



## Reaksiyon Bağlı Silisyum Nitrür Seramiklerinde Sinterleme İlavesinin Mikroyapı ve Antibakteriyel Davranışa Etkisinin İncelenmesi

### Investigation of the Effect of Sintering Additive on the Microstructure and the Antibacterial Behavior of Reaction Bonded Silicon Nitride Ceramics

Şeniz R. Kuşhan Akın

Çankaya Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Ankara TÜRKİYE

Başyuru/Received: 23/09/2020

Kabul / Accepted: 07/02/2021

Çevrimiçi Basım / Published Online: 07/02/2021

Son Versiyon/Final Version: 18/06/2021

#### Öz

Silisyum Nitrür ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) genellikle yüksek sıcaklık ve yapısal uygulamalarda tercih edilen, üstün özellikli bir oksit dışı seramiktir. Çok sert bir malzeme olmasının yanı sıra, çubuksu beta ( $\beta$ ) tanelerin gelişimi ile seramik malzemeler içinde yüksek kabul edilebilecek tokluk değerleri elde etmek mümkün olabilmektedir. Bu özelliklerine ilave olarak biyo uyumluluğunun da anlaşılması ile birlikte özellikle, bu malzemenin biyoseramik olarak kullanım potansiyelini arttırmak amacıyla son on yılda yapılan çalışmaların sayısı da artmıştır. Bu çalışmada da reaksiyon bağlama tekniği ile, çevre biyolojik dokularla entegrasyon açısından avantajlı olan gözenekli  $\text{Si}_3\text{N}_4$  seramiklerinin üretilmesi amaçlanmıştır. Sinterleme ilavesi olarak sisteme yapılan  $\text{CaO}$ ,  $\text{Y}_2\text{O}_3$  ve  $\text{CeO}_2$  katkılarının, elde edilen  $\text{Si}_3\text{N}_4$  seramiklerin fiziksel ve mikroyapısal özelliklerine ve bunların sonucu olarak antibakteriyel davranışlarına etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar  $\text{CeO}_2$ 'in hem *E. coli* hem de *S. aureus* açısından dezavantajlı bir sinterleme ilavesi olduğunu,  $\text{Y}_2\text{O}_3$ 'ün ise en avantajlı ilave olduğunu göstermiştir.  $\text{CaO}$  ilavesi yapılan sistem ise *E. coli* için düşük, *S. aureus* için yüksek oranda bakteri üremesi ile sonuçlanmıştır.

#### Anahtar Kelimeler

" $\text{Si}_3\text{N}_4$ , Reaksiyon bağlama, Sinterleme ilavesi, Antibakteriyel özellik"

#### Abstract

Silicon nitride ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) is a superior non-oxide ceramic material generally preferred for high temperature and structural applications. Besides being a very hard material, it is also possible to achieve relatively high toughness values among the ceramic materials by the formation of elongated beta ( $\beta$ ) grains. In addition to these properties, by the understanding of its biocompatibility, the studies to increase the application potential of these materials as bio ceramics is also increased in the last decade. In this study, production of porous  $\text{Si}_3\text{N}_4$  ceramics which is advantageous by means of the integration of these materials with the surrounding biological tissue was aimed using reaction bonding technique. The effect of  $\text{CaO}$ ,  $\text{Y}_2\text{O}_3$  ve  $\text{CeO}_2$  sintering additives on the physical and microstructural properties and as a result of these two facts, the antibacterial behavior was investigated. Obtained results revealed that  $\text{CeO}_2$  is a disadvantageous and  $\text{Y}_2\text{O}_3$  is an advantageous sintering additive for both the *E. coli* and *S. aureus* bacteria.  $\text{CaO}$  system is resulted in decreased bacterial proliferation for *E. coli* and increased proliferation for *S. aureus*.

#### Key Words

" $\text{Si}_3\text{N}_4$ , Reaction bonding, Sintering additive, Antibacterial property"

## 1. Giriş

Düşük sıcaklık alfa ( $\alpha$ ) ve yüksek sıcaklık beta ( $\beta$ ) polimorfik formlarına sahip olduğu bilinen silisyum nitür ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) seramikleri 1950'li yıllardan bu yana yoğun olarak çalışılan ve ticari olarak özellikle rulman, kesici uç, türbin parçaları gibi üstün performans gerektiren yapısal mühendislik uygulamalarında geniş kullanım alanı bulmuş olan oksit dışı bir seramik malzemedir (Collins ve Gerby 1955; Deeley ve diğerleri, 1961; Riley, 2000; Hampshire, 2007). Düşük yoğunluk, yüksek elastik modül, yüksek aşınma direnci, yüksek sertlik ve kendiliğinden takviyeli bir malzeme olarak yüksek kırılma tokluğuna sahip olması ve bu özelliklerini yüksek sıcaklıklarda da koruyabilmesi pek çok alanda tercih edilmesinin temel nedenidir (Riley, 2000; Hampshire, 2007). Bu uygulama alanlarına son yıllarda biyomalzeme olarak kullanım potansiyelinin de eklenmesiyle,  $\text{Si}_3\text{N}_4$  seramikleri ile ilgili çalışmalar son yıllarda tekrar artış göstermiştir (Guedes e Silva ve diğerleri, 2004; Gorth ve diğerleri, 2012; Pezzotti ve diğerleri, 2017; Mazzocchi ve Bellosi, 2008).

Reaksiyon bağlama yöntemi ile silisyum nitür üretimi (RBSN), şekillendirilmiş silisyum (Si) yaşı peletlerin 1200-1450°C arasında azot gazı ( $\text{N}_2$ ) atmosferinde nitrülenmesi prensibine dayanır (Moulson, 1979; Ziegler ve diğerleri, 1987). Başlangıç malzemesi olarak ucuz olan Si tozu kullanılması, yöntemin en önemli avantajlarından biridir. Nitrüleme sürecinde Si toz kompaktının boyutları değişmez; sinterleme çökme olmaksızın gerçekleşmektedir, bu da prosesin diğer önemli avantajlarından biri olarak kabul edilir. Bu sayede nihai şekle yakın boyutta parçalar üretilmektedir. Böylece karmaşık şekiller herhangi bir ekstra işleme gerek kalmadan üretilebilmektedir. Bu metotla üretilen ürünlerde,  $\text{Si}_3\text{N}_4$ 'ün her iki polimorfik formu da görülmektedir. Elde edilen ürünün porozitesi genellikle hacimce % 12-15 arasında olup, bazen %20'lere çıkmaktadır. Sistemdeki porlar mikron altı boyuttadır ancak porların birleşmesi sonucunda 50  $\mu\text{m}$ 'nin üzerinde büyük porlar da oluşabilir. RBSN için eğme mukavemeti 150-350 MPa arasında değişmektedir. Bunun yanında ürün tekrar yüksek sıcaklıkta sinterlenerek 500 MPa veya üzerindeki mukavemet değerlerine çıkılabilir. Malzemede oldukça az tane sınırlı olduğunda, mekanik özellikler yüksek sıcaklıklarda da korunmaktadır. Mevcut olan porozite ise ancak sonradan uygulanan sinterleme (post-sinterleme) basamağı ile azaltılabilmektedir (Guoa ve diğerleri, 2016). Bu işlem yüksek sıcaklıkta gerçekleştiğinden (1700°C'nin üzerinde) yapıdaki  $\alpha$  fazının tamamı  $\beta$ 'ya dönüşmekte ve ayrıca sonuç malzemenin yoğunluğu da artmaktadır.

Reaksiyon bağlama yöntemiyle elde edilen  $\beta$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  seramiklerinin biyoseramik olarak kullanımı üzerine literatürde bulunan çalışmalar bu malzemelerdeki sitotoksikite, biyoaktivite, implant-sert doku arasındaki etkileşimin iyileştirilmesi ve mekanik özelliklerinin incelendiği çalışmalardır (Kue ve diğerleri, 1999; Sohrabi ve diğerleri, 2000; Bodišová ve diğerleri, 2013). Hatta 2018 yılında yayınlanmış olan bir makalede, reaksiyon bağlama tekniği ile üretilmiş olan silisyum nitür seramik disklerin 30 yıllık ön lombar interbody füzyonu sonuçları açıklanmış olup, bu malzemenin umut verici bir biyoseramik malzeme olduğu görülmüştür (Mobbs ve diğerleri, 2018). Yapılmış olan bu çalışmalar, reaksiyon bağlama yöntemi ile üretilmiş olan silisyum nitür seramiklerinin, omurga cerrahisinde kullanımının avantajlarını göstermiş olup, klinik kullanımları devam etmektedir. Ancak günümüzde, implant ile ilişkili bakteriyel enfeksiyonlar sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 100.000'den fazla ölümle sonuçlanmakta olduğu halde (Ahmed ve diğerleri, 2019), reaksiyon bağlı silisyum nitür malzemelerde sinterleme ilavesinin değişimine bağlı olarak antibakteriyel özellikler incelenmemiştir.

Bu çalışmada, reaksiyon bağlama tekniği ile üretilmiş olan üç ayrı sistemin (sinterleme ilavesi olarak  $\text{CaO}$ ,  $\text{Y}_2\text{O}_3$  ve  $\text{CeO}_2$  içeren sistemler), ortopedik implant uygulamalarında en yaygın olarak görülen gram-pozitif bir tür olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Saadatian-Elahi ve diğerleri, 2008) ve yine yaygın gözlenen gram-negatif bir tür olan *Escherichia coli* (*E. coli*) bakterilerine karşı gösterdikleri direnç incelenmiştir.

## 2. Materyal ve Metod

Reaksiyon bağlama tekniği ile  $\text{Si}_3\text{N}_4$  üretimi için Si kaynağı olarak Aldrich firmasına ait Si tozu kullanılmıştır (325 mesh,%99 saflıkta). Sinterleme ilaveleri ağırlıkça %10 oranında yapılmış olup; biyoaktivite açısından tercih edilen  $\text{CaO}$  ( $\text{CaCO}_3$  formunda),  $\text{Si}_3\text{N}_4$  üretiminde en yaygın olarak tercih edilen ilavelerden biri olan  $\text{Y}_2\text{O}_3$  ve mikroyapısal gelişimin etkisinin değerlendirilebilmesi amacıyla  $\text{CeO}_2$  kullanılmıştır. (Aldrich, %99,9 saflıkta).

Hazırlanan kompozisyonlar, homojen bir dağılım elde edilebilmesi amacıyla turbula ile karıştırılmıştır. Şekillendirme tek yönlü preste yaklaşık 25 MPa basınç altında gerçekleştirilerek, 10.3 mm çapında ve yaklaşık 1.5-2 mm yüksekliğinde peletler elde edilmiştir.

Reaksiyon bağlama işlemi atmosfer kontrollü yatay tüp fırında gerçekleştirilmiştir. İstenmeyen oksit reaksiyonlarını önlemek amacıyla, numuneler yerleştirildikten sonra fırın önce vakuma alınıp sonrasında içerisine  $\text{N}_2$  gazı verilerek, fırın atmosferi ısınma başlamadan önce temizlenmiştir (3 defa). 10°C/dk ısıtma hızıyla 1420°C'ye ısıtma sonrasında reaksiyon için 2 saat beklenmiş, sonrasında soğumaya geçilmiştir. RBSN sürecinin tamamlanabilmesi literatür çalışmalarına göre uzun saatler almaktadır. Bu çalışmada süre çekirdek etkisinin net olarak gözlenebilmesi amacıyla özellikle kısa tutularak  $\beta$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  faz oranının değişiminin karşılaştırması yapılmıştır.

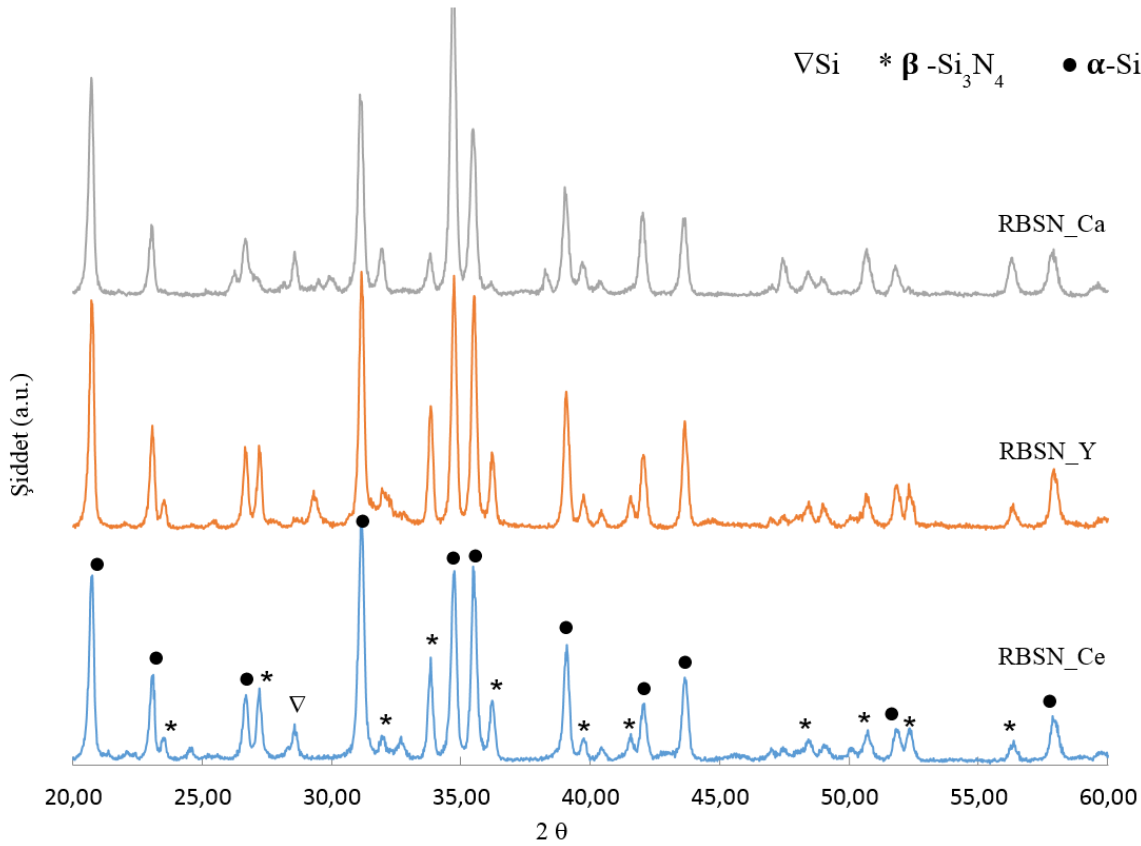
Rigaku Rint 2000 X-ışınları difraktometresi ile yapılan faz analizinde  $\text{CuK}\alpha$  ışınması kullanılmıştır ( $\lambda=1.54056\text{\AA}$ ). 2 $\theta$  açıları 20-60° arasında tutulmuştur.  $\text{Si}_3\text{N}_4$  sistemine ait dört temel pik 32-38° 2 $\theta$  açılarında oluşmaktadır.  $\alpha$  ve  $\beta$  fazlarının yaklaşık oranları pik şiddetlerinden hesaplanmıştır (Gazzara ve Messier, 1977). Numuneler elektron mikroskopunda mikroyapısal inceleme öncesi platin

(Pt) kaplama işlemine tabi tutulmuştur. Hitachi S-4800 alan emisyonlu taramalı elektron mikroskopuyla (FE-SEM), numunelerin kırık yüzeyden mikroyapı analizleri ikincil elektronlarla (SEI) yapılmıştır.

Numuneler Gram-pozitif *S. aureus* (ATCC 25923) ve Gram-negatif *E. coli* (ATCC 25922) tipi bakterilere karşı test edilmiştir. Çalışmada kullanılan bakteriler American Type Culture Collection (Manassas, VA)'dan temin edilmiştir. Her bir bakteri türünden birer koloni ayrı tüplerdeki besi yerlerine aşılanarak, 37°C'deki çalkalama hücrelerinde 24 saat bekletilmiş böylece çoğalmaları sağlanmıştır. Bakteri çalışmaları için başlangıç konsantrasyonu olarak  $10^5$  cells/mL seçilmiştir. Optik absorbans kullanılarak ayarlanan bu konsantrasyondaki bakteri solüsyonu, kuyulu plaka içine yerleştirilen numunelerin üzerine eşit miktarda ve numunelerin tamamını kaplayacak şekilde eklenmiştir. Her bir bakteri sistemi, üç ayrı numune kullanılarak test edilmiştir. Solüsyon içindeki numuneler, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi (PBS) ile yıkanma sonrasında uygun boyuttaki steril tüplere alınmış ve bu tüpe yeterli miktarda (numuneleri tamamen kaplayacak şekilde) PBS eklenerek 10 dakika sonikasyona tabi tutulmuştur. Sonrasında 10 saniyelik vorteks uygulama işlemi ardından, her bakteri tipi için 4 farklı (1:1000, 1:10000, 1:100000, and 1:1000000) seyrelti hazırlanmıştır. %1.5 agar ve % 3.0 of Tryptic Soy Broth (TSB) karışımlarının dökülüp soğutulmasıyla önceden hazırlanmış olan petri kaplarına bu farklı seyreltilerden  $10\mu\text{l}$ 'lik 3'er damla damlatılmış ve steril bir ortamda 15 dakika kurumaya bırakılmıştır. Sonrasında bu petri kaplar üstleri kapatılarak % 5  $\text{CO}_2$  ve 37°C koşullarında çalışan bir inkübatörde, kolonilerin sayılabilecek büyüklüğe gelmeleri için 12 saat beklenmiştir. Bazı numunelerin kalınlıklarındaki farklılıklar dikkate alınarak, hassas bir ölçüm yapılabilmesi açısından numunelerin solüsyonla temas halinde olan yüzey alanları üzerinden hesaplama yapılmıştır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

RB yöntemiyle üretilmiş olan numunelere ait faz karakterizasyonu sonuçları Şekil 1'de ve bu analiz sonuçları neticesinde hesaplanmış olan faz oranları Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1 aynı zamanda Arşimet metodu ile yapılan yoğunluk analizi sonucunda hesaplanmış olan % teorik yoğunluk ve reaksiyon bağlama prosesinin gerçekleşme oranının bir göstergesi olan ağırlık artışı değerlerini de göstermektedir.



Şekil 1. Farklı sinterleme ilaveleri içeren RBSN numunelerine ait XRD paternleri

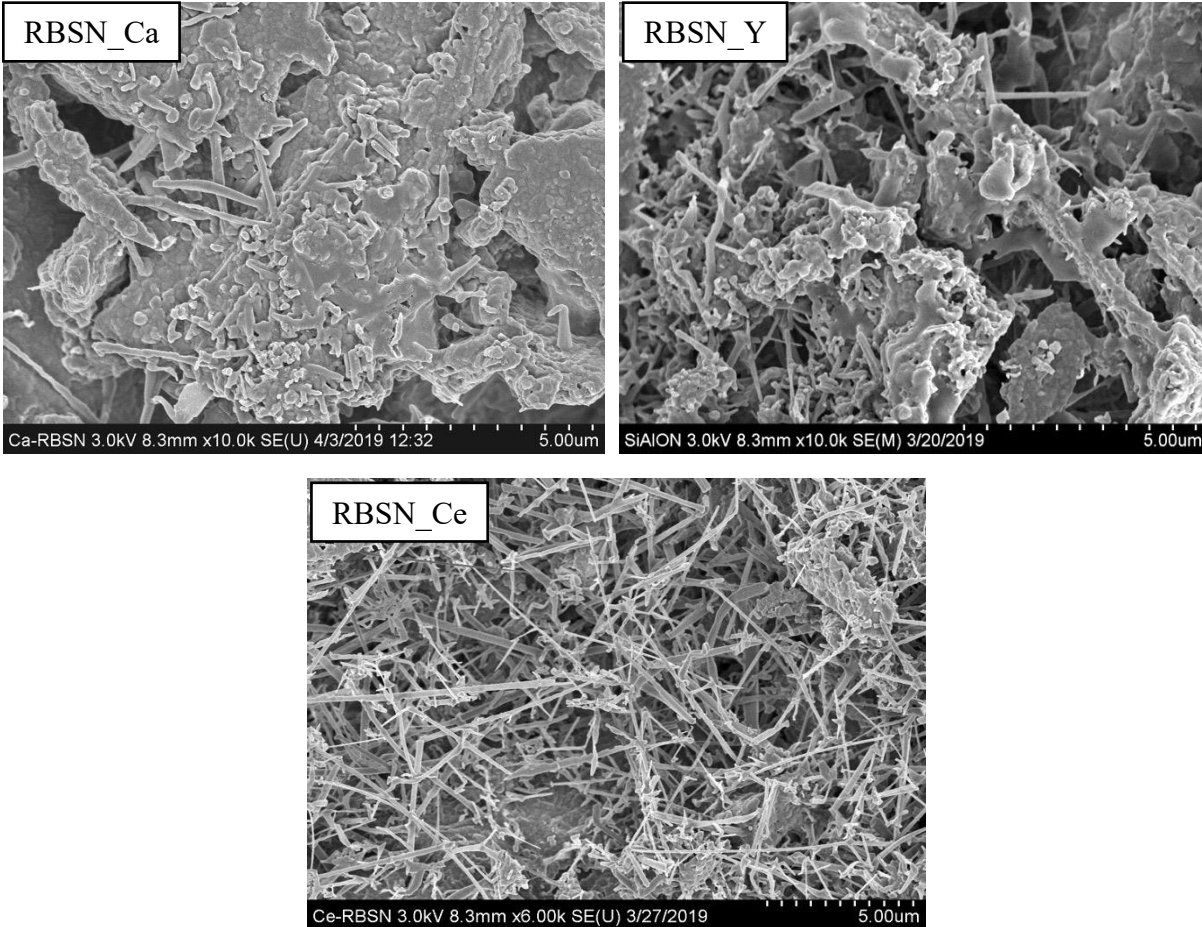
**Tablo 1.** RBSN numunelerine ait % ağırlık artışları, % teorik yoğunluklar ve faz oranları

	% Ağırlık Artışı	%Teorik Yoğ.	Faz kompozisyonu
RBSN_Y	54,99	59	19 % $\beta$ -Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> + 81 $\alpha$ - Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub>
RBSN_Ce	54,03	58	18 % $\beta$ -Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> + 82 $\alpha$ - Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub>
RBSN_Ca	42,84	56	6 % $\beta$ -Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> + 94 $\alpha$ - Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub>

Ağırlık artışı, reaksiyon bağlama sürecinin bir kanıtı olup, nitrürleme oranını anlamamanın bir yolu olarak değerlendirilmektedir. Si'un nitrürlenmesi sürecinde 2.3 g.cm<sup>-3</sup>'lük yoğunluktan, Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>'ün yoğunluğu olan 3.2 g.cm<sup>-3</sup>'e geçişte, ağırlık ve hacim artışı meydana gelir. %66'lık bir ağırlık artışı gözlenmesi durumunda nitrürleme süreci tam başarılı olarak kabul edilir. Bu çalışmada Y, Ce ve Ca ilave edilmesi durumunda sırasıyla %59, 58 ve 56 teorik yoğunluk değerlerine ulaşılabilmiştir. En yüksek ağırlık artışı Y içeren sistemde meydana gelmiştir. İncelenen üç ayrı sistemde de %66'lık ağırlık artışına ulaşamamış olması, proses süresinin kısa tutulmuş olmasından kaynaklanmaktadır. Oluşan Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> tanelerinin merkezinde hala bir miktar Si bulunduğu düşünülmektedir.

20-60 2θ arası yapılan faz karakterizasyonuna ait grafikler, karşılaştırmalı olarak Şekil 1'de verilmiştir. Buna göre Ca içeren sistemde 28 derecede kalıntı Si piki gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ağırlık artışı verileri ile uyumlu olup, özellikle ağırlık artışının en düşük olduğu Ca içeren sistemde kalıntı Si varlığı XRD verileri ile görülmüştür. Bunun dışındaki pikler  $\alpha$  ve  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> fazlarına aittir.  $\alpha$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> piklerinin  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> fazına göre daha şiddetli olduğu görülmüş olup, kantitatif analiz sonucu RBSN\_Y, RBSN\_Ce ve RBSN\_Ca numunelerindeki  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> oranı sırasıyla % 19, % 18 ve % 6 olarak hesaplanmıştır. Düşük oranda  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> oluşumu beklenen bir sonuç olup, yukarıda da belirtilmiş olduğu gibi reaksiyon sıcaklığının düşük ve sürenin kısa olmasından kaynaklanmıştır.

Numunelere ait ikincil elektron görüntüleri numunelerin sinterleme ilavesinin bir sonucu olarak RBSN\_Ca, RBSN\_Y ve RBSN\_Ce numunelerinin morfolojik yapılarında meydana gelen önemli farklılıkları ortaya koymaktadır (Şekil 2).

**Şekil 2.** Farklı sinterleme ilavesi içeren numunelere ait SE görüntüleri

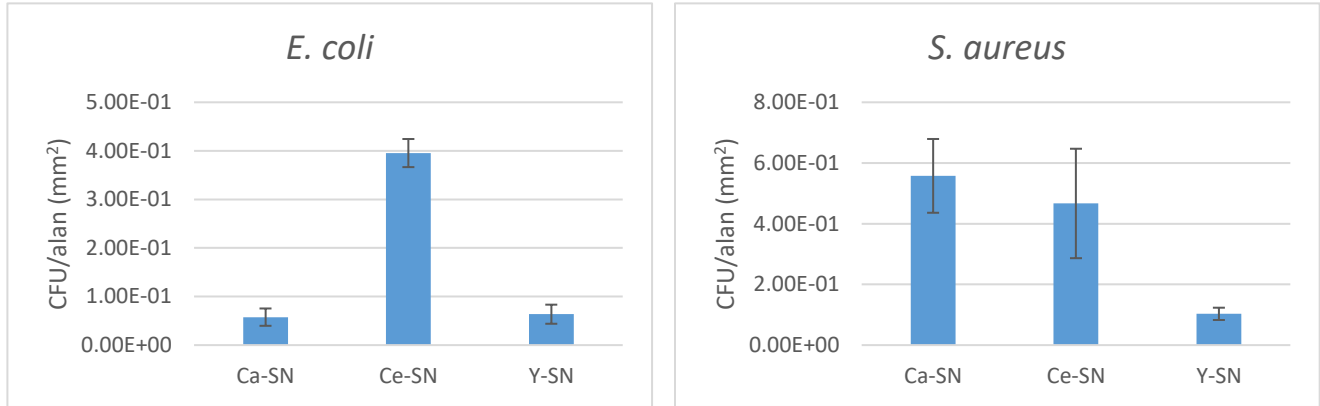
RBSN\_Ce numunesinde belirgin şekilde iğnemsî/çubuksu yapıda tane gelişim gözlenmiştir. Bu çubuksu taneler, literatürde gaz fazı reaksiyonu sonucunda oluştuğu söylenen verilerle oldukça benzerdir. Bu tür tanelerinin RBSN\_Y numunesinde de -daha az oranda

olmakla birlikte- bulunduğu, RBSN\_Ca numunesinde ise eser miktarda bulunduğu gözlenmiştir. Literatürde yer alan termodinamik hesaplamalar incelendiğinde, Si'un azot ile bütün fiziksel hallerde reaksiyona girebildiğini görülmektedir (Moulson,1979; Jennings, 1983);



Ayrıca,  $\text{Si}_3\text{N}_4$  oluşumundaki alternatif bir yöntem de gaz haldeki silisyum monoksit (SiO) ve azotun reaksiyonudur. Genel olarak  $\alpha$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$ 'ün, nitridasyonun erken safhalarında ve daha düşük sıcaklıklarda,  $\beta$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$ 'ün ise Si'un erime noktasının üstünde olduğu bilinmektedir. Reaksiyonlar (1) ve (2) Si'un erime noktasına yakın sıcaklıklarda (1410°C) meydana gelirken, reaksiyon (3) Si'nin erime noktasının üzerinde, daha yüksek sıcaklıklarda uygun hale gelir. Reaksiyon oldukça ekzotermik olduğundan, sıcaklık tam olarak kontrol edilemez. Sisteme sinterleme ilavelerinin eklenmesi durumunda ise sistemin termodinamiği tamamen değişmektedir. Yürütülen çalışmada Ca içeren sistem daha düşük sıcaklıkta ötektik oluşumuna, dolayısıyla sıvı fazı reaksiyonuna neden olurken, Ce gibi daha yüksek valans değerine sahip bir katyon içeren sistemde ağırlıklı olarak gaz fazı reaksiyonun gözlenmesi ve buna bağlı olarak da iğnemi tanelerin oluşumu beklenebilir. Aynı olayın,  $\alpha \rightarrow \beta$  faz dönüşümünde de farklılık gözlenmesine de neden olduğu, Tablo 1'deki farklı  $\alpha$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  ve  $\beta$ -  $\text{Si}_3\text{N}_4$  oranlarından anlaşılmaktadır.

Her iki tür bakteri için antibakteriyel test sonuçları Şekil 3'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, her iki tip bakteri de göz önünde bulundurulduğunda, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler için  $\text{Y}_2\text{O}_3$ 'ün en avantajlı sinterleme ilavesi olduğunu,  $\text{CeO}_2$ 'ün ise her iki bakteri türü için de bakteri üremesi açısından dezavantajlı olduğunu göstermiştir. CaO ilavesi yapılan sistem ise Gram-negatif *E. coli* için düşük, Gram-pozitif *S. aureus* için yüksek oranda bakteri üremesi ile sonuçlanmıştır.



Şekil 3. Farklı ilaveler içeren RBSN numunelerinin antibakteriyel test sonuçları

Malzemelerin gösterdikleri bakteriyel direncin hem mikroyapısal gelişime (pürüzlülük, gözenek yapısı vs) hem de temas halindeki yüzeyin kimyasal kompozisyona bağlı olduğu bilinmektedir. Yürütülen bu çalışmada Y ve Ce içeren sistemlerde, elde edilen faz oranları ve gözeneklilik açısından benzerlik gözlenmiştir (Tablo 1). Bu nedenle bakteri testi sonuçlarında elde edilen bu farklılık iki farklı parametre ile açıklanabilir; (i) İki sistemde gözlenen farklı mikroyapısal gelişim, (ii) Bu iki farklı ilavenin neden olduğu fonksiyonel gruplarda ve O:N oranındaki farklılıklar. Aynı zamanda bu iki ilavedeki katyonların valans değerlerindeki farklılıklar reaktif oksijen miktarında da da değişikliğe dolayısıyla da bakteri direncinde değişikliğe neden olabilmektedir. Ca içeren sistemin ise faz oranları ve gözenek miktarı da farklı olduğundan daha bağımsız olarak değerlendirilmesi mümkündür.

$\beta$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$ 'de çözünen oksijen oranının  $\alpha$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$ 'den daha düşük olduğu bilinmektedir. Bu nedenle faz analizi sonucuna göre  $\alpha$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  oranı daha yüksek olan Ca içeren sistemde yapıda daha yüksek oranda oksijen olması beklenmektedir. Bu durumun  $\text{Si}_3\text{N}_4$ 'ün yüzeyindeki iki fonksiyonel gruptan silanol (Si-OH) oranının yüksek, amin ( $-\text{NH}_2$ ) oranının ise düşük olmasına yol açması beklenmektedir. Amince zengin yüzeylerin ise biyolojik sıvıların içine amonya ( $\text{NH}_3$ ) and silisik asit ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ) saldıdığı bilinmektedir.  $\text{NH}_3$  peroksinitrit anyonuna ( $\text{O}=\text{NOO}^-$ ) dönüşerek bakteriler için toksik bir ortam oluşturabilmektedir (Bock ve diğerleri, 2015). Bu nedenle yüksek  $\alpha$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  oranı olan Ca içeren sistemde beklenen düşük amin oranının da bakteri direncini azalttığı düşünülmektedir. Ayrıca bu kimyasal etki dışında gözenek miktarındaki artış, bakterilerin tutunma alanlarını da arttırabilmektedir. İki farklı tip bakteride gözlenen fark Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin membran yapılarından kaynaklanmaktadır; Gram-negatif bakteriler ince ve penetrasyonun zor olduğu, dolayısıyla da antibiyotiklere karşı daha dirençli bir bakteri grubu olup, Gram-pozitif bakteriler ise kalın ve

çok fazla yabancı maddeyi içene alabilen bir membran yapısına sahiptir. Bu nedenle Ca sisteminde oluşan toksik ortamın Gram-pozitif türü olan *S. aureus* bakterisinde bakteri direncinin düşüne neden olduğu görülmektedir. Özellikle ortopedik uygulamalarda en sık gözlenen bakteri türü *S. aureus* olduğundan (Saadatian-Elahi, 2008), Ca takviyeli sistem, reaksiyon bağlama tekniği ile üretilmiş bir  $\text{Si}_3\text{N}_4$  malzemenin ortopedik amaçlı kullanımını için avantajlı kabul edilemeyecektir. Kaldı ki biyo amaçlı kullanılan bir malzemeden, her iki grup bakteriye de belli oranda direnç gösterebilmesi önemlidir. Bu açılarından bakıldığında yürütülen çalışmada, reaksiyon bağlama tekniği ile üretilen  $\text{Si}_3\text{N}_4$  malzemelerde antibakteriyel davranış açısından en avantajlı sinterleme ilavesinin  $\text{Y}_2\text{O}_3$  olduğu görülmüştür.

#### 4. Sonuç

Bu çalışmada, sinterleme ilavesi olarak CaO,  $\text{Y}_2\text{O}_3$  ve  $\text{CeO}_2$  içeren ve reaksiyon bağlama tekniği üretilen  $\text{Si}_3\text{N}_4$  seramiklerin faz oranları, gözenek miktarları, mikroyapısal gelişimleri ve bunların sonucu olarak da *S. aureus* ve *E. coli* tipi bakterilere karşı gösterdikleri davranışlar incelenmiştir. Buna göre;

- $\text{Y}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CeO}_2$  ve CaO içeren sistemlerde sırasıyla %59, 58 ve 56 teorik yoğunluk değerlerine ulaşılabilmiştir. En düşük gözenek miktarı Y içeren sistemde meydana gelmiştir.
- $\text{Y}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CeO}_2$  ve CaO içeren numunelerdeki  $\beta\text{-Si}_3\text{N}_4$  oranı sırasıyla % 19, % 18 ve % 6 olarak hesaplanmıştır. Literatürde yer alan bazı kaynaklara göre düşük oranda  $\beta\text{-Si}_3\text{N}_4$  oluşumu beklenen bir sonuç olup, reaksiyon sıcaklığının düşük ve sürenin kısa olmasından kaynaklanmıştır.
- Bu üç ayrı sinterleme ilavesinde  $\text{Si}_3\text{N}_4$  oluşum reaksiyonlarının farklılık göstermesi nedeniyle farklı mikroyapısal gelişimler izlenmiştir. Özellikle Ce içeren sistemlerde gaz fazı reaksiyonun bir sonucu olarak iğnemi tane oluşumu gözlenirken, bu yapının Ca içeren numunelerde bulunmadığı görülmüştür.
- Bakteri testi sonuçları *E. coli* için  $\text{Y}_2\text{O}_3$ 'in en avantajlı sinterleme ilavesi olduğunu,  $\text{CeO}_2$ 'in ise her iki bakteri türü için de bakteri üremesi açısından dezavantajlı olduğunu göstermiştir. CaO ilavesi yapılan sistem ise *E. coli* için düşük, *S. aureus* için yüksek oranda bakteri üremesi ile sonuçlanmıştır.

#### Teşekkür

Bu çalışmanın antibakteriyel testleri Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 2219 Burs Programı desteği ile Northeastern Üniversitesi'nde gerçekleştirilmiştir. TÜBİTAK'a maddi desteğinden dolayı teşekkür ederim.

#### Referanslar

- Ahmed, W., Zhai, Z. & Gao C. (2019). Adaptive antibacterial biomaterial surfaces and their applications. *Materials Today Bio Volume 2*, 100017.
- Bock, R.M., McEntire, B.J., Bal, B.S., Rahaman, M.N., Boffelli, M. & Pezzotti, G. (2015). Surface modulation of silicon nitride ceramics for orthopaedic applications, *Acta Biomaterialia* 26, 318–330.
- Bodišová, K., Kašiarová, M., Domanická, M., Hnatko, M., Lenčes, Z., Nováková, Z.V., Vojtaššák, J., Gromošová, S. & Šajgalík P. (2013). Porous silicon nitride ceramics designed for bone substitute applications. *Ceramics International*, Volume 39, Issue 7, 8355-8362.
- Collins, J.F. & Gerby, R.W. (1955). New Refractory Uses for Silicon Nitride, *Reported Journals of Met.*, 7, 612-615.
- Deeley, G.G, Herbert, J.M. & Moore, N.C. (1961). Dense Silicon Nitride. *Powder Metall.*, 8, 145-151.
- Gazzara, C.P. & Messier, D.R. (1977). Determination of phase content of  $\text{Si}_3\text{N}_4$  by X-ray diffraction analysis. *Am. Ceram. Soc. Bull.*, 56(9), 777-780.
- Gorth, D.J., Puckett, S., Ercan, B., Webster, T.J., Rahaman, M. & Bal, B.S. (2012). Decreased bacteria activity on  $\text{Si}_3\text{N}_4$  surfaces compared with PEEK or titanium. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 4829-40.
- Guedes e Silva, C.C., Higa, O.Z. & Bressiani, J.C. (2004). Cytotoxic evaluation of silicon nitride-based ceramics. *Materials Science and Engineering: C*, 24(5), 643-646.
- Guoa, W.M., Wu, L.X., Ma, T., You, Y. & Lin, H.T. (2016). Rapid fabrication of  $\text{Si}_3\text{N}_4$  ceramics by reaction-bonding and pressureless sintering. *J. Eur. Ceram. Soc.*, 36, 3919-3924.

- Hampshire, S. (2007). Silicon nitride ceramics—review of structure, processing and properties. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*, Vol. 24, 1, 43-50.
- Jennings, H.M. (1983). Review. On reactions between silicon and nitrogen, part 1: Mechanisms. *J. Mat. Sci*, 18 (4), 951-967.
- Kue, R., Sohrabi, A., Nagle, D., Frondoza, C. & Hungerford, D. (1999). Enhanced proliferation and osteocalcin production by human osteoblast-like MG63 cells on silicon nitride ceramic discs. *Biomaterials*, Volume 20, Issue 13, 1195-1201.
- Mazzocchi, M. & Bellosi, A. (2008). On the Possibility of Silicon Nitride as a Ceramic for Structural Orthopaedic Implants. Part I: Processing, Microstructure, Mechanical Properties, Cytotoxicity. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19, 2881-2887.
- Mobbs, R.J., Rao, P.J., Phan, K., Hardcastle, P., Choy, W.J., McCartney, E.R., Druitt, R.K., Mouatt, C.A.L. & Sorrell, C.C. (2018). Anterior Lumbar Interbody Fusion Using Reaction Bonded Silicon Nitride Implants: Long-Term Case Series of the First Synthetic Anterior Lumbar Interbody Fusion Spacer Implanted in Humans. *World Neurosurg*, 120:256-264.
- Moulson, J. (1979) Review, Reaction - bonded silicon nitride, its formation and properties. *J. Mat. Sci.*, 14 (5), 1017-1051.
- Pezzotti, G., Marin, E., Adachi, T., Rondinella, A., Boschetto, F., Zhu, W., Sugano, N., Bock, R., McEntire, B. & Bal, B.S. (2017). Bioactive silicon nitride: A new therapeutic material for osteoarthropathy, *Scientific Reports*, 7, 44848, 1-10.
- Riley, F.L. (2000). Silicon Nitride and Related Materials. *J. Am. Ceram. Soc.*, 83, 245–265.
- Saadatian-Elahi, M., Teysou, R. & Vanhems, P. (2008). Staphylococcus aureus, the major pathogen in orthopaedic and cardiac surgical site infections: A literature review. *International Journal of Surgery*, Volume 6, Issue 3, 238-245.
- Sohrabi, A., Holland, C., Kue, R., Nagle, D., Hungerford, D.S. & Frondoza, C.G. (2000). Proinflammatory cytokine expression of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  by human osteoblast-like MG-63 cells upon exposure to silicon nitride in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research*, Volume 50, Issue 1, 43-49.
- Ziegler, G., Heinrich, J., Wötting, G. (1987). Relationships between processing, microstructure and properties of dense and reaction-bonded silicon nitride. *J. Mater. Sci.*, 22, 3041-3086.