

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BOR OKSİT KATKILI SOMON KALSİYUM FOSFAT ESASLI
BİYOSERAMİK KOMPOZİTLERİN ÖZELLİKLERİ VE
KARAKTERİZASYONU

Merve BAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Malzeme Programı

Danışman

Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Cevriye KALKANDELEN

Şubat, 2021

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BOR OKSİT KATKILI SOMON KALSİYUM FOSFAT ESASLI
BİYOSERAMİK KOMPOZİTLERİN ÖZELLİKLERİ VE
KARAKTERİZASYONU

Merve BAŞ tarafından hazırlanan tez çalışması 19.02.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı, Malzeme Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Cevriye KALKANDELEN
İstanbul Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Nilgün KUŞKONMAZ, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ, Üye

Marmara Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Bor Oksit Katkılı Somon Kalsiyum Fosfat Esaslı Biyoseramik Kompozitlerin Özellikleri ve Karakterizasyonu” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Merve BAŞ
İmza



Aileme

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde kıymetli bilgi, tecrübe ve eleştirileriyle bana yol gösteren sayın hocam Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR'a, zaman mekan gözetmeksizin maddi manevi her konuda destek olan değerli eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Cevriye KALKANDELEN'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans çalışmam boyunca laboratuvarındaki imkanlardan yararlanmamı sağlayan, bilgisi ve değerli birikimleriyle destek olan Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ'e, çalışmamda her türlü konuda bana yardımcı olan arkadaşım Songül ULAĞ'a ve çok güzel zamanlar geçirdiğim tüm Nanoteknoloji ve Biyomalzemeler Uygulama ve Araştırma Merkezi ekibine içten teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde olduğu gibi yüksek lisans sürecimde de yanımda olan ve beni motive eden çok değerli arkadaşlarım Beyza BAKKAL, Beril OĞUZ ve Emine Sena KAZAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Bütün hayatım boyunca her zaman yanımda olan, beni destekleyen başta canım anneme ve tüm aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Merve BAŞ

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	5
1.3 Hipotez.....	6
2 KEMİK-DOKU UYGULAMALARINDA BİYOMALZEMELER	7
2.1 Kemikğin Yapısı ve Özellikleri.....	7
2.2 Biyomalzemeler.....	9
2.3 Biyomalzemelerden Beklenen Temel Özellikler.....	11
2.4 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması	13
2.4.1 Metalik Biyomalzemeler.....	15
2.4.2 Polimerik Biyomalzemeler.....	15
2.4.3 Kompozit Biyomalzemeler	17
2.4.4 Seramik Biyomalzemeler	18
2.5 Kalsiyum Fosfat (CaP) Seramikleri	21
2.5.1 Hidroksiapatit (HA).....	25
2.5.2 Trikalsiyum fosfat (TCP)	27

2.5.3	Bifazik yapılar (BCP).....	29
2.5.4	Üretim yöntemleri	30
3	DENEYSEL ÇALIŞMALAR	33
3.1	Deneylerde Kullanılan Malzemeler ve Özellikleri	33
3.1.1	Somon Kalsiyum Fosfat (sCaP) Elde Edilmesi	33
3.1.2	Bor Oksit (B_2O_3).....	34
3.2	Deneylerde Kullanılan Cihazlar	35
3.2.1	Termal Analiz (TGA/DTA)	35
3.2.2	Partikül Boyutu Analizi (DLS)	36
3.2.3	Yoğunluk Ölçümü	36
3.2.4	Mikrosertlik Ölçümü	37
3.2.5	Basma Dayanımı Ölçümü	38
3.2.6	X- Işını Kırınımı (XRD) Analizi	39
3.2.7	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi	39
3.2.8	Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektrometresi (EDS) İncelemesi	40
3.2.9	Hücre Kültürü	41
3.3	Numune Hazırlama	43
3.3.1	Pelet hazırlama ve sinterleme işlemi	44
4	DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA	46
4.1	Karakterizasyon	46
4.1.1	sCaP Tozunun DLS ve Termal Analiz Sonuçları	46
4.1.2	XRD Analizi	47
4.1.3	FTIR Analizi	56
4.1.4	SEM-EDS Analizi	61

4.1.5	Mekanik Özelliklerin Analizi.....	66
4.1.6	Biyoaktivite Test sonuçları.....	76
5	SONUÇ VE ÖNERİLER	82
	KAYNAKÇA	86
	TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	96



SİMGE LİSTESİ

Å	Angström
MA	Askıdaki Ağırlık
dk	Dakika
rpm	Dakikadaki devir/dönüş sayısı
°	Derece
MD	Doymuş Ağırlık
GPa	Gigapascal
g	Gram
V	Hacim
K	Kelvin
kV	Kilovolt
MK	Kuru Ağırlık
m	Kütle
λ	Lamda
MPa	Megapascal
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
N	Newton
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
cm ³	Santimetreküp
HV	Vickers Mikrosertlik
~	Yaklaşık
ρ	Yoğunluk

KISALTMA LİSTESİ

ağ.	Ağırlıkça
ark.	Arkadaşları
ACP	Amorf kalsiyum fosfat
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
α -TCP	Alfa-Trikalsiyum Fosfat
β -TCP	Beta-Trikalsiyum Fosfat
BCP	Bifazik Kalsiyum Fosfat
BHA	Sığır Hidroksiapatit
CaO	Kalsiyum Oksit
CaP	Kalsiyum Fosfat
CHA	Ticari Sentetik Hidroksiapatit
CIG	Ticari İnert Cam
DCPA/DCP	Dikalsiyum Fosfat Susuz
DCPD	Dikalsiyum Fosfat Dihidrat
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
DMEM	Dulbecco'nun Modifiye Eagle Ortamı
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DTA	Diferansiyel Termal Analiz
EDS	Enerji Dağılım Spektrometresi
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
FBS	Fetal Sığır Serumı
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HA/Hap	Hidroksiapatit
HMWPE	Yüksek Moleküler Ağırlıklı Polietilen
JCPDS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards
KOL-I	Tip I kollajen
MCPA/MCP	Monokalsiyum Fosfat Susuz
MCPM	Monokalsiyum Fosfat Monohidrat
MTT	[3-(4,5-dimetildiyazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolyum bromür]
NaOH	Sodyum Hidroksit
OCP	Oktakalsiyum Fosfat
PA	Naylon
PBS	Phosphate Buffered Saline
PC	Akrilik
PDMS	Polidimetilsiloksan
PE	Polietilen
PEEK	Polieter Eter Keton
PGA	Poliglikolik Asit
PHB	Polihidroksibutirat
PLA	Polilaktik Asit
PMMA	Polimetil Metakrilat
PS	Polistiren
PTFE	Politetrafloretilen
PU	Poliüretan
PVC	Poli Vinil Klorür

sCaP	Somon Kalsiyum Fosfat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TCP	Trikalsiyum Fosfat
TGA	Termogravimetrik Analiz
TTCP/TetCP	Termogravimetrik Analiz
UV	Ultraviyole
XRD	X-Işını Kırınımı



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1 İnsan iskelet sistemindeki kemikler [15]	7
Şekil 2. 2 Kemiğin hiyerarşik yapısı [17]	9
Şekil 2.3 Canlı vücudunda kullanılan biyomalzemeler [31]	14
Şekil 2.4 Sert dokuyu yenilemek için biyoseramiklerin kullanılabileceği farklı formlar [36]	19
Şekil 2.5 Biyoseramiklerin vücut dokuları ile etkileşimi: (a) biyoinert, (b) biyoaktif, (c) yüzey aktif, (d) biyobozunabilir (biyoemilebilir) [37]	20
Şekil 2.6 CaP bileşikleri için iki boyutlu çözünürlük faz diyagramı [50]	23
Şekil 2.7 HA'nın kristal yapısı [65]	27
Şekil 2.8 HA çalışma alanları [48]	27
Şekil 3.1 (a) Atık somon kemikleri, (b) temizlenmiş somon kemikleri, (c) kalsinasyon sonrası kemikler, (d) kuru öğütme ve eleme sonrası toz partiküller	34
Şekil 3.2 DTA 404 Netzsch cihazı	36
Şekil 3.3 HORIBA SZ-100Z nanopartikül ölçüm cihazı	36
Şekil 3.4 Vickers mikrosertlik (HV) test cihazı	38
Şekil 3.5 Devotrans marka basma cihazı	38
Şekil 3.6 Philips X'Pert marka XRD cihazı (İTÜ-ATUM)	39
Şekil 3.7 FTIR analiz cihazı (JASCO, FT/IR-4700, Japonya)	40
Şekil 3.8 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (MA-EVO10, ZEISS, Almanya)	40
Şekil 3.9 Kaplama cihazı (Quorum, SC7620, ABD)	41
Şekil 3.10 a) RETSH-S100 marka değirmen, b) öğütme kabı ve Al ₂ O ₃ bilyalar	43
Şekil 3.11 (a) presleme cihazı, (b) paslanmaz çelik kalıplar	44
Şekil 3.12 Nabertherm LHT 02/17 marka sinterleme fırını	45
Şekil 3.13 Farklı sıcaklıklarda sinterlenmiş pelet numuneler	45
Şekil 4.1 DLS metodu ile saf sCaP tozlarının boyut analizi	46
Şekil 4.2 Saf sCaP tozlarının termal analizleri; (a) TGA, (b) DTA	47
Şekil 4.3 S0 numunelerinin XRD analizi sonuçları	48
Şekil 4.4 Sinterlenmemiş S0 XRD-partikül büyüklüğü dağılımı	49
Şekil 4.5 S1 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları	50
Şekil 4.6 S2.5 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları	51
Şekil 4.7 S5 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları	52
Şekil 4.8 S7.5 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları	53
Şekil 4.9 S10 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları	54
Şekil 4.10 FTIR spektrumları; (a) çiğ somon kemiği, (b) S0-1300 °C, (c) S0-1200 °C, (d) S0-1100 °C, (e) S0-1000 °C, (f) 800 °C'de kalsine edilmiş S0 ve (g) CHA	56
Şekil 4.11 1000 °C'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri	58
Şekil 4.12 1100 °C'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri	58
Şekil 4.13 1200 °C'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri	59
Şekil 4.14 1300 °C'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri	59
Şekil 4.15 Farklı sinterleme sıcaklıklarında S0 numunelerinin SEM görüntüleri; (a,b) 800 °C, (c,d) 1000 °C, (e,f) 1100 °C, (g,h) 1200 °C ve (i,j) 1300 °C	62
Şekil 4.16 Tane boyutu dağılım grafiği: (a) S0-1000 °C, (b) S0-1100 °C, (c) S0-1200 °C ve (d) S0-1300 °C	63

Şekil 4.17 S10 kodlu kompozitlerin SEM görüntüleri: (a) S10-1000 °C, (b) S10-1100 °C, (c) S10-1200 °C, (d) S10-1300 °C (büyük görüntü 1000X, küçük görüntü 3500X büyütme).....	65
Şekil 4.18 S10 kodlu kompozitlerin EDS analizi sonuçları.....	66
Şekil 4.19 Sinterleme sıcaklığının S0'in; (a) yoğunluk, (b) mikrosertlik, (c) basma dayanımı ve (d) elastik modülü üzerindeki etkisi	68
Şekil 4.20 1100 °C'de sinterlenmiş bir numunenin kuvvet-uzama grafiği	70
Şekil 4.21 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin klasik yoğunluk grafiği.....	74
Şekil 4.22 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin Vickers mikrosertlik grafiği	75
Şekil 4.23 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin basma dayanımı grafiği	75
Şekil 4.24 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin elastiklik modülü grafiği	76
Şekil 4.25 S0, S1, S2.5, S5, S7.5 ve S10 kompozitleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenmiş insan osteoblast hücre canlılığı (%). Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA), Tukey-Kramer Çoklu Karşılaştırma Testi, S0 ile karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar, * p <0,05, *** p <0,001, n=3.....	77
Şekil 4.26 S0 peletleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenmiş insan osteoblast hücresinin SEM görüntüsü: (a) S0-1000 °C, (b) S0-1100 °C, (c) S0-1200 °C ve (d) S0-1300 °C (2000X büyütme, skala:10 µm ve 5000X büyütme, skala:2 µm).....	79
Şekil 4.27 S1 peletleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenmiş insan osteoblast hücresinin SEM görüntüsü: (a) S1-1000 °C, (b) S1-1100 °C, (c) S1-1200 °C ve (d) S1-1300 °C (2000X büyütme, skala:10 µm ve 5000X büyütme, skala:2 µm).....	80
Şekil 4.28 S2.5 peletleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenmiş insan osteoblast hücresinin SEM görüntüsü: (a) S2.5-1000 °C, (b) S2.5-1100 °C, (c) S2.5-1200 °C ve (d) S2.5-1300 °C (2000X büyütme, skala:10 µm ve 5000X büyütme, skala:2 µm).....	81

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Sert dokuların mekanik özellikleri [19], [18]	8
Tablo 2.2 İmplantlarla ilgili gelişmeler [22].....	10
Tablo 2.3 Biyomalzemelerden beklenen özellikler [26], [27], [28]	12
Tablo 2.4 Dokunun yabancı maddelere tepkisi [29]	13
Tablo 2.5 Canlı vücudunda kullanılan malzemelerin avantaj, dezavantajları ve uygulama örnekleri [22]	14
Tablo 2.6 Polimerik malzemelerin biyomedikal uygulamaları [27]	16
Tablo 2.7 Kalsiyum fosfat bileşikler ve başlıca özellikleri [49], [50], [41]	24
Tablo 2.8 Apatitin bir parçası olabilecek önemli iyonlar, $M_{10}(ZO_4)_6X_2$ [59]	26
Tablo 3.1 Toz karışımları için numune kodları.....	43
Tablo 4.1 S0 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi	48
Tablo 4.2 S1 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi	50
Tablo 4.3 S2.5 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi	51
Tablo 4.4 S5 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi	52
Tablo 4.5 S7.5 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi	53
Tablo 4.6 S10 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi	54
Tablo 4.7 4000-400 cm^{-1} bölgesindeki borapatit için FTIR bantlarının atamaları [108], [109]	60
Tablo 4.8 S0 numunelerinin EDS analizi sonucu.....	64
Tablo 4.9 1000-1300 °C sıcaklıklarda sinterlenen S0 numunelerinin klasik yoğunluk, % gözenek, % su emme, bulk (yığın) yoğunluk sonuçları	67
Tablo 4.10 1000-1300 °C sıcaklıklarda sinterlenen S0 numunelerinin yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı ve elastiklik modülü değerleri	67
Tablo 4.11 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen peletlerin klasik yoğunluk, bulk (yığın) yoğunluk, % gözenek (açık) porozite ve % su emme değerleri	71
Tablo 4.12 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen peletlerin ortalama klasik yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı ve elastiklik modülü değerleri	73

Bor Oksit Katkılı Somon Kalsiyum Fosfat Esaslı Biyoseramik Kompozitlerin Özellikleri Ve Karakterizasyonu

Merve BAŞ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR

Eş-Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Cevriye KALKANDELEN

Kalsiyum fosfat (CaP) seramikler, kemik ve diş gibi sert dokulara kimyasal ve yapısal olarak benzeyen, hücre yapışmasını ve çoğalmasını destekleyen, zayıflayan kemik dokunun onarımında veya implant üzerine kaplama malzemesi olarak tercih edilen biyoseramik malzemelerdir. CaP seramiklerinin kararlı bir fazı olan hidroksiapatit (HA) ve yüksek çözünürlüğe sahip trikalsiyum fosfat (TCP) fazının bir araya gelmesiyle oluşturulan bifazik kalsiyum fosfat (BCP) yapılar, belirli bir dereceye kadar kontrol edilebilen bozunma oranına sahip olması nedeniyle kemik doku uygulamalarında avantaj sağlamaktadır.

BCP yapı elde etmek için basit ve düşük maliyetli bir yöntem olan kalsinasyon yöntemi kullanılmış, somon balık kemikleri 800 °C'de 3 saat kalsine edilmiştir (sCaP). sCaP'nin mekanik ve biyoyum özelliklerini geliştirmek için ağı. %1, 2.5, 5, 7.5 ve 10 oranında bor oksit (B_2O_3) tozu ilave edilerek sCaP- B_2O_3 kompozitleri oluşturulmuştur. Saf sCaP tozları ve kompozitler pelet haline getirilmiş, 1000, 1100, 1200 ve 1300 °C sıcaklıklarda 4 saat sinterlenmiş, sinterlemenin ve B_2O_3 katkısının sCaP'ye etkisi araştırılmıştır. Numunelerin DTA/TGA, DLS, XRD, FTIR, SEM-EDS, yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı, elastiklik modülü ve biyoyum analizleri yapılmıştır.

Kalsinasyon sonucu sCaP tozlarının XRD faz analizinde BCP bir yapı meydana gelmiş, B_2O_3 katkılı kompozitlerde ise BCP'nin yanı sıra büyük oranda borapatit yapı meydana gelmiştir. sCaP'ye ağı. %1 B_2O_3 katkısı mekanik özellikleri bir miktar artırırken, daha yüksek B_2O_3 katkısı mekanik özellikleri olumsuz yönde etkilemiştir.

Numunelerin FTIR spektrumlarında tipik CaP bantlarına ek olarak borat gruplarıyla ilgili BO_2 ve BO_3 bantları da gözlenmiştir. MTT sitotoksosite analizinde %2,5'a varan B_2O_3 katkısının hücre canlılığını artırdığı, daha fazla B_2O_3 eklenmesinin bazı toksik etkilere neden olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum fosfat seramik, somon balık kemiği, bor oksit, mekanik özellikler, biyouyum



Properties and Characterization of Boron Oxide Doped Salmon Calcium Phosphate Based Bioceramic Composites

Merve BAŞ

Department of Metallurgical and Materials Engineering
Master of Science Thesis

Advisor: Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR

Co-advisor: Assist. Prof. Dr. Cevriye KALKANDELEN

Calcium phosphate (CaP) ceramics are bioceramic materials that are chemically and structurally similar to hard tissues such as bones and teeth, are biocompatible, support cell adhesion and proliferation, and are preferred as a coating material on the repair of weakened bone tissue or on implants. Biphasic calcium phosphate (BCP) structures, which are formed by the combination of hydroxyapatite (HA), a stable phase of CaP ceramics, and tricalcium phosphate (TCP) phase with high solubility, provide advantages in bone tissue applications due to their controllable degradation rate.

Calcination method, which is a simple and low cost method, was used to obtain BCP structure, salmon fish bones were calcined for 3 hours at 800 °C (sCaP). In order to improve the mechanical and biocompatibility properties of sCaP, 1, 2.5, 5, 7.5 and 10 wt% boron oxide (B_2O_3) powder was added and sCaP- B_2O_3 composites were formed. Pure sCaP powders and composites were made into pellets, sintered for 4 hours at 1000, 1100, 1200 and 1300 °C temperatures, and the effect of sintering and B_2O_3 additive on sCaP was investigated. DTA/TGA, DLS, XRD, FTIR, SEM-EDS, density, microhardness, compression strength, modulus of elasticity and biocompatibility of samples were analyzed.

As a result of calcination, a BCP structure was formed in the XRD phase analysis of sCaP powders, and in B_2O_3 doped composites, a large proportion of borapatite structure was formed in addition to BCP. While the 1% B_2O_3 contribution slightly increased the mechanical properties, the higher B_2O_3 contribution negatively affected the mechanical properties. In addition to the typical bands of CaPs in the FTIR spectra of the samples, BO_2 and BO_3 bands related to the borate groups were observed. In MTT cytotoxicity analysis, it was observed that in samples up to 2.5% B_2O_3 contribution increased cell viability, more B_2O_3 added caused some toxic effect.

Keywords: Calcium phosphate ceramic, salmon fish bone, boron oxide, mechanical properties, biocompatibility.



1.1 Literatür Özeti

Vücudumuz için hayati önem taşıyan doku ve organlar, hayatımız boyunca trafik, iş, spor kazaları ve hastalık gibi yaşam kalitemizi olumsuz yönde etkileyebilecek birtakım sorunlarla karşı karşıya kalabilmektedir. Vücutta zarar gören kemik dokusunu onarmak için otolog (aynı bireyin bir yerinden başka bir yerine yapılan doku transferi) veya allojenik (aynı türden fakat farklı kişiler arasında yapılan doku transferi) greftler kullanılmaktaydı [1]. Otolog ve allojenik kemik greft malzemeleri vücut tarafından reddedilme riski, enfeksiyon taşıma riski, yer değiştirebilir olması, hastalık ve kanser riski taşıması, transfer sırasında pratiklik ve büyük dikkat gerektirmesi gibi dezavantajlara sahip olduğundan sentetik biyomalzemelere ihtiyaç giderek artmaktadır. Son yirmi yılda, birçok kemik replasman malzemesi otolog ve allojenik kemik greft malzemelerinin nakil ihtiyacının yerini almaktadır.

Kemik apatit, vücutta kireçlenmiş (dokuda kalsiyum tuzlarının birikmesi) dokuların mineral fazını oluşturan biyolojik apatitlerden biri olduğundan, sert dokunun yerini alabilmek için kemik apatite benzer sentetik bir bileşiğin kullanılması diğer sentetik materyallere göre avantaj sağlamaktadır. Kemik apatite benzeyen kalsiyum fosfat (CaP) seramik ailesinin bir üyesi olan hidroksiapatit (HA), mükemmel biyouyumluluğu sayesinde kemik doku malzemesi olarak kullanılmaktadır. CaP ailesinin dikkat çeken bir başka üyesi ise biyoemilebilirliği sayesinde önemli bir role sahip olan trikalsiyum fosfattır (TCP) [2]. Günümüzde CaP seramikleri, biyouyumluluk ve bozunma özelliklerinden dolayı temel olarak kemik dokunun onarılması, değiştirilmesi ve güçlendirilmesi için kullanılmaktadır. CaP seramikleri yüksek kontrollü parametrelere ihtiyaç duyan kimyasal yöntemlerle sentezlenmekteyken, son zamanlarda ilgi daha çok; yapılarındaki eser miktarda faydalı iyonlar sayesinde doku ile daha iyi bütünlük sağlayabilen, düşük maliyetli işlemler sayesinde ekonomik olan, büyük miktarda temin edilebilen hayvan

kemikleri (sığır, koyun, domuz, balık), yumurta kabuğu, midye kabuğu, deniz kabuğu ve bitkiler gibi doğal kaynaklara kaymaktadır [3], [4], [5], [6].

CaP seramikleri düşük mekanik dayanıma sahip olduğundan yük taşıyan implant/protez uygulamalarında ana taşıyıcı olarak kullanılamamakta, genellikle çeşitli takviyelerle (seramikler, metaller veya polimerler) kompozit yapı oluşturularak veya metal substrat (altlık) üzerine kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır.

Tavangarian ve arkadaşları, nanokristalin BCP tozu elde etmek amacıyla EDS analizi sonucu Ca/P oranı 2 olan kalsine sığır kemiği tozunu, saf β -TCP'nin teorik Ca/P değeri olan 1.5'e ayarlamak için sığır kemiklerini 900 °C'de 2 saat kalsine ederek uygun miktarda kalsiyum hidrojen fosfat dihidrat (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ile karıştırmışlar ve pelet haline getirdikleri toz karışımlarını 900-1200 °C aralığındaki çeşitli sıcaklıklarda 1 ve 2 saat süreyle sinterlemişlerdir. BCP'nin XRD analizinde HA ve β -TCP dışında safsızlık belirlenmemiş ve artan sinterleme süresi ve sıcaklığıyla HA piklerinin yoğunluğunun kademeli olarak azaldığını, β -TCP piklerinin aşamalı olarak ortaya çıktığını; β -TCP'nin kristal boyutu artarken HA'nın kristal boyutunun genel itibarıyla azaldığını belirlemişlerdir. HA'nın 1100 °C'de hızlı bir şekilde azalan kristal boyutunun HA'nın ayrışması ile ilgili olabileceğini ve değişen β -TCP/HA oranlarındaki BCP'lerin, 1 ve 2 saat süreyle 900-1200 °C aralığında çeşitli sıcaklıklarda uygulanan ısı işlemleri ile başarılı bir şekilde üretilebileceğini belirtmişlerdir [7].

Pal ve arkadaşları, HA elde etmek için lates calcarifer balık kemiklerini 5 °C/dk hızla ısıtarak 200, 400, 800, 1000 ve 1200 °C sıcaklıklarda 1 saat süreyle kalsine etmişlerdir. Yüksek kalsinasyon sıcaklıklarında elde edilen tozların HA ve az miktarda TCP fazına sahip olduğunu, artan kalsinasyon sıcaklıklarında HA piklerinin daha yoğun ve daha dar olduğunu, osteoblast benzeri hücreler (MG63) kullanarak yaptıkları in vitro sitotoksikite çalışmalarında 1200 °C'de 1 saat sinterlenmiş HA tozunun sitotoksik özellik göstermediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, balık kemiklerinden sentezlenen HA'nın ortopedik implant ve doku mühendisliği uygulamaları için uygun olabileceği sonucuna varmışlardır [8].

Gündüz ve arkadaşları, kalsinasyon yöntemiyle sığır kemiğinden elde ettikleri HA (BHA) tozlarını kompozit yapı oluşturmak için ağ. %5, 7.5 ve 10 bor oksit (B_2O_3) tozları ile karıştırmışlar ve izostatik pres ile hazırladıkları kompozit peletleri 1000 °C ile 1300 °C arasındaki farklı sıcaklıklarda sinterlemişlerdir. Artan sinterleme sıcaklığı ve B_2O_3 içeriği ile HA- B_2O_3 kompozitlerinin basma dayanımı ve mikrosertliklerinin azaldığını, en iyi mekanik sonuçların ağ. %5 B_2O_3 ilave edilen kompozitlerde elde edildiğini gözlemlemişler ve daha yüksek sinterleme sıcaklıklarında çok yoğun gözenek oluşumuna bağlı olarak basma dayanımı ve mikrosertlik değerlerinde azalma olduğunu belirlemişlerdir [9].

Sunil ve arkadaşları, Sheelavati (roho labio) balığı kemiklerinden ısıtma işlemi (600, 700, 800, 900 ve 1000 °C gibi farklı sıcaklıklarda) HA elde etmişler ve tozların EDS analizinde Ca, P, O ve Mg'un varlığını kanıtlayarak, atomik Ca/P oranını 1.63 olarak hesaplamışlardır. SEM görüntülerinde ısıtma işlem sonrası elde edilen tüm tozların benzer yapı gösterdiğini, ısıtma işlem sıcaklığının artmasıyla ortalama tane boyutunun 64.5 nm'den 330 nm'ye arttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar sheelavati (roho labio) balık kemiklerinden kolay bir ısıtma işlemi çeşitli biyomedikal uygulamalar için HA üretilebileceği sonucuna varmışlardır [10].

Khoshsima ve arkadaşları, ıslak çökeltme yöntemi ile HA tozları hazırlamışlardır. Islak çökeltme yönteminde Ca^{2+} ve PO_4^{3-} kaynakları olarak sırasıyla kalsiyum nitrat tetrahidrat ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) ve di-amonyum hidrojen fosfat ($(NH_4)_2HPO_4$), pH'ı ayarlamak için ise amonyak çözeltisi (NH_4OH) kullanmışlar, elde ettikleri toz parçacıklarını 1100 °C'de 1 saat kalsine etmişlerdir. HA'ya B_2O_3 (ağ. $B_2O_3 \leq \%20$) ve La_2O_3 (ağ. $La_2O_3 \leq \%2$) tozları ilave ederek HA- B_2O_3 - La_2O_3 kompozitlerini oluşturmuşlar ve bu kompozit karışımlarını presleyerek 1100 °C'de 1 saat sinterlemişlerdir. HA'ya B_2O_3 ve La_2O_3 'ün ilave edilmesinin HA kompozitlerinin işlenebilirliğini artırdığını, böylece işlenebilir ve tasarımı kolay bir malzeme üretimi sağlanabileceğini belirtmişlerdir. HA'ya ağ. %10 B_2O_3 ve ağ. %2 La_2O_3 eklenmesi çekme dayanımını %39 artırmıştır. HA'ya B_2O_3 ve La_2O_3 ilave edilmesi hücrelerde toksik etki yaratmamış, kristallik derecesinde bir artışa ve kafes parametresinin kaymasına, SEM görüntülerinde ise tane boyutunda 615 nm'ye kadar bir artışa neden olmuştur. HA'ya ağ. %10 B_2O_3 ve ağ. %2 La_2O_3 eklenerek oluşturulan

kompozitlerin mekanik ve biyolojik değerlendirmeler sonucunda kemik doku mühendisliğinde kullanım için umut verici bir biyoseramik implant malzemesi olabileceğini belirtmişlerdir [11].

Chun ve arkadaşları, sol-jel yöntemi ile sentezledikleri HA'ya B₂O₃ (kütle oranı %5, 10, 15) ilave ederek oluşturdukları HA-B₂O₃ kompozitlerini (250±2) MPa basınçta izostatik presle şekillendirerek 1200, 1250, 1300 ve 1350 °C sıcaklıklarda sinterlemişlerdir. Tüm sinterleme sıcaklıklarındaki XRD modellerinde HA seramiklerinin tümü β-TCP'ye ayrışmış ve bu ayrışma oranı artan sinterleme sıcaklığı ile artmıştır. %5 B₂O₃ ilavesi ile 1250 °C'de sinterlenmiş kompozitler HA'nın termal ayrışma oranını etkin bir şekilde engellemekte; %5 zeri B₂O₃ ilavesi ise HA'nın termal ayrışmasını teşvik ederek kararlı bir HA/β-TCP yapısı oluşturmaktadır. Bunun nedenini HA'nın OH⁻ veya PO₄³⁻ kaybettiği tetrahedron pozisyonunu B-O'nun elektron kusurlu yapısının işgal etmesine bağlamaktadır. B³⁺, HA kristal yapısına katılıp kristal aralığı genişletmekte, HA kristallerinin bağlanma kuvvetini artırarak HA'nın ayrışma oranını azaltmakta, eğilme dayanımı ve kırılma tokluğunu ise iyileştirmektedir. %5 B₂O₃ içeren HA kompozitler için eğilme dayanımı ve kırılma tokluğu maksimum değere (sırasıyla 125 MPa ve 1.35 MPa·m^{1/2}) ulaşırken, artan B₂O₃ içeriği ile eğilme dayanımı ve kırılma tokluğu azalmaktadır [12].

İpekoğlu ve arkadaşları, doğal HA elde etme için taze dana femoral kemiklerini kullanarak kalsinasyon işlemi için en uygun sıcaklık ve süreyi araştırmışlardır. Kemikteki organik fazı ortadan kaldırarak doğal HA üretmenin en uygun yöntemini; hekzan içinde yağ giderme, NaOH çözeltisinde deproteinizasyon ve kalsinasyon kombinasyonlarından oluşan üç farklı yöntemle ağırlık kaybı yüzdelerini karşılaştırarak belirlemişlerdir. Kullanılan üç yöntemde de ulaşılan yaklaşık %34 benzer ağırlık kaybı, önceden yağ giderme ve deproteinizasyon tedavisi olmadan tek aşamalı kalsinasyon işleminin organik fazı ortadan kaldırarak HA retiminde yeterli olacağını göstermiştir. Uygun kalsinasyon süresi ve sıcaklığını belirlemek için kemikler 500 °C, 700 °C, 800 °C ve 900 °C'de, 1, 2 ve 4 saat süreyle kalsine edilmiş, kemiklerdeki tüm organik maddenin 2 saatten daha uzun sreler ve 800 °C'nin üzerinde kalsinasyon ile çıkarılabileceği sonucuna ulaşarak, en uygun kalsinasyon

süresi ve sıcaklığını 8 saat ve 850 °C olarak belirlemişlerdir. Sinterleme süresi ve sıcaklığının HA'nın nihai yapısına etkisini belirlemek için numuneler 1000, 1100 ve 1200 °C'de ½, 1, 2 ve 4 saat sinterlenmiş, tam sinterlemenin 1200 °C'de 4 saat sürede gerçekleştiği gözlemlenmiştir. B₂O₃'ün HA'nın sinterleme özelliklerine etkisini incelemek için HA'ya ağırlık %1, 2, 5, 10 ve 20 oranlarında B₂O₃ ilave ederek numuneler 1200 °C'de 4 saat sinterlenmiş, SEM görüntülerine göre ağırlık %5'e kadar artırılan B₂O₃ miktarının HA'nın sinterlenmesini hızlandırdığını belirlemişlerdir. Yüksek oranda B₂O₃'ün istenmeyeceği uygulamalarda, ağırlık % 1 B₂O₃ ilavesinin bile sinterlenme açısından oldukça önemli bir gelişme sağladığını ifade etmişlerdir [13].

Güler ve arkadaşları, reaktan olarak kolemanit (Ca₂B₆O₁₁·5H₂O) ve diamonyum hidrojenfosfatı ((NH₄)₂HPO₄) kullanarak geleneksel katı hal reaksiyonları ile kalsiyum borohidroksiapatit sentezlemişlerdir. Karışımı 400 °C'de 12 saat kalsine etmişler, ara öğütmeden sonra numuneler sırasıyla 700, 1000 ve 1200 °C'de 12 saat ısıtmışlardır. Artan reaksiyon sıcaklığı ile farklı fazlar oluşurken 1200 °C'ye çıkıldığında ise yapı sadece kalsiyum borohidroksiapatitten (deneysel kimyasal formülü Ca₁₀[(PO₄)_{5.80}(BO₃)_{0.20}](OH)₂) oluşmaktadır. Yapılan incelemelere göre, kolemanitin hem kalsiyum hem de bor kaynağı için birincil reaktan olarak kullanıldığında kalsiyum borohidroksiapatit elde edilebileceğini belirlemişlerdir [14].

1.2 Tezin Amacı

Canlı vücudundaki kemik dokusu yaşam boyunca kendini yenilen bir yapıya sahiptir; fakat yaşlanmaya bağlı olarak kemik dokunun zayıflayıp kırılğan hale gelmesi ve günlük hayattaki kazaların kemik kayıplarına neden olabilmesi nedeniyle, kemik ve diş gibi sert dokulara kimyasal ve yapısal olarak benzeyen CaP seramiklerinin üretimi üzerine çalışmalar artmaktadır.

Kemik doku uygulamalarında kullanılan CaP seramiklerini, başlangıç malzemelerinin bileşimi, saflığı, pH ve hazırlanan çözeltinin sıcaklığı gibi yüksek kontrollü parametrelere ihtiyaç duyan sentetik yöntemlerle üretmek yerine; yapılarındaki eser miktarda faydalı iyonlar sayesinde doku ile daha iyi bütünlük

sağlayabilen, düşük maliyetli doğal bir kaynaktan (somon balık kılçığı) yararlanarak elde etmek amaçlanmaktadır.

CaP seramikleri yapısı gereği zayıf mekanik özellikleri göstermesi nedeniyle sert doku uygulamalarında tek başına yeterli desteği sağlayamamakta, genellikle çeşitli takviyelerle kompozit yapı oluşturularak veya kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır.

Çalışmada, balık kılçığından elde edilen CaP'ye (sCaP) farklı ağırlık yüzdelerinde bor oksit (B_2O_3) ilave ederek sCaP- B_2O_3 kompozitleri oluşturmak, farklı sinterleme sıcaklıkları (1000, 1100, 1200 ve 1300 °C) ve farklı oranlardaki B_2O_3 katkısının sCaP üzerindeki etkisini incelemek amaçlanmaktadır.

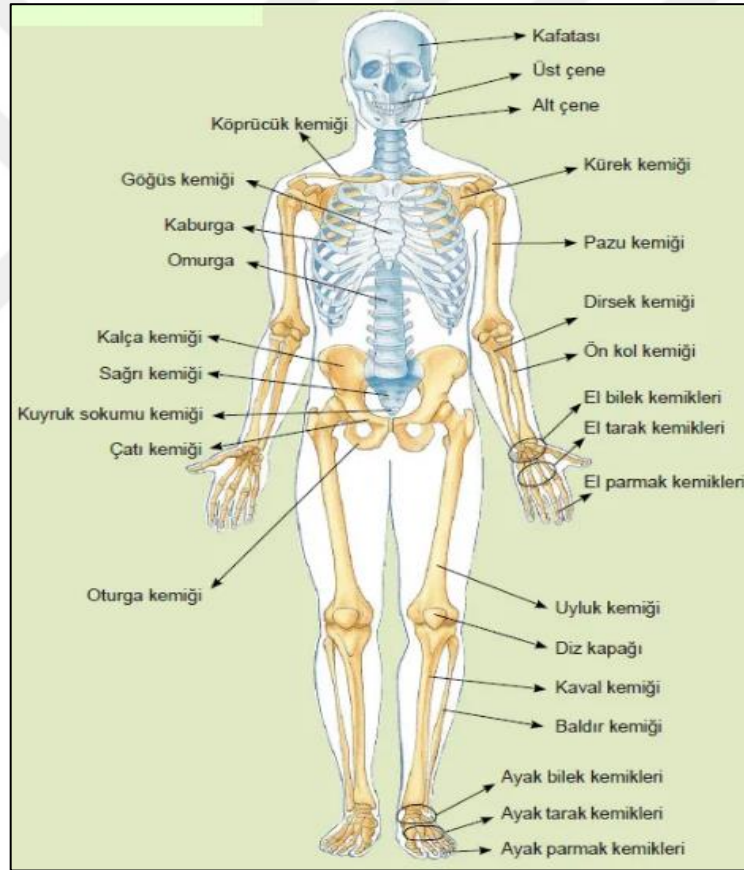
1.3 Hipotez

Kemik apatite benzeyen CaP seramiklerinin, kemik doku uygulamalarında kullanılması için çeşitli üretim ve şekillendirme yöntemleri mevcuttur. Başarılı, düşük maliyetli, kolay uygulanabilir ve seri üretime uygun CaP seramiklerinin üretimi için doğada bol miktarda bulunan, yapısındaki eser miktarda iyonlar sayesinde kemik doku ile daha iyi bir bütünlük sağlayabileceği ve ekonomik olarak üretilbileceği düşünülen doğal kaynak kullanılması ana hipotez olarak belirlenmiştir.

Canlı vücudundaki sert dokuların bileşimine ve yapısına benzeyen yüksek biyouyumluluğa sahip CaP seramiklerin düşük mekanik özellikler sergilemesi kullanım alanlarını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle bu seramiklere, mineralizasyon ve kemik büyümesi açısından kemik gelişiminde önemli rol oynayan borun başlıca oksiti olan bor oksit (B_2O_3) katılmasının, CaP ile kompozit yapı oluşturularak bu sorunları çözümede etkili olabileceği düşünülmektedir.

2.1 Kemiğin Yapısı ve Özellikleri

Kemik canlıların iskelet sistemini oluşturan, kan damarları ve çeşitli hücrelerden meydana gelen, canlı ve kendini yenileyebilen bir dokudur. Kemik dokusunun canlı vücudunu destekleme, koruma, hareket sağlama, mineral depolama (Ca, P ve diğer iyonlar), enerji depolama (kemiklerdeki sarı kemik iliği) ve kan yapma gibi fonksiyonları bulunmaktadır.



Şekil 2. 1 İnsan iskelet sistemindeki kemikler [15]

Yük taşıma kemiğin önemli bir fonksiyonu olup, kemik biyomekanik olarak yükü taşıyacak kapasiteye sahip değilse kemikte kırıklar meydana gelmektedir. Kemiğin yük taşıma kapasitesi; geometriye (şekil, boyut ve kemik kütlesinin dağılımı),

malzemenin özelliklerine (doku özellikleri) uygulanan yükün yönü ve büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir [16]. İnsan iskeletinde yaklaşık olarak 207 kemik bulunmaktadır. Şekil 2.1, insan iskelet sistemindeki kemikleri göstermektedir.

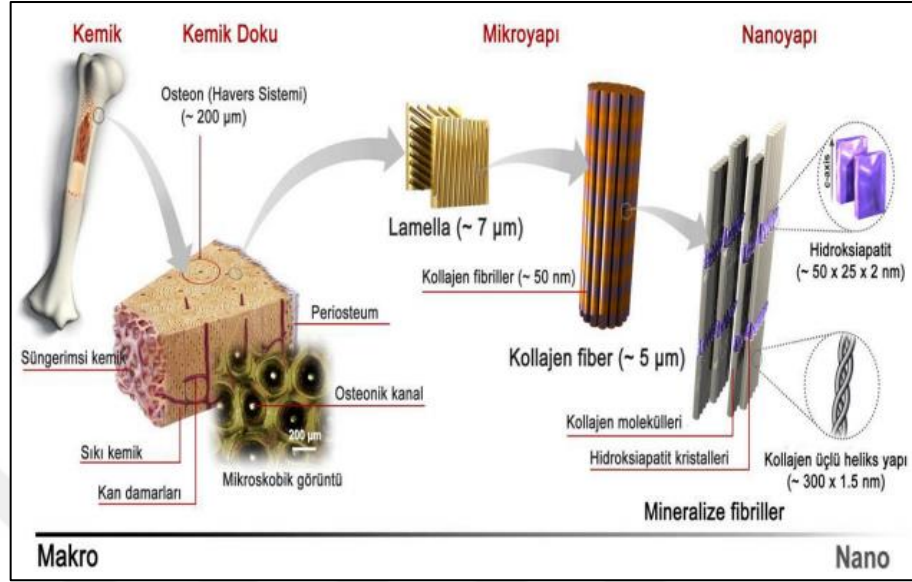
Kemik ağırlığının yaklaşık %20'sini organik matris, %70'ini mineraller ve %10'unu su oluşturmaktadır ve bu oranlar canlının türüne, yaşına, cinsiyetine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Organik matrisin %90'ı Tip I kollajenden (KOL-I), %10'u diğer organik maddelerden (yağlar, proteinler, polisakkaritler) meydana gelmektedir [17]. Kemiğin minaralize inorganik kısmının büyük bir bölümü ise kalsiyum ve fosfat iyonlarından oluşan yarı kristalin formdaki hidroksiapatit (HA) kristallerinden meydana gelmektedir. Ana bileşeni kollajen olan yumuşak organik kısım yapıya elastiklik sağlarken, kalsiyum ve fosfat açısından zengin olan HA bileşeni yapıya dayanıklılık ve sertlik kazandırmaktadır. Nem, kemiğin türü, uygulanan yükün modu ve yönü bu dokuların mekanik özellikleri etkilemektedir. Kemiğin dayanımı ve diğer mekanik özellikleri ise kollajen liflerinin oryantasyonuna, kemiğin yoğunluğuna, gözenekliliğe, apatit kristallerinin moleküler yapısına ve düzenlenmesine bağlıdır [18]. Tablo 2.1'de kortikal kemik, dentin ve mine gibi sert dokuların mekanik özellikleri verilmektedir.

Tablo 2.1 Sert dokuların mekanik özellikleri [19], [18]

Doku	Basma Dayanımı, MPa	Çekme Dayanımı, MPa	Elastiklik modülü, GPa
Kortikal Kemik Dokusu	88-164	89-114	3.9-11.7
Dentin	250-350	21-53	11-17
Mine	95-370	10	9-84

Kemik morfolojik olarak kortikal (sıkı, sert) ve trabeküler (süngerimsi, kanselöz) kemik olarak iki bölümden oluşmaktadır. Kemik iskeletinin %80'ini oluşturan, %5-20 oranında gözenekli bir yapıya sahip olan kortikal kemik, kemiğin en dış kısmında inorganik maddelerin yoğun olduğu tabakada yer almaktadır. Şekil 2.2, kemik dokusunun hiyerarşik yapısını göstermektedir. Kemik dokusu incelendiğinde, kemik uzunluğu boyunca sıkı olarak dizilmiş osteonların (haversian kanal sistemi) merkezinde kan damarları ve sinirleri barındıran havers kanalları bulunmaktadır. Enine, küçük volkman kanalları ise havers kanallarını birbirlerine bağlamaktadır.

Yoğun şekilde paketlenmiş kollajen fiberlerin bir araya gelmesiyle 3-7 μm kalınlığında kontrplak şeklinde oluşan ve kemiğe mekanik destek sağlayan lamellalar bulunmaktadır.



Şekil 2. 2 Kemiğin hiyerarşik yapısı [17]

Kemik iskeletinin %20'sini oluşturan %50-90 oranında gözenekli bir yapıya sahip olan trabeküler kemik, kemiklerin baş kısımlarında, kısa ve yassı kemiklerin iç bölgesinde yer almaktadır. Bu düzensiz gözenekli yapıda kırmızı kan hücresi oluşturan kemik iliği bulunmaktadır. Sahip olduğu gözenekler nedeniyle trabeküler kemik, kemiğin esnekliğini artırırken dayanımını ise azaltmamaktadır.

2.2 Biyomalzemeler

Biyomalzeme vücutta zarar gören, fonksiyonu azalmış veya yitmiş olan kısımları güvenli, ekonomik ve fizyolojik olarak destekleyebilen; vücuda yerleştirildiğinde vücut tarafından kabul gören ve dokuyu taklit edebilen; doğal olarak üretilebilen ya da laboratuvar ortamında sentezlenen malzemedir [20]. "Biyomalzeme bilimi", malzemeleri fiziksel ve biyolojik olarak değerlendiren ve malzemelerin biyolojik çevre ile etkileşimlerini inceleyen disiplinler arası bir dilim dalıdır [21]. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte son 50 yıldır cerrahi prosedürleri iyileştirmek veya kaybedilen vücut fonksiyonlarını geri kazanmak için biyomalzemeler üzerine yapılan çalışmalar artmış olsa da Mısır mumyalarında görülen yapay göz, burun ve

dişler biyomalzeme kullanımının çok eski zamanlara dayandığını göstermektedir. İmplantlarla ilgili araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen gelişmeler Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2 İmplantlarla ilgili gelişmeler [22]

Araştırmacılar		Geliştirme
18-19. yüzyılın sonları		Kırıkları düzeltmek için çeşitli metal cihazlar; Fe, Au, Ag ve Pt'den teller ve pimler
1860-1870	J. Lister	Aseptik cerrahi teknikler
1886	H. Hansmann	Kırık kemik için Ni-kaplamalı çelik plaka
1893-1912	W.A. Lane	Çelik vidalar ve plakalar (Lane kırılma plakası)
1912	W.D. Sherman	İlk tıbbi kullanım için geliştirilen vanadyum çelik levhalar; daha az stres konsantrasyonu ve korozyon (Shermann plakası)
1924	A.A. Zierold	Stellitler tanıtıldı (CoCrMo alaşımı)
1926	M.Z. Lange	18-8sMo paslanmaz çelik tanıtıldı, 18-8 paslanmaz çelikten daha iyi
1926	E.W Hey- Groves	Femur boyun kırığı için kullanılan marangoz vida
1931	M.N. Smith- Petersen	Paslanmaz çelikten yapılmış ilk femur boyun kırığı tespit cihazı
1936	C.S. Venable, W.G. Stuck	Vitallium (19-9 paslanmaz çelik) tanıtıldı, daha sonra malzemeyi CoCr alaşımına değiştirdi
1938	P. Wiles	İlk total kalça protezi
1939	J.C. Burch, H.M Carney	Tantal (Ta) tanıtıldı
1946	J. Ve R. Judet	İlk biyomekanik femur başı değiştirme protezi tasarlandı. Eklem değişiminde kullanılan ilk plastik (PMMA)
1940'lar	M.J. Dorzee, A. Franceschetti	Kornea replasmanı için ilk kullanılan akrilik (PMMA)
1947	J. Cotton	Ti ve alaşımlarını tanıttı
1952	A.B Voorhees, A. Jaretzta, A.B. Blackmore	Doku büyümesi için kumaştan yapılan ilk başarılı kan damarı değişimi
1958	S. Furman, G. Robinson	İlk başarılı doğrudan kalp uyarımı

Tablo 2.2 İmplantlarla ilgili gelişmeler (devamı)

1958	J. Charnley	Dr. Smith'in tavsiyesi üzerine akrilik kemik çimentosunun total kalça protezinde ilk kullanımı
1960	A. Starr, M.L. Edwards	İlk ticari kalp kapakçıkları
1970'ler	E.J. Kolff	Toplam kalp değişimi

2.3 Biyomalzemelerden Beklenen Temel Özellikler

Biyomalzemeler, biyolojik dokuların fonksiyonlarını yerine getirmek veya destek olmak amacıyla kullanılan doğal veya sentetik malzemelerdir. Biyomalzemenin kemik doku bileşimine benzer özellik taşıması ve iskenin çevresindeki doku ile bütünleşebilmesi için doğal kemik dokunun morfolojisini en iyi şekilde taklit edebilmesi gerekmektedir. [23]. Biyomalzemeler, pek çok değişken şartlara sahip olan vücut ortamında kullanılmakta ve pH değeri 1 ile 9 arasında farklılık gösteren vücut sıvılarıyla bazen ya da sürekli olarak etkileşim halinde olabilmektedir. Rutin olarak gerçekleştirilen aktivitelerde kemikler ~4 MPa, tendonlar ise 40-80 MPa değerinde basma ve gerilmeye maruz kalırken bir kalça eklemindeki ortalama yük vücut ağırlığının 3 katına, atlama zıplama gibi faaliyetler esnasında ise 10 katına kadar çıkabilmektedir. Dolayısıyla biyomalzemenin kullanım yerine bağlı olarak bu koşulları sağlayacak seviyede olması gerekmektedir [24], [25].

Biyomalzemenin vücutta kullanılabilmesi için malzemedan beklenen en temel özellikler biyoyumluluk ve biyoaktivitedir. Biyoyumluluk, malzemenin vücutta nerede ve hangi amaçla kullanılacağı, direk kanla veya direk kemikle temasının olup olmaması gibi durumlara göre değişiklik göstermesi sebebiyle net olarak tanımlanamayan bir kavramdır. Biyoyumluluk yüzey ve yapısal biyoyumluluk olarak iki başlık altında değerlendirilmektedir. Biyomalzemenin vücut dokuları ile fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uyumluluk göstermesi yüzey biyoyumluluğu; malzemenin vücut dokuları ile mekanik özellikler bakımından göstermiş olduğu uyum ise yapısal biyoyumluluk olarak tanımlanabilir. Biyoyumluluk, malzemenin dokuda herhangi bir lokal ve sistemik toksik etkiye sebep olmadan dokuyla

sağladığı uyum olarak tanımlanırken; biyoaktivite, malzemenin yaşayan dokuyla etkileşim halinde olabilmesi ve dokuya bağlanabilmesi olarak tanımlanmaktadır. Başarılı bir biyomalzemedan beklenen diğer özellikler ise Tablo 2.3'te verilmektedir. Ayrıca hastanın sağlık durumu ve implant işlemini yapıp hastadaki ilerlemeyi takip edecek olan cerrahın yeterliliği de bir biyomalzemenin veya implantın başarısını etkileyecek olan diğer etmenlerdir [20].

Tablo 2.3 Biyomalzemelerden beklenen özellikler [26], [27], [28]

Biyomalzeme özellikleri
Biyouyum, Biyoaktivite
Farmakolojik olarak kabul edilebilir (toksik olmayan, alerjenik olmayan, immünojenik olmayan, kanserojen olmayan vb.)
Aşınmalara karşı dayanım
Kimyasal olarak inert ve kararlı
Yeterli mekanik dayanım
Yeterli yorulma dayanımı
Uygun ağırlık ve yoğunluk
Fiziksel özelliklerini koruma
Estetik görünüm
Kullanım ömrü uzun
Üretimi ve işlenmesi kolay
Nispeten ucuz, yeniden üretilebilir

Malzeme, canlı dokuya yerleştirildiği zaman hastayı iyileştirmeli aynı zamanda doku ve organların işleyişi devam etmelidir. Malzemenin vücutla iç temasa geçer geçmez herhangi bir olumsuz etkiden (toksisite, alerji, iltihaplanma, korozyon ve mekanik arıza gibi) kesinlikle kaçınmak için malzemenin biyolojik testlerinin önceden detaylı bir şekilde yapılması gerekmektedir. Malzemenin öncelikle in vitro (laboratuvar ortamında veya yapay koşullarda), sonra in vivo (canlı ortamda veya yaşayan

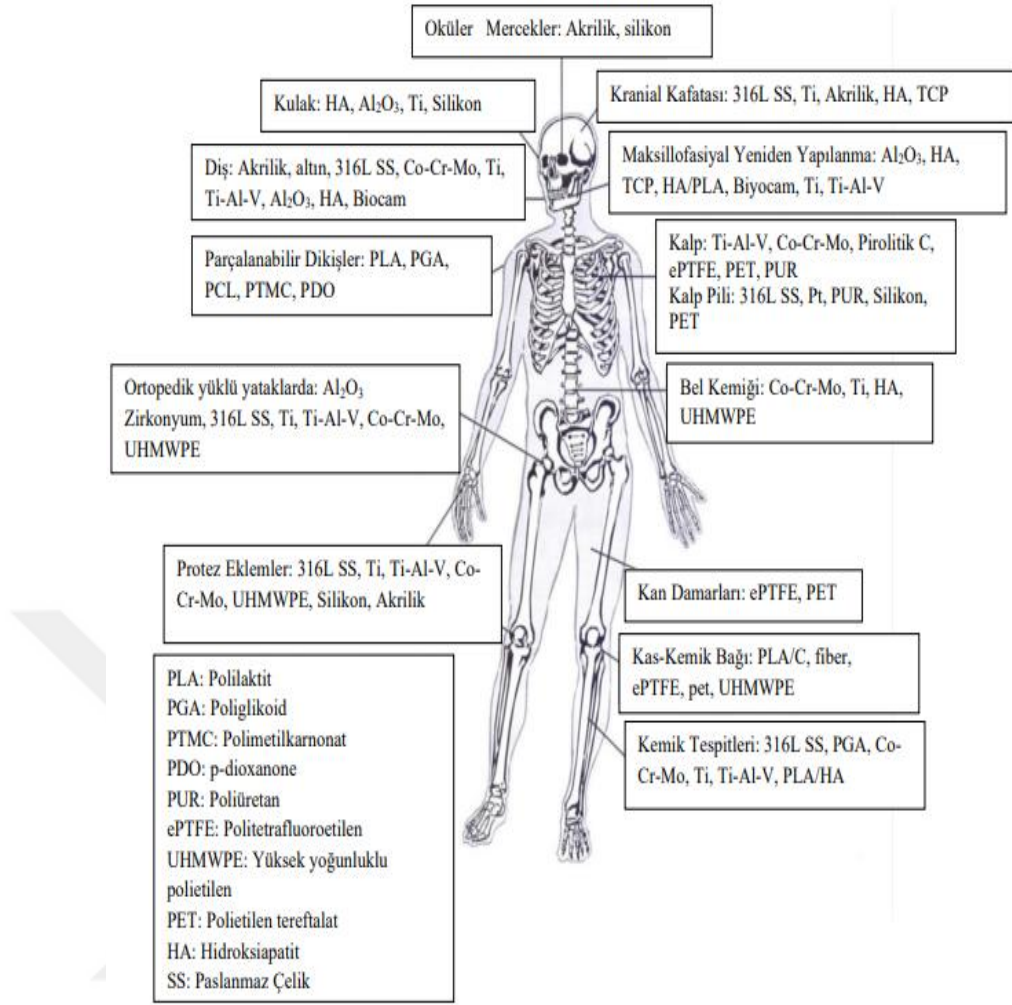
koşullarda) ortamda testleri yapılarak klinik olarak güvenilirliğinin ve başarısının çok iyi bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir. Doku, vücuda yerleştirilecek olan malzemeyi kabul etmek onunla bağ kurup tamamen bütünleşebilmek için doğal bir zamana ihtiyaç duymaktadır. Malzeme canlı dokuya yerleştirildiğinde doku-malzeme ara yüzeyinde Tablo 2.4'te verildiği gibi bazı faktörlere göre değişiklik gösteren dört türde tepki olmaktadır.

Tablo 2.4 Dokunun yabancı maddelere tepkisi [29]

Verilen tepki	Doku yanıtı
Malzeme toksik	Çevre dokular ölür
Malzeme toksik değil ve biyoinert	Değişik kalınlıklarda fibröz doku oluşumu
Malzeme toksik değil ve biyoaktif	Doku-implant ara yüzeyinde bağlanma
Malzeme toksik değil, fakat çözünür yapıda	Çevresindeki doku implantın yerini alır

2.4 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

Biyomedikal alanında kullanılan malzemelerin metal, polimer, kompozit ve seramik olmak üzere temel olarak dört tipi bulunmaktadır. Biyomalzemeler katı veya sıvı formda; yapısal olarak doğal veya sentetik; canlı vücutunda kullanım yerine bağlı olarak ise sert doku veya yumuşak doku olarak kategorize edilebilmektedir. Ortopedi ve diş protezleri genel itibari ile birinci kategoride (sert doku) yer alan metal ve seramiklerden; kardiyovasküler sistem ve genel plastik cerrahi malzemeler ise polimerlerden üretilmektedir [30]. Şekil 2.3'te, canlı vücutunda kullanılan çeşitli biyomalzemeler gösterilmektedir. Tablo 2.5 ise canlı vücutunda kullanılan malzemelerin avantaj, dezavantajları ve uygulamalardaki bazı örnekleri verilmektedir.



Şekil 2.3 Canlı vücudunda kullanılan biyomalzemeler [31]

Tablo 2.5 Canlı vücudunda kullanılan malzemelerin avantaj, dezavantajları ve uygulama örnekleri [22]

Malzemeler	Avantajlar	Dezavantajlar	Örnekler
Polimerler (naylon, silikon kauçuk, polyester, politetrafluoroetilen vb.)	Elastik İmalatı kolay	Güçlü değil, Zamanla deformasyon, Degrede olabilir	Dikişler, kan damarı, kalça yuvası, kulak, burun, diğer yumuşak dokular
Metaller (Ti ve alaşımları, Co-Cr alaşımları, paslanmaz çelikler, Au, Ag, Pt vb.)	Güçlü, sert, sünek	Paslanabilir, Yoğun Yapması zor	Eklemler replasmanları, kemik plakaları ve vidaları, dental kök implantları, dikiş telleri
Seramikler (alüminyum oksit, hidroksiapatit içeren kalsiyum fosfat, karbon)	Biyouyumluluğu yüksek, inert, sıkıştırımda güçlü	Kırılgan Elastik değil Yapması zor	Diş, kalça protezinin femur başı, diş ve ortopedik implantların kaplanması
Kompozitler (karbon-karbon, tel veya fiber takviyeli kemik çimentosu)	Güçlü, özel tasarım	Yapması zor	Eklemler implantları, kalp kapakçıkları

2.4.1 Metalik Biyomalzemeler

Biyomalzeme türleri içindeki metalik biyomalzemeler en uzun geçmişe sahiptir. "Sherman- Vanadyum çeliği" insan vücudunda kırılmış kemik plakaları ve vidaları üretmek amacıyla geliştirilmiş olan ilk metaldir [20], [22]. En sık kullanılan metalik biyomalzemeler; paslanmaz çelikler (özellikle 316L), titanyum ve alaşımları (Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb ve Ti-13Nb-13Zr), kobalt-krom alaşımları (Co-Cr-Mo, Co-Ni-Cr-Mo-Ti ve Co-Cr-W-Ni), altın ve alaşımları, gümüş ve platin grubudur.

Metalik biyomalzemeler dayanıklı, kolay şekillenebilir ve yüksek mekanik özelliğe sahip olmaları nedeniyle genellikle diş implantları, kemik plakaları, kalça ve diz protezleri gibi sert doku uygulamalarında tercih edilmektedir. Metalik malzemelerin biyouyumluluk özelliklerinin zayıf olması, korozyona uğramaları, dokulara göre oldukça sert olmaları, yüksek yoğunlukları ve alerjik doku tepkimelerine sebep olabilecek metal iyon salınımı yapmaları olumsuz özellikleri arasındadır [32].

İnsan vücudu, implant üretiminde kullanılan çoğu metalin (örneğin Fe, Cr, Co, Ni, Ti, Ta, Mo ve W) çok küçük miktarlarını tolere edebilirken yüksek miktarları dokular için zararlı hale gelmektedir. Canlı vücudundaki su, çözünmüş iyonlar, tükürük ve hücre sıvıları metalik biyomalzemeler için koroziv bir ortam olduğundan metalik malzeme vücuda yerleştirildiğinde korozyona uğrayıp aşınarak vücuda toksik madde salmakta, toksik maddeler doku içerisine girerek hücrelere zarar vermekte ve olumsuz doku reaksiyonlarına neden olmaktadır. Bu nedenle metalik biyomalzemeler genellikle vücut sıvıları ile bağlantısını önlemek amacıyla kimyasal olarak kendisinden daha kararlı bir malzemeyle (örneğin seramik) kaplanarak kullanılmaktadır.

2.4.2 Polimerik Biyomalzemeler

Polimerler, doğal kaynaklardan veya sentetik organik işlemlerden üretilmekte ve en geniş biyomalzeme sınıfını temsil etmektedir. Polimerik biyomalzemeler biyouyumluluk, sterilize edilebilirlik, üretilirlik, yeterli mekanik ve fiziksel özellikleri ile diğer biyomalzemelerin sahip olduğu gerekli özellikleri taşımaktadır. Sentetik polimerik biyomalzemeler yüz protezleri, trakeal tüpler, böbrek ve

karaciğer parçaları, kalp bileşenleri, kalça ve diz eklemleri uygulamalarında kullanılmaktadır. Polimerik malzemelerin biyomedikal uygulamaları Tablo 2.6'da verilmektedir. Polimerik biyomalzemeler çeşitli şekillerde (lateks, film, levha, lifler vb.) üretebilme kolaylığı, ikincil işlenebilme kolaylığı, uygun maliyet, istenen mekanik ve fiziksel özelliklerle bulunabilir olması nedeniyle metal veya seramik malzemelere göre daha avantajlıdır. Öte yandan polimerik biyomalzemelerin; sterilizasyon zorluğu, çevreden kolayca su ve biyomolekül emmesi yüzünden yüzey kimyasının değişmesi, yumuşak malzeme olması sebebiyle mekanik aşınma ve bozunmaya uğrayabilmesi, bazı zararlı bileşiklerin in vivo koşullar altında vücuda sızabilmesi gibi dezavantajları da bulunmaktadır.

Tablo 2.6 Polimerik malzemelerin biyomedikal uygulamaları [27]

Polimer	Uygulamaları
Yüksek moleküler ağırlıklı polietilen (HMWPE)	Diz, kalça, omuz eklemleri
Silikon	Parmak eklemleri
Polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA)	Dikişler
Silikon, akrilik (PC), naylon	Soluk borusu tüpleri
Asetal, polietilen (PE), poliüretan (PU)	Kalp pili (Heart pacemaker)
Poliester, politetrafloretilen (PTFE), PVC	Kan damarları
Naylon (PA), PVC, silikonlar, polidimetilsiloksan (PDMS) Poliüretan (PU)	Sindirim sistemi bölümleri
Poli vinil klorür (PVC)	Yüzey protezler
Polimetilmetakrilat (PMMA)	Kemik dolgusu

2.4.3 Kompozit Biyomalzemeler

Kompozit malzemeler, her biri farklı fiziksel veya kimyasal özelliklere sahip iki veya daha fazla malzemenin iyi özelliklerinin kombinasyonuna sahip olacak şekilde yeni, çok fazlı bir malzeme ortaya çıkarmak amacıyla tasarlanan malzemelerdir. Kompozit malzemelere verilebilecek en güzel örnek insan vücudundaki kemik dokusudur. Dokular, kemikler, tendonlar, damarlar, kırık, diş minesi gibi uzuvlar yapılarında farklı moleküller barındıran ve günlük hayatta ihtiyaç duyulan mekanik gücü en etkin şekilde karşılayan doğal anizotropik kompozit yapılardır [33]. Kompozit yapılar meydana getirerek malzemenin yorulma dayanımı, aşınma dayanımı, korozyon dayanımı, kırılma tokluğu, basma dayanımı, yüksek sıcaklık fonksiyonları, elektriksel iletkenlik, ısı iletkenlik, rijitlik, fiyat ve estetik görünüm özelliklerinin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır [34]. Kompozit malzemeler kendisini oluşturan malzemelerin özelliklerinden, şeklinden, boyut ve boyut dağılımından ve aralarındaki etkileşimden büyük ölçüde etkilenmekte ve kendisini meydana getiren bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere sahip olmaktadır [2]. Bu nedenle bir kompozit malzemeyi tanımlarken, bileşen malzemeleri ve özelliklerini belirtmenin yanı sıra takviye geometrisini, dağılımlarını ve yönünü de belirtmek gerekmektedir.

Kompozit malzeme matris (sürekli faz) faz ve bu fazı mekanik olarak destekleyen takviye eleman faz bileşenlerinden oluşmakta, bileşenler bir ara yüzey ile birbirinden ayrılmaktadır. Kompozit biyomalzemeler, matris malzemesine veya kompozitlerin biyoaktivitesine göre sınıflandırılabilir. Matris malzemesi esas alınarak sınıflandırılma yapıldığında kompozit biyomalzemeler üç gruba ayrılmaktadır:

- Polimer matrisli, örneğin: karbon/PEEK (polieter eter keton), HA/HDPE (yüksek yoğunluklu polietilen).
- Metal matrisli, örneğin: HA/Ti, HA/Ti-6Al-4V (titanyum alaşımı).
- Seramik matrisli, örneğin: paslanmaz çelik/HA, cam/HA [27], [2].

Kompozitin biyoaktivitesi esas alınarak sınıflandırma yapıldığında üç farklı kompozit biyomalzeme türü bulunmaktadır:

- Biyoinert kompozitler, örneğin: karbon/karbon, karbon/PEEK.
- Biyoaktif kompozitler, örneği: paslanmaz çelik/biyoglas, HA/HDPE, HA/Ti-6Al-4V.
- Biyolojik olarak emilebilir kompozitler, örneğin: trikalsiyum fosfat (TCP)/poli laktik asit (PLA), TCP/polihidroksibutirat (PHB) [27], [2].

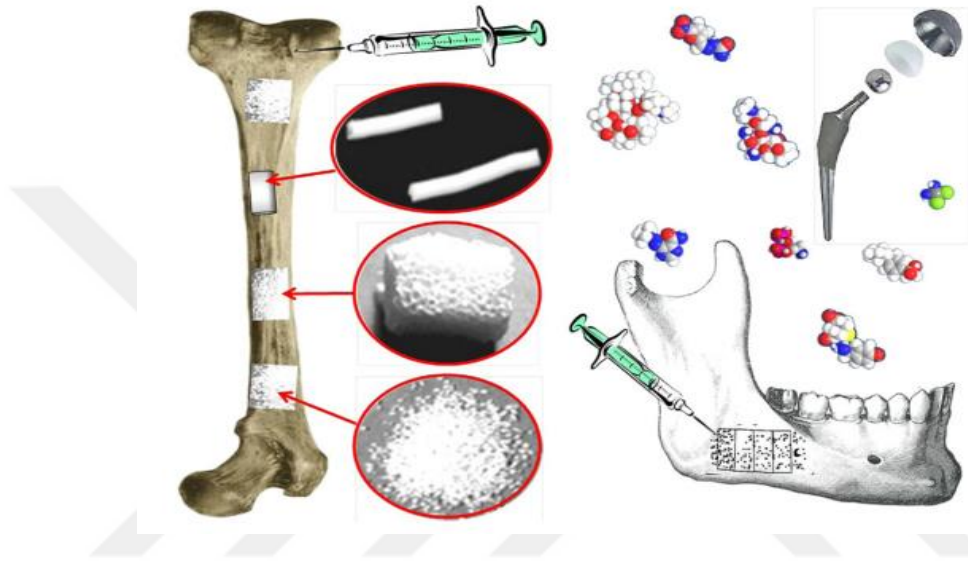
2.4.4 Seramik Biyomalzemeler

Seramikler, ateşin keşfedilmesiyle birlikte binlerce yıldır insanlar tarafından çanak çömlek şeklinde kullanılmaktadır. Seramik malzemelerde ortaya çıkan kırılğan, gözenekli yapılar, düşük çekme kuvvetleri ve düşük darbe dayanımları malzemelerin kullanım alanlarını bir şekilde kısıtlamaktayken, son yıllarda seramik üretiminde yapılan yenilikçi teknikler seramiklerin kullanım alanını genişletmektedir. Yenilikçi teknikler sayesinde seramik ve seramik kompozitler vücutta hasar görmüş kemik, eklem ve dişlerden oluşan iskelet sisteminin onarımında, sert ve yumuşak dokuların büyütülmesinde, kardiyovasküler sistem parçalarının özellikle de kalp kapakçıklarının yerini almak gibi geniş bir klinik uygulama alanına sahiptir. Seramikler dolgu malzemesi olarak, metal substrat üzerine kaplama malzemesi olarak veya mekanik ve biyokimyasal özellikleri geliştirmek üzere oluşturulan kompozitlerde ikinci bir faz olarak da kullanılmaktadır. Canlı vücudundaki bu tür ihtiyaçlara hizmet eden seramikler biyoseramik olarak adlandırılmaktadır [29], [35].

Seramikler birçok uygulamada implant, protez veya protez cihazları adı verilen belirli bir şekle sahip dökme malzemeler olarak kullanılmaktadır. Seramiklerin sıcaklığa, çözücülere ve pH varyasyonlarına karşı dirençli olması seramiklerin biyomalzeme alanındaki ihtiyaçları karşılamaya uygun malzemeler olduğunu göstermektedir.

Çeşitli şekil, aşama ve fazlarda üretilerek vücut onarımında birçok farklı fonksiyona hizmet eden biyoseramiklere; tek kristaller (safir), polikristalin (alümina ya da HA), cam (Bioglass®), cam seramikler (A/W cam seramik) veya kompozitler (PE-HA) örnek olarak verilebilir. Tek kristal (safir) yüksek dayanıma sahip olması nedeniyle diş implantı alanında kullanılırken, yüksek dayanıma sahip kemiğe iyi bağlanma

gösteren A/W cam seramikler ise omurların tedavi edilmesinde kullanılmaktadır. Yakın zamanlarda, biyoaktif camların osteokondüksiyon (yüzeyde kemik gelişimini destekleme yeteneği) için mükemmel malzemeler olduğu bulunmuştur. Biyoaktif camların dayanıklılığı düşüktür ancak zamanla bozunarak ve kemik büyümesinin aktivatörleri olarak işlev gören çözünür kalsiyum ve silika iyonlarını salarak kemik oluşumunu teşvik etmektedir [36]. Şekil 2.4 sert dokuları onarmak için biyoseramiklerin kullanılabileceği farklı formları göstermektedir.

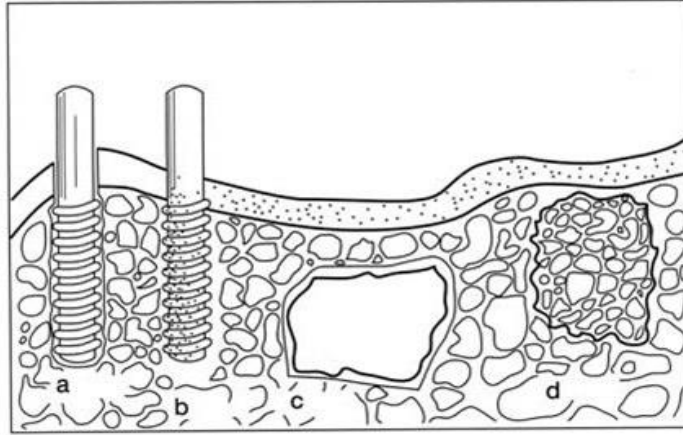


Şekil 2.4 Sert dokuyu yenilemek için biyoseramiklerin kullanılabileceği farklı formlar [36]

Seramik ve camlar, vücut dışında kullanılan sağlık sektörü uygulamalarında da uzun süredir kullanılmaktadır. Örneğin; gözlükler, teşhis aletleri, kimyasal gereçler, termometreler, doku kültürü şişeleri, kromatografi kolonları, lazerler ve endoskopi için fiber optikler milyarlarca dolarlık endüstride yaygın olarak kullanılan ürünlerdir [29]. Kemiğin inorganik içeriğine kimyasal ve yapısal benzerlik göstermesiyle mükemmel biyouyumluluk sunan kalsiyum fosfatların (CaP) hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) formları seramik biyomalzemelerde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Seramik biyomalzemelerin vücut dokuları ile etkileşimi seramik biyomalzemelerin aktifliğini derecelendiren bir faktör olarak görülmekte, kimyasal reaktiflerine göre seramik biyomalzemeler biyoinert, biyoaktif ve biyobozunabilir (biyoemilebilir)

olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Malzemelerin vücut dokuları ile olan etkileşimleri Şekil 2.5'te gösterilmektedir.



Şekil 2.5 Biyoseramiklerin vücut dokuları ile etkileşimi: (a) biyoinert, (b) biyoaktif, (c) yüzey aktif, (d) biyobozunabilir (biyoemilebilir) [37]

Biyoinert terimi, insan vücuduna yerleştirildikten sonra çevresindeki dokuyla minimum etkileşime sahip olan herhangi bir malzemeyi ifade etmektedir. Malzeme vücut dokularıyla temasa geçtiği andan itibaren malzemenin çevresinde iplik benzeri bir kapsül oluşmaya başlamakta ve oluşan kapsül malzemeyi tamamen kuşatmaktadır. Oluşan ipliksi kapsülün kalınlığı biyoinert seramik malzemesinin türüne bağlı olarak değişmektedir. Toksik bir etkisi bulunmayan fakat malzeme ile doku arasındaki iletişimde sınırlayıcı bir etkiye sahip olan ipliksi kapsül, dokudaki büyüme hücrelerinin malzemeye hareket etmesini ve yeni dokular oluşturmalarını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle biyoinert malzemeler dokularla sıkı bir bağlantı gösterememekte, malzeme ancak hareket olmadığı takdirde 'morfolojik sabitlenme' gösterebilmektedir [21]. Biyoinert seramik malzemelere örnek olarak paslanmaz çelik, titanyum, alümina (Al_2O_3), kısmen stabilize edilmiş zirkonya (ZrO_2), ve polietilen (PE) verilmektedir [38], [37].

Biyoemilebilir veya biyobozunabilir olarak adlandırılan biyoseramik malzemeler vücuda yerleştirildiğinde biyolojik anlamda bozularak zamanla dokunun yerini alan malzemelerdir. Bu şekilde biyoemilebilir malzemeler zaman ilerledikçe dokudan ayırt edilemeyecek duruma gelmektedir. Biyoemilebilir malzemelerin çözünme sonrasında vücutta herhangi bir toksik kalıntı bırakmaması gerekmektedir. Biyoseramik malzemelerden vücutta hizmet edeceği duruma göre yapısal ve

fonksiyonel özelliklerini uzun süre korumaları veya geçici bir süreliğine bu fonksiyonlarını yerine getirmeleri beklenmektedir. Vücuttaki fonksiyonunu yerine getirdikten sonra malzemeyi vücuttan çıkarmak için ikinci bir cerrahi müdahaleye gerek duyulmaktadır. Bu ihtiyacı yok etmek için biyoemilebilir seramikler tercih edilmekte, fakat emilim sürecinin malzemeyi mekanik açıdan zayıflattığını da unutmamak gerekmektedir. Biyoemilebilir malzemelere TCP, PLA, CaP tuzları ve bazı biyocamlar örnek olarak gösterilmektedir [22], [37].

Biyoaktiflik, malzemenin dokuya bağlanabilme yeteneği olarak ifade edilmektedir. Biyoaktif seramiğin fonksiyonu kendisini çevreleyen dokularla doğrudan sıkı biyokimyasal bağlar oluşturmaktır, bu nedenle biyoinert seramik malzemelerde rastlanan ipliğe benzer kapsül oluşumu söz konusu değildir. Biyoaktif seramik malzemeler adından da anlaşılacağı gibi yüksek biyolojik aktiviteye sahip, dolayısıyla doku hücrelerinin içine doğru büyüme kabiliyeti gelişmiş malzemelerdir. Malzemenin dokuya kabul edilmesi konusunda üstün özelliklere sahip biyoaktif malzemeler sert dokuların yanı sıra deri, kan damarları ve kıkırdak gibi yumuşak dokularla da bağ kurabilmektedir. Biyoaktif malzemeler sahip oldukları osteointegrasyon (kemik ile birleşme/bütünleşme) özelliği sayesinde malzeme ile doku arasında ipliksi kapsül oluşmadığı için malzeme gevşek kalmamakta ve maruz kaldığı gerilimleri daha güçlü bir biçimde karşılamaktadır. Biyoinert malzemelerin dokulara biyolojik olarak bağlanamamasını tolere edebilmek için biyoinert malzemelerin yüzeyi biyoaktif seramiklerle kaplanmaktadır. Biyoaktif seramiklerin blok, gözenekli malzeme ve granül gibi çeşitli formlarda üretimi mevcuttur. HA, silika veya CaP bazlı biyocamlar biyoaktif malzemelere örnek olarak verilmektedir [39].

2.5 Kalsiyum Fosfat (CaP) Seramikleri

Kemiğin (ağ. ~%60) ana inorganik bileşeni ve diş minesinin (ağ. ~%90) temel bir bileşeni olan kalsiyum fosfatlar (CaP) temel mineral olarak kalsiyum ve fosfat, eser miktarda ise magnezyum, karbonat, hidroksil, klorür, florür ve sitrat iyonlarını içermektedir. Kemiklerde CaP'lere ilk olarak 1769 yılında rastlanmış, 1900'lerden beri ise sentetik CaP'lerin kemik çimentoları, iskeleler, implantlar ve kaplama

teknikleri gibi kemik rejenerasyonu üzerine klinik çalışmaları aktif olarak devam etmektedir [40].

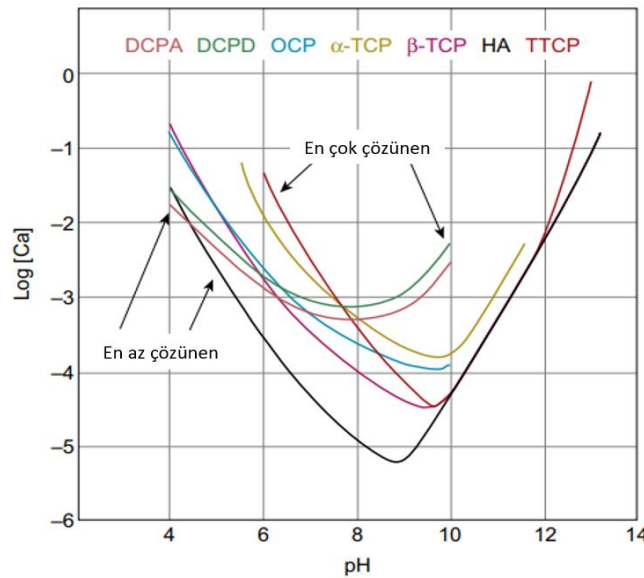
Kimyasal açıdan bakıldığında CaP bileşikler $H_2PO_4^-$, $H_2PO_4^{2-}$ veya PO_4^{3-} iyonlarını içeren tuzlardır. HPO_4^{2-} ve PO_4^{3-} iyonlarının dişlerin ve kemiklerin inorganik mineral fazında doğal olarak bulunması sebebiyle CaP esaslı greft malzemeleri diş ve ortopedi uygulamalarında mükemmel biyolojik özellikler göstermektedir [41]. Gözenekli CaP'ler, kan ve diğer vücut sıvılarının kemiğe nüfuz etmesini sağlayan, malzemenin çözünme hızını artıran, doku ve malzemenin kaynaşma aktivitesini hızlandırarak malzemenin kemiğe güçlü bir şekilde bağlanmasını sağlayan, daha fazla doku ve kemik oluşumunu destekleyen bir kanal görevi görmektedir. Yapılan çalışmalarda vücut sıvısının dolaşımını sağlamak için mikro (ortalama gözenek çapı $< 10 \mu m$), iskele sistemindeki kan hücresi kolonizasyonu için ise makro (ortalama gözenek çapı $> 100 \mu m$) ölçekte gözeneklilik yaygın olarak kullanılmaktadır [42]. Gözenek boyutu $100 \mu m$ 'ye ulaştığında gözenek ara bağlantıları üzerinden kemik dokusu büyümekte, gözenek boyutu $100 \mu m$ 'yi aştığında ise CaP seramiklerinin mekanik dayanımı ve şekli etkilenmektedir [40]. Gözenek boyutuyla ilgili farklı görüşler olmasına rağmen yapılan çalışmalarda mineralize kemik büyümesi için optimum gözenek boyutunun $100-400 \mu m$ olduğu belirlenmiştir [43]. Yapılan çalışmalar mikro gözenekli seramiklerde emilim ve kemik oluşum mekanizmalarını yorumlamak yerine daha çok makro gözenekli seramiklere odaklanmaktadır [44].

Kemik greftleri ve CaP seramikleri genellikle; blok, siman, macun, toz veya granül şeklinde kullanılmaktadır [45]. Yığın (bulk, hacim) formlardaki CaP'lerin kırılgan, düşük mekanik dayanım ve düşük kırılma tokluğuna sahip olması CaP seramiklerin kullanımını yük taşımayan uygulamalarla sınırlandırmaktadır. Kemik oluşumu için yapı iskelesi olarak gözenekli implantlar da kullanılmaktadır. Kemik gelişimine gözenekli yapılar daha çok katkı sağlasalar bile yoğun yapılara göre daha düşük mekanik özelliklere sahiptirler ve gözeneklilikteki artış malzemenin dayanımını azaltmaktadır. Gözenekli malzemelerin bu yönleri alümina, cam, polimerik malzeme veya nano partikül gibi çeşitli güçlendirici takviye elemanlarıyla kompozit yapı meydana getirilerek geliştirilebilmektedir.

Nano kristalli HA'dan oluşan kemik mineralleri, malzemenin biyolojik ve mekanik özelliklerini iyileştirmek için CaP çalışmalarında kullanılmaktadır [46]. Sahip oldukları daha büyük yüzey alanı nedeniyle nano boyuttaki tozlarda sinterlenebilme ve yoğunlaşma kabiliyeti daha yüksek olup bu kırılma tokluğunu ve diğer mekanik özellikleri iyileştirebilmektedir. Nano kristaller kaba kristallerden daha iyi biyolojik aktiviteye sahip oldukları için diğer implantlara göre gelişmiş biyouyumluluk ile tasarlanmış doku implantlarında kullanılmaktadır [47], [48].

CaP bileşiklerinin en önemli özelliklerinden biri olan sudaki çözünürlük sayesinde CaP'lerin in vivo davranışı belirlenebilmektedir. Spesifik olarak bozunma (emilme) hızı ve dolayısıyla yeni kemik oluşum hızı, CaP bileşiklerinin kimyasal çözünürlüğü ile doğrudan ilişkilendirilmektedir. Şekil 2.7, CaP bileşiklerine ait çözünürlük faz diyagramını göstermektedir. Bir CaP'nin çözünürlüğü kemiğin mineral kısmından daha büyükse, CaP bozunmaktadır, örn. HA, çözünürlüğü kemiğin mineral kısmından daha azdır ve son derece yavaş bozunmaktadır. CaP bileşiklerinin faz diyagramı genel olarak, nötr pH koşulları altında CaP bileşiklerinin bozunma hızının en çözünürden en az çözünüre doğru bir yol izlediğini göstermektedir [41]. CaP'lerin farklı çözünürlük izotermi (Şekil 2.6) kullanıldığında, CaP'lerin in vivo degradasyon oranının (pH 7.0'da) şu sırayla olacağı bilinmektedir:

MCPM > TTCP > α -TCP > DCPD > DCPA > OCP > β -TCP > CDHA > HA [49], [41]



Şekil 2.6 CaP bileşikleri için iki boyutlu çözünürlük faz diyagramı [50]

CaP seramikleri biyouyumlu, osteokondüktif, kullanım yerine göre çok çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olacak şekilde tasarlanabilmektedir. CaP bileşikleri ve CaP bileşiklerinin başlıca özellikleri Tablo 2.7’de verilmektedir.

Tablo 2.7 Kalsiyum fosfat bileşikleri ve başlıca özellikleri [49], [50], [41]

Adlandırılması	Kısaltması	Kimyasal Formülü	Ca/P mol oranı	Çözünürlüğü 25 °C’de (mg/L)
Monokalsiyum fosfat monohidrat	(MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.5	yüksek çözünür
Monokalsiyum fosfat susuz	(MCPA veya MCP)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0.5	yüksek çözünür
Dikalsiyum fosfat susuz	(DCPA veya DCP)	CaHPO_4	1.0	~ 48
Dikalsiyum fosfat dihidrat	(DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0	~ 88
Oktakalsiyum fosfat	(OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33	~ 8.1
α -Trikalsiyum fosfat	(α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5	~ 2.5
β -Trikalsiyum fosfat	(β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5	~ 0.5
Amorf kalsiyum fosfat	(ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5	~ 25.6-32.8
Hidroksiapatit	(HA veya HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67	~ 0.3
Tetrakalsiyum fosfat	(TetCP veya TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2.0	~ 0.7

Piyasada en çok bulunan CaP seramikleri; hidroksiapatit (HA), trikalsiyum fosfat (TCP) veya bunların bifazik kombinasyonları olan BCP’dir (değişen HA ve TCP oranları) [41]. CaP seramiklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri üretim süreçlerine ve şartlarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir [51]. Bazı CaP formları, kimyasal ve fiziksel olarak karbonatlı HA kristallerine benzemesi sebebiyle doğal kemikle kolayca osseoentegre (yani, yakın biyolojik fiksasyon sağlama) olmaktadır [52].

CaP’lerin osteoindüktif (progenitör hücrelerin osteoblastik soylara farklılaşmasını sağlama yeteneği) ve osteokondüktif (yüzeyde kemik gelişimini destekleme yeteneği) özellik göstermesi hücre yapışmasını ve çoğalmasını desteklediğinden kemik rejenerasyonu için önemlidir [53]. Özellikle yüzey pürüzlülüğü, faz içeriği,

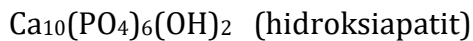
çözünürlük, kristallik ve gözeneklilik gibi özellikler hücre yapışmasını ve çoğalmasını etkilemektedir [40], [54].

CaP seramiklerine belirli bir yoğunluk ve dayanım kazandırabilmek adına CaP seramikler 950-1300 °C sıcaklık aralığında sinterlenmektedir. Sinterlenmiş HA'da, yığın (bulk) yoğunluğun yüksek sertlik sergilemesine rağmen belirli bir kritik tane boyutu sınırında sertliğin azalmaya başladığına dair sertlik ve tane boyutu arasında bir bağıntı bulunmaktadır. Optimum değerden yüksek sinterleme sıcaklıkları aşırı tane büyümesine ve ayrışmaya neden olarak malzemenin dayanımını düşürmektedir. Genel olarak, başlangıçtaki tozun homojenliğine de bağlı olarak sinterleme sıcaklığının artması malzemenin homojenliği iyileştirmekte ve tane büyümesini kolaylaştırarak ortalama tane boyutunda bir artışa yol açmaktadır [55]. Sinterleme sıcaklığı ve süresi malzemenin yoğunluğunu, gözenekliliğini, tane boyutunu, kimyasal bileşimini ve dayanımını etkilemektedir [56], [57].

2.5.1 Hidroksiapatit (HA)

Kristalin minerallerin genel bir adı olan 'apatit' terimi ilk olarak 1786'da Alman bir jeolog olan Abraham Gottlob Werner (1750-1817) tarafından kullanılmıştır. Form ve renk çeşitliliklerinden ötürü daha önce beril, turmalin, krizolit, ametist ve florit gibi diğer minerallerle karıştırılan apatit, adını Yunanca 'yanıltma/aldatma' anlamına gelen $\alpha\pi\alpha\tau\acute{\alpha}\omega$ (apatao)'dan almaktadır [58].

Apatit grubunun genel kimyasal formülü $M_{10}(ZO_4)_6X_2$ olup benzer kristal yapıya sahip farklı bileşimlerdeki CaP esaslı bileşiklerde de kullanılmaktadır. Formüldeki her bileşen (M, ZO_4 ve X), Tablo 2.8'de verilen çok sayıda farklı iyon ile değiştirilebilmektedir. Her bir apatitin özel adı, M, X ve Z elementlerine veya redikallerine bağlıdır. Doğada en yaygın apatit minerallerini, M ve ZO_4 yerinde sırasıyla Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları bulunduran CaP esaslı bileşikler oluşturmaktadır [59], [60]. X'in iyon değişimine bağlı olarak en sık rastlanan fosfat mineral grubunun formülü ve adlandırması şöyledir:



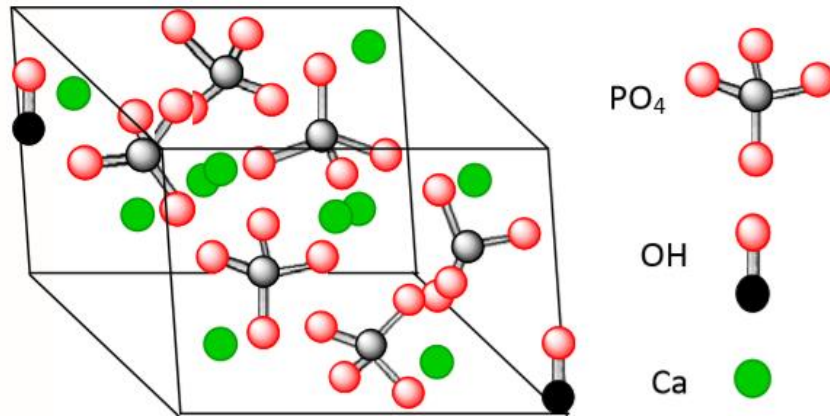
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ (klorapatit)

Tablo 2.8 Apatitin bir parçası olabilecek önemli iyonlar, $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$ [59]

Bileşen	İyonlar
M	Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , H^+ , Na^+ , K^+ , Al^{3+} , vb.
ZO_4	PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} , SO_4^{3-} , CO_3^{2-} , SiO_4^{3-} , vb.
X	OH^- , F^- , Cl^- , Br^- , O^{2-} , CO_3^{2-} , vb.

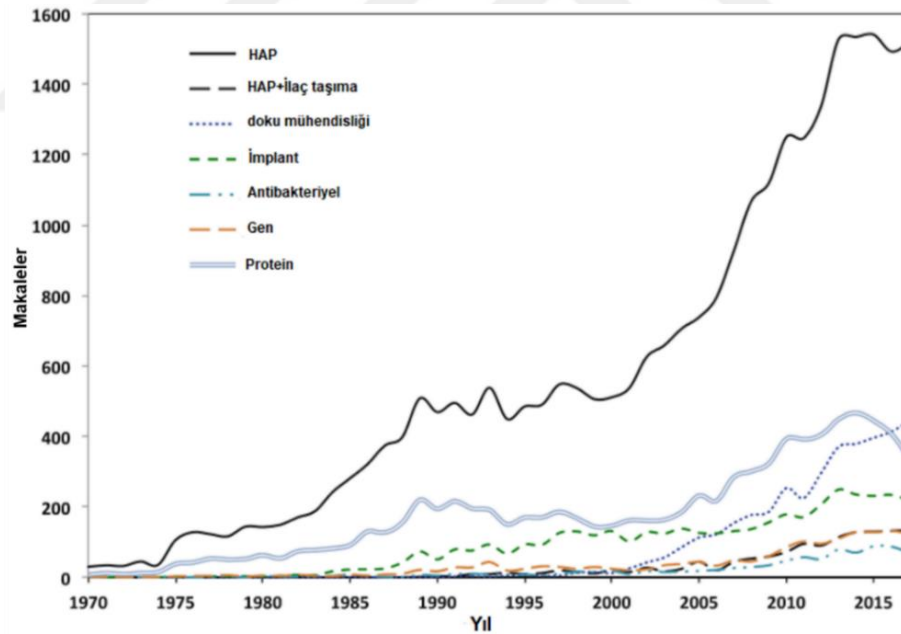
Biyoaktif seramikler ve CaP'ler arasında oldukça popüler bir mineral olan HA, apatit ailesinin üyelerinden birisidir. Saf HA ağırlıkça %39 Ca, %18.5 P ve %3.38 OH içermektedir [61]. Sitokiyotmerik Ca/P molar oranı 1.67 olan HA en kararlı CaP bileşenidir, 3.219 g/cm^3 yoğunluğa sahiptir ve normal sıcaklıklarda pH değeri 4 ile 12 arasında değişmektedir [62]. HA'nın altıgen ve monoklinik olmak üzere iki kristal yapısı bulunmaktadır. Monoklinik formdaki HA daha düzenli, termodinamik olarak karardır ve yüksek sıcaklıklarda ortaya çıkmaktadır. Ancak monoklinik formda HA üretimi oldukça güçtür ve kalsifiye dokularda varlığına dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır. HA, monoklinik sistemde bazı istisnalar olmakla birlikte, altıgen bir sistemde kristalleşmektedir [60]. HA altıgen (P63/m uzay grubu) bir kafes yapısında olup, kafes parametreleri; $a=b=9.42\text{\AA}$ ve $c=6.88\text{\AA}$, $\gamma=120^\circ$ 'dır [63]. Şekil 2.7 HA'nın kristal kafes yapısı göstermektedir.

HA, vücutta yüzde yüz saf ve kristalin bir yapıda olduğu zaman diğer CaP'ler arasında çözünürlüğü en az, kararlılığı ve dayanımı en yüksek faz olarak bilinmekte (37°C , $\text{pH}>4,2$) ve HA'nın stokiyometrisi, çözünürlüğü ve ortamın asitliği arasında bir bağ bulunmaktadır. Ca/P mol oranı 1.67 olan yapının XRD analizinde, yalnızca HA fazı bulunurken, yüksek sıcaklıklarda ortaya çıkan β -TCP, TTCP, $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ ve $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2$ gibi fazlar Ca/P mol oranını düşürmektedir [64]. Düşük Ca/P mol oranı ve yüksek asidik ortam HA'nın çözünürlüğünü artırırken 1.67'ye yaklaşan Ca/P mol oranı HA'nın çözünürlüğünü azaltmaktadır. Düşük bir emilim hızına sahip olan HA yılda %5-10 hızla emilmektedir [56].



Şekil 2.7 HA'nın kristal yapısı [65]

HA, kimyasal ve yapısal olarak doğal kemik ve diş mineral bileşimine benzeyen, sert dokularda osteointegrasyon, yapışma ve çoğalmayı destekleyen, biyouyumlu, biyoaktif ve toksik olmayan bir apatit grubu üyesidir [47]. HA'nın sahip olduğu özellikler doku mühendisliği, implantların kaplanması, kemik veya dişlerde dolgu malzemesi ve ilaç taşıma sistemleri gibi alanlardaki çalışmalarını artırmaktadır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8 HA çalışma alanları [48]

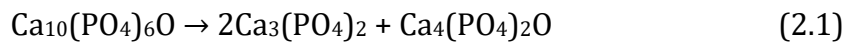
2.5.2 Trikalsiyum fosfat (TCP)

Trikalsiyum fosfat (TCP), implantasyonda kemik büyümesine izin veren ve vücut içerisinde çözünürlüğü genellikle sentetik HA'dan daha fazla olan bir CaP

mineralidir. Biyoemilebilir bir seramik olarak dikkat çeken TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ kimyasal formülüne ve 1.5 Ca/P mol oranına sahiptir. TCP'nin α , α' ve β olmak üzere 3 polimorfu bulunmaktadır. Bu polimorflar: 3.07 g/cm^3 yoğunlukta 1120°C 'nin altında kararlı β -TCP ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), 2.86 g/cm^3 yoğunlukta 1120 ile 1470°C arasında kararlı α -TCP ($\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ve 1470°C 'nin üzerinde kararlı olan α' -TCP ($\alpha'\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)'dir. Düşük sıcaklıktaki $\beta \rightarrow \alpha$ dönüşümü β -TCP'nin yoğunlaştırılması genel olarak zorlaştırmakta, fazlar arasındaki yoğunluk uyumsuzluğu mikro çatlaklara ve düşük dayanıma sebep olmaktadır [66], [67]. β -TCP, küçük safsızlık (Fe, Mn ve Mg) yüzdelerine sahip 'Whitlockite' adındaki bir mineral ile yapısal olarak benzerlik göstermektedir. Bu nedenle bazı kaynaklarda Whitlockite yapısı β -TCP olarak adlandırılmaktadır [68], [69], [70], [71].

1960'lar ve 1970'lerde yapılan çalışmalarda TCP kemik greft malzemesi olarak ele alınmakta ve yapılan çalışmaların çoğu çene-yüz uygulamalarına odaklanmaktadır [72]. Metsger, 1970'lerin başında Driskell'in sert doku yaraları veya kırıkları onarmak için seramik bir β -TCP önerdiğini belirtmiştir. Yapılan araştırmalar gözenekli, emilebilir implant malzemesinin seçilmiş durumlarda otojen aşılama malzemesi elde etmek için ikinci bir operasyonu ortadan kaldırdığını göstermektedir. Seramik matris, yeni kesilen ve kanayan kemiğe yakın bir yere yerleştirildiğinde kemik oluşturan doku tarafından hızla istila edilmekte ve eş zamanlı olarak implant emilmektedir. Yaklaşık 6 ila 18 aylık süreç içerisinde implant yerine kemik gelebilmekte ve yeni oluşan kemik tekrar şekillenerek orjinal kusuru onarmaktadır. [73].

TCP'nin vücut içerisinde su veya vücut sıvılarıyla etkileşime girmesiyle HA'nın oluşumu söz konusudur. TCP'nin HA'ya yaklaşan çözünürlük derecesi sistemin pH'ını düşürerek TCP'nin çözünürlüğünü artırmakta ve emilimini hızlandırmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda sinterlenen HA, dekompoze olmaya başladığında ilk olarak bünyesindeki su uzaklaşmakta ve kısmen *oksiapatit'e* ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$) ayrışmaktadır. Oksiapatitin parçalanması ile TCP ve tetrakalsiyum fosfat (TTCP) fazları oluşmakta ve bu oluşum reaksiyonu eşitlik (2.1)'de verildiği şekilde gerçekleşmektedir:



Parçalanma devam ettiği sürece TCP ve TTCP fazları kalsiyum oksit ve fosfor pentaoksit'e ayrılmaktadır [26], [33], [74].

Yabancı malzemelerin HA seramiklerine dahil edilmesi ve yüksek sinterleme sıcaklıkları HA'nın TCP'ye ayrışmasını teşvik etmektedir [75], [19]. Yapılan birçok araştırmada HA'nın, 1000 °C üzeri sıcaklıklarda β -TCP'ye ayrıştığı belirtilmektedir. Ooi ve ark. [76], sığır kemiğinden ürettikleri gözenekli HA'yı 400 °C ile 1200 °C (2 saat tutma süresi) arasındaki sıcaklıklarda ısıtma işlem uyguladıklarında 1000 °C'ye kadar olan ısıtma sıcaklıklarında HA'nın TCP'ye ayrışmasının gerçekleşmediğini ve daha uzun ısıtma süresi ve daha düşük sıcaklıkların (örneğin 850 °C) HA'nın TCP'ye ayrışmasına yol açabileceğini belirtmişlerdir. Hosseinzadeh ve ark. [77], sığır kemiklerini 750 ve 850 °C'de (6 saat) kalsine ederek β -TCP'nin oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde, Sun ve ark. [78], HA elde edebilmek kalsine ettikleri sığır kemiklerinin XRD modelinde HA ve β -TCP fazına rastlamışlar, β -TCP'nin HA'nın ayrışmasından kaynaklanmak yerine sığır kemiğinin kendisinden geldiğini ve sığır kemiğinin inorganik bileşiminin ağırlıkça ~ %93 HA ve ~ %7 β -TCP'den oluştuğunu belirtmişlerdir.

2.5.3 Bifazik yapılar (BCP)

İdeal kemik malzemesi, yeni hücrelerin büyümesine ve nüfuz etmesine izin veren hatta teşvik ederek dokularla güvenli bir bağ oluşturan malzemedir. Sentetik HA ve TCP kimyasal yapılarının kemik minerali ile benzerlik göstermesi nedeniyle yapay kemik uygulamalarında tercih edilmektedir. Daha önceleri Nery'nin kemik uygulamaları için kullandığı saf TCP, 1988'de LeGeros tarafından %20 β -TCP ve %80 HA'dan oluşan bir karışım olarak tanımlanmaktadır. Bu malzeme ve diğer β -TCP ve HA karışımları daha sonra bifazik yapı (BCP, çift fazlı kalsiyum fosfat) olarak isimlendirilmiştir [79].

HA, hem α hem de β -TCP ile karşılaştırıldığında daha düşük bir çözünürlüğe dolayısıyla daha yavaş bir rezorpsiyon kinetiğine sahip olduğundan fizyolojik koşullar altında daha kararlı bir fazdır. Yapılan birçok çalışma, insan vücudundaki HA'nın bozunma oranının optimum sonuçlar elde etmek için çok düşük olduğu, TCP'nin ise HA'dan daha yüksek bir bozunma oranına sahip olduğunu

göstermektedir [80]. TCP'nin sahip olduğu bu bozunma özelliği, hücre çoğalması için mevcut yüzey alanını büyük ölçüde azaltmakta ve klinik ortamlardaki uygulama alanını sınırlamaktadır.

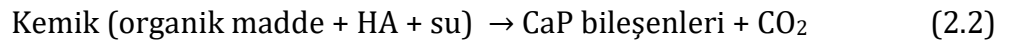
HA implantlar, implantasyondan sonra uzun yıllar kemik kusurlarında bulunduğundan biyomedikal amaçlar için daha çözünür CaP biyoseramikleri tercih edilmektedir. Farklı HA/ β -TCP oranına sahip BCP'ler, kemik onarımı ve kemik rejenerasyonunda saf HA veya saf β -TCP'den daha etkili olmaktadır. HA'nın kararlılığı ve β -TCP'nin reaktivitesinin birleştirilmesi ile belirli bir dereceye kadar kontrol edilebilen bozunma oranı uygulamalarda avantaj sağlamaktadır. BCP'nin çözünmeyen CaP'lere göre temel avantajı, insan vücudunda kademeli olarak çözündüğünde yerel çevreye Ca^{2+} ve PO_4^{3-} iyonlarını salarak kemik büyümesini, kemiğin yeniden şekillenmesini ve yeni kemik oluşumunu teşvik etmesidir [81]. α veya β -TCP'nin biyolojik bozunma oranının HA'dan daha yüksek olması nedeniyle artan TCP/HA oranı BCP'nin reaktivitesi artırmakta, in vivo biyoemilebilirlik faz bileşimi ile kontrol edilebilmektedir. HA ve TCP'nin bir arada bulunduğu BCP yapılar, biyoaktivite ve biyobozunurluk tasarımında yararlanılabildiğinden ve in vitro biyoaktiviteyi geliştirdiğinden önemlidir [82]. BCP'ler, biyoyumluluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği nedeniyle ilaç verme, kemik greft malzemesi ve dişçilik uygulamalarında kullanılmakta, son zamanlarda ise iskele malzemesi olarak geliştirmeye ilgi artmaktadır [80].

2.5.4 Üretim yöntemleri

Kimyasal olarak CaP biyoseramiklerinin büyük çoğunluğu HA, β -TCP, α -TCP veya bunların karışımından oluşan BCP (β -TCP/HA veya α -TCP/HA)'ye dayanmaktadır. Hidrotermal yöntem, katı-faz reaksiyonu, kimyasal çöktürme, mikroemülsiyon, ultrasonik teknik, hidroliz, sol-jel gibi yöntemler ile iğne benzeri, küresel, lifli ve mezogözenekli nanokristaller, katman nanoyapılar ve içi boş nanoküreler gibi çeşitli morfolojilere sahip CaP'ler sentezlenmektedir. BCP seramikler genellikle katı hal reaksiyonu, fiziksel karışım, hidroliz, çökeltme gibi yöntemlerle hazırlanmaktadır. Bu yöntemler, başlangıç malzemelerinin bileşimi, saflığı, pH ve hazırlanan çözeltinin sıcaklığı gibi yüksek kontrollü parametrelere ihtiyaç duyduğundan son zamanlarda

ilgi, doğal kaynaklardan (hayvan kemikleri (sığır, koyun, domuz, balık), yumurta kabuğu, midye kabuğu, deniz kabuğu ve bitkiler gb.) CaP üretimine yönelmektedir [81], [3], [5], [6], [83], [4]. Doğal kaynaklar yapılarındaki Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} ve Zn^{2+} gibi yararlı katyonlar, F^- , Cl^- , SO_4^{2-} ve CO_3^{2-} gibi anyonlar veya her ikisinin varlığı nedeniyle daha iyi biyolojik özellikler sergileyebilmektedir. Na^+ , Mg^{2+} gibi iyonların varlığı kemik ve dişlerin gelişiminde hayati bir rol oynamakta, yoklukları ise kemik kaybına ve kırılabilirliğe neden olabilmektedir [4].

Doğal kemik dokularından CaP elde edilmesi alkalın ısıtma işlemi, alkali hidroliz, kalsinasyon ve bunların kombinasyonlarıyla gerçekleştirilmektedir. Memeli kemiklerinden elde edilen HA'nın Ca/P oranı, 1.5 ile 2.13 arasında değişmektedir. Yöntemler arası karşılaştırma yapıldığında, bazı çalışmalar, alkalın ısıtma işlemi ile üretilen HA kristalliğinin, kalsinasyon yöntemi ile üretilenden çok daha düşük olduğu göstermektedir [78]. Kalsinasyon yöntemi üretilen HA'nın Ca/P oranı stokiometrik HA'ya yakın olarak 1.65 iken, alkalın ısıtma işlemi ile üretilende Ca/P oranı daha yüksek olabilmekte, bu yöntemlerin kombinasyonu ile stokiometriye yakın, daha dar bir Ca/P aralığında üretim yapılabilmektedir. Kalsinasyon yöntemi diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında en popüler yöntemdir. Yüksek kalsinasyon sıcaklıkları, HA'nın Ca/P oranını düşürebilen β -TCP fazının oluşumuna yol açmaktadır. Doğal kemiklerin yüksek sıcaklıklarda kalsinasyonu ile birlikte kemikteki organik yapı ortadan kalkmakta geriye karbondioksit (CO_2) ve kül (CaP bileşikleri) kalmaktadır, bu sayede tehlikeli hastalıkların bulaşma olasılığı önlenmektedir [81]. Kalsinasyon işlemi ile kemiğin CO_2 ve CaP bileşiklerine dönüşümü eşitlik (2.2)'de verildiği şekilde gerçekleştirilmektedir [64]:



Dünya çapında her yıl büyük miktarda balık ve kabuklu deniz ürünleri (91 milyon tondan fazla) avlanmaktadır. Avlanmanın yaklaşık %50-60'ı insan tüketimi için kullanılırken geri kalanı boşa gitmektedir [84]. Örneğin, tipik bir otomatik filetolama hattında somon balığı filetoları vücut ağırlığının yaklaşık %59-63'ünü oluştururken geriye kalan %9-15'lik kısım kemik ve %10-12'lik kısım kafayı oluşturmaktadır [85]. Ticari olarak uygulama alanı olmayan bu atıklar (pullar, deri ve kemikler) değersiz bir yan ürün olarak kabul edilmekte, ekosistemde çevresel ve

sağlıksal açısından bir risk oluşturmaktadır. Bu potansiyel riskleri ortadan kaldırmak için ticari ve biyomedikal uygulamalarda balık kemiklerinden CaP retimi üzerine çalışmalar yapılmaktadır.



Yapılan çalışmada ilk aşamada, somon balık kemikleri (kılçıkları) kalsine edilerek kalsiyum fosfat (sCaP) yapısı elde edilmiş ve elde edilen sCaP yapısı 1000, 1100, 1200 ve 1300 °C sıcaklıklarda 4 saat sinterlenerek karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Bir sonraki aşamada, elde edilen sCaP'ye farklı oranlarda B₂O₃ (ağ. %1- 2.5- 5- 7.5- 10 B₂O₃) katkılandırılarak sCaP-B₂O₃ kompozitleri oluşturulmuş ve kompozitler 1000, 1100, 1200 ve 1300 °C sıcaklıklarda 4 saat sinterlenmiştir. Sinterleme sıcaklığı ve farklı oranlardaki B₂O₃ katkısının sCaP'ye etkisi incelenmiştir.

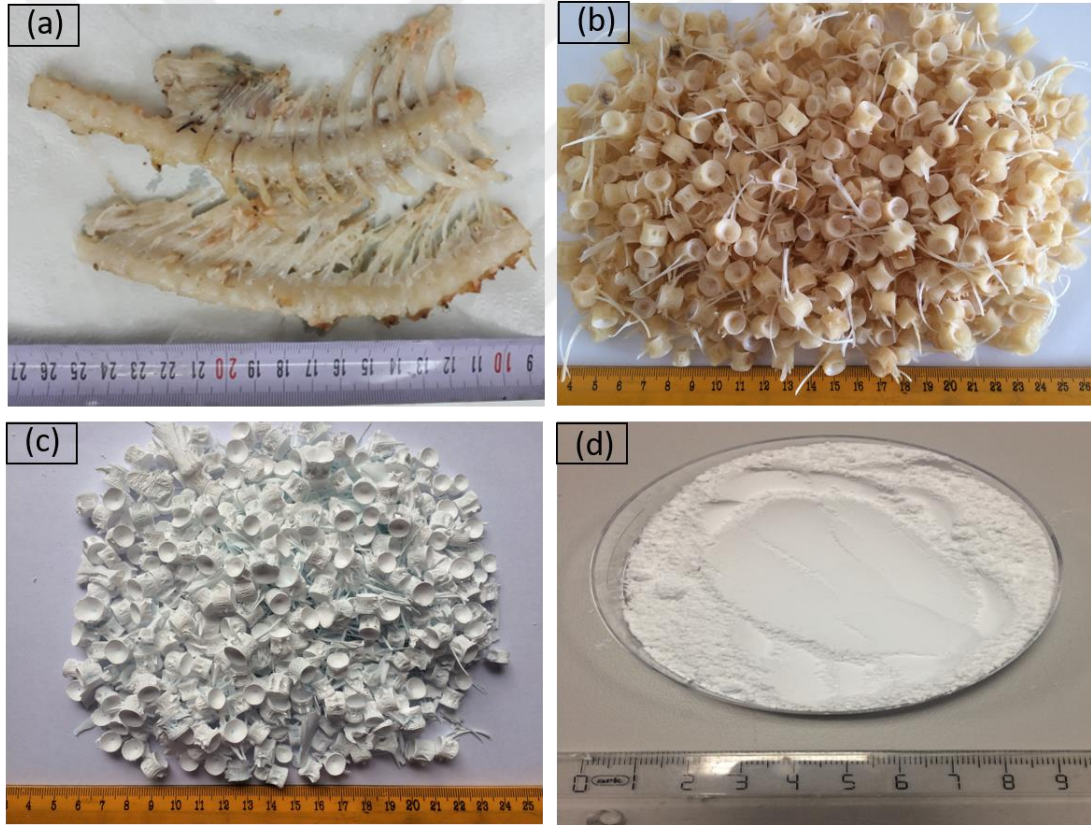
3.1 Deneylerde Kullanılan Malzemeler ve Özellikleri

Bu çalışmada, somon balığı kemikleri kullanılarak elde edilen CaP (sCaP) ve kompozit yapı oluşturmak için Bor Oksit (B₂O₃) (American Elements, ABD) tozu kullanılmıştır.

3.1.1 Somon Kalsiyum Fosfat (sCaP) Elde Edilmesi

sCaP üretimi için somon balığının atık kemikleri ve kafa kısmındaki sert dokular kullanılmıştır (Şekil 3.1(a)). Kullanılan somon kemikleri Migros Gebze CENTER'dan (Kocaeli) temin edilmiştir. Ham kemikler, deri ve et izlerinden arındırılmak için 100 °C suda 1 saat kaynatılmış, ilk kaynatmadan sonra yumuşak dokular kemikten kolayca ayrılmıştır. Kullanılan su değiştirilerek kaynatma işlemi birkaç kez tekrarlanmış ve kemiklerin tamamen temizlenmesi sağlanmıştır (Şekil 3.1(b)). Kaynatılan kemikler protein, lipid, yağ ve diğer organik safsızlıklarından arındırılmak amacıyla %1 sodyum hidroksit (NaOH) ile karıştırılmıştır. Kemikler su ile yıkanmış ardından saf su ile bir kez daha kaynatılarak NaOH'tan tamamen arındırılmıştır. Bünyedeki nemi uzaklaştırmak için kemikler 24 saat 50 °C'de etüvde kurumaya bırakılmıştır. Somon kemiklerinin kalsinasyon işlemi özel yapım bir fırında gerçekleştirilmiş, fırın sıcaklığı 800 °C'ye ayarlanmış ve yaklaşık 60 dk sonra ilgili sıcaklığa çıkmıştır. Sıcaklık 800 °C'ye ulaştığında kemikler hava atmosferinde

3 saat kalsinasyon işlemine tabi tutulmuş ve kemiklerin bünyesindeki organik yapının uzaklaşması sağlanmıştır [86]. İşlemin ardından fırın kapatılmış ve sıcaklığın oda sıcaklığına düşmesi beklenmiştir. Şekil 3.1(c)'de kalsinasyon işleminin ardından oda sıcaklığına kadar bekletilen kemik görüntüsü gösterilmiştir. Kalsinasyon işleminin hava atmosferinde gerçekleşmesinden ötürü oluşabilecek kilo kayıplarını tayin etmek için kalsinasyon öncesi (~900 g) ve sonrası (~600 g) kemik ağırlıkları tartılmıştır. Kemik, kalsinasyon işlemiyle organik fazın yapıdan ayrılması sonucu kemiğin inorganik fazı (kimyasal ve kristalografik olarak HA'ya benzer) olarak kalmıştır. Kalsinasyon işleminden sonra küçük bir kuvvetle toz haline getirilebilecek parçalar seramik bir havanda öğütülmüş, 63 mikronluk elekten geçirilerek toz haline getirilmiştir (Şekil 3.1(d)).



Şekil 3.1 (a) Atık somon kemikleri, (b) temizlenmiş somon kemikleri, (c) kalsinasyon sonrası kemikler, (d) kuru öğütme ve eleme sonrası toz partiküller

3.1.2 Bor Oksit (B_2O_3)

Bor, doğada serbest halde değil genellikle 'borat' adıyla adlandırılan bor-oksijen bileşimleri halinde bulunmaktadır. Tabiatı yaklaşık olarak 230 çeşit bor minareli

olduğu bilinmektedir fakat bunların çok azı ticari öneme sahiptir. Dünyada yaygın olarak kullanılan bor mineralleri; kolemanit ($\text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), tinkal ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), üleksit ($\text{NaCaB}_5\text{O}_9 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) ve kernittir ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) [87]. Bor bileşiklerinin gübreden ilaç sanayisine, temizlik maddesinden nükleer endüstriye ve cam sanayisine kadar çeşitli uygulama alanları bulunmaktadır [88].

Borun temel oksidi olan bor oksit (B_2O_3 , bor trioksit, diboron trioksit, borik oksit) genellikle borik asidin (H_3BO_3) susuzlaştırılmasıyla elde edilmektedir. B_2O_3 , hegzagonal ve monoklinik olmak üzere iki farklı kristal yapıda veya amorf camı halde bulunabilmekte, yaygın olarak ise hegzagonal kristal yapıdaki B_2O_3 kullanılmakta, bor ve oksijenlerin bağlanma şekli ise B_2O_3 'ün yapısını ve yoğunluğunu etkilemektedir. Kristalin B_2O_3 , 2.56 g/cm^3 'ten yüksek yoğunluk değerine sahip ve ağ yapısı düzlemsel BO_3 iyonlarından oluşmaktadır; yüksek basınç altında ise B_2O_3 daha yoğundur (3.11 g/cm^3) ve BO_4 tetrahedralarından meydana gelen yapıya sahiptir [89].

Bor, mineralizasyon ve kemik büyümesi açısından kemik gelişiminde önemli rol oynayan bir elementtir. B_2O_3 , düşük ergime derecesi (450°C) sayesinde sinterlemeyi iyileştirme, buhar ajanı olarak kullanılma, mekanik özellikleri etkileme, hücrelerin çoğalmasında etkili olma, borat cam bileşiminde HA'ya dönüşüm oranını artırma ve bakteri öldürücü özelliklere sahip olması sayesinde birçok uygulamada tercih edilmektedir [90], [91].

3.2 Deneylerde Kullanılan Cihazlar

3.2.1 Termal Analiz (TGA/DTA)

Saf sCaP tozlarının Termogravimetrik analizi (TGA) ve Diferansiyel Termal Analizi (DTA), DTA 404 Netzsch cihazı ile yapılmıştır (Şekil 3.2). TGA/DTA eş zamanlı ölçülen bir termal analiz tekniğidir. Ölçüm hava atmosferinde, 25°C - 1300°C sıcaklık aralığında, 10°K/dk ısıtma hızı ile yapılmıştır.



Şekil 3.2 DTA 404 Netzsch cihazı

3.2.2 Partikül Boyutu Analizi (DLS)

Parçacık boyut dağılımı, HORIBA SZ-100 Z nanoparçacık analiz sistemi kullanılarak Dinamik Işık Saçılma (DLS) yöntemi ile ölçülmüştür (Şekil 3.3). DLS yöntemi seyreltik çözelti içerisindeki küçük parçacıklardan saçılan ışığın şiddetinin ve değişiminin ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Partikül boyutu analizi sadece saf sCaP tozlarına yapılmıştır.



Şekil 3.3 HORIBA SZ-100Z nanopartikül ölçüm cihazı

3.2.3 Yoğunluk Ölçümü

Sinterlenmiş pelet halindeki numunelerin yoğunluk hesabı için peletlerin 0.1 mg hassiyetli teraziyle kuru ağırlıkları tartılmış, dijital bir kumpas ile boy ve çapları ölçülmüştür. Eşitlik (3.1)'de verilen yoğunluk formülünde numunelerin m (kütle) ve hacim (V) değerleri yerine konularak numunelerin yoğunlukları hesaplanmıştır.

$$\rho \text{ (g/cm}^3\text{)} = m / V \quad (3.1)$$

Pelet halindeki farklı sıcaklıklarda sinterlenmiş numunelerin bulk (yığın) yoğunlukları, % görünür (açık) porozite ve % su emme oranları Arşimed yöntemi ile eşitlik (3.2), eşitlik (3.3) ve eşitlik (3.4)'e göre hesaplanmıştır. Ölçümlerde her kompozit grubu ve sinterleme sıcaklığı için üçer pelet kullanılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Numunelerin hassas bir terazide kuru ağırlıkları (M_K) tartılmıştır. Peletler iki yüzeyi suyla temas edecek şekilde içi su dolu bir kaba yerleştirilmiş, suyun açık gözeneklere dolabilmesi için numuneler 2 saat kaynatılmıştır. Sudan çıkarılan peletlerin üzerindeki su tabakasını gidermek için peletler bir bez ile hafifçe kurutulmuş ve hassas terazide tartılarak doymuş ağırlıkları (M_D) elde edilmiştir. Hassas terazinin tavanından içi su dolu behere sarkıtılmış olan kancaya sırasıyla peletler konularak askıdaki ağırlıkları (M_A) tartılmıştır.

$$\text{Bulk (yığın) yoğunluk (b)} = [M_K / (M_D - M_A)] \times \rho_{su} \quad (3.2)$$

$$\% \text{ Görünür (açık) porozite} = [(M_D - M_K) / (M_D - M_A)] \times 100 \quad (3.3)$$

$$\% \text{ Su emme} = [(M_D - M_K) / M_K] \times 100 \quad (3.4)$$

M_K : Kuru ağırlık (g), M_D : Doymuş ağırlık (g), M_A : Askıdaki ağırlık (g)

b : Bulk yoğunluk (g/cm³) ρ_{su} : Suyun yoğunluğu (1 g/cm³) [33]

3.2.4 Mikrosertlik Ölçümü

Farklı sıcaklıklarda sinterlenen pelet halindeki numunelerin Vickers mikrosertlik (HV) testleri için, Shimadzu HVM-2T (Kyoto, Japonya) marka cihaz kullanılmıştır (Şekil 3.4). Ölçümler 200 g yükte ve 20 saniyelik bekleme süresinde gerçekleştirilmiştir. Farklı sinterleme sıcaklığındaki tüm kompozit grupları için üçer numune seçilmiş ve her numune üzerinde farklı bölgelerden onar ölçüm yapıp bu ölçümlerin ortalaması alınarak Vickers mikrosertlik değerleri elde edilmiştir.



Şekil 3.4 Vickers mikrosertlik (HV) test cihazı

3.2.5 Basma Dayanımı Ölçümü

1000 °C-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen peletlerin basma dayanımlarını ölçmek için 2 mm/dk hızla çalışan universal Devotrans (DVT., Inc., İstanbul, Türkiye) marka basma test cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.5). Tüm kompozit grupları ve sinterleme sıcaklıkları için dörder adet numunenin basma dayanımları ölçülmüş ve bu değerlerin ortalaması alınarak basma dayanımları elde edilmiştir. Basma dayanımı testi sonucunda numunelerin elastiklik modülü değerleri de otomatik olarak alınmıştır.



Şekil 3.5 Devotrans marka basma cihazı

3.2.6 X- Işını Kırınımı (XRD) Analizi

Basma testi uygulanan numunelerden geriye kalan kırık parçalar seramik bir havanda ezilerek tekrardan toz haline getirilmiş ve bu tozlar XRD incelemelerinde kullanılmıştır. Numunelerin XRD analizi için İstanbul Teknik Üniversitesi Adnan Tekin Araştırma Merkezi'nde (İTÜ-ATUM) bulunan Philips/PANalytical X'Pert Pro (Hollanda) marka cihaz kullanılmıştır (Şekil 3.6). Ölçümler $\text{CuK}\alpha$ radyasyonu kullanılarak $10-90^\circ$ 'lik 2θ aralığında 0.02° 'lik ilerleme hızı ile yapılmıştır. Ayrıca XRD analizi sonucunda oluşan kristalin fazların kantitatif analizi için Highscore Plus programında Rietveld analizi kullanılmıştır.



Şekil 3.6 Philips X'Pert marka XRD cihazı (İTÜ-ATUM)

3.2.7 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

sCaP ve sCaP-B₂O₃ kompozitlerin kimyasal bağ yapıları Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) (JASCO, FT/IR-4700, Japonya) cihazı ile analiz edilmiştir (Şekil 3.7). FTIR, yapısal karakteristik grupların ve titreşim bağlarının varyasyonlarını sistematik olarak izleyen bir yöntemdir. Cihazın analiz sırasında yaydığı ışınlar ölçümü yapılan numune tarafından absorbe edilir ve absorpsiyon bantları sayesinde malzeme içindeki fonksiyonel gruplar tespit edilmektedir. Tüm numunelerin FTIR spektrumları $4000-450\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında alınmıştır.

Çalışmada, sCaP numuneleriyle karşılaştırma yapmak amacıyla ticari HA'nın (CHA, Sigma Aldrich) FTIR spektrumu kullanılmıştır.



Şekil 3.7 FTIR analiz cihazı (JASCO, FT/IR-4700, Japonya)

3.2.8 Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektrometresi (EDS) İncelemesi

SEM, vakum ortamında malzemelerin morfolojik özelliklerinin incelenmesinde kullanılan, yüksek çözünürlükte görüntü elde edilmesine olanak sağlayan kullanım alanı oldukça geniş bir cihazdır. sCaP ve sCaP-B₂O₃ kompozitlerinin morfolojileri ve hücre çalışmasından gelen numuneler üzerindeki hücre tutunması ve çoğalması SEM (MA/EVO10, ZEISS, Almanya) cihazı ile incelenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (MA-EVO10, ZEISS, Almanya)

İncelenecek olan malzemeler iletken olmadığı için SEM görüntüleme öncesinde numunelere iletkenlik kazandırabilmek adına numuneler mikroskobik cam slaytlara yerleştirilmiş, çift taraflı iletken bant vasıtasıyla numuneler saplamaların üzerine monte edilmiştir. Kaplama cihazında (Quorum, SC7620, ABD) vakum

altında püskürtme yöntemi ile malzemenin yüzeyi 60 saniyede altın (Au) ile kaplanmıştır (Şekil 3.9). Numunelerin morfolojik yapılarını detaylı incelemek için numunelerden farklı büyütme ölçeklerinde görüntüler alınmıştır. SEM cihazı aynı zamanda enerji dağılım spektrometresi (EDS) dedektörüne sahiptir. EDS spektrumları numunelerin kimyasal bileşiminin yarı kantitatif analizi ile ilgili bilgi vermektedir.



Şekil 3.9 Kaplama cihazı (Quorum, SC7620, ABD)

3.2.9 Hücre Kültürü

Hücrelerin Hazırlanması

Hücre çalışmaları Marmara Üniversitesi, Genetik ve Metabolik Hastalıklar Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (GEMHAM) gerçekleştirilmiştir. Hücre çalışması için Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu'ndan (ATCC) alınan insan osteoblast hücresi kullanılmıştır. -150 °C'de %10 DMSO (Dimetil sülfoksit, C_2H_6OS) içeren büyüme ortamında (besiyeri) saklanan osteoblast hücresi çözündürülmek için steril bir hücre kültür kabine alınmış ve oda sıcaklığına getirilmiştir. Daha sonra hücreler steril bir tüp içerisinde (hücre ve büyüme ortamı 1:9 oranında olacak şekilde) karıştırılmış ve 1200 rpm'de 5 dk santrifüjleme yapılarak süpernatant kısmı atılmıştır. Hücre peleti % 10 fetal sıgır serumu (FBS), %1 Penisilin/Streptomisin takviye edilmiş Dulbecco'nun Modifiye Eagle Ortamı (DMEM) içinde T-25 hücre kültür kapları içerisine ekilmiş ve 37 °C ve %5 CO_2 'de inkübe edilmiştir. Kültür ortamındaki hücreler iki günde bir optik mikroskobu ile kontrol edilmiş ve büyüme ortamı değiştirilmiştir, hücre kültür kabın zeminine tutunan yeterli hücre yoğunluğuna ulaşıldıktan sonra hücre büyüme ortamı uzaklaştırılmış ve 3 tekrarla

5 ml 37 °C'lik PBS (Phosphate Buffered Saline) ile yıkanmıştır. Büyüme ortamından temizlenen hücrelerin üzerine zemini tamamen kaplayacak şekilde yaklaşık 2 ml Tripsin-EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) çözeltisi eklenerek 5 dk inkübe edilmiş, daha sonra 5 ml büyüme ortamı eklenerek elde edilen hücre süspansiyonu steril 15 ml'lik falkon tüpe alınmış ve 25 °C'de 1200 rpm'de 5 dk boyunca santrifüj edilerek süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır. Elde edilen hücre peletine 4 ml hücre besiyeri eklenerek hücre süspansiyonu elde edilmiştir.

Toplam hücre konsantrasyonunu hesaplamak için 10 µl hücre süspansiyonu steril bir endorf tüpe alınmış ve üzerine 10 µl tripan mavisi çözeltisi (%0.4) eklenmiştir. Hazırlanan solüsyondan 10 µl Neubauer hücre sayım lamı (hemasitometre) üzerine alınmış ve optik mikroskop altında canlı hücre sayımı yapılmıştır [92], [93].

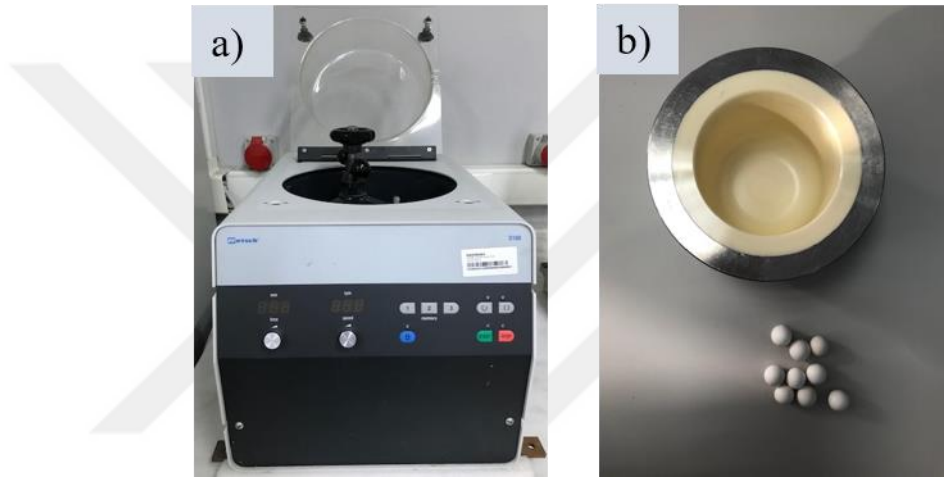
Hücre canlılığı analizi ve hücre-malzeme etkileşimi

Her bir numune grubundan 0.25 g tartılan toz, 24 oyuklu plakaların tabanına yerleştirilmiş ve UV'de 24 saat sterilize edilmiştir. Her bir kuyucuğun üzerine 10^4 hücre olacak şekilde 400 µl hücre süspansiyonu eklenmiş ve hücreler 7 gün boyunca 37 °C ve %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. Materyalde hücre canlılığını görebilmek adına MTT [3-(4,5-dimetildiyazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolyum bromür] protokolü uygulanmıştır. İnkübasyon sonrası hücre besiyeri uzaklaştırılarak her bir kuyucuğa 180 µl taze hücre besiyeri ve hazırlanan 5 mg/ml MTT çözeltisinden 20 µl eklenmiş ve 4 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra MTT çözeltisi uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 200 µl çözme çözeltisi (DMSO) eklenerek oluşan formazan kristalleri çözündürülmüştür. Elde edilen çözeltiler 96-kuyucuklu plakalara alınmış ve spektrofotometrede (570 nm) örneklerin absorbans değerleri ölçülmüştür.

Pelet haline getirilen malzeme üzerinde hücre morfolojisini görmek amacıyla aynı protokolde hücre ekimi yapılmış ve hücreler 7 gün boyunca 37 °C ve %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. Gün aşırı hücre besiyeri değiştirilmiş ve 7. günün sonunda pelet üzerinde hücre besiyeri alınmış ve %4'lük glutaraldehit çözeltisi ile fikse edilmiş ve bir dizi seyreltik etanol çözeltisinden geçirilerek yıkanmış ve kurutulmuştur. Kurutulan numuneler ince bir tabaka halinde altın ile kaplanmış (90 saniye) ve SEM'de (MA-EVO10, Zeiss, Almanya) 10 kV'da görüntülenmiştir [92], [93].

3.3 Numune Hazırlama

sCaP-B₂O₃ kompozitleri oluşturmak için sCaP tozlarına ağırlıkça %1, %2.5, %5, %7.5 ve %10 olmak üzere 5 farklı oranda B₂O₃ tozları ilave edilmiştir. Belirtilen oranlarda sCaP ve B₂O₃ tartılıp homojen bir karışım olması için 3 saat 180 rpm hızla RETSCH-S100 marka değirmenle karıştırılmıştır (Şekil 3.10(a)). Tozlar, iç kısmı zirkonya kaplı 10 cm çap ve yüksekliğindeki paslanmaz çelik kaba yerleştirilmiş ve homojen karışım olması için Al₂O₃ bilyalar kullanılmıştır (Şekil 3.10(b)). Hazırlanan toz karışımları yorumlama yaparken kolaylık olması açısından Tablo 3.1'deki gibi kodlanmıştır.



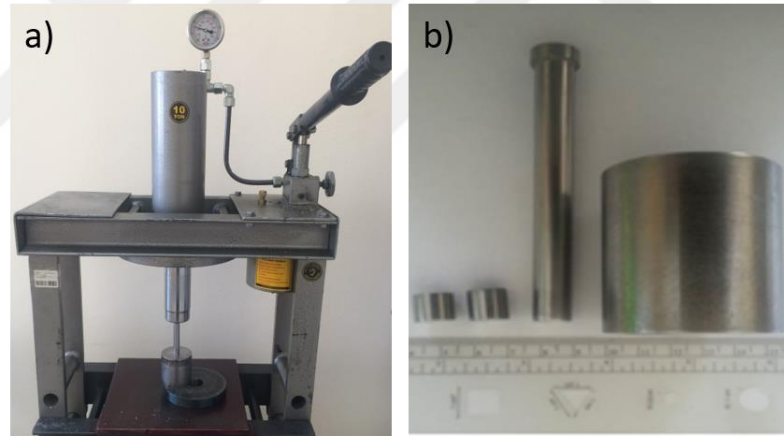
Şekil 3.10 a) RETSH-S100 marka değirmen, b) öğütme kabı ve Al₂O₃ bilyalar

Tablo 3.1 Toz karışımları için numune kodları

Toz karışımı	Numune kodu
sCaP	S0
sCaP + %1 B ₂ O ₃	S1
sCaP + %2.5 B ₂ O ₃	S2.5
sCaP + %5 B ₂ O ₃	S5
sCaP + %7.5 B ₂ O ₃	S7.5
sCaP + %10 B ₂ O ₃	S10

3.3.1 Pelet hazırlama ve sinterleme işlemi

S0 tozları ve değirmende karıştırılan S1, S2.5, S5, S7.5, S10 kompozitleri British 7253 standardına [94] uygun olacak şekilde 350 MPa presleme basıncı ile 11 mm çapında ve 11 mm boyunda peletler haline getirilmiştir. Şekil 3.11 presleme işleme için kullanılan cihaz ve paslanmaz çelik kalıpları göstermektedir. S0, S1, S2.5, S5, S7.5 ve S10 olmak üzere 6 farklı numune grubunda 4 farklı sıcaklık değeri için onar adet olacak şekilde $10 \times 4 \times 6 = 240$ adet pelet; hücre kültürü ve SEM analizlerinde kullanılmak üzere ise 11 mm çapında 2 mm boyutunda pelet basılmıştır. Peletler, Nabertherm LHT 02/17 marka fırında 5 °C/dk artış hızıyla 1000 °C, 1100 °C, 1200 °C ve 1300 °C sıcaklıklara çıkarılıp ilgili sıcaklıkta 4 saat sinterlenmiştir (Şekil 3.12). Şekil 3.13'te farklı sıcaklıklarda sinterlenmiş pelet numuneler gösterilmiştir. Hazırlanan peletlerin yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı ve mikroyapı analizleri yapılmıştır. Basma dayanımı testi sonucu parçalanmış olan numuneler tekrar toz haline getirilerek numunelerin XRD ve FTIR analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.11 (a) presleme cihazı, (b) paslanmaz çelik kalıplar



Şekil 3.12 Nabertherm LHT 02/17 marka sinterleme fırını

	S0	S1	S2.5	S5	S7.5	S10
1300 °C						
1200 °C						
1100 °C						
1000 °C						

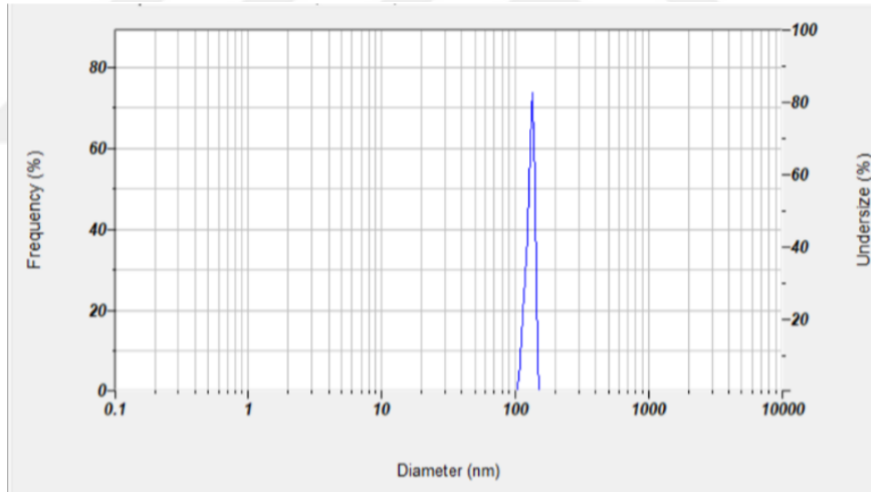
Şekil 3.13 Farklı sıcaklıklarda sinterlenmiş pelet numuneler

4.1 Karakterizasyon

Somon balık kemiklerinin kalsinasyonu ile elde edilen saf sCaP ve B₂O₃ katkılı sCaP-B₂O₃ kompozitleri 1000-1300 °C arası farklı sıcaklıklarda 4 saat sinterlenmiş ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.1.1 sCaP Tozunun DLS ve Termal Analiz Sonuçları

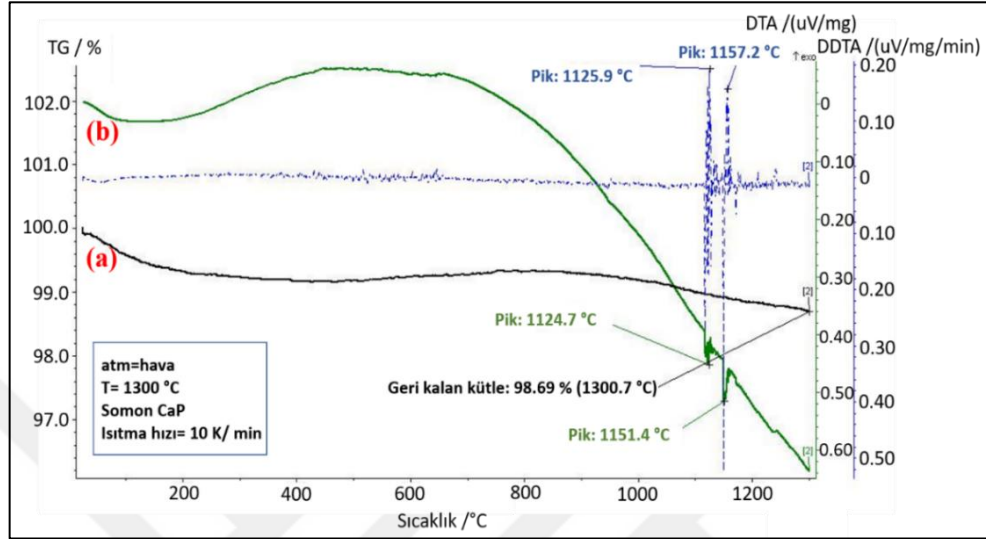
Somon balık kemiklerinden kalsinasyon yöntemiyle elde edilen saf sCaP partiküllerinin boyutu DLS yöntemi ile ölçülmüş ve ortalama partikül boyutu 122 nm olarak saptanmıştır (Şekil 4.1). DLS analiz sonucu, CaP'nin somon balık kemiklerinin kalsine edilmesiyle başarılı bir şekilde elde edildiğini göstermiştir.



Şekil 4.1 DLS metodu ile saf sCaP tozlarının boyut analizi

Şekil 4.2 saf sCaP tozuna ait termal analiz (DTA/TGA) grafiğini göstermektedir. Somon kemiğindeki su ve organik kısım zaten 800 °C'de yapılan kalsinasyon işlemi sonucunda yapıdan uzaklaştırılmıştır. Kalsinasyon işlemi sonrasında somon kemiklerinin ağırlığının (900 g'dan 600 g'a) düşmesi de bu durumu desteklemektedir. sCaP'nin TGA grafiğinde belirgin bir bükülme noktası gözlenmemiş, 1300 °C gibi yüksek bir sıcaklığa çıkıldığında numunede düşük bir

miktarda ağırlık kaybı (%1.31) gerçekleşmiştir (Şekil 4.2(a)). Bu durum, numunenin organik kısımlardan ve sudan yoksun olduğunu göstermektedir [86]. sCaP'nin DTA analizindeki 1124.7 ve 1151.4 °C'lerde endotermik pikler ortaya çıkmıştır (Şekil 4.2(b)).



Şekil 4.2 Saf sCaP tozlarının termal analizleri; (a) TGA, (b) DTA

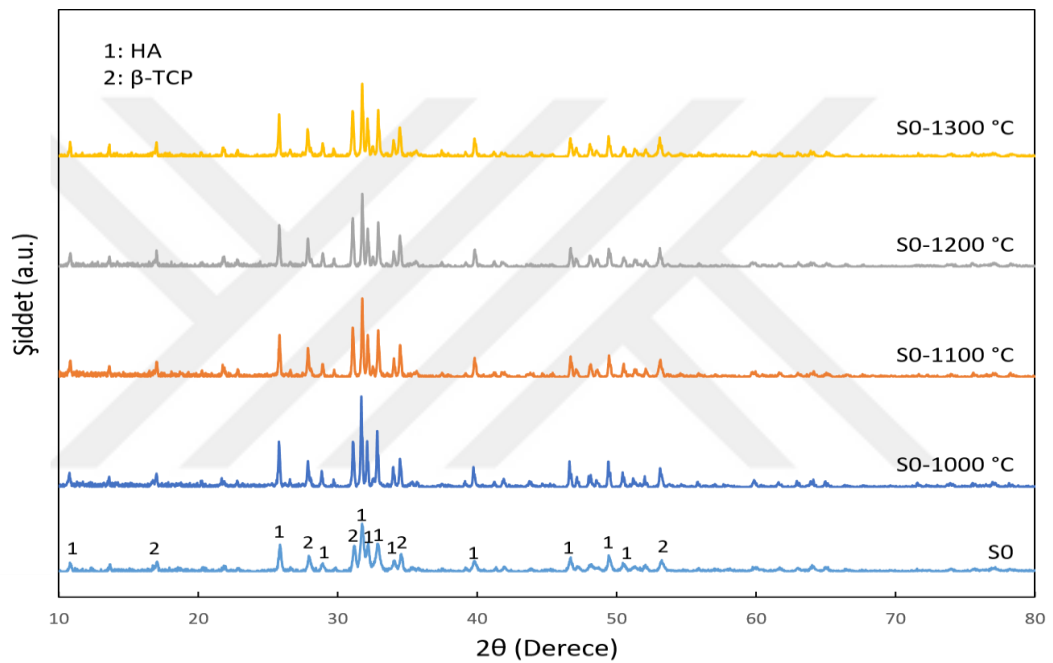
4.1.2 XRD Analizi

1000-1300 °C arası farklı sıcaklıklarda sinterlenen B₂O₃ katkısız S0 numunelerinin, %1 B₂O₃ katkılı S1, %2.5 B₂O₃ katkılı S2.5, %5 B₂O₃ katkılı S5, %7.5 B₂O₃ katkılı S7.5 ve %10 B₂O₃ katkılı S10 kompozitlerinin kristal yapısı XRD cihazı ile analiz edilmiş, oluşan kristalin fazlar Highscore Plus programında Rietveld analizi ile kantitatif olarak belirlenmiştir.

S0 Numunelerinin XRD analizi

Farklı sıcaklıklarda sinterlenen S0 tozlarının kristal faz analizleri, Şekil 4.3'te gösterildiği gibi XRD analizi ile gerçekleştirilmiştir. Sinterlenmemiş S0'ın XRD modelleri, tipik HA ve β -TCP'den oluşan CaP'lerin kristal yapısını göstermektedir. Sinterlenmemiş S0 tozu $2\theta=31.26^\circ$ ve 34.55° 'de TCP'nin, $2\theta=31.78^\circ$, 32.21° , 32.88° ve 34.06° 'de HA'nın keskin kırınım piklerine sahiptir ve S0 tozunun sinterlenmesiyle birlikte bu pikler keskinleşmiş ve kristallığı artmıştır (Şekil 4.3). Tablo 4.1'de, oluşan kristal fazların kantitatif analizi (JCPDS, Joint Committee on Powder Diffraction Standards, koduna göre) verilmiştir. Artan sinterleme

sıcaklığının HA'nın β -TCP'ye ayrışmasını teşvik etmesiyle β -TCP faz (JCPDS no: 98-007-6896) miktarı artarak 800-1300 °C'lik geniş bir sıcaklık aralığında kararlılığını sürdürmüş, HA faz miktarı ise artan sıcaklıkla birlikte azalmıştır. Sinterleme sıcaklığı 1300 °C'ye çıktığında, toz numunesi yüksek sıcaklıklarda HA ve β -TCP fazının bir karışımı haline gelmiştir [95]. S0 numunelerinin XRD verileri kalsine edilmiş ve sinterlenmiş balık kemiğinden BCP malzemeleri elde edilebileceğini göstermiştir. Yapılan çok sayıda çalışma incelendiğinde, somon kemiğinden elde edilen bileşime yakın, ticari olarak temin edilebilen BCP'ler vardır: %60 HA ve %40 β -TCP [96].



Şekil 4.3 S0 numunelerinin XRD analizi sonuçları

Tablo 4.1 S0 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi

	JCPDS kod	S0-1000 °C	S0-1100 °C	S0-1200 °C	S0-1300 °C
Hidroksiapatit (%)	98-007-7966	24.7			0.4
	98-005-2691	37.2			
	98-006-0425		59.0		
	98-004-9808			53.2	
	98-004-0602			1.1	
	98-005-2689				53.1
β -Trikalsiyum fosfat (%)	98-007-6896	38.1	41.0	45.6	46.5

Sinterlenmemiş S0 tozlarının partikül büyüklüğü, XRD analizindeki veriler kullanılarak Debye-Scherrer formülü (4.1) ile hesaplanmış [97] ve ortalama partikül

büyükliği 343 nm bulunmuştur (Şekil 4.4). DLS ile ölçülen partikül büyüklüğü ise 122 nm'dir. İki yöntemden elde edilen partikül büyüklüğünün farklı sonuçlar vermesi Debye-Scherrer formülündeki β değerinin otomatik bir programla değil göreceli olarak seçilmesiyle ilgili olabilir.

$$D = \frac{k \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad (4.1)$$

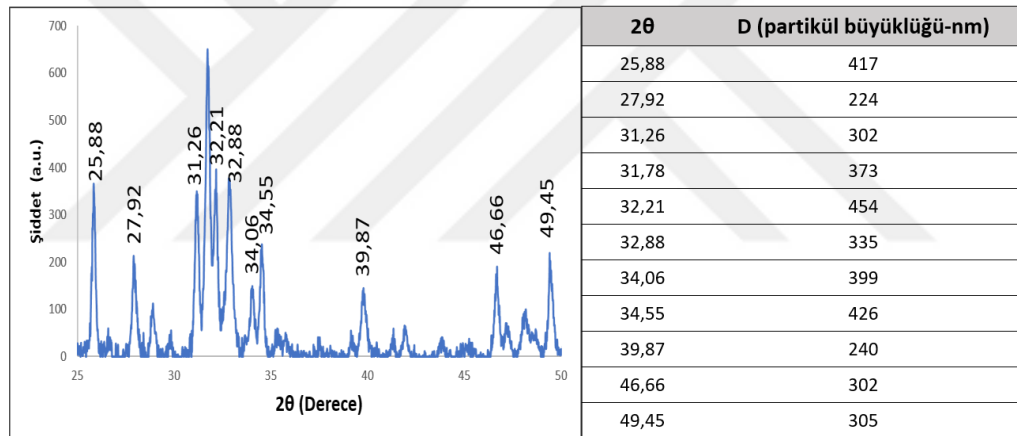
D = partikül büyüklüğü

k = 0.9

$\lambda = 1.54060 \text{ Å}$

β = maksimum noktanın yarısındaki tam genişlik (radyan)

θ = Bragg kırınım açısı (°) [97]



Şekil 4.4 Sinterlenmemiş S0 XRD-partikül büyüklüğü dağılımı

Kompozitlerin XRD Analizi

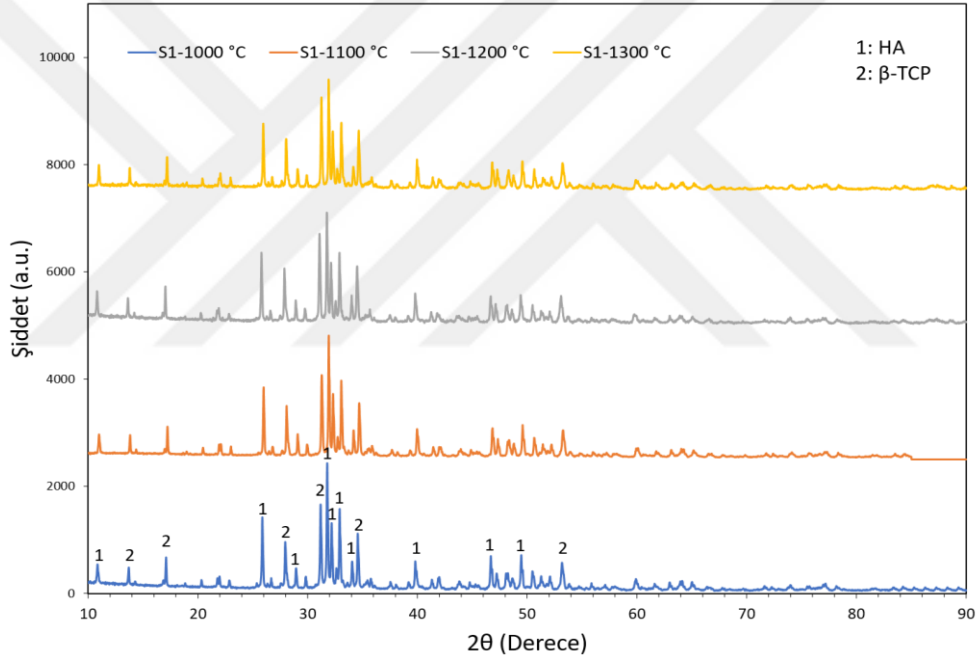
B₂O₃ katkılı 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen S1, S2.5, S5, S7.5 ve S10 kodlu kompozitlerin faz analizleri ve bu fazlara ait JCPDS kodların tayini XRD analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.5'te S1 kompozitlerinin XRD sonuçları gösterilmiş, Tablo 4.2'de ise kristal fazların JCPDS koduna göre oluşturulan kantitatif analiz sonuçları verilmiştir. S1 kompozitlerinde HA ve β -TCP ana fazlarının yanında dibor dikalsiyum oksit (JCPDS

no: 98-002-7293) ve dikalsiyum diborat (JCPDS no: 98-005-0551) fazları oluşmuştur.

Tablo 4.2 S1 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi

	JCPDS kod	S1-1000 °C	S1-1100 °C	S1-1200 °C	S1-1300 °C
Hidroksiapatit (%)	98-006-0429	58.7			
	98-005-9679		54.5		49.8
	98-007-7966			18.0	
	98-009-0247			34.9	
	98-008-8989				0.4
β -Tri-kalsiyum fosfat (%)	98-007-6896	39.8	45.5	45.9	49.8
Dibor dikalsiyum oksit (%)	98-002-7293	1.5			
Dikalsiyum diborat (%)	98-005-0551			1.1	

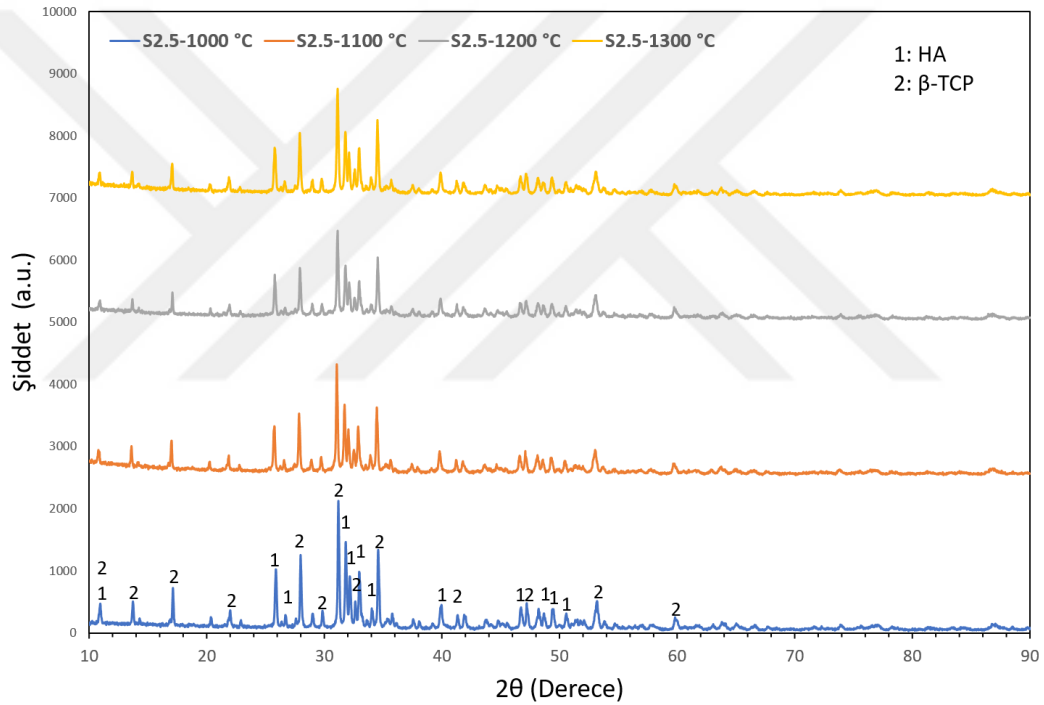


Şekil 4.5 S1 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları

Şekil 4.6'da S2.5 kompozitlerinin XRD sonuçları gösterilmiş, Tablo 4.3'te ise kristal fazların JCPDS koduna göre oluşturulan kantitatif analiz sonuçları verilmiştir. S2.5 kompozitlerinde HA ve β -TCP ana fazlarının yanında dibor dikalsiyum oksit (JCPDS no: 98-002-7293), dikalsiyum diborat (JCPDS no: 98-005-0551), priceite (JCPDS no: 98-006-7746) ve kalsiyum borofosfat (JCPDS no: 98-005-3319) fazları oluşmuştur.

Tablo 4.3 S2.5 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi

	JCPDS kod	S2.5-1000 °C	S2.5-1100 °C	S2.5-1200 °C	S2.5-1300 °C
Hidroksiapatit (%)	98-004-0618	53.0		16.2	
	98-004-9808		16.4		
	98-006-0430		21.9	25.6	
	98-001-2638		2.6		
	98-009-0498				33.7
β -Trikalsiyum fosfat (%)	98-007-6896	52.2	54.9	56.2	61.8
Dibor dikalsiyum oksit (%)	98-002-7293	1.6			
Dikalsiyum diborat (%)	98-005-0551		0.6		1.9
Priceite (%)	98-006-7746		1.2		2.6
Kalsiyum borofosfat (%)	98-005-3319		2.3	2.0	

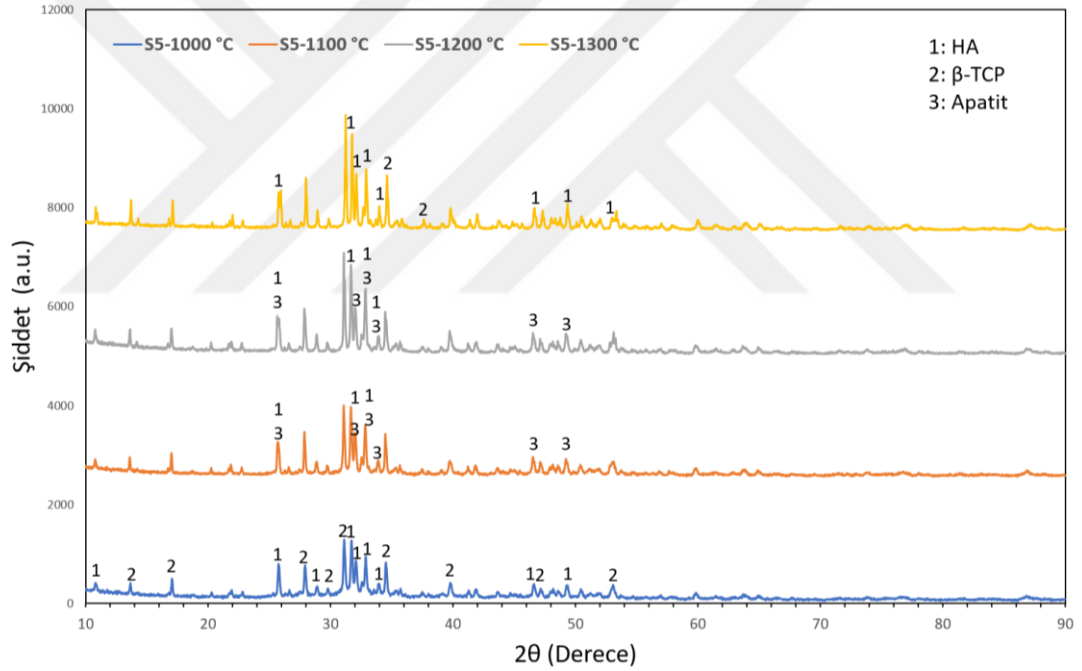


Şekil 4.6 S2.5 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları

Şekil 4.7’de S5 kompozitlerinin XRD sonuçları gösterilmiş, Tablo 4.4’te ise kristal fazların JCPDS koduna göre oluşturulan kantitatif analiz sonuçları verilmiştir. S5 kompozitlerinde HA ve β -TCP ana fazlarının yanında apatit (JCPDS no: 98-002-8098), dibor dikalsiyum oksit (JCPDS no: 98-002-7293), dikalsiyum diborat (JCPDS no: 98-005-0551), bor oksit (JCPDS no: 98-000-4220) ve kalsiyum heptaoksotetraborat (JCPDS no: 98-004-2661) fazları oluşmuştur.

Tablo 4.4 S5 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi

	JCPDS kod	S5-1000 °C	S5-1100 °C	S5-1200 °C	S5-1300 °C
Hidroksiapatit (%)	98-004-9808	30.1			
	98-006-0430	29.5			
	98-006-0431		12.5	0.5	
	98-007-7966				7.1
	98-006-0427				41.1
β -Trikalسيوم fosfat (%)	98-007-6896	39.1	44.8	44.9	46.6
Apatit (%)	98-002-8098		42.7	53.3	
Bor oksit (%)	98-000-4220	1.2			
Dibor dikalsiyum oksit (%)	98-002-7293			1.2	
Dikalsiyum diborat (%)	98-005-0551				2.1
Kalsiyum heptaoksotetraborat (%)	98-004-2661				3.1

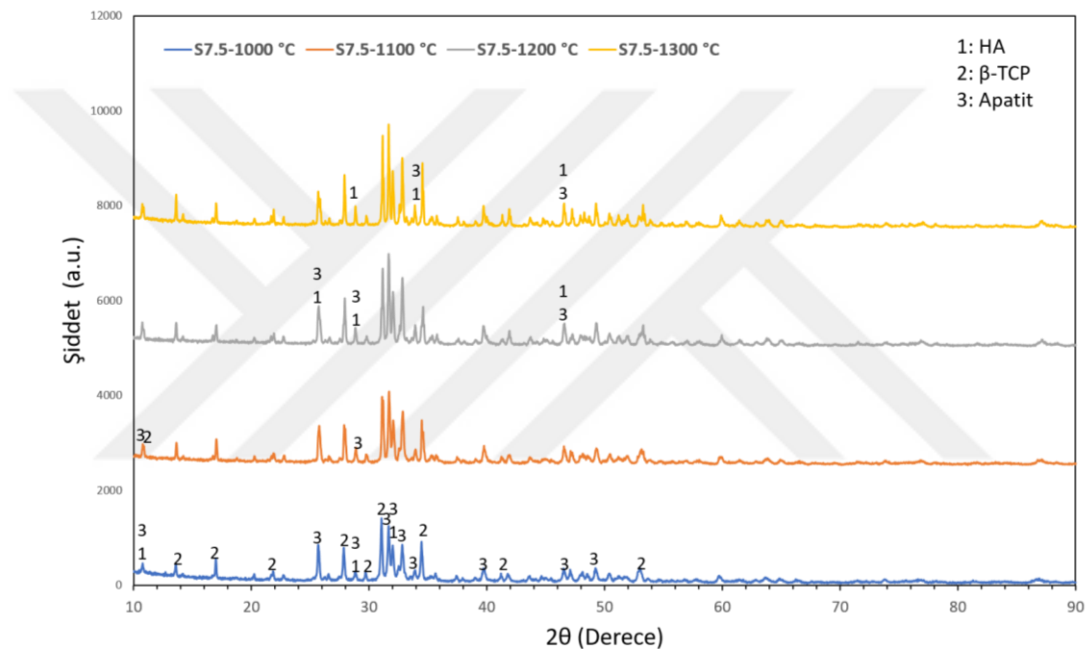


Şekil 4.7 S5 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları

Şekil 4.8’de S7.5 kompozitlerinin XRD sonuçları gösterilmiş, Tablo 4.5’te ise kristal fazların JCPDS koduna göre oluşturulan kantitatif analiz sonuçları verilmiştir. S7.5 kompozitlerinde HA ve β -TCP ana fazlarının yanında apatit (JCPDS no: 98-002-8098), dibor dikalsiyum oksit (JCPDS no: 98-002-7293), hegzahidraborit (JCPDS no: 98-001-7239) ve kalsiyum borofosfat (JCPDS no: 98-005-3319) fazları oluşmuştur.

Tablo 4.5 S7.5 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi

	JCPDS kod	S7.5-1000 °C	S7.5-1100 °C	S7.5-1200 °C	S7.5-1300 °C
Hidroksiapatit (%)	98-006-0431	7.1			
	98-006-0428			26.4	
	98-005-2689				14.0
β -Trikalsiyum fosfat (%)	98-007-6896	48.7	47.5	43.5	47.8
Apatit (%)	98-002-8098	43.0	51.4	29.6	38.2
Hegzahidraborit (%)	98-001-7239	1.0			
Kalsiyum borofosfat (%)	98-005-3319		1.1		
Dibor dikalsiyum oksit (%)	98-002-7293			0.4	

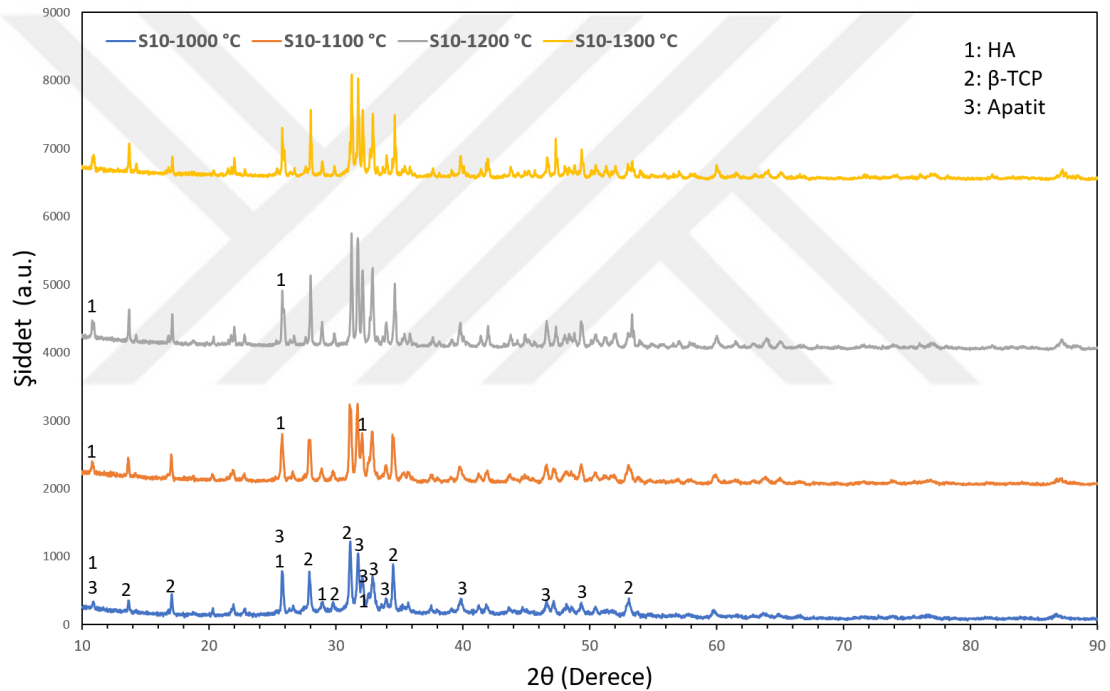


Şekil 4.8 S7.5 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları

Şekil 4.9’da S10 kompozitlerinin XRD sonuçları gösterilmiş, Tablo 4.6’da ise kristal fazların JCPDS koduna göre oluşturulan kantitatif analiz sonuçları verilmiştir. S10 kompozitlerinde HA ve β -TCP ana fazlarının yanında apatit (JCPDS no: 98-002-8098), dibor dikalsiyum oksit (JCPDS no: 98-002-7293), dikalsiyum difosfat (JCPDS no: 98-006-3525), takedaite (JCPDS no: 98-000-7940) ve kalsiyum borat (JCPDS no: 98-001-4333) fazları oluşmuştur.

Tablo 4.6 S10 kodlu numunelerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analizi

	JCPDS kod	S10-1000 °C	S10-1100 °C	S10-1200 °C	S10-1300 °C
Hidroksiapatit (%)	98-006-0431	24.8			
	98-004-0602		13.5		
	98-001-2609			22.9	
	98-008-0526				31.2
β -Trikalsiyum fosfat (%)	98-007-6896	44.8	50.4	45.3	49.4
Apatit (%)	98-002-8098	27.6	34.4	30.5	18.2
Dikalsiyum difosfat (%)	98-000-3525		1.7		
Dibor dikalsiyum oksit (%)	98-002-7293			1.3	
Kalsiyum borat	98-001-4333	2.8			
Takedaite (%)	98-000-7940				1.2



Şekil 4.9 S10 kompozitlerinin XRD analiz sonuçları

Farklı sıcaklıkta sinterlenen bütün kompozit gruplarının XRD analiz sonuçları incelendiğinde; HA ve β -TCP fazı tüm numunelerde ortak faz olup, farklı B_2O_3 katkı oranlarına bağlı olarak apatit, dibor dikalsiyum oksit, dikalsiyum diborat, bor oksit, pricite, kalsiyum heptaoksotetraborat, kalsiyum borat ve takedaite gibi fazların oluştuğu tespit edilmiştir. Yüksek sinterleme sıcaklıkları ve yapıya eklenen farklı malzemeler HA'nın TCP'ye ayrışmasını teşvik etmektedir [19]. Yapılan çalışmada artan sinterleme sıcaklığı ve artan B_2O_3 oranıyla HA β -TCP'ye ayrışmakta,

kompozitlerin JCPDS koduna göre oluşturulan kristal fazlarının kantitatif analiz tablolarında β -TCP oranı artarken HA oranının azaldığı görülmektedir. Kompozitlerde β -TCP'nin en şiddetli pikleri $2\theta = 31.06^\circ$ - 31.26° aralığında, HA'nın en şiddetli pikleri ise $2\theta = 31.69^\circ$ - 31.90° aralığındadır ve B_2O_3 ilavesiyle piklerde kayma meydana gelmiştir [12].

Kompozit gruplarının kristal fazları kantitatif olarak karşılaştırıldığında S2.5 kompozitlerinin yüksek β -TCP oranına sahip olduğu görülmektedir. Şekil 4.6'da β -TCP fazının HA'dan daha yüksek şiddete sahip olması da bu durumu desteklemektedir. β -TCP'nin bozunma hızının HA'dan yüksek olması [80], diğer kompozit gruplarından daha yüksek β -TCP/HA oranına sahip olan S2.5 kompozitlerinin daha hızlı bir bozunma gerçekleştirebileceğini düşündürmektedir.

HA'nın özelliklerini geliştirmek için HA kafesindeki Ca^{+2} , fosfat (PO_4^{3-}) veya hidroksil (OH^-) iyonlarının yerine geçebilecek farklı katyonlar ve anyonlar kullanılmaktadır. B_2O_3 , düşük erime noktasına ($450^\circ C$) sahiptir, yüksek sıcaklıklarda sinterlendiğinde buhar haline gelir ve HA'nın tane sınırına girebilir [12]. Ternane ve ark. [98] katı hal yöntemiyle sentezledikleri B katkılı Ca-B-apatit yapılarında, BO_3^- ve BO_2^- gibi borat gruplarının kısmen PO_4^{3-} ve OH^- gruplarının yerine geçebileceğini belirtmiştir. Barheine ve ark. [99] yüksek sıcaklıkta katı hal reaksiyonu ile hazırlanan borat içeren kalsiyum fosfat çalışmasında, OH^- yerine doğrusal BO_2^- grubu dahil edilirse, yeni yapının "karakter olarak apatit" olduğunu belirtmiştir. Tez çalışmasında, B_2O_3 katkısının nispeten düşük olduğu S1 ve S2.5 kompozit gruplarında açıklanan apatit fazına rastlanmazken (Tablo 4.2, 4.3), daha yüksek oranda B_2O_3 içeren S5, S.75 ve S10 kompozitlerinin JCPDS koduna göre oluşturulan kantitatif faz analizlerinde HA ve β -TCP'nin yanı sıra yüksek oranda apatit fazı ortaya çıkmaktadır (Tablo 4.4, 4.5, 4.6). Analiz sonucunda ortaya çıkan apatit (JCPDS no: 98-002-8098) fazının kimyasal bileşimindeki B'nin varlığı (borapatit), B atomunun kristal yapıya dahil olduğunu göstermektedir. Artan B_2O_3 miktarıyla HA'nın bir kısmı TCP'ye ayrışırken bir kısmı da borapatit bir yapı meydana getirmiştir. Benzer şekilde Yang ve ark. [12], katı-hal yöntemi ile HA ve B_2O_3 tozlarını karıştırarak elde ettikleri kompozit yapılarda ağırlık %5'in üzerindeki B_2O_3 miktarının HA'nın termal ayrışma oranını artırdığını tespit etmiştir.

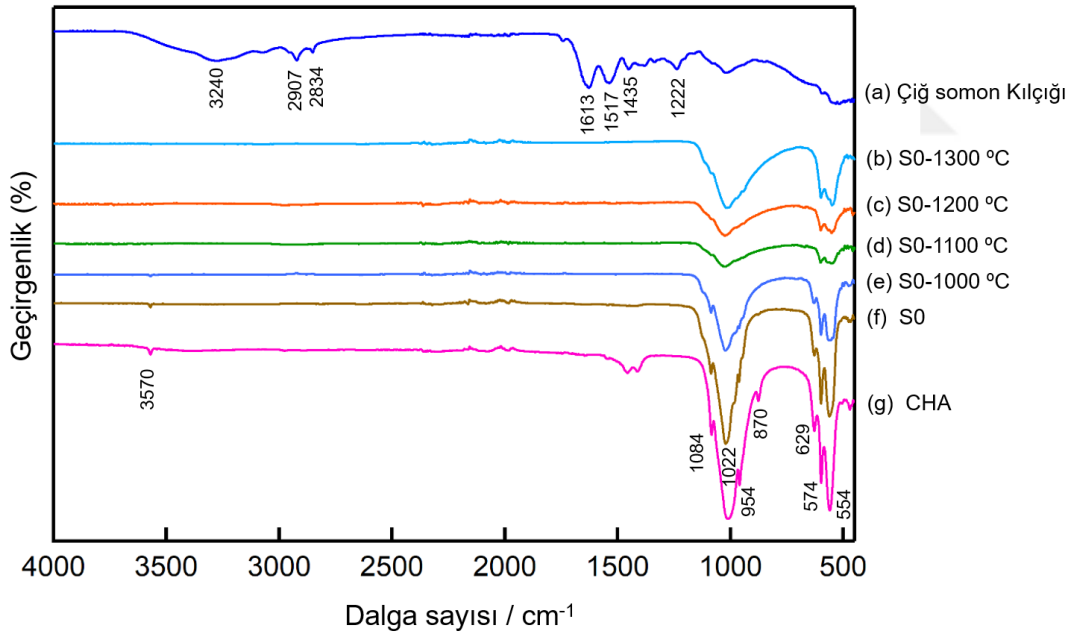
S5, S7.5 ve S10 kompozitlerinin XRD grafiklerinde bazı fazlar, piklerinin çakışması nedeniyle ayırt edilememiş ve ikili numaralandırma ile gösterilmiştir (Şekil 4.7, 4.8, 4.9). S0 numunelerinde sinterleme sıcaklığı arttıkça daha az faz oluşurken, kompozitlerde B₂O₃ katkısı arttıkça yeni fazların oluştuğu gözlenmiştir.

4.1.3 FTIR Analizi

1000-1300 °C arası farklı sıcaklıklarda sinterlenen B₂O₃ katkısız S0 numunelerinin, %1 B₂O₃ katkılı S1, %2.5 B₂O₃ katkılı S2.5, %5 B₂O₃ katkılı S5, %7.5 B₂O₃ katkılı S7.5 ve %10 B₂O₃ katkılı S10 kompozitlerinin kimyasal bağ yapıları FTIR cihazı ile analiz edilmiştir.

S0 Numunelerinin FTIR Analizi

Şekil 4.10, işlem görmemiş çiğ somon balık kemiği (kılçığı), S0, S0-1000 °C, S0-1100 °C, S0-1200 °C, S0-1300 °C ve ticari HA'nın (CHA) FTIR spektrumlarını göstermektedir.



Şekil 4.10 FTIR spektrumları; (a) çiğ somon kemiği, (b) S0-1300 °C, (c) S0-1200 °C, (d) S0-1100 °C, (e) S0-1000 °C, (f) 800 °C'de kalsine edilmiş S0 ve (g) CHA

İşlem görmemiş çiğ somon balık kemiği bünyesindeki organikler ve mineraller nedeniyle diğerlerinden oldukça farklı FTIR spektrumlarına sahiptir (Şekil 4.10(a)). Çiğ somon kemiğindeki protein yapısından kaynaklanan amid A ve hidroksil (OH⁻)

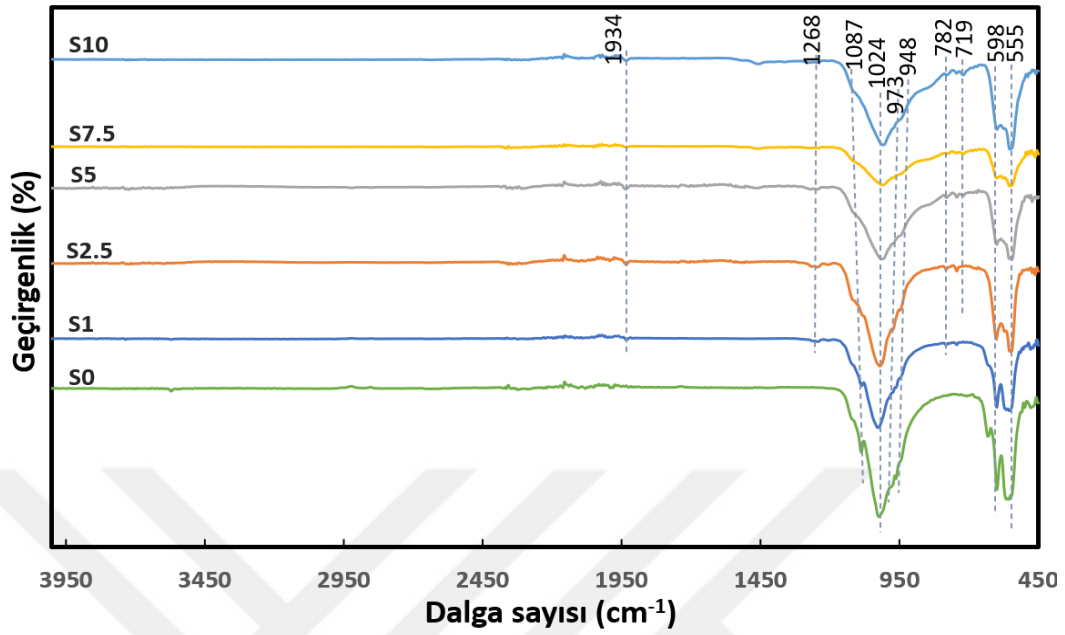
gerilme titreşimleri 3000 cm^{-1} - 3400 cm^{-1} bant aralığında görülmektedir. 2907 cm^{-1} ve 2834 cm^{-1} 'deki bantlar fosfolipid gruplarında CH_2 , CH_3 'ün simetrik ve asimetrik titreşimlerine karşılık gelmektedir. 1613 cm^{-1} 'de amid I ve 1517 cm^{-1} 'de amid II ve 1222 cm^{-1} 'de amid III tepe noktaları kılçıktaki protein yapısını göstermektedir [100]. Çiğ balık kemiklerindeki bu bantlar, kolajen, protein ve yağ gibi karakteristik fonksiyonel organik grupları göstermektedir. Somon kemiklerinin $800\text{ }^\circ\text{C}$ 'de kalsine edilmesinden sonra (S0 numunesi) organik içerikle ilgili piklerin kaybolması, organik maddenin kalsinasyon yöntemi ile kemikten atıldığını göstermektedir [101].

S0 numunelerinin FTIR spektrumları, tipik fosfat (PO_4^{3-}) ve hidroksil (OH^-) karbonat (CO_3^{2-}) iyonlarının varlığını göstermektedir. 3570 cm^{-1} ve 629 cm^{-1} 'deki soğurma bantları, sırasıyla OH^- 'in esnek titreşim tepe noktasına (ν_p) ve salınım titreşim tepe noktasına (ν_s) karşılık gelmekte, sinterleme sıcaklığı arttıkça OH^- bantlarının kaybolduğu görülmektedir [102]. 870 cm^{-1} 'deki bant CO_3^{2-} 'a karşılık gelmekte ve sıcaklık arttıkça azalmaktadır. Teorik olarak PO_4^{3-} iyonlarında ν_1 (simetrik gerilme), ν_2 (simetrik bükülme), ν_3 (asimetrik gerilme) ve ν_4 (asimetrik bükülme) olmak üzere dört farklı titreşimsel mod bulunmaktadır. 554 cm^{-1} ve 574 cm^{-1} 'de yüksek çözünürlüklü çift bant grubu, dört yüzlü apatit yapısına özgü PO_4^{3-} gruplarının ν_4 moduna; 1084 cm^{-1} , 1022 cm^{-1} 'de ortaya çıkan bantlar ise dört yüzlü apatit yapısına özgü PO_4^{3-} gruplarının ν_3 moduna karşılık gelmektedir [103]. 954 cm^{-1} 'de görülmekte olan bant β -TCP'nin PO_4^{3-} (ν_1) moduna karşılık gelmektedir [76]. FTIR spektrumlarında ve XRD analizinde orta çıkan HA ve β -TCP, S0 numunelerinde BCP yapının oluştuğunu göstermektedir.

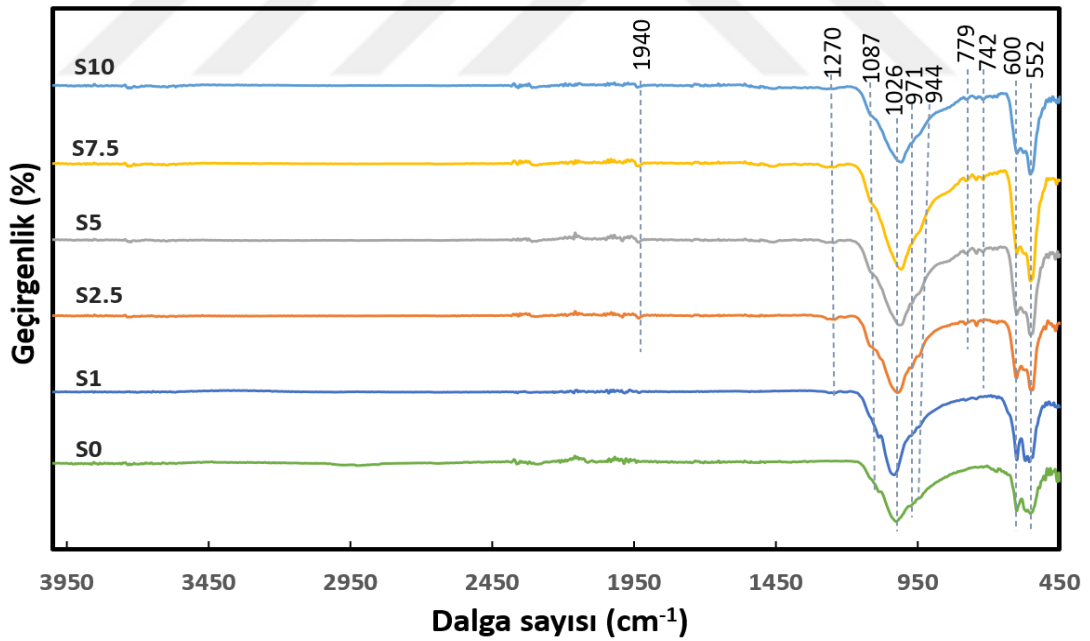
Kompozitlerin FTIR Analizi

Farklı oranlarda B_2O_3 kullanılarak oluşturulan sCaP- B_2O_3 kompozitlerinin sinterleme sonrası fonksiyonel gruplarını belirlemek amacıyla FTIR analizleri yapılmıştır. Şekil 4.11, $1000\text{ }^\circ\text{C}$ 'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analiz sonuçlarını; Şekil 4.12, $1100\text{ }^\circ\text{C}$ 'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analiz sonuçlarını; Şekil 4.13, $1200\text{ }^\circ\text{C}$ 'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analiz sonuçlarını ve Şekil 4.14, $1300\text{ }^\circ\text{C}$ 'de sinterlenen kompozitlerin FTIR analiz sonuçlarını

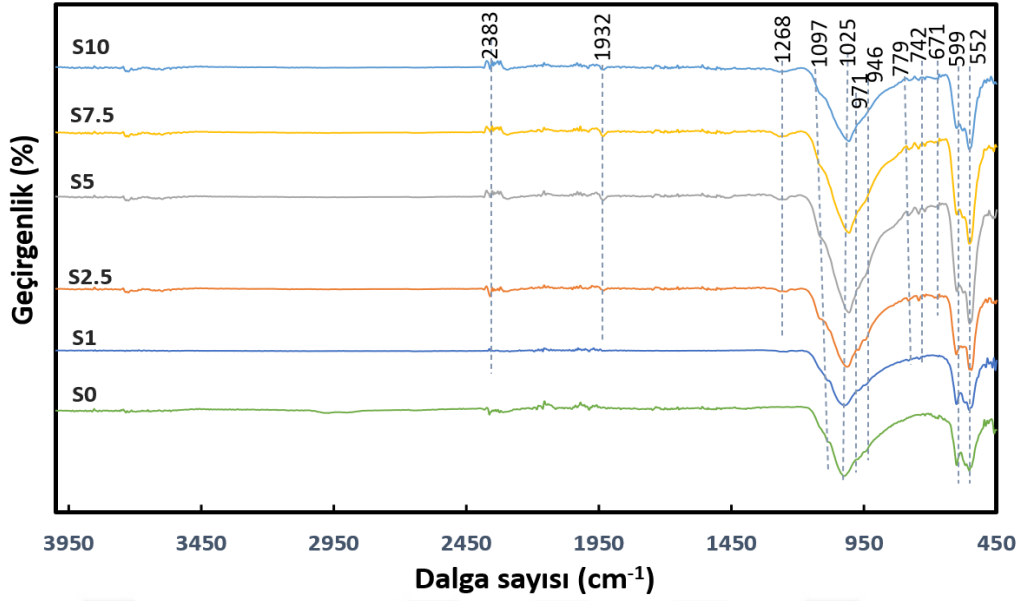
göstermektedir. Karşılaştırma yapmak amacıyla S0 numunelerinin FTIR spektrumları da grafiklere eklenmiştir.



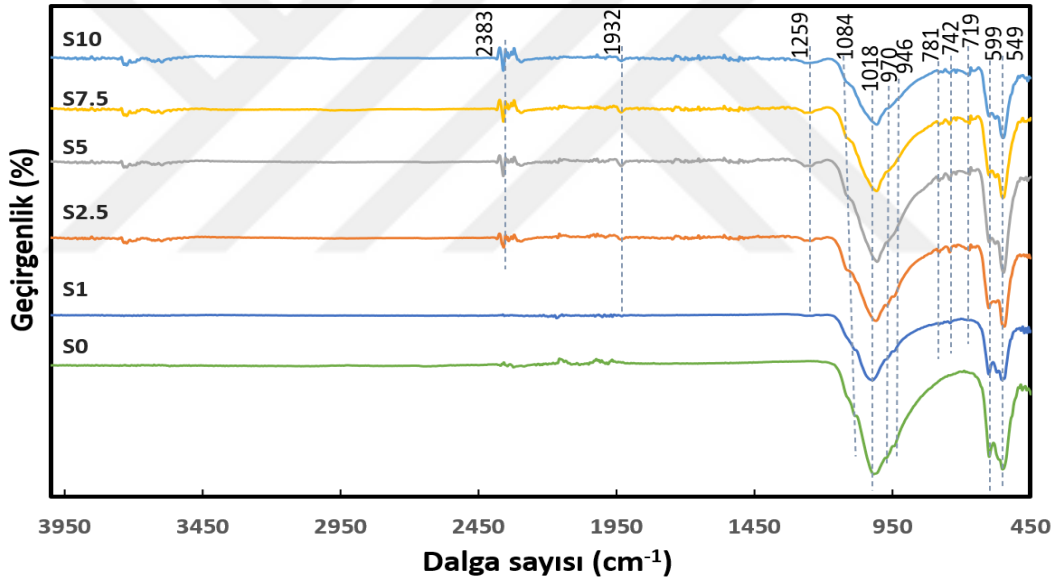
Şekil 4.11 1000 °C’de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri



Şekil 4.12 1100 °C’de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri



Şekil 4.13 1200 °C’de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri



Şekil 4.14 1300 °C’de sinterlenen kompozitlerin FTIR analizleri

Farklı sinterleme sıcaklığındaki kompozit gruplarının FTIR spektrumlarında 600, 599, 598, 555, 552 ve 549 cm^{-1} ’de ortaya çıkan absorpsiyon bantları apatit yapısına özgü PO_4^{3-} gruplarının ν_2 moduna; 1097, 1087, 1084 cm^{-1} ’de ortaya çıkan orta zayıflıkta ve 1026, 1025, 1024 ve 1018 cm^{-1} ’de ortaya çıkan belirgin bantlar ise apatit yapısına özgü PO_4^{3-} gruplarının ν_3 moduna; 973, 971, 970, 948, 946 ve 944 cm^{-1} ’de görülen emme bantları ise β -TCP yapısına ait PO_4^{3-} gruplarının ν_1 moduna karşılık gelmektedir [103]. B_2O_3 ilavesiyle, PO_4^{3-} piklerinin pozisyonunda hafif

kaymalar meydana gelmiştir. Farklı oranlarda B_2O_3 içeren kompozitlerin FTIR spektrumları karşılaştırıldığında, β -TCP yapısına ait PO_4^{3-} gruplarının S2.5 kompozitlerinde daha belirgin olduğu dikkat çekmektedir. XRD analiz sonuçlarında da S2.5 kompozitlerinin en yüksek β -TCP faz oranına sahip olması FTIR spektrumlarında ortaya çıkan bu durumu desteklemektedir.

Literatürdeki B_2O_3 FTIR spektrumlarında, 700 cm^{-1} civarında gözlenen absorpsiyon bantları borat (bor-oksijen bileşikleri) şebekesindeki B-O-B bağlantılarının bükülmesinden; $800\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ arasındaki bantlar tetrahedral BO_4 birimlerinin B-O bağının gerilmesinden; $1200\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ 'de meydana gelen bant grubu trigonal BO_3 birimlerinin B-O bandının asimetric gerilme gevşemesinden kaynaklanmakta ve 2258 cm^{-1} 'de B-H modu bulunmaktadır. Bundan sonra ortaya çıkan bantlar ise su gruplarının varlığına atfedilmektedir [104], [105], [106], [107].

Literatürde borat ve fosfat bileşikleri ile ilgili FTIR çalışmaları olmasına rağmen, borapatitler üzerine yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Tablo 4.7'de borapatitlerin FTIR bant atamaları verilmektedir.

Tablo 4.7 $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki borapatit için FTIR bantlarının atamaları [108], [109]

Fonksiyonel grup	Titreşim modu	Kızılötesi dalga sayısı (cm^{-1})
PO_4^{3-}	ν_1	962
PO_4^{3-}	ν_2	474
PO_4^{3-}	ν_3	1017, 1044, 1090
PO_4^{3-}	ν_4	571, 602
OH^-	ν_p	630
OH^-	ν_s	3572
BO_2	ν_3	2002, 1932
BO_3	ν_3	1304, 1252, 1208
BO_3	ν_2	784, 772, 755

Kompozitlerin FTIR spektrumunda, CaP bileşiklerine ait karakteristik piklerin yanı sıra borat gruplarının titreşimleriyle ilgili olarak BO_2 ve BO_3 piklerine rastlanılmıştır. Artan sinterleme sıcaklığı ve B_2O_3 miktarıyla 1932, 1934 ve 1940 cm^{-1} 'de doğrusal BO_2 grubunun B-O asimetric gerilmesi ile ilgili olan zayıf tepeler gözlenmektedir [98], [108]. BO_3 gruplarına ait pikler $1270, 1268, 1259\text{ cm}^{-1}$ ν_3

modunda ve 781, 779, 742, 719, 671 cm^{-1} 'de ν_2 modunda görülmektedir [108], [110], [14].

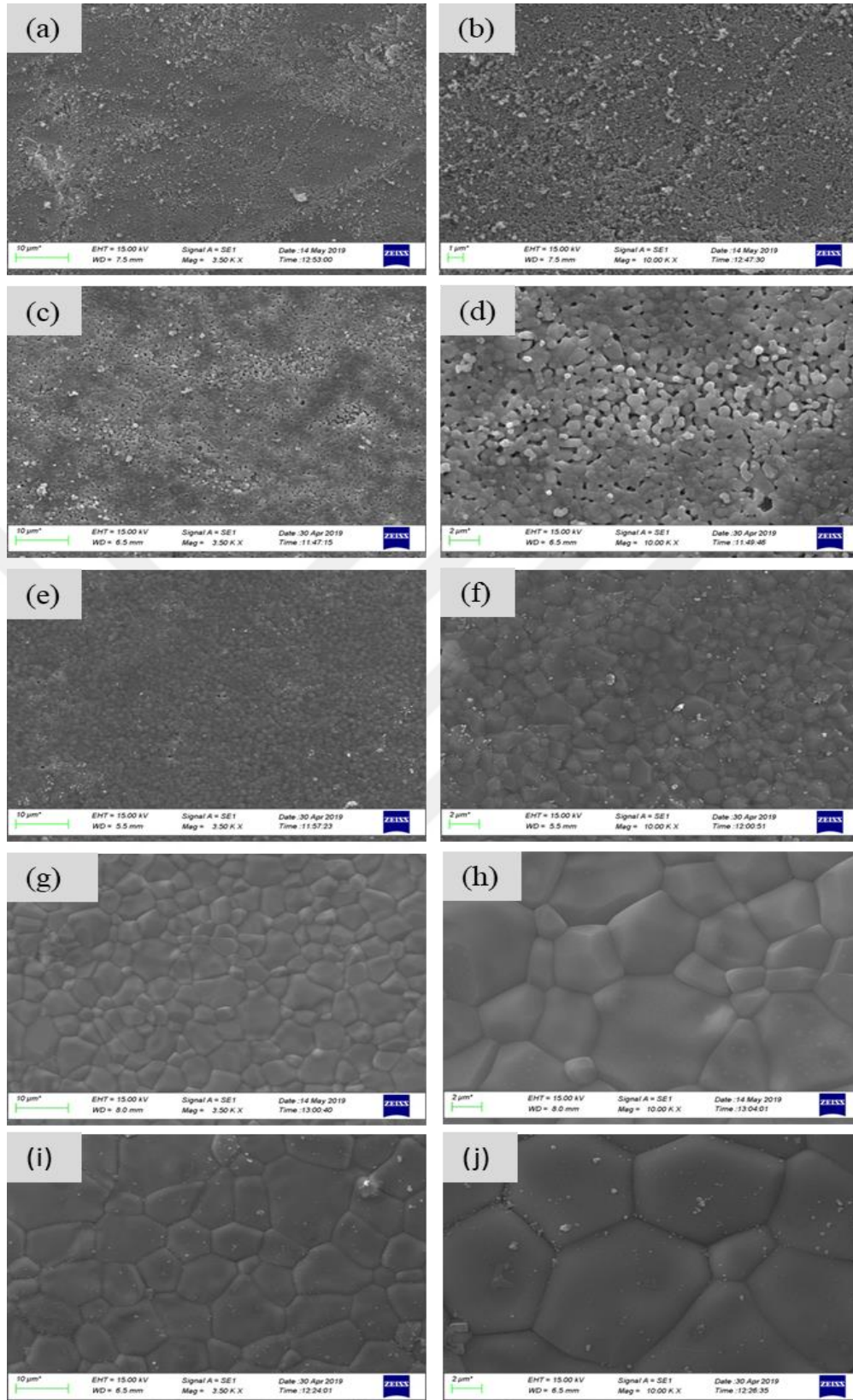
Gautam ve ark. [111] borat camları üzerine yaptığı çalışmada, 850-1200 cm^{-1} aralığında BO_4 gruplarına ait piklere rastlamış, fakat tez çalışmasında BO_4 grupları ile apatit yapısına ait PO_4^{3-} gruplarının aynı aralığa denk gelmesi nedeniyle BO_4 gruplarının varlığı ayırt edilememiştir. FTIR analizi sonucunda kompozitlerde görünen BO_2 ve BO_3 gruplarına ait pikler, yapıda B bulunduğunu kanıtlar niteliktedir. Artan B_2O_3 içeriği ve sinterleme sıcakları ile borat gruplarına ait bantlar belirgin hale gelmiştir.

4.1.4 SEM-EDS Analizi

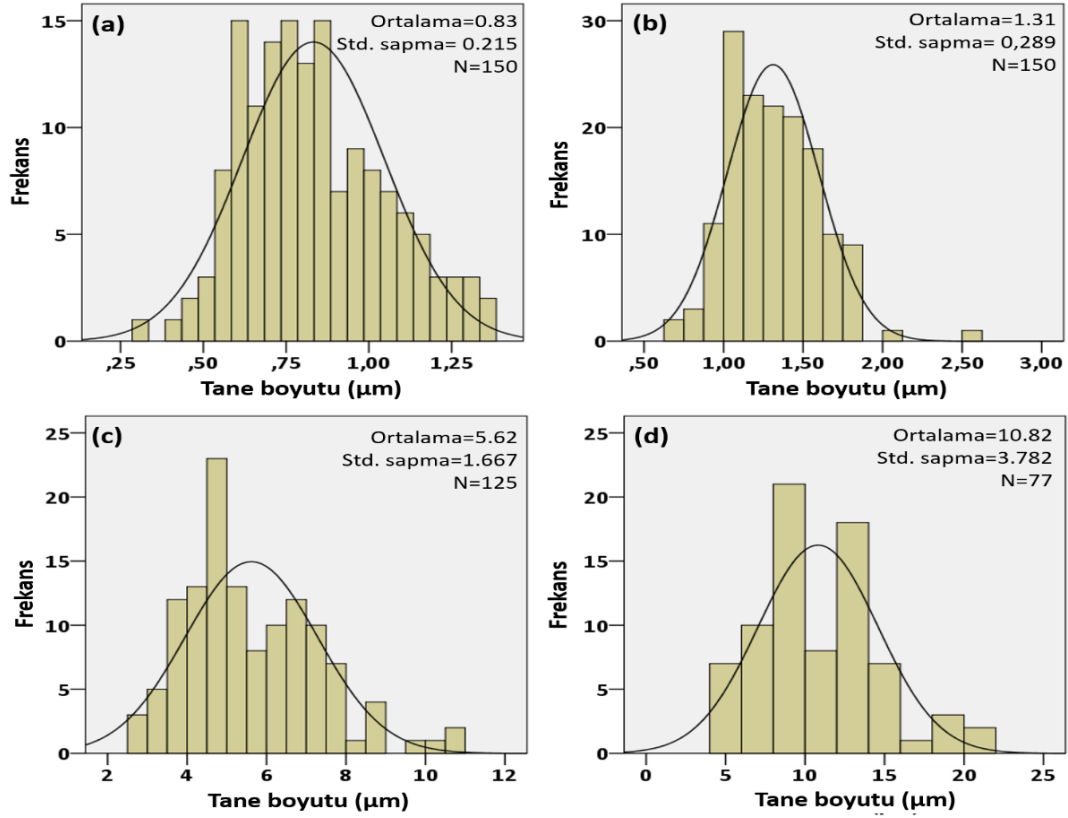
1000-1300 $^{\circ}\text{C}$ arası sıcaklıklarda sinterlenen B_2O_3 katkısız S0 numunelerinin ve %10 B_2O_3 katkılı S10 kompozitlerinin SEM-EDS incelemesi yapılmıştır.

S0 Numunelerinin SEM-EDS Analizi

Şekil 4.15'te farklı sıcaklıklarda sinterlenmiş S0 numunelerin SEM görüntüleri verilmiştir. 800 $^{\circ}\text{C}$ 'den 1300 $^{\circ}\text{C}$ 'ye sıcaklık artışıyla sinterlenmiş numunelerin tane boyutlarında değişiklikler gözlenmiştir. Nispeten düşük sıcaklıklarda (800 $^{\circ}\text{C}$ ve 1000 $^{\circ}\text{C}$) taneler arası gözeneklilik açıkça görülmektedir (Şekil 4.15(a-d)). Artan sinterleme sıcaklığıyla birlikte S0 numunerindeki taneler arası gözeneklilik azalmış, taneler bir araya gelerek daha büyük tanelerin oluşmasına sebep olmuştur (Şekil 4.15(e-j)). 1200 ve 1300 $^{\circ}\text{C}$ gibi yüksek sinterleme sıcaklıkları yoğunlaşmayı artırarak anormal tane büyümelerine neden olmuştur [74]. 1200 ve 1300 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarda sinterlenen numunelerin ortalama tane boyutu (sırasıyla 5.62 μm , 10.82 μm) 1100 $^{\circ}\text{C}$ 'de sinterlenen numunelerden (1.31 μm) daha büyüktür (Şekil 4.16). Ortalama tane boyutu Olympus AnalySIS programı kullanılarak ölçülmüştür. Genel olarak yüksek kristallik, düşük gözeneklilik ve küçük partikül boyutları malzemenin mekanik özelliklerini artırmaktadır [112]. Bu ifade, 1100 $^{\circ}\text{C}$ 'de sinterlenen numunelerde en yüksek basma dayanımı ve mikrosertliğin elde edilmesine de açıklık getirmektedir.



Şekil 4.15 Farklı sinterleme sıcaklıklarında S0 numunelerinin SEM görüntüleri; (a,b) 800 °C, (c,d) 1000 °C, (e,f) 1100 °C, (g,h) 1200 °C ve (i,j) 1300 °C



Şekil 4.16 Tane boyutu dağılım grafiği: (a) S0-1000 °C, (b) S0-1100 °C, (c) S0-1200 °C ve (d) S0-1300 °C

S0 numunelerinin EDS analizi, her bir sinterleme grubundaki numunelerin yüzeyinden rastgele 5 bölge seçilerek gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.8'de, EDS analiz sonuçları ağırlıklı olarak Ca, P, O ve eser miktarda Mg içermektedir, Mg varlığı CaP seramikleri için önemlidir. EDS'in saptama sınırında görülen Nb, Hg ve Au gibi bazı eser elementlerin de yapıda mevcut olduğu varsayılabilir. Kemiklerin çok sayıda eser element barındırma eğiliminde olduğu bilinmektedir, bunların bazıları faydalı (Zn, Li, Sr, vb.) bazıları ise toksiktir (As, Hg, Pb, vb.). Goto ve Sasaki [113], HA'nın özelliklerinin balığın doğasına bağlı olduğunu belirtmektedir. Literatürde balık kılçığında ağır metaller bulunabildiği söylenmektedir [114]. Bu sebeple, balıktan türetilen CaP'deki eser elementleri dikkatlice analiz etmek önemlidir. Somon balığı kemiğinde bulunan bazı eser elementlerle birlikte Mg^{2+} 'nin varlığı istenen osteojenik özelliklerin iyileştirilmesi için önemlidir [115].

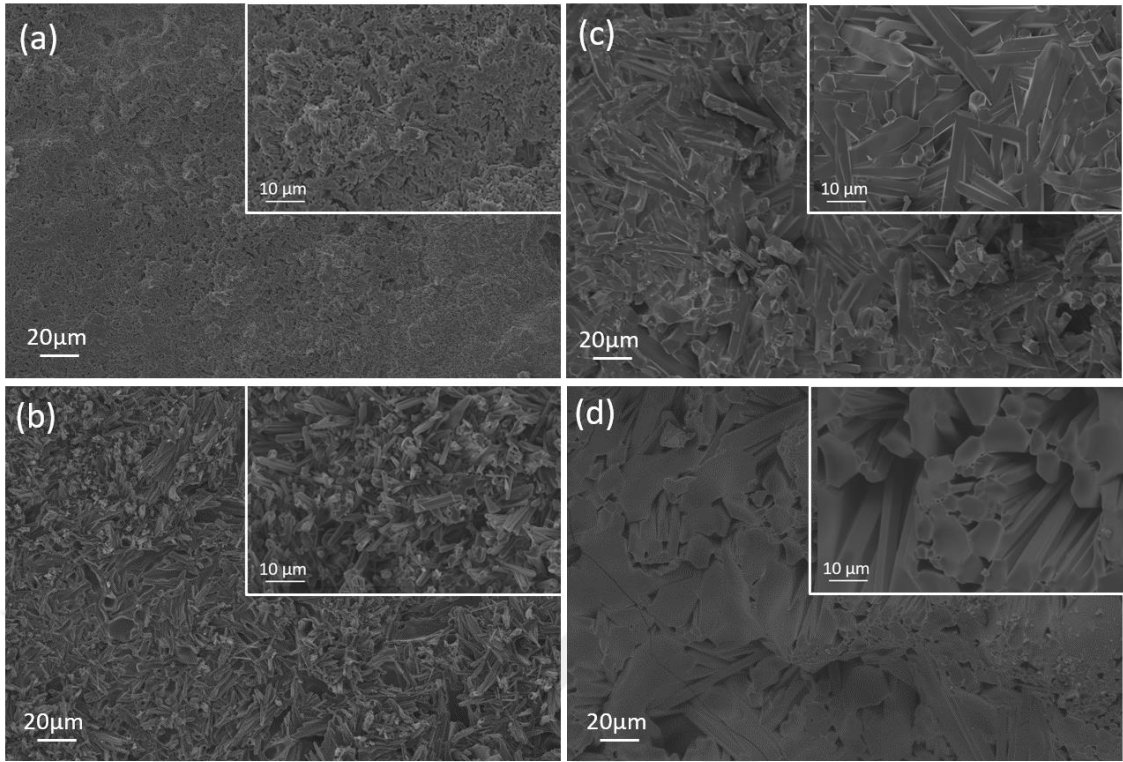
Tablo 4.8 S0 numunelerinin EDS analizi sonucu

Sinterleme sıcaklığı (°C)	Element bileşimi (atomik %)				
	Ca	O	P	Mg	Ca/P oranı
800	28.68	52.41	17.58	1.50	1.63
1000	37.12	51.14	21.40	1.58	1.73
1100	35.86	60.28	21.41	1.60	1.67
1200	27.71	50.73	18.19	1.72	1.52
1300	30.05	48.18	19.65	1.93	1.52

1100 °C'de sinterlenen numunelerin ortalama Ca/P oranı, HA'nın stokiometrik Ca/P oranı olan 1.67'ye karşılık gelmektedir. Farklı elementlerin tepe noktalarının üst üste binmesi ihtimali nedeniyle elde edilen Ca/P oranları yaklaşık değerlerdir [76]. EDS'nin analizinin numuneleri mikroskobik düzeyde incelemesi nedeniyle beklenen değerler arasında bazı sapmalar veya tutarsızlıklar olabilmektedir [95]. XRD analizine göre sinterleme sıcaklığı arttıkça HA'nın kısmi ayrışmasıyla oluşan TCP nedeniyle Ca/P oranı azalmaktadır. Ca/P oranının 1.52'ye düşmesi daha düşük mekanik özelliklere yol açmaktadır. EDS sonuçlarının XRD ile özellikle mekanik özelliklerle tutarlı olduğunu belirtmek de önemlidir. Elde edilen sonuçlardan, 1100 °C'de sinterlemenin kompakt bir seramik bloğu sağlamak için yeterince iyi olduğuna ve bu sıcaklıkta numunenin stokiometrinin biraz üzerinde bir Ca/P oranına sahip sonucuna varılmıştır.

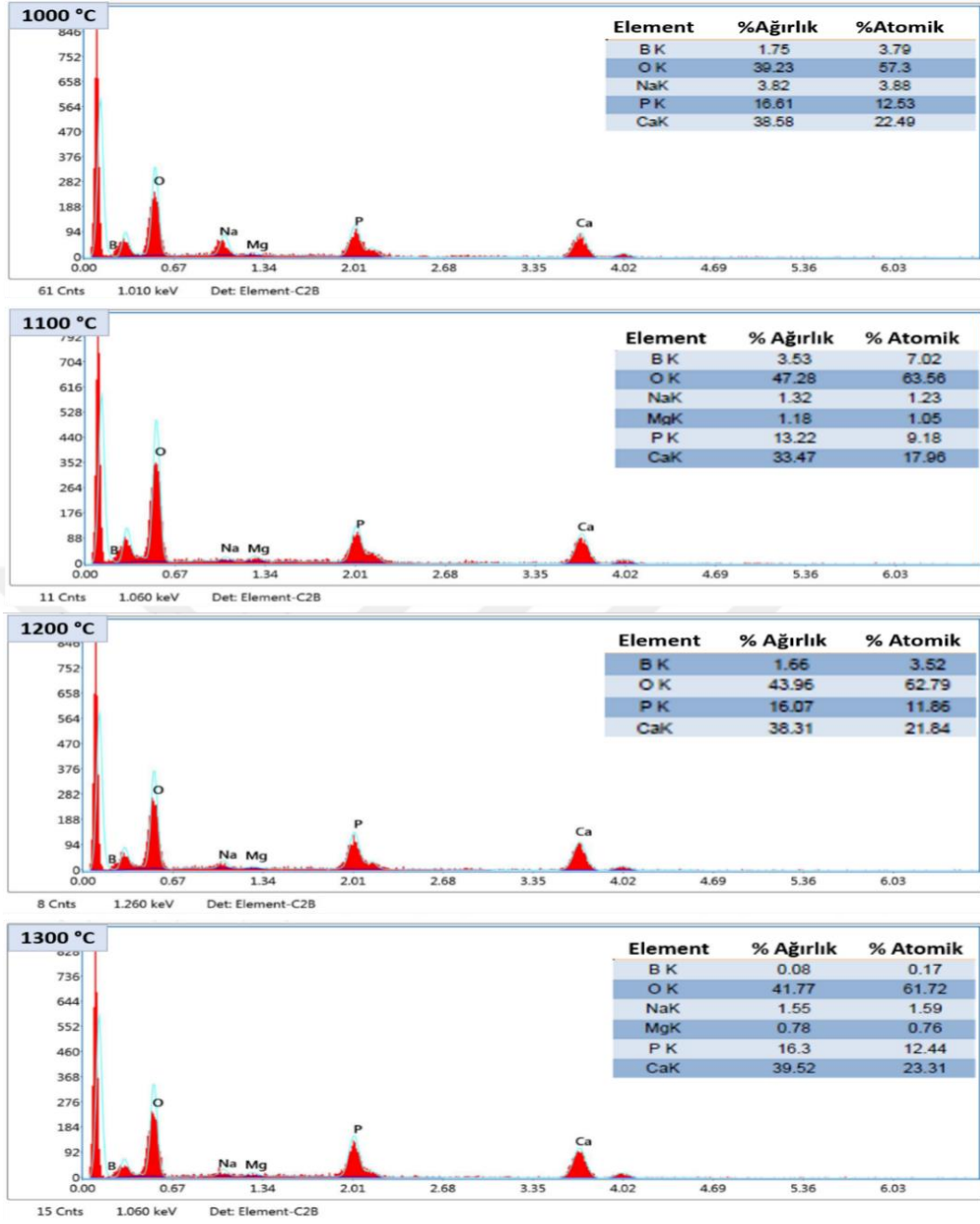
Kompozitlerin SEM-EDS Analizi

Şekil 4.17, 1000 °C-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen en yüksek B₂O₃ katkılı (S10) kompozitlerin farklı büyütme ölçeklerindeki SEM görüntülerini göstermektedir. Katkısız S0 partiküllerin SEM görüntüleri daha küresel bir yapı gösterirken; %10 B₂O₃ katkılı kompozitlerin SEM görüntüleri, B₂O₃'ün yüksek sıcaklıklarda buharlaşması sonucu daha gözenekli ve iğnemsî bir yapı oluşturması nedeniyle saf numunelerden farklıdır. 1000, 1100 °C'deki S10 kompozitlerinin SEM görüntüsünde daha homojen bir dağılım varken, 1200 ve 1300 °C'de tane büyümesi meydana gelmiş ve düzensiz çubuk şeklinde yapılar oluşmuştur.



Şekil 4.17 S10 kodlu kompozitlerin SEM görüntüleri: (a) S10-1000 °C, (b) S10-1100 °C, (c) S10-1200 °C, (d) S10-1300 °C (büyük görüntü 1000X, küçük görüntü 3500X büyütme)

Şekil 4.18, S10 kompozitlerinin EDS analizi sonucunu göstermektedir. EDS analizi her bir sinterleme sıcaklığındaki S10 kompozitlerinin yüzeyinden rastgele 5 bölge seçilerek gerçekleştirilmiş ve ortalama Ca/P değerleri alınmıştır. S10 kompozitlerinin EDS analizinde CaP'nin temel bileşeni olan Ca, P ve O'nun yanı sıra düşük miktarda Na, Mg ve B₂O₃ içeriği ile ilgili olarak B elementi bulunmuştur. Düşük oranlardaki ortaya çıkan Na, balık kemiğinin kendisinden veya sCaP'nin elde edilme aşamasındaki balık kemiğinin NaOH ile muamele edilmesinden kaynaklanmış olabilir. 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen S10 kompozitlerinin ortalama Ca/P oranı sırasıyla 1.78, 2.01, 1.84, 1.84 olarak elde edilmiştir.



Şekil 4.18 S10 kodlu kompozitlerin EDS analizi sonuçları

4.1.5 Mekanik Özelliklerin Analizi

1000-1300 °C arası farklı sıcaklıklarda sinterlenen B₂O₃ katkısız S0 numunelerinin, %1 B₂O₃ katkılı S1, %2.5 B₂O₃ katkılı S2.5, %5 B₂O₃ katkılı S5, %7.5 B₂O₃ katkılı S7.5 ve %10 B₂O₃ katkılı S10 kompozitlerinin mekanik özellikleri incelenmiştir.

S0 Numunelerinin Mekanik Özellik Analizi

CaP esaslı numunelerde daha yoğun ve daha mukavemetli yapı elde edebilmek için pelet halindeki numuneler 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiştir. Tablo 4.9'da farklı sıcaklıklarda sinterlenen S0 numunelerinin klasik yoğunluk, % gözenek, % su emme ve bulk (yığın) yoğunluk değerleri verilmiştir. Artan sinterleme sıcaklığıyla birlikte pelet halindeki S0 numunelerinin % gözeneklilik ve % su emme miktarı azalmış, buna bağlı olarak kütle/hacim ile hesaplanan klasik yoğunluk değerleri artmıştır.

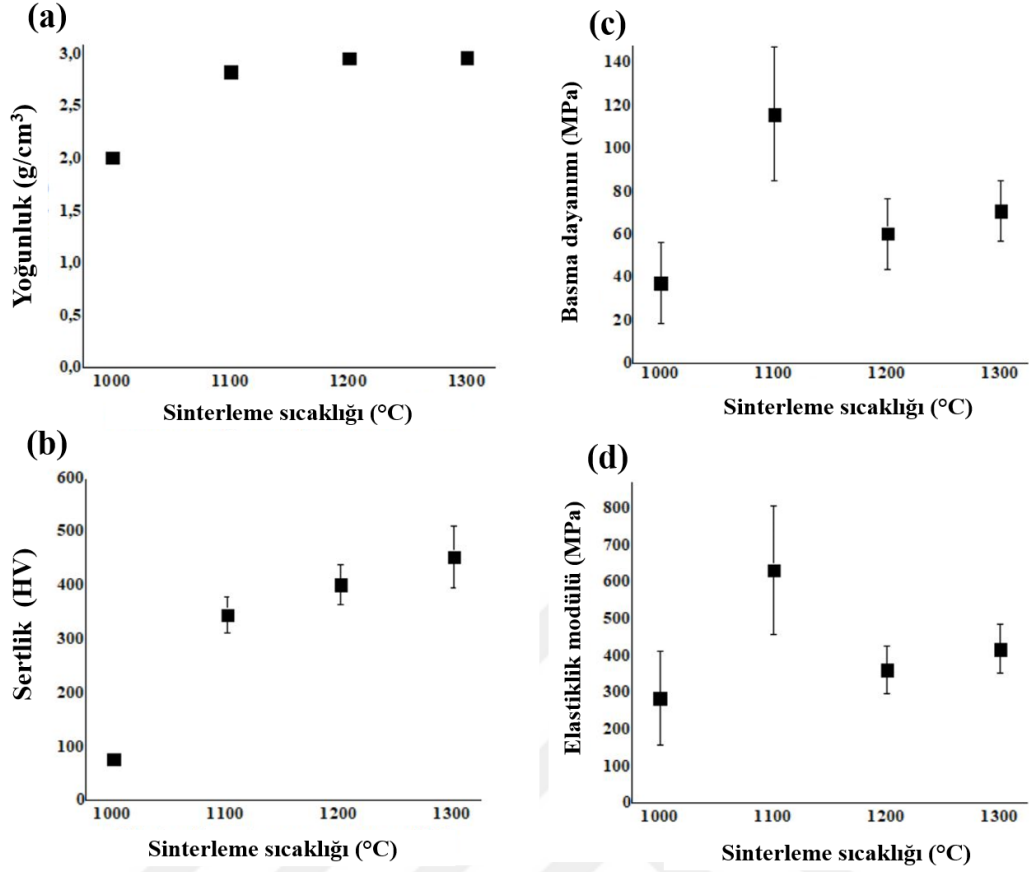
1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen S0 numunelerinin, klasik yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı ve elastiklik modülü değerleri Tablo 4.10'da verilmiş, grafik olarak ise Şekil 4.19'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9 1000-1300 °C sıcaklıklarda sinterlenen S0 numunelerinin klasik yoğunluk, % gözenek, % su emme, bulk (yığın) yoğunluk sonuçları

	Klasik yoğunluk (g/cm ³)	Bulk yoğunluk (g/cm ³)	% Gözenek (açık) porozite	% Su emme
S0-1000 °C	2.0	1.49	14.74	9.84
S0-1100 °C	2.82	1.5	1.56	1.03
S0-1200 °C	2.95	1.49	0.21	0.14
S0-1300 °C	2.96	1.49	0.12	0.09

Tablo 4.10 1000-1300 °C sıcaklıklarda sinterlenen S0 numunelerinin yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı ve elastiklik modülü değerleri

Sıcaklık (°C)	Yoğunluk (g/cm ³)	Vickers Mikrosertlik (HV)	Basma Dayanımı (MPa)	Elastiklik modülü (MPa)
1000	2.0	76±7	37±19	285±129
1100	2.82	344.6±34	116±31	633±173
1200	2.95	401±37	60.5±16	361±64.5
1300	2.96	453±57	71±14	418±66



Şekil 4.19 Sinterleme sıcaklığının S0'ın; (a) yoğunluk, (b) mikrosertlik, (c) basma dayanımı ve (d) elastik modülü üzerindeki etkisi

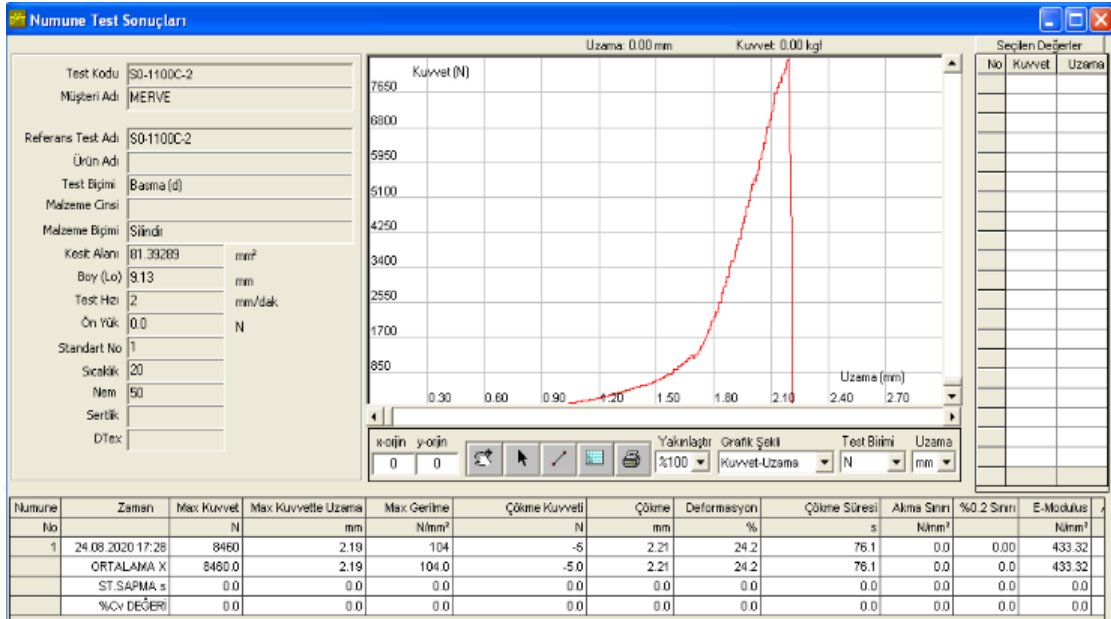
Sinterleme sıcaklığının 1000 °C'den 1300 °C'ye artmasıyla numunelerin klasik yoğunluk değerleri artmış, mikrosertlik ve sinterleme sıcaklığı arasındaki ilişki için de benzer durum ortaya çıkmıştır (Şekil 4.19(b)). 1000-1100 °C sıcaklık aralığında mikrosertlik değerlerinde önemli ölçüde artış olmuş, bu durum sinterlemenin etkisiyle parçacıkların birleşmesinden dolayı gözenekliliğin azalmasına ve yoğunluk artışına bağlanmıştır. Yapılan önceki çalışmalar sertliğin yapısal gözeneklilik, yoğunluk ve oluşan ikincil fazlarla bağıntılı olduğunu belirtmektedir [116], [117], [118]. Genel bir değerlendirme yapıldığında sinterleme sıcaklığının 1000 °C'den 1300 °C'ye yükselmesiyle numunelerin Vickers mikrosertlik değerlerinde 76 ± 7 'den 453 ± 57 HV'ye belirgin bir artış meydana gelmiştir.

Şekil 4.19(c), S0 numunelerinin sinterleme sıcaklığına karşı basma dayanımındaki değişikliği göstermektedir. Her sinterleme sıcaklığındaki S0 numuneleri için dörder adet pelete basma testi uygulanmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Yoğunluğu

$\sim 2 \text{ g/cm}^3$ olan numuneler 1000°C gibi daha düşük sıcaklıklarda sinterlendiğinde basma dayanımları düşük çıkmıştır. Bununla birlikte 1100°C 'de sinterlemeden sonra numunelerde $116\pm 31 \text{ MPa}$ 'lık basma dayanımı değeri elde edilmiş ve bu sonuçlar, 1200 ve 1300°C 'de sinterlenmiş numunelerin basma dayanımından daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu durumun sıcaklık artışı ile faz ayrışmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Rodríguez-Lorenzo ve ark. [119], çökeltme yöntemiyle ürettikleri sentetik HA'da, sinterleme sıcaklığının 1300°C 'ye çıkmasıyla numunelerin yoğunluk değerlerinin artmasına (%95'lik kısmi yoğunluk değeri) rağmen en yüksek basma dayanımını 1100°C 'de sinterlenen numunelerde (530 MPa) elde etmişler, artan sinterleme sıcaklığıyla birlikte numunelerin basma dayanımı (330 MPa) düşmüştür. Basma dayanımındaki azalmanın yüksek sıcaklıklarda HA'nın ayrışmasına, tane büyümesine, gözenek alanı ve gözenek boyutundaki değişimlere bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bulut ve ark. [120], HA'nın mikroyapısal ve mekanik özelliklerini geliştirmek için HA- Al_2O_3 kompozitlerine ağı. % 5 ve 10 oranında ticari inert cam (CIG) ilave etmiş, kompozitleri 1000 - 1300°C arasındaki sıcaklıklarda sinterlemişler ve CIG içeriğinin malzemenin mekanik özelliklerini artırdığını (en yüksek basma dayanımı değeri 53.82 MPa , en yüksek mikrosertlik değeri 129.36 HV) belirtmişlerdir. Goller ve ark. [121], sığır kemiğinin 850°C 'de kalsine olmasıyla elde ettikleri ve 1000 - 1300°C arası sıcaklıklarda sinterledikleri HA'da sırasıyla 12, 23, 67, 60 MPa basma dayanımı ve sırasıyla 42, 92, 138, 145 HV mikrosertlik değerleri elde etmişlerdir. Başpınar ve ark. [122], kemik greft malzemesi olarak piyasadaki 1 adet TCP ve 2 farklı HA (HA-1 ve HA-2) tozlarını 1200 , 1300 ve 1400°C 'de sinterlemişler, en yüksek basma dayanım değerini daha saf olan HA-1 (12.95 MPa) numunelerinde elde etmişlerdir. Farklı çalışmalarda basma dayanımı ve mikrosertlik için belirtilen değerlerin bu çalışmada elde edilen sonuçlardan daha düşük olduğu görülmüştür.

Şekil 4.19(d), farklı sıcaklıklarda sinterlenmiş S0 numunelerin elastiklik modülünü göstermektedir, basma dayanımından elde edilen sonuçlara benzer bir durum söz konusudur. Maksimum elastiklik modülü 633 MPa değerinde, 1100°C 'de sinterlenmiş numunelerde elde edilmiş, sıcaklığın 1200 ve 1300°C 'lere yükselmesiyle elastik modülünde azalma görülmüştür. Şekil 4.20'de, 1100°C 'de

sinterlenmiş bir numunenin basma deneyi sonucunda elde edilen kuvvet-uzama grafiği ve verileri gösterilmektedir.



Şekil 4.20 1100 °C'de sinterlenmiş bir numunenin kuvvet-uzama grafiği

Kompozitlerin Mekanik Özellik Analizi

Tablo 4.11'de farklı sıcaklıklarda sinterlenen kompozitlerin ortalama klasik yoğunluk, % gözenek, % su emme ve bulk (yığın) yoğunluk değerleri verilmiştir. Artan sinterleme sıcaklığıyla birlikte % gözeneklilik ve % su emme miktarı pelet halindeki S0, S1, S2.5 ve S5 numunelerinde azalırken, S7.5 ve S10 numunelerinde artmıştır. B₂O₃ katkısının yüksek olduğu S7.5 ve S10 kompozitlerinin pelet görüntüsünde de gözenekli ve pürüzlü yapı dikkat çekmektedir (Şekil 3.13). Yüksek oranlarda B₂O₃ içeren S7.5 ve S10 kompozitlerindeki gözenekli yapının, B₂O₃'ün yüksek sinterleme sıcaklıklarında buharlaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Düşük ergime derecesine sahip B₂O₃ yüksek sıcaklıklarda buharlaşabilen bir oksittir, bu nedenle bazı uygulamalarda buhar katkı maddesi olarak kullanılmakta ve sinterlemeyi iyileştirdiği söylenmektedir [90]. Artan B₂O₃ miktarı ile peletlerin bulk yoğunluk değerleri karşılaştırıldığında B₂O₃, S0'ın sinterlenebilirliğini iyileştirmiş ve bulk yoğunluk değerleri artmıştır.

Tablo 4.11 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen peletlerin klasik yoğunluk, bulk (yığın) yoğunluk, % gözenek (açık) porozite ve % su emme değerleri

	T (°C)	S0	S1	S2.5	S5	S7.5	S10
% Gözenek (açık) porozite	1000	14.74	22.75	25.27	2.75	2.46	2.64
	1100	1.56	3.61	14.66	1.51	2.72	2.71
	1200	0.21	0.09	1.41	1.61	4.64	5.54
	1300	0.12	0.15	0.69	1.84	5.3	6.44
% Su emme	1000	9.84	15.45	16.77	1.8	1.6	1.69
	1100	1.03	2.38	9.66	0.99	1.75	1.72
	1200	0.14	0.06	0.93	1.03	2.94	3.38
	1300	0.09	0,1	0.46	1.15	3.27	3.65
Bulk yoğunluk (g/cm ³)	1000	1.49	1.47	1.5	1.52	1.54	1.56
	1100	1.5	1.51	1.51	1.53	1.55	1.57
	1200	1.49	1.48	1.51	1.55	1.57	1.63
	1300	1.49	1.48	1.49	1.6	1.62	1.76
Klasik yoğunluk (g/cm ³)	1000	2.0	1.93	1.86	2.62	2.64	2.59
	1100	2.82	2.7	2.22	2.73	2.57	2.52
	1200	2.95	2.9	2.8	2.61	2.67	2.26
	1300	2.96	2.98	2.9	2.35	2.1	1.91

Pelet halindeki numunelerin kütle/hacim ile ölçülen klasik yoğunlukları karşılaştırıldığında ise 1000 °C sinterlenen numunelerde B₂O₃ miktarı arttıkça yoğunluk değerleri genel olarak artarken, 1000 °C haricinde diğer sinterleme sıcaklıklarında artan B₂O₃ miktarı yoğunluğun azalmasına sebep olmuştur. 1300 °C'de sinterlenen S0 ve S1 gruplarında en yüksek yoğunluk değerleri elde edilirken (sırasıyla 2.96, 2.98 g/cm³), 1300 °C'de sinterlenen S10 numunelerinde en düşük yoğunluk değeri (1.91 g/cm³) elde edilmiştir. Artan B₂O₃ miktarı ve yüksek

sinterleme sıcaklıkları gözenek oluşumuna bağlı olarak yoğunluğun azalmasına sebep olmuştur.

Tablo 4.12’de, 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen S0 ve farklı ağırlık yüzdelerinde B₂O₃ katkılı kompozitlerin ortalama klasik yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı ve elastiklik modülü değerleri verilmiş, grafiksel olarak ise sırasıyla Şekil 4.21, 4.22, 4.23 ve 4.24’te gösterilmiştir.

Yoğunluk sonuçlarında da olduğu gibi S0 ve düşük B₂O₃ katkılı kompozitlerde sinterleme sıcaklığı arttıkça mikrosertlik artmıştır. Yüksek sinterleme sıcaklığı ve yüksek B₂O₃ içeriğine sahip numunelerde ise mikrosertlik değerleri düşmüş ve S10-1300 °C kompozitlerde 96±38 HV olarak düşük mikrosertlik değeri elde edilmiştir. Yüksek sinterleme sıcaklığı ve yüksek B₂O₃ içeren numunelerde artan gözeneklilik, azalan yoğunluk ve oluşan ikincil fazların mikrosertlik değerlerinde düşüşe sebep olduğu düşünülmektedir. S10 kodlu kompozitlerin SEM görüntülerinde de gösterildiği gibi artan sinterleme sıcaklığında oluşan gözenekli yapı mikrosertlik ölçümlerinin yapılmasını zorlaştırmıştır (Şekil 4.17). Farklı oranlarda ilave edilen B₂O₃ ve farklı sinterleme sıcaklıklarının mikrosertlik değerlerine büyük ölçüde etki ettiği görülmüştür. Harabi ve ark. [123], kortikal sığır kemiğinden elde ettikleri HA’ya farklı yüzdelerde B₂O₃ (ağırlıkça % 0.5-5.0) tozu ilave ederek 1050 °C’de 2 saat sinterledikleri peletlerde B₂O₃ miktarı %5’e kadar arttırıldığında gözenekliliğin azaldığını ve vickers sertliğinin arttığını görmüşlerdir. Gündüz ve ark. [9], sığır kemiğinden elde ettikleri HA’ya ağırlıkça %5, 7.5 ve % 10 B₂O₃ katarak oluşturdukları kompozit yapılarda artan sinterleme sıcaklığı ve B₂O₃ miktarı ile basma dayanımı ve mikrosertlik değerlerinde düşüş görmüş, 1300 °C’de sinterlenen B₂O₃ katkılı kompozitlerde gözenek oluşumu nedeniyle mikrosertlik ölçümü yapamamışlardır.

Pelet halindeki numunelerin basma dayanımlarını ölçmek için her bir kompozit grubu ve sinterleme sıcaklığı için dörder adet numune kullanılmış ve sonuçların ortalama değerleri alınmıştır. S0’a ağırlıkça %1 B₂O₃ ilave edilmesi basma dayanım değerlerini bir miktar artırmıştır. Kompozitler arasında, en yüksek basma dayanımı ve elastiklik modülü S1-1300 °C kompozitlerinde elde edilmiş (sırasıyla 82 MPa, 663.7 MPa); düşük yoğunluk ve mikrosertliğe sahip olan S10-1300 °C

kompozitlerinde ise en düşük basma dayanımı (5.3 MPa) değeri elde edilmiştir. Elastiklik modülü değerlerinin basma dayanımlarıyla paralel bir şekilde ilerlediği söylenebilir.

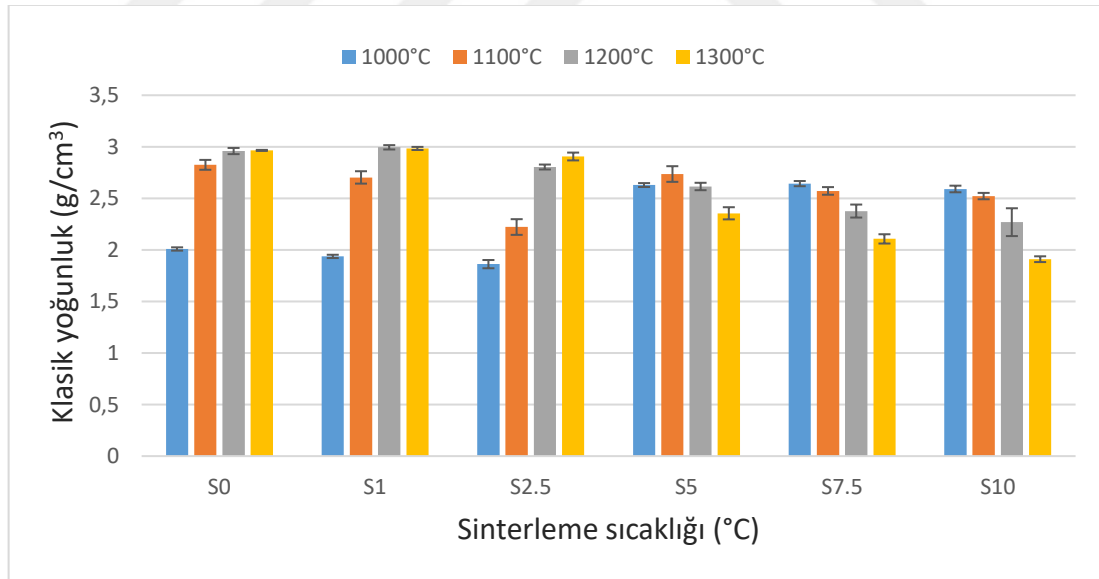
Tablo 4.12 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen peletlerin ortalama klasik yoğunluk, mikrosertlik, basma dayanımı ve elastiklik modülü değerleri

	T (°C)	S0	S1	S2.5	S5	S7.5	S10
Klasik Yoğunluk (g/cm ³)	1000	2.0	1.93	1.86	2.62	2.64	2.59
	1100	2.82	2.7	2.22	2.73	2.57	2.52
	1200	2.95	2.9	2.80	2.61	2.37	2.26
	1300	2.96	2.98	2.90	2.35	2.10	1.91
Mikrosertlik (HV)	1000	76±7	92±18	93±24	148±23	171±27	207±74
	1100	345±33	328±66	127±35	277±54	197±39	164±49
	1200	401±37	424±60	300±62	213±35	128±35	102±15
	1300	453±57	460±97	368±74	145±42	115±14	96±38
Basma Dayanımı (MPa)	1000	37±19	46.5±5	28±6	35±8	52±8	62±4
	1100	116±31	63±22.6	15.5±2	35.5±4	45.5±2	52.5±9
	1200	60.5±16	73.5±8	43±14	32.5±6.3	25.5±4	21.5±5
	1300	71±14	82±31	68±28	11.5±2	7±1	5±0.5
Elastiklik modülü (MPa)	1000	285±129	259±39	204.4±10	185.8±35.7	308.8±122	394±31
	1100	633±173	426±120.5	57.8±18	235±34.3	264.8±18.4	304.6±43
	1200	361±64.5	518.6±30	256±127.5	191.5±83.6	164.8±49	116±7.5
	1300	418±66	663.7±382	397.2±215	56.5±12	38.2±10	45±24.8

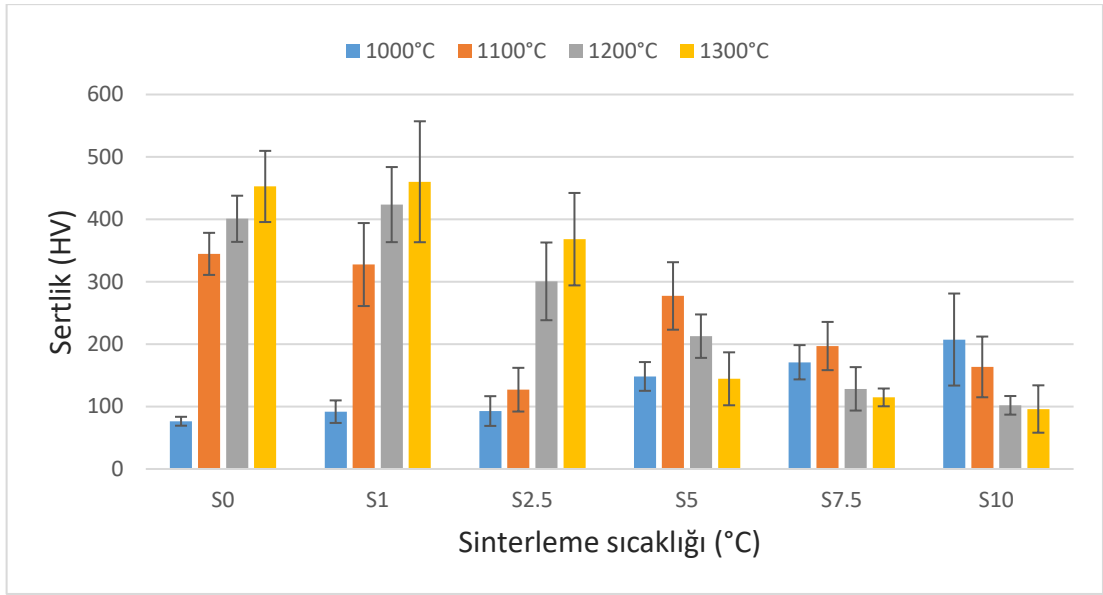
Salman ve ark. [124], HA tozunu kalsinasyon tekniği ile sığır kemiklerinden (BHA) ve insan diş minesinden (EHA) elde etmiş; bunlara ağırlıkça %5 ve %10 Ti tozu ilave ederek pelet haline getirdikleri kompozitleri 1000 ile 1300 °C arasında farklı sıcaklıklarda sinterlemiş ve bu kompozitleri diş dentininden elde edilen HA (DHA) ile karşılaştırmışlardır. Artan sinterleme sıcaklıklarıyla birlikte kompozitlerde

basma dayanımı ve mikrosertliğin arttığını ve sonuçların DHA-Ti kompozitlerinden çok daha iyi olduğunu söylemişlerdir. Oktar ve ark. [125], sığır kemiklerinden biyolojik olarak türettikleri HA'nın sinterleme kabiliyetini ve mekanik özelliklerini iyileştirmek için HA'ya (ağ. %5 ve %10 oranında) SiO₂, MgO, Al₂O₃ ve ZrO₂ takviye etmişler, oluşan kompozitleri 1000-1300 °C arasındaki farklı sıcaklıklarda 4 saat sinterlemişlerdir. Ağ. %5 katkılı oksitlerde daha yüksek basma dayanımı ve mikrosertlik elde etmişler ve SiO₂ katkılı kompozitler hariç diğer kompozitlerde artan sinterleme sıcaklığıyla bu değerlerin genel olarak arttığı görmüşlerdir. Tez çalışmasında en düşük orandaki B₂O₃ katkılı kompozitlerin (S1, S2.5) basma dayanımı ve mikrosertlik sonuçlarının, farklı çalışmalarda %5 ve %10 oranında katkı maddesi kullanılarak elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür.

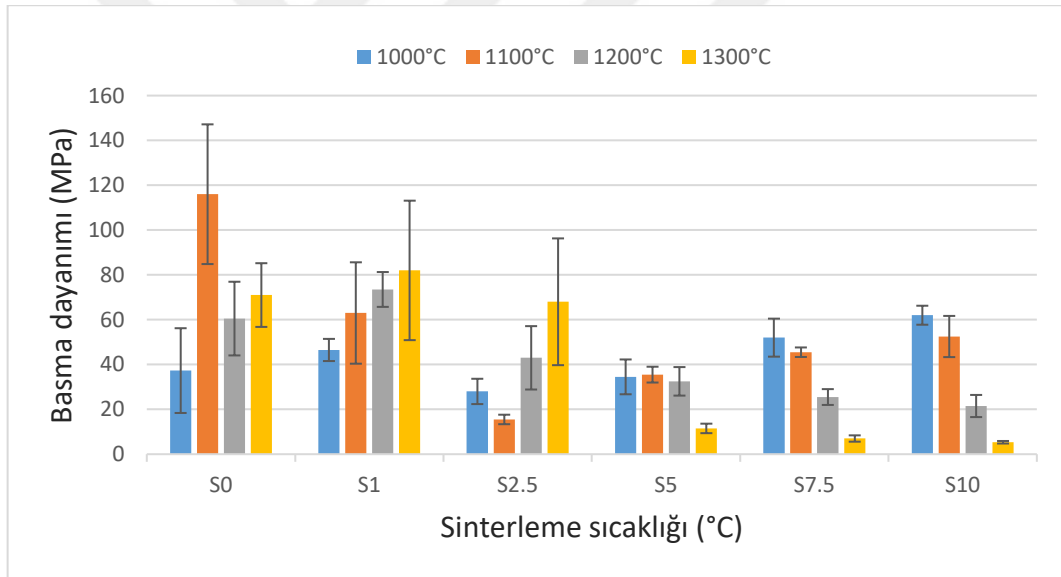
B₂O₃'ün HA ve TCP'den daha düşük yoğunluğa sahip olması ve yüksek sıcaklıklarda buharlaşan bir oksit olması sebebiyle, yüksek B₂O₃ katkılı kompozitlerde yoğunluk değerleri düşmüş buna bağlı olarak basma dayanımı ve mikrosertlik değerleri azalmıştır.



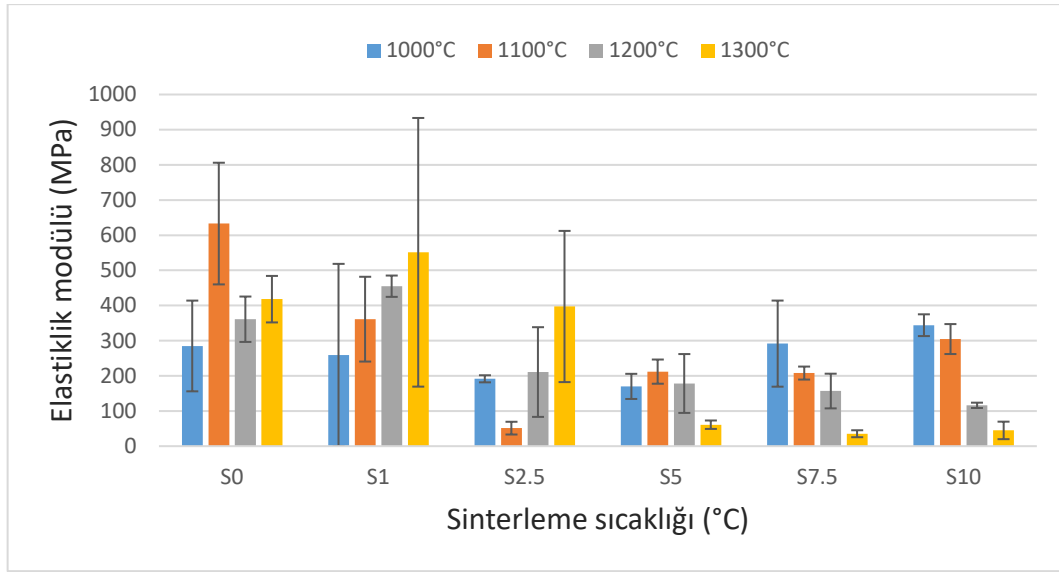
Şekil 4.21 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin klasik yoğunluk grafiği



Şekil 4.22 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin Vickers mikrosertlik grafiği



Şekil 4.23 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin basma dayanımı grafiği



Şekil 4.24 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş kompozit numunelerin elastiklik modülü grafiği

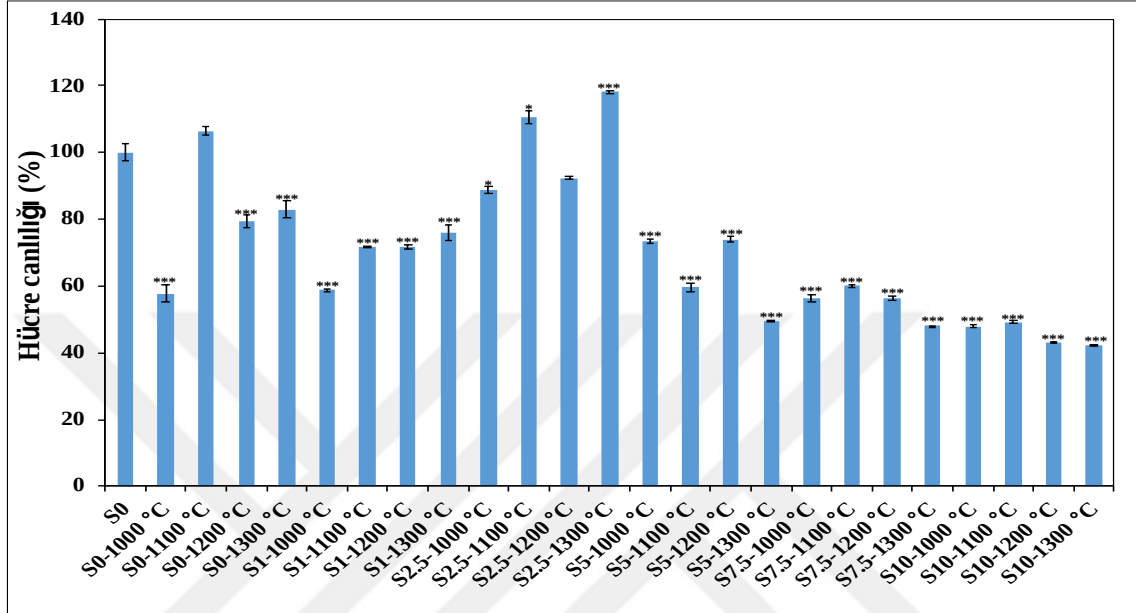
4.1.6 Biyoaktivite Test sonuçları

Doku mühendisliği uygulamalarında hücrelerin canlılığı ve hücre dağılımı önemli parametrelerdir [126] ve canlı dokuda kullanılacak malzemelerin toksik etki göstermemesi gerekmektedir. Bu nedenle, 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen numunelerin in vitro biyolojik özellikleri hücre canlılığı ve hücre-malzeme etkileşimi ile incelenmiştir.

İnsan osteoblast hücrelerinin S0, 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen S0, S1, S2.5, S5, S7.5 ve S10 numuneleri üzerinde 7 gün inkübasyondan sonra in vitro sitotoksitesite analizi MTT testi ile yapılmış, hücrelerin canlılığını sürdürmesinde numune içeriğindeki B₂O₃ miktarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.25). Deneyler, üç tekrar olarak gerçekleştirilmiş ve sayısal sonuçlar standart tek yönlü varyans analizi (ANOVA) tekniği kullanılarak Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi ile incelenmiş, sonuçlar S0 ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (anlamli farklılıklar 'p' ile gösterilmiştir) [93],[11].

Bor, mineralizasyon ve kemik büyümesi açısından kemik gelişiminde önemli rol oynar [127], [128]. Literatürde bor katkılı CaP'ler üzerine çalışmalar olmasına rağmen düşük oranda B₂O₃ katkılı CaP'ler üzerine hücre çalışması tespit edilememiştir. İnsan osteoblast hücresi, 1000 °C'de sinterlenen S0, S1 ve S2.5

numuneleri üzerinde yapılan hücre kültürüyle karşılaştırıldığında 1100, 1200 ve 1300 °C’de sinterlenen S0, S1 ve S2.5 numunelerinde artan hücre çoğalması göstermiş ve daha iyi hücre dışı matris uyumu sergilemiştir. S0-1100 °C ve S2.5-1300 °C numunelerinin hücre canlılığı S0 ile karşılaştırıldığında anlamlı değişiklik görülmemiştir.



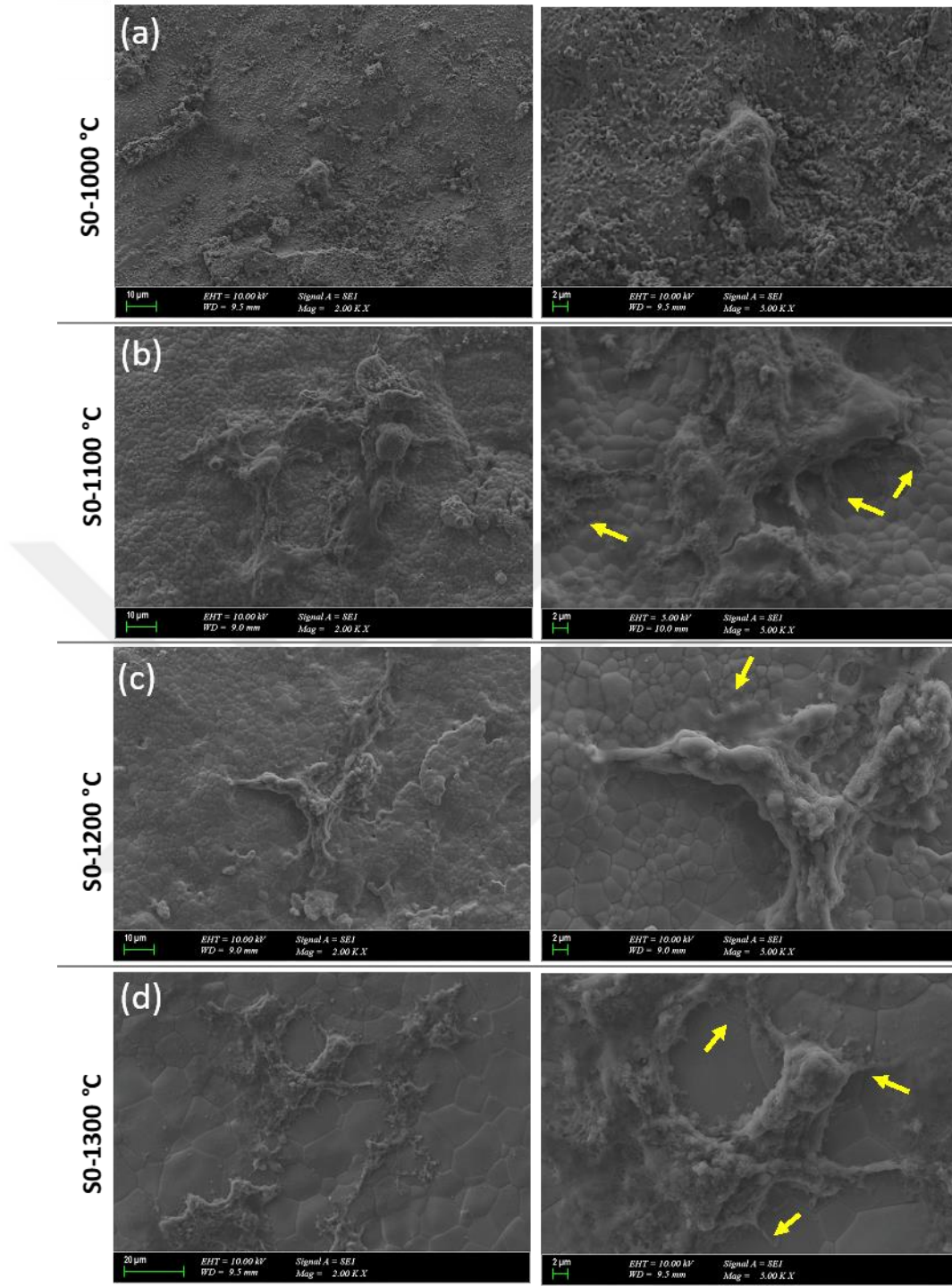
Şekil 4.25 S0, S1, S2.5, S5, S7.5 ve S10 kompozitleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenen insan osteoblast hücre canlılığı (%). Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA), Tukey-Kramer Çoklu Karşılaştırma Testi, S0 ile karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar, * p < 0,05, *** p < 0,001, n=3

Numuneler B₂O₃ katkısı olmayan S0 numunesi ile karşılaştırıldığında en yüksek hücre canlılığı S2.5-1100 °C ve S2.5-1300 °C numunelerinde (sırasıyla %10 ve %18 artış) görülmüş fakat numunelerdeki B₂O₃ miktarı arttıkça hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme meydana gelmiştir. Ağ. %5’ten fazla B₂O₃ miktarı hücre canlılığını düşürmüş ve bir miktar toksik etkiye sebep olmuştur. XRD analizinde ağ. %5 ve üzeri B₂O₃ içeren kompozitler borun iyon değişimi ile apatit yapıya dahil olduğunu göstermiş, hücre testlerinde ise borapatit yapıdaki borun çözünerek toksik etki yarattığını düşündürmüştür. Bu durum literatür ile karşılaştırıldığında Khoshsima ve ark. [11], HA’ya ağ. %10 ve %20 oranında B₂O₃ ilave ettiklerinde B₂O₃ katkısının toksik etki yarattığını ve 7 gün inkübasyonun sonunda hücre canlılığının %20’ye varan ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Khoshsima’nın çalışmasındaki bu tespit, Şekil 4.25’deki %5, %7.5 ve %10

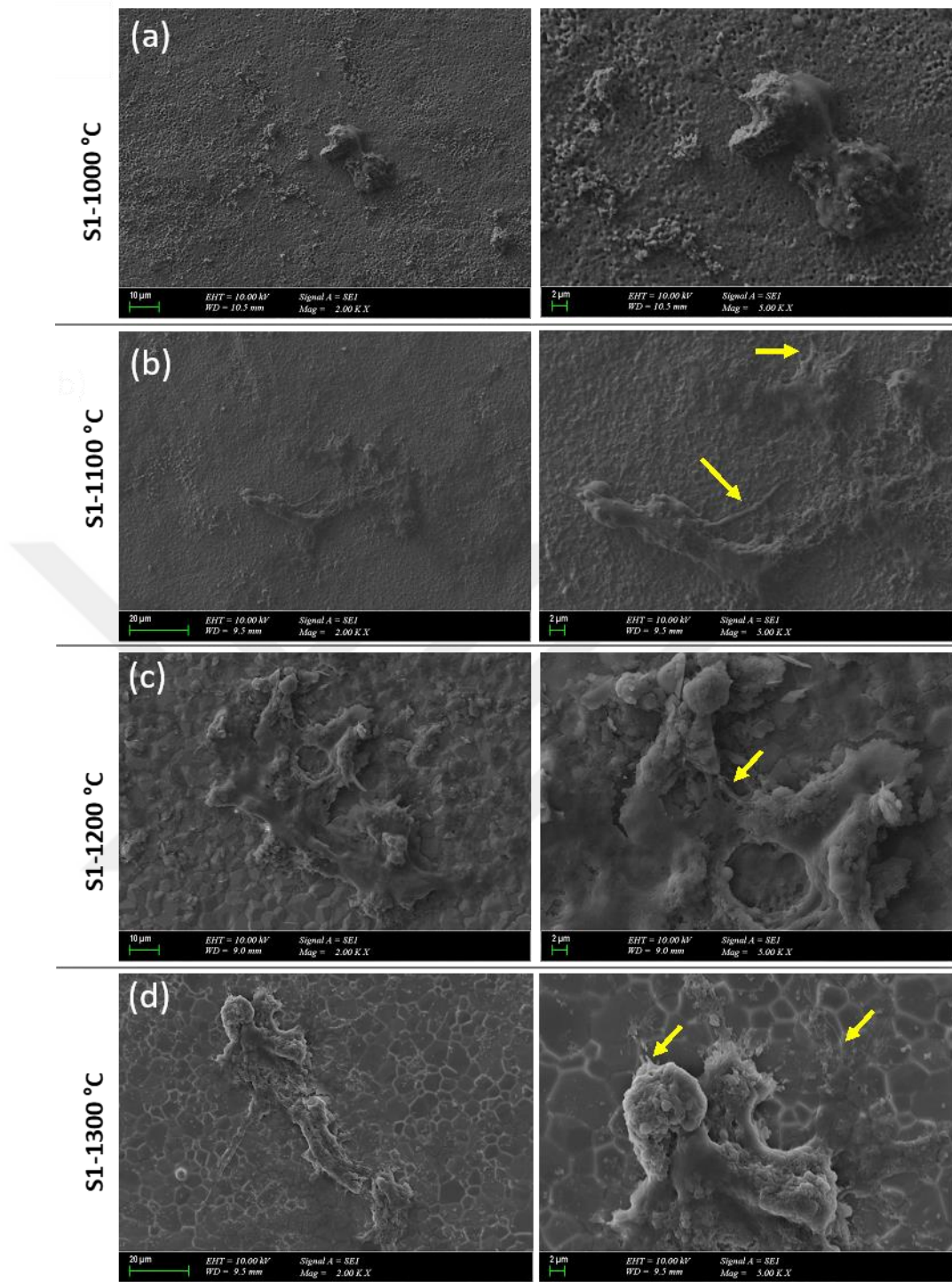
kompozitlerinin hücre canlılığı ile karşılaştırıldığında oransal olarak örtüşmektedir. Brown ve ark.[129] borat cam bileşiminin HA'ya dönüşümünü inceledikleri çalışmada, camdaki yüksek B_2O_3 içeriğinin HA'ya dönüşüm oranını artırdığını ancak aynı zamanda hücre çoğalmasında daha büyük bir inhibisyona neden olduğunu belirtmişlerdir.

In vitro MTT sonuçlarında, somon balık kemiğinden elde edilen BCP tozlarının (S0) sitotoksik etki göstermediği, S0'a %2.5'a kadar ilave edilen B_2O_3 'ün hücre canlılığını artırdığı, daha yüksek orandaki B_2O_3 ilavesinin ise hücre canlılığını azaltarak toksik etkiye sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, S0'a %2.5'a kadar yapılan B_2O_3 katkısının kemik onarımı ve doku mühendisliğinde hücrelerin çoğalması için uygun bir numune olabileceğine işaret etmektedir.

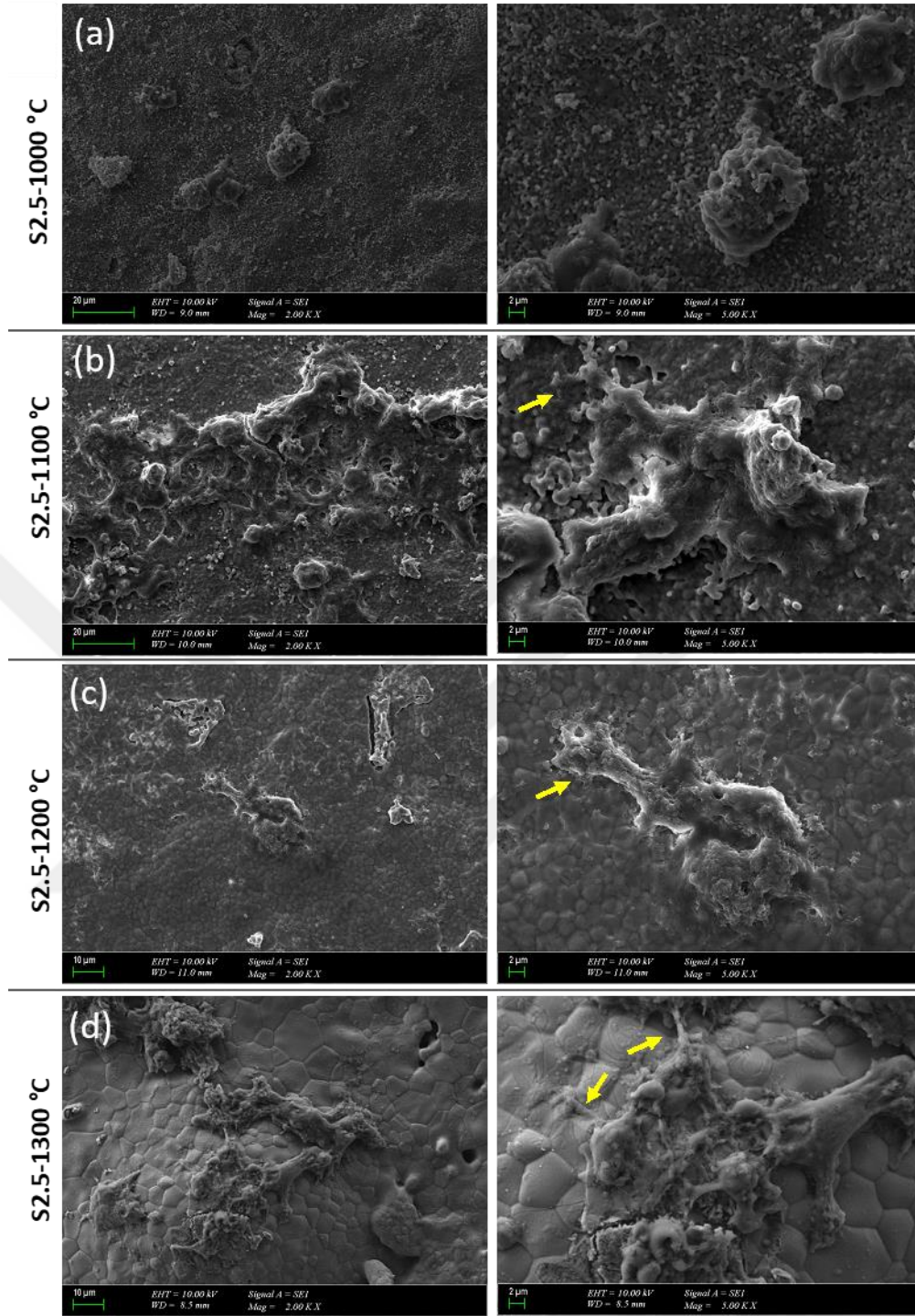
Hücre-malzeme etkileşimi, MTT sonuçlarında en iyi hücre canlılığı gösteren gruplarda (S0, S1 ve S2.5) incelenmiştir. Osteblast hücreleri, 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen silindirik formdaki S0, S1 ve S2.5 peletleri üzerine ekilmiş, 7 gün inkübasyondan sonra hücrelerin malzemeye bağlanması ve morfolojisi SEM ile görüntülenmiştir. Şekil 4.26, 4.27 ve 4.28 farklı sıcaklıklarda sinterlenen S0, S1 ve S2.5 numunelerinin 7. gün sonundaki hücre-malzeme etkileşimini göstermektedir. Her üç örnek grubunda, 1000 °C'de sinterlenen peletler üzerine ekilen hücrelerin yapıştığı ve yuvarlak şekilde olduğu, 1000 °C üzeri sıcaklıklarda sinterlenen peletler üzerinde ise hücrelerin malzemeye yapıştığı ve yüzeyde yayılma eğiliminde olduğu görülmüştür. SEM görüntülerinde, sinterleme sıcaklığı arttıkça hücreler uzun ve yayılmış şekillerde malzeme yüzeyine bağlanmış ve bir miktar uzun filopodi morfoloji göstermiştir (hücre SEM görüntülerinde sarı oklar ile gösterilmiştir). Ayrıca B_2O_3 varlığına ve miktarına bağlı olmaksızın 1000 °C dışındaki tüm numunelerde hücrelerin birbirleriyle etkileşimi görülmektedir. SEM görüntülerinde numune yüzeyine yapışmış ve yayılım göstermiş hücreler, S0, S1 ve S2.5 numunelerinin biyoyumluluğu desteklediğini göstermektedir.



Şekil 4.26 S0 peletleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenmiş insan osteoblast hücrelerinin SEM görüntüsü: (a) S0-1000 °C, (b) S0-1100 °C, (c) S0-1200 °C ve (d) S0-1300 °C (2000X büyütme, skala:10 µm ve 5000X büyütme, skala:2 µm)



Şekil 4.27 S1 peletleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenmiş insan osteoblast hücrelerinin SEM görüntüsü: (a) S1-1000 °C, (b) S1-1100 °C, (c) S1-1200 °C ve (d) S1-1300 °C (2000X büyütme, skala:10 μm ve 5000X büyütme, skala:2 μm)



Şekil 4.28 S2.5 peletleri üzerinde 7 gün boyunca kültürlenmiş insan osteoblast hücrelerinin SEM görüntüsü: (a) S2.5-1000 °C, (b) S2.5-1100 °C, (c) S2.5-1200 °C ve (d) S2.5-1300 °C (2000X büyütme, skala:10 µm ve 5000X büyütme, skala:2 µm)

5 SONUÇ VE ÖNERİLER

CaP seramikleri kemik doku uygulamalarında genellikle boşluk doldurma ve metal substrat (altlık) üzerine kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada, CaP seramikler doğal bir kaynak olan somon balığı kemiklerinden kalsinasyon yöntemiyle elde edilmiş (sCaP, S0) ve farklı ağırlıklarda B₂O₃ eklenerek sCaP-B₂O₃ kompozitleri oluşturulmuştur. 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda 4 saat sinterlenen sCaP ve sCaP-B₂O₃ kompozitlerinin mekanik, mikroyapı ve biyouyum analizleri yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir:

-Somon balığı kemiklerinin 800 °C'de 3 saat kalsine edilmesiyle HA ve β -TCP'den meydana gelen BCP yapılar elde edilmiştir.

-sCaP (S0) tozlarının ortalama partikül boyutu DLS analizi ile 122 nm olarak ölçülmüş, sonuç somon balığı kemiklerinden kalsinasyon yöntemiyle nano boyutta CaP'nin başarılı bir şekilde elde edilebileceğini göstermiştir.

-Saf sCaP'nin TGA analizinde belirgin bir bükülme noktası meydana gelmemiş, %1.31 gibi düşük miktarda bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. Kemikteki su ve organik kısmın yapıdan uzaklaşmasıyla gerçekleşen ağırlık kaybı 800 °C'de yapılan kalsinasyon işlemi esnasında ortaya çıkmıştır. DTA analizinde ise endotermik pikler meydana gelmiştir.

-sCaP ve 1000-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen sCaP numunelerinin XRD analizinde HA ve β -TCP tüm numunelerde ortak faz olup, artan sinterleme sıcaklığıyla HA faz oranı azalmış TCP faz oranı ise artmıştır. Debye-Scherrer formülü ile sCaP tozlarının ortalama partikül büyüklüğü hesaplanarak 343 nm bulunmuştur. Debye-Scherrer ve DLS yöntemiyle elde edilen ortalama partikül büyüklüğü değerlerinin farklı olması Debye-Scherrer hesabının bir programla ile yapılmayıp, formüldeki β datasının göreceli olarak seçilmesinden kaynaklı olabilir.

%1 B₂O₃ katkılı S1, %2.5 B₂O₃ katkılı S2.5, %5 B₂O₃ katkılı S5, %7.5 B₂O₃ katkılı S7.5 ve %10 B₂O₃ katkılı S10 kompozitlerinin XRD analizlerinde HA ve β -TCP ortak faz olup, B₂O₃ ilave edilmesiyle dibor dikalsiyum oksit (JCPDS no: 98-002-7293),

dikalsiyum diborat (JCPDS no: 98-005-0551), bor oksit (JCPDS no: 98-000-4220), hegzahidraborit (JCPDS no: 98-001-7239), kalsiyum borofosfat (JCPDS no: 98-005-3319), takedaite (JCPDS no: 98-000-7940), kalsiyum borat (JCPDS no: 98-001-4333) kalsiyum heptaoksotetraborat (JCPDS no: 98-004-2661) ve priceite (JCPDS no: 98-006-7746) gibi düşük oranlarda fazlar ortaya çıkmıştır. B_2O_3 miktarının yüksek olduğu S5, S7.5 ve S10 kompozitlerinin JCPDS koduna göre oluşturulan kantitatif faz analizlerinde apatit (JCPDS no: 98-002-8098) fazı ortaya çıkmış, apatit fazının kimyasal bileşimindeki B'nin varlığı (borapatit) B atomunun kristal yapıya dahil olduğunu göstermiş ve B_2O_3 ilavesiyle piklerde kayma meydana gelmiştir.

-Çiğ somon balık kemiğinin FTIR analizinde kolajen, protein ve yağ gibi karakteristik fonksiyonel organik gruplara karşılık gelen amid A, amid I, amid II ve amid III bantları ortaya çıkmış, somon balık kemiğinin 800 °C'de kalsine olmasıyla organik içerikle ilgili olan bu pikler kaybolmuştur. Farklı sıcaklıklarda sinterlenen B_2O_3 katkısız S0 numunelerinin, %1 B_2O_3 katkılı S1, %2.5 B_2O_3 katkılı S2.5, %5 B_2O_3 katkılı S5, %7.5 B_2O_3 katkılı S7.5 ve %10 B_2O_3 katkılı S10 kompozitlerinin FTIR spektrumları CaP'lerin tipik fosfat (PO_4^{3-}) ve hidroksil (OH^-) iyonlarının varlığını göstermiştir. B_2O_3 katkılı kompozitlerin FTIR spektrumlarında borat (bor-oksijen bileşikleri) gruplarıyla ilgili olarak BO_2 ve BO_3 bantlarına rastlanılmış fakat BO_4 gruplarının FTIR bantlarının apatit yapısına ait PO_4^{3-} grubu ile aynı aralığa denk gelmesi nedeniyle BO_4 gruplarının varlığı ayırt edilememiştir.

-sCaP numunelerinin SEM analizinde, sinterlemenin etkisiyle taneler arası gözeneklilik azalmış ve yüksek sinterleme sıcaklıklarında taneler birleşerek daha büyük taneler meydana getirmiş; 1000 °C'den 1300 °C'ye sinterleme sıcaklığı arttıkça ortalama tane boyutu 0.83 μm 'den 10.82 μm 'ye artmıştır. sCaP numunelerinin EDS analizinde ağırlıklı olarak Ca, P, O ve eser miktarda Mg saptanmıştır. Artan sinterleme sıcaklığı ile HA'nın TCP'ye kısmi ayrışması gerçekleşmiş ve 1000 °C'den 1300 °C'ye ortalama Ca/P oranı 1.73'ten 1.52'ye düşmüştür. 1000 °C-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenen %10 B_2O_3 katkılı S10 kompozitlerin SEM görüntülerinde ise B_2O_3 'ün yüksek sıcaklıklarda buharlaşması sonucu daha gözenekli ve iğnemsî bir yapının olduğu görülmüştür.

-1000 °C-1300 °C arası sıcaklıklarda sinterlenmiş pelet halindeki numunelerin klasik yoğunluk, % gözenek, % su emme ve bulk (yığın) yoğunlukları ölçülmüş; B₂O₃ katkısız S0, %1 B₂O₃ katkılı S1, %2.5 B₂O₃ katkılı S2.5 ve %5 B₂O₃ katkılı S5 peletlerinde sinterleme sıcaklığı arttıkça % gözeneklilik ve su emme oranı azalmış, %7.5 B₂O₃ katkılı S7.5 ve %10 B₂O₃ katkılı S10 peletlerinde ise sinterleme sıcaklığı arttıkça % gözeneklilik, % su emme ve bulk (yığın) yoğunlukları artmıştır. B₂O₃ katkısız sCaP (S0) peletlerinde en yüksek basma dayanımı (116±31 MPa) 1100 °C'de sinterlenen numunelerde elde edilmiş, daha yüksek sıcaklıklarda meydana gelen faz ayrışması ve tane büyümesi basma dayanım değerlerinde düşüşe sebep olmuştur.

-sCaP'ye %1 B₂O₃ katkısı mikrosertlik ve basma dayanım değerlerini bir miktar artırmış; kompozitler arasında 1300 °C'de sinterlenmiş %1 B₂O₃ katkılı S1 kompozitlerinde en yüksek basma dayanımı 82 MPa ve elastiklik modülü 663.7 MPa olarak; düşük yoğunluk ve mikrosertliğe sahip olan 1300 °C'de sinterlenmiş %10 B₂O₃ katkılı S10 kompozitlerinde ise en düşük basma dayanımı 5.3 MPa olarak elde edilmiştir. Elastiklik modülü değerleri basma dayanımlarıyla paralellik göstermiştir. B₂O₃'ün HA ve TCP'den daha düşük yoğunluğa sahip olması ve yüksek sıcaklıklarda buharlaşan bir oksit olması sebebiyle yüksek B₂O₃ katkılı kompozitlerde (%5 B₂O₃ katkılı S5, %7.5 B₂O₃ katkılı S7.5 ve %10 B₂O₃ katkılı S10) kütle/hacim ile hesaplanan klasik yoğunluk değerleri düşmüş buna bağlı olarak basma dayanımı ve mikrosertlik değerleri azalmıştır.

-In vitro çalışmalar, somon balık kemiğinden elde edilen BCP tozlarının (S0) sitotoksik etki göstermediği, %2.5'a kadar yapılan B₂O₃ katkısının hücre canlılığını artırırken daha yüksek orandaki B₂O₃ katkısının hücre canlılığını azaltarak bir miktar toksik etkiye sebep olduğunu göstermiştir. 1100 °C ve 1300 °C'de sinterlenen %2.5 B₂O₃ katkılı S2.5 kompozitlerinde en yüksek hücre canlılığı (sırasıyla %10 ve %18 artış) gözlenmiştir. En iyi hücre canlılığı gösteren B₂O₃ katkısız S0, %1 B₂O₃ katkılı S1 ve %2.5 B₂O₃ katkılı S2.5 numunelerinde hücre-malzeme etkileşimi incelendiğinde, 1000 °C üzeri sıcaklıklarda sinterlenen peletlerde hücrelerin malzemeye yapıştığı ve yüzeyde yayılma eğiliminde olduğu SEM görüntüleri ile desteklenmiştir.

Sonuç olarak, kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan biyoaktif HA ve biyoemilebilir TCP'den oluşan BCP yapı, somon balık kemiklerinin 800 °C'de 3 saat kalsine edilmesiyle başarılı bir şekilde elde edilmiş; %1 B₂O₃ katkısı malzemenin mekanik özelliklerini artırırken, %2.5 B₂O₃ katkısının hücre biyouyumluluğunda olumlu yönde etkisi olduğu saptanmıştır.

-Kemik doku uygulamalarında kullanılan BCP seramiklerinin üretimi için düşük maliyetli ve bol miktarda bulunan farklı doğal kaynaklar kullanılabilir.

-sCaP-B₂O₃ kompozitlerine farklı bir katkı maddesi daha katılarak mekanik ve biyouyum özellikleri geliştirilebilir.

-Ağırlıkça B₂O₃ katkısı %2.5 ile sınırlandırılarak sıcaklık, süre ve katkı maddesi oranı gibi kontrol edilebilir işlem parametreleri değiştirilerek çalışmaların geliştirilebileceği önerilmektedir.

-
- [1] Ş. Aykın, G. Çakmak, and E. Cila, "Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler," *Türk Ortop. ve Travmatoloji Birliği Derneği Derg.*, no. 3, pp. 11–24, 2004.
- [2] Y. Dahman, *Biomaterials Science and Technology*, 1st ed. Boca Raton : Taylor & Francis, 2019.: CRC Press, 2019.
- [3] W. F. Ho, H. C. Hsu, S. K. Hsu, C. W. Hung, and S. C. Wu, "Calcium phosphate bioceramics synthesized from eggshell powders through a solid state reaction," *Ceram. Int.*, vol. 39, no. 6, pp. 6467–6473, 2013, doi: 10.1016/j.ceramint.2013.01.076.
- [4] M. Akram, R. Ahmed, I. Shakir, W. A. W. Ibrahim, and R. Hussain, "Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources," *J. Mater. Sci.*, vol. 49, no. 4, pp. 1461–1475, Feb. 2014, doi: 10.1007/s10853-013-7864-x.
- [5] W. Khoo, F. M. Nor, H. Ardhyana, and D. Kurniawan, "Preparation of natural hydroxyapatite from bovine femur bones using calcination at various temperatures," *Procedia Manuf.*, vol. 2, no. February, pp. 196–201, 2015, doi: 10.1016/j.promfg.2015.07.034.
- [6] M. Ozawa and S. Suzuki, "Microstructural Development of Natural Hydroxyapatite Originated from Fish-Bone Waste through Heat Treatment," *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 85, no. 5, pp. 1315–1317, Dec. 2004, doi: 10.1111/j.1151-2916.2002.tb00268.x.
- [7] F. Tavangarian, R. Emadi, and S. I. Roohani Esfahani, "A novel method to synthesis of β -TCP/HA biphasic nanocrystalline powder by using bovine bone," *Int. J. Mod. Phys. B*, vol. 24, no. 17, pp. 3365–3372, 2010, doi: 10.1142/S0217979210055329.
- [8] A. Pal, S. Paul, A. R. Choudhury, V. K. Balla, M. Das, and A. Sinha, "Synthesis of hydroxyapatite from Lates calcarifer fish bone for biomedical applications," *Mater. Lett.*, vol. 203, pp. 89–92, 2017, doi: 10.1016/j.matlet.2017.05.103.
- [9] O. Gunduz *et al.*, "Bovine hydroxyapatite (BHA) boron oxide composites," *Key Eng. Mater.*, vol. 396–398, pp. 403–406, 2009, doi: 10.4028/www.scientific.net/kem.396-398.403.
- [10] B. R. Sunil and M. Jagannatham, "Producing hydroxyapatite from fish bones by heat treatment," *Mater. Lett.*, vol. 185, no. September, pp. 411–414, 2016, doi: 10.1016/j.matlet.2016.09.039.
- [11] S. Khoshshima, A. Z. Alshemary, A. Tezcaner, S. Surdem, and Z. Evis, "Impact of B2O3 and La2O3 addition on structural, mechanical and biological properties of hydroxyapatite," *Process. Appl. Ceram.*, vol. 12, no. 2, pp. 143–152, 2018, doi: 10.2298/pac1802143k.
- [12] C. Yang, Y. Guo, and M. Zhang, "Thermal decomposition and mechanical properties of hydroxyapatite ceramic," *Trans. Nonferrous Met. Soc. China (English Ed.)*, vol. 20, no. 2, pp. 254–258, 2010, doi: 10.1016/S1003-

6326(09)60131-X.

- [13] M. Ipekoglu and S. Altintas, "Effects of calcination and sintering parameters on the sintering of natural hydroxyapatite with boron oxide addition," *Trial*, no. January, pp. 919–924, 2007.
- [14] H. Güler, G. Gündoğmaz, F. Kurtuluş, G. Çelik, and Ş. S. Gacanoğlu, "Solid state synthesis of calcium borohydroxyapatite," *Solid State Sci.*, vol. 13, no. 11, pp. 1916–1920, 2011, doi: 10.1016/j.solidstatesciences.2011.08.016.
- [15] B. Ders and K. Sistemleri, "Anatomik Sistemler Anatomik Sistem."
- [16] R. Günaydın and A. G. Karatepe, "Kemiğin biyomekanik özellikleri ve yaş ile ilişkili kırıkların biyomekaniği," *Osteoporoz Dünyasından*, no. 13, pp. 44–48, 2007.
- [17] U. Topaloğlu, M. A. Ketani, and B. G. Saruhan, "Kemik doku ve kemikleşme çeşitleri," *Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Derg.*, vol. 10, no. 1, pp. 62–71, 2017.
- [18] W. Suchanek and M. Yoshimura, "Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants," *J. Mater. Res.*, vol. 13, no. 1, pp. 94–117, 1998, doi: 10.1557/JMR.1998.0015.
- [19] V. P. Orlovskii, V. S. Komlev, and S. M. Barinov, "Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics," *Inorg. Mater.*, vol. 38, no. 10, pp. 973–984, 2002, doi: 10.1023/A:1020585800572.
- [20] J. Park and R. S. Lakes, *Biomaterials, An introduction*, Third Edit. Springer US, 2007.
- [21] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. E. Lemons, *Biomaterials Science, An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd ed. 2004.
- [22] J. Y. Wong and J. D. Bronzino, *Biomaterials*, 1st ed., vol. 53, no. 9. 2007.
- [23] B. Stevens, Y. Yang, A. Mohandas, B. Stucker, and K. T. Nguyen, "A review of materials, fabrication methods, and strategies used to enhance bone regeneration in engineered bone tissues," *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 85B, no. 2, pp. 573–582, May 2008, doi: 10.1002/jbm.b.30962.
- [24] E. Hasret, "Hidroksiapatit sentezi, karakterizasyonu ve adsorban özelliğinin incelenmesi," Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2010.
- [25] Ş. Y. Güven, "Biyoyumluluk ve biyomalzemelerin seçimi," *Mühendislik Bilim. ve Tasarım Derg.*, vol. 2, no. 3, pp. 303–311, 2014, doi: 10.21923/mbtd.11616.
- [26] R. B. Heimann, "Materials science of crystalline bioceramics: a review of basic properties and applications," *Chiang Mai Univ. J.*, vol. 1, pp. 23–46, 2002.
- [27] S. R. Paital and N. B. Dahotre, "Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies," *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 66, no. 1–3, pp. 1–70, Aug. 2009, doi: 10.1016/j.mser.2009.05.001.

- [28] C. Kalkandelen, "Hidroksiapatit esaslı biyoseramik malzemelerin karakterizasyonu," Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2016.
- [29] L. L. Hench and J. Wilson, "An introduction to bioceramics," World Scientific Publishing Company, pp. 1–24.
- [30] A. Pasinli, "Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler," *Makine Teknol. Elektron. Derg.*, vol. 4, pp. 25–34, 2004.
- [31] H. Akça, O. İyibilgin, and E. Gepek, "Biyomalzemeler ile implant üretimi sürecinin biyotriboloji yönünden değerlendirilmesi," *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknol. Derg.*, vol. 8, pp. 667–692, Jan. 2020, doi: 10.29130/dubited.482400.
- [32] C. Pekşen and A. Doğan, "İmplant Dayanımı," *TOTBİD Derg.*, vol. 10, no. 2, pp. 122–128, 2011.
- [33] A. Yelten, "Sol-gel yöntemi ile üretilmiş alümina-bovine-hidroksiapatit (BHA) kompozitlerinin özellikleri ve karakterizasyonu," Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [34] B. Bulut, "Ticari inert cam katkılı hidroksiapatit-alümina ve hidroksiapatit-zirkonya kompozitlerin üretimi ve karakterizasyonu," Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2014.
- [35] V. J. Shirtliff and L. L. Hench, "Bioactive materials for tissue engineering, regeneration and repair," *J. Mater. Sci.*, vol. 38, no. 23, pp. 4697–4707, 2003, doi: 10.1023/A:1027414700111.
- [36] M. Manzano and M. Vallet-Regí, "Revisiting bioceramics: Bone regenerative and local drug delivery systems," *Prog. Solid State Chem.*, vol. 40, no. 3, pp. 17–30, 2012, doi: 10.1016/j.progsolidstchem.2012.05.001.
- [37] G. Heness and B. Ben-Nissan, "Innovative bioceramics," *Mater. Forum*, vol. 27, no. 2004, pp. 104–114, 2004.
- [38] "Bioceramics - A Historical Perspective," in *Bioceramic Coatings for Medical Implants*, Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2015, pp. 1–10.
- [39] A. T. Güner and C. Meran, "Biomaterials used in orthopedic implants," *Pamukkale Univ. J. Eng. Sci.*, vol. 26, no. 1, pp. 54–67, 2020, doi: 10.5505/pajes.2019.46666.
- [40] J. Jeong, J. H. Kim, J. H. Shim, N. S. Hwang, and C. Y. Heo, "Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration," *Biomater. Res.*, vol. 23, no. 1, pp. 1–11, 2019, doi: 10.1186/s40824-018-0149-3.
- [41] N. W. Kucko, R.-P. Herber, S. C. G. Leeuwenburgh, and J. A. Jansen, "Principles of Regenerative Medicine, Calcium Phosphate Bioceramics and Cements," in *Principles of Regenerative Medicine*, Third., Elsevier, 2019, pp. 591–611.
- [42] K. L. Low, S. H. Tan, S. H. S. Zein, J. A. Roether, V. Mouriño, and A. R. Boccaccini, "Calcium phosphate-based composites as injectable bone substitute materials: A review," *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 94B, no.

- 1, pp. 273–286, 2010, doi: 10.1002/jbm.b.31619.
- [43] A. I. Itala, H. O. Ylanen, C. Ekholm, K. H. Karlsson, and H. T. Aro, “Pore diameter of more than 100 μm is not requisite for bone ingrowth in rabbits,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 58, no. 6, pp. 679–683, 2001, doi: 10.1002/jbm.1069.
 - [44] J. M. Bouler, P. Pilet, O. Gauthier, and E. Verron, “Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response,” *Acta Biomater.*, vol. 53, pp. 1–12, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.076.
 - [45] D. Tadic and M. Eppele, “A thorough physicochemical characterisation of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone,” *Biomaterials*, vol. 25, no. 6, pp. 987–994, 2004, doi: 10.1016/S0142-9612(03)00621-5.
 - [46] Z. Evis, “Çeşitli iyonlar eklenmiş nano- hidroksiapatitler: üretim yöntemleri, iç yapı, mekanik ve biyouyumluluk özellikleri yönlerinden incelenmesi,” *Int. J. Res. Dev.*, vol. 3, no. 1, pp. 55–65, 2011.
 - [47] H. Zhou and J. Lee, “Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering,” *Acta Biomater.*, vol. 7, no. 7, pp. 2769–2781, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2011.03.019.
 - [48] B. Ghiasi, Y. Sefidbakht, and M. Rezaei, “Hydroxyapatite for biomedicine and drug delivery,” 2019, pp. 85–120.
 - [49] M. Bohner, “Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements,” *Injury*, vol. 31, no. SUPPL. 4, pp. D37–D47, Dec. 2000, doi: 10.1016/S0020-1383(00)80022-4.
 - [50] L. C. CHOW, “Next generation calcium phosphate-based biomaterials,” *Dent. Mater. J.*, vol. 28, no. 1, pp. 1–10, 2009, doi: 10.4012/dmj.28.1.
 - [51] M. Navarro, A. Michiardi, O. Castaño, and J. . Planell, “Biomaterials in orthopaedics,” *J. R. Soc. Interface*, vol. 5, no. 27, pp. 1137–1158, Oct. 2008, doi: 10.1098/rsif.2008.0151.
 - [52] S. Samavedi, L. K. Poindexter, M. Van Dyke, and A. S. Goldstein, “Synthetic biomaterials for regenerative medicine applications,” in *Regenerative Medicine Applications in Organ Transplantation*, Elsevier, 2014, pp. 81–99.
 - [53] T. Albrektsson and C. Johansson, “Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration,” *Eur. Spine J.*, vol. 10, pp. S96–S101, 2001, doi: 10.1007/s005860100282.
 - [54] S. Samavedi, A. R. Whittington, and A. S. Goldstein, “Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: A review of properties and their influence on cell behavior,” *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 9, pp. 8037–8045, 2013, doi: 10.1016/j.actbio.2013.06.014.
 - [55] N. Y. Mostafa, “Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 94, no. 2–3, pp. 333–341, Dec. 2005, doi: 10.1016/j.matchemphys.2005.05.011.
 - [56] S. V. Dorozhkin, “Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates,”

- Acta Biomater.*, vol. 6, no. 3, pp. 715–734, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.10.031.
- [57] P. Van Landuyt, F. Li, J. P. Keustermans, J. M. Streydio, F. Delannay, and E. Munting, “The influence of high sintering temperatures on the mechanical properties of hydroxylapatite,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 6, no. 1, pp. 8–13, May 1995, doi: 10.1007/BF00121239.
 - [58] S. V. Dorozhkin, “A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 6, pp. 3085–3110, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.msec.2013.04.002.
 - [59] M. Okada and T. Furuzono, “Hydroxylapatite nanoparticles: fabrication methods and medical applications,” *Sci. Technol. Adv. Mater.*, vol. 13, no. 6, p. 064103, Dec. 2012, doi: 10.1088/1468-6996/13/6/064103.
 - [60] E. M. Rivera-Muñoz, “Hydroxyapatite-based materials: synthesis and characterization,” in *Biomedical Engineering—Frontiers and Challenges*, InTechOpen, 2011.
 - [61] S. M. Best, A. E. Porter, E. S. Thian, and J. Huang, “Bioceramics: Past, present and for the future,” *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 28, no. 7, pp. 1319–1327, Jan. 2008, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2007.12.001.
 - [62] K. Lin and J. Chang, “Structure and properties of hydroxyapatite for biomedical applications,” in *Hydroxyapatite (Hap) for Biomedical Applications*, vol. 4214, no. 8, Elsevier, 2015, pp. 3–19.
 - [63] S. J. Kalita, A. Bhardwaj, and H. A. Bhatt, “Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 27, no. 3, pp. 441–449, Apr. 2007, doi: 10.1016/j.msec.2006.05.018.
 - [64] N. A. S. Mohd Pu’ad, P. Koshy, H. Z. Abdullah, M. I. Idris, and T. C. Lee, “Syntheses of hydroxyapatite from natural sources,” *Heliyon*, vol. 5, no. 5, p. e01588, May 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01588.
 - [65] S. Rujitanapanich, P. Kumpapan, and P. Wanjanoi, “Synthesis of hydroxyapatite from oyster shell via precipitation,” *Energy Procedia*, vol. 56, no. C, pp. 112–117, 2014, doi: 10.1016/j.egypro.2014.07.138.
 - [66] M. Descamps, J. C. Hornez, and A. Leriche, “Effects of powder stoichiometry on the sintering of β -tricalcium phosphate,” *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 27, no. 6, pp. 2401–2406, Jan. 2007, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2006.09.005.
 - [67] R. Famery, N. Richard, and P. Boch, “Preparation of α - and β -tricalcium phosphate ceramics, with and without magnesium addition,” *Ceram. Int.*, vol. 20, no. 5, pp. 327–336, Jan. 1994, doi: 10.1016/0272-8842(94)90050-7.
 - [68] N. Rangavittal, A. R. Landa-Cánovas, J. M. González-Calbet, and M. Vallet-Regí, “Structural study and stability of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate: Two important bioceramics,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 51, no. 4, pp. 660–668, Sep. 2000, doi: 10.1002/1097-4636(20000915)51:4<660::AID-JBM14>3.0.CO;2-B.
 - [69] M. Jarcho, R. L. Salsbury, M. B. Thomas, and R. H. Doremus, “Synthesis and

- fabrication of β -tricalcium phosphate (whitlockite) ceramics for potential prosthetic applications," *J. Mater. Sci.*, vol. 14, no. 1, pp. 142–150, Jan. 1979, doi: 10.1007/BF01028337.
- [70] R. Lagier and C.-A. Baud, "Magnesium Whitlockite, a calcium phosphate crystal of special interest in pathology," *Pathol. - Res. Pract.*, vol. 199, no. 5, pp. 329–335, Jan. 2003, doi: 10.1078/0344-0338-00425.
 - [71] S. Batool, U. Liaqat, Z. Hussain, and M. Sohail, "Synthesis, characterization and process optimization of bone Whitlockite," *Nanomaterials*, vol. 10, no. 9, p. 1856, Sep. 2020, doi: 10.3390/nano10091856.
 - [72] M. Spector, "Anorganic Bovine Bone and Ceramic Analogs of Bone Mineral as Implants to Facilitate Bone Regeneration," *Clin. Plast. Surg.*, vol. 21, no. 3, pp. 437–444, Jul. 1994, doi: 10.1016/S0094-1298(20)31021-X.
 - [73] D. S. Metsger, T. D. Driskell, and J. R. Paulsrud, "Tricalcium phosphate ceramic—a resorbable bone implant: review and current status," *J. Am. Dent. Assoc.*, vol. 105, no. 6, pp. 1035–1038, Dec. 1982, doi: 10.14219/jada.archive.1982.0408.
 - [74] P. Chen *et al.*, "Evolution of the microstructural and mechanical properties of hydroxyapatite bioceramics with varying sintering temperature," *Ceram. Int.*, vol. 45, no. 13, pp. 16226–16233, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.ceramint.2019.05.144.
 - [75] B. Viswanath and N. Ravishankar, "Interfacial reactions in hydroxyapatite/alumina nanocomposites," *Scr. Mater.*, vol. 55, no. 10, pp. 863–866, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.scriptamat.2006.07.049.
 - [76] C. Y. Ooi, M. Hamdi, and S. Ramesh, "Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone," *Ceram. Int.*, vol. 33, no. 7, pp. 1171–1177, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.ceramint.2006.04.001.
 - [77] E. Hosseinzadeh, M. Davarpanah, N. H. Nemati, and S. A. Tavakoli, "Fabrication of a hard tissue replacement using natural hydroxyapatite derived from bovine bones by thermal decomposition method," *Int. J. Organ Transplant. Med.*, vol. 5, no. 1, pp. 23–31, 2014.
 - [78] R.-X. Sun *et al.*, "Physicochemical and biological properties of bovine-derived porous hydroxyapatite/collagen composite and its hydroxyapatite powders," *Ceram. Int.*, vol. 43, no. 18, pp. 16792–16798, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2017.09.075.
 - [79] G. Daculsi, "Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute," *Biomaterials*, vol. 19, no. 16, pp. 1473–1478, Aug. 1998, doi: 10.1016/S0142-9612(98)00061-1.
 - [80] M. H. Hong, S. M. Kim, and Y. K. Lee, "Mechanical and biological properties of biphasic calcium phosphate scaffold depending on different nanoparticle fabrication methods," *J. Ceram. Sci. Technol.*, vol. 8, no. 4, pp. 541–546, 2017, doi: 10.4416/JCST2017-00033.
 - [81] S. Sánchez-Salcedo, D. Arcos, and M. Vallet-Regí, "Upgrading calcium

- phosphate scaffolds for tissue engineering applications," *Key Eng. Mater.*, vol. 377, pp. 19–42, Mar. 2008, doi: 10.4028/www.scientific.net/KEM.377.19.
- [82] M. Jamil *et al.*, "Development of triphasic hydroxyapatite/(α and β)-tricalcium phosphate based composites by sintering powder of calcium-apatite in the presence of montmorillonite," *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, vol. 30, no. 7, pp. 2489–2498, Jul. 2020, doi: 10.1007/s10904-020-01479-9.
- [83] S. Mondal *et al.*, "Synthesis, characterization and in vitro cytotoxicity assessment of hydroxyapatite from different bioresources for tissue engineering application," *Bull. Mater. Sci.*, vol. 35, no. 4, pp. 683–691, Aug. 2012, doi: 10.1007/s12034-012-0346-y.
- [84] M. Boutinguiza, J. Pou, R. Comesaña, F. Lusquiños, A. de Carlos, and B. León, "Biological hydroxyapatite obtained from fish bones," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 32, no. 3, pp. 478–486, Apr. 2012, doi: 10.1016/j.msec.2011.11.021.
- [85] B. Liaset, K. Julshamn, and M. Espe, "Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex™," *Process Biochem.*, vol. 38, no. 12, pp. 1747–1759, Jul. 2003, doi: 10.1016/S0032-9592(02)00251-0.
- [86] J. Venkatesan and S. K. Kim, "Effect of temperature on isolation and characterization of hydroxyapatite from tuna (*thunnus obesus*) bone," *Materials (Basel)*, vol. 3, no. 10, pp. 4761–4772, Oct. 2010, doi: 10.3390/ma3104761.
- [87] K. Poslu and I. Arslan, "Dünya bor mineralleri ve bileşikleri üretiminde Türkiye'nin yeri," *Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu*, pp. 33–42, 1995.
- [88] T. D. Tombal, Ş. G. Özkan, İ. K. Ünver, and A. E. Osmanoğlu, "Bor bileşiklerinin özellikleri, üretimi, kullanımı ve nükleer reaktör teknolojisinde önemi," *Bor Derg.*, vol. 1, no. 2, pp. 86–95, 2016.
- [89] I. Töre and N. Ay, "Amorf bor oksit eldesi ve karakterizasyonu," *II. Uluslararası Bor Sempozyumu*, vol. 02, no. I, pp. 127–132, 2004.
- [90] J. Q. Qi, Y. Wang, W. P. Chen, and H. L. W. Chan, "Effect of B2O3 vapor doping on the lattice parameter and electrical properties in BaTiO3 ceramics," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 42, no. Part 2, No. 12B, pp. L1516–L1518, Dec. 2003, doi: 10.1143/JJAP.42.L1516.
- [91] S. Prasad S. *et al.*, "Effect of boron oxide addition on structural, thermal, in vitro bioactivity and antibacterial properties of bioactive glasses in the base S53P4 composition," *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 498, no. June, pp. 204–215, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2018.06.027.
- [92] D. Aki *et al.*, "3D printing of PVA/hexagonal boron nitride/bacterial cellulose composite scaffolds for bone tissue engineering," *Mater. Des.*, vol. 196, p. 109094, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.matdes.2020.109094.
- [93] A. M. Cakmak *et al.*, "3D Printed polycaprolactone/gelatin/bacterial cellulose/hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering," *Polymers (Basel)*, vol. 12, no. 9, p. 1962, Aug. 2020, doi:

10.3390/polym12091962.

- [94] O. Gunduz *et al.*, "Preparation and evaluation of cerium oxide-bovine hydroxyapatite composites for biomedical engineering applications," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 35, pp. 70–76, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.jmbbm.2014.03.004.
- [95] S. Meejoo, W. Maneepprakorn, and P. Winotai, "Phase and thermal stability of nanocrystalline hydroxyapatite prepared via microwave heating," *Thermochim. Acta*, vol. 447, no. 1, pp. 115–120, Aug. 2006, doi: 10.1016/j.tca.2006.04.013.
- [96] Y.-J. Chen *et al.*, "Evaluation of new biphasic calcium phosphate bone substitute: rabbit femur defect model and preliminary clinical results," *J. Med. Biol. Eng.*, vol. 37, no. 1, pp. 85–93, Feb. 2017, doi: 10.1007/s40846-016-0203-3.
- [97] S. Ulag *et al.*, "Fabrication of three-dimensional PCL/BiFeO₃ scaffolds for biomedical applications," *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 261, no. July, p. 114660, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.mseb.2020.114660.
- [98] R. Ternane *et al.*, "Introduction of boron in hydroxyapatite: synthesis and structural characterization," *J. Alloys Compd.*, vol. 333, no. 1–2, pp. 62–71, Feb. 2002, doi: 10.1016/S0925-8388(01)01558-4.
- [99] S. Barheine, S. Hayakawa, A. Osaka, and C. Jaeger, "Surface, interface, and bulk structure of borate containing apatitic biomaterials," *Chem. Mater.*, vol. 21, no. 14, pp. 3102–3109, Jul. 2009, doi: 10.1021/cm900204q.
- [100] T. Riaz *et al.*, "FTIR analysis of natural and synthetic collagen," *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 53, no. 9, pp. 703–746, Oct. 2018, doi: 10.1080/05704928.2018.1426595.
- [101] Q. Zhu *et al.*, "The preparation and characterization of HA/ β -TCP biphasic ceramics from fish bones," *Ceram. Int.*, vol. 43, no. 15, pp. 12213–12220, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2017.06.082.
- [102] D. K. Pattanayak, P. Divya, S. Upadhyay, R. C. Prasad, B. T. Rao, and T. R. Rama Mohan, "Synthesis and evaluation of hydroxyapatite ceramics," *Trends Biomater. Artif. Organs*, vol. 18, no. 2, pp. 87–92, 2005.
- [103] L. Berzina-Cimdina and N. Borodajenko, "Research of calcium phosphates using fourier transform infrared spectroscopy," in *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*, InTech, 2012.
- [104] N. Akçamlı, D. Ağaoğulları, Ö. Balcı, M. L. Öveçoğlu, and İ. Duman, "Synthesis of triclinic and hexagonal SmBO₃ powders by mechanically activated annealing of Sm₂O₃ and B₂O₃ blends," *Ceram. Int.*, vol. 42, no. 8, pp. 10045–10057, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.ceramint.2016.03.108.
- [105] A. Muhammad Noorazlan, H. Mohamed Kamari, S. S. Zulkefly, and D. W. Mohamad, "Effect of erbium nanoparticles on optical properties of zinc borotellurite glass system," *J. Nanomater.*, vol. 2013, pp. 1–8, 2013, doi: 10.1155/2013/940917.

- [106] Samdani, M. Shareefuddin, G. Ramadevudu, S. L. S. Rao, and M. Narasimha Chary, "Physical, optical, and spectroscopic studies on MgO-BaO-B₂O₃ glasses," *ISRN Ceram.*, vol. 2013, pp. 1–11, Dec. 2013, doi: 10.1155/2013/419183.
- [107] H. Doweidar, G. El-Damrawi, and E. F. El Agammy, "Structural correlations in BaO–PbO–B₂O₃ glasses as inferred from FTIR spectra," *Vib. Spectrosc.*, vol. 73, pp. 90–96, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.vibspec.2014.05.003.
- [108] R. Ternane, "Synthesis and characterization of new oxyborapatite. Investigation of the ternary system CaO–P₂O₅–B₂O₃," *Solid State Ionics*, vol. 160, no. 1–2, pp. 183–195, May 2003, doi: 10.1016/S0167-2738(03)00161-9.
- [109] D. L. Goloshchapov *et al.*, "Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by precipitation using hen's eggshell," *Ceram. Int.*, vol. 39, no. 4, pp. 4539–4549, May 2013, doi: 10.1016/j.ceramint.2012.11.050.
- [110] O. Albayrak and M. Ugurlu, "Bor katkılı hidroksiapatit üretimi ve karakterizasyonu: Bor oranı ve sinterleme sıcaklığının yapı ve mekanik özellikler üzerindeki etkisi," *Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Derg.*, vol. 31, no. 3, pp. 749–761, Sep. 2016, doi: 10.17341/gummfd.59636.
- [111] C. Gautam, A. K. Yadav, and A. K. Singh, "A review on infrared spectroscopy of borate glasses with effects of different additives," *ISRN Ceram.*, vol. 2012, pp. 1–17, Nov. 2012, doi: 10.5402/2012/428497.
- [112] S. Dorozhkin, "Calcium orthophosphate-based bioceramics," *Materials (Basel)*, vol. 6, no. 9, pp. 3840–3942, Sep. 2013, doi: 10.3390/ma6093840.
- [113] T. Goto and K. Sasaki, "Effects of trace elements in fish bones on crystal characteristics of hydroxyapatite obtained by calcination," *Ceram. Int.*, vol. 40, no. 7, pp. 10777–10785, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.ceramint.2014.03.067.
- [114] M. Beltcheva, R. Metcheva, V. Peneva, M. Marinova, Y. Yankov, and V. Chikova, "Heavy metals in Antarctic Notothenioid fish from South Bay, Livingston Island, South Shetlands (Antarctica)," *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 141, no. 1–3, pp. 150–158, Jun. 2011, doi: 10.1007/s12011-010-8739-5.
- [115] A. E. Pazarçeviren, A. Tezcaner, D. Keskin, S. T. Kolukısa, S. Sürdem, and Z. Evis, "Boron-doped biphasic hydroxyapatite/ β -Tricalcium phosphate for bone tissue engineering," *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 199, no. 3, pp. 968–980, Mar. 2021, doi: 10.1007/s12011-020-02230-8.
- [116] M. A. Lopes, F. J. Monteiro, and J. D. Santos, "Glass-reinforced hydroxyapatite composites: fracture toughness and hardness dependence on microstructural characteristics," *Biomaterials*, vol. 20, no. 21, pp. 2085–2090, Nov. 1999, doi: 10.1016/S0142-9612(99)00112-X.
- [117] Z. Yazdanpanah, M. E. Bahrololoom, and B. Hashemi, "Evaluating morphology and mechanical properties of glass-reinforced natural hydroxyapatite composites," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 41, pp. 36–42, 2015, doi: 10.1016/j.jmbbm.2014.09.021.
- [118] S. Ramesh *et al.*, "Direct conversion of eggshell to hydroxyapatite ceramic by

- a sintering method," *Ceram. Int.*, vol. 42, no. 6, pp. 7824–7829, May 2016, doi: 10.1016/j.ceramint.2016.02.015.
- [119] L. M. Rodríguez-Lorenzo, M. Vallet-Regí, and J. M. F. Ferreira, "Fabrication of hydroxyapatite bodies by uniaxial pressing from a precipitated powder," *Biomaterials*, vol. 22, no. 6, pp. 583–588, Mar. 2001, doi: 10.1016/S0142-9612(00)00218-0.
- [120] Z. B. Bulut, N. Demirkol and E. S. K. E. Erkmen, "Comparison of Microstructural and Mechanical Properties of Hydroxyapatite-Al₂O₃ Composites with Commercial Inert Glass (CIG) Addition HA-," vol. 127, no. 4, pp. 1094–1096, 2015, doi: 10.12693/APhysPolA.127.1094.
- [121] G. Goller *et al.*, "Effect of sintering temperature on mechanical and microstructural properties of bovine hydroxyapatite (BHA)," *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 37, no. 2, pp. 111–115, Feb. 2006, doi: 10.1007/s10971-006-6428-9.
- [122] M. S. Başpınar, S. Özsoy, F. Çolak, G. Görhan, and R. Kara, "Farklı mineral yapıya sahip kalsiyum fosfat tozlarının sinterleme özelliklerinin karşılaştırılması," *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilim. Derg.*, pp. 69–75.
- [123] A. Harabi, E. Harabi, S. Chehlatt, S. Zouai, N.-E. Karboua, and L. Foughali, "Effect of B₂O₃ on mechanical properties of porous natural hydroxyapatite derived from cortical bovine bones sintered at 1,050°C," *Desalin. Water Treat.*, vol. 57, no. 12, pp. 5303–5309, Mar. 2016, doi: 10.1080/19443994.2015.1021997.
- [124] S. Salman *et al.*, "Sintering effect on mechanical properties of composites of natural hydroxyapatites and titanium," *Ceram. Int.*, vol. 35, no. 7, pp. 2965–2971, Sep. 2009, doi: 10.1016/j.ceramint.2009.04.004.
- [125] F. N. Oktar *et al.*, "Mechanical properties of bovine hydroxyapatite (BHA) composites doped with SiO₂, MgO, Al₂O₃, and ZrO₂," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 18, no. 11, pp. 2137–2143, Nov. 2007, doi: 10.1007/s10856-007-3200-9.
- [126] O. Gil-Castell, J. D. Badia, I. Ontoria-Oviedo, D. Castellano, P. Sepúlveda, and A. Ribes-Greus, "Polycaprolactone/gelatin-based scaffolds with tailored performance: in vitro and in vivo validation," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 107, p. 110296, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.msec.2019.110296.
- [127] İ. Uysal, B. Yılmaz, and Z. Evis, "Boron doped Hydroxapatites in Biomedical Applications," *J. Boron*, vol. 5, no. 4, pp. 199–208, Oct. 2020, doi: 10.30728/boron.734804.
- [128] S. S. Hakki, B. S. Bozkurt, and E. E. Hakki, "Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1)," *J. Trace Elem. Med. Biol.*, vol. 24, no. 4, pp. 243–250, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.jtemb.2010.03.003.
- [129] R. F. Brown *et al.*, "Effect of borate glass composition on its conversion to hydroxyapatite and on the proliferation of MC3T3-E1 cells," *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 88A, no. 2, pp. 392–400, Feb. 2009, doi: 10.1002/jbm.a.31679.

Makale

1. M. Bas, S. Daglilar, N. Kuskonmaz, and C. Kalkandelen, "Mechanical and biocompatibility properties of calcium phosphate bioceramics derived from salmon fish bone wastes," *Int. J. Mol. Sci. Artic.*, 2020, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21218082>.

Konferans Bildirisi

1. M. Bas, S. Daglilar, C. Kalkandelen and O. Gunduz, "Use of waste salmon bones as a biomaterial," in *2020 Medical Technologies Congress (TIPTEKNO)*, Nov. 2020, pp. 1-4, doi: 10.1109/TIPTEKNO50054.2020.9299226.