

KEMİK ÇİMENTOLARINDA YUMURTA KABUĞU ZARI PROTEİNİNİN KULLANIMI

USE OF EGG SHELL MEMBRANE PROTEIN IN BONE CEMENTS

ŞULE KARAGÜLLEOĞLU

PROF. DR BORA MAVİŞ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

Şule Karagülleoğlu'nun hazırladığı “Kemik Çimentolarında Yumurta Kabuğu Zarı Proteininin Kullanımı” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Petek Korkusuz
Başkan



Prof. Dr. Bora Maviş
Danışman



Dr. Öğr. Üyesi Simge Çınar
Üye



Doç. Dr. Benat Koçkar
Üye



Doç. Dr. Erhan Bat
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak / /..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Beni büyüten, geliştiren
herkese ve her şeye...

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

05 / 09 / 2019

ŞULE KARAGÜLLEOĞLU

YAYINLANMA FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H. Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- ☐ Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.
- ☐ Enstitü / Fakülte yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ay ertelenmiştir.
- ☐ Tezim ile ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

...5 / 9 / 2019

(İmza)

ŞULE KARAGÜLLEOĞLU



ÖZET

KEMİK ÇİMENTOLARINDA YUMURTA KABUĞU ZARI PROTEİNİNİN KULLANIMI

ŞULE KARAGÜLLEOĞLU

Yüksek Lisans, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Bora MAVİŞ

Eylül 2019, 106 sayfa

Sunulan tez çalışması kapsamında, protein katkılı kemik çimentolarının biyoçözünürlük ve mukavemet anlamında potansiyel vadettiği düşünülmektedir. Bu nedenle kalsiyum sülfat bazlı kemik çimentolarına (CSC) protein eklenmesiyle, çimentonun mekanik dayanımının değiştirilebilmesi ve CSC’lerde faz dönüşümlerinin sağlanabilmesi hedeflenmiştir.

Her yıl milyonlarca ton atık olarak ortaya çıkan yumurta kabuğundan elde edilen yumurta kabuğu zarı (YKZ) yüksek oranda protein içeriğiyle CSC’lerle kullanılabilecek doğal bir biyomalzeme olarak seçilmiştir. Yumurta kabuklarından ayrılan YKZ’den % 62.57 verimle yumurta kabuğu zarı proteini (YKZP) elde edilmiş, kalsiyum sülfat (CaS) bazlı kemik çimentosu sentezlenerek kalsiyum sülfat dihidrat (CSD) ve kalsiyum sülfat hemihidrat (CSH) olmak üzere iki farklı CaS fazında toz elde edilmiş, elde edilen YKZP kullanılarak CSD ve CSH fazlarının mekanik dayanımına, morfolojisine ve yapısına katkısı incelenmiştir. Elde edilen YKZP, su ve CaCl_2 sulu çözeltisi içerisine farklı katkı maddeleri eklenerek sertleşme çözeltileri hazırlanmış ve YKZP çözünürlük çalışmaları

yapılmıştır. Hazırlanan sertleşme çözeltileri içerisinde en iyi çözünme sonuçlarına YKZP-Su, YKZP-Üre, YKZP-CaCl₂(aq), filtrelenmiş YKZP-CaCl₂(aq), YKZP-CaCl₂(aq)-Üre ve filtrelenmiş YKZP-CaCl₂(aq)-Üre karışımları ile ulaşılmıştır. CaS sentezi kısmında farklı fazlarda CaS tozu (PPTN1, PPTN2 ve PPTN3) üretilmiştir. Elde edilen PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının, yapılan analizleri ile sırasıyla CSH, CSD ve CSD fazları içerdiği belirlenmiştir. CSH fazı içeren PPTN1 tozuna CaCl₂ sulu çözeltisinde YKZP eklenilmesi, yalnızca su veya su ve YKZP eklenilmesi durumundan % 45 fazla mekanik dayanım sağlamasına neden olduğu görülmüştür. CSH fazı içerdiği tespit edilen PPTN1 tozu su ile karıştırıldığında CSH fazında değişiklik olmazken su/YKZP ile karıştırıldığında yapısında az miktarda CSD fazının olduğu ve YKZP/CaCl₂ sertleşme solüsyonu ile karıştırıldığında ise CSH faz yapısının tamamen CSD faz yapısına dönüştüğü görülmüştür. CSD fazı içeren PPTN3 tozuna YKZP eklenilmesi, su, su/YKZP/EtOH ve su/YKZP/Üre eklenilmesi durumundan yaklaşık % 240 fazla mekanik dayanım sağlanmasına neden olduğu görülmüştür. CSD fazı içeren PPTN3 tozu ile su, su/YKZP, su/YKZP/EtOH ve su/YKZP/üre ile karıştırıldığında CSD fazının değişmediği görülmüştür. CaCl₂ sulu çözeltisinin CSD fazı içeren PPTN3 tozunun mekanik dayanımına etkisi olmadığı, CaCl₂/YKZP ile karıştırıldığında CSD fazının mekanik dayanımını %300 fazla artırdığı görülmüştür. CSD fazı içeren PPTN3 tozu ile CaCl₂ (aq), YKZP/CaCl₂ ve YKZP/CaCl₂/üre sertleşme solüsyonları karıştırıldığında CSD fazının değişmediği görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda CSH fazı ile başlayıp YKZP ve CaCl₂ ile karıştırıldığında CSD fazına geçiş yapan çimentoların mekanik dayanımının arttığı, mekanik dayanımı düşük olan CSD fazının faz dönüşümüne uğramaksızın üzerine eklenen proteinin çözünürlüğü artırıldığında CaCl₂ gibi +2 yüklü iyon değerliğindeki bir malzeme ile tepkimeye girdiğinde mekanik dayanımının arttığı ve oluşturulan CaS bazlı kemik çimento sisteminin kemik doku onarımında kemik çimentosu olarak kullanılmasının mümkün olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: kemik çimentosu, kalsiyum sülfat, yumurta kabuğu zarı proteini, protein çözünürlüğü, sertleşme solüsyonu, sertleşme reaksiyonu, sertleşme zamanı, enjekte edilebilirlik

ABSTRACT

USE OF EGGSHELL MEMBRANE PROTEIN IN BONE CEMENTS

ŞULE KARAGÜLLEOĞLU

Master of Science, Department of Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Bora MAVİŞ

September 2019, 106 pages

Within the scope of the presented thesis, it is thought that protein doped bone cements promise potential in terms of biodegradability and strength. Therefore, by adding protein to calcium sulphate based bone cements (CSC), it is aimed to change the mechanical strength of the cement and to provide phase transformations in CSCs.

The eggshell membrane (ESM) obtained from the eggshell, which is produced as millions of tons of waste each year, has been selected as a natural biomaterial that can be used with CSCs with its high protein content. 62.57% yield of eggshell membrane protein (ESMP) was obtained from ESM which was separated from eggshell, calcium sulphate (CaS) based bone cement was synthesized and two different CaS phases were obtained as calcium sulfate dihydrate (CSD) and calcium sulfate hemihydrate (CSH). The contribution of CSD and CSH phases to mechanical strength, morphology and structure was investigated by using ESMP. The hardening solutions were prepared by adding different additives to the obtained ESMP, water and CaCl₂ aqueous solution and ESMP solubility studies were performed. ESMP-Water, ESMP-Urea, ESMP-CaCl₂ (aq), filtered ESMP-CaCl₂ (aq), ESMP-CaCl₂ (aq) -urea and filtered ESMP-CaCl₂ (aq) and

urea mixtures with the best dissolution results in prepared hardening solutions has been reached with. In the CaS synthesis part, CaS powder (PPTN1, PPTN2 and PPTN3) was produced in different phases. The obtained PPTN1, PPTN2 and PPTN3 powders were determined to contain CSH, CSD and CSD phases, respectively. Addition of ESMP in CaCl₂ aqueous solution to PPTN1 powder containing CSH phase was found to cause 45% greater mechanical strength than water or water and ESMP alone. When the PPTN1 powder, which was determined to contain CSH phase, was mixed with water, there was no change in CSH phase, there was little CSD phase in the structure when mixed with water / ESMP, and when it was mixed with ESMP / CaCl₂ hardening solution, the CSH phase structure was completely transformed into CSD phase structure. Addition of ESMP to PPTN3 powder containing CSD phase resulted in approximately 240% greater mechanical strength than water, water / ESMP / EtOH and water / ESMP / Urea. It was observed that the CSD phase did not change when it was mixed with PPTN3 powder containing CSD phase with water, water / ESMP, water / ESMP / EtOH and water / ESMP / urea. It was observed that CaCl₂ aqueous solution had no effect on the mechanical strength of PPTN3 powder containing CSD phase and when it was mixed with CaCl₂ / ESMP it increased the mechanical strength of CSD phase by 300%. When the PPTN3 powder containing CSD phase and CaCl₂ (aq), ESMP / CaCl₂ and ESMP/CaCl₂/urea hardening solutions were mixed, it was observed that CSD phase did not change.

In the studies, it was recorded that the mechanical strength of the cements which started with CSH phase and mixed with ESMP and CaCl₂ increased to CSD phase. It is seen that when the solubility of the added protein is increased without the phase transformation of CSD phase which has low mechanical strength, it reacts with a +2 charged ion valued material such as CaCl₂, and its mechanical strength increases and it is possible to use the generated CaS based bone cement system as bone cement in bone tissue repair.

Keywords: bone cement, calcium sulphate, eggshell membrane protein, protein solubility, setting solution, setting reaction, setting time, injectibility

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde büyük katkısı olan, değerli bilgi ve deneyimlerini esirgmeden benimle paylaşan, çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için laboratuvarını kullanmama izin veren sevgili danışmanım **Prof. Dr. Bora Maviş**'e, bu süreçte sağladığı olanaklar ve destek için sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez önerisinin oluşturulması sırasında bilgi, birikim ve fikirleriyle çalışmalarımıza öneride bulunan sevgili hocam **Prof. Dr. Feza Korkusuz**'a,

Tez çalışmalarım boyunca deneysel çalışmalarım sırasında laboratuvarlarını ve cihazlarını kullanma imkânı tanıyan **Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi UNAM**'a,

Tez çalışmalarım sırasında mekanik testlerin uygulanması sırasında laboratuvarını ve mekanik test cihazını kullanma imkânı tanıyan sevgili hocam **Doç. Dr. Benat Koçkar**'a ve mekanik testlerin uygulanması sırasında sonsuz sabır ile yardımda bulunan sevgili arkadaşım **Halil Onat Tuğrul**'a,

Tez çalışmalarım sırasında aynı laboratuvarı paylaştığım, dertleştiğim, birçok konuda yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili arkadaşlarım **Mustafa Utku Yıldırım** ve **Nur Merve Kazaroğlu Sönmez**'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca desteklerini her zaman arkamda, sevgilerini ise her zaman kalbimde hissettiğim çok sevgili **Ailem**'e ve

Bir an olsun benden umudunu asla kesmeyen, ne zaman olumsuz düşüncelere kapılsam tez çalışmam boyunca beni yüreklendirmekten vazgeçmeyen, geç saatlere kadar laboratuvarında kaldığım zamanlarda sıkılmadan benimle bekleyen **Burak Kunduracı**'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Şule Karagülleoğlu

Eylül 2019, Ankara



İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kemik Çimentosu	5
2.1.1. Kalsiyum Fosfat Kemik Çimentosu.....	6
2.1.2. Kalsiyum Sülfat Kemik Çimentosu	7
2.1.3. Kalsiyum Sülfat Kemik Çimentosunun Biyomedikal Uygulamaları	11
2.1.4. Kalsiyum Sülfat Sentezlenmesi	13
2.2. Yumurta Kabuğu.....	15
2.2.1. Yumurta Kabuğunun Yapısı	16
2.2.2. Yumurta Kabuğunun Zarı	18
2.2.2.1. Yumurta Kabuğu Zarının Yapısı	18
2.2.2.2. Yumurta Kabuğu Zarının Kullanım Alanı.....	21
2.2.2.3. Yumurta Kabuğu Zarının Çözünmesi.....	22
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	26
3.1. Yumurta Kabuğu Zarı Proteininin Elde Edilmesi.....	26
3.1.1. Yumurta Kabuğu ve Zarının Birbirinden Ayrılması.....	26
3.1.2. Yumurta Kabuğu Zarından Protein Elde Edilmesi	27
3.2. Yumurta Kabuğu Zarı Proteininin Çözünürlük Çalışmaları	30
3.3. Kalsiyum Sülfat Hidrat Sentezlenmesi	32
3.4. Kalsiyum sülfat tozları ile Sertleşme Tepkimesi	35
3.5. Test Numuneleri Üzerinde Yapılan Mekanik Testler	40
3.6. Test Numuneleri Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları.....	41

3.6.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Analiz.....	41
3.6.2. X-Işını Kırınım Cihazı (XRD) ile Analiz.....	41
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	42
4.1. Kalsiyum Sülfat Hidrat Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu.....	42
4.2. YKZP Elde Edilmesi ve Karakterizasyonu	46
4.3. YKZP Çözünürlük Çalışmaları	49
4.4. Sertleşme Reaksiyonu, Karakterizasyonu ve Mekanik Dayanımı	52
5. YORUM.....	74
6. KAYNAKLAR.....	76
EKLER	81
EK 1 –YKZP Çözünürlük Çalışmaları.....	81
EK 2 – Santrifüj Kullanılarak Yapılan YKZP Çözünürlük Çalışmaları	85
EK 3 – Kalsiyum sülfat hidrat tozları ve YKZP katkılı sertleşme çözeltileri karıştırılarak hazırlanan numunelerin mekanik testi yapılmak üzere hazırlanan kalıplar	87
EK 4 – PPTN1 ve su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi	88
EK 5 – PPTN1 ve su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	89
EK 6 – PPTN1 ve YKZP/su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi	90
EK 7 – PPTN1 ve YKZP/su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi.....	91
EK 8 – PPTN1 ve CaCl ₂ (aq)/YKZP ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi	92

EK 9 – PPTN1 ve YKZP/su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	93
EK 10 – PPTN3 ve su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi	94
EK 11 – PPTN3 ve su/YKZP ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	95
EK 12 – PPTN3 ve su/YKZP ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi	96
EK 13 – PPTN3 ve Su/YKZP/üre ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi	96
EK 14 – PPTN3 ve Su/YKZP/EtOH ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi	97
EK 15 – PPTN3 ve CaCl ₂ (aq) ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi	98
EK 16 – PPTN3 ve CaCl ₂ (aq) ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	99
EK 17 – PPTN3 tozu ve CaCl ₂ (aq)/YKZP solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	100
EK 18 – PPTN3 tozu ve filtrelenmiş CaCl ₂ (aq)/YKZP solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	101

EK 19 – PPTN3 tozu ve CaCl ₂ (aq)/YKZP/Üre solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	102
EK 20 – PPTN3 tozu ve filtrelenmiş CaCl ₂ (aq)/YKZP/Üre solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi	104
EK 22 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	105
ÖZGEÇMİŞ	106



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Doğada bulunan kalsiyum fosfat dihidratın (CSD) X ışını kırınım desenleri ..	8
Şekil 2.2. Üç ana kalsiyum sülfat fazının yapısal motif gösterimleri. Tetrahedra sülfat iyonlarını, büyük küreler Ca iyonlarını ve oklar sırasıyla alçı ve bazanit yapılarındaki su tabakaları ve kanallarını göstermektedir. (A) alçıtaşı, (B) bazanit ve (C) anhidrit (AII Formu).....	8
Şekil 2.3. Yumurta kabuğu, yumurta kabuğu zarı, albümen ve yolkun yapısal bileşenleri	17
Şekil 2.4. Yumurta kabuğunun enine kesit görünümünün gösterimi	18
Şekil 3.1. Yumurta kabuğundan ayrıldıktan sonra kurutulan YKZ'nin görünüşü	26
Şekil 3.2. YKZ ve AA-MPA karışımının karıştırılması için hazırlanan reaktör deney düzeneği ve karışımın reaktöre koyulmadan önceki halinin görünüşü.....	28
Şekil 3.3. YKZP çözeltisinin nötralizasyonunu gerçekleştirmek üzere kullanılan pHmetre düzeneği	29
Şekil 3.4. CaS hidratları sentezinin akış diyagramı	32
Şekil 3.5. (a) CaS çözeltisinin elde edilmesi için hazırlanan reaktör deney düzeneği ve (b) CaS çözeltisinin 2 saat boyunca 90°C sıcaklıkta karıştırılması sonucu oluşan karışım	33
Şekil 3.6. CaS çözeltisinin filtrasyonu için kullanılan filtrasyon düzeneği	34
Şekil 3.7. ASTM F-451 99a standardında yer alan basma dayanımı test kalıp ölçüleri.	36
Şekil 3.8. ASTM F-451 99a standardına göre imal edilen paslanmaz çelik test kalıbı ..	37
Şekil 3.9. CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) birbirleriyle karıştırılma süreci	38
Şekil 3.10. CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) birbirleriyle karıştırılmasından sonra kalıp içerisindeki NG'lerin içerisine doldurulma aşamaları.....	38
Şekil 3.11 . Mekanik test kalıbında NG'lerden çıkarılan bir test numunesi	40
Şekil 3.12. Mekanik basma dayanımı test numunelerinin yerleştirildiği test kafaları ve test numunesinin yerleştirilmesi	40
Şekil 4.1. CaS çökeltilisinin filtrasyon sonrası filtre kağıdı üzerindeki hali.....	42
Şekil 4.2. CaS çökeltilisinin EtOH ile yıkama işlemi sırasında görünüşü	42

Şekil 4.3. Sentezlenen kalsiyum sülfat (CS) toz örneklerinin (a - c) referans CSD ve CSH verilerine göre karşılaştırmalı XRD desenleri: (a) PPTN1; (b) PPTN2; (c) PPTN3	43
Şekil 4.4. PPTN1 tozunun SEM görüntüleri	44
Şekil 4.5. PPTN2 tozunun SEM görüntüleri	45
Şekil 4.6. PPTN3 tozunun SEM görüntüleri	45
Şekil 4.7. 80°C'de karıştırılan YKZ/AA-MPA karışımının farklı zaman aralığında karıştırılması sonucu görüntüsü (a) 6 saat, (b) 12 saat ve (c) 20 saat.	46
Şekil 4.8. YKZP çökeltisinin filtrasyon ve yıkama işlemleri sonrasında filtre kağıdı üzerindeki görünüşü; (a) filtrasyon aşaması ve 1. yıkama (b) 2.yıkama sonrası ve (c) 3. yıkama sonrası.....	47
Şekil 4.9. Elde edilen YKZP tozunda farklı bölgelerden alınan SEM görüntüleri	49
Şekil 4.10. M18 ve M20 sertleşme çözeltileri içerisindeki YKZP çözünürlüğü.....	49
Şekil 4.11. M19 ve M21 sertleşme çözeltilerinin filtrasyon sonrası görünüşü	50
Şekil 4.12. PPTN1 tozuna M18 sertleşme çözeltilisinin eklenerek karıştırıldıktan sonra hazırlanan karışımdan (S3) elde edilen test numunesinin basma testi sırasındaki davranışı	52
Şekil 4.13. PPTN1 toz fazı ile sırasıyla su, M9 (su/YKZP) ve M18 (su/YKZP/CaCl ₂) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan test numunelerinin (S1, S2 ve S3) mekanik dayanımı.	53
Şekil 4.14. S1 karışımı ile hazırlanan bir test numunesinin mekanik basma deneyi sırasındaki davranış grafiği üzerinde %2 öteleme metodu ile basma dayanımı değerlendirilmesi	54
Şekil 4.15. Mekanik basma testi sırasında (a) kırılma olmadan önceki düz yüzey ve (b) kırılma sonrası kırılma ara yüzü gösterimi.....	55
Şekil 4.16. S1 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası (A) düz yüzeyinin ve (B) kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.	56
Şekil 4.17. PPTN1 CSH toz fazı ile sırasıyla su, YKZP ve YKZP/CaCl ₂ sertleşme solüsyonları karıştırılarak (a – d) hazırlanan örneklerin XRD desenleri: (a) PPTN1; (b) S1; (c) S2 ve (d) S3.....	57
Şekil 4.18. PPTN3 toz fazı ile sırasıyla S4 (su), S6 (su/YKZP), S8 (su/YKZP/EtOH) ve S9 (su/YKZP/Üre) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan örneklerin mekanik dayanımı	58

Şekil 4.19. S4 karışımı ile hazırlanan bir test numunesinin mekanik basma deneyi sirasındaki davranış grafiği üzerinde %5 ortalama alma yöntemi ile basma dayanımı değerlendirilmesi	59
Şekil 4.20. S6 karışımının sertleşme tepkimesi sonrası sertleştikten sonra oluşan test numunesinin sert halinin SEM görüntüleri.	61
Şekil 4.21. S6 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası düz yüzeyinin ve kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.	62
Şekil 4.22. S8 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.	63
Şekil 4.23. S9 karışımının sertleşme tepkimesi sonrası sertleştikten sonra oluşan test numunesinin sert halinin SEM görüntüleri.	64
Şekil 4.24. S9 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.	65
Şekil 4.25. PPTN3 toz fazı ile su, YKZP, YKZP/üre ve YKZP/EtOH solüsyonları karıştırılarak (a – d) hazırlanan örneklerin XRD desenleri: (a) S4; (b) S6; (c) S8 ve (d) S9.....	66
Şekil 4.26. PPTN3 toz fazı ile sırasıyla CaCl_2 , M18 ($\text{CaCl}_2/\text{YKZP}$), M19 (filtrelenmiş $\text{CaCl}_2/\text{YKZP}$), M20 ($\text{CaCl}_2/\text{YKZP}/\text{Üre}$) ve M21 (filtrelenmiş $\text{CaCl}_2/\text{YKZP}/\text{Üre}$) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan S5, S10, S11, S12 ve S13 örneklerinin mekanik dayanımı	67
Şekil 4.27. PPTN3 CSD toz fazı ile sırasıyla CaCl_2 (aq), $\text{YKZP}/\text{CaCl}_2$ ve $\text{YKZP}/\text{CaCl}_2/\text{üre}$ sertleşme solüsyonları karıştırılarak (a – d) hazırlanan örneklerin XRD desenleri: (a) PPTN3; (b) S5; (c) S10 ve (d) S12.....	70
Şekil 5.1. Teflon malzemeden üretilen ASTM F-451 – 99a standardında mekanik basma testi kalıbı.....	87

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Kalsiyum Sülfatın farklı fazlarının gösterimi	11
Çizelge 2.2. YKZ'nin yapısında bulunan iç ve dış zarın içerdiği aminoasitlerin mol.% oranları	20
Çizelge 2.3. YKZ'nin protein bileşenlerini belirlemek için kullanılan farklı çözme stratejileri.....	24
Çizelge 3.1. Manyetik karıştırıcıda 48 saat süreyle 200 rpm hızla karıştırılarak hazırlanan solüsyonlarda YKZP çözünürlük çalışmaları.....	31
Çizelge 3.2. PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 çökeltilerinin filtrasyon ve yıkama işlemleri sonrasında -20°C sıcaklıkta bekletilme süreleri ve hazırlanma koşulları	35
Çizelge 3.3. Farklı toz ve sıvı faz çeşitleri karıştırılarak hazırlanan numuneler için T/S oranı ve mekanik test kalıbı içerisindeki beklemesi sürelerinin gösterimi	39
Çizelge 4.1. Filtrasyon, yıkama ve kurutma işlemlerinde kullanılan filtre kağıtlarının deney öncesi ve deney sonrası YKZP ile birlikte ölçülen ağırlıkları.....	47
Çizelge 4.2. YKZP elde edilmesi deneyinde elde edilen YKZP miktarı için verim hesaplaması	48
Çizelge 4.3. M19* ve M21* sertleşme çözeltilerinde çözünmemiş YKZP tespit edilmesi	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μ	Mikro
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
Ω	Ohm
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece

Kısaltmalar

YK	Yumurta Kabuğu
YKZ	Yumurta Kabuğu Zarı
YKZP	Yumurta Kabuğu Zarı Proteini
AA	Asetik asit
MPA	Merkapto Propiyonik asit
EtOH	Etanol
IPA	İzopropanol
CaP	Kalsiyum Fosfat
CPC	Kalsiyum Fosfat Çimentosu
CaS	Kalsiyum Sülfat
CSC	Kalsiyum Sülfat Çimentosu
CSD	Kalsiyum Sülfat Dihidrat
CSH	Kalsiyum Sülfat Hemihidrat

α -CSH	Alfa- Kalsiyum Sülfat Hemihidrat
β -CSH	Beta- Kalsiyum Sülfat Hemihidrat
KS	Potasyum Sülfat
PPTN1	Birinci Kalsiyum Sülfat Çökeltisi
PPTN2	İkinci Kalsiyum Sülfat Çökeltisi
PPTN3	Üçüncü Kalsiyum Sülfat Çökeltisi

XRD	X-Işını Kırınım Cihazı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

rpm	Dakikada dönme sayısı
nm	Nanometre
mm	Milimetre
ml	Mililitre
g	Gram
mg	Miligram

1. GİRİŞ

Çimento'nun birbirinden çok farklı tanımları vardır. Genel olarak çimento, kendiliğinden veya bir ajan yardımıyla sertleşip, belli bir mekanik dayanım kazanan inorganik toz karışımıdır. Bir çimento sistemi genel olarak, bir veya daha fazla katı aktif faz (dolgu) ve sertleştirici sıvı (bağlayıcı) faz içerir. Sertleşme tepkimesinin niteliğine göre çimentolar iki gruba ayrılabilir; hidrolik olmayan çimento (air-setting cements) ve hidrolik çimento (hydraulic cements) [1]. Kemik çimentosu medikal alanlarda en sık kullanılan ürünlerden biridir. Kemik çimentosunun en sık kullanım alanları arasında eklem ve kemik protezlerinin yanı sıra, kemik kırıklarının tedavisi yer almaktadır. Kemik çimentosu denince akla ilk gelebilecek çimentolar, polimetil metakrilat (PMMA) bazlı akrilik kemik çimentolarıdır. Burada sıvı olan metil metakrilat (MMA) monomeri, çoğunlukla seramik içerikli tozla birleştirilmekte ve bu karışım çoğu durumda ultraviyole (UV) ışınlar ile kürlenirken monomer olan MMA polimerleşmektedir. Yapısında yer alan farklı özellikteki proteinlerin çeşitli oranlarda değişik varyasyonları sonucu farklı özelliklerde kemik çimentosu ürünleri ortaya çıkabilmektedir. Kemik çimentoları farklı viskozitelerde üretilmektedir. Viskozitelerine bağlı olarak sertleşme süreleri farklı olan kemik çimentoları oluşturulabilmektedir. Biyoaktif olan kalsiyum fosfat (CaP) ve kalsiyum sülfat (CaS) çimentoları ise kimyasal özellikleri ve uygulama şekilleri açısından akrilik kemik çimentolarından tamamen farklıdır [2]. Apatitik (CaP) kemik çimentoları mükemmel biyouyumluluk ve yeterli olacak şekilde mekanik özellikler göstermektedir. Ancak söz konusu apatitik çimentolar, biyoaktif çimentolara göre insan vücudunda yavaş emilim göstermektedir. Biyouyumlu ve biyoaktif olan kalsiyum fosfatlardan farklı tipte materyaller geliştirilmiştir. Sert doku onarımı için ideal bir biyomateryal biyouyumlu, bozunabilir ve biyoaktif olmalıdır; bu nedenle son yıllarda kalsiyum fosfatlardan bozunabilir ve biyoaktif biyomalzemelerin gelişmesine dikkat edilmiştir. Kalsiyum fosfat çimentoları (CPC), mükemmel biyouyumlulukları ve biyoaktiviteleri nedeniyle dental ve kemikli biyomedikal malzeme araştırmalarına büyük ilgi duymaktadır. Yeni kemik dokusunun kemik defektine yayıldığından emin olmak için, uygun mekanik özelliklere sahip enjekte edilebilir çimentolarda elde edilmesi zor olsa da, belirli bir gözeneklilik gereklidir [3]. İdeal bir kemik çimentosu yeni kemik dokusunun oluşumu ile aynı emilim hızına sahip olmalıdır. Osteokondüktif, kalıplanabilir bir biyomateryal arayışı, kemik

kırıklarının iyileşmesini hızlandırmak için çalışmalar yapan veya yeniden yapılanmış kemik defektleriyle ilgilenen birçok araştırmacı ve cerrahın arayışı olmuştur.

Bu kemik çimentoları kendiliğinden sertleşir ve son ürün olarak hidroksiapatit (HA) oluşturur ancak insan sert doku defektlerinin onarımı için yeterli mekanik dayanıma sahip değildir. İnsan vücudu ele alındığında günlük aktiviteler sırasında kemikler üzerine 4 MPa, tendonlar üzerine ise 40-80 MPa değerinde gerilmeler, kuvvetler etki etmektedir. Ek olarak, şu anda mevcut kalsiyum fosfat çimentoları güvenli uygulama için hala yetersizdir. Kalsiyum fosfatlarla ilgili yapılan çalışmalarda sertleşme süresi, bozunabilirlik ve biyoaktiflik ile ilgili bazı problemlerle karşılaşılmaktadır. Bu nedenle klinik ihtiyacı karşılamak için farklı nitelikte kemik çimentolarının geliştirilmesi gereklidir. CaS çimentoları (CSC) 100 yıldan uzun bir süredir kemik yerine kullanılmakta ve biyolojik olarak uyumlu oldukları kanıtlanmıştır. Kalsiyum sülfat bazlı kemik çimentolarının kalsiyum fosfat bazlı çimentolara göre biyouyumluluk, biyoaktiflik ve mekanik özellikleri açısından daha uygun oldukları tespit edilmiştir [4]. Ancak kalsiyum sülfat bazlı kemik çimentoların emilimi in vivo yeni kemik oluşumundan daha hızlıdır ve bu durumun kemik defektinin rekonstrüksiyonu için yeterli zamanı tanımadığı bilinmektedir [5].

Kalsiyum sülfat çimentolarının toz ve sıvı fazlarının karışması işleminden bir süre sonra çimento tepkimesi başlar. Bu tepkime kabaca iki aşamada gerçekleşir; karışımın macunlaşması ve çeşitli kimyasal reaksiyonlar sonrasında son sertliğine ulaşması. Tepkimenin süresi çimentonun mekanik özelliklerin değişmesi, faz kompozisyonu ve termal etkilerin ortaya çıkmasına göre değerlendirilir. Kalsiyum sülfat çimentosunun sıvı faz/toz faz oranı, sıvı veya toz fazlarına eklenen katkı malzemeleri ile karışımın plastisitesini yani enjekte edilebilirliğini ve sertleşme zamanını belirler [6]. Sertleşme süresini azaltabilmek için kalsiyum sülfat çimentolarına doğal ya da sentetik biyopolimer moleküllerle katkılanabileceği öngörülmüştür.

Kuş yumurtaları uzun zamandır mükemmel bir besin ve besin kaynağı olarak kabul edilmiştir. Yumurta, bir hücre bölünmesinden kaynaklandığı bilinen en büyük biyolojik hücredir ve yaşamın temelini oluşturan çeşitli önemli kimyasal maddelerden oluşur. Yumurta, protein, lipid, inhibitörler, enzimler ve bakteri ve virüs istilasına karşı savunma faktörlerinin yanı sıra, büyüme teşvik edici faktörler ve biyolojik olarak aktif maddeler dâhil olmak üzere gerekli tüm besinleri içeren eksiksiz bir biyolojik maddeler grubudur.

1990'ların ortasından beri, yumurta bileşenlerinin biyofizyolojik işlevlerini karakterize eden ve tavuk yumurtalarında yeni biyolojik olarak aktif maddeler arayan çok sayıda kapsamlı çalışma yapılmıştır. Bu uygulamalar, sadece gıda ürünlerinde değil, aynı zamanda hastalık riskini azaltma ve insan sağlığını artırma potansiyeline sahip nutrasötikal ve fonksiyonel gıda bileşenleri olarak kullanılabilir biyolojik olarak aktif bileşenler olarak da yumurtaların besleyici ve fonksiyonel katkılarını kullanmak için geliştirilmektedir. Yumurtalar üç ana bölümden oluşur; yumurta kabuğu membranlı yumurta kabuğu, albümen veya beyaz ve yumurta sarısı. Yumurta sarısı, yumurta kabuğu zarları ve sonunda sert bir yumurta kabuğu ile sarılmış olan albümen ile çevrilidir. Yumurta kabuğu, köpüklü bir kütikül katmanından, bir kalsit veya kalsiyum karbonat katmanından ve iki kabuk zarından oluşur. Yumurta kabuğu oluşumu, yumurta kabuğu zarında, inorganik mineralleri ve organik matrisin öncüllerini içeren uterus sıvısı olan aselüler bir ortamda gerçekleşir [7].

Yumurta kabuğu zarı, yumurta kabuğu içinde doğal olarak oluşan çift katmanlı bir zardır. Yumurta kabuğu zarı; üronik asit, sialik asit ve nitrojen ile birlikte, prolin, glutamik asit ve glisin gibi aminoasitler açısından oldukça zengindir. Yumurta kabuğu zarı aminoasitlerden oluştuğu için “Yumurta Kabuğu Zarı Proteini - YKZP” olarak adlandırılmaktadır. Yumurta kabuğu zarının fiberleri I,V,X tipi kollajen, glikozaminoglikanlar (dermatan sülfat ve kondroitin sülfat), glikoproteinler ve hyaluronik asit gibi biyoaktif bileşenlerden oluşmaktadır. Yumurta kabuğu zarının bu kompozisyonu, insan doğal kıkırdığının hücre dışı kompozisyonuna çok benzerdir [8]. Dolayısıyla yumurta kabuğu zarı doku mühendisliği uygulamaları için uygun bir matris olabilmektedir. Yumurta kabuğu zarı aynı zamanda yapısal olarak yüksek mukavemete, yüksek gözenekliliğe, geniş bir yüzey alanına sahiptir. Antibakteriyel özellikleri vardır. Yüksek gözenekliliğinden dolayı su ve gaz moleküllerinin kolay difüzyonunu sağlar. Hücrelerin canlılığını korumasına ve yapışmasına yardımcı olur [9]. Yumurta kabuğu zarı ise cilt yaralanmaları için bir tedavi olarak kullanılmaktadır. Yumurta kabuğu zarının yanıkları ve derin yaraları örtmek için biyolojik bir pansuman olarak başarılı bir şekilde kullanılması incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında, literatürde yer alan CaS fazı olan kalsiyum sülfat dihidrat (CSD) fazının biyoçözünürlüğünün yüksek olması, kullanım kolaylığı sağlaması ve mukavemetinin düşük olmasının yüksek protein içeren YKZ kullanılarak söz konusu

özelliklerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Literatürde hiçbir şekilde YKZP katkılı kemik çimento sistemlerine rastlanılmamıştır. Bu çalışmada “CSD’ye protein olarak YKZP katkısı yapıldığında mukavemeti yükselir mi?”, “Biyoçözünürlüğü ve mukavemeti yüksek bir biyomalzeme elde edilebilir mi?” sorularına cevap aranmıştır. Bu tez çalışması kapsamında CaS fazlarına YKZP eklenmesi ile mukavemet ve biyoçözünürlük açısından yenilik göstermesi amaçlanmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında YKZP’nin aminoasit bakımından zengin olması özelliğinden yararlanarak, biyoaktivitesi ve basma mukavemeti yüksek, sertleşme süresi kısa yeni bir kalsiyum sülfat çimento sistemi oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu hedefe ulaşılması durumunda içerdiği kalsiyum sülfat yapıları sayesinde sert kemik dokusuna uyumlu ve hasarlı kemik dokusunun hızlı iyileşmesine yardımcı olacak bir kemik çimentosu elde edileceği öne sürülmektedir. Aynı zamanda, kalsiyum sülfat bazlı oluşturulan çimentoya eklenen YKZP’nin yapısında bulunan aminoasitlerin, oluşturulan kemik çimentosunun sertleşme reaksiyonunun hızlandırılmasına etmesi hedeflenmektedir. Aynı zamanda CaS ve YKZP kullanılarak, düşük maliyetli, çözünürlüğü, mukavemeti ve enjekte edilebilirliği yüksek bir kemik çimentosu elde edilmesi de hedeflenmektedir. Bu amaç için, ilk olarak yumurta kabuğundan zarı ayrılarak YKZP elde edilmiş ve sulu ortamda iki farklı CaS fazı sentezlenmiştir. Elde edilen YKZP ile çeşitli konsantrasyonlarda su, kalsiyum klorür (CaCl_2), etanol, üre veya kombinasyonlarıyla karıştırılarak farklı sertleşme çözeltileri hazırlanmıştır. Sertleşme çözeltileri hazırlanırken YKZP’nin, çözünürlüğü göz önünde bulundurulmuştur. CaS tozları ve YKZP içerikli sertleşme çözeltileriyle gerçekleştirilen tepkimeler için sertleşme zamanı ölçümleri ve tepkimeler sırasında kalıplara alınarak oluşturulan numunelerin basma dayanımlarının belirlenmesi için mekanik testler yapılmıştır. Yapılan mekanik testler, yapısal analizler ve kırılma yüzeylerinde yapılan incelemeler ışığında, YKZP katkılı CSC’lerin performansı tartışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Çimentosu

Kemik çimentoları, bir toz fazı ve sıvı fazın karıştırılmasıyla elde edilen ve bir macun olarak kalıplanıp implante edilebilecek ve vücut içine implante edildikten sonra yerleştirilebilecek olan biyomateryaller olarak tanımlanabilir. Farklı ortopedik cerrahi uygulamalarında yaygın olarak kullanılırlar. Temel olarak iki tipte kemik çimentoları bulunmaktadır; akrilik kemik çimentoları ve kalsiyum bazlı kemik çimentoları. Kalsiyum bazlı kemik çimentoları biyoaktif kemik çimentoları olarak kategorize edilebilmektedir [10]. Mekanik olarak zayıf kemikte implant stabilitesini arttırmayı amaçlayan çeşitli fiksasyon artırma tekniklerinde kırık tedavisinde kemik çimentoları yaygın olarak kullanılmaktadır. İlk belgelenen kemik greftleme işlemi, 1668 yılında Hollandalı cerrah Job van Meek tarafından kranyum ksenograft kullanılarak gerçekleştirilirken, Fred Albee ise ilk kez 1915 yılında spinal füzyon için tibia kemiğinin bir kısmını kullanarak otolog kemik greftini tarif etmiştir [11].

Günümüzde yaygın olarak akrilik kemik çimentoları kullanılmaktadır [12]. Piyasada akrilik kemik çimentosu olarak kullanılan polimetil metakrilat (PMMA) olarak da bilinen madde geçmiş yıllardan itibaren ortopedi ve diş alanında kullanılmaktadır [2]. PMMA iki steril bileşenin karıştırılmasıyla oluşturulan akrilik bir polimerdir. PMMA, bir sıvı metil metakrilat (MMA) ve toz MMA-stren kopolimerden oluşmaktadır [13]. PMMA, çeşitli katkı maddelerinin varlığı sonucu yüksek kalite fiziksel ve kimyasal özellikler gösterebilmektedir. Kemiklerde oluşan kırıkların tespitinde, kemiğe destek amaçlı kullanılabileceği gibi implantta kullanılan vidaların kemiğe tutunmasını güçlendirmek amaçlı da kullanılabilmektedir. Kırık tedavisinde kemik defektlerini doldurmak amaçlı kullanılabilen kemik çimentoları arasında kalsiyum fosfat bazlı kemik çimentoları ön plana çıkmaktadır [14].

Charnley, kalça artroplastisinde ilk kez bir akrilik kemik çimentosu kullanmaya başladığından beri, kemik çimentolarının kullanımı ve özellikleri ile ilgili gelişmeler meydana gelmiştir. Kemik çimentolarının toz ve sıvı fazlarının karışması işleminden bir süre sonra sertleşme veya çimento reaksiyonu olarak adlandırılan tepkime başlamaktadır. Bu tepkime temel olarak iki aşamada gerçekleşir; i) karışımın macunlaşması ve ii) çeşitli kimyasal reaksiyonlar sonrasında son sertliğine ulaşması. Tepkimenin süresi çimentonun mekanik özelliklerin değişmesi, faz kompozisyonu ve termal etkilerin ortaya çıkmasına

göre değerlendirilir. Kürleme işlemi 4 aşamaya ayrılır: a) Karıştırma, b) Bekletme, c) Çalışma ve d) Sertleşme. Karıştırma elle, santrifüjle veya vakum teknolojileri yardımıyla yapılabilir. Kemik çimentoları ısıya duyarlıdır. Tavsiye edilen 23°C (oda sıcaklığı) sıcaklıktan yüksek veya düşük bir sıcaklıkta çimento bileşenlerinin ve karıştırma ekipmanlarının kullanım özelliklerini ve kemik çimentosunun sertleşme süresini etkilemektedir. Manuel olarak karıştırma işlemi ve vücut sıcaklığı son sertleşme süresini azaltabilmektedir. Benzer şekilde nemdeki değişiklikler, kemik çimentosu karıştırma özelliklerini ve sertleşme zamanını etkileyebilmektedir [2].

Son yıllarda yapılan araştırmalarda enjekte edilebilir kemik çimentoları, insan kemik dokusunu güçlendirmek için kullanılmış ve özelliklerinin artırılması için çalışmalar yapılmıştır. Kemik çimentosu kolayca kalıplanabilir, kendiliğinden sertleşme gösterir ve bu da büyük kas retraksiyonunun hasar etkilerini en aza indirerek hızlı iyileşme sağlar [15]. Biyoaktif özellikte olan kalsiyum fosfat ve kalsiyum sülfat çimentoları ise akrilik kemik çimentosundan kimyasal, mekanik özellikleri ve uygulama şekilleri açısından farklılık göstermektedir. Polimetil metakrilat (PMMA) kemik çimentosunun biyoaktif kemik çimentolarından farkı olarak gösterilen, kemik ile implant arasında bağ kuramaması nedeniyle biyoaktif kemik çimentoları, kalsiyum fosfat ve kalsiyum sülfat çimentoları üzerinde çalışılmaya başlanmıştır [15].

2.1.1. Kalsiyum Fosfat Kemik Çimentosu

Hasar görmüş kemiğin yenilenmesi süreci için uygun yardımcı malzemelerden biri kemik dokusundaki minerallere kimyasal olarak benzer yapıda olan kalsiyum fosfatlardır. Bu nedenle kemik doku hasarlarına yönelik geliştirilen kemik çimento sistemlerinde en çok kullanılan malzeme kalsiyum fosfat bazlı malzemelerdir. Kalsiyum fosfat çimentoları karışım öncesi, toz ve sıvı fazlardan oluşan biyoaktif malzemelerdir. Kalsiyum fosfat çimentolarının toz fazının yapısını çeşitli kalsiyum fosfat kristal fazları oluşturur: Amorf kalsiyum fosfat (ACP), dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD, bruşit - brushite) minerali, dikalsiyum fosfat anhidroz (DCPA, monetit - monetite) minerali, alfa-trikalsiyum fosfat (α -TCP), dikalsiyum fosfat (DCP), tetrakalsiyum fosfat (TTCP), monokalsiyum fosfat monohidrat (MCPM) veya kalsiyum karbonat (CC) [16].

Kalsiyum fosfat çimentolarının çoğu, sertleşmeleri için gerekli olan sıvı fazının su olması nedeniyle aynı zamanda hidrolik kemik çimentosu olarak da bilinmektedir. Seramik

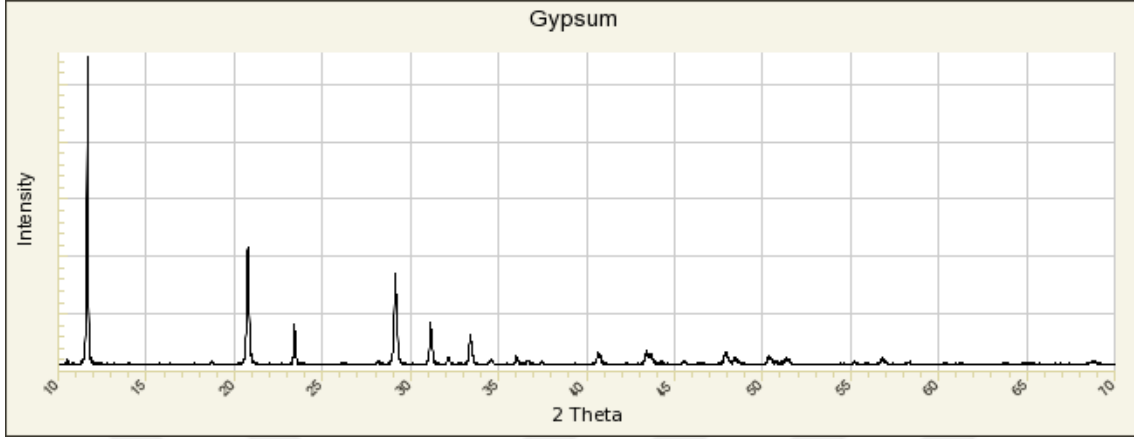
olmaları nedeniyle kırılganlardır ve gözenekli bir yapıları vardır [16]. Bu gözenekli yapıları nedeniyle örneğin mekanik olarak akrilik polimerlerle takviye edilmiş kemik çimentolarına göre mekanik dayanımları daha düşüktür. Akrilik kemik çimentolarının yaklaşık 2400 MPa olan basma mukavemetlerine karşılık, kalsiyum fosfat çimentoları ancak 25-50 MPa mukavemete erişirler. Ancak akrilik kemik çimentolarının polimer bileşenleri polimetilmetakrilat (PMMA) polimeri veya metakrilat-metilmetakrilat (MMA) monomeridir. Bu nedenle saf kalsiyum fosfat bazlı kemik çimentoları kadar yüksek biyoaktiflik özelliğine sahip değildirler. Bu farklardan dolayı, mukavemetleri düşük olmasına rağmen kalsiyum fosfatların biyoaktif olma özellikleri ön plana çıkmış ve çalışmalar kalsiyum fosfat bazlı kemik çimentolarının mukavemetini farklı şekillerde artırmak yönünde hız kazanmıştır [16].

Kalsiyum fosfat kemik çimentoları (CPC), biyoseramik kemik çimentolarının en büyük ve en çok çalışılan grubudur. Diğer taraftan kalsiyum sülfat ve diğer polimerlerin kemik çimentosu veya kemik grefti olarak kullanılması günümüzde büyük ilgi çekmektedir [17]. CaS çimentoları, CaP çimentolarının ve kemik greftlerinin geliştirilmesi amacıyla yapılan araştırmalar neticesinde ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda CaS çimentoları, CaP çimentolarının biyoyumluluğunu ve biyoçözünürlüğünü artırmak, sertleşme reaksiyonunun hızını artırmak amacı ile araştırılmaya başlanmıştır. Ancak CPC ile yapılan çalışmalarda protein katkılı bir kemik çimentosu oluşturulmasına dair bir uygulamaya literatürde rastlanılmamaktadır.

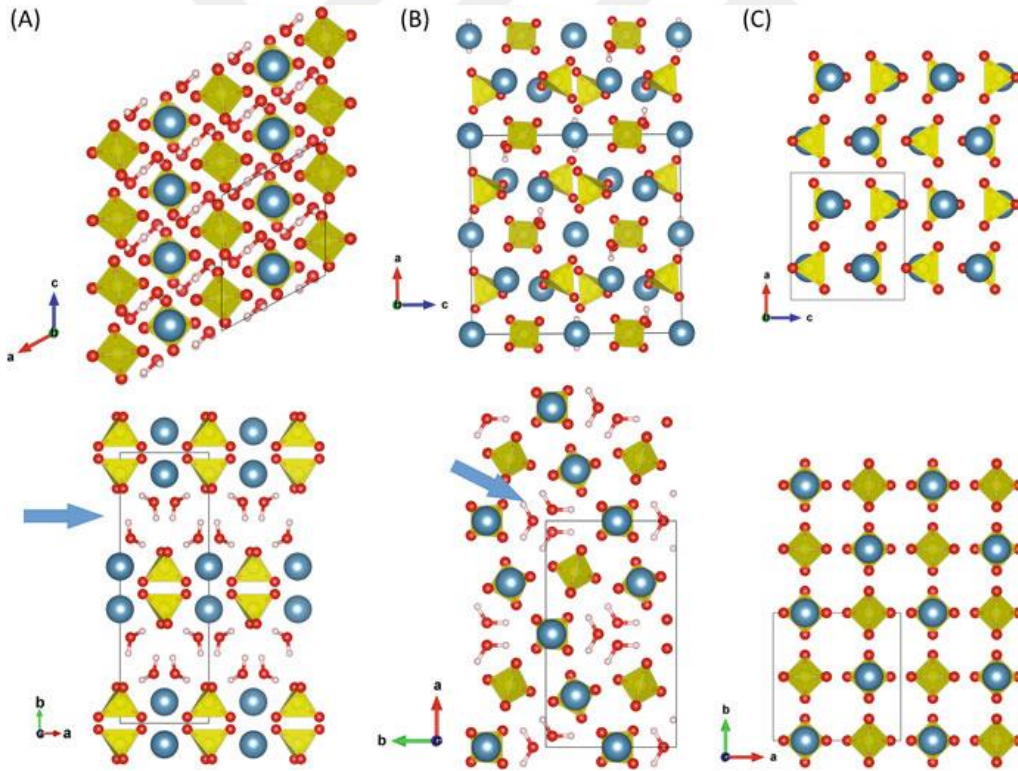
2.1.2. Kalsiyum Sülfat Kemik Çimentosu

Kalsiyum sülfat, çeşitli yapısal formlarda bulunabilir. Suyun varlığında, hidrasyon dereceleri farklı olan üç ayrı kristal faz meydana gelir: alçıtaşı, dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), bazanit, hemihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) ve anhidrit, susuz form (CaSO_4). Bu üç ana fazın kristal yapıları Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Su içeriğine ek olarak, ilgili hidrat ailesine ait kristaller arasında daha yapısal ve/veya morfolojik farklılıklar vardır (Şekil 2.1). Örneğin anhidrit, üç farklı polimorf içerir: (1) Altıgen simetri ile AIII faz veya β -anhidrit (su, kurutma ile kantitatif olarak çıkarıldığında elde edilir, fakat genellikle kullanılabilir); (2) Ortorombik simetriye sahip AII fazı veya β -anhidrit ($<1200^\circ\text{C}$ sıcaklıklarda termodinamik olarak kararlı faz); ve (3) Trigonal simetriye sahip AI fazı veya α -anhidrit,

(β -anhidrit 1200°C üzerine ısıtıldığında ve β -anhidriti daha yüksek sıcaklıklarda sabit tutulduğunda oluşur) [18].



Şekil 2.1. Doğada bulunan kalsiyum fosfat dihidratın (CSD) X ışını kırınım desenleri



Şekil 2.2. Üç ana kalsiyum sülfat fazının yapısal motif gösterimleri. Tetrahedra sülfat iyonlarını, büyük küreler Ca iyonlarını ve oklar sırasıyla alçı ve bazanit yapılarındaki su tabakaları ve kanallarını göstermektedir. (A) alçıtaşı, (B) bazanit ve (C) anhidrit (All Formu)

Kalsiyum sülfatın bazanit formu göz önüne alındığında üretim şekline bağlı olarak alfa-hemihidrat ile beta-hemihidrat arasında bir ayrım bulunmaktadır. Kalsiyum sülfatın iki

bazanit türü temel olarak kristallerin şekli (alfa-hemihidrat, beta-hemihidrattan daha prizmatik olduğu için), suyla temasta reaktiflikleri ve nihai ürünün mekanik özellikleri açısından farklılık göstermektedir [19],[20]. İki form arasında gerçek yapısal farklılıklar olup olmadığı hala tartışılmaktadır [21]. Ek olarak, bazanit yapısındaki gerçek su içeriğinin oldukça geniş bir aralıkta ($\text{CaSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, burada $0 \leq x \leq 0.8$, özellikle 0.5-0.8) değişebileceği bildirilmiştir [22].

CaS çimentoları, özellikle kalsiyum sülfat dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (en yaygın olarak bulunan mineral), kalsiyum sülfat hemihidrat (β ve α $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) türevlerinin toz hali su ile karıştırıldığında kemik defektlerinin doldurulmasında kullanılarak yüksek biyouyumluluk ve yüksek kemik onarım kabiliyeti göstermektedir [23],[15]. Bu nedenlerden dolayı kalsiyum sülfat dihidrat (CSD) ve kalsiyum sülfat hemihidratlar (CSH) en başarılı kemik çimentolarından biri olarak araştırılmaya devam etmektedir [24]. Çünkü ilk olarak kemik defektlerini doldurduktan sonra kusurlar arasında boşluğu doldurarak girebilme kabiliyetine sahiptir ve biyouyumluluk göstermektedir [25]. Yukarıda bahsedilen kalsiyum sülfat fazları arasındaki fark, tek bir kristalli birim hücrelerinde bulunan su molekülünün miktarı ile temsil edilir. Kalsiyum sülfat fazlarının kristal yapısı fiziksel, mekanik ve çözünme özelliklerini tanımlar. Alçı, dehidrat formundan oluşan, kalsiyum sülfatın en yaygın bilinen bir doğal mineralidir. Alçıtaşı 110°C 'ye ısıtıldığında, kalsinasyon olarak bilinen bir işlemde su kaybeder. Elde edilen ürün, paris alçısı olarak da bilinen kalsiyum sülfat hemihidrattır (CSH). Kalsiyum sülfat hemihidrat (CSH) suyla karıştırıldığında, kalsiyum sülfat dihidrat (CSD) hafif bir ekzotermik reaksiyon ile birlikte oluşur [26].

En az beş farklı tipte kalsiyum sülfat kristal faz vardır: kalsiyum sülfat dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (en yaygın olarak bulunan mineral), kalsiyum sülfat hemihidrat (β ve α $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$), çözünür anhidrit (γ - CaSO_4) ve çözünmez anhidrit (β - CaSO_4). Kalsiyum sülfat dihidrat ve anhidrit, çeşitli kökenlerden oluşan yaygın sülfat mineral tipleridir (Çizelge 2.1). Değişen ısı, basınç ve su mevcudiyeti koşulları kalsiyum sülfat hidrasyon formlarının dönüşümüyle sonuçlanır [27]. Yaygın olarak alçı olarak adlandırılan kalsiyum sülfat dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), evlerin ve ofislerin yapımında en sık kullanılan malzemelerden biridir. Alçı kelimesi, “tebeşir” veya “alçı” anlamına gelen Yunanca gypsos kelimesinden gelmektedir. Aynı zamanda alçıtaşı kristalin çıkıntıları nedeniyle “mızrak taşı” olarak da adlandırılmıştır. Doğada düzleştirilmiş ve sıklıkla ikiz kristaller ve şeffaf, parçalanabilir kütleler olarak bulunduğu için alçı selenit olarak adlandırılabilir.

Ayrıca selenit ipeksi, lifli bir formda olduğunda “atlas taşı” olarak adlandırılır. Kaymaktaşı olarak adlandırılan bir başka alçı taşı, sanatçılar tarafından binlerce yıldır heykel üretmek için kullanılan çok ince taneli veya hafif renkli bir malzemedir. Masif tarih öncesi havzalarda deniz suyunun buharlaştırılmasıyla alçı oluşmuştur. Uygulamaları tarım, seramik, dişçilik, boya ve inşaat gibi birçok alanda yaygın şekilde bulunmaktadır. Alçı, ısı ve ses yalıtımı gibi benzersiz özelliklere sahiptir; bu nedenle, inşaat sektöründe kullanılır. Alçının diğer özel özellikleri nem direnci, buhar kontrolü ve darbe direncidir[28].

Bir başka kalsiyum sülfat (CS) formu, kalsiyum sülfat hemihidratıdır ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$). En yaygın hemihidrat tipi bazanittir ve alfa (α) ve beta (β) olmak üzere iki farklı şekilde bulunur. Alçıtaşı, yüksek bir buhar basıncına sahip su varlığında ısıtılarak alfa- kalsiyum sülfat hemihidrat üretirken, atmosferik basınç varlığında beta- kalsiyum sülfat hemihidrat üretmektedir [29]. 97°C 'nin üzerindeki sıcaklıklarda suya doymuş bir ortamda alçıtaşı alfa-kalsiyum sülfat hemihidrat oluşturmak üzere ayrışır. Beta-kalsiyum sülfat hemihidrat, 100°C 'de vakumda elde edilebilir. Her iki kalsiyum sülfat hemihidrat formuna "Paris alçısı" denir ve suyla karıştırıldığında alçı sıvadan farklı katı şekiller oluşturmak için çeşitli kalıplara dökülebirlirler [30]. α -CSH, β -CSH'a göre çok daha düşük mekanik dayanıma sahip olmasından dolayı β -CSH inşaat sektöründe kullanılırken α -CSH ise medikal alanda tercih edilebilmektedir [31].

Çizelge 2.1. Kalsiyum Sülfatın farklı fazlarının gösterimi

Faz	Bilinen İsmi	Formül	Kararlılık Aralığı	Yorumlar
Alçı Taşı	Selenit, Kaymak taşı	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	<60-90°C havada <40-90°C H_2O 'da	Ortam koşulları altında çözültiden çökelti kendiliğinden oluşmuştur.
Bazanit	Hemihidrat Paris alçısı	$\alpha\text{-CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$	H_2O 'da yarıkararlı	>60-90°C'de ısıtılarak havada alçı taşı oluşturulur, rehidrattan alçı taşına dönüşür
		$\beta\text{-CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$	H_2O 'da yarıkararlı	>90°C'de ısıtılarak suda alçı taşı oluşturulur, rehidrattan alçı taşına dönüşür
Anhidrat	AIII, Çözülebilir anhidrat	$\gamma\text{-CaSO}_4$	H_2O 'da ve havada yarıkararlı	>100-130°C'de ısıtılarak havada alçı taşı oluşturulur, rehidrattan hemihidrata veya alçı taşına dönüşür
	AII, Çözünmez anhidrat	$\beta\text{-CaSO}_4$	Kararlı < ~ 1200°C	Dünya yüzeyinde oluşan doğal anhidrit
	AI	$\alpha\text{-CaSO}_4$	Kararlı < ~ 1200°C	~1200°C altındaki soğutmalarda $\beta\text{-CaSO}_4$ 'a dönüşür

2.1.3. Kalsiyum Sülfat Kemik Çimentosunun Biyomedikal Uygulamaları

Kalsiyum sülfat (CS) uzun bir klinik kullanım geçmişine sahiptir ve iyi tolere edilen, hızlı ve tamamen biyobozunur bir malzeme olduğu bilinmektedir [17]. Kalsiyum sülfat (CS) genellikle kemik defektlerindeki boşluk doldurma ve bariyer fonksiyonu olarak kullanılmasına ek olarak antibiyotikler veya büyüme faktörleri gibi terapötik maddeler için yerel bir dağıtım aracı olarak kullanılması da araştırılmaktadır [32]. Bugüne kadar

yapılan çalışmalarda kalsiyum sülfat bazlı kemik yerine kullanılacak yeni kemik dokusu oluşturmak için ve uygun mekanik dayanımı sağlamak için hızlı bir şekilde emilebildiğine inanılmaktadır.

Kalsiyum sülfat sentetik kemik grefti olarak kullanılan bir maddedir. Yüksek oranda biyouyumlu olması nedeniyle vücutta göreceli olarak hızlı çözünür. Aynı zamanda kemik hücrelerinin büyüüp gelişmesini engellemez. CaS çimentoları enjekte edilebilir özelliklerde bulunmaktadır. CaS çimentoları, biyouyumlu ve biyobozunur özelliklerinden dolayı kemik defektlerinin onarımı ve kemik büyütme işlemlerinde birçok klinik uygulamada kullanılmaktadır [33]. Öte yandan kalsiyum sülfat çimentoları, kalsiyum fosfat çimentoları kadar yaygın kullanılsa da kemik defektinin restorasyonunda otograft alternatifi olarak incelenmeye başlanmıştır [34]. Kalsiyum sülfatın (CaSO_4) 100 yıldan fazla bir süredir kemik boşluğu dolgusu olarak kullanıldığından ve çok sayıda araştırmacı tarafından kapsamlı bir şekilde araştırıldığından ve kapsamlı bir şekilde gözden geçirildiğinden bahsedilebilmektedir.

Kalsiyum sülfat bazlı biyoseramikler arasında alfa-kalsiyum sülfat hemihidrat ($\alpha\text{-CSH}$) tozu ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) klinik alanlarda kemik grefti kullanımı olarak çok popülerdir. Kalsiyum sülfat bazlı kemik çimentosunun kemiğe veya yumuşak dokuya implantasyonu yabancı cisim reaksiyonu vermediği, biyouyumluluk gösterdiği anlaşılmıştır. Yeni kemik oluşumu sadece periosteum veya kemik mevcut olduğunda meydana gelmiştir. Peltier ayrıca bir yarada kalsiyum sülfat varlığının kemik oluşumunu engellemediği ve yeni kemik oluşumunun oluşup oluşmadığına bakılmaksızın implantasyon bölgesinden çıkarıldığı sonucuna varmıştır. Bu değişimin ana nedeni, kalsiyum sülfatın hızlı ve kalsiyum fosfatın tek başına kalsiyum sülfata göre daha düşük mekanik dayanıma sahip olması olmuştur [35]. Aynı zamanda kalsiyum sülfat, rejeneratif materyaller grubunda benzersiz bir pozisyonda bulunmakta ve güvenli, biyoaktif implant materyalleri olarak kabul edilmektedir. Kalsiyum sülfatlar hızlı çözünme göstermelerine rağmen kemik onarımında başarılı şekilde kullanılabilir. Kalsiyum sülfat hemihidrat (CSH , $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) mükemmel biyouyumluluk ve kemik onarımı kabiliyeti nedeni ile kemik defektlerini doldurmada uzun süredir kullanılmaktadır [36]. Özellikle su ile karıştırıldığında CSH tozu en başarılı kemik çimentolarından biri olarak araştırma ve ilgi konusu olmaya başlayan kalsiyum sülfat dihidrata (CSD , $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dönüştürülür, kemik defektlerini doldurduktan sonra ise biyouyumluluğunun yüksek olmasından dolayı kemik iyileşmesini artırır [24], [37]. Su

ile karıştırılmış CSH tozu klinisyen tarafından kemik defektlerine enjekte edilebilecek ve dihidrat formuna yerinde dönüştürülerek tamamen sertleşmeye bırakılan bir macun hali oluşturabilmektedir. Bu durumda CSH enjekte edilebilir bir kemik çimentosu olarak kullanılabilir [15]. Söz konusu çalışmada enjekte edilebilir kemik çimentosu olarak CSH tozu, CSD'nin hidrotermal sentezi ile hazırlanmıştır. Sentezlenen CSH içerisine CSD eklenerek CSH tozu ile oluşturulan macunun sertleşme süresi ayarlanmaktadır. Ancak bu çalışmada CSH tozu üzerine CSD tozu eklenerek yapılan karışımda sertleşme süresi ayarlanabilirken, CSH ve CSD'nin mekanik özelliklerine önemli bir etkisi bulunmamaktadır [15].

Günümüzde kullanımına rastlanılan Augma Biomaterial ürünlerinden “3D Bond TM ve Bond Apatite®”, yeni nesil CaS türevli kemik grefti olarak kullanılmaktadır. “3D Bond TM ve Bond Apatite®” olarak adlandırılan ürünlerin temelinde yüksek saflıkta bifazik kalsiyum sülfat (BCS) bulunmakta ve söz konusu ürünler kendinden takviyeli çimentolar olarak kullanılmaktadır. “3D Bond TM ve Bond Apatite®” olarak adlandırılan ürünlerde her iki CaS fazının (hemihidrat ve dihidrat) tanımlanmış bir tanecikli formülasyonda kullanılmasından bahsedilmektedir. Kemik defekti üzerinde kan ve tükürük mevcut olsa bile, malzemelerin kalıplanabilirliğinin artırılması sonucu daha verimli kullanımı ve hızlandırılmış sertleşme yetenekleri gibi önemli avantajlar sağlamaktadır [38].

2.1.4. Kalsiyum Sülfat Sentezlenmesi

Yapılan çalışmalar neticesinde farklı alanlarda kullanılmak üzere farklı metotlar aracılığıyla CaS sentezi gerçekleştirilebilmektedir. Bu çalışmalardan birinde kontrollü kristal morfolojisine sahip olması nedeniyle çalışılan konulardan olan CSH sentezi için uygulanan bir yöntemden bahsedilmektedir [39]. Yang ve arkadaşları tarafından bu çalışmada CSD ilk önce sülfirik asit (H_2SO_4) ve kalsiyum hidroksitin ($Ca(OH)_2$)'nin reaksiyonu yoluyla sentezlenmiştir. Sentezlenen CSD üzerine eklenen etanol, morfoloji dönüştürücü reaktif malzeme olarak kullanılmaktadır. Sentez sonrası hazırlanan CSD bir hidrotermal yöntem aracılığıyla CSH'ye dönüştürülmüştür. Söz konusu çalışmanın sonucunda CSD tozlarının çökeltme süresinin çarpıcı bir şekilde kısaltıldığı ve CSD kristallerinin morfolojisinin etanol ilavesinde artış ile kalın tabla geometrisinden kısa çubuğa değiştiği bulunmuştur. Söz konusu çalışmada etanolün CSD'den CSH'a dönüşümü sırasında kristal yapıya olan etkisi tartışılmıştır. Öncelikle CSD'nin çökeltme

işlemi için hacmi 0 ile 4:3 oranları arasında değişen etanol/su çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra söz konusu çözeltiler 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Yang ve arkadaşları tarafından, daha sonra $(\text{Ca}(\text{OH})_2)$ etanol/su çözeltisinde çözülmüş ve ardından (H_2SO_4) ile çözeltinin 4 saat karıştırılarak titrasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu aşamadan sonra CSD çökeltisi oluşturulmuş ve nihai CSH sentezlenmesi için Yang ve arkadaşları tarafından bir hidrotermal yöntemi kullanılmıştır. Yang ve arkadaşları, etanolün eklenmesi ile CSD'nin hızlı bir şekilde çökmesine neden olduğunu, CSD ve CSH'ların etanol eklenmesi ile daha küçük partikül boyutuna sahip olduğunu tespit ettiler. Ancak elde ettikleri CSH'ların yalnızca toksik etkilerini inceleyerek biyouyumlu olduğu kanısına varmaktadırlar [39].

Bazı çalışmalarda CSH'nin alfa veya beta fazlarının da sentezlenmesi gerçekleştirilmiştir.. α -CSH'nin kemik boşluklarını doldurmak üzere kullanıldığı bilinmektedir. Tıbbi uygulamalar, özellikle implantasyon için yüksek oranda α -CSH'a ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan bir çalışmada, ticari olarak temin edilen üç farklı CSD tozları (DH-L, DH-M ve DH-S) hidrotermal bir yöntem kullanılarak yüksek oranda α -CSH sentezlenmesi için kullanılmıştır [40]. Söz konusu CSD tozları farklı parçacık büyüklüğüne sahiptir. Fu ve arkadaşları yaptıkları incelemeler sonucunda başlangıç malzemesi olarak kullanılan CSD'lerin parçacık büyüklüğü ve morfolojisinin sadece faz geçişi oranı üzerinde değil, aynı zamanda sentezlenen α -CSH morfolojisi üzerinde de önemli etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Bu çalışmada referans olarak alınan Wang ve arkadaşlarının çalışmasında CSH fazından farklı şekilde CSD çöktürmenin bir yöntemi ile uygulamalarda bulunmuşlar [41]. Söz konusu çalışmanın içeriğinde CSD ve CSH fazlarının yapısal farklılıkları anlatılmıştır. Bu tez çalışmasının devamında alınan XRD verilerinden yapılan analizlerde Wang ve arkadaşlarının çalışmasında yer alan CSD ve CSH fazlarının XRD verileri referans olarak kabul edilmiştir.

Yang ve arkadaşları başka bir çalışmada, kalsiyum klorür (CaCl_2) çözeltisi içerisinde CaS sentezi işleminin gerçekleştirilmesi üzerinde çalışmıştır. Söz konusu çalışmada CaCl_2 çözeltisi içerisinde CSH, α -CSH ve β -CSH formlarının sentezlenmesi için bir yöntem oluşturulmuştur [42]. Bu çalışmada CaS, farklı konsantrasyonlarda CaCl_2 sulu çözeltileri içerisinde potasyum sülfat (K_2SO_4) ve kalsiyum nitrat tetrahidratın ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) karıştırılmasıyla sentezlenmektedir. Yang ve arkadaşları CSD sentez işlemi sırasında CSH'ye dönüşen bir ara faz olduğunu ve α -CSH'nin zaman içerisinde yavaş yavaş β -

CSH'dan dönüştüğünü bulmuştur. Aynı zamanda söz konusu çalışmada CSD'den CSH'ye dönüşümün kinetiğinin ve mekaniğinin CaCl_2 sulu çözeltilerinin konsantrasyonunun (0 – 5 M arasında) arttırılmasıyla birlikte kuvvetli şekilde arttığı öngörülmüştür. Reaksiyonunun sıcaklığının 90°C 'ye sabitlenmesi ve CaCl_2 sulu çözeltilerinin konsantrasyonunun artırılması ile CaS dönüşümü aşağıdaki şekilde gerçekleşmiştir. Yang ve arkadaşlarının söz konusu yöntemi ile CaS fazlarının tamamının sentezlenebileceği düşünülmektedir [42].

Bu bölümde bahsedilen CaS sentezleme yöntemlerinin çoğunda başlangıç malzemesi olarak piyasada hazır şekilde satılan CSD tozları kullanılmaktadır. CaS sentezleme amacı ile yapılan çalışmaların birçoğunda ise hidrotermal yöntem kullanılmıştır. Aynı zamanda literatürde yer alan diğer çalışmalarda sentezlenen bir CaS fazı sonrasında biyouyumluluk ve mekanik dayanıklılığın artırılması adına farklı biyoaktif malzemelerin eklendiği görülmüştür. Bu çalışma kapsamında CaS sentezlemek üzere uygulanabilecek yöntemler incelendiğinde laboratuvar kullanım koşullarına en uygun olan çalışma olarak Yang ve arkadaşlarının (CaCl_2) çözeltisi içerisinde CaS sentezlenmesi çalışması belirlenmiştir [42]. Literatürde yer alan çalışmalarda verilen CaS sentezlenmesi sonucu elde edilen CSD ve CSH fazlarının SEM görüntüleri bu tez çalışmasında referans alınarak karşılaştırılmış ve tez çalışmasında elde edilen verilerle birlikte değerlendirilmiştir [15], [39].

2.2. Yumurta Kabuğu

Tavuk yumurta kabuğu, tavuk yumurtalarının son bölümlerinde albümin etrafındaki farklı katmanların sıralı birikiminden kaynaklanan doğal gözenekli bir biyoseramiktir. Yumurta kabuğu, kalsifiye kabuk boyunca çok kristalli bir örgütlenme ile mükemmel düzenlenmiş bir yapıdır [43]. Yumurta kabuğu yaklaşık % 96-97 oranında kalsiyum karbonat, % 1-2 magnezyum karbonat, % 1-2 kalsiyum fosfat, organik maddeler (esas olarak proteinler) ve sudan oluşur [44]. Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'te yumurta kabuğu yapısının şematik hali gösterilmektedir. Günümüzde, yumurtaların fonksiyonel özellikleri, daha önce atık olarak kabul edilen bazı bileşenlerin kullanılması nedeniyle yoğun olarak çalışılmaya başlanmıştır [45], [46]. Laca ve arkadaşları bir çalışmalarında yumurta kabuğunun besin takviyesi olarak kullanımı ile ilgili ayrıntılı inceleme gerçekleştirmişlerdir. Laca ve arkadaşlarının diğer bir çalışmalarında ise yumurta sarısının ilginç fonksiyonel özellikleri (köpüklenme, pıhtılaştırıcı, renklendirme, vb.) bağladığı için birçok gıda uygulamasında

çok işlevli bir bileşen olarak kullanılmasından yola çıkılarak inceleme yapmışlardır. Laca ve arkadaşlarının farklı bir çalışmalarında ise yumurta sarısının berrak sarı bir sıvı (plazma) içerisinde süspansiyon halinde çeşitli parçacıklar içeren kompleks bir sistem olmasından yola çıkılarak plazma yapısı ve granüller arasındaki farklar gözlemlenmiştir.

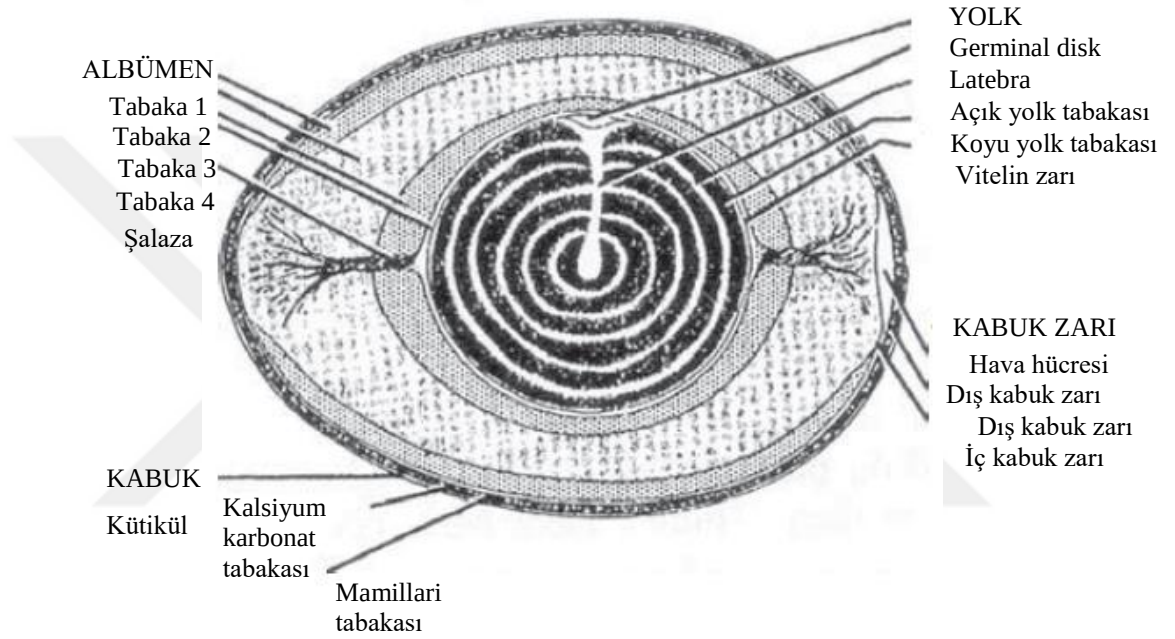
Ramesh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, kemik dokusunun onarımı için hidroksiapatit (HA) geliştirilmesinde yumurta kabuğu kullanılırken, Eletta ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise yumurta kabuğunun birçok metal iyonları için adsorban olarak kullanımını incelemiştir [47], [48]. Bu çalışmaların yanı sıra isteğe bağlı olarak son zamanlarda farklı işlemlerde yumurta kabuğu atıklarının çevre dostu bir katalizör olarak kullanılmasına yönelik bir sürüklenme olmuştur. Yumurta kabuğu atıklarının bir bütün olarak kullanımıyla veya yumurta kabuğu zarlarının spesifik uygulamalarının kullanımıyla ilgili bazı yeni çalışmaların kısa süre önce yayınlandığı görülmektedir [49], [50], [51]. Tan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışma sonrasında kalsine edilmiş yumurta kabuğundan elde edilen heterojen katalizör kullanılarak atık pişirme yağı bazlı biyodizelin potansiyeli üzerine bir inceleme yayınladı [52].

Zang ve arkadaşlarının çalışmasına göre her yıl dünya çapında 10^{12} adetten fazla yumurta tüketilmekte, tüketim ile birlikte yumurta artığı da artmaktadır. Yakın bir tarihe kadar yumurta kullanımı sonrası ortaya çıkan yan ürünler göz ardı edilerek atık olarak atılmaktadır. Ancak son zamanlarda yumurtalardan elde edilen atıkların işlenmesi önemli bir konu haline gelmektedir. Bunun üzerine yumurta artıklarının tekrar değerlendirilmesi için birtakım yöntemler geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam edilmektedir. Yumurta kabuğu, kalsiyum, fosfat ve yumurta kabuğu zarından (YKZ) oluşan sert bir kabuktur. Söz konusu çalışmada YKZ'nin ise yumurta kabuğu ile yumurta akı arasında kalan alanda bulunduğu ve ayrıca protein bakımından zengin olduğu bulunmuştur [50].

2.2.1. Yumurta Kabuğunun Yapısı

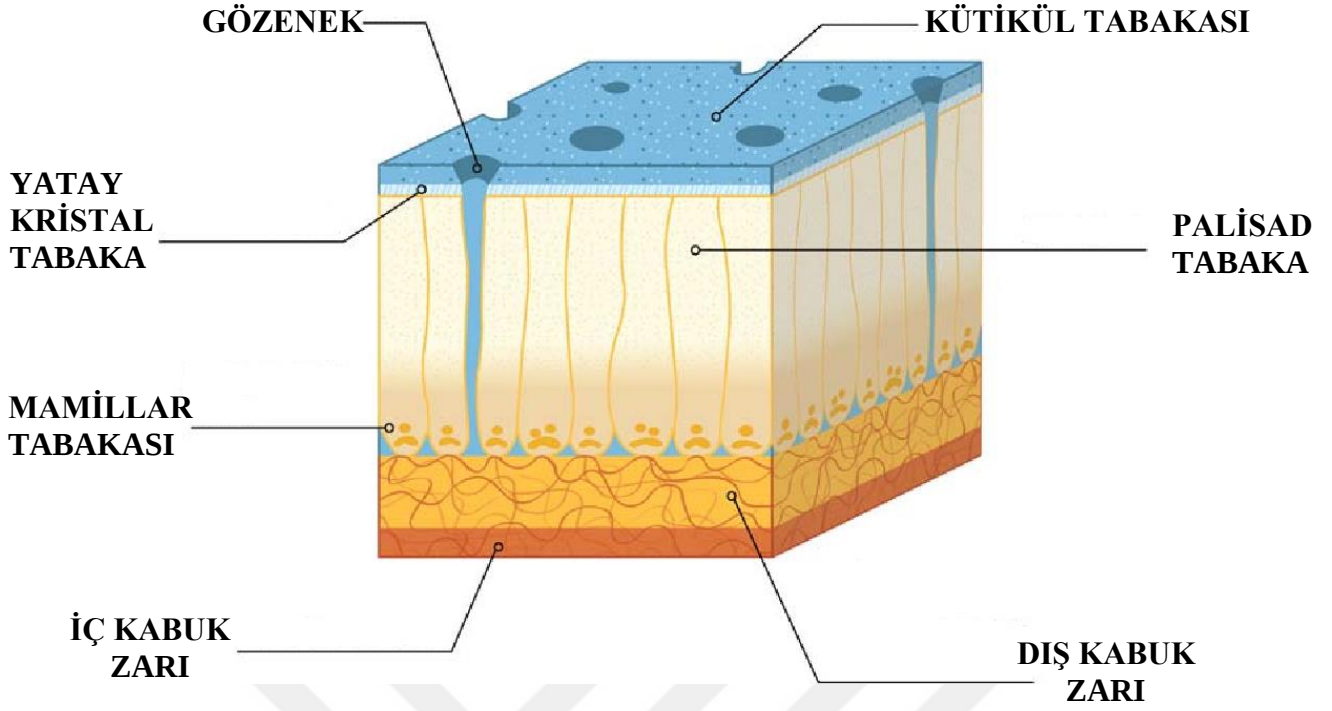
Yumurtalar, yumurta kabuğu, yumurta kabuğu zarı, albümen (yumurta beyazı) ve yolkten (yumurta sarısı) oluşur. Yumurta sarısı öncelikle yumurta beyazıyla, yumurta beyazı ise yumurta kabuğu zarları ve son olarak yumurta kabuğu ile çevrilidir. Yumurta kabuğu, köpüklü bir kütikül katmanından, bir kalsit veya kalsiyum karbonat katmanından ve iki kabuk zarından oluşur. Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'de gösterildiği gibi, ultra-yapısal olarak yumurta kabuğu, kabuk zarları, mamillar tabaka, kalsiyum rezerv düzeneği, palisad

tabaka, su ve gaz değişimi için kabuk yüzeyinde eşit olmayan bir şekilde dağılmış yaklaşık 7.000 - 17.000 adet huni şekilli gözenek kanalı içeren kütikül tabakası bulundurmaktadır. Yumurta kabuğu oluşumu, yumurta kabuğu zarında, organik matrisin inorganik minerallerini ve öncüllerini içeren uterus sıvısı olan aselüler bir ortamda gerçekleşir [53]. Yumurta kabuğu yapısının yüksek derecesi, iki tip X kollajen içeren filitlerden oluşan yumurta kabuğu zarları üzerine organik bir matris ile birlikte kalsiyum karbonatın birikmesinden kaynaklanır [7].



şekil 2.3. Yumurta kabuğu, yumurta kabuğu zarı, albümen ve yolkun yapısal bileşenleri

Yumurta kabuğu matris proteinleri, kalsit kristallerinin boyutunu, şeklini ve oryantasyonunu kontrol ederek kristal büyümesini etkiler, kristal büyümesi ile yumurta kabuğunun doku ve biyomekanik özelliklerini etkiler.



Şekil 2.4. Yumurta kabuğunun enine kesit görünümünün gösterimi

2.2.2. Yumurta Kabuğunun Zarı

Yumurta kabuğu zarı (YKZ) genellikle atık olarak kabul edilen eşsiz bir biyomateryaldir. Bununla birlikte YKZ, çeşitli alanlarda kullanılabilecek olağanüstü özelliklere sahiptir ve bu nedenle potansiyel uygulamaları geniş çapta çalışılmaktadır. YKZ, bazı temel ve yaygın olarak kullanılan besin maddelerini içeren bir yumurtanın bir parçasıdır. YKZ'nin YK ile birleşik olan yapısı sebebiyle YKZ'de uzun yıllar atık olarak kabul edilmiştir. Araştırma topluluğu bu istisnai biyomateryalin çalışılmasında önemli ilerleme kaydetmiştir ve çok çeşitli uygulamalar keşfedilmiştir. Tarihsel olarak YKZ ile ilgili yapılan ilk çalışma 1963 yılında Robinson ve King tarafından yayınlanmıştır. Bahsi geçen çalışmada YKZ'nin yumurta kabuğu oluşumundaki rolü tartışılmıştır [54].

2.2.2.1. Yumurta Kabuğu Zarının Yapısı

Yumurta kabuğu zarının yapısı, albümen ve kabuğun iç yüzeyi arasında kalan iç ve dış zarlardan oluşur. Aynı zamanda, yumurta zarı olarak da adlandırılan iç zar, kabuğa paralel ve birbirlerine dik açıda üç katman lifine sahiptir. Öte yandan, kabuk zarı olarak da adlandırılan dış zar, dönüşümlü olarak farklı yönlerde yönlendirilmiş altı elyaf katmanına sahiptir [7]. Liong ve arkadaşları konfokal tarama lazer mikroskopisini kullanarak dış

yumurta kabuğu zarının 1-7 μm kalınlığında lif kabuğunun kalsifiye tabakalarından ortaya çıktığını görmüşlerdir [55]. Dış zar ile 0.1-3 μm kalınlığındaki iç zar lifleri iç içe geçmiştir. Sınırlayıcı zar, floresanin izotiyosiyanat (FITC) ile boyandığında, iç zar elyafları arasındaki boşlukları dolduran parçacıklar ortaya çıkmıştır. Dış zar tabakası (~ 50-70 μm kalınlığında) ve iç zar tabakası (~ 15-26 μm kalınlığında), elyaf pozisyonunda ya da oryantasyonunda kaymalar ve elyaf boyutunda değişimler olarak görülebilen birkaç süreksiz katmandan oluşmuştur [7]. Yumurta kabuğu zarları, muhtemelen kabuğun kristal kısmının bir takviyesi olarak işlev görerek kabuk kuvvetine katkıda bulunur. Yumurta kabuğu oluşumu, yumurta kabuğu zarında, inorganik mineralleri ve organik matrisin öncüllerini içeren uterin sıvı olan aselüler bir ortamda meydana gelir.

YKZ, yumurta kabuğu ile yumurta akı arasında yer alan lifli bir yapıdır. YKZ, yumurta kabuğunun oluşumu için esansiyel olan ve yumurta kabuğunun mineralleşmesini sağlarken yumurta akının içeriden mineralleşmesini önleyen biyopolimerik lifli bir ağıdır [56], [57]. Şekil 2.7’de görüldüğü üzere YKZ’nin iç zar, dış zar ve sınırlayıcı membran katmanları farklı morfolojilere sahiptir. İç zarın lifleri dış zarla iç içe geçmiş şekilde bulunmaktadır [55]. Sınırlayıcı membran, yumurta akını çevreleyen YKZ’nin en içteki en ince yapısını temsil etmektedir [58]. Genel olarak YKZ elyafı, yumurtanın yüzeyinde paralel katmanlar halinde bulunmaktadır [59]. YKZ’nin morfolojisi, özelliklerini güçlü şekilde etkilemektedir. Torres ve arkadaşları YKZ’nin morfolojisinin mekanik özelliklerinin güçlü olmasına etki ettiği bildirilmiştir [60].

Yapılan birçok çalışmada YKZ’nin kimyasal bileşenleri araştırılmıştır [61], [62], [63], [64]. YKZ lifleri temel olarak %80-85 oranında proteinlerden oluşur; bunların yaklaşık %10’u kollajen (tip I, V ve X) ve %70-75’i lizin kaynaklı çapraz bağlar içeren diğer proteinler ve glikoproteinlerdir [61], [62], [63], [64]. Bütün olarak yumurta kabuğu ve YKZ matrisinde bulunan protein sayısı 500’ün üzerindedir, diğer yumurta bölmelerinde bu oran neredeyse 5-5 kat (yani beyaz yumurtadaki 148 protein, vitellin membranında 137 protein ve yumurta sarısında 316 protein) çok daha düşüktür [65]. YKZ’deki kollajenin varlığı bazı çalışmalar ile birlikte doğrulanmıştır [66], [67], [68]. En belirgin içerdiği kollajen dışında YKZ’nin, lizozim, ovotransferin, ovalbümin, ovokaliksin, desmozin ve izodesmin proteinleri içerdiği de yapılan çalışmalar ile görülmüştür [49].

Çizelge 2.2. YKZ'nin yapısında bulunan iç ve dış zarın içerdiği aminoasitlerin mol.% oranları

AMİNO ASİT	İÇ ZAR	DIŞ ZAR
PROLİNE	11.6	12.0
GLUTAMİK ASİT	11.1	11.9
GLİSİN	11.1	10.6
SERİN	9.2	9.2
HİDROKSİPROLİN	1.5	1.4
ASPARTİK ASİT	8.4	8.8
VALİN	7.2	7.9
THREONİN	6.9	6.9
ARGİNİN	5.7	5.8
LÖSİN	5.6	4.8
ALANİN	4.6	4.1
HİSTİDİN	4.1	4.3
LİSİN	3.6	3.4
İZOLÖSİN	3.3	3.4
METİONİN	2.3	2.3
TİROSİN	2.2	1.7
FENİLALANİN	1.6	1.5

Torres ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada YKZ suya maruz bırakılarak suyun biyopolimer molekülleri ile etkileşimi gözlenmiştir ve bu nedenle suyun plastifiye edici ajan olarak hareket ettiği sonucuna varılmıştır [60]. Daha sonra aynı grup, sıcaklığın

YKZ'nin mekanik özellikleri üzerindeki etkisiyle ilgili bir çalışma yapmıştır [69]. Tek eksenli çekme testlerinin sonuçları, YKZ'nin Young modülünün artan sıcaklıkla azaldığını göstermiştir.

Yapılan çalışmalar ışığında YKZ'nin tamamıyla biyoseramik bir yapıda olması, çok fazla sayıda protein içermesi ve mekanik dayanıklılığının yüksek olması sebebiyle bu çalışmada YKZ'nin kemik çimentosu veya kemik grefti oluşturmak üzere kullanılabilecek bir biyoaktif malzeme olduğu öngörülmektedir.

2.2.2.2. Yumurta Kabuğu Zarının Kullanım Alanı

YKZ'nin farklı kimyasal ve mekanik özelliklere sahip olmasından dolayı uygulama alanları çok çeşitlidir. YKZ'nin kullanım alanlarına dair yapılan araştırma faaliyetleri temel olarak üç alanda yoğunlaşmıştır: (i) çeşitli nanoparçacıkların sentezi için YKZ'nin biyotemik plaka olarak kullanılması; (ii) YKZ'nin ağır metal iyonları ve organik boyalar dâhil olmak üzere çeşitli türlerin soğuran malzeme olma potansiyeli; ve (iii) YKZ'nin biyosensör olarak uygulanması. Bununla birlikte YKZ, medikal alanda eklem ve bağ dokusu bozukluğu için bir terapötik olarak veya elektrokimya alanında süper kapasitörlerde bir ayırıcı olarak kullanılabilen bir biyomateryali temsil etmektedir [49]. YKZ ile ilgili en eski yayınlar 1971 yılında Osuoji ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır [70]. Bu çalışmada YKZ'deki asit glikozaminoglikan içermesi incelenerek YKZ'nin salgılanma özelliklerine bakılmıştır. Osuoji ve arkadaşları bu çalışmada hiyalüronik asidin su tutma ve bakteriyel saldırıya karşı direnç gösterme potansiyeline vurgu yapmıştır. Wu ve arkadaşları 1995 yılında YKZ'nin uygulamalarını tartıştıkları bir çalışma yayınlamışlardır. Söz konusu çalışmada kalsit CaCO_3 kristal çökeltisinin (deposition) in vitro modülasyonunun araştırılması için in vitro demineralize YKZ kullanılmıştır [71].

Malzeme bilimi alanındaki çok çeşitli uygulamalara ek olarak YKZ'nin, medikal alanda örneğin yanık tedavisinde biyolojik bir pansuman malzemesi olarak kullanıldığı belirtilmiştir [72]. YKZ'nin bu özelliği Mogosanu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma ile tekrar tartışılmış ve diğer biyomalzemeler ile karşılaştırmaları yapılmıştır [73]. Bugün tıp alanında çalışan bazı araştırmacılar ESM Technologies LLC, Carthage, MO şirketinin ticari ürünü olan Natural Eggshell Membrane (NEM®) kullanıyor. Ruff ve arkadaşları NEM'in potansiyelini bağ doku bozukluklarıyla ilişkili ağrı ve esnekliğin

tedavisi için olası yeni, etkili ve güvenli bir terapötik seçenek olarak araştırmışlardır [74]. 500 mg NEM® ile günlük takviyenin, hem hızlı (7 gün) hem de sürekli (30 gün) ağrıyı önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada, diz osteoartriti ile ilişkili ağrı ve sertlik için bir tedavi olarak NEM®'in etkinliğini ve güvenliğini değerlendiren bir klinik çalışma yürütülmüştür [75]. Söz konusu çalışmada da, sonuçlar tatmin edicidir, çünkü NEM® ile takviye edildikten sonra (günde bir kez 500 mg alınır), eklem ağrısının ve sertliğinin belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir. YKZ'nin pozitif etkisi, sinir rejenerasyonunun son sonucuyla ilgili bir çalışmada da gözlenmiştir [76]. YKZ'nin sinir rejenerasyonunu etkin bir şekilde arttırdığı ve yaralı sinirlerde fonksiyonel iyileşmeyi desteklediği sonucuna varılmıştır. Başka bir çalışmada asivlovirin oral biyoyararlanımını (the oral bioavailability of acyclovir) arttırmak amacıyla antiviral ilaç asiklovir ile yüklenen muko yapışkan mikro küreler hazırlanmıştır [77]. Söz konusu çalışmada hayvan mide mukozasının yerini almak üzere YKZ kullanılmıştır.

2.2.2.3. Yumurta Kabuğu Zarının Çözünmesi

YKZ'nin çözünmesi için öncelikle yumurta kabuğundan ayrılması işlemi gerçekleştirilmektedir. YKZ'nin yumurta kabuğundan ayrılması için yapılan araştırmalar sonucunda çok fazla yöntem belirlenmiştir ve belirlenmeye devam etmektedir. YKZ'nin yumurta kabuğundan ayrılması için en iyi bilinen yöntem manuel olarak el ile ayırma yöntemi olarak adlandırılmaktadır. YKZ bir çalışma için kullanılacaksa yumurta kabuğundan özenle ayrılması gerekmektedir. YKZ, dış zar, iç zar ve sınırlayıcı membran olmak üzere üç katmandan oluşmaktadır. İç zar ve sınırlayıcı membran mekanik olarak yumurta kabuğundan ayrılabilir. Ancak dış zar, yumurta kabuğuna kuvvetli bir şekilde gömülüdür. Bu nedenle dış zarın yumurta kabuğundan ayrılması için asidik muamele (örneğin seyreltik asetik asit (AA), hidroklorik asit (HCl) veya etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)) edilmesi gerekmektedir [78].

Asidik koşullarda ayrılma iki yolla gerçekleştirilebilir: (i) yumurta kabuğunun ana bileşeni olan kalsitin (CaCO_3) asit içinde çözünmesi veya (ii) yumurta kabuğu aside batırılarak yumurta kabuğunun kısmen çözülerek YKZ'nin ayrılmasının sağlanması. Dış zarın yumurta kabuğuna güçlü bir şekilde gömülü olmasına rağmen bazı çalışmalarda dış zarın yumurta kabuğundan basit yöntemlerle ayrılabilirdiği bildirilmiştir [79], [60], [80]. Yumurta kabuğundan YKZ'nin ayrılması için diğer bir yöntem ise çözünmüş hava

flotasyonu (DAF) yöntemidir [81]. Bu çalışmada bir DAF ayırma ünitesi kullanılarak, yumurta kabuğu içerisinde bulunan %96 YKZ ve %99 kalsiyum karbonatın yumurta kabuğundan 2 saat içinde ayrılması mümkün olmaktadır. Bir patent dokümanında verilen buluşta, yumurta kabuklarından ayrılmamış YKZ'lerin ayrılması için geliştirilen bir yöntemden bahsedilmektedir. Bu patent başvurusunda bahsi geçen yöntem, ayrılmamış yumurta kabuklarının bir sıvı karışım içeren bir sıvı tankına yerleştirilmesini, böylece sıvı karışımına kavitasyon uygulanmasını, böylece yumurta kabuğu zarlarının yumurta kabuklarından ayrılmasını içermekte ve YKZ'lerin tekrar kullanılmak üzere geri kazanılmasını sağlamaktadır. Bu yöntemde aynı anda birden fazla yumurta kabuğunun zarlarının ayrılması sağlanabilmektedir [82]. Yumurta kabuğundan YKZ'nin ayrılması işlemi sonrasında YKZ'den proteinin ayrıştırılması işlemi yapılarak yumurta kabuğu zarı proteini (YKZP) elde edilmiştir [83]. YKZ'den farklı olarak hücre kültüründe kullanılabilen YKZP'nin şekli ve boyutu kolayca değiştirilebilmektedir. YKZP, %10 AA ve heksafloroizopropanolde çözünmekte ve çözünme sonucu elektrospindleme gibi çözücü bazlı işleme teknikleriyle tercih edilen şekil ve boyutta oluşturulabilmektedir.

YKZ, protein bileşenlerinin karakterizasyonunu teknik olarak zorlaştıran, oldukça dirençli ve çözünmeyen bir yapıdır [84]. YKZ'nin zor çözünmesi temel olarak, çoklu disülfid bağlarını güçlendiren kollajen ve elastinde bulunanlara benzer şekilde lizin türevli desmosin ve izodesmosin çapraz bağları ile geri dönüşümsüz stabilizasyondan kaynaklanmaktadır [49]

Hincke ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada öncelikle farklı kaynaklardan farklı formlarda kuluçkalanmamış sofrada kullanılabilecek özellikte yumurtalardan YKZ elle manuel olarak yumurta kabuğundan ayrılmakta ve birinci YKZ kaynağı elde edilmiştir. Daha sonra Biovotec'e ait patentli bir işlem kullanılarak elde edilen birin YKZ'ler işleme tabi tutularak ikinci YKZ kaynağı elde edilmiştir. Belirtilen bir toz YKZ kaynağı, ayrıca yıkanıp, saflaştırılıp, kurutulup ve 100 µm altında parçacıklara öğütülerek gama ışınlarına maruz bırakılarak YKZ parçacıkları oluşturulmuştur. Hincke ve arkadaşları YKZ ve yumurta beyazı proteinleri bileşenleri hakkında veri tabanı oluşturmak için bu çalışmayı yapmışlardır. YKZ için 9 farklı stratejinin uygulanmasından tanımlanan proteinleri birleştirerek protein envanteri oluşturdular [85].

Çizelge 2.3. YKZ'nin protein bileşenlerini belirlemek için kullanılan farklı çözme stratejileri

Nu.	Çözünürlük/Çözme ajanı	Koşullar	YKZ formu	Kısaltma
1	H ₂ O (HCl öncesi ve sonrası çözünmesi)	Oda sıcaklığında 10 dakika	Tanecik	W (hafif)
2	HCl (0.1 ve 0.01 N) [86]	Oda sıcaklığında 10 dakika	El ile ayrılmış, tanecik	H (hafif)
3	NaCl (1 M) [87]	4 °C’de 1 saat	El ile ayrılmış	S (hafif)
4	Tris-HCl-DTT (10 mM DTT in 50 mM Tris HCl pH 8.5) [87]	Oda sıcaklığında 19 saat	El ile ayrılmış	T (orta)
5	Lithium dodecyl sulfate; LDS (73 mM)/dithiothreitol; DTT (50 mM) (NuPAGE sample buffer only).	70 °C ısı bloğu 30 dakika	Mikroiyonize toz	L (orta)
6	Kodali ve arkadaşları. 2011 [88]	6 mM DTT, 4 h/500 mM sodium iodoacetate, 30 dakika	El ile ayrılmış	K (orta)
7	Sodium hydroxide; NaOH (5% w/v) DMSO (+/-), and heating or microwaving.	4 saat, 50 °C sıcak plaka karıştırıcıda, 2.5 saat 50 °C mikrodalgada	Tanecik ve mikroiyonize toz	N (yoğun)
8	Tris(2-carboxyethyl) phosphine (TCEP) (100 mM in 0.17 M Acetic acid) [87]	72 saat 80 °C	El ile ayrılmış	P (yoğun)
9	3-Mercaptopropionic acid (3-MPA, 1.25 M, 0.17 M or 1.7 M acetic acid) [87]	18-45 saat 80/90°C, su banyosunda karıştırma	El ile ayrılmış, tanecik ve mikroiyonize toz	M (yoğun)

Hincke ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, YKZ’nin çözülerek YKZP elde edilmesi için öncelikle Çizelge 2.3’te verilen farklı çözme yöntemlerinden “1 numaralı” yöntem ön işlem olarak gerçekleştirilmektedir. Söz konusu çalışmanın bu aşamasında YKZ tanecikleri, 0.1 N HCl içerisine koyularak 10 dakika boyunca oda sıcaklığında manyetik

kariştırıcı üzerinde kariştırılmaktadır. YKZ tanecikleri, kariştırılmanın ardından 5 N NaOH kullanılarak pH 7.0'a n trleştirilmiştir. Yıkanan YKZ, filtre kağıdı yardımıyla süzülerek 1 gece filtre kağıdı ile birlikte kurutulmuştur. Bu çalışmada iki yıkama aşamasından sonra bir gece boyunca kurutma işlemi gerçekleştirildiğinde kurutulmuş YKZ taneciklerinin verimi %55 olarak gözlemlenmiştir. Aynı  alışmada Hincke ve arkadaşları yukarıda bahsedilen iki aşamalı yıkama işlemini, 3-MPA ve NaOH aracılı çözünürlük yöntemi için ön işlem olarak kullanmıştır [85]. Sah ve arkadaşlarının bir çalışmasında iç zar el ile ayrılabilmesine rağmen dış zarın yumurta kabuğundan ayrılabilmesi için sınırlayıcı zarın gevşetilmesini asidik (HCl, EDTA vb.) muamele ile sağlamışlardır [89].

Yi ve arkadaşlarının çalışmalarında   z n r YKZ'nin hazırlanması, karakterizasyonu ve biyouyumlulukları rapor edilmiştir. Söz konusu çalışmada yumurta kabuğundan el ile soyularak i  ve dış zarlarıyla birlikte YKZ elde edilmiştir. Elde edilen YKZ tozu bir kısmı (0.6 g), 3-merkaptopropiyonik asit (3-MPA) ve AA içerisinde çözündürülerek pH, 5.0 mol.L⁻¹ NaOH ile 5.0'a nötralize edilmiştir. Çalışmanın sonunda 63% verimle YKZP tozu elde edilmiştir [90].

Geçmişte yapılan çalışmalarda akrilik kemik çimentolarının biyoaktivliğinin ve biyobozunurluğunun düşük olması, CaP çimentolarının ise biyouyumluluğunu, biyo  z n rl ğ n  ve sertleşme reaksiyonunun hızını artırmak amacı ile CaS çimentolarının araştırılmaya başlanması açıkça görülmektedir. Bu bağlamda bu tez çalışmasında, diğer çimentolardan daha ulaşılabilir koşullarda elde edilebilen CaS  imentosu baz alınarak biyoaktivitesi ve basma mukavemeti yüksek, sertleşme süresi kısa olan farklı bir CaS  imento sistemi oluşturulması hedeflenmiştir. Aynı zamanda bu tez çalışmasında mekanik ve kimyasal özellikleri açısından birçok alanda kullanılmasına ve araştırılmasına rağmen medikal alanda kemik rejenerasyonunda yeteri kadar araştırılmadığı açık şekilde görülen YKZ'den YKZP elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu durumda oluşturulan CaS  imento sistemi ve elde edilen YKZP kullanılarak protein bakımından zengin, mekanik dayanımı yüksek, sertleşme süresi kısa, piyasada kolay ulaşılabilir olmasından dolayı düşük maliyetli, sert kemik dokusuna uyumlu ve hasarlı kemik dokusunun hızlı iyileşmesine yardımcı olacak yeni bir kemik  imento sistemi oluşturulması hedeflenmiştir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Yumurta Kabuğu Zarı Proteininin Elde Edilmesi

3.1.1. Yumurta Kabuğu ve Zarının Birbirinden Ayrılması

Bu tez çalışmasında ticari olarak satılan sarı kabuklu, büyük boy çiftlik tavuğunun yumurtası kullanılmıştır. Çalışmanın başında yumurta kabuğundan YKZP elde etmek üzere YKZ ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yumurta kabuğundan YKZ ayrılması işlem basamağında literatürde yer alan birçok yöntem arasından kolay ve hızlı olması sebebiyle manuel olarak el ile ayırma yöntemi tercih edilmiştir [87]. Yumurta kabuğundan YKZ ayırma işleminde öncelikle, çiğ şekilde kullanılmak üzere kırılan yumurta kabuğu ikiye ayrıldıktan sonra kabukların içerisindeki yumurta akı veya sarısı temizlenene kadar yıkanmıştır. Yumurta kabuğu ile birleşik halde bulunan YKZ, yumurta kabuğu yıkanıp yumurta akı ve yumurta sarısından arındırıldıktan sonra manuel olarak el ile yumurta kabuğundan soyularak ayrılmıştır. Ayrılan YKZ, kuruduğunda üzerine yapışmayacağı bir malzemeden imal edilen herhangi bir plaka veya tabak üzerinde oda sıcaklığında bekletilerek kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra standart bir yumurta kabuğundan çıkan YKZ kütlesi, yaklaşık 3 gram olarak ölçülmüştür. Yapılan deneylerde, örneklerin tartımı çalışmanın gerçekleştirildiği laboratuvarında bulunan elektronik hassas terazi (Kern & Sohn, ALJ 160-4M) kullanılarak yapılmıştır.

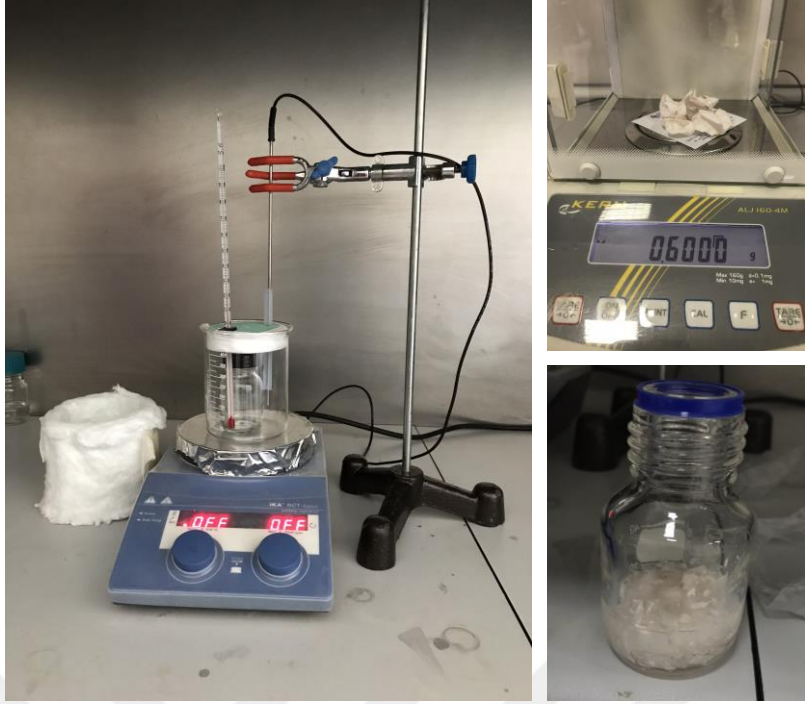


Şekil 3.1. Yumurta kabuğundan ayrıldıktan sonra kurutulan YKZ'nin görünüşü

3.1.2. Yumurta Kabuğu Zarından Protein Elde Edilmesi

Çalışmanın bu kısmında YKZ'nin çözünerek YKZP elde edilmesi işlemi için, 3-merkaptopropiyonik asit (3-MPA), asetik asit (AA), sodyum hidroksit (NaOH) ve metanol kullanılmıştır. YKZ'nin çözünerek YKZP elde edilmesi işlemi için kullanılan 3-merkaptopropiyonik asit (3-MPA) (Aldrich), asetik asit (AA), sodyum hidroksit (NaOH) ve metanol (Merck) temin edilmiştir.

Bu çalışmada yumurta kabuğundan ayrılan YKZ'den YKZP elde edilmesi için literatürde birçok yöntem olduğundan 2. Bölüm kapsamında bahsedilmiştir. Bu çalışmada YKZ'nin çözünerek YKZP elde edilmesi için kullanılması tercih edilen yöntemle ilgili olarak öncelikle iç ve dış zarları da dâhil olmak üzere 0.6 g kurutulmuş YKZ, başlangıç malzemesi olarak kullanılmıştır. 0.6 g YKZ, tercih edilen bir öğütme yöntemi kullanılarak öğütülmüştür. Öğütülen 0.6 g YKZ'nin çözünmesi için üzerine YKZ'yi çözmek üzere toplamda 20 ml olacak şekilde 1.25 mol/L sıvı 3-MPA ve hacimce %10 AA çözeltisi karıştırılarak eklenmiştir. Asetik asitin (AA) moleküler ağırlığı (60.05 g/mol) ve özkütlesinden (1.05 g/ml) yola çıkılarak yapılan gerekli hesaplamalar ile 350 ml stok hacimce %10 AA çözeltisi için 310.73 ml deiyonize suya 39.27 ml AA eklenmesi gerektiği bulunmuştur. Benzer şekilde 1.25 M 3-MPA karışımı hazırlanması için kullanılması gereken 3-MPA kütlesi hesaplanmıştır. 3-MPA'nın moleküler ağırlığı (106.14 g/mol) ve öz kütlesinden (1.218 g/ml) yola çıkılarak 1.25 M 3-MPA çözeltisi hazırlamak için gerekli olan 3-MPA'nın kütlesi ve hacmi hesaplanmıştır. Bu çalışmada temel olarak 120 ml AA ve 3-MPA karışımı elde edilmesi hedeflenmektedir. Bu çalışmada başlangıç olarak 120 ml AA ve 3-MPA stok karışımı hazırlanması hedeflenmiştir. 120 ml stok karışımı için yapılan hesaplamalara göre karışımı oluşturan AA ve MPA miktarları hesaplanarak YKZ çözünmesi için stok AA ve MPA çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan stok AA ve MPA çözeltisinden sırasıyla 17.82 ml ve 2.18 ml toplamda 20 ml alınarak öğütülmüş 0.6 g YKZ üzerine eklenmiştir. Öğütülen YKZ üzerine eklenen AA-MPA çözeltisi ile oluşturulan karışım reaktör üzerinde 80°C sıcaklıkta sırasıyla 20 saat, 12 saat ve 6 saat boyunca 240 rpm ile karıştırılmıştır. YKZ çözmek üzere hazırlanan karışımın ısıtılarak karıştırılmasını sağlayan reaktör deney düzeneği ve YKZ üzerine hazırlanan AA-MPA karışımının eklendiği hali Şekil 3.2'de gösterilmektedir.



Şekil 3.2. YKZ ve AA-MPA karışımının karıştırılması için hazırlanan reaktör deney düzeneği ve karışımın reaktöre koyulmadan önceki halinin görünüşü

Çalışmanın bu aşamasında verilen zaman aralığı sonrası reaktörden indirilen YKZ çözeltileri oda sıcaklığında soğutulmuştur. YKZ çözeltilerinin sıcaklığının oda sıcaklığına düşmesi sonrasında YKZ çözeltileri içerisinde YKZP'nin tam ayrılmasının gerçekleşmesi için çözeltiler Nanomative malzeme laboratuvarında bulunan Kubota Model 7780 High Speed Centrifuge marka santrifüj cihazı aracılığıyla santrifüje tabi tutulmuştur. Üç farklı zaman aralığında karıştırılan YKZ çözeltileri oda sıcaklığına geldikten sonra 4°C'de 15 dakika süreyle 4150xg ~ 5140 rpm'de santrifüje tabi tutulmuştur. Santrifüjden çıkarılan çözeltilerin içerisinde dibe çöken çökelti tabakası, sıvı çözeltilerden ayrılarak atılmıştır.

Çalışmanın sonraki aşamasında çöken tabaka atıldıktan sonra kalan sıvı çözeltinin nötralizasyonu gerçekleştirilmektedir. Nötralizasyon işlemi sodyum hidroksit (NaOH) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nötralizasyon işleminde 5.0 M NaOH kullanılmıştır. 5.0 M NaOH çözeltisi hazırlamak için gerekli olan NaOH ve deiyonize su miktarı hesaplanmıştır. NaOH'un moleküler ağırlığı (39.997 g/mol) ve öz kütlesi (2.13 g/ml) kullanılarak 150 ml 5.0 M NaOH çözeltisi hazırlamak için 29.998 g NaOH kullanılmıştır. YKZP çökeltisinin nötralizasyonu Nanomative malzeme laboratuvarında bulunan HANNA Instruments HI221-223 marka pHmetre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Nötralizasyon işleminde, YKZP sıvı çözeltisi aynı zamanda manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. YKZP çözeltisi manyetik karıştırıcıda karıştırılırken pHmetrenin ölçüm probu çözeltinin içerisine temas edecek şekilde yerleştirilmektedir. Daha sonra YKZP çözeltisi içerisine eser miktarda 5.0 M NaOH eklenerek pH değeri 5'e gelene kadar işlem tekrarlanmıştır. YKZP çözeltisinin pHmetre aracılığıyla pH'ı ölçüldükten sonra çökeltilerin pH değerinin 5'e gelecek şekilde nötralizasyon işlemi yapılmıştır. Nötralizasyon işlemi sonrasında YKZP sıvı çözeltisi beyaz yoğun bir kıvama gelmiştir. Nötralizasyon işlemi için oluşturulan ölçüm düzeneği Şekil 3.3'te gösterilmektedir.



Şekil 3.3. YKZP çözeltisinin nötralizasyonunu gerçekleştirmek üzere kullanılan pHmetre düzeneği

Nötralizasyon işlemi sonrasında elde edilen beyaz yoğun kıvamlı çözeltinin filtrasyon ve yıkama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Filtrasyon işlemi için Albet marka 602eh kodlu ve 120 mm çapında kalitatif filtre kâğıdı kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada kullanılan filtre kâğıdının boş iken ağırlığı ölçülmüş ve 1.0342 g olarak kaydedilmiştir. Filtrasyon işlemi sırasında çökeltiler, filtre kâğıdına dökülmüş ve filtrelenerek sıvı çözelti tamamen uzaklaştırılmıştır. Filtrasyon işlemi sonrası filtre kâğıdının, üzerinde bulunan YKZP tabakası ile birlikte ağırlığı ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Filtrasyon işlemi sonrası metanol veya EtOH ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada YKZP tabakasının metanol ile yıkanması tercih edilmiştir. Filtrelenme sonucu filtre kâğıdı üzerinde kalan YKZP tabakası filtre kâğıdından sıyrılarak ayrı bir deney kabı içerisine YKZP tabakası

aktarılmış ve tercih edilen miktarda (yaklaşık 30 ml) metanole tabi tutulmuştur. YKZP tabakası ve metanol karışımının tekrar filtrasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu işlem tercihen 3 kez devam ettirilmiştir.

Bu çalışmanın söz konusu YKZP elde edilmesi kısmının son aşamasında filtrasyon ve yıkama işlemleri sonrası elde edilen YKZP tabakasının 37°C sıcaklıkta fırında 1 gece bekletilerek kurutulması gerçekleştirilmiştir. Son yıkama aşaması sonrasında ve ara yıkama aşamalarında kullanılan filtre kâğıtları ve son aşama sonrasında üzerinde YKZP tabakası ile birlikte kurutulan filtre kağıdının ağırlık ölçümü gerçekleştirilmiştir. Kurutma işlemi sonrasında alınan filtre kâğıdı ağırlıkları ölçülerek YKZP elde edilme verimi yani çözülen YKZP miktarı tartışılmıştır.

3.2. Yumurta Kabuğu Zarı Proteininin Çözünürlük Çalışmaları

Bu tez çalışmasının bu kısmında bir önceki bölümde elde edilen YKZP tozunun bir kemik çimentosu sistemine en uygun şekilde yerleştirilmesi tartışılarak YKZP tozunun ele alınan kemik çimentosu sisteminde sertleşme çözeltisi içerisine eklenmesiyle çalışmaya devam edilmesine karar verilmiştir. Başlangıç olarak ilk çözünürlük denemesi (M00) için YKZP ve su konsantrasyonu 10 mg/ml olacak şekilde 0.2 g YKZP ile deiyonize su (18M Ω) 25°C’de 48 saat boyunca manyetik karıştırıcıda 200 rpm hızla karıştırılmış ve hazırlanan sertleşme çözeltisinin sertleşme tepkimesindeki davranışları incelenmiştir. Daha sonrasında yapılan ikinci çözünürlük (M01) çalışmasında Merck firmasından temin edilen CaCl₂ ile 0.05 M CaCl₂ sulu çözeltisi hazırlanmış ve 0,0010 g YKZP tozu ile 20 ml 0.05 M CaCl₂ (aq) konsantrasyonu 0.050 mg/ml olacak şekilde 25°C’de 48 saat boyunca manyetik karıştırıcıda 200 rpm hızla karıştırılmıştır. Çalışmanın devamında deiyonize su ve 0.05 M CaCl₂ (aq) çözücü malzeme olarak kullanılmış, YKZP’nin söz konusu çözücüler içerisinde yalnız ve farklı katkı maddeleri olduğu durumdaki çözünürlüğü incelenmiştir.

Bu çalışma sırasında karışımların tamamı 48 saat boyunca 200 rpm hızla manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Tipik bir deneyde 0.012 g YKZP ile 20 ml çözücünün karıştırılması ana solüsyon olarak belirlenmiştir. Devamında gerçekleştirilen çözünürlük deneylerinde aynı çözücü ve eklenen katkı maddesi için farklı konsantrasyon değerleri ana solüsyonun (0,012g/20ml) karıştırılırken seyreltilmesi ile elde edilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Manyetik karıştırıcıda 48 saat süreyle 200 rpm hızla karıştırılarak hazırlanan solüsyonlarda YKZP çözünürlük çalışmaları

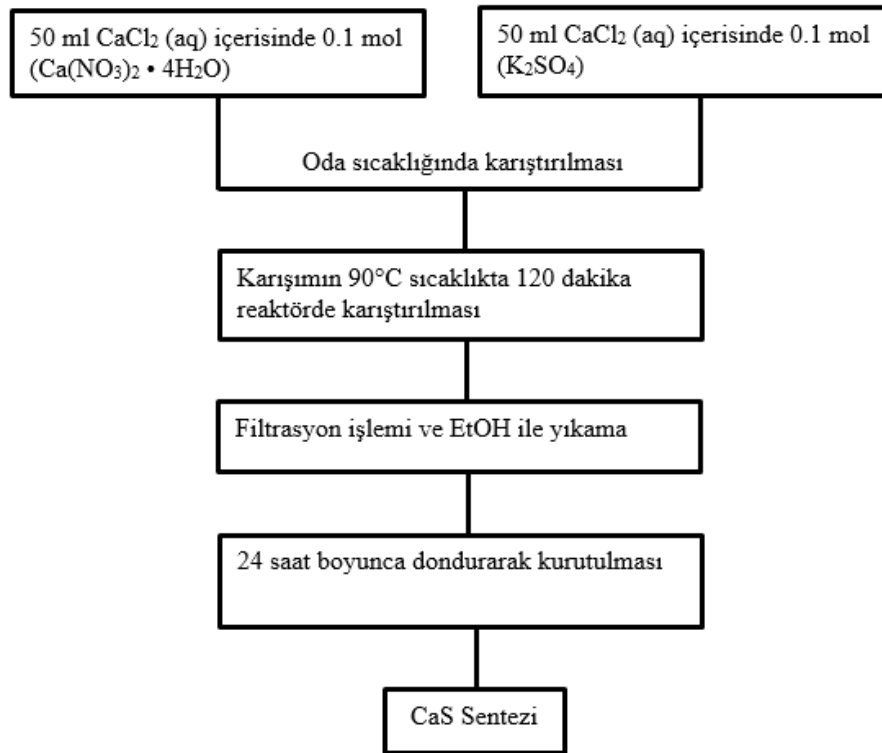
	Çözücü	Solüsyon	Konsantrasyon (mg/ml)	T(°C)
M1	Su	YKZP-Su	0.050	25
M2		YKZP-Su	0.600	37
M3		YKZP-Su	0.150	37
M4		YKZP-Su	0.075	37
M5		YKZP-Su	0.600	50
M6		YKZP-Su	0.150	50
M7		YKZP-Su	0.075	50
M8		YKZP-Su	0.600	25
M9		YKZP-Su	0.150	25
M10		YKZP-Su	0.075	25
M11		YKZP-IPA	0.600	25
M12		YKZP-IPA	0.150	25
M13		YKZP-Su-1ml EtOH	0.599	25
M14		YKZP-Su-1ml EtOH	0.148	25
M15		YKZP-2M Üre	0.600	25
M16		YKZP-2M Üre	0.150	25
M17	CaCl ₂ (aq)	YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)	0.600	25
M18		YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)	0.150	25
M19*		YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq) -F	0.150	25
M20**		YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)-2M Üre	0.599	25
M21*		YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)-2M Üre -F	0.148	25

*: (F): 0.22 µm'lik şırınga ucu filtresiyle filtrelenmiş

** : 0.05 M CaCl₂(aq) ve YKZP içeren solüsyona 2 ml 2 M üre eklenmiştir.

3.3. Kalsiyum Sülfat Hidrat Sentezlenmesi

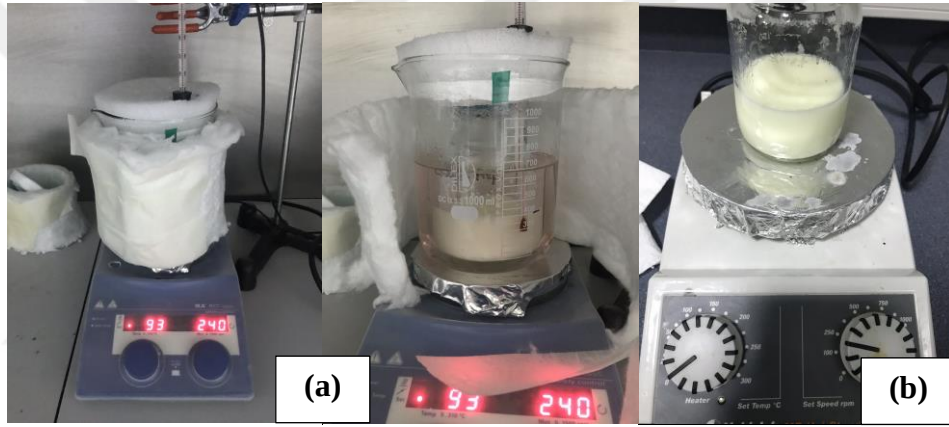
Çalışmanın bu kısmında CaS sentezlenmesi işlemi için kalsiyum klorür (CaCl_2), kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ve potasyum sülfat (K_2SO_4) tuzları kullanılmıştır. CaS sentezlenmesi işlemi için kullanılan kalsiyum klorür (CaCl_2) ve kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) Merck firmasından, potasyum sülfat (K_2SO_4) tuzu ise Aklar Kimya firmasından temin edilmiştir. Bu çalışmada CaS sentezlenmek üzere Yang ve arkadaşlarının çalışmasından yola çıkılmıştır. Yang ve arkadaşlarının çalışmasında CaCl_2 çözeltisi içerisinde CaS sentezlenmesi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın bu kısmında CaS sentezi Şekil 3.4'te yer alan diyagrama göre gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.4. CaS hidratları sentezinin akış diyagramı

Şekil 3.4'te yer alan CaS hidrat sentezleme yöntemine bağlı olarak bu çalışmada öncelikle kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ve potasyum sülfat (K_2SO_4) tuzlarının 3.5 M CaCl_2 sulu çözeltisi içerisinde çözünmesi işlemleri gerçekleştirilmektedir. Bunun için öncelikle oluşturulacak 110 ml'lik stok çözeltisinde 3.5 M CaCl_2 (aq) için gerekli olan CaCl_2 miktarı (42.73 g) belirlenmiştir. Sonrasında hazırlanan 3.5 M CaCl_2 (aq), 50 ml olacak şekilde iki ayrı deney kabına koyulmuştur. 50 ml'lik iki 3.5 M CaCl_2 (aq) iki ayrı manyetik karıştırıcıya alınarak içerisine 0.1 mol olacak

şekilde hazırlanan 23.61 g $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ve 17.43 g (K_2SO_4) tuzları eklenmiştir. 3.5 M CaCl_2 (aq) içerisine eklenen $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ve (K_2SO_4) tuzları çözelti içerisinde çözünene kadar oda sıcaklığında manyetik karıştırıcılarda 200 rpm hızla karıştırılmıştır. $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ve (K_2SO_4) tuzlarının 3.5 M CaCl_2 (aq) içerisinde çözündüğü gözlemlendikten sonra elde edilen iki çözelti öncelikle oda sıcaklığında aynı anda birbirleri ile homojen şekilde karıştırılmıştır. Birbirleri ile karıştırılan 3.5 M CaCl_2 (aq) içerisindeki $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ve (K_2SO_4) tuzları 90°C sıcaklıkta 2 saat karıştırılmıştır. 2 saatlik karışım sonucunda elde edilen CaS çözeltisi reaktörden indirilerek oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiştir. CaS çözeltisinin oda sıcaklığına gelmesi için manyetik karıştırıcı üzerinde 200 rpm hızla karıştırılmasına devam edilmiştir.



Şekil 3.5. (a) CaS çözeltisinin elde edilmesi için hazırlanan reaktör deney düzeneği ve (b) CaS çözeltisinin 2 saat boyunca 90°C sıcaklıkta karıştırılması sonucu oluşan karışım

CaS çözeltisinin oda sıcaklığına ulaşması sonrasında filtrasyon işlemine geçilmiştir. Karışım işlemi sonrasında elde edilen CaS çökeltisinin filtrasyon ve yıkama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Filtrasyon işlemi için Albet marka 602eh kodlu ve 120 mm çapında kalitatif filtre kağıdı kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada kullanılan filtre kağıdının boş iken ağırlığı ölçülmüş ve 1.0343 g olarak kaydedilmiştir. Filtrasyon işlemi sırasında çökelti, filtre kağıdına dökülmüş ve filtrelenerek sıvı çözelti tamamen uzaklaştırılmıştır. Filtrasyon işlemi sonrası filtre kağıdının, üzerinde bulunan CaS çökeltisinin filtre kağıdı ile birlikte ağırlığı ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Filtrasyon işlemi sonrası EtOH ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada filtrelenme sonucu filtre kağıdı üzerinde kalan CaS çökeltisi filtre kağıdından sıyrılarak ayrı bir deney kabı içerisine aktarılmış ve tercih edilen miktarda (yaklaşık 30 ml) EtOH'e tabi tutulmuştur. CaS çökeltisi ve EtOH

karişımının tekrar filtre kağıdına dökölmek üzere filtrasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler 3 kez devam ettirilmiştir. Bu çalışmada CaS çözeltilisinin filtrasyonu için kullanılan filtrasyon deney düzeneği Şekil 3.6’da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. CaS çözeltilisinin filtrasyonu için kullanılan filtrasyon düzeneği

Bu çalışmanın söz konusu CaS sentezlenmesi kısmının son aşamasında filtrasyon ve yıkama işlemleri sonrası elde edilen CaS çökeltisi -20°C sıcaklıkta bekleyecek şekilde soğutucu dolap içerisine koyulmuştur. CaS çökeltisi -20°C sıcaklıkta 1 gece bekletildikten sonra soğutarak kurutma işlemini gerçekleştirmek üzere HÜNİTEK (Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Laboratuvarı) bünyesinde bulunan Telstar marka LyQest modelindeki soğutarak kurutma cihazı kullanılmıştır. CaS çökeltisi, soğutarak kurutma cihazında 1 gece -80°C sıcaklıkta soğutularak kurutulmuştur. Aynı işlem adımları farklı zaman aralıklarında yukarıda bahsi geçen işlem adımları 3 kez tekrar edilerek 3 tane CaS çökeltisi elde edilmiştir. Bu 3 CaS çökeltisi şu şekilde adlandırılmıştır; birinci CaS çökeltisi (PPTN1), ikinci CaS çökeltisi (PPTN2) ve üçüncü CaS çökeltisi (PPTN3). Birinci CaS çökeltisi (PPTN1), ikinci CaS çökeltisi (PPTN2) ve üçüncü CaS çökeltisinin (PPTN3) filtrasyon ve yıkama işlem adımı sonrasında -20°C sıcaklıkta bekletilme süreleri ve hazırlanma koşulları ile ilgili ayrıntılar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 çökeltilerinin filtrasyon ve yıkama işlemleri sonrasında -20°C sıcaklıkta bekletilme süreleri ve hazırlanma koşulları

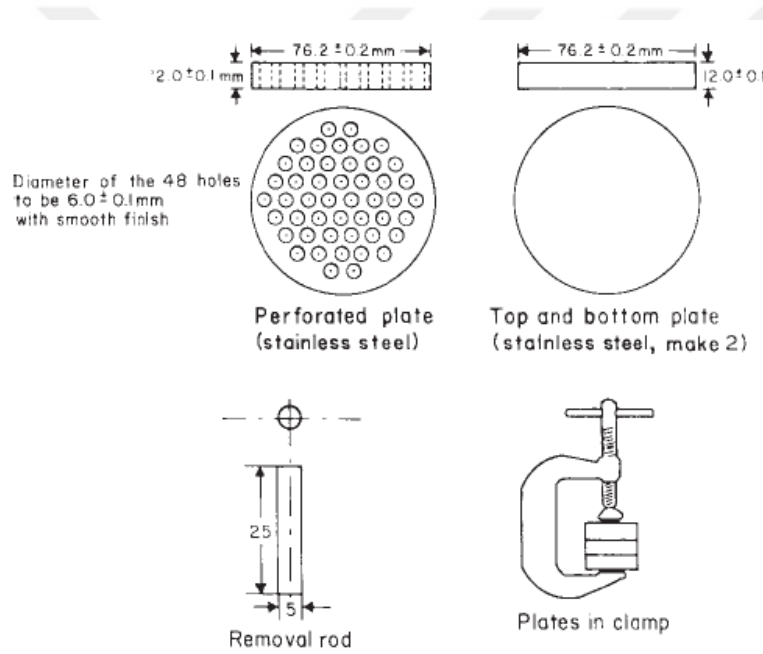
	-20°C'de bekletilme süresi (saat)	Koşullar
PPTN1	24	- K_2SO_4 ve $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ayrı şekilde $CaCl_2(aq)$'da çözündürüldükten sonra <u>oda sıcaklığında</u> birbirleriyle karıştırılmıştır. - K_2SO_4 tuzu $CaCl_2(aq)$ içerisine <u>büyük ölçekler</u> halinde koyulmuştur.
PPTN2	72	- K_2SO_4 ve $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ayrı şekilde $CaCl_2(aq)$'da çözündürüldükten sonra <u>oda sıcaklığında</u> birbirleriyle karıştırılmıştır. - K_2SO_4 tuzu $CaCl_2(aq)$ içerisine <u>küçük ölçekler</u> halinde koyulmuştur.
PPTN3	72	- K_2SO_4 ve $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ayrı şekilde $CaCl_2(aq)$'da çözündürüldükten sonra <u>90°C sıcaklıkta</u> birbirleriyle karıştırılmıştır. - K_2SO_4 tuzu $CaCl_2(aq)$ içerisine <u>küçük ölçekler</u> halinde koyulmuştur.

Birinci CaS çökeltisi (PPTN1), ikinci CaS çökeltisi (PPTN2) ve üçüncü CaS çökeltisinin (PPTN3) soğutularak kurutma aşaması sonrasında PPTN1 tozu, PPTN2 tozu ve PPTN3 tozu elde edilmiştir.

3.4. Kalsiyum sülfat tozları ile Sertleşme Tepkimesi

Tez çalışmasının bu aşamasında YKZP ile oluşturulan sertleşme çözeltileri ile 3.3 bölümünde elde edilen PPTN1 ve PPTN3 tozları kullanılmıştır. Sertleşme tepkimesi gerçekleştirmek için YKZP ile oluşturulan sertleşme çözeltileri sıvı faz, PPTN1 ve PPTN3 tozları ise katı faz olarak kullanılmıştır. PPTN1 ve PPTN2 tozları üzerine farklı oranlarda, farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) eklenmiştir. PPTN1 ve PPTN3 tozları üzerine farklı oranlarda, farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) eklenerek hazırlanan örneklerin sertleşme tepkimesi davranışları gözlemlenmiştir.

PPTN1-PPTN3 tozları ve farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) karıştırılarak elde edilen test numunelerinin sertleşme tepkimesi için gerekli sıvı faz-toz faz karıştırma oranları (T/S), “ASTM F-451 99a Standard Specification for Acrylic Bone Cement” standardı temel alınarak hazırlanmıştır. Bunun için başlangıçta 1 ml sıvı faz ve 0.8 g toz fazın karıştırılması ile test numuneleri hazırlanırken, çalışma süresince kullanılan sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) yapısal ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak sıvı fazın miktarında değişikliklere gidilmiştir. Bunun yanı sıra mekanik basma testinin uygulanmasında kullanılacak olan test kalıbı “ASTM F-451 99a Standard Specification for Acrylic Bone Cement” standardına uygun şekilde hazırlanmıştır. ASTM F-451 99a standardında basma dayanımı ölçme testi için gerekli test kalıp özellikleri Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. ASTM F-451 99a standardında yer alan basma dayanımı test kalıp ölçüleri

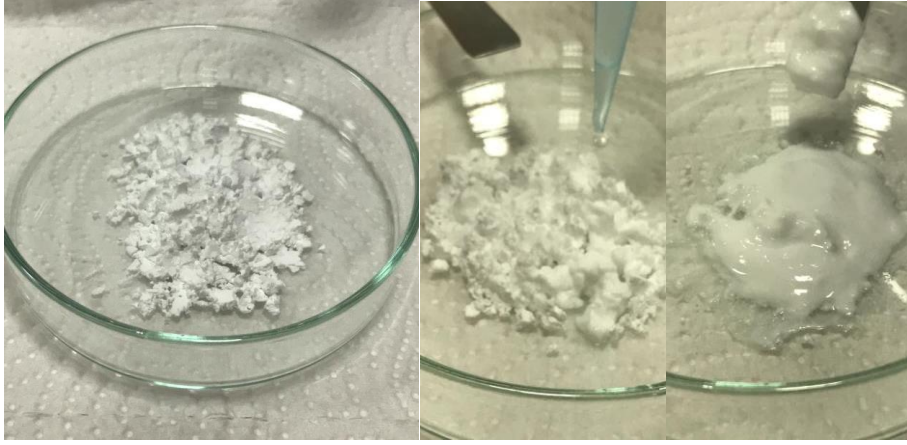
ASTM F-451 99a standardında yer alan kalıbın üretimi için kolay imal edilen ve sertleşme tepkimesine henüz girmeyen toz fazları ile karıştırılan sertleşme çözeltilerinin kalıp içerisine kolay şekilde yerleştirilmesi göz önünde bulundurarak teflon ve paslanmaz çelik malzemeden mekanik test kalıbı üretilmesine karar verilmiştir. Teflon kalıba yerleştirilen test numunelerinin kalıp içerisinden çıkarılması sırasında numune üzerinde kırılmalar ve pürüzler meydana gelmesinden dolayı test numunelerinin paslanmaz çelik test kalıbı ile yapılmasına karar verilmiştir. Teflon test kalıbı ile ilgili bilgiler EK3’te verilmiştir.

ASTM F-451 99a standardına göre imal edilen paslanmaz çelik test kalıbı Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



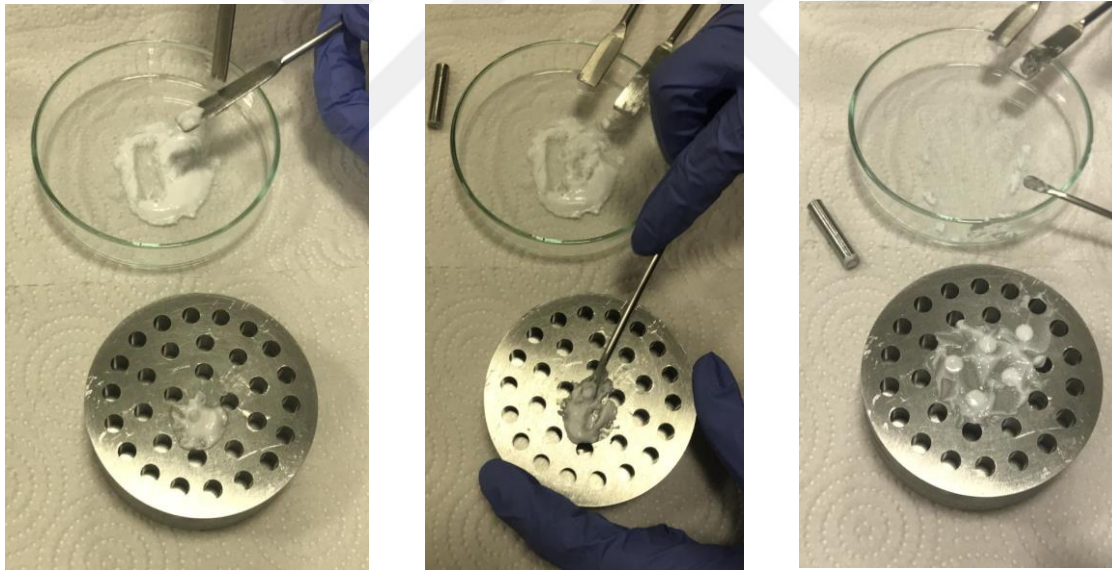
Şekil 3.8. ASTM F-451 99a standardına göre imal edilen paslanmaz çelik test kalıbı

ASTM F-451 99a standardına göre imal edilen test kalıbında 6 mm çapında 12 mm boyunda silindirik geometrik formda numune gözleri (NG) açılmıştır. Standartta göre mekanik basma testi için en az 5 test numunesi gerekmektedir. Bu nedenle her farklı CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltileri (M1-M21*) içeren numuneler için 5 NG içerisine sığacak şekilde kürleşme karışımı hazırlanmıştır. Test kalıbındaki NG’lerinin doldurulması için birçok uygulama süreci içerisinde bir tanesinde karar kırılmıştır. Bu süreçler; (i) her bir NG için ayrı ayrı miktarlarda CaS tozu (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilisi (M1-M21*) birbirlerinden bağımsız şekilde karıştırılması ve (ii) bir mekanik testi için gerekli olan en az 5 numune elde etmek için 5 NG’nin doldurulması için gerekli olan miktarda CaS tozu (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilisinin (M1-M21*) aynı anda karıştırılmasıdır. Çalışmanın bu aşamasında 5 numune elde etmek için 5 NG’nin doldurulması için gerekli olan miktarda CaS tozu (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilisinin (M1-M21*) aynı anda karıştırılmıştır. CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltileri (M1-M21*) karıştırıldıktan sonra test kalıbına yerleştirilmektedir. CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) birbirleriyle karıştırılma süreci Şekil 3.9’da gösterilmektedir.



Şekil 3.9. CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) birbirleriyle karıştırılma süreci

CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) birbirleriyle karıştırılmasından sonra kalıp içerisindeki NG'lerin içerisine doldurulma aşamaları Şekil 3.10'da gösterilmektedir.



Şekil 3.10. CaS tozları (PPTN1,PPTN3) ve sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) birbirleriyle karıştırılmasından sonra kalıp içerisindeki NG'lerin içerisine doldurulma aşamaları

Çalışmanın bu aşamasında CaS tozları (PPTN1,PPTN3) üzerine Şekil 3.10'da gösterilen test kalıbının bir gözüne yerleştirilecek şekilde ve ASTM F-451 99a standardına bağlı olarak sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) miktarı belirlenmiştir. Belirlenen miktarda karıştırılan toz ve sıvı fazlar delikli test kalıbına yerleştirildikten sonra alt ve üst destek

kalıpları ile alt yüzeyinden ve üst yüzeyinden kapatılmıştır. Alt ve üst yüzeyine kapatılan alt ve üst destek kalıpları ile birlikte delikli kalıp bir arada bir mengenenin ağzına sıkıştırılarak yerleştirilmiştir. Söz konusu farklı CaS toz ve sıvı sertleşme çözeltilerinin (M1-M21*) olduğu faz çeşitleri karıştırılarak hazırlanan numunelerin T/S oranı ve mekanik test kalıbı içerisindeki bekleme süreleri Çizelge 3.3’de gösterilmiştir.

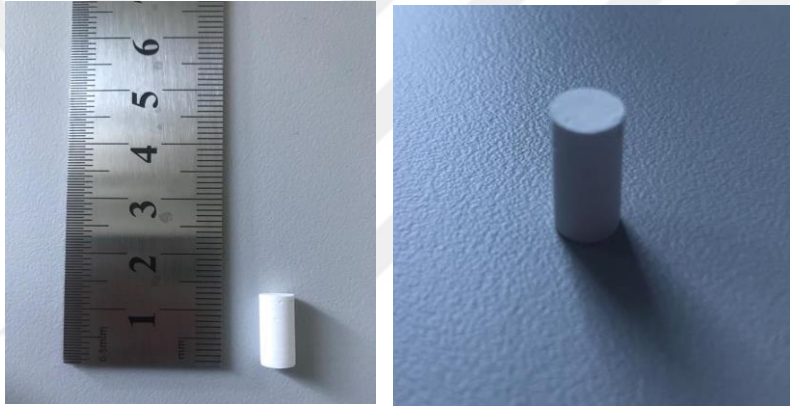
Çizelge 3.3. Farklı toz ve sıvı faz çeşitleri karıştırılarak hazırlanan numuneler için T/S oranı ve mekanik test kalıbı içerisindeki bekleme sürelerinin gösterimi

Karışım	Toz Fazı	Sıvı Fazı	T/S Oranı (ml/g)	Bekleme Süresi (saat)
S1	pptn1	Su	0.8	48
S2	pptn1	M9	0.8	48
S3	pptn1	M18	0.8	48
S4	pptn3	Su	0.8	72
S5	pptn3	0.05 M CaCl ₂ (aq)	1	72
S6	pptn3	M9	0.8	72
S7	pptn3	M12	1	72
S8	pptn3	M14	1	72
S9	pptn3	M16	1	72
S10	pptn3	M18	1	72
S11	pptn3	M19*	1	72
S12	pptn3	M20	1	72
S13	pptn3	M21*	0.8	72

Mekanik test kalıbı içerisine yerleştirilen karışım numunelerinin Çizelge 3.3’de verilen bekleme süreleri sonrasında numunelerin belirlenen birkaçı mekanik basma dayanım testine tabi tutulmuştur.

3.5. Test Numuneleri Üzerinde Yapılan Mekanik Testler

Çalışmanın bu aşamasında PPTN1-PPTN3 tozları ile farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) karıştırılarak elde edilen test numunelerinin sertleşme tepkimesi sonrası elde edilen test numuneleri ile basma dayanım ölçümü gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada elde ettiğimiz test numunelerimizin basma dayanım testi için Hacettepe Üniversitesi Makine Mühendisliği bölümü bünyesindeki Mekanik ve Mikroyapı Mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan C5 tipi UTEST mekanik dayanım test cihazı ve bu cihaza bağlanan 2080385 C-5-A kodlu sensör kullanılmıştır. Daha önce belirtildiği gibi PPTN1-PPTN3 tozları ile farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) karıştırılarak test edilmesi tercih edilen her farklı numune için 5'er adet 6 mm çapa ve 12 mm uzunluğa sahip silindirik formlu test numuneleri hazırlanmış ve ölçüm kafasına yerleştirilmiştir.



Şekil 3.11 . Mekanik test kalıbında NG'lerden çıkarılan bir test numunesi



Şekil 3.12. Mekanik basma dayanımı test numunelerinin yerleştirildiği test kafaları ve test numunesinin yerleştirilmesi

3.6. Test Numuneleri Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

3.6.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Analiz

Bu çalışma boyunca elde edilen YKZP tozu, elde edilen CaS tozları (PPTN1,PPTN2,PPTN3) ve PPTN1-PPTN3 tozları ile farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) karıştırılmasıyla elde edilen test numunelerinin boyut ve morfolojilerinin analizinde ve basma dayanım testi sonrası kırılma yüzeylerindeki yapısal değişikliklerin incelenmesinde, Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Laboratuvarı (UNAM) altyapısındaki SEM (FEI Quanta 200F) cihazı kullanılmıştır. Çalışmalar sonunda elde edilen YKZP tozu ve CaS tozları (PPTN1,PPTN2,PPTN3), işlemler bittikten sonra SEM cihazında kullanılan alüminyum altlıkların üzerlerine karbon bant yapıştırıldıktan sonra karbon bant üzerine yerleştirilmiş ve üzerleri 10 nm boyutta altın kaplanarak SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Son olarak mekanik test sonrası ve mekanik test kalıbından çıkarılırken kırılan test numune parçalarının kırılma ara yüzlerinin analizi için ayrılmış parçaların kırılan yüzeylerinin bulunduğu kısımdan küçük bir miktar kesilerek alüminyum altlıkların üzerine yapıştırılan karbon bantın üzerine yerleştirilmiştir. Söz konusu kesilen parçacıkların ebatlarının büyük olması ve topraklanmaması ihtimaline karşılık karbon bant ile üzerlerinden geçme yöntemi uygulanmıştır.

3.6.2. X-Işını Kırınım Cihazı (XRD) ile Analiz

Bu çalışma boyunca elde edilen CaS tozları (PPTN1,PPTN2,PPTN3) ve PPTN1-PPTN3 tozları ile farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) karıştırılmasıyla elde edilen test numunelerinin yapılarının özelliklerinin incelenmesi ve karşılaştırılmaları için Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Laboratuvarı (UNAM) bünyesindeki “X-Ray Diffractometer for Powder (XRD- MPD)” (PANalytical X’Pert PRO MPD, 45kV – 40 mA, Cu kaynak) cihazı kullanılmıştır. Bu analizde veriler 10 - 70° aralığında alınmıştır.

Elde edilen PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 CaS tozlarının CaS fazlarının tespit edilmesi ve yapısal analizi (CSD, CSH vb.), PPTN1-PPTN3 tozları ile farklı sertleşme çözeltileri (M1-M21*) karıştırılmasıyla elde edilen test numunelerinde yer alan yapıların analizi ve incelenmesi XRD sonrası elde edilen veriler ile birlikte incelenmiş ve literatürde verilen bilgiler ile karşılaştırılmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Kalsiyum Sülfat Hidrat Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

Bu çalışmanın CaS sentezi kısmında $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ve (K_2SO_4) tuzlarının 3.5 M CaCl_2 (aq) içerisinde çözündürülmesi, karıştırılması ve çöktürülmesi ile CaS tozu üretilmiştir. Farklı zaman aralıklarında yapılan sentez çalışmaları sonucu PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozları elde edilmiştir.



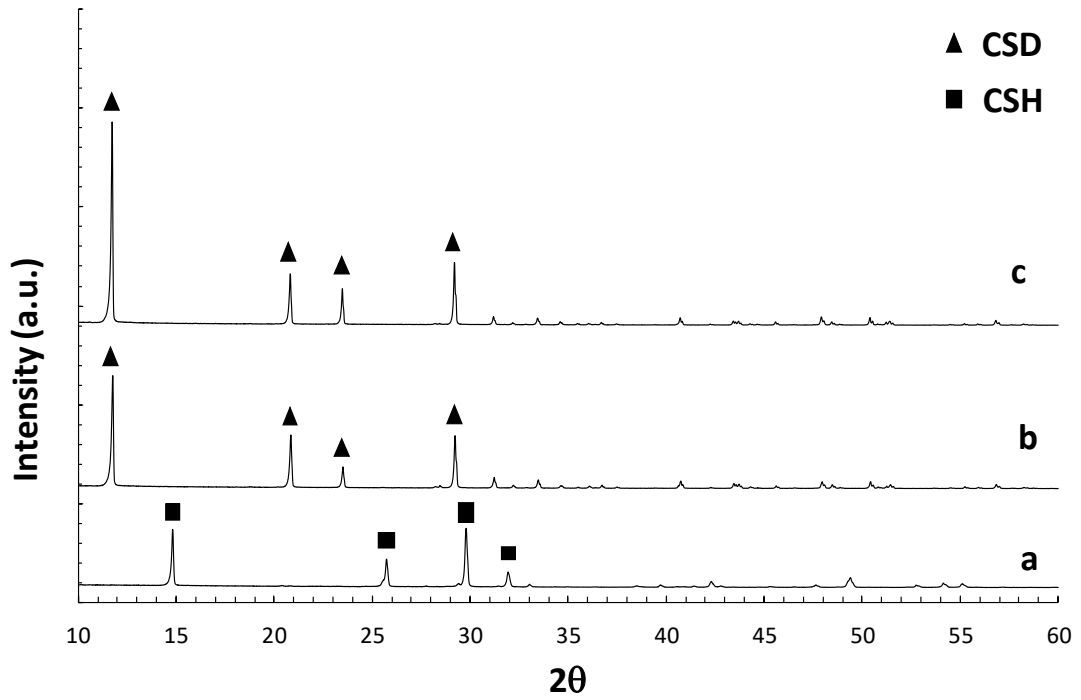
Şekil 4.1. CaS çökeltisinin filtrasyon sonrası filtre kâğıdı üzerindeki hali

CaS çökeltisi filtrasyon sonrasında 3 kez 30 ml EtOH ile yıkanmış ve tekrar filtrasyon yapılmıştır. EtOH ile yıkama sonrası CaS tozu Şekil 4.2'deki gibi görülmüştür.



Şekil 4.2. CaS çökeltisinin EtOH ile yıkama işlemi sırasında görünüşü

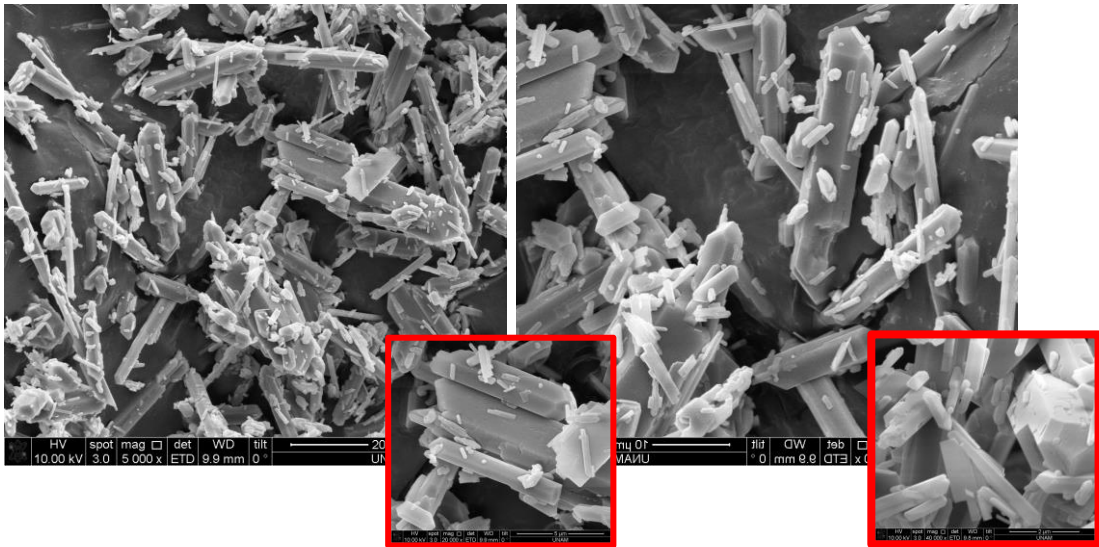
PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının sentezleme çalışması sırasındaki davranışı değerlendirilmek istenirse, PPTN1 tozu sentezi sırasında filtrasyon aşaması sonrasında beyaz renkli bir çökelti oluşmuşken, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının sentezi sırasında filtrasyon aşaması sonrasında sarı renkli bir çökelti oluşmuştur. PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 çökeltilerinin kurutulması sonrası PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozları elde edilmiştir. Söz konusu PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının kalsiyum sülfatın hangi faz aralığında yer aldığını tespit etmek üzere XRD ile karakterizasyonu yapılmıştır. PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının X-Işını kırınım deneyi sonrası alınan XRD verileri Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Elde edilen XRD verileri ile 2. Bölümde verilen CaS fazları ile ilgili verilen bilgiler, Şekil 2.1’de verilen CSD için XRD verileri ve literatürde yer alan kalsiyum sülfat fazları ile ilgili XRD verilerinin yer aldığı çalışmalar karşılaştırılmıştır.



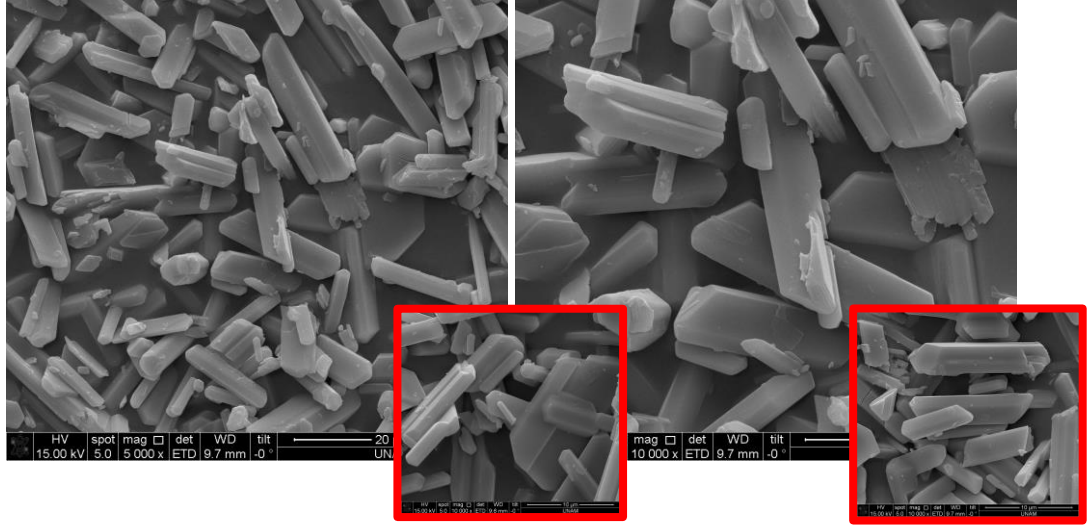
Şekil 4.3. Sentezlenen kalsiyum sülfat (CS) toz örneklerinin (a - c) referans CSD ve CSH verilerine göre karşılaştırmalı XRD desenleri: (a) PPTN1; (b) PPTN2; (c) PPTN3

Bu çalışmada Şekil 4.3’de verilen XRD verilerine göre Bölüm 3.3’te anlatılan şekilde yapılan CaS fazları sentezi deneyleri sonucunda elde edilen PPTN1 tozu içeriğinde literatürde yer alan sentezlenmiş CSD ve CSH fazları ile değerlendirildiğinde tamamen kalsiyum sülfat hemihidrat (CSH) fazı pikleri görülmüştür. PPTN2 ve PPTN3 tozlarında

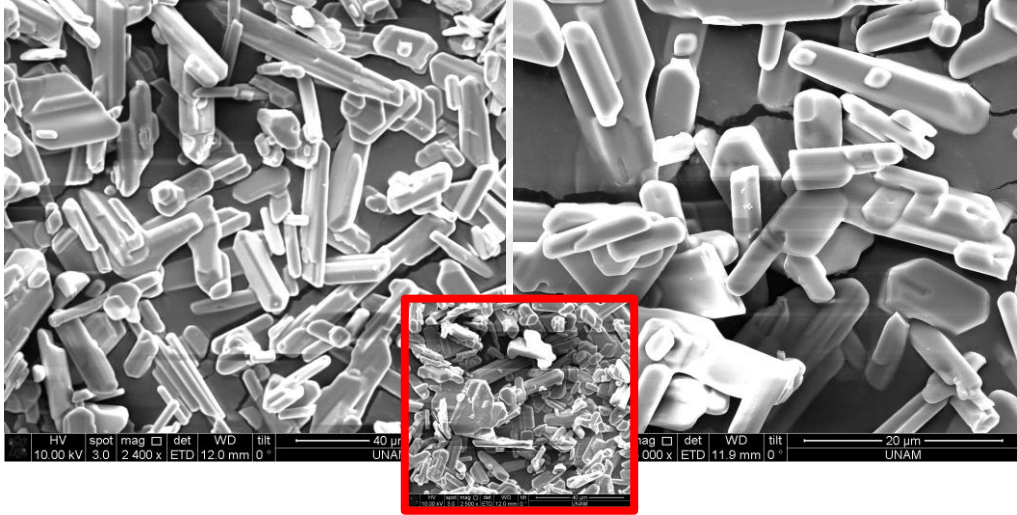
ise kalsiyum sülfat dihidrat (CSD) fazı pikleri görülmüştür. Bununla beraber PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozları aynı deney yöntemi uygulanarak elde edilmiş ancak farklı CaS fazlarına ulaşılmıştır. Bölüm 3.3'te söz konusu uygulanan CaS sentezleme yönteminin uygulanma aşamaları göz önünde bulundurulduğunda Çizelge 3.2'de yer alan PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının elde edilme yöntemi sırasındaki koşulları arasında bazı farklılıklar fark edilmiştir. Bu farklılıklar; (i) PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 çözeltilerinin hazırlanma aşamasında karışım hazırlanırken karışımı oluşturan tuzların eklenme biçimi ve (ii) PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 çökeltilerinin kurutulmadan önce soğutucu dolap içerisinde bekletilme süreleri olarak düşünülmektedir. Bu çalışmanın bu kısmında sonuç olarak literatürde yer alan CSD ve CSH verileri ile PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozları karşılaştırıldığında 2 farklı CaS fazı, CSD ve CSH olmak üzere, sentezlenmiş olduğu görülebilmektedir. Ancak PPTN1 tozunun yapısında görülen CSH fazının α -CSH, veya β -CSH faz formunda olmasıyla ilgili ayrıntılı bilgi XRD grafiğinden elde edilememiştir. Bundan dolayı çalışmanın ilerletilmesinin tercih edildiği durumda PPTN1 tozlarının CSH fazının α -CSH, veya β -CSH formunda olduğuna dair bilgi Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) aracılığıyla veya ayrıntılı XRD grafik desen analizi ile edinilebilir. Farklı fazlarda oldukları XRD analizleri ile tespit edilen PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının SEM görüntüleri, literatürde yer alan çalışmalarda verilen CSD ve CSH fazlarının SEM görüntüleri referans alınarak karşılaştırılmış ve değerlendirilmiştir. PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının SEM görüntüleri Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.4. PPTN1 tozunun SEM görüntüleri



Şekil 4.5. PPTN2 tozunun SEM görüntüleri



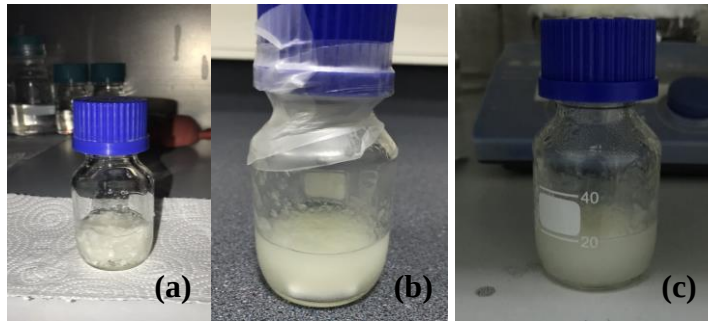
Şekil 4.6. PPTN3 tozunun SEM görüntüleri

PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının sırasıyla SEM görüntüleri incelendiğinde, öncelikle XRD sonuçları göz önüne bulundurularak PPTN1 tozunun içerisinde CSH fazının, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının içerisinde ise CSD fazının varlığının bulunduğu görülmektedir. PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının sırasıyla SEM görüntüleri incelenirken, öncelikle Chen ve arkadaşlarının çalışmasında yer alan CaS sentezi sonrası elde edilen CSD ve CSH fazları referans olarak kabul edilmiştir. Bu durumda Şekil 4.4'te PPTN1 tozunda büyük altıgen parçacıkların üzerinde daha küçük parçacıklar görülmüş, Chen ve arkadaşlarının çalışmasında elde ettikleri CSH ile CSD fazlarının SEM görüntüleri ile karşılaştırıldığında CSH fazı ile kısmen eşleştiği düşünülmüştür.

Literatürde yer alan çalışmalarda verilen CaS sentezlenmesi sonucu elde edilen CSH fazlarının farklı formlarının SEM görüntüleri bu tez çalışmasında referans alınarak karşılaştırıldığında α -CSH, β -CSH ayrı şekilde veya α -CSH, β -CSH bir arada olduğu CSH fazına benzer olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda SEM görüntüleri ile edinilen bulgular XRD grafikleri aracılığıyla yapılan analizler ile uyum göstermektedir. Bu tez çalışmasının bundan sonraki aşamalarında PPTN2 ve PPTN3 aynı yapısal ve morfolojik özellikler göstermesinden dolayı PPTN1 ve PPTN3 ile çalışılmıştır.

4.2. YKZP Elde Edilmesi ve Karakterizasyonu

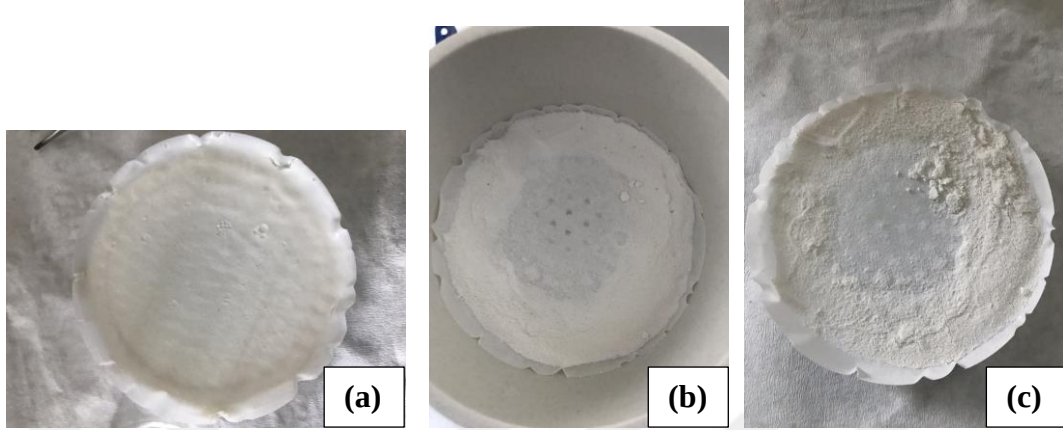
Bu tez çalışmasının bu aşamasında YKZP elde edilmesi için 3-MPA ile protein çözme işleminin gerçekleştirildiği yöntem uygulanmıştır. Sırasıyla 6 saat, 12 saat ve 20 saat süreyle 80°C’de karıştırılan YKZ/AA-MPA karışımlarının reaktörden indirildikten sonraki halleri Şekil 4.7’de gösterilmiştir. 6 saat 80°C’de karıştırılan YKZ/AA-MPA karışımında YKZ parçacıklarının tam olarak çözünmediği ve AA-MPA çözeltisi içerisinde yüzer şekilde oldukları görülmüştür. 12 saat 80°C’de karıştırılan YKZ/AA-MPA karışımında YKZ’nin kısmen çözünerek beyaz renkte macun kıvamında bir karışım elde edilmiştir. Son olarak 20 saat 80°C’de karıştırılan YKZ/AA-MPA karışımında ise YKZ parçacıklarının tamamen çözünerek homojen şekilde AA-MPA çözeltisi içerisinde dağıldığı görülmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. 80°C’de karıştırılan YKZ/AA-MPA karışımının farklı zaman aralığında karıştırılması sonucu görüntüsü (a) 6 saat, (b) 12 saat ve (c) 20 saat.

20 saat 80°C’de karıştırılan YKZ/AA-MPA karışımında YKZ parçacıklarının tamamen çözünerek homojen şekilde oluşan YKZ çözeltisinde YKZP’nin çöktürülmesi işlemi için yapılan santrifüj aşaması sonrasında çözeltinin dibinde oluşan çökelti atılarak sıvı çözelti

şişe içerisinden alınmıştır. Sıvı YKZP çözeltisinin nötralizasyon, filtrasyon ve yıkama işlemi aşamaları sonrasında filtre kağıdı üzerindeki görünüşü Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. YKZP çöktisinin filtrasyon ve yıkama işlemleri sonrasında filtre kağıdı üzerindeki görünüşü; (a) filtrasyon aşaması ve 1. yıkama (b) 2.yıkama sonrası ve (c) 3. yıkama sonrası

Çalışma sırasında kullanılan filtre kâğıtlarının deney öncesi ağırlıkları ölçülmüştür. 4 filtre kâğıdı kullanılarak yapılan filtrasyon, yıkama ve kurutma işlemi sonrasında elde edilen YKZP tozunun ağırlıkları olarak ölçülmüştür. Filtrasyon işleminde kullanılan filtre kağıtlarının deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Filtrasyon, yıkama ve kurutma işlemlerinde kullanılan filtre kağıtlarının deney öncesi ve deney sonrası YKZP ile birlikte ölçülen ağırlıkları

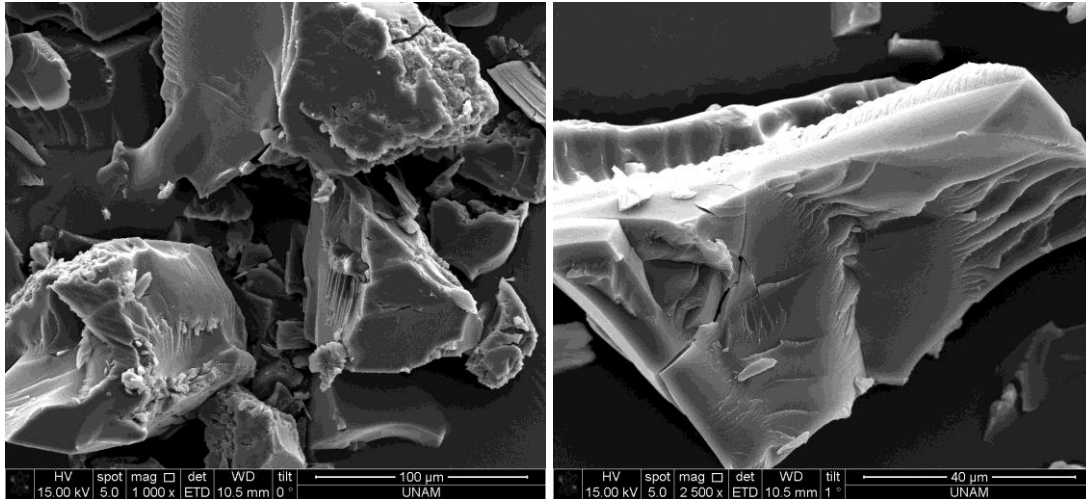
	Filtre Kağıdının Ağırlığı (g)	Ağırlık (g) (Filtrasyon sonrası)	YKZP Ağırlığı (g)
1	1.045	2.5884	1.5432
2	1.041	1.3341	0.2931
3	1.043	1.0767	0.0337
4	1.041	1.0482	0.0072

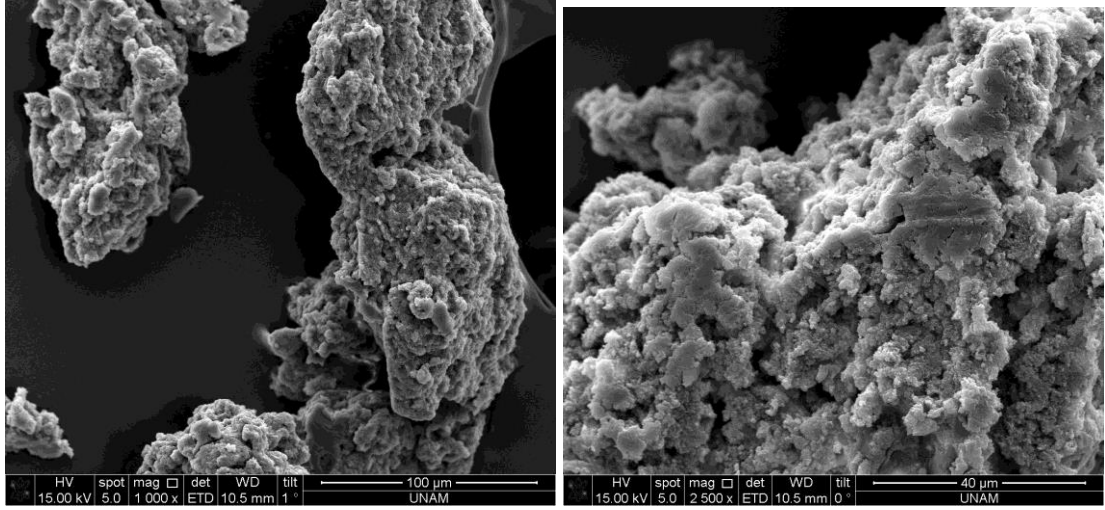
Çizelge 4.2. YKZP elde edilmesi deneyinde elde edilen YKZP miktarı için verim hesaplaması

YKZP çözme deneyi öncesi kullanılan YKZ ağırlığı (g)	3.0000
YKZP çözme deneyi sonrası elde edilen YKZP ağırlığı (g)	1.8772
YKZP çözme verimi (%)	62.5733

Bu tez çalışmasında uygulanan yöntemler ışığında YKZP tozu elde edilmiş aynı zamanda YKZ'den YKZP çözme verimi, yani elde edilen YKZP miktarı % 62.57 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak elde edilen bu YKZP çözme verimi, literatürde yer alan çalışma sonucunda elde ettikleri % 63 verim oranı ile örtüşmektedir.

Bu çalışmada elde edilen YKZP tozunun morfolojisi incelenmek ve çalışmanın sonraki aşamasında CaS fazlarının protein eşliğinde sertleşme tepkimelerine girmelerinin yapısal ve morfolojik davranışları tespit edilmek amacı ile SEM görüntüleri alınmıştır. Bu çalışmada elde edilen YKZP tozunun SEM görüntüleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

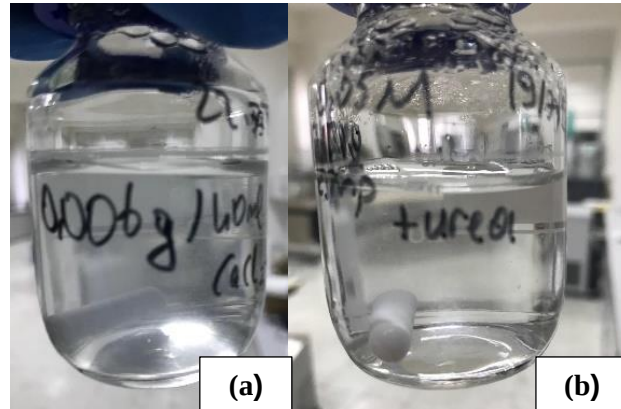




Şekil 4.9. Elde edilen YKZP tozunda farklı bölgelerden alınan SEM görüntüleri

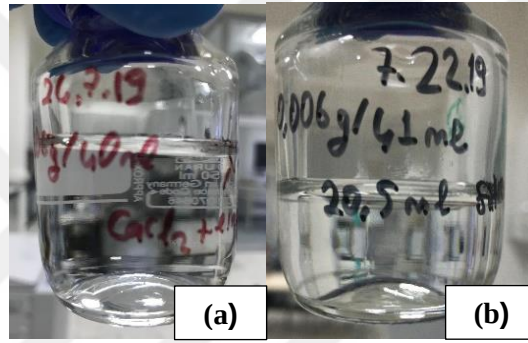
4.3. YKZP Çözünürlük Çalışmaları

YKZP ile birlikte farklı çözücü ve katkı maddelerinin kullanıldığı çözünürlük çalışmalarına dair ayrıntılı bilgiler EK1’de gösterilmiştir. Bu çalışmanın söz konusu çözünürlük kısmında yapılan deneyler sonucunda temel olarak en iyi çözünme sonuçlarına M9 (YKZP-Su), M14 (YKZP-Su-1ml EtOH), M16 (YKZP-2M Üre), M18 (YKZP-0.05 M $\text{CaCl}_2(\text{aq})$), M19 (YKZP-0.05 M $\text{CaCl}_2(\text{aq})$ –F), M20 (YKZP-0.05 M $\text{CaCl}_2(\text{aq})$ -2M Üre) ve M21 (YKZP-0.05 M $\text{CaCl}_2(\text{aq})$ -2M Üre –F) olarak incelenmiştir. M9, M14, M16, M18 ve M20 çözeltilerinde homojen şekilde dağılmış YKZP parçacıkları görülmüştür. Bunun üzerine M9, M14, M16, M18 ve M20 çözeltilerindeki YKZP’nin çözünme için doyuma ulaştığı tespit edilmiştir. M18 ve M20 çözeltilerinde ise YKZP’nin diğer çözeltilere kıyaslanarak çok daha iyi çözündüğü gözlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. M18 ve M20 sertleşme çözeltileri içerisindeki YKZP çözünürlüğü

M18 ve M20 sertleşme çözeltilerinde doyuma ulaştıktan sonra çözünmeyen YKZP parçacıkları için filtreleme işlemi gerçekleştirilmektedir. Çözünürlük çalışmaları sırasında çalışılan M19* ve M21* sertleşme çözeltilerinde filtreleme işlemi gerçekleşmiştir. M19* ve M21* sertleşme çözeltileri, M18 ve M20 sertleşme çözeltilerinin filtrelenmiş halidir. M18 ve M20 çözeltilerinde YKZP'nin tam anlamıyla çözünmesi gözlemlenmemiştir. Ancak diğer çözeltiler (M1-M17) ile değerlendirildiğinde daha yüksek oranda bir YKZP çözünürlüğü gözlemlendiği açık şekilde ifade edilebilmektedir. Bu durumda M18 ve M20 çözeltilerinde yüzer şekilde olan ve çözünmediği farz edilen küçük YKZP parçacıklarının CaS toz fazları ile karıştırıldıkları durumda oluşan karışımın davranışı ve yapısı incelenmiştir. Bu nedenle M18 ve M20 çözeltilerinin filtrelenmiş halleri M19* ve M21* arasında karşılaştırmalar yapılmıştır.



Şekil 4.11. M19 ve M21 sertleşme çözeltilerinin filtrasyon sonrası görünüşü

M18 ve M20 sertleşme çözeltilerindeki çözünmemiş YKZP miktarının tespit edilmesi için M19* ve M21* çözeltilerine 0.22 μm 'lik şırınga ucu filtresiyle filtreleme işlemi uygulanmıştır. M19* ve M21* çözeltilerine şırınga filtrasyonu öncesi ve sonrasında filtrenin ağırlığı ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. M19* ve M21* sertleşme çözeltilerinde çözünmemiş YKZP tespit edilmesi

Boş filtre ağırlığı (g)	3.2996	Çözünmemiş Parçacık Ağırlığı (g)
M19* filtrelenmiş Filtre ağırlığı (g)	3.4646	0.165
M21* filtrelenmiş Filtre ağırlığı (g)	3.3161	0.0165

M19 ve M21 sertleşme çözeltileri hazırlanırken 0.006 g YKZP eklenmiştir. Karışım sonrası yapılan filtrasyonda Çizelge 4.3'te M19'da 0.165 g, M21'de ise 0.0165 g çözünmemiş parçacığın filtrelendiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre M19 çözeltisi içeriğindeki $\text{CaCl}_2(\text{aq})$ içerisindeki Ca^+ iyonlarının YKZP tozundaki proteinlerin moleküllerini açarak bu moleküllere bağlandığını ve moleküllerin bir kısmının da çözelti içerisine çökmesine neden olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle çözelti içerisine eklenen YKZP miktarından daha fazla çözünmemiş parçacık bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde M20 çözeltisi içeriğindeki $\text{CaCl}_2(\text{aq})$ içerisindeki Ca^+ iyonlarının YKZP tozundaki proteinlerin moleküllerini açarak bu moleküllere bağlandığını ancak eklenen ürenin çözelti içerisindeki YKZP parçacıklarını daha iyi çözdüğü düşünülmüştür. M16 (YKZP/üre) ve M18 (YKZP/ CaCl_2) çözeltileri ele alındığında üre ve CaCl_2 'nin diğer çözücü malzemelere göre daha yüksek YKZP tozu çözünmesini sağladığı yapılan çalışmalarda görülmüştür. Bu sonuçlar ile birlikte M20 (YKZP-0.05 M $\text{CaCl}_2(\text{aq})$ -2M Üre) çözeltisinde üre ve CaCl_2 bir arada kullanılması durumunda YKZP'nin daha yüksek şekilde çözüneceği öngörülmüştür. Bunun üzerine hazırlanan M20 çözeltisinde diğer çözeltiler ile karşılaştırıldığında en yüksek oranda YKZP çözdüğü gözlemlenmiştir. Bunun üzerine M18 ve M20 çözeltilerine filtrasyon işlemi uygulanarak YKZP çözme oranları ile ilgili bilgi edinilmesi düşünülmüştür. Bu öngörüye dayanarak M19 ve M21 çözeltileri hazırlanarak filtrelenmiş, filtrasyon öncesi ve sonrası filtre ağırlıkları not edilmiştir.

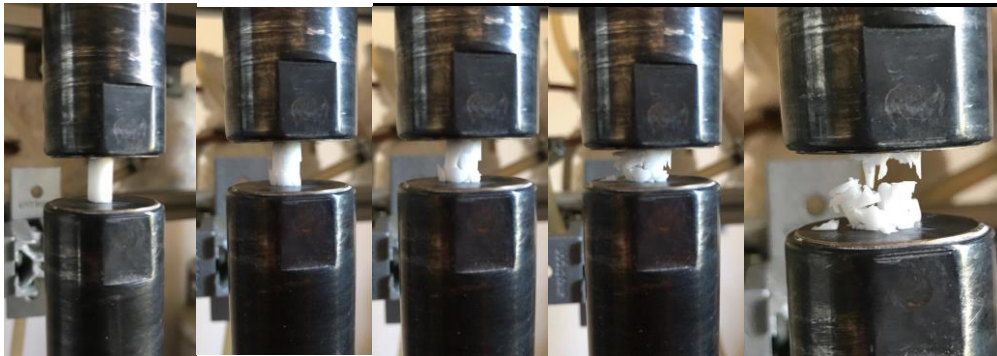
Filtreleme sonucu alınan veriler ışığında M21 ve M19 karışımlarına göre üre, CaCl_2 'ye göre daha fazla YKZP'nin çözelti içerisinde çözünmesini sağlamaktadır. Çizelge 4.3'de verilen verilere bakılarak CaCl_2 ve ürenin, CaCl_2 'e göre 10 kat daha iyi YKZP tozu çözdüğü açıkça görülmüştür. Bu durumda üre ve CaCl_2 'nin sadece CaCl_2 'e göre daha iyi bir çözücü olduğu saptanmıştır.

YKZP ile birlikte farklı çözücü ve katkı maddelerinin kullanıldığı çözünürlük çalışmalarında farklı konsantrasyon ve sıcaklıkları denediğimiz M2-M10 arasındaki çözeltilerin içerisinde M5, M6 ve M7 çözeltiler ile M2 ve M3 çözeltileri 5000 rpm ve 7000 rpm hızla santrifüje tabii tutarak çözünmeyen YKZP tozu dibe çöktürülerek ayrılmasına çalışılmıştır. Ancak söz konusu çözeltilerde santrifüj işlemi sonrası dibe çökme gözlenmemiştir. Eğer bu yöntemi uygulayarak çözünmemiş YKZP'yi santrifüj işlemi sonrasında dibe çöktürerek ayırabilmiş olsaydık üstte kalan ve 25°C sıcaklıkta

içerisinde çözünmüş YKZP olan çözeltinin içerisinde çözünen YKZP miktarını tayin edebilecektik. M2-M4 arasındaki çözeltileri ve M5-M7 arasındaki çözeltileri tekrar 25°C sıcaklığa indirip üstte kalan 25°C sıcaklıkta içerisinde çözünmüş YKZP içeren çözelti tekrar 80°C sıcaklığa getirilerek içerisindeki YKZP'nin denatürasyona uğrayarak çökmesi beklenecekti. Bu işlem sonucunda çözelti ve çökelmiş YKZP birbirinden ayrılarak YKZP üzerinde gravimetrik analiz yapılması ile 25-50°C sıcaklıklarında çözünebilir maksimum YKZP miktarının tayini yapılabilecektir. Ancak yukarıda anlatılan santrifüj yöntemi ile ilk çözeltideki çözünmüş YKZP ayırlamadığı için bu yöntem kullanılamamıştır. Söz konusu bu yöntem ile hazırlanan çözeltilere dair ayrıntılı bilgiler EK2'de gösterilmiştir.

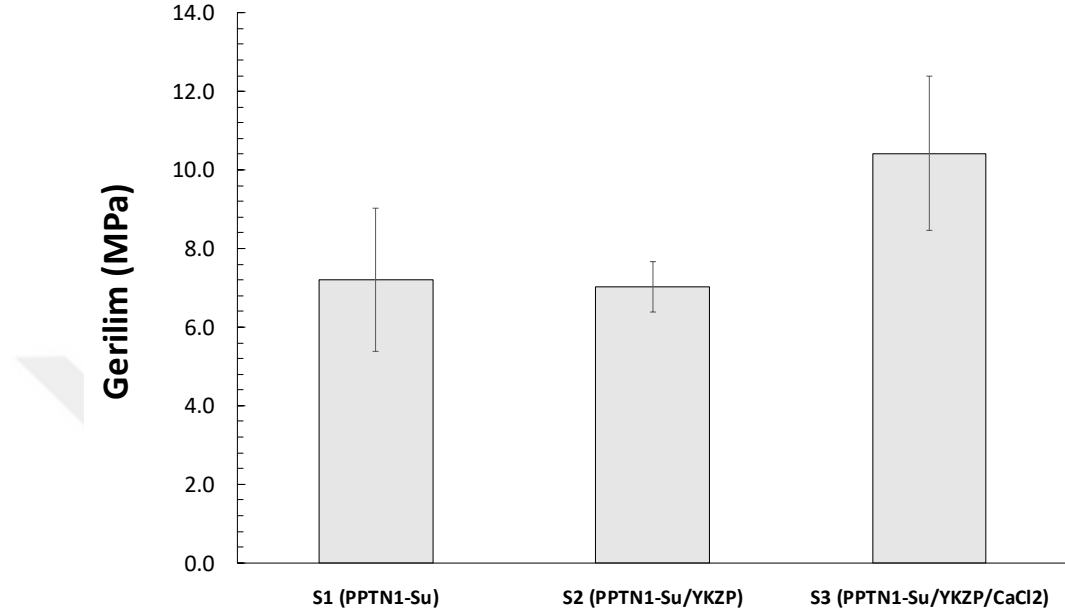
4.4. Sertleşme Reaksiyonu, Karakterizasyonu ve Mekanik Dayanımı

Bu tez çalışmasının bu aşamasında PPTN1 ve PPTN3 tozları sırasıyla CSH ve CSD fazları ile kısmen benzer yapısal ve morfolojik özellikler göstermelerinden dolayı CSH tozu ve CSD tozu olarak nitelendirilmiştir. Bu kısımda elde edilen PPTN1 ve PPTN3 tozlarının hazırlanan sertleşme çözeltilerinin (su, CaCl_2 , M9, M14, M16, M18, M19, M20 ve M21) karıştırılmasıyla elde edilen karışımların (S1-S13) sertleşme reaksiyonu sırasındaki davranışları, sertleşme reaksiyonu sonrasında elde edilen numunelerin karakterizasyonu ve mukavemetleri incelenmiştir. İlk olarak CSH fazı özelliği gösteren PPTN1 tozu ile su, M9 (su/YKZP) ve M18 (CaCl_2 /YKZP) karıştırılarak S1, S2 ve S3 karışımları elde edilmiştir. Bu karışımların karışım sonrasında mekanik basma testi uygulanmak üzere kalıp içerisine yerleştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Kalıptan çıkarılan test numunelerin basma testi sırasında kırılmanın gerçekleştiği anlar Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



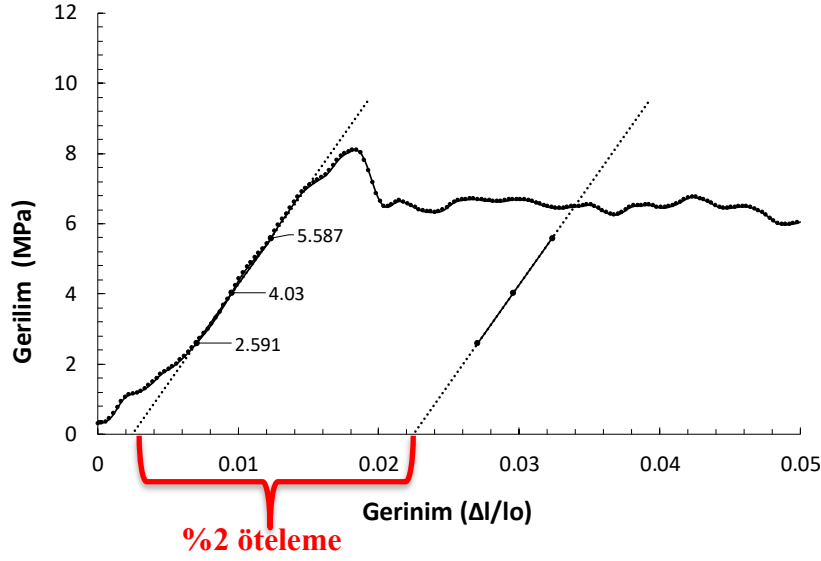
Şekil 4.12. PPTN1 tozuna M18 sertleşme çözeltisinin eklenerek karıştırıldıktan sonra hazırlanan karışımdan (S3) elde edilen test numunesinin basma testi sırasındaki davranışı

PPTN1 ve sırasıyla M9 (su/YKZP) ve M18 (su/YKZP/CaCl₂) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan test numuneleri (S1, S2 ve S3) üzerine mekanik basma dayanımını ölçmek üzere uygulanan basma testi sonucu görülmektedir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. PPTN1 toz fazı ile sırasıyla su, M9 (su/YKZP) ve M18 (su/YKZP/CaCl₂) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan test numunelerinin (S1, S2 ve S3) mekanik dayanımı.

PPTN1 tozu içeren S1, S2 ve S3 karışımları ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları, standartta yer alan %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemi uygulanarak değerlendirilmiştir. Tipik bir deneyde %2 öteleme yöntemi öncelikle Gerilim (MPa)-Gerinim ($\Delta l/l_0$) grafiği üzerinde uygulanmaktadır. Gerilim (MPa)- Gerinim ($\Delta l/l_0$) grafiği üzerinde ilk maksimum noktanın yer aldığı eğrinin eğimi hesaplanmıştır. Hesaplanan eğim üzerine bir lineer eğim çizgisi çekilmiş ve bu eğim çizgisi Gerinim ($\Delta l/l_0$) ekseninde %2 ötelenmiştir. Ötelenen eğrinin grafikte yer alan veriler ile karşılaştığı veriler mekanik test sonucu elde edilen mekanik basma dayanım değeri olarak kabul edilmiştir. %2 öteleme yöntemi ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemi ile alınan değerler doğrultusunda ortalama basma dayanımı hesaplanmıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. S1 karışımı ile hazırlanan bir test numunesinin mekanik basma deneyi sırasındaki davranış grafiği üzerinde %2 öteleme metodu ile basma dayanımı değerlendirilmesi

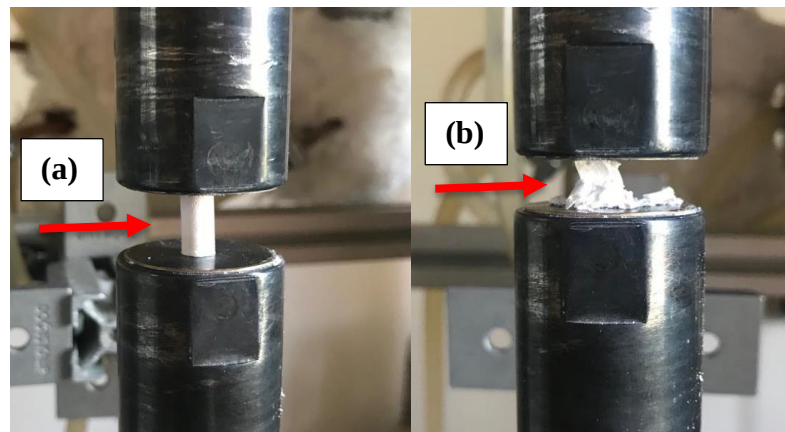
PPTN1 tozu içeren S1, S2 ve S3 karışımları ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları, %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemleri EK4-EK9 arasında ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

S1, S2 ve S3 karışımları ile hazırlanan test numuneleri üzerine uygulanan basma testinin sonucunda S1, S2 ve S3 test numunelerinin mekanik dayanımı Şekil 4.13'te verilmiştir. S1, S2 ve S3 karışımları ile hazırlanan test numunelerine uygulanan basma kuvveti sonucu elde edilen basma dayanım verilerine göre S1 karışımı ile S2 karışımının mekanik dayanımı benzer şekilde yaklaşık 7 MPa gelirken, S3 karışımının mekanik dayanımı yaklaşık olarak 11 MPa olarak hesaplanmıştır. Bu tez çalışmasının bu kısmında sonuç olarak CSH fazı içeren PPTN1 tozunun yalnızca su ile karıştırılması sonucu elde edilen S1 karışımının mekanik basma dayanımı literatürde yer alan CSH fazındaki çimento sistemi için ölçülen mekanik basma dayanımı yaklaşık 10 MPa ile benzer değerlerde hesaplanmıştır. S2 karışımının mekanik basma dayanımına bakıldığında CSH fazı içeren PPTN1 tozunun M9 çözeltisi ile karıştırılarak elde edilen karışımın mekanik dayanımına M9 çözeltisindeki YKZP'nin bir etkisinin olmadığı görülmüştür. S2 karışımının mekanik basma dayanımı S1 karışımının mekanik basma dayanımı ile karşılaştırıldığında, S2 karışımı sonucu elde edilen numunedeki YKZP varlığının basma dayanımı açısından bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. S3 karışımının mekanik basma dayanımının, S1 ve

S2 karışımları ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu ve bu durumda CaCl_2 varlığının CSH içeren PPTN1 tozu ile hazırlanan S3 karışımının mekanik basma dayanımını arttırdığı açıkça tespit edilmiştir.

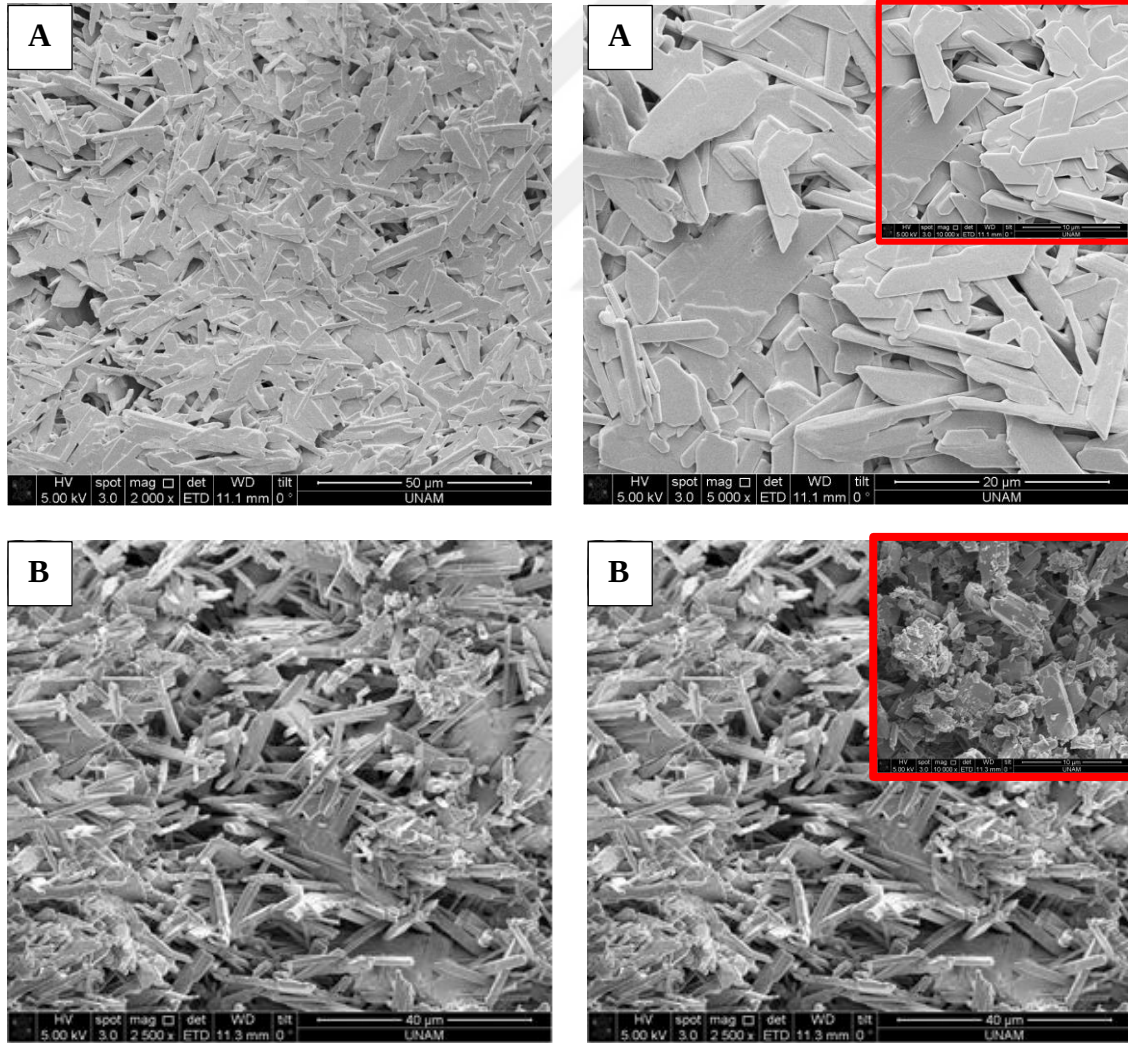
Sonuç olarak S2 karışımına YKZP eklenilmesi ile yalnızca su içeren S1 karışımının mekanik dayanımı ile S2 karışımının mekanik dayanımı arasında yalnızca %2 fark olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde S3 karışımının CaCl_2 sulu çözeltisine YKZP eklenilmesi ile S1 ve S2 karışımlarının mekanik dayanımları arasında yaklaşık %45 fark olduğu saptanmıştır. Bu durumda sonuç olarak CSH fazı içeren PPTN1 tozuna CaCl_2 sulu çözeltisine YKZP eklenilmesi, yalnızca su veya su ve YKZP eklenilmesi durumundan %45 fazla mekanik dayanım sağlamasına neden olmuştur. Bu çalışmanın bu bölümü kapsamında PPTN1 tozu ile yalnızca CaCl_2 sulu çözeltisi karıştırılarak bir karışım hazırlanmadığı için söz konusu % 45'lik etkinin CaCl_2 veya CaCl_2 ile birlikte YKZP'nin aracılığıyla olduğu anlaşılamamaktadır. Bu çalışmanın devamında CSH faz içeren PPTN1 tozuna eklenen sertleşme çözeltilerinin ayrıntılı etkilerinin incelenmesi tercih edilirse PPTN1 tozu ve yalnızca CaCl_2 sulu çözeltisi karıştırılarak sertleşme tepkimesi ve sonrasındaki mekanik dayanımı incelenebilir.

Çalışmanın bu kısmında mekanik test öncesinde hazırlanırken sertleşme tepkimesine girerek kalıba yerleştirilmeden sertleşen ve mekanik test sırasında kırılan test numunelerinin birçoğunun kırılan ara yüzlerinin ve düz yüzeylerinin SEM görüntüleri alınmıştır. Bir test numunesinin mekanik test sırasında kırılması ve kırılan ara yüz Şekil 4.15'de gösterilmiştir.



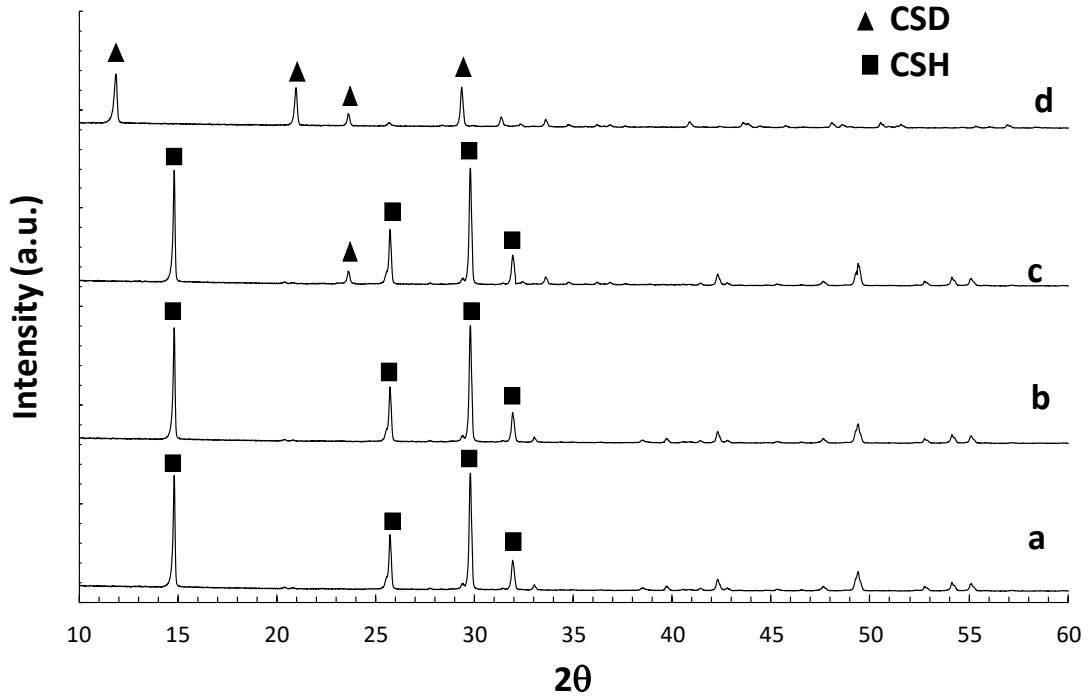
Şekil 4.15. Mekanik basma testi sırasında (a) kırılma olmadan önceki düz yüzey ve (b) kırılma sonrası kırılma ara yüzü gösterimi.

S1 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası düz yüzeyinin ve kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü Şekil 4.16'da gösterilmektedir. S1 karışımı için düz yüzeyinde, karışımın içerisinde yer alan CSH içeren PPTN1 tozunun mekanik kalıba yerleştirilip kalıbın şeklini alması durumunda kristal formundaki parçacıkların yassılaşıp birbiri üzerine eklendiği görülmüştür. Ancak S1 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sırasında kırılması ile oluşan kırılma ara yüzünde, CSH fazında bulunan kristal yapıdaki parçacıkların birbirleriyle birleştikleri yan yüzeylerinden kopmalar ve dağılmalar olduğu görülmüştür. Aynı zamanda S1 karışımında sertleşme çözültisi olarak kullanılan suyun CSH fazının yapısında bulunan kristal parçacıklarını birbirine çok iyi şekilde bağlamadığı bu nedenle kırılma ara yüzünde kristallerin yan yüzeylerinden birbirinden ayrılmasına neden olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4.16. S1 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası (A) düz yüzeyinin ve (B) kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.

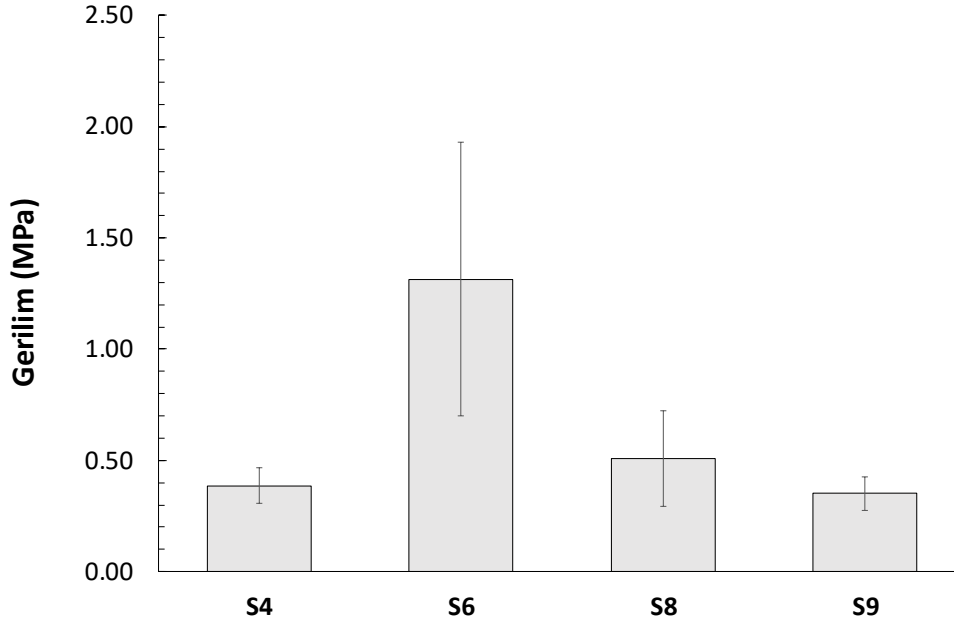
Çalışmanın bu kısmında S1, S2 ve S3 karışımlarının mekanik test sonrası XRD analizi gerçekleştirilmiştir. PPTN1 ve sırasıyla M9 (su/YKZP) ve M18 (su/YKZP/CaCl₂) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan test numunelerinin (S1, S2 ve S3) XRD analizi yapılmıştır (Şekil 4.17). S1, S2 ve S3 karışımlarının XRD desenleri incelendiğinde CSH fazı içerdiği çalışmanın bir önceki bölümünde tespit edilen PPTN1 tozu su ile karıştırıldığında oluşan S1 karışımının CSH fazının değişmediği görülmüştür. S2 karışımında ise PPTN1 tozu ile YKZP'nin karıştırıldığı durumda oluşan karışımının yapısı genel olarak CSH görünürken sadece tek bir CSD piki görülmüştür. S3 karışımında CSH fazı içeren PPTN1 tozu ile CaCl₂/YKZP sertleşme çözeltisinin karıştırıldığı durumda oluşan karışımın yapısı kısmen CSD faz formuna dönüşmüştür (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. PPTN1 CSH toz fazı ile sırasıyla su, YKZP ve YKZP/CaCl₂ sertleşme solüsyonları karıştırılarak (a – d) hazırlanan örneklerin XRD desenleri: (a) PPTN1; (b) S1; (c) S2 ve (d) S3.

İkinci olarak CSD fazı özelliği gösteren PPTN3 tozu ile sırasıyla su, M9 (su/YKZP), M14 (su/YKZP/EtOH) ve M16 (su/YKZP/üre) karıştırılarak S4, S6, S8 ve S9 karışımları elde edilmiştir. Bu karışımların karışım sonrasında mekanik basma testi uygulanmak üzere

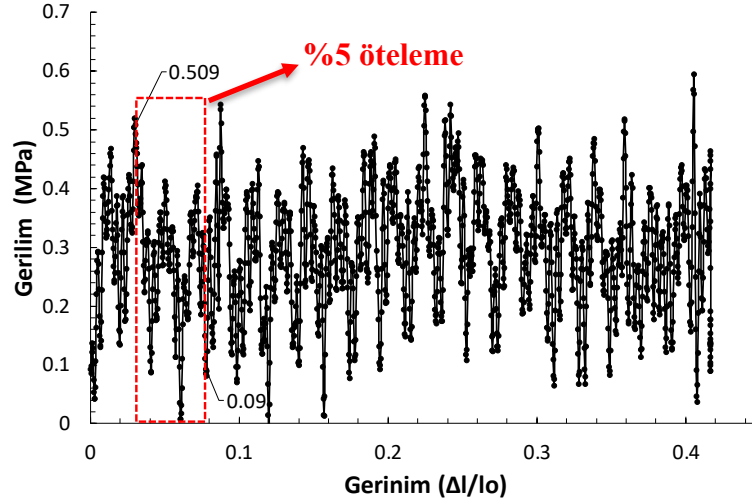
kalıp içerisine yerleştirilmesi gerçekleştirilmiştir. PPTN3 tozu ile sırasıyla su, M9 (su/YKZP), M14 (su/YKZP/EtOH) ve M16 (su/YKZP/üre) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan test numuneleri (S4, S6, S8 ve S9) üzerine mekanik basma dayanımını ölçmek üzere basma testi uygulanmıştır (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. PPTN3 toz fazı ile sırasıyla S4 (su), S6 (su/YKZP), S8 (su/YKZP/EtOH) ve S9 (su/YKZP/Üre) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan örneklerin mekanik dayanımı

PPTN3 tozu içeren S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları, %5 ortalama alma ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemi uygulanarak değerlendirilmiştir. %5 ortalama alma yöntemi, mekanik test sonrası alınan verilerin gürültü (cihazın ölçebildiği minimum değerler) civarında veya biraz daha fazla değerlerde olması durumunda kullanılmıştır. Kullanılan cihazda yer alan sensörün algılayabildiği minimum kuvvet değerinin ± 5 N olduğu bilinmektedir. Bu durumda alınan verilerin anlamlı aralıkta olduğu dölünebilmektedir. %5 ortalama alma yöntemi öncelikle Gerilim (MPa)- Gerinim ($\Delta l/l_0$) grafiği üzerinde uygulanmaktadır. Gerilim (MPa)- Gerinim ($\Delta l/l_0$) grafiği üzerinde ilk maksimum nokta belirlenmiştir. Belirlenen maksimum noktada bulunan verinin gerinim ($\Delta l/l_0$) değeri üzerine %5 eklenmiştir. Maksimum nokta ile %5 eklenmiş veriler arasındaki tüm veriler toplanarak ortalamaları alınmıştır. Alınan veriler mekanik test sonucu elde edilen

mekanik basma dayanım değeri olarak kabul edilmiştir. %5 ortalama alma ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemi ile alınan değerler doğrultusunda ortalama basma dayanımı hesaplanmıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. S4 karışımı ile hazırlanan bir test numunesinin mekanik basma deneyi sırasındaki davranış grafiği üzerinde %5 ortalama alma yöntemi ile basma dayanımı değerlendirilmesi

PPTN3 tozu içeren S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları, %5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirme yöntemi ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemleri EK10-EK14 arasında ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan test numuneleri üzerine uygulanan basma testinin sonucunda S4, S6, S8 ve S9 test numunelerinin mekanik dayanımı Şekil 4.18’de verilmiştir. S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan test numunelerine uygulanan basma kuvveti sonucu elde edilen basma dayanım verilerine göre S4 karışımı yaklaşık olarak standart sapması da göz önünde bulundurularak 0.45 MPa olarak hesaplanmıştır. S6 karışımının mekanik dayanımı 1.3 MPa gelirken, S8 karışımının mekanik dayanımı yaklaşık olarak 0.5 MPa, S9 karışımının mekanik değeri ise S4 karışımının mekanik değerine benzer şekilde yaklaşık 0.45 MPa olarak hesaplanmıştır.

Bu tez çalışmasının bu kısmında sonuç olarak CSD fazı içeren PPTN3 tozunun yalnızca su ile karıştırılması sonucu elde edilen S4 karışımının mekanik basma dayanımı cihazın ölçebileceği minimum seviye (0.3-0.5) değerleri civarında çıkmıştır. Literatürde yer alan çalışmalarda verilen bilgiler ışığında CSD fazının biyoçözünürlüğünün fazla olmasına

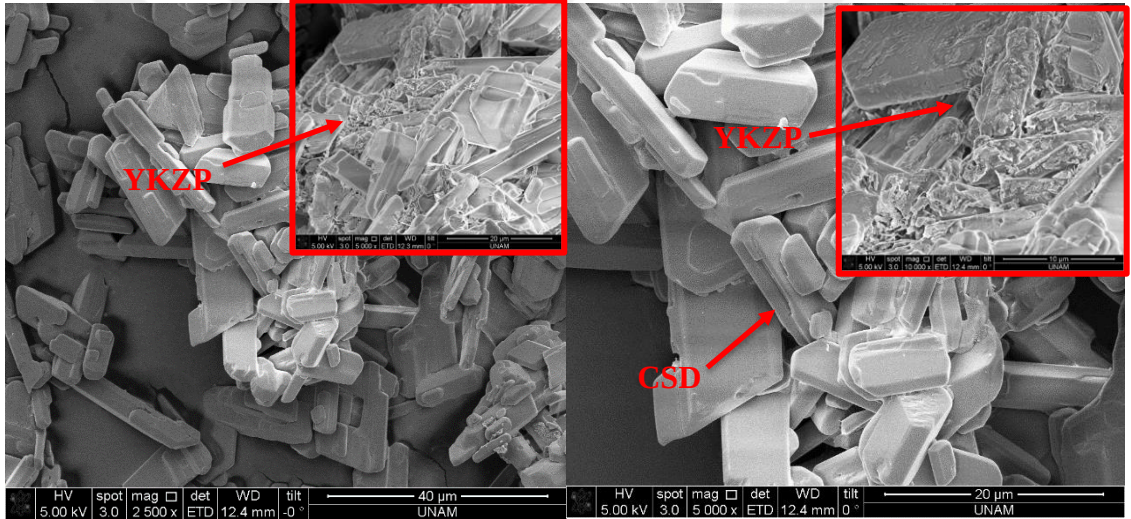
rağmen CSH fazına göre daha düşük mekanik dayanıma sahip olduğu bilinmektedir. Bu durumda S4 karışımının mekanik basma dayanımı ile S1 karışımının mekanik basma dayanımı karşılaştırıldığında literatürde verilen bilgiler ile uyumlu olduğu görülmüştür. S6 karışımının mekanik basma dayanımına bakıldığında CSD fazı içeren PPTN3 tozunun M9 çözeltisi ile karıştırılarak elde edilen karışımın mekanik dayanımına M9 çözeltisindeki YKZP'nin mekanik dayanımı S4 karışımına göre %240 farkla artıracak şekilde bir etkisinin olduğu görülmüştür. Bu durumda YKZP'nin CSD fazına mekanik dayanımı artıracak şekilde etki ettiği açıkça görülmüştür. S6 karışımının mekanik basma dayanımı S4 karışımının mekanik basma dayanımı ile karşılaştırıldığında, S6 karışımı sonucu elde edilen numunedeki YKZP varlığının basma dayanımı açısından %240 kat fazla etkisinin olduğu tespit edilmiştir. S8 karışımının mekanik basma dayanımının, S4 ve S6 karışımları ile karşılaştırıldığında S4 karışımın mekanik dayanımı ile benzer değerlerde olduğu görülmüştür. Ancak S6 karışımının mekanik dayanımından çok daha düşük olduğu ve bu durumda EtOH varlığının, CSD içeren PPTN3 tozu ile hazırlanan S8 karışımının mekanik basma dayanımını PPTN3 tozunun su ile karıştırıldığı S4 karışımı ile karşılaştırıldığında değiştirmedığı açıkça tespit edilmiştir. S9 karışımının mekanik basma dayanımının, S4, S6 ve S8 karışımlarının mekanik dayanımları ile karşılaştırıldığında S4 ve S8 karışımın mekanik dayanımı ile benzer değerlerde olduğu görülmüştür. Ancak S6 karışımının mekanik dayanımından çok daha düşük olduğu ve bu durumda üre varlığının CSD içeren PPTN3 tozu ile hazırlanan S9 karışımının mekanik basma dayanımını PPTN3 tozunun su ile karıştırıldığı S4 ve S8 karışımları ile aynı seviyede olup değiştirmedığı açıkça tespit edilmiştir.

Sonuç olarak S6 karışımına YKZP eklenilmesi ile yalnızca su içeren S4 karışımının mekanik dayanımı ile S6 karışımının mekanik dayanımı arasında %240 fark olduğu saptanmıştır. Bu durumda sonuç olarak CSD fazı içeren PPTN3 tozuna YKZP eklenilmesi, yalnızca su, su/YKZP/EtOH, su/YKZP/üre eklenilmesi durumundan yaklaşık olarak %240 fazla mekanik dayanım sağlamasına neden olmuştur. Bu çalışmanın bu bölümü kapsamında PPTN3 tozu ile yalnızca M9 (su/YKZP) çözeltisi karıştırılarak bir karışım hazırlandığı için söz konusu %240'lık etkinin YKZP'nin aracılığıyla olduğu açık şekilde görülmüştür.

Çalışmanın bu aşamasında S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan test numunelerinin mekanik test öncesinde hazırlanırken sertleşme tepkimesine girerek kalıba

yerleştirilmeden sertleşen ve mekanik test sırasında kırılan test numunelerinin birçoğunun kırılan ara yüzlerinin ve düz yüzeylerinin SEM görüntüleri alınmıştır.

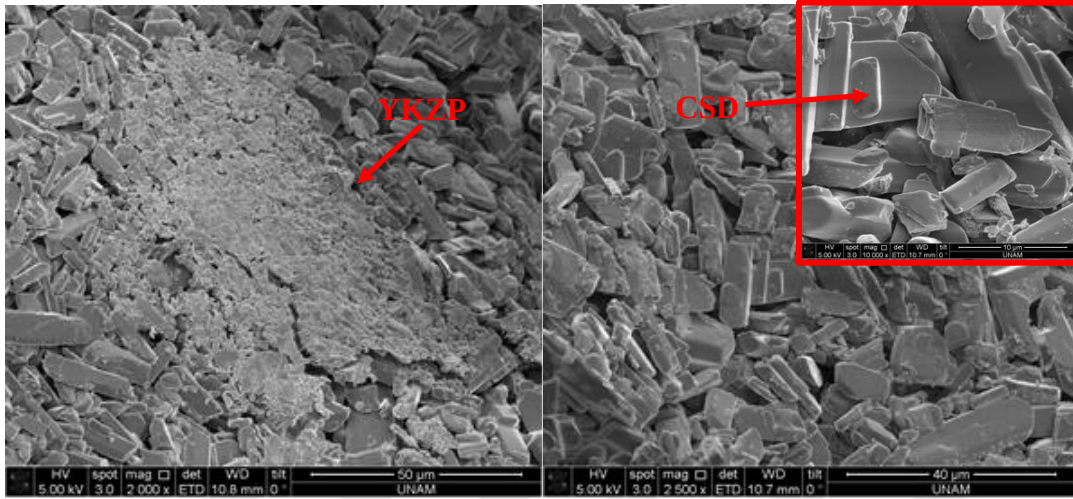
S6 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test öncesinde sertleşme tepkimesi sonrası sertleştikten sonra oluşan test numunesinin sert halinin SEM görüntüleri Şekil 4.20’de gösterilmektedir. S6 karışımı için PPTN3 tozundaki CSD fazının varlığı tespit edilmiştir. Sertleşme tepkimesinin hemen sonrasındaki görüntüler olduğu için CSD fazını oluşturan kristallerin yapısında bir değişiklik meydana gelmediği, ancak parçacıkların birbirleri ile etkileşimde olduğu görülmüştür. S6 karışımı hazırlanırken eklenen M9 (su/YKZP) çözeltisi içeriğindeki YKZP, görüntüler içerisinde CSD faz kristalleri üzerinde dağılmış şekilde görülmüştür. Ancak S6 karışımında yer alan YKZP’nin CSD faz kristalleri üzerine tamamen kaplanmadığı yalnızca kısmen kristalleri örttüğü görülmüştür.



Şekil 4.20. S6 karışımının sertleşme tepkimesi sonrası sertleştikten sonra oluşan test numunesinin sert halinin SEM görüntüleri.

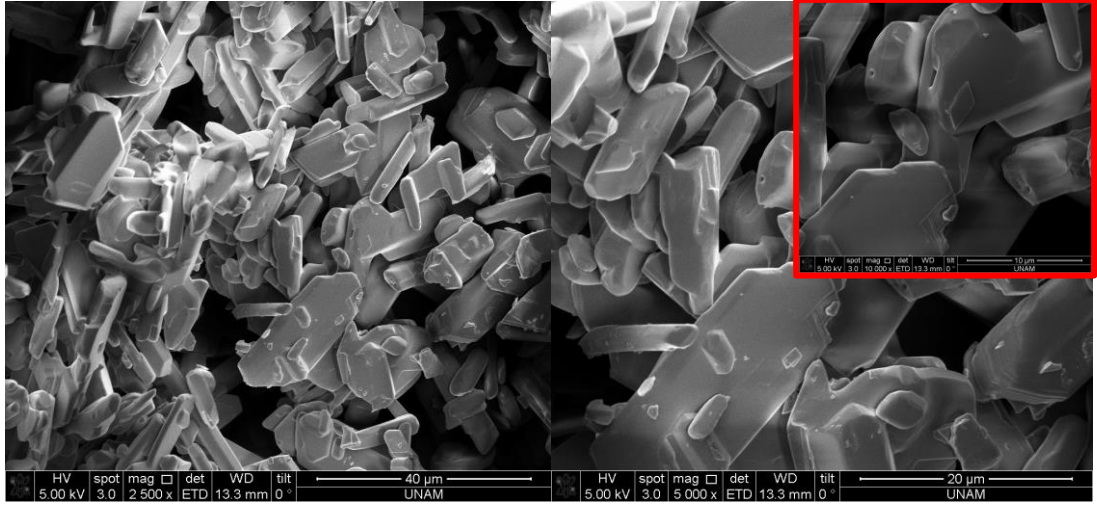
S6 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası düz yüzeyinin ve kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü Şekil 4.21’de gösterilmiştir. S6 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sırasında kırılması ile oluşan kırılma ara yüzünde, CSD fazında bulunan kristal yapıdaki parçacıkların birbirleriyle birleştikleri görülmüştür. Aynı zamanda YKZP’nin CSD kristalleri üzerine daha yüksek oranda ve daha düzgün bir yapıda dağıldığı görülmüştür. S6 karışımında sertleşme çözeltisi olarak kullanılan su/YKZP’nin CSD fazının yapısında bulunan kristal parçacıklarını birbirine çok iyi şekilde bağladığı bu nedenle kırılma ara yüzünde yer alan kristallerin yan yüzeylerinden

koparak ayrılmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Mekanik test sonrasında kırılma ara yüzlerinde kırılan bölgedeki CSD kristallerinin enine kesitlerde koparak kırılma meydana geldiği görülmüştür. Bu nedenle S6 karışımının mekanik dayanımının S4, S8 ve S9 karışımlarına göre daha yüksek olması, yapısında bulunan YKZP'nin CSD faz kristallerinin birbirlerine çok iyi yapışmasını sağladığı için CSD kristallerinde boyuna değil enine kırılmalar ve ayrılmalar olmasını açıklamıştır.



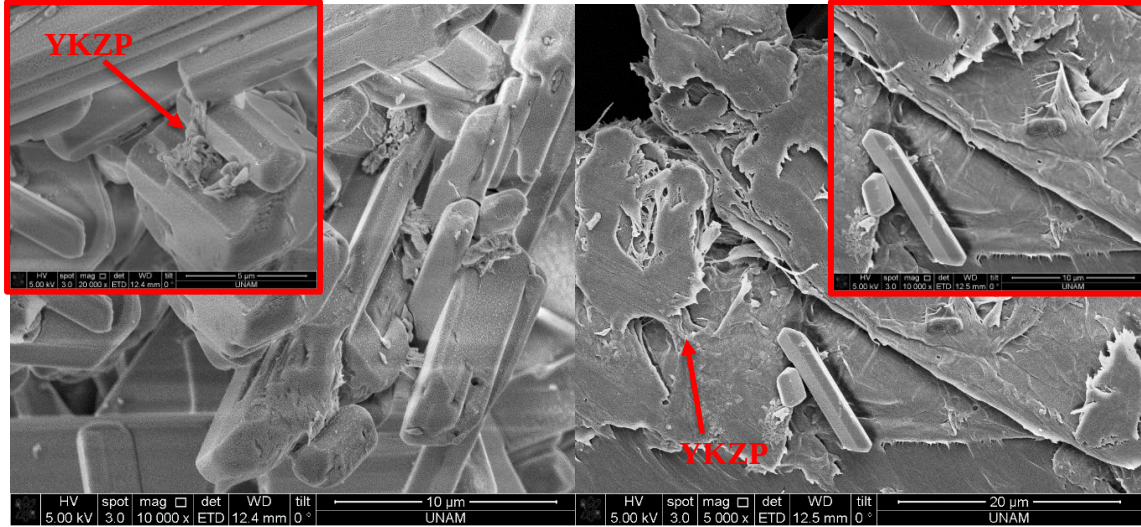
Şekil 4.21. S6 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası düz yüzeyinin ve kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.

S6 karışımının SEM görüntülerinde CSD fazı olarak kabul edilen PPTN3 tozunun M9 (su/YKZP) ile sertleşme çözeltisi karıştırılması sonucu elde edilen karışımda YKZP'nin CSD tozunun tamamına yayılmadığı yalnızca yer yer CSD kristallerinin üzerinde kaldığı görülmüştür. YKZP'nin tam anlamıyla CSD kristalleri üzerine kaplanmaması dolayısıyla S6 karışımı ile elde edilen test numunesinin mekanik dayanımının düşük olduğu öngörülmüştür.



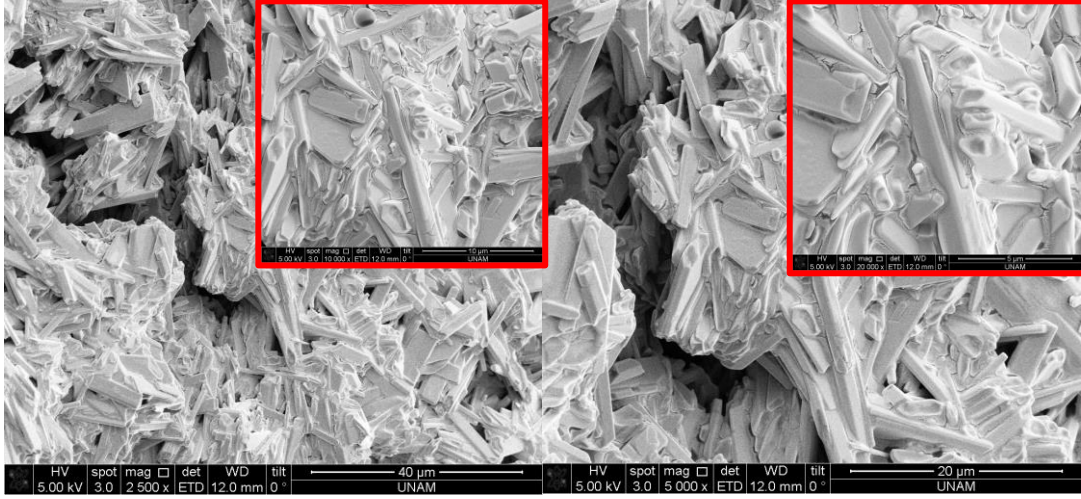
Şekil 4.22. S8 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.

S8 karışımı hazırlanırken M14 çözeltisinin PPTN3 tozu üzerine eklendiği ve karıştırılmaya başlandığı durumda anında bir sertleşmenin başladığı, ardından ise sertleşen numunenin hemen dağıldığı gözlemlenmiştir. S8 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası mekanik basma dayanımı ölçümü ve kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü incelendiğinde ise S8 karışımı ile karşılaştırıldığında CSD fazının morfolojik yapısını değiştirdiği ve CSD kristallerinin şekillerinin değiştiği Şekil 4.22’de görülmüştür. Aynı zamanda Şekil 4.22’deki SEM görüntüleri incelendiğinde YKZP izine rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın bu kısmında S8 karışımı için, EtOH eklenmesi ile CSD fazının kristal formu değiştiği, M14 çözeltisi içerisinde iyi çözünmediği bilinen YKZP’nin ise CSD tozunun kristalleri üzerine yayılmasını engellediği düşünülmüştür. Bu nedenle EtOH, CSD tozu ile M14 karıştırıldığında YKZP’nin CSD kristalleri arasındaki bağlayıcı şekilde konumlanmasını engelleyerek mekanik dayanımının düşmesine neden olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. S9 karışımının sertleşme tepkimesi sonrası sertleştikten sonra oluşan test numunesinin sert halinin SEM görüntüleri.

S9 karışımı hazırlanırken M16 çözeltisinin PPTN3 tozu üzerine eklendiği ve söz konusu M16 çözeltisinin içeriğinde yer alan ürenin YKZP'yi diğer çözeltilerle göre daha iyi çözdüğü bilinmektedir. S9 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test öncesi sertleşme tepkimesi sonrası sert halinin SEM görüntüleri Şekil 4.23'de gösterilmektedir. Şekil 4.23'e bakıldığında S9 karışımının içeriğinde bulunan ürenin YKZP'yi CSD faz kristallerinin üzerinde çok daha geniş bir alana yayılmasına neden olduğu görülmüştür. Ayrıntılı bir şekilde Şekil 4.23'te yer alan görüntüler incelendiğinde ürenin YKZP'nin CSD kristallerinin büyük bir bölümü üzerine tamamen sıvanacak şekilde yerleştiği görülmüştür. S9 karışımının mekanik test sonrası mekanik basma dayanımı ölçümü ve kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü incelendiğinde ise S6 ve S8 karışımları ile karşılaştırıldığında CSD fazının morfolojik yapısını değiştirdiği ve CSD kristallerinin şekillerinin başkalaştığı Şekil 4.24'te açıkça görülmüştür.

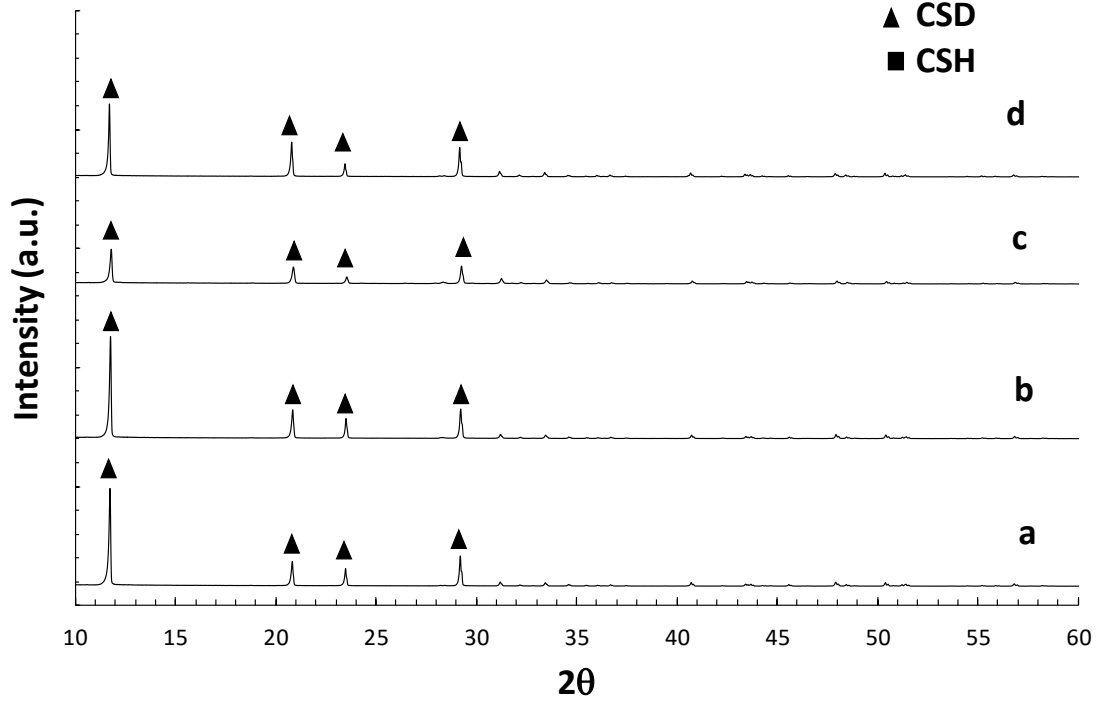


Şekil 4.24. S9 karışımı ile hazırlanan test numunesinin mekanik test sonrası kırılma ara yüzlerinin SEM görüntüsü.

Aynı zamanda Şekil 4.24'deki S9 karışımının mekanik test sonrası kırılma ara yüzünün SEM görüntüleri incelendiğinde ürenin YKZP'yi CSD faz kristalleri üzerine ve arasına yaydığı görülmüştür. S9 karışımında yer alan üre, YKZP'nin CSD faz kristallerinin birbirleri ile birleşmesine neden olmuştur. S9 karışımında sertleşme çözeltisi olarak kullanılan su/YKZP/üre'nin CSD fazının yapısında bulunan kristal parçacıklarını birbirine çok iyi şekilde bağladığı hatta kristalleri birleştirip bir tabaka haline getirdiği bu nedenle kırılma ara yüzünde yer alan kristallerin yan yüzeylerinden koparak ayrılmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Mekanik test sonrasında kırılma ara yüzlerinde kırılan bölgedeki CSD kristallerinin enine kesitlerde koparak kırılma meydana geldiği görülmüştür.

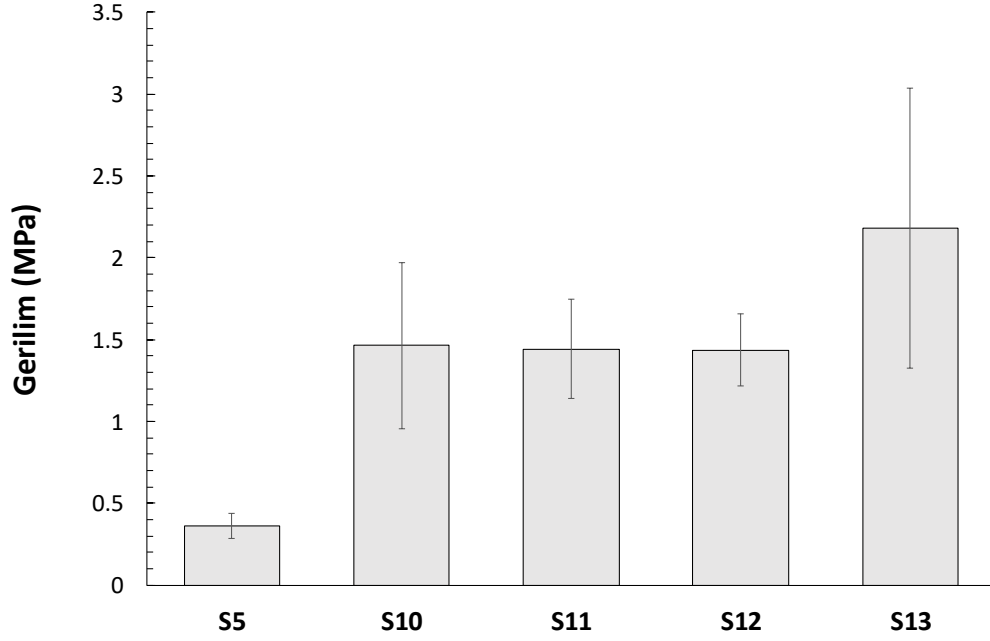
Çalışmanın bu kısmında S4, S6, S8 ve S9 karışımlarının mekanik test sonrası XRD analizi gerçekleştirilmiştir. CSD fazı özelliği gösteren PPTN3 tozu ile sırasıyla su, M9 (su/YKZP), M14 (su/YKZP/EtOH) ve M16 (su/YKZP/üre) karıştırılarak hazırlanan test numunelerinin (S4, S6, S8 ve S9) XRD analizi yapılmıştır (Şekil 4.25). S4, S6, S8 ve S9 karışımlarının XRD desenleri incelendiğinde CSD fazı içerdiği çalışmanın bir önceki bölümünde tespit edilen PPTN3 tozunun su, su/YKZP, su/YKZP/EtOH ve su/YKZP/üre ile karıştırıldığında oluşan S4, S6, S8 ve S9 karışımlarının CSD fazının değişmediği görülmüştür (Şekil 4.25). Ancak S4, S6, S8 ve S9 karışımlarının CSD fazının birbirleri arasındaki temel farklılıklar ile ilgili ayrıntılı bilgi XRD grafiğinden elde edilememiştir. Bundan dolayı çalışmanın ilerletilmesinin tercih edildiği durumda S4, S6, S8 ve S9

karişımlarının CSD fazının ayrıntısına dair bilgi Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) aracılığıyla veya ayrıntılı XRD grafik desen analizi ile edinilebilir.



şekil 4.25. PPTN3 toz fazı ile su, YKZP, YKZP/üre ve YKZP/EtOH solüsyonları kariştırılarak (a – d) hazırlanan örneklerin XRD desenleri: (a) S4; (b) S6; (c) S8 ve (d) S9

Üçüncü olarak CSD fazı özelliği gösteren PPTN3 tozu ile 0.05 M CaCl₂, M18 (0.05 M CaCl₂/YKZP), M19 (filtrelenmiş 0.05 M CaCl₂/YKZP), M20 (0.05 M CaCl₂/YKZP/üre) ve M21 (filtrelenmiş 0.05 M CaCl₂/YKZP/üre) kariştırılarak S5, S10, S11, S12 ve S13 karişımları elde edilmiştir. Bu karişımların karişım sonrasında mekanik basma testi gerçekleştirilmiştir (şekil 4.26).



Şekil 4.26. PPTN3 toz fazı ile sırasıyla CaCl_2 , M18 ($\text{CaCl}_2/\text{YKZP}$), M19 (filtrelenmiş $\text{CaCl}_2/\text{YKZP}$), M20 ($\text{CaCl}_2/\text{YKZP}/\text{Üre}$) ve M21 (filtrelenmiş $\text{CaCl}_2/\text{YKZP}/\text{Üre}$) sertleşme solüsyonları karıştırılarak hazırlanan S5, S10, S11, S12 ve S13 örneklerinin mekanik dayanımı

PPTN3 tozu içeren S5, S10, S11, S12 ve S13 karışımları ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları, %5 ortalama alma ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemi uygulanarak değerlendirilmiştir. Alınan veriler mekanik test sonucu elde edilen mekanik basma dayanım değeri olarak kabul edilmiştir. %5 ortalama alma ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemi ile alınan değerler doğrultusunda ortalama basma dayanımı hesaplanmıştır. PPTN3 tozu içeren S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları, %5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirme yöntemi ve maksimum basma mukavemeti (MBM) değerlendirme yöntemleri ve alınan veriler EK15-EK20 arasında ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

S5, S10, S11, S12 ve S13 karışımları ile hazırlanan test numuneleri üzerine uygulanan basma testinin sonucunda S5, S10, S11, S12 ve S13 test numunelerinin mekanik dayanımı Şekil 4.27’de verilmiştir. S5, S10, S11, S12 ve S13 karışımları ile hazırlanan test numunelerine uygulanan basma kuvveti sonucu elde edilen basma dayanım verilerine göre S5 karışımı yaklaşık olarak standart sapması da göz önünde bulundurularak 0.45

MPa olarak hesaplanmıştır. S10, S11 ve S12 karışımlarının mekanik dayanımı ortalama olarak 1.5 MPa gelirken, S13 karışımının mekanik dayanımı yaklaşık olarak 2.3 MPa, olarak hesaplanmıştır.

Bu tez çalışmasının bu kısmında sonuç olarak CSD fazı içeren PPTN3 tozunun yalnızca CaCl_2 sulu çözeltisi ile karıştırılması sonucu elde edilen S5 karışımının mekanik basma dayanımı cihazın ölçebileceği minimum seviye (0.3-0.5) değerleri civarında çıkmıştır. Bu durumda bir önceki bölümde incelenen S4 karışımı (su/PPTN3) ile karşılaştırıldığında CaCl_2 sulu çözeltisinin CSD fazı içeren PPTN3 tozunun mekanik dayanımına etkisi olmadığı görülmüştür.

S10 karışımının mekanik basma dayanımına bakıldığında CSD fazı içeren PPTN3 tozunun M18 (CaCl_2 /YKZP) çözeltisi ile karıştırılarak elde edilen karışımın mekanik dayanımına M18 çözeltisindeki CaCl_2 ile birlikte YKZP'nin mekanik dayanımı, S5 karışımına göre yaklaşık %300 kat farkla artıracak şekilde bir etkisinin olduğu görülmüştür. Bu durumda CaCl_2 ile birlikte YKZP'nin CSD fazına mekanik dayanımı artıracak şekilde etki ettiği açıkça görülmüştür. S6 karışımının mekanik basma dayanımı S5 karışımının mekanik basma dayanımı ile karşılaştırıldığında, S10 karışımı sonucu elde edilen numunedeki CaCl_2 ile birlikte YKZP varlığının basma dayanımı açısından yaklaşık % 300 kat fazla etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

S11 karışımının mekanik basma dayanımı değerlendirildiğinde CSD fazı içeren PPTN3 tozunun M19 (filtrelenmiş CaCl_2 /YKZP) çözeltisi ile karıştırılarak elde edilen karışım S10 karışımı ile karşılaştırılmıştır. S11 ve S10 karışımlarının mekanik dayanımının birbirlerine yakın değerlerde olduğu görülmüştür. Bu durumda S11 karışımında yer alan M19 çözeltisindeki CaCl_2 /YKZP karışımının filtrelenmesinin CSD fazının mekanik dayanımına hiçbir etkisi görülmemiştir.

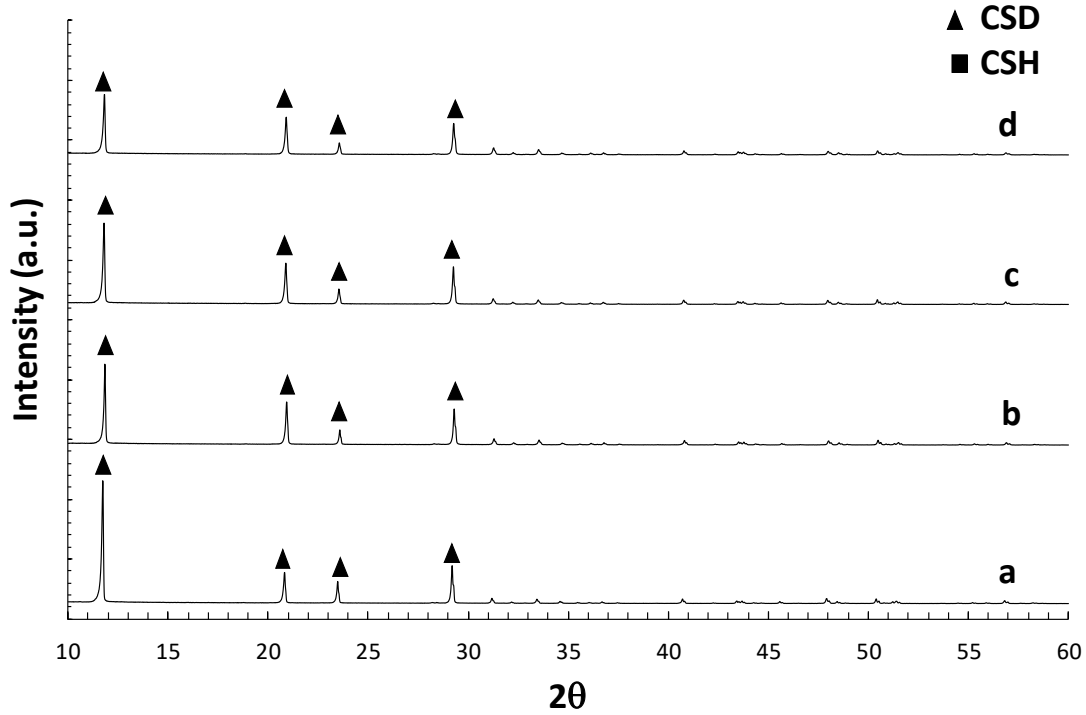
Benzer şekilde S12 karışımının mekanik basma dayanımı değerlendirildiğinde CSD fazı içeren PPTN3 tozunun M20 (CaCl_2 /YKZP/Üre) çözeltisi ile karıştırılarak elde edilen karışım S10 karışımı ile karşılaştırılmıştır. S12 ve S10 karışımlarının mekanik dayanımının birbirlerine yakın değerlerde olduğu görülmüştür. Bu durumda S12 karışımında yer alan M20 çözeltisindeki CaCl_2 /YKZP/üre karışımındaki ürenin CSD fazının mekanik dayanımına hiçbir etki etmediği görülmüştür.

S13 karışımının mekanik basma dayanımı değerlendirildiğinde CSD fazı içeren PPTN3 tozunun M21 (filtrelenmiş CaCl_2 /YKZP/Üre) çözeltisi ile karıştırılarak elde edilen

karışım S12 karışımı ile karşılaştırılmıştır. S13 karışımının mekanik dayanımının S12 karışımına göre % 52 kat yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumda S13 karışımında yer alan M21 çözeltisinde yer alan $\text{CaCl}_2/\text{YKZP}/\text{Üre}$ karışımının filtreleneşinin CSD fazının mekanik dayanımını %52 daha fazla artırdığı görülmüştür.

Sonuç olarak S10, S11, S12 ve S13 karışım lar, karıştırıldıkları çözeltilerin filtreleneş ve içeriklerinde bulunan YKZP'nin çözünmesi anlamında ayrı şekilde değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmeye göre, S11 karışımını oluşturan M19 çözeltisinin filtreleneş ile S10 karışımını oluşturan M18 çözeltisinin mekanik dayanımlarının eşit olmasından dolayı, M19 çözeltisindeki YKZP'nin CaCl_2 (aq) içerisindeki çözünmesinin düşük olduğu tespit edilmiştir. S13 karışımını oluşturan M21 çözeltisinin filtreleneş ile S12 karışımını oluşturan M20 çözeltisinin mekanik dayanımları arasında % 52 kat fark bulunmuştur. S13 karışımının mekanik dayanımının, S12 karışımının mekanik dayanımına göre % 52 kat daha olduğu görülmüştür. Bu durumda M21 çözeltisi içeriğinde bulunan ürenin CaCl_2 (aq) çözeltisine göre daha yüksek oranda YKZP çözdüğü ve CSD fazlı PPTN3 tozu ile karıştırıldığında CSD fazının mekanik dayanımını yükselttiği açıkça tespit edilmiştir.

Bu değerlendirmeler ışığında CaCl_2 (aq) çözeltinin hiçbir katkı maddesi içermediği durumdaki YKZP çözünürlüğü, içerisine üre eklenmesi durumdaki YKZP çözünürlüğünden daha düşüktür sonucuna ulaşılmıştır. Böylece M21 çözeltisi içeriğinde bulunan CaCl_2 /ürenin hiçbir katkı maddesi eklenmemiş CaCl_2 'ye göre daha iyi bir YKZP çözücü olduğu net şekilde görülmüştür. Aynı zamanda M19 çözeltisinin içeriğinde yer alan CaCl_2 'nin YKZP çözme oranı ile CaCl_2 /ürenin YKZP çözme oranının düşük olmasından dolayı S10 karışımı ile S12 karışımının mekanik dayanımı birbirlerine benzer olup S13 karışımı mekanik dayanımından ise yaklaşık %50 kat fark ile daha düşüktür. Bu durum CaCl_2 'nin düşük YKZP çözme oranı ve karıştırıldığı YKZP'yi açarak molekülleri arasına iyonların tutunup çökmesine neden olduğu için CSD fazının mekanik dayanımına etkisinin olmamasını açıklamaktadır.



Şekil 4.27. PPTN3 CSD toz fazı ile sırasıyla CaCl_2 (aq), YKZP/ CaCl_2 ve YKZP/ CaCl_2 /üre sertleşme solüsyonları karıştırılarak (a – d) hazırlanan örneklerin XRD desenleri: (a) PPTN3; (b) S5; (c) S10 ve (d) S12

Çalışmanın bu kısmında S5, S10 ve S12 karışımlarının mekanik test sonrası alınan XRD desenleri ile PPTN3 tozunun üretildikten sonra alınan XRD verilerinin karıştırılarak analizi gerçekleştirilmiştir. CSD fazı özelliği gösteren PPTN3 tozu ile sırasıyla CaCl_2 (aq), M18 (YKZP/ CaCl_2) ve M20 (YKZP/ CaCl_2 /üre) karıştırılarak hazırlanan test numunelerinin (S5, S10 ve S12) XRD analizi yapılmıştır (Şekil 4.27). S5, S10 ve S12 karışımlarının XRD desenleri incelendiğinde ve PPTN3 tozunun desenleri ile karşılaştırıldığında CSD fazı içerdiği çalışmanın bir önceki bölümünde tespit edilen PPTN3 tozunun kristal yapısının değişmediği görülmüştür. Ancak S5, S10 ve S12 karışımlarının CSD fazının birbirleri arasındaki temel farklılıklar ile ilgili ayrıntılı bilgi XRD grafiğinden elde edilememiştir. Bundan dolayı çalışmanın ilerletilmesinin tercih edildiği durumda S5, S10 ve S12 karışımlarının CSD fazının ayrıntısına dair bilgi Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) aracılığıyla veya ayrıntılı XRD grafik desen analizi ile edinilebilir.

Bu tez çalışmasının tamamlanması aşamasında gerçekleştirilen uygulamalarda daha iyi sonuçlar elde edilmesi ve çalışmanın devam ettirildiği durumda incelenmesi gereken bazı durumlar bulunmaktadır;

- Sertleşme tepkimesinin sonucunda elde edilen test numunelerinin mekanik basma testi sonucunda elde edilen tüm grafiklere bakıldığında S1, S2 ve S3 karışımlarının basma dayanımı grafiklerinde veri eğrisinin altında kalan alan düşünüldüğünde YKZP'nin yalnızca CSH fazının mukavemetini değil genel olarak “tokluk” değerini de yükselttiği de ayırt edilmiştir. Bu bağlamda YKZP'nin S1, S2 ve S3 karışımları ile hazırlanan numunelerin basma testi sırasında kırılma anına kadar malzemenin absorbe ettiği enerji değerinin artmasına neden olduğu bu çalışma kapsamında tespit edilmiştir. Bu durumda S1, S2 ve S3 karışımlarında net olarak gözlemlendiği için tokluk değerinin ayrıntılı olarak hesaplanması tercih edildiğinde “work of fracture” testi uygulanabilir. Bu tez çalışmasında ayrıntılı bir tokluk değerlendirmesine girilmemiştir.
- Benzer şekilde S1-S13 karışımları ile elde edilen test numunelerinin mekanik basma testi sonrası elde edilen verilerinde yüksek oranlarda standart sapmaya ulaşılmıştır. Söz konusu standart sapma verilerine dâhil edildiğinde, farklı karışımların mekanik basma dayanımı arasındaki farkın tespiti yalnızca fark hesaplamasıyla hesaplanmıştır. Ancak ayrıntılı şekilde her bir karışımın birbirinden bağımsız şekilde mekanik basma dayanımı ve standart sapmasının birbirinden farkının tespit edilmesi için istatistiksel bazı testler (T-test, Student Test vb.) kullanılabilir. Bu tez kapsamında ayrıntılı şekilde bir istatistiksel farklılık hesaplanması işlemlerine girilmemiştir.
- S1-S13 karışımlarının mekanik dayanımı ve karakterizasyonunun yanı sıra sertleşme zamanı ölçümleri yapılabilir. Sertleşme zamanı ölçümleri ile YKZP'nin CSD veya CSH fazlarının enjekte edilebilirliğine etkisi incelenebilir. Ancak bu tez kapsamında yapılan çalışmalar sonrasında sertleşme zamanı testi verilen tez süresi kapsamında yetişmemiştir. Bu nedenle bir sonraki çalışmada sertleşme tepkimesi zaman ölçümleri ile YKZP'nin sertleşme çözeltilerine eklenen diğer katkı maddelerinin CSD veya CSH fazındaki çimentoların enjekte edilebilirliğine ve sertleşme zamanına etkisi incelenebilir.
- Bu tez kapsamında gerçekleştirilen YKZP çözünürlük çalışmalarında M19 ve M21 sertleşme çözeltilerinde filtreleme sonrası aynı YKZP miktarını tekrar çözeltiye ekleyerek tekrar aynı çözelti içerisindeki YKZP çözünmesi incelenebilir. Böylece

M19 ve M21 sertleşme çözeltilerinde eklenen YKZP'nin çözelti içerisinde çözünme limitine takılıp takılmadığını veya her eklenen YKZP ile çözünmeyen bir miktar olacağını ve bunun lineer olarak konsantrasyonla artacağını belirleyebiliriz.

- Bu tez kapsamında yapılan YKZP elde etme çalışmasında YKZ'nin yumurta kabuğundan ayrılması ile ilgili bazı eklemeler yapılabilmektedir. Yumurta kabuğu zarının yumurta kabuğundan ayrılması ile ilgili literatürde iç zar ve sınırlayıcı membranın mekanik olarak yumurta kabuğundan ayrılabilmesinden, ancak dış zarın, yumurta kabuğuna kuvvetli bir şekilde gömülü olmasından dolayı dış zarın yumurta kabuğundan ayrılması için asidik muamele (örneğin seyreltik asetik asit (AA), hidroklorik asit (HCl) veya etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)) edilmesi gerektiğinden bahsedilmektedir. Literatürde ulaşılan bu bilgi ışığında yumurta kabuğu zarının yumurta kabuğundan el ile ayrılması durumunda YKZ'nin yumurta kabuğuna gömülü olan dış zarının ayrılmasının zor olmasından dolayı bu çalışmada EDTA veya HCl kullanılarak yumurta kabuğunun tamamen çözülerek sadece YKZ kalması sağlanabilir. Ancak dış zar ile iç zarın fiziksel ve kimyasal yapısı incelenerek EDTA ve HCl ile yumurta kabuğuna yapılan muamele sonrasında YKZ'nin yapısındaki proteinlere zarar verilip verilmediği araştırılabilir. Böylece el ile ayrılan YKZ ile EDTA/HCl gibi kimyasallar aracılığıyla yapılan yumurta kabuğunun çözdürülmesi işlemi sonucu ayrılan YKZ'nin kimyasal ve mekanik basma dayanımına ilişkin analizi yapılabilir.

Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bulgular ışığında başlangıçta CSH fazı ile başlayıp YKZP ve CaCl_2 ile karıştırıldığında CSD fazına geçiş yapan çimentoların, CSD fazının literatürde yer alan biyoaktiflik özelliği ve biyo çözünür rol oynaması özellikleri ele alındığında kemik doku onarımında kemik çimentosu olarak kullanılması önerilmektedir. Aynı zamanda literatürde yer alan CSD fazının düşük mukavemette olması bilgilerine karşılık, CSH fazından türetilen CSD fazında mukavemetin yüksek şekilde tespit edilmesi ile CSD fazındaki çimentonun kemik çimentosu olarak çalışılabileceği yapılan çalışmalar ışığında görülmüştür. Tez kapsamında yapılan çalışmalardan yapılan tespitler ele alındığında yüksek oranda protein içeren YKZ'nin bir kemik dokusu onarım malzemesi olarak kullanılabileceğine dair literatürde çalışmalarına rastlanılmamıştır. Bu nedenle YKZ'den elde edilen yüksek oranda aminoasit içeren YKZP'nin, çalışmalar ışığında elde edilen CSH veya CSD fazındaki çimentolara katkılanması ile kemik çimentosu olarak kemik dokusu onarımında kullanılabilmesi öngörülmüştür. Sonuç olarak bu tez

kapsamında yapılan çalışmalarda %63 verimle elde edilen YKZP ve CSH fazından türetilen CSD fazı ayrı ayrı veya birbirleri ile birlikte biyomalzemeler olarak kullanılabilirler düşünülmektedir.



5. YORUM

Sunulan tez kapsamında yumurta kabuğu zarından YKZP elde edilmiş, CaS bazlı kemik çimentosu sentezlenerek CSD ve CSH olmak üzere iki farklı CaS fazında toz elde edilmiş, elde edilen YKZP kullanılarak CSD ve CSH fazlarının mekanik dayanımına, morfolojisine ve yapısına katkısı incelenmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen önemli bulgular ve literatürde yapılan çalışmalar ile arasındaki farklar aşağıda özetlenmiştir.

- Çalışmanın ilk aşamasında AA ve 3-MPA içerisinde YKZ'nin çözündürülmesi ile literatürde bulunan YKZP elde etme yöntemlerinde bulunan verimle (% 63) uyumlu şekilde YKZP elde edilmiştir.
- Çalışmanın devamında elde edilen YKZP kullanılarak farklı katkı maddelerin bulunduğu M1-M21 sertleşme çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan sertleşme çözeltileri içerisinde temel olarak en iyi çözünme sonuçlarına M9 (YKZP-Su), M14 (YKZP-Su-1ml EtOH), M16 (YKZP-2M Üre), M18 (YKZP-0.05 M CaCl₂(aq)), M19 (YKZP-0.05 M CaCl₂(aq) -F), M20 (YKZP-0.05 M CaCl₂(aq)-2M Üre) ve M21 (YKZP-0.05 M CaCl₂(aq)-2M Üre -F) karışımları ile ulaşılmıştır. Söz konusu M9, M14, M16, M18, M19, M20 ve M21 çözeltileri ile yapılan çözünürlük çalışmalarında üre ve CaCl₂'nin diğer çözücü malzemelere göre daha yüksek YKZP çözünmesini sağladığı görülmüştür. varılan bu sonucun üzerine M18, M19, M20 ve M21 üzerine yapılan çalışmalarda M18 ve M20 çözeltilerine filtrasyon işlemi uygulanarak CaCl₂ ve ürenin, CaCl₂'e göre 10 kat daha iyi YKZP tozu çözdüğü tespit edilmiştir.
- Çalışmanın CaS sentezi kısmında Wang ve arkadaşlarının çalışmaları referans alınarak (Ca(NO₃)₂ • 4H₂O) ve (K₂SO₄) tuzlarının 3.5 M CaCl₂ (aq) içerisinde çözündürülmesi, karıştırılması ve çöktürülmesi ile farklı fazlarda CaS tozu (PPTN1, PPTN2 ve PPTN3) üretilmiştir. Elde edilen PPTN1, PPTN2 ve PPTN3 tozlarının, yapılan XRD ve SEM analizleri ile sırasıyla CSH, CSD ve CSD fazları içerdiği belirlenmiştir.
- S1, S2 ve S3 karışımları ile hazırlanan test numunelerinin mekanik dayanımları incelendiğinde CSH fazı içeren PPTN1 tozuna CaCl₂ sulu çözeltisinde YKZP eklenilmesi, yalnızca su veya su ve YKZP eklenilmesi durumundan fazla mekanik dayanım sağlamasına neden olduğu görülmüştür.

- S1, S2 ve S3 karışımlarının XRD desenleri incelendiğinde CSH fazı içerdiği çalışmanın bir önceki bölümünde tespit edilen PPTN1 tozu su ile karıştırıldığında CSH fazında değişiklik olmazken su/YKZP ile karıştırıldığında yapısında az miktarda CSD fazının olduğu ve YKZP/CaCl₂ sertleşme solüsyonu ile karıştırıldığında ise CSH faz yapısının tamamen CSD faz yapısına dönüştüğü görülmüştür. Literatürde yer alan CSH fazından CSD fazına dönüşüm çalışmalarında YKZP ve yalnızca CaCl₂ kullanılmasına ilişkin bilgiye ulaşılamamaktadır. Aynı zamanda literatürde yer alan çalışmalarda CSH fazından CSD fazına geçişin YKZP ve CaCl₂ ile sağlanması sırasında elde edilen CSD fazının mekanik dayanımının daha yüksek olduğu bilgilere de ulaşılamamaktadır. Literatürde verilen çalışmalarda CSD fazının düşük mekanik dayanıma sahip olduğundan bahsedilmektedir.
- S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan test numunelerinin mekanik dayanımları incelendiğinde CSD fazı içeren PPTN3 tozuna YKZP eklenmesi, su, su/YKZP/EtOH ve su/YKZP/Üre eklenmesi durumundan daha fazla mekanik dayanım sağlanmasına neden olduğu görülmüştür. S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan test numunelerinin SEM analizi yapıldığında, sertleşme çözeltilerinde bulunan YKZP'nin CSD fazının yapısındaki kristallerin arasına ve üzerine yayılma eğilimi göstererek ayırık bulunan kristal yapıların birbirlerine yapışmasını sağladığı görülmüştür. Aynı zamanda S4, S6, S8 ve S9 karışımları ile hazırlanan test numunelerinin XRD analizlerinde, CSD fazı içeren PPTN3 tozu ile su, su/YKZP, su/YKZP/EtOH ve su/YKZP/üre ile karıştırıldığında CSD fazının değişmediği görülmüştür.
- S5, S10, S11, S12 ve S13 karışımları ile hazırlanan test numunelerinin mekanik dayanımları incelendiğinde CaCl₂ sulu çözeltisinin CSD fazı içeren PPTN3 tozunun mekanik dayanımına etkisi olmadığı, CaCl₂/YKZP ile karıştırıldığında CSD fazının mekanik dayanımını yaklaşık 2-3 kat artırdığı görülmüştür. Aynı çalışma içerisinde yapılan filtreleme çalışması bağlamında incelendiğinde, CaCl₂ (aq) çözeltinin hiçbir katkı maddesi içermediği durumdaki YKZP çözünürlüğünün, içerisine üre eklenmesi durumdaki YKZP çözünürlüğünden daha düşük olması sonucuna ulaşılmıştır. S5, S10, S11, S12 ve S13 karışımları ile hazırlanan test numunelerinin XRD analizlerinde, CSD fazı içeren PPTN3 tozu ile CaCl₂ (aq), YKZP/CaCl₂ ve YKZP/CaCl₂/üre sertleşme solüsyonları karıştırıldığında CSD fazının değişmediği görülmüştür.

6. KAYNAKLAR

- [1] S. Barinov, V. Komlev, Calcium phosphate bone cements, *Inorganic Materials*, 47 (2011) 1470-1485.
- [2] R. Vaishya, M. Chauhan, A. Vaish, Bone cement, *Journal of clinical orthopaedics and trauma*, 4 (2013) 157-163.
- [3] M. Nilsson, E. Fernandez, S. Sarda, L. Lidgren, J. Planell, Characterization of a novel calcium phosphate/sulphate bone cement, *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 61 (2002) 600-607.
- [4] H. Guo, J. Wei, C.S. Liu, Development of a degradable cement of calcium phosphate and calcium sulfate composite for bone reconstruction, *Biomedical Materials*, 1 (2006) 193.
- [5] G.H. Lee, J.G. Khoury, J.-E. Bell, J.A. Buckwalter, Adverse reactions to osteoset bone graft substitute: The incidence in a consecutive series, *The Iowa orthopaedic journal*, 22 (2002) 35.
- [6] A. El-Ghannam, P. Ducheyne, 1.109 - Bioactive Ceramics, in: P. Ducheyne (Ed.) *Comprehensive Biomaterials*, Elsevier, Oxford, 2011, pp. 157-179.
- [7] Y. Mine, *Egg bioscience and biotechnology*, John Wiley & Sons 2008.
- [8] A.A. Mirtchi, J. Lemaitre, N. Terao, Calcium phosphate cements: study of the β -tricalcium phosphate — monocalcium phosphate system, *Biomaterials*, 10 (1989) 475-480.
- [9] M.M. Pillai, T. Akshaya, V. Elakkiya, J. Gopinathan, K.S. Sahanand, B.D. Rai, A. Bhattacharyya, R. Selvakumar, Egg shell membrane—a potential natural scaffold for human meniscal tissue engineering: an in vitro study, *RSC Advances*, 5 (2015) 76019-76025.
- [10] M.-P. Ginebra, E.B. Montufar, 9 - Cements as bone repair materials, in: K.M. Pawelec, J.A. Planell (Eds.) *Bone Repair Biomaterials (Second Edition)*, Woodhead Publishing 2019, pp. 233-271.
- [11] W.G. De Long Jr, T.A. Einhorn, K. Koval, M. McKee, W. Smith, R. Sanders, T. Watson, Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. A critical analysis, *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 89 (2007) 649.
- [12] K.-D. Kuehn, W. Ege, U. Gopp, Acrylic bone cements: composition and properties, *Orthopedic Clinics*, 36 (2005) 17-28.
- [13] D. Shaik Ajaz, R.B.D.C.S. Sundar, Surgical management of fracture neck of femur in elderly adults with cemented bipolar hemiarthroplasty, *International Journal of Orthopaedics*, 3 (2017) 1157-1165.
- [14] S.S. Bajammal, M. Zlowodzki, A. Lelwica, P. Tornetta III, T.A. Einhorn, R. Buckley, R. Leighton, T.A. Russell, S. Larsson, M. Bhandari, The use of calcium phosphate bone cement in fracture treatment: a meta-analysis of randomized trials, *JBJS*, 90 (2008) 1186-1196.
- [15] Z. Chen, H. Liu, X. Liu, X. Lian, Z. Guo, H.-J. Jiang, F.-Z. Cui, Improved workability of injectable calcium sulfate bone cement by regulation of self-setting properties, *Materials Science and Engineering: C*, 33 (2013) 1048-1053.
- [16] S. Larsson, 17 - Clinical aspects of calcium phosphate bone cements, in: S. Deb (Ed.) *Orthopaedic Bone Cements*, Woodhead Publishing 2008, pp. 377-400.
- [17] A. Zima, J. Czechowska, D. Siek, A. Ślósarczyk, Influence of magnesium and silver ions on rheological properties of hydroxyapatite/chitosan/calcium sulphate based bone cements, *Ceramics International*, 43 (2017) 16196-16203.

- [18] L. Chang, R. Howie, J. Zussman, Rock-forming Minerals: Non-silicates. Vol. 5B, Geological Society 1997.
- [19] M. Ridge, Hydration of calcium sulphate hemihydrate, *Nature*, 204 (1964) 70.
- [20] B.R. Smith, F. Sweett, The crystallization of calcium sulfate dihydrate, *Journal of Colloid and Interface Science*, 37 (1971) 612-618.
- [21] N.B. Singh, B. Middendorf, Calcium sulphate hemihydrate hydration leading to gypsum crystallization, *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 53 (2007) 57-77.
- [22] A.E. Van Driessche, T.M. Stawski, L.G. Benning, M. Kellermeier, Calcium sulfate precipitation throughout its phase diagram, *New perspectives on mineral nucleation and growth*, Springer 2017, pp. 227-256.
- [23] S.L. Bahn, Plaster: A bone substitute, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 21 (1966) 672-681.
- [24] T.S. Jepegnanam, H.P. von Schroeder, Rapid resorption of calcium sulfate and hardware failure following corrective radius osteotomy: 2 case reports, *The Journal of hand surgery*, 37 (2012) 477-480.
- [25] A.S. Coetzee, Regeneration of bone in the presence of calcium sulfate, *Archives of Otolaryngology*, 106 (1980) 405-409.
- [26] S. Parikh, Bone graft substitutes: past, present, future, *Journal of postgraduate medicine*, 48 (2002) 142.
- [27] A.N. Christensen, M. Olesen, Y. Cerenius, T.R. Jensen, Formation and Transformation of Five Different Phases in the $\text{CaSO}_4\text{-H}_2\text{O}$ System: Crystal Structure of the Subhydrate $\beta\text{-CaSO}_4\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ and Soluble Anhydrite CaSO_4 , *Chemistry of Materials*, 20 (2008) 2124-2132.
- [28] V.S. Ramachandran, R.M. Paroli, J.J. Beaudoin, A.H. Delgado, *Handbook of thermal analysis of construction materials*, William Andrew 2002.
- [29] J.R. Clifton, Thermal analysis of calcium sulfate dihydrate and supposed a and b forms of calcium sulfate from 25 to 500 C, *J Res Natl Bur Stand-A*, 76 (1972) 41-49.
- [30] G. Thomas, Thermal properties of gypsum plasterboard at high temperatures, *Fire and materials*, 26 (2002) 37-45.
- [31] Q. Yu, H. Brouwers, Thermal properties and microstructure of gypsum board and its dehydration products: a theoretical and experimental investigation, *Fire and materials*, 36 (2012) 575-589.
- [32] S. Mistry, S. Roy, N.J. Maitra, B. Kundu, A. Chanda, S. Datta, M. Joy, A novel, multi-barrier, drug eluting calcium sulfate/biphasic calcium phosphate biodegradable composite bone cement for treatment of experimental MRSA osteomyelitis in rabbit model, *Journal of Controlled Release*, 239 (2016) 169-181.
- [33] S. Del Valle, N. Miño, F. Muñoz, A. González, J.A. Planell, M.-P. Ginebra, In vivo evaluation of an injectable macroporous calcium phosphate cement, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18 (2007) 353-361.
- [34] G.M. Calori, E. Mazza, M. Colombo, C. Ripamonti, The use of bone-graft substitutes in large bone defects: Any specific needs?, *Injury*, 42 (2011) S56-S63.
- [35] M. Nilsson, J.-S. Wang, L. Wielanek, K. Tanner, L. Lidgren, Biodegradation and biocompatibility of a calcium sulphate-hydroxyapatite bone substitute, *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 86 (2004) 120-125.
- [36] L.F. Peltier, The use of plaster of paris to fill large defects in bone: A preliminary report, *The American Journal of Surgery*, 97 (1959) 311-315.
- [37] D. Stubbs, M. Deakin, P. Chapman-Sheath, W. Bruce, J. Debes, R.M. Gillies, W.R. Walsh, In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model, *Biomaterials*, 25 (2004) 5037-5044.

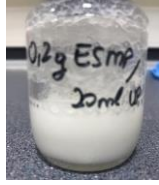
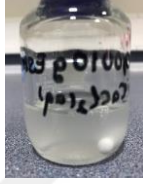
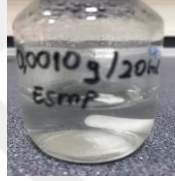
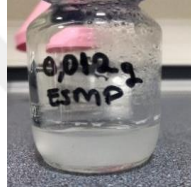
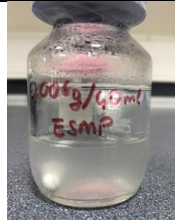
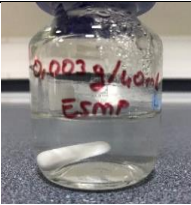
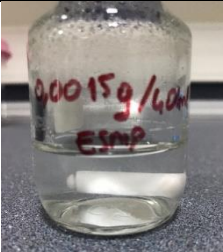
- [38] A. Biomaterials, BIPHASIC CALCIUM SULFATE, 2019, August 27.
- [39] Z. Pan, Y. Lou, G. Yang, X. Ni, M. Chen, H. Xu, X. Miao, J. Liu, C. Hu, Q. Huang, Preparation of calcium sulfate dihydrate and calcium sulfate hemihydrate with controllable crystal morphology by using ethanol additive, *Ceramics International*, 39 (2013) 5495-5502.
- [40] L. Fu, W. Xia, T. Mellgren, M. Moge, H. Engqvist, Preparation of High Percentage α -Calcium Sulfate Hemihydrate via a Hydrothermal Method, *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 8 (2016) 36-49.
- [41] Y.-W. Wang, Y.-Y. Kim, H.K. Christenson, F.C. Meldrum, A new precipitation pathway for calcium sulfate dihydrate (gypsum) via amorphous and hemihydrate intermediates, *Chemical Communications*, 48 (2012) 504-506.
- [42] J.-C. Yang, H.-D. Wu, N.-C. Teng, D.-Y. Ji, S.-Y. Lee, Novel attempts for the synthesis of calcium sulfate hydrates in calcium chloride solutions under atmospheric conditions, *Ceramics International*, 38 (2012) 381-387.
- [43] Y. Nys, J. Gautron, Structure and formation of the eggshell, *Bioactive egg compounds*, Springer 2007, pp. 99-102.
- [44] D. Oliveira, P. Benelli, E. Amante, A literature review on adding value to solid residues: egg shells, *Journal of Cleaner Production*, 46 (2013) 42-47.
- [45] A. Laca, B. Paredes, M. Rendueles, M. Díaz, Egg yolk granules: Separation, characteristics and applications in food industry, *LWT-Food Science and Technology*, 59 (2014) 1-5.
- [46] A. Laca, B. Paredes, M. Rendueles, M. Díaz, Egg yolk plasma: Separation, characteristics and future prospects, *LWT-Food Science and Technology*, 62 (2015) 7-10.
- [47] S. Ramesh, A.N. Natasha, C.Y. Tan, L.T. Bang, S. Ramesh, C.Y. Ching, H. Chandran, Direct conversion of eggshell to hydroxyapatite ceramic by a sintering method, *Ceramics International*, 42 (2016) 7824-7829.
- [48] O.A.A. Eletta, O.A. Ajayi, O.O. Ogunleye, I.C. Akpan, Adsorption of cyanide from aqueous solution using calcinated eggshells: Equilibrium and optimisation studies, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4 (2016) 1367-1375.
- [49] M. Baláž, Eggshell membrane biomaterial as a platform for applications in materials science, *Acta Biomaterialia*, 10 (2014) 3827-3843.
- [50] S. Park, K.S. Choi, D. Lee, D. Kim, K.T. Lim, K.-H. Lee, H. Seonwoo, J. Kim, Eggshell membrane: Review and impact on engineering, *Biosystems Engineering*, 151 (2016) 446-463.
- [51] M.J. Quina, M.A.R. Soares, R. Quinta-Ferreira, Applications of industrial eggshell as a valuable anthropogenic resource, *Resources, Conservation and Recycling*, 123 (2017) 176-186.
- [52] Y.H. Tan, M.O. Abdullah, C. Nolasco-Hipolito, The potential of waste cooking oil-based biodiesel using heterogeneous catalyst derived from various calcined eggshells coupled with an emulsification technique: A review on the emission reduction and engine performance, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47 (2015) 589-603.
- [53] U.S.D.o. Agriculture, Egg Grading Manual, 2019 August 27.
- [54] D. Robinson, N. King, Carbonic anhydrase and formation of the hen's egg shell, *Nature*, 199 (1963) 497.
- [55] J. Wong Liong, J. Frank, S. Bailey, Visualization of eggshell membranes and their interaction with *Salmonella enteritidis* using confocal scanning laser microscopy, *Journal of food protection*, 60 (1997) 1022-1028.

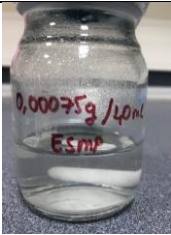
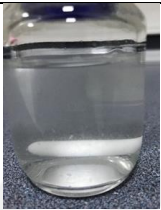
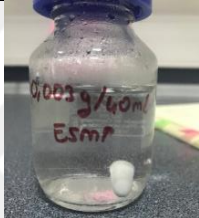
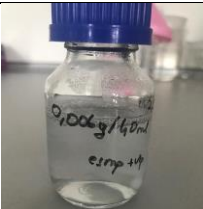
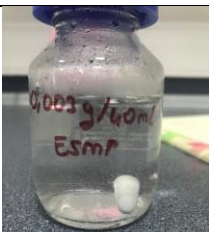
- [56] J.L. Arias, D.J. Fink, S.-Q. Xiao, A.H. Heuer, A.I. Caplan, Biom mineralization and eggshells: cell-mediated acellular compartments of mineralized extracellular matrix, *International review of cytology*, Elsevier 1993, pp. 217-250.
- [57] Y. Nys, J. Gautron, J.M. Garcia-Ruiz, M.T. Hincke, Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins, *Comptes Rendus Palevol*, 3 (2004) 549-562.
- [58] M.T. Hincke, Y. Nys, J. Gautron, The role of matrix proteins in eggshell formation, *The journal of poultry science*, (2010) 1003100050-1003100050.
- [59] R. Bellairs, A. Boyde, Scanning electron microscopy of the shell membranes of the hen's egg, *Cell and Tissue Research*, 96 (1969) 237-249.
- [60] F.G. Torres, O.P. Troncoso, F. Piaggio, A. Hajar, Structure–property relationships of a biopolymer network: The eggshell membrane, *Acta biomaterialia*, 6 (2010) 3687-3693.
- [61] R.M. Leach Jr, Biochemistry of the organic matrix of the eggshell, *Poultry Science*, 61 (1982) 2040-2047.
- [62] J.L. Arias, M.S. Fernandez, J.E. Dennis, A.I. Caplan, Collagens of the chicken eggshell membranes, *Connective tissue research*, 26 (1991) 37-45.
- [63] E.D. Harris, J.E. Blount, R.M. Leach, Localization of lysyl oxidase in hen oviduct: implications in egg shell membrane formation and composition, *Science*, 208 (1980) 55-56.
- [64] M.S. Fernandez, M. Araya, J.L. Arias, Eggshells are shaped by a precise spatio-temporal arrangement of sequentially deposited macromolecules, *Matrix Biology*, 16 (1997) 13-20.
- [65] K. Mann, J.V. Olsen, B. Maček, F. Gnad, M. Mann, Phosphoproteins of the chicken eggshell calcified layer, *PROTEOMICS*, 7 (2007) 106-115.
- [66] M. Wong, M.J.C. Hendrix, K. von der Mark, C. Little, R. Stern, Collagen in the egg shell membranes of the hen, *Developmental Biology*, 104 (1984) 28-36.
- [67] J.L. Arias, O. Nakamura, M.S. Fernández, J.J. Wu, P. Knigge, D.R. Eyre, A.I. Caplan, Role of Type X Collagen on Experimental Mineralization of Eggshell Membranes, *Connective Tissue Research*, 36 (1997) 21-33.
- [68] X. Wang, B. Ford, C. Praul, R. Leach, Jr, Collagen X expression in oviduct tissue during the different stages of the egg laying cycle, *Poultry Science*, 81 (2002) 805-808.
- [69] F.G. Torres, O.P. Troncoso, M.R. Montes, The effect of temperature on the mechanical properties of a protein-based biopolymer network, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 111 (2013) 1921-1925.
- [70] C.I. Osuji, Acid glycosaminoglycan of eggshell membranes, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 244 (1971) 481-483.
- [71] T.-M. Wu, J.P. Rodriguez, D.J. Fink, D.A. Carrino, J. Blackwell, A.I. Caplan, A.H. Heuer, Crystallization studies on avian eggshell membranes: Implications for the molecular factors controlling eggshell formation, *Matrix Biology*, 14 (1995) 507-513.
- [72] K. Maeda, Y. Sasaki, An experience of hen-egg membrane as a biological dressing, *Burns*, 8 (1982) 313-316.
- [73] G.D. Mogoşanu, A.M. Grumezescu, Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing, *International Journal of Pharmaceutics*, 463 (2014) 127-136.
- [74] K.J. Ruff, D.P. DeVore, M.D. Leu, M.A. Robinson, Eggshell membrane: a possible new natural therapeutic for joint and connective tissue disorders. Results from two open-label human clinical studies, *Clin Interv Aging*, 4 (2009) 235-240.
- [75] K.J. Ruff, A. Winkler, R.W. Jackson, D.P. DeVore, B.W. Ritz, Eggshell membrane in the treatment of pain and stiffness from osteoarthritis of the knee: a randomized,

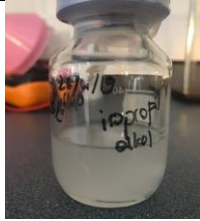
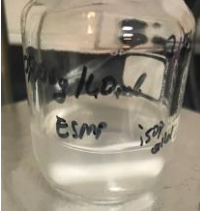
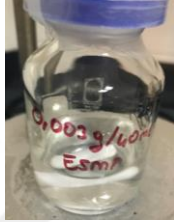
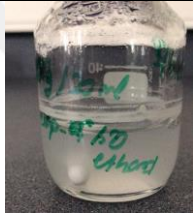
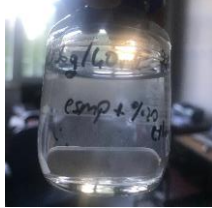
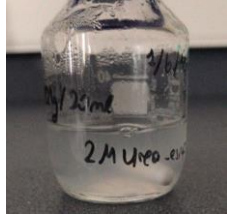
- multicenter, double-blind, placebo-controlled clinical study, *Clinical Rheumatology*, 28 (2009) 907-914.
- [76] G.H. Farjah, B. Heshmatian, M. Karimipour, A. Saberi, Using eggshell membrane as nerve guide channels in peripheral nerve regeneration, *Iran J Basic Med Sci*, 16 (2013) 901-905.
- [77] Y. Tao, Y. Lu, Y. Sun, B. Gu, W. Lu, J. Pan, Development of mucoadhesive microspheres of acyclovir with enhanced bioavailability, *International Journal of Pharmaceutics*, 378 (2009) 30-36.
- [78] P.S. Devi, S. Banerjee, S.R. Chowdhury, G.S. Kumar, Eggshell membrane: a natural biotemplate to synthesize fluorescent gold nanoparticles, *RSC Advances*, 2 (2012) 11578-11585.
- [79] H. Su, F. Song, Q. Dong, T. Li, X. Zhang, D. Zhang, Bio-inspired synthesis of ZnO polyhedral single crystals under eggshell membrane direction, *Applied Physics A*, 104 (2011) 269-274.
- [80] N. Li, L.-n. Niu, Y.-p. Qi, C.K. Yiu, H. Ryou, D.D. Arola, J.-h. Chen, D.H. Pashley, F.R. Tay, Subtleties of biomineralisation revealed by manipulation of the eggshell membrane, *Biomaterials*, 32 (2011) 8743-8752.
- [81] S. Yoo, J.S. Hsieh, P. Zou, J. Kokoszka, Utilization of calcium carbonate particles from eggshell waste as coating pigments for ink-jet printing paper, *Bioresource technology*, 100 (2009) 6416-6421.
- [82] V. Vlad, Eggshell membrane separation method, Google Patents, 2009.
- [83] F. Yi, Z.-X. Guo, L.-X. Zhang, J. Yu, Q. Li, Soluble eggshell membrane protein: preparation, characterization and biocompatibility, *Biomaterials*, 25 (2004) 4591-4599.
- [84] I. Mikšík, P. Sedláková, K. Lacinová, S. Pataridis, A. Eckhardt, Determination of insoluble avian eggshell matrix proteins, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397 (2010) 205-214.
- [85] T.A.E. Ahmed, H.-P. Suso, M.T. Hincke, In-depth comparative analysis of the chicken eggshell membrane proteome, *Journal of Proteomics*, 155 (2017) 49-62.
- [86] M. Rose-Martel, S. Smiley, M.T. Hincke, Novel identification of matrix proteins involved in calcitic biomineralization, *Journal of Proteomics*, 116 (2015) 81-96.
- [87] C.M. Cordeiro, M.T. Hincke, Quantitative proteomics analysis of eggshell membrane proteins during chick embryonic development, *Journal of proteomics*, 130 (2016) 11-25.
- [88] V.K. Kodali, S.A. Gannon, S. Paramasivam, S. Raje, T. Polenova, C. Thorpe, A novel disulfide-rich protein motif from avian eggshell membranes, *PLoS One*, 6 (2011) e18187.
- [89] M.K. Sah, S.N. Rath, Soluble eggshell membrane: A natural protein to improve the properties of biomaterials used for tissue engineering applications, *Materials Science and Engineering: C*, 67 (2016) 807-821.
- [90] F. Yi, J. Yu, Z.X. Guo, L.X. Zhang, Q. Li, Natural bioactive material: a preparation of soluble eggshell membrane protein, *Macromolecular Bioscience*, 3 (2003) 234-237.

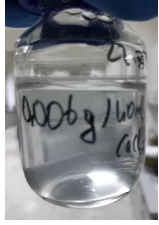
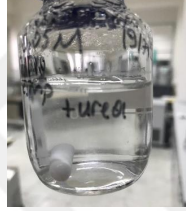
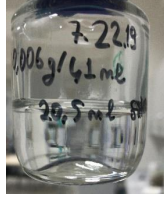
EKLER

EK 1 –YKZP Çözünürlük Çalışmaları

	Solüsyon	Konsantrasyon (mg/ml)	T(°C)	Solüsyon Görüntüsü
M1´	YKZP-Su	10.0	25	
M2´	YKZP-Su	0.050	25	
M1	YKZP-Su	0.050	25	
M2	YKZP-Su	0.600	37	
M3	YKZP-Su	0.150	37	
M4	YKZP-Su	0.075	37	
M4´	YKZP-Su	0.0375	37	

M4''	YKZP-Su	0.01875	37	
M5	YKZP-Su	0.600	50	
M6	YKZP-Su	0.150	50	
M7	YKZP-Su	0.075	50	
M7'	YKZP-Su	0.0375	50	
M8	YKZP-Su	0.600	25	
M9	YKZP-Su	0.150	25	
M10	YKZP-Su	0.075	25	

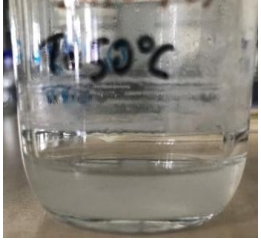
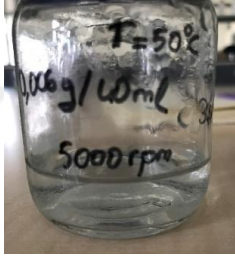
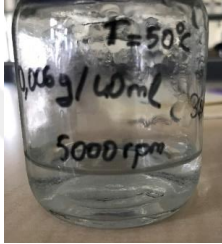
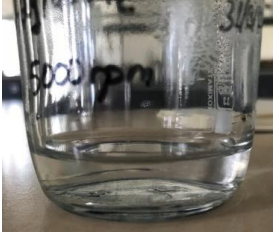
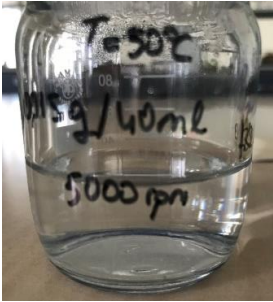
M11	YKZP-IPA	0.600	25	
M12	YKZP-IPA	0.150	25	
M12'	YKZP-IPA	0.075	25	
M12''	YKZP-Sitrik Asit	0.600	25	
M13	YKZP-Su-1ml EtOH	0.599	25	
M14	YKZP-Su-1ml EtOH	0.148	25	
M15	YKZP-2M Üre	0.600	25	
M16	YKZP-2M Üre	0.150	25	

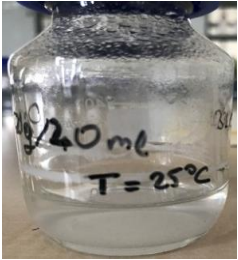
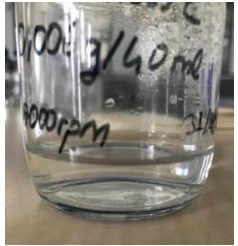
M17	YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)	0.600	25	
M18	YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)	0.150	25	
M19*	YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq) -F	0.150	25	
M20**	YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)-2M Üre	0.599	25	
M21**	YKZP-0.05 M CaCl ₂ (aq)-2M Üre -F	0.148	25	

*: (F):filtrelenmiş

**: 0.05M CaCl₂(aq) ve YKZP'li solüsyona 2ml 2M üre eklenmiştir.

EK 2 – Santrifüj Kullanılarak Yapılan YKZP Çözünürlük Çalışmaları

	Solüsyon	Konsantrasyon (mg/ml)	Santrifüj Karıştırma Hızı (rpm)	T(°C)	Solüsyon Görüntüsü
SM1	YKZP-Su	0.600	5000	50	
SM2	YKZP-Su	0.150	5000	50	
SM3	YKZP-Su	0.075	5000	50	
SM4	YKZP-Su	0.0375	5000	50	
SM5	YKZP-Su	0.600	7000	25	

SM6	YKZP-Su	0.150	7000	25	
SM7	YKZP-Su	0.075	7000	25	
SM8	YKZP-Su	0.0375	7000	25	

EK 3 – Kalsiyum sülfat hidrat tozları ve YKZP katkıli sertleşme çözeltileri karıştırılarak hazırlanan numunelerin mekanik testi yapılmak üzere hazırlanan kalıplar

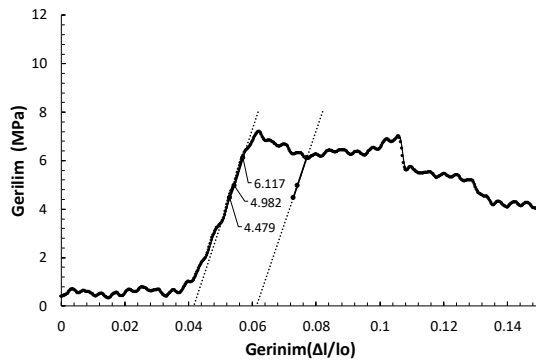
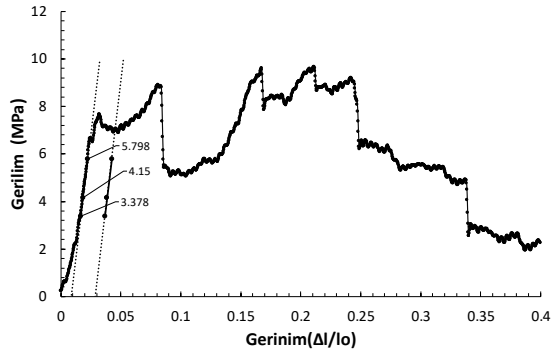
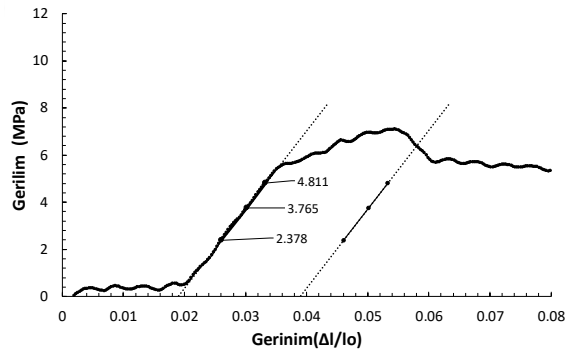
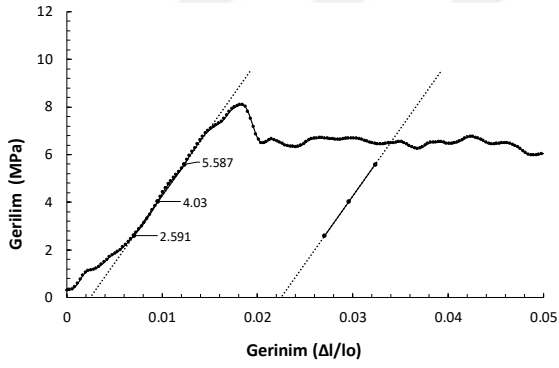
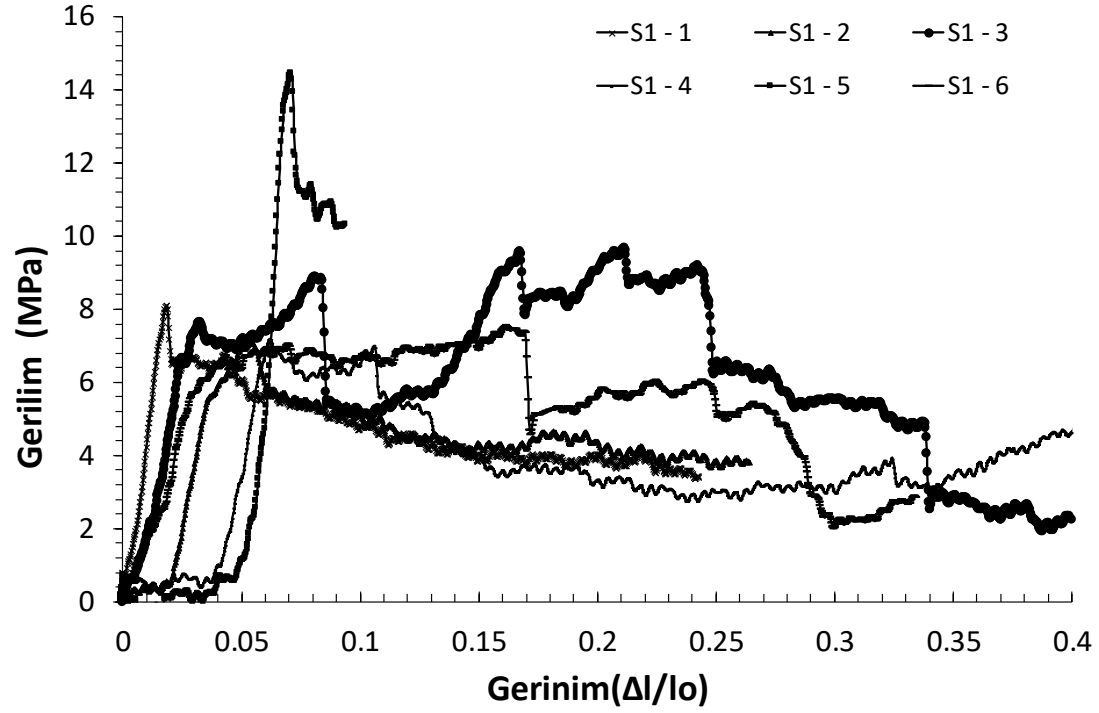
Çalışmanın bu kısmında mekanik testler için numune hazırlamak üzere ASTM F-451 – 99a standardında yer alan kalıp üretilmiştir. Başlangıç olarak, sertleşme tepkimesine henüz girmeyen PPTN1 ve PPTN3 toz fazları ile karıştırılan sertleşme çözeltilerinin kalıp içerisine kolay şekilde yerleştirilmesi göz önünde bulundurularak teflon malzemeden mekanik test kalıbı üretilmesine karar verilmiştir. Aynı zamanda kalıp içerisine yerleştirilen çimento sistemlerinin (toz fazı ve sıvı fazın karıştırılması) bekleme süresi sonunda kalıptan dışarı çıkarılmaları aşamasında test numunesinin kolay şekilde çıkarılabilmesi düşünülerek teflon malzemeden kalıp üretilmesine karar verilmiştir. Başlangıç olarak üretilen teflon ASTM F-451 – 99a mekanik basma test kalıbı yukarıda gösterilmiştir.

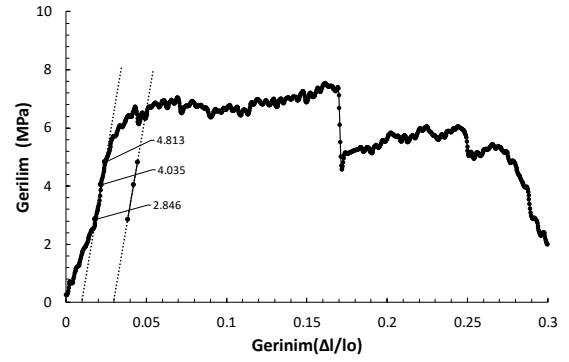
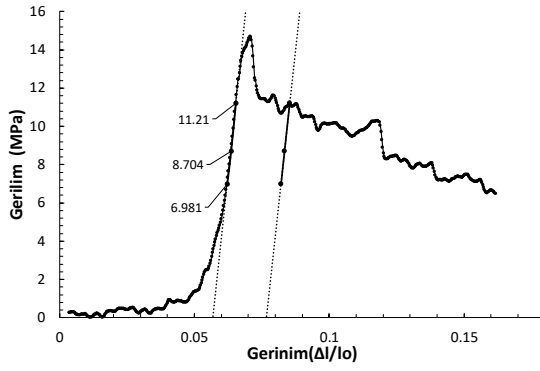


Şekil 5.1. Teflon malzemeden üretilen ASTM F-451 – 99a standardında mekanik basma testi kalıbı

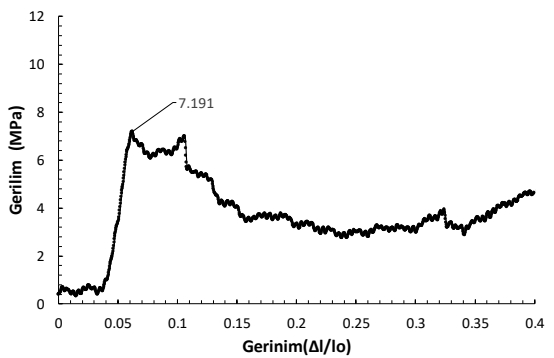
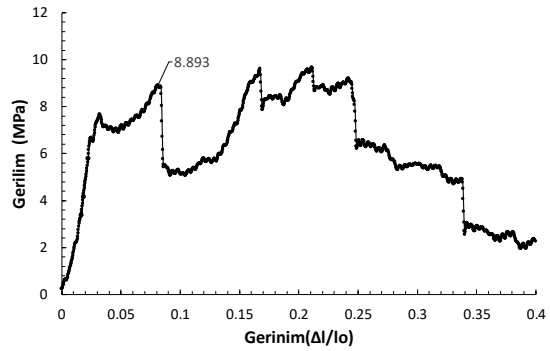
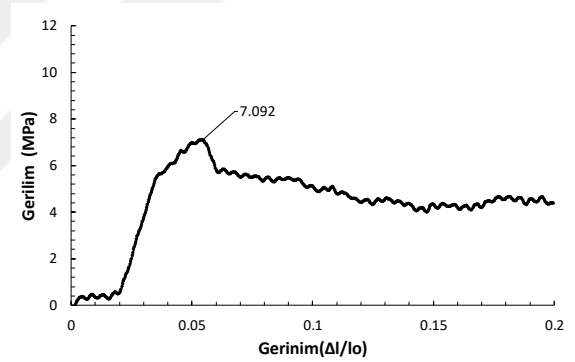
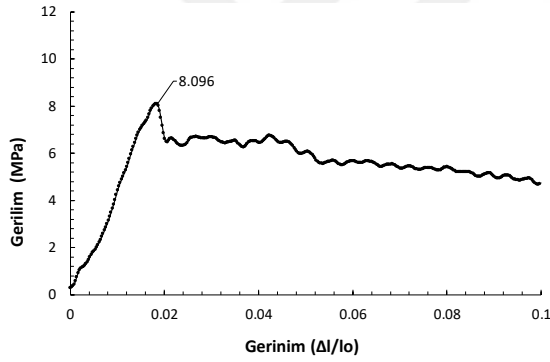
Ancak çalışmanın bu kısmında üretilen teflon kalıplardan hazırlanan numunelerin bekletilme süresi sonunda test numunelerinin üzerlerine müdahale edilmeden (kuvvet kullanılmadan) çıkarılması mümkün olmamıştır. Bu durumda test numuneleri teflon kalıplardan çıkarılırken kırılmalar veya test numunesi üzerinde pürüzler meydana gelmiştir. Bu nedenle paslanmaz çelik malzemeden ASTM F-451 – 99a standardında mekanik basma test kalıbı üretilmesine karar verilmiş ve sonraki çalışmalarda çelik malzemeden imal edilen mekanik basma test kalıbı kullanılmıştır.

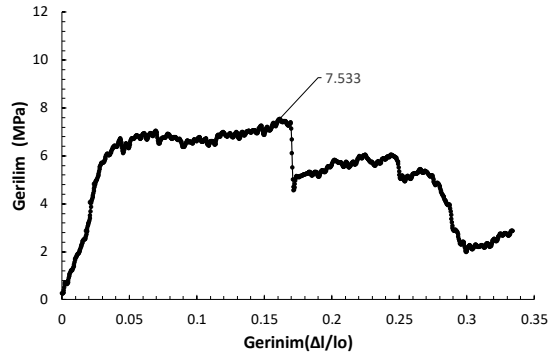
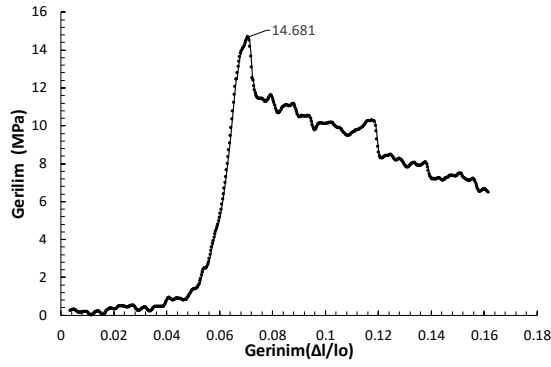
EK 4 – PPTN1 ve su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi



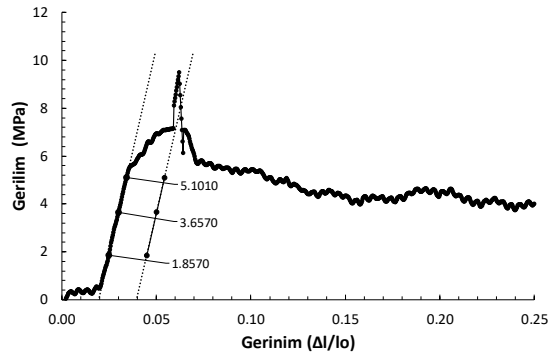
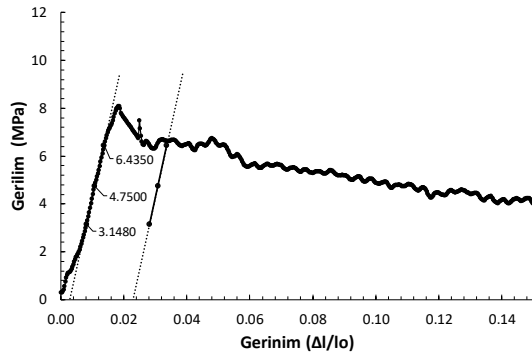
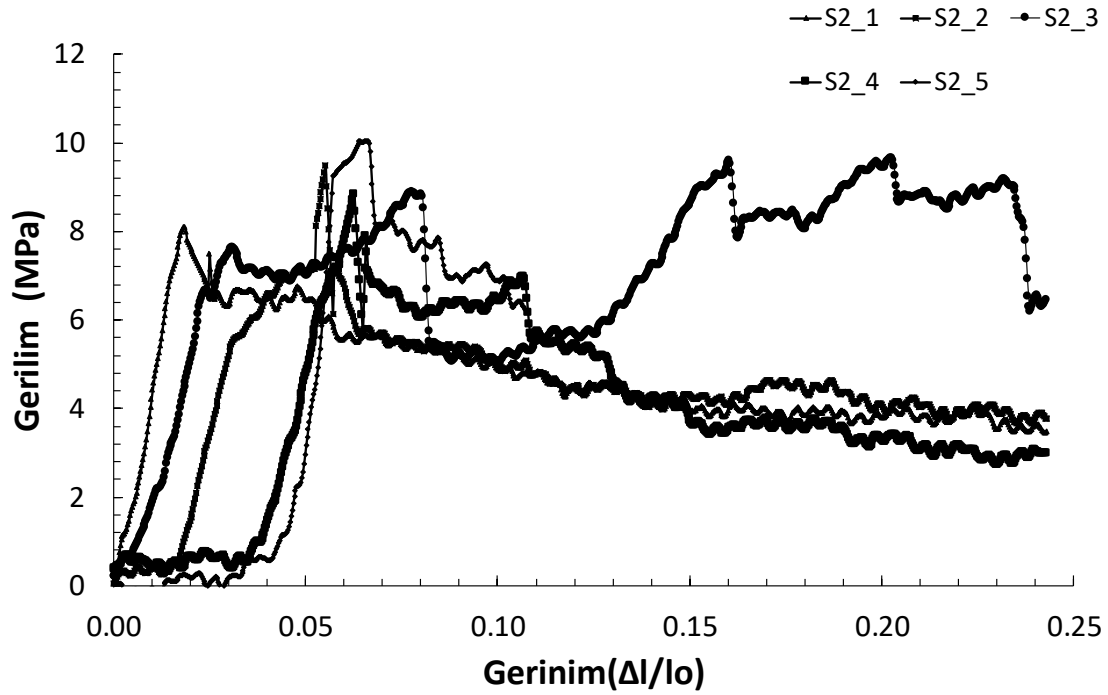


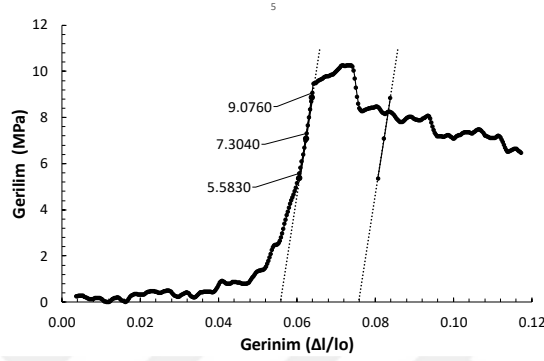
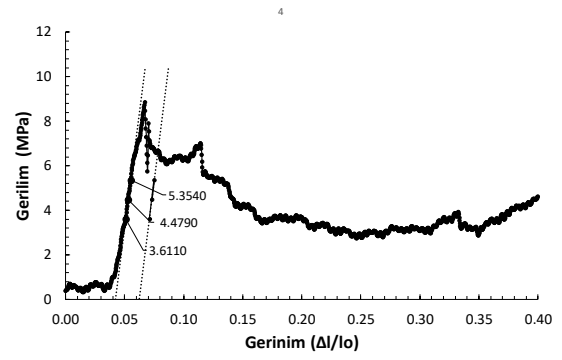
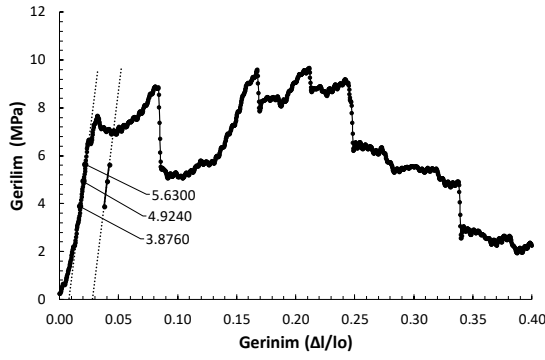
EK 5 – PPTN1 ve su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi



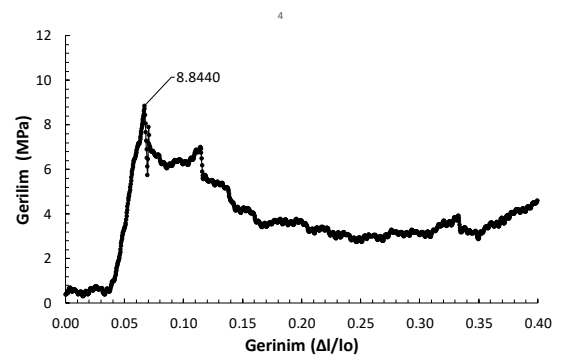
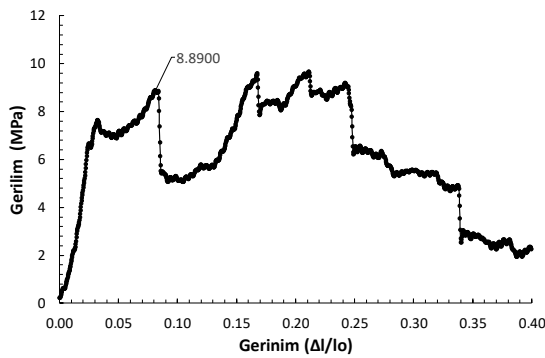
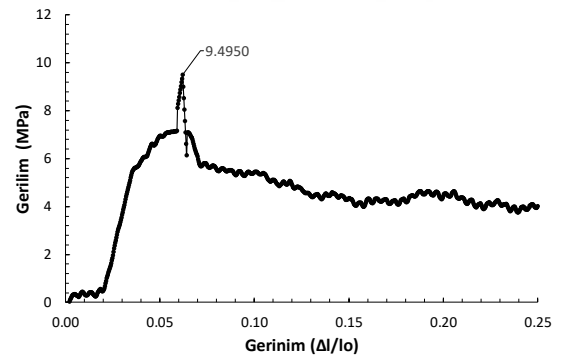
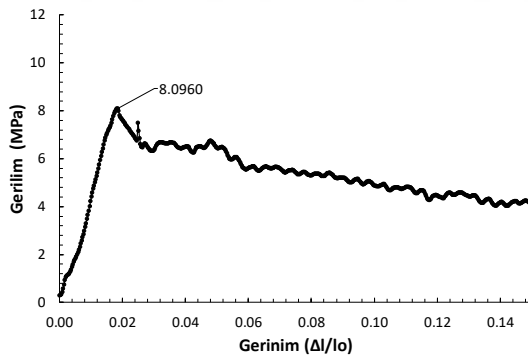


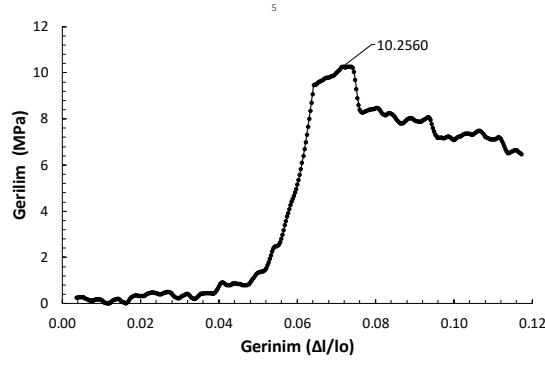
EK 6 – PPTN1 ve YKZP/su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi



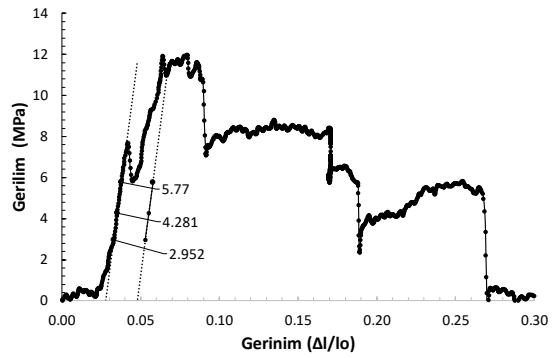
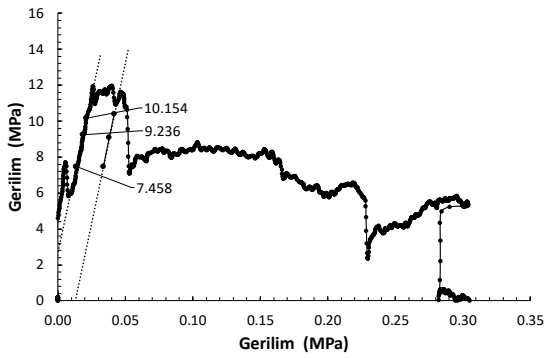
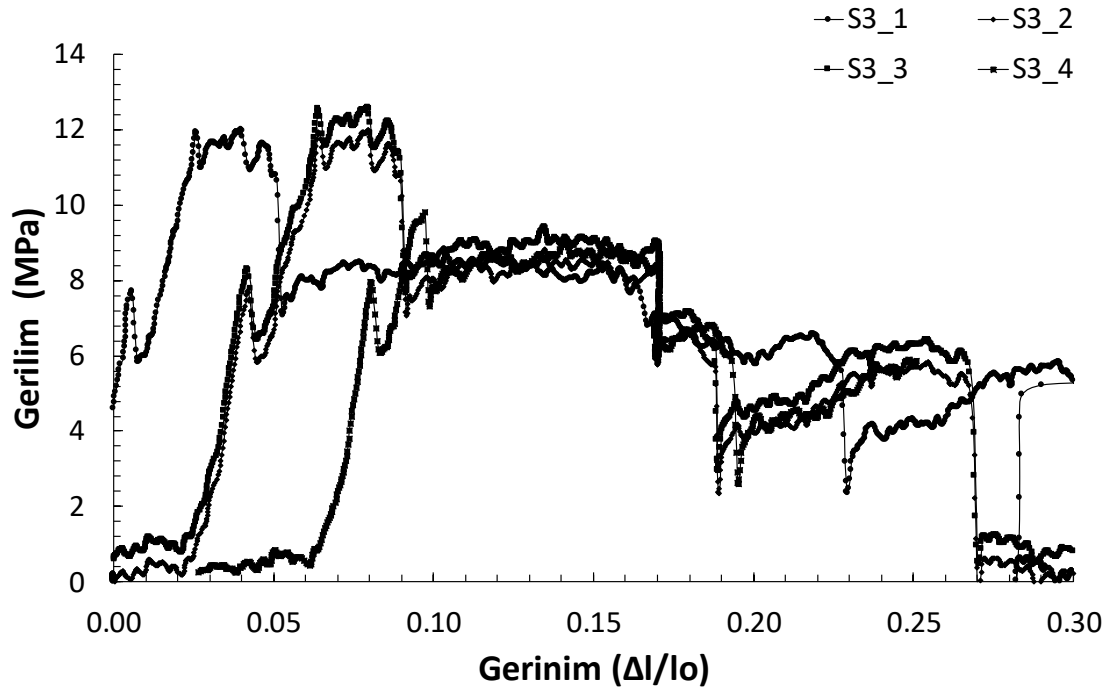


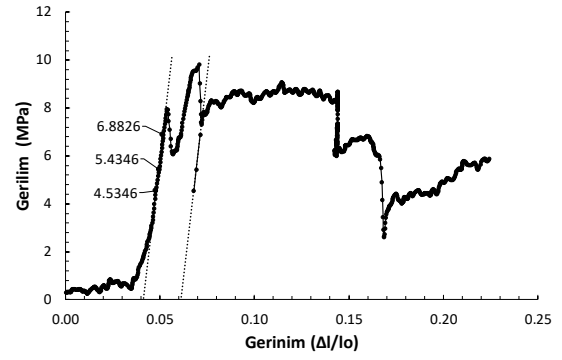
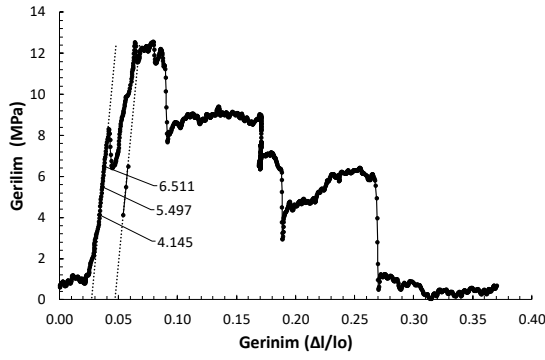
EK 7 – PPTN1 ve YKZP/su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi



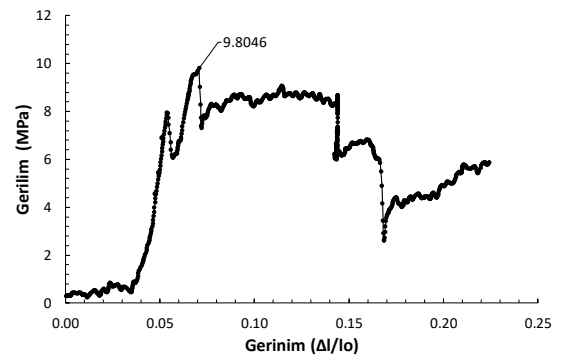
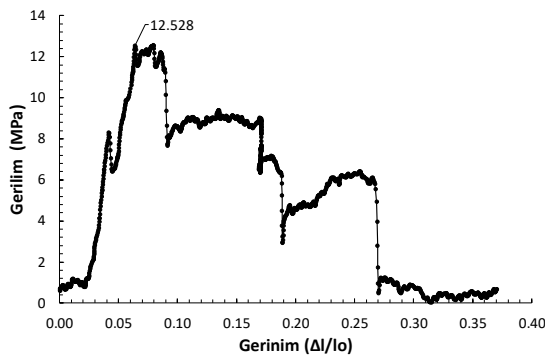
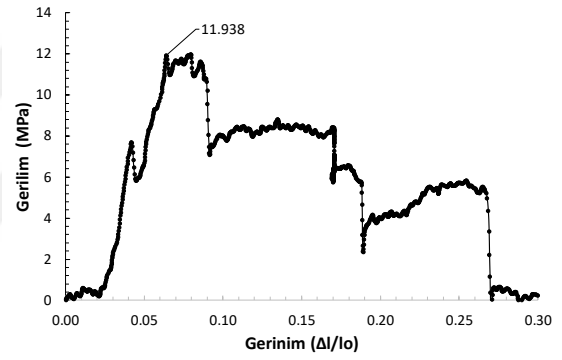
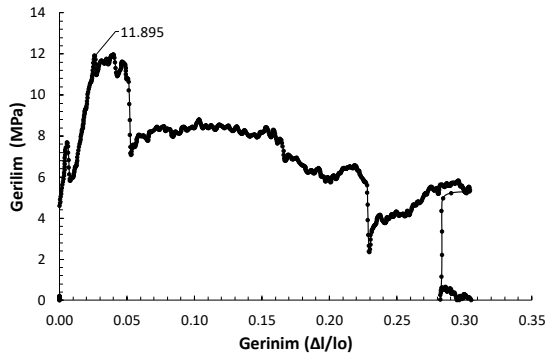


EK 8 – PPTN1 ve CaCl_2 (aq)/YKZP ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve %2 öteleme yöntemi ile mekanik dayanım değerlendirme yöntemi

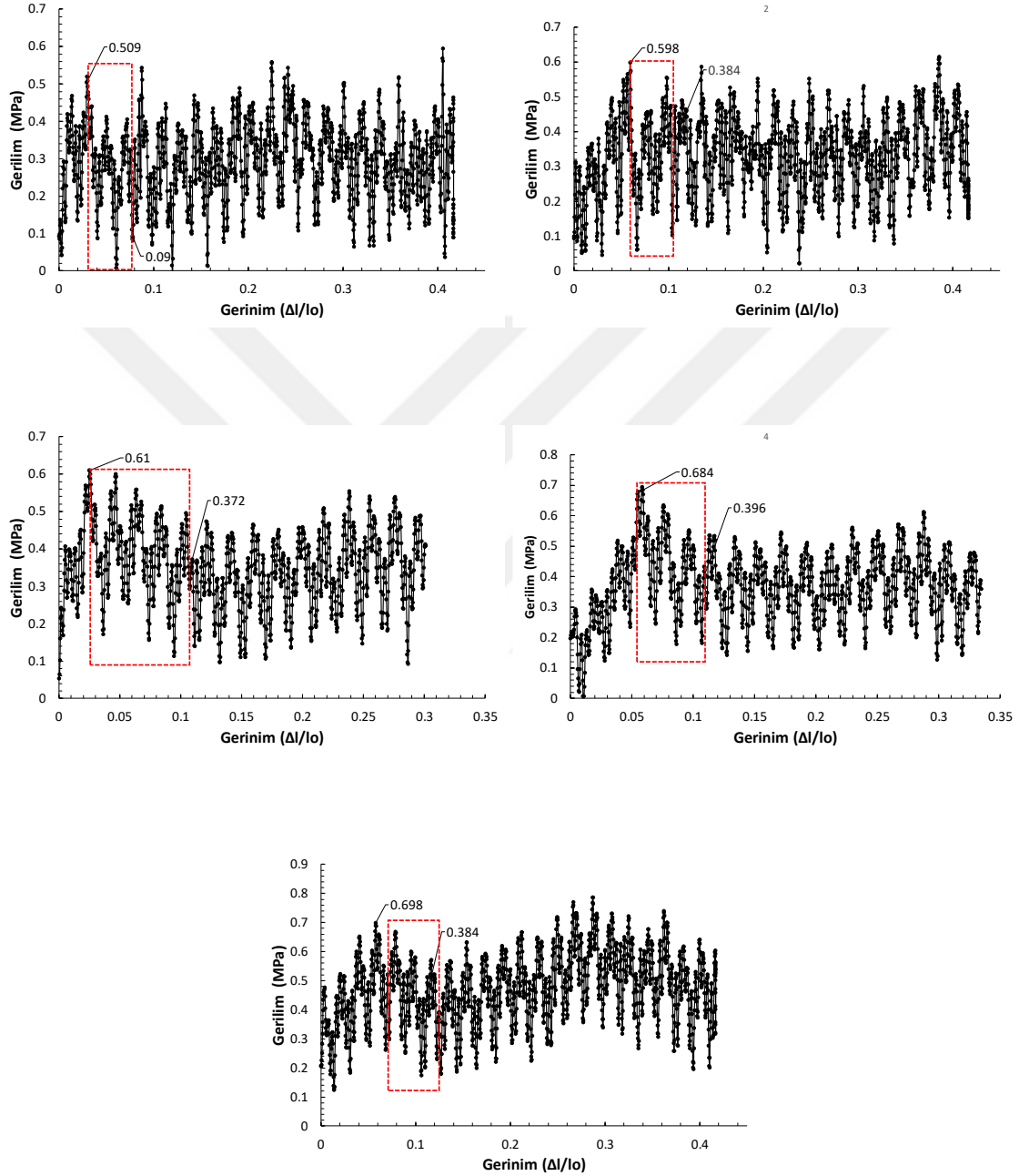




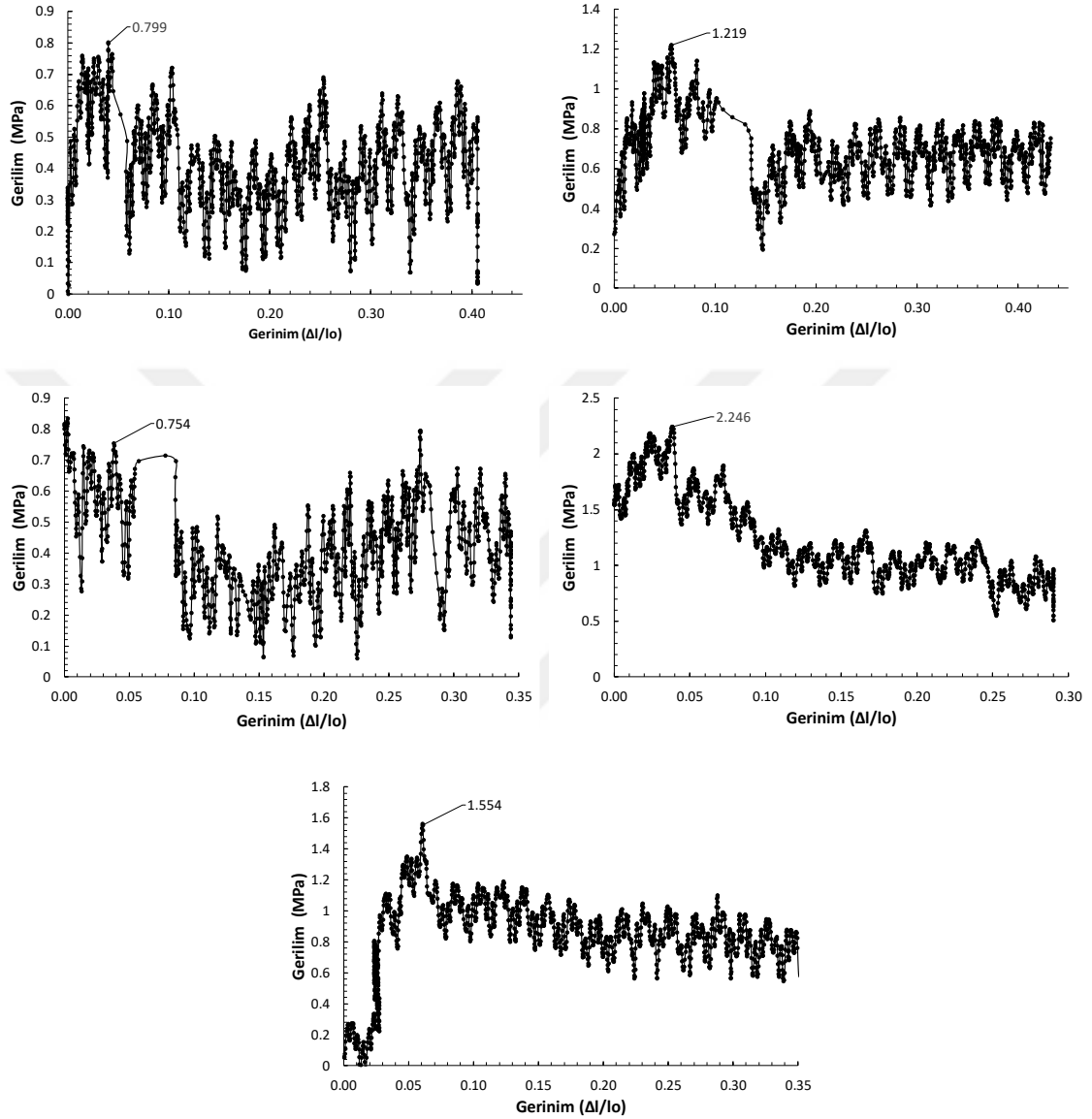
EK 9 – PPTN1 ve YKZP/su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi



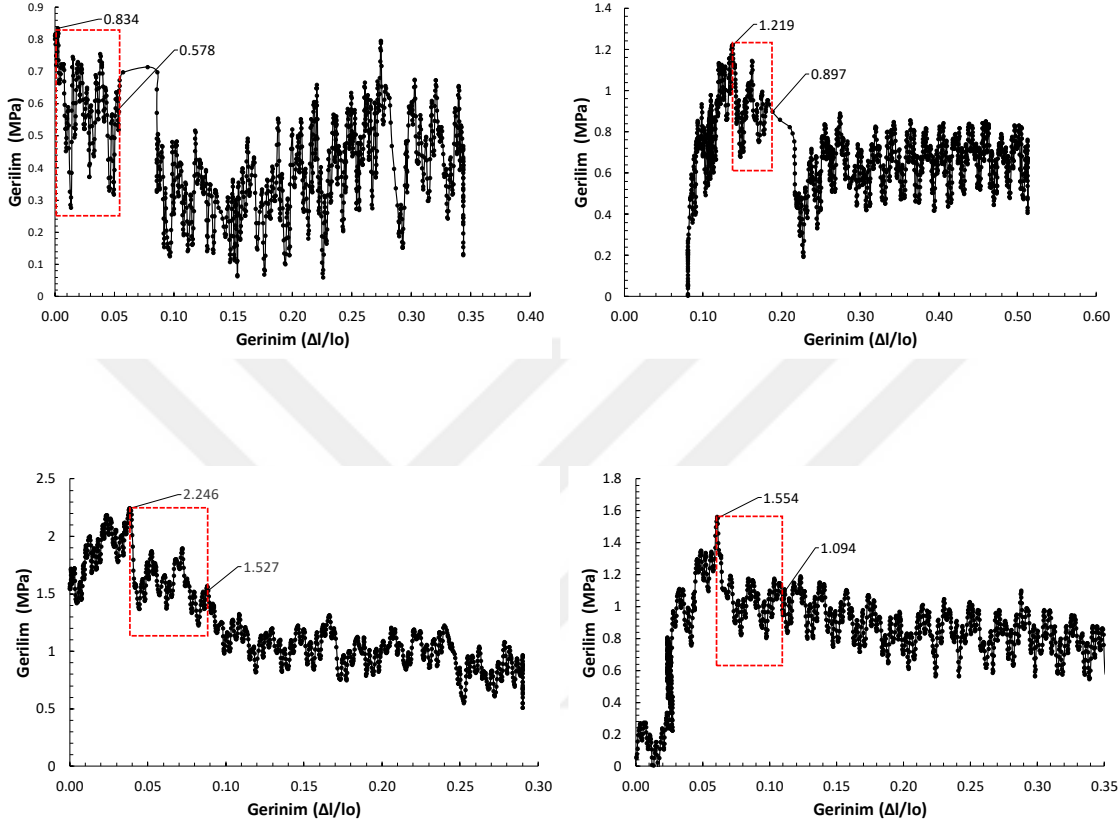
EK 10 – PPTN3 ve su ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi



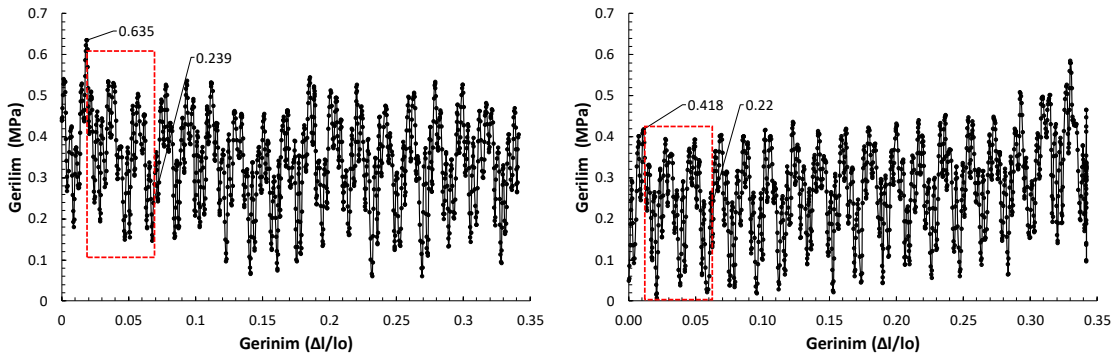
EK 11 – PPTN3 ve su/YKZP ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi

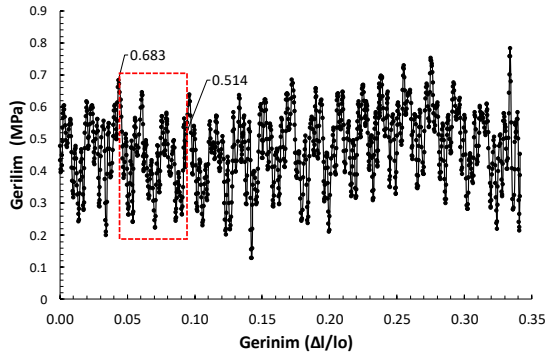
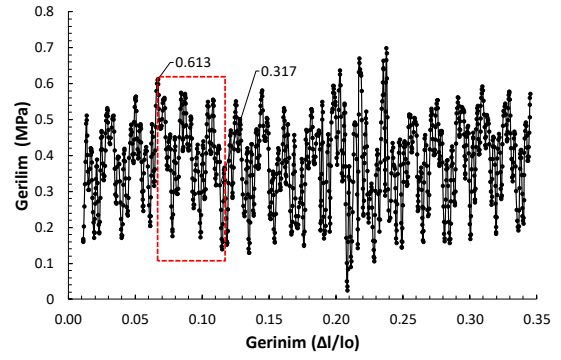
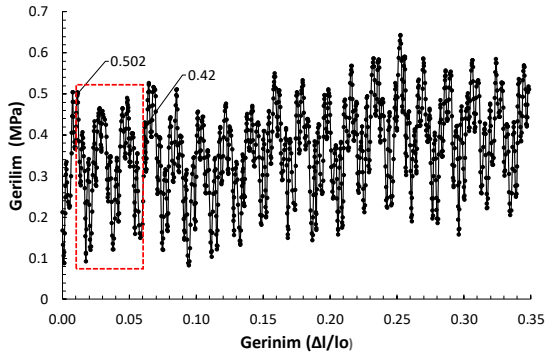


EK 12 – PPTN3 ve su/YKZP ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi

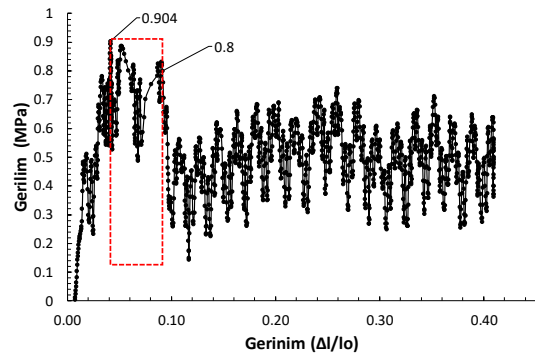
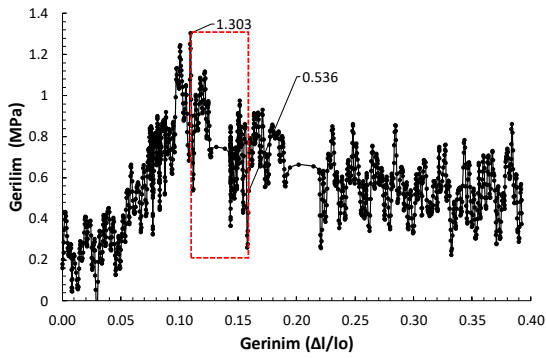


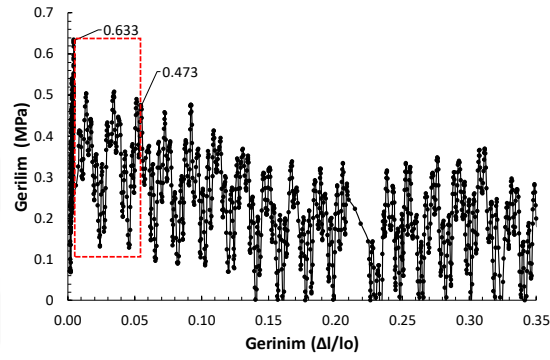
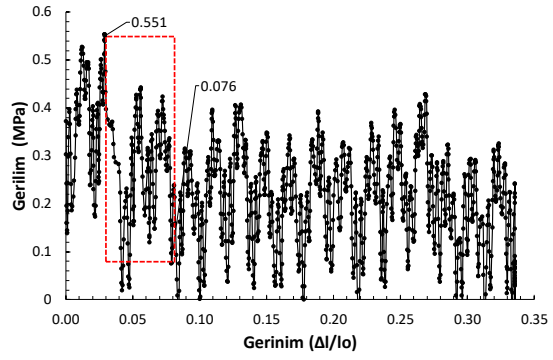
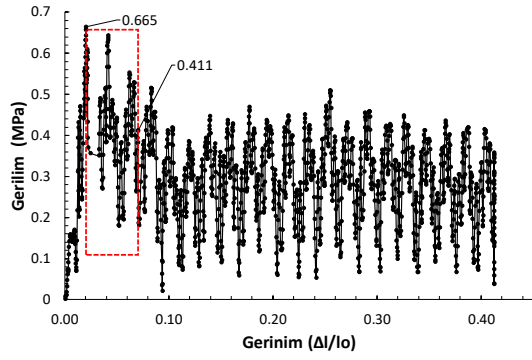
EK 13 – PPTN3 ve Su/YKZP/üre ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi



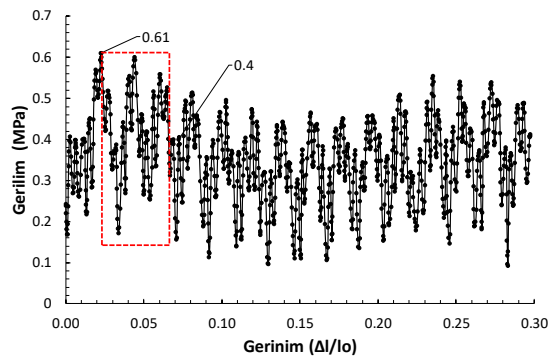
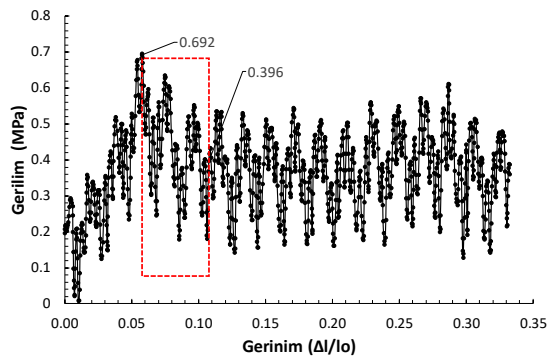


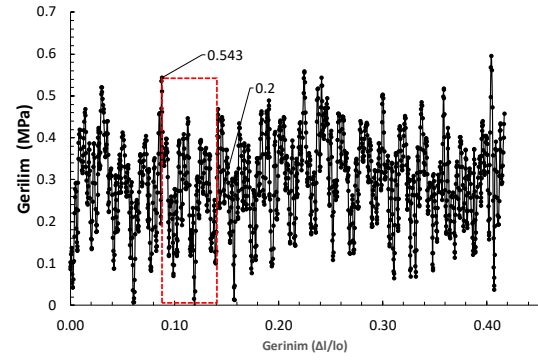
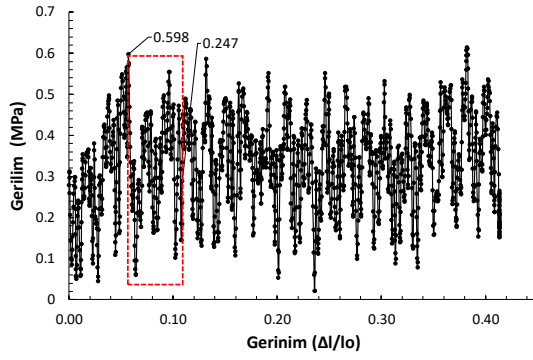
EK 14 – PPTN3 ve Su/YKZP/EtOH ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirilmesi



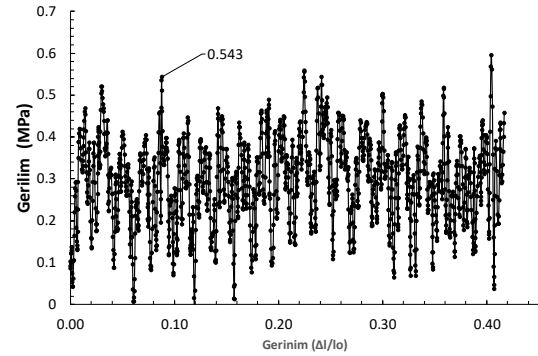
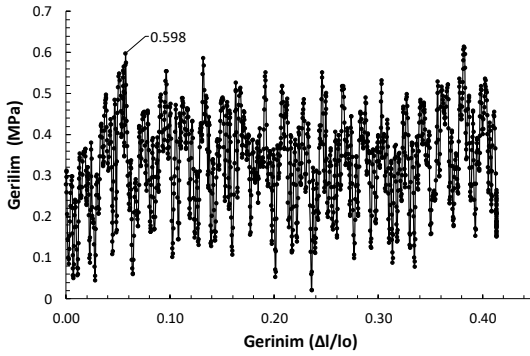
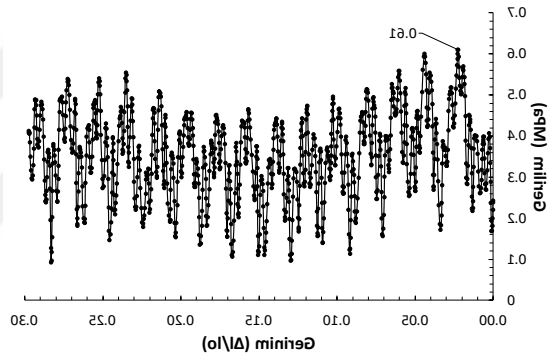
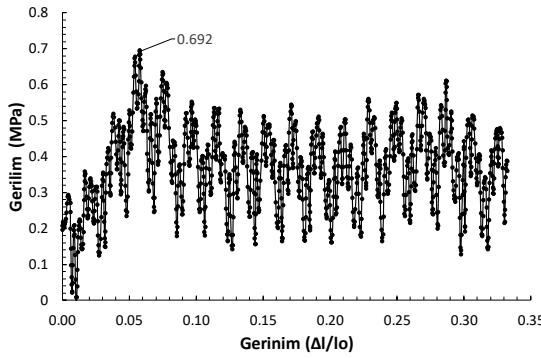


EK 15 – PPTN3 ve CaCl_2 (aq) ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve % 5 ortalama alma mekanik dayanım değerlendirmesi

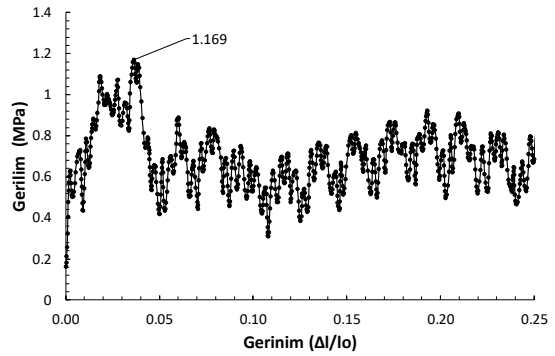
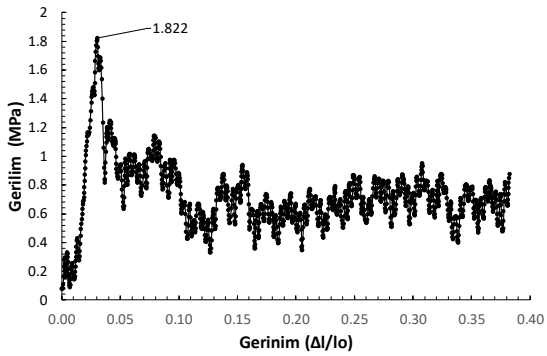
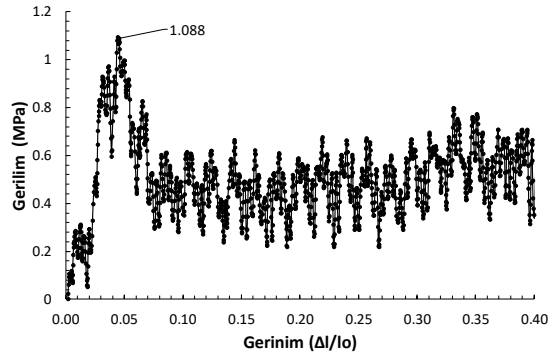
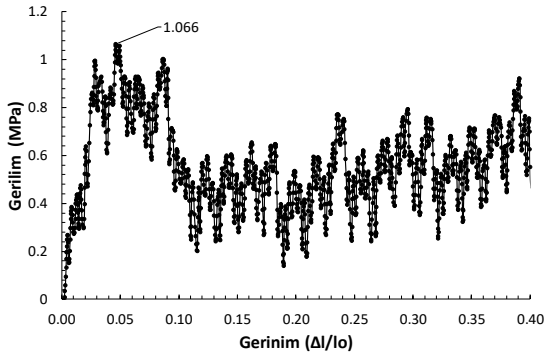
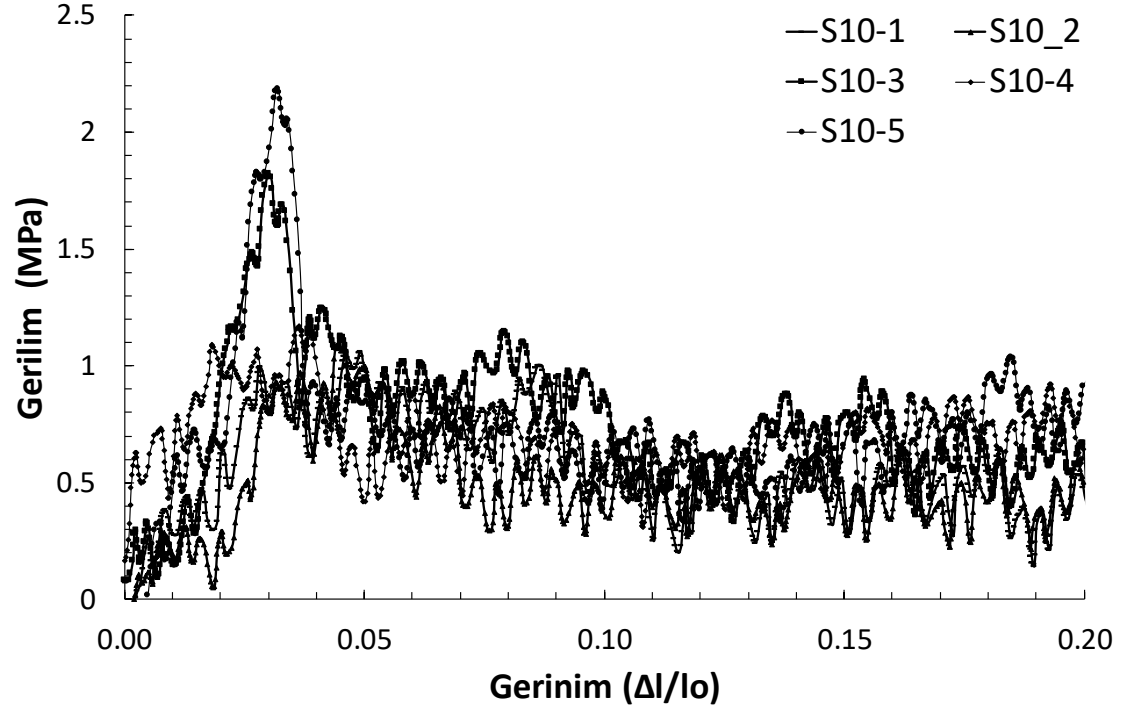


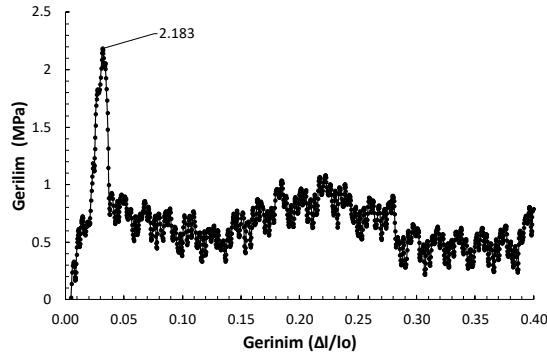


EK 16 – PPTN3 ve CaCl₂ (aq) ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirilmesi

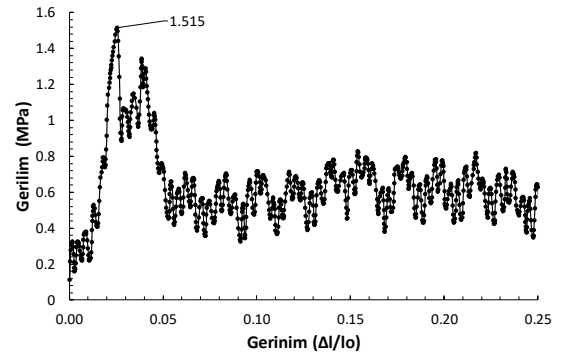
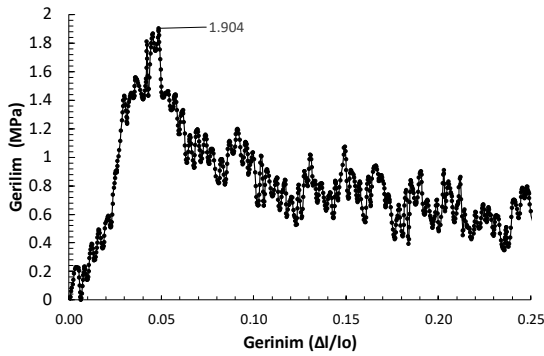
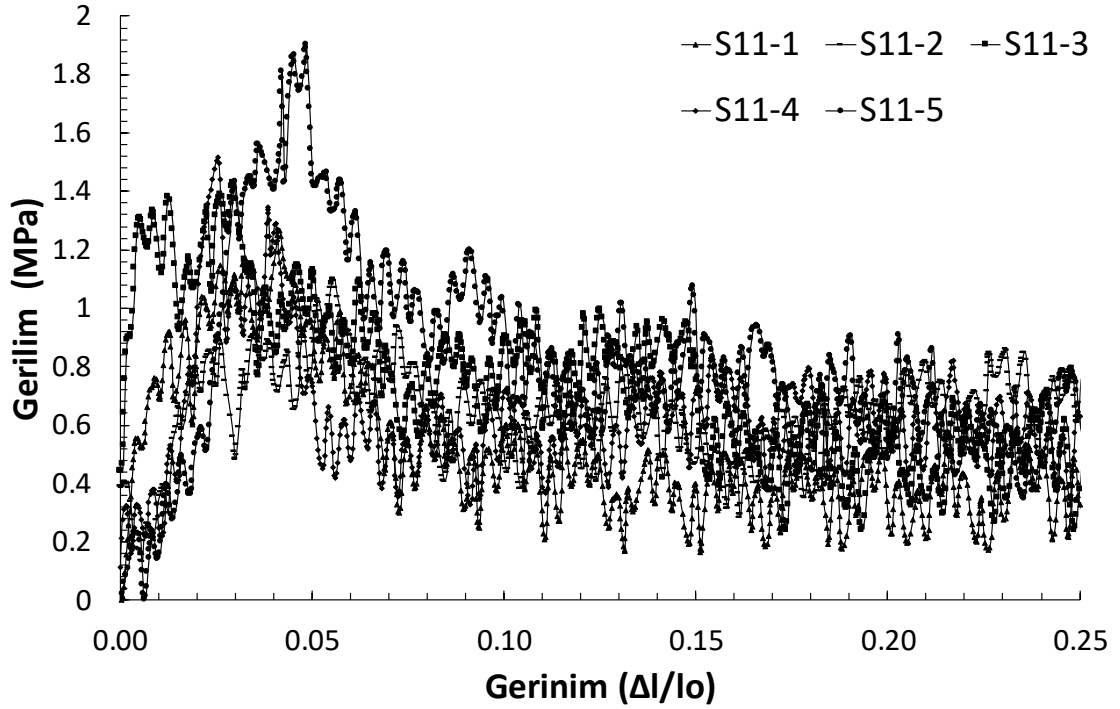


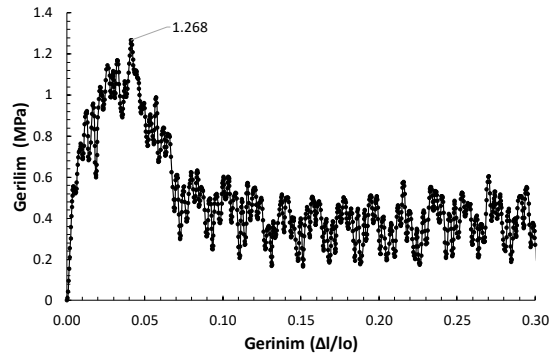
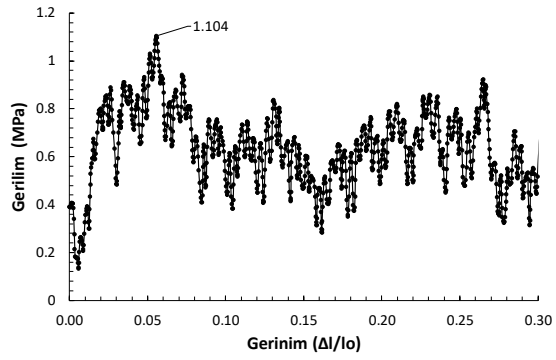
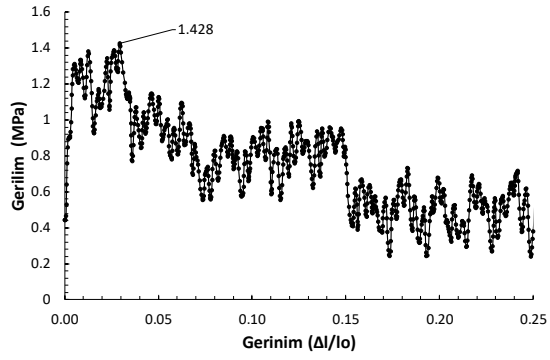
EK 17 – PPTN3 tozu ve CaCl_2 (aq)/YKZP solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi



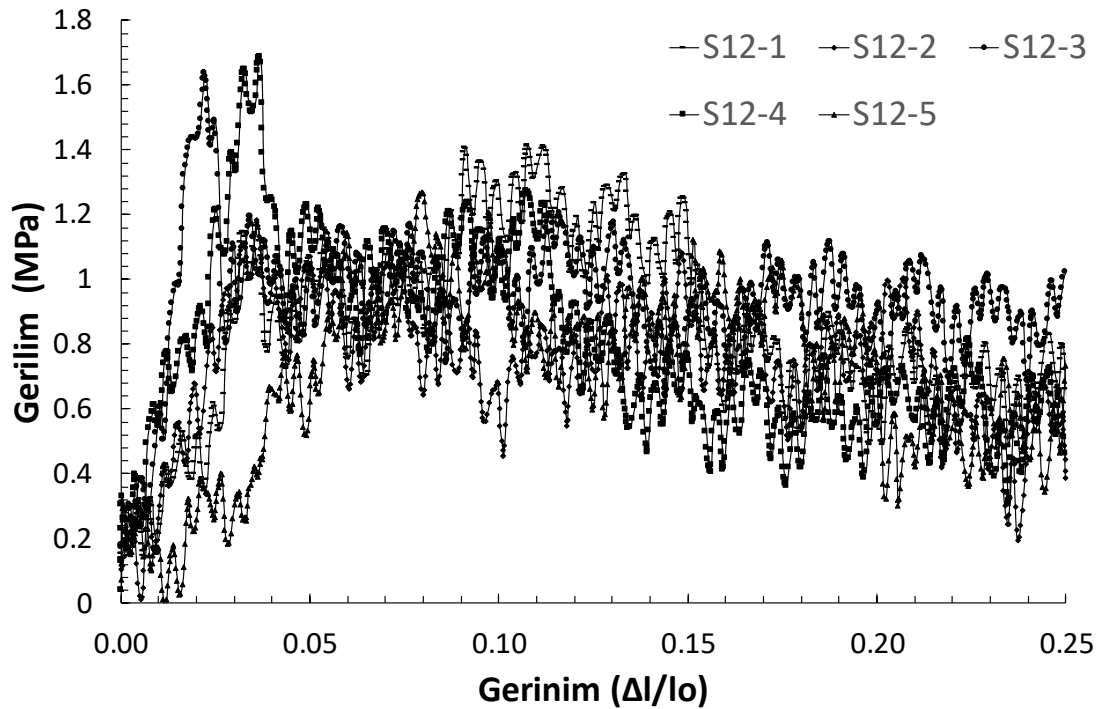


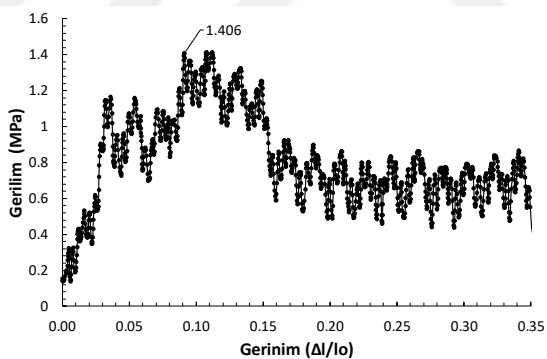
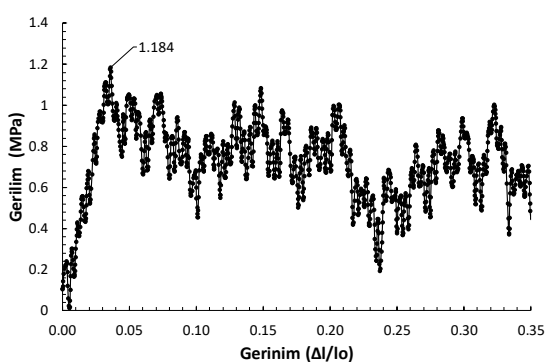
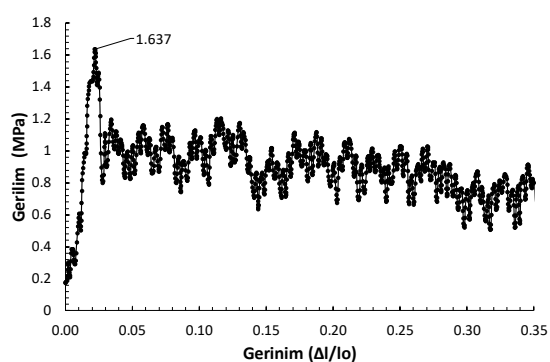
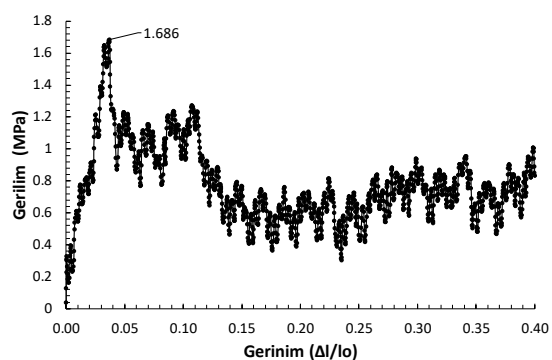
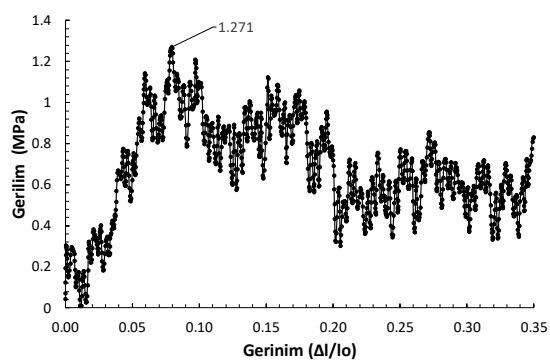
EK 18 – PPTN3 tozu ve filtrelenmiş CaCl₂ (aq)/YKZP solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi



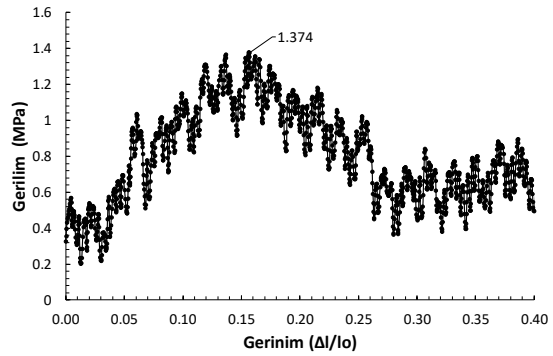
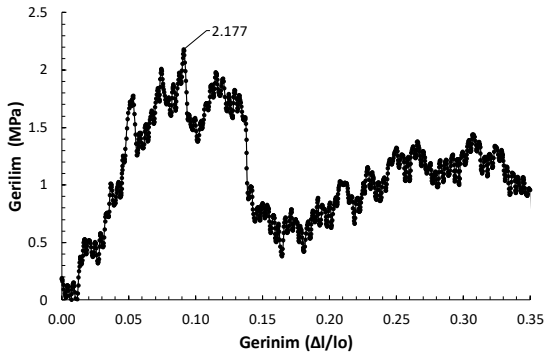
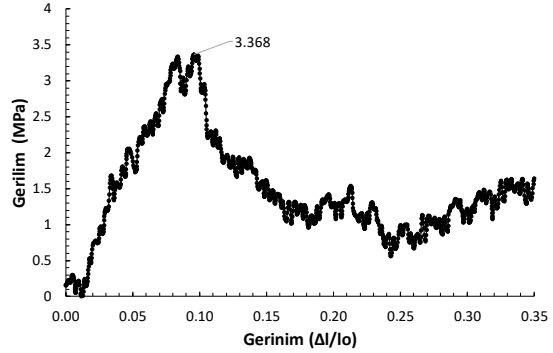
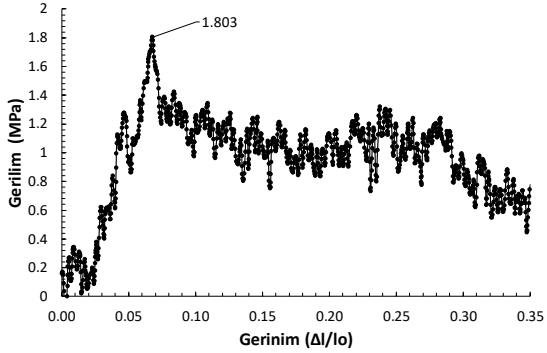
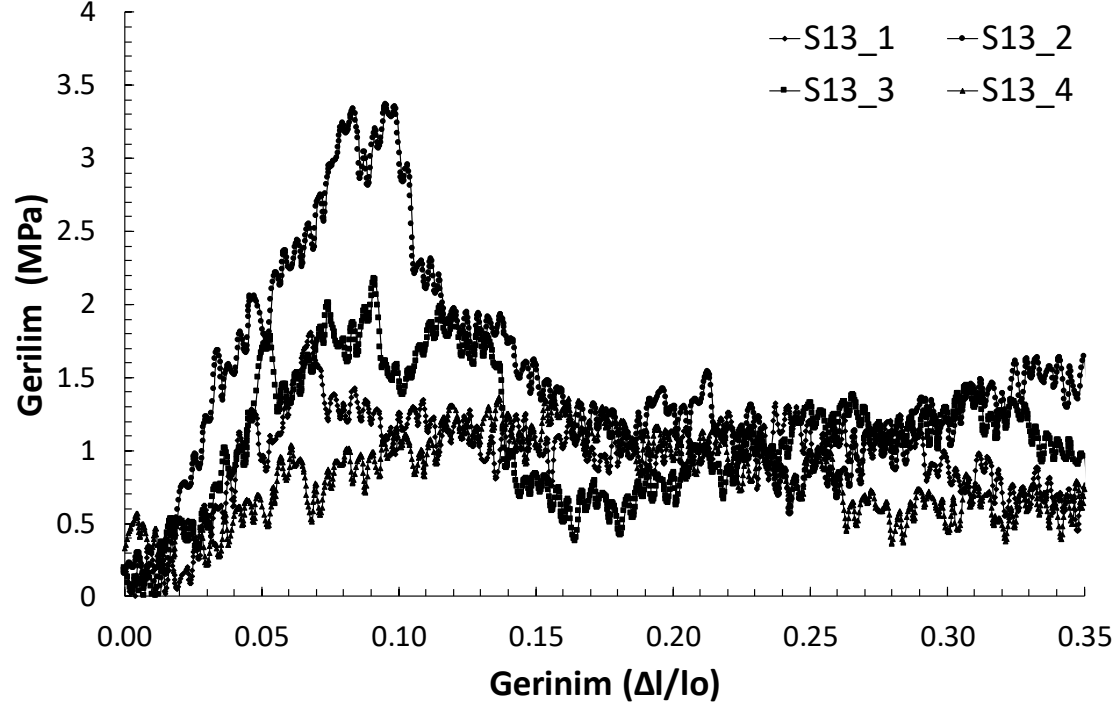


EK 19 – PPTN3 tozu ve CaCl_2 (aq)/YKZP/Üre solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi





EK 20 – PPTN3 tozu ve filtrelenmiş CaCl_2 (aq)/YKZP/Üre solüsyonu ile hazırlanan numunelerin ASTM F451 – 99a standardına göre uygulanan mekanik test sonuçları ve maksimum basma mukavemeti (MBM) ile mekanik dayanım değerlendirmesi





HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 25/09/2019

Tez Başlığı / Konusu: KEMİK ÇİMENTOLARINDA YUMURTA KABUĞU ZARI PROTEİNİNİN KULLANIMI

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 116 sayfalık kısmına ilişkin, 25/09/2019 tarihinde tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 4 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Adı Soyadı: ŞULE KARAGÜLLEOĞLU	Tarih ve İmza
Öğrenci No: N14129106	25.9.2019
Anabilim Dalı: BİYOMÜHENDİSLİK	
Programı:	
Statüsü: ☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.	

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.



PROF. DR. BORA MAVİŞ

(Unvan, Ad Soyad, İmza)



**HACETTEPE UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF SCIENCE AND ENGINEERING
THESIS ORIGINALITY REPORT**

**HACETTEPE UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF SCIENCE AND ENGINEERING
TO THE DEPARTMENT OF BIOENGINEERING**

Date: 25/09/2019

Thesis Title / Topic: USE OF EGGSHELL MEMBRANE PROTEIN IN BONE CEMENT

According to the originality report obtained by my thesis advisor by using the *Turnitin* plagiarism detection software and by applying the filtering options stated below on 25/09/2019 for the total of 116 pages including the a) Title Page, b) Introduction, c) Main Chapters, d) Conclusion sections of my thesis entitled as above, the similarity index of my thesis is 4 %.

Filtering options applied:

1. Bibliography/Works Cited excluded
2. Quotes included
3. Match size up to 5 words excluded

I declare that I have carefully read **Hacettepe University Graduate School of Science and Engineering Guidelines for Obtaining and Using Thesis Originality Reports**; that according to the maximum similarity index values specified in the Guidelines, my thesis does not include any form of plagiarism; that in any future detection of possible infringement of the regulations I accept all legal responsibility; and that all the information I have provided is correct to the best of my knowledge.

I respectfully submit this for approval.

Name Surname: ŞULE KARAGÜLLEOĞLU	Date and Signature
Student No: N14129106	25.9.2019
Department: BIOENGINEERING	
Program:	
Status: ☒ Masters ☐ Ph.D. ☐ Integrated Ph.D.	

ADVISOR APPROVAL

APPROVED.


PROF. DR. BORA MAVİŞ
(Title, Name Surname, Signature)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şule Karagülleoğlu
Doğum yeri : Ankara
Doğum tarihi : 26/02/1991
Medeni hali : Bekar
Yazışma adresi : Ayvalı Mahallesi 192. Sokak No:5/5 Keçiören/ANKARA
Telefon : 05546620088
Elektronik posta adresi : sulekaragulleoglumail.com
Yabancı dili : İngilizce (Orta Seviye)

EĞİTİM DURUMU

Lisans : Hacettepe Üniversitesi – Mühendislik Fakültesi – Fizik
Mühendisliği Bölümü – Ankara – (2014)
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi – Biyomühendislik Anabilim Dalı –
Ankara – (2019)

İş Tecrübesi

10/2015 – 05/2015 Grup EC Mühendislik – Ar-Ge ve Mekanik Tasarım
Mühendisi
06/2015 – 05/2016 Nanomagnetics Instruments – Ar-Ge ve Mekanik Tasarım
Mühendisi
06/2016 – 11/2016 UNAM Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Araştırma Merkezi-
Proje Mühendisi
04/2017 – Halen PRO-IP Patent Marka ve Danışmanlık – Patent Mühendisi

