

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**METALİK İMPLANT MALZEME
YÜZEYLERİNİN BİYO UYUMLU
POLİMERLERLE KAPLANARAK BİYO AKTİF
HALE GETİRİLMESİ**

Nihal KAHRAMAN

**Ocak, 2013
İZMİR**

**METALİK İMPLANT MALZEME
YÜZEYLERİNİN BİYO UYUMLU
POLİMERLERLE KAPLANARAK BİYO AKTİF
HALE GETİRİLMESİ**

Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü

Nihal KAHRAMAN

**Ocak, 2013
İZMİR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

NİHAL KAHRAMAN, tarafından YARD. DOÇ. DR. AYLİN ALBAYRAK yönetiminde hazırlanan “METALİK İMPLANT MALZEME YÜZEYLERİNİN BİYO UYUMLU POLİMERLERLE KAPLANARAK BİYO AKTİF HALE GETİRİLMESİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Aylın Albayrak
[Signature]

Yönetici

Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR
[Signature]

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ek. F. Şahin İsgin
[Signature]

Jüri Üyesi

[Signature]

Prof. Dr. Mustafa SABUNCU

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

109M045 nolu TUBİTAK projesi tarafından desteklenen tezimin her aşamasında, aktarmış olduğu yakın ilgi, destek ve anlayıştan dolayı, daima örnek aldığım, çok sevgili danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Aylin Ziyhan ALBAYRAK'a,

Yaptığı teorik bilgi ve deneysel katkılar ile göstermiş olduğu destekten dolayı Doç. Dr. Uğur MALAYOĞLU'na,

Çalışmanın gerçekleşmesinde 109M045 no'lu proje kapsamında Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından sağlanan destek için TÜBİTAK' a,

Tez çalışmalarım sırasında bana korozyon laboratuvarında çalışma fırsatını sunan, Prof.Dr. Ahmet ÇAKIR'a ve Yüksek Lisans Öğrencileri Alper TURHAN ve Buğra KARAHAN'a ve Doktora Öğrencisi Güler UNGAN'a

Hücre kültürü çalışmalarında bilgilerini ve zamanını bizden esirgemeyen ; Prof. Dr. Leyla Didem KOZACI ve Araş. Gör. Berivan ÇEÇEN'e ve Yüksek Lisans Öğrencisi Diler ERDEMLİ'ye, laboratuvar imkanlarını kullandıran Prof. Dr. Hasan HAVİTÇİOĞLU'na,

Kıymetli bilgilerini benimle paylaştıkları ve zamanlarını ayırdıkları için bölümümüzün araştırma görevlilerine, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma,

Tüm eğitim ve özel yaşantım boyunca bana maddi ve manevi olarak hiçbir zaman desteğini esirgemeyen aileme ve sevgili eşim Arş. Gör. Haydar KAHRAMAN'a

Teşekkürü bir borç bilirim.

Nihal KAHRAMAN

METALİK İMPLANT MALZEME YÜZEYLERİNİN BİYO UYUMLU POLİMERLERLE KAPLANARAK BİYO AKTİF HALE GETİRİLMESİ

ÖZ

Bu çalışmanın amacı; metalik implant malzeme olarak kullanılan 316L paslanmaz çeliğinin yüzeyini, elektrokimyasal polimerleşme yöntemi kullanarak, biyo uyumlu poli(HEMA-GDMA) ile kaplayıp malzemenin biyolojik uyumluluğunu ve işlevselliğini geliştirmektir. Elektrokimyasal olarak polimerleşmede, başlatıcı olarak $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ve (H_2SO_4) , monomer olarak HEMA, çapraz bağlayıcı olarak GDMA, çalışma elektrotu olarak 316L paslanmaz çeliği, yardımcı elektrot olarak grafit elektrot ve referans olarak SCE (doymuş kalomel elektrot) kullanılmıştır. Ayrıca iletkenliği arttırmak için çözeltiye Na_2SO_4 ilave edilmiştir. Kaplamanın kalınlığı ve homojenliği; kullanılan başlatıcı türüne, başlatıcı, monomer ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca, uygulanan potansiyel, döngü sayısı ve tarama hızı da döngüsel voltametri uygulamalarında önemli parametrelerdir. Yapılan çalışmada bu parametreler optimize edilmeye çalışılmış ve değişik kalınlık ve yapışma özelliğine sahip kaplamalar elde edilmiştir. Kaplamaların korozyon potansiyeli potansiyostatik-galvanostatik yöntemle ölçülmüş ve elektrokimyasal parametreler TAFEL ekstrapolasyonu yöntemiyle elde edilmiştir. Ayrıca, hidrojel kaplamaların şişme davranışını karakterize etmek için su tutma kapasitesi ölçümleri yapılmıştır. Kaplamaların üzerinde Ca-P birikim eğilimi simüle edilmiş vücut sıvısı içerisine daldırarak veya üre yardımcı mineralizasyon tekniği kullanarak araştırılmıştır. Hidrojel kaplamaların biyo uyumluluğu MG63 insan osteoblast benzeri hücreler kullanılarak değerlendirilmiştir. Kaplamaların yüzey morfolojisi, hücre yapışması ve yayılımı, kaplamaların üzerinde Ca-P mineral varlığı taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Kimyasal karakterizasyonlar EDS, XRD ve FT-IR kullanılarak yapılmıştır. Kaplamaların kalınlık ve pürüzlülük değerleri yüzey profilometresi cihazından elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Elektropolimerizasyon, hidrojel, biyomineralizasyon, biyomalzeme, korozyon

COATING OF METALLIC IMPLANT SURFACES WITH BIO COMPATIBLE POLYMERS TO HAVE BIO ACTIVITY

ABSTRACT

The aim of the study is to coat 316L stainless steel which is used as an implant material with bio-compatible poly (HEMA-GDMA) by electropolymerization method in order to develop the functionality and the bio-compatibility of the coatings. In the electropolymerization cell, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ and (H_2SO_4) were used as initiators, HEMA was used as the monomer, GDMA was the cross-linker, 316L stainless steel was the working electrode, graphite rod was the counter electrode and SCE (saturated calomel electrode) was used as the reference electrode. Also, Na_2SO_4 was added to improve the conductivity of the solution. The thickness and homogeneity of the coatings differ depending on the type of the initiator used and concentrations of the initiator, monomer and the crosslinker. Also, applied potential, number of cycles and scan rates are important as CV parameters. In this study, these parameters were tried to be optimized and coatings with different thickness and adhesion properties were obtained. Corrosion potentials of the coatings were measured using potentiostat-galvanostat and electrochemical parameters were obtained from TAFEL extrapolation technique. Also, water content determination was done to characterize the swelling behaviour of the hydrogel coatings. The tendency of Ca-P deposition on the coatings was explored either by immersing them in a simulated body fluid or by an urea assisted mineralization technique. MG63 human osteoblast-like cells were used to assess the biocompatibility of the hydrogel coatings. Surface morphologies of the coatings, cell adhesion and spreading, and presence of Ca-P minerals on the coatings were examined by SEM. Chemical characterizations were done using EDS, XRD and FT-IR. Thickness and roughness values of the coatings were obtained by the surface profilometer device.

Keywords: Electropolymerization, hydrogel, biomineralization, biomaterial, corrosion

İÇİNDEKİLER

Sayfa

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

TEŞEKKÜR ii

ÖZ iv

ABSTRACT v

BÖLÜM BİR - GİRİŞ 1

BÖLÜM İKİ - TEORİK 3

2.1 Biyomalzemeler..... 3

2.1.1 Biyouyumluluk 4

2.1.1.1 In Vitro Testler 7

2.1.1.2 İn Vivo Testler..... 8

2.1.2 Biyometaller 8

2.1.2.1 Paslanmaz Çelik 9

2.1.2.2 Kobalt içeren alaşımlar10

2.1.2.3 Titanyum ve titanyum içeren alaşımlar.....10

2.1.3 Biyopolimerler11

2.1.4 Hidrojeller13

2.1.4.1 Çapraz Bağlanma Şekline Göre Hidrojeller.....15

2.1.4.2 Hidrojellerin Şişme Davranışı.....16

2.2 Polimerizasyon Yöntemleri.....18

2.2.1 Radikal Katılma Polimerizasyon Mekanizması.....18

2.2.1.1 Başlama Basamağı.....19

2.2.1.2 İlerleme basamağı.....19

2.2.1.3 Sonlanma.....	19
2.2.2 Zincir Transferi	19
2.3 Elektrokimyasal polimerleşme	20
2.3.1 Elektrokimyasal Hücre	22
2.3.1.1 Çalışma Elektrotları	23
2.3.1.2 Referans Elektrot	23
2.3.1.3 Karşıt Elektrotlar	24
2.4 Çevrimsel Voltametri	24
2.4.1 Tersinir Reaksiyonların Çevrimsel Voltamogramı	26
2.4.2 Tersinmez reaksiyonlar	29
2.4.3 Yarı tersinir reaksiyonlar	29
2.4.4 CV ile reaksiyon mekanizmasının belirlenmesi	30
2.4.4.2 CE mekanizması:	32
2.4.4.3 Katalitik mekanizma:	32
2.4.4.4 ECE mekanizması:	33
2.4.5 Adsorpsiyonun CV ile incelenmesi.....	33
2.5 Korozyon.....	35
2.5.1 Korozyon Hızını Belirleme Yöntemleri	36
2.5.1.1 Analitik yöntemler	36
2.5.1.2 Kütle kaybı yöntemi	36
2.5.1.3 Elektrokimyasal yöntemler	37
2.5.1.3.1 Çizgisel polarizasyon (polarizasyon direnci) yöntemi	37
2.5.1.3.2 Potansiyodinamik metot	38
2.5.1.3.3 Çevrimsel polarizasyon	39
2.5.1.3.4 Tafel ekstrapolasyonu yöntemi	39

BÖLÜM ÜÇ - LİTERATÜR ÖZETİ.....41

BÖLÜM DÖRT - MATERYAL VE YÖNTEM49

4.1 Deney Numunelerinin Hazırlanması	49
4.2 Elektropolimerizasyon Prosedürü	49
4.3. Kaplamaların Karakterizasyonu	50
4.4. Hidrojel Kaplamanın Su Tutma Kapasitesi Ölçümleri	51
4.5. Korozyon Çalışmaları.....	51
4.6. Mikro – indentasyon Testi	53
4.7. Üre Yardımlı Mineralizasyon Çalışması	53
4.8. Simule Edilmiş Vücut Sıvısı İçerisinde (SBF) Mineralizasyon Çalışması.....	53
4.9. Hücre Kültürü.....	54
4.10. Alkalen Fosfataz (ALP) Aktivitesinin Saptanması	56
4.11. XTT Testi ile Hücre Proliferasyon Kapasitesinin Saptanması	56
4.12. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntülemesi	56

BÖLÜM BEŞ - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA58

5.1 Elektropolimerizasyon Çözelti Parametrelerinin Optimizasyonu	58
5.2 Döngüsel Voltametri tekniği kullanılarak Poli(HEMA-GDMA) Elektropolimerizasyonu	60
5.3. Hidrojel Kaplamanın Su Tutma Kapasitesi Ölçümleri	74
5.4. Hidrojin FTIR Karakterizasyonu	74
5.5 Korozyon Çalışmaları.....	76
5.6 Mikro İndentasyon Testi.....	80
5.7 Minaralizasyon Çalışmaları	82

5.6.1. Üre yardımcı mineralizasyon	82
5.6.2. SBF içerisinde mineralizasyon.....	94
5.7 Hücre Kültürü Çalışmaları.....	99
BÖLÜM ALTI - SONUÇLAR.....	103
KAYNAKLAR	105

BÖLÜM BİR GİRİŞ

İnsanoğlunun ömrünün uzaması ile implant malzemelere olan ihtiyaç artmaktadır. Mevcut kullanılan implant malzemeler, birçok hasta için çözüm olabilse de, uzun vadede ki performansları memnuniyet verici değildir. Bunun sebepleri olarak; implant malzeme ile doğal kemik dokusu arasındaki mekanik özelliklerin farklılık ve implant malzeme ve onu saran vücut dokusu arasındaki uyumsuzluk gösterilebilir.

Biyomalzemeler metalik, seramik ve polimer malzemeler olarak üç gruba ayrılırlar. Günümüzde kullanılmakta olan birçok ortopedik implantlarda ve diş implantlarında korozyona karşı koyabilme kabiliyetlerinin ve mekanik dayanımlarının yüksek olması ayrıca biyo-uyumlu olmaları nedeniyle titanyum alaşımları, kobalt-krom alaşımları ve paslanmaz çelikler tercih edilmektedir. Paslanmaz çelikler diğer malzemelerin yanında düşük maliyetli ve kolay işlenebilir olması nedeniyle implant uygulamalarında daha geniş bir alana sahiptir.

İmplant malzemelerin vücut içersinde kullanımı sırasında istenilen mekanik özellikleri karşılayabilmekte ancak implant ve canlı doku arasında zaman zaman bir takım uyumsuzluklara rastlanmaktadır. Bu uyumsuzlukları minimize etmek amacı ile metal implant yüzeyi çapraz bağlı poli(HEMA) türevi polimerler ile kaplanmaktadır. Poli(HEMA) biyo-uyumluluğundan dolayı üzerinde oldukça yoğun çalışılan bir polimerdir. Yapısındaki birincil alkol grubundan dolayı ($-CH_2CH_2-OH$) yüksek hidrofilikliğe sahiptir, bu özelliğinden dolayı; hidrojel hazırlamada, hücre, enzim, ilaç gibi biyo-aktif molekülleri bağlamada, esnek optik lens yapımında tercih edilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen bilgilere göre poli(HEMA) jeller, üzerinde kalsifikasyona olanak verdiği için kemik veya diş hasarlarının tamir edilmesinde kullanılabilir. Bu sebepten dolayı implantlar, yumuşak doku protezleri, diş dolgu malzemeleri ve diş yapıştırıcıları gibi birçok malzemenin de içeriğine girmiştir.

Çalışmamızın amacı metalik implant malzeme olarak kullanılan 316L paslanmaz çeliğinin yüzeyini elektropolimerizasyon yöntemini kullanarak biyo-uyumlu poli (HEMA-GDMA) ile kaplamak ve malzemenin üzerinde hidroksiapatit mineralizasyonu sağlayarak malzemenin biyolojik uyumluluğunu ve işlevselliğini geliştirmektir. Elektropolimerizasyon tekniği metal yüzeyinde pasif film oluşturulması ve korozyon dayanımının artırılması için kullanılan en ideal yöntemdir. Bu amaç doğrultusunda deneyler H-tipi elektropolimerizasyon hücresinde gerçekleştirilmiş, başlatıcı olarak $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ veya (H_2SO_4) , monomer olarak HEMA, çapraz bağlayıcı olarak GDMA, çalışma elektrodu olarak 316L paslanmaz çeliği, yardımcı elektrot olarak grafit elektrot ve referans olarak SCE (doymuş kalomel elektrot) kullanılmıştır. Ayrıca iletkenliği arttırmak amacı ile solüsyon içerisine Na_2SO_4 ilave edilmiştir. Kaplamanın metal yüzeyine tutunmasını arttırmak için deney öncesinde kaplanacak olan numuneler yüzey hazırlama işlemlerine tabi tutulmuştur. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve optik mikroskop yardımıyla numunelerin farklı bölgelerinden farklı büyütme ölçeklerinde görüntüler alınarak kaplamanın varlığı ispat edilmiş ve yüzey morfolojisi ile ilgili karşılaştırmalar yapılmıştır. EDS ve FT-IR yardımı ile kaplamanın kimyasal karakterizasyonuna bakılmıştır. Yüzey pirofilometresi cihazı yardımıyla belirli bir yük altında kaplamaların pürüzlülük değerleri ve kalınlıkları belirlenmiştir. Kaplamanın korozyon potansiyel değerleri potansiyostatik-galvanostatik yöntemle ölçülmüş ve elektrokimyasal parametreler, TAFEL ekstrapolasyonu yöntemiyle elde edilmiştir. Kaplamaların elastisite modül ve sertlik değerleri gibi mekanik özellikleri mikro-indentasyon tekniği ile bulunmuştur. Kaplamaların yüzeylerinde mineralizasyon üre yardımcı mineralizasyon yöntemi ve/veya SBF çözeltisi içerisinde bekletilerek sağlanmaya çalışılmıştır. Kaplamaların biyo-etkinliği hücre kültürü ortamında MG-63 insan osteoblast benzeri hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Hücrelerin malzemeye tutunma kapasiteleri SEM görüntüleme yöntemiyle, çoğalma kapasiteleri XTT testi ile ve osteblastik aktivasyon kapasiteleri ALP ölçümü ile değerlendirilmiştir.

BÖLÜM İKİ TEORİK

2.1 Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler.

Bilimsel anlamda yeni bir alan olmasına karşın, uygulama açısından biyomalzeme kullanımı tarihin çok eski zamanlarına kadar uzanmaktadır. Mısır mumyalarında bulunan yapay göz, burun ve dişler bunun en güzel kanıtlardır. Altının diş hekimliğinde kullanımı, 2000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Bronz ve bakır kemik implantlarının kullanımı, milattan önceye kadar gitmektedir. Bakır iyonunun vücudu zehirleyici etkisine karşın 19. yüzyıl ortalarına kadar daha uygun malzeme bulunamadığından bu implantların kullanımına devam edilmiştir. 19. yüzyıl ortasından itibaren yabancı malzemelerin vücut içinde kullanımına yönelik ciddi ilerlemeler kaydedilmiştir. Örneğin 1880’de fildişi protezler vücuda yerleştirilmiştir. İlk metal protez, vitallum alaşımından 1938’de üretilmiştir. 1960’lara kadar kullanılan bu protezler, metal korozyona uğradığında ciddi tehlikeler yaratmıştır. 1972’de alumina ve zirkonya isimli iki seramik yapı herhangi bir biyolojik olumsuzluk yaratmadan kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, inert yapıdaki bu seramikler dokuya bağlanamadıklarından çok çabuk zayıflamışlardır. Aynı yıllarda geliştirilen biyoaktif seramikler (biyocam ve hidroksiapatit) ile bu problem çözülmüş bulunuyor.

İlk başarılı sentetik implantlar, iskeletteki kırıkların tedavisinde kullanılan kemik plakalarıydı. Bunu 1950’lerde kan damarlarının değişimi ve yapay kalp vanalarının geliştirilmesi, kalça protezleri izledi. Kalp ile ilgili cihazlarda esnek yapıli sentetik bir polimer olan poliüretan kullanılırken, kalça protezlerinde paslanmaz çelik öne geçti. Bunun yanı sıra, ilk olarak 1937’de diş hekimliğinde kullanılmaya başlanan poli(metilmetakrilat) (diş akriliği olarak da bilinir) ve yüksek molekül ağırlıklı polietilen de kalça protezi olarak kullanıldı. II. Dünya Savaşından sonra, paraşüt bezi

(Vinyon N adıyla bilinen poliamid) damar protezlerinde kullanıldı. 1970'lerde ilk sentetik, bozunur yapıdaki ameliyat ipliği, poli(glikolikasit)'den üretildi. Kısacası, son 30 yılda 40'ı aşkın metal, seramik ve polimer, vücudun 40'dan fazla değişik parçasının onarımı ve yenilenmesi için kullanıldı. Biyomalzemeler, yalnızca implant olarak değil, ekstrakorporeal cihazlarda (vücut dışına yerleştirilen ama vücutla etkileşim halindeki cihazlar), çeşitli eczacılık ürünlerinde ve teşhis kitlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde, yüzlerce firma tarafından çok sayıda biyomalzeme üretilmektedir. Ancak, halen biyomalzemedan kaynaklanan sorunlar da var. Bunların çözümünde doku mühendisliği ve gen tedavisi alternatif yaklaşımlar sunuyorlar. Özellikle nanoteknoloji, bilişim teknolojileri ve fabrikasyon yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak daha mükemmel biyomalzemelerin geliştirilmesi hedefleniyor. Biyomalzemeler temel olarak tıbbi uygulamalarda kullanılmalarına karşın, biyoteknolojik alanda da kullanılmaktadır. Bunlar arasında hücre teknolojisinde hücre ve hücresel ürün üretiminde destek malzeme olarak, atık su arıtımında adsorban (yakalayıcı tutucu) malzeme olarak, biyosensörlerde, biyoayırma işlemlerinde, enzim, doku, hücre gibi biyoaktif maddelerin immobilizasyonunda (tutuklanmasında) ve biyoçiplerdeki kullanımları sayılabilir. (Gümüşderelioğlu, 2002)

2.1.1 Biyouyumluluk

Biyomalzemeler, insan vücudunun çok değişken koşullara sahip olan ortamlarında kullanılırlar. Örneğin vücut sıvılarının pH değeri farklı dokulara göre 1 ila 9 arasında değişir. Günlük aktivitelerimiz sırasında kemiklerimiz yaklaşık 4MPa, tendonlar ise 40-80 MPa değerinde gerilime maruz kalır. Bir kalça eklemesindeki ortalama yük, vücut ağırlığının 3 katına kadar çıkabilir, sıçrama gibi faaliyetler sırasında ise bu değer vücut ağırlığının 10 katına kadar olabilir. Vücudumuzdaki bu gerilimler ayakta durma, oturma ve koşma gibi faaliyetler sırasında sürekli tekrarlanır. Biyomalzemelerin tüm bu zor koşullara dayanıklı olması gerekiyor. Geçmişte gerek tahta, kauçuk gibi doğal malzemelerin, gerekse altın, cam gibi yapay malzemelerin biyomalzeme olarak kullanımı deneme yanılma yoluyla yapılmaktaydı. Vücudun bu malzemelere verdiği cevaplar son derece farklıydı. Belirli koşullar altında, bazı

malzemeler vücut tarafından kabul görürken, aynı malzemeler, koşullar değiştiğinde vücut tarafından reddedilebilmekteydi.

Son 30 yıl içinde biyomalzeme/doku etkileşimlerinin anlaşılması konusunda önemli bilgiler elde edilmiş bulunuyor. Özellikle canlı ve cansız malzemeler arasında çok büyük farklılıklar olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, “biyomalzeme” ve “biyouyumluluk” terimlerini, malzemelerin biyolojik performanslarını belirtmek için kullanmışlar. Biyouyumlu olan malzemeler, biyomalzeme olarak adlandırılmıştır. Biyouyumluluk; uygulama sırasında malzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği olarak tanımlanmıştır. Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliğidir. Biyouyumlu, yani ‘vücutla uyuşabilir’ bir biyomalzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmeyen malzemedir. (Gümüşderelioğlu, 2002). Bazı araştırmacılar bu terimi biraz genişleterek biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlar. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur. Biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler, bedene yerleştirilebilir cihazların hazırlanmasında kullanılıyorlar. Ancak halen mükemmel biyouyumluluğa sahip bir malzeme sentezi gerçekleştirilebilmiş değildir. Tablo 2.1’de implant cihazlarda kullanılan çeşitli doğal ve sentetik malzemelere örnekler verilmiştir.

Biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler, kısacası biyomalzemeler metaller, seramikler, polimerler ve kompozit malzemeler olarak gruplandırılmaktadır. Alüminyum oksit, biyoaktif cam, karbon ve hidroksiapatit (HA) biyouyumlu seramik malzemelere örnek olarak verilebilir. Biyomalzeme olarak kullanılan metaller ve alaşımlar ise, altın, tantal, paslanmaz çelik ve titanyum alaşımlarıdır. Polietilen (PE), poliüretan (PU), politetrafloroetilen (PTFE), poliasetal (PA), polimetilmetakrilat (PMMA), polietilenteraftalat (PET), silikon kauçuk (SR), polisülfon (PS), polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA) gibi çok sayıda polimer, tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. Her malzemenin kendine özgü uygulama alanı mevcut. Polimerler,

çok değişik bileşimlerde ve şekillerde (lif, film, jel, boncuk, nanopartikül) hazırlanabilmeleri nedeniyle biyomalzeme olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir.

Tablo 2.1 İmplant cihazlarda kullanılan doğal ve sentetik malzemeler. (Gümüşdereioğlu, 2002)

UYGULAMA ALANI	MALZEME TÜRÜ
İskelet Sistemi Eklemler Kırık kemik uçlarını tespit için kullanılan ince metal levhalar Kemik dolgu maddesi Kemikte oluşan şekil bozukluklarının tedavisinde Yapay tendon ve bağlar Diş implantları	Titanyum, Titanyum-Alüminyum-Vanadyum alaşımları Paslanmaz çelik, kobalt-krom alaşımları Poli (metil metakrilat) (PMMA) Hidroksiapatit Teflon, poli (etilen teraftalat) Titanyum, alümina, kalsiyum fosfat
Kalp-damar Sistemi Kan damarı protezleri Kalp kapakçıkları Kataterler	Poli (etilen teraftalat), teflon, poliüretan Paslanmaz çelik, karbon Silikon kauçuk, teflon, poliüretan
Organlar Yapay kalp	Poliüretan
Duyu Organları İç kulak kanalında Göz içi lensler Kontakt lensler Kornea bandajı	Platin elektrotlar PMMA, silikon kauçuk, hidrojel Silikon-akrilat, hidrojel Kolajen, hidrojel

Bazı uygulamalar için örneğin, ortopedik alanda mekanik dayanımları zayıftır. Ayrıca, sıvıları yapısına alarak şişebilir ya da istenmeyen zehirli ürünler (monomerler, antioksidanlar gibi) salgılayabilirler. Daha da önemlisi, sterilizasyon işlemleri (otoklavlama, etilen oksit, ^{60}Co radyasyonu) polimer özelliklerini etkileyebilir. Metaller, sağlamlıkları, şekillenebilir olmaları ve yıpranmaya karşı dirençli olmaları nedeniyle biyomalzeme olarak bazı uygulamalarda tercih ediliyorlar. Metallerin olumsuz yanlarıysa, biyoyumluluklarının düşük olması, korozyona uğramaları, dokulara göre çok sert olmaları, yüksek yoğunlukları ve alerjik doku reaksiyonlarına neden olabilecek metal iyonu salımlarıdır. Seramikler, biyoyumlulukları son derece yüksek olan ve korozyona dayanıklı malzemelerdir. Fakat bu avantajlarının yanı sıra, kırılma, işlenmesi zor, düşük mekanik dayanıma sahip, esnek olmayan ve yüksek yoğunluğa sahip malzemelerdir. Homojen özellik

gösteren ve kullanım açısından dezavantajlara sahip olan tüm bu malzeme gruplarına alternatif olarak da kompozit malzemeler geliştirilmiştir.

Ortopedik ve diş implantlarında, genelde metal ve seramiklerden hazırlanırken, kalp-damar sistemi ve genel plastik cerrahi malzemeleri polimerlerden üretiliyor. Fakat böyle keskin bir ayrım yoktur. Örneğin, bir kalp kapakçığı polimer, metal ve karbondan hazırlanabilir; bir kalça protezi de metal ve polimerin kompozitlerinden oluşabilir.

Geçmişte materyallerin biyouyumluluk değerlendirmelerinde insanlar üzerinde yapılan testler kullanılmıştır. Ancak günümüzde yeni bir materyalin insanlarda uygulanmadan önce geniş kapsamlı testler ile biyouyumluluğunun değerlendirilmesi gerekmektedir. Yeni bir materyalin biyolojik olarak kabul edilebilirliğini saptamak için günümüzde çeşitli testler kullanılmaktadır (Powers, 2006). Materyallerin biyolojik özelliklerinin test edilmesine genellikle hücre kültürlerinin kullanıldığı basit in vitro test yöntemleri ile başlanır. Değerlendirmelere daha pahalı ve uzun zaman gerektiren hayvan testleri ile devam edilir. Bu testlerden istenilen sonuçlar elde edildiğinde kullanım testleri (in vivo değerlendirme) gibi daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır (Schmalz, 2009).

2.1.1.1 In Vitro Testler

Biyolojik uyumluluğun değerlendirilmesi için uygulanan in vitro testler bir test tüpü içinde, hücre kültürünün bulunduğu bir kap içinde ya da canlı organizmanın dışında yapılır. Bu testler materyalin bir bileşeninin bir hücre, enzim ya da diğer izole edilmiş biyolojik sistemlerle temas ettirilerek uygulanmasını gerektirir. Bu test metodu, arada herhangi bir bariyer olmaksızın materyalin hücre ile temas ettirilerek direkt uygulanabildiği gibi materyal ile hücre arasında küçük bir bariyer yerleştirilerek indirekt bir şekilde de uygulanabilir. Bu tür in vitro testlerde materyallere temas ettirilen hücrelerin sayıca canlılık oranı, büyüme oranı, metabolik fonksiyonları ya da diğer hücresel fonksiyonları ölçülerek materyalin etkisi saptanır.

Biyomateryallerin in vitro olarak sitotoksitesini belirlemede en yaygın kullanılan biyolojik sistemler hücre kültürleridir.

Bu amaçla çeşitli canlıların (insan, maymun, fare, tavşan gibi) çeşitli dokuları (böbrek, akciğer, tümör, amniyon zarları) önce parçalanarak tek tek hücrelere ayrılırlar. Bu hücreler çeşitli tuzlar, tampon maddeleri, aminoasitler, vitaminler, dana veya at serumu içeren besleyici sıvılarda süspanse ederek steril tüp veya şişelere koyulur. Bu hücre süspansiyonu 36 °C’de bekletildiğinde hücreler kabın çeperine yapışarak ürerler. Üreme sonucunda oluşan yapıya hücre kültürü denir (Candan, 2006).

2.1.1.2 In Vivo Testler

Biyolojik uyumluluğun değerlendirilmesi için uygulanan in vivo testler, canlı ortamda ya da yaşayan koşullarda incelenmesidir. İn vivo testler araştırması yapılan maddenin deney hayvanlarına verilmesi ile gerçekleştirilir. Araştırmalar için fare, sıçan, hamster, tavşan, kedi köpek ve maymun gibi çeşitli deney hayvanları kullanılabilir.

2.1.2 Biyometaller

Kristal yapıları ve sahip oldukları güçlü metalik bağlar nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan metal ve metal alaşımlarının biyomalzeme alanındaki payı büyüktür. Bir yandan ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak kullanılırken, diğer yandan yüz ve çene cerrahisinde, örneğin diş implantı gibi, ya da kalp-damar cerrahisinde yapay kalp parçaları, kateter, vana, kalp kapakçığı olarak da kullanılıyorlar. Metallerin biyomalzeme pazarındaki en büyük payınıysa teşhis ve tedavi amaçlı aygıtların metalik aksamaları oluşturuyor.

İnsan vücudunda kullanılmak üzere geliştirilen ilk metal, “Sherman-Vanadyum Çeliği”dir. Biyomalzeme üretiminde kullanılan, demir bakır, krom, kobalt, nikel, titanyum, tantal, molibden ve vanadyum gibi çok sayıda metal, az miktarda kullanılmak koşuluyla canlı vücuduna uygunluk gösteriyorlar. Vücut içerisinde fazla

miktarda bulunması zararlı olan bu metaller, metabolizmik faaliyetler için gerekli olabiliyor. Örneğin, B12 vitamininde kobaltın ya da hemoglobin yapısında demirin bulunması gibi. .

Metallerin biyolojik ortama uygunluğu vücut içerisinde korozyona uğramalarıyla ilgilidir. Korozyon, metallerin çevreleriyle istenmeyen bir kimyasal reaksiyona girerek oksijen, hidroksit ve diğer başka bileşikler oluşturarak bozunmasıdır. İnsan vücudundaki akışkan su, çözülmüş oksijen, klorür ve hidroksit gibi çeşitli iyonlar içerir. Bu nedenle, insan vücudu biyomalzeme olarak kullanılan metaller için oldukça koroziv bir ortamdır. Malzeme korozyon sonucunda zayıflar daha da önemlisi korozyon ürünleri doku içerisine girerek hücrelere zarar verirler. Soy metallerin korozyona karşı direnci çok iyidir. Biyomalzeme olarak kullanılan metallerin önemli olanları aşağıdaki gibidir.

2.1.2.1 Paslanmaz Çelik

Demir, karbon ve eser miktarda fosfor, silisyum ve mangandan oluşan çelik, karbon çeliği olarak adlandırılıyor. %1'den daha düşük karbon içeriğine sahip ve diğer metaller ve ametalleri de içerecek şekilde hazırlanan çelikse alaşım çeliğidir. Bu gruptaki çelikler, karbon çeliğine göre daha pahalılar ve işlenmeleride daha zor. Ancak, korozyon ve ısı dirençleri çok daha yüksektir. Alaşım çelikleri, alüminyum, krom, kobalt, bakır, kurşun, mangan, molibden, nikel, fosfor, silisyum, kükürt, titanyum, tungsten ve vanadyum içerebilirler. Alüminyum, aşınmaya karşı direnci artırırken, yüksek miktarlarda eklenen krom, korozyon direncini ve ısı direnci artırır. Bu tür çelikler “paslanmaz çelik” olarak adlandırılır. Biyomalzeme olarak yaygın kullanılan paslanmaz çelik 316L olarak bilinir. “L”, karbon içeriğinin düşük olduğunu belirtmek için eklenmiştir. Bu çelik, 1950’li yıllarda 316 paslanmaz çeliğin karbon içeriği ağırlıkça % 0.08’den % 0.03’e düşürülerek hazırlanmıştır. 316L’nin % 60-65’i demir olup, % 17-19 krom ve % 12-14 nikelden oluşur. Yapısında az miktarda azot, mangan, silisyum, kükürt, fosfor ve molibden de bulunur.

2.1.2.2 Kobalt içeren alaşımlar

Bunlar kobalt-krom alaşımlarıdır. Temel olarak kobalt-krom-molibden alaşımı ve kobalt-nikel-krom-molibden alaşımı olmak üzere iki tür alaşımdan söz edilir. Kobalt-krom-molibden alaşımı, uzun yıllardan beri dişçilikte ve son zamanlarda yapay eklemlerin üretiminde kullanılmaktadır. Kobalt-nikel-krom-molibden alaşımıysa daha yeni bir malzemedir. Fazla yük altındaki eklemlerde (diz ve kalça gibi) ve protezlerde kullanılmaktadır. Bu tür alaşımların bileşimleri, temel olarak ağırlıkça %65 kobalt ve geri kalanı kromdan oluşuyor. Daha iyi tanecik elde etmek için yapıya molibden ekleniyor. Kobalt içeren alaşımların elastik modülü (malzeme sertliğini gösteren bir değer) paslanmaz çeliğinkinden daha büyüktür.

2.1.2.3 Titanyum ve titanyum içeren alaşımlar

Titanyum, 1930'dan beri biyomalzeme olarak kullanılmaktadır. Tablo 2.2.'de görüldüğü gibi titanyum, paslanmaz çelik ve kobalt alaşımlarına göre daha hafiftir. Titanyumun, biyomalzeme uygulamaları için mekanik ve kimyasal özellikleri yanı sıra, hafif oluşu da önemli özelliklerden biridir. Ti6Al4V, TiNi gibi alaşımlarla çeşitli alanlarda kullanılmak üzere yapılan implantlar bulunmaktadır.

Tablo 2.2 Bazı Metalik İmplantların Özgül Ağırlıkları

<i>Alaşımlar</i>	<i>Özgül Ağırlık (g/cm³)</i>
Ti ve Alaşımları	4,5
316 Paslanmaz Çelik	7,9
Co-Cr-Mo	8,3
Co-Ni-Cr-Mo	9,2
Ni-Ti	6,7

Titanyumun, inert özellikte olması, toksik olmayan yapısı, antimagnetik özelliği, hafif olması, mekanik özelliklerinin iyi oluşu, rahatlıkla küçük boyutlu numunelerin üretilmesi, biyo uygulanabilirliği yüksek olması, korozyona karşı dirençli olması, elastiklik modülünün kemiğinkine çok yakın olması gibi özellikleri, titanyumun ortopedik uygulamalarda biyomalzeme olarak kullanılmasını sağlamaktadır.

Titanyum işleme teknolojisi yüksek ve pahalı olsa da, bu üstün özelliklerinden dolayı; havacılık, uzay, uçak, tıp (kalça ve diz implantları, kalp valfi, diş dolgu maddesi v.s.), el aletleri ve hatta golf sopasına kadar pek çok kullanım alanına sahiptir.

Ti-Ni alaşımları, ısıtıldıklarında ilk şekillerine dönebilme yeteneğine sahiptirler. Bu özelliğe şekil hafıza özelliği denmektedir. Şekil hafıza etkisi biyomalzeme uygulamalarında; diş köprülerinde, kafatası içerisindeki damar bağlantılarında, yapay kalp için kaslar ve ortopedik protezlerde faydalanılır. Bu alaşımlar, Ti-Ni şekil hafızalı alaşımlarında oluşturulan gözenekli yapı, insan vücuduyla olan biyouyumundan dolayı biyomedikal uygulamalarda önemli bir uygulama alanına sahip olmuşlardır (Gümüşderelioğlu, 2002).

2.1.3 Biyopolimerler

Polimer, tekrarlanabilir birimlerden oluşan uzun zincirli moleküllere denir. Senteze başlarken kullanılan küçük molekül ağırlıklı birimlere “monomer” adı verilir.

Nişasta, selüloz, doğal kauçuk ve DNA doğal polimerler grubuna girerler. Günümüzde çok sayıda sentetik polimer de bulunur. Genellikle monomerler, karbon ve hidrojen atomlarından oluşurlar ve bu durumda polimer yapısı uzun hidrokarbon zincirine sahiptir. Bu tür monomerlerin en basiti “etilen” dir ($H_2C=CH_2$) ve oluşturduğu polimer de “polietilen” olarak adlandırılır. Çok sayıda etilen molekülü yapılarındaki çift bağın açılması sonucu, kovalent bağlarla bağlanarak polietilen zincirini oluştururlar. Genellikle “polimer” denildiğinde akla gelen, bu hidrokarbon zincirine sahip “organik polimerler”dir. Ancak, hidrojen ve karbon atomlarından başka atomlardan meydana gelen polimerler de vardır. Örneğin, silisyum (Si), azot (N), ya da fosfor (P) atomlarından oluşan polimer zincirleri de olur ve bu tür polimerler “inorganik polimerler” olarak adlandırılır.

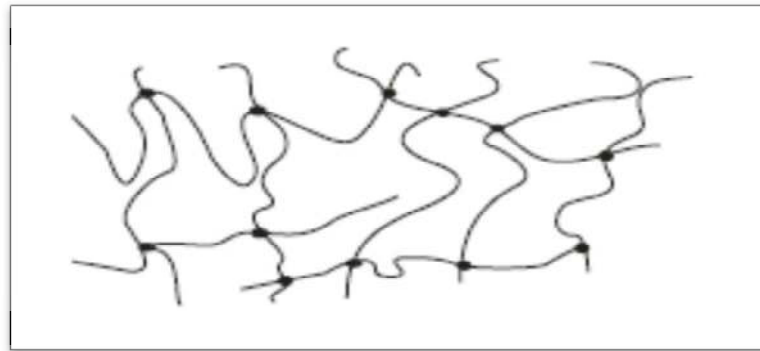
Polimer zincirleri; doğrusal yapıda, yani düz bir çizgi halinde olabileceği gibi, “dallanmış” yapıda da olabilirler. Bu yapılar, polimer anazincirine diğer zincirlerin

yan dal olarak bağlanmasıyla oluşurlar. Bu yan dallar başka bir ana zincirle bağlandığındaysa, “çapraz-bağlı” polimerler oluşur. Dallanma, polimerlerin uygun çözücülerdeki çözünürlüğünü zorlaştırır, çapraz-bağlı yapılar ise çözünmeyip, çapraz bağ yoğunluğuna göre, yapılarına çözücü olarak şişerler. PMMA (polimetil metakrilat) hidrofobik, doğrusal yapıda bir zincir polimeridir. Oda sıcaklığında camsı halde bulunur. Lucite ve Plexiglas ticari isimleriyle tanınır. Işık geçirgenliği, sertliği ve kararlılığı nedeniyle göziçi lensler ve sert kontakt lenslerde kullanımı yaygındır. Yumuşak kontakt lenslerse, aynı ailenin bir başka polimerinden hazırlanırlar. Bu polimer, metil metakrilata metilol (CH_2OH) grubunun eklenmesiyle oluşan 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) monomerinden sentezlenir. Yumuşak kontakt lensler, poli(HEMA)’nın az miktarda etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) ile çapraz bağlanmasıyla hazırlanırlar. Çapraz bağlanma, sulu ortamda polimerin çözünmesini engeller ve bu durumdaki polimer “şişmiş hidrojel” olarak adlandırılır. Tıbbi uygulamalarda yüksek-yoğunluklu polietilen (HDPE) kullanılır. Çünkü, alçak-yoğunluklu polietilen (LDPE) sterilizasyon sıcaklığına dayanamaz. PE, tüp formundaki uygulamalarda ve kateterlerde, çok yüksek molekül ağırlıklı olanıysa yapay kalça protezlerinde kullanılır. Malzemenin sertliği iyidir, yağlara dirençlidir ve ucuzdur. Polipropilen (PP), PE’ye benzer, ancak daha sert olur. Kimyasal direnci yüksek ve çekme dayanımı iyidir. PE’nin yer aldığı uygulamalarda PP de kullanılabilir. Politetrafloroetilen (PTFE), Teflon ticari adıyla bilinir. PE benzeri yapıda olup, PE’deki hidrojenlerin, flor atomlarıyla yer değiştirmesi sonucu sentezlenir. PTFE, hem ısısal hem de kimyasal açıdan çok kararlı ancak, işlenmesi zor bir polimerdir. Çok hidrofobik (sudan çekinir) ve mükemmel kayganlığa sahip olma özelliği taşır. Gore-Tex olarak bilinen hidrofobik formu, damar protezlerinde kullanılır. Polivinilklorür (PVC), tıbbi uygulamalarda tüp formunda kullanılır. Bu uygulamalar, kan nakli, diyaliz (kanın makineyle süzülmesi) ve beslenme amaçlı olabilir. PVC, sert ve kırılğan bir malzeme olmasına karşın, plastikleştirici ilavesiyle yumuşak ve esnek hale getirilebilir. PVC, uzun-dönem uygulamalarda, plastikleştiricinin yapıdan sızması nedeniyle problemlere yol açar. Plastikleştiricilerin toksisite riski olabilir. Yapıdan sızmalarıysa, PVC’nin esnekliğini azaltır. Polidimetilsiloksan (PDMS) yaygın olarak kullanılan bir diğer polimer, karbon ana zinciri yerine silisyum- oksijen ana zincirine sahiptir. Özelliğiye, diğer

kauçuklara nazaran sıcaklığa daha az bağımlı olmasıdır. PDMS, drenaj borularında ve kateterlerde, bazı damar protezlerinde ve yüksek oksijen geçirgenliği nedeniyle membran oksijenatörlerde (solunum cihazları) kullanılır. Mükemmel esneklik ve kararlılığından dolayı parmak eklemleri, kan damarları, kalp kapakçıkları, göğüs implantları, diş kulak, çene ve burun implantları gibi çok sayıda protezde kullanılır. Naylon, Du Pont tarafından poliamid ailesine verilen isimdir. Naylonlar, diaminlerin, dibazik asitlerle reaksiyonu sonucu oluşurlar, ya da laktomların halka açılması polimerizasyonu ile hazırlanırlar. Naylonlar ameliyat ipliği olarak kullanılır. Poliüretanlar, “yumuşak” ve “sert” segmentlerden oluşan blok kopolimerlere denir. Kanla uyusabilirlikleri çok iyi olduğundan dolayı özellikle kalp-damar uygulamalarında tercih edilirler (Gümüşderelioğlu, 2002).

2.1.4 Hidrojeller

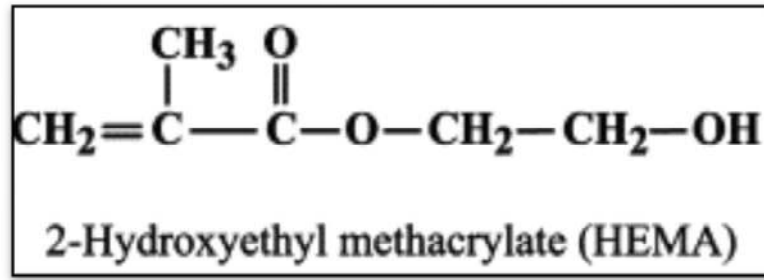
Hidrojeller; suda şişebilen, çapraz-bağlı polimerik yapılara denir. Bir ya da daha çok sayıda monomerin polimerizasyon reaksiyonu ile hazırlanırlar. Ana zincirler arasında hidrojen bağları veya Van der Waals etkileşimleri gibi bağlanmalar mevcuttur. Bu nedenle çözünmezdirler ama şişerler. Diğer bir deyimle; hidrojeller suda çözünmeyip, kendi ağırlıklarının %20-100 katı kadar suyu yapılarında tutabilirler. Bu oran % 100' ün üstüne çıkarsa bu tip hidrojellere süperabsorban hidrojeller denir.



Şekil 2.1 Çapraz bağlı polimer ağ yapısı

Hidrojeller, tıbbi uygulamalar açısından sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle son 30 yıldır ilgi odağı durumundalar. Tıbbi uygulamalarda en yaygın olarak

kullanılan hidrojel, çapraz-bağlı P(HEMA)'dır. Sahip olduğu su içeriği nedeniyle, doğal dokulara büyük bir benzerlik gösterir. Normal biyolojik reaksiyonlarda inerttir. Bozunmaya dirençlidir, vücut tarafından emilmez, ısıyla steril edilebilir, çok değişik formlarda hazırlanabilir. Tıbbi öneme sahip diğer hidrojel, poliakrilamid'dir. HEMA ve akrilamid monomerlerinin yanısıra, N-vinil-2-pirolidon (NVP), metakrilik asit (MAA), metil metakrilat (MMA) ve maleik anhidrit (MAH) tıp amaçlı hidrojel formulasyonlarında sıklıkla yer alırlar. Örneğin PNVP, yumuşak kontakt lenslerde kullanılır. Az miktardaki MAA, P(HEMA)'nın şişmesini büyük ölçüde artırır. MMA-HEMA kopolimerlerinin şişmesiye saf P(HEMA)'ya nazaran düşük olur. Ayrıca, istenilen özelliklerin kazandırılabilmesi amacıyla hidrojeller çeşitli malzemerle birleştirilebilirler. Hidrojellerin ilk uygulaması, kontakt lensler olarak ortaya çıkar. Mekanik kararlılıklarının iyi oluşu, yüksek oksijen geçirgenliği ve uygun kırınım indisine sahip oluşları, kontakt lenslerde kullanılmalarının temel nedenidir. Hidrojellerin diğer uygulamaları; yapay tendon materyalleri, yara iyileşmesinde biyoyapışkan madde, yapay böbrek zarları, yapay deri, estetik cerrahide malzeme olarak kullanımları şeklinde sıralanabilir. Son yıllardaki en önemli uygulamalardan biriyse eczacılık alanında, kontrollü ilaç salan sistemlerdeki kullanımlarıdır. Örnek olarak insülin salımı verilebilir. İnsülin salımının kontrolü, glikoz seviyesinde artma olduğunda daha fazla insülin salabilen akıllı hidrojellerin yardımıyla başarılabilmektedir. Pek çok glikoz-cevaplı hidrojel sistemi, pH'ya-duyarlı polimerlerden (HEMA-dimetilaminoetil metakrilat kopolimeri) hazırlanmaktadır. Hidrojellerin ileri uygulamalarından biri de yapay kasların geliştirilmesidir. Elektrokimyasal uyarıları mekanik işe çeviren akıllı hidrojeller, insan kas dokusu işlevi görebilir. Bu özellikten yararlanarak yapay kaslar yapılmaktadır. Fizikokimyasal uyarılara karşı tersinir büzülme ve genişleme kabiliyeti olan polimerik jeller, ileri robotiklerin geliştirilmesinde gereklidir. Biyoteknolojik uygulamalarda da, özellikle biyoaktif proteinlerin ayrılmasında hidrojellerden faydalanılmaktadır.

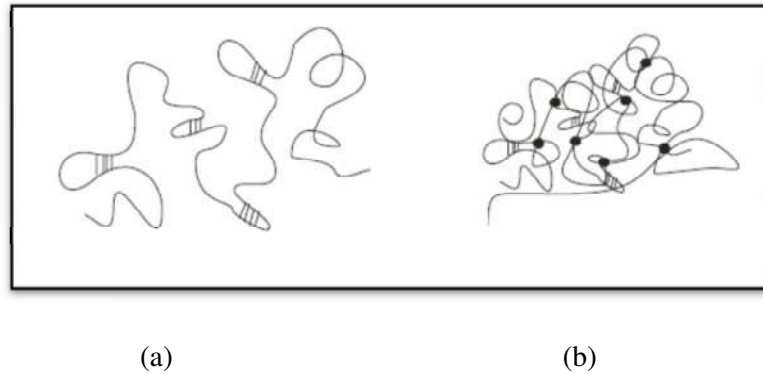


Şema 2.1 HEMA monomerinin molekül yapısı

2.1.4.1 Çapraz Bağlanma Şekline Göre Hidrojeller

Ağ yapıların oluşmasını sağlayan güçlere göre hidrojeller iki ana sınıfa ayrılabilirler. Bunlar; fiziksel ve kovalent hidrojellerdir.

Fiziksel hidrojeller tersinirdir ve hem aynı zincir üzerindeki molekül içi bağlarla hem de farklı zincirler arasındaki moleküller arası bağların varlığı ile oluşurlar (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Molekül İçi Etkileşimler (a), Moleküller Arası Etkileşimler (b)

Fiziksel hidrojelleri bir arada tutan kuvvetler:

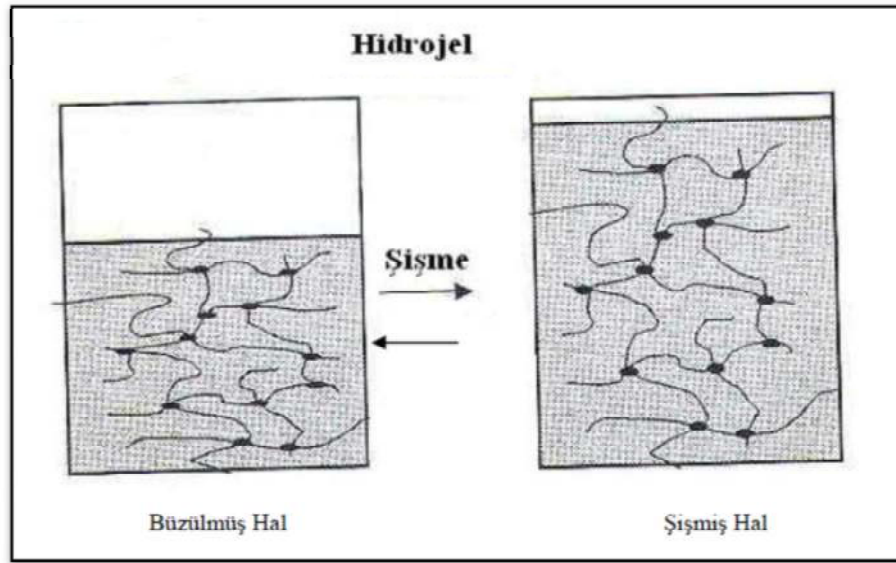
1. Hidrofobik etkileşimler / Van der Waals kuvvetleri. (Örneğin; LCST polimerler, hidrofilik-hidrofobik blok kopolimerler.)
2. Hidrojen bağları (H ile C, N, O ve F arasında gerçekleşir). (Örneğin; jelâtin ve poli (vinil alkol) (PVA).)
3. İyonik kuvvetler. (Örneğin; sodyum aljinat, divalent katyonların çapraz bağlanması ile tuz köprüleri oluşur.)

4. Kristal segmentler. (Örneğin; isotaktik poli (vinil alkol) (PVA), isotaktik poli (metakrilik asit).)
5. Protein Etkileşimi. (Örneğin; Alfa-heliks yapılarında katlanma sonucu oluşan yumak-kürecik geçişi.)

Fiziksel hidrojellerde sekonder etkileşimler ortadan kalktığında jeli oluşturan düğüm noktaları bozulur. Oysaki kovalent hidrojellerde zincirler birbirlerine kovalent bağlarla bağlandığı için ısı etkisiyle bile bu üç boyutlu sistem bozulmaz. Kovalent hidrojeller hidrofilik monomerlerin bir çapraz bağlayıcı monomer varlığında polimerizasyonu ile sentezlenir. Üzerinde en çok çalışma yapılmış hidrofilik vinil monomerleri olarak 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), etilen glikol dimetakrilat, akrilik asit, akrilamid ve N-izopropilakrilamid verilebilir.

2.1.4.2 Hidrojellerin Şişme Davranışı

Hidrojellerin karakteristik özelliği, su varlığında şişerken suyun noksanlığında büzülmesidir. Polimer zincirinin hidrofillik özelliği ve çapraz bağ yoğunluğu, hidrojin şişmesinde kontrolü sağlayan en önemli iki faktördür. İstenilen özellikte hidrojel hazırlayabilmek için, ağ yapının iskeletine çevresel uyarılara duyarlı komonomer ya da asılı gruplar ilave edilebilir. Bu gibi hidrojeller şişme, büzülme, eğilme ve hatta parçalanma yeteneğine sahiptirler. Bu çevresel uyarılara duyarlı hidrojellere akıllı hidrojeller denir. Çevre şartlarında meydana gelen ufak değişimlerle dönüşümsel olarak şişebilir ve büzülebilirler. Hidrojellerin, hacimlerindeki ani değişikliğe neden olan çevresel faktörlere pH, sıcaklık, elektrik alan, iyonik kuvvet ve tuz etkisi örnek olarak verilebilir. Şekil 2.3' te jellerin şişmiş ve büzölmüş halleri görölmektedir.



Şekil 2.3 Hidrojellerin Büzülmüş ve Şişmiş Halleri

Jelin bir çözücü ortamından diğerine aktarıldığında, ısıtıldığında veya soğutulduğunda, hacmindeki bu ani değişikliğin sebebi polimer ağ yapısı üzerine uygulanan üç kuvvet ile açıklanabilir: kauçuk elastisitesi, polimer-polimer etkileşimi ve iyon basıncıdır. Jel üzerine etkiyen osmotik basınç bu üç bileşenin toplamıdır. Kauçuk elastisitesi, ağ yapısı içindeki polimer zincirlerinin gerilmeye veya sıkışmaya karşı dirençlerinden ortaya çıkar. Şişmiş bir jelde, tüm polimer zincirleri gerilmiş durumdadır ve kauçuk elastisitesi jelin büzülmesi yönündedir. Tersine büzülmüş jel ise kauçuk elastisitesi etkisiyle genişlemeye çalışır. Bu durumda polimer zinciri üzerine etkiyen yönlenmiş kuvvet, tüm jel üzerinde bir basınç oluşturur. Eğer basınç pozitif ise jel şişmeye, basınç negatif ise büzülmeye eğilimlidir. Jel üzerine etkiyen ikinci kuvvet, polimer-polimer etkileşimi, polimer zincirleri ile çözücünün etkileşimine bağlıdır. Eğer polimer kendisi için kötü bir çözücü içinde ise polimer zincirleri birbirlerini çekerler ve negatif bir basınç oluşturarak jelin büzülmesini sağlarlar. Jel üzerinde oluşan kuvvet çözücü konsantrasyonu arttıkça artar. Osmotik basıncı etkileyen son bileşen hidrojen iyonu basıncıdır. Polimer ağ yapısı içine iyonik gruplar eklendiğinde ortamdaki iyon konsantrasyonu artar ve aynı yüklü iyonlar birbirlerini iterek, jelin şişmesine sebep olurlar. Polimer ağ yapıya bağlı olan zıt yüklü iyonlar yük merkezlerini nötr hale getirirler ve böylece jelin parçalanmasını önlerler. Hidrojen iyonu basıncı sıcaklığa ve iyon sayısına bağlıdır (Mark, 1988).

2.2 Polimerizasyon Yöntemleri

Polimerlerin sentezinde farklı kimyasal tepkimelerden yararlanılır. Bu tepkimeler genel işleyiş mekanizmaları açısından Tablo 2.3’ te verildiği üzere iki temel polimerizasyon yöntemi altında toplanırlar.

Tablo 2.3 Polimerizasyon yöntemleri

<u>Polimerizasyon Yöntemleri</u>
1. Kondensasyon (Basamaklı) polimerizasyonu
2. Katılma polimerizasyonu
2.1. <u>Radikalik katılma polimerizasyonu</u>
2.2. <u>İyonik katılma polimerizasyonu</u>
2.2.1. Anyonik katılma polimerizasyonu
2.2.2 Katyonik katılma polimerizasyonu

Basamaklı polimerizasyonda polimerizasyon ortamında bulunan her boy molekül birbirini ile tepkimeye girebilir. Polimer zincirleri adım adım ve yavaş bir şekilde büyürler ve yüksek mol kütleli polimer polimerizasyonun sonlarına doğru elde edilir.

Katılma polimerizasyonunda ise monomerler aktif merkezlere birer birer katılarak polimer zincirlerini büyütürler, polimerizasyon süresince zincir büyüklüğü fazlaca değişmez. Basamaklı polimerizasyon üzerinde elde edilen polimerlere *basamaklı polimerler*, katılma polimerizasyonu ile elde edilen polimerlere *katılma polimerleri* denir (Saçak, 2005).

Bu çalışmada kullanılan elektropolimerizasyon tekniği, radikalik katılma polimerizasyonu tepkimelerini tetiklemektedir.

2.2.1 Radikalik Katılma Polimerizasyon Mekanizması

Radikalik polimerizasyonun en büyük avantajı oldukça basit şartlar altında gerçekleştirilebilir olmasıdır. Bu polimerizasyon tekniği hem endüstride hem de

laboratuvar çalışmalarında polimer sentezinde oldukça geniş uygulama alanına sahiptir. Ticari polimerlerin önemli bir kısmı radikalik polimerizasyon üzerinden üretilmektedir.

Radikalik polimerizasyon üç basamaktan oluşmaktadır (Şekil 2.4). Başlama basamağı , ilerleme basamağı, sonlanma basamağı'dır.

2.2.1.1 Başlama Basamağı

Başlama; başlatıcının ısı, ışık gibi etmenler etkisiyle parçalanması sonucu oluşan birincil radikalın monomer ile reaksiyona girerek başlangıç radikalini oluşturma basamağıdır.

2.2.1.2 İlerleme basamağı

Başlangıç radikaline diğer monomerlerin katılması aşamasıdır. Çoğalma aşamasında yüzlerce bazen binlerce monomer birimi zincire katılabilir.

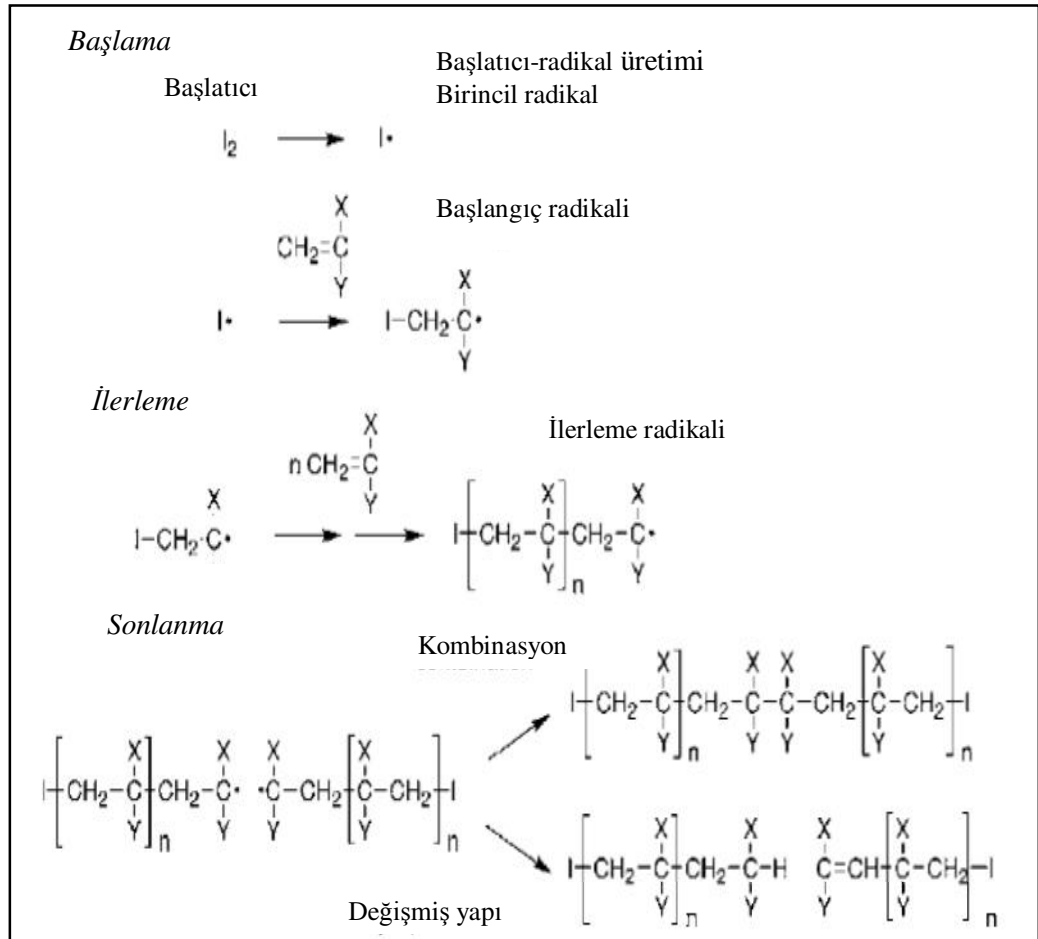
2.2.1.3 Sonlanma

Bitiş basamağı polimerizasyonun sonlandığı basamaktır. Polimerizasyon bu aşamadan sonra devam etmemektedir. Kombinasyon yöntemiyle sonlanma, ilerleme radikallerinin karşılıklı gelerek serbest elektronlarının bağ yapmasıyla gerçekleşir. Değişmiş yapı ile sonlanma oluşumu ise ilerleme radikallerinin birisinden diğerine atom aktarılması (genellikle H) yoluyla oluşur.

2.2.2 Zincir Transferi

Zincir transferi radikalik polimerizasyonda önemli bir parametredir. Burada, başlangıç radikalleri direk olarak başlatıcı tarafından oluşturulmamakta ama dolaylı olarak çözültü, transfer ediciler ya da yabancı madde tarafından monomere transfer edilmektedir. Transfer edicilerin polimer zincirinin aktif ucuyla bağ yaparak görüldüğü üzere hidrojenin zincirle birleşmesi sonucu polimerizasyon sonlanmakta

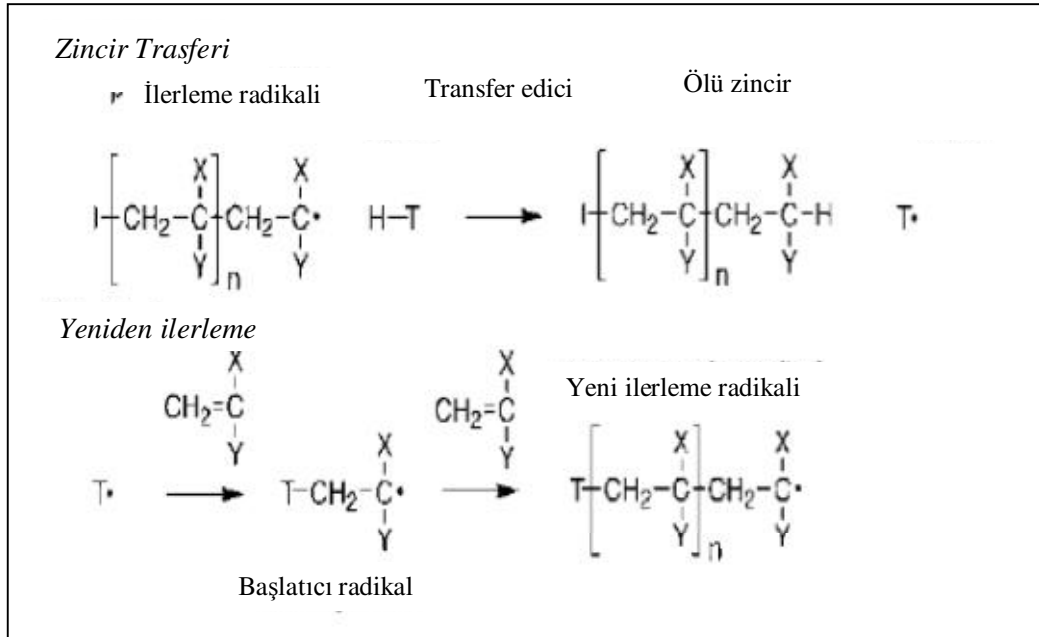
ancak transfer edici aktif hale gelerek radikal oluşturuca yapıya sahip olmaktadır. Zincir transferi olayını takiben yeniden ilerleme olayı görülmektedir. Oluşan radikal oluşturuca tekrar monomere saldırarak başlatıcı radikali meydana getirmektedir (Şekil 2.5). Başlatıcı radikalde yine bir başka monomerle birleşerek yeni ilerleme radikali oluşturmaktadır .



Şekil 2.4 Radikalik polimerizasyon basamaklarının şematik gösterimi.

2.3 Elektrokimyasal Polimerleşme

Metallerin yüzeylerini korozyondan korumak ve yüzey özelliklerini değiştirmek için yapılan polimer film kaplamaları, endüstriyel uygulamalarda başvuruca önemli bir stratejidir. Elektrokimyasal polimerleşme yöntemi, metal üzerinde pasif ince film oluşturmak için en ideal yöntemdir. Elektrokimyasal polimerleşme yönteminin başlıca avantajlarını şöyle sıralayabiliriz:



Şekil 2.5 Zincir transferinin şematik gösterimi

- 1) İşlem oda sıcaklığında, düşük akım ve voltaj altında gerçekleşebilir.
- 2) Sulu çözelti içinde yapılabilir.
- 3) Monomerler metal yüzeyini polimerlere oranla daha iyi ıslatabilir. Bu sebeple metalin yüzeyinde başlatılan polimerizasyon işlemi sonucunda, metal ve polimer arasındaki yapışma daha kuvvetli olur.
- 4) Kaplanacak metalin yüzeyi pürüzsüz olmak zorunda değildir, polimerizasyon metalin kenarlarında, köşelerinde, çatlaklarında, girinti ve çıkıntılı yerlerinde olabilir.

Elektropolimerizasyona etki eden etmenler şöyle ifade edilebilir; Uygulanan potansiyel veya akım yoğunluğu, işlem süresi, monomer ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, kullanılan elektrolitler, sıcaklıktır.

2.3.1 Elektrokimyasal Hücre

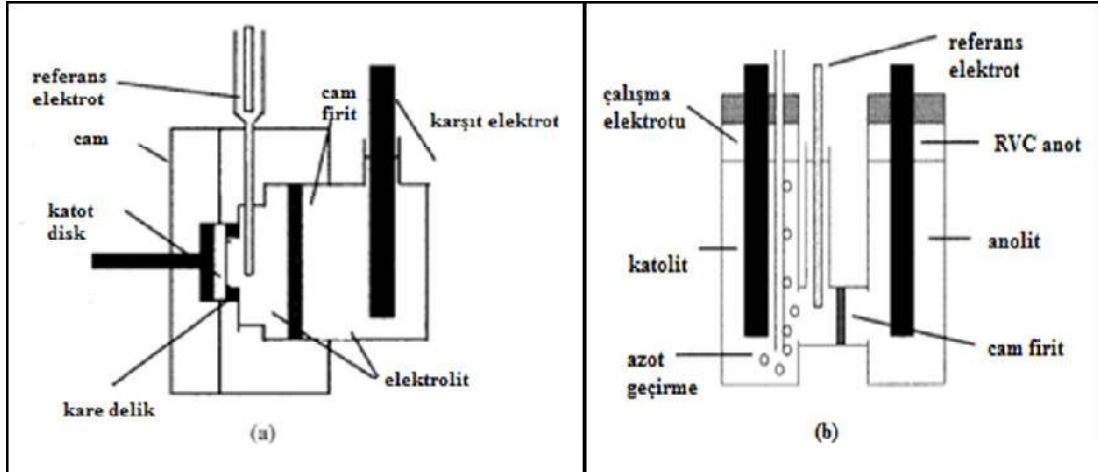
Elektrolizin meydana geldiği elektrokimyasal reaktörlere hücre adı verilir. Hücre bileşenleri;

- Çalışma elektrodu
- Referans elektrot
- Yardımcı elektrot
- Elektroaktif numune
- Çözücü
- Elektrolitler

Elektropolimerizasyon deneyleri biri standart hücre, diğeri H-tipi hücre olmak üzere iki farklı elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilebilmektedir. Standart hücrede polimerizasyonu etkileyen parametreler, post-elektroliz polimerizasyonu gibi mekanizmalar araştırılırken; H-tipi hücrede ise büyük ölçekli çalışmalar yapılabilmektedir (Cram, 2003). Elektrokimyasal hücreler anot ve katot kompartmanlarına bölünmüştür ve potansiyel kontrolü, katodik elektrotun yakınında bulunan referans elektrotla yapılır. Katodik elektrot olarak parlatılmış ve sabit bir yüzey alanına sahip olan metal altlık kullanılmaktadır.

H- hücresinde belirli çaptaki cam frit yardımıyla kompartmanlar birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Kaplanacak olan metal katot bölmesine, yardımcı elektrot ise anot bölmesine yerleştirilmektedir.

Organik elektrokimyasal reaksiyonlar (elektroliz), oksidasyon ve redüklenme olarak iki akana gruba ayrılmaktadır. Galvanik bir hücrede, yükseltgenme (oksidasyon) anotta meydana gelirken, indirgenme ise katoda meydana gelir.



Şekil 2.6 a-b; Elektropolimerizasyon yöntemi ile kaplamanın gerçekleştirildiği hücreler;

a) standart hücre, b) daha büyük kaplamalar yapmak için kullanılan H-hüresi.

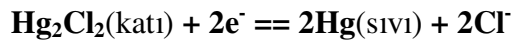
2.3.1.1 Çalışma Elektrotları

Çalışma elektrotu üzerinde elektrokimyasal reaksiyonun meydana geldiği elektrottur. Çalışma elektrotu seçilirken aktivitesi ve yüzey morfolojisi göz önünde bulundurulmalıdır. Genellikle altın, platin, gümüş, alüminyum ve bazı metaller tercih edilir. Çalışmamızda çalışma elektrotu olarak 316 L paslanmaz çelik numuneler kullanılmıştır.

2.3.1.2 Referans Elektrot

Referans elektrotlar, yarı hücre potansiyeli sabit, çalışılan çözeltinin bileşiminden bağımsız ve potansiyel değeri bilinen elektrotlardır. Referans elektrot, çalışma elektrotunun potansiyelini ölçer, reaksiyon ile hiçbir ilgisi yoktur. İndirgenme ve yükseltgenme potansiyellerinin tam olarak belirlenebilmesi, bağlantılardaki ve çözelti içindeki potansiyel kaybının ve ayrıca çözelti direncinin giderilmesi için referans elektrot kullanılmalıdır. Referans elektrotlar olarak genelde; Ag/AgCl, Doymuş kalomel(SCE)(Hg/Hg₂Cl₂) elektrotlar kullanılır.

Çalışmalarımızda Doymuş kalomel elektrot kullanılmıştır. Kalomel elektrota ait 25°C 'deki potansiyel değerleri Tablo 2.4'te gösterilmiştir.



Tablo 2.4 Kalomel elektrota ait 25°C 'deki potansiyel değerleri

	Potansiyel (25°)	
	NHE	SCE
Hg/Hg ₂ Cl ₂ , KCl (0.1M)	0.3337	0.0925
	0.336	0.092
Hg/Hg ₂ Cl ₂ , KCl (1M) NCE (Normal Kalomel)	0.2801	0.0389
	0.283	0.039
Hg/Hg ₂ Cl ₂ , KCl (3.5M)	0.250	0.006
Hg/Hg ₂ Cl ₂ , KCl (doymuş) SCE (Doymuş Calomel)	0.2412	0
	0.244	0

2.3.1.3 Karşıt Elektrotlar

Karşıt elektrotun görevi devreyi tamamlamaktır. Elektrokimyasal reaksiyonlarda karşıt elektrot olarak genelde, altın, platin, grafit, karbon ve çeşitli metal oksitler kullanılmaktadır. Çalışmalarımızda karşıt elektrot olarak grafit elektrotlar kullanıldı.

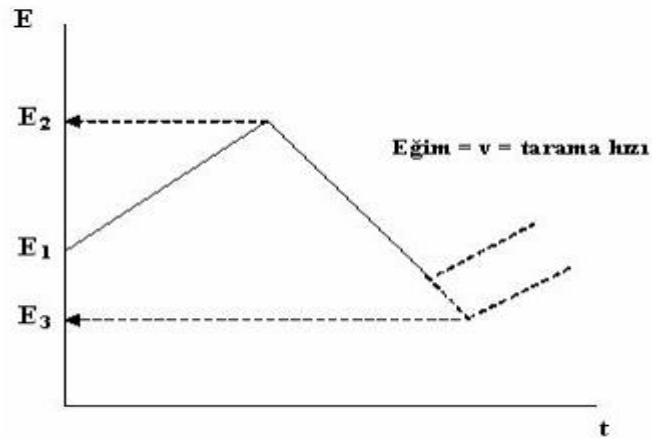
2.4 Çevrimsel Voltametri

Çevrimsel voltametri, elektriksel olarak aktif bir madde bulunan dengedeki bir çözeltideki elektroda doğrusal olarak belli bir gerilim değerine kadar artan, daha sonra ise doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilen bir gerilim taraması uygulanması ile elde edilen yöntemdir.

Voltametri yöntemi ile hücre alanı çok küçük olan mikro çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasına uygulanan ve değeri zamanla değiştirilen gerilime karşı, hücrede çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki akım ölçülür. Çevrimsel voltametri de ileri ve geri yöndeki geri tarama hızları aynı olabildiği gibi, farklı tarama hızları da kullanılabilir. Çevrimsel voltamogramların incelenmesi ile sistemin hangi gerilimlerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiğini, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığını, elektrot tepkimesinin bir çözelti tepkimesi ile yürüyüp yürüyemeyeceğini, indirgenme ya da yükseltgenme ürünlerinin kararlı olup olmadığını, elektrot tepkimesinde rol alan maddelerin yüzeye tutunup tutunmadıklarını anlamak mümkündür. Son yıllarda çevrimsel voltametri

gibi potansiyel tarama tekniklerinin uygulandığı sistemler genişlemiş ve çok çeşitli mekanizmalar için kinetik parametrelerin elde edilmesinde tekniklerin matematiksel ifadelerinin geliştirilmesinde başarı sağlanmıştır. (Yakar, 2006).

Çevrimsel voltametri tekniği elektrokimyasal teknikler içinde en yaygın kullanılan tekniktir. Bu teknikte potansiyel, zamanla doğrusal olarak değiştirilir. Potansiyelin zaman ile değişmesi tarama hızı olarak adlandırılır. Uygulanan potansiyelin zamanla değişim grafiği Şekil 2.7’de verilmiştir.



Şekil 2.7 Doğrusal taramalı ve çevrimsel voltametri tekniklerinde potansiyel taramasının zamanla değişimi

Potansiyel taraması bir E_1 başlangıç potansiyeli ve E_2 potansiyeli arasında yapılırsa metot doğrusal taramalı voltametri adını alır (LSV). Eğer E_2 potansiyeline ulaşıldıktan sonra aynı tarama hızıyla ilk tarama yönüne göre ters yönde tarama yapılırsa metodun adı çevrimsel voltametri olur. Ters taramada potansiyel E_1 'de sonuçlanabileceği gibi farklı bir E_3 potansiyeline de götürülebilir. İleri taramada indirgenme olmuşsa ters taramada yükseltgenme meydana gelir. LSV analitik çalışmalar için uygun bir metottur. Fakat elektrot mekanizmalarının incelenmesinde, adsorpsiyon olayının araştırılmasında ve kinetik çalışmalarda CV tekniği daha çok kullanılır.

Elektroda hızlı bir potansiyel taraması uygulandığı zaman potansiyel, standart indirgenme potansiyeli değerine yaklaştıkça madde indirgenmeye başlar. Potansiyel negatifleştikçe elektrot yüzeyindeki maddenin indirgenme hızı ve buna bağlı olarak

da akım artar. İndirgenme hızı yeterince büyükse akımı, elektrot yüzeyine difüzyonla gelen madde miktarı kontrol eder. Zamanla difüzyon tabakası kalınlaşacağından difüzyon hızı azalır ve akım da azalmaya başlar. Bu açıklamalar asılı duran civa elektrotta alınan doğrusal taramalı voltamogramın pik şeklinde olacağını göstermektedir (Şekil 2.8). Çevrimsel voltametri’de elde edilen pik akımının büyüklüğü elektroaktif maddenin konsantrasyonu, aktarılan elektron sayısı, elektrot yüzey alanı ve difüzyon katsayısı ile değişir.

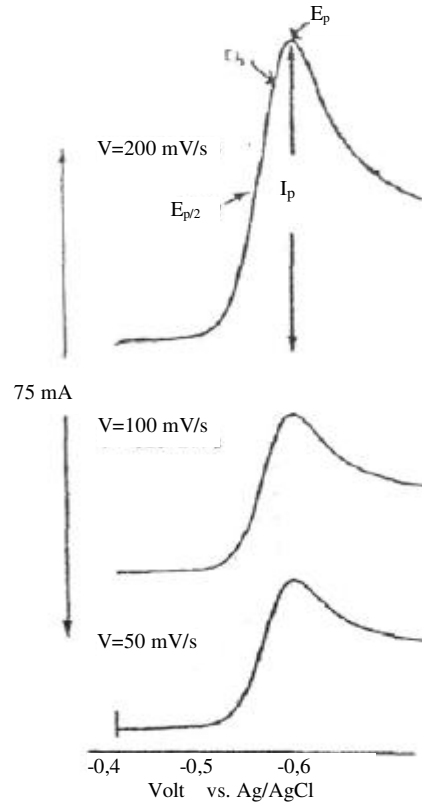
2.4.1 Tersinir Reaksiyonların Çevrimsel Voltamogramı

Elektrot reaksiyonu,



şeklinde ise ve başlangıçta çözeltide yalnız O maddesi bulunuyor, ayrıca elektron aktarımı dışında herhangi bir kimyasal reaksiyon bulunmuyor ve elektrot yüzeyinde adsorpsiyon olayı meydana gelmiyor ise $i - E$ grafiği pik şeklinde gözlenir ve tarama hızı arttıkça pik yüksekliği artar. Çevrimsel voltametride akımın maksimum olduğu noktadaki pik potansiyeli E_p olarak adlandırılır.

Potansiyel taraması geriye doğru yapıldığı zaman tarama hızlı ise elektrot yüzeyinde yeteri kadar R bulunacağından E_o değerinden itibaren daha pozitif potansiyellerde R yükseltgenmeye başlayacaktır. Bu nedenle ters taramada anodik pik oluşacaktır. Ters tarama esnasında E_o değerine kadar O indirgenmeye yani R oluşmaya devam edecektir. Ters taramada potansiyel pozitifleştikçe Nernst eşitliğine göre R yüzey konsantrasyonu azalacak ve yeteri kadar pozitif değerlerde sıfıra gidecektir. Ancak deney sırasında yüzeyde oluşan R, çözeltiye doğru difüzleneceğinden ters tarama akımı katodik akımdan biraz daha düşük olacaktır. Tersinir $O + ne = R$ reaksiyonunun çevrimsel voltamogramı Şekil 2.9’da verilmiştir.



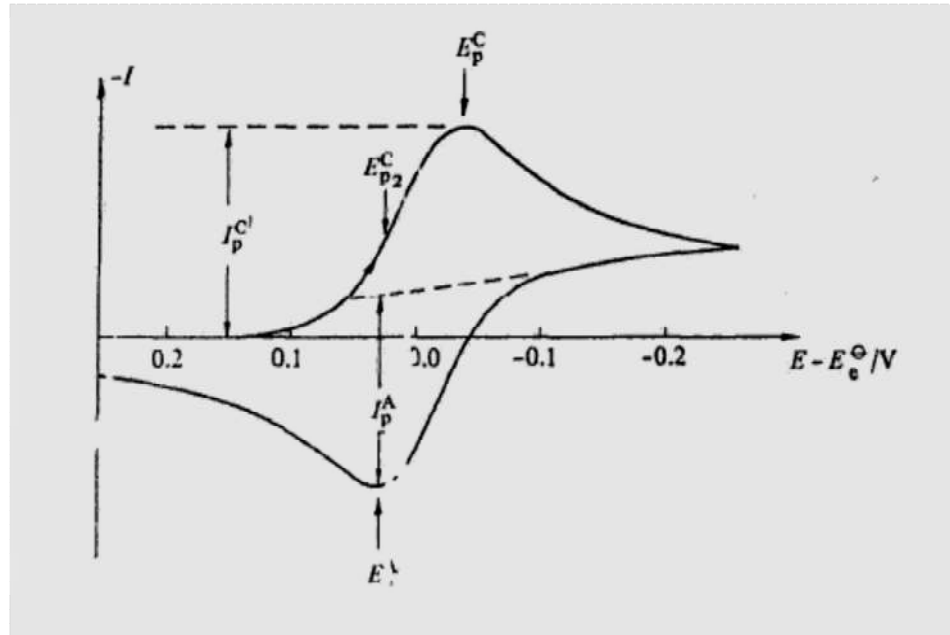
Şekil 2.8 Doğrusal taramalı voltametri de akım – potansiyel eğrileri ve akımın tarama hızıyla değişimi

Tersinir bir elektrot reaksiyonunun pik akımı 25°C sıcaklıkta aşağıdaki eşitlikle gösterilir. Bu eşitliğe Randles – Sevcik eşitliği adı verilir.

$$(i_p)_{\text{ter}} = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A D_0^{1/2} C_0^{1/2} \quad 2.5$$

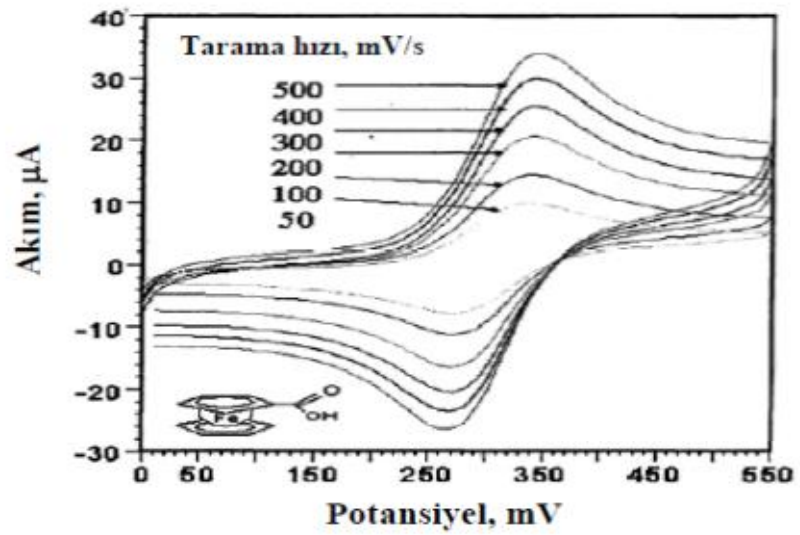
Bu eşitlikteki terimlerin anlamları aşağıdaki gibidir;

- i_p = Maksimum pik akımı, amper
- n = Geçen elektron sayısı (Genelde 1 olur)
- A = Elektrot Alanı(cm^2)
- F = Faraday sabiti
- D = Difüzyon Katsayısı(cm^2/s)
- C = O türünün ana çözeltideki konsantrasyonu (mol/cm^3)
- ν = Tarama Hızı (V/s)



Şekil 2.9 Tersinir bir elektrot reaksiyonun çevrimsel voltamogramı

Şekil 2.10 tersinir bir sistemin davranışını göstermektedir. Bu şekilden artan tarama hızı ile pik akımının arttığı ve pik potansiyelinin değişmediği görülmektedir.



Şekil 2.10 Ferrosen karboksilik asitin pH = 7,0 olduğu fosfat tamponunda pik akımının tarama hızı ile değişimi

Tersinir sistemlerde bütün potansiyellerde elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından büyük olduğu için elektrot yüzeyinde Nernst eşitliği geçerlidir.

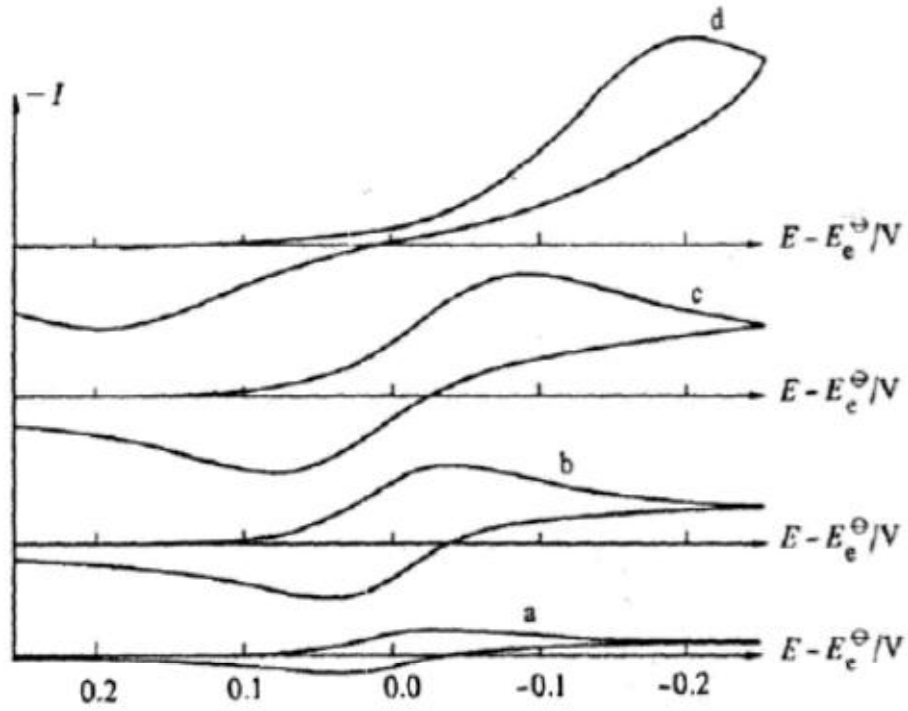
$$E = E^o - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[R]}{[O]} \quad 2.6$$

2.4.2 Tersinmez reaksiyonlar

Tersinmez sistemlerde elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığından elektrot yüzeyinde Nernst eşitliği geçerli değildir. Bu durumda CV voltamogramının şekli, tersinir durumdan farklıdır. Tersinmez durumlarda tarama hızı çok düşük ise, elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından daha yüksektir ve sistem tersinir gibi gözlenebilir. Tarama hızı arttıkça kütle aktarım hızı elektron aktarım hızı ile aynı seviyeye gelir. Bu durum tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik potansiyellerinin birbirinden uzaklaşması ile belli olur (Şekil 2.11). Tersinmez elektron aktarım reaksiyonlarında standart hız sabiti tersinir reaksiyonlardakine göre daha küçüktür. Tamamen tersinmez sistemlerde anodik pik gözlenmez. Anodik pik gözlenmeyişi her zaman sistemin tersinmez olduğunu ispatlamaz. Elektron aktarım basamağını takip eden çok hızlı kimyasal bir reaksiyon varlığında yani oluşan ürün, hızlı bir şekilde başka bir maddeye dönüştüğünde de anodik pik gözlenmeyebilir.

2.4.3 Yarı tersinir reaksiyonlar

Yarı tersinir reaksiyonlarda akım difüzyon hızı ve elektron aktarım hızı ile birlikte kontrol edilir Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez durumlar için akım, tarama hızının kareköküne karşı grafiğe geçirilirse Şekil 2.12'deki gibi bir grafik elde edilir. Şekilden tarama hızındaki artış ile sistemin tersinir durumdan tersinmez duruma geçişi görülmektedir.



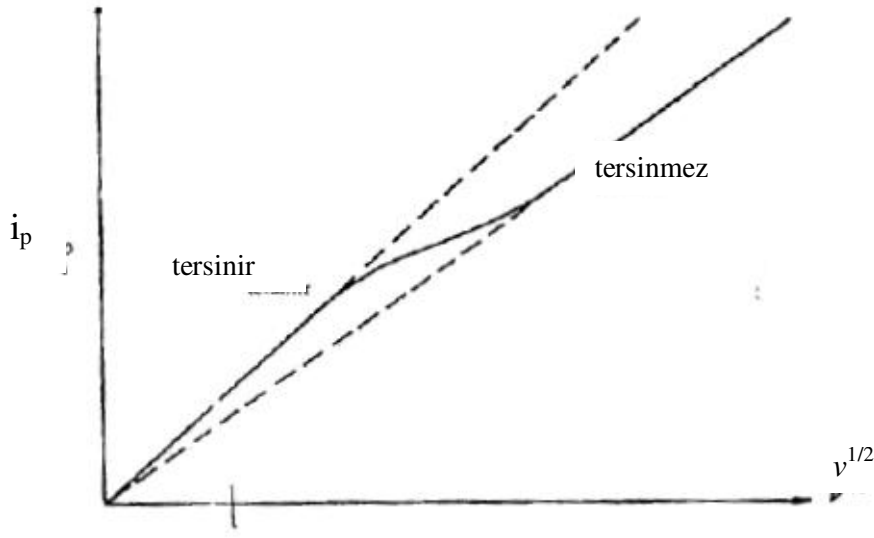
Şekil 2.11 Tersinmez bir elektrot reaksiyonunda CV ile farklı tarama hızlarında anodik ve katodik pik potansiyellerinin birbirinden uzaklaşması. v; a) 0,13 V/s, b) 1,3 V/s, c) 4 V/s, d) 13 V/s

2.4.4 CV ile reaksiyon mekanizmasının belirlenmesi

2.4.4.1 EC mekanizması

EC mekanizmasında, elektrokimyasal basamağı bir kimyasal basamak takip etmektedir. Her elektrot basamağı E ile ve her kimyasal basamak C ile gösterilmiş. Bundan dolayı yukarıdaki reaksiyon **EC reaksiyon** olarak ifade edilir. EC mekanizması şematik olarak şöyle gösterilir.



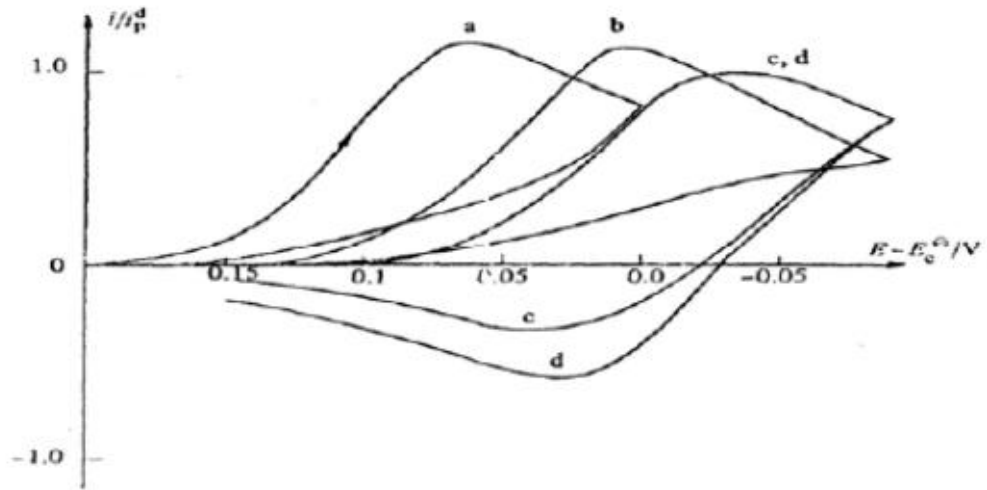


Şekil 2.12 Çevrimsel voltametrde pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi (Çekirdek, 2005)

Elektrokimyasal reaksiyonun hız sabiti, heterojen hız sabiti adını alır ve k_{het} ile, kimyasal reaksiyonun hız sabiti ise k_f ile gösterilir. EC mekanizmasına göre tarama hızındaki artma ile katodik pik akımı artar ve pik potansiyeli negatife kayar. Yukarıdaki mekanizmaya göre yürüyen bir sistemde R türü, takip eden kimyasal reaksiyonun hızından etkilenmektedir. Eğer kimyasal reaksiyon hızlı ve tarama hızı düşük ise, R türü hızlı bir şekilde elektrot yüzeyinde kimyasal reaksiyon ile tüketilmekte ve bu nedenle anodik pik gözlenmemektedir. Tarama hızı arttırıldığında ise anodik pik ortaya çıkmaktadır. Şekil 2.13 farklı λ değerlerinde EC mekanizmasına göre yürüyen bir sistemin CV voltamogramını göstermektedir.

$$\lambda = k_f(RT/nF)/v$$

2. 9



Şekil 2.13 Değişik λ değerlerinde EC mekanizması için teorik CV voltamogramı.;
a)500, b) 10, c) 0,1, d) 0,01 (Çekirdek, 2005)

2.4.4.2 CE mekanizması

Bir elektrot reaksiyonunda elektron aktarım basamağından önce elektroaktif maddenin oluşmasına yol açan bir kimyasal reaksiyonun bulunması CE mekanizması olarak adlandırılır ve aşağıdaki genel reaksiyon ile gösterilir.



Bu eşitliklerde A, elektroaktif olmayan bir maddeyi ifade etmektedir. Bu maddenin elektrot yüzeyinde ne indirgendiği ne de yükseltgendiği kabul edilir. Elektroaktif tür O maddesidir. O ile gösterilen elektroaktif türün, indirgenmesi ile konsantrasyonu azalır ve kimyasal reaksiyon sağa doğru kayar.

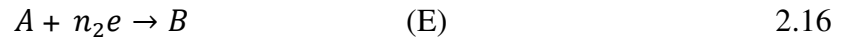
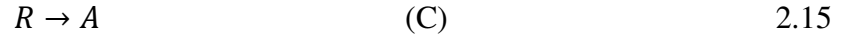
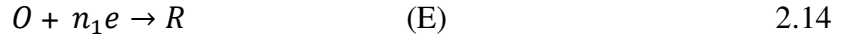
2.4.4.3 Katalitik mekanizma

Katalitik mekanizma, EC mekanizmasının özel bir halidir. Bu mekanizmada reaktif indirgendikten sonra bir kimyasal reaksiyonla tekrar oluşur.



2.4.4.4 ECE mekanizması

CV ile belirlenebilen diğer bir mekanizma ise ECE mekanizmasıdır. ECE mekanizmasında birinci basamakta bir elektrokimyasal basamak gerçekleşmektedir. Bu basamağı bir kimyasal basamak takip eder. Sonra ikinci bir elektron aktarım basamağı tekrar meydana gelir.

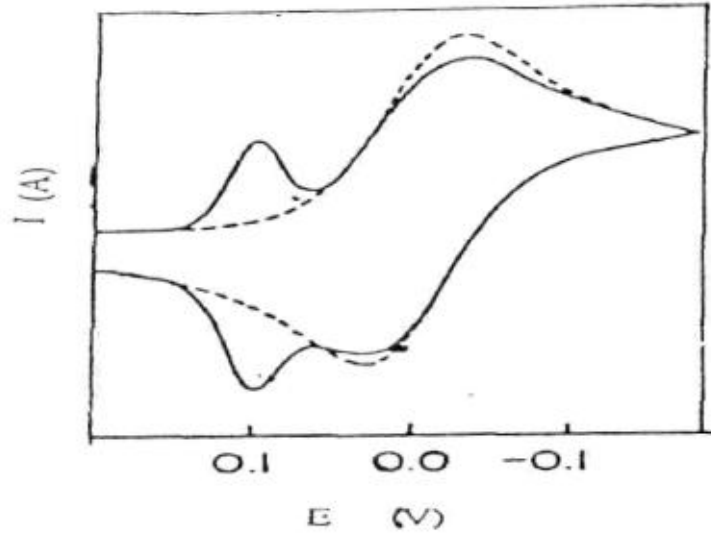


2.4.5 Adsorpsiyonun CV ile incelenmesi

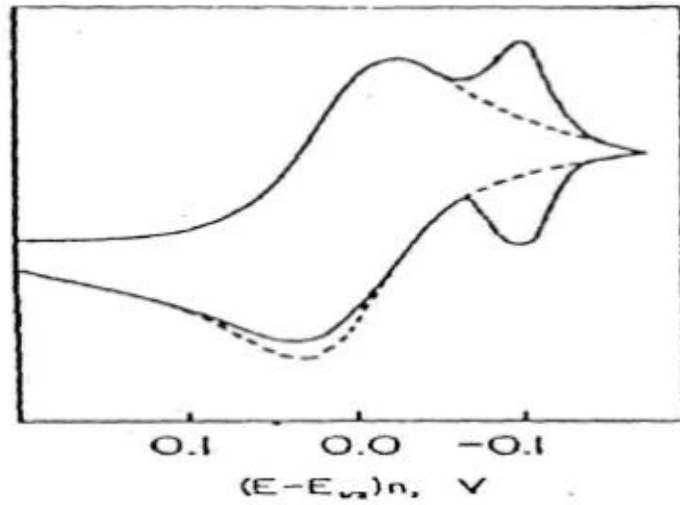
Çözelti içerisindeki iyonlar veya moleküller elektrot yüzeyine çeşitli şekillerde adsorbe olabilirler. Adsorbe olan iyon veya molekül ile elektrot yüzeyi arasında bir çeşit bağ meydana gelir. Bu bağ, anyon ve katyonlarda elektrostatik karakterli olabildiği gibi yüklü elektrot yüzeyi ile dipol özellikteki moleküller arasında yük – dipol etkileşmesi şeklinde de olabilir. Elektroaktif maddeler, ara ürünler veya nihai ürünlerin elektrot yüzeyine adsorplanması elektrot reaksiyonunu kuvvetli bir şekilde etkiler. Elektrot reaksiyonunda doğrudan yer almayan iyon veya moleküllerin adsorplanması ise elektron aktarım hızını etkilediği gibi elektrot reaksiyonunun mekanizmasını değiştirerek farklı ürün oluşumuna yol açabilir. Bu sebeplerden dolayı, beklenmeyen elektrokimyasal davranışlar adsorpsiyon olayına bağlanır.

Ürün kuvvetli bir şekilde adsorbe oluyorsa aşağıdaki şekil 2.14’ den de görüldüğü gibi voltamogramda bir ön pik gözlenir (Wopschall & Shain, 1967) . Bu ön pikin yüksekliği tarama hızıyla doğru orantılı olduğu için ve difüzyon pikinin akımı ise tarama hızının karekökü ile arttığı için $\frac{(i_p)_{ads}}{(i_p)_{dif}}$ oranı tarama hızı arttıkça artar.

Reaktant kuvvetli adsorbe olduğu zaman, difüzyon pikinden sonra bir arka pik gözlenir (Şekil 2.15). Bu arka pik, adsorbe olmuş türün çözeltideki türe göre daha kararlı olmasından dolayı oluşur. Gözlenen bu arka pik tarama hızındaki artış ile artar (Wopschall & Shain, 1967).



Şekil 2.14 Ürünün kuvvetli adsorbe olduğu durumda gözlenen voltamogram



Şekil 2.15 Reaktantın kuvvetli adsorpsiyonunda gözlenen arka pik

Eğer “O” türünün adsorpsiyonu zayıf ise adsorbe olmuş “O” nun ve çözünmüş “O” nun indirgenme enerjileri arasındaki fark küçüktür. Böyle bir durumda arka pik gözlenmez. Net etki adsorpsiyonun olmadığı duruma göre katodik pikin daha yüksek olarak ortaya çıkmasıdır (Wopschall & Shain, 1967). Çünkü hem adsorbe olmuş

hem de difüzlendi “O”nun akıma katkısı vardır. Ters taramadaki anodik pik de aynı şekilde daha yüksektir, ama katodik taramadaki kadar fazla değildir.

Eğer “R” türü zayıf bir şekilde adsorbe oluyorsa, katodik taramadaki pik çok az değişmesine rağmen anodik pik yüksekliği artar. Tarama hızı artması ile anodik pik pozitif potansiyellere kayar. Bunun nedeni elektrot yüzeyine yakın bölgedeki R’lerin adsorbe olmasıdır.

2.5 Korozyon

Genel olarak maddelerin, özelliklede metal ve alaşımların çevrelerinin çeşitli etkileriyle kimyasal ve elektrokimyasal değişme veya fiziksel çözünme sonucu bozunmasına korozyon denir. Kimyasal tepkimelerin büyük bir bölümü elektrokimyasal yarı hücrelere ayrılabilceğinden, korozyonu metallerin elektrokimyasal tepkimeler vererek aşınması şeklinde tanımlamak mümkündür (Akdağ, 2009). Korozyon genel anlamda katı maddelerde meydana gelen dıştan içe doğru ilerleyen bir aşınma olayı olarak da ifade edilebilir. Bugün için korozyon kavramı sadece metal ve alaşımların kimyasal ya da elektrokimyasal yollarla bozunmaları için kullanılmaktadır. Endüstride kullanılan metaller doğadaki bileşiklerinden çeşitli kimyasal ve fiziksel işlemlerle üretilir, ancak bütün metaller termodinamik yasalarına uyarak doğadaki en kararlı bileşiklerine dönüşme eğilimi gösterir ki, enerji ve emek sarf edilerek güçlkle elde edilen metaller doğal yapılarına çok kolay dönerler. Korozyon tepkimesinin elektrokimyasal yoldan yürüyebilmesi için; potansiyel farkı, elektronik ve elektrolitik iletkenler arasında yük transfer reaksiyonu ve sürekli bir akım iletimi yolu koşullarının bir araya gelmesi gerekir. Korozyon tepkimeleri, çoğu metallerin termodinamik kararsızlığı sonucu (Au, Pt, Ir ve Pd gibi soy metaller dışında) veya küçük dış akımların etkisiyle yürüdüğünden bir potansiyel farkı oluşmaktadır. Metal korozyonu ister anodik ister katodik tepkime ile denetlenir, çoğu hallerde hız, yük aktarım basamağı ile sınırlanır (Öztürk, 2009). Korozyona uğrayan bir malzeme üzerinde birbirinden belirli sınırlarla ayrılmış anot ve katot adı verilen iki farklı bölge bulunur. Anotta oksitlenme (korozyon), katotda ise redüklenme işlemi olur.

2.5.1 Korozyon Hızını Belirleme Yöntemleri

Metal ve alaşımlarının korozyona karşı dirençlerini birbirleriyle karşılaştırabilmek için her birinin aynı korozif ortamdaki korozyon hızları verilmelidir. Korozyon hızı bir metalin birim zamandaki çözünme miktarıdır. Bazı korozyon hızı belirleme yöntemlerini şöyle sıralayabiliriz.

1. Analitik yöntemler
2. Kütle kaybı yöntemi
3. Elektrokimyasal yöntemi
 - a) Çizgisel polarizasyonu yöntemi
 - b) Potansiyodinamik metot
 - c) Çevrimsel polarizasyon
 - d) Tafel ekstrapolasyonu yöntemi

Bu çalışmada korozyon hızını belirlemek için elektrokimyasal yöntemlerden potansiyodinamik metot kullanılmıştır.

2.5.1.1 Analitik yöntemler

Korozyon hızı belirlemelerinde çokça uygulanan bir yöntemdir. Çözelti içindeki korozyon ürünlerinin miktarının tayinine dayanır. Korozyon ürünlerinin miktarı zamana bağlı olarak artacağından, belirli zaman aralığındaki analiz değerlendirilir. Analitik yöntemlerden uygun olanı seçilerek korozyon ürünlerin analizi ayrı ayrı yapılabilir. Korozif ortama eklenen inhibitörün metal yüzeyinde adsorplananın dışında, çözeltide kalan kısmı analiz edilerek de sonuca ulaşılabilir.

2.5.1.2 Kütle kaybı yöntemi

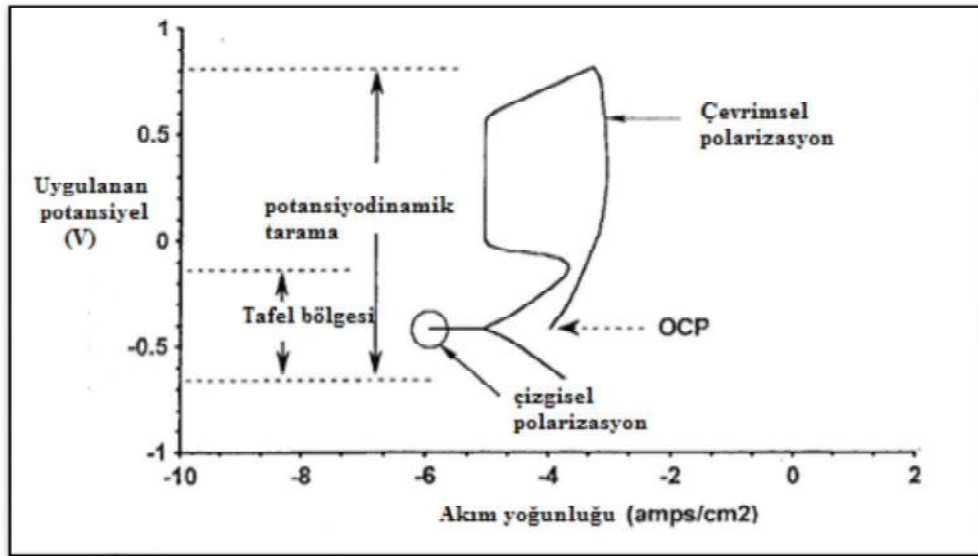
Kütle kaybından korozyon hızı belirlenirken çözünmenin homojen olması ve korozyon ürünlerinin ya tamamen çözünür veya uygun bir çözeltide çözünerek metal yüzeyinden uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu yöntemde korozyon akımı Faraday yasası ile şöyle bulunabilir:

$$i_{corr} = \frac{\Delta m.F.n}{\Delta t.M} \quad 2.17$$

Burada m kütle kaybı, F Faraday sabiti, n söz konusu metalin yükseltgenmesi sırasında verdiği elektron sayısı, M metalin mol kütlesi, t ise zaman aralığını gösterir. Kütle kaybı yöntemiyle korozyon hızının bulunması elektrokimyasal yöntemlere göre daha uzun zaman gerektirir.

2.5.1.3 Elektrokimyasal yöntemler

Elektrokimyasal yöntemlerle korozyon hızı belirleyebilmek için, korozyonun elektrokimyasal doğasını bilmek gerekir. Korozyon olayı, elektrokimyasal bir pilde yürüyen olaylarla aynıdır. Korozyon tepkimesi de pil tepkimesinde olduğu gibi anodik ve katodik yarı tepkimelere ayrılır. Bu tepkimeler aşağıdaki gibidir.



Şekil 2.16 Elektrokimyasal korozyon ölçümleri ((Tait, 1994))

2.5.1.3.1 Çizgisel polarizasyon (polarizasyon direnci) yöntemi. Aktivasyon polarizasyonu ile denetlenen bir sistem içerisinde korozyon potansiyeli ile uygulanan Δi akımı etkisiyle oluşan ΔE potansiyel farkı arasında çizgisel bir bağlantı olduğu belirlenmiştir. Çizgisel polarizasyon ölçümleri yaklaşık olarak açık devre potansiyelinin -20 mV altından başlayıp yine açık devre potansiyelinin +20 mV değerine kadar yapılır. Korozyon ölçüm metodları arasında en küçük potansiyel

spekturumuna sahip metottur. Diğer metotlara göre çizgisel bir şekilde grafik oluşmaktadır(Şekil 2.16).

Akım potansiyel eğrisinin korozyon potansiyeli dolayında oluşan doğrusal kısım eğimi R_p değerini(polarizasyon direnci) değerini verir. Stern ve Gery tarafından formülize edilen bu yöntem için kullanılan denklem de Stern-Gery denklemi olarak isimlendirilir.

$$i_{kor} = \left[\frac{1}{2.303 R_p} \right] [(\beta_a \beta_c) / (\beta_a + \beta_c)] \quad 2.18$$

I_{corr} : Korozyon akım yoğunluğu (amp/cm²)

R_p : Korozyon Direnci (ohm.cm²)

β_a : Akım yoğunluğunun anodik kol eğimi (mV/decade)

β_c : Akım yoğunluğunun katodik kol eğimi(mV/decade)

$(\beta_a \beta_c) / (\beta_a + \beta_c)$: Tafel Sabiti

I_{corr} korozyon akım yoğunluğudur. Polarizasyon direncini belirleyen denklem ise şöyledir:

$$R_p = B \frac{\Delta i}{\Delta E} \quad 2.19$$

2.5.1.3.2 Potansiyodinamik metot. Bu metot metal ve alaşımların pasifleşme özelliğini incelemeye kullanılır. Potansiyodinamik tarama boyunca metal yüzeyinde çok sayıda farklı reaksiyon oluşabilir. Çoğunlukla anodik polarizasyonda aktif, pasif, trans pasif ve yeniden pasifleşme gibi çeşitli bölgeler oluşur. Bu bölgelerden metal veya alaşım için korozyon akımı, potansiyeli, pasifleşme kararlılığı ya da polarize edilerek pasifleştirilebileceği hakkında bilgi edinilebilir (Öztürk, 2009).

Açık devre potansiyelinin yaklaşık -250 mV altından başlayarak , açık devre potansiyelinin yaklaşık +1000 mV kadar üzerine çıkılarak potansiyel spektrum elde

edilir. Anodik kol genelde (potansiyeli açık devre potansiyelinden yüksektir) çizgisel değildir ve grafiğe bakıldığında S-şeklinde denilebilir.

Bu çalışmada korozyon hızını belirlemek için potansiyodinamik metot kullanılmıştır.

2.5.1.3.3 Çevrimsel Polarizasyon Yöntemi. Çevrimsel polarizasyon yöntemi, potansiyodinamik tarama spektrumunu da kapsamaktadır. Potansiyodinamik taramanın bittiği açık devreye doğru döndüğü yerden başlamaktadır. Çevrimsel polarizasyon eğrisi Potansiyodinamik eğrisinin uzantısı olarak nitelendirilebilir. Çevrimsel polarizasyon yüksek akımlara sebep olabilir ve bu da çukurcuk korozyonuna neden olur.

2.5.1.3.4 Tafel ekstrapolasyonu yöntemi. Korozyon potansiyelinden başlayarak galvanostatik ve potansiyostatik metotla anodik ve katodik yönde çizilen yarı logaritmik akım yoğunluğu-potansiyel eğrilerinin çizgisel bölgelerinin korozyon potansiyeline karşılaştırılmasıyla korozyon hızı ya da korozyon akımı hesaplanabilir.

Tafel grafiği açık devre potansiyelinin yaklaşık olarak -250 mV altından başlayarak yine açık devre potansiyelinin +250 mV üstüne kadar ölçüm yapılarak elde edilir. Oksidasyon ve indirgenmeye ilişkin olarak anodik ve katodik kollara sahiptir.

BÖLÜM ÜÇ LİTERATÜR ÖZETİ

2002 ve 2003 yıllarında, S. L. Cram ve grubu paslanmaz çelik üzerine elektropolimerizasyon yöntemi ile poli(methyl methacrylate) ve poli(glycidyl acrylate) kaplama yapmışlar ve elektropolimerizasyon parametrelerini optimize etmeye çalışmışlardır (Cram, 2002). Çalışmalarında monomer konsantrasyonu 0.1 M, $K_2S_2O_8$ konsantrasyonu 0.01 M, H_2SO_4 konsantrasyonu 0.025M olarak kullanılmış, optimum katodik potansiyel değeri ve uygulama süresi -0.4V ve 15 dakika olarak belirlenmiştir. Grup, en kalın ve homojen kaplamalarını sülfirik asit ve potasyum persülfat polimerizasyon başlatıcılarının beraber kullanıldığı şartlarda elde etmiş, sülfirik asit ve potasyum persülfat arasındaki sinerjik etki ile polimerizasyon sonlandırma reaksiyonlarının bastırıldığını ve uzun ömürlü radikal zincirlerin oluştuğunu ileri sürmüşlerdir (Cram, 2003). Ayrıca, kaplama kalınlıklarının elektroliz zamanıyla ve düşük negatif potansiyel değerlerde arttığını göstermişlerdir. Potansiyel değerini arttırdıkça, artan akım yoğunluğundan dolayı; ı) daha çok hidrojen iyonu indirgenebilmekte, bu da katot yüzeyinde hidrojen gazı çıkışına neden olmaktadır. Hidrojen gazı katot üzerinde oluşması istenen kaplamanın oluşumunu ve birikimini olumsuz yönde etkilemektedir. ıı) serbest radikal konsantrasyonu artmakta bu da radikalik sonlanma reaksiyonlarını arttırarak düşük molekül ağırlığında polimer zincirlerinin oluşumuna sebep olmaktadır. Yine aynı grup, 2003 yılında yaptıkları başka bir çalışmada, elektropolimerizasyon yöntemi ile yapılan akrilik kaplamaların ara yüzey olarak kullanıldığında, spin-kaplama yöntemi ile yapılan akrilik kaplamalara oranla siyanoakrilat bazlı yapıştırıcıların paslanmaz çelik yüzeyine yapışmasını önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir. Bu başarının nedenleri olarak; ı) elektropolimerizasyon yönteminde polimer zincirleri metal oksit yüzeyinin her tarafında bulunan monomerlerden oluşur. Oysa, spin-kaplama yöntemi direk polimer zincirlerinin birikmesiyle oluşur. Dolayısıyla, elektropolimerizasyon yöntemi polimer tabakası ve metal yüzeyi arasında çok daha fazla temas noktası sağlar, bu da yapışmayı daha etkin kılar. ıı) elektropolimerizasyon sırasında monomerin paslanmaz çeliğe kimyasal tutunması polimer tabakası ve paslanmaz çelik arasında birincil bağların oluşmasına neden olur. ııı) metal yüzeyinde polimer

zincirlerinin büyümesi ayrıca ikincil bağların oluşumunu da destekler. Grup, ayrıca bu çalışmada çevre dostu (su bazlı), katodik olarak kontrol edilen bu elektrokimyasal metodun büyük ölçekli endüstriyel uygulamalara oldukça uygun olduğuna dikkat çekmek istemektedir (Cram, 2003).

2005 yılında, E. De Giglio ve grubu titanyum ve titanyum alaşımlarının üzerini elektropolimerizasyon yöntemi ile poli(metil akrilat) ile kaplayıp, insan sağlığına zarar verebilecek metal iyonlarının (alüminyum ve vanadyum) salınımını azaltmayı hedeflemişlerdir (Giglio, 2005). Elektrokimyasal teknik olarak döngüsel voltametri kullanmışlardır. Cram ve grubunun çalışmalarından farklı olarak, grup en kalın ve homojen kaplamalarını sülfirik asitin polimerizasyon başlatıcısı olarak kullanılmadığı ve $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ konsantrasyonunun 10 katı artırıldığı (0.1 M) şartlarda yakalamışlardır. Monomer konsantrasyonunu onlar da 0.1 M olarak almışlardır. En iyi bariyer PMMA film oluşumunu 0V ile -1.6V potansiyel değerlerindeki döngülerde yakalamışlar, döngü sayısının iyon salınımını engellemede etkin bir parametre olmadığını belirtmişlerdir. Yine aynı grup 2007’de, poliakrilik asit kapladıkları titanyum implantların yüzeyini aminoasit ile aşilayarak implantın biyo-uyumluluğunu arttırmayı hedeflemişler, poliakrilik asit üzerindeki karboksilik asit gruplarının daha değişik biyomoleküllerle de reaksiyona sokularak birçok yeni araştırmaya kapı açılabileceğini vurgulamışlardır (Giglio, 2007).

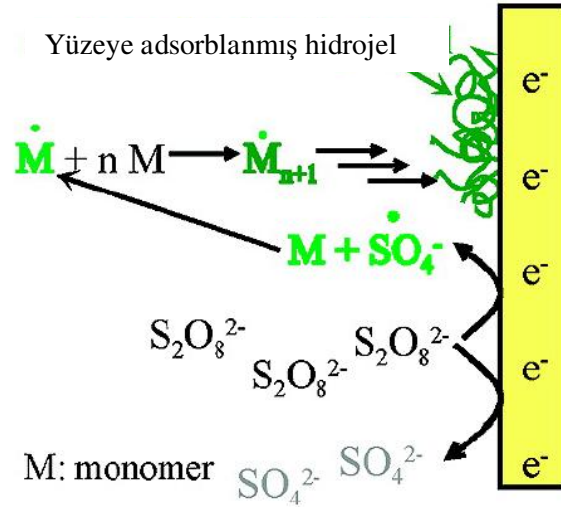
2009 yılında yayınladıkları bir çalışmalarında ise literatürde bir ilk olarak titanyum ve titanyum alaşımlarının üzerine elektropolimerizasyon yöntemi ile akrilat bazlı hidrojel kaplamalar yapmışlardır. Seçtikleri hidrojel kompozisyonunun birinde monomer olarak HEMA ve çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol diakrilat (EGDA, 2 mol %), diğerinde ise monomer olarak akrilik asit (AA) ve çapraz bağlayıcı olarak makromer PEGDA (1:2) kullanılmıştır. Elektropolimerizasyon sırasında, katodik bölüme konan bovin serum albumin (protein modeli olarak, BSA) veya kafein (ilaç modeli olarak) hidrojel kaplamaların içine hapsedilmiş ve bunların hidrojellerden fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4) içine salınımı araştırılmıştır. Salınım mekanizması hapsedilen molekülün yapısı ve hidrojel kompozisyonu ile ilintilenmiştir. P(EGDA-ko-AA) hidrojel kaplamalar yapısında bulunan karboksilik gruptan dolayı ortam

pH'ına duyarlıdır. pH değerinin pK_a değerinin altında olduğu ortamlarda ilaç veya protein salınımı olmamıştır. Kafein küçük bir molekül olduğu için hidrojellerden difüzyonu kolaydır fakat daha büyük boyutta olan BSA'nın difüzyonu hidrojelin şişme kapasitesine bağlıdır. Çalışma, ortopedik alanda hidrojel kaplamaların ilaç taşınımında umut verici malzemeler olabileceğini göstermektedir. (Giglio, 2009).

Aynı grubun 2010 yılında iki makalesi daha çıkmıştır. Acta Biomaterialia'da yayınlanan çalışmalarında HEMA, fosfat içeren bir monomer olan 2-metakriloiloksietil fosfat (MOEP) ile elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak kopolimerize edilmiş, fosfat gruplarının taklit edilmiş vücut sıvısı içerisinde (SBF) hidroksiapatit veya benzeri kalsiyum fosfat bileşiklerinin mineralizasyonuna ve hücre büyümesine (MG-63, insan osteoblast benzeri hücre) etkisi incelenmiştir. Poli(HEMA) ile karşılaştırdıklarında, Poli(HEMA-ko-MOEP) yüzeyinde mineralizasyonun arttığı fakat hücre büyümesinde pek fark gözlenmediği belirtilmiştir. Ayrıca, hidrojelin içerisine rhVEGF isimli büyüme faktörünün hapsedilmesi başarılmış, bu büyüme faktörünün salınımının patolojik reaksiyonları uyarmadan hücre büyümesini destekler oranda olduğu ve çalışmaların devam ettiği belirtilmiştir (Giglio, 2010). 2010 yılında yayınladıkları diğer çalışmada ise poli(akrilik asit) (PAA) kaplamaların anti-korozif etkisini titanyum ve vanadyum iyon salınımlarına bakarak incelemişler, PMMA kaplamalara göre daha iyi bariyer özelliği olduğunu, bu özelliğin ise akrilik asitin üzerindeki karboksilik gruplardan kaynaklandığı göstermişlerdir. PAA'nın optimum bariyer özelliği pH'ın pK_a değerine yakın olduğu durumlarda sağlanmıştır. Grubun bütün çalışmalarında 2005 yılında belirledikleri elektropolimerizasyon şartları kullanılmıştır (Giglio, 2010).

2006 yılında D. Johannsmann ve grubu elektropolimerizasyon yöntemi ile iletken yüzeyleri poly-N-isopropylacrylamide P(NIPAM) içeren hidrojel tabakalarla kaplamışlar, P(NIPAM)'ın düşük kritik çözelti ısısı değerinin (LCST, 32°C) oda sıcaklığı ve vücut sıcaklığı arasında olmasından dolayı, P(NIPAM) içeren hidrojel kaplamanın biyolojik uygulamalarda başarılı olabileceği varsayımında bulunmuşlardır (Giglio, 2009). Kaplamalar altın elektrot üzerine yapılmış, kaplama kalınlıkları sülfürik asitin olmadığı ve K_2SO_4 gibi çözeltinin iletkenliğini arttıran

yardımcı elektrolit kullanımıyla artmıştır. Çalışmalarında monomer konsantrasyonu 0.3 M, $K_2S_2O_8$ konsantrasyonu 0.01 M, K_2SO_4 konsantrasyonu 0.4 M, çapraz bağlayıcı konsantrasyonu 0.003 M, optimum potansiyel değeri ve süresi -0.8V ve 10 dakika olarak belirlenmiştir. Yine aynı grup tarafından hazırlanan elektropolimerizasyon yönteminin şematik gösterimi aşağıdadır (Şema 3.1) (Reuber, 2006).



Şema 3.1. Metalik yüzeyde elektropolimerizasyon.

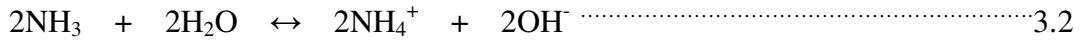
Doğal kemik yapısı kompozit bir malzemedir ve anorganik kristal olan hidroksiapatit ve protein bazlı hidrojel olan kolojenden oluşmaktadır. Bu yapı, kemiğe benzer malzeme yaratmak için birçok bilim insanına ilham olmuştur.

Murphy ve Mooney, 2002 yılında poli(laktid-ko-glikolid) (PLG) film yüzeyinde hidroliz yoluyla karboksilik asit ve hidroksil gruplarının artmasını sağlamış, böylelikle polimer yüzeyindeki mineral film oluşumunda 3-kat artış elde etmişlerdir. Çalışmalarında klasik SBF çözeltisini $CaCl_2$ ve KH_2PO_4 miktarlarını iki kat arttırarak kullanmışlar, bu çözelti ile elde edilen karbonat apatit mineralinin kristal yapı ve morfolojik olarak kemik apatitine oldukça benzer olduğunu göstermişlerdir (Murphy & Mooney, 2002).

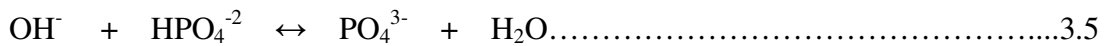
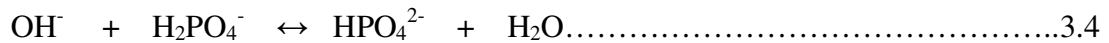
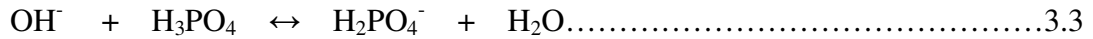
Lu ve grubu 2006 yılında yayınladıkları bir çalışmada $80^\circ C$ 'de, 400 dakikada, refluks altında, $Ca(NO_3)_2$, $(NH_4)_2HPO_4$, HNO_3 ve üre kullanarak saf oktakalsiyum

fosfat (OCP, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) elde etmişlerdir (Lu, 2006). Ürenin hidrolize olabildiğini kullanarak reaksiyon ortamını kontrol etmişler, reaksiyon sonunda pH~3.7 değerine ulaşmışlardır. Ekip solüsyonda gerçekleşen reaksiyonları üç başlık altında toplamıştır; 1) ürenin hidrolize olması, 11) asit-baz reaksiyonları ve 111) çökelti oluşum reaksiyonları:

1) Ürenin hidrolize olması: Bu ilk basamakta ürenin $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ hidroliziyle oluşan amonyağın (NH_3) solüsyonda çözünmesiyle hidroksil iyonu (OH^-) oluşumu sağlanmıştır.

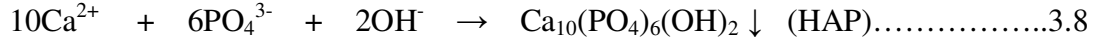
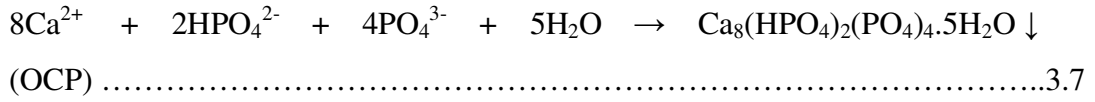


2) Asit-baz reaksiyonları: Sulu çözeltilerde fosfat iyonu ortamın pH'ına göre değişik formlarda bulunur: PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , H_3PO_4 . Üre içeren fosfatlı çözeltilerde, çözeltinin sıcaklığının artırılması, ürenin hidrolize olmasını sağlar ve çözeltide oluşan OH^- iyonlarından dolayı çözeltinin pH'ının artmasına sebep olur. Bu da PO_4^{3-} ve/veya HPO_4^{2-} oluşumunu sağlayan asit-baz reaksiyonlarını tetikler.



3) Çökelti oluşum reaksiyonları: Çözeltinin pH'ına göre değişik kalsiyum fosfat tuzları elde etmek mümkündür.





Ayrıca yayında HAP'e oranla OCP'nin daha çok kemik oluşumuna katkıda bulunduğunu ve OCP'nin de biyo-seramikler arasında son yıllarda artan önemini vurgulamışlardır.

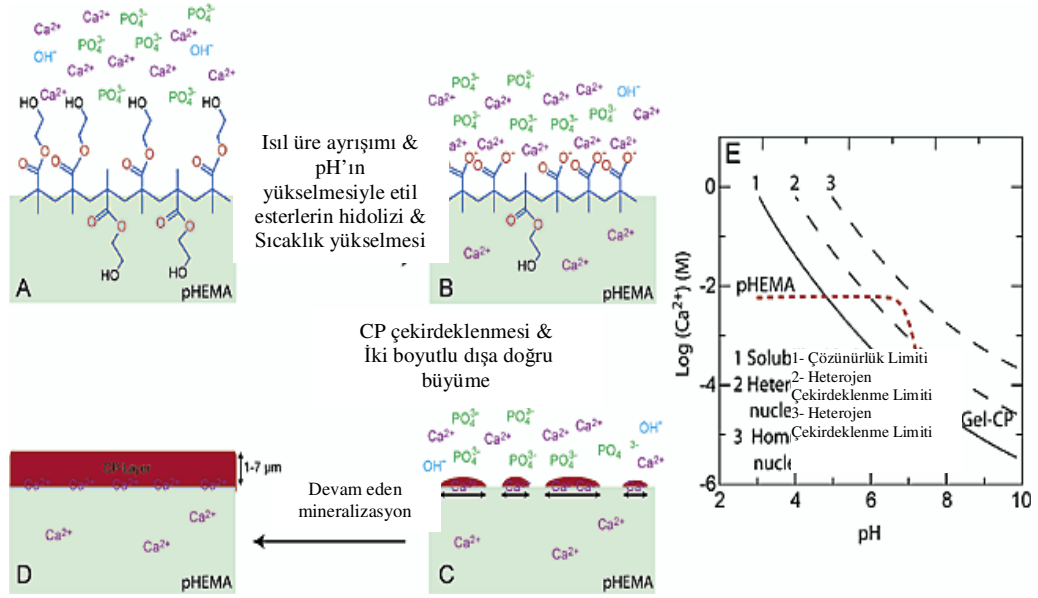
Aynı grup 2011 yılında yayınladıkları bir başka çalışmada hidrotermal şartlar altında ve üre kullanarak TiO_2 nanotüplerin üzerinde hekzagonal prizma yapısında HAP oluşumu sağlamışlardır (Lu, 2011). Hidrotermal reaksiyon otoklav içerisinde, 200°C 'de ve 3 saatte yapılmıştır. Otoklav için hazırlanan çözeltiye $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, HNO_3 ve çökelti oluşumunu sağlamak için üre eklenmiştir. Ürenin dekompose olarak ortam pH'nın yavaş bir şekilde artması ($\text{pH}_{\text{son}}=9.0$) ve üre ile HAP arasındaki elektrostatik etkileşimler (Ca^{2+} iyonu ile üredeki karbonil oksijenin ($\text{C}=\text{O}$) etkileşimi; PO_4^{3-} 'ün O' i ile üredeki H'ler arasındaki hidrojen bağları) düzgün tanımlanmış hekzagonal prizma yapısında HAP'in üretilmesini sağlamıştır.

Aizawa ve grubu 2005 ve 2006 yılında yaptıkları çalışmalarda $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, HNO_3 ve üre kullanarak tek kristal, 60-100 μm uzunluğunda ve CO_3^{2-} iyonu içeren HAP fiberler elde etmişlerdir (Aizawa, Porter, Best, & Bonfield, 2005) (Aizawa, Ueno, Itatani, & Okada, 2006). CO_3^{2-} 'in HAP'in yapısına ürenin hidrolizi sırasında açığa çıkardığı CO_2 'in suda çözünmesiyle, yapıda bulunan hem PO_4^{3-} hem de OH^- iyonlarıyla yer değiştirerek katıldığı öne sürülmektedir. Biyolojik HAP'in yapısında ağırlıkça %3-5 karbonat içermesi bu durumu bir problem yapmaktan çıkartmaktadır. Prosedür olarak, ilk olarak hazırlanan çözeltide 80°C 'de, 24 saat refluks altında OCP fazı oluşturulmuş, daha sonra 90°C 'de, 72 saat refluksa devam ederek OCP fazının HAP'e dönüşümü sağlanmıştır ($\text{pH}_{\text{son}}=8.0$).

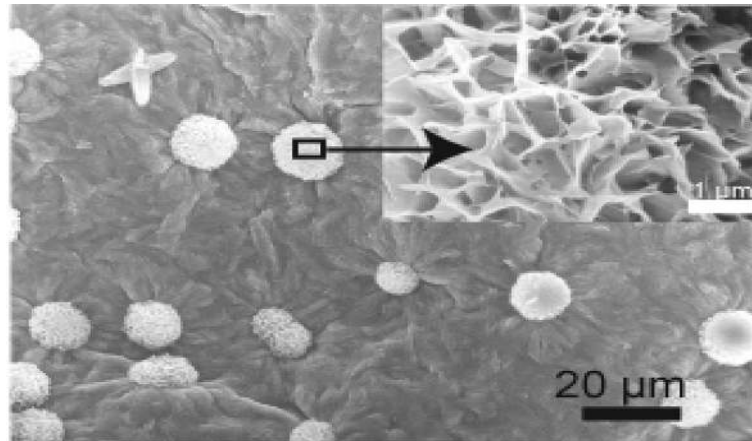
Neira ve grubu 2008 ve 2009 yıllarında yaptıkları çalışmalarda hidrotermal şartlar altında $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ve üre kullanarak CO_3^{2-} iyonu içeren HAP oluşumu

sağlamışlardır (Neira, 2008 ve Neira, 2009) Elde ettikleri veri doğrultusunda sıcaklık, zaman ve başlangıç pH parametrelerinin önemini vurgulamışlar, optimal değerleri 90°C, 72 saat ve $pH_{\text{başlangıç}} = 3.0-3.5$ olarak belirtmişlerdir. Ayrıca ekip ürenin yoğun, basamaklı ve yavaş hidrolizini sağlayarak (25°C ve 90°C arasında değişik ısıtma rejimleri uygulayarak) ve buna ek olarak başlangıç konsantrasyonlarını değiştirerek, HAP kristallerinin morfolojik (plaka, hegzagonal prizma veya iğnems) kontrolünü de sağlamayı başarmıştır.

Song ve grubu 2003 ve 2005 yıllarında yaptıkları çalışmalarda üre yardımcı mineralizasyon yöntemi kullanarak poli(HEMA) hidrojelinde HAP mineralizasyonunu başarıyla sağlamışlar, kemiğe benzer kompozit yapma alanında başarılı bir adım atmışlardır (Song, Saiz, & Bertozzi, 2003) (Song, 2005). Grup SBF ile sağlanan mineralizasyon çalışmalarını, mineral ve polimer arasındaki yapışmanın zayıf olması ve mineralizasyonun uzun sürmesinden (yaklaşık 1,5 ay) dolayı eleştirmektedir. Takip ettikleri prosedüre göre, ilk olarak asidik çözeltide HAP'i çözüp ($pH = 2.5$) içine 2M üre eklemişler ve ürettikleri hidrojelleri bu çözeltiliye yerleştirmişlerdir. Daha sonra çözeltinin ısısını oda sıcaklığından 95°C'ye getirerek (0.2 °C/dakika) ve hidrojelleri bu sıcaklıkta 10 saat daha bekleterek mineralizasyon oluşumunu sağlamışlardır. Poli(HEMA) hidrojeli üzerinde yaptıkları üre yardımcı HAP mineralizasyonunun şematik gösterimi aşağıda verilmiştir (Şema 3.2). A ile ifade edilen şekilde HAP çözeltisi içerisinde poli(HEMA) hidrojeli görülmektedir. Artan ısı ile ürenin bozunması sonucunda ortamın pH'nın yükselmesi, poli(HEMA) yüzeyindeki etil ester gruplarının kırılarak, kalsiyum iyonu afinitesi yüksek asidik bir yüzey oluşumu sağlar (B). Böylelikle hidrojel yüzeyinde heterojen çekirdeklenme tetiklenerek mineralizasyon oluşumu başlar (C). Uzayan mineralizasyon süresi ile tüm hidrojel yüzeyini kaplayan ve git gide kalınlaşan kalsiyum-fosfat (CP) mineral tabakası elde edilmiş olur.



Şema 3.2. Poli(HEMA) hidrojelinde üre yardımlı HAP mineralizasyonunun şematik gösterimi.



Şekil 3.1. Mineralize olmuş poli(HEMA) yüzeyi'nin SEM görüntüsü

Tamamen mineralize olmuş poli(HEMA) yüzeyi'nin SEM fotoğrafı Şekil 3.1'de görülmektedir. İç şekilde çekirdeklenme noktalarından büyüyen HAP küresel kümelerden birinin büyütülmüş görüntüsü verilmiştir. Buradaki Ca-apatite kristallerinin çiçeğimsi (flower-like), çiçeğin yapraklarının ise tabakalı (platelike) morfolojik yapıda olduğu söylenmiştir. Ca/P oranları 1.6 olarak belirtilmiştir.

BÖLÜM DÖRT

MATERYAL VE YÖNTEM

4.1 Deney Numunelerinin Hazırlanması

İlk olarak epoksi (Struers-ClaroCit) ile kalıplanmış olan 7mm yüksekliğine ve 1.21cm^2 yüzey alanına sahip östenitik 316L (Fe/Cr18/Ni10/Mo3) paslanmaz çelik numuneler yüzey hazırlama (metalografi) işlemlerine tabi tutulmuştur. Bir defaya mahsus olmak üzere, yüzeylerinde her hangi bir çizik, pürüz ya da kalıntı kalmayacak şekilde sırasıyla 80, 240, 400, 800, 1000, 1200 ve 2400 numaralı SiC zımparalardan geçirilen numuneler her deney öncesi ayna parlaklığı elde edilinceye kadar $3\mu\text{m}$ 'lik (Struers DP) elmas pasta yardımıyla "metkon FORCIPOL 1V Grinder-Polisher" cihazı kullanılarak yüzey parlatma işleminden geçirilmişlerdir. Parlatma işleminin ardından numuneler ultrasonik banyo içerisinde etil alkolle 10 dakika boyunca temizleme işlemine tabi tutulmuşlardır. Yüzeylerinin nemden etkilenip yüzeyde oksit tabakası oluşumuna sebebiyet vermemek için iyice kurutularak deney çalışmalarına hazır hale getirilmişlerdir.

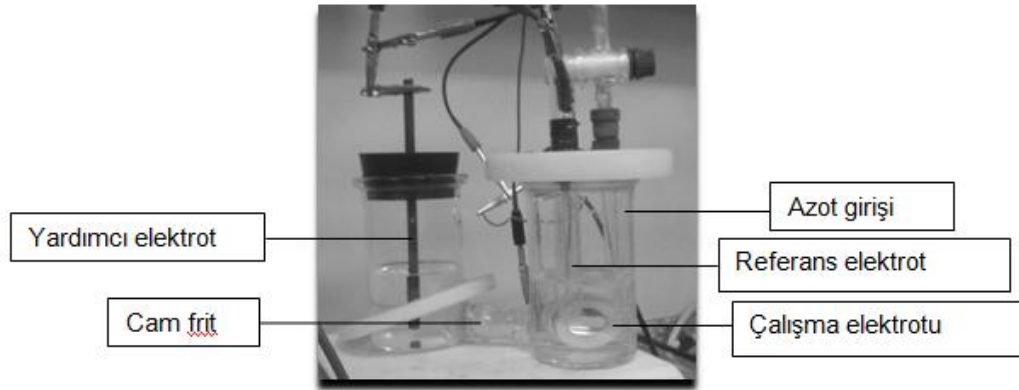
4.2 Elektropolimerizasyon Prosedürü

Metal yüzeyinde polimerik kaplama elde etmek için uygulanan elektropolimerizasyon yöntemi "GAMRY Instruments Reference 600 Potentiostat/Galvanostat/ZRA" cihazı yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmada 0,166M 2-hidroksietilmetakrilat monomeri (HEMA, Sigma-Aldrich), 0,0088M gliserol dimetakrilat çapraz bağlayıcısı (GDMA, Sigma-Aldrich), 0,025M sülfürik asit (H_2SO_4 , Fluka) ve 0,02M amonyum tiyosülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Ayrıca iletkenliğin artırılması ve buna bağlı olarak kaplama kalitesinin geliştirilmesi amacıyla 0,2 M sodyum sülfat (Na_2SO_4 , Merck) ilave edilmiştir. Deneylerde bu çalışmalar için yaptırdığımız H-tipi hücre kullanılmıştır (Şekil 4.1). Hücre, orta geçirgenliğe sahip cam frit ile biri anot diğeri ise katot bölmesi olarak iki kısma ayrılmıştır. H_2SO_4 her iki bölmeye eklenirken, diğer kimyasallar sadece katodik bölmede kullanılmıştır. Kimyasallar tartılıp

balonjojelere aktarıldıktan sonra üzerlerine 100' mlyi tamamlayacak şekilde distile su ilave edilerek anodik ve katodik bölmenin çözeltileri hazırlanmış ve deney hücresine aktarılmıştır. Anot bölgesinde yardımcı elektrot olarak grafit elektrot (RVC), katot bölgesinde ise referans elektrot (doymuş kalomel elektrot, SCE), çalışma elektrodu (kaplama yapılacak olan numune, 316L paslanmaz çelik) ve azot gazı girişi bulunmaktadır. Deneye başlamadan 30 dakika öncesinde ve deney süresince oksitlenmeye sebebiyet vermemek ve hücre içersinde bulunan oksijenin uzaklaştırılması için azot gazı verilmiştir. Deneyler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiş, deney sonrasında kaplanmış olan numune hücreden çıkartıldıktan sonra saf suyun içinde bir gün süreyle bekletilip, ara ara bekleme suyu değiştirilerek yıkama işlemi yapılmış ve ardından 40°C'lik fırında kurumaya bırakılmıştır.

Elektropolimerizasyon yöntemi ile polimerik kaplama üretimi GAMRY Instruments Reference 600 cihazı ile döngüsel voltametri (CV) tekniği kullanılarak yapılmıştır. Çevrimler 0.0 V ile istenilen potansiyel arasında (-0.7 ve -1.6 V), 50, 100 veya 150 mV/s tarama hızlarında, döngü sayısı 20 veya 50 kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 4.1 H-tipi deney hücresi.

4.3 Kaplamaların Karakterizasyonu

Kaplamaların kimyasal karakterizasyonu ince film aparatlı FTIR cihazı (Perkin Elmer FT-IR System Spectrum BX) ile 400-4000 cm^{-1} aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükle yapılmıştır.

“Nikon Eclipse ME600” marka optik mikroskopla kaplama görüntüleri elde edilmiştir. Optik mikroskop yardımıyla numunelerin farklı bölgelerinden 50X, 100X ve 200X büyüklüğünde görüntüler alınmıştır. Böylelikle kaplamanın varlığı ispat edilmiş ve yüzey morfolojisi ile ilgili karşılaştırmalar yapılmıştır.

“AMBIOS Technology XP-2” marka yüzey pirofilometresi cihazı yardımıyla 0,05mg yük altında kaplamaların pürüzlülük değerleri ve kaplama kalınlıkları belirlenmiştir. Kaplamaların morfolojisi, numuneler kaplama cihazında (SC7620 Sputter Coater) Au ile kaplandıktan sonra, taramalı electron mikroskopu (SEM, JSM-6060 JEOL) ile incelenmiştir.

4.4 Hidrojel Kaplamanın Su Tutma Kapasitesi Ölçümleri

Su tutma kapasitesi, belirli bir sıcaklıkta kuru hidrojin absorbe ettiği suyun ağırlığının, tamamen suyla doymuş hidrojin ağırlığına oranına denir. Hidrojin yüzde su tutma kapasitesi, kuru (W_{kuru}) ve suyla doymuş ($W_{ıslak}$) hidrojel ağırlıklarından aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmaktadır.

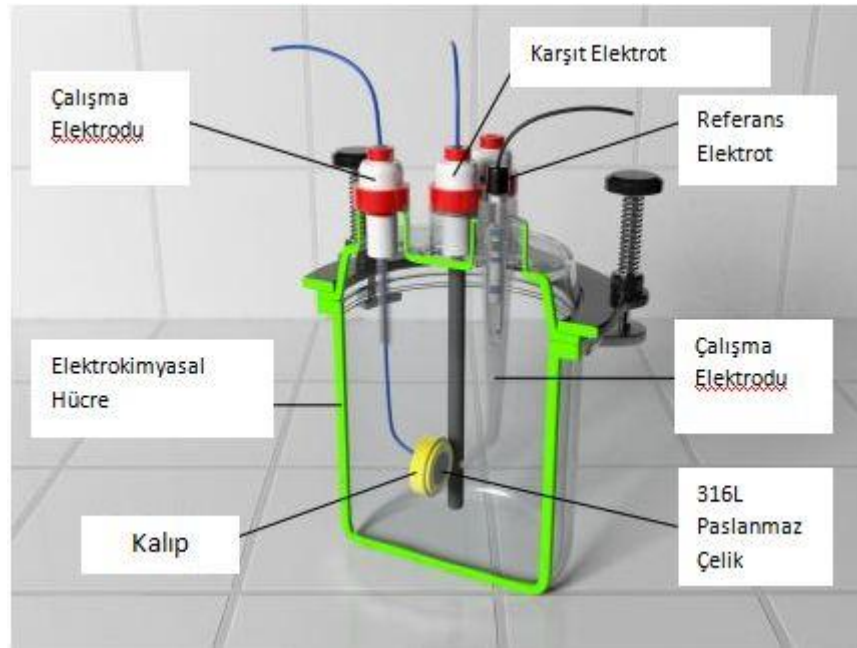
$$\text{Su Tutma Kapasitesi (\%)} = [(W_{ıslak} - W_{kuru}) / W_{ıslak}] \times 100 \dots\dots\dots 4.1$$

Çalışmamızda elde edilen hidrojel kaplamaların kuru ağırlıkları (W_{kuru}) hidrojin 40°C sıcaklıkta 24 saat kurutulup, desikatörde 24°C sıcaklığa gelmesinden sonra alınmıştır. Suyla doymuş hidrojel ağırlık ($W_{ıslak}$) ölçümlerinde; ilk olarak hidrojin distile su içerisinde 24 saat bekletilerek şişmesi sağlanmış ve daha sonra doymuş hidrojel distile sudan çıkartılarak, ağırlık ölçümü 24°C sıcaklıkta, denge ağırlığa ulaşıldıktan sonra yapılmıştır.

4.5 Korozyon Çalışmaları

Elektrokimyasal deneyler, standart üç-elektrot sistemi kullanılarak korozyon hücresinde “GAMRY Instruments Reference 600 Potentiostat/Galvanostat/ZRA” marka potansiyostat/galvanostat cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Referans

elektrot olarak doymuş kalomel elektrot (SCE, SHE'ye göre +0.241 V), yardımcı elektrot olarak grafit çubuk seçilmiştir. 316L paslanmaz çelik ve hidrojel kaplı 316L paslanmaz çelik çalışma elektrotu olarak kullanılmıştır. Ohmik etkiyi minimize etmek için referans elektrot lugin kapilariye yerleştirilmiş ve çalışma elektrotuna yakın tutulmuştur. Kaplamalı ve kaplamasız paslanmaz çeliğin elektrokimyasal davranışları 37°C de, % 3.5 NaCl çözeltisi veya fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisinde potansiyodinamik polarizasyon tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2 Korozyon deneylerinde kullanılan hücre.

Potansiyodinamik polarizasyon deneylerinden önce, açık devre potansiyeli 30 dakika boyunca kararlı hale gelene kadar ölçülmüştür. Potansiyel taraması, açık devre potansiyelinin 50 mV altından başlamak kaydıyla katodik yönden anodik yöne doğru 0.25 mV/sn hızla açık devre potansiyelinin 50mV üstünde sonlanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinden Echem Analyst yazılımı yardımıyla yapılan tafel ekstrapolasyonu ile paslanmaz çelik ve kaplamalı numunelerin korozyon akım yoğunlukları (i_{corr}), Tafel sabitleri, serbest korozyon potansiyelleri (E_{corr}), korozyon hızları ve polarizasyon dirençleri hesaplanmıştır.

4.6 Mikro – indentasyon Testi

Hidrojel kaplamaların elastisite modülü ve sertlik ölçümleri Dynamic Ultra Micro Vickers Hardness Tester (Shimadzu DUH-W210S) ile gerçekleştirilmiştir. 1mN yük, yüzeyin 3 farklı bölgesine uygulanarak ölçümler yapılmış ve hidrojel kaplamanın elastisite modül ve sertlik değerleri hesaplanmıştır.

4.7 Üre Yardımlı Mineralizasyon Çalışması

Öncelikle, HAP (0,9 g) tartılmış ve 50 ml saf suya eklenmiştir. Daha sonra 4 M HCl ile pH 2.5 – 3 arasına getirilerek HAP' ın çözülmesi sağlanmıştır. 3.24 veya 7.20 gram üre tartılarak HAP çözeltisi içerisine eklenmiş, böylelikle deneme 1 ve 2 için sırasıyla üre/HAP oranı 3.6 ve 8.0 olarak sağlanmıştır. Hidrojel kaplama üre içeren asidik HAP çözeltisine daldırılmıştır. Çözelti 3 saatte 80°C'ye yavaşça ısıtılmış ve 80-90°C sıcaklıkları arasında 6.5 saat daha bekletilmiştir. Daha sonra, gece boyunca soğumaya bırakılmıştır. Soğuma sonrası pH değeri 7.5 olarak ölçülmüştür. En son olarak, kalsiyum-fosfat mineralize olmuş kaplama çözelti içerisinden alınarak, su ile yıkanmış ve 40°C'lik fırında 24 saat kurutulmuştur.

Deneme 3'te üre/HAP oranı deneme 2 ile aynı tutulup; 20 gram üre, 2,5 gram HAP ve 150 ml saf su kullanılmıştır. Hidrojel kaplama, yukarıda belirtilen prosedüre göre hazırlanan üre içeren asidik HAP çözeltisine yerleştirildikten sonra reflüks düzeneği kurulmuş, çözelti 95°C'ye 4 saatte çıkartılarak, o sıcaklıkta 24 saat kalması sağlanmıştır. Bu noktadaki pH değeri 7.4'tür. Deneme 2 ve 3'ten farklı olarak, kaplama mevcut çözelti içerisinde oda sıcaklığında bir gün daha bekletilmiş ve bu süre sonunda pH değeri 8.5 olarak ölçülmüştür. Ardından yıkama ve kurutma işlemleri yapılmıştır. XRD analizleri için, çözeltide kalan çökeltiler filtre kağıdı ile süzülerek, su ve etanol ile yıkanıp, kurutulmuştur.

4.8 Simule Edilmiş Vücut Sıvısı İçerisinde (SBF) Mineralizasyon Çalışması

Elektropolimerizasyon yöntemiyle elde edilen poli(HEMA) hidrojel kaplamalar plastik beherlere yerleştirilmiş ve her bir numune için 20 ml SBF kullanılmıştır.

Numuneler $37\pm X^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosunda, 8 hafta boyunca inkübe edilmiştir. SBF çözeltisi Kokubo ve Takamada'nın prosedürüne göre ultra saf su kullanılarak hazırlanmış ve haftada üç kere değiştirilmiştir. İnkübasyon sonunda numuneler kristalize olamamış iyonlardan kurtulmak için ultra saf su ile yıkanmış ve desikatörde kurutulmuştur.

4.9 Hücre Kültürü

Hücre Kültürü çalışmaları Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyomekanik laboratuvarında Prof.Dr. Leyla Didem Kozacı koordinatörlüğünde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada MG-63 insan osteoblast-benzeri hücre serisi kullanılmıştır (Lot No: 57840088; ATCC, Manassas, VA 20108, USA). Hücreler çözüldükten sonra öncelikle firmanın önerisi doğrultusunda önce 25 cm^2 lik sonra 75 cm^2 lik kültür flasklarına Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; %10 FCS, 2 mM L-Glutamine, 10 mg/ml Pen-Strep-Ampho) ile ekilerek, %5 CO_2 'li ve nemli ortamda, 37°C 'de çoğaltılmıştır. Çoğaltma işlemi sırasında hücrelerin flasklardaki görünimleri % 70 konfluent (yoğunluk) olduğu zaman pasajlama işlemi uygulanmıştır. Hücre vasatı iki günde bir değiştirilmiştir.

Pasajlama işleminde hücrelerin üzerindeki vasat alınarak, hücreler önce oda ısısındaki steril fosfat tamponu (PBS) ile bir kez yıkanmıştır. Tampon ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra ortama flaskın yüzeyini kaplayacak kadar Tripsin-EDTA solusyonu (Kat No: 03-054-1B, Biological Industries) eklenmiştir. Flask tekrar 5 dk. 37°C 'de, %5 CO_2 'li ortamda inkübe edilmiştir. Böylece tripsin etkisiyle flask tabanına tutunmuş olan hücrelerin tabandan ayrılmaları sağlanmıştır. Hücrelerin tamamen flask tabanından ayrılmasını takiben tripsin etkisini ortadan kaldırmak için ortama Tripsin-EDTA/ DMEM oranı 1/5 olacak şekilde %10'luk FBS içeren DMEM eklenmiştir. Hücreler vasat içerisinde birbirlerinden tamamen ayrılıp homojen bir hücre süspansiyonu oluşana kadar pipetleme işlemi yapılmıştır. Homojen hücre süspansiyonu 1:3-1:4 oranında bölünerek temiz flasklara aktarılmış ve hücrelerin çoğaltılmasına devam edilmiştir.

Hücreler çalışmada kullanılacak yeterli sayıya ulaştığında çoğaltma flasklarındaki hücrelerden bir kısmı Tripsin-EDTA solusyonu ile kaldırılarak suspense edilmiştir. Deney amaçlı ekim işlemi öncesinde etilen gaz oksit yöntemi ile sterilize edilmiş numuneler 12 kuyucuklu kültür plakları içerisine steril ortamda yerleştirilmiştir. Sayılan hücreler poli(HEMA-GDMA) kaplı olan/olmayan numunelerin (n=3; 15,5x2,5 mm) üzerine 10.000 hücre/numune olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler 37 C°'de %5 CO₂ li ortamda inkübatörde 60 dk boyunca tutularak hücrelerin numune yüzeyine yapışmaları sağlanmıştır. Daha sonra numunelerin bulunduğu kuyucuklara numune yüzeyinin tamamını (kuyucuk içindeki son vasat hacimi=2 ml) örtecek şekilde kültür vasatı (DMEM; %10 FCS, 2mM L-Glutamine, % 0.1 Pen-Strep-Ampho) ilave edilmiştir. Hücreler 37°C'de, %5 CO₂'li ortamda inkübe edilmiştir. Hücre vasatı üç günde bir değiştirilmiştir.

Hücreler kültür ortamında 2 veya 5 gün süre ile tutulmuştur. Gruplar;

K1= Kültür süresi 2 gün ve kaplama yok,

K2= Kültür süresi 5 gün ve kaplama yok,

G1= Kültür süresi 2 gün ve poli (HEMA-GDMA) kaplama,

G2=Kültür süresi 5 gün ve poli (HEMA-GDMA) kaplama, şeklinde oluşturuldu.

K1 ve G1 gruplarında hücre kültürü 2. gün sonunda sonlandırılarak kültür vasatı alkale fosfat enzim aktivitesi analizi için toplanmış ve dondurularak analiz gününe kadar -20°C'de saklanmıştır. Bu süreçte K2 ve G2 gruplarının hücre kültür vasatı da değiştirilmiştir. K2 ve G2 kültür 5. gün sonunda sonlandırılarak hücre kültür vasatı alkale fosfat enzim aktivitesi analizi için toplanmış ve dondurularak analiz gününe kadar -20°C'de saklanmıştır.

Bütün gruplarda hücrelerin canlılığı ve çoğalma oranı XTT testi, osteoblastik kapasite ALP testi ile saptanmıştır. Hücrelerin numune yüzeyine tutunma kapasitesi SEM ile incelenmiştir. Her bir çalışma grubu en az 3 tekrar olacak şekilde oluşturulmuştur (n=3). ALP ölçümlerinde çalışma grupları sayısı K1-G1 için (n=12) ve K2-G2 için (n=6)'dır.

4.10 Alkalen Fosfataz (ALP) Aktivitesinin Saptanması

Bütün gruplarda (K1-2 ve G1-2) kültür vasatında ALP aktivite ölçümü kit yardımı ile (Biomerieux, Enzyline™ PAL standardisé, Lyon, Fransa) yapılmıştır. Daha sonra her bir numuneye spektrometre yardımı ile 405 nm’de ölçüm yapılmıştır.

Test, Mg^{2+} varlığında 30°C’de amino-2 metil-2 propanol-1 tamponunda substrat olarak paranitrofenilfosfat (PNPP)’ı kullanarak alkalen fosfatazın kinetik tayinini sağlar. Paranitrofenol 405 nm’deki ölçüm değerlendirmesinde serbesttir. Numunedeki ALP aktivitesi ile optik absorbans ile orantılı olup, ALP aktivesi U/L olarak ifade edilir.

4.11 XTT Testi ile Hücre Proliferasyon Kapasitesinin Saptanması

Bütün gruplarda (K1-2 ve G1-2) kuyucuklardaki numunelere XTT (XTT Cell viability kit, Cell Signaling Technology) testi yapılmıştır. Kuyucuk içindeki hücre kültür vasatından 1 ml alınmış ve üzerine 1 ml XTT solüsyonu eklenmiştir. Hücreler 37°C’de 4 saat inkübe edilmiştir. Her kuyucuktan 150 µl alınarak 96 kuyucuklu plaklara transfer edilmiştir. Absorbans 450 nm’de değerlendirilmiştir.

4.12 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntülemesi

Örnekler oda ısısında fizyolojik serum ile 30 saniye yıkandıktan sonra sırasıyla; 1) Tampon A’da (0,1 M sodyum kakodilat içinde %5 Glutaraldehit; pH 7,2) 30 dakika, 2) Tampon B’ de (0,1 M sodyum kakodilat içinde %7 Sukroz (w/v) 15 dakika +4°C’de (buz üstünde) bekletilmiştir (bu basamak 2 kere tekrarlanmıştır). Daha sonra 3) Tampon C’de (0,1 M sodyum kakodilat içinde %2 Ozmiyum tetroksit) 30 dakika +4°C’de (buz üstünde) bekletilmiştir. Daha sonra distile suda 2 kez yıkanan (5 dk) örnekler artan derecelerdeki alkol serileri (%35 , %50 , %70 , %85 , %95 , %100 , %100) içerisinde her bir basamak 5 dakika olacak şekilde oda ısısında dehidrate edilmiştir. Ardından hekzametildisilazan (HMDS) solüsyonunda 5 dk bekletilen örnekler oda ısısında 30 dk kurutulduktan sonra nem alıcı bir ajan (fosfor pentaoksit, kalsiyum klorür) içeren desikatöre 24 saat süre ile yerleştirilmiştir. Bu

süre sonunda, pirinç taşıyıcılar üzerine yerleştirilen örnekler, özel bir kaplama cihazında (sputter-coater) yaklaşık 200Å kalınlığında altın ile kaplanmıştır. Örnekler, JEOL JSM-6060 taramalı elektron mikroskopunda incelenmiştir.

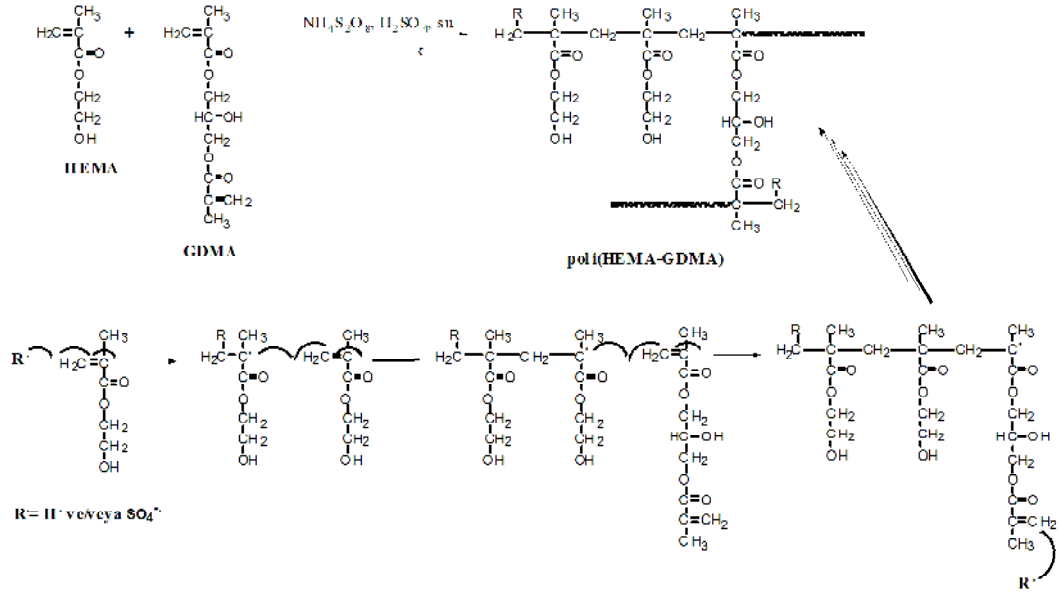
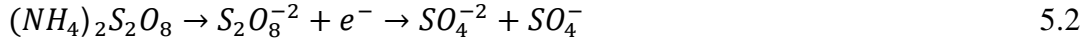
BÖLÜM BEŞ

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

5.1 Elektropolimerizasyon Çözelti Parametrelerinin Optimizasyonu

Bu projenin ilk aşamasında polimerizasyon başlatıcılarının ((NH₄)₂S₂O₈ ve H₂SO₄), çapraz bağlayıcının (GDMA) ve tuzun (Na₂SO₄) Poli(HEMA-GDMA) Elektropolimerizasyondaki rolü ve etkisi araştırılmıştır. Bu süreçteki kaplamalar potansiyostatik olarak -0.5V'da yapılmıştır (Korsacılar, 2012).

Paslanmaz çeliğin üzerinde Poli(HEMA-GDMA) kaplama, başlatıcıların potansiyele bağlı olarak radikallerini oluşturması ve akabinde monomer ve çapraz bağlayıcılarla birleşip polimerizasyonu başlatmasıyla sağlanmıştır.



Şekil 5.1 Elektropolimerizasyon yöntemiyle poli(HEMA-GDMA) kaplama oluşumunun şematik gösterimi.

Hidrojel yapılarda çapraz bağlayıcı miktarı önemlidir; çapraz bağlayıcı miktarının istenilenden fazla olması, hidrojin sertleşerek kırılgenliğini artırır. Çalışmamızda

çapraz bağlayıcı miktarı HEMA'ya göre 2,6%, 5,3% ve 13,2% mol oranında kullanılmış, çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla, kaplama kalınlıklarında artış elde edilmiştir (Tablo 5.1). 1, 2 ve 3. numunelere baktığımızda çapraz bağlayıcı miktarı iki ve beş kat olarak arttırılmış, kalınlık değerleri sırasıyla, 36,2, 43,7 ve 54,2 μm olarak ölçülmüştür. Saf poli(HEMA) suda çözünebilen bir polimerdir, çapraz bağlayıcının eklenmesiyle oluşan poli(HEMA-GDMA) kaplamaların artan çapraz bağlayıcı miktarı ile suda çözünürlüğü azalarak, kaplamaların kalınlaşmasına neden olduğu düşünülmektedir.

$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ konsantrasyonundaki artış kaplama kalınlıklarında azalmaya neden olmuştur. Mesela, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ konsantrasyonunun iki katı arttırılması kaplama kalınlıklarını yaklaşık 1/3 oranında azaltırken, beş katı arttırılması kaplama kalınlıklarının oldukça incelmeye sebep olmuştur. Bu durum, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ konsantrasyonunun artması ile serbest radikal konsantrasyonu ve böylelikle radikalik sonlanma reaksiyonlarının artmasına sebep olabilir. Artan radikalik sonlanma reaksiyonları oluşan polimer zincirlerin daha kısa olmasını, ve ayrıca bu kısa zincirler eğer suda çözünme eğiliminde ise zincirlerin suda çözünmesini sağlar. Böylelikle, kaplama kalınlıkları azalabilir.

Ayrıca, iletkenliği arttırmak için Na_2SO_4 ilave edilmiştir. Johannsman'a göre artan iletkenlik hidrojin şişmesini azaltarak, yeni oluşan polimer zincirlerin yüzeyden difüzyonunu engeller, bu da kaplama oluşma ve yapışma verimini artırır (Johannsmann, 2006).

$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ konsantrasyonundaki artış kaplama kalınlıklarında azalmaya neden olmuştur. Mesela, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ konsantrasyonunun iki katı arttırılması kaplama kalınlıklarını yaklaşık 1/3 oranında azaltırken, beş katı arttırılması kaplama kalınlıklarının oldukça incelmeye sebep olmuştur. Bu durum, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ konsantrasyonunun artması ile serbest radikal konsantrasyonu ve böylelikle radikalik sonlanma reaksiyonlarının artmasına sebep olabilir. Artan radikalik sonlanma reaksiyonları oluşan polimer zincirlerin daha kısa olmasını, ve ayrıca bu kısa

zincirler eğer suda çözünme eğiliminde ise zincirlerin suda çözünmesini sağlar. Böylelikle, kaplama kalınlıkları azalabilir.

Tablo 5.1 Çözelti şartlarının elektropolimerizasyona etkisi (Korsacılar, 2012).

Numune no.	HEMA (M)	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ (M)	H ₂ SO ₄ (M)	GDMA (M)	Na ₂ SO ₄ (M)	Kaplama Kalınlığı (µm)
1	0,166	0,02	0,025	0,0044	0,2	36,2
2	0,166	0,02	0,025	0,0088	0,2	43,7
3	0,166	0,02	0,025	0,0220	0,2	54,2
4	0,166	0,04	0,025	0,0044	0,2	11,9
5	0,166	0,04	0,025	0,0088	0,2	16,4
6	0,166	0,04	0,025	0,0220	0,2	19,7
7	0,166	0,1	0,025	0,0044	0,2	0,18
8	0,166	0,1	0,025	0,0088	0,2	0,33
9	0,166	0,1	0,025	0,0220	0,2	0,41

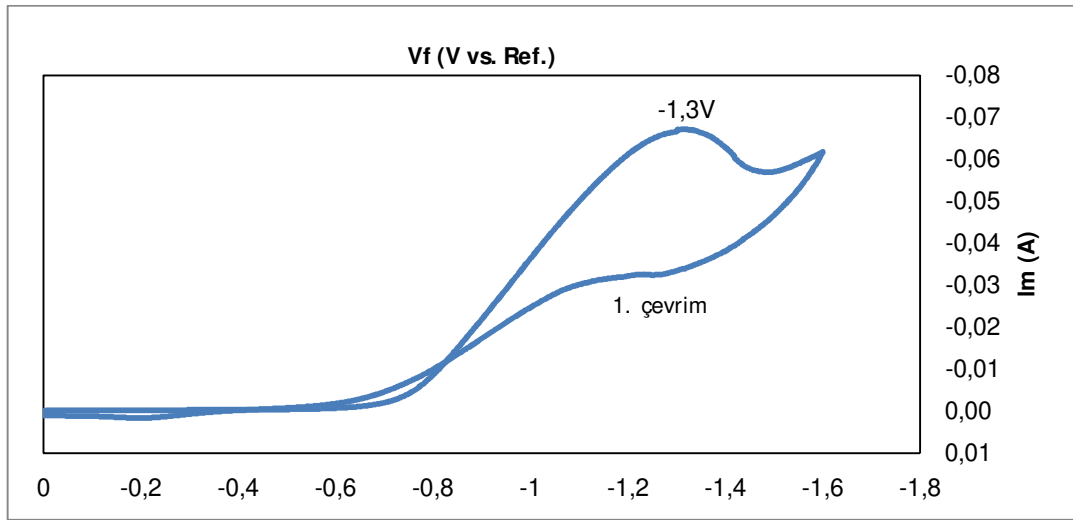
5.2 Çevrimsel Voltametri tekniği kullanılarak Poli(HEMA-GDMA) Elektropolimerizasyonu

Döngüsel voltametri (CV) çalışmaları elektropolimerizasyon sırasında özellikle polimerizasyon başlatıcılarının rollerini netleştirme açısından değerlidir. Hücre içerisinde olan her bir indirgenme veya yükseltgenme tepe noktası olarak belirtilir. Çalışmamızda 0V ile istenilen katodik potansiyel değerleri arasında 100mV/s hızla çevrimler yapılmıştır. Optimum çözelti kombinasyonu olarak 3. numune şartları kullanılmıştır.

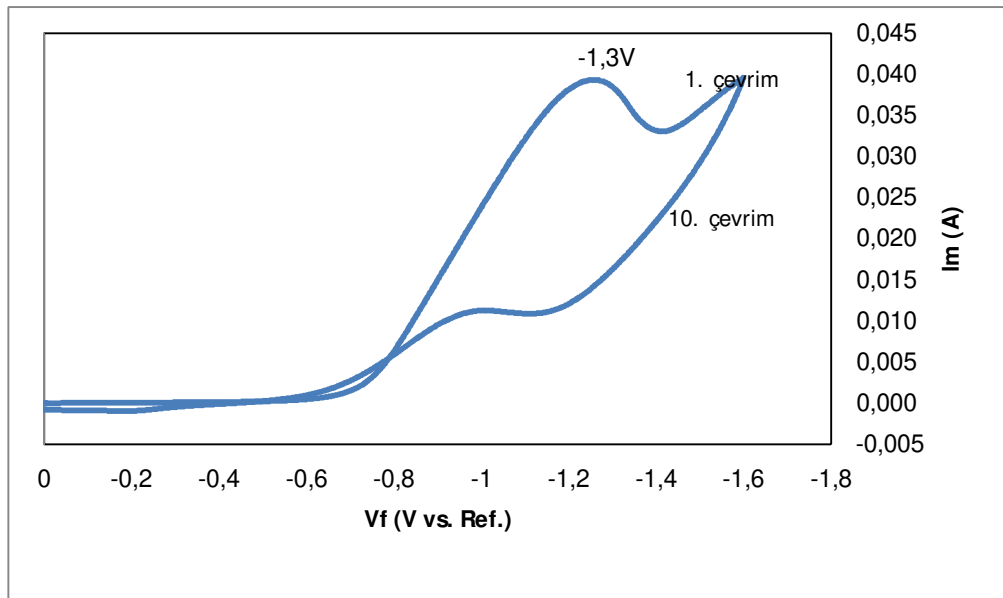
İlk olarak HEMA ve GDMA'sız çözeltinin indirgenme noktalarını belirlemek için 0V ile -1.6V arasında çevrim yapılmıştır. Şekil 5.2'te görüldüğü üzere, -1.3V'da kullanılan iki başlatıcı (sülfürik asit ve potasyum persülfat) indirgenerek ortak geniş bir tepe noktası vermiştir. Aynı potansiyel değerleri arasında HEMA ve GDMA konularak döngüsel voltmetre çalışmaları yapılmış, oldukça gözenekli kaplamalar elde edilmiştir (Şekil 5.3, 5.4). İlk on çevrim sonunda akımın düşmesi elektrotun pasif bir polimer film tabakası ile kaplandığını göstermektedir. Akımın

sıfırlanmaması, hidrojen gaz çıkışından dolayı kaplamanın gözenekli hale geldiğini ifade eder. Şekil 5.4’da hidrojen gaz çıkış noktaları görülebilmektedir.

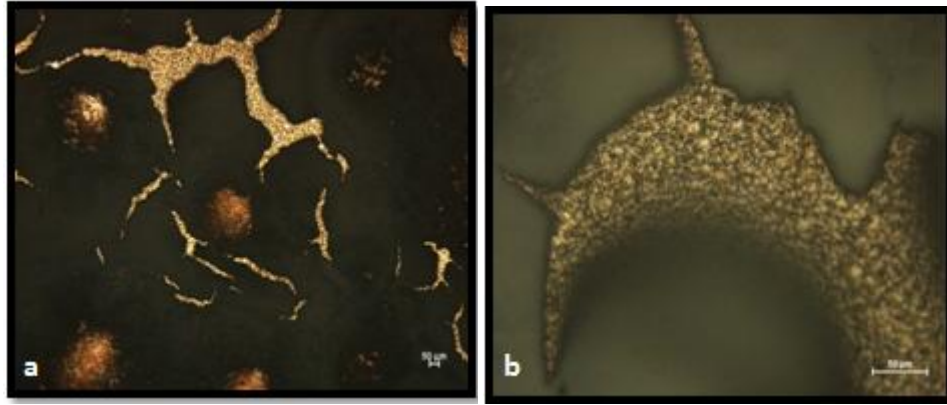
Kaplamalar kurutulduğu zaman yer yer çatlak oluşumu da gözlenmiştir. (S. L. Cram ve grubu aynı başlatıcıları kullanarak yaptıkları çalışmalarında tepe noktasını -1.1V olarak belirlemişlerdir).



Şekil 5.2 CV grafiği. HEMA ve GDMA'sız 3. numune şartları. Başlangıç ve bitiş potansiyelleri sırasıyla 0V ve -1,6V. Tarama hızı: 100mV/s.

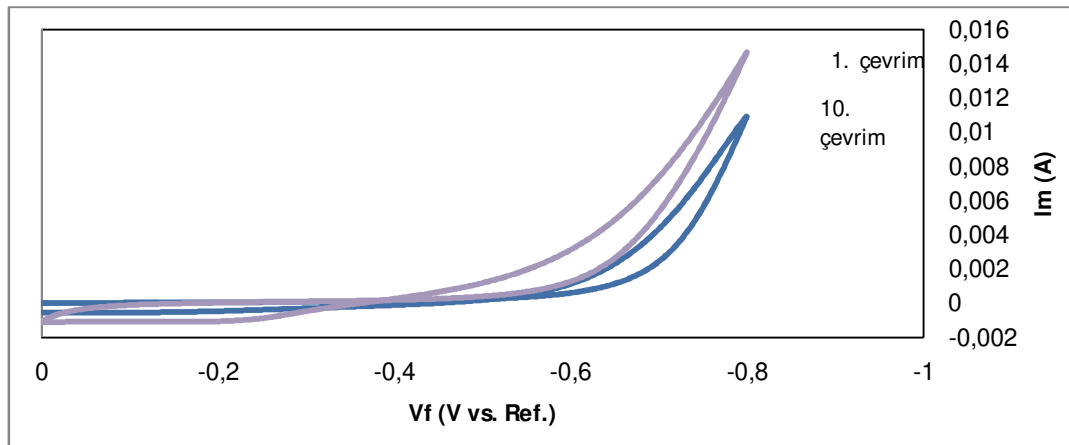


Şekil 5.3 CV grafiği. 3. numune şartları. Başlangıç ve bitiş potansiyelleri sırasıyla 0V ve -1,6V. Tarama hızı: 100mV/s.

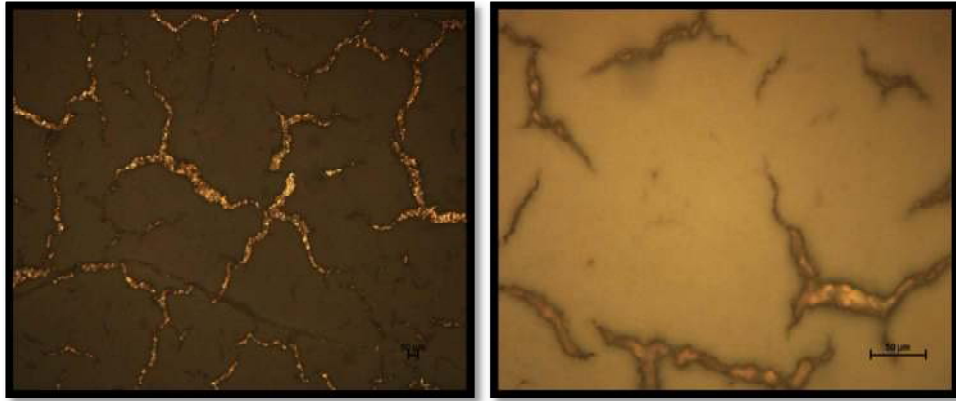


Şekil 5.4 Optik görüntü. 3. numune şartları. (Başlangıç ve bitiş potansiyelleri sırasıyla 0V ve -1,6V. Tarama hızı: 100mV/s). a) 5X, b) 200X.

Gaz çıkışının yarattığı bu olumsuz etkiden kurtulmak için daha düşük potansiyel değerlerde çevrimler yapılmıştır. -0.5V’da oldukça ince bir kaplama elde edilirken, -0.8V’da gaz çıkışı çok rahatsız edici değildir (Şekil 5.5, 5.6). -0.9V ve üzeri değerlerde kaplama gözenekliliği gaz çıkışından dolayı artmaktadır. -1.2V değerinde gaz çıkışı oldukça hızlanmış ve her denemede kaplamayı yüzeyden atmıştır. Fakat -1.6V değerinde gözenekli de olsa tekrar kaplama elde edebilmemizin sebebi artan akım yoğunluğunun suyun indirgenme hızına oranla polimerizasyon hızını daha çok arttırmasıdır. Böylelikle hızla oluşabilen polimer kaplama elektrot yüzeyinde suyun indirgenmesini engellemeye çalışmaktadır.

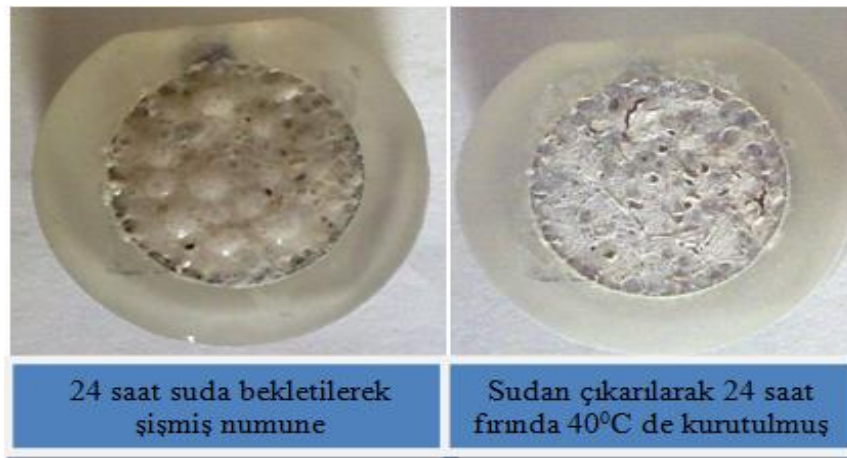


Şekil 5.5 CV grafiği. 3. numune şartları. Başlangıç ve bitiş potansiyelleri sırasıyla 0V ve -0,8. Tarama hızı: 100mV/s.



Şekil 5.6 3. numune şartları. (Başlangıç ve bitiş potansiyelleri sırasıyla 0V ve -0,8V. Tarama hızı: 100mV/s). a) 5X, b) 200X.

Yukarıda verilen optik görüntülere bakıldığında çatlaklar gözlenmektedir. Bu çatlaklar, numuneler 24 saat 40°C’de kurutulduktan sonra kaplamanın yüzeyden kabuk kabuk atması sonucu oluşmuştur. Bu kabuklanmaları azaltmak için 2. numune şartlarına geçilmiş yani çapraz bağlayıcı oranı azaltılmıştır. Çapraz bağ oranının artması polimerin sertleşmesine neden olur (Tablo 5.1). Şekil 5.9’da 2. numune şartlarında, 0V ile -1.6V arasında yapılan taramalardan elde edilmiş kaplamaların şişmiş ve kurutulmuş hallerindeki fotoğrafları verilmektedir. Polimerin yoğun olarak biriktiği bölgelerde çatlama ve gaz çıkışının yoğunluğundan dolayı yer yer boşluklar oluşabilmektedir. Şekil 5.7’de görüldüğü üzere kaplamanın yüzeyi homojen değildir.

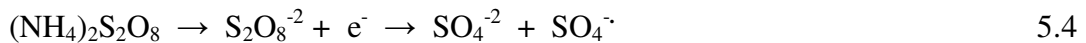


Şekil 5.7 2. Numune şartlarında 0V ile -1.6V arasında yapılan taramalardan elde edilmiş kaplamaların şişmiş ve kurutulmuş hallerindeki fotoğrafları.

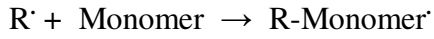
Deneylerimizde, 0V ile -1.6V arasında değişik tarama hızlarında yaptığımız çevrimlerin (20 çevrim) tepe noktalarının maksimum akım ve potansiyel değerleri tablo 5.2’de verilmiştir. (S. L. Cram ve grubu aynı başlatıcıları (sülfürik asit ve potasyum persülfat) kullanarak yaptıkları PMMA elektropolimerizasyonu sırasında çevrimlerin tepe noktasını -1.1V olarak belirlemişlerdir). Çevrimlerde akım yoğunluklarının maksimum olduğu noktalardaki potansiyel değerlerinin birbirine çok yakın olması (~ -1.1V) hızlı bir elektron transfer kinetiği yaşandığının işaretidir. Böylelikle akımı elektrot yüzeyine difüzyonla gelen madde miktarı kontrol eder. Yavaş tarama hızında difüzyon tabakası daha çok kalınlaşabileceğinden difüzyon hızı ve buna bağlı olarak ta akım azalmaya başlar. Tablo 5.2’ de artan tarama hızına karşı maksimum akım değerleri incelendiğinde, 50mV/s ve 100mV/s tarama hızlarında akım yoğunluklarında belirgin bir fark gözlenmezken, 150mV/s tarama hızında en yüksek akım değerleri elde edilmiştir.

Şekil 5.8 – 5.9 incelendiğinde, özellikle 100mV/sn tarama hızında ilk çevrimde net olarak anodik pik gözlenmektedir. Anodik pikin şiddeti elektron transfer basamağını takip eden kimyasal basamağın hızına bağlıdır. Kimyasal basamağın hızı arttıkça anodik pikin şiddeti düşecektir. Sistemimizde bulunan başlatıcılar indirgendikçe, radikal oluşumu artacak bu da polimerizasyonun başlamasını tetikleyecektir. Çevrimler devam ettikçe ilk olarak anodik piklerin ve daha sonra katodik piklerin yok olduğu görülmektedir. Katodik pikin yok olması bütün başlatıcıların radikale indirgenerek tükendiğini (Reaksiyon 5.3 ve 5.4), anodik piklerin yok olması ise oluşan radikallerin monomerlerle birleşip polimerizasyonu başlatmasını ifade edebilir (Reaksiyon 5.5) (Cram, 2002). Böylelikle, çevrimler sonunda akımın düşmesi elektrotun pasif bir polimer film tabakası ile kaplandığını göstermektedir. Akımın sıfırlanmaması, hidrojen gaz çıkışından dolayı kaplamanın gözenekli hale geldiğini ifade edebilir.

Elektron transfer basamakları:



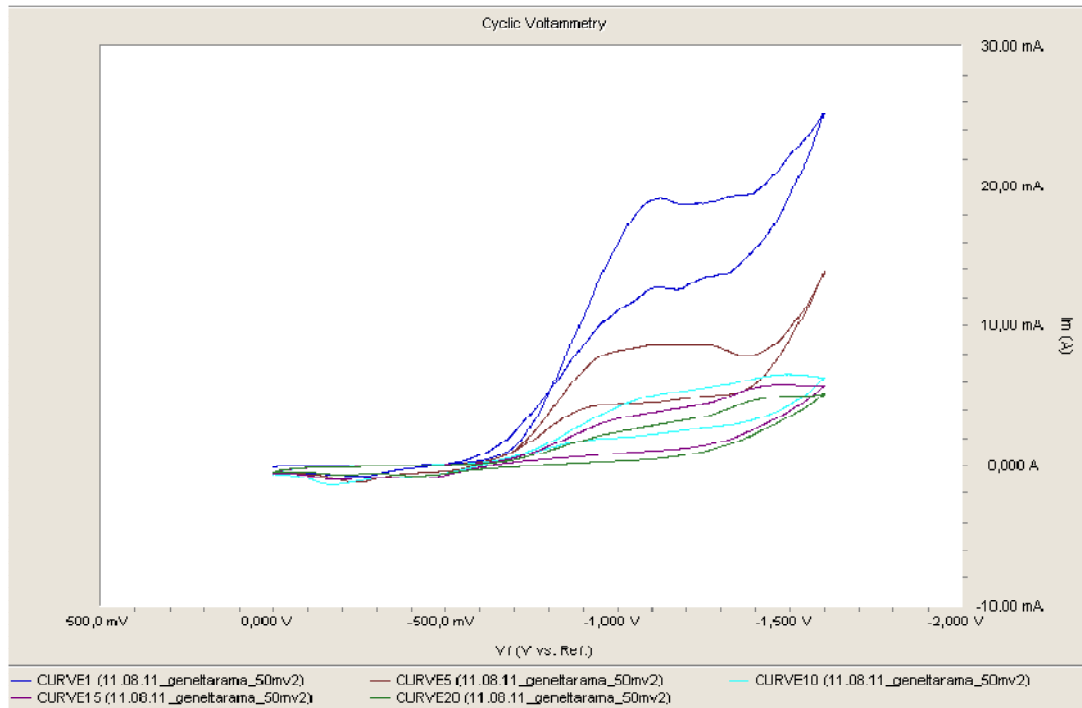
Kimyasal basamak:



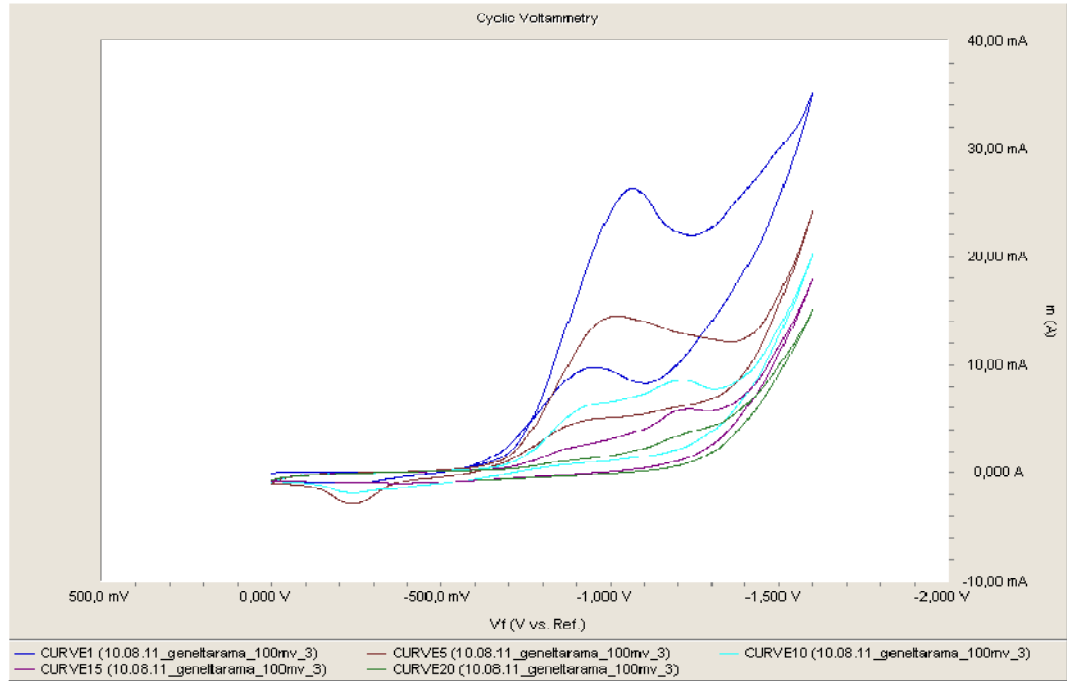
5.5

Tablo 5.2 0V ile -1.6V arasında değişik tarama hızlarında yapılan çevrimlerin tepe noktalarının maksimum akım ve potansiyel değerleri

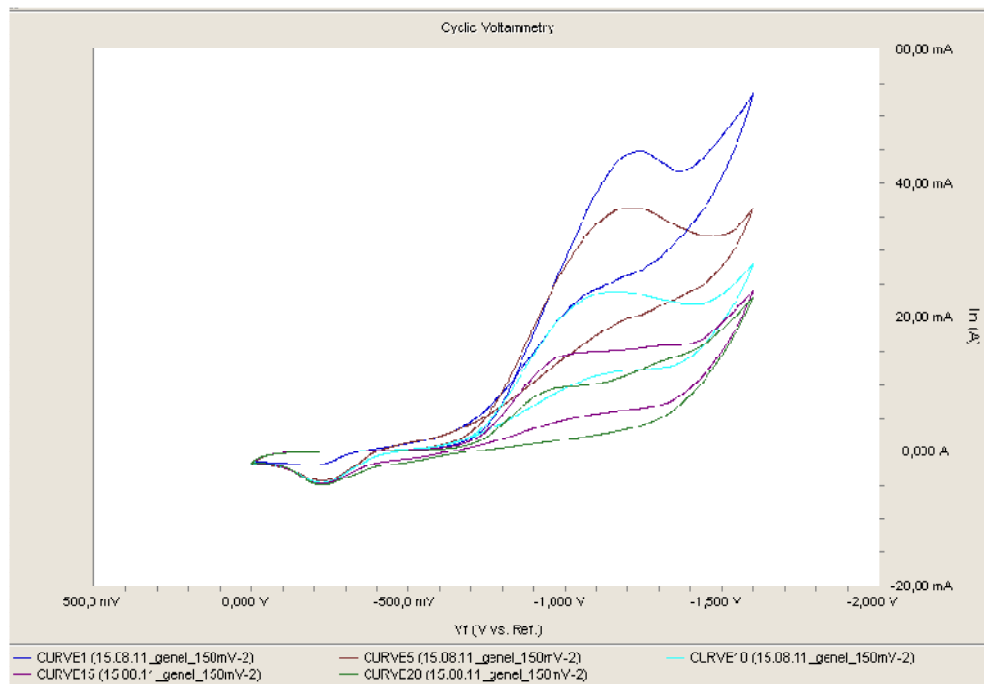
Tarama hızı	Max Akım (mA)	Max Voltaj (V)
50mV/s	17.14	-1.124
	28.93	-1.168
100mV/s	20.54	-1.066
	26.32	-1.070
150mV/s	30.59	-1.118
	45.27	-1.240



Şekil 5.8 0V ile -1.6V arasında 50mV/s tarama hızında yapılan çevrimlerin 1, 5, 10, 15 ve 20 çevrimleri

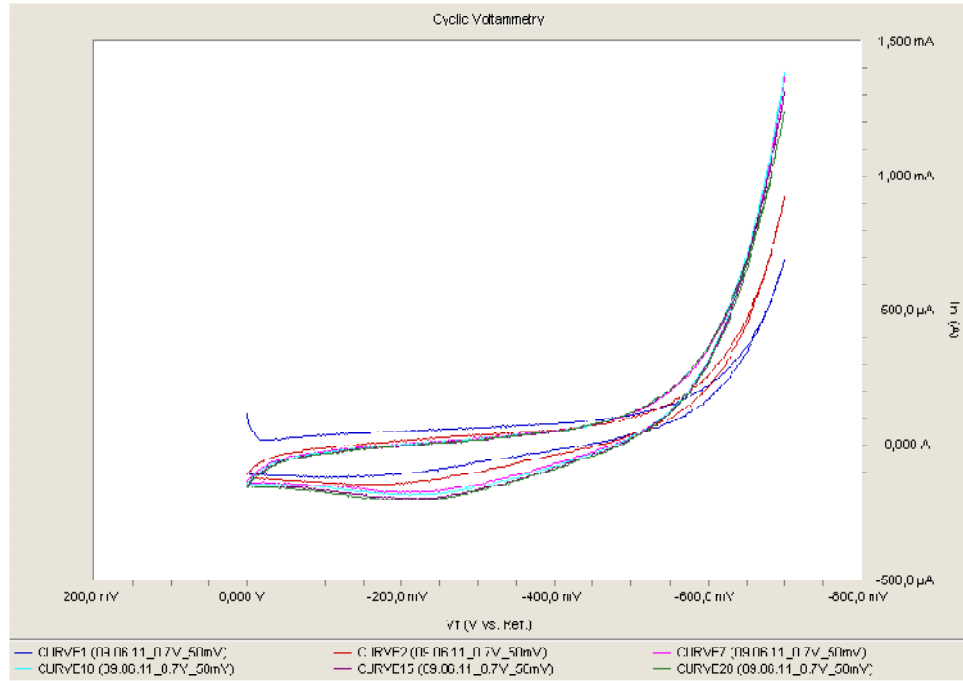


Şekil 5.9 0V ile -1.6V arasında 100mV/s tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 5., 10., 15. ve 20. çevrimleri

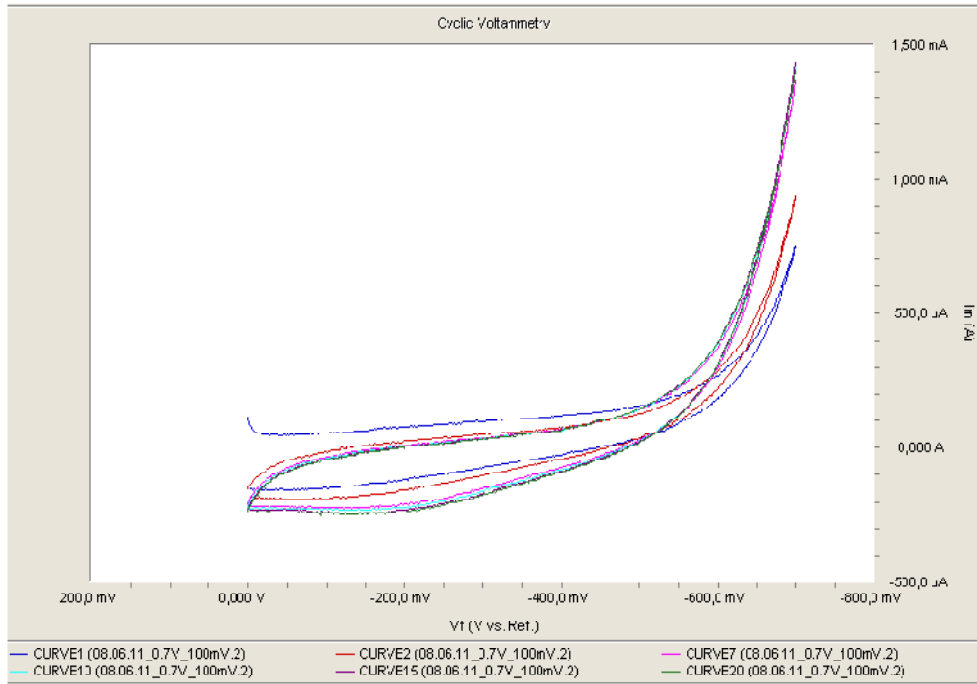


Şekil 5.10 0V ile -1.6V arasında 150mV/s tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 5., 10., 15. ve 20. çevrimleri

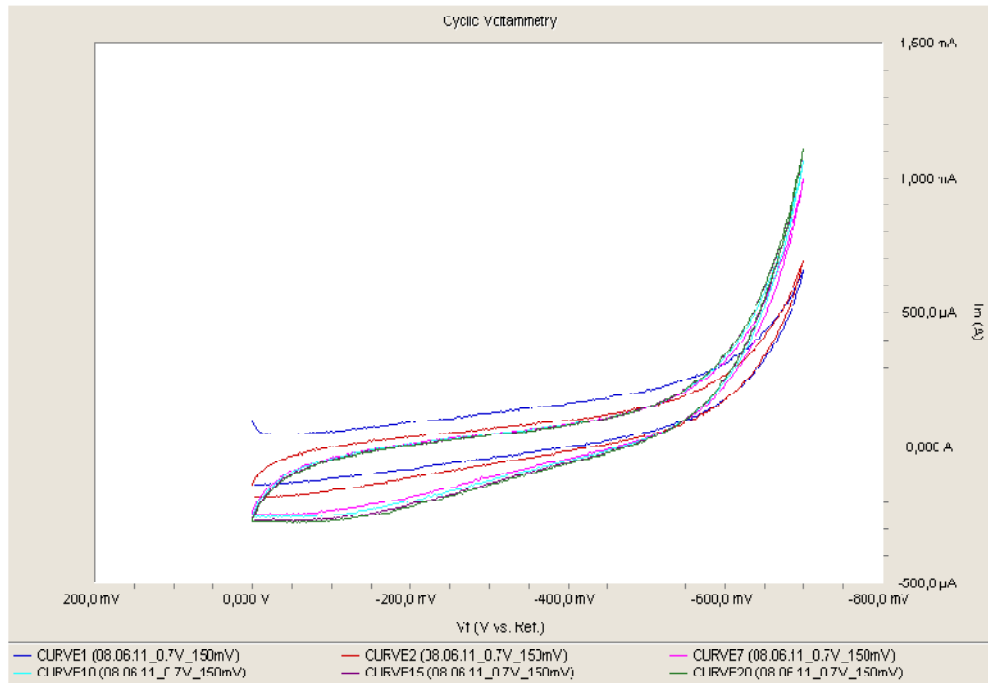
-0.8V ve üzeri değerlerde kaplama gözenekliliğinin gaz çıkışından dolayı arttığını belirtmiştik. Bundan dolayı çevrimde hedeflenen potansiyel değerinin -0.8V altına düşürülmesi kararlaştırılmıştır. -0.5V ve -0.6V değerlerinde akım yoğunluğunun düşük kalması polimerizasyon başlama hızını düşürmüş ve kaplama kalınlıklarını olumsuz yönde etkilemiştir. Bu sebepten dolayı -0.7V optimum potansiyel değeri olarak belirlenmiştir. 0V ile -0.7V arasında değişik tarama hızlarında (50, 100, 150mV/s) ve çevrim sayısında (20 ve 50) yapılan döngüsel voltametri grafikleri şekil 5.11 – 5.16 arasında verilmiştir. Görüldüğü üzere çevrim sayısının veya tarama hızının döngüler üzerinde belirgin bir etkisi olmamıştır. Fakat döngü sayısının artması kaplama kalınlıklarını arttırmıştır. Kaplama oluşukça akım değerlerinde düşüş olmaması, döngü sayısı ne olursa olsun kaplamalardaki gözeneklilik oranının pek değişmediğinin bir göstergesidir. Benzer bulgular Giglio ve grubu tarafından Ti altlık üzerine poli(HEMA) kaplama çalışmalarında tesbit edilmiştir. Çevrimleri 0V ile -1,2V değerleri arasında 100mV/s tarama hızında yapmışlar ve 20. çevrim sonunda akım değerlerinin düşmemesini Ti elektrot üzerinde gözenekli bir kaplama elde etmeleriyle açıklamışlardır (Giglio, 2010).



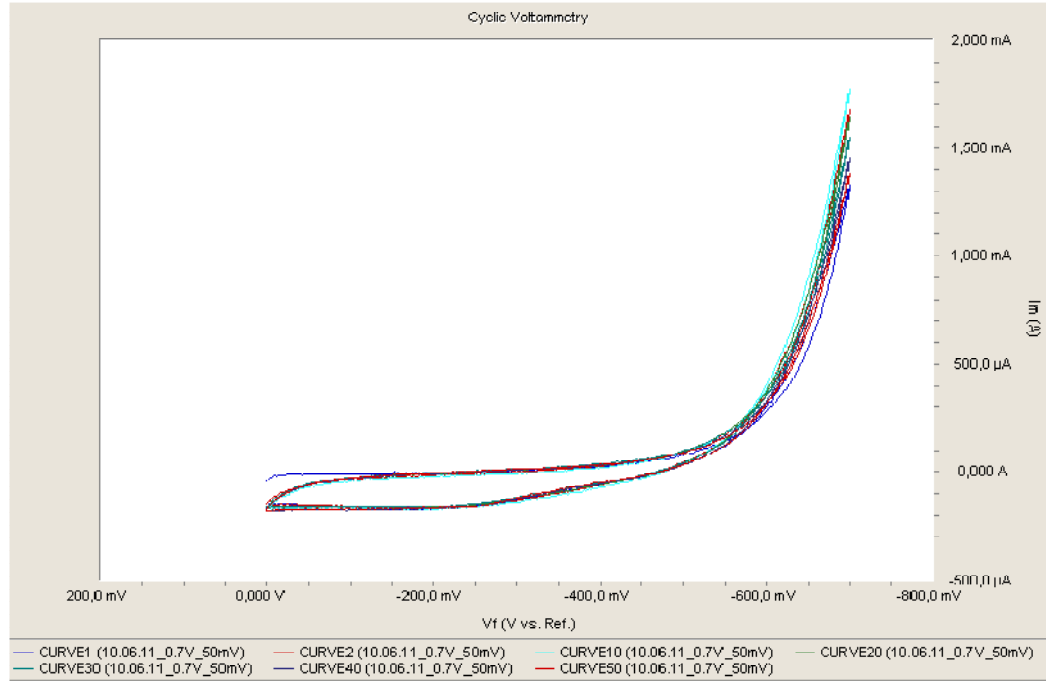
Şekil 5.11 0V ile -0.7V arasında 50mV/sn tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 2., 7., 10., 15. ve 20. Çevrimleri



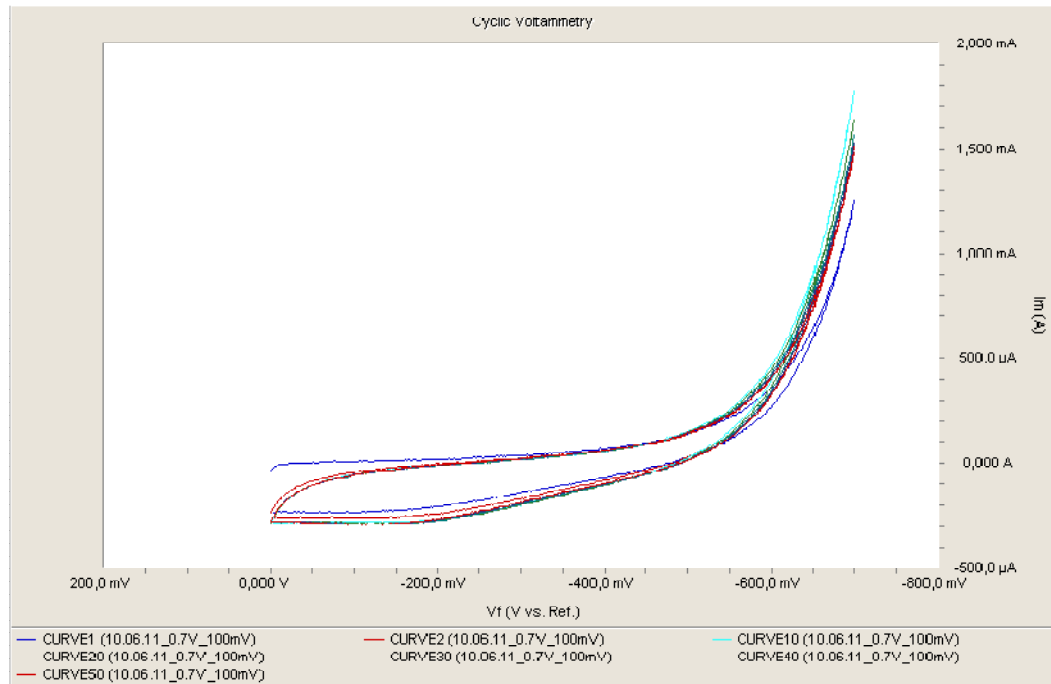
Şekil 5.12 0V ile -0.7V arasında 100mV/sn tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 2., 7., 10., 15. ve 20. çevrimleri



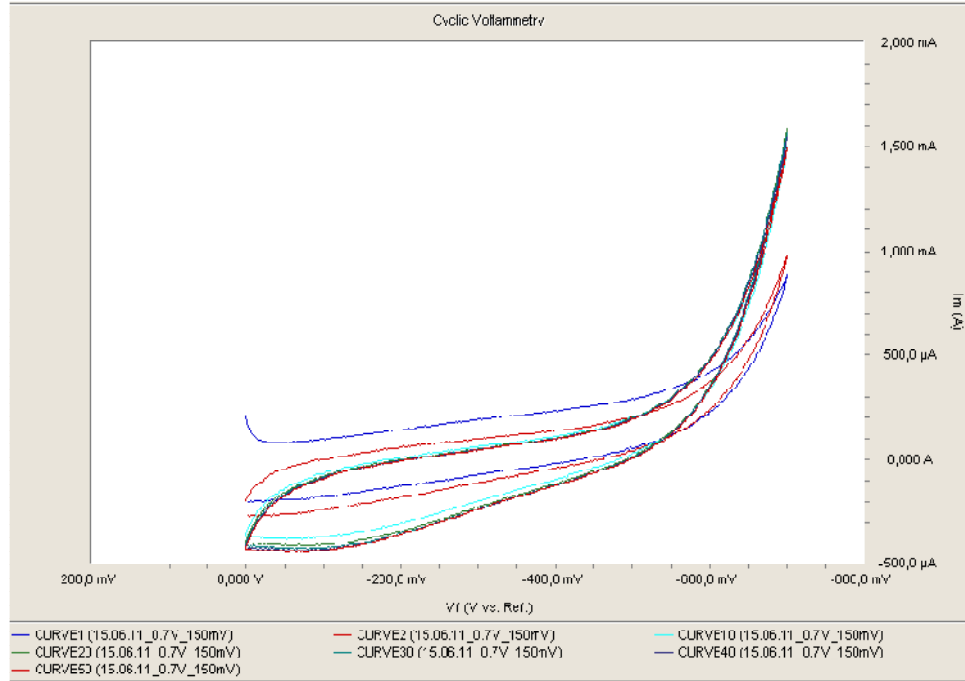
Şekil 5.13 0V ile -0.7V arasında 150mV/s tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 2., 7., 10., 15. ve 20. çevrimleri



Şekil 5.14 0V ile -0.7V arasında 50mV/s tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 2., 10., 20., 30., 40. ve 50. Çevrimleri

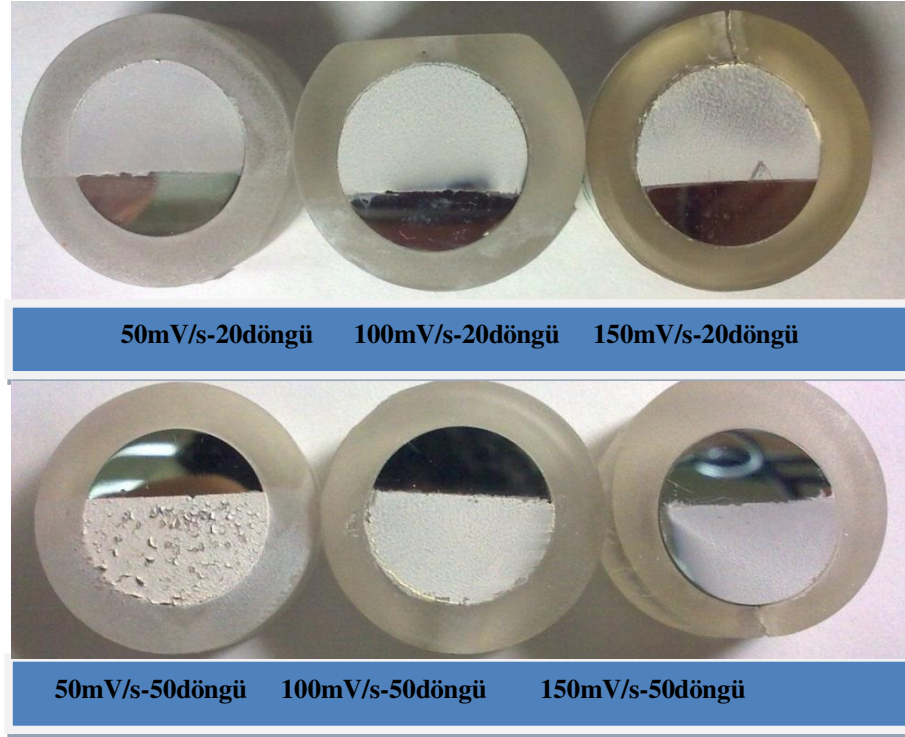


Şekil 5.15 0V ile -0.7V arasında 100mV/s tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 2., 10., 20., 30., 40. ve 50. çevrimleri



Şekil 5.16 0V ile -0.7V arasında 150mV/s tarama hızında yapılan çevrimlerin 1., 2., 10., 20., 30., 40. ve 50. çevrimleri

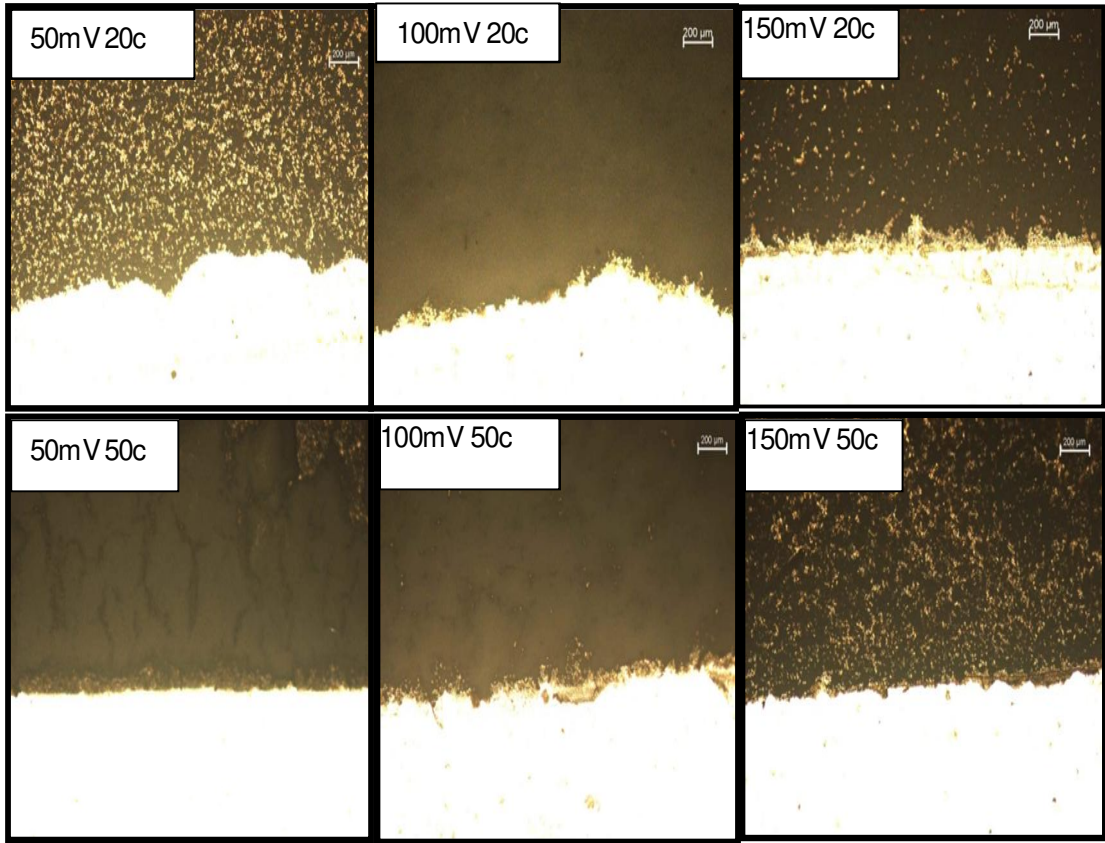
Üç farklı tarama hızında (50, 100, 150 mV/s) ve iki farklı çevrim sayısında (20, 50) elde ettiğimiz numunelere ait örnek fotoğraflar Şekil 5.17’de verilmiştir. Kaplamaların bir kısmı bölümümüzde bulunan yüksek çözünürlüklü yüzey profilometresi (Ambios XP Series) cihazında kaplama kalınlığını ölçebilmek için metal yüzeyinin yarısı bantlanarak yapılmıştır. Her numunede iki farklı noktadan kaplama kalınlıkları ölçülmüş ve 1. ve 2. değerler olarak sonuçları Tablo 5.3’de verilmiştir. 150 mV/s tarama hızında yapılan kaplamalar altlıktan kolayca sıyrıldığı için kalınlık ölçümü yapılamamıştır. Numunelerin 50 büyütmedeki optik görüntüleri Şekil 5.18’de verilmiştir. Tablo 5.3 ve Şekil 5.18’den anlaşıldığı üzere döngü sayısı arttıkça kaplama kalınlığı artmaktadır, bu da altlıktan gelen sinyallerin azalmasını sağlamaktadır. Fakat en kalın kaplamanın elde edildiği 50mV/s ve 50 çevrim şartlarında kaplama yüzeyinde kabuklanma görülmüştür, bu da artan pürüzlülük değerleriyle doğru orantılıdır. Bu bulgular doğrultusunda en optimal şartlar; 100mV/s tarama hızı, 20 veya 50 çevrim sayısı olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.17 Üç farklı tarama hızında (50mV/s, 100mV/s, 150mV/s) ve 2 farklı çevrim sayısında (20,50) yapılan kaplama örneklerine ait fotoğraflar.

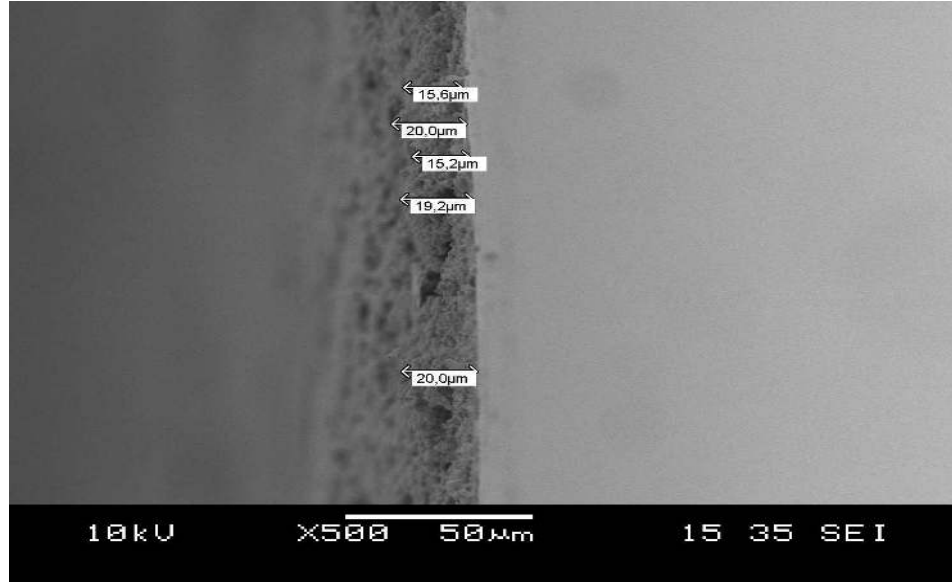
Tablo 5.3 Kaplamaların kalınlık ve pürüzlülük değerleri

Tarama hızları		20 döngü			50 döngü		
		Max kalınlık (μm)	Ort. Kalınlık (μm)	Ra (μm)	Max kalınlık (μm)	Ort. Kalınlık (μm)	Ra (μm)
50mV/s	1	12.7	7.14	2.01	53.7	39.6	9.22
	2	12.8	7.09	1.96	65.9	30.1	7.95
100mV/s	1	18.2	13.7	1.87	25.3	16.7	4.10
	2	18.0	13.3	1.36	20.8	16.2	4.18
150mV/s		Data alınamadı			Data alınamadı		

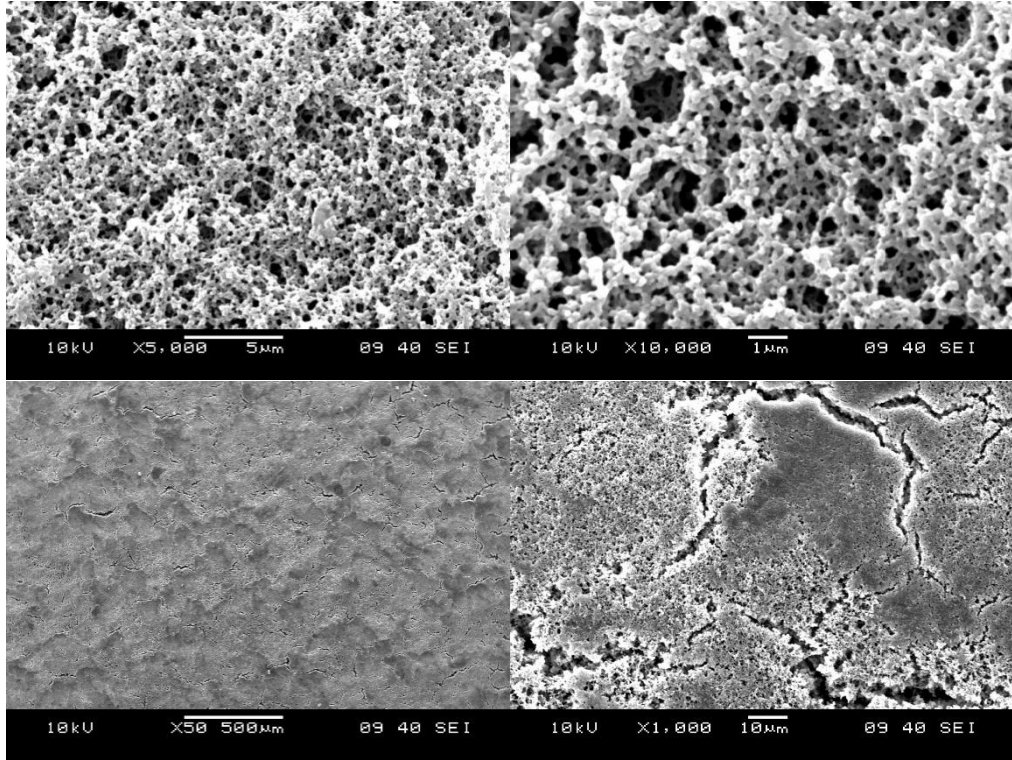


Şekil 5.18 Numumelerin 50 büyütmedeki optik görüntüleri

100mV/s tarama hızında ve 50 döngüde ürettiğimiz kaplamanın SEM ile yapılan kalınlık ölçümü Şekil 5.19’de verilmiştir. Buradan elde ettiğimiz kaplama kalınlık değeri 18 μm (şekilde belirtilen 5 ayrı ölçümün ortalaması) profilometre cihazının sonuçlarıyla (16,5 μm) uyumludur. Numuneye yüzeyden bakıldığında 1000 büyütmede çatlak oluşumları, 5000 ve 10000 büyütmelerde gözenekli polimer yapısı görülmektedir (Şekil 5.20). Gözenekli yapının mineralizasyon aşamasında minerallerin hidrojel bünyesine yayılmasında faydalı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca, yapıda elektropolimerizasyon sırasında kullanılan tuzların kristal yapılarının görünmemesi, numunelerin suda bekletilme sürelerinin (24 saat) yeterli olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.19 100 mV/s tarama hızında ve 50 döngü ile üretilen kaplamanın yandan görüntüsü



Şekil 5.20 100 mV/s tarama hızında ve 50 çevrim ile üretilen kaplamanın farklı büyütmelerdeki yüzey görüntüleri.

5.3. Hidrojel Kaplamanın Su Tutma Kapasitesi Ölçümleri

Su tutma kapasitesi, belirli bir sıcaklıkta kuru hidrojin absorbe ettiği suyun ağırlığının, tamamen suyla doymuş hidrojin ağırlığına oranına denir. Hidrojin yüzde su tutma kapasitesi, kuru (W_{kuru}) ve suyla doymuş ($W_{ıslak}$) hidrojel ağırlıklarından, 3. Bölümde belirtilen eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmaktadır. (Giglio, 2009)

Çalışmamızda elde edilen hidrojel kaplamaların kuru ağırlıkları (W_{kuru}), hidrojin 40°C sıcaklıkta 24 saat kurutulup, desikatörde 24°C sıcaklığa gelmesinden sonra alınmıştır. Suyla doymuş hidrojel ağırlık ($W_{ıslak}$) ölçümlerinde, ilk olarak hidrojin distile su içerisinde 24 saat bekletilerek şişmesi sağlanmış ve daha sonra doymuş hidrojel distile sudan çıkartılarak 24°C sıcaklıkta ağırlığı dengeye gelinceye kadar bekletilmiştir. Deney sonuçları Tablo 5.4’de belirtilmektedir. Beklenildiği üzere çapraz bağlayıcı oranı arttıkça polimerin şişmesi, bir başka ifadeyle su tutma özelliği azalmaktadır. Su tutma yüzdesi sonuçlarının, polimerizasyon 0,5gr çapraz bağlayıcı ile yapıldığında birbirine daha yakın olması, polimerizasyon sırasında oluşan kopolimer zincirlerinin çözünürlüğünün daha az olmasına bağlanabilir.

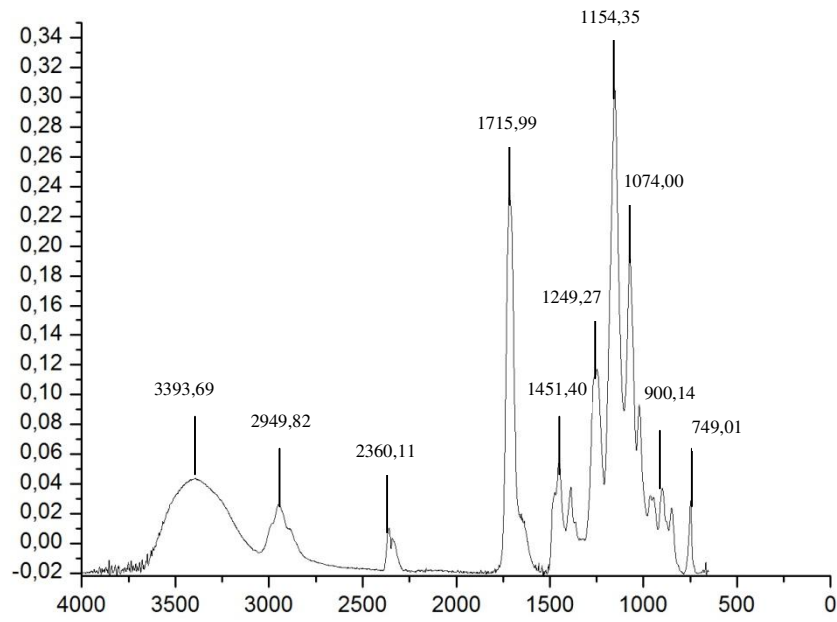
Tablo 5.4 Hidrojel kaplamaların distile su ortamında su tutma kapasiteleri.

Su Tutma Yüzdeleri (%)	0,2gr Çapraz bağlayıcı	0,5gr Çapraz bağlayıcı
1. Deneme	%90	%50
2. Deneme	%76	%51

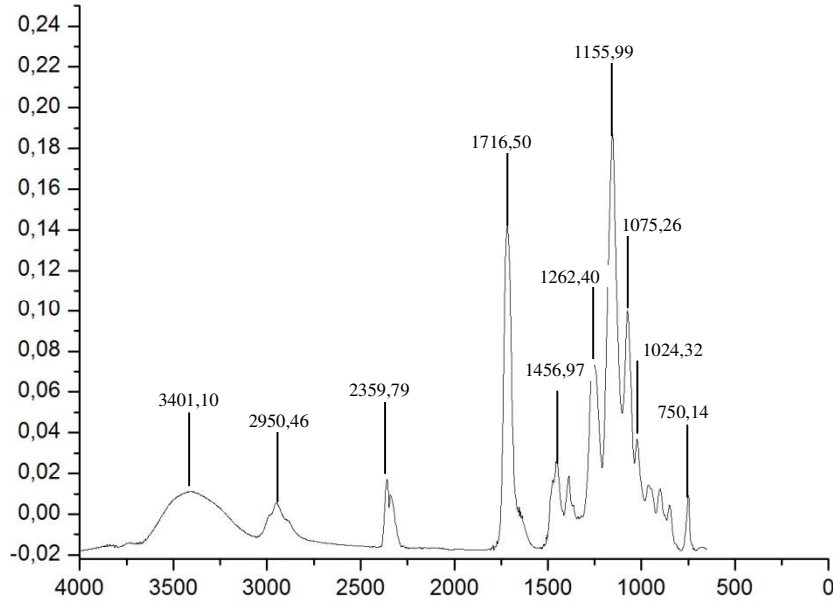
5.4. Hidrojin FTIR Karakterizasyonu

Su tutma deneyleri sonunda, hidrojel kaplamalar altlıktan kazınarak FTIR analizleri yapılmıştır (Şekil 5.21 – 5.22). FTIR spektrumlarında HEMA ve GDMA yapısında bulunan O-H, C-H ve C=O’ya ait gerilme bantlarının absorbands frekansları sırasıyla, ~3400, ~2950 ve ~1716 cm^{-1} olarak bulunmuştur. Literatürden de bilindiği üzere frekans değeri 3500 cm^{-1} altında bulunan O-H absorbands bandı, monomerlerin yapısında bulunan birincil O-H gruplarının arasında hidrojen bağları olduğunu

göstermektedir (O-H...O-H). Ayrıca, C-H eğilme titreşimleri $\sim 1455 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülürken, ~ 1255 ve $\sim 1155 \text{ cm}^{-1}$ frekanslarındaki absorpsiyonlar sırasıyla ester grubuna ve alkol grubuna bağlı C-O gerilme bantlarını temsil etmektedir. İki spektrum arasında, çapraz bağlayıcı az miktarda kullanıldığı ve karakteristik pikleri HEMA'nın pikleri ile örtüştüğü için bir fark görülememektedir.



Şekil 5.21 Poli(HEMA-GDMA)'ya ait FTIR spektrumu (0,2gr çapraz bağlayıcı).



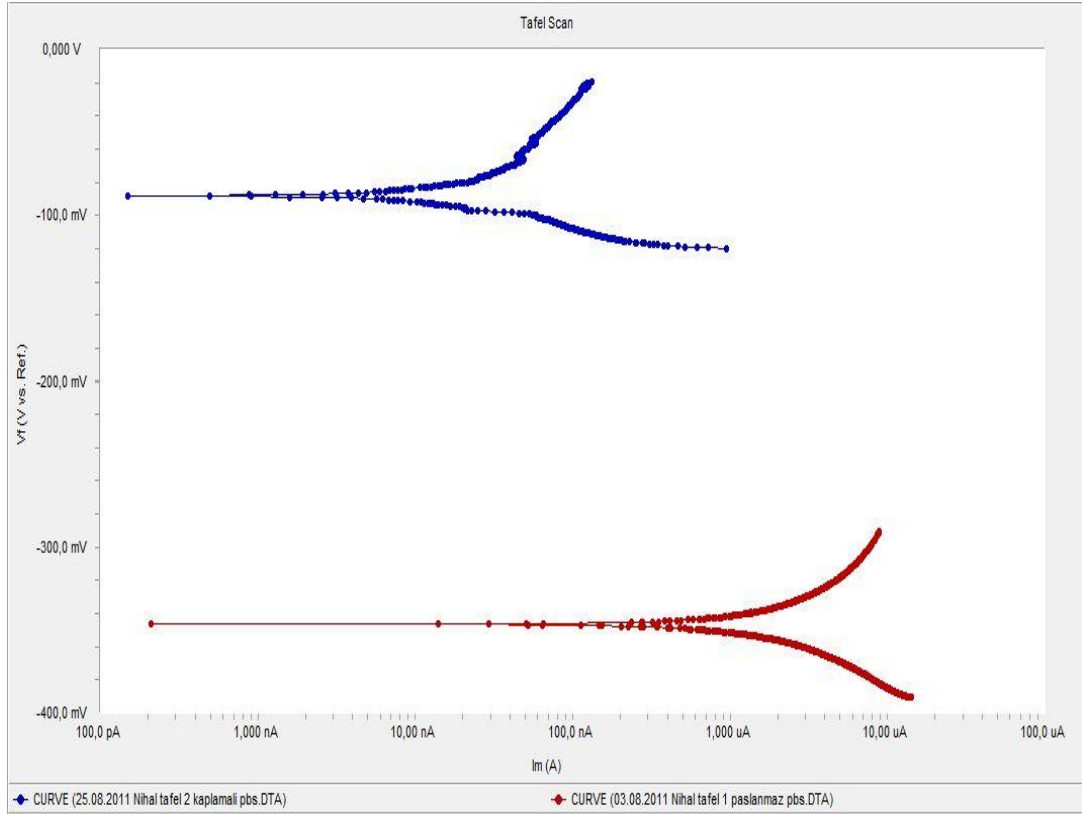
Şekil 5.22 Poli(HEMA-GDMA)'ya ait FTIR spektrumu (0,5gr çapraz bağlayıcılı).

5.4 Korozyon Çalışmaları

Kaplamasız ve kaplamalı numunelerin elektrokimyasal davranışları, üç elektrotlu korozyon sistemi kullanılarak korozyon hücresinde, 37 °C de, % 3.5 NaCl çözeltisi veya fosfat tampon çözeltisi (PBS) kullanılarak, potansiyodinamik polarizasyon tekniği yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Potansiyodinamik polarizasyon deneylerinden önce her çalışma elektrodu, açık devre potansiyelinin kararlı hale gelmesi için 30 dakika boyunca çözelti içerisinde bekletilmiştir. Potansiyel taraması, açık devre potansiyelinin -50 mV altından başlamak kaydıyla katodik yönden anodik yöne doğru 0.25 mV/sn hızla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen eğrilerden Echem Analyst yazılımı yardımıyla yapılan tafel ekstrapolasyonu ile 316L paslanmaz çelik ve hidrojel kaplamalı numunelerin korozyon akım yoğunlukları (i_{corr}), serbest korozyon potansiyelleri (E_{corr}), korozyon hızları ve polarizasyon dirençleri hesaplanmıştır (Tablo 5.6).

Şekil 5.23’da kaplamasız ve hidrojel kaplamalı 316L paslanmaz çeliklerin potansiyodinamik polarizasyon eğrileri gösterilmiştir.



Şekil 5.23 Kaplamasız ve hidrojel kaplamalı 316L paslanmaz çeliklerin potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

Potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinde, anodik ve katodik kolların eğimlerinin doğrusal olduğu bölgeler belirlenmiş, yazılım sayesinde anodik (β_a) ve katodik (β_c) tafel sabiti ve korozyon akım yoğunluğu (i_{corr}) değerleri bulunmuştur. Korozyon akım yoğunluğu ve tafel sabitleri bilinen 316L paslanmaz çeliğin polarizasyon direnci (R_p),

$$R_p = \frac{(\beta_a \beta_c)}{2,303 \cdot i_{corr} (\beta_a + \beta_c)} \quad 5.6$$

Stern–Geary bağıntısı ile hesaplanmıştır (Hwang, 2008). Paslanmaz çeliğin korozyon hızı

$$\text{Korozyon Hızı} = K \cdot i_{\text{corr}} \cdot EA / \rho \dots\dots\dots 5.7$$

eşitliği ile belirlenmiştir. Burada K, kullanılan birim sistemine göre farklı değerler alabilen sabit bir katsayıdır. Korozyon hızının hesaplanmasında bulunan i_{corr} değerlerine ek olarak yoğunluk (ρ) ve eşdeğer ağırlık (EA), parametrelerinin de her alaşım için ayrı ayrı bilinmesi gerekmektedir. Saf metallerin eşdeğer ağırlıklarını birbirinden farklı olduğu gibi her alaşımın da kendisine has bir eşdeğer ağırlığı vardır. Alaşımların EA değerinin aşağıdaki eşitlik yardımıyla bulunmuştur.

$$EA = \sum \frac{f \cdot x \cdot A}{n} \quad 5.8$$

Denklemini özetlemek gerekirse eşdeğer ağırlık, alaşımı oluşturan her bir elementin tek tek alaşım içindeki kütlece yüzde oranıyla (f) atom ağırlığının (A) çarpılıp tesir değerliğine (n) bölünmesi ve bu değerlerin tamamının toplanması sonucu bulunur. Tesir değerliği yükseltgenme/indirgenme reaksiyonu esnasında metalin çözeltiye verdiği ya da aldığı elektron sayısıdır. 316L paslanmaz çeliğin kimyasal kompozisyonlarında bulunan elementlerden en çok olan demir, krom ve molibdenin sulu çözeltilerde;



reaksiyonları şeklinde yükseltgenir ve iyon haline geçerler. Bu nedenle tesir değerlikleri demir için iki, krom ve molibden için üçtür.

Tablo 5.5 316L paslanmaz çeliğin yoğunluk ve eşdeğer ağırlıkları.

	Yoğunluk (g/cm ³)	Eşdeğer Ağırlık (EA) (g/eşdeğer)
316 L paslanmaz çelik	7.80	25.50

Elde edilen sayısal veriler ışığında kaplamasız ve kaplamalı 316L paslanmaz çelik için hesaplanan korozyon hızları ve polarizasyon dirençleri Tablo 5.6’da verilmiştir.

Tablo 5.6 Kaplamasız ve hidrojel kaplamalı 316 L paslanmaz çeliğinin korozyon hızları ve polarizasyon dirençleri.

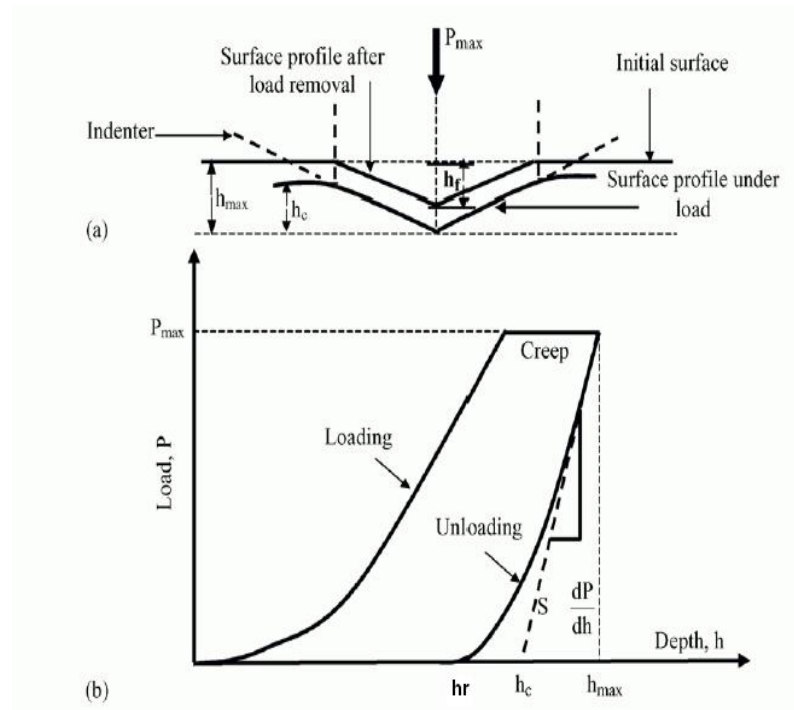
Malzeme	E _{corr} (V)	I _{corr} (A/cm ²)	β _a (V)	β _c (V)	Korozyon Hızı (mm/yıl)	Polarizasyon Direnci (ohm.cm ²)
316L paslanmaz çelik	- 346.4	2.75x10 ⁻⁶	0.1738	0.1049	29.4x10 ⁻⁹	10.329x10 ³
Hidrojel kaplamalı 316L paslanmaz çelik	- 88.34	2.33x10 ⁻⁸	0.0718	0.0278	24.9x10 ⁻¹¹	3.73x10 ⁵

Potansiyodinamik polarizasyon testlerinde hidrojel kaplamalı 316L paslanmaz çeliğin korozyon akım yoğunluğu diğer kaplamasız haline göre azalma göstermiştir. Korozyon akım yoğunluğunun düşüşüyle, kaplamanın koruyucu özellik sağlayarak altlık malzemenin korozyona uğramasını önlediği gözlenmiştir. Kaplamalı 316L paslanmaz çeliğin kaplamasız alaşımlara göre polarizasyon direncinin daha yüksek ve korozyon hızının çok daha düşük olması çevrimsel voltametri tekniğiyle kaplanan 316L paslanmaz çeliğin korozyona karşı etkin bir koruma sağladığı söylenebilir.

5.5 Mikro İndentasyon Testi

Hidrojel kaplamaların elastisite modülü ve sertlik ölçümleri Dynamic Ultra Micro Vickers Hardness Tester ile gerçekleştirilmiştir. 1mN yük, yüzeyin 3 farklı bölgesine uygulanarak ölçümler yapılmış ve hidrojel kaplamanın elastisite modül ve sertlik değerleri hesaplanmıştır.

İndentasyonun şematik kesit gösterimi ve mikro indentasyon testinin tipik yük-derinlik eğrisi Şekil 5.24’de gösterilmektedir.



Şekil 5.24 (a) İndentasyonun kesitsel olarak şematik gösterimi ve (b) mikro indentasyon testinden yük-derinlik eğrisinin gösterimi (Malayoglu, 2011)

İndentasyon testi teorik geçmişi Oliver ve Pharr tarafından oluşturulmuştur (Oliver, 1992). P , indentasyon yükü; h , iz bırakan ucun elastik derinlik mesafesi; α ve m sabittir.

$$P = \alpha(h - h_r)^m$$

5.12

Yükün çekildiği yani grafikte geri dönüş eğrisinin %20'si, S , sertlik olarak tanımlanır. Temas derinliği, h_c , $(h-h_{\max})$ maksimum derinlikte eşitlik 5.12'nin türevi ile bulunur. Temas yüzeyinin sertliği,

$$S = \frac{dP}{dh} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A_c} \quad 5.13$$

E_r , indirgenmiş elastisite modülü ve A_c temas alanıdır. Oliver ve Pharr'ın kullandıkları metoda göre, E_r ve A_c aşağıdaki gibi hesaplanır,

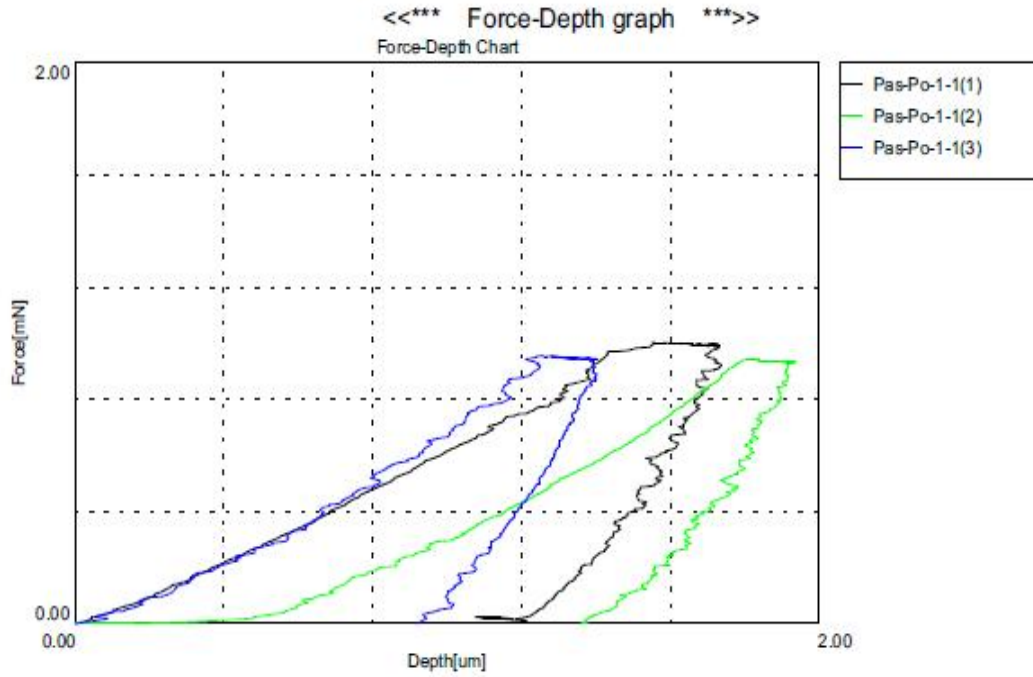
$$\frac{1}{E_r} = \frac{1-\gamma^2}{E} + \frac{1-\gamma_i^2}{E_i} \quad 5.14$$

$$A_c = 24.5h_c^2 \quad 5.15$$

E ve γ malzemenin, E_1 ve γ_1 iz bırakan ucun parametreleridir. Geleneksel mikro sertlik testine benzer olarak, mikro indentasyon sertliği aşağıdaki formülü kullanılarak bulunur.

$$H = \frac{P_{max}}{A_c} \quad 5.16$$

100 mV/s tarama hızında, 50 döngüde elde ettiğimiz kaplama numunesine ait yük-derinlik grafikleri Şekil 5.25'te ve buradan elde edilen elastisite modülü ve sertlik sonuçları Tablo 5.7'de verilmiştir.



Şekil 5.25 100 mV/s tarama hızında, 50 döngüde elde ettiğimiz kaplama numunesine ait yük-derinlik grafikleri (*P_{max}=1mN).

Tablo 5.7 100 mV/s tarama hızında, 50 döngüde elde ettiğimiz kaplama numunesinin 3 farklı bölgesine uygulanan mikro indentasyon test sonuçları.

	F(mN)	h_{max} (μm)	h_r (μm)	h_c (μm)	E(MPa)	A_c (μm ²)	H(MPa)
1	0.9923	1.724	1.077	1.380	336.2	46.65	21
2	0.9347	1.923	1.158	1.533	251.1	57.57	17
3	0.9438	1.395	0.743	1.079	441.5	28.5	35
Ort.	0.9569	1.680	0.992	1.330	342.9	43.33	23

*P_{max}=1mN

5.6 Mineralizasyon Çalışmaları

5.6.1. Üre yardımcı mineralizasyon

Üre yardımcı mineralizasyon çalışmalarımızda, Song ve ekibinin çalışmaları mineralizasyon süresinin kısıtlılığı ve otoklav gerektirmemesinden dolayı ana referansımız olmuştur. Song ve grubu üre/HAP mol oranını 8 olarak ayarlamaktadır. Lu, Aizawa ve Neira'nın kullandıkları başlangıç maddelerine göre üre/HAP mol

oranı 3,6'ya denk gelmektedir. Ön çalışmalarımızda kaplanmış numunelerin kalıplarının, reaksiyon ortamından ve sıcaklığından hasar gördüğü ve karıştırmanın hidrojel kaplamayı attığı tespit edilmiştir (Song ve ekibi'de prosedürlerinde karıştırma yapmadıklarını vurgulamışlardır). Sonraki çalışmalarımız numuneler kalıplarından çıkartılarak ve karıştırma olmadan yapılmıştır.

Deneme numuneleri olarak, hem 0V - -0.7V'arası yapılan çevrimsel voltametri ile elde edilen ve kaplamanın daha homojen olduğu örnekler, hem de 0V - -1.6V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen oldukça pürüzlü ve yer yer altlığın gözüktüğü örnekler kullanılmıştır. Buradaki amaç, metal yüzeyinde mineralizasyon tabakası oluşumu olup olmadığını ve pürüzlülüğün minerallerin tutunmasında katkı sağlayıp sağlamadığını izlemektir. Fakat, 0V ile -0.7V'arası yapılan çevrimsel voltametri taramalardan elde edilen örneklerde sıcaklık artışıyla birlikte hidrojel kaplamasını attığı tespit edilmiş, bundan dolayı üre yardımcı mineralizasyon çalışmalarımıza sadece 0V ile -1.6V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen örnekler kullanılarak devam edilmiştir. İlk iki deneme üre/HAP oranını belirlemek için yapılmıştır: 1. denememizde üre/HAP oranı 3,6; 2. denememizde 8 olarak kullanılmıştır. Hazırlanan çözelti yaklaşık 3 saatte 80°C sıcaklığa çıkartılmış, numuneler 80-92°C arası sıcaklıkta yaklaşık 6,5 saat kalmışlardır. Deney süresince alınan bazı ölçümler Tablo 5.8'de verilmiştir.

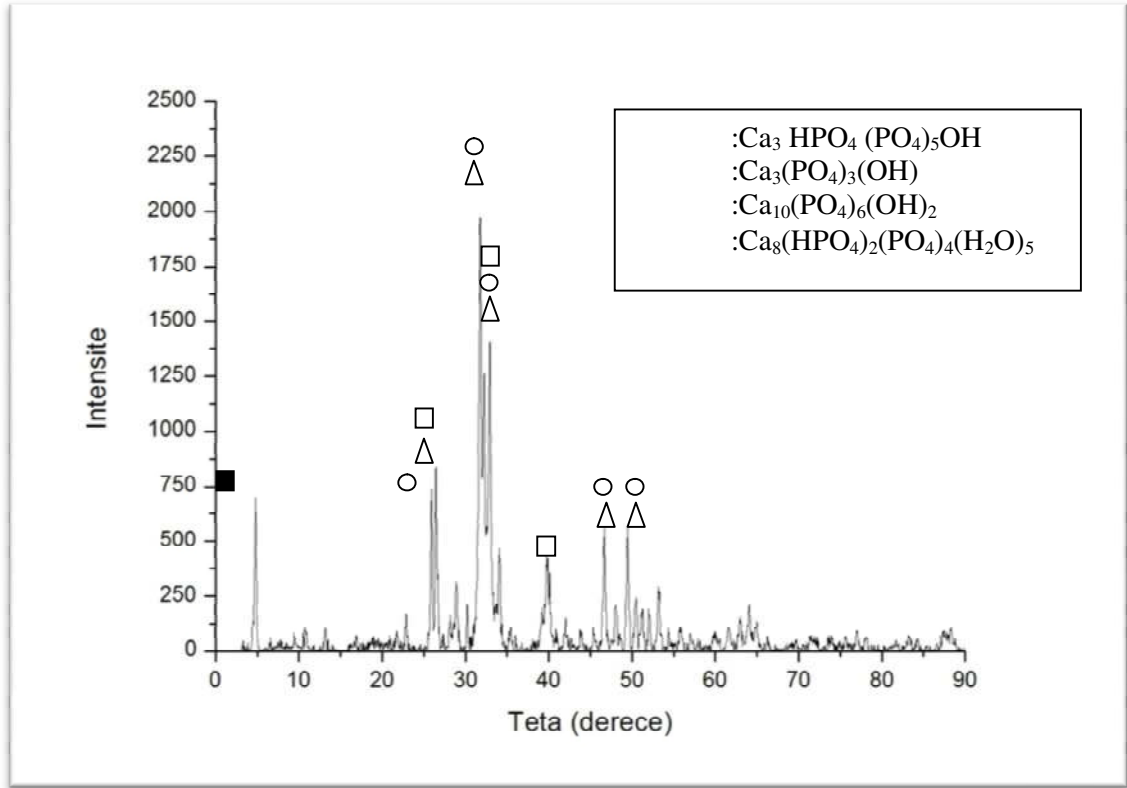
Deneyin ilk evrelerinde artan sıcaklık ile ürenin hidrolizi sonucu hidroksil iyonu (OH⁻) oluşumu sağlanmış ve çözeltinin pH değerinde artma gözlemlenmiştir (reaksiyon 3.1, 3.2). Oluşan OH⁻ iyonları bir yandan da çözeltide bulunan fosfat iyonlarıyla asit-baz tepkimeleri vermektedir (reaksiyon 3.3-3.5). Bu da ilerleyen zamanda OH⁻ iyon konsantrasyonunun azalmasına ve çözelti pH'ında bir miktar düşmeye sebep olmuştur. Ayrıca çözelti içinde bulunan Ca⁺² iyonlarının da pH 3,5 dan sonra fosfat iyonlarıyla birleşip çökmeye başladığı gözlemlenmiştir (reaksiyon 3.6-3.8).

Tablo 5.8 Mineralizasyon denemeleri takip tablosu.

Deneme 1 (üre/HAP=3,6)		Deneme 2 (üre/HAP=8,0)
Başlangıç pH	2,88	2,77
Başlangıç sıcaklık	26°C	27°C
Başlangıç zaman	13:30	13:30
t = 15:00	pH= 3,70 T=71°C Çökelme başladı	pH= 3,97 T=77°C Çökelme başladı
t = 16:40	pH= 5,60 T=82°C	pH= 6,50 T=86°C
Sıcaklık kapatılarak gece boyunca numuneler çözeltilerinin içinde beklemeye bırakıldı.		
sabah	pH= 7,0 T=32°C	pH= 7,50 T=33°C
t = 11:00	pH= 6,6 T=80°C	pH= 6,6 T=87°C
t = 16:30	pH= 6,2 T=87°C	pH= 6,3 T=92°C
Sıcaklık kapatılarak gece boyunca numuneler çözeltilerinin içinde beklemeye bırakıldı.		
sabah	pH= 7,4 T=33°C	pH= 7,50 T=34°C
Numuneler çıkartılarak distile su ile yıkanmış, daha sonra 40°C sıcaklıkta 24 saat kurutularak SEM analizi için hazırlanmıştır. XRD analizi için, çözeltilerde kalan çökeltiler filtre kağıdı ile süzülerek, su ve etanol ile yıkanıp, kurutulmuştur.		

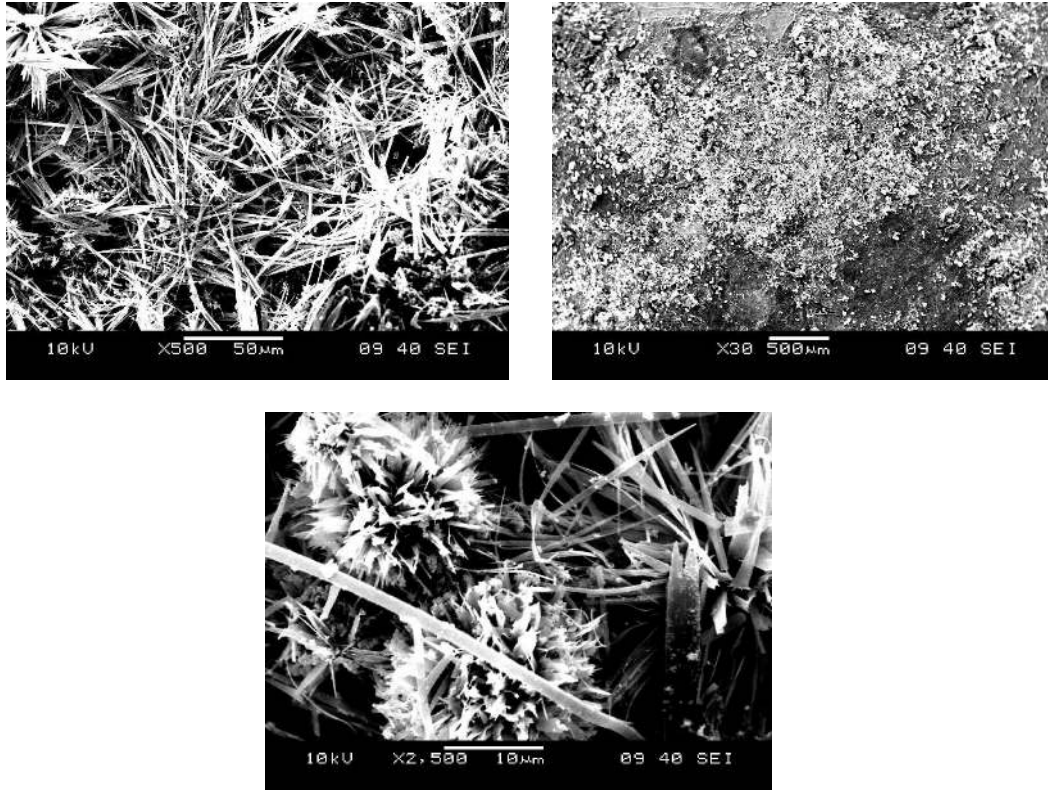
Deneme 1 ve deneme 2’den elde edilen çökeltilerin XRD sonuçları Şekil 5.26 ve 5.30’de görülmektedir. Deneme 1’in XRD sonucuna göre elde edilen çökeltilerde $2\theta=4,7^\circ$ ’de OCP’ye ait (JCPDS no= 01-079-0423), $2\theta=26,5^\circ$ ’de DCPA’ya ait (JCPDS no= 01-070-1425) ve $2\theta=31,7^\circ$, $32,1^\circ$, $32,9^\circ$ ’lerde HAP’e ait olan (JCPDS no= 00-009-0432) karakteristik pikler açıkça görülmektedir. Bundan dolayı elde edilen Ca-fosfat mineralinin üç farklı fazdan oluştuğu düşünülmektedir. Neira’nın

2008 yılında yaptığı çalışmasında $T=90^{\circ}\text{C}$, $t=72$ saat ve $\text{pH}_{\text{son}}=6,9$ olarak belirttiği numunelerinde de aynı üçlü faz elde edilmiştir.

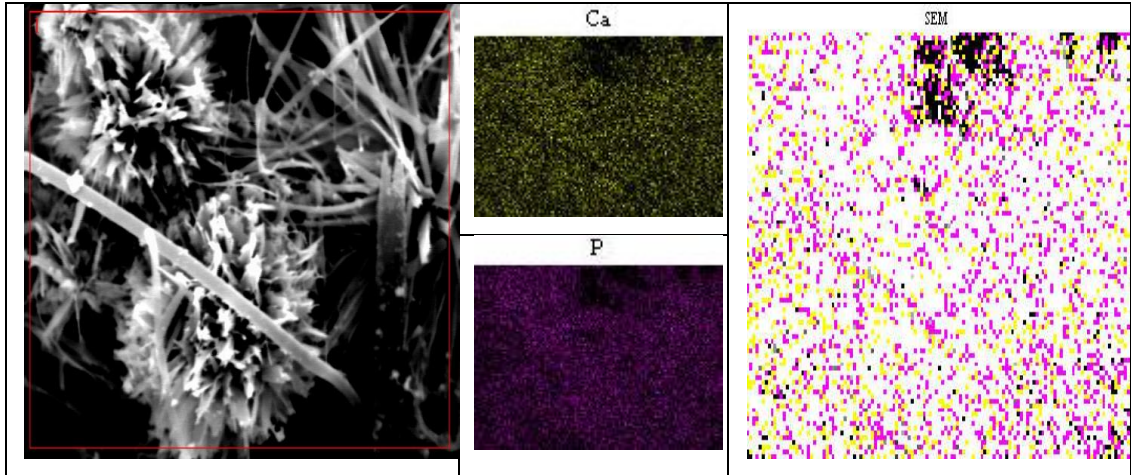


Şekil 5.26 Deneme 1’den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin XRD çıktısı.

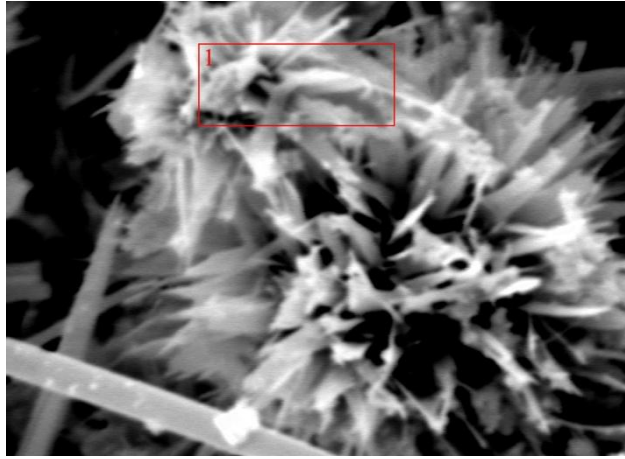
Deneme 1’den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin değişik büyütme ölçeklerindeki SEM görüntüsü Şekil 5.27’de verilmiştir. Mineralin yüzeye yayıldığı ve XRD sonucundan da anlaşılabildiği üzere değişik morfolojik yapıda kristallerden oluştuğu görülmektedir (mikro-fiber ve çiçeğimsi) (Şekil 5.27). Ca ve P elementlerine göre yapılan map analizi sonucunda her iki elementinde yüzeye homojen bir şekilde dağıldığı, beyaz altlığın hidrojel olduğu ve siyah kısımlarında metalden gelen sinyaller olduğu açıkça görülmektedir (Şekil 5.28). Buna dayanarak polimer altlığın olmadığı yerlerde yani metal yüzeyinde mineralizasyon tabakası oluşmadığı söylenebilir. Yapılan EDS analizleri sonucunda çiçeğimsi yapıdaki Ca/P oranı 1,29; mikro-fiber yapıdaki Ca/P oranı 1,17 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.29). Teorik olarak OCP’nin Ca/P oranı 1.33, DCPA’nın Ca/P oranı 1,0’dır. Buna dayanarak çiçeğimsi morfolojinin OCP fazı, mikro-fiber morfolojinin DCPA olduğu düşünülebilir.



Şekil 5.27 Deneme 1’den elde edilen Ca-fosfat çöktürüsünün SEM görüntüleri



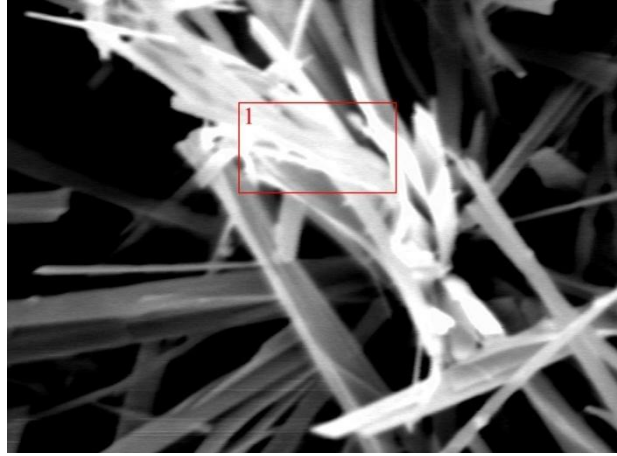
Şekil 5.28 Deneme 1’den elde edilen Ca-fosfat çöktürüsünün Ca ve P map analiz sonuçları.



Component	Mole Conc.	Conc.		
O	42.873	24.956	wt. %	
P	24.918	28.079	wt. %	
Ca	32.209	46.965	wt. %	
	100.000	100.000	wt. %	Total

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	
O	Ka	22.41	0.947	24.956	wt. %
P	Ka	77.48	1.760	28.079	wt. %
Ca	Ka	62.38	1.580	46.965	wt. %
				100.000	wt. % Total

kV	10.0
Takeoff Angle	35.0°
Elapsed Livetime	100.0



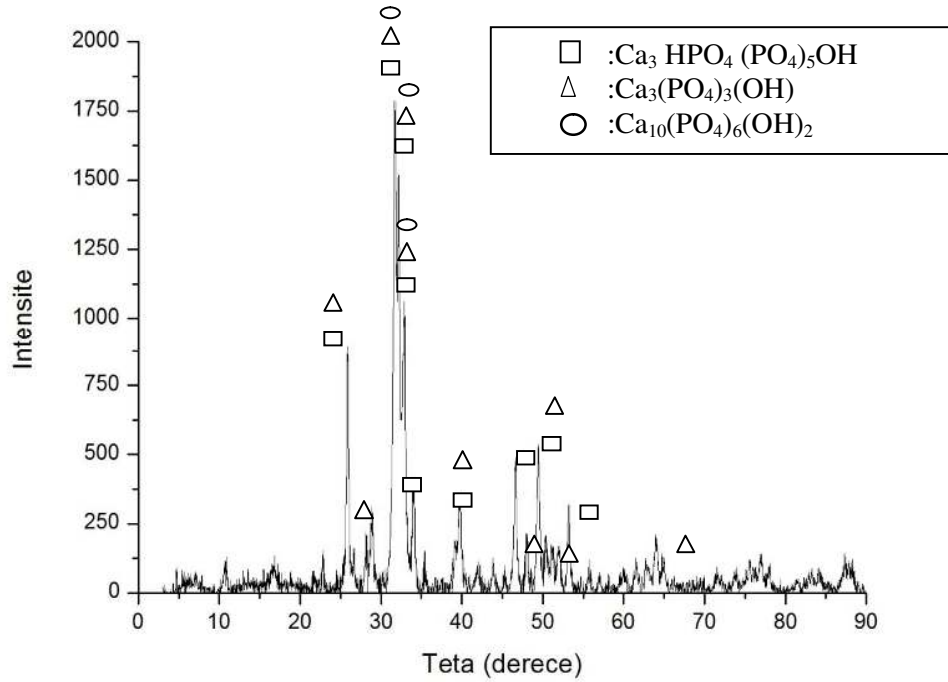
Component	Mole Conc.	Conc.		
P	25.126	28.966	wt. %	
O	45.365	27.015	wt. %	
Ca	29.509	44.019	wt. %	
	100.000	100.000	wt. %	Total

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Error 2-sig	Conc	
O	Ka	25.97	1.019	27.015	wt. %
P	Ka	82.60	1.818	28.966	wt. %
Ca	Ka	60.36	1.554	44.019	wt. %
				100.000	wt. % Total

kV	10.0
Takeoff Angle	35.0°
Elapsed Livetime	100.0

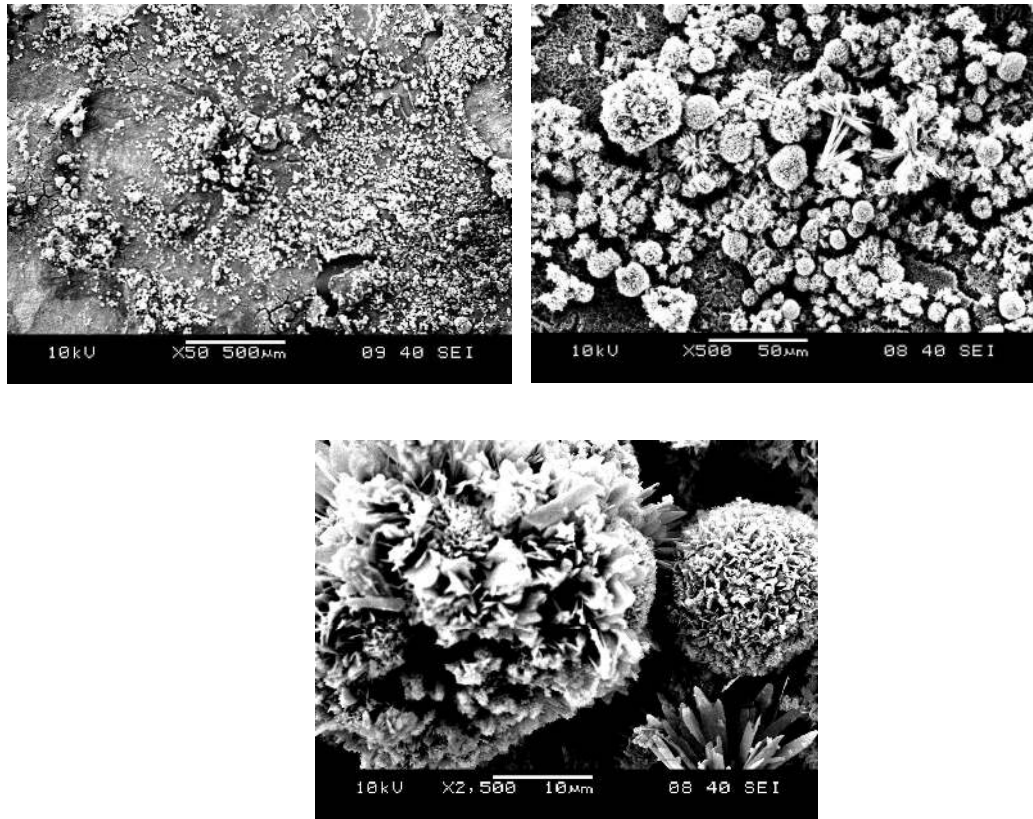
Şekil 5.29 Deneme 1'den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin EDS analiz sonuçları.

Deneme 2'nin XRD sonucunda ise $2\theta=4,7^\circ$ 'de OCP'ye ve $2\theta=26,5^\circ$ 'de DCPA'ya ait olan karakteristik piklerin kaybolduğu açıkça görülmektedir (Şekil 5.30). Spektrum HAP spektrumu ile oldukça uyumludur.

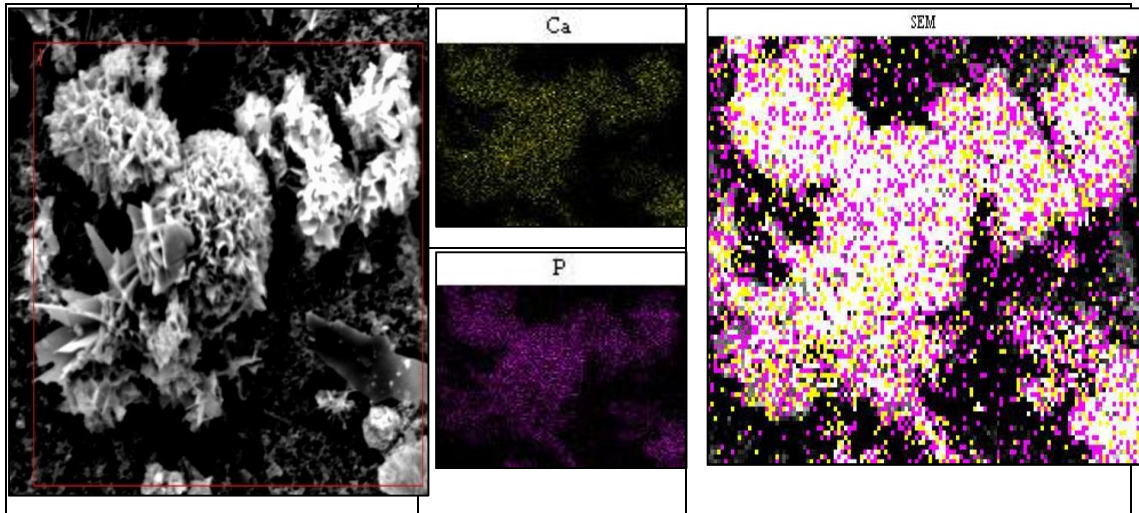


Şekil 5.30 Deneme 2’den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin XRD çıktısı.

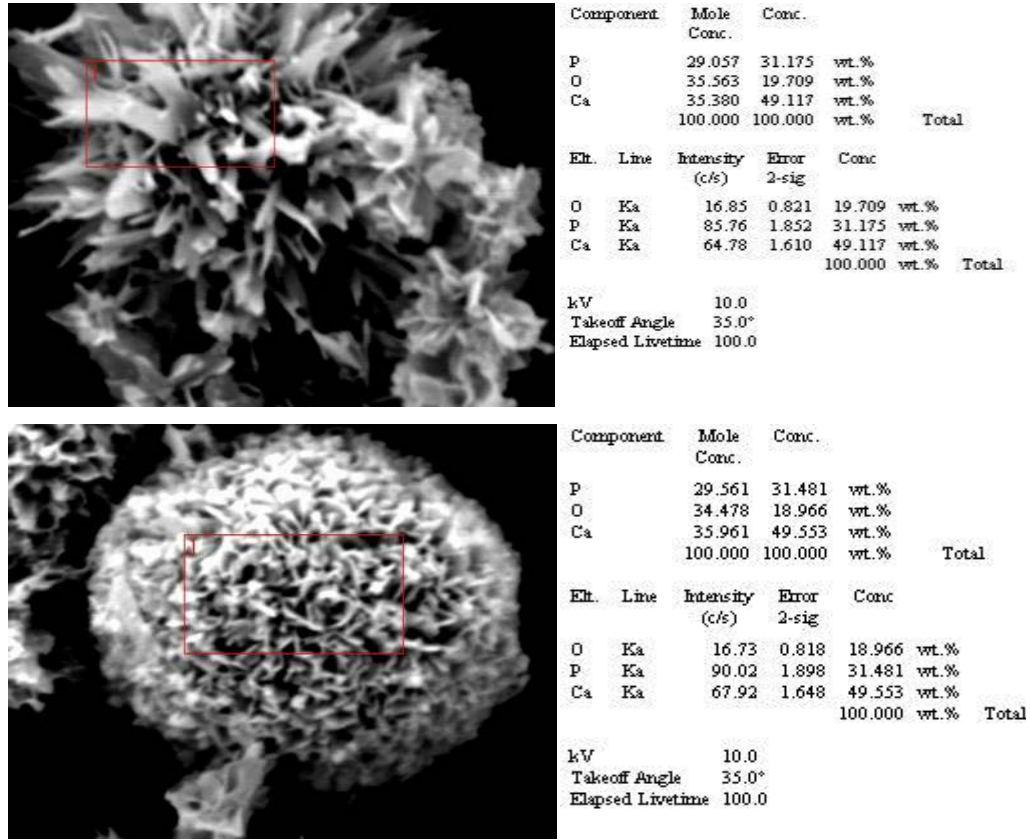
Deneme 2’den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin değişik büyütme ölçeklerindeki SEM görüntüsü Şekil 5.31’de verilmiştir. Mineralin yüzeye yayıldığı ve çekirdeklenme noktalarından büyüyen küresel kümelerden oluştuğu görülmektedir. Song ve grubunun çalışmasındaki gibi elde edilen Ca-fosfat kristallerinin çiçeğimsi, çiçeğin yapraklarının ise tabakalı morfolojik yapıda olduğu söylenebilir (Şekil 5.31). Ca ve P elementlerine göre yapılan map analizi sonucunda her iki elementinde polimer olan yüzeye homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir (Şekil 5.32). Yapılan iki ayrı EDS analizi sonucunda yapıdaki Ca/P oranı 1,22 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.33). Teorik olarak HAP’in Ca/P oranı 1,67’dir. XRD datası ile EDS sonuçları maalesef ölçüşmemektedir. Song ve grubu EDS analizlerinde EDS’i HAP’e göre kalibre ettiklerini vurgulamışlardır. Fakat Bölümümüzde EDS’in HAP’e göre kalibrasyonu yapılamamıştır.



Şekil 5.31 Deneme 2’den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin SEM görüntüleri.

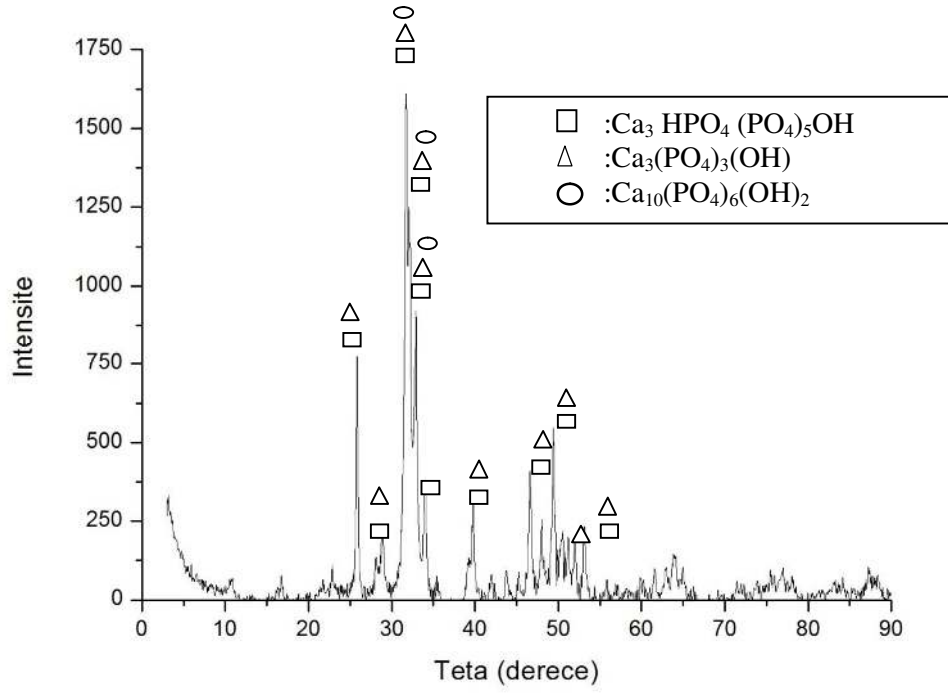


Şekil 5.32 Deneme 2’den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin Ca ve P map analiz sonuçları

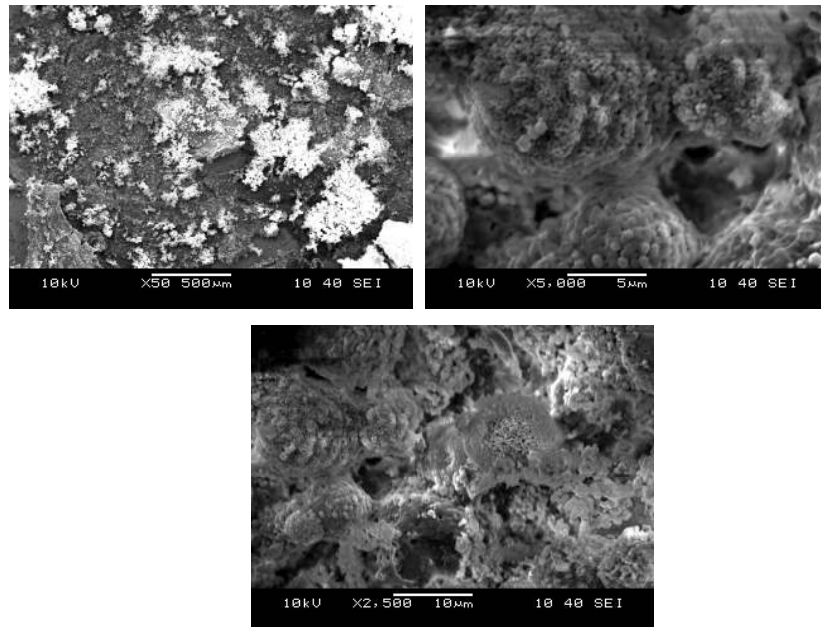


Şekil 5.33 Deneme 2’den elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin EDS analiz sonuçları

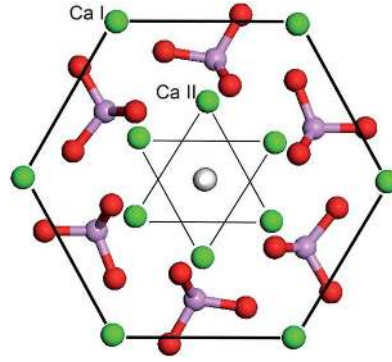
Deneme 3’te, mineralizasyon kalınlığını ve sürekliliğini arttırmak için reflüks sistemi kurulmuş, mineralizasyon süresinin kesintisiz olarak 95°C’de 24 saat olması sağlanmıştır. Üre/HAP mol oranı 8 olarak kullanılmış, hazırlanan çözelti yaklaşık 4 saatte 95°C sıcaklığa çıkartılmış ve bu sıcaklıkta 24 saat kalmıştır. Bu noktadaki pH=7.4 olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık kapatıldıktan sonra örnek bir gün boyunca çözelti içerisinde oda sıcaklığında bekletilmiş, bu süreç sonunda pH değeri Ca-P bileşiklerinden HAP’in daha kararlı olduğu 8.4’e yükselmiştir. Deneme 3’ün XRD sonucunda, spektrumun HAP spektrumu ile oldukça uyumlu olduğu görülmektedir (Şekil 5.34). Deneme 3’ten elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin değişik büyütmelerdeki SEM görüntüsü Şekil 5.35’de verilmiştir. Deneme 2’den farklı olarak, Ca-fosfat kristallerinin yer yer küresel veya hekzagonal yüzeye sahip kümeler halinde bulunduğu gözlenmektedir. HAP’ın hekzagonal kristal yapısının şematik gösterimi Şekil 5.36’da görülmektedir. İnsan kemiğine ve diş minesine bakıldığında HAP’in ana anorganik bileşen olduğu ve sırasıyla tabakalı ve hekzagonal prizma yapısında bulunduğu bilinmektedir (Neira, 2009)



Şekil 5.34 Deneme 3'ten elde edilen Ca-fosfat çöktürüsünün XRD çıktısı.

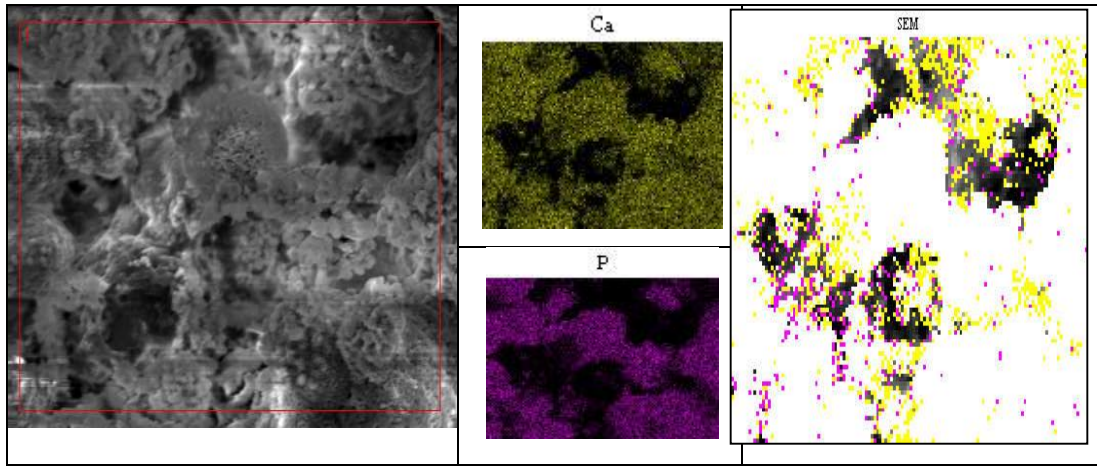


Şekil 5.35 Deneme 3'ten elde edilen Ca-fosfat çöktürüsünün SEM görüntüleri



Şekil 5.36 Hidroksiapatitin en küçük hegzagonal yapı biriminin şematik gösterimi. Renk kodu: Beyaz, OH; yeşil, Ca; mor, P; kırmızı, oksijen.

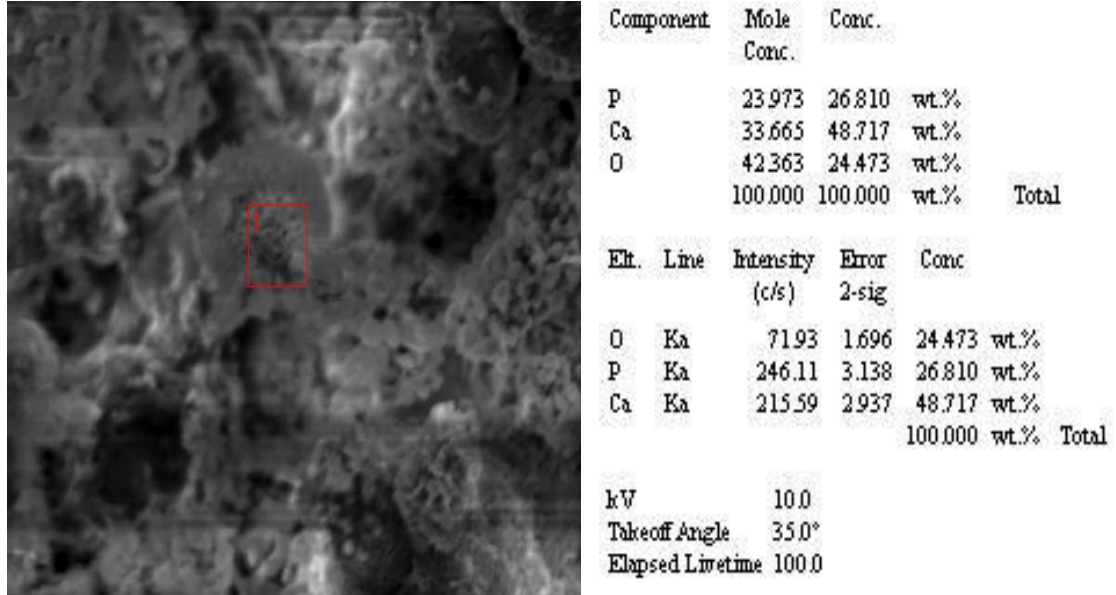
Ca ve P elementlerine göre yapılan map analizi sonucunda her iki elementinde polimer olan yüzeye homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir (Şekil 5.37). EDS analizi sonucunda yapıdaki Ca/P oranı 1,40 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.38)



Şekil 5.37 Deneme 3'ten elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin Ca ve P map analiz sonuçları.

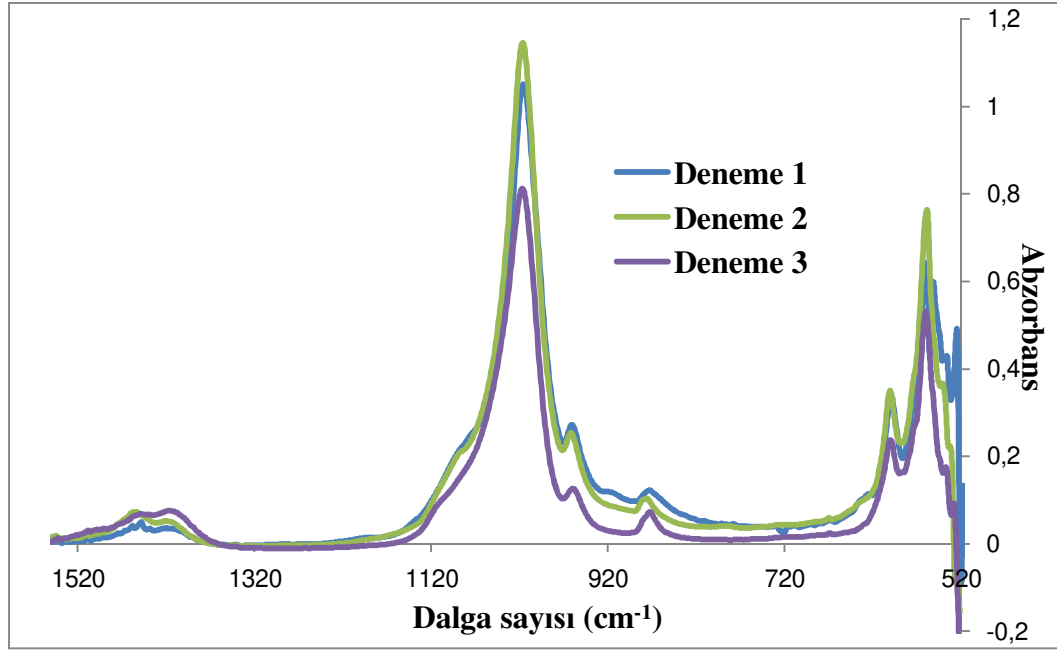
Şekil 5.39'de Deneme 1, 2 ve 3'te elde edilen Ca-P çökeltisinin FTIR spektrumları verilmektedir. Karakteristik apatit PO_4^{3-} grupları; $\sim 1015 \text{ cm}^{-1}$ (P-O bağının asimetrik gerilim modu), $\sim 960 \text{ cm}^{-1}$ (P-O bağının simetrik gerilim modu), ~ 600 ve $\sim 560 \text{ cm}^{-1}$ (O-P-O bağının eğilme modu), literatürle uyumlu olarak tespit edilmiştir. Deneme 1'de, Deneme 2 ve 3'ten farklı olarak HAP fazının yanında DCPA ve OCP fazlarının da bulunduğunu ifade etmiştik. Dolayısıyla, Deneme 1'in FTIR spektrumunda HPO_4^{2-} 'ye ait karakteristik bandların (gerilim modu, 917 cm^{-1} ve 867 cm^{-1} ; eğilme modu, 526 cm^{-1}) bulunması gerekir. Deneme 1'in spektrumunu

incelediğimizde 917 cm^{-1} ve 526 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandları rahatlıkla görülürken, 867 cm^{-1} 'deki bandın 873 cm^{-1} 'deki pikin altında kaldığı düşünülmektedir (Lu, 2006).



Şekil 5.38 Deneme 3'ten elde edilen Ca-fosfat çökeltisinin EDS analiz sonuçları.

Ayrıca, her üç spektrumda da CO_3^{2-} grubuna ait absorpsiyon bandları (~ 1450 , ~ 1420 ve $\sim 873\text{ cm}^{-1}$) görülmektedir. Literatüre göre, eğer CO_3^{2-} iyonları kısmi olarak OH^- iyonlarının yerini alıyorsa absorpsiyon bandları 1544 ve 879 cm^{-1} civarında görülür ve A-tipi karbonatlanmış hidroksiapatit olarak adlandırılır veya eğer CO_3^{2-} iyonları kısmi olarak PO_4^{3-} iyonlarının yerini alıyorsa absorpsiyon bandları 1451 , 1420 ve 874 cm^{-1} civarında görülür ve B-tipi karbonatlanmış hidroksiapatit olarak adlandırılır. Dolayısıyla, üre yardımcı mineralizasyon sonucunda B-tipi karbonatlanmış hidroksiapatit elde edilmiştir. Bu karbonat anyonlarının ürenin hidroliz basamağından geldiği düşünülmektedir. Ayrıca belirtmek gerekir ki, biyolojik apatit ağırlıkça % 3-5 arası karbonat grubu içermektedir, bundan dolayı karbonatlanmış hidroksiapatit eldesi biyomedikal uygulamalar için önem taşımaktadır ((Neira, 2009) ve (Neira, 2008)).



Şekil 5.39 Deneme 1, 2 ve 3'te elde edilen Ca-P çökeltisinin FTIR spektrumları.

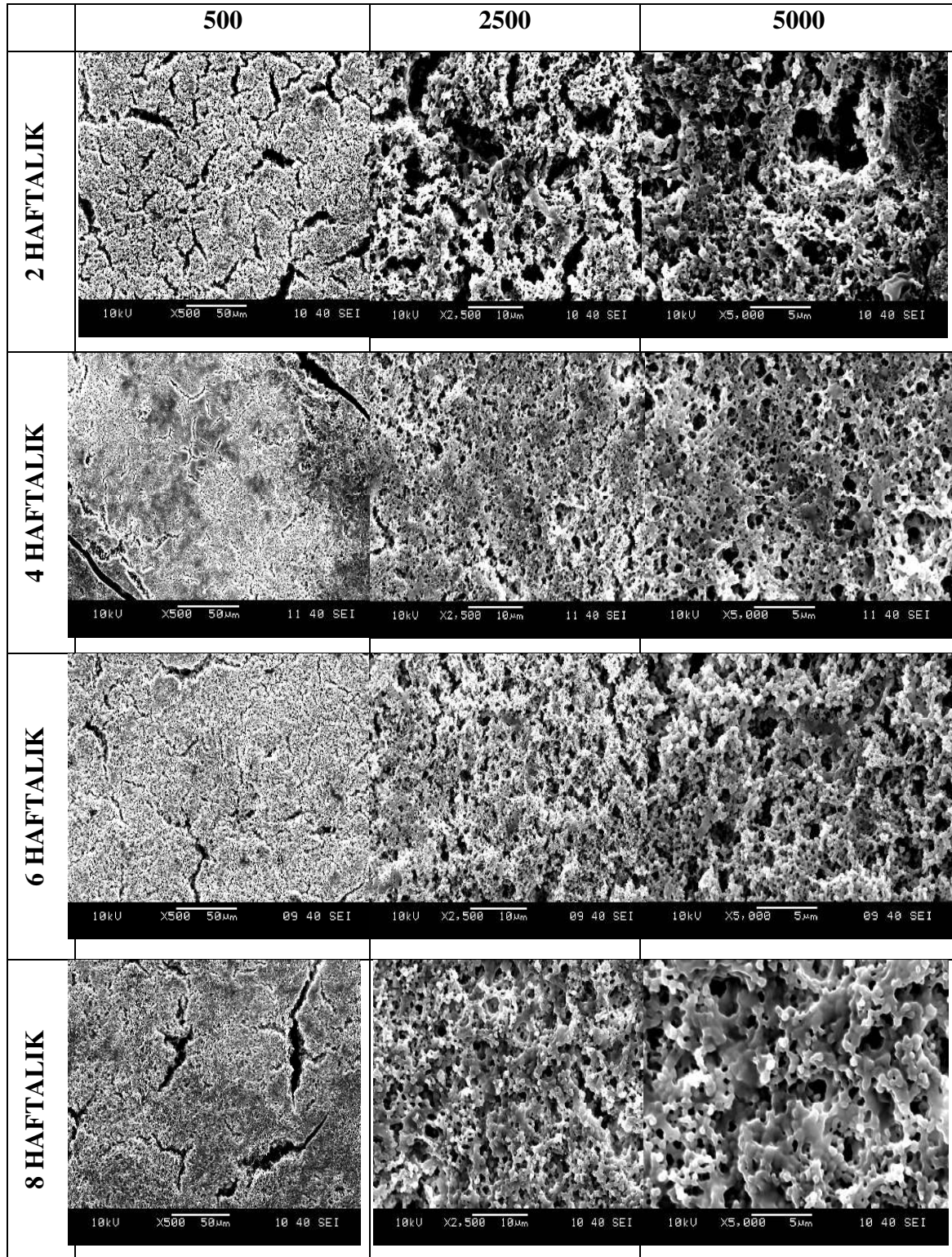
5.6.2 SBF İçerisinde Mineralizasyon

Bir maddenin kemik yapışma kabiliyeti veya kalsifikasyon yeteneği, iyon konsantrasyonu insan kan plazmasına eşdeğer simule edilmiş vücut sıvısı içerisinde (SBF), o maddenin yüzeyinde apatit oluşumu incelenerek değeriendirilebilir. Bu metot malzemenin vücut içerisindeki kemik biyoaktivitesini tahmin etmek için oldukça faydalıdır. Bu sayede hayvan deneylerinin süresi ve kullanılan hayvan sayısı da azaltılabilir.

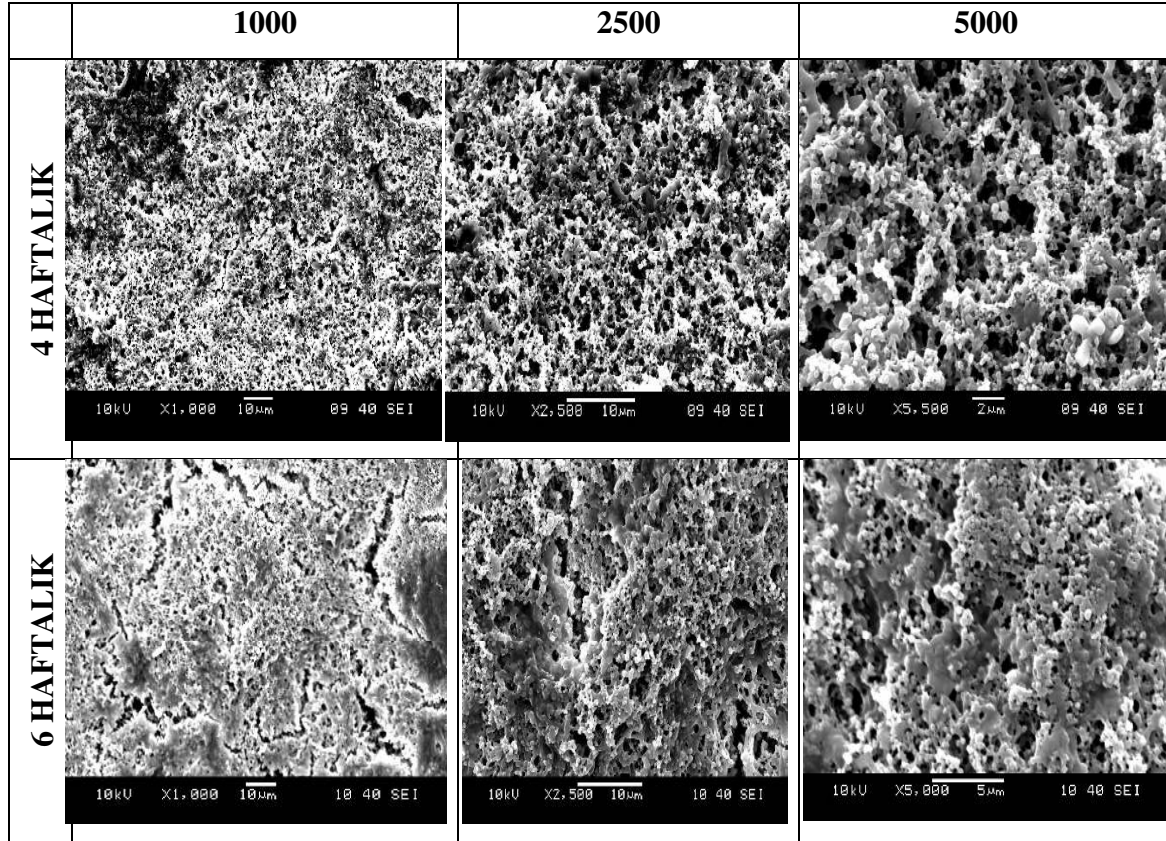
Çalışmamızda elektropolimerizasyon yöntemiyle elde edilen poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların SBF çözeltisi içerisinde kalsifikasyon yeteneği de araştırılmıştır. Deneme numuneleri olarak; öncelikle 0V ile -0.7V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen fakat üre yardımcı mineralizasyon uygulanamayan örnekler ve kalsifikasyon eğilimini karşılaştırmak amacıyla, 0V ile -1.6V'arası yapılan çevrimsel voltametri taramalarından elde edilen oldukça pürüzlü ve yer yer altlığın gözüktüğü örnekler kullanılmıştır.

Poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların SBF inkübasyon sürecindeki SEM ve EDS görüntüleri Şekil 5.40 – 5.45 'de verilmiştir. Her iki koşulda da malzeme yüzeyinde üre yardımcı mineralizasyonda gözlemlenebilen mineral kümeciklerine rastlanamamış veya malzemenin tüm yüzeyini kaplayan bir mineral tabakası oluşumu gözlemlenememiştir. Fakat, EDS görüntülerinden Ca ve P'un malzeme yüzeyine yayıldığı ve artan inkübasyon süresiyle, malzeme yüzeyindeki Ca ve P konsantrasyonunun arttığı anlaşılmaktadır.

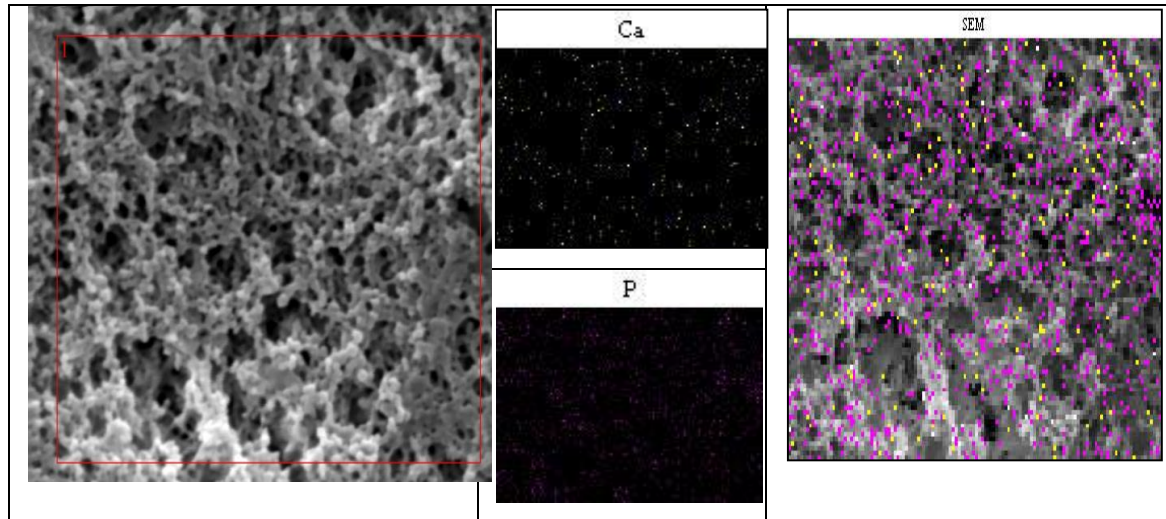
Giglio'nun 2010 yılında yayınlanan bir çalışmasında, poli(HEMA) ve poli(HEMA-MOEP) polimerlerinin kalsifikasyon ve MG63 hücre kültürü eğilimleri karşılaştırılmış, her ne kadar poli(HEMA-MOEP)'in kalsifikasyon eğilimi poli(HEMA)'dan oldukça yüksek çıksada, iki yüzeye de MG63 hücrelerinin oldukça benzer şekilde tutunduğu ve çoğaldığı belirtilmiştir (Giglio E. D., et al., 2010).



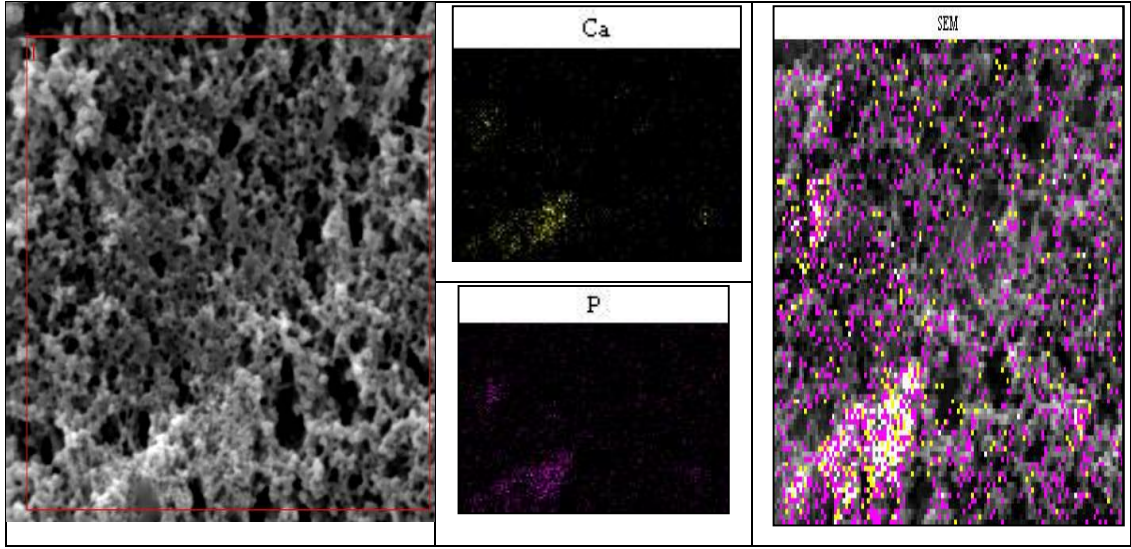
Şekil 5.40 0V - -0.7V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların 8 haftalık SBF inkübasyon sürecindeki SEM görüntüleri



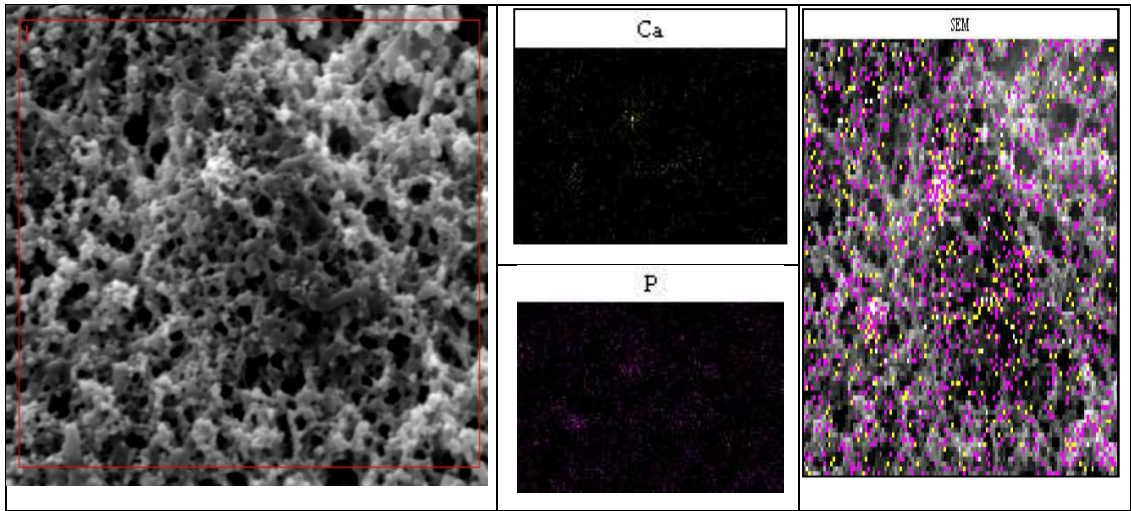
Şekil 5.41 0V ile -1.6V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların 6 haftalık SBF inkübasyon sürecindeki SEM görüntüleri.



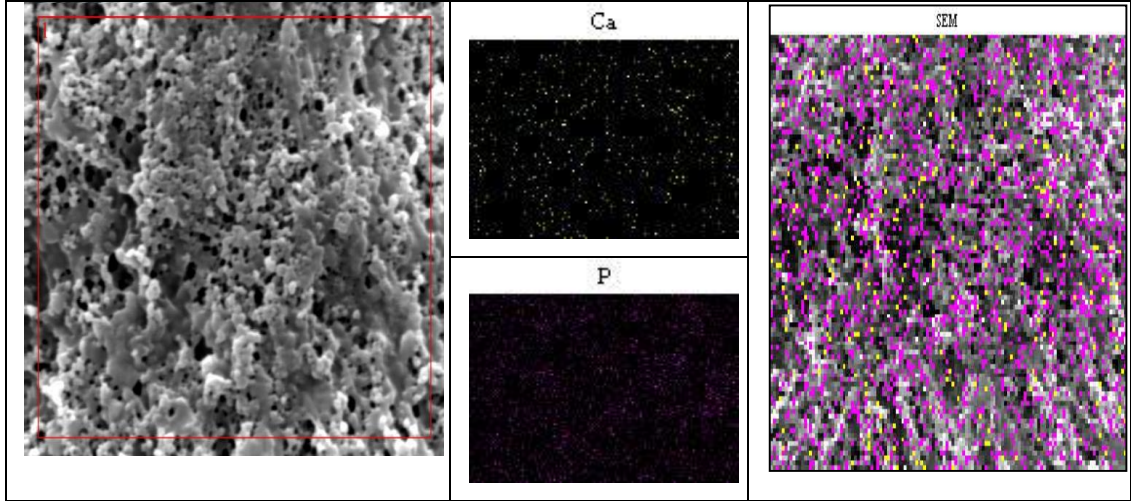
Şekil 5.42 0V ile -0.7V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların, SBF'de 4 hafta bekletilmiş Ca ve P map analiz sonuçları.



Şekil 5.43 0V ile -0.7V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların, SBF'de 6 hafta bekletilmiş Ca ve P map analiz sonuçları.



Şekil 5.44 0V ile -1.6V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların, SBF'de 4 hafta bekletilmiş Ca ve P map analiz sonuçları.



Şekil 5.45 0V - -1.6V'arası yapılan çevrimsel taramalardan elde edilen poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların, SBF'de 6 hafta bekletilmiş Ca ve P map analiz sonuçları.

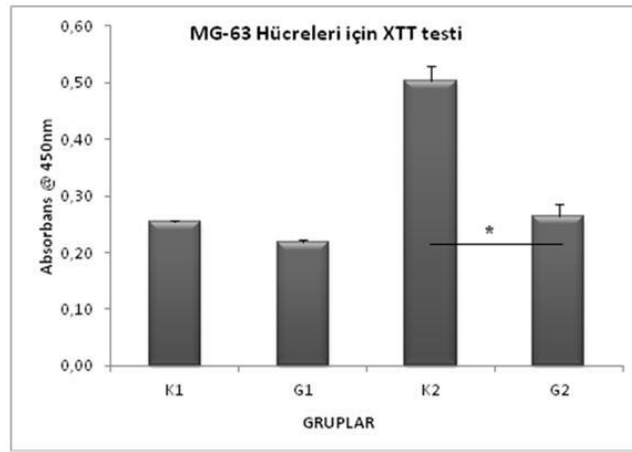
5.7 Hücre Kültürü Çalışmaları

Malzemenin biyo-etkinliği hücre kültürü ortamında MG-63 insan osteoblast benzeri hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla; MG-63 hücrelerinin poli(HEMA-GDMA) kaplanmış veya kaplanmamış steril metalik implant malzemesi üzerinde 1) tutunma, 2) çoğalma kapasiteleri ve 3) malzeme üzerine tutunan hücrelerin osteoblastik aktivasyon göstergesi olan alkalen fosfataz yapım kapasiteleri saptanmıştır.

Çalışmada hücrelerin malzemeye tutunma kapasiteleri SEM görüntüleme yöntemiyle, çoğalma kapasiteleri XTT testi ile ve osteblastik aktivasyon kapasiteleri ALP ölçümü ile değerlendirilmiştir.

Projede hücrelerin çoğalma kapasitelerinin öncelikle WST-1 testi ile saptanması planlanmakla beraber deney düzeneğinin kurulduğu ve deneyin başlatıldığı dönemde malzemeyi sağlayıcı firma tarafından halen bu testin sağlanamaması ve projenin vaktinde tamamlanabilmesi amacıyla aynı değerlendirmenin yapılmasında kullanılabilen farklı bir test “XTT testi” kullanılarak hücre canlılık ve proliferasyon kapasitesi değerlendirilmiştir.

Hücre canlılık ve proliferasyon kapasitesi XTT testi ile değerlendirildiğinde 2. günün sonunda çoğalma kapasitesi kontrol (K1) ve kaplama grubunda (G1) benzerdir (Şekil 5.46). Ne var ki 5. günde uygulama grubunda (G2) hücre çoğalma kapasitesinin sabit kaldığı ve kontrol grubunda (K2) 2. güne göre bir artış olduğu saptanmıştır. Bu artış SPSS programında Mann-Whitney Testi ile değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.00$).



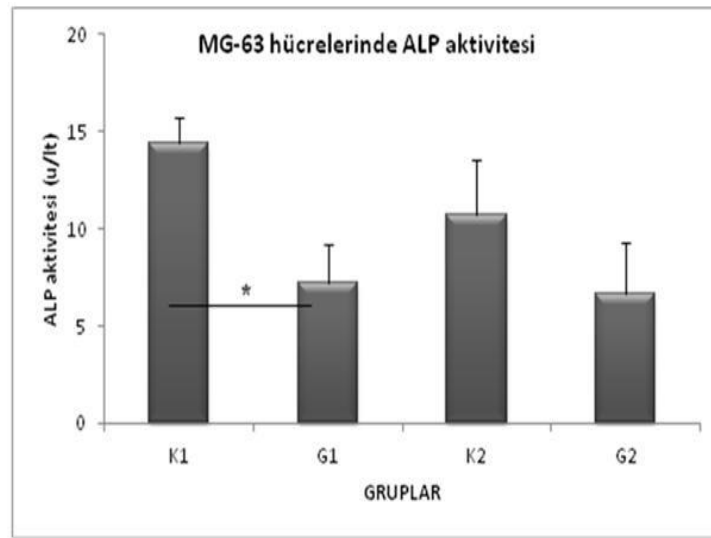
Şekil 5.46 MG-63 hücreleri için XTT test sonuçları.

SEM görüntüleri incelendiğinde hem metal üzerine ekilen (K1) hem de poli(HEMA-GDMA) kaplı yüzeye ekilen grupta (G1) 2. günden itibaren hücrelerin yüzeye tutundukları izlenirken, poli(HEMA-GDMA) kaplı yüzeylerde 2. günde hücrelerin halen sferik görüntülerini korudukları saptanmıştır (Şekil 5.48). Kaplama olmayan malzemeye ekilen hücrelerin ise daha yüksek oranda yayılma gösterdikleri ve uzantılar oluşturdıkları izlenmiştir. 5. günde hücre morfolojisinde izlenen bu farklılığın ortadan kalktığı ve her iki grupta da benzer şekilde hücrelerin yüzeye tutunarak uzantı ve dallanmalar yaptıkları gözlenmiştir (Şekil 5.48).

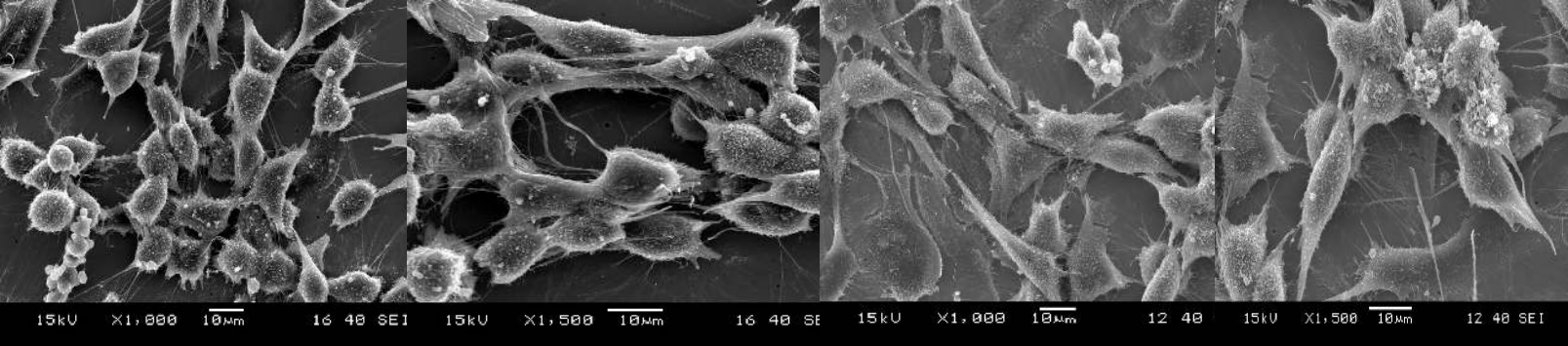
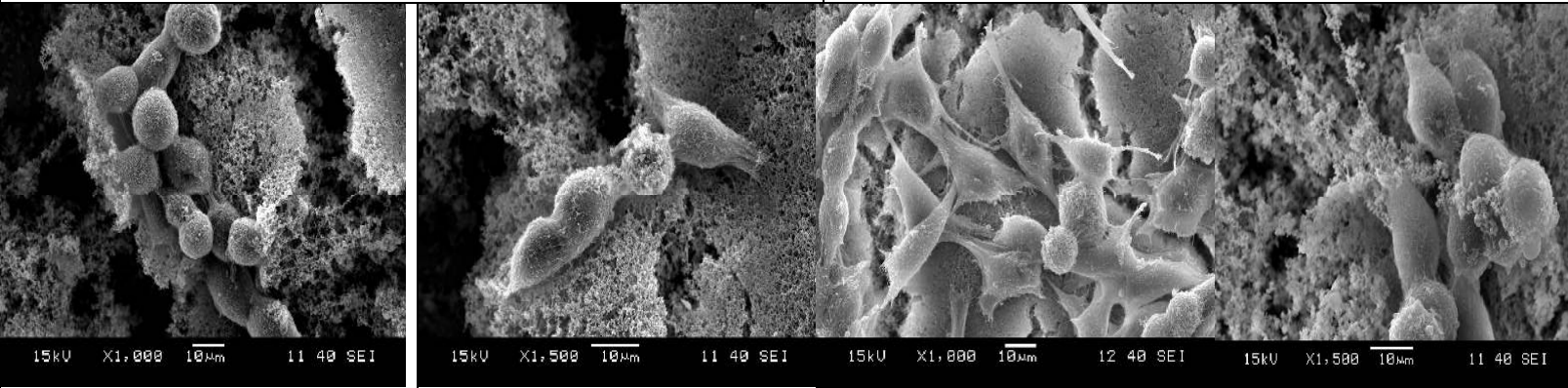
Alkalen fosfataz aktivitesi MG-63 hücrelerinde kaplama olmayan malzemeye ekilen grupta (K1) uygulama grubuna (G1) göre 2. günde daha yüksek saptanmıştır. SPSS programında Mann-Whitney Testi ile incelendiğinde K1 grubunda ALP aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,014$). Bununla beraber hücrelerde (K2) aktivite 5. günde azalma gösterirken kaplama olan grupta (G2) aktivitenin değişmediği izlenmiştir (Şekil 5.47). Yine istatistiksel olarak

incelendiğinde 5. günde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,306$). Bu durum hücrelerin kaplama olan grupta daha stabil olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Hücrelerin 2. günde çoğalma kapasiteleri uygulama grubunda daha düşük saptanırken, 5. günün sonunda hücre çoğalmasında artış gözlemlenmiştir. Hücre canlılığı ve ALP testi de bu sonucu desteklemektedir. Sonuç olarak hücre kültür süresinin uzatılması durumunda MG-63 hücrelerinin kaplama yapılan yüzeye tutunma kapasitelerini ve osteoblastik aktivitelerinin artacağı kanısındayız.



Şekil 5.47 MG-63 hücreleri için ALP aktivitesi sonuçları.

GÜ N	2. GÜN	5. GÜN
	K1	K2
KONTROL (K1 VE K2)		
	G1	G2
UYGULAMA (G1 VE G2)		

Şekil 5.48 MG-63 hücrelerinin 2. Gün: Kontrol (K1) ve kaplama (G1) ve 5. Gün: Kontrol (K2) ve kaplama (G2) SEM görüntüleri

BÖLÜM ALTI SONUÇLAR

İmplant malzeme olarak kullanılan 316L paslanmaz çelik üzerine elektropolimerizasyon metoduyla ve sulu çözelti içerisinde potansiyostatik veya çevrimsel voltametri yöntemleri kullanılarak poli(HEMA-GDMA) kaplamalar yapılmıştır. Potansiyostatik çalışmalarla, kaplama kalınlığının ve yüzey morfolojisinin kullanılan başlatıcı türüne, uygulanan voltaja, başlatıcı, monomer ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği gözlenmiş ve optimum çözelti konsantrasyonu; 0,166M HEMA, 0,0088M GDMA, 0,025M H₂SO₄, 0,02M (NH₄)₂S₂O₈ ve 0,2 M Na₂SO₄ olarak belirlenmiştir. Döngüsel voltametri çalışmalarında ise, en iyi kaplamalar 0.0 V ile -0.7V potansiyelleri arasında, 100 mV/s tarama hızında, 50 döngü sayısında elde edilmiştir. Kaplamaların daha kısa sürede yapılabilmesinden ve kalınlıklarının işlem parametreleriyle daha kolay kontrol edilebilmesinden dolayı kaplamalar döngüsel voltametri tekniği kullanılarak yapılmaya devam edilmiştir.

Kaplamalı 316L paslanmaz çeliğin, kaplamasız alaşımlara göre polarizasyon direncinin daha yüksek ve korozyon hızının çok daha düşük olması, kaplamanın 316L paslanmaz çeliği korozyona karşı etkin bir şekilde koruduğunu göstermiştir. Hidrojin su tutma özelliği beklenildiği üzere çapraz bağlayıcı oranı arttıkça azalmıştır. Kullanılması önerilen çapraz bağlayıcı oranında, poli(HEMA-GDMA) kaplamanın su tutma kapasitesi ~ 75-90% arasında, kalınlık, pürüzlülük , elastisite modül ve sertlik değerleri sırasıyla ~18 µm, ~4 µm, 342.9 MPa, 23 MPa bulunmuştur.

Üre yardımcı mineralizasyon sonucunda hidrojel yüzeyinde yer yer kümelenmiş B-tipi karbonatlanmış hidroksiapatit elde edilmiş, fakat tüm yüzeyi kaplayan mineral tabakası elde edilememiştir. Belirtmek gerekir ki, biyolojik apatit ağırlıkça % 3-5 arası karbonat grubu içermektedir, bundan dolayı hidrojel yüzeyinde karbonatlanmış hidroksiapatit eldesinin biyomedikal uygulamalar için önem taşıdığı düşünülmektedir.

Poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların SBF inkübasyon süreci sonunda, üre yardımlı mineralizasyonda gözlemlenebilen mineral kümeciklerine rastlanamamış veya malzemenin tüm yüzeyini kaplayan bir mineral tabakası oluşumu gözlemlenememiştir. Fakat, Ca ve P'un malzeme yüzeyine yayıldığı ve artan inkübasyon süresiyle, malzeme yüzeyindeki Ca ve P konsantrasyonunun arttığı görülmüştür.

Malzemenin biyo-etkinliği hücre kültürü ortamında MG-63 insan osteoblast benzeri hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Hücrelerin 2. günde çoğalma kapasiteleri poli(HEMA-GDMA) hidrojel kaplamaların üstünde daha düşük iken, 5. günün sonunda hücre çoğalmasında net bir artış gözlemlenmiştir. Hücre canlılığı ve ALP testi de bu sonucu desteklemektedir. Sonuç olarak, hücre kültür süresinin uzatılması durumunda veya kısmi de olsa mineralize olmuş hidrojel yüzeyler kullanılarak, MG-63 hücrelerinin poli(HEMA-GDMA) hidrojel yüzeyine tutunma kapasitelerinin ve osteoblastik aktivitelerinin artacağı kanısındayız.

Malzemenin uygulama amaçlı kullanılabilmesi için hidrojin altlık ile yapışmasının güçlendirilmesi gerektiğine inanıyoruz. Bunun için kullanılan kopolimer kompozisyonuna metal yüzeyine yapışmayı sevecek fakat toksik olmayacak monomer eklenebileceğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- Aizawa, M., Porter, A. E., Best, S. M., ve Bonfield, W. (2005). Ultrastructural observation of single crystal apatite fibers. *Biomaterials*, 26, 3427-3433.
- Aizawa, M., Ueno, H., Itatani, K., ve Okada, I. (2006). Synthesis of calcium-deficient apatite fibers by a homogenous precipitation method and their characterizations. *Journal of the European Ceramic Society*, 26, 501-507.
- Aka, G. (2011). *Farklı Depolama Şartlarında Anilinle Kaplanmış AISI 4140 Sanayi Çeliklerinin Korozyon Özellikleri ve Borik Asit(H_3BO_3) Etkisi*. 7 Aralık Üniversitesi, Yüksek Lisans Tez Çalışması.
- Akar, A. (1982). *Polimer kimyasına giriş*. İstanbul: İ.T.Ü. Matbaası
- Akdağ, A. (2009). *Polianilin, Poli(N-Metilanilin) ve Kopolimerlerinin Paslanmaz Çelik Yüzeyine Sentezi ve Korozyon Performansları*. Mustafa Kemal Üniversitesi, Yüksek Lisans Tez Çalışması.
- Candan, Ç. (2006). Klinik viroloji labaratuvarında uzmanlık öğrencisine verilen hücre kültürü eğitim programı. *İnfeksiyon Dergisi*, 20 (3), 231-241
- Cram, S. L., Spinks, G. M., Wallace, G. G., ve Brown, H. R. (2003). Electrochemical polymerization of acrylics on stainless steel cathodes. *Journal of Applied Polymer Science*, 87 (5), 765-773.
- Cram, S., ve Spinks, G. M. (2002). Mechanism of electropolymerization of methyl methacrylate and glycidyl acrylate on stainless steel. *Electrochimia Acta*, 47(12), 1935-1948.
- Cram, S., Spinks, G., Wallace, G., ve Brown, H. (2003). Electropolymerized acrylic coatings for polymer-metal adhesion enhancement. on stainless steel cathodes. *J Adhesion Sci Technol*, 17(10), 1403-1423.

- Çekirdek, P. (2005). *Voltametik Metotlarla Ditiyofosfonat Anyonlarının Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi*. Ankara Üniversitesi, Doktora Tez Çalışması.
- Freshney, R. I. (2005). *Culture of animal cells: A manual of basic technique*. Hoboken: John Wiley&Sons.
- Giglio, E.D., Cometa,S., Satriano, C., Sabbatini, L. ve Zambonin, P.G. (2009). Electrosynthesis of hydrogel films on metal substrates for the development of coatings with tunable drug delivery performances. *J Biomed Mater Res*, 88(4), 1048-1057.
- Giglio, E. D., Cometa, S., Ricci, M. A., Zizzi, A., Cafagna, D., Manzotti, S., ve Belmonte, M. M. (2010). Development and characterization of rhVEGF-loaded poly(HEMA-MOEP) coatings electrosynthesized on titanium to enhance bone mineralization and angiogenesis. *Acta Biomaterialia* ,6(1), 282-290 .
- Giglio, E., Cometa, S., Cioffi, N., Torsi, L., ve Sabbatini, L. (2007). Analytical investigations of poly(acrylic acid) coatings electrodeposited on titanium-based implants: a versatile approach to biocompatibility enhancement. *Anal Bioanal Chem*, 389, 2055-2063.
- Giglio, E., Cometa, S., Sabbatini, L., Zambonin, P.,ve Spoto, G. (2005). Electrosynthesis and analytical characterization of PMMA coatings on titanium substrates as barriers against ion release. *Anal Bioanal Chem*, 381, 626-633.
- Greef, R., Peat,R., Peter,L.M., Pletcher,D., ve Robinson, J. (1985). *Instrumental methods in electrochemistry*. New York: John Wiley & Sons
- Gümüşderelioğlu, M. (2002). Tıbbın geleceği biyomalzemeler. *Bilim ve Teknik*,3, 50-62.
- Hoffman, A. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 18 - 23

- Hwang, D. Y., Cho, J. Y., Lee, D. H., Yoo, B. Y., ve Shin, D. H. (2008). Plasma Electrolytic oxidation of AZ91 Mg alloy in the sodium stannate electrolyte. *Materials Transactions*, 49(7), 1600-1605.
- Johannsmann, D., Reuber, J., ve Reinhardt, H. (2006). Formation of surfaca-attached responsive gel layers via electrochemically induced free-radical polymerization. *Langmuir*, 22, 3362-3367.
- Korsacılar, D. (2012). *Metalik İmplant Malzeme Yüzeylerinin Elektropolimerizasyon Yöntemi ile Sentetik Hidrojel Polimerlerle Kaplanarak Biyouyumluluğun Arttırılması*. Dokuz Eylül Üniversitesi, Yüksek Lisans Tez Çalışması.
- Ledwith, A., ve Jenkins, A. (1974). *Reactivity, mechanism and structure in polymer*. London, New York: Wiley - Interscience.
- Lu, X., Wanga, Y., Wanga, J., Qua, S., Wenga, J., Xinb, R., Lengb, Y. (2006). Calcium phosphate crystal growth under controlled environment through urea hydrolysis. *Journal of Crystal Growth*, 297(2), 396-402.
- Lu, X., Zhang, H., Guo, Y., Wang, Y., Ge, X., Leng, Y., ve Watari, F. (2011). Hexagonal hydroxyapatite formation on TiO₂ nanotubes under urea modulation. . *CrystEngComm*, 13, 3741-3749.
- Malayoglu, U., Tekin, K. C., Malayoglu, U., ve Shresthac, S. (2011). An investigation into the mechanical and tribological properties of plasma electrolytic oxidation and hard-anodized coatings on 6082 aluminum alloy. *Materials Science and Engineering*, 528(24), 7451–7460.
- Mark, H. F. (1971). Hydrogels. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, 15, 273-289.
- Mark, J. E., ve Erman, B. (1988). *Rubberlike elasticity a molecular primer* (2. Baskı). New York : Wiley-Interscience
- Moad, G., ve Solomon, D. H. (2006). *The chemistry of radical polymerization* (2. Baskı). Boston: Elsevier.

- Murphy, W. L., ve Mooney, D. J. (2002). Bioinspired growth of crystalline carbonate apatite on biodegradable polymer substrata. *Journal of American Chemical Society*, 124, 1910-1917.
- Mutlu, B., ve Kurt, M. (2005). Kırık kemik tedavilerinde kullanılan fiksatorlerin mekanik özellikleri ve üç değişik malzemeden yapılmış halka tipi fiksatorlerin mekanik testleri. *Mühendis ve Makine*, 46(543), 29-38.
- Neira , I. S., Guitian, F., Taniguchi, T., Watanabe,T., ve Yoshimura, M. (2008). Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite whiskers with sharp faceted hexagonal morphology. *The Journal of Materials Science*, 43(7), 2171-2178.
- Neira, I. S., Kolenko, Y. V., ve Lebedev, O. I. (2009). An effective morphology control of hydroxyapatite crystals via hydrothermal synthesis. *Crystal Growth and Design*, 9(1), 466-474.
- Nguyen, K. T. ve West, J. L. (2002). Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 23(22), 4307-4314
- Öztürk, U. (2009). *Elektrokimyasal Olarak Oluşturulacak Polianilin Kaplama ve Nikel Kaplama Üzerine Polianilin Kaplamanın 304 Çeliğinin Korozyon Davranışına Etkisinin İncelenmesi*. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tez Çalışması.
- Perez, J.P., Lopez, E., ve Lopez, B. (2006). The application of methacrylatebased polymers to enzyme biosensors. *Biomolecular Engineering* , 23(5), 233-245.
- Powers, J. M. ve Sakaguchi, R. L. (2006). *Craig's restorative dental materials (12th)*. Mosby Elsevier, 97-125.
- Saçak, M. (2005). *Polimer teknolojisi (9. Baskı)* . Ankara: Gazi Kitabevi.
- Schmalz, G., ve Bindeslev, D. A. (2009). *Biocompatibility of dental materials*. Berlin: Springer.

- Serifoğlu, O. (2010). *Zn-Cr Alaşımlarının Elektrodepolama Metodu ile Üretimi, Korozyon Ve Yapısal Özelliklerine Jelatinin Etkisi*. Yüksek Lisans Tez Çalışması, Mustafa Kemal Üniversitesi.
- Song, J., Malathong, V., ve Bertozzi, C. R. (2005). Mineralization of synthetic polymer scaffolds: A bottom-up approach for the development of artificial bone. *Journal of American Chemical Society*, 127 (10), 3366-3372.
- Song, J., Saiz, E., ve Bertozzi, C. R. (2003). A new approach to mineralization of biocompatible hydrogel scaffolds. *Journal of American Chemical Society*, 125(5), 1236-1243.
- Tait, W. S. (1994). *An introduction to electrochemical corrosion testing for practicing engineers and scientists*. United States of America: PairODocs Publications.
- Oliver, W. C. (1992). An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J. Mater. Res.*, 7, 1564–1583.
- Wichterle, O. (1960). Hydrophilic gels for biological use. *Nature*, 185, 117-118.
- Wopschall, R., ve Shain, L. (1967). Effect of adsorption of electroactive species in stationary electrode polarography. *Anal. Chem.*, 39, 1514.
- Yakar, E. (2006). *Elektropolimerizasyon Yöntemiyle Polipirol Ve Polianilin İle Kaplanmış Alüminyumun Asidik Korozyonunun Önlenmesinde Farklı Anyonların Etkileri*. Kocaeli Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.