

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NİŞASTA KONSOLİDASYON DÖKÜM YÖNTEMİ İLE ATIK
YUMURTA KABUĞU KULLANILARAK GÖZENEKLİ KALSİYUM
SİLİKAT ÜRETİMİ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge KAVÇAK

**İleri Teknolojiler Anabilim Dalı
Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Programı**

EYLÜL 2020

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NİŞASTA KONSOLİDASYON DÖKÜM YÖNTEMİ İLE ATIK YUMURTA
KABUĞU KULLANILARAK GÖZENEKLİ KALSİYUM SİLİKAT ÜRETİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Özge KAVÇAK
(181212874009)
ORCID: 0000-0002-3113-5085**

**İleri Teknolojiler Anabilim Dalı
Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Programı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ
ORCID: 0000-0001-7515-5427**

EYLÜL 2020

BTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 181212874009 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Özge KAVÇAK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “NİŞASTA KONSOLİDASYON DÖKÜM YÖNTEMİ İLE ATIK YUMURTA KABUĞU KULLANILARAK GÖZENEKLİ KALSİYUM SİLİKAT ÜRETİMİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ**
Bursa Teknik Üniversitesi

Eş Danışman : **Dr. Öğr. Üyesi Pınar TERZİOĞLU**
Bursa Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Deniz UZUNSOY**
Bursa Teknik Üniversitesi

.....
Doç. Dr. Neslihan TAMSÜ SELLİ
Gebze Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : 27 Ağustos 2020
Savunma Tarihi : 7 Eylül 2020



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Bursa Teknik Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere göre uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, Bursa Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 200T002 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 1649B021901552 numaralı TÜBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs projesi ile desteklenmiştir.

İNTİHAL BEYANI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belgelediğimi, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Özge KAVÇAK

İmzası :

XXXX



Aileme,

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenen, bana yol gösteren, her türlü teşvik ve fedakarlıkta bulunan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, gülyüzü ve samimiyetini hiç kaybetmeyen, kıymetli zamanını bitirme çalışması için ayıran, deney ve yazım aşamalarında yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışmanım Doç. Dr. Ayşe KALEMTAŞ'a bilimsel katkıları için en derin teşekkürlerimi sunuyorum.

TÜBİTAK 2210-C Önelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs projesi kapsamında desteklenen bitirme tezi çalışmasına maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Müdürlüğüne ve Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Bursa Teknik Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölüm hocalarım başta Prof. Dr. Deniz UZUNSOY olmak üzere tüm hocalarıma, yardımlarını esirgemeyen tüm araştırma görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Sitotoksiste testlerinin gerçekleştirilmesinde Konya Selçuk Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümü hocalarından saygıdeğer Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm AYDIN'a değerli katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Yaşamım boyunca her türlü konuda maddi ve manevi beni destekleyen, karşılaştığım bütün sorunlarda yanımda olan babam Canip KAVÇAK, annem Şengül KAVÇAK ve kardeşim Uğur KAVÇAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos 2020

Özge KAVÇAK
(Mühendis)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR.....	viii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Doku Mühendisliği.....	4
2.2. Doku İskelesi.....	7
2.2.1. Doku iskelesi üretiminde kullanılan malzemeler	10
2.2.1.1. Metalik biyomalzeme	10
2.2.1.2. Polimerik biyomalzeme	10
2.2.1.3. Kompozit biyomalzeme	12
2.2.1.4. Seramik biyomalzeme.....	12
3. BİYOSERAMİKLER	13
3.1 Kalsiyum Fosfat Seramikleri	14
3.1.1 Hidroksiapatit	16
3.1.2 Tri kalsiyum fosfat	16
3.1.3. İki fazlı kalsiyum fosfat	17
3.1.4. Cam seramikleri	17
3.1.5. Silikat seramikler.....	17
3.1.5.1. Kalsiyum silikat	18
3.1.5.2. Dikalsiyum silikat-larnit	20
3.1.5.3. Wollastonit	21
3.1.5.4. Akermanit.....	22
3.1.5.5 Diyopsit	22
3.2. Üretim Yöntemleri	23
3.2.1. Üç boyutlu baskılama yöntemi.....	24
3.2.2. Nişastayla konsolidasyon yöntemi	24
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	27
4.1 Başlangıç malzemeleri.....	27
4.1.1 Atık yumurta kabuğu öğütme işlemi	27
4.1.2 Kaolen ilavesi.....	28
4.1.3. Silika ilavesi.....	28
4.1.4. Güneş mısır nişastası kullanımı.....	29
4.2 Kalsiyum Silikat Doku İskelesi Üretimi	30
4.2.1. Fonksiyonel aşamalı doku iskelesi üretimi	31

4.2.2. Silika oranının ve kil takviyesinin etkisi için tasarlanan bileşimler	32
4.3 Karakterizasyon Çalışmaları	33
4.3.1. Silika ve yumurta kabuğu karakterizasyonu	35
4.3.2. XRD ile faz bileşiminin belirlenmesi	38
4.3.3. Sinterleme çekmeleri	47
4.3.4. Dört katmanlı fonksiyonel aşamalı di kalsiyum silikat üretimi	51
4.3.5. FTIR analizi.....	55
4.3.6. Yoğunluk değerinin hesaplanması.....	57
4.3.7. Termal analiz	59
4.3.8. In vitro sitotoksite testi.....	59
5. GENEL SONUÇLAR	62
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ	77



KISALTMALAR

Al₂O₃	: Alüminyum Oksit
BGs	: Biyoaktif Camlar
BMSCs	: Mezenkimal Kök Hücre
Ca	: Kalsiyum
CaP	: Kalsiyum Fosfat
CaSiO₃	: Wollastonite
Ca₂SiO₄	: Larnite
Ca₃SiO₅	: Tri Kalsiyum Silikat
Ca₃Si₂O₇	: Tri Kalsiyum Disilikonheptaoksit
CaMgSi₂O₆	: Diyopsit
Ca₂MgSi₂O₇	: Akermanit
Ca₃ZrSi₂O₉	: Baghdadite
DSM-CS	: Düşük Silika ve Müllit Takviyeli Kalsiyum Silikat
DSS-CS	: Düşük Silika İçerikli Kalsiyum Silikat
ECM	: Hücre Dışı Matris
HA	: Hidroksiapatit
M-CS	: Müllit Takviyeli Kalsiyum Silikat
OCP	: Oktakalsiyum Fosfat
PCL	: Polikaprolakton
PEEK	: Polieter Keton
PLA	: Polilaktik Asit
PLGA	: Poliglikolik Asit
PMMA	: Polimetil Metakrilat
PPF	: Polipropilen Fumarat
PS	: Polistren
SBF	: Simüle Edilmiş Vücut Sıvısı
Si	: Silisyum
S-CS	: Stokiyometrik Kalsiyum Silikat
TCP	: Tri Kalsiyum Fosfat

β-TCP	: β -Tri Kalsiyum Fosfat
TiO₂	: Titanyum Oksit
YSM-CS	: Yüksek Silika ve Müllit Takviyeli Kalsiyum Silikat
YSS-CS	: Silika İçerikli Kalsiyum Silikat
ZrO₂	: Zirkonyum Oksit



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Doku iskelesi üretiminde kullanılan numune boyutları, üretim teknikleri ve mekanik özellikler	9
Çizelge 3.1 : Doku iskelesi üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları	23
Çizelge 4.1 : Silika oranının ve kil takviyesinin kalsiyum silikat oluşumu üzerine etkisini incelemek üzere tasarlanan bileşimler.....	32
Çizelge 4.2 : FTIR analizi için yapılan çalışmalar	60



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Kemiğin hiyerarşik yapısı	5
Şekil 2.2 : Kemik doku mühendisliğinin temeli.....	6
Şekil 2.3 : Doğal ve sentetik polimerlere verilen örnekler	11
Şekil 3.1 : Biyoinert, biyoaktif ve biyobozunur malzemelerin özellikleri	14
Şekil 3.2 : Doku iskelesinin vücut üzerinde kullanımları.....	15
Şekil 3.3 : Kalsiyum silikatın perovskit yapısı.....	19
Şekil 3.4 : Nişasta konsolidasyon tekniği ile şekillendirme sürecine ait şematik gösterim	25
Şekil 4.1 : a) Yumurta kabuğu, c) öğütme işlemi öncesi hazneye konulan yumurta kabukları, d) titreşimli öğütme cihazı ve e) öğütme sonrası yumurta kabukları toz formu	28
Şekil 4.2 : Bilyeli değirmen cihazı	29
Şekil 4.3 : Gerçekleştirilen deneysel çalışmalara ait genel bir akım şeması.	30
Şekil 4.4 : Kalsiyum silikat esaslı doku iskelesi tasarımı	31
Şekil 4.5 : Tasarlanan fonksiyonel aşamalı kalsiyum silikat biyoseramiği	31
Şekil 4.6 : Üretimi gerçekleştirilmiş olan fonksiyonel aşamalı kalsiyum silikat doku iskeleleri (yaş bünyeler)	32
Şekil 4.7 : a) Nişasta konsolidasyon tekniği ile elde edilen gözenekli yaş bünyeler ve b) sinterleme sonucu elde edilen gözenekli doku iskeleleri	33
Şekil 4.8 : Kaolene ait XRD analiz sonucu.....	34
Şekil 4.9 : Kaolenin a) 7 kx ve b) 20 kx büyütmeledeki SEM görüntüleri	34
Şekil 4.10 : Güneş mısır nişastasına ait a) 100X ve b) 500X büyütmede SEM görüntüleri	35
Şekil 4.11 : Güneş mısır nişastasına ait TG analiz sonucu	35
Şekil 4.12 : Silikanın XRD analiz sonucu	36
Şekil 4.13 : Silikanın a) ile b) 1 kx, c) 5 kx ve d) 10 kx büyütmeledeki SEM görüntüsü	36
Şekil 4.14 : Atık yumurta kabuğuna ait XRD sonucu	37
Şekil 4.15 : Yumurta kabuğunun a) 1 kx, b) 5 kx, ve c) ile d) 10 kx büyütmeledeki SEM görüntüleri.....	38
Şekil 4.16 : Nişastayla konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1200°C’de 1,5 saat süreyle sinterlenen doku iskelesine ait XRD analiz sonucu	38
Şekil 4.17 : 1200°C de sinterlenen tek tabakalı yapıya ait farklı büyütmeledeki taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	39
Şekil 4.18 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen M-CS numunesinin XRD paterni.....	40
Şekil 4.19 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen M-CS numunesinin XRD analiz sonucu	41
Şekil 4.20 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen S-CS numunesinin XRD paterni.....	41

Şekil 4.21 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen S-CS numunesinin XRD analiz sonucu	42
Şekil 4.22 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSM-CS numunesinin XRD paterni.....	43
Şekil 4.23 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSM-CS numunesinin XRD paterni.....	43
Şekil 4.24 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSM-CS numunesinin XRD paterni.....	44
Şekil 4.25 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSM-CS numunesinin XRD paterni.....	44
Şekil 4.26 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSS-CS numunesinin XRD paterni.....	45
Şekil 4.27 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSS-CS numunesinin XRD analiz sonucu	45
Şekil 4.28 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSS-CS numunesinin XRD paterni.....	46
Şekil 4.29 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSS-CS numunesinin XRD paterni.....	47
Şekil 4.30 : Nişastayla konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1200°C’de 2 saat süreyle sinterlenen 6 farklı içeriğe sahip doku iskelelerinin görüntüleri	48
Şekil 4.31 : Sinterleme sıcaklığı 1200°C olan 2 saat süreyle sinterlenen doku iskelelerinin sinterleme öncesi ve sonrası boyut ölçümlerindeki (çap-kalınlık) % küçülme	49
Şekil 4.32 : Nişastayla konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1250°C’de 2 saat süreyle sinterlenen 6 farklı içeriğe sahip doku iskelelerinin görüntüleri	50
Şekil 4.33 : Sinterleme sıcaklığı 1250°C olan 2 saat süreyle sinterlenen doku iskelelerinin sinterleme öncesi ve sonrası boyut ölçümlerindeki (çap-kalınlık) % küçülme	51
Şekil 4.34 : Kalsiyum silikat doku iskelelerinin 1300°C’de 2 saat süreyle sinterlenmesi sonucuna ait görüntü.....	52
Şekil 4.35 : Dört katmanlı fonksiyonel aşamalı di kalsiyum silikat tasarımı.	53
Şekil 4.36 : Nişasta konsolidasyon tekniği kullanılarak üretilen dört katmanlı fonksiyonel aşamalı di kalsiyum silikat numunelerinin 250X (1 ile 10 arası numara verilen) ve 1000X büyütmedeki SEM görüntüleri.	53
Şekil 4.37 : Farklı içeriklere sahip 6 reçete ile üretilen kalsiyum silikat doku iskelelerinin 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen FTIR analiz sonucu	56
Şekil 4.38 : Farklı içeriklere sahip 6 reçete ile üretilen kalsiyum silikat doku iskelelerinin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen FTIR analiz sonucu	57
Şekil 4.39 : Sinterleme rejimi 1250°C sıcaklıkta 2 saat olan numunelerin geometrik yoğunlaşma değerleri	58
Şekil 4.40 : S-CS numunesinin TG-DTG analizi.....	59
Şekil 4.41 : In vitro sitotoksite analiz sonucu	61

NIŞASTA KONSOLİDASYON DÖKÜM YÖNTEMİ İLE ATIK YUMURTA KABUĞU KULLANILARAK GÖZENEKLİ KALSİYUM SİLİKAT ÜRETİMİ

ÖZET

Tez çalışması kapsamında atık tavuk yumurta kabuğu ve silika kullanılarak nişasta konsolidasyon tekniği ile kalsiyum silikat esaslı biyoseramik malzemelerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Yumurta kabuğundan biyoseramik sentezi sürecinde bileşimde kullanılan silika miktarının ve sisteme kaolen takviyesinin elde edilen faz bileşimi üzerine etkisi incelenmiştir. Sinterleme çalışmaları 3°C/dakika sinterleme hızı uygulanarak, 1100–1300°C aralığında ve 2 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Sinterleme öncesi ve sonrası boyut (çap ve kalınlık) ölçümleri yapılarak % sinterleme çekmeleri hesaplanmıştır. Üretilen numunelerin x-ışını kırınım yöntemiyle faz bileşimi, taramalı elektron mikroskopuyla içyapı özellikleri ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi spektroskopisi ile kimyasal yapıları incelenmiştir. Tasarlanan bileşim ve sinterleme süresine bağlı olarak yapıda farklı fazların oluştuğu belirlenmiştir. Faz analizi sonuçları incelendiğinde her bir tasarımda kalsiyum silikat veya larnite fazlarının oluştuğu ancak koşullara ve bileşime bağlı olarak wollastonit gibi farklı fazların da yapıda oluşabildiği belirlenmiştir. Tasarlanan stokiometrik dikalsiyum silikat bileşimindeki numunelerin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu yapıda sadece dikalsiyum silikat fazının oluştuğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kalsiyum silikat sentezi, doku iskelesi, atık yumurta kabuğu, nişasta konsolidasyon yöntemi

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF POROUS CALCIUM SILICATE CERAMICS BY STARCH CONSOLIDATION TECHNIQUE BY USING WASTE EGG SHELLS

SUMMARY

In this thesis work, calcium silicate-based bioceramic materials were produced with starch consolidation technique using waste chicken eggshell and silica. The effect of the amount of silica used in the composition in the process of bioceramic synthesis from eggshell and kaolin reinforcement to the system on the phase composition achieved was investigated. Sintering studies were carried out by applying a 3°C/min sintering rate, between 1100-1300 °C and 2 hours. Sintering shrinkage % was calculated by measuring the size (diameter and thickness) of the samples before and after sintering. The phase composition of the samples was investigated using the x-ray diffraction method, microstructure development was investigated with a scanning electron microscope, and chemical structures were examined with Fourier Transform Infrared spectroscopy. It was determined that different phases were formed in the structure depending on the designed composition and applied sintering conditions. When the phase analysis results were examined, it was determined that calcium silicate or larnite phases were formed in each design, but depending on the conditions and composition, different phases such as wollastonite could also be formed in the structure. It was determined that only the dicalcium silicate phase was formed in the structure as a result of sintering the samples with the designed stoichiometric dicalcium silicate composition at 1250 °C for 2 hours.

Keywords: Calcium silicate synthesis, scaffold, waste egg shell, starch consolidation method

1. GİRİŞ

Günümüzde gözenekli seramik malzemeler özellikle sahip oldukları yüksek ergime sıcaklığı, uygun elektriksel özellikler, yüksek korozyon ve aşınma direnci gibi özellikleri ile dikkat çekmekte ve bu özelliklerinden dolayı birçok uygulama alanında kullanım potansiyeline sahiptir. [1] Gözenekli seramik malzemeler brülör, ısıl bariyer kaplamalar, gazlar ve sıvılar için kullanılan filtreler, ısı değiştiriciler, sensörler, katalizör, katalizör destekleri, biyomedikal uygulamalar, doku mühendisliği uygulamaları, ısıl veya akustik yalıtım malzemeleri gibi pek çok farklı uygulama alanlarında kullanılmaktadır. [2-3]

Seramik malzemelerin en önemli dallarından biri olan biyoseramikler de biyomedikal uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyoseramikler vücudun zarar gören ya da işlevini yitiren organlarının onarımı, yeniden yapılandırılması veya yerini alması amacıyla kullanılan malzemelerdir. Biyoseramik malzemelerin pek çok özelliğe sahip olması beklenmektedir. Bunların başında da toksik, alerjik ve alev alabilen yapıda olmaması, kanserojen madde içermemesi ve biyouyumlu olmaları gerekmektedir. [4,5]

Son zamanlarda, yaralanma ve hastalıktan kaybedilen dokunun veya organın değiştirilmesi ve onarılması için yapılan çalışmalar hızla artış göstermiştir. [6-7] Bu sebeple yeni bir tedavi yöntemi olan doku mühendisliği dikkatleri üzerine çekmiştir. Doku mühendisliği, kaybedilmiş veya hastalıklı doku ya da organların rejenerasyonu/geri kazanımı amacı ile biyolojik malzemelerin geliştirilmesini hedefleyen ve birden fazla alanı ilgilendiren disiplinlerarası bir alandır. Hastadan elde edilen hücrelerin biyosinyal moleküller ile birlikte yapay doku iskelelerine ekilerek çoğaltılması ve hasta olan bölgeye aktarılması temeline dayanır.

Doku mühendisliğindeki önemli noktalardan birisi de doku iskeleleridir. Doku iskeleleri, hücre dışı matris (ECM) sağlayarak hücrelerin yapışıp çoğalmasını sağlayan üç boyutlu yapay bir yapıdır [8]. Doku iskeleleri kemik doku, kıkırdak doku, deri doku vb. gibi farklı uygulama alanlarına sahiptir. Doku iskelesi üretiminde

kullanılacak biyomalzeme büyük bir öneme sahiptir. Doku iskelesi üretiminde kullanılacak olan biyomalzemeler belirli özelliklere sahip olmalıdırlar. İskele üretiminde kullanılan malzemeler vücut içerisinde biyouyumlu olup toksik özellik göstermemelidir. Yeni dokunun oluşumu sırasında doku iskelesinin çökmemesi için, malzeme bozunması ile doku oluşum hızı birbirine uygun olmalıdır. [13] Ayrıca gözenek boyut ve şekli de hücre canlılığının korunmasında oldukça önemlidir. [14]

Doku iskelesi üretiminde biyomalzeme olarak seramik, polimer ve kompozit malzemeler kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda seramik malzemelerin doku iskelesi üretiminde sıklıkla tercih edildiği görülmüştür. Kemik grefti malzemesinin yaklaşık %60'ının seramik olduğu ve temelde kalsiyum sülfat [19-21], kalsiyum fosfat (CaP) seramiklerini içerdiği bilinmektedir. Bu seramiklerin ortak özellikleri osteokondüktiviteye sahip olmaları ve kemik rejenerasyonunda uygulanabilmeleridir.

Geniş bir bileşim çeşitliliğine sahip silikat seramikler farklı biyoaktif özelliklere sahiptir. Bazı biyosilikat seramikler kemik doku mühendisliği doku iskelesi uygulamalarında kullanılmaktadır. Bu seramiklere örnek olarak kalsiyum silikat, diopsid, akermanite, bredigite ve nagelschmidtite verilir. Bu seramikler uygulama alanı olarak 3 boyutlu gözenekli yapı iskelelerinde kullanılır.

Yapılan çalışmalarda kalsiyum silikat içeren biyomalzemelerin mükemmel biyoaktiviteye sahip olduğunu ve yüzeylerinde biyolojik bir hidroksiapatit tabakasının gelişmesiyle canlı kemik ve yumuşak dokuya bağlanma kabiliyetine sahip olduğu tespit edilmiştir [22-23]. Son çalışmalar, bazı kalsiyum silikat seramiklerin mükemmel biyolojik davranışa ve apatit oluşturma yeteneğine sahip olduğunu ve sert doku onarımı için yeni bir biyomalzeme adayı olduğunu göstermiştir. Biyouyumlu, biyoaktif ve parçalanabilir olması nedeniyle doku mühendisliği, doku iskeleleri, diş kökleri ve yapay kemikler için tıbbi malzeme olarak uygulama alanlarına da sahiptir [24-25]. Birçok uygulama alanına sahip olması nedeniyle kalsiyum silikat bilimsel açıdan oldukça önemli bir biyoseramik malzemedir.

Sunulan tez çalışması kapsamında, yumurta kabuğu atıkları ve silika kullanılarak nişasta konsolidasyon tekniği ile gözenekli biyoseramik olan kalsiyum silikat üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen kalsiyum silikatlar doku iskelesi uygulama alanında

kullanımı sağlanmıştır. Kalsiyum silikatlara XRD,SEM ve sitotoksite analizi gibi karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. nemli bir biyoseramik malzemenin yumurta kabuğu gibi ülkemizde çok fazla bulunan bir gıda atığu ile üretilmiş olması da önemli bir husus teşkil etmektedir. Konu ile ilgili literatür bilgileri, deneysel çalışmalar ve elde edilen sonuçlar ileriki bölümlerde detaylı bir şekilde açıklanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

Tez çalışması kapsamında bu bölümde konu ile ilgili literatür bilgileri mevcuttur. Doku mühendisliği, biyoseramik malzemeler, doku iskelesi, kalsiyum silikat özellikleri ve üretim metotları detaylı bir şekilde açıklanmıştır.

2.1. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği biyolojik hasar görmüş dokuları iyileştirmek veya değiştirmek için hücrelerin, malzemelerin, biyokimyasal ve fizikokimyasal faktörlerin bir kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır [26]. Doku mühendisliğinin yeni bir tanımı Vacanti ve Langer [27] tarafından yapılmıştır. Bu tanıma göre doku mühendisliği 3 gruba ayrılmıştır;

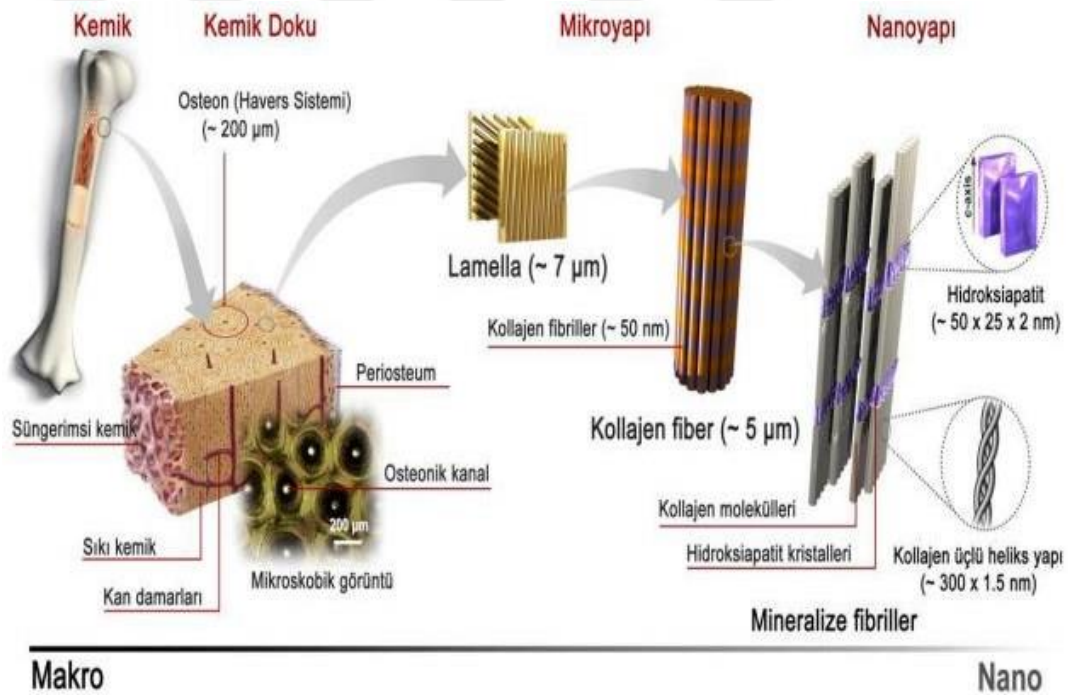
1. Dokuya özgü hücreler, kök hücreler yada embriyonik kök hücreler (otolog, allojenik)
2. Lifli, köpük yada hidrojel gibi farklı formlarda bulunan doğal/sentetik matris,
3. Statik, karıştırılmış ve dinamik akış koşullarındaki in vitro akış sistemleri.

Ayrıca yeni doku oluşumuna da katkı sağlamaktadır. Doku mühendisliğindeki önemli noktalardan birisi de kemik doku onarımı-rejenerasyonu oluşturmaktadır. Doku mühendisliğindeki önemli noktalardan birisi de kemik doku mühendisliğidir.

Kemik doku mühendisliği, zarar görmüş hastalıklı dokuların iyileştirilmesi amacıyla her yıl birçok hasta kemik ikamelerine ve kemik rejenerasyonuna ihtiyaç duymaktadır [28]. Kemik doku dünya çapında en çok implante edilen doku tipidir [29-30]. Kemik dokusu çeşitli hücre tipleri, su ve hücre dışı matrisinden (ECM) oluşmaktadır [31]. Hücre dışı matrisi (ECM) temelde ağırlığın %60-65 oranında inorganik minerallerden ve organik bileşenden oluşmaktadır. Organik bileşenler ~1,5 nm çapında, ~300 nm uzunluğunda, ~%95 kollajen tip I üçlü helix yapıdır. İnorganik mineraller ise 1,5-4 nm kalınlığında ve 50×25 nm boyutlarında plaka benzeri nanokristal hidroksiapatitten (HAp) oluşmuştur [32-35]. Hücre dışı matrisin organik kısmı

kemiğin esneklik özelliklerini, inorganik kısmı ise kemiğin dayanımını artırmaktadır. Ayrıca nanoyapılı hücre dışı matris farklı hücre tiplerinin yapışp çoğalmasını ve farklılaşmasını da etkilemektedir.

Kemik doku Şekil 2.1’de gösterildiği gibi hiyerarşik yapıya sahip bir nanokompozittir. Her bir seviye bileşenlerinin malzeme ve mekanik özelliklerine sahiptir. Bu özellikler kemiğe yüksek mukavemet, tokluk ve düşük elastikiyet özelliklerini kazandırmaktadır [36-37]. Kemik yapısı morfolojik olarak yapılara bölünmüştür. Kemiğin iç yapısında %50-90 gözenekliliğe sahip trabeküler veya süngerimsi kemik olarak adlandırılan yapı yaklaşık 1 mm çapında gözenek boyutlarına sahiptir [38]. Süngerimsi kemik kemiğin dış yapısında bulunan kortikal kemiktir ve %3-12 oranında gözenekliliğe sahiptir [39-40]. Kemik yapısı mineralizasyon derecesine, kullanıldığı bölgeye ve mekanik özellikleri kemik tipine göre değişmektedir.



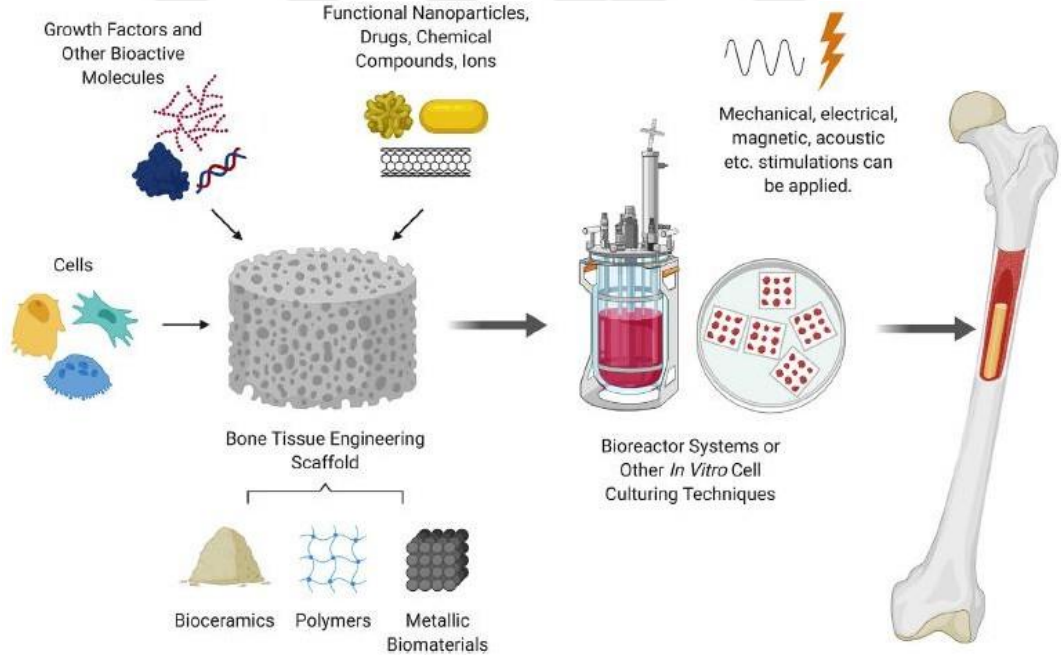
Şekil 2.1 : Kemiğin hiyerarşik yapısı [41].

Kemik dokusu sağlıklı durumunu korumaya, mekanik yükler değiştiği vakit kemik yapısının yeni duruma adapte olmaya ve yaşam boyunca hasarlı bölgeyi onarmaya çalışmaktadır [42]. Kemik dokusunun kendi kendini onarabilme özelliği vardır. Ancak onarma kapasitesi sınırlı olup küçük kemik hasarlarını iyileştirebilmektedir.

Genetik bozukluklar, travma ve enfeksiyon gibi büyük kemik kusurlarını iyileştirmede yetersiz kalmaktadır [43].

Kemik kusurlarını tedavisinde otogreftler (doğal kemik) kullanılmaktadır. Otogreftler osteokondüktif, osteojenik ve osteoindüktif (kemik formasyonu oluşumuna neden olan) özelliklere sahiptir [44-45]. Allogreftler ise hasta dışında farklı bir kişiden alınmaktadır. Allogreftlerin otogreftlere göre avantajı donör bölgedeki morbidite ve kısa sürede gereken ihtiyacın karşılanmasıdır [46-48]. Allogreft hücreler de donör ve alıcının kemik kalitesindeki farklılıklar sebebiyle patojen transfer ve enfeksiyon riski, immünolojik reddetme ve yavaş iyileşme gibi sorunlarla karşılaşılabilir [49,50].

Kemik doku mühendisliğinin temelini şekil 2’de görüldüğü gibi doku iskeleleri oluşturmaktadır. Biyoseramik, polimer ve metalik biyomalzemelerden oluşan ve doku mühendisliği uygulamalarından olan doku iskelelerinde hücrelerin biyosinyal molekülleri ile etkileşerek doku iskelelerine yapışıp çoğalarak hasta olan bölgeye implante edilmesi işlemine dayanmaktadır.



Şekil 2.2 : Kemik doku mühendisliğinin temeli [51].

2.2. Doku İskelesi

Son yıllarda doku değişimlerine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmalar da yeniden emilebilir sentetik malzemelerin kullanımı ile in vitro hücre büyümesi için üç boyutlu (3D) doku iskeleleri dikkat çekmektedir. Doku iskeleleri zarar görmüş doku veya organlardan alınan hücrelerin üç boyutlu doku iskelelerine ekilerek çoğalmasını sağlayan yapay bir yapıdır. İdeal bir doku iskelesi belirli özelliklere sahip olmalıdır ve her bir doku için farklı özellikler aranmaktadır. Fakat doku iskelelerinde olması beklenen ortak özellikler vardır. [9] Bunlar şu şekildedir:



Biyouyumluluk: Doku mühendisliğinde her doku iskelesi için aranan en önemli kriterlerden biri biyouyumlu olmasıdır. Hücreler yapışmalı, normal şekilde işlev görmeli, iskele boyunca yer değiştirmeli ve yeni matris yerleştirilmeden önce çoğalmaya başlamalıdır. Doku iskelesi implante edildikten sonra iyileşmeyi azaltabilecek veya vücut tarafından reddedilebilecek kadar şiddetli bir inflamatuvar tepkiye neden olmasını önlemek için ihmal edilebilir bir bağışıklık reaksiyonu ortaya çıkarmalıdır.

Biyobozunurluk: Biyobozunurluk doku iskelelerinin sahip olması gereken bir diğer özelliktir. Doku iskeleleri vücutta kalıcı olarak tasarlanmış yapılar değildir. Bu nedenle doku iskeleleri hücrelerin kendi hücre dışı matrisini üretmelerine izin verecek şekilde biyolojik olarak bozunmalıdır [52]. Fakat bozunmanın yan ürünleri toksik olmamalı ve diğer organlara zarar vermeden vücuttan sorunsuz bir şekilde atılabilmelidir. Ayrıca doku oluşumu ile birlikte bozunmanın meydana gelmesini sağlamak için enflamatuvar bir yanıt gereklidir.

Mekanik Özellikler: Doku iskelelerinin implante edileceği anatomik bölgeye uygun mekanik özelliklere ve implantasyon işlemi sırasında cerrahi müdahaleye dayanıklı bir yapıda olması gerekmektedir. Bu durum tüm dokularda önemli iken kardiyovasküler ve ortopedik uygulamalar için bazı zorluklara neden olmaktadır.

Yeterli mekanik özelliklere sahip kemik ve kırık dokular iskeleleri üretmek bazı zorluklar içermektedir. Bu dokular için implante edilmiş iskele, implantasyon anından yeniden yapılanma sürecinin tamamlanmasına kadar yeterli mekanik bütünlüğe sahip olmalıdır [53]. İyileşme oranlarının yaşa göre değişmesi de diğer bir zor noktayı oluşturmaktadır. Örneğin, vücutta oluşan kırıklar için genç bireylerde ilk altı haftada iyileşme gözlenirken, mekanik bütünlüğün oluşması için kırık üzerinden bir yıl geçmesi gerekmektedir. Ancak bu durum yaşlı bireylerde iyileşme sürecinin daha uzamasına neden olmaktadır. Bu nedenle ortopedik uygulamalar için doku iskeleleri tasarlanırken bu durum gözönüne alınmalıdır. Bununla birlikte, kemik ve kırık dokulara benzer mekanik özelliklere sahip doku iskeleleri geliştirmeye yönelik çalışmalar artmıştır. Yapılan çalışmalarda birçok malzeme iyi mekanik özelliklere sahip olarak üretilmiş fakat vaskülarizasyon için yetersiz kapasite nedeniyle implante edildiğinde başarısız olmuştur. Mekanik özellikler ile hücre infiltrasyonu ve vaskülarizasyonuna izin vermek için yeterli gözenekli bir yapının da olması gerektiği ve gerekli gözenekli dengenin kurulması gerektiği görülmüştür.

İskele Yapısı: Doku mühendisliğinde kullanılan doku iskelelerin yapısı kritik öneme sahiptir. İskeleler, hücrelerin penetrasyonu ve besin maddelerinin yapı içindeki hücrelere yeterli difüzyonunu sağlamak için birbirine bağlı bir gözenek yapısına yüksek gözenekliliğe sahip olmalıdır. Ayrıca atık ürünlerin iskele dışına difüzyonun gerçekleştirilmesi için gözenekli bir yapı gereklidir. İskele bozulması sonucu ortaya çıkan ürünlerin vücuttaki diğer organlara ve çevre dokulara zarar vermeden vücuttan çıkabilecek yapıda olmalıdır. Bir diğer önemli nokta ise iskelenin ortalama gözenek boyutudur. Hücreler ilk olarak malzeme yüzeyindeki kimyasal gruplar (ligandlar) yoluyla iskelelerle etkileşime girmektedir. Ligand yoğunluğu hücrelerin yapışabileceği gözenek içindeki yüzeyden etkilenmektedir. Bu durum da doku iskelesindeki ortalama gözenek boyutu ile bağlıdır. Gözenek boyutu hücrelerin yapıya göç etmesini sağlayacak kadar büyük olması gerekir. Bu nedenle doku iskelesi tasarımında kullanılan hücre tipine ve tasarlanan dokuya göre değişebilen kritik bir gözenek boyut aralığı vardır [54-55].

Üretim Teknolojisi: Bir doku iskelesinin üretiminde klinik ve ticari bir ürün olarak uygulanabilir olması için uygun maliyetli olmalı ve bir araştırma-geliştirme laboratuvarında toplu üretime uygun olacak şekilde belli plan dahilinde

üretilebilmelidir [56]. Bazı doku tipleri için ise implantasyon öncesi in vitro mühendislik gerekmektedir.

Ayrıca doku iskelelerinde diğer bir özellik ise biyoaktivitedir. Biyoaktif doku iskeleleri konak hücre ile etkileşime girebilir ve biyolojik bir tepki oluşturabilir. Biyoaktivite; osteokondüktivite ve osteoindüktivite olmak üzere iki biyolojik süreci içermektedir. Osteokondüktif doku iskeleleri kemiksiz bölgelerde malzeme yüzeyinde kemik birikmesini tetikleyen bir altlık görevi görmektedir. Doku iskelelerinin olgunlaşmamış kök hücreleri kullanma ve farklılıklarını kemik hücrelerine yönlendirebilme kabiliyetine ise osteoindüktivite denir [57-58].

Çizelge 2.1 ise doku iskelesi üretiminde yapılmış çalışmaların üretim tekniklerini ve mekanik özelliklerini içermektedir.

Çizelge 2.1 : Doku iskelesi üretiminde kullanılan numune boyutları, üretim teknikleri ve mekanik özellikler.

İsim	Numune Boyut	Üretim Tekniği	Mekanik Test Ölçüm Koşulları	Basma Mukavemeti (MPa)	Elastik Modül (MPa)	Referans
CaSiO ₃	Ø 12*3 mm	Sol-gel	-	-	-	1
HA- CaSiO ₃	Silindirik	Kimyasal Çöktürme-Sol-gel	YH: 10 Kn, PH: 10 mm/dk	HA=150 HACSIV=330	-	2
CSI-Mg/TCP	7*7*10 mm, n=6	3D yazıcı	YH: 10 Kn PH: 0,5 mm/dk	80-122	-	3
Akermanit-CaSiO ₃	Ø 10*10 mm (silindir)	Poliüretan köpük şablon	YH: 10 Kn PH: 1 mm/dk	1.0 ± 0,2 1.8 ± 0.3	-	4
Akermanit-β-TCP	Ø 6*6 mm, n=6	3D mürekkep ile yazma	P.H: 0,5 mm/dk	71.2 ± 6.7 10.5 ± 3.0	500 240	5
CSI-Mg6 CSI	Ø 8*3 mm n=6	3D yazıcı	P.H: 0,5 mm/dk	103 18-25	108-164 < 60	6

YH = Yük Hücresi, PH = Piston Hızı

Doku iskelelerinde gözenek boyutu ve gözenek boyut dağılımı önemli etmenlerdir. Yoğun malzemelerin gözeneklilikleri IUPAC sistemine göre 3 ayrı gruba ayrılmakta olup bu sistemde numunelerin çapları baz alınmıştır. Bunlar;

- $d < 2$ nm ise mikrogözenekli,
- $2 < d < 50$ nm mezogözenekli,
- $d > 50$ nm ise makrogözenekli,

olarak gruplandırılmaktadır [65]. Ayrıca doku mühendisliğinde gözenek boyutları;

- $d > 50 \mu\text{m}$ makrogözenekli,
- $d < 50 \mu\text{m}$ mikrogözenekli,

olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır [66].

Mikro gözenekler biyomalzeme yüzeyindeki proteinlerin adsorbe edilmesinde görev almaktadır [67]. Mikro gözenekler ve mezo gözenekler doku iskelelerindeki hücre göçünü durdurabilme özelliğine sahiptir. Makro gözenekler ise hücrelerin nüfus etmesi ve hücre göçü için daha uygun bir yapıya sahiptir. Bu nedenle doku iskelelerinde genel olarak makrogözenekli yapı tercih edilmektedir. Gözenek, gözenek boyutu ve dağılımı, gözeneklerin birbiri ile bağlantısı doku iskelelerinde olması istenen en önemli etmenleri oluşturmaktadır [68-69].

2.2.1. Doku iskelesinde kullanılan biyomalzemeler

Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan doku iskeleleri üretiminde çeşitli biyomalzemeler kullanılmaktadır [70]. Metal, seramik, polimer ve kompozit malzemeler doku iskelesi üretimlerinde kullanılmaktadır.

2.2.1.1. Metalik biyomalzeme

Metalik doku iskeleleri biyobozunmayan ve sınırlı işlenebilme gibi özelliklere sahiptir. Metalik doku iskelelerinde genellikle Titanyum (Ti) ve alaşımları, çelik ve kobalt gibi malzemeler kullanılmaktadır. Ortopedik kalça protezleri, omurga kırıklarında mekanik ve yapısal destek sağlamak için genellikle yük taşıma uygulamalarında kullanılmaktadır [71-72].

2.2.1.2. Polimerik biyomalzeme

Doku iskeleleri üretiminde kullanılan polimer malzemeler Şekil 2.3'te gösterildiği gibi doğal ve sentetik polimerler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

Doğal Polimerler	Sentetik Polimerler
• Kolajen, • Nişasta, • Hiyalüronik asid, • İpek, • Kitosan,	• Polikaprolakton (PCL), • Polilaktik asit (PLA), • Polipropilen fumarat (PPF), • Poliglikolik asit (PLGA) • Polieter keton (PEEK)

Şekil 2.3 : Doğal ve sentetik polimerlere verilen örnekler.

Polikaprolakton (PCL), polilaktik asit (PLA), polipropilen fumarat (PPF), poliglikolik asit (PLGA) ve polieter keton (PEEK) malzemeleri sentetik polimerlere örnek verilebilir. Kolajen, nişasta, hiyalüronik asid, ipek ve kitosan gibi malzemeler ise doğal polimerlere örnek gösterilebilir [73-76]. Polimer malzemeler düşük mekanik özelliğe sahiptir ve bu durum polimer malzemelerin doku iskelesi malzemesi olarak kullanımlarında dezavantaj oluşturmaktadır.

Doğal polimerler kolajen, jelatin ve fibrinojen gibi proteinlerden, glikozaminoglikan gibi polisakkaritlerden ve DNA-RNA gibi polinükleotitlerden oluşmaktadır. Doğal polimerler sentetik polimer ile karşılaştırıldığında daha iyi osteokondüktiviteye sahiptir. Mekanik özellikleri iyi olmamakla birlikte kontrol edilebilir biyobozunurluğa sahiptir [77]. Ayrıca polimerik taşıyıcılar ilaç salınımı gibi metabolik takviyenin vücuda entegre edilmesinde de görev almaktadır. Biyoaktif moleküller ile kıyaslandığında ikiside zıt yüklere sahip olup aralarında iyonik etkileşim gerçekleşmektedir. Bu durumda moleküllerin kararlı hallerini koruma ve salınım sürecini olumsuz bir şekilde etkileyebilecek güçlü bir ilişkiye sebebiyet vermektedir. Salınımın düzenlenmesi için doğal ve sentetik polimer kombinasyonun kullanılması gerekmektedir [78].

2.2.1.3. Kompozit biyomalzeme

Tek bir homojen malzemenin kullanımı yerine, kullanılacak bölgenin yapısal uygunluğu açısından tercih edilen bir diğer grup ise kompozit malzemelerdir. Tek bileşen olarak kullanılan malzemeler bazı dezavantajlara sahip olabildiğinden, eksikliği gidermek adına kompozit malzemelere yönelim olmuştur. Her iki farklı malzemenin sahip olduğu avantajlı özellikler sayesinde dezavantajlar ortadan kaldırılabilir. Bir kompozit tasarımı yapılırken seramik malzemelerin kırılgan olma özellikleri polimer malzeme ile dengelenirken, polimer malzemelerin biyouyumluluk problemi seramik malzemeler ile giderilebilmektedir. Bu avantajlı özellikleri sebebiyle son zamanlarda kompozit doku iskeleleri konusu üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Fakat, kompozit malzemelerde uygun olmayan mekanik özellikler ve hızlı bozulma oranı gibi bazı sınırlamalar mevcuttur.

2.2.1.4. Seramik biyomalzeme

Biyoseramikler de doku mühendisliği uygulamalarından olan doku iskelesi üretiminde kullanılmaktadır. Biyoseramikler kemik dokusu ile benzer bir kimyasal bileşime sahip olup biyoaktif, biyouyumlu, yüksek basma dayanımı ve osteokondüktivite gibi özellikleri sebebiyle avantajlı konumdadırlar [79-80]. Fakat birincil iyonik ve kovalent bağlarından dolayı kırılgan ve düşük sünekliliğe sahiptir. Bu durum da yük taşıma uygulamalarında kullanımının kısıtlanmasına sebep olmaktadır [81]. Kullanılan seramik malzemeler 3. Bölüm başlığında detaylı bir şekilde anlatılmıştır.

3. BİYOSERAMİKLER

Seramik malzemeler metal, ametal veya metaloid atomlardan oluşan inorganik ve ametalik bir katı malzeme olarak tanımlanmaktadır. Seramikler kovalent ve iyonik bağlarla birbirlerine bağlıdır [82].

Teknolojinin gelişmesi ile birlikte gözenekli malzemelere olan ihtiyaç artmış ve yüksek sıcaklık, aşınma ve aşındırıcı ortamlarda kullanılmak amacıyla gözenekli seramikler dikkatleri üzerine çekmiştir. Gözenekli seramikler yüksek ergime sıcaklığı, uygun elektriksel özellikler, yüksek korozyon ve aşınma direnci gibi sahip olduğu özellikleri ile ön plana çıkmaktadır [83]. Ayrıca gözenekli seramik malzemeler brulor, ısı bariyer kaplamalar, gazlar ve sıvılar için kullanılan filtreler, ısı değiştiriciler, sensörler, katalizör, katalizör destekleri, biyomedikal uygulamalar, doku mühendisliği uygulamaları, ısı veya akustik yalıtım malzemeleri gibi pek çok farklı uygulama alanlarında kullanılmaktadır. [84-85] Gözenekli seramik malzeme elde etmek için iki farklı metot vardır.

- İlk metod amonyum karbonat, amonyum bikarbonat, amonyum klorür tuzları yada yüksek sıcaklıkta ayrıştırılabilir karbon, grafit ve kömür külü gibi inorganik gözenek oluşturan ajanların yapıya eklenmesidir.
- Diğer metod doğal lif, kabuk ve mısır unu, nişasta, polistren (PS), polimetil metakrilat (PMMA) ve maya gibi organik gözenek oluşturu malzemelerin yapıya ilave edilmesidir [86-88].

Seramik malzemelerin en önemli dallarından birini biyoseramikler oluşturmaktadır. Biyoseramikler vücutta yer alan ve nihayetinde onarıma yardım ettikten sonra vücut tarafından yenilebilir seramik oksitler olarak sınıflandırılmıştır. Biyoseramikler, biyoinert, biyoaktif ve biyobozunur seramikler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır.

Biyoinert seramikler doku ile etkileşime girmeyen ve bozunmayan bir yapıdadır. Yüksek mekanik mukavemeye sahiptirler. Alüminyum oksit (Al_2O_3), zirkonyum oksit (ZrO_2) ve titanyum oksit (TiO_2) gibi malzemeler örnek verilebilir.

Biyoinert	Biyoaktif	Biyobozunur
• Bozunmazlar. • Doku ile etkileşim yoktur. • Yüksek mekanik mukavamete sahiptir. • Kalça ve implantlarda kullanılır. • Alüminyum oksit (Al_2O_3/alümina), • Zirkonyum oksit (ZrO_2/zirkonia) ve • Titanyum oksit (TiO_2),	• Kimyasal bağ yaparlar. • Doku ile etkileşime girer. • Biyoyumludur. • Kalsiyum fosfat (CaP) • Biyoaktif cam • Hidroksiapatit (HA)	• Biyolojik olarak bozunabilir. • Zamanla doku ile yer değiştirir. • Trikalsiyum fosfat (TCP), • Oktakalsiyum fosfat (OCP),

Şekil 3.1 : Biyoinert, biyoaktif ve biyobozunur malzemelerin özellikleri.

Biyoyumluluk özelliğine sahip biyoaktif seramikler doku ile etkileşime girerek kimyasal bağ yaparlar. Kalsiyum fosfat (CaP), biyoaktif cam ve hidroksiapatit (HA) biyoaktif seramiklere örnektir.

Biyobozunur seramikler ise doku ile etkileşime girerek zamanla doku ile yer değiştirmektedir. Biyolojik olarak bozunma özelliğine sahiptir. Trikalsiyum fosfat (TCP) ve oktakalsiyum fosfat (OCP) gibi malzemeler örnektir.

Ayrıca biyoseramikler birçok medikal tıbbi ve cerrahi işlemlerde kullanılmaktadır [89]. Vücudumuzda kullanılan doku iskeleleri şekil 3.2’de sunulmaktadır.

3.1 Kalsiyum Fosfat Seramikleri

Doku mühendisliğinde kalsiyum fosfat bazlı (CaP) seramikler doku iskelesi kullanımında kritik bir öneme sahiptir. 1960-1970 yılları arasında kalsiyum fosfat seramikleri sahip olduğu özellikler ile yaygın olarak kullanılmıştır. Biyoyumluluk, güvenli bir malzeme olması, yüksek maliyet-etkinlik oranı ve kemiğin mineral fraksiyonuna benzerliği sebebiyle kemik kusurlarını onarmada tercih edilmiştir [90]. CaP seramikleri tek başlarına, polimerler veya farklı seramikler ile bir kombinasyon halinde kullanılabilirler [91-92]. Kalsiyum fosfat seramiklerinin biyoyumlu olması ve osteokondüktif özellikleri nedeniyle diş, dental ve ortopedik uygulamalar kemik doku onarımlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [26-92].

Orta Kulak Kemiklerinin Tedavisi

Al_2O_3 , HA
Biyoaktif Camlar
Biyoaktif Cam-Seramikler
Biyoaktif Kompozitler

Dış İmplantları: Al_2O_3 , HA,

HA Kaplama
Biyoaktif Camlar
Endodontik Kaplama
 $Ca(OH)_2$, Biyoaktif Camlar

Periodontal Bölge Aşınmaları

HA, HA-PLA Kompozitleri,
TCP, Kalsiyum ve Fosfat Tuzları
Biyoaktif Camlar

Deriden Girişte Kullanılan Malzemeler

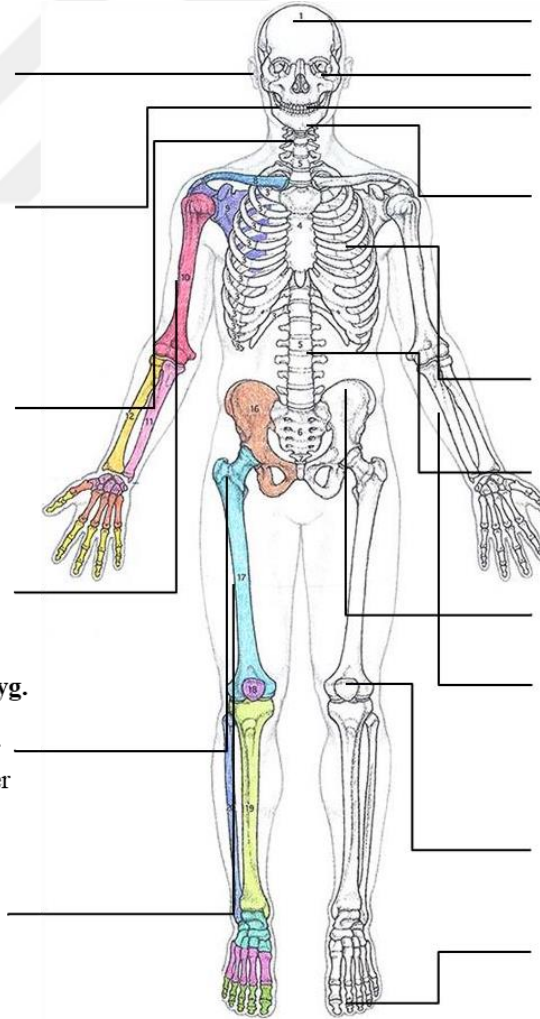
Biyoaktif Cam-Seramikler,
Biyoaktif Camlar, HA,
Isılbozunmuş Karbon Kaplama
Biyoaktif Kompozitler

Ortopedik Yük Dayanımı Gerektiren Uyg.

Al_2O_3 , Zirkonyum Oksit
PE-HA Kompozit, HA Kaplamalı Metaller
Biyoaktif Cam-Seramik Kaplamalı Metaller

Ortopedik Tedavi Malzemeleri

PLA-Karbon Fiberler
PLA-Kalsiyum Fosfat Tabanlı Cam
Fiberler



Kafatası Tedavisi: Biyoaktif Camlar

Göz Merceği: Al_2O_3

Üst Çene ve Yüz Tedavisi: Al_2O_3 , HA,
HA-PLA Kompozitleri, Biyoaktif Camlar

Dış Soketi Tedavisi: Al_2O_3 , HA,
Trikalsiyum Fosfat (TCP)
HA-Otojen Kemik Kompoziti
HA-PLA Kompozitleri
Biyoaktif Camlar

Yapay Kalp Kapakçıkları

Isılbozunmuş Karbon Kaplama

Belkemigi Tedavisi: Biyoaktif
Cam- Seramikler, HA

Leğen Kemigi Tedavisi

Biyoaktif , Cam-Seramikler

Kemik Doku Malzemeleri: TCP

Kalsiyum ve Fosfat Tuzları
Biyoaktif Cam Grantülleri
Biyoaktif Cam-Seramik Grantülleri

Yapay Tendon ve Kirişler

Karbon-Fiber Kompoziti

HA Eklemler

Şekil 3.2. Doku iskelesinin vücut üzerinde kullanımları [10].

Kalsiyum fosfat seramikleri HA, TCP ve cam seramikleri gibi malzemeleri içermektedir.

3.1.1. Hidroksiapatit

Kalsiyum fosfatlar arasında doğal kemik yapısına en yakın kimyasal bileşime sahip olan hidroksiapatittir (HA) ve bu nedenle en çok araştırılan malzemelerin başında gelmektedir [93-94]. HA yavaş bozulma oranı, düşük mekanik özellikler, yüksek kırılma tokluğu ve düşük kırılma tokluğu gibi özellikleri ile dezavantaj oluşturmaktadır. Bu durumu önlemek amacıyla iyon katkısı, polimerler ile kompozit oluşumu ve lifli ve whisker malzemeleri ile kullanımı dezavantajlarını azaltmaya yönelik yapılan çalışmalardandır. Ayrıca çatlak gerilimini ve yayılımını düşürmek için biyoinert malzemeler de kullanılmaktadır.

3.1.2. Tri kalsiyum fosfat

Kalsiyum fosfat ailesinden olan tri kalsiyum fosfat (TCP) doku mühendisliği uygulamalarında en çok kullanılan malzemelerin başında gelmektedir. Tri kalsiyum fosfatın α , β , γ ve süper- α olmak üzere 4 farklı polimorfu bulunmaktadır. Son iki faz yüksek sıcaklık ve basınçlarda gözlenmektedir. Yapılan araştırmalarda kemik rejenerasyonu ve doku mühendisliğinde doku iskelesi olarak beta trikalsiyum fosfatın (β -TCP) yaygın bir şekilde kullanıldığı görülmüştür [95-97]. β -TCP insan kemiğine benzer moleküler bileşimi sebebiyle klinik uygulamalarda kemik ikame malzemesi olarak da kullanılmaktadır. Fakat sahip olduğu düşük basma mukavemeti ve kırılma tokluğu [98] gibi mekanik özellikleri ve yüksek rezorpsiyon oranı [99] gibi dezavantajları nedeniyle kemik doku onarımlarında kullanımları kısıtlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda β -TCP kalsiyum fosfat grubundan olan HA ile karşılaştırıldığında insan vücudunda daha hızlı bir bozunma oranına ve yüksek kırılma tokluğuna [95-96] sahip olduğu gözlenmiştir. Fakat yük taşıma uygulamalarında tercih edilen bir ürün değildir. Bunun sebebi ise β -TCP kortikal kemikten daha düşük bir mekanik mukavemete ve yeni kemik oluşumu ile bozunma oranı arasında belirli bir uyumsuzluğun bulunmasıdır [97].

3.1.3. İki fazlı kalsiyum fosfat

β -TCP ve HA ile benzer ancak daha biyouyumlu olan iki fazlı kalsiyum fosfat (BCP) seramikleri dikkat çekmektedir. Daha yüksek kemik rejenerasyon kabiliyetine ve kontrol edilebilir bozunma oranına sahiptirler. Ayrıca bir apatit arayüz tabakası oluşturarak kemik dokusuna entegre olmaktadır. Osteojenik hücrel aktivite, mineral birikimini ve kemik oluşumunu da desteklemektedir. Ancak düşük mekanik mukavemet ve zayıf sinterleme özellikleri de vardır. Bu nedenle uygulama alanları kısıtlanmaktadır. Kalsiyum ortofosfat fazları olan α -TCP ve tetra kalsiyum fosfat (TetCP) temel yapısı ve yüksek emilim gibi özelliklerinden dolayı birçok uygulamada kullanılmamaktadır [100].

3.1.4. Cam seramikleri

Önemli bir biyoaktiviteye sahip Ca, Si ve Mg içeren cam seramikler biyomedikal uygulamalar da sıklıkla kullanılmaktadır [101,102]. Biyoseramik grubunda yer alan biyoaktif camlar (BGs) amorf yapıda olup ortopedik klinik uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Bu malzemelerin tavşana implante edildiğinde kemik dokusuna da yakından bağlanabileceği yapılan çalışmalar da görülmüştür [103,104]. Biyouyumlu olup sitotoksik etki göstermeyen malzemelerdir. Osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklere de sahiptir [105-106]. Fakat yüksek çözünürlük ve düşük mekanik özelliklere sahip olması malzeme açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Biyoaktif camlar kemik doku onarımları için kompozit malzemeler oluşturularak kullanılmaktadır [107-108].

3.1.5. Silikat seramikler

Kemik ikame malzemesi olarak kullanılan biyosilikatlar kemik doku mühendisliğinde önemli bir yere sahiptir. Kemik ikameleri hasarlı ve enfekte dokuların onarımı için kullanılmaktadır. Böylelikle insan vücudundaki organ kayıpları en aza inmektedir. Bu durum sentetik biyomalzemelerin gelişmesi ile birlikte doku yenilenmesinde yeni bir dönemi getirmiştir. Bu malzemeler canlı konakçı hücre ile etkileşime girerek biyolojik bir durum meydana getirmektedir [109].

Kemik oluşumu için Ca, Mg ve Si gibi elementler hayati bir öneme sahiptir. Kalsiyum vücutta kemiklerde, diş ve kafatasında büyük bir oranda bulunmaktadır. Kalsiyum

eksikliği ölümcül bozukluklara yol açabilen önemli bir içeriktir. Magnezyum elementi kemik gelişiminin düzenlenmesi, onarımı ve gerekli bakımlarının yapılması açısından büyük bir öneme sahiptir. İskelet gelişimi için silisyum elementi gerekli iken, eksikliğinde kafatası deformasyonları görülebilmektedir [111-113]. İçerisinde Ca, Mg ve Si elementlerini içeren biyomalzemeler kalsiyum fosfat ve kalsiyum silikatlar gibi düşük bozunma oranı ve geliştirilmiş mekanik mukavemete sahiptir [113].

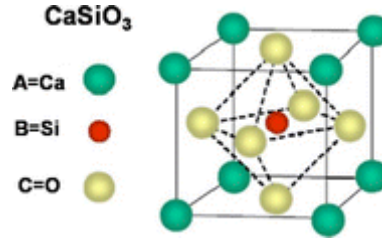
3.1.5.1. Kalsiyum silikat

Kalsiyum silikatlar doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan alternatif bir malzemedir. İyi biyoaktiviteleri, biyouyumlu ve biyobozunur özellikleri nedeniyle kemik doku ikamelerinde kullanılabilmektedir [114-116]. Ayrıca kalsiyum silikatların osteokondüktivite özellikleri için bazı çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada silisyum (Si) ve kalsiyum (Ca) iyonlarının yeni kemik oluşumuna katkı sağladığı ortaya çıkmıştır [119]. Bunlara ek olarak kalsiyum silikatların mezenkimal kök hücre (BMSCs) kemik iliğinin farklılaştığını ve çoğalmayı desteklediği görülmektedir. Zheng ve ark. [117] Yaptığı farklı bir çalışma da gözenekli kalsiyum silikat yapısı incelenmiştir. Kalsiyum silikat gözenekli yapının hidrofilikliği, biyoaktifliği, basma mukavemetini ve bozunma hız oranının arttığı belirlenmiştir.

Geleneksel olarak kalsiyum silikat formülasyonları kalsiyum kaynağı olarak hidratlı kireç, sönmemiş kireç, kireçtaşı ve kalsiyum sülfat gibi yenilenemeyen hammaddeleri içermektedir [120-121]. Ayrıca mermer, midye kabukları, portlandite bakımından zengin atıklar ve kalsiyum klorür atıkları gibi endüstriyel atıkları alternatif kalsiyum kaynağı olarak ve kalsiyum silikat üretiminde kullanılmaktadır [122-123].

CaO-SiO₂ sisteminde dört farklı bileşik vardır. Wollastonit (CaSiO₃) olarak bilinen monokalsiyum silikat, larnit (Ca₂SiO₄) olarak bilinen dikalsiyum silikat, trikalsiyum silikat (Ca₃SiO₅) ve trikalsiyum disilikonheptaoksittir (Ca₃Si₂O₇) [124].

Kalsiyum silikat Şekil 3.3’da gösterildiği gibi perovskit bir yapıya sahiptir. Ayrıca kalsiyum silikatın β -CaSiO₃ ve α -CaSiO₃ olmak üzere iki farklı yapısı bulunmaktadır. Düşük sıcaklık fazına sahip olan β -CaSiO₃ doğal bir silikat mineralidir. Yüksek sıcaklık fazı ve yanltıcı altıgen yapısı ile α -CaSiO₃ doğada nadir olarak bulunan kalsiyum silikat mineralidir [125-126].



Şekil 3.3 : Kalsiyum silikatın perovskit yapısı.

Ayrıca kalsiyum silikat ile ilgili yapılan çalışmalar aşağıda sunulmaktadır.

Mohamed ve ark. [169] yaptıkları çalışmada, kimyasal çöktürme ve sol-jel yöntemleri ile farklı oranlarda hazırlanan nano boyutlu hidroksiapatit ve kalsiyum silikat tozlarını kullanarak nano-kompozit malzemeler üretmişlerdir. Hidroksiapatit ve kalsiyum silikat arasındaki oran değişiminin mekanik özellikler, mikroyapı ve in vitro çalışma üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen ürünlere XRD, SEM, TEM ve FTIR gibi karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda kompozitlerdeki kalsiyum silikat oranının artması ile birlikte mekanik özelliklerde iyileşme görülmüştür. Kalsiyum silikat içeriğine karşı yüksek oranda hidroksiapatit içeren kompozit malzemelerin özellikle yük taşıyan alanlarda kemik ikamesi uygulamaları için umut verici olacağı sonucuna varılmıştır.

F.H.G. Leite ve ark. [170] tarafından gerçekleştirilen bir çalışma kapsamında alternatif kalsiyum kaynağı olarak görülen kuş yumurta kabukları kullanılarak kalsiyum silikat yalıtım malzemesi üretilmiştir. Farklı sinterleme rejimleri uygulayarak katı hal reaksiyonu yöntemiyle üretim gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda üretilen kalsiyum silikatın ısı yalıtım malzemesi olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Tangboriboon [171] tarafından gerçekleştirilen bir çalışma da ise tavuk yumurta kabukları kullanılmıştır. Bu çalışmada kalsine edilmiş tavuk yumurta kabukları (CaO) ve silikanın (SiO₂) 1:1 mol oranında karıştırılıp sol-jel prosesiyle kalsiyum silikat dielektrik malzemelerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnekler üzerinde TEM, SEM ve FTIR gibi karakterizasyon yöntemleri ile incelemeler yapılmıştır. Dielektrik sabiti, elektrik iletkenliği vb. gibi geliştirilmiş elektriksel özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. [46]

Swamiappan ve ark. [172] yapmış oldukları çalışma kapsamında biyoatık olarak değerlendirilen yumurta kabukları, magnezyum nitrat ve tetraetil ortosilikat (TEOS) malzemeleri kullanılarak sol-jel tekniği ile kalsiyum magnezyum silikat sentezini gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen kalsiyum magnezyum silikatlara XRD, SEM ve FTIR

karakterizasyon analizleri yapılmıştır. Analiz sonucunda doğal kemik apatit bileşimini taklit edebilen nano boyutta kalsiyum magnezyum silikat kristalit boyutunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca kalsiyum magnezyum silikat malzemesi üç hafta süre ile simüle edilmiş vücut sıvısına daldırılmış ve in vitro biyoaktifliği incelenmiştir. Üç hafta sonunda yüzeyinde kristalize hidroksiapatit (HAP) tabakasının etkili bir şekilde biriktirildiği gözlemlenmiştir.

Morsy yapmış olduğu çalışma kapsamında kalsiyum silikat tozu hazırlayarak düşük dozlu ilaç salınımı için en uygun sistemi geliştirmeyi hedeflemiştir. Kalsiyum silikat tozunu, kalsiyum nitrat ve sodyum silikat malzemelerini de kullanarak birlikte çöktürme yöntemi ile hazırlamıştır. Kalsiyum silikat bazlı oluşturulan sistem üç bileşenden oluşturulmuştur. Bu üç bileşen kalsiyum silikat, sodyum silikat ve sitrik asit bileşenlerinden oluşmakta ve ilaç salınımı için en uygun sistemi oluşturmaktadır. Ayrıca düşük doz antihipertansif ilaçların bir modeli olan Atenolol in vitro ilaç salınımında değerlendirilmiştir. Sentezlenen kalsiyum silikat tozu geleneksel yöntemler ile karakterize edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda kalsiyum silikat, sodyum silikat ve sitrik asit kompozit tabletlerinin düşük dozlu ilaç salınımı için ekonomik, bozunur taşıyıcılar olarak optimal bileşime ve fizikokimyasal özelliklere sahip olduğu görülmüştür [173].

Mohammadi ve ark [174] yapmış oldukları çalışmada kalsiyum silikat bazlı seramik malzemelerin ortopedik uygulamalarda kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Malzeme özelliğinin kırılgan bir yapıda olması sebebiyle magnezyum ve çinko eser elementlerinin takviyesi ile hem kırılganlık özelliğinin önüne geçmeyi hemde mekanik özellikler üzerindeki etkisini incelemişlerdir.

3.1.5.2. Dikalsiyum silikat – larnit (Ca_2SiO_4)

Dikalsiyum silikat kemik ikame malzemesi ve doku iskelesi geliştirmek amacıyla kullanılan bir malzemedir. Kalsiyum-silika sistemindeki ana malzemeyi oluşturan dikalsiyum silikattır (Ca_2SiO_4). Dikalsiyum silikat, Portland çimentosu [127], korozyona dayanıklı kaplama malzemeleri [128], ateşe dayanıklı malzemeler [129], uzun kemik yapıları ve yük taşıma gibi uygulama alanlarına sahip bir malzemedir. Yapılan araştırma sonuçlarından Ca_2SiO_4 tozlarının biyoaktif olduğunu ve simüle edilmiş bir vücut sıvısına (SBF) daldırıldıktan sonra yüzeylerinde hızlı bir şekilde apatit bir tabaka üretebildiğini göstermiştir [130-132]. Ancak, sahip olduğu zayıf mekanik özelliklerinden dolayı ağır yük altında kullanılamamaktadır [133,134].

Ayrıca dikalsiyum silikat birkaç polimorfik formda da bulunmaktadır. En yaygın olarak bilinen polimorflar α , α' β ve γ içermektedir. Sadece γ formu oda sıcaklığında herhangi bir stabilizatör olmadan sabittir. Genellikle β formu Portland çimentosu içerisinde dengeleyici iyonlarla birlikte bulunmaktadır [135].

Di kalsiyum silikat ile ilgili yapılan çalışmalar aşağıda sunulmaktadır.

Granadosa ve ark [175] yaptıkları çalışmada dikalsiyum silikat sentezini alevli sprey pirolizi ve çözelti yakma yöntemi ile incelemişlerdir. Sentezlenen tozlar XRD, SEM ve FTIR analizlerine tabi tutulmuştur. X-ışını kırınım analizinde safsızlık olarak kalsiyum oksit ve kalsiyum karbonatın bulunması ile dikalsiyum silikat polimorflarının oluşumunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca yanmadaki fazla karbon atomu sebebiyle sentez işlemi sırasında kalsit oluşumu gözlenmiştir. Çalışma sonucunda her iki yöntem ile nanometrik parçacık boyutuna sahip dikalsiyum silikat elde edilmiştir.

El-Hamida ve ark [176] yaptıkları çalışmada katı hal reaksiyonu hazırlanan di kalsiyum silikat malzemesine eritme-su verme yöntemi ile hazırlanan borosilikat cam takviyesi yapılarak kompozit malzemeler üretilmiştir. Borosilikat cam malzemesinde ağırlıkça %5-10-15-20 olmak üzere dört farklı oran kullanılmıştır. Çalışmada kompozitlerin biyoaktivite davranışlarının ölçülmesi için 28 gün boyunca simüle edilmiş vücut sıvısına batırılmıştır. Kompozitlerin fiziksel mekanik özellikleri ölçülmüştür. Simüle edilmiş vücut sıvısındaki pH, kalsiyum ve fosfat iyon değişim konsantrasyonları belirlenmiştir. Gerekli karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonucunda kompozitlerin simüle edilmiş vücut sıvısına daldırıldıktan sonra malzeme yüzeyinde hidroksiapatit tabakasının oluştuğu gözlemlenmiştir. Borosilikat cam oranının arttığı kompozit yapıda dikalsiyum silikat özelliklerini ve biyoaktivite davranışını artırdığı belirtilmiştir. Di kalsiyum silikat içerisindeki borosilikat cam oranının artması ile sitotoksikite etkisinin azaldığı ve dental uygulamalar için alternatif malzeme olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

3.1.5.3. Wollastonite

Wollastonite (CaSiO_3) kemik rejenerasyonunda önemli bir yere sahiptir. CaSiO_3 esaslı seramikler insan kortikal kemiğine yakın özelliklere [136] ve hidroksiapatit (HA) bazlı seramiklerden [137] daha yüksek eğilme mukavemetine sahiptirler.

Wollastonite birçok uygulama alanında kullanılmaktadır. Yüksek frekanslı izolator, reçine ve plastiklerde dolgu malzemesi, inşaat, metalurji, boya ve sürtünme ürünleri

olarak düşük dielektrik sabiti, düşük dielektrik kaybı, termal kararlılık, düşük termal genleşme ve düşük termal iletkenlik gibi uygulama alanları vardır [136-137]. Ayrıca wollastonitin sahip olduğu biyouyumluluk, biyobozunabilirlik ve biyoaktif özellikleri sebebiyle de kemikler ve diş kökleri için tıbbi malzeme olarak kullanılmaktadır [138,139].

Klinik uygulamalar bulabilmek amacıyla CaSiO_3 esaslı seramiklerin mekanik özelliklerini geliştirmek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda eser elementlerin (biyoorganikler) kalsiyum silikat yapılarına dahil edilebileceği kanısına varılmıştır. Bu nedenle magnezyum (Mg^{+2}), çinko (Zn^{+2}), titanyum (Ti^{+4}) ve zirkonyum (Zr^{+4}) gibi eser elementler $\text{Ca}\backslash\text{Si}$ yapısına dahil edilmiştir [138]. Ortaya çıkan mineraller, yani $\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$ (diyopsit), $\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$ (akermanit) ve $\text{Ca}_3\text{ZrSi}_2\text{O}_9$ (baghdadite) in vitro ve in vivo olarak test edilmiş ve basit kalsiyum silikatlara kıyasla önemli bir iyileşme olduğunu göstermiştir [139- 140].

Wollastonite potansiyel uygulama alanlarına sahip bilimsel açıdan önemli bir malzemedir. Sol-gel, kimyasal çöktürme, katı hal reaksiyonu gibi yöntemlerle üretilmektedir. Bu yöntemler ile elde edilmiş ürünler $950\text{-}1400^\circ\text{C}$ gibi yüksek sıcaklıkta sinterleme işlemine tabi tutulurlar [141-142].

3.1.5.4. Akermanit

Biyoseramik malzemelerden olan akermanit ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) kontrol edilebilir mekanik özellikleri [143] ve bozulma oranı [144] gibi özellikleri sebebiyle dikkatleri üzerine çekmektedir. Yapılan bir çalışmada akermanit ve beta tri kalsiyum fosfat biyoseramikleri karşılaştırılmıştır. Çalışma kapsamında kemik iliği veya yağdan türetilmiş kök hücreler [145,146] ve osteoblastlar [147] kullanılmıştır. Bu hücrelerin akermanitin üzerinde beta tri kalsiyum fosfata göre çoğalmanın ve kemik doku gelişimlerinin daha iyi olduğu görülmüştür. Elde edilen verilerden yola çıkılarak Mg içeren silikat seramiklerin β -TCP göre daha fazla kemik rejenerasyon ihtiyacını karşılayabileceği sonucuna varılmıştır.

3.1.5.5. Diyopsit

Moleküler formülü $\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$ olan diyopsit, akermanit ve kalsiyum silikat ile benzer özelliklere sahiptir. Bulk seramikler de in vitro ve in vivo potansiyel göstermektedir. Fakat diyopsitin bozunma oranı akermanite göre daha yavaştır. Diyopsit üzerine

yapılan çalışmalar, diyopsit örneklerinin önemli bir biyoaktiviteye, mükemmel eğilme mukavemetine ve kırılma tokluğuna sahip olduğunu göstermiştir [148,149].

3.1. Üretim Yöntemleri

Doku iskelesi üretimi için birçok farklı teknik kullanılmaktadır. Doku iskelesi üretiminde kullanılan yöntemlerin, sahip oldukları avantaj ve dezavantajlar Çizelge 3.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1 : Doku iskelesi üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları [151,153].

Üretim Yöntemleri	Avantaj	Dezavantaj
Nişasta Konsolidasyon Tekniği	Karmaşık şekilli parça üretimi, Kolay üretim süreci, Ekonomik,	Toz dağılımı sırasında topakların oluşabilmesi,
Faz Ayırım	Gözenek boyutu ve şeklinin ayarlanabilir olması, Basit bir sistem oluşu,	Çözücü uzaklaştırma problemi, Üretim veriminin düşük olması,
Elektroeğirme	Çeşitli polimer kullanımı, Nanofiber üretimi,	Düşük mekanik özellikler, 3 boyutlu üretimde tercih edilmemesi,
Dondurarak Kurutma	Basit bir yöntem, Yüksek gözenekli yapı,	Kapalı gözeneklerin oluşması, Küçük gözenek çapı,
Çözücü Döküm/Parçacık Uzaklaştırma	Az malzeme kullanımı, Kolay uygulanabilir, Yüksek gözenek boyutu,	Sadece düz yapıların oluşturulabilmesi, (levha, boru vb.) Porojen partiküllerin sistemden zor uzaklaştırılabilmesi
Hızlı Prototipleme Yöntemleri (3DP, FDM, SLS)	Yüksek gözeneklilik, Gözenekler arasında yüksek bağlantı, Yüksek yüzey alanı/hacim oranı,	FDM ve SLS için; Yüksek işleme sıcaklığı, 3DP için; Düşük mekanik mukavemet Küçük gözenek çapı,

3.2.1. 3D baskılama yöntemi

Doku iskelesi üretiminde 3D baskılama metodu diğer yöntemler ile kıyaslandığında gözenek boyutu, gözeneklilik ve kontrol edilebilir gözenek morfolojisi özellikleri ile ön plana çıkmaktadır [150]. Ayrıca silisyum ve kalsiyum fosfat içeren biyoseramik malzemeler 3D baskı tekniği ile doku iskelesi üretiminde kullanılmaktadır. Bu üretim tekniği kullanılarak elde edilen doku iskelelerin yüksek sıcaklıkta sinterlenmesi gerekmektedir. Fakat yüksek sıcaklıkta sinterlenme hacimsel büzölmeye neden olarak gözeneklerin kontrol edilebilirliğini sınırlandırmaktadır. Bu durumda biyomedikal uygulamaların kısıtlanmasına sebebiyet vermektedir.

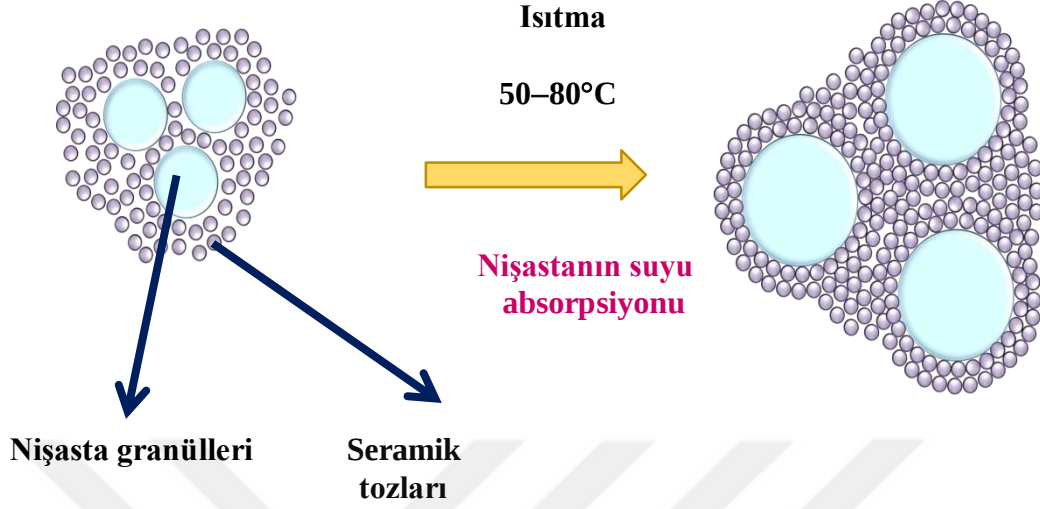
3.2.2. Nişastayla konsolidasyon yöntemi

Gözenekli seramik malzemeler pek çok farklı uygulama alanında kullanım potansiyeli olan önemli bir malzeme grubunu oluşturmaktadır. Bu seramiklerin seri üretime uygun, malzeme özelliklerinin iyi bir şekilde kontrol edilmesini sağlayan ve ekonomik bir şekilde üretilebilmesi için farklı üretim yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur. Gerçekleştirilen araştırma çalışmaları sonucunda nişastanın gözenekli yapısal, elektronik ve biyoaktif seramikler gibi pek çok farklı uygulama alanında kullanılan seramiklerin üretimi için gözenek oluşturuıcı olarak kullanımı gündeme gelmiş ardından ise bu malzemenin kullanımıyla nişastayla konsolidasyon döküm yöntemi geliştirilmiştir [154].

Nişasta konsolidasyon döküm yöntemi gözenekli seramikler için net bir şekillendirme tekniği olarak dikkat çekmektedir. [155,165] Yöntem gözenekli olmayan bir kalıp (polimer, kompozit veya metal kalıp) [165] içerisine nişasta içeren yüksek katı konsantrasyonuna sahip bir seramik süspansiyonun dökölmesi ve belirli bir sıcaklıkta jelleştirilmesi ardından da kurutulması aşamalarından oluşmaktadır. Bu yöntem nişasta granüllerinin içerisine yüksek miktarda su alma ve şişme yeteneği ile yüksek sıcaklıklarda (50-80°C) jelleşmesi temeline dayanmaktadır [164,166].

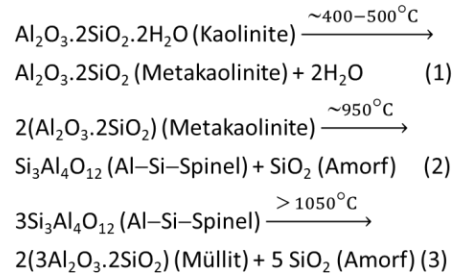
Nişasta taneleri suyla temasa geçtiğinde ve gerekli sıcaklık sağlandığında nişasta taneleri şişerek yapıda çok daha fazla yer kaplamaktadır (Şekil 2). Nişastanın suyu absorblaması ve şişmesi sonucunda çamur içerisindeki su miktarı hızla azalır ve seramik taneler birbirine çok daha fazla yaklaşır ve katı bir seramik bünye oluşumu bu mekanizmayla sağlanmaktadır. Nişastanın türüne bağlı olarak su absorblama kabiliyeti de önemli oranda değişkenlik göstermektedir. [167] Nişastanın uygulanacak olan ısıt işlemin neticesinde yapıdan uzaklaştırılması ve seramik matrisin sinterlenmesinden sonra, nişasta parçacıklarının orijinal miktarına, şekline ve boyutuna karşılık gelen bir

gözenekli seramik malzeme elde edilir [168]. Bu sayede kontrollü gözenek boyut ve dağılımına sahip malzemelerin üretimi kolay bir şekilde gerçekleştirilebilir.



Şekil 3.4 : Nişasta konsolidasyon tekniği ile şekillendirme sürecine ait şematik gösterim [168].

Ayrıca kaolenin yüksek sıcaklıklarda ısı işleme maruz kaldığında içerisinde barındırdığı safsızlıkların türü, miktarı, tane boyutu gibi çeşitli değişkenlere bağlı olarak 1000°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda müllite dönüştüğü bilinmektedir. Kaolenden başlayıp uygulanan ısı işleme bağlı olarak müllit oluşumuyla sonuçlanan reaksiyon serisi aşağıda verilmektedir:



Tez çalışması kapsamında nişasta konsolidasyon yöntemi kullanılarak, yumurta kabukları ve silika ana hammaddeleri kullanılarak gözenekli kalsiyum silikat biyoseramik üretimi gerçekleştirilmiştir. Nişastayla konsolidasyon yönteminin avantajlarını şu şekilde sıralayabiliriz:

- Basit bir üretim sürecine sahip olması.
- Farklı geometride kullanılan kalıp malzemeleri ile karmaşık şekilli

malzemelerin üretilmesine imkan sağlaması.

- Üretim sürecinde kullanılan malzemelerin kolay bulunabilir ve ekonomik olmasıdır.

Bu avantajları sebebiyle kalsiyum silikat üretimi için nişastayla döküm yöntemi kullanılmıştır.



4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında yumurta kabuğu, silika ve kaolen kullanarak kalsiyum silikat esaslı biyoseramiklerin sentezi ve nişasta döküm yöntemi uygulanarak doku iskelesi üretimleri gerçekleştirilmiştir. Başlangıç malzemelerinin ve üretilen doku iskelelerinin farklı karakterizasyon teknikleriyle detaylı incelemeleri gerçekleştirilmiştir. Carl Zeiss/Gemini 300 taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak içyapı analizi, Bruker marka D8 model X-ışını kırınım (XRD) cihazı ile Cu-K α radyasyonu ($\lambda=1,5406\text{\AA}$) kullanılarak faz analizi, TA SDT650 termogravimetrik analiz ve diferansiyel termal analiz sistemi (TG-DTA) ile sıcaklığa bağlı ağırlık değişimi ve malzemede gerçekleşen reaksiyonların sıcaklıkları ile reaksiyon türü belirlenmiştir. Malzemelerin IR spektrumu Thermo Nicolet iS50 model ATR-FTIR spektrofotometresi kullanılarak elde edilmiştir. ATR kristali üzerine yerleştirilen numunelerin tam olarak temas etmesi sağlandıktan sonra 4000–400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında ve 4 cm⁻¹ çözünürlükte analizler gerçekleştirilmiştir. Her bir ölçüm üç kez tekrar edilmiştir.

4.1. Başlangıç Malzemeleri

Tez çalışması kapsamında atık tavuk yumurta kabukları, silika, CC31 kaoleni ve nişasta kullanarak kalsiyum silikat esaslı doku iskeleleri üretilmiştir.

4.1.1. Atık yumurta kabuğu öğütme işlemi

Yumurta özellikle pastahane ve fırınlarda fazla miktarda kullanıldığından bu tür işletmelerden yumurta kabukları temin edilmiştir. Toplanan yumurta kabukları yıkandıktan sonra etüvde kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra yumurta kabukları Fritsch-Pulverisette 9 marka/model halkalı öğütücü kullanılarak, iki farklı hızda (1000 ve 1100 devir/dakika) ve 3 dakika süre ile kuru öğütme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1).



a)



b)



c)



d)

Şekil 4.1 : a) Yumurta kabuğu, b) öğütme işlemi öncesi hazneye konulan yumurta kabukları, c) halkalı öğütme cihazı ve d) öğütme sonrası yumurta kabuklarının elde edilen toz formu.

4.1.2. Kaolen ilavesi

Kalsiyum silikat doku iskelesi üretiminde başlangıç malzemesi olarak ticari ismi CC31olan kaolen kullanılmıştır. Kaolen malzemesi için XRD ile faz analizi ve SEM analizi yapılmıştır.

4.1.3. Silika ilavesi

Silika başlangıç malzemesi olarak Esan Eczacıbaşı Endüstriyel Hammaddeler San. ve Tic. A.Ş. firması tarafından sırlık kuvars olarak temin edilmiştir. Malzemenin tane boyutunun kaba olması sebebiyle Fritsh–Pulverisette 6 marka/model eksenel değirmen kullanılarak tane boyutu küçültme işlemi gerçekleştirilmiştir. Öğütme işlemi 300

devir/dakika hız uygulanarak 4 saat süre ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2 : Eksenel değirmen cihazı.

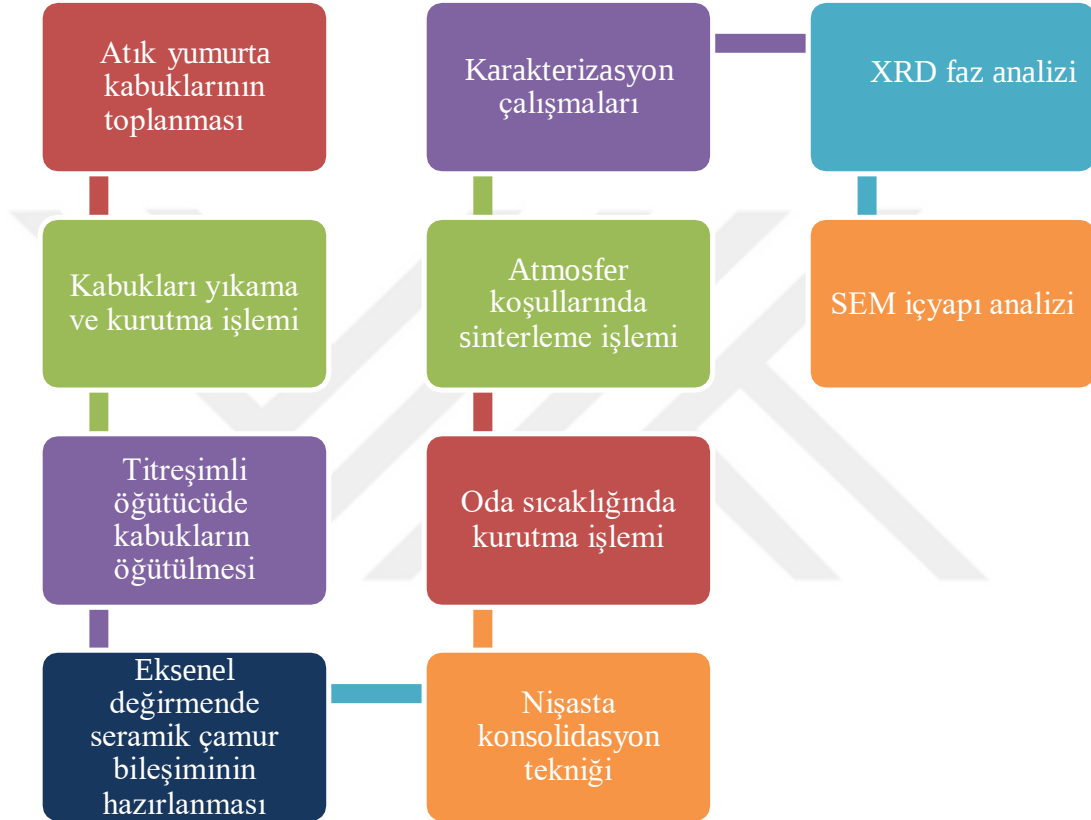
4.1.4. Güneş mısır nişastası kullanımı

Tez çalışması kapsamında gözenek oluşturun ve nişasta konsolidasyon tekniğiyle şekillendirme aşamasında jelleştirmeyi sağlamak amacıyla Güneş marka mısır nişastası kullanılmıştır. Kullanılan mısır nişastasının SEM analizi yapılmıştır. TA SDT650 termogravimetrik analiz ve diferansiyel termal analiz sistemi (TG-DTA) ile sıcaklığa bağlı ağırlık değişimi ve malzemede gerçekleşen reaksiyonların sıcaklıkları ile reaksiyon türü belirlenmiştir.

4.2. Kalsiyum Silikat Doku İskelesi Üretimi

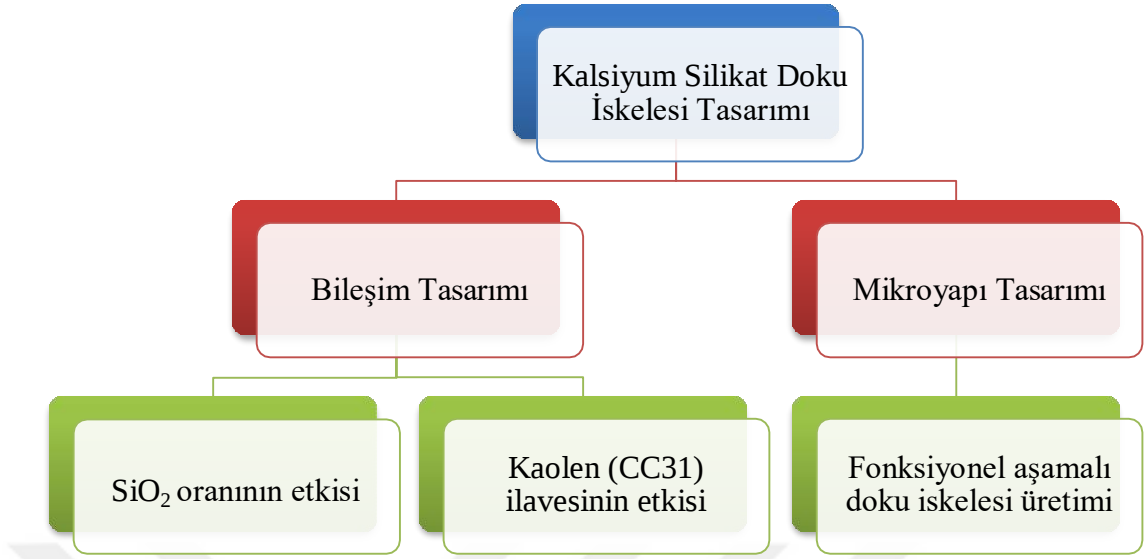
Atık yumurta kabukları pastahane ve fırınlarda çok miktarda kullanılması sebebiyle bu tür işletmelerden temin edilmiştir. Öncelikle iyi bir şekilde yıkanıp, ardından da etüvde kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında yumurta kabukları halkalı öğütücü kullanılarak kuru öğütme işlemine tabi tutulmuştur. Yumurta kabuklarının öğütülmesi sonrasında yumurta kabuğu, silika ve reolojik ilaveler kullanılarak eksenel değirmende nispeten yüksek katı oranına sahip kararlı bir seramik çamur hazırlanarak bu çamurla nişastayla konsolidasyon yöntemi kullanılarak seramik yaş bünyeler üretilmiştir. Bağlayıcı giderme ve ardından da sinterleme çalışmaları normal atmosfer koşullarında

1100–1200–1250°C sıcaklıkta 1,5–2 saat süreler ile gerçekleştirilmiştir. Carl Zeiss/Gemini 300 taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak oluşturulan doku iskelelerinin içyapısı ve XRD (X–ışını kırınımı) ile faz analizi Bruker marka D8 model X–ışını kırınım (XRD) cihazı ile Cu–K α radyasyonu ($\lambda=1,5406\text{\AA}$) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilmiş olan çalışmalara ait genel bir akım şeması Şekil 4.3’de sunulmaktadır.



Şekil 4.3 : Gerçekleştirilen deneysel çalışmalara ait genel bir akım şeması.

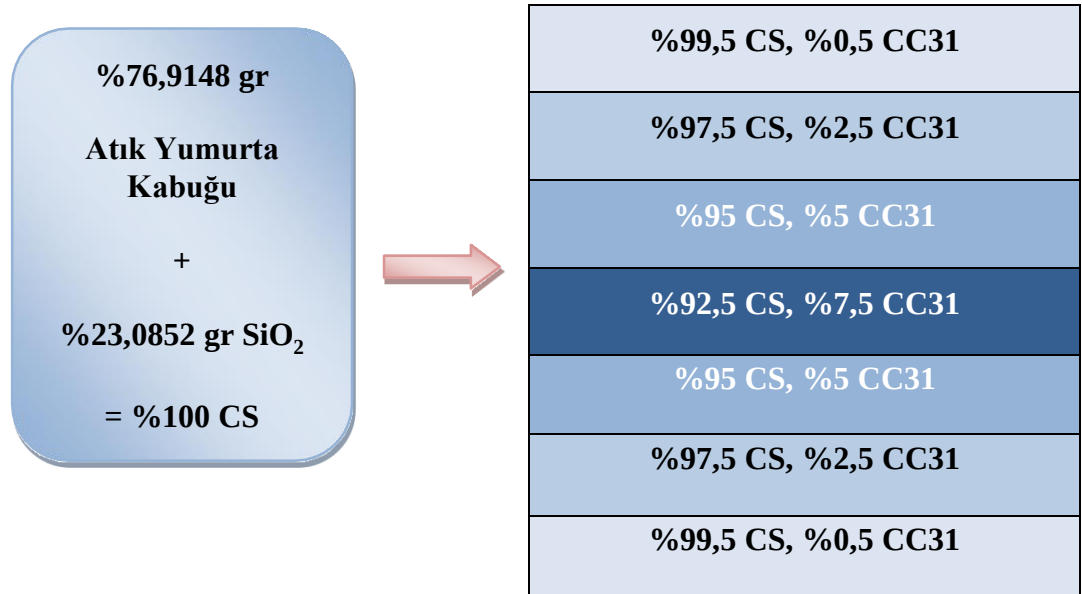
Gözenekli kalsiyum silikat esaslı doku iskelesi üretimi bileşim ve mikroyapı tasarımı olmak üzere ait iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 : Kalsiyum silikat esaslı doku iskelesi tasarımı.

4.2.1. Fonksiyonel aşamalı doku iskelesi üretimi

Tez çalışması kapsamında nişasta konsolidasyon yöntemi kullanılarak fonksiyonel aşamalı kalsiyum silikat doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Fonksiyonel aşamalı bir doku iskelesi üretebilmek için çalışmada 4 farklı kimyasal bileşime sahip, toplam 7 tabaka oluşturulmuş olup tasarlanan bileşimler aşağıda Şekil 4.5’de sunulmaktadır.



Şekil 4.5 : Fonksiyonel aşamalı kalsiyum silikat esaslı doku iskelesi bileşim tasarımı.

Yapının ilk 4 tabakasında kil miktarının artırıldığı ve 4. tabakadan sonra ki l miktarının azaldığı görülmektedir. Tasarımda aşamalı olarak değişen malzeme içeriği ve gözenek miktarı ile birlikte iyi mekanik özelliklere sahip, gözenekli, biyouyumlu, biyoaktif, hücre çoğalmasını/rejenerasyonu hızlandıran fonksiyonel aşamalı doku iskelesi tasarımı hedeflenmiştir. Nişasta konsolidasyon üretim yöntemi ile birlikte fonksiyonel aşamalı kalsiyum silikat esaslı doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Başarılı bir şekilde Şekil 4.5’de tasarlanan 7 katmanlı fonksiyonel aşamalı kalsiyum silikat doku iskelelerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca ilk 4 katmandan oluşan yine fonksiyonel aşamalı mikroyapı tasarımına ait kalsiyum silikat esaslı doku iskelesi numuneleri de üretilerek karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

4.2.2. Silika oranının ve kil takviyesinin etkisi için tasarlanan bileşimler

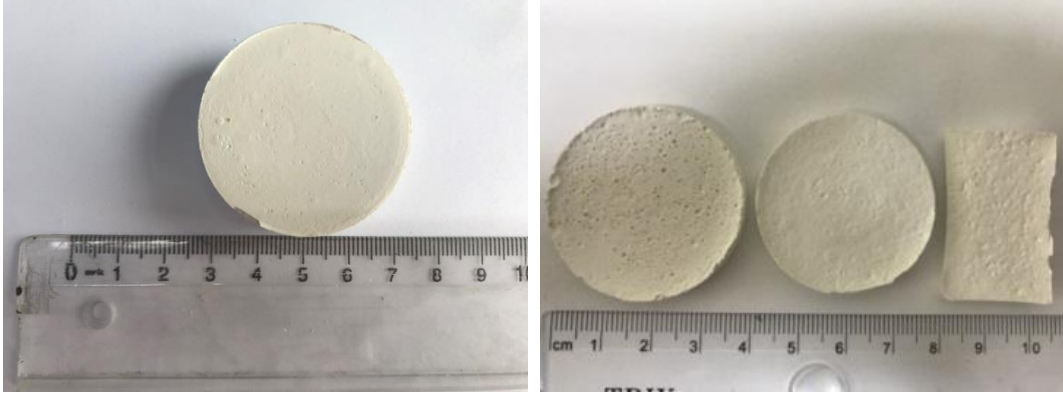
Gözenekli kalsiyum silikat üretimi için değişen oranlarda silika ve kil takviyesi yapılarak doku iskelelerinde faz bileşimlerinde ve sintreleme davranışlarında meydana gelen değişimler gözlenmiştir. Üretimde kullanılan malzeme bileşimleri Çizelge 4.1’de sunulmaktadır.

Çizelge 4.1 : Silika oranının ve kaolen takviyesinin kalsiyum silikat oluşumu üzerine etkisini incelemek üzere tasarlanan bileşimler.

Numune Kodu	CaCO ₃ , g	SiO ₂ , g	Kil, g	Nişasta, g
M-CS	66	19,81	12,87	9,87
DSM-CS	66	13,86	11,98	9,18
YSM-CS	66	25,75	13,76	10,55
S-CS	66	19,81	---	8,58
DSS-CS	66	13,87	---	7,99
YSS-CS	66	25,75	---	9,17

M-CS: Kaolen takviyeli kalsiyum silikat, **DSM-CS:** Düşük silika ve kaolen takviyeli kalsiyum silikat
YSM-CS: Yüksek silika ve kaolen takviyeli kalsiyum silikat, **S-CS:** Stokiyometrik kalsiyum silikat,
DSS-CS: Düşük silika içerikli kalsiyum silikat, **YSS-CS:** Yüksek silika içerikli kalsiyum silikat.

Değişen silika oranı ve kil takviyesi sonucunda üretilmiş kalsiyum silikat esaslı doku iskeleleri aşağıdaki şekilde sunulmaktadır.



a)

b)

Şekil 4.7 : a) Nişasta konsolidasyon tekniği ile elde edilen gözenekli yaş bün-yeler ve b) sinterleme sonucu elde edilen gözenekli doku iskeleleri.

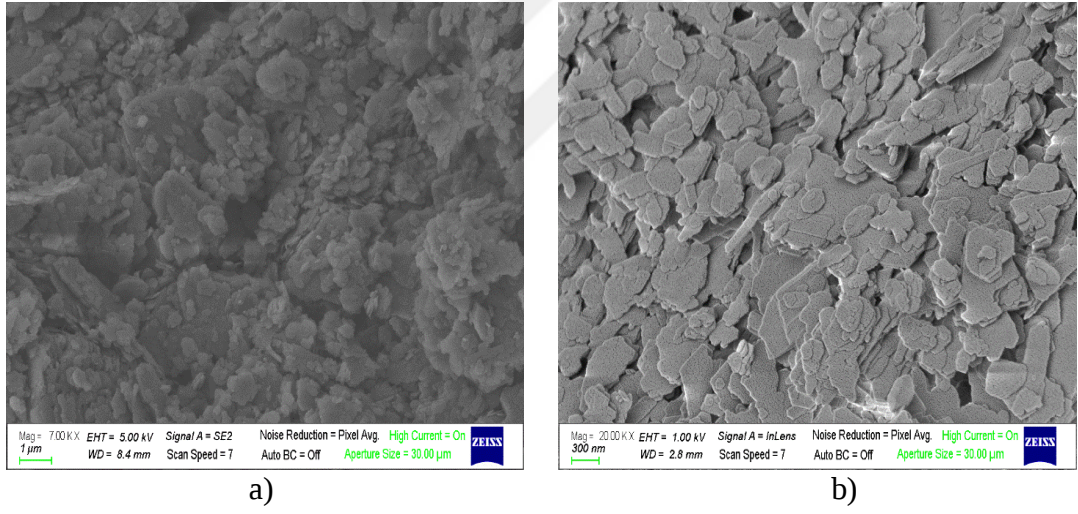
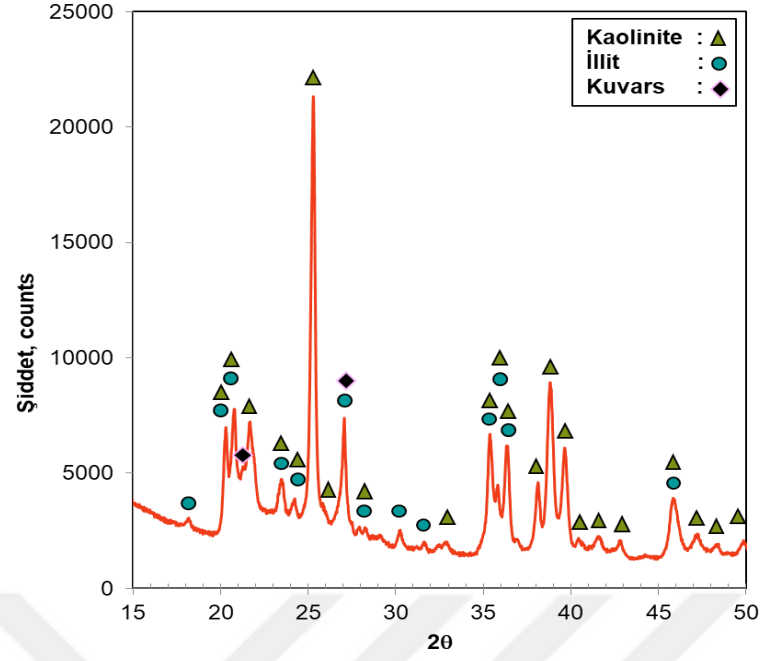
Üretilmiş tek katmanlı kalsiyum silikat doku iskeleleri 1100–1200–1250°C sıcaklıkta 1,5–2 saat süre ile sinterleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sinterleme işlemi sonrası karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.3. Karakterizasyon Çalışmaları

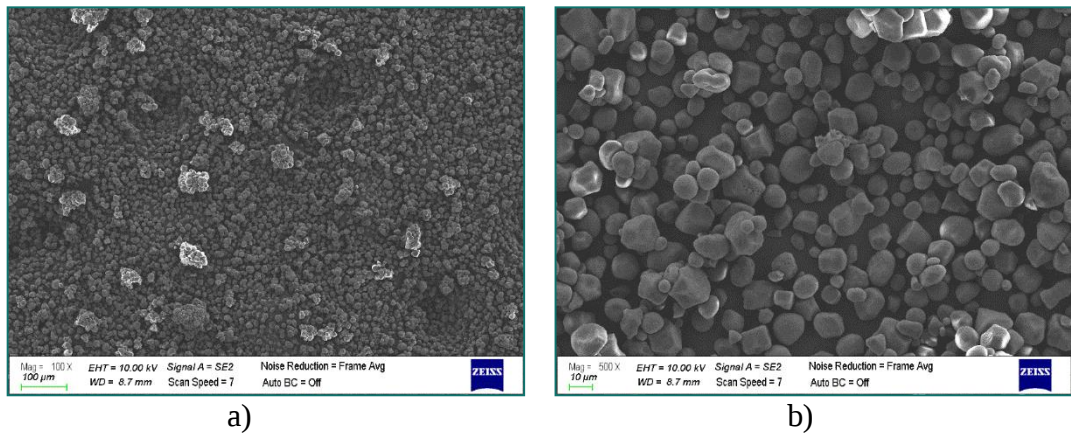
Başlangıç malzemesi olarak kullanılan ve ticari ismi CC31 olarak bilinen kaolene ait XRD ile faz analizi sonucu ve SEM görüntüleri aşağıda sunulmuştur. CC31 kaolende safsızlık olarak bir miktar serbest kuvars ve illit fazlarının bulunduğu belirlenmiştir. SEM incelemeleri CC31'in ince bir tane boyutuna ve tabakalı bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir.

Çalışma kapsamında gözenek oluşturucu olarak güneş mısır nişastası kullanılmıştır. Mısır nişastasına ait SEM görüntüleri Şekil 4.10'da sunulmuştur.

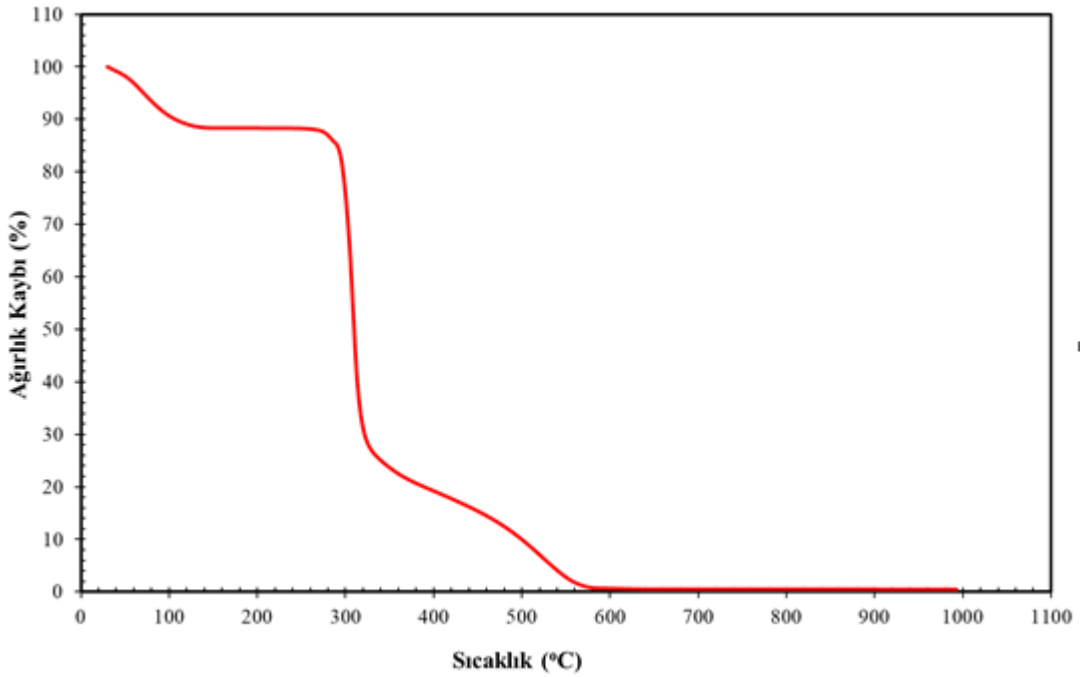
SEM görüntüleri incelendiğinde Güneş mısır nişastasının tane boyut dağılımının nispeten dar olduğu görülmektedir. Tane boyut dağılımı 2 ile 25 mikron metre aralığında değişmektedir. Genel olarak Güneş mısır nişastası homojen tane boyut dağılımına sahiptir. Güneş mısır nişastasına ait TG analiz sonucu Şekil 4.11'de sunulmuştur.



Şekil 4.9 : Kaolenin a) 7 kx ve b) 20 kx büyütmelelerdeki SEM görüntüleri.



Şekil 4.10 : Güneş mısır nişastasına ait a) 100X ve b) 500X büyütmede SEM görüntüleri.

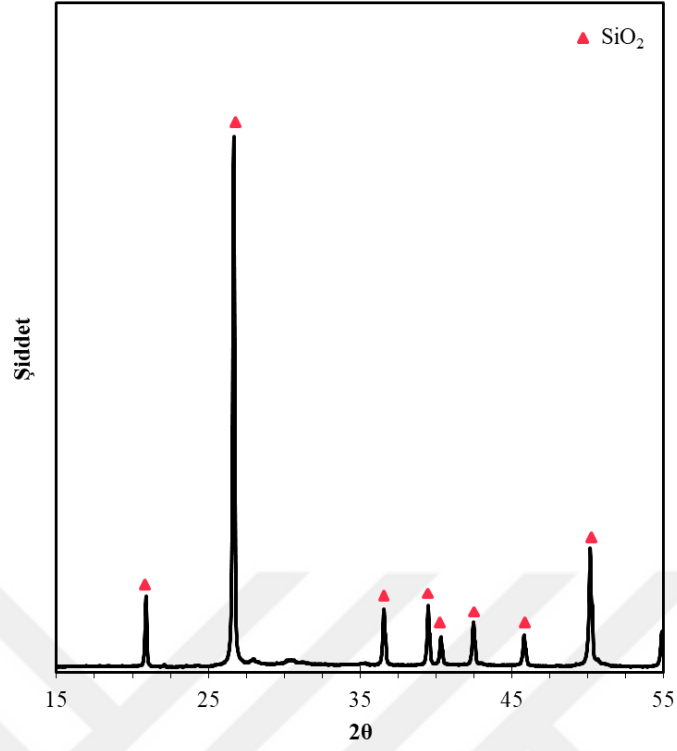


Şekil 4.11 : Güneş mısır nişastasına ait TG analiz sonucu.

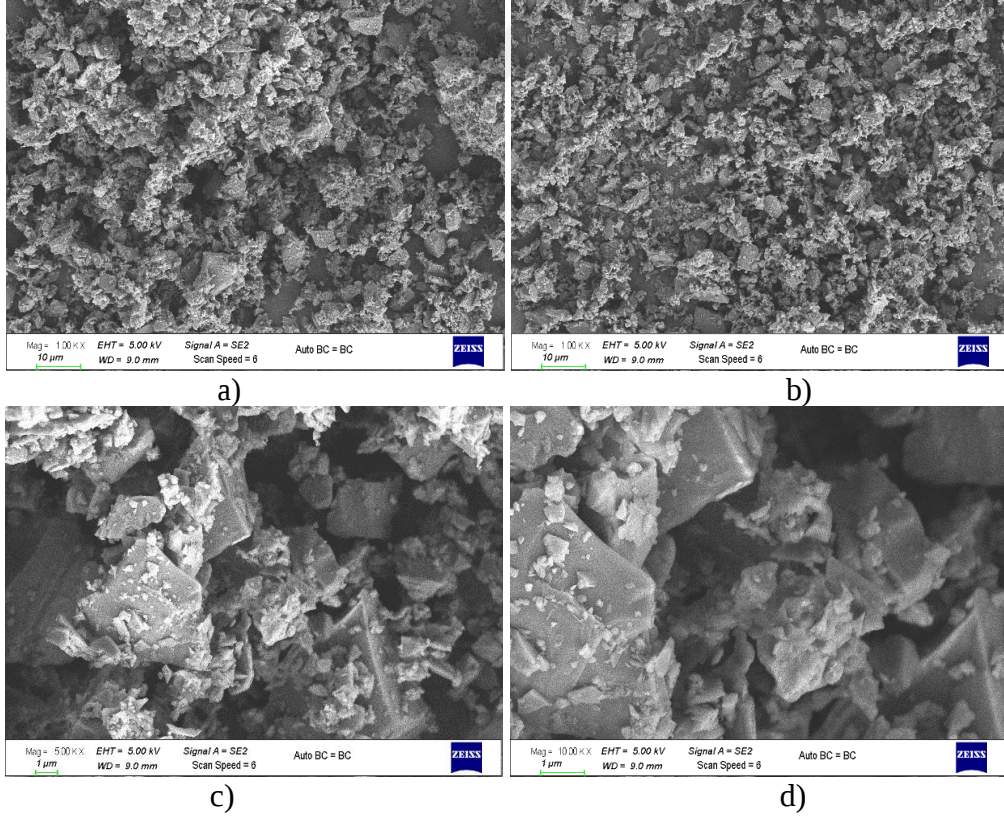
Güneş mısır nişastasına ait TG analizi sonucu incelendiğinde; 100°C de meydana gelen ağırlık kaybının yaklaşık %10-11 olduğu görülmektedir. Bu kaybın nem kaynaklı olduğu bilinmektedir. Ardından 120–300°C sıcaklık aralığında belirgin bir ağırlık kaybının olmadığı görülmektedir. Ancak 280–330°C sıcaklık aralığında, hayli yüksek (>%60) bir ağırlık kaybı meydana gelmektedir. Son aşamada ise 320–600°C aralığında ağırlık kaybının yaklaşık %25 olduğu görülmektedir. Mısır nişastasının 600°C’de tamamen yapıdan uzaklaştırılabileceği bu analiz ile belirlenmiştir.

4.3.1. Silika ve yumurta kabuğu karakterizasyonu

Silika başlangıç malzemesinin XRD ile faz analizi ve SEM ile içyapı analizi yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda sunulmaktadır.



Şekil 4.12 : Silikanın XRD analiz sonucu.

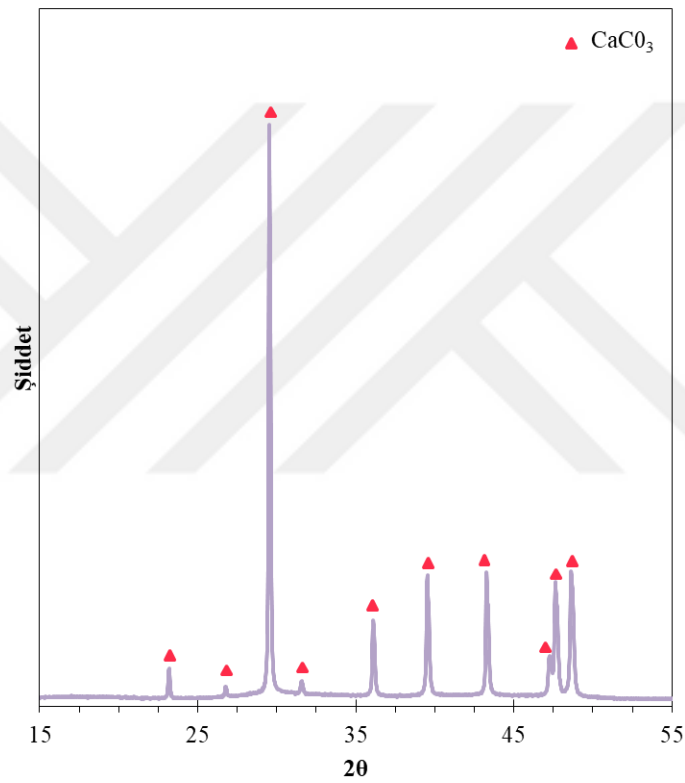


Şekil 4.13 : Silikanın a) ile b) 1 kx, c) 5 kx ve d) 10 kx büyütmelerdeki SEM görüntüsü.

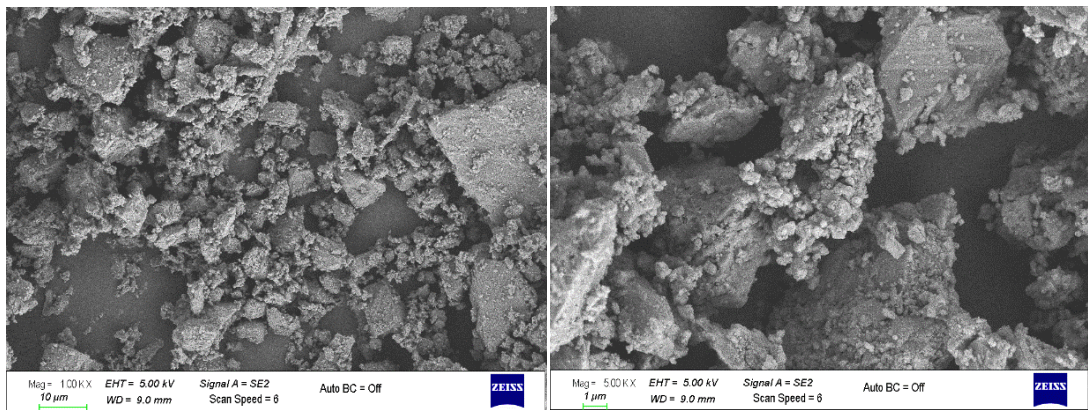
Yukarıdaki Şekil 4.13’de silikanın farklı büyütmelerdeki SEM ile içyapı analiz

görüntüleri verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde tane boyut dağılımının geniş olduğu ve tane boyut morfolojisinin heterojen olduğu görülmektedir. Tane boyutunun genel olarak 10 mikron metrenin altında olduğu görülmektedir.

Şekil 4.14’de atık yumurta kabuğuna ait XRD ile faz analizi sonucu ve Şekil 4.15’de SEM ile içyapı analiz sonuçları verilmiştir. SEM analiz sonucu incelendiğinde tane boyut dağılımının geniş olduğu ve tane morfolojisinin heterojen olduğu görülmektedir. Yumurta kabuğunun kalsiyum karbonat içerdiği XRD analiziyle belirlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 : Atık yumurta kabuğuna ait XRD sonucu.

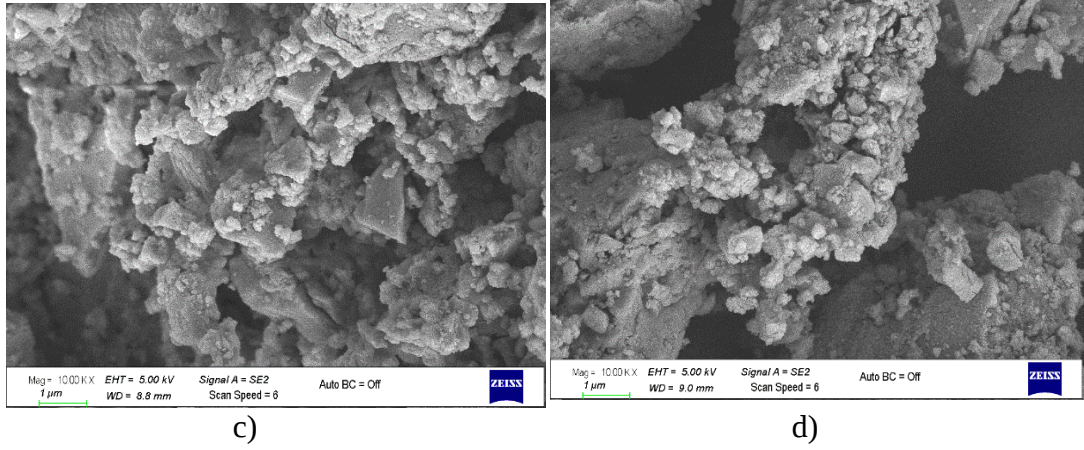


a)

b)

Şekil 4.15 : Yumurta kabuğunun a) 1 kx, b) 5 kx, ve c) ile d) 10 kx büyütmelerdeki

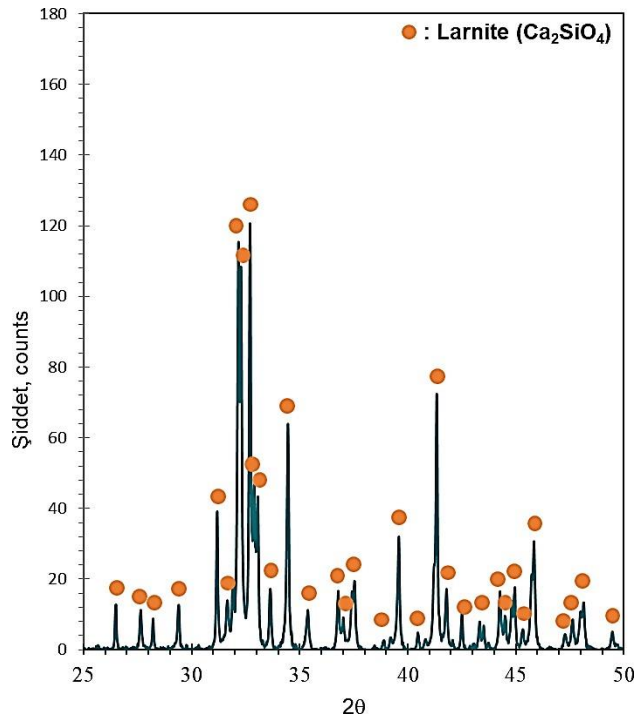
SEM görüntüleri.



Şekil 4.15 (devam) : Yumurta kabuğunun a) 1 kx, b) 5 kx, ve c) ile d) 10 kx büyütmelerdeki SEM görüntüleri.

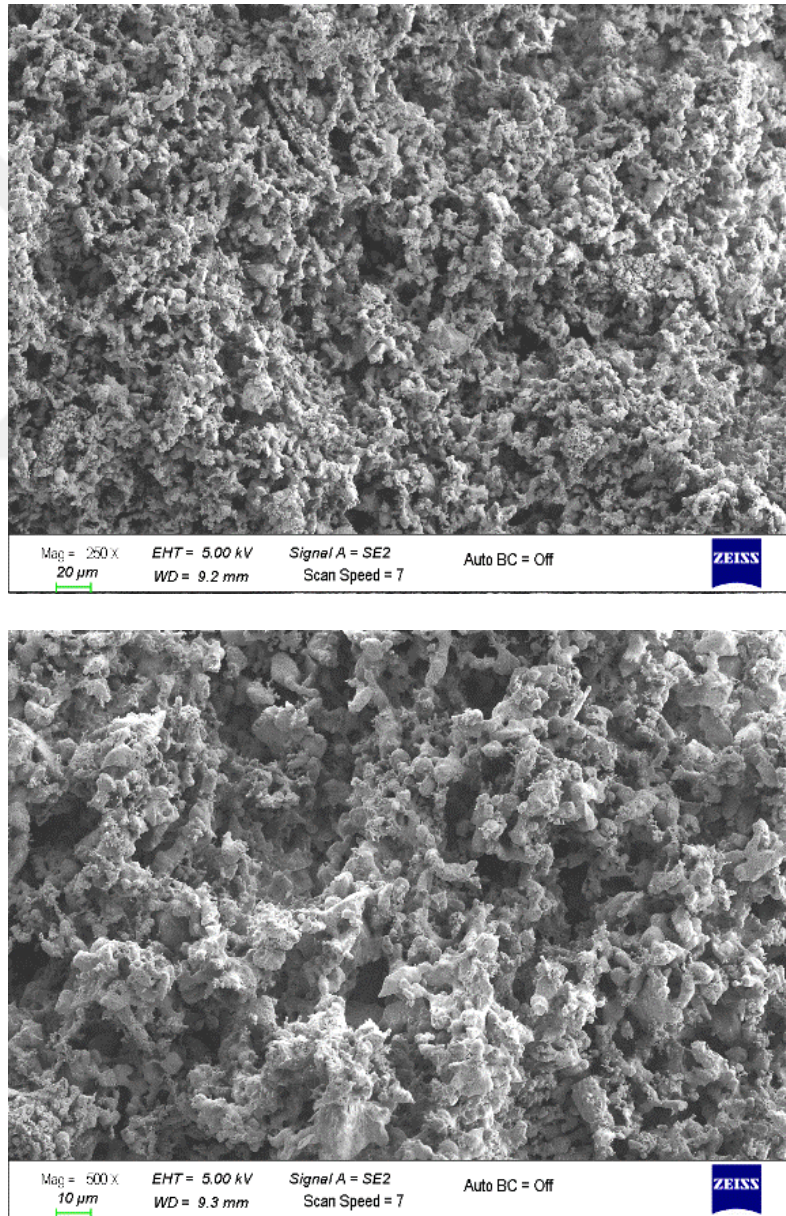
4.3.2. XRD ile faz bileşimin belirlenmesi

Üretimi tamamlanmış kalsiyum silikat numuneleri 1200–1250–1300°C sıcaklıklarda 1,5–2 saat süreler ile sinterleme işlemine tabi tutulmuştur. Sinterleme adımı sonrası doku iskelelerine XRD ile faz analizi yapılmıştır. Aşağıdaki 1200°C sıcaklıkta 1,5 saat süre ile sinterlenen numunelerin XRD faz analiz sonuçları mevcuttur.



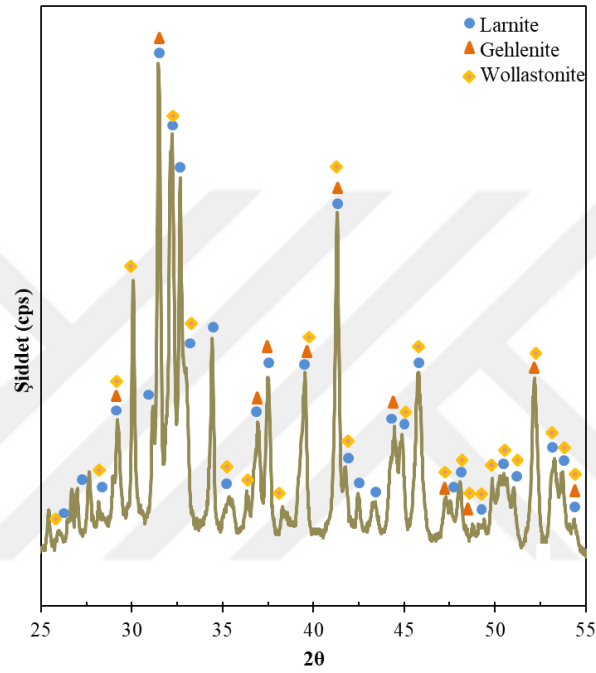
Şekil 4.16 : Nişastayla konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1200°C’de 1,5 saat süreyle sinterlenen doku iskelesine ait XRD analiz sonucu.

Nişastayla konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan 1200°C’de 1,5 saat süreyle sinterlenen numunelere ait XRD analizi sonucunda faz bileşiminde müllit fazının varlığı belirlenememiştir. Yapıda larnite (dikalsiyum silikat, Ca_2SiO_4) fazının olduğu saptanmıştır. Müllit fazının düşük miktarlarda oluşması halinde XRD ile belirlenememiş olma ihtimali bulunmaktadır. Ancak sisteme ilave edilen kaolenin varlığı da XRD ile belirlenememiştir. Muhtemelen kaolenin uygulanan ısıı işlem sürecinde yapıda müllit oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonları tamamlayamamış olduğu ve sıvı faz oluşumuna katkı verdiği düşünölmektedir.



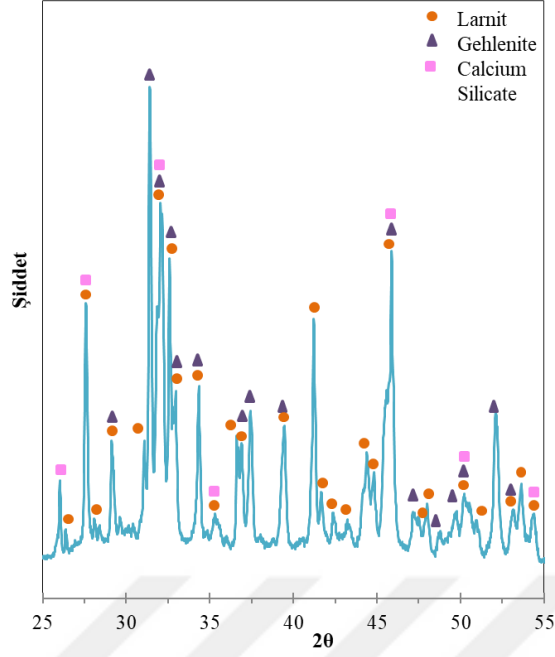
şekil 4.17 : 1200°C de sinterlenen tek tabakalı yapıya ait farklı büyötmelerde çekilen taramalı elektron mikroskobu görüntöleri.

Şekil 4.17 incelendiğinde yapıda önemli bir oranda tane büyümesinin de gerçekleşmemiş olduğu saptanmıştır. Ayrıca yapıda istendiği şekilde yüksek oranda açık gözenek elde edildiği ve homojen gözenek dağılımının olduğu görülmektedir. Gözeneklerin farklı boyut ve dağılımlarda elde edilmesi, makro ve mikro, şeklinde başarılı bir şekilde sağlanmıştır. Elde edilen gözenek boyut ve dağılımı doku iskelesi uygulamasının isterlerine uygundur.



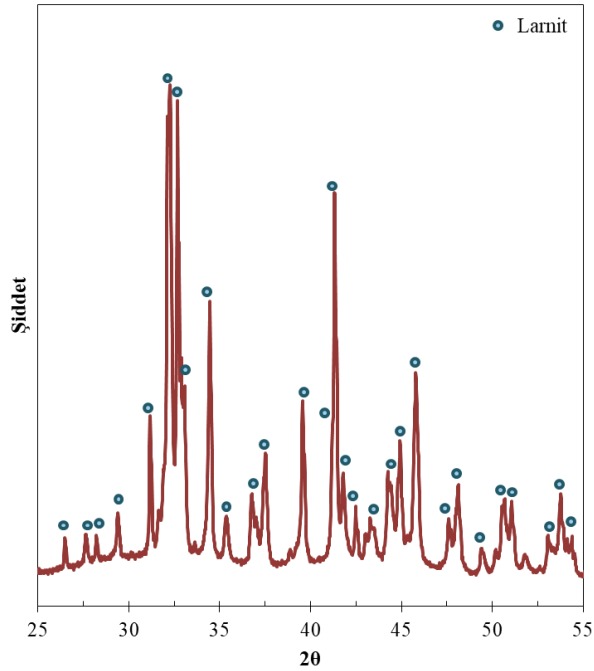
Şekil 4.18 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen M–CS numunesinin XRD paterni.

Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan M–CS numunesinin 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen XRD paterni Şekil 4.18’de sunulmaktadır. M–CS numunesinin 1200°C sıcaklıkta XRD analiz sonucu incelendiğinde larnite, gehlenite ve wollastonite fazlarının olduğu tespit edilmiştir.



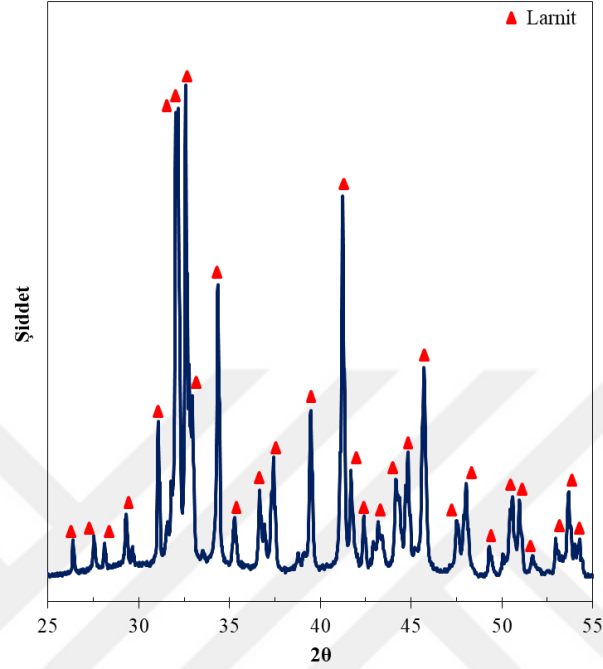
Şekil 4.19 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen M–CS numunesinin XRD analiz sonucu.

Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan M–CS numunesinin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen XRD analiz sonucu Şekil 4.19’da verilmiştir. Analiz sonucu incelendiğinde M–CS numunesinin 1250°C sıcaklıkta gehlenite, larnite ve calcium silicate fazlarının olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.20 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen S–CS numunesinin XRD paterni.

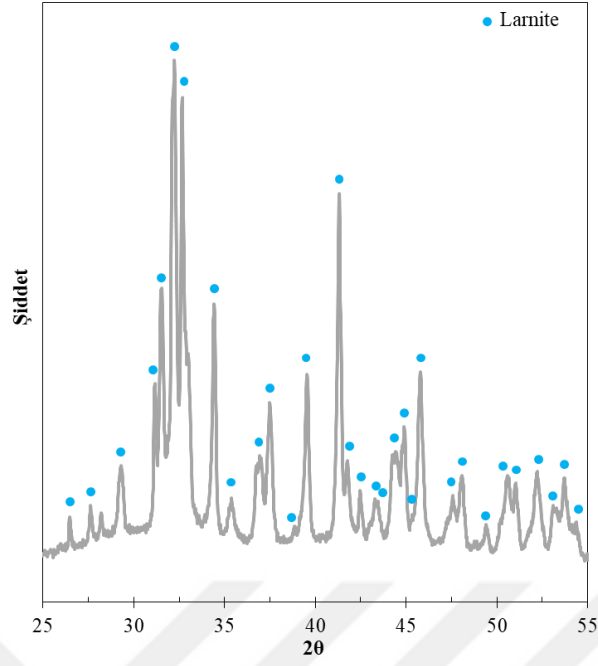
Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen S-CS numunesi XRD sonucu incelendiğinde yapıda tek faz olan larnite fazının oluştuğı görölmektedir (Şekil 4.20).



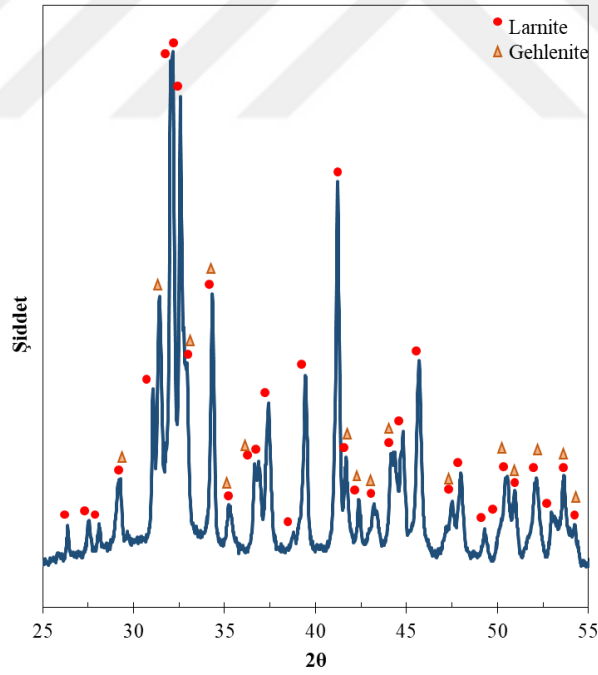
Şekil 4.21 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen S-CS numunesinin XRD analiz sonucu.

Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan S-CS numunesinin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen XRD faz analizi yukarıdaki şekilde sunulmaktadır. Yapıda 1250°C sıcaklıkta sadece larnite fazı oluşmuştur.

Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan DSM-CS numunesinin XRD faz analiz sonucu incelendiğinde yapıda tek faz olan larnite fazının oluştuğı görölmektedir.

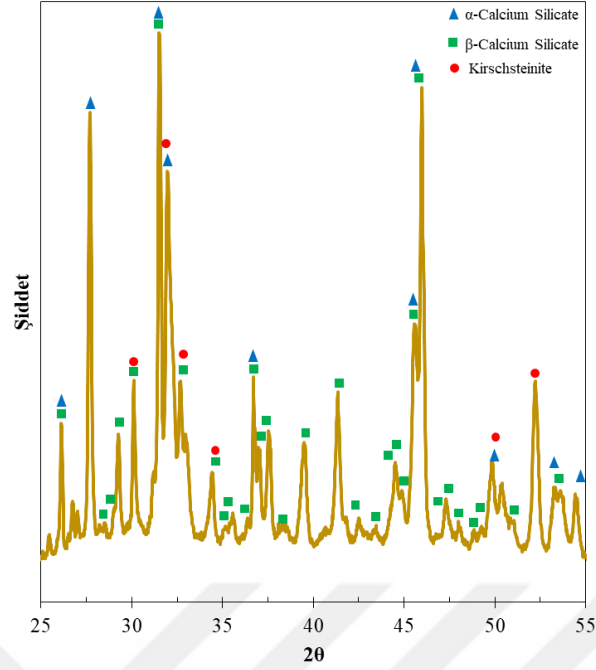


Şekil 4.22 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSM-CS numunesinin XRD paterni.



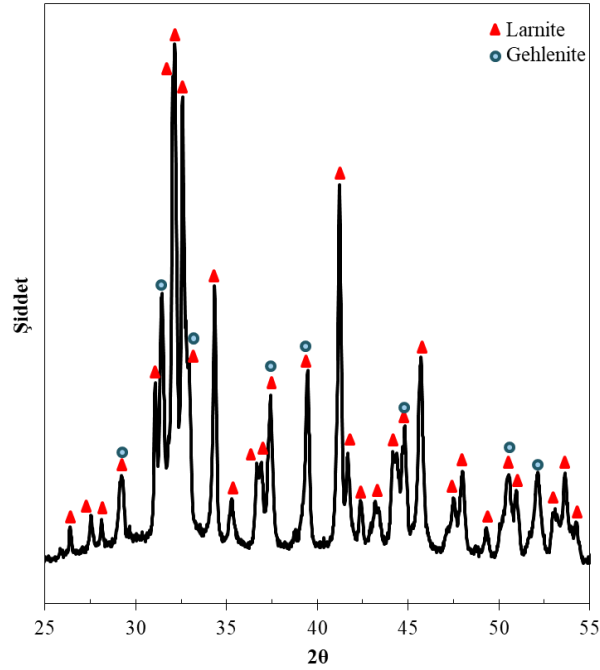
Şekil 4.23 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSM-CS numunesinin XRD paterni.

Düşük silika ve kaolen takviyeli numunenin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen XRD faz analizi yukarıdaki şekilde sunulmaktadır. Yapıda larnite ve gehlenite fazlarının oluştuğu görülmektedir. Sinterleme sıcaklığının artması ile DSM-CS numunesinde gehlenite fazı oluşmuştur.



Şekil 4.24 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSM-CS numunesinin XRD paterni.

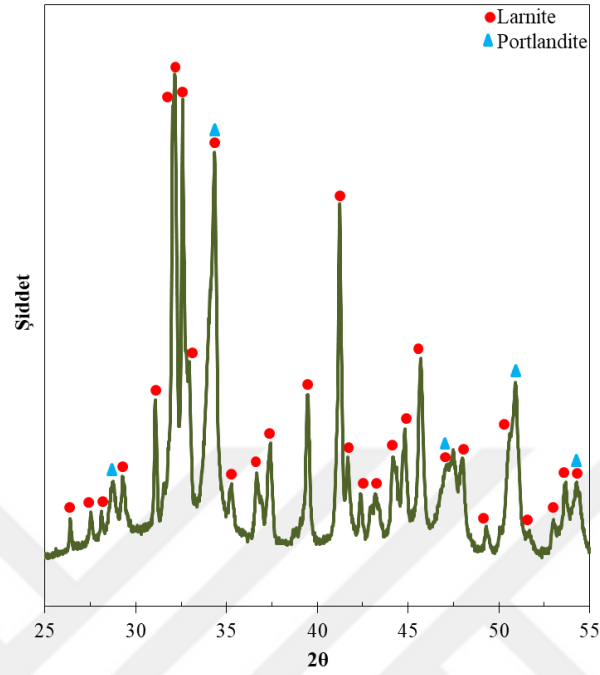
Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSM-CS numunesinin XRD analizi sonucunda yapıda kirschsteinite, α -calcium silicate ve β -calcium silicate fazları oluşmaktadır.



Şekil 4.25 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSM-CS numunesinin XRD paterni.

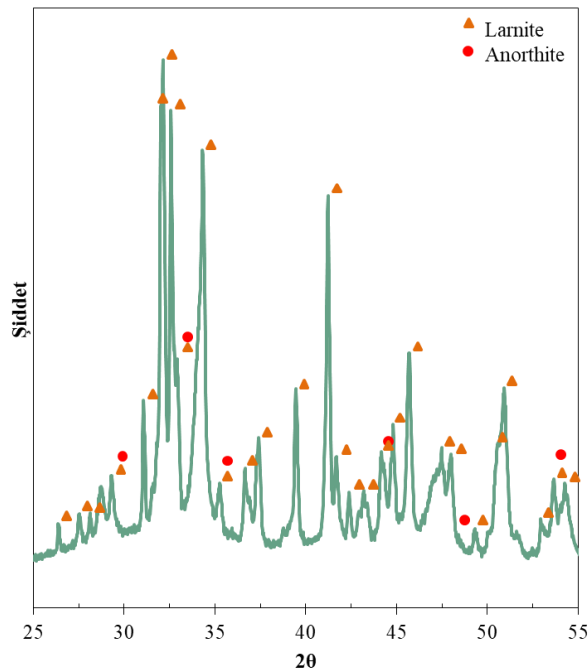
Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan YSM-CS'a yapılan XRD faz analiz

sonucuna göre sinterleme sıcaklığının artması ile yapıda larnite ve gehlenite fazlarının oluştuğu gözlemlenmiştir.



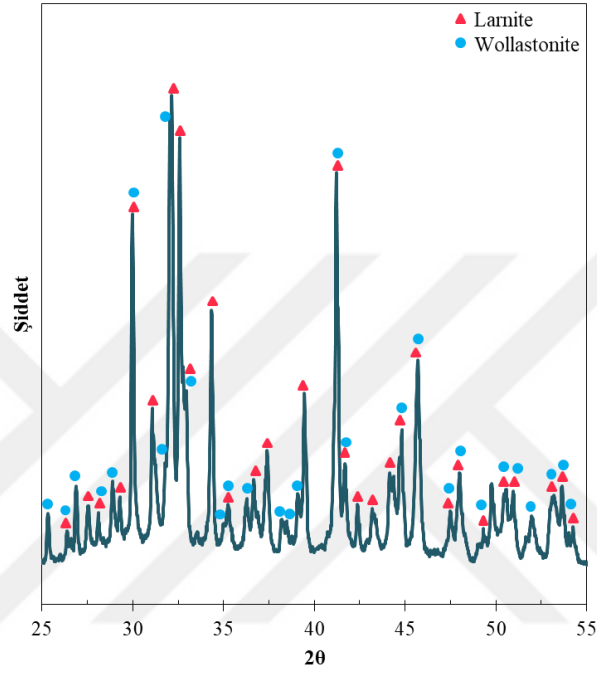
Şekil 4.26 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSS-CS numunesinin XRD paterni.

Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSS-CS numunesinin XRD faz analizi sonucu incelendiğinde larnite ve portlandite fazları oluşmuştur.



Şekil 4.27 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen DSS-CS numunesinin XRD analiz sonucu.

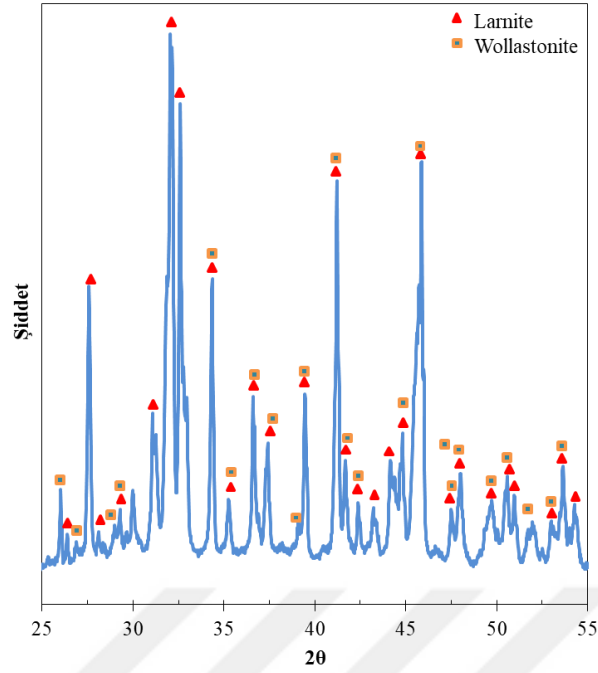
Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan DSS-CS numunesinin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonrası XRD analizi sonucunda yapıda larnite ve anorthite fazları oluşmuştur. Sinterleme sıcaklığının artması ile yapıda anorthite fazı oluşmuştur.



Şekil 4.28 : 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSS-CS numunesinin XRD paterni.

Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan YSS-CS numunesinin 1200°C’de 2 saat süreyle sinterlenmesi sonrası XRD sonucu incelendiğinde yapıda larnite ve wollastonite fazlarının olduğu görülmektedir.

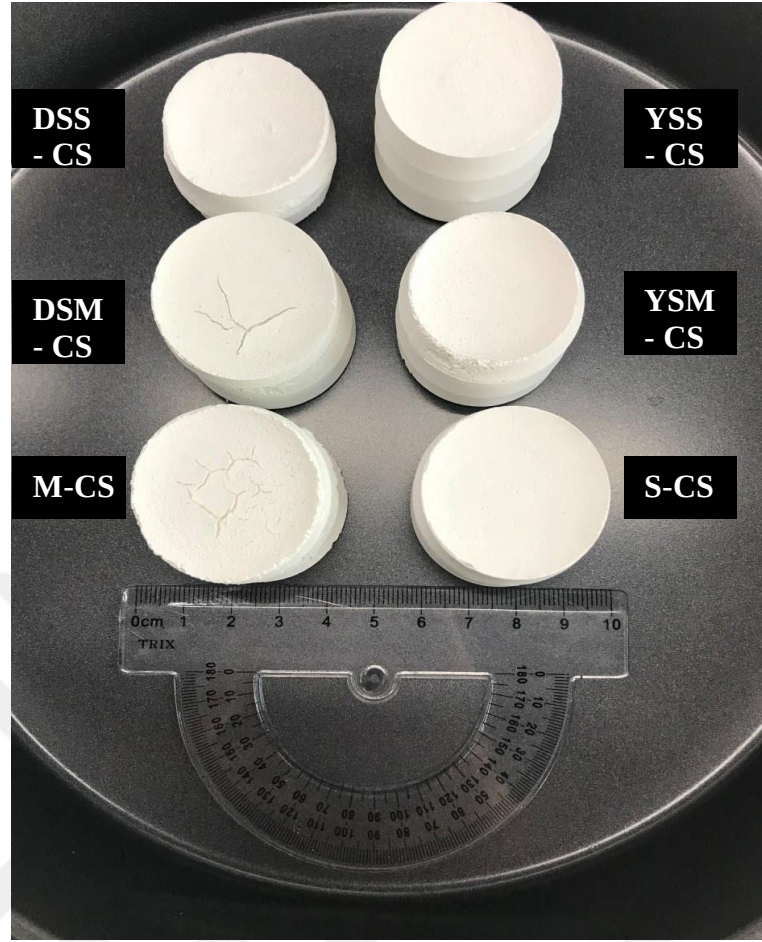
Nişasta konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan YSS-CS numunesinin faz analizi sonucu incelendiğinde yapıda larnite ve wollastonite fazlarının olduğu görülmektedir. Sinterleme sıcaklığının artması ile yapıdaki fazlarda bir değişiklik gerçekleşmemiştir.



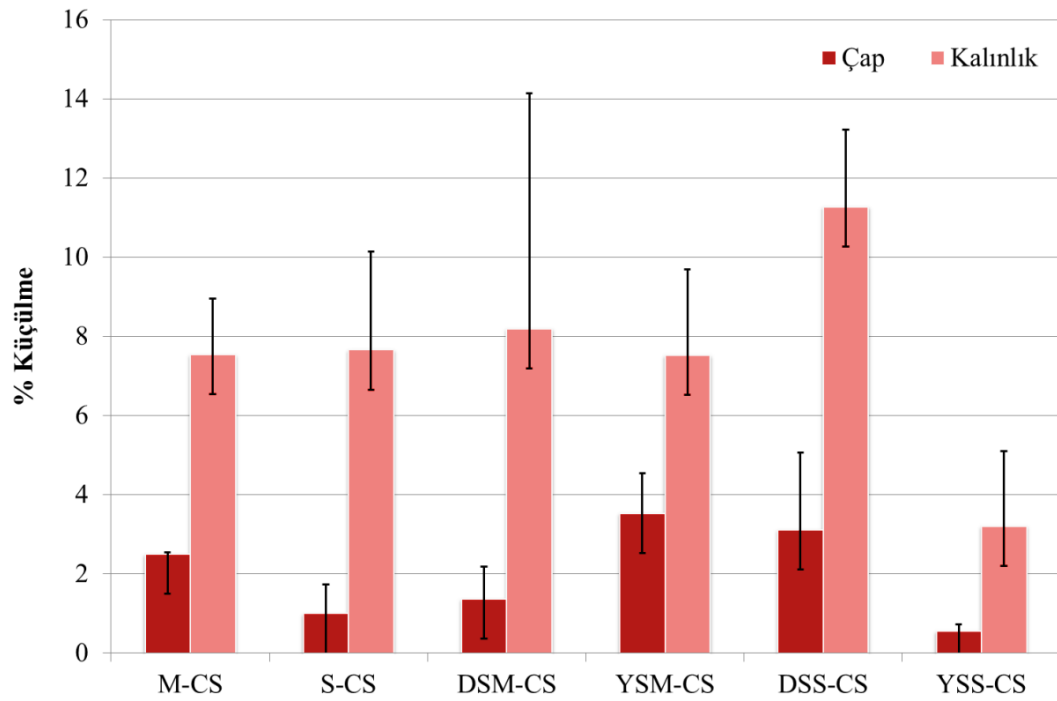
Şekil 4.29 : 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen YSS-CS numunesinin XRD paterni.

4.3.3. Sinterleme çekmeleri

Değişen oranlardaki 6 farklı reçete ile üretilen kalsiyum silikat esaslı doku iskeleleri 3°C/dakika ısıtma hızı ile üç farklı sıcaklık olan 1200–1250–1300°C sıcaklıklarda 2 saat süreyle sinterleme işlemine tabi tutulmuştur. Sinterleme öncesi ve sinterleme işlemi sonrası her numunenin ağırlık ve boyut (çap–kalınlık) ölçme işlemi gerçekleştirilerek sinterleme çekmeleri hesaplanmıştır. Her sinterleme sıcaklığı için bu işlem ayrı ayrı yapılmıştır. Aşağıda sunulan şekiller sinterleme sonrası numunelerin görüntülerini ve sinterleme çekmelerini içermektedir.



Şekil 4.30 : Nişastayla konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1200°C’de 2 saat süreyle sinterlenen 6 farklı içeriğe sahip doku iskelelerinin görüntüleri.



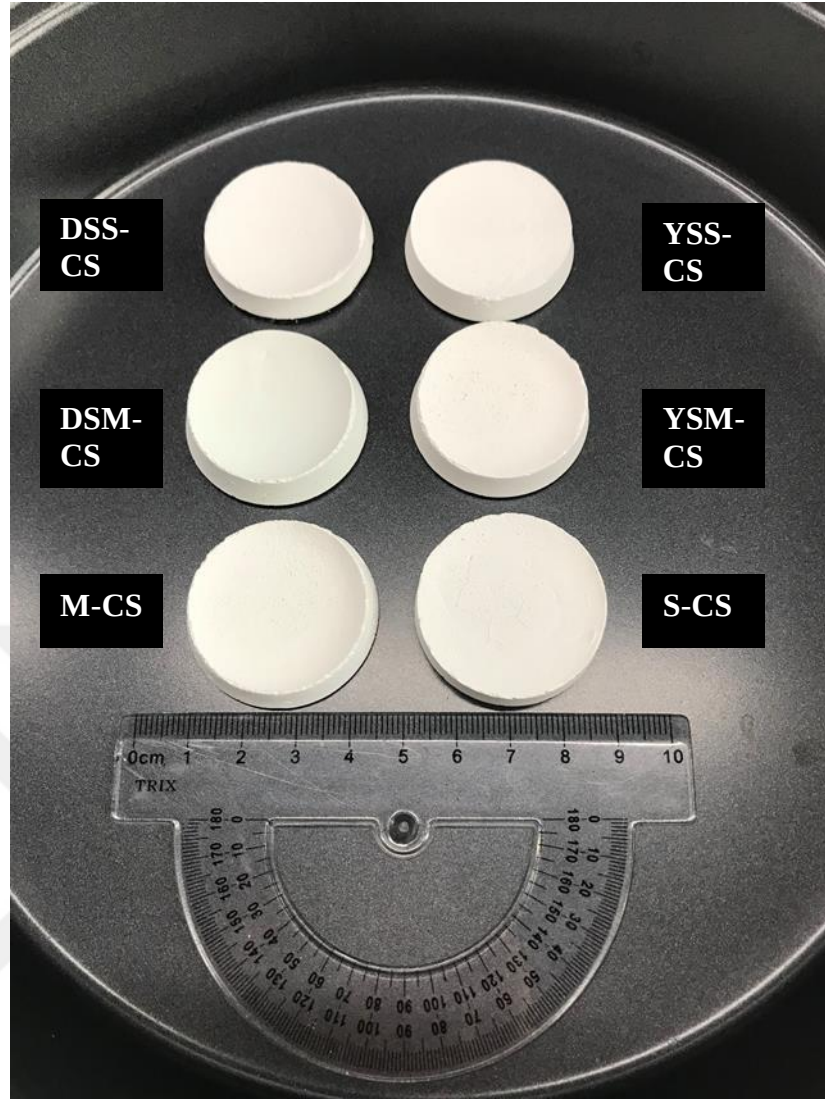
Şekil 4.31 : Sinterleme sıcaklığı 1200°C olan 2 saat süreyle sinterlenen doku iskelelerinin sinterleme öncesi ve sonrası boyut ölçümlerindeki (çap-kalınlık) % küçülme.

Yukarıdaki grafik numunelerin çap ve kalınlıklarındaki boyutsal değişimi gösteren sinterleme çekmelerini içermektedir. Numune çapındaki boyutsal değişim incelendiğinde en az değişen numunenin YSS-CS olduğu, en fazla çap değişiminin gözlemlendiği numunenin ise YSM-CS olduğu görülmektedir.

Numune kalınlıklarındaki boyutsal değişim (% küçülme) incelendiğinde en az sinterleme çekmesinin gözlemlendiği malzemenin YSS-CS olduğu, en fazla sinterleme çekmesinin gözlemlendiği numune ise DSS-CS olduğu gözlemlenmiştir.

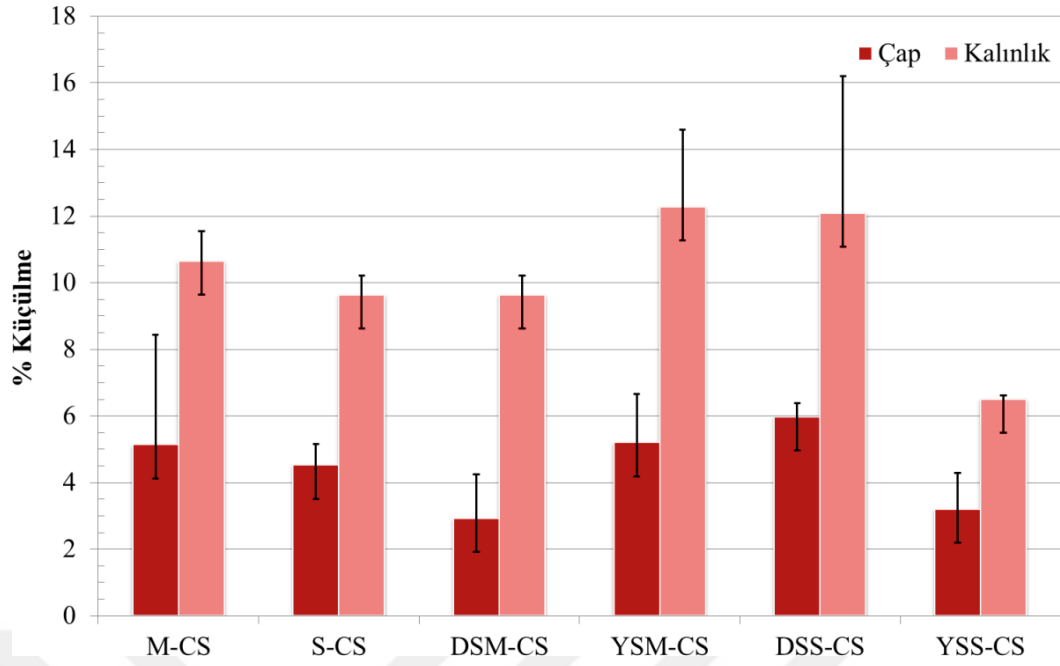
Aşağıdaki grafik numunelerin çap ve kalınlıklarındaki boyutsal değişimi gösteren (% küçülme) sinterleme çekmelerini içermektedir. Numune çapındaki boyutsal değişim incelendiğinde en az değişen numunenin DSM-CS olduğu görülür iken, en fazla çap değişiminin gözlemlendiği numune DSS-CS'dir.

Sinterleme öncesi ve sonrası ölçülen kalınlık farkları incelendiğinde % kalınlık küçülmesinin en az olduğu numunenin YSS-CS olduğu, en fazla kalınlık % küçülmesinin YSM-CS numunede olduğu görülmektedir.



Şekil 4.32 : Nişastayla konsolidasyon yöntemiyle hazırlanan ve 1250°C’de 2 saat süreyle sinterlenen 6 farklı içeriğe sahip doku iskelelerinin görüntüleri.

Son olarak 1300°C’de 2 saat süreyle sinterlenen doku iskelelerinin sinterleme öncesi ağırlık ve boyut ölçümleri yapılmıştır. Sinterleme sonrası numune formlarında şekil 4.34’te gösterildiği gibi farklılıklar oluşmuştur.

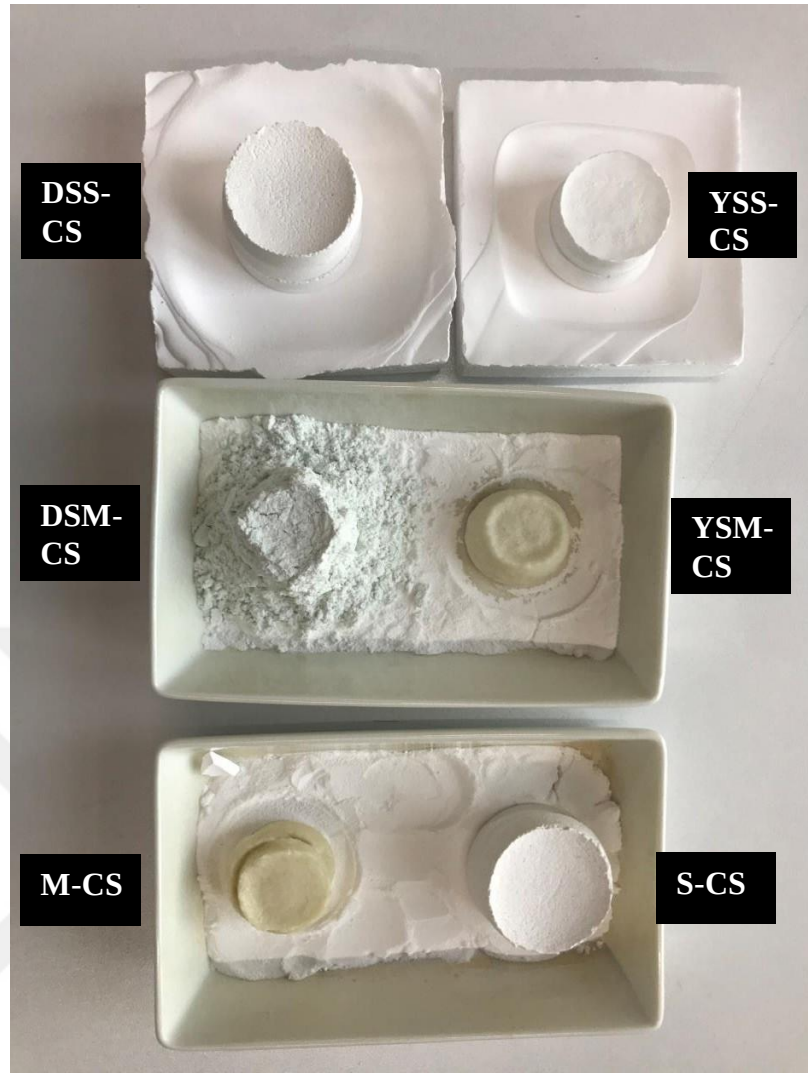


Üç 4.33 : Sinterleme sıcaklığı 1250  C olan 2 saat süreyle sinterlenen doku iskelelerinin sinterleme öncesi ve sonrası boyut     mlerindeki (    -      ) % k      .

Üç 4.34, 6 farklı tasarım ile üretilen kalsiyum silikat numunelerinin 1300  C’de 2 saat süreyle sinterlenmesi sonucuna aittir.      incelendiğinde M-CS numunesinde yüksek bir oranda çekmenin gözlendiği ve sintreleme işlemi sırasında üst üste bulunan 3 numunenin birbirine yapıştığı gözlemlenmiştir. S-CS numunelerinin sağlam olması gereken formda bulunduğu gözlemlenmiştir. DSM-CS numunelerinin ise sinterleme sonucu tamamen toz formunda olduğu g  r  lm    tir. YSM-CS numunesinde ise en yüksek çekmenin meydana geldiği ve YSM-CS numunesinin altlığa yapı  şarak farklı bir reaksiyona girdiği gözlemlenmiştir. DSS-CS numunesi normal sağlam formda sinterleme işleminin gerçekleştiği gözlemlenmiştir. YSS-CS numunesinde ise fazla sinterlemenin olduğu ve numunede aşırı bir sertleşme meydana gelmiştir.

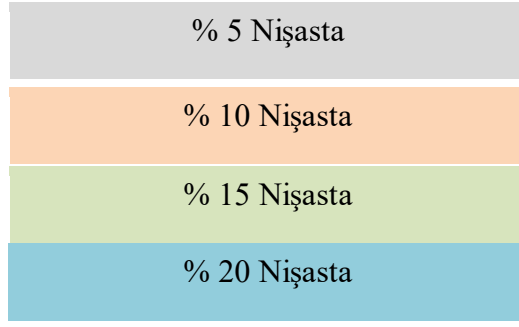
4.3.4. Dört katmanlı fonksiyonel aşamalı dikalsiyum silikat   retimi

Tez   alı  ması kapsamında deği    en oranlarda silika ve kaolen takviyesi ile altı farklı reçete tasarımı gerçekleştirilmiştir. Bu altı farklı reçeteden üretilen numuneler 1200–1250  C sıcaklıklarda 2 saat süre ile sinterleme işlemine tabi tutulmuştur. Sinterlenen numunelere XRD ile faz analizi yapılmıştır.



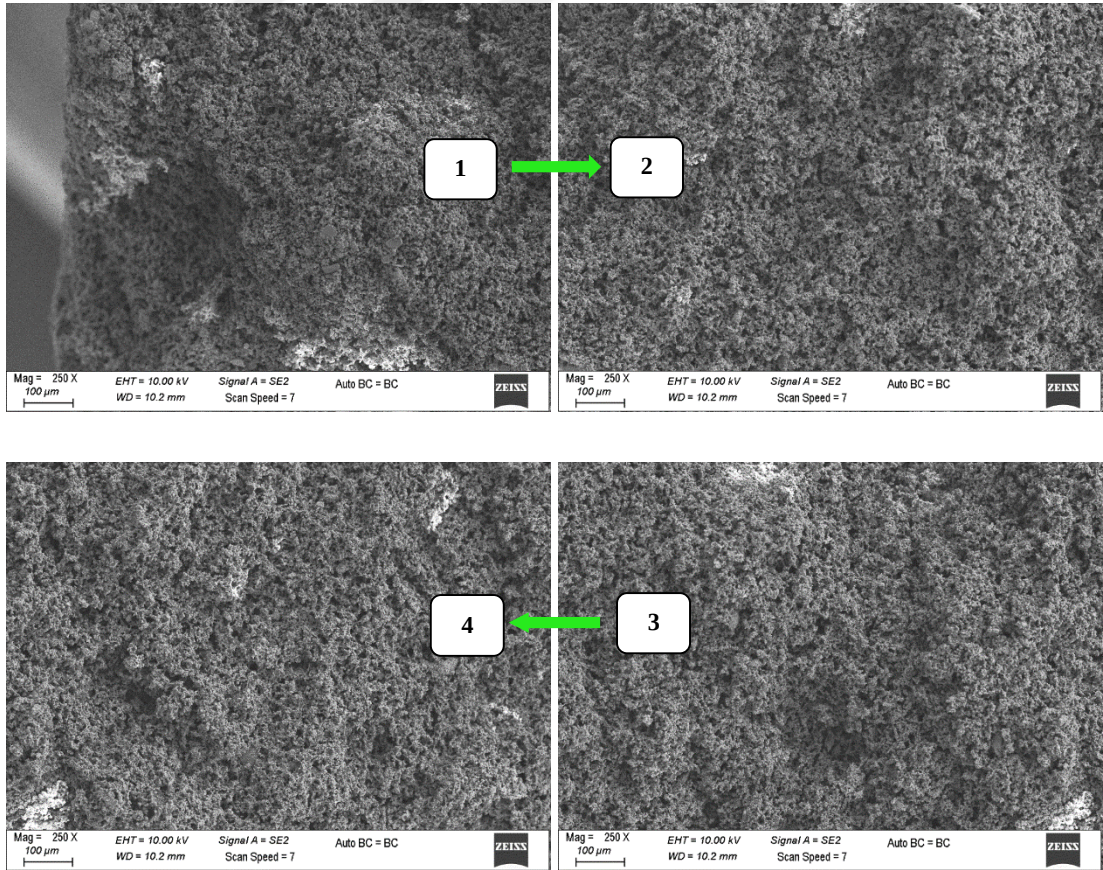
Şekil 4.34 : Kalsiyum silikat doku iskelelerinin 1300°C’de 2 saat süreyle sinterlenmesi sonucuna ait görüntü.

Faz analiz sonuçları incelendiğinde 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen stokiometrik kalsiyum silikat (S-CS) reçetesinde tek fazlı larnit fazının olduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple 4 katmanlı fonksiyonel aşamalı dikalsiyum silikat üretimi için stokiometrik kalsiyum silikat (S-CS) reçetesi kullanılmıştır. Bu reçete kullanılarak nişasta konsolidasyon tekniği ile 4 katmanlı FGM dikalsiyum silikat üretimi gerçekleştirilmiştir. En alt tabakanın %20 oranında nişasta içerdiği ve nişasta oranlarının %15, %10 ve %5 olarak değiştiği tabakalı bir tasarım yapılmıştır. Bu tasarım ile farklı gözenek boyutuna sahip fonksiyonel aşamalı bir mikroyapı hedeflenmiştir. Üretimi gerçekleştirilen 4 katmanlı FGM dikalsiyum silikat doku iskeleleri tasarımı aşağıdaki şekilde sunulmuştur.



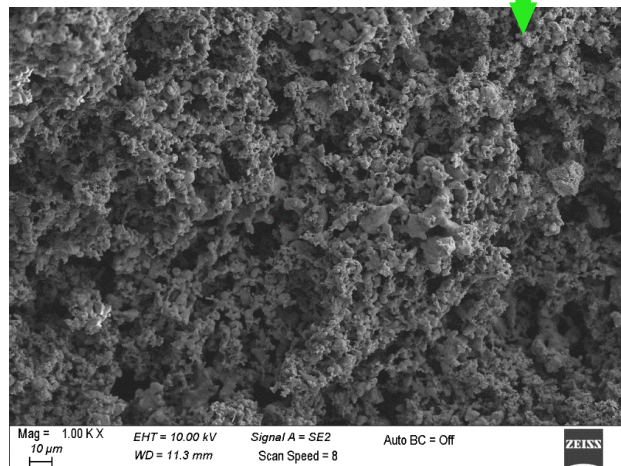
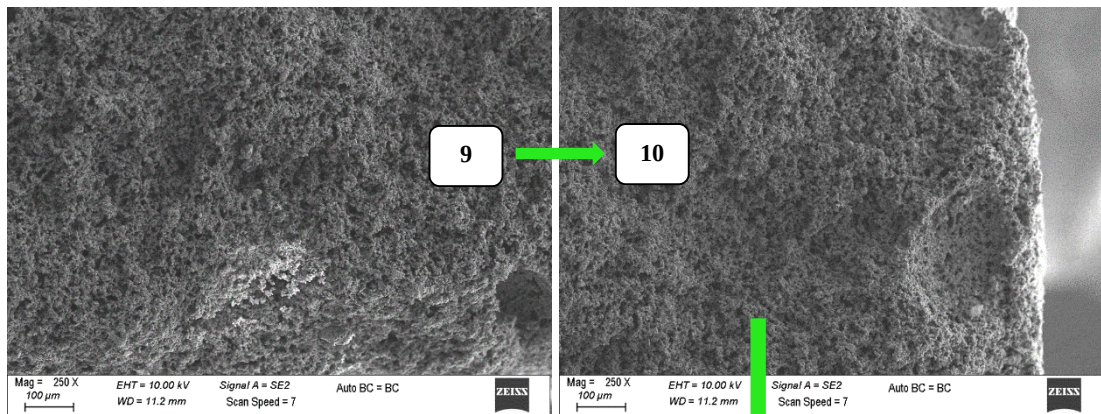
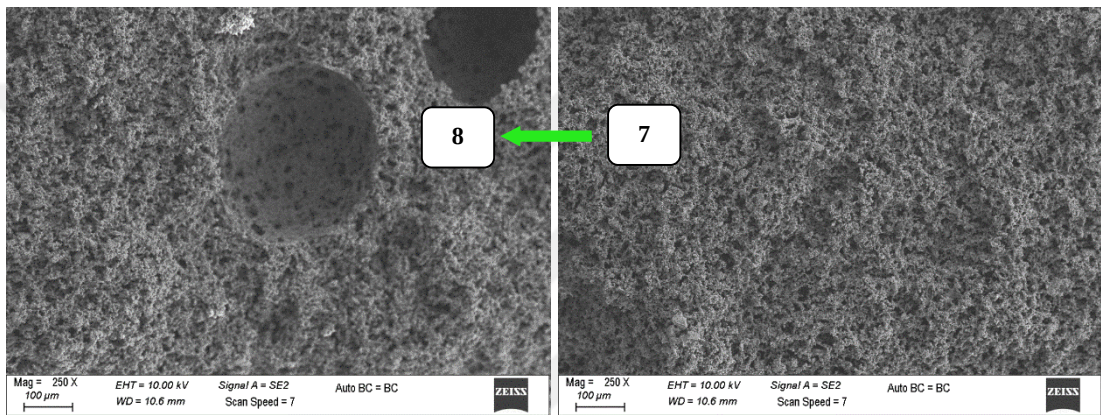
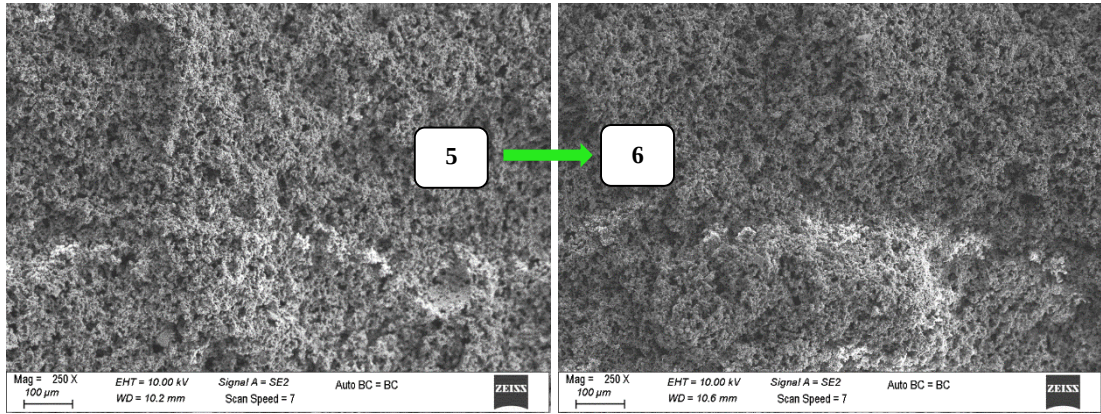
Şekil 4.35 : Dört katmanlı fonksiyonel aşamalı dikalsiyum silikat tasarımı.

Şekil 4.35’te verilen tasarıma göre nişasta konsolidasyon tekniği ile fonksiyonel aşamalı dikalsiyum silikat doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen dikalsiyum silikat numuneleri 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterleme işlemine tabi tutulmuştur. Sinterlenen 4 katmanlı fonksiyonel aşamalı dikalsiyum silikat numunelerine SEM analizi gerçekleştirilmiştir. SEM içyapı analizinde FGM numunesinin kırık yüzey kesiti incelenmiştir. Üst yüzeyden alt yüzeye tüm yapıyı gösterecek şekilde 10 adet içyapı görüntüsü alınarak fonksiyonel aşamalı içyapı değişimi incelenmiştir. SEM ile içyapı incelemeleri sonucunda elde edilen görüntüler şekil 4.36’da sunulmaktadır.



Şekil 4. 36 : Nişasta konsolidasyon tekniği kullanılarak üretilen dört katmanlı

fonksiyonel aşamalı dikalsiyum silikat numunelerinin 250X (1 ile 10 arası numara verilen) ve 1000X büyütmedeki SEM görüntüleri.



Şekil 4.36 (devam) : Nişasta konsolidasyon tekniği kullanılarak üretilen dört katmanlı fonksiyonel aşamalı dikalsiyum silikat numunelerinin 250X (1 ile 10 arası numara verilen) ve 1000X büyütmedeki SEM görüntüleri.

Şekil 4.36'daki SEM görüntüleri incelendiğinde dikalsiyum silikat numunesinin tabakalar arası geçişin belirgin olmadığı, oldukça yumuşak bir geçişin olduğu saptanmıştır. Elde edilen yapıda tabakalı bir şekilde oluşum gözlemlenmediği ve yapının fonksiyonel aşamalı olduğu belirlenmiştir. Elde edilen dikalsiyum silikat yapısının homojen tane boyut dağılımına sahip olduğu ve oldukça yüksek oranda gözenekliliğe yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. SEM görüntü kodu 8 olarak verilen yapıda büyük gözeneklerin olduğu görülmektedir. Bu gözenekler numunenin nişasta konsolidasyon tekniğiyle üretimindeki döküm aşamasında oluşan kabarcıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu tür kabarcıklar çamurun elenmesiyle büyük ölçüde giderilirken yapıda istenmeyen bu tür kabarcıkların kalabildiği SEM incelemeleri sonucunda belirlenmiştir.

4.3.5. FTIR analizi

FTIR analizleri CaCO_3 , SiO_2 başlangıç malzemeleri ve 6 farklı tasarım ile üretimi gerçekleştirilen $1200\text{--}1250^\circ\text{C}$ 'de sinterleme işlemine tabi tutulan doku iskelelerine uygulanmıştır. Çizelge 4.2'deki yapılan çalışmalar incelendiğinde Si-O bağları için dalga sayısı $700\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$, Ca bağları için 970 cm^{-1} , C-O bağları için 1400 cm^{-1} ve Si-Ca-O bağı için dalga sayısının $800\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ bandında olduğu görülmektedir. Kalsiyum silikatın 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen FTIR analiz sonucu incelendiğinde, üretilen M-CS doku iskelesi için su ve hidroksil grubunun bükülme ve gerilme değerlerine karşılık $993,63\text{ cm}^{-1}$ olduğu görülmektedir.

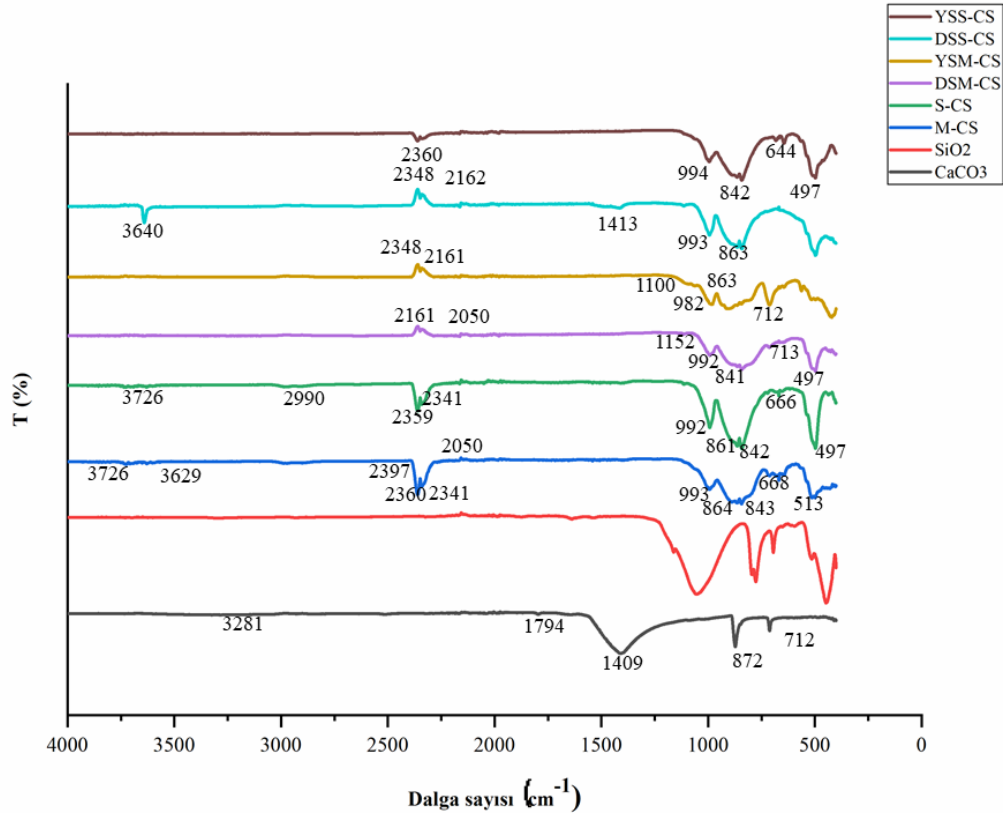
Absorpsiyon band aralığının ise $513,36\text{ cm}^{-1}$, $668,89\text{ cm}^{-1}$, $843,16\text{ cm}^{-1}$, $864,11\text{ cm}^{-1}$, $993,63\text{ cm}^{-1}$ ve $3726,53$ değerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Diğer bir numune S-CS'nin Si-Ca-O band aralığı $842,17\text{ cm}^{-1}$, $861,73\text{ cm}^{-1}$ ve $993,63\text{ cm}^{-1}$ 'dir. Kodlaması DSM-CS olan numunenin Si-Ca-O band aralığının 713 cm^{-1} $841,5\text{ cm}^{-1}$, $992,50$ ve $1152,29$ olduğu görülmektedir. Farklı bir numune grubu YSM-CS'nin Si-Ca-O bağındaki dalga sayısının $712,51\text{ cm}^{-1}$, $982,14\text{ cm}^{-1}$ ve 1117 cm^{-1} olduğu grafik değerlerinden okunmaktadır. DSS-CS numunesindeki bağ değerleri $863,51\text{ cm}^{-1}$ ve $993,56\text{ cm}^{-1}$ olduğu belirlenmiştir. Son olarak YSS-CS numunesi bağ değerlerinin $842,17\text{ cm}^{-1}$ ve $994,83\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısında olduğu gözlenmiştir.

Kalsiyum silikat doku iskelesinin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen FTIR grafiği incelendiğinde Si-Ca-O bağlarının sıcaklığın etkisi ile

geniş bir alana yayıldığı ve en yüksek pik noktasının 1114,30 değerinde olduğu görülmektedir. [178].

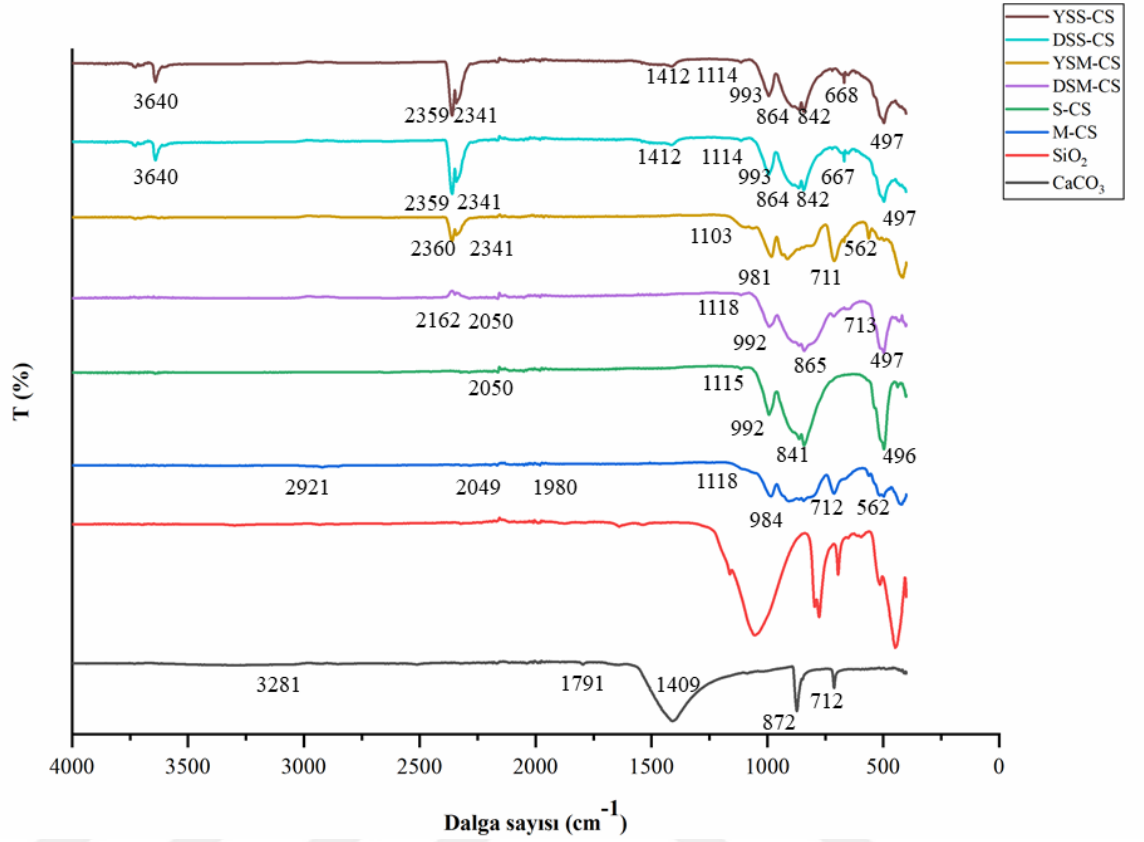
Çizelge 4.2 : FTIR analizi için yapılan çalışmalar.

Malzeme	Fonksiyonel Grup	Dalga Sayısı (cm ⁻¹)	Bant Adları	Referans
Dikalsiyum Silikat	Si-O-Si	995 cm ⁻¹	Adsorpsiyon Pik	187
		925 cm ⁻¹	Asimetrik	
		848 cm ⁻¹	Gerilme	
		521 cm ⁻¹	Simetrik Gerilme Bükülme Modu	
Dikalsiyum Silikat	O-Ca-O	415 cm ⁻¹	Titreşim Modu	188
	Si-O-Si	502 cm ⁻¹	Bükülme Modu	
	Si-O	846 cm ⁻¹	Simetrik Gerilme	
	Si-O	869 cm ⁻¹	Asimetrik	
	Si-O-Si	992 cm ⁻¹	Gerilme (Titreşim modu)	
Dikalsiyum Silikat	Si-O-Si	800-900 cm ⁻¹	Simetrik Gerilme	189
	CaO		Antisimetrik Gerilme	
		3637 cm ⁻¹ 1406 cm ⁻¹	Absorpsiyon Bandı	



Şekil 4.37 : Farklı içeriklere sahip 6 reçete ile üretilen kalsiyum silikat doku iskelelerinin 1200°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen FTIR

analiz sonucu.



Şekil 4.38 : Farklı içeriklere sahip 6 reçete ile üretilen kalsiyum silikat doku iskelelerinin 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenmesi sonucu elde edilen FTIR analiz sonucu.

4.3.6. Yoğunluk değerinin hesaplanması

Altı farklı reçete ile hazırlanan kalsiyum silikat numunelerinin geometrik yoğunluk değerleri hesaplanmıştır. Geometrik yoğunluk değeri;

$$d = \frac{m}{v} \quad (4.1)$$

formülünden hesaplanarak belirlenmiştir.

Denklem (4.1) de verilen formülasyonda; d yoğunluk/özkütle (gr/cm^3) değerini, m kütle (gr), V ise hacim (cm^3) değerini ifade etmektedir.

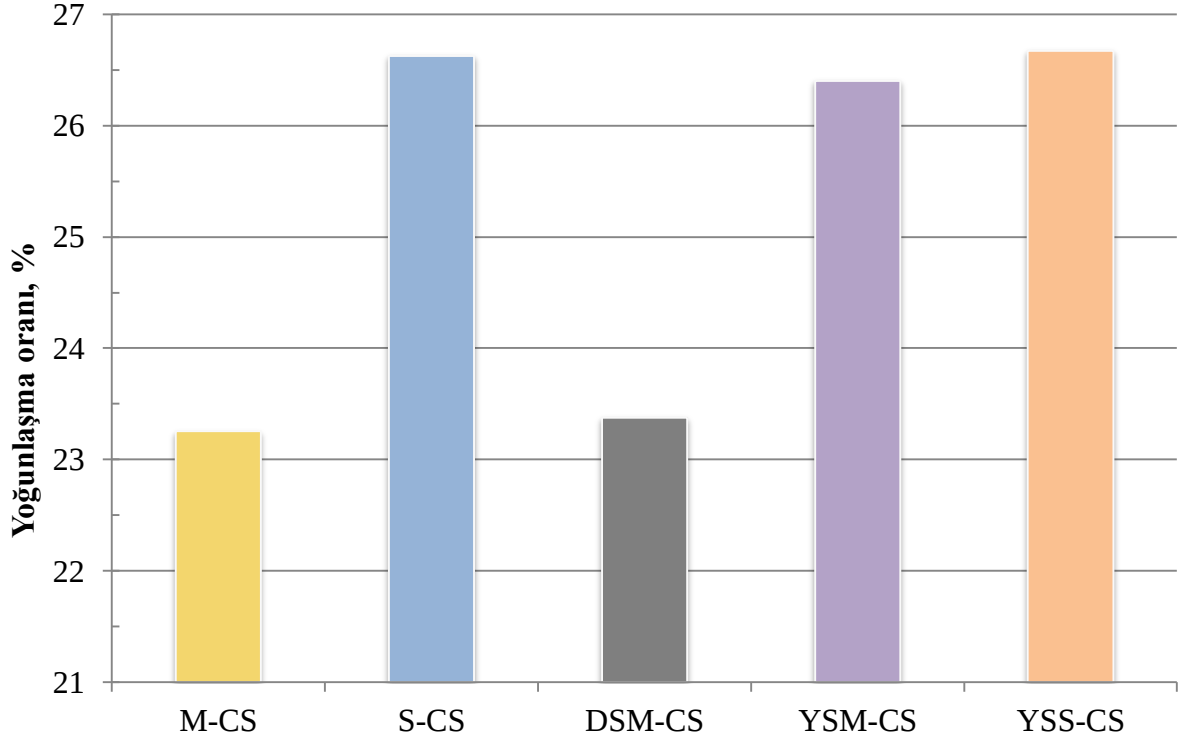
Altı farklı reçete ile hazırlanan kalsiyum silikat numunelerinin sinterleme işlemleri sonucunda 1250°C sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen numunelerin XRD analizi sonucunda tek fazlı bir yapı olan larnit fazı stokiyoimetrik reçetede gözlemlenmiştir.

Bu nedenle numunelerin geometrik yoğunluk değerinin hesaplanmasında 1250°C

sıcaklıkta 2 saat süre ile sinterlenen numuneler kullanılmıştır.

İlk olarak geometrik yoğunluk değerleri denklem (4.1) e göre hesaplanmıştır. Yapılan literatür araştırması sonucunda teorik yoğunluk değerinin 2,89 gr/cm³ olduğu görülmüştür [177]. Denklem (4.2) kullanılarak yoğunlaşma oranları hesaplanmıştır.

$$\text{Yoğunlaşma Oranı} = \frac{\text{Geometrik Yoğunluk}}{\text{Teorik Yoğunluk}} * 100 \quad (4.2)$$

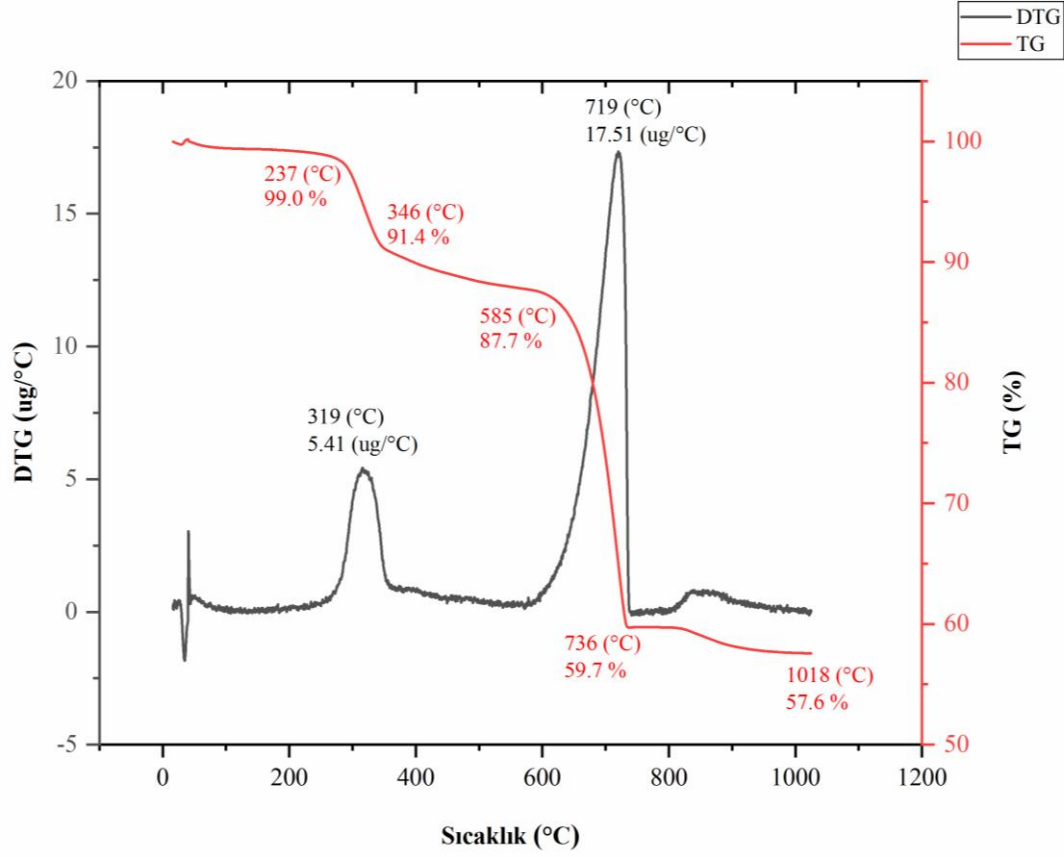


Şekil 4.39 : Sinterleme rejimi 1250°C sıcaklıkta 2 saat olan numunelerin geometrik yoğunlaşma değerleri.

Şekil 4.37 incelendiğinde 5 numunenin yoğunlaşma değerlerinin hesaplandığı görülmektedir. Düşük silika içeriğine sahip DSS-CS numunesinin sinterleme işleminden bir süre sonra toz formuna geçmesi sebebiyle DSS-CS numunesinden ölçüm alınamamıştır. Hesaplamalar 5 reçete üzerinden gerçekleştirilmiştir. Yukarıdaki grafikteki yoğunlaşma oranları incelendiğinde yoğunlaşma değerlerinin %23-27 aralığında değiştiği görülmektedir. Üretimi gerçekleştirilen kalsiyum silikat esaslı numunelerin %73-77 oranlarında gözeneğe sahip olduğu görülmektedir. En yüksek yoğunlaşma oranına sahip numunenin YSS-CS ve en düşük yoğunlaşma oranına sahip numunenin M-CS olduğu gözlemlenmektedir.

4.3.7. Termal analiz

Stokiyometrik reçete ile üretimi gerçekleştirilen numunenin Tg–DTA analizi hava ortamında 10°C/dk ısıtma hızı ile incelenmiştir.



Şekil 4.40 : S-CS numunesinin TG-DTG analizi.

Larnitin TG analizi sonucunda 4 farklı ağırlık kaybı mevcuttur. 237 ile 346°C arasındaki sıcaklık aralığında %7,6'lık bir ağırlık kaybı oluşmuştur. 346-585°C arasında %3,7'lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. 585-736°C arasında keskin bir pik ile gösterilen ağırlık kaybı mevcuttur. Bileşimde bulunan CaCO_3 'ün ayrışmasından dolayı %28 oranında ağırlık kaybı gerçekleşmiştir.

4.3.8. In vitro sitotoksikite testi

Hücre kültürü, çok hücreli canlılara ait hücrelerin, laboratuvar şartlarında özel olarak tasarlanmış kaplarda, optimum ısı, besin ve nemin sağlandığı ortamlarda kontaminasyondan arı bir şekilde yaşatılması olarak tanımlanabilir. [179] Sitotoksik terimi ise, hücre ölümüne neden olan şekilde tanımlanabilir. Sitotoksikite çalışmaları, bir maddenin sitotoksik potansiyelinin olup olmadığını belirlemeyi amaçlar. Hücre bazlı sitotoksikite araştırmaları, uygulamalarının kolay olması ve in vivo çalışmalardan elde

edilen verilerle uyum göstermesi nedeniyle, hayvan deneylerine alternatif olarak ortaya çıkmış ve toksikoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılır hale gelmiştir. [180]

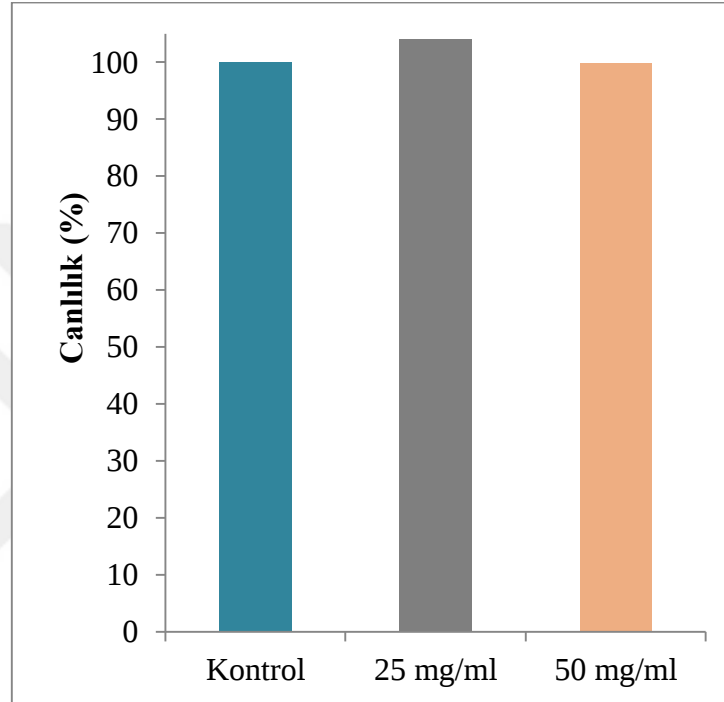
Hücreler, sitotoksik bir maddeye maruz kaldığında apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucunda ölebilir ya da sitostazis nedeniyle çoğalma özelliklerini kaybedebilirler. [181] Hücre bazlı sitotoksosite testleri incelenen maddenin sitostatik ve sitotoksik etkileri hakkında bilgi veren testlerdir. Yapılan sitotoksosite çalışmasının tipi ne olursa olsun, önemli olan çalışma sonundaki canlı/ölü hücre miktarının belirlenmesidir. [181] Hücre canlılığının belirlenmesinde kolorimetrik, lüminesans ve enzimatik temelli olmak üzere uygulanan çeşitli yöntemler vardır. [182-184] 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT) testi sitotoksitenin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biridir. XTT gibi tetrazolyum tuzlarının kullanıldığı yöntemlerde renk değişikliği esasına dayalı ölçüm yapılır. [180, 185] Tetrazolyum tuzlarının elektron alarak indirgenmeleri, formazan denilen yapıya dönüşmelerini sağlayarak, renk değişikliğine sebep olur. Tetrazolyum halkası ancak aktif mitokondri tarafından kırılabilir ve böylece renk oluşumu yalnızca canlı hücrelerin varlığında görülür. [186] Ölü hücreler ise tetrazolyum bileşiklerini indirgeyemeyecekleri için herhangi bir renk değişimine neden olmazlar. Dolayısıyla bu tür testlerin son aşamasında oluşan renk değişimi spektrofotometrik yöntemle ölçülerek canlı/ölü hücre sayısı belirlenebilir. [180,186]

Uygulanan sitotoksosite testi

Kalsiyum silikat tozlarının sitotoksitesi L929 fare fibroblast hücreleri kullanılarak XTT testi aracılığı ile belirlenmiştir. Numuneler DMEM besiyerinde 24 saat süreyle, 150 rpm ve 37°C’de bekletilerek ekstratlar (50 mg/mL ve 25 mg/mL) elde edilmiş ve hücre canlılığına etkisi indirekt olarak belirlenmiştir. L929 hücreleri 96 kuyucuklu plakalara, herbir kuyucuğa 1×10^3 hücre olacak şekilde ekilmiş ve 24 saat süreyle 37°C’de, %5 oranında CO₂ içeren inkübatörde kültüre edilmiştir. Hücrelerin üzerindeki besiyeri döküldükten sonra DMEM besiyeri kullanılarak farklı oranlarda hazırlanmış olan ekstratlar 100 µL olacak şekilde ilave edilmiş ve 24 saat inkübe edilmiştir. Ekstratlara tabi tutulan hücrelerin canlılık oranı XTT testi yapılarak belirlenmiştir. Bu testin temeli 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum-5-carboksianilid (XTT)’in canlı hücreler tarafından turuncu renkli formazana dönüşmesine dayanmaktadır. Herbir kuyucuğa aktivatör reaktifi ile karıştırılan 50 µL XTT solusyonu ilave edilmiş ve 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda oluşan formazanların absorbansı Epoch Mikroplaka Spektrofotometresi (BioTek, Bad Friedrichshall, Germany) kullanılarak 460

nm’de okunmuştur. Ekstrat yerine DMEM besiyeri ilave edilmiş olan kuyucuklardaki absorbens değeri (kontrol) %100 canlılık olarak kabul edilmiş ve diğer kuyucuklardaki hücrelerin canlılık oranı (%) buna göre hesaplanmıştır.

Analiz sonucundan ISO 10993-5’e göre %70’in altındaki canlılık oranı sitotoksik etkiye işaret etmektedir. Buna göre numunelerin 25 mg/mL ve 50 mg/mL konsantrasyonlardaki ekstratları hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermemiştir.



Şekil 4.41 : In vitro sitotoksite analiz sonucu.

5.GENEL SONUÇLAR

Sunulan tez kapsamında atık tavuk yumurta kabuğu ve silika kullanılarak nişasta konsolidasyon tekniği ile gözenekli kalsiyum silikat esaslı doku iskeleleri üretimi gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında iki farklı tasarım yapılmıştır. İlk tasarım 7 ve 4 katmanlı fonksiyonel aşamalı (FGM) kalsiyum silikat tasarımı yapılarak gözenekli kalsiyum silikat yaş bünyelerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Diğer bir tasarım ise değişen oranlarda silika ve kil takviyeleri ile 6 farklı reçete oluşturularak kalsiyum silikat doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretim tamamlandıktan sonra numunelere karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen önemli sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- ❖ Çalışmanın ilk aşamasında, üretimi gerçekleştirilecek kalsiyum silikat numuneleri için iki farklı tasarım gerçekleştirilmiştir.
- ❖ İlk tasarımda 7 katmanlı fonksiyonel aşamalı kalsiyum silikat yaş bünyeler sorunsuz bir şekilde üretilmiştir.
- ❖ İkinci tasarım ise silika oranının ve kil takviyesinin değişen oranlarda kullanılarak kalsiyum silikat doku iskelesi üzerindeki etkisi incelenmiştir.
- ❖ İkinci tasarımda değişen oranlarda 6 farklı reçete kullanılmıştır. Her bir reçetede oranlar kullanılarak nişasta konsolidasyon tekniğiyle gözenekli yaş bünyeler sağlam bir şekilde üretilmiştir. Numunelere üç farklı sinterleme sıcaklığı (1200-1250-1300°C) uygulanmıştır. Sinterleme için gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda sinterleme süresinin sabit 2 saat olarak uygulanması kararlaştırılmıştır.
- ❖ XRD faz analiz sonuçları incelendiğinde 6 farklı reçetede kalsiyum silikat ve larnite fazlarının oluştuğu gözlemlenmiştir. Çalışılan bu reçeteler arasında tek fazlı bir yapının elde edildiği tek reçetenin stokiyometrik kalsiyum silikat (S-CS) reçetesi olduğu belirlenmiştir. Stokiyometrik reçete ile çalışıldığında 1250°C’de sadece dikalsiyum silikat fazının oluştuğu belirlenmiştir.
- ❖ Sinterleme sıcaklığı 1200-1250°C olan numuneler hatasız bir şekilde elde edilmiştir.

Ancak 1300°C’de sinterlenen numunelerde farklı reaksiyonlar gerçekleşerek numunelerde istenmeyen çatlak, tamamen dağılma gibi bazı fiziksel hatalar olduğu belirlenmiştir.

- ❖ Numunelere sinterleme öncesi ve sonrasındaki ağırlık ve boyut (çap-kalınlık) değişimleri ölçülmüştür. Sinterleme çekmelerinin tüm numunelerde çap ve kalınlık için farklı oranlarda gerçekleştiği belirlenmiştir. Sinterleme sıcaklığı 1200°C ve 2 saat süre ile sinterlenen numunelerin çapındaki boyutsal değişim incelendiğinde en az değişen numunenin YSS-CS olduğu, en fazla çap değişiminin gözlemlendiği numunenin ise YSM-CS olduğu görülmektedir. Numune kalınlıklarındaki boyutsal değişim (% küçülme) incelendiğinde en az sinterleme çekmesinin gözlemlendiği malzemenin YSS-CS olduğu, en fazla sinterleme çekmesinin gözlemlendiği numune ise DSS-CS olduğu gözlemlenmiştir. Sinterleme sıcaklığı 1250°C ve 2 saat süre ile sinterlenen numunelerin çapındaki boyutsal değişim incelendiğinde en az değişen numunenin DSM-CS olduğu görülür iken, en fazla çap değişiminin gözlemlendiği numune DSS-CS’dir. Sinterleme öncesi ve sonrası ölçülen kalınlık farkları incelendiğinde % kalınlık küçülmesinin en az olduğu numunenin YSS-CS olduğu, en fazla kalınlık % küçülmesinin YSM-CS numunede olduğu görülmektedir.
- ❖ Altı farklı reçetenin yoğunluk değerleri hesaplanmıştır. Numunelerdeki gözenek miktarının %73-77 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. En yüksek yoğunlaşma oranına sahip numunenin YSS-CS ve en düşük yoğunlaşma oranına sahip numunenin M-CS olduğu görülmüştür.
- ❖ Kalsiyum silikat tozlarının sitotoksitesi L929 fare fibroblast hücreleri kullanılarak XTT testi aracılığı ile belirlenmiştir. Numunelerin 25 mg/mL ve 50 mg/mL konsantrasyonlardaki ekstratları hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermemiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Studart, A. R., Gonzenbach, U. T., Tervoort, E. and Gauckler, L. J. (2006). Processing Routes to Macroporous Ceramics, A Review, *Journal of American Ceramic Society*, 89 (6) 1771–1789.
- [2] Eva, G. and Willi, P. (2007). Porous ceramics prepared using poppy seed as a poreforming agent, *Ceram. Int.* 33 1385–1388.
- [3] Hamimah, A. and Dzul Hafez, Y. (2010). Effect of thermal treatment on properties and microstructure of porous alumina, *Solid State Sci. Technology*. 18 (1) 155–163.
- [4] Park, J., Bronzino, J. *Biomaterials: Principles and Applications*, CRC Press.
- [5] Ducheyne, P. & Hastings, G.W. (1984). Metal Ceramic Biomaterials, *CRC Press*, Boca Raton, FL. Vol. II: Strength and Surface.
- [6] Hench, L. L. & Thompson, I. (2010). Twenty-first century challenges for biomaterials, *J. R. Soc. Interface*, 7 (Suppl 4): S379–91.
- [7] Hench, L. L. & Olak, J. M. (2002). Third-generation biomedical materials, *Science*, 295 1014–7
- [8] Karakeçili, A. G. (2006). Mikrodeseanlı biyoaktif malzemelerin dizaynı, karakterizasyonu ve doku mühendisliğindeki uygulamaları, (Doktora Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- [9] Reverchon, E. & Cardea, S. (2012). Supercritical fluids in 3-D tissue engineering, *Journal of Supercritical Fluids*, Vol.69; pp.97-107.
- [10] Armentao, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S. & Kenny, J.M. (2010). Bioregradable Polymer Matrix Nanocomposites for Tissue Engineering: A Review. *Polymer Degradation and Stability*. Vol.95; pp.2126-2146.
- [11] Ma, P.X. (2004). Scaffolds for tissue fabrication. *Materials Today*, 7(5), 30-40.
- [12] Ravichandran, R., Sundarrajan, S., Venugopal, J. R., Mukherjee, S. & Ramakrishna S. (2012). Advances in Polymeric Systems for Tissue Engineering and Biomedical Applications, *Macromolecular Bioscience*, 12, 3, 286–311.
- [13] Lin, T.(Ed.), (2011). *Nanofibers - Production, Properties and Functional Applications*, Chapter 14., InTech. Open Access Publisher.
- [14] Chen, Q.Z., Thompson, I.D. & Boccaccini, A.R. (2006). 45S5 Bioglass ®-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 27, 2414 – 2425.
- [15] Pasinli, A. & Aksoy, R.S. (2010). Yapay kemik uygulamaları için hidroksiapatit, *Electronic Journal of Bio Technology*, 1, 41-51.
- [16] Yang, S., Leong, K.-F., Du, Z. & Chua, C.-K. (2001). The design of scaffolds for use in tissue engineering. Traditional factors, *Tissue Engineering*, 7, 679-689.
- [17] Mitra, J., Tripathi, G., Sharma, A. & Basu, B. (2013). Scaffolds for bone tissue engineering: Role of surface patterning on osteoblast response, *Royal Society of Chemistry Advances*, 3, 11073-11094.
- [18] Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S. & Kenny, J. (2010).

Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review, *Polymer degradation and stability*, 95, 2126-2146.

- [19] **Georgiade, N. G., Hanker, J., Levin, S. & Ruff, G.** (1993). The use of particulate hydroxyapatite and plaster of Paris in aesthetic and reconstructive surgery, *Aesthetic Plast. Surg.* 17 85–92.
- [20] **Pettinicchio, M., Sammons, R., Caputi, S., Piattelli, A. & Traini, T.** (2012). Bone regeneration in sinus augmentation procedures with calcium sulphate. *Microstructure and microanalytical investigations Aust. Dent. J.* 57 200–6
- [21] **Qi, Y., Wang, Y., Yan, W., Li, H., Shi, Z. & Pan, Z.** (2012). Combined mesenchymal stem cell sheets and rhBMP-2-releasing calcium-sulfate-rhBMP-2 scaffolds for segmental bone tissue engineering, *Cell Transplant*, 21 693–705
- [22] **Izquierdo-Barba, I., Sanlinas, A. J. & Vallet-Regi, M.** (1999). In vitro calcium phosphate formation on sol–gel glasses of the CaO SiO₂ system, *J Biomed Mater Res*, 47:243–50.
- [23] **Cho, SB., Miyaji, F., Kokubo, T. & Nakamura, T.** (1997). Induction of bioactivity of a nonbioactive glass–ceramic by a chemical treatment. *Biomaterials*, 18:1479–85.
- [24] **Xue, W., Liu, X., Zheng, X. B. & Ding, C.** (2005). In vivo evaluation of plasma-sprayed wollastonite coating, *Biomaterials*, 26 3455–3460.
- [25] **Maeda, H., Okuyama, T., Ishida, E. H. & Kasuga, T.** (2013). Preparation of porous spheres containing wollastonite by an electrospray method, *Materials Letters*, 95 107– 109.
- [26] **Boyan, B. D., Hummert, T. W., Dean, D. D. & Schwartz, Z.** (1996). Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. *Biomaterials*, 17, 137–146.
- [27] **Vacanti, J. P. & Langer, R.** (1999). Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation, *Lancet*, 354 S32–S34,
- [28] **Cho, Y. S., Choi, S., Lee, S. H., Kim, K. K. & Cho, Y. S.** (2019). Assessments of polycaprolactone/ hydroxyapatite composite scaffold with enhanced biomimetic mineralization by exposure to hydroxyapatite via a 3D-printing system and alkaline erosion, *European Polymer Journal*, 113 340–348.
- [29] **Turnbull, G., Clarke, J., Picard, F., Riches, P., Jia, L., Han, F., Li, B. & Shu, W.** (2018). 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering, *Bioactive Materials*, 3 278–314.
- [30] **Faour, O., Dimitriou, R., Cousins, C. A. & Giannoudis, P. V.** (2011). The use of bone graft substitutes in large cancellous voids: any specific needs?, *Injury*, 42 Suppl2.
- [31] **Marksjr, S. & Odgren, P.** (2002). *Structure and development of the skeleton, Principles of Bone Biology, Elsevier*, pp. 3–15.

- [32] **Wang, X., Xu, S., Zhou, S., Xu, W., Leary, M., Choong, P., Qian, M., Brandt, M. & Xie, Y. M.** (2016). Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: a review, *Biomaterials*, 83 127–141.
- [33] **Zhou, H. & Lee, J.** (2011). Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering, *Acta Biomaterial*, 7 2769–2781.
- [34] **Feng, X.** (2009). Chemical and biochemical basis of cell-bone matrix interaction in health and disease, *Curr. Chem. Biol.* 3 189–196.
- [35] **Cullinane, E. T. A., DM, R. G. Bilezikian JP, L.G. Raisz (Eds.)** (2002). *Principles of Bone Biology, second edition*, pp. 17–32 San Diego.
- [36] **Rho, J. Y., Kuhn-Spearing, L. & Zioupos, P.** (1998). Mechanical properties and the hierarchical structure of bone, *Med. Eng. Phys*, 20 92–102.
- [37] **Ginebra, M. P., Espanol, M., Maazouz, Y., Bergez, V. & Pastorino, D.** (2018). Bioceramics and bone healing, *EFORT Open Reviews*, 3 173–183.
- [38] **Keaveny, T. M., Morgan, E. F., Niebur, G. L. & Yeh, O. C.** (2001) Biomechanics of trabecular bone, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 3 307–333.
- [39] **Cooper, D. M. L., Kawalilak, C. E., Harrison, K., Johnston, B. D. & Johnston, J. D.** (2016). Cortical bone porosity: what is it, why is it important, and how can we detect it? *Curr. Osteoporos. Rep.* 14 187–198.
- [40] **Cooper, D. M. L., Matyas, J. R., Katzenberg, M. A. & Hallgrímsson, B.** (2004). Comparison of microcomputed tomographic and microradiographic measurements of cortical bone porosity, *Calcif. Tissue Int.* 74 437–447.
- [41] **Sadat-Shojai, M., Khorasani MT, Dinpanah-Khoshdargi E, Jamshidi, A.** (2013). Synthesis Methods for Nanosized Hydroxyapatite with Diverse Structures, *Acta Biomaterialia*, 9: 7591-7621
- [42] **Kohli, N., Ho, S, Brown, S.J, Sawadkar P, Sharma, V., Snow, M., García-Gareta, E.** (2018). Bone remodelling in vitro: where are we headed?: - A review on the current understanding of physiological bone remodelling and inflammation and the strategies for testing biomaterials in vitro, *Bone*, 110 38–46.
- [43] **Crouzier., T., Sailhan, F., Becquart, P., Guillot, R., Logeart-Avramoglou, D., Picart, C.** (2011). The performance of BMP-2 loaded TCP/HAP porous ceramics with a polyelectrolyte multilayer film coating, *Biomaterials*, 32 7543–7554.
- [44] **Blokhuis., T.J.** (2013). Autograft versus BMPs for the treatment of non-unions: what is the evidence? *Injury*, 44 S40–S42.
- [45] **Schumacher, M., Deisinger, U., Detsch, R., Ziegler, G.** (2010). Indirect rapid prototyping of biphasic calcium phosphate scaffolds as bone substitutes: influence of phase composition, macroporosity and pore geometry on mechanical properties, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 21 3119–3127.
- [46] **Kolambkar, Y.M., Boerckel, J.D., Dupont, K.M., Bajin, M. Huebsch, N. , Mooney, D.J., Jodati, H. et al.** (2020). Spatiotemporal delivery of bone morphogenetic protein enhances functional repair of segmental bone

defects, *Bone*, 49 (2011) 485–492.

- [47] **Baumhauer, J., Pinzur, M.S., Donahue, R., Beasley, W., DiGiovanni, C.,** (2014). Site selection and pain outcome after autologous bone graft harvest, *Foot Ankle Int.* 35 104–107.
- [48] **Zhang, J., Liu, W., Schnitzler, V., Tancret, F., Bouler, J.-M.,** (2014). Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties, *Acta Biomater.* 10 1035–1049.
- [49] **Delloye, C., Cornu, O., Druez, V., Barbier, O.,** (2007). Bone allografts, 89-B British, pp. 574–580.
- [50] **Moore, W.R., Graves, S.E., Bain, G.I.,** (2001). Synthetic bone graft substitutes, *ANZ J. Surg.* 71 354–36.
- [51] **Jodati. H. Ve Evis. Z.,** (2020). A review of bioceramic porous scaffolds for hard tissue applications: Effects of structural features. *Ceramics International* 46 15725-15739
- [52] **Babensee, J. E., et al.,** (1998). Host response to tissue engineered devices, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 33, 111.
- [53] **Hutmacher, D. W., et al.,** (2000). Scaffold in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials*, 21, 2529.
- [54] **Murphy, C.M., et al.,** (2010). The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen–glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 31, 461.
- [55] **Murphy, C.M., and O'Brien, F.J., et al.,** (2010). Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds, *Cell Adhesion & Migration*, 4, 377.
- [56] **Partap, S. et al.,** (2010). Scaffolds & Surfaces. In: Basic Engineering for Medics and Biologists, An ESEM Primer on Engineering for Medicine, *IOS Press*, 152, 187.
- [57] **Barradas, A.M.C., Yuan, H., Van Blitterswijk, C.A., Habibovic, P.** (2011). Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms, *Eur. Cell. Mater.* 21 407–429.
- [58] **Albrektsson, T., Johansson, C.** (2001). Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration, *Eur. Spine J.* 10 S96–S101.
- [59] **Sasikumar, S.,** (2014). Bioactive nanocrystalline wollastonite synthesized by sol-gel combustion method by using eggshell waste as calcium source, *Bull. Mater. Sci.*, 37,2, pp. 207-212.
- [60] **Mohamed, R. K.,** (2013). Mechanical and microstructure of reinforced hydroxyapatite/calcium silicate nano-composites materials, *Materials and design* 44 461-468.
- [61] **Gou, Z.,** (2016). 3D printing magnesium-doped wollastonite/ β -TCP bioceramics scaffolds with high strength and adjustable degradation, *Journal of European Ceramic Society*, 36 1495-1503.
- [62] **Jones, J. R.,** (2017). Biocompatibility and bioactivity of porous polymer-derived Ca-Mg silicate ceramics, *Acta Biomaterialia*, 50 56-67.
- [63] **Liu, A., Sun, M.,** (2016). Three-dimensional printing akermanite porous scaffolds

for load-bearing bone defect repair: An investigation of osteogenic capability and mechanical evolution, *Journal of Biomaterials Applications*, 31(5) 650-660.

- [64] **Fu, J.**, (2017). Bone regeneration in 3D printing bioactive ceramic scaffolds with improved tissue/material interface pore architecture in thin-wall bone defect, *Biofabrication*, 9 025003.
- [65] **Sabah Ali, M., Hanim Mohamed Ariff, A., Nor Aiza Jaafar, C., Mohd Tahir, S. Mazlan, N., Amin Maori, K., Naser, H.** (2017). Factors affecting the porosity and mechanical properties of porous ceramic composite materials, *Materials Science and Materials Engineering*, pp. 1–54.
- [66] **Perez, R.A., Mestres, G.**, (2016). Role of pore size and morphology in musculo-skeletal tissue regeneration, *Mater. Sci. Eng. C* 61 922–939,
- [67] **Woo, K.M., Chen, V.J., Ma, P.X.**, (2003). Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment, *J. Biomed. Mater. Res.* 67A 531–537.
- [68] **Gauvin, R., Chen, Y.-C., Lee, J.W., Soman, P., Zorlutuna, P., Nichol, J.W., Bae, H., Chen, S., Khademhosseini, A.** (2012). Microfabrication of complex porous tissue engineering scaffolds using 3D projection stereolithography, *Biomaterials*, 33 3824–3834.
- [69] **Gariboldi, M.I., Best, S.M.** (2015). Effect of ceramic scaffold architectural parameters on biological response, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 3 1–11.
- [70] **Matassi, F., Nistri, L., Chicon Paez, D., Innocenti, M.** (2011). New biomaterials for bone regeneration, *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 8 21–24
- [71] **Wang, S., Liu, L., Li, K., Zhu, L., Chen, J., Hao, Y.** (2019). Pore functionally graded Ti6Al4V scaffolds for bone tissue engineering application, *Mater. Des.* 168 107643.
- [72] **Chen, Y., Frith, J.E., Dehghan-Manshadi, A., Attar, H., Kent, D., Soro, N.D.M., Bermingham, M.J., Dargusch, M.S.**, (2017). Mechanical properties and biocompatibility of porous titanium scaffolds for bone tissue engineering, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 75 169–174.
- [73] **Dhandayuthapani, B., Yoshida, Y., Maekawa, T., Kumar, D.S.**, (2011). Polymeric scaffolds in tissue engineering application, *International Journal of Polymer Science*, 290602.
- [74] **Sheikh, F.A., Ju, H.W., Moon, B.M., Lee, O.J., Kim, J.-H., Park, H.J., Kim, D.W., Kim, D.-K., Jang, J.E., Khang, G., Park, C.H.**, (2016). Hybrid scaffolds based on PLGA and silk for bone tissue engineering, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10 209–221.
- [75] **Wang, J., Wang, L., Zhou, Z., Lai, H., Xu, P., Liao, L., Wei, J., Wang, J., Wang, L., Zhou, Z., Lai, H., Xu, P., Liao, L., Wei, J.** (2016). Biodegradable polymer membranes applied in guided bone/tissue regeneration, *Polymers*, 8 115.
- [76] **Bhattacharjee, P., Kundu, B., Naskar, D., Kim, H.-W., Maiti, T.K., Bhattacharya, D., Kundu, S.C.** (2017). Silk scaffolds in bone tissue engineering: an overview, *Acta Biomaterial*, 63 1–17,

- [77] **Haugen, H.J., Lyngstadaas, S.P., Rossi, F., Perale, G.** (2019). Bone grafts: which is the ideal biomaterial? *J. Clin. Periodontol.* 46 92–102.
- [78] **Rao, S.H., Harini, B., Shadamarshan, R.P.K., Balagangadharan, K., Selvamurugan, N.,** (2018). Natural and synthetic polymers/bioceramics/bioactive compounds-mediated cell signalling in bone tissue engineering, *Int. J. Biol. Macromol.* 110 88–96.
- [79] **LeGeros, R.Z.,** (2008). Calcium phosphate-based osteoinductive materials, *Chem. Rev.* 108 4742–4753.
- [80] **Dorozhkin, S.V.** (2018). Calcium orthophosphate (CaPO₄) scaffolds for bone tissue engineering applications, *J. Biotechnol. Biomed. Science*, 1 25–93.
- [81] **Ma, H., Feng, C., Chang, J., Wu, C.,** (2018). 3D-printed bioceramic scaffolds: from bone tissue engineering to tumor therapy, *Acta Biomaterial*, 79 37–59.
- [82] **Carter, C.B., Norton, M.G.,** (2007). *Ceramic Materials*, Springer Verlag, Berlin.
- [83] **Studart, A. R., Gonzenbach, U. T., Tervoort, E., Gauckler, L. J.** (2006). Processing Routes to Macroporous Ceramics: A Review, *Journal of American Ceramic Society*, 89 (6) 1771–1789.
- [84] **Jean, J. H., Chang, C. R., Lei, C. D.** (2004). Sintering of a crystallisable CaO–B₂O₃–SiO₂ glass with silver, *Journal of American Ceramic Society*, 87 1244–1249.
- [85] **Negmatov, N. S., Abdullaev, Z. Zh.,** (2001). High-voltage electric insulators based on wollastonite, *Glass Ceramics*, 58 396–397.
- [86] **Wu, P., Xu, Y., Huang, Z., & J. Zhang,** (2015). A review of preparation techniques of porous ceramic membranes, *Journal of Ceramic Processing Research*, 16 102–106.
- [87] **Ayala-Landeros, J. G., Saucedo-Rivalcoba, V., Bribiesca-Vasquez, S., Castaño, V. M., Martínez-Hernández, A. L., Velasco-Santos, C.,** (2016). Influence of Corn Flour as Pore Forming Agent on Porous Ceramic Material Based Mullite: Morphology and Mechanical Properties, *Science of Sintering*, 48 29–39.
- [88] **Gary R. Pickrell,** (2006). US patent 0008634 A1. Porous ceramic, polymer and metal materials with pores created by biological fermentation.
- [89] **Ducheyne, P., Hastings, G.W.,** (1984). *Metal Ceramic Biomaterials*, CRC Press, II:, Boca Raton, FL.
- [90] **Lugo, G.; Mazón, P.; De Aza, P.,** (2015). Phase transitions in single phase Si–Ca–P-based ceramic under thermal treatment. *J. Eur. Ceram. Soc.* 35, 3693–3700.
- [91] **Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A., Chiellini, E.** (2010). Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Prog. Polym. Sci.* 35, 403–440.
- [92] **Hild, N., Schneider, O.D., Mohn, D., Luechinger, N.A., Koehler, F.M., Hofmann, S., Vetsch, J.R., Thimm, B.W., Müller, R., Stark, W.J.** (2011). Two-layer membranes of calcium phosphate/collagen/plga nanofibres: In vitro biomineralisation and osteogenic differentiation of

human mesenchymal stem cells, *Nanoscale*, 3, 401–409.

- [93] **Degli Esposti, M., Chiellini, F., Bondioli, F., Morselli, D., Fabbri, P.** (2019). Highly porous PHB-based bioactive scaffolds for bone tissue engineering by in situ synthesis of hydroxyapatite, *Mater. Sci. Eng. C* 100 286–296.
- [94] **Ronay, F.C., Wegehaupt, F.J., Becker, K., Wiedemeier, D.B., Attin, T., Lussi, A., Steiger-Ronay, V.,** (2019). Pure hydroxyapatite as a substitute for enamel in erosion experiments, *J. Dent.* 84:89-94.
- [95] **Zhang, H., Li, X., Wen, J., Zhao, C.,** (2017). Preparation and characterisation of HA/TCP biphasic porous ceramic scaffolds with pore-oriented structure, *Ceram. Int.* 43 11780–11785.
- [96] **Wu, S.-C., Hsu, H.-C., Hsu, S.-K., Wang, W.-H., Ho, W.-F.** (2011). Preparation and characterization of four different compositions of calcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering, *Mater. Char.* 62 526–534.
- [97] **Hench, L.L.** (2015). The future of bioactive ceramics, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 26 86.
- [98] **Miranda P, Pajares A, Saiz E, Tomsia AP, Guiberteau F.** (2008). Mechanical properties of calcium phosphate scaffolds fabricated by robocasting, *J Biomed Mater Res*, A;85(1):218–27.
- [99] **Boule JM, LeGeros RZ, Daculsi G.** (2000). Biphasic calcium phosphates: influence of three synthesis parameters on the HA/beta-TCP ratio, *J Biomed Mater Res*. 51(4):680–4.
- [100] **Habraken, W., Habibovic, P., Epple, M., Böhner, M.** (2016). Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future? *Mater. Today*, 19 69–87.
- [101] **Nakamura, T., Yamamuro, T., Higashi, S., Kokubo, T., Ito, S.,** (1985). A new glass-ceramic for bone replacement: evaluation of its bonding to bone tissue, *J. Biomed. Mater. Res.* 19 685–698.
- [102] **Kokubo, T., Ito, S., Sakka, S., Yamamuro, T.** (1986). Formation of a high-strength bioactive glass-ceramic in the system MgO-CaO-SiO₂-P₂O₅, *J. Mater. Sci.* 21 536–540.
- [103] **Nakajima, S., Harada, Y., Kurihara, Y., Wakatsuki, T., Noma, H.,** (1989). Physicochemical characteristics of new reinforcement ceramic implant, *Shikwa Gakuho*, 89(11) 1709–1717.
- [104] **Nakajima, S.** (1990). Experimental studies of healing process on reinforcement ceramic implantation in rabbit mandible, *Shikwa Gakuho* 90 525–553.
- [105] **Nandi, S.K., Mahato, A., Kundu, B., Mukherjee, P.** (2016). Doped bioactive glass materials in bone regeneration, *InTech*, pp. 275–328.
- [106] **Jones, J.R.** (2015). Reprint of: review of bioactive glass: from Hench to hybrids, *Acta Biomaterial*, 23 4457–4486.
- [107] **Guo, Y.-P., Lü, J., Ke, Q.-F.** (2019). Mesoporous bioactive glasses: fabrication, structure, drug delivery property, and therapeutic potential, *biomedical, Therapeut. Clin. Appl. Bioactive Glasses*, 127–151.
- [108] **Fu, Q., Saiz, E., Rahaman, M.N., Tomsia, A.P.,** (2011). Bioactive glass

scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives, *Mater. Sci. Eng. C* 31 1245–1256.

- [109] **Rahaman, M.N., Day, D.E., Bal, B.S., Fu, Q., Jung, S.B., Bonewald L.F. and A.P. Tomsia**, (2011). *Acta Biomaterial*, 7, 2355–2373.
- [110] **Hench, L.L., Am. J.**, (1991). Bioceramics: From Concept to Clinic, *Journal of the American Ceramic Society*, 74, (7) 1487–1510.
- [111] **Liu, C.C., Yeh J.K. and Aloia, J.** (1988). Magnesium directly stimulates osteoblast proliferation, *J. Bone Miner. Res.*, 1988, vol. 3, suppl. 1, p. S104.
- [112] **Carlisle, E.M.**, (1979). Biochemical and morphological changes associated with long bone abnormalities in silicon deficiency, *J. Nutr.*, 110, 1046–1055.
- [113] **Wu C. and Chang, J.** (2007). Degradation, bioactivity, and cytocompatibility of diopside, akermanite, and bredigite ceramics, *J. Biomed. Mater. Res. Part B*, 153–160.
- [114] **Feng, P., Wei, P., Li, P., Gao, C., Shuai, C., Peng, S.**, (2014). Calcium silicate ceramic scaffolds toughened with hydroxyapatite whiskers for bone tissue engineering, *Mater. Char.*, 97 47–56.
- [115] **Xue, W., Bandyopadhyay, A., Bose, S.** (2009). Mesoporous calcium silicate for controlled release of bovine serum albumin protein, *Acta Biomaterial*, 5 1686–1696.
- [116] **Siriphannon, P., Hayashi, S., Yasumori, A., Okada, K.** (1999). Preparation and sintering of CaSiO₃ from coprecipitated powder using NaOH as precipitant and its apatite formation in simulated body fluid solution, *J. Mater. Res.*, 14 529–536.
- [117] **Lin, K., Zhang, M., Zhai, W., Qu, H., Chang, J.** (2011). Fabrication and characterization of hydroxyapatite/wollastonite composite bioceramics with controllable properties for hard tissue repair, *J. Am. Ceram. Soc.* 94 99–105.
- [118] **Liu, X., Ding, C., Chu, P.K.** (2004). Mechanism of apatite formation on wollastonite coatings in simulated body fluids, *Biomaterials*, 25 1755–1761.
- [119] **Ding, S.-J., Shie, M.-Y., Wang, C.-Y.** (2009). Novel fast-setting calcium silicate bone cements with high bioactivity and enhanced osteogenesis in vitro, *J. Mater. Chem.* 19 1183.
- [120] **Kotsi, I., Bologh, A.**, (1989). Synthesis of wollastonite, *Ceram. Int.* 15 79–85.
- [121] **Krowl, T.R.** (2005). *Patent US 6,869,475B*. Calcium silicate insulating material containing blast furnace slag cement.
- [122] **Felipe-Sesé, M., Eliche-Quesada, D., Corpas-Iglesias F.A.**, (2011). The use of solid residues derived from different industrial activities to obtain calcium silicates for use as insulating construction materials, *Ceram. Int.* 37 3019–3028.
- [123] **Morales-Flórez, V., Santos, A., López, A., Morina, I., Esquivias, L.** (2014). Calcium silicates synthesised from industrial residues with the ability for CO₂ sequestration, *Waste Manag. Res.* 32 1178–1185.
- [124] **Rashid, R. A., Shamsudin, R., Hamid, M. A. A., Jalar, A.** (2014). Low

temperature production of wollastonite from limestone and silica sand through solid-state reaction, *Journal of Asian Ceramic Societies*, 2 77–81.

- [125] **De Aza PN, Luklinsk ZB, Anseau MR, Hector M, Guitian F, De Aza S** (2000) Reactivity of a wollastonite-tricalcium phosphate Bioeutectic® ceramic in human parotid saliva. *Biomaterials*, 21:1735–1741
- [126] **Henmi C, Kawahara A, Henmi K. (1983).** The 37, 4T and 5Z polytypes of wollastonite from Kushiro, Hiroshima Prefecture, *American Mineralogist*, 68:156–163
- [127] **Chan, C.J., Kriven, W.M., Young, J.F., (1992).** Physical stabilization of the beta gamma transformation in dicalcium silicate, *J. Am. Ceram. Soc.*, 75 (6) 1621–1627.
- [128] **Jansen, F., Wei, X.H., Dorfman, M.R., Peters, J.A., Nagy, D.R, (2002).** Performance of dicalcium silicate coatings in hot-corrosive environment, *Surf. Coat. Technol.*, 149 (1) 57–61.
- [129] **Rodriguez, J.L., Rodriguez, M.A., De Aza, S., Pena, P., (2001).** Reaction sintering of zircon–dolomite mixtures, *J. Eur. Ceram. Soc.* 21 (3) 343–354.
- [130] **Gou, Z.G., Chang, J., Zhai, W.Y. (2005).** Preparation and characterization of novel bioactive dicalcium silicate ceramics, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 25 (9) 1507–1514.
- [131] **Liu, X.Y., Xie, Y.T., Ding, C.X., Chu, P.K. (2005).** Early apatite deposition and osteoblast growth on plasma-sprayed dicalcium silicate coating, *J. Biomed. Mater. Res.* 74A (3) 356–365.
- [132] **Guo, Z.R., Chang, J., Zhai, W.Y., Lin, K.L., Zeng, Y. (2005).** Study on in vitro bioactivity and cytotoxicity of gamma-Ca₂SiO₄ ceramic, *J. Inorg. Mater.* 20 (4) 914–920.
- [133] **Liu, X.M., Carpi, A., Li, B., (2008).** Bioactive calcium silicate ceramics and coatings, *Biomed Pharmacother*, 62(8) 526–529.
- [134] **Liu, X., Ding, C., Chu, P.K., (2004).** Mechanism of apatite formation on wollastonite coatings in simulated body fluids, *Biomaterials*, 25 1755–1761
- [135] **Ghosh SN, Rao PB, Paul AK, Raina K. (1979).** The chemistry of dicalcium silicate mineral, *J Mater Sci.*, 14:1554e66.
- [136] **Hafezi-Ardakani, M., Moztarzadeh, F. (2010).** Sol-gel synthesis and apatite-formation ability of nanostructure merwinite (Ca₃MgSi₂O₈) as a novel bioceramic, *J. Ceram. Process*, 11 765–768.
- [137] **Lin, K., Zhai, W., Ni, S., Chang, J., Zeng, Y., Qian, W. (2005).** Study of the mechanical property and in vitro biocompatibility of CaSiO₃ ceramics, *Ceram. Int.*, 31 323–326.
- [138] **Schumacher, T.C., Volkmann, E., Yilmaz, R., Wolf, A., Treccani, L., Rezwan, K. (2014).** Mechanical evaluation of calcium-zirconium-silicate (baghdadite) obtained by a direct solidstate synthesis route, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 34 294–301.

- [139] **A. Khajeh-Sharafabadi M. Abdellahi, Kazemi, A.H., Khandan, A., Ozada, N.,** (2017). A novel and economical route for synthesizing akermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) nano-bioceramic, *Mater. Sci. Eng. C Mater Biol App*, 1;71:1072-1078.
- [140] **Zreiqat, H., Ramaswamy, Y., Wu, C., Paschalidis, A., Lu, Z., James, B., Birke, O., McDonald, M., Little, D., Dunstan, C.R.** (2010). The incorporation of strontium and zinc into a calcium–silicon ceramic for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 31 3175–3184.
- [141] **Carrodegeus, R. G. De Aza, A. H. De Aza, P. N. Baudin, C. Jimenez, J. LaopezBravo, A. Pena, P. De Aza, S.** (2007). Assessment of natural and synthetic wollastonite as source for bioceramics preparation, *Journal of Biomedical Materials Research A*, 83 484–495.
- [142] **De la Casa-lillo, M. A. Velasquez P. and De Aza P. N.** (2011). Influence of thermal treatment on the “in vitro” bioactivity of wollastonite materials, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 22 907–915.
- [143] **Wu, C, Chang, J.** (2007). Degradation, bioactivity, and cytocompatibility of diopside, akermanite, and bredigite ceramics. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 83(1):153–60.
- [144] **Kokubo, T.** (1991). Bioactive glass ceramics: properties and applications. *Biomaterials*,12(2):155–63.
- [145] **Sun H, Wu C, Dai K, Chang J, Tang T.** (2006). Proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived stromal cells on akermanite-bioactive ceramics, *Biomaterials*;27(33):5651–7.
- [146] **Liu Q, Cen L, Yin S, Chen L, Liu G, Chang J, et al.** (2008). A comparative study of proliferation and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells on akermanite and beta-TCP ceramics, *Biomaterials*, 29(36):4792–9.
- [147] **Wu C, Chang J, Ni S, Wang J.** (2006). In vitro bioactivity of akermanite ceramics, *J Biomed Mater Res A*, 76(1):73–80
- [148] **Nonami, T. Tsutsumi, S.** (1999). Study of diopside ceramics for biomaterials, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 10 475–479.
- [149] **Miake, Y. Yanagisawa, T. Yajima, Y. Noma H.** (1995). High-resolution and analytical electron microscopic studies of new crystals induced by a bioactive ceramic (diopside), *J. Dent.* 74 1756–1763.
- [150] **Luo, Y. X. Wu, C. T. Lode, A. Gelinsky, M.** (2013). Hierarchical Mesoporous Bioactive Glass/Alginate Composite Scaffolds Fabricated by Three-dimensional Plotting for Bone Tissue Engineering, *Biofabrication*, 5 (1), 015005.
- [151] **Hutmacher, D.W.** (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials*, 21, 2529-43.
- [152] **Leong, K. Cheah, C. Chua, C.** (2003). Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs, *Biomaterials*, 24, 2363-2378.
- [153] **Tsang, V.L. Bhatia, S.N.** (2004). Three-dimensional tissue fabrication, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1635-1647.

- [154] **Kalemtaş, A.** (2016). Nişastayla Konsolidasyon Yöntemiyle Gözenekli Silika Esaslı Seramiklerin Üretimi, *AKÜ FEMÜBİD*, 16 035703 (734-746).
- [155] **Lyckfeldt, O.** (1999). in *Proceedings of the 6th E. Cer. S. Conference and Exhibition* (British Ceramic Proceedings No. 60, Extended Abstracts Vol. 2), Brighton, June 1999 (Institute of Materials, London, 1999) p. 219.
- [156] **Lyckfeldt O. and Ferreira, J. M. F., (1998).** Processing of porous ceramics by starch consolidation, *J. Eur. Ceram. Soc.* 18 131.
- [157] **Alves, H. M., Tari, G., Fonseca A. T., and Ferreira, J. M. F. (1998).** Processing of porous cordierite bodies by starch consolidation, *Mater. Res. Bull.* 33 1439-1448.
- [158] **Lemos A. F., and Ferreira, J. M. F. (2000).** Porous bioactive calcium carbonate implants processed by starch consolidation, *Mater. Sci. Eng. C*, 11 35-40.
- [159] **Ynov'a, E. T., (2000).** Master thesis. ICT Prague (in Czech).
- [160] **Pabst, W., Gregorov'a, E., Havrda J., and Ynov'a, E. T., (2001).** in *Proceedings of the 7th International Symposium Ceramic Materials and Components for Engines*, Goslar (Germany), June 2000, edited by J. G. Heinrich and F. Aldinger (DKG Wiley- VCH, Weinheim) p. 587.
- [161] **Ynov'a, E. T., Pabst, W., Gregorov'a E., and Havrda, J. (2000).** in *Proceedings of the 10th Silichem Conference*, Brno (Czech Republic), June, edited by O. Hoffmann (VUT Brno, 2000) p. 11.
- [162] **Bowden M. E. and Rippey, M. S., (2002).** *Key Eng. Mater.* 206–213 1957.
- [163] **Ynov'a, E. T., Pabst, W., Gregorov'a E., and Havrda, J., ibid. (2002).** 206–213 1969.
- [164] **Ynov'a, E. T., Pabst, W., Havrda J. and Gregorov'a, E. (2001).** Edited by J. Tolgyessy and J. Kmet'ov'a (FPV Matej Bel University, Banska Bystrica), in *Proceedings of the 53th Congress of Chemical Societies*, Banska Bystrica (Slovakia), September 2001, Vol. B, p. 127.
- [165] **Bonekamp, B. C., Schoute M. J. and Goris, M. J. A. A. (1989).** in *Proceedings of the 1st E. Cer. S. Conference (Euro- Ceramics) Processing of Ceramics*, Maastricht (The Netherlands), June 1989, edited by G. de With, R. A. Terpstra and R. Metselaar (Elsevier Applied Science, London) p. 1.223.
- [166] **Gregorova', E., Pabst, W., (2011).** Process control and optimized preparation of porous alumina ceramics by starch consolidation casting, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 31 2073–2081.
- [167] **Guy R. C. E. and Evans, J. R. G. Brit. (1997).** *Ceram. Trans.* 96 165.
- [168] **Gregorová, E., & Pabst, W. (2007).** Porosity and pore size control in starch consolidation casting of oxide ceramics- achievements and problems, *Journal of the European Ceramic Society*, 27(2-3): 669-672.
- [169] **Mohamed, K., Beheri, H. (2013).** Mechanical and microstructure of reinforced hydroxyapatite/calcium silicate nano-composites materials, *Materials*

and Design,44.

- [170] **Leite, F. G.T.** (2017). Synthesis and characterization of calcium silicate insulating material using avian eggshell waste, *Ceramics International*, 43 4674-4679.
- [171] **Tangboriboon, N.** (2011). An Innovative CaSiO₃ dielectric material from eggshells by sol-gel process, *J Sol-Gel Sci Technology*, 58: 33-41.
- [172] **Swamiappan, S., Koppala, S.** (2015). Bioactivity studies of calcium magnesium silicate prepared from eggshell waste by sol-gel combustion synthesis, *Journal of Asian Ceramic Societies*, 3, 173-177.
- [173] **Morsy, R.** (2018). Preparation and Physicochemical Evaluation of Calcium Silicate/Sodium Silicate Composite Used as a Drug Delivery System for the Low-Dose Drug Atenolol, *Silicon*, 10:609-613.
- [174] **Mohammadi, H., Sepantafar, M., and Ostadrahimi, A.** (2015). The Role of Bioinorganics in Improving the Mechanical Properties of Silicate Ceramics as Bone Regenerative Materials, *J. Ceram. Sci. Tech.*,06 [01] 1-8.
- [175] **Granados, N., Restrepo, C. J.** (2019). Dicalcium silicate (2CaO·SiO₂) synthesized through flame spray pyrolysis and solution combustion synthesis methods, *Ceramics International*, 45 9589-9595.
- [176] **Hamida. H. K., Abo-Naf, S. M., and Elwan. R. L.** (2019). Characterization, bioactivity investigation and cytotoxicity of borosilicate glass/dicalcium silicate composites, *Journal of Non-Crystalline Solids* 512 25-32.
- [177] **Copeland, L. E., Kantro, D. L., and Brauneuer, S.** (1958). The Stoichiometry of the Hydration of 1/3-Dicalcium Silicate and Tricalcium Silicate at Room Temperature, *Journal Of The American Chemical Society*, 80.
- [178] **R. Choudhary, S.K. Venkatraman, A. Rana, S. Swamiappan.** (2016). In vitro bioactivity studies of larnite and larnite/chitin composites prepared from biowaste for biomedical applications, *Bull. Mater. Sci.*, 39 1213-1221.
- [179] **F. Zucco, I. De Angelis, A. Stammati.** (1998). Cellular models for in vitro toxicity testing, *Animal Cell Culture Techniques*, Springer, pp. 395-422.
- [180] **T.L. Riss, R.A. Moravec.** (2004). Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays, *Assay Drug Dev Techn*, 2(1)51-62.
- [181] **L. Galluzzi, S. Aaronson, J. Abrams, E. Alnemri, D. Andrews, E. Baehrecke, N. Bazan, M. Blagosklonny, K. Blomgren, C. Borner.** (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes, *Cell death and differentiation*, 16(8) 1093.
- [182] **G. Longo-Sorbello, G. Saydam, D. Banerjee, J. Bertino.** (2006). Cytotoxicity and cell growth assays. In “Cell biology: a laboratory handbook”, Ed; Celis JE, *Elsevier Academic Press*, Burlington.
- [183] **S.P.M. Crouch, R. Kozlowski, K.J. Slater, J. Fletcher.** (1993). The Use of Atp Bioluminescence as a Measure of Cell-Proliferation and Cytotoxicity, *Journal of Immunological Methods*, 160(1) 81-88.
- [184] **F. Fan, K.V. Wood.** (2007). Bioluminescent assays for high-throughput screening, *Assay Drug Dev Techn*, 5(1) 127-136.

- [185] **M. Feoktistova, P. Geserick, M. Leverkus.** (2016). Crystal violet assay for determining viability of cultured cells, *Cold Spring Harbor Protocols*, 2016(4) pdb. prot087379.
- [186] **T. Mosmann,** (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of immunological methods*, 65(1-2) 55-63.
- [187] **L. Bin,.** (2014). Electrospun nanofibrous scaffolds of poly (L-lactic acid) dicalcium silicate composite via ultrasonic-aging technique for bone regeneration, *Materials Science and Engineering*, 35, 426-433.
- [188] **S. Sasikumar., & A, Jayanthi.** (2020). Biomineralization, Mechanical, Antibacterial and Biological Investigation of Larnite and Rankinite Bioceramics, *Materials Science and Engineering*, S0928-4931(20).
- [189] **R. Morocco.** (2016). Potential formation of hydroxyapatite in total blood and dicalcium silicate elaborated from shell and glass powders, *Materials Letters*, 183, 405-407.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Özge KAVÇAK
Doğum Tarihi ve Yeri : 25.01.1993 - Osmangazi
E-posta : kavcakoze@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2018, Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği
- **Yüksek Lisans** : 2020, Bursa Teknik Üniversitesi, İleri Teknolojiler-Malzeme Bilimi ve Mühendisliği