

# Çeşitli İyonlar Eklenmiş Nano-Hidroksiapatitler: Üretim Yöntemleri, İç Yapı, Mekanik ve Biyouyumluluk Özellikleri Yönlerinden İncelenmesi

Zafer Evis

Engineering Sciences Department, Middle East Technical University, Ankara, 06531, Turkey

Phone: +90 (312) 210-4450; Fax: +90 (312) 210-4462, evis@metu.edu.tr

**Özet—** Nano hidroksiapatit'in tane boyutlarının kemikte bulunan apatit minerallerine olan yakınlığından dolayı, nano hidroksiapatit üzerinde yapılan araştırmalar giderek büyük önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, hidroksiapatit'in sentezlenme yöntemleri, biyolojik uyumlulukları, iç yapı ve mekanik özellikleri hakkında genel bilgiler verilmiştir. Çeşitli iyonlar eklenerek elde edilen hidroksiapatitlerin özelliklerine bakılarak hangi iyonların nasıl katkılar sağladığı genel olarak incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler—** Biyomalzemeler; Nano hidroksiapatit; Sinterleme; X-ışınları kırınımı; Çöktürme metodu.

**Abstract—** Due to the resemblance of grain sizes of nano hydroxyapatite to that of apatite minerals in bone, the researches on nano hydroxyapatite have become to gain great importance. In this study, general information were presented about the synthesis methods, biocompatibility, microstructural and mechanical characteristics of nano-crystalline hydroxyapatite. The characteristics of hydroxyapatite doped with various ions were generally examined, how and which ions contributed to hydroxyapatite was studied.

**Keywords—** Biomaterials; Nano hydroxyapatite; Sintering; X-ray diffraction; Precipitation method.

## I. GİRİŞ

Son yıllarda kalsiyum fosfatlar üzerinde yapılan çalışmaların sonucunda, bu malzemelerin sağlık alanındaki uygulamaları ve kullanımı oldukça artmıştır. Kalsiyum fosfatlar vücudun içerisinde yüksek biyouyumluluk göstermektedirler. Biyoseramikler içinde en çok dikkat çekenler kalsiyum fosfatlardır, çünkü kalsiyum fosfatların element kompozisyonu, kemik ve dişte bulunan minerallerle büyük benzerlik göstermektedir. Kalsiyum fosfatların kırılma tokluklarının düşük olmalarından veya mekanik özelliklerinin zayıflığından dolayı aşırı yüklerle karşı dayanıksızdırlar. Bu özellikleri yüzünden yük taşınması gerekmeyen bölgelerde kullanılmaları daha uygundur.

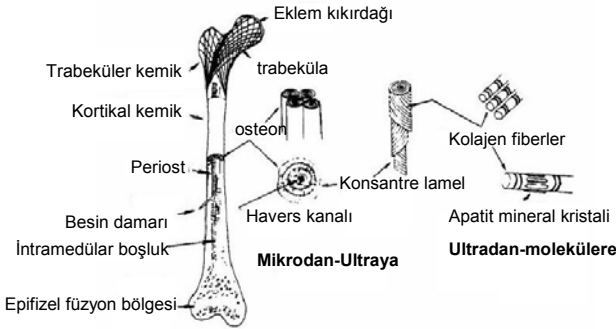
Kalsiyum fosfatlar içerisinde en öne çıkan malzemeler ise hidroksiapatit (HA,  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ) ve üç-kalsiyum fosfattır (TCP,  $Ca_3(PO_4)_2$ ). HA yüksek biyouyumluluğu, yavaş bozunması, kimyasal yapısının kemik mineraline en çok benzerlik göstermesinden dolayı ve TCP ise vücut içindeki yüksek bozunma hızından dolayı önemlidir. HA'nın zayıf olan mekanik özelliklerini güçlendirmek ve biyolojik özelliklerini daha yüksek seviyelere çıkartmak amacı ile nano kristalli HA üretilmesi konusunda yapılan çalışmalar giderek önem kazanmaktadır. Şu anda yeni trend ise tek fazlı HA veya TCP üretilmesi yerine çift fazlı HA ve TCP içeren kompozitlerin üretilmesidir. Bu şekilde biyouyumluluk veya mekanik özellikler yönünden özellikleri daha iyileştirilmiş malzemeler üretilmesidir.

HA'nın kimyasal yapısı içerisinde Ca ve P elementleri bulunmaktadır. Bunlar kemik ve dişin inorganik kısmında bulunan elementlerdir. Bu malzeme için, kompozisyonunda aynı elementleri içerdiğinden, vücudun yabancı malzemelere karşı gösterdiği tepkiler çok daha az olmakta ve genç kemik hücreleri HA yüzeyine yapışabilmekte ve çoğalabilmektedirler. Hatta HA'nın yüksek biyoaktivitesi sayesinde kemikle malzeme ara yüzeyinde çok kuvvetli bağlar oluşabilmektedir. Bu bağların kuvveti bazen o kadar yüksek olmaktadırki, ortopedide kullanılan implant metaller üzerine kaplama yapılmış HA'lara genç kemik hücreleri o kadar kuvvetli yapışırki, HA kaplamayı metal yüzeyinden söker alır ve bu ise enfeksiyonlara yol açma tehlikesi oluşturabilir. Kaplamalara ilaveten, direkt olarak kullanılan HA'lar mekanik özellikleri bakımından zayıf kalmaktadır. Ayrıca sentetik HA, doğal kemiğe göre mekanik yönden daha zayıftır, biyoaktivitesinde de farklılıklar vardır. Doğal kemikte bulunan HA, sentetik HA'ya göre biyolojik olarak daha aktiftir [1]. Nano-tane boyutlarına sahip HA üretimi kemikte bulunan HA'ya daha çok benzerlik gösterecektir.

Sentetik HA'nın zayıf yönlerini kuvvetlendirmek için son 20 yıl içerisinde pek çok çalışma yapılmıştır [2-6]. Hem mekanik hem de biyolojik yönlerden gelişme sağlamak için, çalışmalar nano kristalli HA üretimi üzerine yoğunlaşmıştır.

Bunun temelinde yatan en önemli neden ise kemik minerallerini oluşturan HA'lar nano tanelere sahiptir.

Kemik kalsiyum fosfat tuzları, organik kısım ve sudan oluşmaktadır. Kemik makroskopik olarak kortikal (sıkı yapılı) ve trabeküler (süngersi) kemikten oluşmaktadır. Kortikal (sıkı yapılı) kemiğin ağırlıkça % 69'unu kalsiyum fosfat mineraller, % 22'sini organikler ve % 9'unu da su oluşturmaktadır [7]. Organik fazın ise ağırlıkça % 95'ini kolajen (tip I) oluşturmaktadır, geri kalan kısım ise proteoglikanlar ve başka kolajen olmayan proteinlerdir [8]. İnsanın femur kemiğinin makro seviyeden nano seviyeye olan değişimleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Sıkı kemik dokusu havers kanalları denilen küçük gözeneklerden meydana gelir, ayrıca Volkman kanalları, lakün ve kanaliküli diye adlandırılan yapılar da bulunur [9, 10]. Kemiğin mineral kısmı çeşitli iyonlar ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ) da içeren HA'dan meydana gelir [11]. Biyolojik apatitler kolajen faz içinde iğneler şeklinde bulunurlar; kalınlıkları 1,5-7,5 nm ve uzunlukları da 20-70 nm arasındadır [7, 8, 12]. HA kristalleri kolajen yapı içerisinde yayılmaktadır.



Şekil 1. İnsan kortikal kemiğinin yapısı [10].

Nano HA'nın tane boyutlarının kemikte bulunan minerallerin tane boyutlarına yakınlığından dolayı, nano HA üzerinde yapılan araştırmalar giderek büyük önem kazanmaktadır. Bu çalışmada ise, mikron tane boyutlarına ve nano tane boyutlarına sahip HA'ların özellikleri farklı bakış açılarından irdelenmiştir. Nano taneli HA'nın üretim metodları, biyolojik uyumlulukları, fiziksel ve iç yapı özellikleri ve mekanik özellikleri hakkında genel bilgiler verilmiştir.

## II. APATİTLER

Apatit mineralleri çok geniş bir yelpazede farklı iyonlardan oluşmakta ve yerin altında doğal olarak bulunmaktadır. Apatitlere çeşitli iyonlar eklenebilir bundan dolayı da apatitlerin çok geniş bir uygulama alanları vardır [13]. Örneğin,  $\text{Ca}^{2+}$  veya  $\text{Pb}^{2+}$  içeren arsenik ve fosfat kökenli apatitler ( $\text{Pb}_5(\text{AsO}_4)_3\text{OH}$ ) çevre amaçlı olarak kirli suların yada kirli toprağın temizlenmesinde kullanılabilir [14]. Ayrıca, oksit-apatitler ( $\text{La}_{9,33}(\text{SiO}_4)_6\text{O}_2$ ,  $\text{La}_{8,65}\text{Sr}_{1,35}(\text{SiO}_4)_6\text{O}_{2,32}$ ) ise katı oksit yakıt pilleri uygulamalarında kullanılabilir [15].

$\text{HPO}_4^{2-}$  veya  $\text{CO}_3^{2-}$  ilave edilmiş veya  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{OH}^-$  eksik apatitler ( $\text{Ca}_{10-x}[(\text{PO}_4)_{6-2x}(\text{CO}_3)_{2x}](\text{OH})_2$ ,  $\text{Ca}_{10-x}[(\text{PO}_4)_6-$

$_{2x}(\text{CO}_3)_{2x}]\text{CO}_3$ ,  $\text{Ca}_{10-x}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x](\text{OH})_{2-x}$ ) biyomedikal alanda kullanılan apatitlerden bir kaçını içermektedir [16]. Biyomedikal alanda kullanılan bu apatitler arasında en öne çıkan ise hidroksiapatittir [17-19].

## III. ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Son yıllarda pek çok farklı metot kullanılarak değişik boyutlarda nano kristalli HA elde edilmiştir. 1995'te Luo ve Nieh tarafından kalsiyum nitrat ve amonyum fosfat kullanılarak, solüsyon spreji kurutma metodu ile tane boyutu 20 nm civarında HA'lar elde edilmiştir [20]. Daha sonra ise nano HA sentezleyebilmek için radyo frekanslı plazma sprej metodunu kullanarak 10 ile 100 nm boyutları arasında değişen HA tozları elde etmeyi başarmışlardır [21].

Sol-jel metodu kullanılarak sitokimietrik HA ( $\text{Ca/P}=1,67$ ) üretmek daha kolaydır. Ayrıca diğer metotlara göre daha düşük sıcaklıklarda işlem yapılır. Fakat bu metotla sentezlenen HA'lar her zaman ikincil bir kalsiyum fosfat fazı içerirler. Bundan dolayı, kullanılan kimyasalların miktarları sitokimietrik HA üretmek için çok doğru şekilde belirlenmelidir. Bu metotta çözücü olarak pek çok değişik madde kullanılabilir: etanol, jeller, fosforlar ve alkoksitler kullanılabilen çözücülerdendir. Kuriakose ve ark. etanol çözücü kullanarak bu metotla 8-10 nm boyutlarda HA elde edilmiştir [22]. Han ve ark. ise sitrik asitli yanmalı sol-jel metodunu kullanarak boyutları 80 ile 150 nm arasında değişen HA'lar elde etmişlerdir [23]. Kalita ve ark., etanol ve su bazlı sol-jel teknikleri kullanarak 10-50 nm boyutlarında nano kristalli HA tozları üretmişlerdir [1].

Hidroliz yöntemi kullanılarak da nano HA elde edilmiştir. Shih ve ark. bu metot ile sitokimietrik ve 20 nm boyutlarında nano HA'lar üretilmiştir [24]. Sarig ve ark. oda sıcaklığında ve 7,4 pH seviyesinde seyreltik kalsiyum klorit ve sodyum fosfat solüsyonlarının doğrudan çöktürülmesi ile plaka şeklinde nano kristalli HA'lar elde etmişlerdir [25]. Bu pH'da üretilmesinin nedeni medikal uygulamalarda kullanılabilir olmasını sağlamak içindir. Ayrıca doğrudan çöktürmeyi sağlayabilmek içinde solüsyonlar karıştırıldıktan hemen sonra mikrodalga ışınlanması kullanılmıştır.

Bir başka kullanılan yöntem ise mekanokimyasal metottur. Bu metot Manuell ve ark. tarafından katı halde nano HA üretmekte kullanılmış oldukça zorlu bir yöntemdir [26]. Bu metotta nano HA ve TCP sentezlemek için kalsiyum oksit ( $\text{CaO}$ ) ve kalsiyum hidrojen fosfat ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) kullanılmıştır.

Son olarak ise çöktürme metodu ile nano tanelikli HA üretimi mümkündür [17-19, 27]. İlk olarak Prof. Robert H. Doremus ve öğrencileri tarafından geliştirilen bu metot ile sitokimietrik ve nano tane boyutlarına sahip HA üretimi mümkün olmuştur [28].

Çöktürme metodunda, Ca/P oranı 1.667 olacak şekilde kalsiyum nitrat ve amonyum fosfat kimyasalları belli molar değerlerde, pH değeri 11-12 olacak şekilde bazik ortamda amonyum hidroksit eklenerek bir solüsyon oluşturulur [17]. Bu kimyasalların belli bir süre karıştırılması neticesinde, çok sıkı yapılı filtre kağıtları ile bu solüsyon filtrelenir ve filtre kağıdı üzerinde kalan ıslak tortuya kek denmektedir. Bu kek 100°C sıcaklıkta kurutularak içerisinde bulunan fiziksel su

kekten uzaklaştırılır. Kurutulmuş olan kekin 1100°C'de 1 saat sinterlenmesi sonucunda saf HA herhangi bir ikincil faz içermeden üretilmektedir. Ayrıca bu sinterleme işlemi neticesinde yoğunluğu HA'nın teorik yoğunluğu olan 3.156 g/cm<sup>3</sup>'e yakın yüksek yoğunlukta HA herhangi kuvvet uygulaması olmadan üretilir.

#### IV. SİNERLENME

Mikron boyuttaki taneciklere sahip HA'lar, nano tanecikli HA'ya göre aynı sıcaklıkta sinterlenmeleri sonucunda daha kolay bozunurlar. Mikron tane boyutlu HA'lar homojen bir yapıya sahip olmayabilirler. Mikron tane boyutlu HA'ların sinterlenmeleri zor olduğu için, daha yoğun bir malzeme elde etmek için çok yüksek sıcaklıklara (örneğin 1200°C ve üzeri) ihtiyaç duyulur. Yüksek sıcaklıklarda sinterlendiğinde daha çabuk bozunup istenmeyen ikincil fazlar oluşmakta ve homojen olmayan tane boyutlarına sahip tanecikler meydana gelmektedir. Yüksek sıcaklıklarda sinterlenen HA'lar, CaO ve TCP'ye bozunma eğilimindedir. Bu ikincil fazların oluşumu ve iri taneli yapı oluşumu, biyoyumluluk ve mekanik özelliklerin zayıflamasını getirir [29-31].

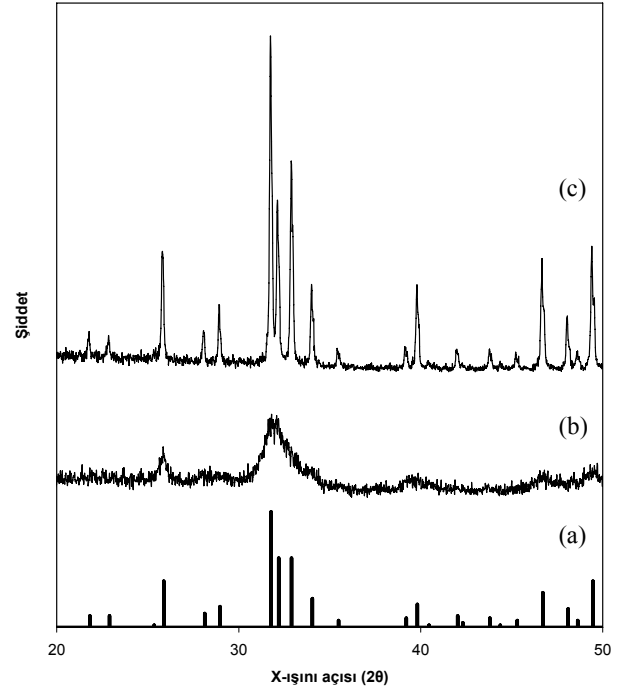
Homojen bir yapıya sahip nano boyutta HA'lar elde edebilmek için araştırmalar yapılmaktadır [29, 30, 32]. Nano HA'lar daha düşük sıcaklıklarda (1100°C'nin altında) sinterlenebilmekte ve yüksek sıcaklıklarda meydana gelebilecek sorunlar önlenmektedir [29, 30].

Malzemenin kararlılığını, sinterlenme şartlarını ve mekanik özelliklerini etkileyen ve belirleyen başlıca faktörler malzemenin kimyasal kompozisyonu, tane boyutları ve yüzey kimyasıdır. Ayrıca nano tanecikli HA sentezlenirken ortamın pH derecesi de oldukça önemli bir parametredir. Nano tanecikli HA üretilmesi için çöktürme metodunun artıları vardır.

Çöktürme metodu ile üretim sırasında, solüsyonu karıştırma süresi ve sıcaklıkları da istenilen özellikleri elde etmede önemli faktörlerdir [32]. Karıştırma zamanı daha uzun olduğunda (100 saat) elde edilen malzeme sinterleme sonucunda daha küçük tane boyutuna (≈50 nm) sahip olmaktadır [32]. Böylelikle malzemede ikincil fazların oluşması engellenir ve bu malzeme daha kolay sinterlenebilmektedir. Karıştırma sıcaklıklarını değerlendirmek için yapılan deneylerde de, oda sıcaklığına yakın sıcaklıkta (25°C'de) karıştırıldan, daha düşük sıcaklıkta (0°C'de) karıştırılana göre, sitokimiyetik ve kimyasal açılarından daha iyi sonuçlar alınmıştır. 0°C'de karıştırılan solüsyondan, sitokimiyetik değer elde edilememiştir (Ca/P=1,67 yerine 1,44 bulunmuştur) ve malzeme sinterlendiğinde büyük taneli β-TCP'lere ayrılmıştır. 25°C'de karıştırılıp elde edilen tozlar ise daha kolay sinterlenmiş, nano boyutta HA'lar elde edilmiştir. Hatta 80°C'de karıştırılan solüsyondan çöktürülen HA sinterlendiğinde 100 nm boyutunda pelit yapıda HA'lar elde edilmiştir [32].

Sitokimiyetrisi düzgün (Ca/P=1,67), homojen, benzer kristal yapıya sahip nano taneli HA tozlarının daha kolay sinterlenebildiği görülmektedir. Genelde mikron boyutunda taneciklere sahip HA'lar için uygun sinterleme sıcaklığı 1100°C'dir [2, 28, 29]. Şekil 2'de X-ışını kırınımı (XRD) ile

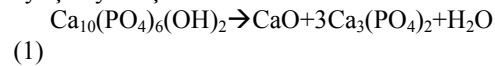
elde edilmiş HA'ya ait değerler görülmektedir. Şekil 2-b'de görülen kurutulmuş HA çok ufak tane boyutlarına (≈ 20 nm) sahiptir. Kurutulmuş HA'nın XRD spektrumu yüksekliği düşük ve çok geniş bir tepecik görülmektedir. Bu ise bu malzemenin tane boyutlarının çok ufak olduğunu göstermektedir. Şekil 2-c'de ise 1100°C'de sinterlenmiş HA'ların çok yüksek bir kristal yapıya sahip olduğu görülmektedir. Çünkü Şekil 2-c'de görünen XRD tepecikleri gayet dar ve yüksektir.



Şekil 2. HA'nın X-ışını difraksiyonu: a) Standart HA (JCPDS # 9-432); b) 90°C'de kurutulmuş HA; c) 1100°C'de sinterlenmiş HA [19].

Malzemelerin tane boyutlarını hesaplamak için genellikle mikroskopik metotlar kullanılmaktadır. Metallerin tane boyutlarının ölçümünde genellikle ışık mikroskopu yeterli olmaktadır. Ancak HA gibi seramiklerin tane boyutlarının ölçümünde ise genellikle taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılmaktadır. Ayrıca XRD spektrumlarında oluşan tepeciklerin kullanılması ile, Scherrer formülü kullanılarak tanecik boyutları hesaplanabilmektedir.

Geleneksel HA'lar genellikle 1100°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda sinterlenmeleri neticesinde Reaksiyon 1'de gösterildiği gibi ikincil fazlara (kalsiyum oksit ve TCP) ayrılmaya başlarlar:



Homojenliği, özdeş kristal yapısı ve sitokimiyetrisi sağlanmış nano taneli HA'lar 1300°C'ye kadar olan sıcaklıklarda sinterlenmeleri neticesinde bozunmadan kararlı bir şekilde kalmaktadır [32]. Böylelikle yoğunluğu teorik yoğunluğa yakın malzemeler elde edilebilir.

#### IV.I. HİDROKSİAPATİT'İN İÇ YAPISI

HA hegzagonal yada monoklinik olmak üzere iki adet farklı kristal yapıya sahip olabilir. Hegzagonal HA, P6<sub>3</sub>/m

uzay grubuna dahildir ve her bir birim kafeste iki adet formül mevcuttur ayrıca hegzagonal kafes parametreleri ise  $a=b=9.4225 \text{ \AA}$  ve  $c=6.8850 \text{ \AA}$  boyutlarındadır [33]. HA yapısında bulunan atomların pozisyonları ve birim kafes hücrede bulunan ilgili atom sayıları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Hegzagonal HA yapısında bulunan atomların pozisyonları [34].

Atom	Birim kafeste bulunan atom sayısı	x	Y	Z
Ca (I)	4	0.333	0.667	0.001
Ca (II)	6	0.246	0.993	0.250
P	6	0.400	0.369	0.250
O(I)	6	0.329	0.484	0.250
O(II)	6	0.589	0.466	0.250
O(III)	12	0.348	0.259	0.073
OH	2	0.000	0.000	0.250

Monoklinik kristal yapısına sahip HA ise  $P2_1/b$  uzay grubuna aittir ve kafes parametreleri ise  $a=9.4114 \text{ \AA}$ ,  $b=\sim 2a$  ve  $c=6.8814 \text{ \AA}$  olarak hesaplanmıştır. Bu kristal yapıya sahip HA üretilmesi oldukça zor olup %100'e yakın sitokiyometrik HA üretilmesi durumunda ve yüksek sıcaklıklarda kalsine edilmesi neticesinde oluşabilir [35]. Hegzagonal ve monoklinik HA arasındaki esas fark ise hidroksil iyonlarının sıralanış şeklidir. Monoklinik HA'da hidroksil iyonları O-H, O-H, O-H sırası ile dizilmiş olmasına rağmen hegzagonal HA'daki hidroksil iyonları ise O-H, H-O, O-H, H-O sırası ile dizilmişlerdir [36]. Deneysel çalışmalar neticesinde üretilen HA'ların, kristal yapıları hegzagonal olarak bulunmuştur [17, 18].

## V. BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

HA biyouyumluluğu oldukça yüksek bir malzemedir. Kemik-implant ara yüzeyinde çok kuvvetli bağlar oluşabilmektedir ve kemiğin bu yüzeyde büyüebilmesini hızlandırmaktadır. Osteoblastların yani genç kemik hücrelerinin biyoaktivitesi yüksek olan bu malzeme üzerindeki tutunumu ve çoğalması diğer biyoseramiklere göre çok daha iyidir. Ayrıca nano HA yüzeyindeki osteoblast hareketleri daha hızlıdır.

Pek çok çalışmada mikron boyutundaki tanelere sahip malzemelere nazaran nano yapıdaki malzemeler üzerindeki osteoblast hareketlerinin daha gelişkin ve fazla olduğu görülmüştür. Osteoblast hücrelerinin fonksiyonları, fibronektin, vitronektin, laminin ve kolajen proteinleri ileri etkileşimleri sayesinde artmaktadır [37, 38]. Webster ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada [39], osteoblast hücrelerinin, nano yapıdaki HA'lar ve diğer önemli biyoseramikler olan titanya ve alümina üzerindeki uzun süreli (günlerden haftalara süren) fonksiyonları gözlemlenmiştir. Bu hücrelerin her türlü fonksiyonları nano yapıdaki HA'lar üzerinde daha gelişmiş bir şekildedir [39].

$Ag^+$  iyonlarının HA'nın antibakteriyel özelliklerini iyileştirdiği bilinmektedir [40]. Ayrıca,  $Cu^{2+}$  iyonlarının HA'nın antibakteriyel özelliklerine katkısı araştırılmıştır [40].  $Cu^{2+}$  iyonları ilave edilmiş HA'nın E.coli'ye karşı kuvvetli bir

antibakteriyel özelliğe sahip olduğu gözlemlenmiştir [40]. Ayrıca,  $Ag^+$  ve  $Cu^{2+}$  iyonlarının beraber olarak ilave edilmesi neticesinde hidroksiapatite antibakteriyel özellikler kazandırılmıştır [40]. Antibakteriyel özellikleri gösteren iki önemli faktör vardır [40]. Birincisi elektrostatik çekim sayesinde bakteriler  $Cu^{2+}$  iyonları ilave edilmiş HA'nın yüzeyine yapışmaya başlarlar. İkincisi ise  $Cu^{2+}$  iyonları yavaş yavaş ortama yayılır ve ortamda yerleşik düzene geçmeleri sonucunda bakterileri yok eder [40]. Ayrıca  $Ag$  ilave edilmiş HA'lara göre daha ekonomik ve mikroyapı ve kimyasal yönlerden daha iyi özelliklere sahiptirler [41].

## VI. NANO HİDROKSİAPATİT'E ÇEŞİTLİ İYONLARIN EKLENMESİ

Doğal HA'da  $Mg^{2+}$ ,  $F^-$ ,  $CO_3^{2-}$  gibi pek çok sayıda iyonlar yer almaktadır [42]. Bu yüzden HA'ya pek çok değişik elementler eklenerek çeşitli araştırmalar yapılabilmektedir. İç yapısal, mekanik özellikler, biyouyumluluk ve biyoaktivite özellikleri yönünden çok daha faydalı ürünler geliştirebilmek için farklı iyonlar saf HA'nın iç yapısına eklenebilir.

## VII. İYON EKLENMİŞ NANO HİDROKSİAPATİT'LERİN İÇ YAPI ÖZELLİKLERİ

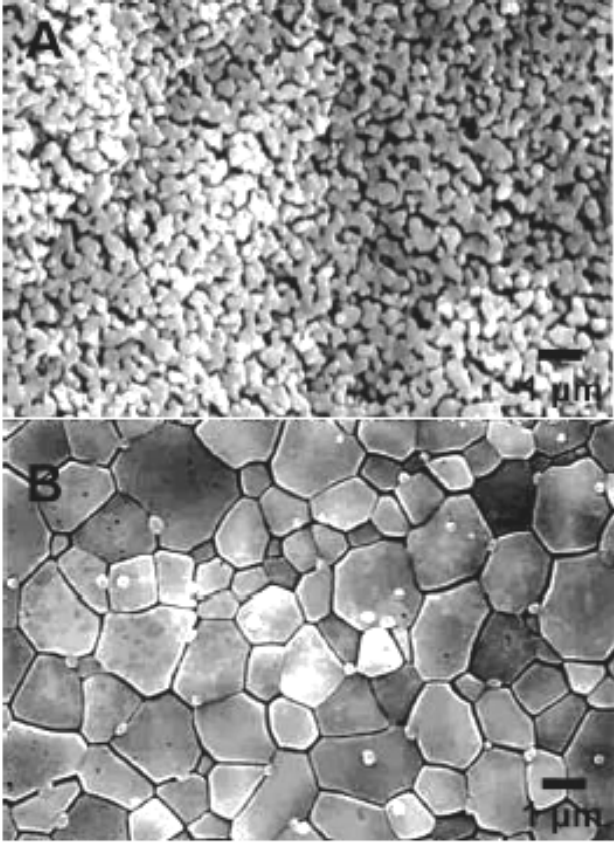
HA içerisine çok farklı iyonlar eklenebilir. Bu iyonların eklenmesi neticesinde HA'nın iç yapısında değişiklikler meydana gelebilir. Özellikle HA'nın hegzagonal kafes parametrelerinde değişiklikler meydana gelebilir. Ayrıca farklı iyonların ilave edilmesi neticesinde HA'ların daha ufak tane boyutunda üretilebilecekleri deneysel olarak gösterilmiştir [17]. Çeşitli iyonların HA'nın iç yapısına olan etkileri Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Çeşitli iyonlar eklenmiş farklı HA'ların iç yapı özellikleri [17, 43-45].

Malzeme	Sinterleme koşulları	Yoğunluk ( $g/cm^3$ )	Hegzagonal iç yapı				Tane boyutu ( $\mu m$ )
			$a^*$ ( $\text{\AA}$ )	$c^*$ ( $\text{\AA}$ )	Hacim ( $\text{\AA}^3$ )	$\Delta$ Hacim ( $\text{\AA}^3$ )	
saf HA	1100°C'de 1-saat	3,125	9,427	6,8878	1590,2	0	0,56
2% Mg	1100°C'de 1-saat	3,162	9,3938	6,8758	1570,9	-19,3	0,27
5% Y	1100°C'de 1-saat	3,269	9,388	6,8662	1566,7	-23,5	0,29
saf HA	1100°C'de 1saat	-	8,9594	6,8103	1420,3	0	1,12
5% Y	1100°C'de 1-saat	-	8,9013	6,8548	1411,1	-9,21	0,71
saf HA	1100°C'de 1-saat	3,115	9,4264	6,8884	1584,7	0	0,26
5% Al	1100°C'de 1-saat	2,8846	9,4252	6,892	1585,1	0,4	0,59
5% Al	1300 C'de 1-saat	3,1465	9,4136	6,9013	1583,3	-1,3	1,59
saf HA	1200 C'de 4-saat	-	9,413	6,875	1577,1	0	-
2wt% Si	1200 C'de 4-saat	-	9,416	6,902	1584,3	7,2	-

Saf nano HA'ya  $Al^{3+}$  katyonu eklenerek bu malzemenin iç yapı ve sinterleme özellikleri araştırılmıştır [17]. % 2,5, 5 ve 7,5 mol oranlarında HA'ya eklenen bu katyonla 1100°C ve 1300°C'lerde yapılan sinterleme işlemleri neticesinde ikincil fazların oluştuğu gözlemlenmiştir.  $Al^{3+}$  katyonunun eklenmesi HA'nın bozunmasını ve TCP ile  $CaO$ 'nun oluşumunu hızlandırmaktadır. İkincil fazların oluşumunu engelleyebilmek için  $Al^{3+}$  iyonunun molca %5'ten fazla olmaması gerektiği anlaşılmıştır.  $Al^{3+}$  iyonunun çapı  $Ca^{2+}$  iyonunun çapından çok

daha küçük olduğundan dolayı da hegzagonal birim hücrelerinin hacmi azalmıştır. Şekil 3'te de görüldüğü gibi %5 Al<sup>3+</sup> eklenmiş HA'nın iç yapısı sinterleme sıcaklığına göre değişmektedir. 1300°C'de sinterlenen Al<sup>3+</sup> iyonu eklenmiş HA'nın tane boyutunun da saf HA'dan daha düşük olduğu görülmüştür.



Şekil 3. 1100°C (A) ve 1300°C'de (B) 1 saat sinterlenmiş 5% Al eklenmiş HA'nın SEM görüntüleri [17].

Bu malzemeye çeşitli katyonlar ekleme çalışmaları sadece katyonların teker teker eklenmesiyle sınırlı kalmayıp aynı anda birden çok katyon da eklenmiştir. Kim ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise HA'ya aynı anda hem silisyum hem de magnezyum elementleri eklenmiş, sinterlenme özellikleri, morfolojileri ve biyolojik özellikleri incelenmiştir [44].

Bir başka çalışmada HA'ya bünyesinde bulunan Ca<sup>2+</sup> iyonu ile yer değiştirmesi için ZrO<sup>2+</sup> eklenmiştir [18]. Sinterlenen malzemenin gözenekli yapısı eklenen katyon miktarı arttıkça artmakta olduğu görülmüştür. Ayrıca HA'nın bozunmasını da hızlandıran bir etkiye sahiptir. Ca<sup>2+</sup> ve ZrO<sup>2+</sup> iyonlarının yer değiştirmesi neticesinde HA'nın hegzagonal kafes parametrelerinde artışlar meydana gelmiştir ve bu artışlar nedeniyle de oluşan gerilimler HA'nın bozunma hızını arttırmıştır. Bozunma esnasında oluşan su molekülleri de malzemenin yapısında gözeneklerin artmasına neden olmuştur. Böylelikle ZrO<sup>2+</sup> eklenmiş HA'lar saf HA'dan daha gözenekli bir yapıya sahip olmuşlardır.

Bir başka çalışmada ise F<sup>-</sup> ve Cl<sup>-</sup> anyonları aynı anda eklenmiştir [46]. Apatit yapısı değişmemekle birlikte kafes

parametrelerinde artış görülmüştür. Çeşitli oranlarda katılan bu anyonlarla hazırlanan HA'ların hepsinde tane boyutunun 50 nm'den küçük olduğu gözlemlenmiştir. Bu da doğal kemiğin tane boyutu ile bir uyum yakalandığını göstermektedir.

## VI.II. İYON EKLENMİŞ NANO HİDROKSİAPATİT'LERİN BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Ergun ve ark., HA'ya Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> ve Y<sup>3+</sup> iyonlarını eklemiştir [43]. Bu iyonların eklendiği HA'ların kafes parametrelerinde değişiklikler ortaya çıkmıştır. HA'ya eklenen bu elementler Ca katyonunun yerini aldıklarında malzemenin hegzagonal hücre hacminin azaldığı gözlemlenmiştir. Osteoblast hücrelerinin Y<sup>3+</sup> eklenmiş HA'lara yapışmasının saf HA'ya yapışmasından daha fazla olduğu görülmüştür.

Webster ve ark., +2 ve +3 değerlere sahip Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, La<sup>3+</sup>, Y<sup>3+</sup>, In<sup>3+</sup> ve Bi<sup>3+</sup> iyonları HA'ya eklemiş ve bu malzemeler üzerinde hücre çalışması yapmışlardır [45]. Bu çalışmada osteoblast hücrelerinin farklı iyonlar eklenmiş HA üzerindeki tutunumlarının hangi derecelerde değiştiğine bakılmıştır. Örneğin Y<sup>3+</sup> eklenen HA'larda bu hücrelerin yapışma oranları 3000 hücre/cm<sup>2</sup> olduğu görülmüştür. Bu sonuç saf HA'daki değerin yaklaşık iki katıdır. Ayrıca osteoblast hücreleri, üç değerlikli katyonlar eklenmiş HA'lara, iki değerlikli katyonlar eklenmiş HA'lara göre daha hızlı ve çok yapışmışlardır. İki değerlikli katyonlar eklenmiş HA'daki yapışma miktarı 2200 hücre/cm<sup>2</sup> iken üç değerlikli katyonlar eklenmiş HA'da bu oran 2600 hücre/cm<sup>2</sup> değerlerine çıktığı görülmüştür. Bu çalışmada ortaya çıkan en çarpıcı sonuç ise Bi<sup>3+</sup> katyonunun gelecek vadede bir element olduğunun belirtilmesidir. Çünkü diğer bütün katyonlar arasında HA'nın kemik implant uygulamalarında kullanılabilmesi için gerekli özelliklerini en verimli şekilde arttıran bu katyon olmuştur. Ayrıca zaten bu katyon vücut içerisinde doğal olarak da bulunmaktadır. Bu bilgiler ışığında, gelecekte Bi<sup>3+</sup> katyonu eklenmiş HA'lar konusunda araştırmalar artabilir. Ancak Bi<sup>3+</sup> katyonu eklenmiş HA'ların mekanik özelliklerinin incelenmesi gerekmektedir.

## VI.III. İYON EKLENMİŞ NANO HİDROKSİAPATİT'LERİN MEKANİK ÖZELLİKLERİ

Nano taneli HA'ya Mg<sup>2+</sup> ve Zn<sup>2+</sup> katyonlarının eklenmeleri işlemi daha sonra başka çalışmalara da konu olmuştur. Kalita ve ark. metal iyonlarının HA'nın morfolojik ve sinterleme özellikleri üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile nano yapıdaki HA'ya Mg<sup>2+</sup> ve Zn<sup>2+</sup> iyonlarını eklemiştir [47]. Ağırlıkça %1 oranında magnezyum eklenmiş HA'ların tane boyutlarının saf HA'ya göre daha düşük olduğu gözlemlenmişken, aynı oranda çinko eklenmiş HA'ların tane boyutları artmıştır.

1300°C'de sinterlenmiş ve 1% oranında metal iyonları eklenmiş HA sertlik ve basma dayanımları bakımından da saf HA'ya göre daha yüksek seviyelerdedir. Vickers sertliklerine bakıldığında saf HA'nın sertliği 325 HV civarında iken, %1 oranında Mg<sup>2+</sup> katyonu eklenmiş HA'nınki yaklaşık 380 HV, Zn<sup>2+</sup> eklenmiş HA'nınki ise 350 HV civarında olduğu görülmektedir [47]. Yapılan basma testleri sonucunda saf HA'nın basma kuvveti 211 MPa bulunurken, Mg<sup>2+</sup> eklenen

HA'nın 281 MPa, Zn<sup>2+</sup> eklenen HA'nın 223 MPa basma kuvvetine sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Ayrıca biyolojik özellikler bakımından da incelemeler yapılmış ve bozunma (kütle kaybı) hızlarının metal iyonu katılmış malzemede daha düşük olduğu ortaya çıkmıştır, özellikle magnezyum eklenen HA'da en düşük bozunma hızı saptanmıştır.

HA'ya sadece katyonlar eklenmemiştir. Bu malzemenin özelliklerini geliştirmek adına anyonlar da eklenmiştir. F<sup>-</sup> eklenmiş HA'lar yüksek sıcaklıklardaki sinterlemeye karşı daha dayanıklıdır. Örneğin HA'nın korozyona karşı direncini artırabilmek için değişen oranlarda F<sup>-</sup> anyonları eklenmiştir [48]. OH<sup>-</sup> anyonu ile yer değiştiren bu katyonlar malzemenin kafes parametrelerinden sadece birini değiştirerek HA'nın kristalliliğini ve kararlılığını arttırmışlardır.

Hem saf HA hem de flor eklenmiş HA (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2-2x</sub>F<sub>2x</sub>) nano tane boyutlarında üretilmişlerdir [48]. Flor eklenmiş HA'nın (FHA) formülündeki x değerleri sıfır ile 1 arasında değişen muhtelif değerlerdir. 0, 0,2, 0,4 ve 0,6 değerlerine sahip HA'larda yapılan mikro-Vickers sertlik testleri sonucunda x'in sıfır olduğu malzemenin yani saf HA'nın mikro-Vickers sertliği 5,81 GPa olarak hesaplanmıştır. Diğer x değerleri içinde sırasıyla 6,03, 5,97 ve 6,1 GPa değerleri bulunmuştur. FHA'nın, HA'ya göre, hem mikro sertliği artmış hem de, buna bağlı olarak, korozyon direnci artmıştır.

## VII. SONUÇ

Nano taneli HA kemikte bulunan doğal HA ile olan tane boyutlarının benzerliğinden dolayı medikal uygulamalarda oldukça büyük öneme sahiptir. Nano taneli HA'ların geleneksel HA'lara göre hem mekanik hem de biyolojik özellikleri açısından öne geçtiği görülmüştür. HA'yı üretmek için pek çok üretim metodu olmasına rağmen çöktürme yönteminin nano HA üretilmesinde en pratik ve basit metot olduğu tespit edilmiştir. Mikron boyuttaki HA'lar 1100°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda sinterlenebilmesine rağmen nano HA 1100°C'nin altındaki sıcaklıklarda yüksek yoğunlukta sinterlenebilirler. Bu da saflık oranı çok yüksek HA üretilmesini getirmektedir. + değerlere sahip iyonların Ca<sup>2+</sup> iyonunun yerini alarak HA'nın biyouyumluluğunu arttırdıkları tespit edilmiştir. Ancak bu iyonlar az miktarda (1-2 %'den az) HA'ya katılmalıdır çünkü yüksek sıcaklıklardaki sinterlemelerde HA'nın çabuk bozulmasına sebep olmaktadır. Ayrıca mekanik özellikleri hakkında literatürde yeteri kadar çalışma yapılmamış olup bu konu üzerindeki çalışmaların önem kazanacağı düşünülmektedir. Eksi değerlere sahip iyonların (özellikle F<sup>-</sup>) OH<sup>-</sup> nin yerini alması sonucunda HA'nın yüksek sıcaklıklardaki sinterlemelerde ve vücut içerisindeki dayanımı ve kararlılığı artırılmıştır.

## VIII. KAYNAKLAR

[1] Kalita, S.J., Bhardwaj, A. ve Bhatt, H.A. (2007). Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering. *Materials Science Engineering C* 27, 441-449.  
 [2] Fang, Y., Agrawal, D.K., Roy, D.M. ve Roy, R. (1995). Fabrication of transparent hydroxyapatite ceramics by ambient-pressure sintering. *Materials Letters* 23, 147-151.

[3] Ioku, K., Yoshimura, M. ve Somiya, S. (1990). Microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite ceramics with zirconia dispersion prepared by post-sintering. *Biomaterials* 11, 57-61.  
 [4] Li, J., Fartash, B. ve Hermansson, L. (1998). Hydroxyapatite-alumina composites and bone-bonding. *Biomaterials* 16, 417-422.  
 [5] Uematsu, K., Takagi, M., Honda, T., Uchida, N. ve Saito, K. (1989). Transparent hydroxyapatite prepared by hot isostatic pressing of filter cake. *Journal of the American Ceramic Society* 72, 1476-1478.  
 [6] With, G.D., Dijk, H.J.A.V., Hattu, N. ve Prijs, K. (1981). Preparation, microstructure and mechanical properties of dense polycrystalline hydroxyapatite. *Journal of Materials Science* 16, 1592-1598.  
 [7] Bhat, S.V. (2002). *Biomaterials*, Kluwer Academic Publisher, Norwell, MA, A.B.D., ss.174-195.  
 [8] Marks, Jr. S.C. ve Hermey, D.C. (1996). The Structure and Development of Bone, Ed: J.P. Bilezikian, L.G. Raisz, G.A. Rodan, *Principles of Bone Biology*, Academic Press, San Diego, CA, A.B.D., s. 3.  
 [9] Keaveny, T.M. ve Hayes, W.C. (1993). Mechanical properties of cortical and trabecular bone. *Bone* 7, 285-344.  
 [10] Park, J.B. (1987). *Biomaterials Science and Engineering*, Plenum Press, New York, NY, A.B.D.  
 [11] Handschin, R.G. ve Stern, W.B. (1995). X-ray diffraction studies on the lattice perfection of human bone apatite (crista iliaca), *Bone* 16, 355S-363S.  
 [12] Holden, J.L., Clement, J.G. ve Phakey, P.P. (1995). Age and temperature related changes to the ultrastructure and composition of human bone mineral, *Journal of Bone and Mineral Research* 10, 1400-1409.  
 [13] Wopenka, B., ve Pasteris, J.D. (2005). A mineralogical perspective on the apatite in bone, *Materials Science and Engineering C* 25, 131-143.  
 [14] Clara, M. Magalhaes, F. ve Williams, P.A. (2007). Apatite Group Minerals: Solubility and Environmental Remediation, *Thermodynamics, Solubility and Environmental Issues*, Ed: T.M. Letcher, Elsevier B.V.  
 [15] Panteix, P.J., Julien, I., Abelard, P. ve Bernache-Assollant, D. (2008). Influence of cationic vacancies on the ionic conductivity of oxyapatites, *Journal of the European Ceramic Society* 28, 821-828.  
 [16] Rey, C., Combey, C., Drouet, C., Sfihi, H. ve Barroug, A. (2007). Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: Implications for biominerals and biomaterials, *Materials Science and Engineering C* 27, 198-205.  
 [17] Evis, Z. (2006). Al<sup>3+</sup> doped nano hydroxyapatites and their sintering characteristics, *Journal of the Ceramic Society of Japan* 114, 1001-1004,  
 [18] Evis, Z. (2007). Reactions in hydroxyapatite-zirconia composites, *Ceramics International* 33, 987-991.  
 [19] Evis, Z. ve Doremus, R.H. (2007). Hot-pressed hydroxyapatite/monoclinic zirconia composites with improved mechanical properties, *Journal of Materials Science* 42, 2426-2431.  
 [20] Luo, P. ve Nieh, T.G. (1995). Synthesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method, *Materials Science and Engineering C* 3, 75-78.  
 [21] Xu, J.L., Khor, K.A., Dong, Z.L., Gu, Y.W., Kumar, R. ve Cheang, P. (2004). Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite powders produced in a radio frequency (rf) thermal plasma, *Materials Science and Engineering A* 374, 101-108.  
 [22] Kuriakose, T.A., Kalkura, S.N., Palanichamy, M., Arivuoli, D., Dierks, K., Bocelli, G. ve Betzel, C. (2004). Synthesis of stoichiometric nano crystalline hydroxyapatite by ethanol-based sol-gel technique at low temperature, *Journal of Crystal Growth* 263, 517-523.  
 [23] Han, Y., Li, S., Wang, X. ve Chen, X. (2004). Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by citric acid sol-gel combustion method, *Materials Research Bulletin* 39, 25-32.  
 [24] Shih, W.J., Chen, Y.F., Wang, M.C. ve Hon, M.H. (2004). Crystal growth and morphology of the nano-sized hydroxyapatite powders synthesized from CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O and CaCO<sub>3</sub> by hydrolysis method, *Journal of Crystal Growth* 270, 211-218.  
 [25] Sarig, S. ve Kahana, F. (2002). Rapid formation of nanocrystalline apatite, *Journal of Crystal Growth* 237, 55-59.  
 [26] Manuell, C.M., Ferraz, M.P. ve Monteiro, F.J., (2003). Synthesis of hydroxyapatite and tri calcium phosphate nanoparticles-preliminary studies, *Bioceramics*, 15, 240-242.  
 [27] Evis, Z. ve Doremus, R.H. (2008). Effect of AlF<sub>3</sub>, CaF<sub>2</sub> and MgF<sub>2</sub> on hot-pressed hydroxyapatite-nanophase alpha-alumina composites, *Materials Research Bulletin* 43, 2643-2651.  
 [28] Jarcho, M., Bolen, C.H., Thomas, M.B., Bobick, J., Kay, J.F. ve Doremus, R.H. (1976). Hydroxyapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form, *Journal of Materials Science* 11, 2027-2035.

- [29] Akao, M., Aoki, H. ve Kato, K. (1981). Mechanical properties of sintered hydroxyapatite for prosthetic applications, *Journal of Materials Science* 16, 809-812.
- [30] Ruys, A.J., Wei, M., Sorrell, C.C., Dickson, M.R., Brandwood, A., ve Milthorpe, B.K. (1995). Sintering effects on the strength of hydroxyapatite, *Biomaterials* 16, 409-415.
- [31] Santos, J.D., Knowles, J.C., Reis, R.L., Monteiro, F.J. ve Hastings, G.W. (1994). Microstructural characterization of glass-reinforced hydroxyapatite composites, *Biomaterials* 15, 5-10.
- [32] Ahn, E.S., Gleason, N.J., Nakahira, A. ve Ying, J.Y. (2001). Nanostructure processing of hydroxyapatite-based bioceramics, *Nano Letters* 1, 149-153.
- [33] Atsala, R. ve Stott, M.J. (2005). First principles investigation of mineral component of bone: CO<sub>3</sub> substitutions in hydroxyapatite, *Chemistry of Materials* 17, 4125-4133.
- [34] Posner, A.S., Perloff, A. ve Diorio, A.F. 1958. Refinement of the hydroxyapatite structure, *Acta Crystallographica* 11, 308-309.
- [35] Fleet, M.E. ve Liu, X. (2000). Site preference of rare earth elements in hydroxyapatite [Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>], *Journal of Solid State Chemistry* 149, 391-398.
- [36] Ikoma, T., Yamazaki, A., Nakamura, S. ve Akao, M. (1999). Preparation and structure refinement of monoclinic hydroxyapatite, *Journal of Solid State Chemistry* 144, 272-276.
- [37] Webster, T.J., Siegel, R.W. ve Bizios, R. (1998). *Bioceramics*, Ed: R.Z. LeGeros ve J.P. LeGeros, World Scientific, New York, NY, A.B.D., 11, 273-276.
- [38] Webster, T.J., Siegel, R.W. ve Bizios, R. (1999). Osteoblast adhesion on nanophase ceramics, *Biomaterials* 20, 1222-1227.
- [39] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H., Siegel, R.W. ve Bizios, R. (2000). Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics, *Biomaterials* 21, 803-1810.
- [40] Kim, T.N., Feng, Q.L., Kim, J.O., Wu, J., Wang, H., Chen, G.C. ve Cui, F.Z. (1998). Antimicrobial effects of metal ions (Ag<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) in hydroxyapatite, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 9, 129-134.
- [41] Yang, H., Zhang, L. ve Xu, K.-W. (2009). Effect of storing on the microstructure of Ag/Cu/HA powder, *Ceramics International* 35, 1595-1601.
- [42] Narasraju, T.S.B. ve Phebe, D.E. (1996). Some physico-chemical aspects of hydroxylapatite, *Journal of Materials Science* 31, 1-21.
- [43] Ergun, C., Webster, T.J., Bizios, R. ve Doremus, R.H. (2002). Hydroxylapatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium. I. Structure and microstructure, *Journal of Biomedical Materials Research* 59, 305-311.
- [44] Kim, S.R., Lee, J.H., Kim, Y.T., Riu, D.H., Jung, S.J., Lee, Y.J., Chung, S.C. ve Kim, Y.H. (2003). Synthesis of Si, Mg substituted hydroxyapatites and their sintering behaviors, *Biomaterials*, 24, 389-1398.
- [45] Webster, T.J., Massa-Schlueter, E.A., Smith, J.L. ve Slamovich, E.B. (2004). Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations, *Biomaterials* 25, 2111-2121.
- [46] Kannan, S., Rebelo, A. ve Ferreira, J.M.F. (2006). Novel synthesis and structural characterization of fluorine and chlorine co-substituted hydroxyapatites, *Journal of Inorganic Biochemistry* 100, 1692-1697.
- [47] Kalita, S.J. ve Bhatt, H.A. (2007). Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc: synthesis and characterization, *Materials Science and Engineering C* 27, 837-848.
- [48] Chen, Y. ve Miao, X. (2004). Effect of fluorine addition on the corrosion resistance of hydroxyapatite ceramics, *Ceramics International* 30, 1961-1965.