

Atıf İçin: Dilsizoğlu, T., Karahan, İ. H. ve Tozar, A. (2023). Farklı Moleküler Ağırlıklı Kitosan Katkılı Hidroksiapatit/Kitosan Biyokompozit Kaplamaların Araştırılması. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(3), 1703-1712.

To Cite: Dilsizoğlu, T., Karahan, İ. H. & Tozar, A. (2023). Investigation of Different Molecular Weights Chitosan Added Hydroxyapatite/Chitosan Biocomposite Coatings. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(3), 1703-1712.

Farklı Moleküler Ağırlıklı Kitosan Katkılı Hidroksiapatit/Kitosan Biyokompozit Kaplamaların Araştırılması

Tuncay DİLSİZOĞLU*, İsmail Hakkı KARAHAN, Ali TOZAR

Öne Çıkanlar:

- Biyokompozit kaplama
- Ultrasonik
- Elektroforetik depolama

Anahtar Kelimeler:

- Hidroksiapatit
- Kitosan
- Biyokompozit
- Ultrasonik
- Elektroforetik depolama

ÖZET:

Kemiğin yapısına en yakın olan kalsiyum fosfat; $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ oranının olduğu hidroksiapatittir (HA). Ancak polimer katkısıyla hidroksiapatitin (HA) mukavemet ve sertlik gibi mekanik özelliklerinin artırıldığı bilinmektedir. Düşük toksiklik ve yüksek biyouyumluluk özelliklerinden dolayı kitosan (CTS) polimer olarak kullanıldı. HA/CTS kaplamaları yapılıırken orta moleküler ağırlıklı (MMW) ve yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) olmak üzere iki farklı moleküler ağırlıklı kitosan kullanıldı. Orta ve yüksek moleküler ağırlıklı kitosan katkılanarak HA/CTS biyokompozit kaplamalarının etkisi incelendi. Kaplamalar ultrasonik destekli elektroforetik yöntemle üretildi. Kristalografik, morfolojik yapıları FT-IR, XRD ve SEM ile incelendi. Yüksek moleküler ağırlıklı kitosan değeri arttıkça numunenin yapısının daha homojen olduğu belirlendi.

Investigation of Different Molecular Weights Chitosan Added Hydroxyapatite/Chitosan Biocomposite Coatings

Highlights:

- Biocomposite coating
- Ultrasonic
- Electrophoretic deposition

Keywords:

- Hydroxyapatite
- Chitosan
- Biocomposite
- Ultrasonic
- Electrophoretic deposition

ABSTRACT:

Which is the nearest of the bone structure of calcium phosphate rate (HAp, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) is hydroxyapatite. However, it is known that the mechanical properties of hydroxyapatite (HAp) such as strength and hardness are increased with polymer additives. Chitosan (CTS) was used as the polymer due to its low toxicity and high biocompatibility properties. Two types of chitosan were used while making HAp/CTS coatings. Medium molecular weight (MMW) and high molecular weight (HMW). The effect of HAp/CTS biocomposite coatings by doping with medium and high molecular weight chitosan was investigated. The coatings were produced by the ultrasonic assisted electrophoretic method. Their crystallographic and morphological structures were examined by FT-IR, XRD and SEM. The structure of the sample become more homogeneous as the high molecular weight chitosan value increased.

Tuncay DİLSİZOĞLU ([Orcid ID: 0000-0003-1894-386X](https://orcid.org/0000-0003-1894-386X)), İsmail Hakkı KARAHAN ([Orcid ID: 0000-0002-8297-3521](https://orcid.org/0000-0002-8297-3521)), Ali TOZAR ([Orcid ID: 0000-0003-3039-1834](https://orcid.org/0000-0003-3039-1834)), Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Hatay, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Tuncay DİLSİZOĞLU, e-mail: tuncaydilsiz7@gmail.com

GİRİŞ

Tümörler, hastalıklar, biyokimyasal bozukluklar ve normal olmayan iskelet gelişimi sonucu oluşan kemik hasarları önemli sağlık problemleridir. Kemik kırılmaları gibi durumlarda kemiğin düzgün kaynaması için implant teknolojisi kullanılmaktadır. İmplant teknolojisinde, paslanmaz çelik (Muley ve ark., 2016), magnezyum alaşımları (Hahn ve ark., 2011), CoCr alaşımları (Madl ve ark., 2015) gibi implantlar kullanılmaktadır. CoCr ve CoCrMo gibi Co-tabanlı alaşımlar, mükemmel korozyon direnci, aşınma direnci ve mekanik özellikleri nedeniyle eklem, diz ve kalça protezi için ortopedik malzemeler yaygın kullanılmaktadır. Ancak CoCrMo' nin fibröz dokular tarafından kapsüllenmesi nedeniyle sert dokulara doğrudan bağlanmasının zor olduğu kanıtlanmıştır. Bu bağlanma kabiliyetini arttırmak için kalsiyum fosfat ile kaplanmaktadır (Wang ve Luo, 2011).

Kemiğin yapısına en yakın olan kalsiyum fosfat oranı, $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ olduğu hidroksiapatittir (Lin ve Wang, 2010). HA mükemmel bir biyoyumluluk, biyoaktivite ve osteoiletkenlik özelliklerine sahiptir. Ancak saf HA vücut çevresinde yüksek bir bozulma oranına sahiptir, bu da uzun süre kalmasını azaltır ve biyoyumluluğunu kaybetmesine neden olur. Bu özellikleri geliştirmek için kitosan, aljinat gibi polimerlerle beraber kullanılmaktadır (Singh ve ark., 2020).

Biyoyumluluk, biyobozunurluk, bağlanma yeteneği, gözenekli yapı, doğada antibakteriyel, nano antijenite ve protein adsorpsiyonu gibi mükemmel özelliklerinden dolayı kitosana artan bir ilgi vardır (Sikka ve Midha, 2019). Ayrıca, kitosan kullanımı, kompoziti mikro çatlaklardan, büzülmelerden önler ve yüksek sıcaklık dezavantajını yok eder (Alshaaer ve ark., 2011).

Kompozit kaplamalar; üreaz katalizli yöntem (Zhao ve ark., 2014), ıslak kimyasal yöntem (Zima, 2018), hibridizasyon yöntemi (Nikpour ve ark., 2012), aerosol birikim yöntemi (Hahn ve ark., 2011) ve elektroforetik depolama yöntemi (Tozar ve Karahan, 2018; Patel ve ark., 2019) ile üretilmektedir. Depolama süresi ve voltajının isteğe göre ayarlanabilmesi, oda sıcaklığında üretim, kolay depolanabilme, düşük maliyetli ekipman gibi özelliklerinden dolayı elektroforetik yöntem diğer yöntemlere göre daha kullanışlıdır.

(Prokhorov ve ark., 2018) kitosan-hidroksiapatit nanopartikül (CSnHAp) filmlerin arayüz tabakasının özelliklerini araştırmışlar. CS-nHAp nanokompozit filmlerin mekanik, dielektrik ve iletkenlik özellikleri, üç fazlı bir model kullanarak yorumlamışlar. Üç fazlı modeli kullanarak yerleştirme sonuçları, deneysel sonuçlarla iyi bir korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Kemik dokusu mühendisliğinde gerekli olan CS-nHAp filmlerinin mekanik, elektriksel ve dielektrik özelliklerine ince ayar yapmak mümkün olduğunu belirtmişlerdir. (Das ve ark., 2018) antimikrobiyal ve biyoyumlu floresan hidroksiapatit-kitosan biyomedikal uygulamalar için nanokompozit filmleri hidrotermal destekli çöeltme yöntemiyle üretmişlerdir. İnsan akciğer fibroblastı (WI-38) üzerinde yapılan biyoyumluluk çalışmalarından, tüm filmlerin yaklaşık %80 yaşayabilirlik ile hücre dostu olduğunu belirtmişlerdir. (Pawlik ve ark., 2019) anodik titanyum dioksit (TiO_2) katmanları üzerinde elektroforetik olarak üretilmiş kitosan-hidroksiapatit kompozit kaplamaları incelemişlerdir. Yapılan analizlerden, anataz örneklerinin EPD kullanılarak kitosan-hidroksiapatit kompozit katmanlarla etkin bir şekilde kaplandığını, kaplanmış TiO_2 katmanlarının kaplanmamış olanlara göre daha pürüzlü olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, hidroksiapatitin biyoyumluluk ve bağlanma yeteneğini geliştirmek amaçlı literatürde ilk kez orta moleküler ağırlıklı (MMW) ve yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) olmak üzere iki farklı moleküler ağırlıklı kitosan kullanılarak kaplamalar ultrasonik destekli elektroforetik depolama yöntemi ile üretildi.

MATERYAL VE METOT

Malzemeler

%99 saflıkta Sigma-Aldrich marka kalsiyum nitrat tetrahidrat, %98 saflıkta Sigma-Aldrich marka dibazik amonyum fosfat, Sigma-Aldrich marka orta moleküler ağırlıklı %85 deasetilasyon derecesine sahip kitosan ve Sigma-Aldrich marka yüksek moleküler ağırlıklı %75 deasetilasyon derecesine sahip kitosan kullanıldı.

Hidroksiapatit'in üretimi

Kalsiyum ve fosfat kaynağı olarak kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ve dibazik amonyum fosfat ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) kullanıldı. HA partikülleri ıslak kimyasal yöntem ile üretildi. 1.0 M kalsiyum nitrat tetrahidrat ve 0.6 M dibazik amonyum fosfat çözeltileri saf suda çözüldü. Çözeltiler 70°C sıcaklıkta ve pH amonyak ($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ile 10'a ayarlandı. Dibazik amonyum fosfat, kalsiyum nitrat tetrahidrat çözeltilisine yavaş yavaş ilave edildi. Elde edilen bu yeni çözeltinin pH'ı 2 M NaOH ile 11'e ayarlandı. Çözelti etüvde 100°C 'de kurutuldu. Kurutulan çözelti agat havan yardımıyla toz haline getirildi.

CoCrMo altlığın hazırlanması

Kaplamalar CoCrMo (DIN EN ISO 22674) alaşımı üzerine yapıldı. Alaşımın elementel birleşimi Co (%58.3), Cr (%32), Mo (%6.5), W (%1.5), ve Si (%1.0)'dir. Tüm altlıklar ultrasonik yöntemle etanol içerisinde durulanıp saf su ile temizlendi ve hava ortamında kurutuldu.

Süspansiyonların hazırlanması

Elektroforetik depolama için iki tür süspansiyon hazırlandı. Süspansiyon-I, farklı oranlarda orta ve yüksek moleküler ağırlıklı kitosan, 1.8 mL asetik asit ve 38.2 mL saf su ile beher içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Süspansiyon-II, 60 mL etanol ile HA tozları başka bir beher içerisinde ultrasonik cihaz yardımıyla 10 dk boyunca karıştırıldı. Kullanılan miktarlar Çizelge 1 'de verilmiştir. Süspansiyon-II, Süspansiyon-I 'in içerisine yavaş yavaş ilave edildi ve bu oluşan yeni süspansiyon 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

Çizelge 1. HAp ve Kitosan Tozlarının Miktarları ve Adlandırılması

HAp (g) (100 ml Çözelti için)	Kitosan (g) (100 ml Çözelti için)	Kitosan (%)	Adlandırma
1.250	0.250 MMW-0 HMW	100 MMW-0 HMW	HA/CTS-1
1.250	0.187 MMW-0.063 HMW	75 MMW-25 HMW	HA/CTS-2
1.250	0.125 MMW-0.125 HMW	50 MMW-50 HMW	HA/CTS-3
1.250	0.063 MMW-0.187 HMW	25 MMW-75 HMW	HA/CTS-4
1.250	0 MMW-0.250 HMW	0 MMW-100 HMW	HA/CTS-5

Yöntem

Ultrasonik yöntem; ultrasonik karıştırıcıyla sulu süspansiyonlarda bir arada bulunan partiküllerin dağıtılması ve parçalanması için kullanılabilir. Bu tür bir işlem sulu bir ortamda mikro kabarcıkların oluşumuna, büyümesine ve çökmesine neden olan kaviteasyona neden olur. Böylece partiküllerin parçalanmasını ve boyutlarının küçülmesini sağlar (Barbosa ve ark., 2013). Bu çalışmada ultrasonik de-agglomerasyon yöntemi HA sentezi sırasında süspansiyonlarda iyi bir dispersiyon sağlanması için kullanılmıştır. Ultrason destekli sentez, Heilscher marka UP400S model (Heilscher-Ultrasound Technology, Almanya) bir ultrasonik karıştırıcı kullanılmıştır. Ultrasonifikasyon işlemleri 400 W güç ve 24 kHz frekansla 10 mm titanyum ucun süspansiyona direkt daldırılması ile uygulanmıştır.

Elektroforetik (EPD) yöntem; CoCrMo altlığı, hazırlanan 100 mL' lik süspansiyonun içerisine daldırılarak DC güç kaynağına bağlandı ve platin karşıt uç ile aralarında 2 cm uzaklık olacak şekilde sabitlendi. EPD ile kaplama yapılırken manyetik karıştırıcı 200 rpm olarak ayarlandı. Depolama süresi 30 dakika, voltaj 15 V ve akım 0.06 A ve tüm kaplamalar oda sıcaklığında yapıldı. Akım, voltaj ve zaman parametreleri yapılan denemeler sonucu belirlenmiştir. EPD yöntemi uygulanırken (Tozar ve Karahan, 2018) 'ın çalışmaları referans alınmıştır.

HA/CTS hompozitlerin karakterizasyonu

Fourier dönüşümlü infrared spektrometri (FT-IR)

Elektroforetik yöntemle üretilen HA/CTS kompozit kaplamaların fizikokimyasal ve titreşimsel yapısını karakterize edebilmek için ($400-4000\text{ cm}^{-1}$) aralığında, Perkin Elmer spektrum 65 model (UATR) spektrofotometre aracılığıyla elmas kristal kullanılarak toplanmıştır.

X-Işını difraksiyonu

HA/CTS kompozit kaplamaların kristalografik yapısını analiz etmek için Rigaku SmartLab X-ışın difraktometresi kullanıldı. Kırınım desenlerini kaydetmek için 40 kV ve 30 mA'da üretilen monokromatik Cu-K α radyasyonu kullanıldı. Kırınım verileri 3.0 derece/dakika hız ve 0.05 derecelik adım genişliği ile toplanmıştır.

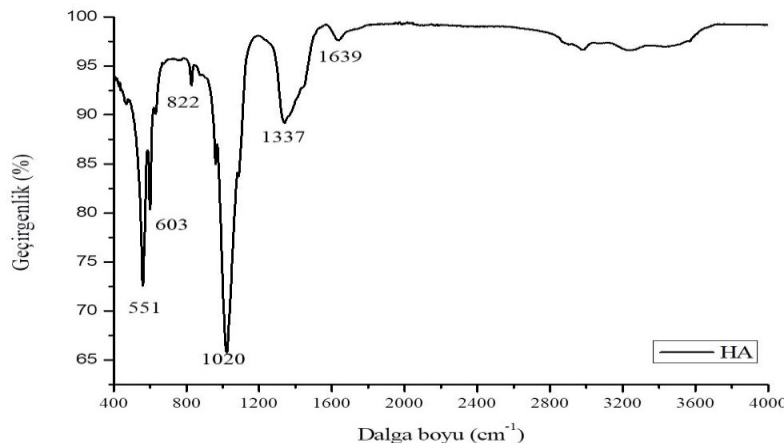
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

HA/CTS kompozit kaplamaların morfolojik yapıları SEM (Thermo Fisher Scientific Apreo S) ile analiz edildi.

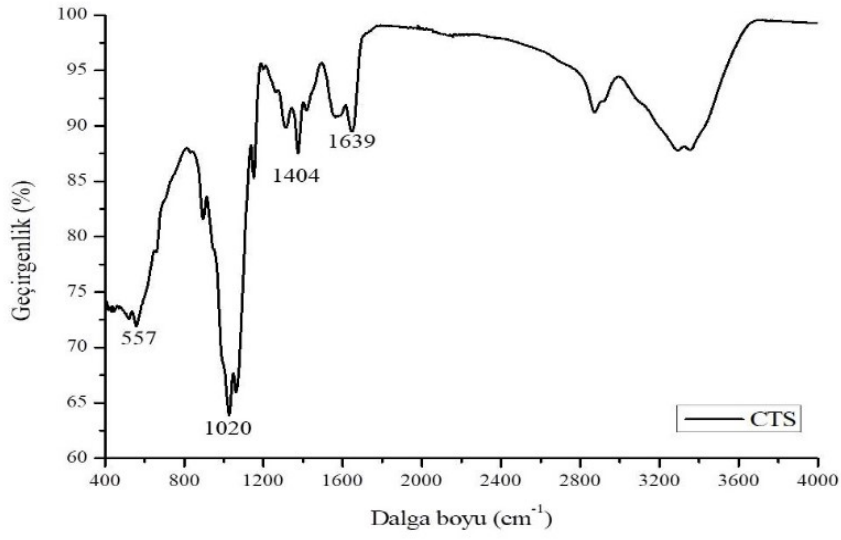
BULGULAR VE TARTIŞMA

HA/CTS Kompozit Kaplamalarının FT-IR Spektrumları

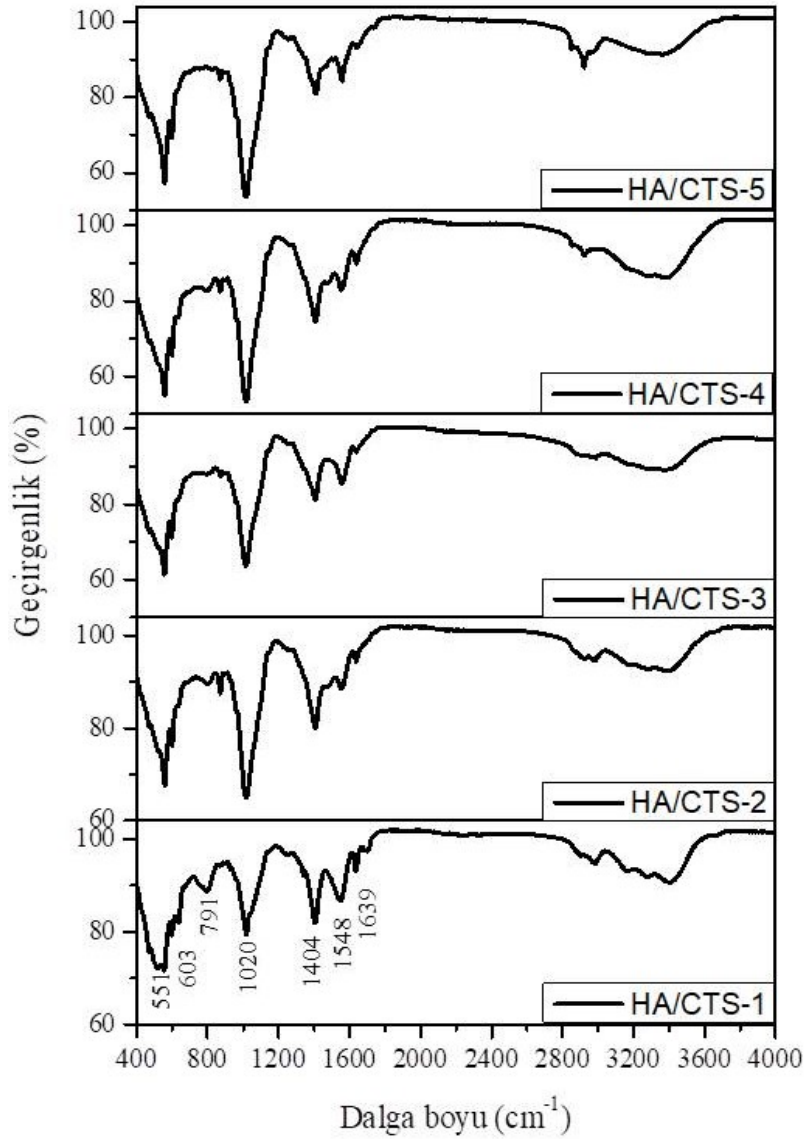
Hidroksiapatitin FT-IR spektrumu Şekil 1., kitosanın FT-IR spektrumu Şekil 2., diğer HA/CTS kompozit kaplamalarının FT-IR spektrumları Şekil 3.'tedir. Şekil 3.'ten, 551, 603, 791 ve 1020 cm^{-1} pikleri fosfat grubu olan hidroksiapatite aittir (Teng ve ark., 2016). 1404 cm^{-1} piki $-\text{CH}_2$ gerilme titreşimine karşılık gelmektedir. HA nanoparçacıkları üzerine kitosanın adsorbsiyonunu kanıtlayan kitosan amin grubundaki NH- bağlanma titreşimlerine tekabül eden pik 1548 cm^{-1} de gözlenmektedir. 1639 cm^{-1} piki, amid grubunda bulunan karboksil (C=O) bağı titreşimine aittir. $2800-3600\text{ cm}^{-1}$ geniş bant aralığı O-H grubuna aittir (Tozar ve Karahan, 2018). Hidroksiapatite ait karakteristik fosfat grubu ve kitosana ait karakteristik amin ve amid grubu titreşimlerinin görülmesi bu iki bileşenin birlikte biyokompozit kaplamanın yapısına girdiğini gösterir.



Şekil 1. Hidroksiapatitin FT-IR Spektrumu



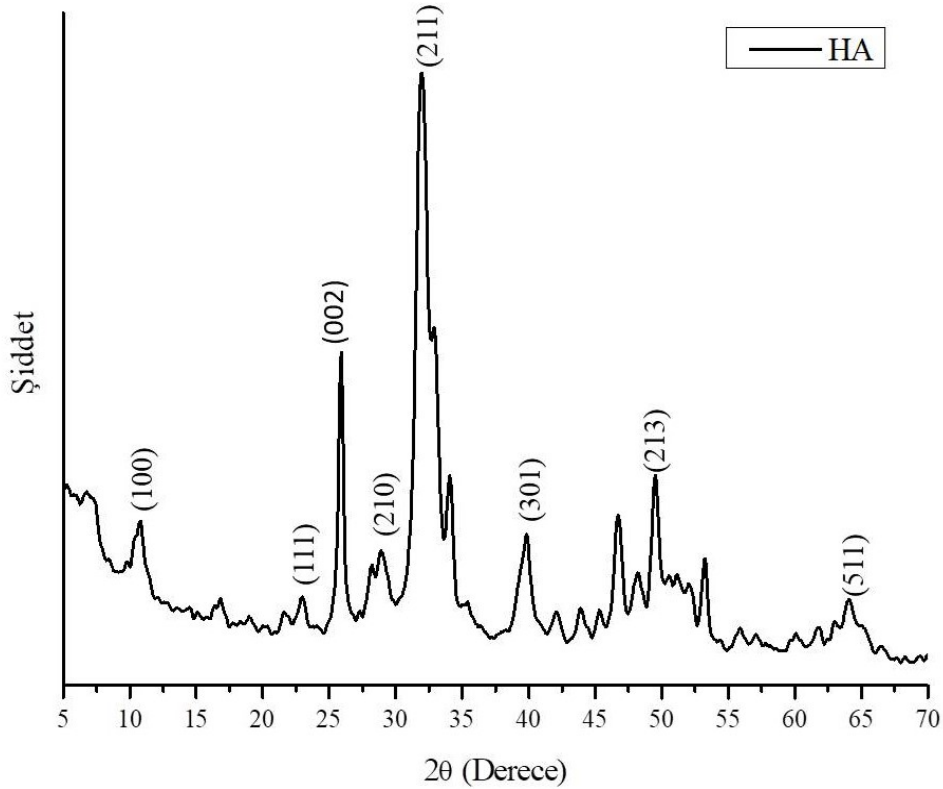
Şekil 2. Kitosanın FT-IR Spektrumu



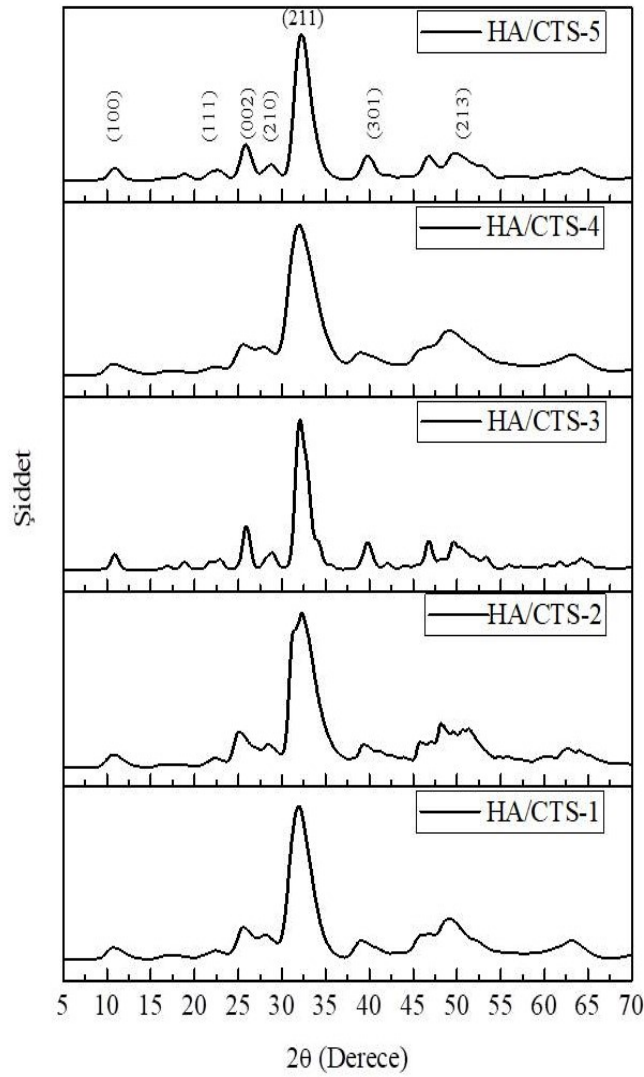
Şekil 3. HA/CTS Kompozit Kaplamalarının FT-IR Spektrumu

HA/CTS kompozit kaplamalarının faz analizleri

Hidroksiapatitin XRD grafiği Şekil 4., diğer HA/CTS kompozit kaplamalarının XRD grafiği Şekil 5.' te verilmiştir. Buradaki tüm piklerin varlığı hidroksiapatitten kaynaklı piklerdir. 32° 'de karakteristik piki (211) gözlemlenebilmektedir. 11° 'de (100) piki, 26° 'de (002) piki, 39° 'de (301) piki ve 64° 'de (511) piki görülebilmektedir. Küçük şiddete sahip 23° 'de (111) piki ve 28° 'de (210) piki de görülmektedir. Ayrıca 45° 'den 55° 'ye kadar uzanan geniş bant mevcuttur. Bu durum hidroksiapatit kristallerin üstüste binmesi sonucu oluştuğunu gösterir. Belirtilen aralıkta bu yığılmalardan amorf bir yapı sergilendiği söylenebilir. Kitosan piklerinin gözükmemesinin nedeni polimer olmalarındandır. Polimerler amorf yapıda oldukları için XRD deseninde görülmemeleri normaldir. HA' e ait zayıf pikler de gözlemlenebilmektedir. Bu düşük kristaliteye sahip yapı biyolojik apatitle benzerlikler göstermektedir (Correas ve ark., 2016). Farklı oranlarda katılanan HA/CTS biyokompozit kaplamalarının XRD desenlerinin farklı çıkmasının sebebi, her numunenin hidroksiapatit ile kitosanın yapısal olarak bağlanmalarının farklı olmasından kaynaklandığı yorumunda bulunulabilir. HA pikleri ICDD 01-073-8421 numaralı karttan tespit edilmiştir.



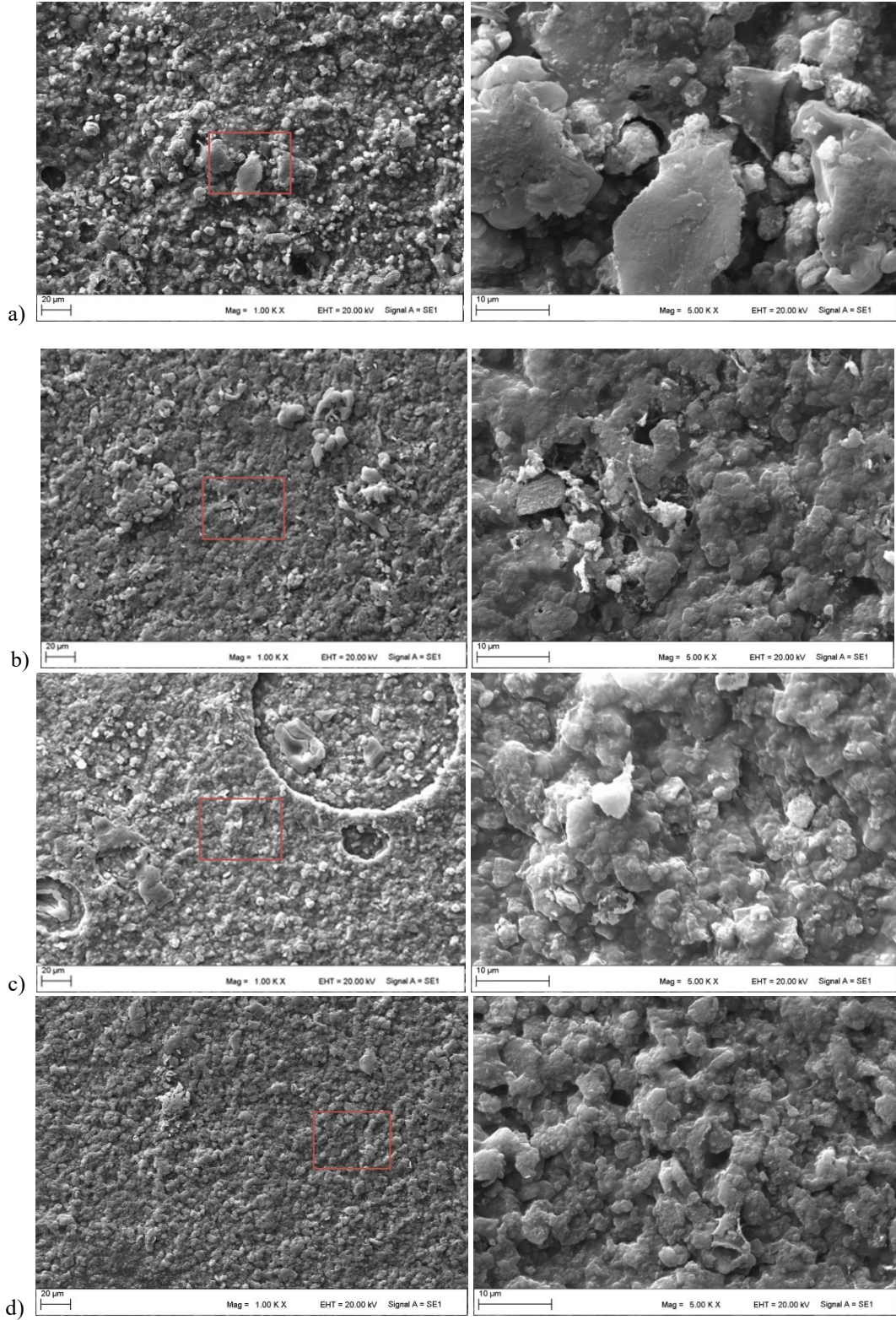
Şekil 4. Hidroksiapatitin XRD grafiği



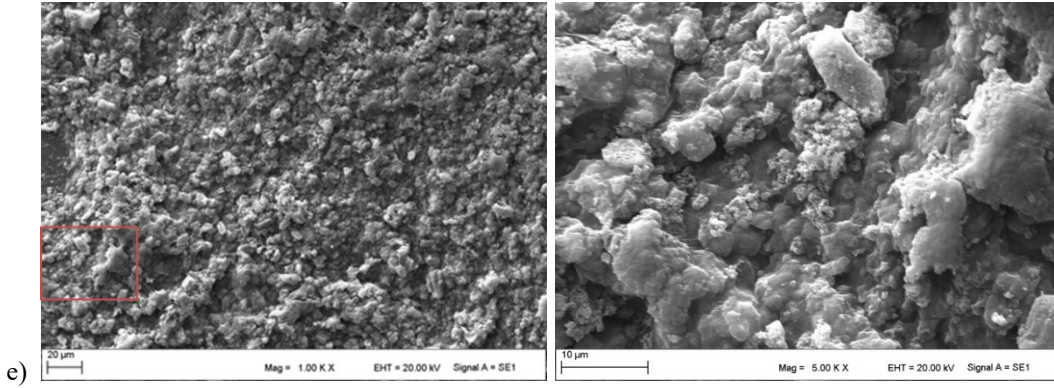
Şekil 5. HA/CTS-1, HA/CTS-2, HA/CTS-3, HA/CTS-4, HA/CTS-5 Kompozit Kaplamalarının XRD Grafikleri

HA/CTS kompozit kaplamalarının mikroyapıları

HA/CTS kompozit kaplamalarının mikroyapıları Şekil 6.' da gösterilmektedir. Gözenekli yapıların varlığı elektroforetik kaplama sırasında katod yüzeyindeki hidrojen oluşumunun sonucu olabileceği tahmin edilmektedir. Yüksek moleküler ağırlıklı kitosan katkısının artması ile birlikte gözenekli yapıların azaldığı gözlemlenebilmektedir. Bu gözenekli yapıların azalmasının nedeni yüksek moleküler ağırlıklı kitosan oranının artması ile birlikte yapıdaki seramiklerle daha iyi bağlanma gerçekleştirdiği şeklinde yorum yapılabilir. HA/CTS kaplamalarında herhangi bir yaprağımsı yapının olmadığı görülebilmektedir. Bu yapıların dikalsiyum fosfat (DCP) ve HA karışımından kaynaklandığı düşünülmektedir (Guan ve ark, 2009). Bu yaprağımsı yapıların olmayışı polimer matrisinin yapıdaki seramikle daha iyi bağlandığı anlamına gelmektedir (Tozar ve Karahan, 2018). Ayrıca yüksek moleküler ağırlıklı kitosan değeri arttıkça numunenin yapısının homojen yapıya doğru gittiği söylenebilir.



Şekil 6. HA/CTS Kompozit Kaplamaların SEM görüntüleri a) HA/CTS-1 b) HA/CTS-2 c) HA/CTS-3 d) HA/CTS-4 e) HA/CTS-5



Şekil 6. HA/CTS Kompozit Kaplamaların SEM görüntüleri a) HA/CTS-1 b) HA/CTS-2 c) HA/CTS-3 d) HA/CTS-4 e) HA/CTS-5 (Devamı)

SONUÇ

Bu çalışmada farklı oranlarda farklı moleküler ağırlığa sahip kitosan ile HA/CTS kompozit kaplamaları elektroforetik yöntemle üretildi. CTS' nin moleküler ağırlığının HA/CTS kaplamalarına etkisi incelendi. Kaplamaların morfolojik ve kristalografik yapıları FT-IR, XRD ve SEM ile analiz edildi. HA nanoparçacıkları üzerine kitosanın adsorbsiyonunu kanıtlayan kitosan amin grubundaki NH- bağlanma titreşimlerine tekabül eden pik 1548 cm^{-1} de gözlemlendi. Karakteristik HA ve CTS piklerinin varlığı, bu iki malzemenin biyokompozit kaplamanın yapısına girdiği sonucuna varıldı. XRD analizinden 32° de karakteristik piki (211) gözlemlendi. XRD deseninde 45° 'den 55° ye kadar uzanan geniş bant gözlemlenmiştir. Bu geniş bantın varlığı nanometrik düzeyde HA kristallerinin üst üste yığılmaları ve kitosan ile etkileşiminden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Her bir kaplamaya ait XRD desenleri birbirlerine göre farklılık göstermektedir. Bu farklılığın sebebi yapıdaki hidroksiapatit ile kitosanın farklı oranlarda yapı oluşturduğu şeklinde düşünülmektedir. SEM analizinden, gözenekli yapıların varlığı elektroforetik kaplama sırasında katod yüzeyindeki hidrojen oluşumunun sonucu olabileceği tahmin edilmektedir. HA/CTS kaplamalarında herhangi bir yaprağımsı yapının olmadığı görülebilmektedir. Bu yaprağımsı yapıların olmayışı polimer matrisinin yapıdaki seramikle daha iyi bağlandığı anlamına gelmektedir. Elde edilen bulgular neticesinde HMW kitosan katkısının artışıyla; HA/CTS biyokompozit kaplamalarının yapısının homojen yapıya doğru gittiğini ve bu yapı HA/CTS-4 numunesinin SEM analizinden tanecik boyutları arasındaki farkın çok olmamasından görülebilmektedir. Ayrıca gözenekli yapıların azaldığı gözlemlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda en iyi kaplamanın 25 MMW-75 HMW oranının olduğu HA/CTS-4 numunesinin olduğu gözlemlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "18.D.015" kodlu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

Alshaaer, M., Cuyppers, H., Rahier, H., Wastiels, J. (2011). Production of monetite-based Inorganic Phosphate Cement (M-IPC) using hydrothermal post curing (HTPC). *Cement and Concrete Research*, 41(1), 30-37.

- Barbosa, M.C., Messmer, N.R., Brazil, T.R., Marciano, F.R., Lobo, A.O. (2013). The effect of ultrasonic irradiation on the crystallinity of nano-hydroxyapatite produced via the wet chemical method. *Materials Science and Engineering: C*, 33(5), 2620-2625.
- Correas, C., Gerardo, M.L., Lord, A.M., Ward, M.B., Andreoli, E., Barron, A.R. (2017). Nanostructured fusiform hydroxyapatite particles precipitated from aquaculture wastewater. *Chemosphere*, 168, 1317-1323.
- Das, S., Banerjee, S., Bagchi, B., Bhandary, S., Kool, A., Hoque, N.A., Biswas, P., Pal, K., Thakur, P., Das, K., Karmakar, P. (2018). Antimicrobial and biocompatible fluorescent hydroxyapatite-chitosan nanocomposite films for biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171, 300-307.
- Guan, S., Wen, C., Peng, L., Ren, C., Wang, X., Hu, Z. (2009). Characterization and degradation behavior of AZ31 alloy surface modified by bone-like hydroxyapatite for implant applications. *Applied Surface Science*, 255(13-14), 6433-6438.
- Hahn, B.D., Park, D.S., Choi, J.J., Ryu, J., Yoon, W.H., Choi, J.H., Kim, H.E., Kim, S.G. (2011). Aerosol deposition of hydroxyapatite-chitosan composite coatings on biodegradable magnesium alloy. *Surface and Coatings Technology*, 205(8-9), 3112-3118.
- Lin, D.Y. ve Wang, X.X. (2010). Electrodeposition of hydroxyapatite coating on CoNiCrMo substrate in dilute solution. *Surface and Coatings Technology*, 204(20), 3205-3213.
- Madl, A.K., Liong, M., Kovochich, M., Finley, B.L., Paustenbach, D.J., Oberdörster, G. (2015). Toxicology of wear particles of cobalt-chromium alloy metal-on-metal hip implants Part I: Physicochemical properties in patient and simulator studies. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11(5), 1201-1215.
- Muley, S.V., Vidvans, A.N., Chaudhari, G.P., Udainiya, S. (2016). An assessment of ultra fine grained 316L stainless steel for implant applications. *Acta Biomaterialia*, 30, 408-419.
- Nikpour, M.R., Rabiee, S.M., Jahanshahi, M. (2012). Synthesis and characterization of hydroxyapatite/chitosan nanocomposite materials for medical engineering applications. *Composites Part B: Engineering*, 43(4), 1881-1886.
- Patel, K.D., Singh, R.K., Lee, J.H., Kim, H.W. (2019). Electrophoretic coatings of hydroxyapatite with various nanocrystal shapes. *Materials Letters*, 234, 148-154.
- Pawlik, A., Rehman, M.A.U., Nawaz, Q., Bastan, F.E., Sulka, G.D., Boccaccini, A.R. (2019). Fabrication and characterization of electrophoretically deposited chitosan-hydroxyapatite composite coatings on anodic titanium dioxide layers. *Electrochimica Acta* 307, 465-473.
- Prokhorov, E., Sanchez, A.G., Barcenas, G.L., Garcia, A.G.M., Kovalenko, Y., Munoz, E.M.R., Raucchi, M.G., Buononore, G. (2018). Chitosan-hydroxyapatite nanocomposites: Effect of interfacial layer on mechanical and dielectric properties. *Materials Chemistry and Physics*, 217, 151-159.
- Sikka, M.P. ve Midha, V.K. (2019). The role of biopolymers and biodegradable polymeric dressings in managing chronic wounds. *Advanced Textiles for Wound Care Elsevier*, s. 463-488.
- Singh, T., Singh, S., Singh, G. (2020). Fabrication and characterization of chitosan – hydroxyapatite – zirconium dioxide composites for biomedical applications. *Materials Today: Proceedings*, 26, 1878-1883.
- Teng, S.H., Liang, M.H., Wang, P., Luo, Y. (2016). Biomimetic composite microspheres of collagen/chitosan/nano-hydroxyapatite: In-situ synthesis and characterization. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 610-613.
- Tozar, A., Karahan, İ.H. (2018). A comprehensive study on electrophoretic deposition of a novel type of collagen and hexagonal boron nitride reinforced hydroxyapatite/chitosan biocomposite coating. *Applied Surface Science*, 452, 322-336.
- Wang, L.N., Luo, J.L. (2011). Preparation of hydroxyapatite coating on CoCrMo implant using an effective electrochemically-assisted deposition pretreatment. *Materials Characterization*, 62(11), 1076-1086.
- Zhao, H., Jin, H., Cai, J. (2014). Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan composite with enhanced compressive strength by urease-catalyzed method. *Materials Letters*, 116, 293-295.
- Zima, A. (2018). Hydroxyapatite-chitosan based bioactive hybrid biomaterials with improved mechanical strength. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 193, 175-184.