bazı günlerdeki çözünen iyon miktarlarının kaplama kalınlığı ile doğru orantılı olmadığını göstermiştir. Bu duruma homojen elde edilememiş kaplamanın sebep olduğu düşünülmektedir.

Yukarıdaki grafikler göz önünde bulundurulduğunda bu projenin amaçlarından biri olan bozunma hızını düşürmek için yüksek konsantrasyonlu polimer ile kaplamak iyi bir seçenektir.

8.4 Ağırlık Kaybına Göre Bozunma Oranları

Daldırma deneyinin 7 ayrı gününde 4 numunenin, yüzeyden bozunma ürünlerinin temizlenmediği ağırlıkları ve bozunma ürünlerinden arındırılmış ağırlıkları Tablo 8.2'de verilmiştir.

Tablo 8.2 Daldırma deneyi belirli günlerde numunelerden alınan ağırlık ölçümleri

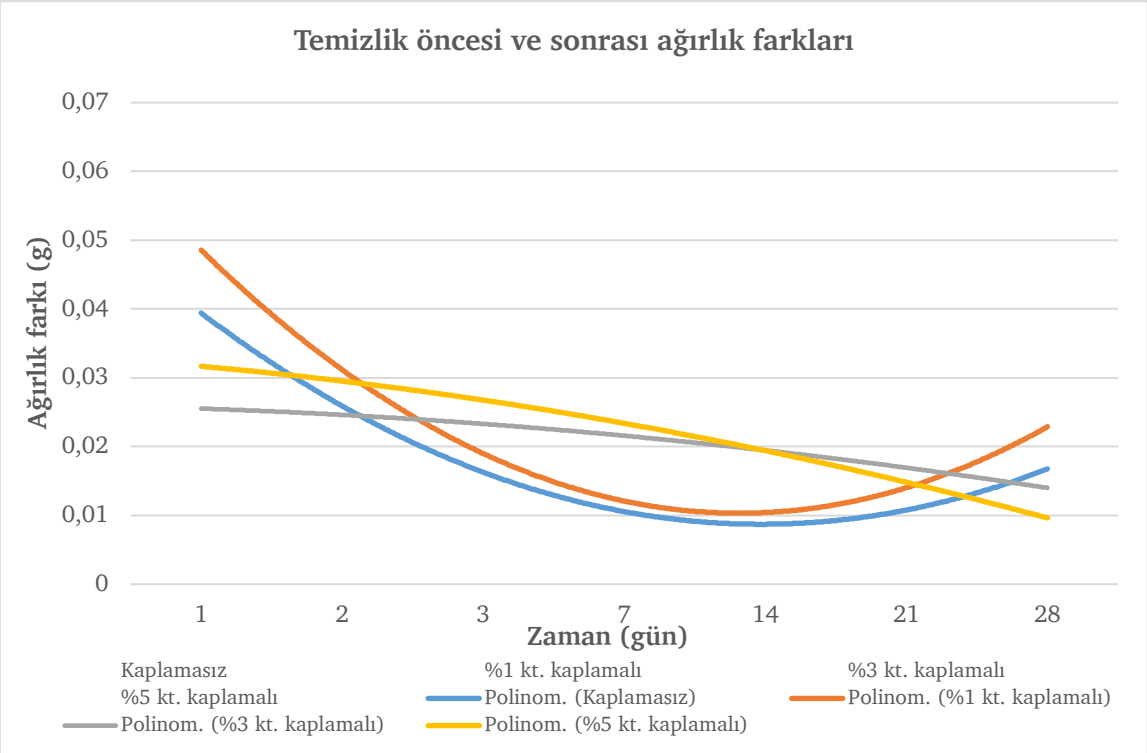
Gün	Kaplamasız Mg (g)		%1 kitosanla kaplanmış Mg (g)		%3 kitosanla kaplanmış Mg (g)		%5 kitosanla kaplanmış Mg (g)	
	Temizlik Öncesi	Temizlik Sonrası	Temizlik Öncesi	Temizlik Sonrası	Temizlik Öncesi	Temizlik Sonrası	Temizlik Öncesi	Temizlik Sonrası
1	1,4538	1,4049	1,6796	1,6194	2,1760	2,1449	1,3891	1,3524
2	1,4062	1,3949	1,6293	1,6158	2,1530	2,1369	1,3650	1,3440
3	1,3954	1,3804	1,5956	1,5794	2,1412	2,1176	1,3577	1,3277
7	1,3728	1,3614	1,5956	1,5794	2,1193	2,0975	1,33	1,3117
14	1,3658	1,3482	1,5730	1,5562	2,0965	2,0780	1,3135	1,2884
21	1,3443	1,3326	1,5583	1,5398	2,0865	2,0604	1,2931	1,2749
28	1,3310	1,3185	1,5432	1,5265	2,0550	2,0468	1,2718	1,2659

Temizlik öncesi ve temizlik sonrası ağırlıklar arasındaki fark Tablo 8.3'te verilmiştir.

Tablo 8.3 Daldırma deneyinde numunelerden belirli günlerde alınan temizlik öncesi ve temilik sonrası arasındaki ağırlık farkları

Gün	Temizlik öncesi ve temizlik sonrası arasındaki fark (g)			
	Kaplamasız Mg	%1 kitosanla kaplanmış Mg	%3 kitosanla kaplanmış Mg	%5 kitosanla kaplanmış Mg
1	0,0489	0,0602	0,0311	0,0367
2	0,0113	0,0135	0,0161	0,021
3	0,015	0,0162	0,0236	0,03
7	0,0114	0,0162	0,0218	0,0183
14	0,0176	0,0168	0,0185	0,0251
21	0,0117	0,0185	0,0261	0,0182
28	0,0125	0,0167	0,0082	0,0059

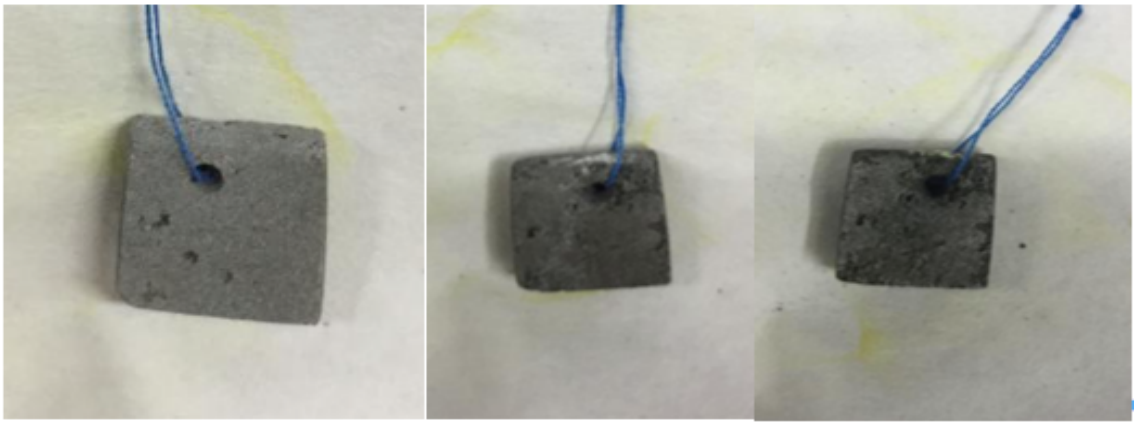
Tablo 8.3'te verilen değerler kullanılarak bir grafik (Şekil 8.17) elde edilmiştir.



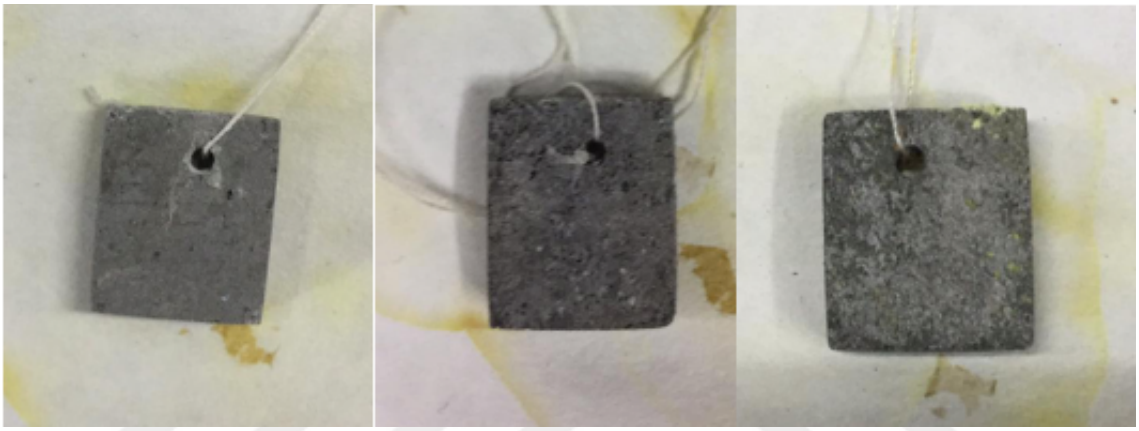
Şekil 8.17 Daldırma deneyi sırasında numunelerin temizlik öncesi ve temizlik sonrası ağırlık farkları

Deneyler sırasında her ölçüm gününde alınan temizlik öncesi ve temizlik sonrası alınan ölçümler arasında fark olmasının sebebi (Tablo 8.3, Şekil 8.17), oluşan $Mg(OH)_2$ korozyon ürünüdür. Bu korozyon ürünü numune yüzeyi ile SBF arasında oluşur ve temizlenmediği sürece ağırlık ölçümlerinde sapmaya sebebiyet verir. Bu film tabakası 7. gün civarlarında vücut sıvısı içerisindeki Cl^- iyonları tarafından hasara uğrayarak parçalanır ve magnezyumun daha hızlı bozunmasına yol açar (Şekil 8.14).

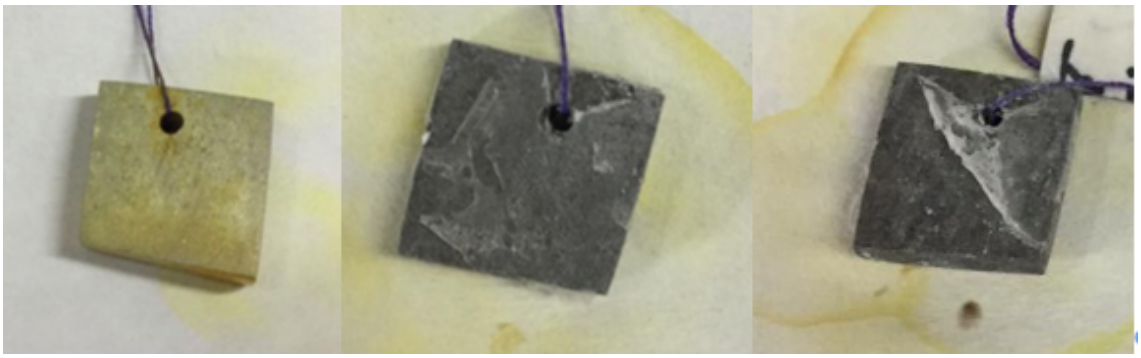
Deney sırasında numunelerden alınan görüntüler Şekil 8.18 ile Şekil 8.21 arasında verilmiştir.



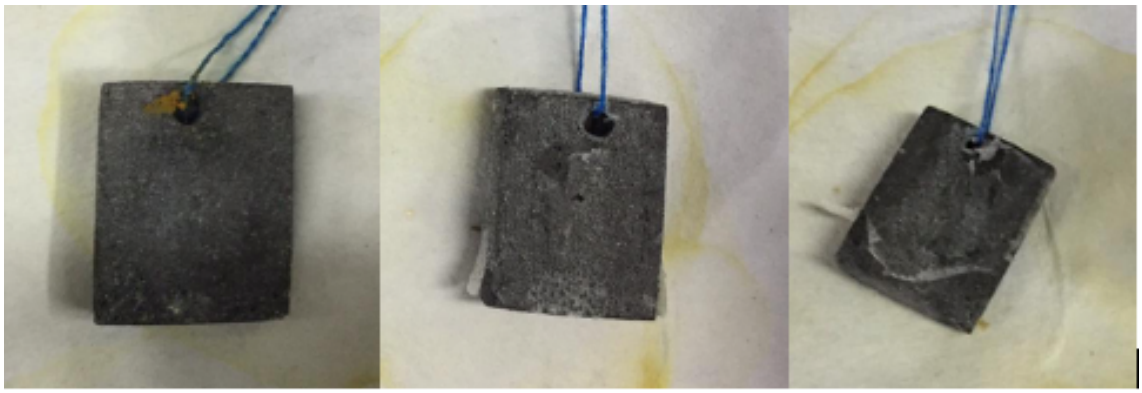
Şekil 8.18 Kaplamasız numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler



Şekil 8.19 %1 wt. konsantrasyonlu kitosan çözeltisi ile kaplanmış numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler



Şekil 8.20 %3 wt. konsantrasyonlu kitosan çözeltisi ile kaplanmış numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler



Şekil 8.21 %5 wt. konsantrasyonlu kitosan çözeltisi ile kaplanmış numuneden daldırma deneyi sırasında alınan görüntüler

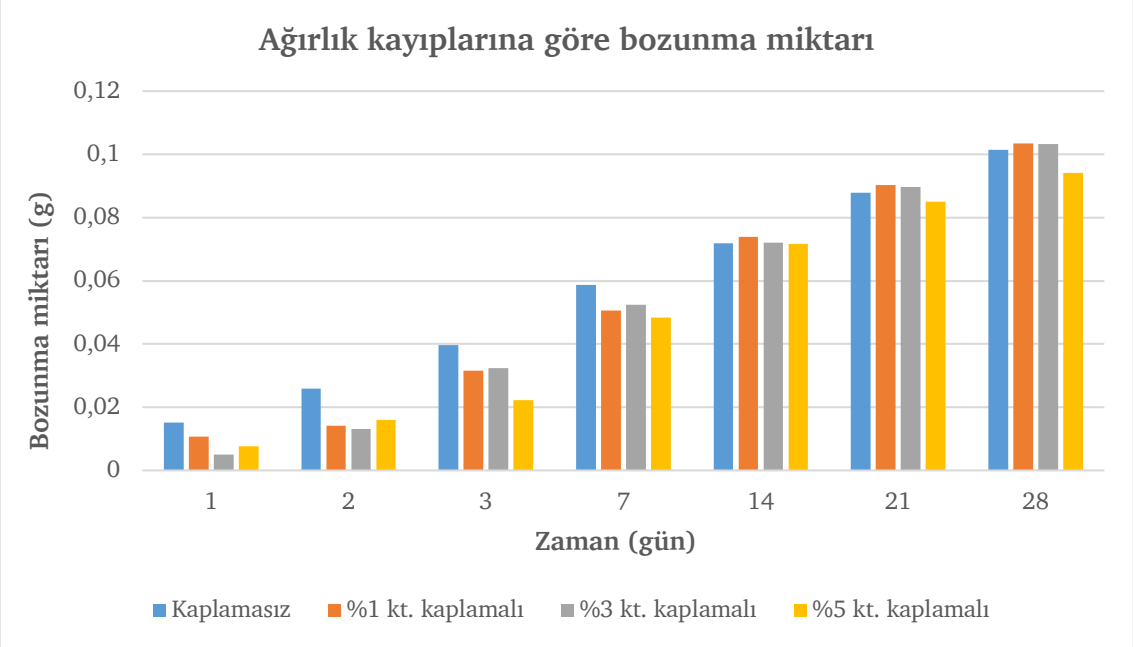
Şekil 8.20 ve 8.21'den görüldüğü üzere %3 ve %5 konsantrasyonlu kitosan ile kaplanan numune yüzeylerinde, SBF içinde kaldıkları sürenin artmasıyla birlikte çözünmenin yanı sıra yüzeyden ayrılmalar da gözlenmiştir. Bu ayrılmaların, artan kitosan derişimi ile birlikte çözelti halinden katılaşan kitosanda oluşan büzülmeyle tetiklendiği ve çözünme miktarının artmasıyla devam ettiği düşünülmektedir.

Tablo 8.4'te ise in vitro sıvısından çıkarılıp temizlenen numunelerin her ölçüm günü ile ilk gün göre ağırlık farkları verilmiştir.

Tablo 8.4 Numunelerin daldırma deneyi sonucunda ilk ağırlıklarına göre ağırlık kayıpları

Gün	Kaplamasız (g)	%1 kitosanla kaplanmış Mg (g)	%3 kitosanla kaplanmış Mg (g)	%5 kitosanla kaplanmış Mg (g)
0	1,4293	1,63	2,15	1,36
1	0,0151	0,0106	0,0051	0,0076
2	0,0259	0,0142	0,0131	0,016
3	0,0396	0,0315	0,0324	0,0223
7	0,0586	0,0506	0,0525	0,0483
14	0,0718	0,0738	0,072	0,0716
21	0,0879	0,0902	0,0896	0,0851
28	0,1015	0,1035	0,1032	0,0941

Tablo 8.4 değerleri ile Şekil 8.22'deki grafik elde edildi.



Şekil 8.22 Ağırlık kayıplarına göre bozunma miktarları

Şekil 8.22'den anlaşıldığı üzere ağırlık kayıpları göz önüne alındığında %5 wt. kitosan kaplamalı kaplama miktarının en az olduğu numunedir. 7. gün civarlarından sonra bozunma miktarının artmasına Şekil 8.17'de açıklanan $Mg(OH)_2$ tabakasının Cl^- iyonları tarafından parçalanması sebep olmuştur.

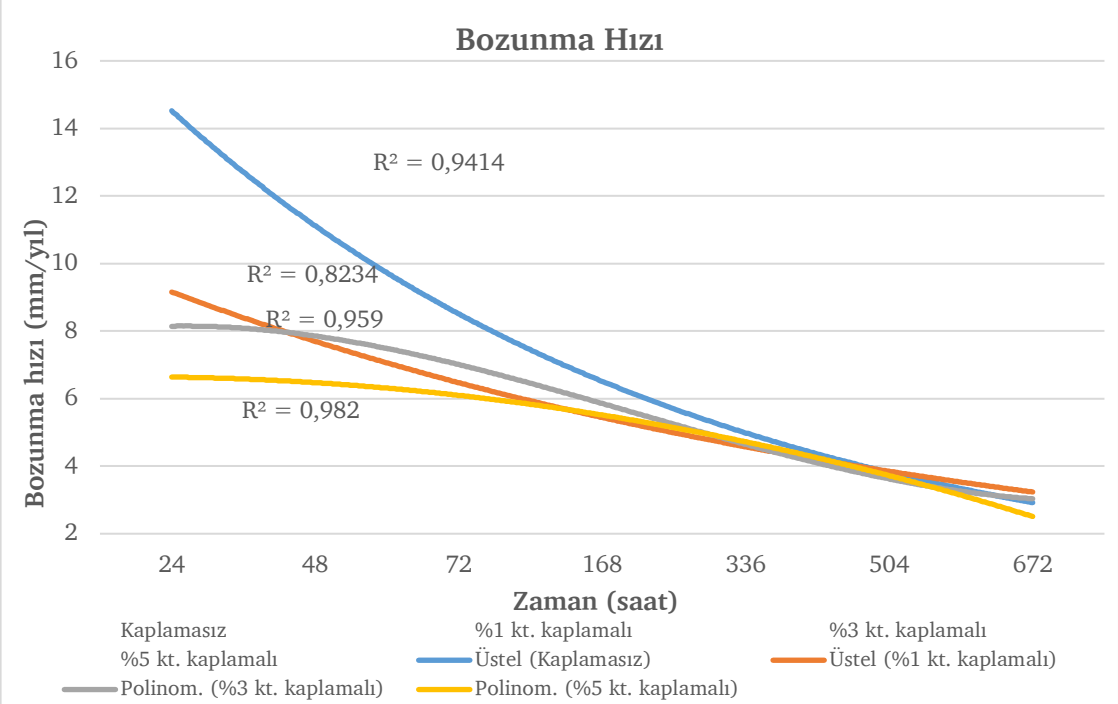
8.6 Korozyon Hızı

$$C = \frac{K.w}{A.t.d} \tag{8.1}$$

Tablo 8.4'te ağırlık kayıplar hesap edilerek belirlenmiş bozunma miktarlarına ilaveten; C korozyon hızı, K ($8.76x10^4$) korozyon sabiti, w ağırlık kaybı, A yüzey alanı, t süre ve d yoğunluk olmak üzere Eşitlik 8.1'e [79] göre korozyon hızları hesaplanmıştır. Bozunma hızları sonuçları Tablo 8.5'te gösterilmiştir.

Gün	Bozunma Hızı (mm/yıl)			
	Kaplamasız	%1 kitosan	%3 kitosan	%5 kitosan
1	12,6876	8,9065	8,2852	6,3858
2	10,8811	5,9657	7,5036	6,7219
3	11,0912	8,8225	7,0745	6,2458
7	7,0340	6,0737	6,3018	5,7977
14	4,3092	4,4293	4,3212	4,2972
21	3,5170	3,6090	3,5850	3,4050
28	3,0459	3,1059	3,0969	2,8238

Tablo 8.5 Tüm numunelerin bozunma hızları



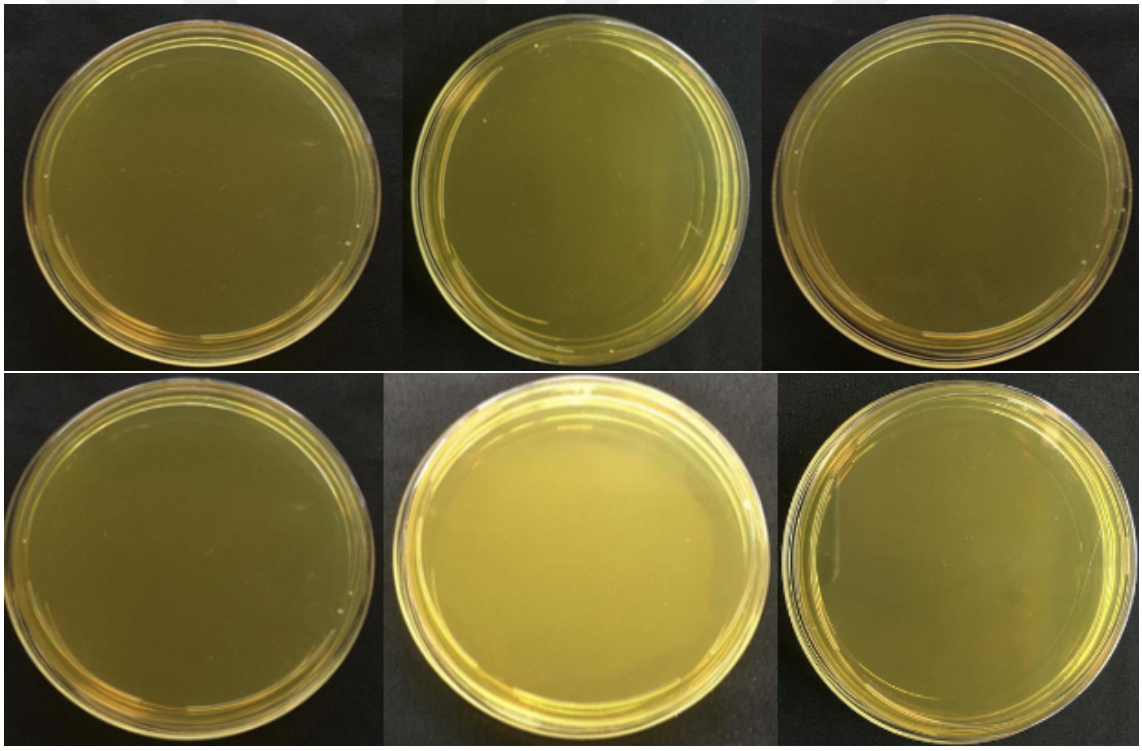
Şekil 8.23 Tüm numunelerin korozyon hızları

İlk gün sonunda alınan örneklerdeki korozyon hızlarının kaplama kalınlığıyla ters orantılı oldukları görülmektedir. %5 kitosan içeren çözeltiyle kaplanan numunelerin başlangıçta en düşük korozyon hızına sahip olduğu ancak geçen süreyle birlikte tüm kaplamalı numunelerdeki kaplama miktarlarının azalmasına bağlı olarak korozyon hızının birbirine yaklaştığı görülmektedir.

8.7 Antibakteriyel Test

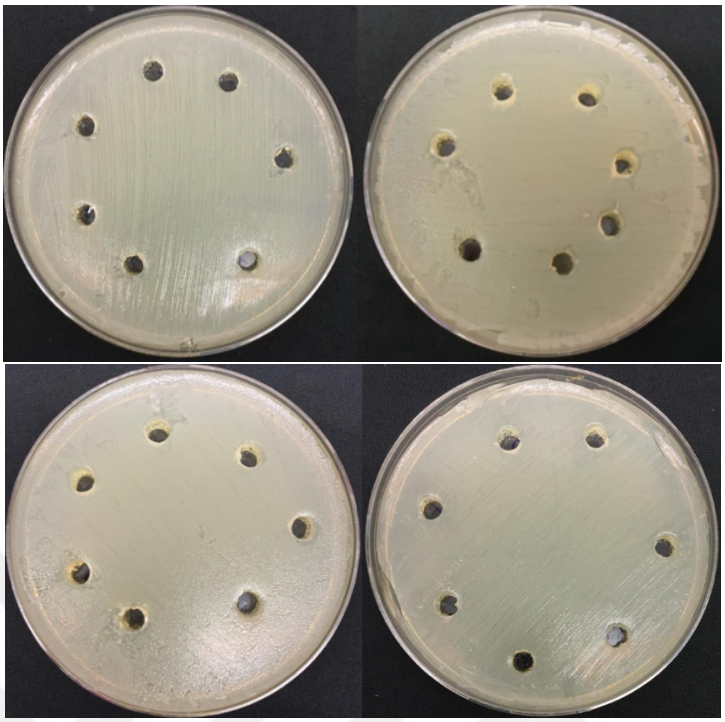
Antibakteriyel testler *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterileri için agar kuyucuk yöntemi ile çalışılmıştır.

Antibakteriyel test numuneleri -18 °C'de saklanmış ve testlerin başlangıcında tüm numunelerin kontaminasyonsuz olduğu görülmüştür (Şekil 8.24).



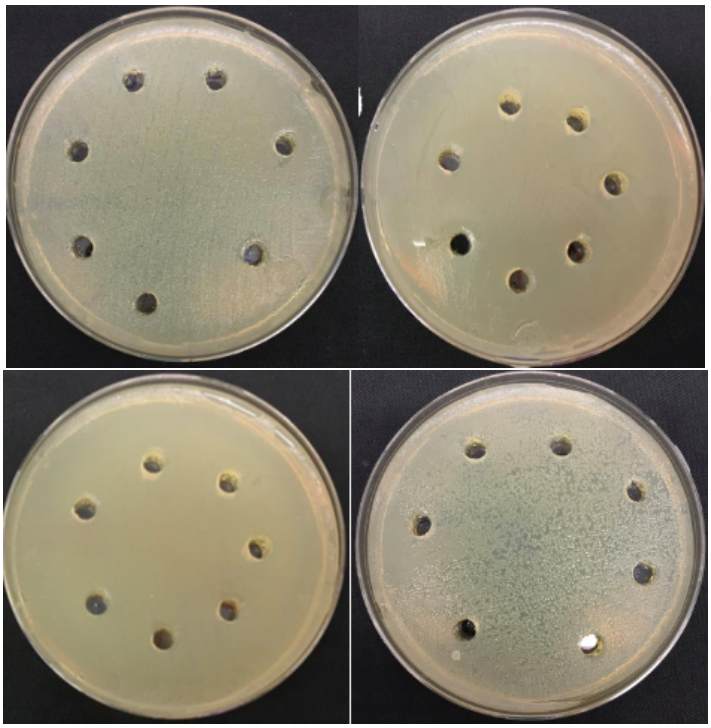
Şekil 8.24 Kontaminasyon gözlenmemiş numune görselleri

Staphylococcus Aureus



Şekil 8.25 Sırasıyla kaplamasız, %1-%3 ve %5 kitosan kaplamalı numunelerde agar kuyucuk yöntemi ile *Staphylococcus aureus* bakterisinin araştırılması

Escherichia Coli



Şekil 8.26 Sırasıyla kaplamasız, %1-%3 ve %5 kitosan kaplamalı numunelerde agar kuyucuk yöntemi ile *E.coli* bakterisinin araştırılması

Kaplamasız, ağırlıkça %1, %3 ve %5 derişimde kitosan çözeltisiyle kaplanmış Mg numunelerin değişen sürelerde SBF içinde bekletilmeleri sonrasında elde edilen numuneler petri kapları içinde kuyucuklara yerleştirilmiş ve bakterisiz zon oluşup oluşmadığı incelenmiştir. Kaplamalı ve kaplamasız ayrımı olmaksınız numunelerin hiçbirinde zon oluşumu gözlenmemiştir.

8.8 Öneriler

Bu tez çalışmasında, antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliklere sahip olduğu literatürde geniş miktarda yer bulmuş olan kitosanın, magnezyum implant malzemesi üzerinde kaplama olarak uygulandığı durumdaki antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Tezin ikincil amacı da biyopolimer kaplama uygulamasıyla, fizyolojik vücut sıvıları içindeki korozyon dayanımı oldukça düşük olan magnezyumun biyobozunma davranışının kontrol altına alınmasıdır.

Bu amaçla, farklı derişimlerde kitosan çözeltileri hazırlanarak magnezyum numuneler kaplanmış ve SBF içindeki korozyon davranışları incelenmiştir. Gerek kitosan kaplamanın gerekse magnezyumun SBF içinde çözünme süreci içinde belirli zaman aralıklarında çözeltiden örnekler alınmış ve bu örneklerin antibakteriyel özellikleri incelenmiştir.

%1'lik kitosan çözeltisiyle kaplanan numunelerin yüzeylerinde yeterli tutunma elde edilememiştir. %3'lük numunelerde ise bölgesel olarak kaplamanın ayrılmasıyla karşılaşılmıştır. Bu nedenlerle vücut sıvıları içinde kullanılması planlanan magnezyum malzemeler için kitosan içeren kaplamaların %5 derişimde kullanılması önerilmektedir.

Deneylerde kullanılan numunelere uygulanan antibakteriyel testlerde, teknik olarak anlamlı düzeyde antibakteriyel etki gözlenememiştir. Literatürde sayısız makalede kitosanın antibakteriyel etkisinden bahsedilmesine rağmen [80] karşılaşılan bu durum daha fazla sayıda çalışmalarla aydınlatılmaya ihtiyaç duymaktadır.

Bu tez çalışmasının sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, kitosanın antibakteriyel özellikleri sebebiyle vücut içinde kullanımının yetersiz olduğu savunulmakta ve bu amaçla kullanımı önerilmemektedir.

KAYNAKÇA

[1] Y. Chen, Z. Xu, C. Smith and J. Sankar, "Recent advances on the development of magnesium alloys for biodegradable implants," *Acta Biomaterialia,* vol. 10, pp. 4561-4573, 2014.

[2] H. Wong, K. W. Yeung, K. O. Lam, V. Tam, P. K. Chu, K. D. Luk ve K. M. C. Cheung, A biodegradable polymer-based coating to control the performance of magnesium alloy orthopaedic implants, *Biomaterials,* vol. 31, no. 2084-2096, 2010.

[3] J. Wang, Y. He, M. F. Maitz, B. Collins, K. Xiong, L. Guo, Y. Yun, G. Wan ve N. Huang, A surface-eroding poly(1,3-trimethylene carbonate) coating for fully biodegradable magnesium-based stent applications: Toward better biofunction, biodegrad, *Acta Biomaterialia,* vol. 9, pp. 8678-8689, 2013.

[4] S. Kunjukunju, A. Roy, M. Ramanathan, B. Lee, J. E. Candiello ve P. N. Kumta, A layer-by-layer approach to natural polymer-derived bioactive coatings on magnesium alloys, *Acta Biomaterialia,* vol. 9, no. 8690-8703, 2013.

[5] L. Choudhary, R. K. S. Raman, J. Hofstetter ve P. J. Uggowitzer, In-vitro characterization of stress corrosion cracking of aluminium-free magnesium alloys for temporary bio-implant applications, *Materials Science and Engineering C,* vol. 42, pp. 629-636, 2014.

[6] M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite ve E. Chiellini, Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications, *Progress in Polymer Science,* vol. 36, pp. 981-1014, 2011.

[7] C. Qin, H. Li, Q. Xiao, Y. Liu, J. Zhu ve Y. Du, Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity, *Carbohydrate Polymers,* vol. 63, pp. 367-374, 2006.

[8] K. Ziani, I. Fernandez-Pan, M. Royo ve J. Mate, Antifungal activity of films and solutions based on chitosan against typical seed fungi, *Food Hydrocolloids,* vol. 23, pp. 2309-2314, 2009.

[9] M. Abd El-Fattah, A. M. El saeed, A. M. Azzam, M. Abdul-Raheim ve H. H. Hefni, Improvement of corrosion resistance, antimicrobial activity, mechanical and chemical properties of epoxy coating by loading chitosan as a natural renewable r, *Progress in Organic Coating,* vol. 101, pp. 288-296, 2016.

[10] H. Yılmaz Atay ve E. Çelik, Investigations of antibacterial activity of chitosan in the polymeric composite coatings, *Progress in Organic Coatings,* vol. 87, pp. 141-154, 2017.

[11] A. Rafique, K. M. Zia, M. Zuber, S. Tabasum ve S. Rehman, Chitosan functionalized poly(vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review, *International Journal of Bological Macromolecules,* vol. 87, pp. 141-154, 2016.

[12] K. Nandakumar, K. R. Sreekumari ve Y. Kikuchi, Antibacterial Properties of Magnesium Alloy AZ31B: in-vitro Studies using the Biofilm-forming Bacterium Pseudomonas sp.,, *Biofouling,* vol. 18, no. 2, pp. 129-135, 2002.

[13] C. Pekşen ve A. Doğan, İmplant Dayanımı, *TOTBİD Dergisi,* vol. 10, no. 2, pp. 122-128, 2011.

[14] F. Mert, H. Gürün, İ. Karaağaç ve O. Uluer, Kemik Tedavilerinde Kullanılan Biyobozunur İmplant Malzemeler, %1 içinde *1st International Symposium on Plastic and Rubber Technologies and Exhibition*, Ankara, 2013.

[15] D. Kalelioğlu, *Kemik Doku İmplant Malzemeleri: Osseointegrasyon ve Antibakteriyel Etkinlik, Yüksek Lisans Tezi,* Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.

[16] B. Öztürk ve A. Y. Tabak, Metalik Biyomateryaller ve Metallozis, *TOTBİD Dergisi,* vol. 10, no. 2, pp. 83-86, 2011.

[17] Z. Tüylek, Biyomateryaller ve Sağlıkta Kullanımı, *Bozok Tıp Dergisi,* vol. 7, no. 4, pp. 80-90, 2017.

[18] A. Özkan, N. Şişik ve U. Öztürk, Kompozit Malzemelerin Ağız, Yüz, Çene Cerrahisinde Kullanımı ve Malzeme Uygunluklarının Belirlenmesi, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi,* vol. 4, pp. 227-242, 2016.

[19] M. Erçetin, H. İ. Sesli ve S. Akdeniz, Biyomalzemeler ve İmplantlar, 2015. [Çevrimiçi]. Available: http://www.slideserve.com/treva/biyomalzemeler-ve-mplantlar. [Erişildi: 28 Ekim 2015].

[20] E. Yılmaz, V. Oner ve M. K. Yeşilyurt, Vücut İçerisinde Kullanılan İmplantların Korozyonu, %1 içinde *XIV. Korozyon Sempozyumu*, Bayburt, 2016.

[21] A. K. Gür ve M. Taşkın, Metalik Biyomalzemeler ve Biyouyum, %1 içinde *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, Elazığ, 2004.

[22] Z. Yeşil Duymuş ve H. Güngör, Dental İmplant Malzemeleri, *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Dergisi,* vol. 2013, pp. 145-152, 2013.

[23] M. Subaşı ve Ç. Karataş, Titanyum ve Titanyum Alaşımlarından Yapılan İmplantlar Üzerine İnceleme, *Politeknik Dergisi,* vol. 15, no. 2, pp. 87-103, 2012.

[24] U. Eskier, Talyum nedir, zararları nelerdir?, 2017. [Çevrimiçi]. Available: https://www.makaleler.com/talyum-nedir-zararlari-nelerdir. [Erişildi: 11 Eylül 2018].

[25] M. Ş. Dündar ve H. Altundağ, Talyumun Sağlığa Etkisi, Çevresel Kaygı ve Talyuun Türlenmesi, *Fen Bilimleri Dergisi,* vol. 11, no. 1, pp. 80-86, 2007.

[26] G. Gürlük, *NiTi Hafızalı Alaşım Şekilli Film Kaplamaların Üretilmesi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi,* İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2009.

[27] S. Dilibal, *Nikel-Titanyum Şekil Bellekli Alaşım Üretimi ve Şekil Bellek Eğitimi, Doktora Tezi,* İstanbul: YIldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.

[28] K. Klubü, Amalgam Dolgu, [Çevrimiçi]. Available: http://www.kimyakulubu.com/amalgam-dolgu/. [Erişildi: 2018 Eylül 2018].

[29] S. K. Dünyası, Amalgam, [Çevrimiçi]. Available: http://hasankocabas.com.tr/icerik-144-amalgam.html. [Erişildi: 12 Eylül 2018].

[30] M. Altay, *AZ91 Magnezyum Alaşımının Mikro Ark Oksidasyon İşleminde Elektriksel Parametrelerin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi,* İstanbul: İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2012.

[31] İ. Kaçar ve F. Öztürk, Magnezyum Alaşımlarının Şekillendirilmesi Son Gelişmeler, %1 içinde *Timak Tasarım İmalat Analiz Kongresi*, Balıkesir, 2006.

[32] H. Mindivan, Eş kalıp ekstrüzyon yöntemi ile alüminyum-magnezyum makrokompozit imalatı ve karakterizasyonu, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi,* vol. 23, no. 1, pp. 12-14, 2017.

[33] F. Mert, A. Özdemir ve Ç. Karataş, Magnezyum Alaşımlarının Basınçlı Döküm Yöntemiyle Kalıplanabilirliğinin Değerlendirilmesi, *Politeknik Dergisi,* vol. 13, no. 3, pp. 165-176, 2010.

[34] F. Öztürk ve İ. Kaçar, Magnezyum Alaşımları ve Kullanım Alanlarının İncelenmesi, *Niğde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi,* vol. 1, no. 1, pp. 12-20, 2012.

[35] A. Akdoğan Eker, Magnezyum ve Alaşımları, 2008. [Çevrimiçi]. Available: http://www.yildiz.edu.tr/~akdogan/lessons/malzeme2/Magnezyum_ve_Magnezyum_Alasimlari.pdf. [Erişildi: 14 Eylül 2018].

[36] B. Oğuz, Malzeme Bilgisine Giriş, Oerlikon Yayını, 1990.

[37] G. Oktay, *Katodik Ark FBB Yöntemi İle Ti6Al4V Altlık Malzemesi Üzerine Kaplanmış Magnezyumun Morfolojisine Bıias Geriliminin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi,,* İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.

[38] D. S. Temur, *Magnezyumun Biyokorozyonu ve Farklı Alaşım Yüzeylerine Bakteri Tutunmasının Kıyaslamalı İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi,* İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.

[39] B. Denkena ve F. Witte, Degradable Implants Made of Magnesium Alloys, %1 içinde *Proc. of 5th euspen International Conference*, Montpellier, 2005.

[40] H. Gerengi, E. Kaya ve M. Cabrini, Magnezyum (%99.95) Biyobozunur Malzeme Olarak Kullanılma Potansiyeli, *İleri Teknoloji Bilimleri Dergisi,* vol. 6, no. 2, pp. 2147-3455, 2017.

[41] İ. M. Güneşdoğdu, *Magnezyum Alaşımı AZ63'ün pH 7'deki Korozyon Davranışının Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi Yöntemiyle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi,* Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.

[42] S. Aydın, *Biyopolimer ve Kullanım Alanları, Bitirme Tezi,* Kayseri: Erciyes Üniversitesi Ezcacılık Fakültesi, 2011.

[43] M. Yılmaz, *Süperkritik Akışkan Ortamında Kopolimerizasyon, Yüksek Lisans Tezi,* Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2009.

[44] M. E. B. (MEB), *Polimer Kavramları ve Özellikleri 2,* Ankara, 2008.

[45] E. Ataman, *Biyolojik Jellerde Difüzyon Mekanizmaları, Yüksek Lisans Tezi,* İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006.

[46] U.S. Government Printing Office, Office of Technology Assessment,, Biopolymers: Making Materials Nature's Way-Background Paper, %1 içinde *U.S Congress*, Washington, DC, 1993.

[47] S. Dursun, N. Erkan ve M. Yeşiltaş, Doğal Biyopolimer Bazlı (Biyobozunur) Nanokompozit Filmler ve Su Ürünlerindeki Uygulamaları, *Journal of FisheriesSciences.com,* vol. 4, no. 1, pp. 50-77, 2010.

[48] A. Koç, *Mezenkimal Kök Hücrelerinin Ve Kompozit İskelelerin Kullanımıyla Kemik Doku Mühendisliği, Doktora Tezi,* Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.

[49] Ö. Özarpat, *Stronsiyum Katkılı Biyoaktif Cam Malzeme Üretimi, Yüksek Lisans Tezi,* İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.

[50] M. S. Zor ve B. M. İzgi, Biyopolimerlerin Ortopedik Uygulamaları, [Çevrimiçi]. Available: https://bioinzhener.files.wordpress.com/2014/02/biyopolimerlerin-ortopedik-uygulamalarc4b1.pdf. [Erişildi: 27 Eylül 2018].

[51] M. Orunoğlu, *Polilaktik-ko-Glikolik Asit (PLGA) Nanopartikülüne Yüklü Curcuminin Etkisinin İzlenmesi, Uzmanlık Tezi,* Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2014.

[52] Ş. Soner, *Beyne Hedeflendirilmiş Polisorbat 80 Kaplı/Atorvastatin Yüklü Amfifilik PLGA-b-PEG Nanopartiküllerinin Hazırlanması ve İn-vivo Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi,* Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.

[53] E. Özsağıroğlu, *Enzimatik Polimerizasyon ile Sentezlenen Polikaprolaktona Reaksiyon Koşullarının Etkisinin ve Polikaprolaktonun Bozunurluğunun İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi,* İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.

[54] Z. Yıldırım, N. Öncül ve M. Yıldırım, Kitosan ve Antimikrobiyal Özellikleri, *Niğde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi,* vol. 5, no. 1, pp. 19-36, 2016.

[55] Z. Özdemir, *Kitin; kitosanın fonksiyonel özellikleri ve kullanım alanları,* İstanbul: Türkiye Kimya Derneği, 2014.

[56] D. Rafaat ve H. Sahl, Chitosan and its antimicrobial potential a critical literature survey, *Microbial Biotechnology,* vol. 22, no. 2, pp. 186-201, 2009.

[57] P. K. Dutta, J. Dutta ve J. S. Tripathi, Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications, *ournal of Scientific & Industrial Research,* vol. 63, pp. 20-31, 2004.

[58] R. C. Goy, D. De Britto ve O. B. G. Assis, A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan, *Polímeros: Ciência e Tecnologia,* vol. 19, no. 3, pp. 241-247, 2009.

[59] E. Keleşoğlu, Sert Kaplamalar Üretim Teknikleri ve Özellikleri, 1.Baskı, İstanbul: Yıldız Teknik Üniversitesi Yayınları, 2011.

[60] E. Demir, *Plazma Destekli Kimyasal Buhar Biriktirme Yöntemi ile Polimer Nano Kaplamaların Sentezi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi,* Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.

[61] E. Bakar,, *Bazı Florlu Kaplamaların Sentezi ve Yüzey Kaplama Özelliklerinin İncelenmesi,* Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.

[62] P. Yimsiri ve M. R. Mackley, Spin and dip coating of light-emitting polymer solutions: Matching experiment with modelling, *Chemical Engineering Science,* vol. 61, no. 11, pp. 3496-3505, 2006.

[63] S. Jalota, C. B. Bhaduri ve A. C. Taş, Using a synthetic body fluid (SBF) solution of 27 mM HCO3- to make bone substitutes more osteointegrative, *Materials Science and Engineering C,* vol. 28, pp. 129-140, 2008.

[64] C. Taş, Biomimetric Processing, [Çevrimiçi]. Available: http://www.cuneyttas.com/How-to-prepare-SBF-solution.htm. [Erişildi: 9 Ekim 2018].

[65] Ç. Utlu, D. E. Taşatan ve T. Öztürk, Escherichia coli ATCC 11230 ve Staphylococcus aureus ATCC 6538-P Bakterilerinin Tıpta Kullanılan Bazı İmplant Metallerine Karşı Affinitelerinin İncelenmesi, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi,* vol. 1, no. 5, pp. 12-20, 2003.

[66] E. Ofluoğlu, *Sıçan Omurgasında İmplant İlişkili Enfeksiyon Modeli, Uzmanlık Tezi,* İstanbul: Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, III. Nöroşirurji Kliniği, 2004.

[67] A. Uzunköy, Cerrahi alan enfeksiyonları: risk faktörleri ve önleme yöntemleri, *Ulus Travma Dergisi,* pp. 269-282, 2005.

[68] M. Korkmaz ve S. K. Sarıtaş, Köpek ve Kedilerde Cerrahi Yara Enfeksiyonu ve Prolaktik Antibiyotik Kullanımı, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi,* vol. 11, no. 2, pp. 127-135, 2014.

[69] S. Ahi, *Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi ile Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi,* Ankara: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,, 2011.

[70] U. Demiripek, Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri, 2012. [Çevrimiçi]. Available: , https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf,. [Erişildi: 28 12 2018].

[71] D. Gür, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi,* Ankara: Logos Yayıncılık, 2016.

[72] B. Sümerkan ve S. Gökahmetoğlu, MIC, MBC Testleri, Rutindeki Önemi ve Uygulamaları, *Flora Dergisi.*

[73] Ç. Bal, Antibiyotik Kombinasyonlarının İn Vitro Etkinliğinin Saptanması, *Flora Dergisi,* vol. 4, no. 4, pp. 219-229, 1999.

[74] A. Kalkancı, Klınik Örnekten Sonuç Raporuna Mantar Enfekśiyonlarına Laboratuvar Yaklaşımı-Antifungal duyarlılık testleri, [Çevrimiçi]. Available: https://www.klimud.org/public/uploads/dosya/1356789080.pdf. [Erişildi: 28 12 2018].

[75] A. G. Akkan, Antibiyotiklerin Sınıflandırılması, *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*, İstanbul, 1997.

[76] T. M. H. Page, Properties of Cast Magnesium Alloys, [Çevrimiçi]. Available: http://mg.tripod.com/asm_prop.htm#azchem. [Erişildi: 15 Şubat 2019].

[77] www.mikrobiyoloji.org, Nutrient Agar, [Çevrimiçi]. Available: http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EFA037F55E9FE41DF2. [Erişildi: 18 Şubat 2019].

[78] B. Sancak, Bakterilerin Üretilmesi, [Çevrimiçi]. Available: https://docplayer.biz.tr/9326451-Bakterilerin-uretilmesi-dr-banu-sancak.html. [Erişildi: 18 Şubat 2018].

[79] Y. Wang, W. Mei, J. Gao, J. Hu ve Y. Zang, Corrosion process of pure magnesium in simulated body fluid, *Materials Letters,* vol. 62, no. 14, pp. 2181-2184, 2008.

[80] E. Gültaç, C. Y. Kılınç, A. E. Açan ve N. H. Aydoğan, Ortopedik İmplant Enfeksiyonlarında İzole Edilen Bakteri Çeşitliliği ve Antibiyotik Duyarlılıkları, *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi,* vol. 4, no. 3, pp. 19-20, 2017.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

İletişim Bilgisi: deryaugurlu2@gmail.com

Konferans Bildirileri

1. D., Uğurlu, C., Akça, Biyobozunur Magnezyum Alaşımlarından Üretilen İmplantların Antimikrobiyal Kaplamaların Araştırılması, *International Eurasian Conference on Science*, Engineering Technology (EurasianScientech 2018), Ankara, 2018,
2. D., Uğurlu E., Kaymaz, C., Akça, Development Process of Biodegredable Metallic Implants Used for Fixing Bone Fractures, *Innovation in Nursing 2017 International Student Congress, School of Nursing,* Maltepe Üniversitesi, İstanbul, 2017,

Proje-Patent

1. D., Uğurlu, C., Akça, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinatörlüğü, no. FYL-2018-3177
2. D., Uğurlu E., Kaymaz, C., Akça, Biyobozunur Rahim İçi Araç Yapılanması, *Yıldız Teknik Üniversitesi-Teknoloji Transfer Ofisi*, no. 2017/21826, 26.12.2017, Türkiye