

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

**HİDROTERMAL METOT İLE ANTİMİKROBİYAL NANO
HİDROKSİAPATİT KOMPOZİT ÜRETİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CEMİL KALKAN

KİMYA ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Zafer ŞERBETÇİ**

BİNGÖL-2019

ÖNSÖZ

Çalışmalarım süresince bana yol gösteren, desteğini her zaman yanımda hissettiğim ve fikirlerine güvendiğim değerli hocam sayın Doç. Dr. Zafer ŞERBETÇİ 'ye

Çalışmalarımın sırasında yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR'e ve Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik bölümü öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Fahrettin YAKUPHANOĞLU'na

Manevi destekleriyle beni destekleyen aileme, bilhassa kardeşim Müh. M. Mustafa KALKAN'a

Bu tez çalışmasının yapılması için gerekli ortamı sağlayan Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne teşekkür ederim.

Cemil KALKAN
BİNGÖL 2019

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	2
2.1. Hidrotermal Sentez	2
2.2. Biyomalzemeler.....	3
2.2.1. Biyomalzeme.....	3
2.2.2. Biyoyumluluk.....	4
2.2.3. Kompozit Malzemeler.....	5
3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
4.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	17
4.2. Çözeltilerin ve Nano Hidroksiapatitlerin Hazırlanması.....	18
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
5.1. Yapısal Özelliklerin XRD İle İncelenmesi	19
5.2. Yüzey Yapısı Özellikleri.....	21
5.3. Mikrobiyal Türlerin Seçimi.....	25
5.4. Antimikrobiyal Aktivite.....	25

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	26
KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	40

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

HAp	: Hidroksiapatit
ZnHAp	: Çinko katkılı Hidroksiapatit
FHAp	: Flor katkılı Hidroksiapatit
s	: Saf hidroksiapatit
ç	: Çinko hidroksiapatit
f	: Flor katkılı hidroksiapatit
SEM	: Elektron mikroskobu
XRD	: X-ışınları difraksiyon cihazı
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1.	HAp'ın SEM görüntüleri: 6 saat SBF çözeltilisine daldırıldıktan sonra Eu örnekleri çeşitli büyütme oranlarında: (a) 50000x (b) 100000x, (c) 200000x....	11
Şekil 3.2.	HAp'ın SEM görüntüleri: 24 saat SBF çözeltilisine daldırıldıktan sonra Eu örnekleri çeşitli büyütme oranlarında: (a) 50000x (b) 100000x, (c) 200000x.	11
Şekil 3.3.	HApEu örneği için SBF'ye 24 saat daldırıldıktan sonra haritalama analizi ve EDAX sonuçları	12
Şekil 3.4.	HAp'ın Raman spektrumları: Eu SBF 6 saat ve Eu SBF 24 saatlik tozları	13
Şekil 3.5.	Gram negatif <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1397'ye karşı HApEu SBF 6h ve HApEu SBF 24h'nin antibakteriyel aktivitesi.....	14
Şekil 3.6.	Gram pozitif <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212'ye karşı HApEu SBF 6h ve HApEu SBF 24h'nin antibakteriyel aktivitesi	15
Şekil 4.1.	Hidrotermal Sentez	17
Şekil 5.1.	HAp bileşiğinin XRD difraksiyon pikleri	20
Şekil 5.2.	FHAp kompozitinin XRD difraksiyon pikleri	20
Şekil 5.3.	ZnHAp kompozitinin XRD difraksiyon pikleri	21
Şekil 5.4.	HAp'ın SEM görüntüsü	22
Şekil 5.5.	Çinko Hidroksiapatit kompozitinin SEM görüntüsü	22
Şekil 5.6.	Flor Hidroksiapatit kompozitinin SEM görüntüsü	23

Şekil 6.1.	<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32.....	28
Şekil 6.2.	<i>Brevibacillus brevis</i>	29
Şekil 6.3.	<i>Bacillus cereus</i> EMC 19.....	29
Şekil 6.4.	<i>Staphylococcus aureus</i> 6538 P.....	30
Şekil 6.5.	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 633.....	30
Şekil 6.6.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	31
Şekil 6.7.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC.....	31
Şekil 6.8.	<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4413.....	32
Şekil 6.9.	<i>Salmonella enterica</i> ATCC.....	32
Şekil 6.10.	<i>Proteus vulgaris</i> FMC II.....	33
Şekil 6.11.	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	33
Şekil 6.12.	<i>Candida tropicalis</i> ATCC.....	34
Şekil 6.13.	<i>Candida glabrata</i>	34

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 5.1. HAP bileşîği ZnHAP ve FHAP kompozitlerinin bakterilerde oluşturdukları zon çapları	24
---	----

HİDROTERMAL METOT İLE ANTIMİKROBİYAL NANO HİDROKSİAPATİT KOMPOZİT ÜRETİMİ

ÖZET

Saf, çinko ve flor katkılı hidroksiapatit hidrotermal metotla sentezlenmiştir. Yüzey ve yapısal özelliklerine SEM ve XRD oda koşullarında bakılmıştır. HAp'ın, ZnHAp ve FHAp'ın XRD analizinde difraksiyon piklerinde herhangi bir safsızlık gözlenmemiştir. SEM görüntüsünde hidroksiapatit'in nano layer, nano rod ve nano flower yapıları sentezlemiş olup antimikrobiyal özelliğine bakılması için hazır hale getirilmiştir. Antibakteriyel aktivite tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Hidrotermal metod, hidroksiapatit, antibakteriyel aktivite.

PRODUCTION OF ANTIMICROBIAL NANO HYDROXYAPATITE COMPOSITE BY HYDROTHERMAL METHOD

ABSTRACT

Pure, zinc and fluorine doped hydroxyapatite was synthesized by hydrothermal method. Surface and structural properties were examined under SEM and XRD room conditions. XRD analysis of HAp, ZnHAp and FHAp showed no impurity at the diffraction peaks. In the SEM image, nano layer, nano rod and nano flower structures of hydroxyapatite were synthesized and made ready for antimicrobial properties. Antibacterial activity was determined.

Keywords: Hydrothermal method, hydroxyapatite, antibacterial activity.

1. GİRİŞ

Son yıllarda biyoloji, elektronik, optik ve bilgi teknolojisindeki potansiyel uygulamaları nedeniyle inorganik nanokristallerin geliştirilmesine yönelik önemli araştırmalar yapılmaktadır. Bununla birlikte nanokristalleri yapmanın yolları da araştırmaktadır. Araştırmacılar nanokristal yüzey aktif malzemeleri sentezleyerek kristal şekline ve partikül boyutunu bağlı kontrol etme etkilerini de önemli ölçüde araştırmaktadır. (Bose et al. 2003)

Hidroksiapatit (HAp), $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ kimyasal formülü ve Ca/P molar oranı 1.67 ile en popüler biyoseramik malzemelerden biridir. İnsan kemikleri ve dişlerin ana inorganik bileşenini andırır. HAp implantları toksik olmayıp, biyokimyasal tolerans, biyoaktivite ve biyouyumluluk gibi belirgin özelliklere sahiptir. Bu nedenle HAp biyoseramikleri, tıp ve ortopedik uygulamalar dahil tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Vücut sıcaklığı ve pH koşulları altında HAp, çok az miktarda çözünen bir bileşiktir. Ek olarak, yukarıda belirtilen belirgin özelliklerden dolayı, birçok araştırmacı tarafından çeşitli tiplerde HAp bazlı kompozitler, kaplamalar ve ince filmler geliştirilmiş ve biyomedikal uygulamalar için kullanılmıştır. (Kaygılı et al. 2014)

HAp; hidrotermal metot, sol-gel yöntemi, kimyasal çökeltme, püskürtme pirolizi, katı hal reaksiyonları gibi çeşitli tekniklerle üretilebilir. Ayrıca mekanokimyasal yol, mikrodalga sentezi, mikroemülsiyon ve yanma sentezi ile laboratuvar koşullarında sentezlenebilir. Bu teknikler arasında sol-gel yöntemi, yüksek saflık ve kristalliğe sahip nano-HAp hazırlamak için yaygın olarak tercih edilen yöntemlerden biridir. HAp, fizyolojik pH ve sıcaklıkta neredeyse çözünmemesine ek olarak; toksik olmayan, alerjik olmayan, osteokondüktif, mutajenik olmayan ve endofiliklik özellikler gösterir ve büyüme faktörleri, antikanser ilaçları ve antibiyotikler için kemik değiştirme ve taşıyıcı madde olarak tıbbi ve biyolojik uygulamalarda yaygın olarak kullanılır. (Kaygılı et al. 2015).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Hidrotermal Sentez

Hidrotermal sentez genellikle, 100 °C ve 1 bar'ın üzerindeki sulu ortamlarda heterojen reaksiyonlara denir. Hidrotermal koşullarda, çözülmesi zor olan reaktanlar, kristal suyu halinde veya çok çözünür "mineralizatörlerin" katılabildiği kompleksler halinde çözelti haline gelir. Böylelikle hidrotermal sentezlerin özel bir durum olduğu düşünülen kimyasal reaksiyon şartları elde edilebilir.

Mükemmel bir hidrotermal koşul örneği, yani 100°C ve 1 bar üzerindeki sulu bir ortamda, doğa tarafından sağlanır. Bu koşullar altında çok sayıda mineral oluşmuştur. Laboratuvardaki simülasyonlar sayesinde jeologlar ve mineraloglar, mineral oluşumu için gerekli şartları belirlemeyi başarabilmiş ve böylece jeolojik süreçlerin bilgisine katkıda bulunmuşlardır. Bugün bile hidrotermal araştırmalar jeolojik bilimler alanında önemini korumaktadır. Endüstride hidrotermal, hidrometalurjide, örneğin; Bayer tarafından Boksitin ayrıştırılması için kullanılmıştır. Hidrotermal metot, ikinci Dünya Savaşı'ndan sonra modern katı hal araştırmalarına dahil edilmiştir, Nacken tarafından endüstriyel kullanımı için kuvars kristallerinin istenilen fiziksel özelliklerde ve yeterli büyüklükte son derece saf olarak elde etmesi bu metoda ilgiyi artırmıştır. Bu yöntem katı hal kimyası araştırmaları için aranan saflık ve istenilen kristal boyutunda madde sentezi için çok büyük kolaylıklar ve olanaklar sağlamaktadır. Örneğin yarı iletken fiziğinde talep edilen özelliklerin ölçümü için kristal yapıdaki saflıkla istenilen boyutta sentez hidrotermal metotla kolaylıkla ulaşılmaktadır. Hidrotermal sentezin özel bir kimyasal taşıma reaksiyonları olabileceği düşünüldüğü gösterilmiştir. Hidrotermal sentez, geleneksel sentetik yöntemlerin aksine, birkaç tipik örnekle gösterilebileceği gibi bir dizi avantaj sunar:

1. Oksidasyon hallerinde, özellikle geçiş metali bileşikleri için önemli olan, elde edilmesi zor elementler içeren bileşikler, kapalı sistemlerde hidrotermal sentez yoluyla elde edilebilir. Ferromanyetik krom (IV) oksit elde edilmesi gibi.
2. Hidrotermal yöntem aynı zamanda düşük sıcaklık fazları için de faydalıdır. Optik-elektronik özellikleri için önemli olan CuI (m. 605°C) çinko blende (y) -faz kristalleri, 390 ° C dönüşüm sıcaklığının altındaki HI içeren çözeltilerden elde edilebilir. Bu düşük sıcaklıklarda, gaz fazı boyunca kimyasal taşınma reaksiyonları artık endişe verici değildir.
3. Tellüryum Te₂I ve β-TeI'ün iydürlerinin gibi uygun bileşiklerinin, sırasıyla 265/280 °C yerine 192/198 °C sıcaklıkta iğnemsiz kristalleri sentezlenebilmektedir. (A. Rabenau et al. 1983).

2.2. Biyomalzemeler

2.2.1. Biyomalzeme

Biyomalzeme, vücutta canlı doku veya organların işlevini artırmak veya değiştirmek için kullanılan canlı olmayan malzemelerdir. Fizyolojik ortamda kullanıldığında uzun süre dokularla ve ayrıca vücut sıvısıyla temas ettiğinden, biyomalzemeler doku etkileşimi ile sonuçlanabilir. Biyomalzemeler doku tipine ve biyomalzeme etkileşimine bağlı olarak biyo-inert, biyoaktif ve biyo-rezorbe edilebilir olarak adlandırılır.

Teknolojinin gelişmesiyle beraber hem kullanım alanı iyice yaygınlaşan hem de daha fazla etkinlik, uygunluk ve kullanım rahatlığı imkanları ortaya çıkan biyomalzemelerin ters veya yan etki göstermemesi istenir. Bizim coğrafyamız da dahil olmak üzere bin yıllardır çok çeşitli biyomalzemeler hayatımızın içinde olmuştur. Antik mısır mumyalarında görülen yapay organlar birer biyomalzemedir. Ayrıca altın kaplama veya altından yapılan dişlerin kullanımı tarih öncesine kadar uzanmaktadır. Yakın zamana kadar kullanılan ve toksik etkisinden dolayı günümüzde tercih edilmeyen bakır protezler de buna bir örnektir.

Hidroksiapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$; Biyoaktif biyomateryal kategorisine ait olup, sert dokuların temel mineral bileşenidir. Fizyolojik ortamda kimyasal olarak kararlı kalan ve

spesifik biyolojik aktiviteyi indükleyen kalsiyum fosfat bazlı biyoseramik ailesinin de yegane üyesidir. Mükemmel biyolojik etkinliği, biyouyumluluğu ve oldukça gözenekli yapısı nedeniyle biyomedikal uygulamalarda geniş kapsamı vardır. Biyomateryalin gözenekli yapısı; yeterli osteo-iletkenliğe, malzemenin sağlam bir şekilde sabitlenmesi için mekanik kenetlenmeye ve doğal ve sentetik kemik arasındaki yapışmanın oluşumuna yol açmasını sağlar. HAp bunlarla beraber, biyomedikal cihazın içyapısı boyunca ekstra hücrenel akışkanın akışına izin verir apatit katmanı içerir. (Pradnya et al. 2010).

2.2.2. Biyouyumluluk

Hidroksiapatit, farklı konsantrasyonlarda birçok iyon içeren kemik asidine benzemekle beraber iyon ikameleri ile hidroksiapatit yüzey yapısını ve çözünürlüğünü değiştirerek biyolojik etkinliğini artırır. Hidroksiapatit (HAp), Ca^{+2} ve OH^{-} iyonları tarafından bir araya getirilen PO_4 tetragonalinden oluşan altıgen bir yapıya sahiptir. İyon ikameleriyle değişiklikler morfolojik, kristallik, elektriksel ve optik özellikte meydana gelir. Yüksek iyon konsantrasyonları sitotoksiktir ancak düşük seviyeli iyon ikameleri potansiyel olarak kemik oluşumunu ve antibakteriyel aktiviteyi artırır. Örneğin Ca iyonlarının iki değerli veya üç değerlikli olarak değişimi hidroksiapatitin biyolojik, fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirir. Hidroksiapatit kemik metabolizması konusunda geniş bir uygulama alanına sahiptir. (Helen et al. 2018).

Magnezyum ve stronsiyum doğal kemiklerde bulunan ana elementlerdir. Magnezyum iyonu varlığı, dentin ve kemikte; kemik büyümesini ve kemik kırılma oranını %1,23 ile %0,73 arasında değişen oranlarda etkiler. Stronsiyum osteoporoz tedavisinde kullanılan kemikte doğal olarak bulunan elementlerden biridir.

Çinko biyolojik dokuda ve kemikte hayati bir rol oynar, ancak etkinliği kemiklerin yoğunluğunu azaltır. Ca^{+2} iyonlarının başka katyonlarla ikame edilmesi, iyonik boyutlara bağlı olarak kafes değerlerinin daralmasına veya genişlemesine yol açar. Hidroksiapatit, güç taşıyamadığı için yük taşıma uygulamalarında kemik ikamesi olarak kullanılması sakıncalı olabilir. Bu sorunun üstesinden gelmek için hidroksiapatit; magnezyum, stronsiyum, çinko titanyum gibi birçok iyonla katkılı hale getirilebilir. Ve saf hidroksiapatit, implantasyonlarda başarısızlığa yol açabilen ve biyomalzemelere inorganik

katyonlar eklenerek üstesinden gelenebilen antibakteriyel aktiviteden yoksundur (Helen et al. 2018).

Alüminyum, kobalt, krom, nikel, demir ve lantan gibi metal iyonları, metal implantların kalitesini artırır. Ayrıca hidroksiapatitlerin kristal boyutu, kristallik ve kafes parametreleri gibi özelliklerini etkiler. Bakır, mikro organizmayı devre dışı bırakmak için kullanılan makro besin elementidir. Bakır, hücre zarında değişikliklere neden olup, çinko, kobalt, demir ve nikel gibi diğer iki değerli iyonlarla karşılaştırıldığında yüksek kontrasta sahiptir. Kobalt, antibakteriyel aktiviteye ek olarak hemoliz testine göre toksisitesi olmayan biyomateryal olarak kullanılan temel bir elementtir. Hidroksiapatit mekanik özellikleri tıbbi uygulamalar üzerine çeşitli literatürler vardır (Helen et al. 2018).

2.2.3. Kompozit Malzemeler

Kullanılan metalik biyomalzemeler arasında paslanmaz çelik, titanyum, tantal ve nikel titanyum alaşımları da bulunur. Medikal paslanmaz çelik diğer metalik biyomalzemelere göre daha ekonomik bir alternatif olması nedeniyle kırılma onarım cihazlarında ve eklem değiştirme bileşenlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İmplant cerrahisinde ve kısa vadeli biyomedikal cihazlarda önemli bir sorun bakteriyel enfeksiyondur. Biyomedikal cihazların yüzeylerinin ve implantların bakteriler tarafından kolonileştirilmesi hastalar için sağlık açısından risk oluşturan enfeksiyonlara neden olabilir; bu durum, genellikle kontamine cihazın yeniden çalıştırılmasını veya değiştirilmesini gerektirdiğinden ciddi masraflar ve sağlık sorunları ortaya çıkarabilir. Ameliyattan haftalar veya aylar sonra ortaya çıkan gecikmiş enfeksiyonlar ciddi bir problem teşkil etmeye devam eder. Bu geç evre enfeksiyonlarının cerrahi işlemde değil vasküler sistemde dolaşan bakteriyel sporelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Tamamen iyileşmemiş bir yara bölgesine inen sporeler implant yüzeyine yapışabilir, çoğalabilir ve sonunda enfeksiyona yol açan bir biyofilm oluşturabilir. (Farrag et al. 2017).

Her ne kadar doğal kemik dokularında mükemmel bir içsel onarım yeteneği olsa da, kendi kendini yenileme hızı kritik boyuttaki kemik defektlerinde genellikle yeterli olmaz. Kemik rejenerasyon işlemini kolaylaştırabilen çeşitli mekanik, elektriksel ve manyetik dış uyarıcılar vardır. Örneğin, statik manyetik alanın (SMF), manyetik alan ile kemikteki

biyolojik işlemler arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak kemik kırığı iyileşmesini hızlandırmakta etkili bir yaklaşım olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, kemik rejenerasyonu için biyomedikal uygulamalarda manyetik nanopartiküllerin (MNps) kullanımında bir artış olmuştur. Biyomedikal alanda kullanılan en yaygın manyetik nanoparçacık türlerinden biri demir oksit (Fe_2O_3) parçacıklarıdır. Bununla birlikte, Fe_2O_3 partiküllerinin kullanımıyla gözlenen toksisite nedeniyle diğer manyetik partiküllere de ilgi duyulmuştur. HAp yüzeyindeki bakteriyel adsorpsiyon, implant enfeksiyonuna ve kemik desteğinin kaybına neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlara karşı etkili bir koruma sağlamak amacıyla, HAp kafes yapısına Ag^+ , Sr^{+2} ve Cu^{+2} gibi bazı antibakteriyel aktiviteye sahip metal iyonları dahil edilmiştir. HAp kafesindeki Ca^{+2} iyonlarının diğer iyonlarla değiştirilmesi olasılığı HAp kafesinin önemli bir özelliğidir. İyonik süstitüsyonun HAp'ın biyolojik özellikleri üzerinde önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Bir örnek olarak, Ag'nin HAp kafesine dahil edilmesi, katlanmamış HAp benzerlerine kıyasla önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir (Yazdani et al. 2018).

Kobalt (Co), Demir (Fe) ve Nikel (Ni), HAp nanoparçacıklarında manyetik özelliği indüklemek için kullanılan manyetik iyonlardır. Co, ortopedik implantlardaki alaşım bileşenlerinden biridir ve yüksek mukavemet ve aşınma direncinden dolayı protez olarak kullanılır. Ek olarak, Kobalt ayrıca DNA üretiminde önemli bir rol oynayan B-12 vitamini olarak bilinen aktif kobalaminin merkezidir. Kobaltlı HAp konusunda çok sınırlı çalışmalar yapılmıştır. Daha önceki bir raporda, hem Kramer hem de Chandra, Kobaltoped HAp'ın saf HAp'ta gözlemlenen diamagnetic davranışının aksine paramanyetik özellikler gösterdiğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada kobalt içeriğinin ağırlıkça %12'ye kadar artırılmasının osteogenez ve yeni kemik üzerinde faydalı olduğu bildirilmiştir (Yazdani et al. 2018).

3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Hidroksiapatit, olağanüstü biyouyumluluk nedeniyle potansiyel biyomedikal uygulamalar için geniş çapta araştırılmış bir malzemedir. Şimdiye kadar hidroksiapatit kompozitleri çok çeşitli yöntemlerle elde edilmiştir. Bunlar arasında bizim de çalıştığımız gibi hidrotermal yöntem kullanılmıştır. Bunun dışında sol-jel yöntemi, yanma sentezi, ultrasonik ışıma, vucut sıvısı kullanarak çöktürme, mikrodalga yöntemi, kuyu difüzyonu ve ters misel gibi yöntemler kullanılmıştır. Çeşitli yayınlardan yapılan sentezlerden aşağıda bahsedilmiştir.

S. Helen et al. antibakteriyel aktiviteyi, kuyu difüzyonu kullanılarak araştırmışlardır. Bu yöntemde petri plakaları, 20 ml steril Mueller Hinton Agar (MHA) ve test kültürleri katılmış ortamın üzerine sürülmüştür ve 10 dakika kurumaya bırakılmıştır. Plakalar çubukla inoküle edilmişlerdir. Bakterilerle kontaminasyonda steril pamuklu çubuklar kullanılmıştır. Kullanılan bakteriyel patojenler Escherichia Coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus ve Enterococci sp. Plakalara 6 mm çapında ve kuyucuklarla doldurulmuş farklı örnekler (100 µg/mL) kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak iyi bir kapsayıcı olan sülfoksit plakalar tercih edilmiştir (100 µg / mL).

Numuneler 24 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta inkübe edildikten sonra, antibakteriyel tahlil üçlü gruplar halinde yapılmıştır. Her örnek için inhibisyon bölgesi milimetre cinsinden kaydedilmiştir. Ardından kontrol edilen sonuçlar ve verileri karşılaştırılıp, istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Ek olarak Cu/Zn dopandlar yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüştür. P. aeruginosa'da dopandlarda benzer patojen etkiler görülmüştür. Antibakteriyel uygulama dielektrik şarj yoğunluğuna göre değişkenlik gösterdiği gözlenmiştir. Şarj yoğunluğunu, antibakteriyelin çapını da arttırdığından pozitif iyon gram negatif bakteri ile etkileşime girdiği bölge incelenmiştir. Numunelerin antibakteriyel aktivitesi kendi örnek şarj yoğunluğundan açıklanmıştır. Tıbbi uygulamalarda, katkılı katyon elementlerinin antibakteriyel aktivitesi görülmüş ve biyomateryali yönettiği sonucuna varılmıştır.

Nida Iqbal et al. hidroksiapatitin antibakteriyel faaliyetlerini Ag ile dört bakteri türüne karşı değerlendirmişlerdir. Bunlar; *S. aureus*, *B. Subtilis* (agar disk difüzyonunu kullanarak), *P. aeruginosa* ve *E. Coli*'dir. Teknik olarak minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC) kullanmışlardır. Bu bakteri konsantrasyonları Kuala Lumpur'da Bakteri Tıbbi Araştırma Enstitüsü'nden (IMR) elde edilmiştir. Her organizma için stok çözelti 10^8 CFU/ml'dir. Her bakteri çözeltisinin 1 ml'si 9 ml LB ile karıştırılarak hazırlanmıştır. (Luria Bertani) suyu ile $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat kuluçkada bekletilmiştir. 250 rpm'de Disk difüzyon için, katılmış Nutrient agar ortamında plakalar hazırlanmış ve bakteri kültürleri bu plakaların üzerine sürülmüştür. Steril kağıt diskler Ag-HAp içine batırıldıktan sonra süspansiyon (1 g/1 ml PBS) ve besin agar plakasına yerleştirilerek 24 saat $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyon için bekletilmiştir. Disklerin çevresinde bakterilerin inhibisyonu ve büyümesi, halo bölgesinin genişliği ölçülerek mm cinsinden belirlenmiştir. Düşen plak tekniği MIC tayini için kullanılmıştır. Değerleri farklı konsantrasyonlardaki numuneler bakteri kültüründen alınmıştır. (%0,9 salin çözeltisi). Sonra her birinin 10 mL'si numuneler şeklinde besin agar plakasına damlatılıp, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 12 saat süreyle inkübe edilmişlerdir. Son olarak, plakalar bakteri üremesi için gözlenmiştir.

Bu çalışmada Ag-HAp nanoparçacıklarının güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu yüzden; Ag-HAp nanoparçacıkları potansiyel kemik olarak, rekonstrüktif cerrahide ve diş implantlarında kullanılabileceğini görmüşlerdir.

O. Kaygili et al. yaptıkları işlemde bütün kimyasalları Sigma-Aldrich'ten temin etmişlerdir. Kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), diamonyum hidrojen fosfat (DAP, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), gümüş nitrat (SN, AgNO_3) ve baryum nitrat (BN, $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$) numunelerin sentezi için kullanmışlardır. Çözücü olarak distile su kullanılmıştır. 100 ml 0,5 M CN çözeltisi ve 100 ml 0,3 M DAP çözeltisi ayrı ayrı hazırlanıp çeşitli beher camlarda DAP çözümü CN çözeltisine damla damla dökülmüştür. PH; çözeltiye amonyum hidroksit ilave edilerek 9'a ayarlanmıştır. Çözeltiler 8 saat boyunca karıştırılmıştır. $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve son olarak jeller oluşmuştur. Elde edilen jeller $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 20 saat boyunca kurutulmuştur. Kurumuş tozlar 3 saat boyunca $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bir elektrikli fırında kalsine edilmiştir. Böylece çeşitli miktarlarda Ag ve Ba içeren katkılı örnekler hazırlanmıştır. Ag-HAp'ın ve Ba-HAp örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Gram negatif *Escherichia coli*,

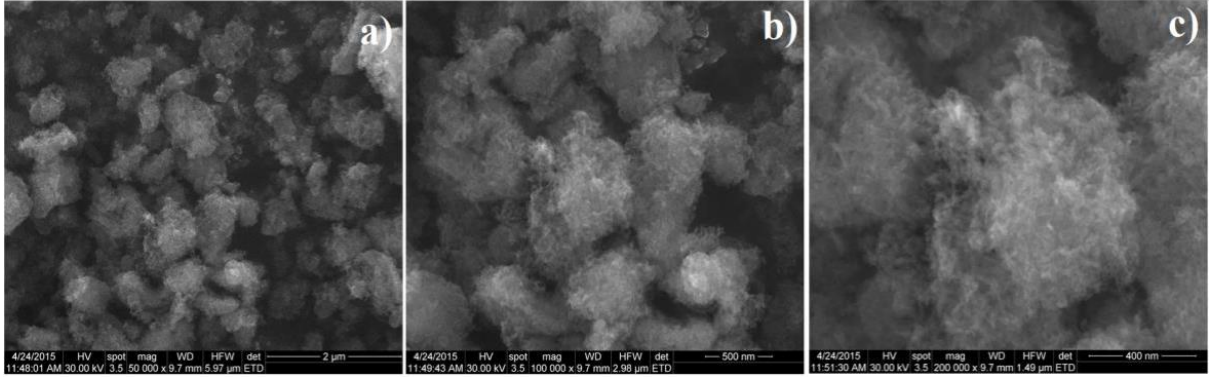
Klebsiella pnömonisi, Gram pozitif Bacillus megaterium, Staphylococcus aureus ve maya türlerinden Candida albicans türü mikrobik ajanlar kullanılmıştır. Tüm örnekler arasında Ag içeren numunelerde önemli bir antimikrobiyal aktivite görmüşlerdir. En yüksek %2,0 Ag-HAp için antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir. Bu yavaş yavaş Ag salınımı ile ilgili olabileceğini gözlemişlerdir. Bununla birlikte, saf-HAp ve Ba-HAp'larda antimikrobiyal aktivite gözlememişlerdir.

O. Kaygili et al. tarafından yapılan bu çalışmada, başlangıç reaktifleri olarak Kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), diamonyum hidrojen fosfat ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), demir (III) nitrat nonatidrat ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) ve polivinil alkol (PVA) kullanmışlardır. Farklı dört HAp örneği %0,7, %1,4 ve %2,1 Fe ile sırasıyla 0,7 FeHAp, 1,4 FeHAp ve 2,1 FeHAp içerikleri sentezlemişlerdir. $(\text{Ca}+\text{Fe})/\text{P}$ molar oranı 1,67 değerinde korunmuştur. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ birlikte beher içinde deiyonize su içinde çözülmüştür. Daha sonra, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ de deiyonize suda eritilip ve ilave edilmiştir. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 'ya damla damla karıştırılmış ve deiyonize su ile hazırlanmış 5 ml 0,14 mM PVA çözeltisi bu çözeltiye eklenmiştir. Nihai çözelti, oda sıcaklığında 1,5 saat karıştırılıp, jel oluşumu gözlenmiş ve daha sonra bu jel, 24 saat boyunca 120°C 'de bir fırında kurutulmuştur. Kurutulmuş numuneler, 1 saat boyunca 800°C 'de kalsine edilmiş ve toz numuneler soğutulduktan sonra bakteriyel aktivite izlenmiştir. Fe ilavesinin HAp'ın kristal yapısını etkilediği görülmüştür. Fe_3 , kristalit boyutunda 32,54 nm'den 27,91 nm'ye kademeli bir düşüşe neden olmuştur ve karakteristik titreşim modlarına ait bantlar gibi kristalliğin değerleri üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. HAp yapısının hidroksil ve fosfat grupları FTIR spektrumları ile gözlenmiştir. SEM fotoğrafları, küçük tanecik ebadı dağılımına sahip ince taneli mikroyapıyı doğrulamış ve EDX analizi, apatitik yapıda Fe'nin birleştirildiğini doğrulamıştır. Sentezlenen numunelerin ölçülen direnç değerleri 1011-1012 Ω içinde olduğundan, tüm numuneler yalıtkan davranış sergilemiştir. HAp numunesinin dielektrik özellikleri Fe içeriği ile değiştirildiğinde, Fe ilavesiyle nispi geçirgenlik arttırılmıştır. Dielektrik özellikler ve kristal yapının birbirleriyle yakından ilişkili olduğu söylemişlerdir.

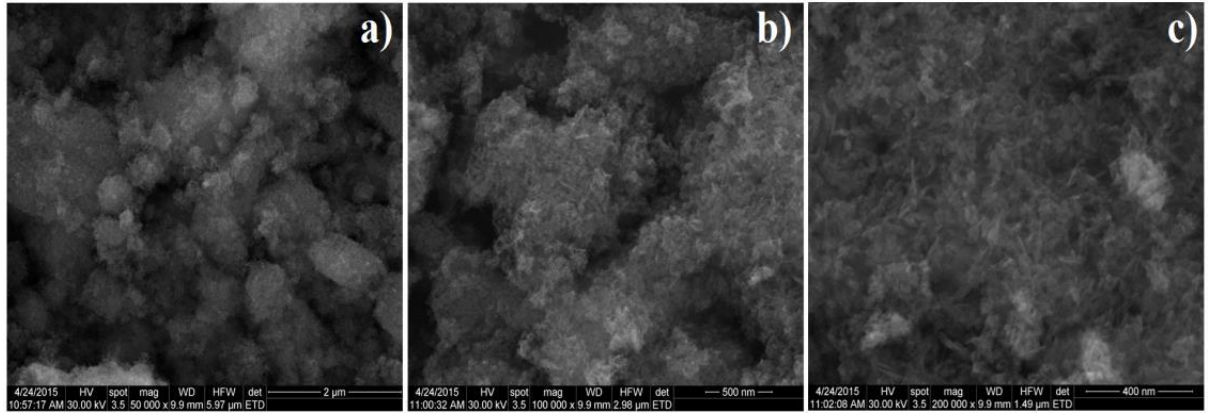
E. Andronescu et al. tarafından yapılan çalışmada HApEu ($\text{Ca}_{10-x}\text{Eu}_x (\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $x\text{Eu} = 0.1$) nanoparçacığını yeni uyarlanmış bir çoğaltma metodu ile sentezlemişlerdir. HAp'ın elde edilmesi için: Eu nanoparçacığı ile kalsiyum nitrat tetrahidrat [$\text{Ca} (\text{NO}_3)_2 \sim 4\text{H}_2\text{O}$],

amonyum hidrojen fosfat ((NH₄)₂HP0₄) ve europium nitrat pentahidrat (Eu (NO₃)₃ 5H₂O) kullanılmıştır. Uygun miktarda amonyum hidrojen fosfat ve europium nitrat etanol içinde çözülmüştür. Damıtılmış su ilave edildikten sonra, çözelti 80 ° C’de 8 saat boyunca kuvvetlice karıştırılmıştır. Farklı bir alıcıda, belirli bir miktarda kalsiyum nitrat, 80 ° C’de 8 saat boyunca kuvvetli bir şekilde karıştırılarak etanol içerisinde çözüldürülmüştür. Kalsiyum içeren çözelti, fosfor içeren çözeltiliye damla damla ilave edilmiştir. HApEu örneğini elde etmek için kullanılan atom oranı [Ca + Eu] / P = 1,67 idi. Elde edilen tozlar 80 °C’de 12 saat boyunca kurutulmuştur. HApEu örnekleri SBF çözeltilisine batırılarak elde edilmiştir. Bu karışımlar vücut sıcaklığında tutulmuş ve sırasıyla 6 (HApEu SBF 6 saat) ve 24 saat (HApEu SBF 24 saat) boyunca inkübe edilmiştir. Kuluçkalamadan sonra, tozlar SBF çözeltilisinden çıkarılıp; kurutulup, öğütülmüştür. Taramalı elektron mikroskopi çalışmaları, hızlandırılmış 30 kV voltajında çalışan QUANTA INSPECT F mikroskobu ile yapılmıştır. Element analizi için, elektron mikroskobu bir enerji dağıtıcı X-ışını eki ile donatılmıştır. (EDAX / 2001 cihazı). Tozların optik özellikleri FT-Raman spektroskopisi ile incelenmiştir. Çalışmalar bir RFS 100 FT-Raman Bruker spektrofotometresi ($\lambda = 1064$ nm) ile yapılmıştır. İn vitro antibakteriyel çalışmalar, HApEu ve SBF tozlarının antibakteriyel aktivitesi, 96-çok oyuklu seri dilüsyonlardan iki katlı seri dilüsyonlar kullanılarak, gram pozitif (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve gram negatif bakterilerin ATCC bakteri suşları plakalar üzerinde değerlendirilmiştir. Kantitatif antibakteriyel tarama için inokulum, 0,5 McFarland standardına eşdeğer her bakteri suşu, bir et suyu kültürü kullanılarak hazırlanmıştır. Daha sonra, numunelerin iki katlı seri dilüsyonları DMSO (dimetil sülfoksit) içinde 1000 ug/mL konsantrasyonda olacak şekilde bir başlangıç stok çözeltisi ile hazırlanmıştır. Bundan sonra, plakalar 24 saat boyunca 37 °C’de inkübe edildi ve elde edilen kültürün 620 nm’de absorbanı ölçülerek bakteri üremesi değerlendirilmiştir. Deneyler üç kopya halinde yapılmıştır.

Şekillerde, Şekil 1 ve 2’de, HApEu SBF örnekleri için farklı büyütmelemlerde elde edilen SEM görüntüleri, sırasıyla 6 ve 24 saat boyunca HApEu’nun SBF’ye daldırılmasından sonra sunulmuştur.

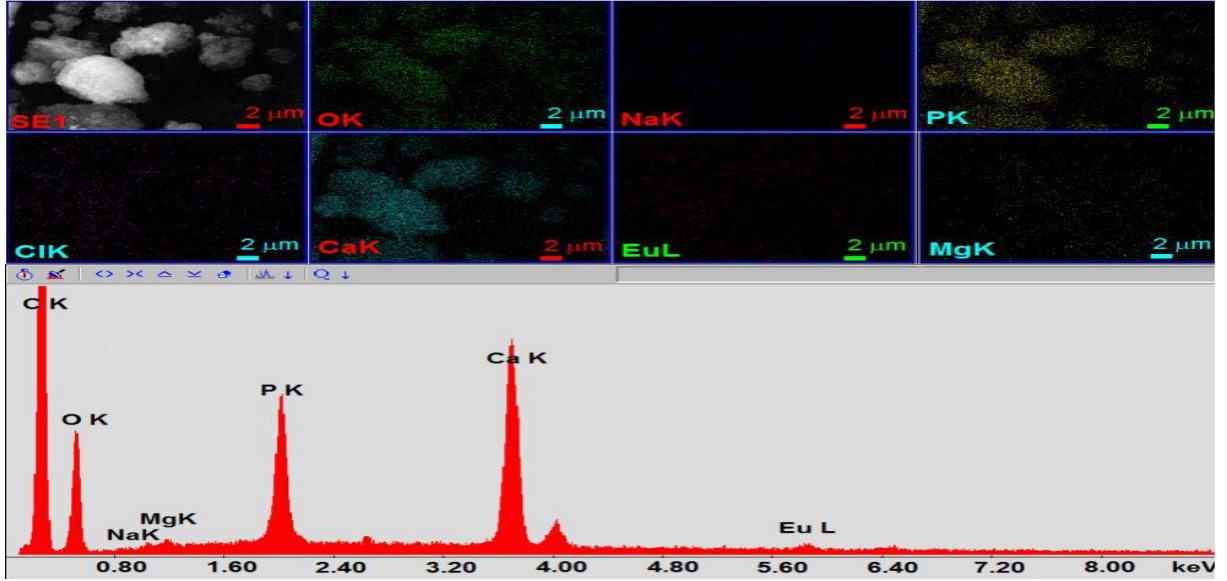


Şekil 3.1. HAp'ın SEM görüntüleri: 6 saat SBF çözeltisine daldırıldıktan sonra Eu örnekleri çeşitli büyütmelerde: (a) 50000x (b) 100000x, (c) 200000x



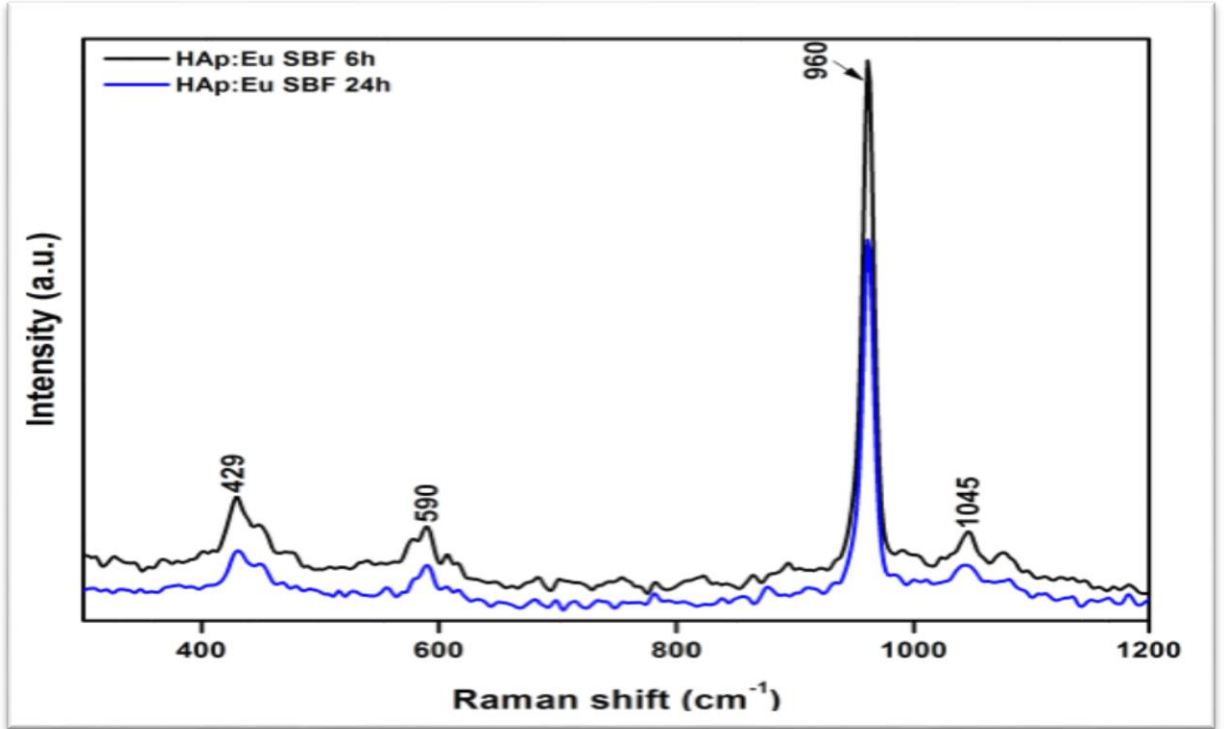
Şekil 3.2. HAp'ın SEM görüntüleri: 24 saat SBF çözeltisine daldırıldıktan sonra Eu örnekleri çeşitli büyütmelerde: (a) 50000x (b) 100000x, (c) 200000x

HApEu örneklerinin gözenekliliğinin SBF'ye daldırıldıktan sonra arttığına dikkat çekmişlerdir. HAp'ın gözenekliliğinin artması: Eu SBF kemik dokusu mühendisliğinde yeni uygulamalara yol açabileceği görülmüştür. Ayrıca, nanopartiküllerin morfolojisinin daldırma süresinden etkilendiği görülmüştür. Ayrıca, partiküllerin nanometrik boyutları ve elipsoidal şekli SEM çalışmaları ile doğrulanmıştır. 24 saat boyunca SBF'ye batırıldıktan sonra HApEu SBF numuneleri için elde edilen EDAX sonuçları ve haritalama analizi Şekil 3'te gösterilmektedir. EDAX bulguları Ca, P, Eu, O, Na, Cl ve Mg varlığını doğrulamıştır. Ca, P ve O'ya atfedilen ana pikler, Şekil 3'te gösterildiği gibi hidroksiapatit kompozisyonunu onaylamıştır. Öte yandan, haritalama analizi, HApEu SBF numunesinin tüm bileşenlerinin düzgün ve sürekli bir dağılımını doğrulamıştır.



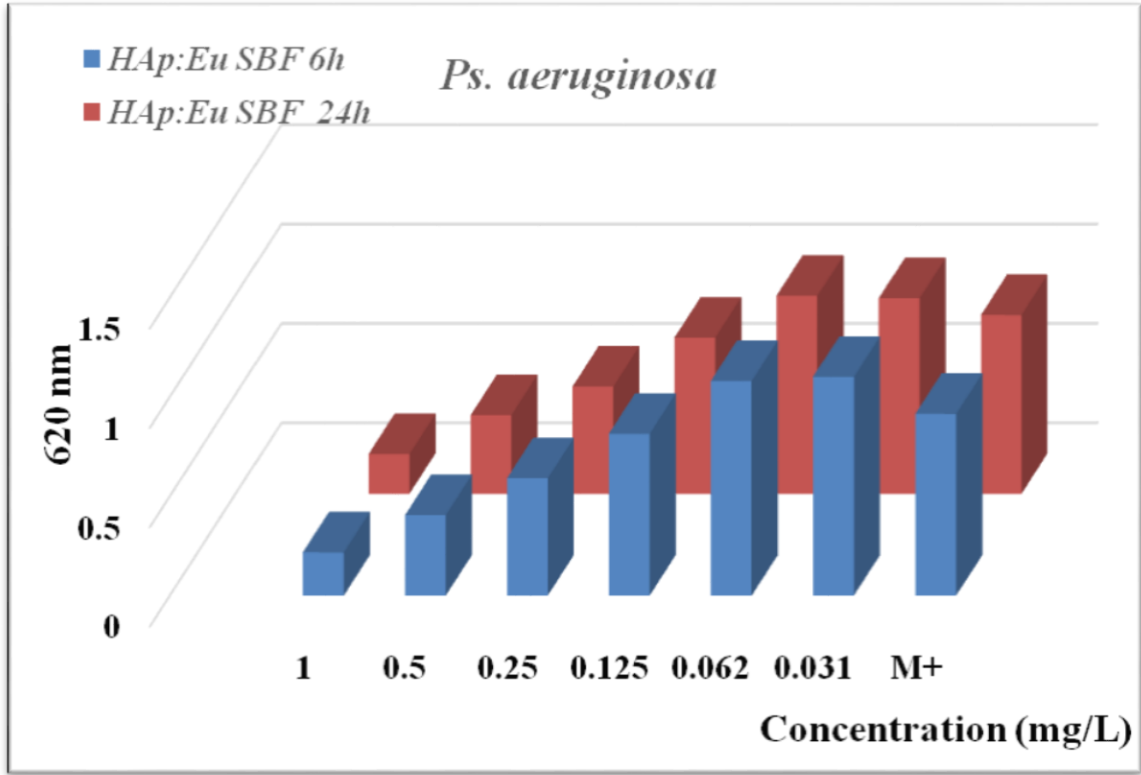
Şekil 3.3. HApEu örneği için SBF'ye 24 saat daldırıldıktan sonra haritalama analizi ve EDAX sonuçları

Şekil 4'te, çalışılan numuneler için kaydedilen Raman spektrumları sunulmuştur (HApEu SBF 6 saat ve HApEu SBF 24 saat). Her iki spektrumda, hidroksiapatit yapısından fosfor grubuna ν_1 (960 cm^{-1}), ν_2 (429 cm^{-1}), ν_4 (590 cm^{-1}) ve ν_3 (1045 cm^{-1}) titreşim modlarına özgü bantların varlığı fark edilmiştir. Ayrıca, titreşimli bant yoğunluğunda bir azalma gözlenmiştir. Bu davranış, tozların kristalleşme derecesinin azaldığını gösterebilir. Şekil 2.4'te sunulan iki spektrumdan hiçbiri herhangi bir ek bant göstermemiştir. Bu, numunelerin SBF çözeltisine daldırıldıktan sonra bile apatit yapıyı koruduğunu söylemişlerdir.



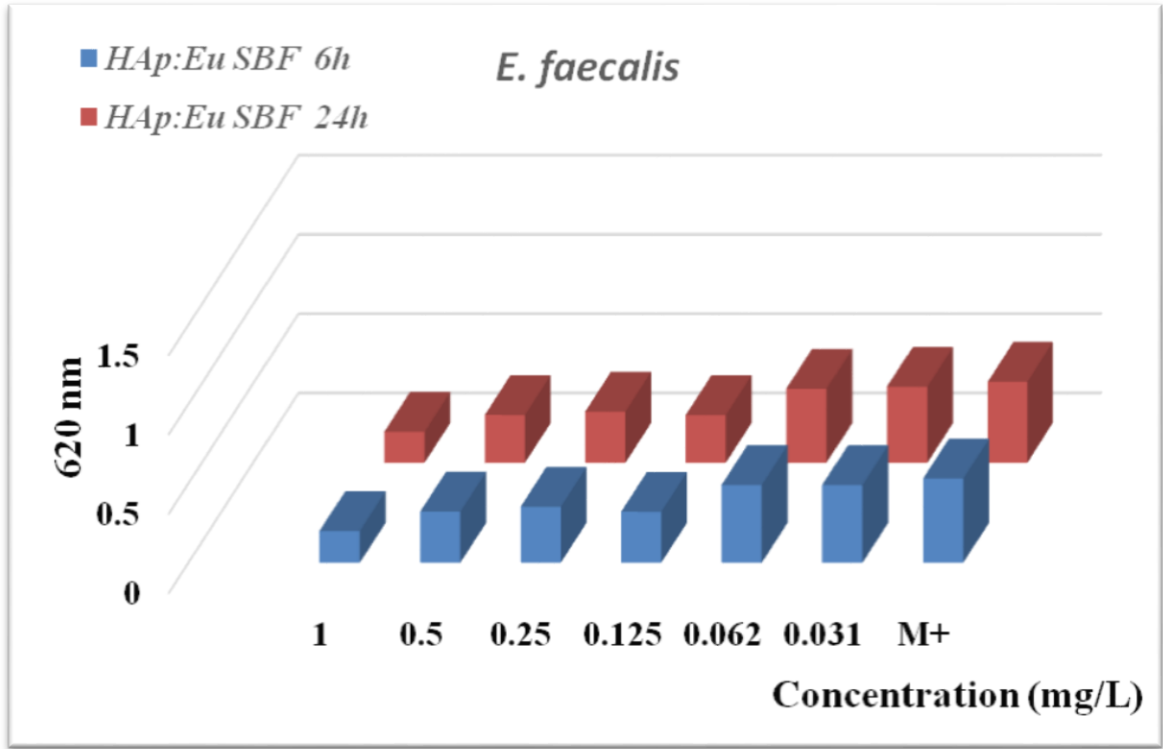
Şekil 3.4. HAp'ın Raman spektrumları: Eu SBF 6 saat ve Eu SBF 24 saatlik tozları

Geçtiğimiz yıllarda, bir biyolojik sonda olarak potansiyel kullanım için europium katkılı hidroksiapatitin gelişimine ve karakterizasyonuna özel bir dikkat çekilmiştir [20]. Ayrıca, evropiyum katkılı hidroksiapatitin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili son çalışmalar bildirilmiştir [15]. Bu tür malzemelerin in vitro davranışını daha iyi anlamak için, çoğu zaman bir simüle vücut sıvısı (SBF) çözeltisi ile temas ettirilirlir. Bu çalışmanın amacı, daha önce SBF'ye 6 ve 24 saat daldırılmış olan evropiyum katkılı hidroksiapatit tozlarının antibakteriyel özelliklerini değerlendirmektir. HApEu SBF'nin antibakteriyel etkinliği, en yaygın bakteri suşlarından ikisi, *Pseudomonas aeruginosa* 1397 (Gram negatif) ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Gram pozitif) kullanılarak test edilmiştir. Gram negatif bakteri suşu *Pseudomonas aeruginosa* 1397'ye karşı değerlendirilen HApEu SBF 6 saat ve HApEu SBF 24 saat'in bakterisidal etkisi, Şekil 2. 5'de sunulmaktadır. Elde edilen sonuçlar HApEu SBF 6 saat ve HApEu SBF 24 saat tozlarının *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivite sergilediklerini göstermiştir. *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki bakterisit etki, *Aeruginosa* mikrobiyal süspansiyonları ile 1 mg / L'den 0.125 mg / L'ye kadar gözlenmiştir.



Şekil 3.5. Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* 1397'ye karşı HApEu SBF 6h ve HApEu SBF 24h'nin antibakteriyel aktivitesi

Her ne kadar HApEu SBF 6 saat ve HApEu SBF 24 saat *Pseudomonas aeruginosa*'ya benzer bir etkiye sahipse de 620 nm'de absorbansda küçük bir fark gözlenmiştir. HApEu SBF 24 saat durumunda ölçülen absorbans değerleri HApEu SBF 6 saat için elde edilenlerden daha küçük olduğu görülmüştür.



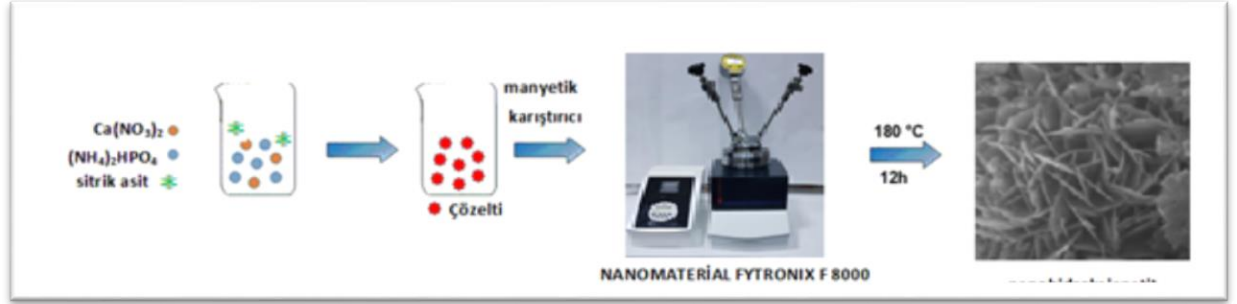
Şekil 3.6. Gram pozitif *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'ye karşı HApEu SBF 6h ve HApEu SBF 24h'nin antibakteriyel aktivitesi

Bu nedenle, sonuçlar SBF'ye maruz kalma süresinin, europium katkılı hidroksiapatit tozlarının antibakteriyel aktivitesini etkilediğini ortaya koymuştur. HApEu SBF 6 saat ve HApEu SBF 24 saat'in antibakteriyel etkisi de gram-pozitif bir bakteri suşuna karşı test edilmiştir. Şekil 6, gram pozitif *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'ye karşı HApEu SBF 6 saat ve HApEu SBF 24 saat'in antibakteriyel etkinliğini göstermektedir. Sonuçlar, HApEu SBF 6 saat ve HApEu SBF 24 saat tozlarının çalışılan tüm konsantrasyonlar için *E. faecalis*'e (Şekil 6) karşı iyi antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüştür. (1mg/L ila 0.031 mg/L). HApEu SBF 24 saatlik numune durumunda *E. faecalis* A inhibisyonu, HApEu SBF 6 saatlik numune örneğindeki durumdan daha belirgindir ve bu da, europium katkılı hidroksiapatit nanopartiküllerinin SBF ile temas süresinin antibakteriyel aktiviteyi etkilediğini göstermiştir.

O. Kaygılı et al. yapılan işlemde biyoseramik örnekler sol-gel tekniği ile sentezlemişlerdir. İlk olarak, kalsiyum nitrat tetra hidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ve fosfor pentoksit (P_2O_5) öncüleri mutlak etanolde çözülmüştür. ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) ortam sıcaklığında manyetik bir karıştırıcı ile 30

dk karıştırılmıştır. Sonra, bu çözelti 10 dakika boyunca bir vorteks içinde karıştırılarak çözelti bir jele dönüşmeye başlamıştır. 2 saat boyunca 60 °C’de bir sıcak su banyosunda ısıtılıp ve 15 saat 120 °C’de fırında bekletildikten sonra jel oluşturulmuştur. Son olarak, kurutulmuş jel bir 1 saat boyunca 900 °C’de elektrikli fırında bekletilmiştir. Mg bazlı biyoseramik örneklerin hazırlama işlemleri HAp hazırlama işlemine benzerdir. Tek fark magnezyum nitrat heksahidrat ilavesidir. Hidroksiapatitin birçok özelliği; elektrik, mikro yapı, kimyasal ve fiziksel özellikleri Mg ilavesiyle değiştirilmiştir. HAp örneğiyle karşılaştırıldığında, magnezyum-kalsiyum fosfatlara dayalı yeni fazlar ortaya çıktı ve yavaş yavaş hidroksiapatit ve b-TCP fazları Mg ilavesiyle ortadan kaybolmuştur. Kristal Mg dopantın mol oranıyla yapılar değişmiştir. 1011 V’de birçok değişiklik olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, tüm numunelerin empedans değerleri de yüksek olarak ölçülmüştür. Frekans değerlerinin artmasıyla, empedans değerleri belirgin bir düşüş göstermiştir. Mg dopant’ın molar oranı ile Mg katkılı numunelerin yoğunluk değerleri önemli ölçüde azalmıştır. Numunedeki HAp’in FTIR spektrumu orijinal hidroksiapatit ile mükemmel bir uyum içinde olduğu gözlenmiştir. Mg₃-Ca₃(PO₄)₂ biyoseramiklerin Mg içeriği yüksek olan hidroksiapatitten elde edilebileceğini söylemişlerdir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM



Şekil 4.1. Hidrotermal Sentez

4.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Fytronix F 8000 hidrotermal cihazı

SEM Cihazı

Rikagu XRD Cihazı

Elektronik Terazı

Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı

Etüv

Çeşitli ebatlarda beher, erlen , petri kabı, pipet

Çinko asetat dihidrat ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Etil alkol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)

Kalsiyum nitrat dört hidrad ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

Amonyum bifosfat ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)

Sitrik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)

Amonyum florür (NH_4F)

Azot gazı (N_2)

Saf su

Muller Hintor agar

DMSO (dinetil sülfoksit)

4.2. Çözeltilerin ve Nano Hidroksiapatitlerin Hazırlanması

Antibakteriyel uygulamalarda kullanmak için hidroksiapatit (HAp), çinko ve flor katkılı kompozit hidroksiapatitlerin sentezinde hidrotermal metot kullanılmıştır. Toz halindeki 2,36 g(10mmol) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve 0,792 g (6mmol) $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ maddeleri tartılmış 30 ml saf suda beher içerisinde çözülmüştür üzerine 0.384(2mmol) g sitrik asitle hazırlanmış 10 ml sulu çözeltisi ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcıda 40 °C 25 dakika karıştırılmıştır. Bu çözeltilerden üç adet hazırlanmıştır. Çözeltilerden birincisinin üzerine çinko katkısı %1 olacak şekilde $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ikincisine flor katkısı %1 olacak şekilde NH_4F ve üçüncü ye herhangi bir katkı eklenmeden saf olarak hazırlanmış ve 20 dakika daha karıştırılmıştır. Sonra bu çözeltiler ayrı ayrı teflon kaplara alınarak Fytronix F 8000 hidrotermal cihazında 180 °C 12 saat bekletilerek sentez yapılmıştır. Sentez sonucu oluşan çökelekler beyaz süzgeç kâğıdında süzümüştür. Sırasıyla saf su ile ve etil alkolle yıkanıp 110 °C bir saat etüvde kurutulup deneysel işlemlere ve yapısal analizlere hazırlanmıştır.

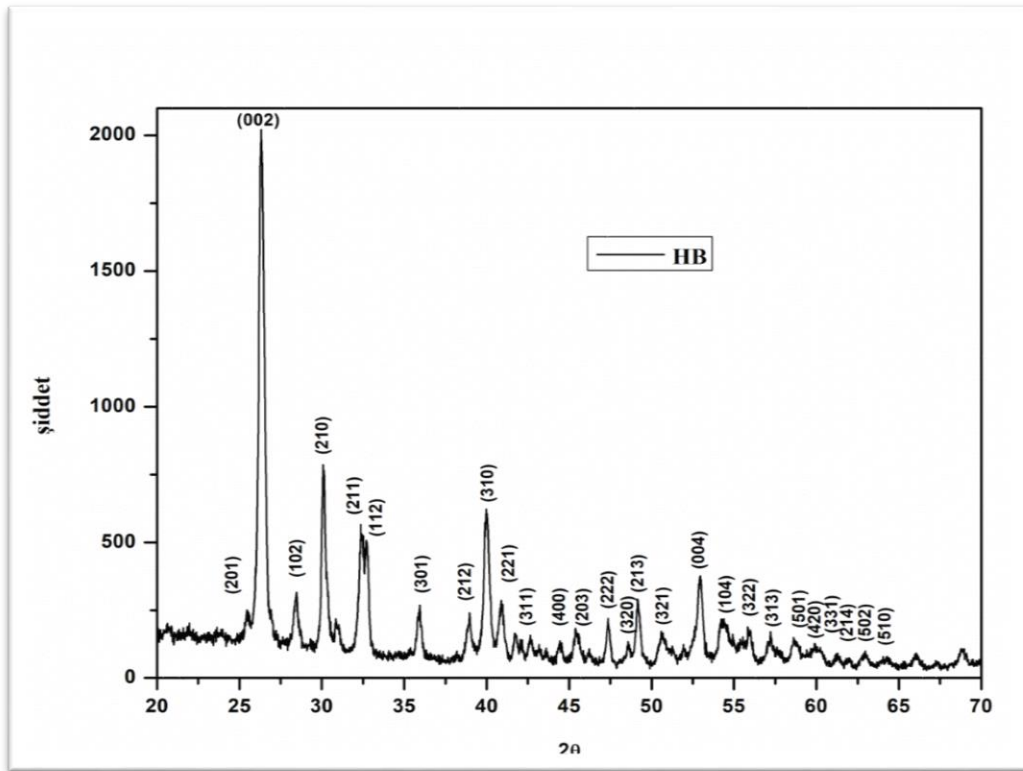
5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Yapısal Özelliklerin XRD İle İncelenmesi

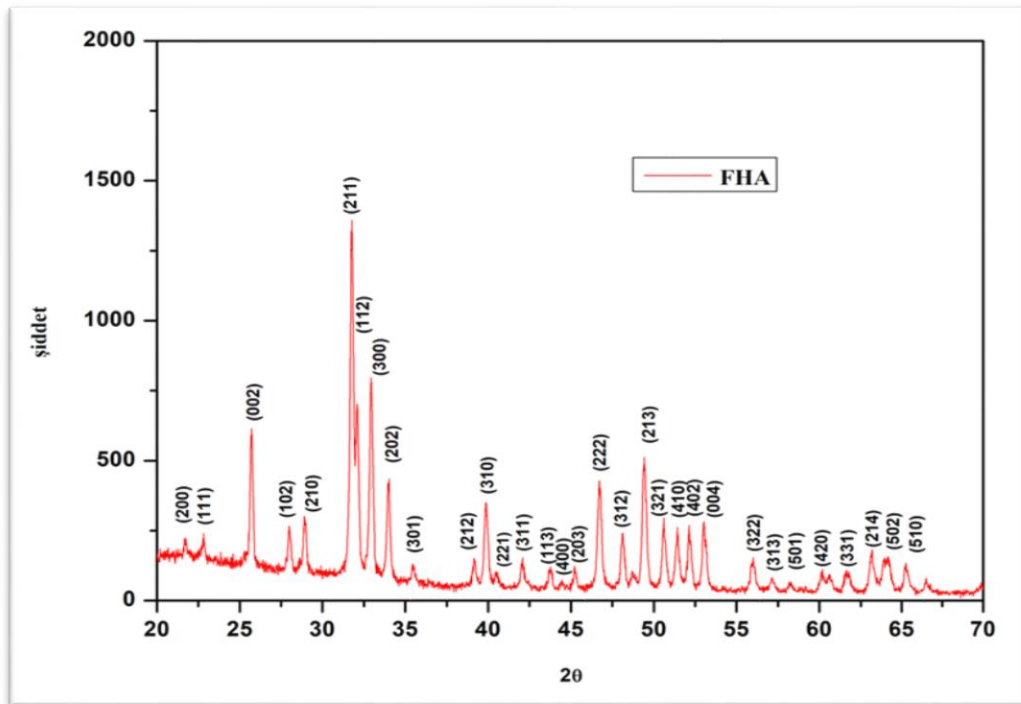
HAp, ZnHAp ve FHAp yapılarının XRD difraktogramları Rikagu X-ışını difraksiyon cihazıyla Cu Ka dalga boyu ($\lambda = 0.154\text{nm}$) de 40 kV ve 30 mA X-ışını ile alınmıştır. XRD difraktogramları Şekil 4.1-3 verilmiştir. HAp'nin Şekil 4.1 de (201), (002), (102), (210), (211), (112), (301), (212), (310), (221), (311), (400), (203), (222), (320), (213), (321), (004), (104), (322), (313), (501), (420), (331), (214), (502), (510) ZnHAp'ın Şekil 4.2 de (201), (002), (102), (210), (211), (301), (310), (221), (311), (400), (203), (222), (213), (321), (004), (104), (322), (313), (501), (420), (331), (214), (510) FHAp'ın Şekil 4.3 de (200), (111), (002), (102), (210), (211), (112), (300), (202), (301), (212), (310), (221), (311), (113), (400), (203), (222), (312), (213), (321), (410), (402), (004), (322), (313), (501), (420), (331), (214), (502), (510) yöneliminde pikler gözlenmiştir. HAp, ZnHAp ve FHAp bileşik ve kompozitler hekzagonal yapısında olduğu, literatürlerle de uyumludur. (JCPDS: 00-009-0432) (Nathanael et al. 2012, Stanic et al. 2014, Matsuta et al. 2018 ve Andrade et al. 2016).

ZnHAp'ın bileşiğinin HAp kristal yapısına göre (002) düzleminde %50, (310) düzleminde %62 pik şiddeti azalmıştır yine (210) düzleminde %100 artmış olup (112), (212), (320), (520) yönelimindeki pikler gözlenmemiştir.

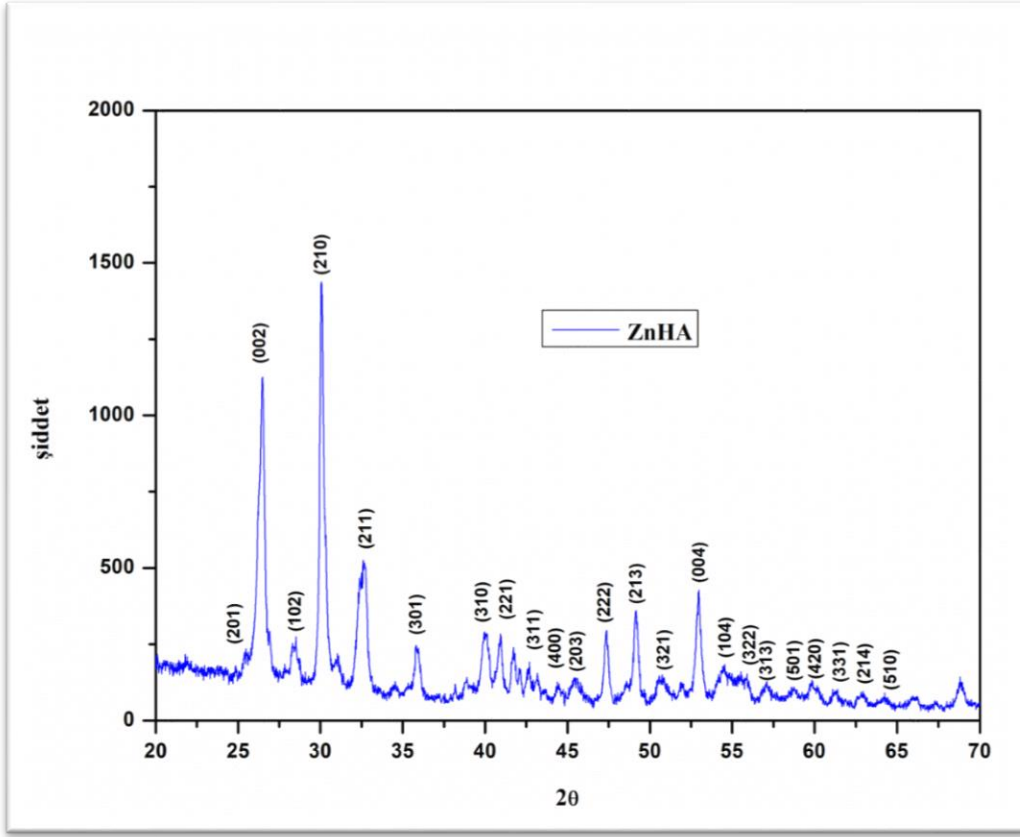
FHAp bileşiğinin HAp kristal yapısına göre (002) düzleminde %70, (310) düzleminde %60 pik şiddeti azalmıştır yine (210), (213), (321) düzleminde %100 (222) düzleminde %50 artmış olup (201), (320), (104) yönelimindeki pikler gözlenmemiş, (200), (111), (300), (202), (113), (312), (410), (402) düzleminde JCPDS: 00-009-0432 nolu karta uygun yeni pikler gözlenmiştir.



Şekil 5.1. HAp bileşiminin XRD diffraksiyon pikleri



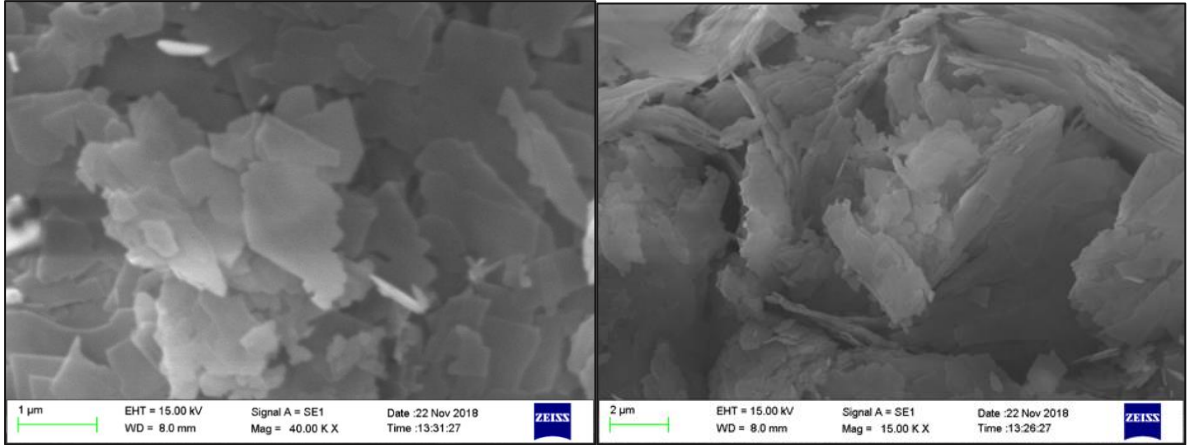
Şekil 5.2. FHAp kompozitinin XRD diffraksiyon pikleri



Şekil 5.3. ZnHAp kompozitinin XRD difraksiyon pikleri

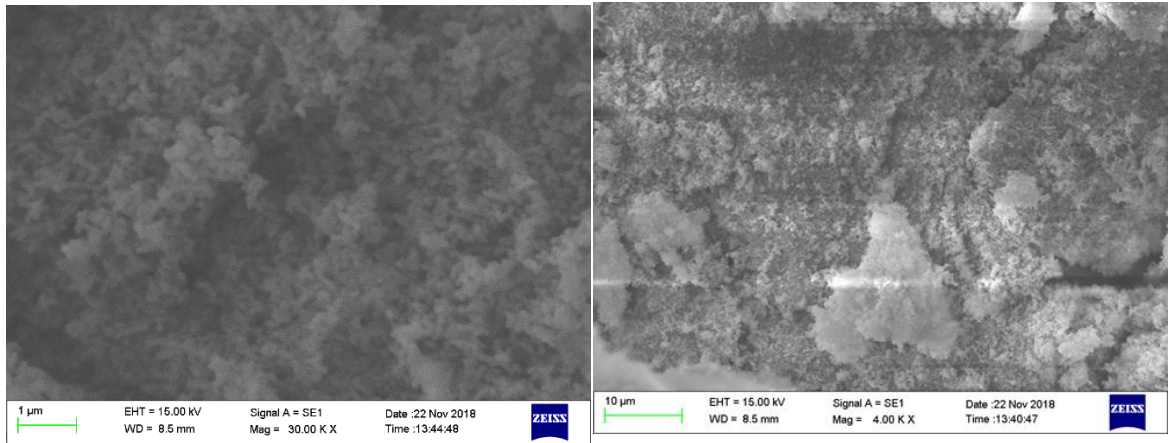
5.2. Yüzey Yapısı Özellikleri

Saf hidroksiapatitin Şekil 4.4'te görüldüğü gibi yaklaşık olarak 100 nm kalınlığında dağılmış olarak ve tabakalar halinde yapıları oluşmuştur.



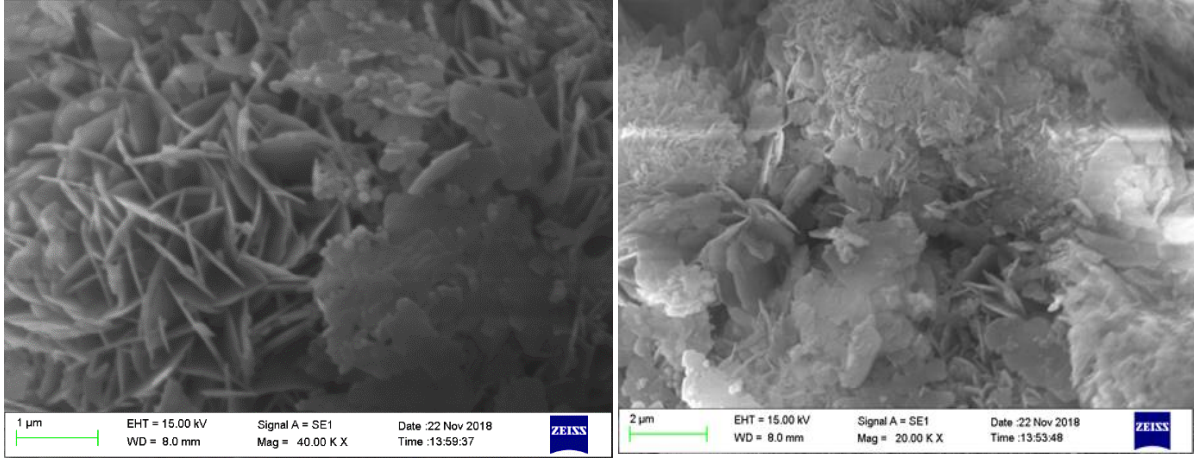
Şekil 5.4. Hidroksiapatit'in SEM görüntüsü

Şekil 4.5'da Çinko Hidroksiapatit kompozitinin SEM görüntüsünde yaklaşık olarak 50 nm kalınlığında nanoçubuklardan meydana gelen yapısı sentezlenmiştir. Literatürle uyumludur (Wolff et al. 2018, Kalaiselvia et al.2018).



Şekil 5.5. Çinko Hidroksiapatit kompozitinin SEM görüntüsü

Şekil 4.6'da Flor Hidroksiapatit kompozitinin SEM görüntüsünde yaklaşık olarak 60 nm kalınlığında nano tabaların birbiri içine geçerek nano çiçek yapısı sentezlenmiştir. Literatürle uyumludur. (Xia et al2018 ., Vidya et al. 2019)



Şekil 5.6. Flor Hidroksiapatit kompozitinin SEM görüntüsü

Tablo 5.1. HAP bileşigi ZnHAP ve FHAP kompozitlerinin bakterilerde oluşturdukları zon çapları

No	Bakteri adı	Gr pozitif/ negatif	Saf	Flor katkı	Çinko katkı
1	Bacillus megaterium DSM 32	Pozitif	2	5	4
2	Brevibacillus brevis	Pozitif	-	5	4
3	Bacillus cereus EMC 19	Pozitif	-	3	3
4	Staphylococcus aureus 6538 P	Pozitif	-	5	-
5	Bacillus subtilis ATCC 6337	Pozitif	-	3	-
6	Listeria monocytogenes NCTC 5348	Pozitif	-	-	-
7	Bacillus subtilis IM 622	Pozitif	-	-	-
8	Pseudomonas fluorescens	Negatif	7	7	5
9	Staphylococcus aureus ATCC	Negatif	5	6	4
10	Salmonella typhimurium NRRLE 4413	Negatif	5	5	4
11	Salmonella enterica ATCC	Negatif	4	3	7
12	Proteus vulgaris FMC II	Negatif	5	3	3
13	Escherichia coli ATCC 25922	Negatif	2	3	-
14	Enterobacter aerogenes CCM 2531	Negatif	-	-	-
15	Klebsiella pneumoniae EMCS	Negatif	-	-	-
16	Pseudomonas aeruginosa DSM 50070	Negatif	-	-	-
17	Candida tropicalis ATCC	maya	5	5	4
18	Candida glabrata	maya	-	2	3

5.3. Mikrobiyal Türlerin Seçimi

Bu çalışmada 9 farklı gram negatif bakteri (*Salmonella typhimurium* NRRLE 4413, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter aerogenes* CCM 2531, *Klebsiella pneumoniae* EMCS, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* FMC II, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50070, *Salmonella enterica* ATCC, *Staphylococcus aureus* ATCC), 7 farklı gram pozitif bakteri (*Bacillus subtilis* ATCC 6337, *Brevibacillus brevis*, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Bacillus subtilis* IM 622, *Bacillus cereus* EMC 19, *Staphylococcus aureus* 6538 P, *Listeria monocytogenes* NCTC 5348) ve 2 farklı maya (*Candida glabrata*, *Candida tropicalis* ATCC) türü kullanılmıştır.

5.4. Antimikrobiyal Aktivite

Bu çalışmada hidroksiapatit, flor ve çinko katkılı hidroksiapatit moleküllerinin disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan hidroksiapatit bileşikleri saf su içerisinde çözülmüş, çözülen bileşikler içerisine 1/10 oranında DMSO katılmıştır. Kullanılan mikroorganizma türler ilk olarak sıvı besi yerinde üretilerek çoğalmaları sağlanmıştır. Muller Hintor agar içeren katı besi yerleri antimikrobiyal aktivite deneyleri için kullanılmıştır. 0.6 cm çapındaki antimikrobiyal diskler katı agar üzerine yerleştirilmiş, hazırlanan hidroksiapatit çözeltilerinden 25 µl diske emdirildikten sonra besi yerleri 2 saat buzdolabında bekletilmiştir. Buzdolabında çıkarılan petri kapları 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatin ardından oluşan zon çapları ölçülmüştür. Bütün antimikrobiyal testleri üç tekerrürlü olacak şekilde deneme planlanmıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Saf, çinko ve flor katkılı hidroksiapatit hidrotermal metotla 180 derecede 12 saat sürede sentezlenmiştir. Yüzey ve yapısal özelliklerine oda koşullarında bakılmıştır. HAp'ın herhangi bir safsızlık gözlenmemiştir. SEM görüntüsünde katmalı ve dağılmış şekilde nano tabakalar oluşmuştur. ZnHAp'ın XRD analizinde difraksiyon piklerinde şansızlığa rastlanmayıp safHAp'ın kristal yapısına göre (002) düzleminde %50, (310) düzleminde %62 pik şiddeti azalmıştır yine (210) düzleminde %100 artmış olup (112), (212), (320), (520) yönelimindeki pikler gözlenmemiştir. Sem görüntüsünde yaklaşık olarak 50 nm kalınlığında nano çubuklardan meydana gelen yapısı sentezlenmiştir olup bunun sebebi çinko katkısıyla olmuştur. FHAp'ın XRD analizinde difraksiyon piklerinde safsızlığa rastlanmayıp FHAp'ın bileşiğinin HAp kristal yapısına göre (002) düzleminde %70, (310) düzleminde %60 pik şiddeti azalmıştır yine (210), (213), (321) düzleminde %100 (222) düzleminde %50 artmış olup (201), (320), (104) yönelimindeki pikler gözlenmemiş, (200), (111), (300), (202), (113), (312), (410), (402) düzleminde JCPDS: 00-009-0432 nolu karta uygun yeni pikler gözlenmiştir bazı piklerin kaybolup literatüre uygun piklerin oluşumu F katkısıyla olduğu gözlemlenmiştir. SEM görüntüsünde yaklaşık olarak 60 nm kalınlığında nano tabakaların birbiri içine geçerek flor katkısıyla nano çiçek yapısı sentezlenmiştir. Sonuç olarak hidroksiapatit'in nano layer, nano rod ve nano flower yapıları sentezlemiş olup antimikrobiyal özelliğine bakılması için hazır hale getirilmiştir.

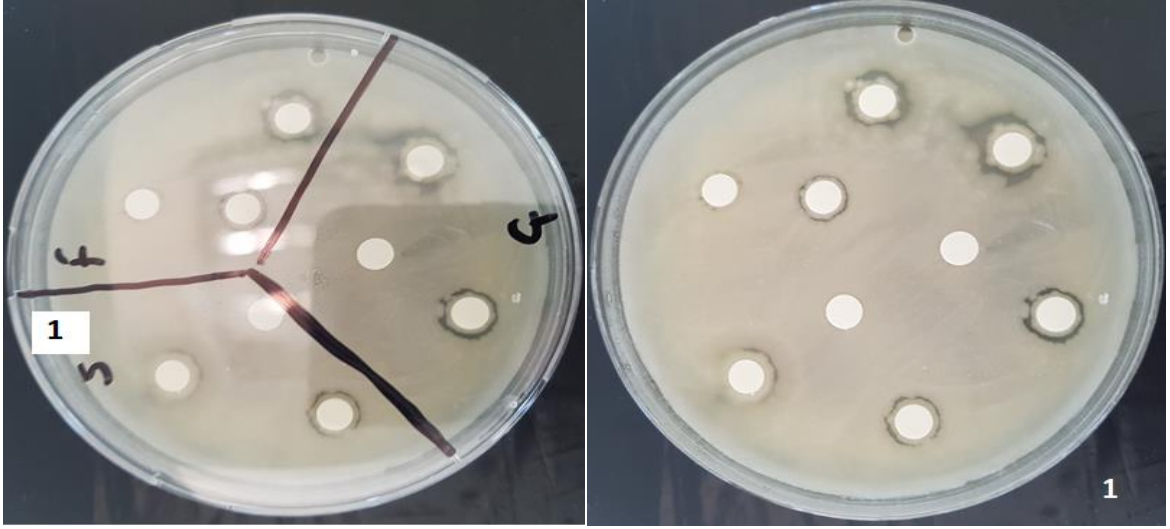
Çalışma sonucunda saf halde kullanılan hidroksiapatitin gram pozitif bakterilerden sadece *Bacillus megaterium* DSM 32 suşu üzerinde antimikrobiyal etki göstermiş olup diğer gram pozitif bakteriler üzerinde herhangi bir antibakteriyel etki göstermemiştir. Flor katkılı hidroksiapatit ise çalışmada kullanılan 7 gram pozitif bakterinin 5 i üzerinde antibakteriyel etki göstermiş olup *Listeria monocytogenes* NCTC 5348 ve *Bacillus subtilis* IM 622 türleri üzerinde antibakteriyel etki göstermemiştir. Flor katkılı hidroksiapatitin oluşturduğu zon çapları 5mm ile 3 mm arasında olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus megaterium* DSM 32, *Brevibacillus brevis* ve *Staphylococcus aureus* 6538 P türlerinde 5 mm zon oluşurken;

Bacillus cereus EMC 19 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6337 türlerinde 3 mm lik zonlar ölçülmüştür. Çinko katkılı hidroksiapatit molekülü *Staphylococcus aureus* 6538 P, *Bacillus subtilis* ATCC 6337, *Listeria monocytogenes* NCTC 5348, *Bacillus subtilis* IM 622 gram pozitif bakterileri üzerinde herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; *Bacillus megaterium* DSM 32 türünde 4 mm, *Brevibacillus brevis* türünde 4 mm, *Bacillus cereus* EMC 19 türünde ise 3 mm çapında zonlar meydana getirerek antibakteriyel etki göstermiştir. Çalışmada kullanılan hidroksiapatit bileşiklerinin üçüde *Enterobacter aerogenes* CCM 2531, *Klebsiella pneumoniae* EMCS, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50070 gram negatif bakterileri üzerinde herhangi bir etki göstermezken kullanılan diğer gram negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel etki göstermişlerdir. Oluşan zon çapları 7-2 mm arasında değişmiştir. Hidroksiapatit bileşikleri çalışmada kullanılan mayalar üzerinde etkili olup zon çaplarının oluşmasına neden olmuştur. Sadece saf hidroksiapatit *Candida glabrata* üzerinde etki göstermemiştir.

Yapılan bir çalışmada (Moldovan et al.2018). GO-SiO₂, rGO-SiO₂, HA-SiO₂, tHA-SiO₂ kompozitlerinin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* türleri üzerindeki antibakteriyel etkileri oyuk agar yöntemi ile çalışılmış; rGO-SiO₂ ve tHA-SiO₂ kompozitlerinin GO-SiO₂, HA-SiO₂ kompozitlerine kıyasla daha etkili bir antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da her iki bakteri kullanılmış antibakteriyel aktivite gözlenmiştir ancak çinko katkılı kompozitin *Escherichia coli* üzerinde etki göstermediği, saf ve çinko katkılı hidroksiapatit kompozitinin *Staphylococcus aureus* üzerinde etkisiz olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni kullanılan yöntemin farklı olması olabileceği gibi kullanılan suşlarında farklı olması olabilir. Biz çalışmamızda disk difüzyon yöntemini kullanmışken bu çalışmada oyuk agar yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca biz çalışmamızda *Escherichia coli* ATCC 25922 suşunu kullanmışken yapılan çalışmada *Escherichia coli* kullanılmıştır. Aynı şekilde biz çalışmamızda *Staphylococcus aureus* ATCC suşunu kullanmışken yapılmış olan çalışmada *Staphylococcus aureus* kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarındaki farklılığın bir başka nedeni ise kullanılan kompozit türlerinin farklı olması olabilir.

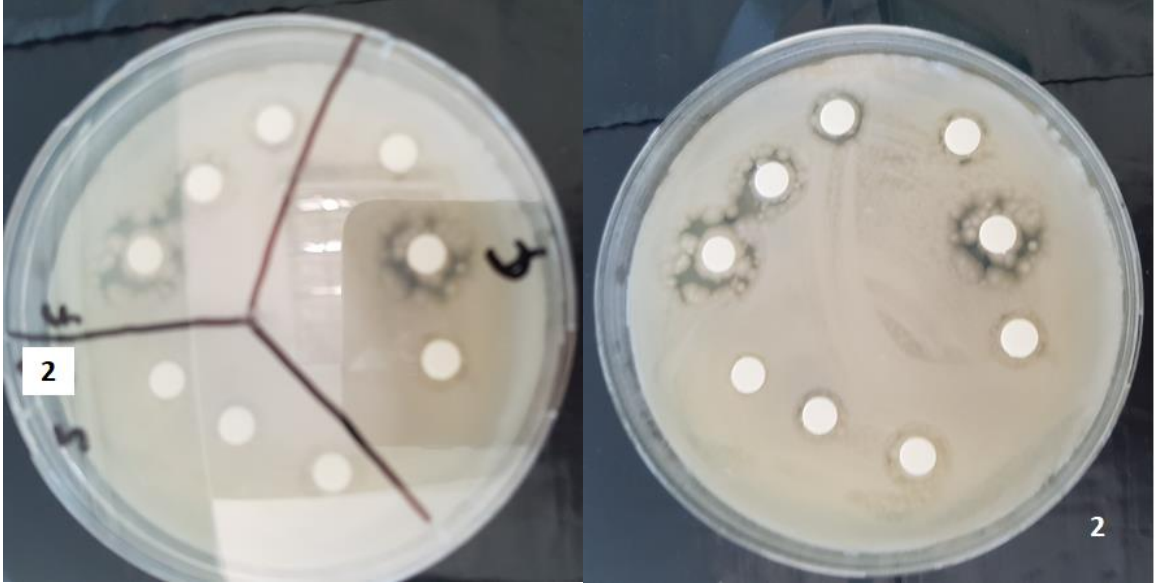
SH/CTS nonokompozitler kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivite gözlenmiş ve bu kompozitin kullanılan her iki bakteri türü üzerinde etkili olduğu

tespit edilmiştir. Si konsantrasyonunun artışına bağlı olarak antibakteriyel aktivitenin arttığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da her iki bakteri kullanılmış ve antibakteriyel aktivite tespit edilmiştir. Çalışma bulgularımız bu çalışmanın bulgularını desteklemektedir (Sutha et al. 2013).



Şekil 6.1. *Bacillus megaterium* DSM 32

Bacillus megaterium'a karşı saf HAp daha az olmak üzere ZnHAp ve FHAp'ta da antibakteriyel aktivite görülmüştür.



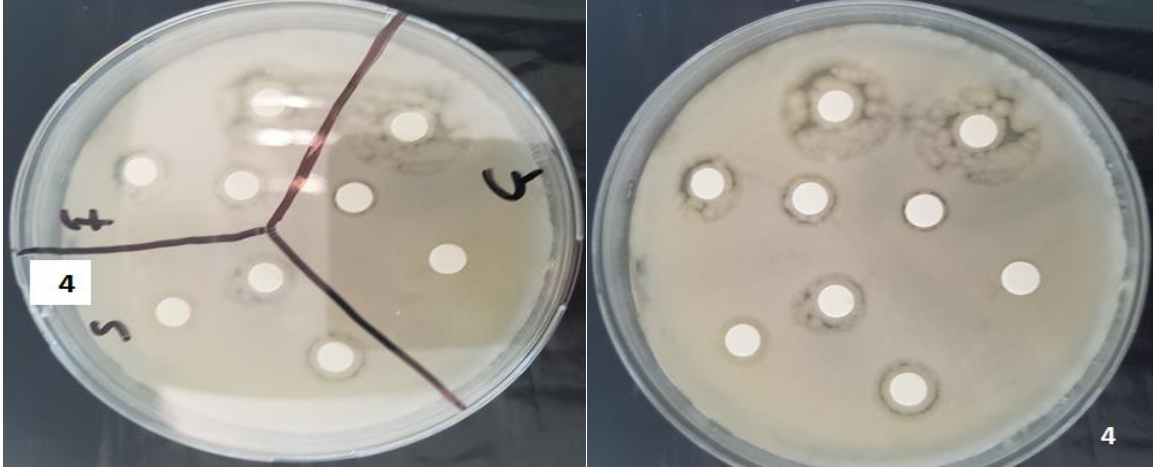
Şekil 6.2. *Brevibacillus brevis*

Brevibacillus brevis'e karşı saf HAp antibakteriyel aktivite göstermemiştir, ZnHAp ve FHAp'ta ise antibakteriyel aktivite görülmüştür.



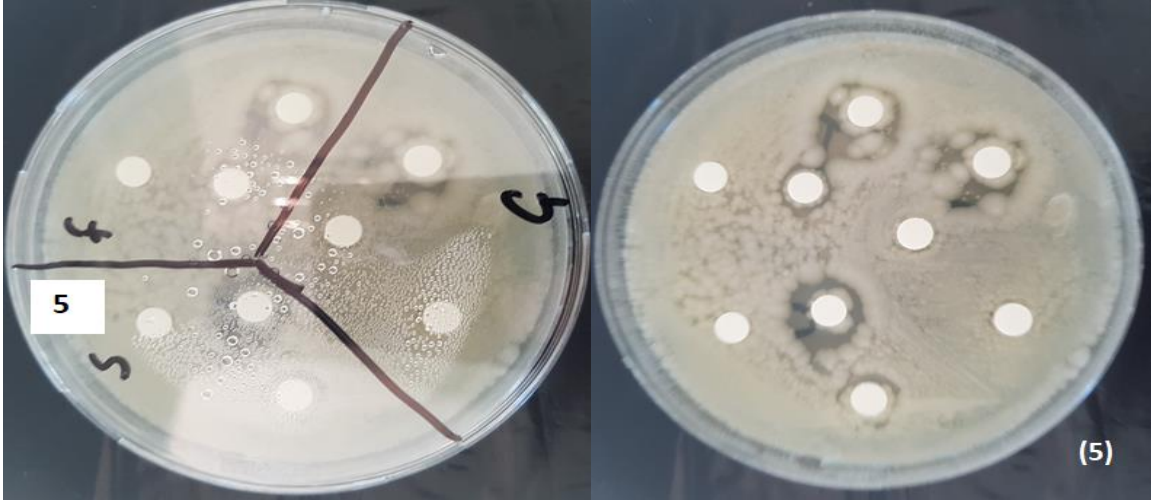
Şekil 6.3. *Bacillus cereus* EMC 19

Bacillus cereus'a karşı saf HAp antibakteriyel aktivite göstermemiştir, ZnHAp ve FHAp'ta ise antibakteriyel aktivite görülmüştür.



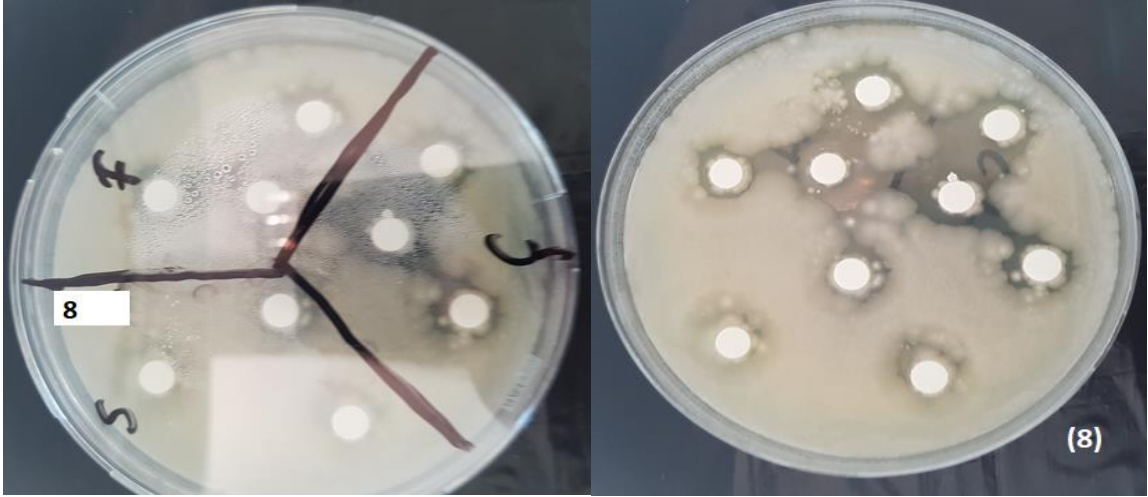
Şekil 6.4. *Staphylococcus aureus* 6538 P

Staphylococcus aureus'a karşı saf HAp ve ZnHAp antibakteriyel aktivite göstermemiş, sadece FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



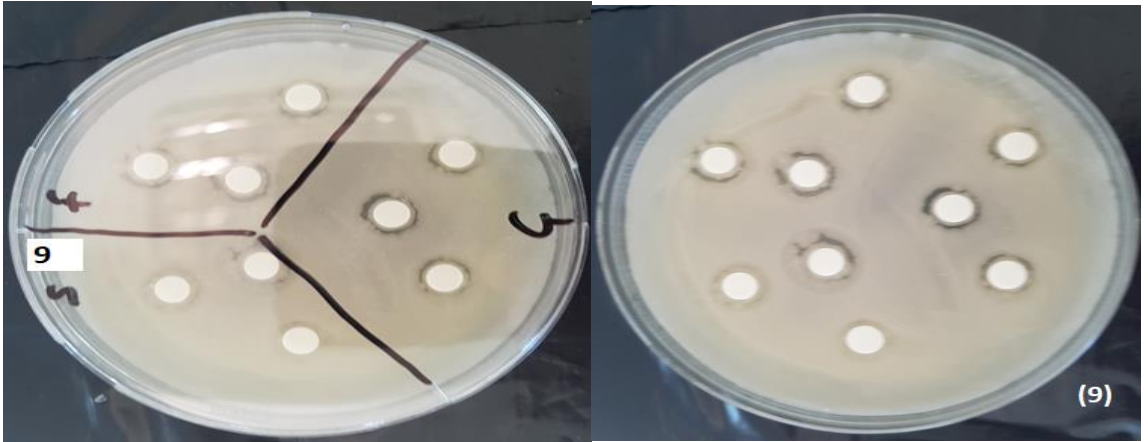
Şekil 6.5. *Bacillus subtilis* ATCC 633

Bacillus subtilis'e karşı saf HAp ve ZnHAp antibakteriyel aktivite göstermemiş, sadece FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



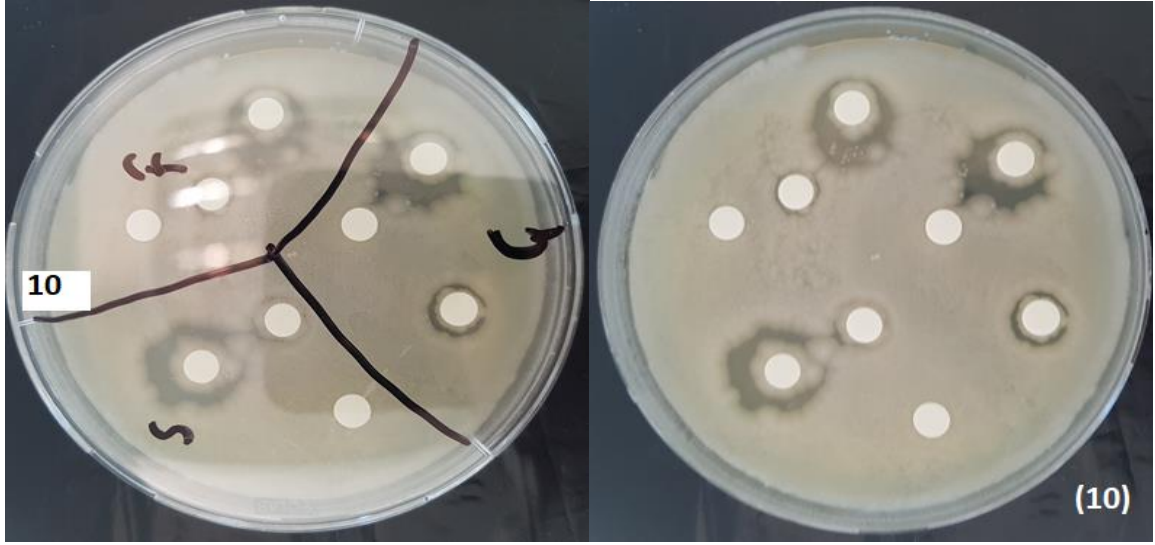
Şekil 6.6. *Pseudomonas fluorescens*

Pseudomonas fluorescens'e karşı saf HAp, ZnHAp ve FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



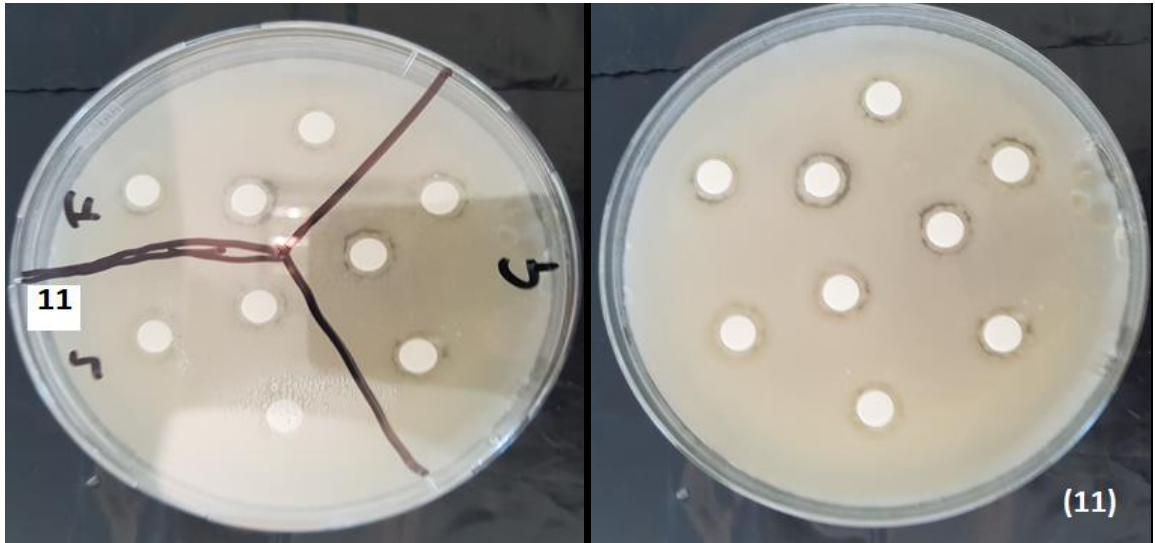
Şekil 6.7. *Staphylococcus aureus* ATCC

Staphylococcus aureus'a karşı saf HAp, ZnHAp ve FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



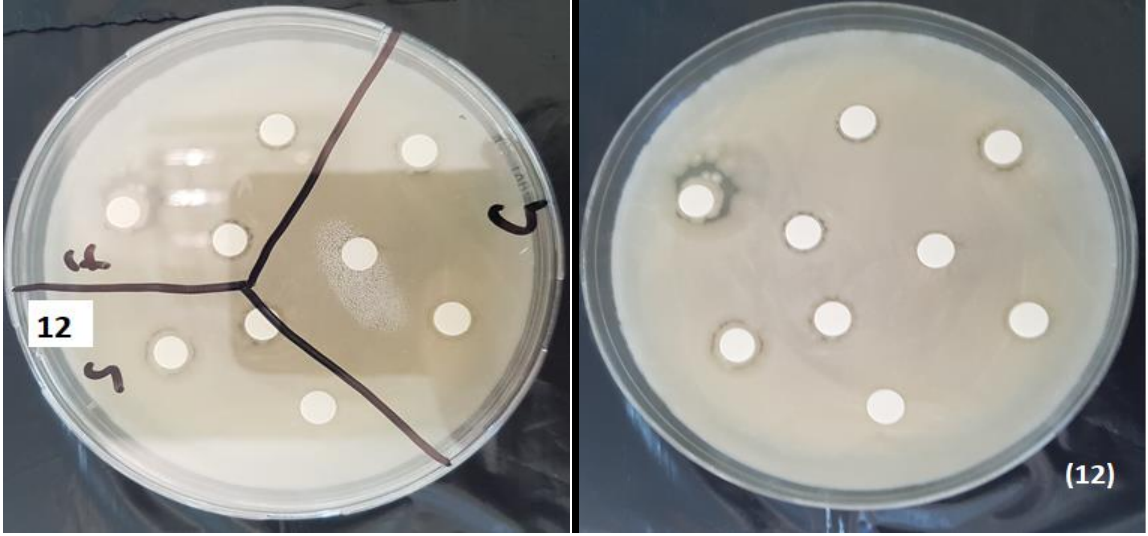
Şekil 6.8. *Salmonella typhimurium* NRRLE 4413

Salmonella typhimurium'a karşı saf HAp, ZnHAp ve FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



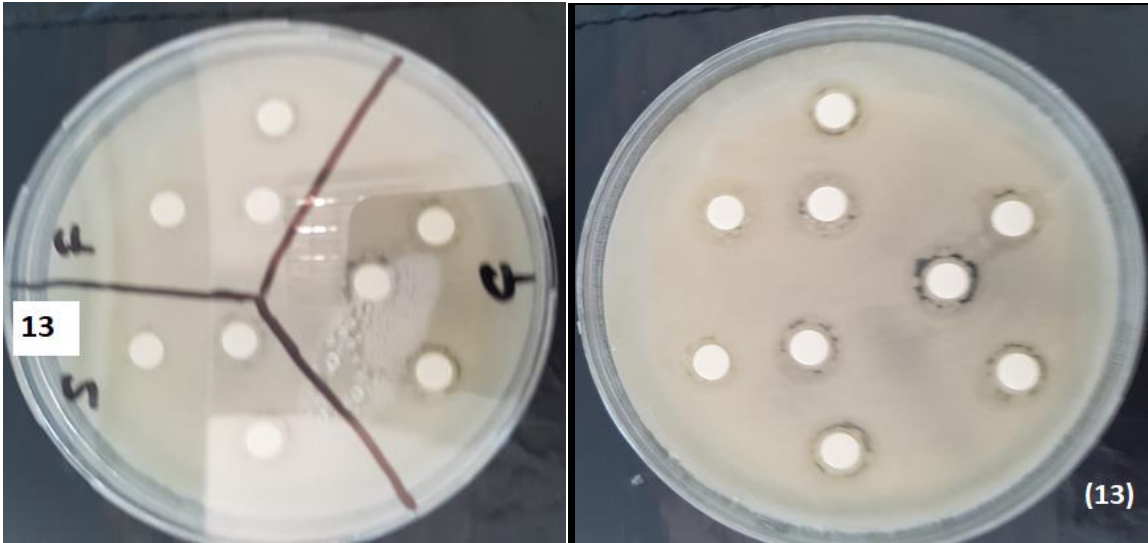
Şekil 6.9. *Salmonella enterica* ATCC

Salmonella enterica'ya karşı saf HAp, ZnHAp ve FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



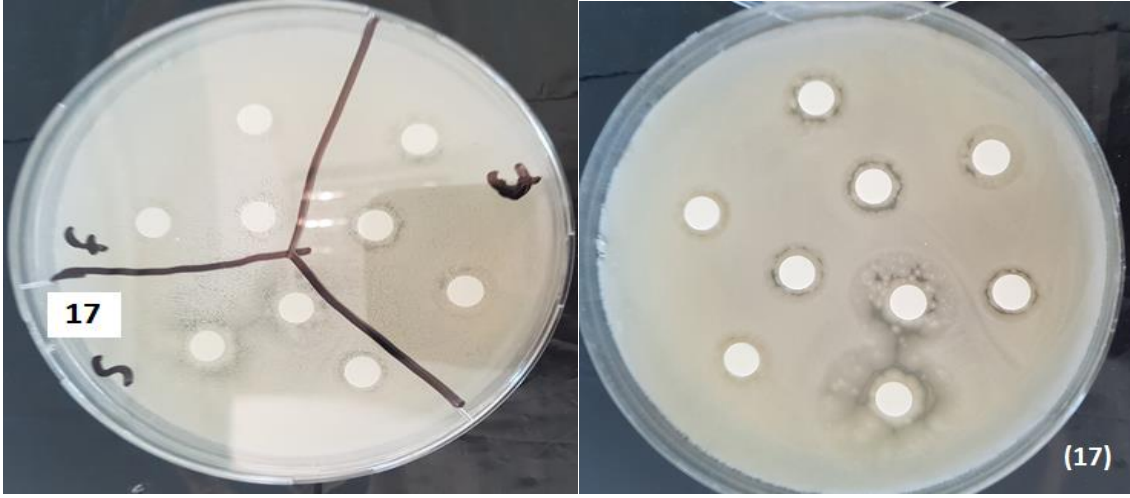
Şekil 6.10. *Proteus vulgaris* FMC II

Proteus vulgaris'e karşı saf HAp, ZnHAp ve FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



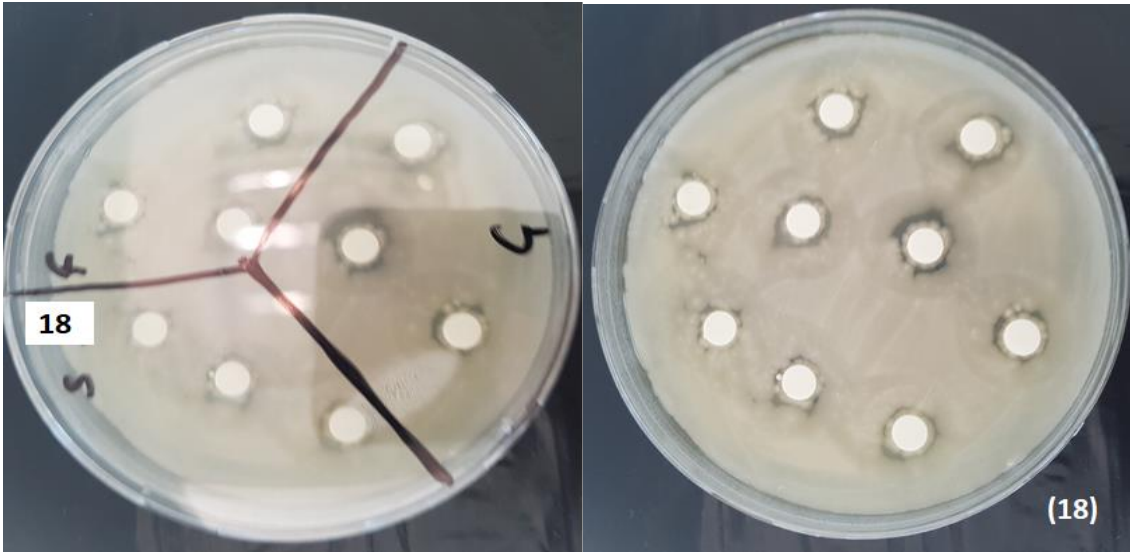
Şekil 6.11. *Escherichia coli* ATCC 25922

Escherichia coli'ye karşı saf HAp ve FHAP antibakteriyel aktivite göstermiş, ZnHAp antibakteriyel aktivite göstermemiştir.



Şekil 6.12. *Candida tropicalis* ATCC

Candida tropicalis'e karşı saf HAp, ZnHAp ve FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.



Şekil 6.13. *Candida glabrata*

Candida glabrata'ya karşı saf HAp antibakteriyel aktivite göstermemiştir. ZnHAp ve FHAp antibakteriyel aktivite göstermiştir.

KAYNAKLAR

Andrade FAC, Vercik LCO, Monteiro FJ, Silva Rigoa EC (2016) Preparation, characterization and antibacterial properties of silvernanoparticles–hydroxyapatite composites by a simple and eco-friendly method. *Ceramics International* 42: 2271–2280

Andronescu E, Surugiu A, Luminita BM , Ciobanu CS, Iosif A (2016) Antimicrobial Activity Of Europium Doped Hydroxyapatite Powders After Immersion In Sbf Solution. *U.P.B. Scientific Bulletin, Series B, Vol. 78, 4:122-125*

Bose S, Kumar Saha S (2003) Saha Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite. Nanopowders by Emulsion Technique *Chemistry of Materials*. 15: 4464-4469

Chavan PN, Bahir MM, Mene UR , Mahabole MP , Khairnar R S (2010) Study of nanobiomaterial hydroxyapatite in simulated body fluid: Formation and growth of apatite. *Materials Science and Engineering* 168: 224–230

Coelho J, Moreira JA, Almeida A, Monteiro F (2010) Synthesis and characterization of HAp nanorods from a cationic surfactant template method. *Journal Materials Science: Materials in Medicine*. 21: 2543–2549

Doreya M, Ibrahim A, Mostafa A, Korowash SI (2011) Chemical characterization of some substituted hydroxyapatites. *Chemistry Central. J. 5: 74-75*

Eshtiagh-Hosseini H, Housaindokht MR, Chahkandi M (2007) Effects of parameters of sol–gel process on the phase evolution of sol–gel-derived hydroxyapatite. *Materials Chemistry and Physics* 106: 310–316

Farrag HA, El - Hendawy HH, El - Tablawy SY, Nora FH (2017) Prevention of Adhesion and Surface Growth of Orthopedic Implant Microbial Infection by Surface Modification Using Antibiotics and Irradiated Hydroxyapatite. *Silicon* 1017: 7-11

Gopi D, Murugan N, Ramya S, Kavitha L (2014) Electrodeposition of a porous strontium-substituted hydroxyapatite/zinc oxide duplex layer on AZ91 magnesium alloy for orthopedic applications. *Journal of Materials Chemistry* 2: 5531–5540

Göller G, Oktar FN (2002) Sintering effects on mechanical properties of biologically derived dentine hydroxyapatite. *Materials Letters* 56: 142–147

Helen S, Kumar AR (2018) Electrical, mechanical and surface analysis of ion-doped hydroxyapatite for antibacterial activity. *Applied Physics A*, 535: 124-127

Hofmann D, Amelunga W, Lewandowski H, Kaiser K, Bol R (2018) Rapid wet chemical synthesis for ³³P-labelled hydroxyapatite. An approach for environmental research *Applied Geochemistry* 97: 181–186

Huang Y, Zhang X, Mao H, Li T, Zhao R, Yan Y, Pang X (2015) Osteoblastic cell responses and antibacterial efficacy of Cu/Zn cosubstituted hydroxyapatite coatings on pure titanium using electro deposition method. *RSC Advances* 5: 170-176

Iqbal N, Abdul Kadir MR, Malek NANI, Humaimi N, Murali MR, Kamarul T (2013) Characterization And Antibacterial Properties Of Stable Silver Substituted Hydroxyapatite Nanoparticles Synthesized Through Surfactant Assisted Microwave Process. *Materials Research Bulletin* 48: 3172–3177

Kalaiselvia V, Mathammala R, Vijayakumar S, Vaseeharan B (2018) Microwave assisted green synthesis of Hydroxyapatite nanorods using *Moringa oleifera* flower extract and its antimicrobial applications. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 6: 286–295

Kanchana P, Sekar C (2010) Influence of sodium fluoride on the synthesis of hydroxyapatite by gel method. *Journal of Crystal Growth* 312: 808–816

Kaygili O, Dorozhkin SV, Ates T, Al-Ghamdi AA, Yakuphanoglu F (2014) Dielectric properties of Fe doped hydroxyapatite prepared by sol–gel method. *Ceramics International*. 40: 9395–9402

Kaygili O, Keser S, Al Orainy RH, Ates T, Yakuphanoglu F (2014) In vitro characterization of polyvinyl alcohol assisted hydroxyapatite derived by sol–gel method. *Materials Science and Engineering C*, 35: 239–244

Kaygili O, Keser S, Ates T, Al-Ghamdi AA, Yakuphanoglu F (2013) Controlling of dielectrical and optical properties of hydroxyapatite based bioceramics by Cd content. *Powder Technol.* 245: 1–6

Kaygili O, Keser S, Ates T, Tatar C, Yakuphanoglu F (2015) Controlling of dielectric parameters of insulating hydroxyapatite by simulated body fluid. *Materials Science and Engineering C*, 46: 118–124

Kaygili O, Keser S, Kom M, Eroksuz Y, Dorozhkin SV, Ates T, Ozercan IH, Tatar C, Yakuphanoglu F (2015) Strontium substituted hydroxyapatites: synthesis and determination of their structural properties, in vitro and in vivo performance. *Materials Science Engineering C*, 55: 538–546

Kaygili O, Tatar C, Yakuphanoglu F (2012) Structural And Dielectrical Properties Of $Mg_3-Ca_3(PO_4)_2$ Bioceramics Obtained From Hydroxyapatite By Sol–Gel Method. *Ceramics International*, 38: 3-6

Koumoulidis GC, Vaimakis TC, Sdoukos AT, Boukos AT, Trapalis CC (2001) Preparation of hydroxyapatite lathlike particles using high-speed dispersing equipment. *Journal of the American Ceramic Society* 84: 1203–1208

Kumar GS, Helen S (2018) Electrical, Mechanical and Surface Analysis of Ion-Doped Hydroxyapatite for Antibacterial Activity *Applied Physics A*, 124: 535-537

Kumar GS, Thamizhavel A, Yokogawa Y, Kalkura SN, Girija EK (2012) Synthesis, characterization and in vitro studies of zinc and carbonate co-substituted nano-hydroxyapatite for biomedical applications. *Materials Chemistry and Physics* 134: 1127–1135

Matsuya T, Morakul S, Otsuka Y, Ohnuma K, Tagaya M, Motozuka S, Miyashita Y, Mutoh Y (2018) Visible light-induced antibacterial effects of the luminescent complex of hydroxyapatite and 8-hydroxyquinoline with gray titania coating *Applied Surface Science* 448: 529–538

Mohammadi MR, Rezaei A (2013) In vitro study of hydroxyapatite/polycaprolactone (HA/PCL) nanocomposite synthesized by an in situ sol-gel process. *Materials Science and Engineering C*, 33: 390–396

Moldovan M, Prodan D, Sarosi C, Carpa R, Socaci C, Rosu MC, Prunean S (2018) Synthesis, morpho-structural properties and antibacterial effect of silicate-based

composites containing graphene oxide/hydroxyapatite. *Materials Chemistry and Physics* 217: 48–53

Nathanael AJ, Lee JH, Mangalaraj D, Hong SI, Rhee YH (2012) Multifunctional properties of hydroxyapatite/titania bio-nano-composites: bioactivity and antimicrobial studies. *Powder Technology* 228: 410–415

Niespodziana K, Jurczyk K, Jakubowicz J, Jurczyk M (2010) Fabrication and properties of titanium–hydroxyapatite nanocomposites. *Materials Chemistry and Physics* 123: 160–165

Orlovskii V, Komlev V, Barinov S (2002) Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics. *Inorganic Materials* 38: 973–984

Poursamar SA, Azami M, Mozafari M (2011) Controllable synthesis and characterization of porous polyvinyl alcohol/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds via an in situ colloidal technique. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 84: 310–316

Rabenau A (1983) *Angewandte Chemie International Edition* 24: 1026-1040

Stanic V, Dimitrijevic S, Antonovic DG, Jokic B M, Zec SP, Tanaskovic ST, Raicevi S (2014) Synthesis of fluorine substituted hydroxyapatite nanopowders and application of the central composite design for determination of its antimicrobial effects. *Applied Surface Science* 290: 346–352

Suchanek W, Yoshimura M (1998) Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *Journal of Materials Research* 13: 94–117

Sutha et al (2013) *Materials Science and Engineering C*

Vidhya G, Kumar GS, Vivekanan SK, Girij EK (2019) Comparative study of hydroxyapatite prepared from eggshells and synthetic precursors by microwave irradiation method for medical applications. *Materials Today: Proceedings* 15: 344–352

Wang Y, Wu S, Kuss MA, Streubel PN, Duan B (2017) Effects of hydroxyapatite and hypoxia on chondrogenesis and hypertrophy in 3D bioprinted ADMSC laden constructs. *ACS Biomaterials Science & Engineering* 15: 1–10

Xu Xia, Juan S, Cao F, Congjun W, Tang M, Zhang QS (2019) A facile synthesis of hydroxyapatite for effective removal of strontium ion. *Journal of Hazardous Materials* 368: 326–335

Yazdani N, Javadpour J, Yekta BE, Hamrang M (2018) Hydrothermal synthesis of cobalt-doped hydroxyapatite nanoparticles: structure, magnetic behaviour, bioactivity and antibacterial activity. School of Metallurgy and Materials Engineering, Iran University of Science and Technology (IUST), Tehran, Iran

ÖZGEÇMİŞ

1987 Yılında Bingöl'de doğmuştur. İlk ve orta öğrenimini Sarayıçi İlkokulu ve Ortaokulunda tamamlamıştır. Lise öğrenimini 2002-2006 yılları arasında Elazığ Kaya Karakaya Fen Lisesinde tamamlayıp 2006-2011 yıllarında ise T.C İstanbul Üniversitesinde Eczacılık Fakültesi, Eczacılık lisans bölümü mezunu olmuştur. 2011-2019 yılları arasında eczacılık mesleğini sürdürmüştür ve halen devam etmektedir.