

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEMİK DOKU UYGULAMALARI İÇİN TiO₂ / AKERMANİT KATKILI KİTOSAN
DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BÜŞRA BULUT

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Programı

ARALIK 2019

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEMİK DOKU UYGULAMALARI İÇİN TiO₂ / AKERMANİT KATKILI
KİTOSAN DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BÜŞRA BULUT
(171080305)**

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Şeyma DUMAN

ARALIK 2019

BTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 171080305 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi BÜŞRA BULUT, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “KEMİK DOKU UYGULAMALARI İÇİN TiO₂ / AKERMANİT KATKILI KİTOSAN DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Dr. Öğr. Üyesi Şeyma DUMAN**
Bursa Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Dr. Öğr. Üyesi Nazlı AKÇAMLI**
Bursa Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Kübra AKBEN
Gedik Üniversitesi

Savunma Tarihi : 27.12.2019

FBE Müdürü : **Doç. Dr. Murat ERTAŞ**
Bursa Teknik Üniversitesi/...../.....

İNTİHAL BEYANI

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

Öğrencinin Adı Soyadı: Büşra BULUT

İmzası :

X X X X

ÖNSÖZ

Çalışmalarım süresince, tezimin yürütülmesi ve sonuçlandırılması için bilgisini, sabrını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bu süreçte hep yanımda olan, insani yönü ve yol göstericiliğiyle her zaman örnek alacağım çok değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Şeyma DUMAN'a anlayışı ve sağladığı tüm olanaklar için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmam 190Y017 no'lu proje kapsamında maddi destek sağlayan Bursa Teknik Üniversitesi BAP birimine,

Tez çalışmam süresince Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (MERLAB)'da her türlü laboratuvar imkanını sağlayan, her zaman anlayış ve desteğini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Kenan YILDIRIM'a;

Tez çalışmalarım boyunca deneylerimin gerçekleştirilmesinde çok emeği geçen, bana her zaman yardımcı olan, motivasyon konuşmalarını hiç eksik etmeyen kıymetli arkadaşım Öğr. Gör. Zeynep AKSOY'a,

Her ihtiyacım olduğunda yanımda olan, dostluklarının bir ömür benimle olmasını dilediğim canlarım Mina ÜZÜLMEZ ve Derya AÇAR'a,

Hayatıma değer katan, tüm mutlu ve umutsuz anlarımda benimle olan, her zaman yanımda olacağını bildiğim yol arkadaşım Mert MUTLU'ya,

Hayatım boyunca attığım her adımda olduğu gibi yüksek lisans sürecimde de bana destek olan, güvenlerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim canım aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2019

Metalurji ve Malzeme Müh. Büşra BULUT

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Kemik Doku	4
2.1.1 Kemik dokunun yapısı ve özellikleri	4
2.1.2 Kemik oluşumu ve yenilenmesi	8
2.2 Kemik Doku Mühendisliği	9
2.2.1 Doku iskeleleri ve temel özellikleri	10
2.2.2 Doku iskelelerinde kullanılan biyomalzemeler.....	12
2.2.2.1 Akermanit	18
2.2.2.2 TiO ₂	21
2.2.3 Doku iskelelerinde kullanılan biyomalzemelerin üretim yöntemleri	22
2.2.3.1 Sol-jel yöntemi	23
2.2.3.2 Mekanik öğütme yöntemi	24
2.2.3.3 Püskürtmeli kurutma yöntemi	24
2.2.3.4 Hidrotermal yöntem	26
2.2.3.5 Isıl işlem yöntemi	27
2.2.4 Doku iskelesi üretim yöntemleri	29
2.3 Yapay Vücut Sıvısı İçinde Apatit Oluşumu	33
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	35
3.1 Kullanılan Malzemeler	35
3.2 Akermanit Toz Sentezi	36
3.2.1 Sol-jel-ısıl işlem yöntemleri	36
3.2.2 Mekanik öğütme-ısıl işlem yöntemleri	38
3.2.3 Püskürtmeli kurutma-ısıl işlem yöntemleri	39
3.3 Hidrotermal Yöntemle TiO ₂ Nanopartikül Sentezi.....	40
3.4 Akermanit ve TiO ₂ /Akermanit Katkılı Doku İskelelerinin Üretimi	42
3.5 Karakterizasyon Çalışmaları	44
3.5.1 Partikül boyut analizleri	44
3.5.2 Faz analizleri	45
3.5.3 Mikroyapı analizleri	46
3.5.4 Termal analizleri	46
3.5.5 Şişme çalışmaları	46
3.5.6 Yoğunluk ve gözeneklilik ölçümleri	47
3.5.7 Mekanik dayanım analizi	47
3.6 Yapay Vücut Sıvısı (SBF) Hazırlanması ve Biyoaktivite Çalışmaları	48
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA	50
4.1 Akermanit Tozlarının Sentezi ve Karakterizasyonu	50
4.1.1 Sol-jel-Isıl İşlem Yöntemleri ile Sentezlenen Akermanit Tozlarının Karakterizasyonu	50

4.1.2 Mekanik öğütme-Isıl İşlem Yöntemleri ile Sentezlenen Akermanit Tozlarının Karakterizasyonu.....	52
4.1.3 Püskürtmeli Kurutma-Isıl İşlem Yöntemleri ile Sentezlenen Akermanit Tozlarının Karakterizasyonu.....	54
4.2 TiO ₂ Nanopartiküllerinin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	58
4.3 Kompozit Doku İskelelerinin Karakterizasyonu.....	61
4.3.1 Mikroyapı analizleri.....	61
4.3.2 Şişme çalışmaları	64
4.3.3 Yoğunluk ve gözeneklilik ölçümleri.....	64
4.3.4 Mekanik dayanım analizleri.....	65
4.4 Doku İskelelerinin Biyoaktivite Çalışmalarının Sonuçları	66
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ.....	81



KISALTMALAR

ATR-FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
Ca/P	: Kalsiyum/Fosfor Oranı
CaP	: Kalsiyum Fosfat
Dk	: Dakika
ECM	: Hücre Dışı Matris
GAG	: Glikoz Amino Glikan
HAp	: Hidroksiapatit
HEPES	: 4-(2-Hidroksietil)-1-Piperazineetansulfonik Asit
KOL-I	: Kolajen Tip I
MERLAB	: Merkezi Araştırma Laboratuvarı
mM	: Mini Molarite
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
SBF	: Yapay Vücut Sıvısı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TRIS	: Tris (Hidroksimetil) Aminometan
XRD	: X Işını Kırınımı
WC	: Tungsten Karbür
β-TCP	: Beta Tri Kalsiyum Fosfat

SEMBOLLER

t	: Zaman
V	: Hacim
ρ	: Yoğunluk
μ	: Mikron
w	: Ağırlık
°C	: Santigrat



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 : Kemiğin inorganik bileşenleri.	7
Çizelge 2.2 : Kemiğin mekanik özellikleri.	11
Çizelge 2.3 : Doğal ve sentetik biyobozunur polimerlerin sınıflandırılması.	14
Çizelge 2.4 : Sinterlenebilirliği ve mikroyapıyı etkileyen değişkenler.....	28
Çizelge 2.5 : Doku iskelesi üretim yöntemleri.....	30
Çizelge 2.6 : İnsan plazmasının ve sentetik çözeltilerin iyon derişimleri, mM.....	34
Çizelge 3.1 : Başlangıç malzemelerinin kimyasal kompozisyonu.....	38
Çizelge 3.2 : Hazırlanan kompozitler ve kodları	42
Çizelge 3.3 : Hazırlanan kompozitlerin kimyasal kompozisyonları	43
Çizelge 3.4 : Başlangıç tozlarına ait partikül boyut ölçüm sonuçları	45
Çizelge 3.5 : 10xSBF çözelti reçetesi	48
Çizelge 4.1 : Hidrotermal yöntem ve farklı sıcaklıklarda sentezlenen TiO ₂ nanopartiküllerin fiziksel özellikleri	58
Çizelge 4.2 : Üretilen doku iskelelerinin şişme karakteristikleri.....	64
Çizelge 4.3 : Üretilen doku iskelelerinin hesaplanan yoğunluk değerleri.....	65
Çizelge 4.4 : Üretilen doku iskelelerinin mekanik dayanımları	65

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Kemiğin hiyerarşik yapısı	5
Şekil 2.2 : Kemiğin mikroskobik yapısı	6
Şekil 2.3 : İntramembranöz kemikleşme sırasında meydana gelen olaylar	8
Şekil 2.4 : Kemik doku mühendisliği yaklaşımı	10
Şekil 2.5 : Kitin ve kitosanın yapısı.....	15
Şekil 2.6 : Klinik uygulamalarda insan vücudunda kullanılan biyoseramik malzemeler	15
Şekil 2.7 : Hidroksiapatitin kristal yapısı	16
Şekil 2.8 : Akermanitin kristal yapısı	18
Şekil 2.9 : Akermanitin faz diyagramı.....	20
Şekil 2.10 : TiO ₂ 'nin rutil, brokit ve anataz fazlarının kristal yapıları	21
Şekil 2.11 : Püskürtme yöntemiyle hazırlanan tozun morfolojisi.....	26
Şekil 2.12 : Isıl işlem esnasında tozların birbirine kenetlenmesi ve gözenek miktarı ile gözenek morfolojisinin değişimi.....	27
Şekil 2.13 : Üç boyutlu biyoyazıcı çeşitlerinin şematik gösterimi	32
Şekil 3.1 : Protherm TM PLF 160/7 kamara tipi laboratuvar fırını	37
Şekil 3.2 : Akermanit tozlarının sol-jel ve ardından ısıl işlem yöntemleriyle üretimi ve karakterizasyonu çalışmasının akış şeması.	37
Şekil 3.3 : Gezegen tipi bilyalı değirmen	38
Şekil 3.4 : Mekanik öğütme yöntemi ile akermanit üretiminin akış şeması.....	39
Şekil 3.5 : Büchi TM mini püskürtmeli kurutucu B-290.....	40
Şekil 3.6 : Püskürtmeli kurutma yöntemi ile akermanit üretiminin akış şeması	40
Şekil 3.7 : Hidrotermal yöntemde kullanılan otoklav kapları.....	41
Şekil 3.8 : Hidrotermal yöntem ile TiO ₂ nanopartiküllerinin sentezlenmesinin akış şeması.....	41
Şekil 3.9 : Cellink marka BIO-X model pnömatik özellikli biyoyazıcı.....	43
Şekil 3.10 : Başlangıç tozlarına ait partikül boyut dağılım grafikleri	44
Şekil 3.11 : Akermanit sentezinde oksit esaslı kullanılan başlangıç tozların XRD analizleri: (a) CaO, (b) MgO ve (c) SiO ₂	45
Şekil 4.1 : Sol jel ve 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımı.	51
Şekil 4.2 : Sol jel ve 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının XRD analiz sonucu.	51
Şekil 4.3 : Sol jel ve 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının (a) stereo mikroskop fotoğrafı ve (b) SEM fotoğrafı.....	52
Şekil 4.4 : Mekanik öğütme ve 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımı.....	53
Şekil 4.5 : Mekanik öğütme ve 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının XRD analiz sonucu	53

Şekil 4.6 : Mekanik öğütme ve 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının (a) stereo mikroskop fotoğrafı ve (b) SEM fotoğrafı.....	54
Şekil 4.7 : Püskürtmeli kurutma ve farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımları.....	55
Şekil 4.8 : Püskürtmeli kurutma ve farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının XRD analiz sonucu	55
Şekil 4.9 : Püskürtmeli kurutma ve farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının SEM fotoğrafları: (a) ve (b) 1200 °C, (c) ve (d) 1300 °C, (e) ve (f) 1325 °C	56
Şekil 4.10 : Tozların FTIR spektrumları (a) SiO ₂ (b) CaO (c) MgO (d) püskürtmeli kurutma ve farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit	57
Şekil 4.11 : Hidrotermal yöntem ve farklı sıcaklıklarda sentezlenen TiO ₂ nanopartiküllerin partikül boyut dağılımları	58
Şekil 4.12 : Hidrotermal yöntem ve farklı sıcaklıklarda sentezlenen TiO ₂ nanopartiküllerinin XRD analiz sonuçları	59
Şekil 4.13 : Hidrotermal yöntem ve farklı sıcaklıklarda sentezlenen TiO ₂ nanopartiküllerin SEM fotoğrafları: (a) TiO ₂ -300, (b) TiO ₂ -500 ve (c) TiO ₂ -800 ve (d) TiO ₂ nanopartiküllerin EDS sonucu	61
Şekil 4.14 : Kompozit doku iskelelerine ait 200X ve 500X büyütmelelerdeki SEM görüntüleri (a) K-20A, (b) K-50A, (c) K-60A, (d) K-75A, (e) K-80A, (f) K-1Ti-80A, (g) K-3Ti-80A, (h) K-5Ti-80A ve (i) K-7Ti-80A.....	62
Şekil 4.15 : Kompozit doku iskelelerine ait Stereo mikroskop görüntüleri (a) K-20A-SBF, (b) K-50A-SBF, (c) K-60A-SBF, (d) K-75A-SBF, (e) K-80A-SBF, (f) K-1Ti-80A-SBF, (g) K-3Ti-80A-SBF, (h) K-5Ti-80A-SBF ve (i) K-7Ti-80A-SBF	63
Şekil 4.16 : 10 gün boyunca SBF içerisinde bekletilmiş olan kompozit doku iskelelerine ait 200X ve 500X büyütmelelerdeki SEM görüntüleri (a) K-20A-SBF, (b) K-50A-SBF, (c) K-60A-SBF, (d) K-75A-SBF, (e) K-80A-SBF, (f) K-1Ti-80A-SBF, (g) K-3Ti-80A-SBF, (h) K-5Ti-80A-SBF, (i) K-7Ti-80A-SBF ve (j) K-7Ti-80A-SBF'in EDS görüntüsü.	67
Şekil 4.17 : 10 gün boyunca 10 SBF içerisinde bekletilmiş olan K-1Ti-80A-SBF kompozit doku iskelesine ait FTIR spektrumunu	68

KEMİK DOKU UYGULAMALARI İÇİN TiO₂ / AKERMANİT KATKILI KİTOSAN DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Bu tez çalışmasında, sentezlenen biyoseramik tozların kitosana katkılanması ile üç boyutlu biyobaskılama ve ardından dondurarak kurutma yöntemleri kullanılarak biyoaktif ve biyobozunur özelliğe sahip TiO₂/akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin üretilmesi ve kemik rejenerasyonunu destekleyen alternatif kompozit doku iskelelerinin kemik doku oluşturma potansiyellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Tez çalışmasının ilk aşamasında, akermanit tozları bir çok yöntemle sentezlenmiş olup, püskürtmeli kurutma ve 1300 °C'de ısıl işlem proseslerini içeren ardışık yöntem ile sentezlenerek saf akermanit fazı elde edilmiştir. Akermanit tozlarına katılan TiO₂ nanopartikülleri ise, hidrotermal ve 800 °C'de kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenmiştir. Sentezlenen tüm tozların kimyasal yapısı, fourier transform kızıl ötesi spektroskopisi (FTIR) ve X-ışını kırınımı (XRD) analizleri ile doğrulanmıştır.

Yapay kemik uygulamalarında, kusur eşleştirme iskelelerinin üretimi en kritik adımdır. Üç boyutlu yazıcı (3DP), özellikle yüksek kontrol edilebilirlik ve tasarım bağımsızlığı nedeniyle yapay kemik uygulamalarındaki özel tasarımlar için en iyi tekniklerden biridir. Çalışmanın sonraki aşamasında, kemik doku uygulamalarında kullanılmak üzere geliştirilen farklı miktarlarda akermanit ve TiO₂/akermanit içeren kitosan doku iskeleleri, gözenek boyutunun kontrolü ve homojen gözeneklilik dağılımı elde etmek için üç boyutlu biyobaskılama ve ardından dondurarak kurutma yöntemlerinin kullanılmasıyla üretilmiştir. Doku iskelelerinin gözenek yapılarının, görülen sınırlar içinde olduğu gözlenmiştir. TiO₂ ve akermanit katkıları ise, hem doku iskelelerinin yapısını hem de mekanik dayanımlarını önemli ölçüde etkilemiştir. Üretilen makro ve mikro gözenekli doku iskeleleri, yapay vücut sıvısı (SBF) içerisinde bir süre bekletilerek biyoyumluluk ve biyoaktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere dayanarak, üretilen kompozit doku iskeleleri mükemmel biyoyumluluk ve bioaktivite göstermiştir. Tüm doku iskelelerinin mikroyapıları taramalı elektron mikroskopu (SEM) analizleriyle karakterize edilmiştir. Bununla birlikte, doku iskelelerinin mekanik dayanımları ve şişme davranışları belirlenmiş, yoğunluk ve gözeneklilik ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak, TiO₂ katkısının akermanitin mekanik özelliklerini iyileştirdiği, akermanit katkısının ise kitosan doku iskelelerine biyobozunurluk ve biyoaktivite gibi özellikler sağladığı ve üç boyutlu biyobaskılama yöntemi ile üretilen doku iskelelerinin kemik doku uygulamaları için alternatif bir yapı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Akermanit, TiO₂, üç boyutlu yazıcı, kemik doku mühendisliği

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN SCAFFOLDS DOPED WITH TiO₂/AKERMANITE FOR BONE TISSUE APPLICATIONS

SUMMARY

In this thesis, it is aimed to produce bioactive and biodegradable TiO₂/akermanite doped chitosan tissue scaffolds by using three-dimensional bioprinting and freeze-drying methods and to evaluate the bone tissue formation potential of alternative composite scaffolds supporting bone regeneration. In the first part of the study, akermanite powders were produced by many methods and akermanite powders produced by spray drying and heat treatment at 1300 °C dual process methods were used in this study. TiO₂ nanoparticles added to akermanite powders were synthesized by hydrothermal method. The chemical structure of all synthesized powders was confirmed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD) analyzes.

In artificial bone applications, the production of defect matching scaffolds is the most critical step. Three-dimensional printing (3DP) is one of the best techniques for special designs in artificial bone applications, especially because of its high controllability and design independence. In the next stage, chitosan tissue scaffolds containing different amounts of akermanite and TiO₂ / akermanite developed for use in bone tissue applications were produced by using three-dimensional biomassing and then freeze-drying methods to obtain pore size control and homogeneous porosity distribution. It was observed that the pore structures of tissue scaffolds were within the observed limits. TiO₂ and akermanite additions significantly affected the structure and mechanical strength of tissue scaffolds. Produced macro and microporous tissue scaffolds were kept in simulated body fluid (SBF) for a while to evaluate their biocompatibility and bioactivity. Based on the data obtained, the composite tissue scaffolds produced showed excellent biocompatibility and bioactivity.

As a result, it is thought that TiO₂ additive improves the mechanical properties of akermanite and akermanite additive provides biodegradability and bioactivity to chitosan tissue scaffoldings and tissue scaffolds produced by three-dimensional biomassing can be used as an alternative structure for bone tissue applications.

Keywords: Akermanite, TiO₂, three-dimensional printer, bone tissue engineering

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doku ve organ kusurları özellikle kemik hastalıkları, hastaların yaşam kalitesini son derece etkileyen önemli sağlık problemleridir. Kemikler belirli bir oranda kendi kendini yenileme özelliğine sahip olan dinamik dokular olmalarına rağmen, bu özellik kemik iyileşmesinin zayıf olduğu durumlarda veya büyük hasarların onarımında yetersiz kalabilmektedir [1]. Geleneksel tedavi yöntemleri içerisinde öne çıkan otoplast ve alloplast kemik nakli, içerdiği çeşitli dezavantajlar nedeniyle etkin bir tedavi sağlayamamaktadır. Bu noktada ‘**kemik doku mühendisliği**’ yaklaşımı gündeme gelmektedir [2]. Günümüzde üzerinde en çok çalışılan ve disiplinler arası bir alan olan kemik doku mühendisliği biyomalzeme, hücre ve biyosinyal moleküllerin sinerjik bir şekilde bir araya getirilmesi ile fonksiyonel kemik yenilenmesini amaçlamaktadır [3].

Kemik doku mühendisliğinin üç temel bileşeninden biri olan **doku iskeleleri**, üç boyutlu hücre dışı matrisi taklit edecek şekilde tasarlanan yapılardır [4]. Doku iskelelerinin kullanımı hasarlı bölgeye yapısal destek sağlamanın yanı sıra, doğal hücre dışı matrisin yeniden oluşumunu desteklemektedir. Doku iskelesi tasarımı ve üretimi, kemik yenilenmesi için en kritik basamaklardan biridir. Doku iskelesi tasarımında, kemiğin üç boyutlu yapısının oluşmasını sağlayan bir matris için kullanılacak malzemenin seçimi oldukça önemlidir. Seçilen malzemenin, yerine geçeceği dokuya benzer özellikler göstermesi gerekmektedir. Kemik doku, inorganik yapılar olan hidroksiapatit kristallerinin kolajen fiberler üzerinde birikmesiyle güçlenmiş organik bir matristen oluşan hiyerarşik yapıda doğal bir kompozit malzemedir [5]. Doğal kemik yapısına benzer bir doku iskelesi üretiminde, polimerik ve seramik malzemeler bir arada kullanılmaktadır. **Biyobozunur** özelliğe sahip olan doğal polimerler kemiğin üç boyutlu yapısının elde edilmesini sağlarken, **biyoaktif** özelliğe sahip olan seramikler kemik yenilenmesini hızlandırır.

Doğal bir polimer olarak **kitosan**, selülozdan sonra yaygın kullanımı dolayısıyla bir polisakkarit olarak oldukça dikkat çeken bir malzemedir. Kitinin deasetilasyonu ile elde edilen kitosanın polisakkarit anazinciri, kemik dokunun hücre dışı matrisinin

temel bileşeni olan glikozaminoglikanlar ile benzer yapıdadır [6]. Bu da hasarlı kemik dokunun iyileşmesini olumlu yönde etkileyen bir özelliktir [7]. Kitosan kimyasal özellikleri sayesinde hücre yapışmasını ve çoğalmasını desteklemekle birlikte, içsel bağlantılı gözeneklere sahip yüksek gözenekli iskelelerin oluşumunu sağladığı için avantajlıdır [8, 9]. Ayrıca **biyouyumlu**, **biyobozunabilir** ve **biyofonksiyonel** özelliklere sahip olması dolayısıyla kitosanın doku iskelesi uygulamalarında kullanımı büyük ilgi görmektedir. Bununla birlikte, her ne kadar kitosan kimyasal ve biyolojik özellikleriyle kemik doku uygulamaları için ideal bir biyomalzeme olsa da, sert dokularda mineralizasyonun oluşumu ve mekanik kuvvetin iletimi için mekanik dayanımının iyileştirilmesi gerekmektedir. Bunun için yapılan çalışmalarda kitosan esaslı doku iskelelerinin kalsiyum fosfat esaslı biyoseramiklerle birleştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır [10]. Biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılan hidroksiapatit ve beta-trikalsiyum fosfat (β -TCP) gibi kalsiyum fosfat esaslı seramiklerin, hedeflenen uygulama alanı için gerekli mekanik özellikleri karşılayamaması ve pek çok dezavantaja sahip olması yeni malzemelere olan ihtiyacı artırmaktadır.

Son zamanlarda, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve silisyum (Si) içeren silikat esaslı bir biyoseramik olarak **akermanit** ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$), kontrol edilebilir mekanik özellikleri [11], sitotoksikite göstermeden biyobozunabilir özellikte olması ve üstün bozunma hızı [12] nedeniyle kalsiyum fosfat esaslı seramik malzemelere alternatif bir biyomalzeme olarak araştırmacıların odak noktasında olmuştur. İçerdiği inorganik iyonların vücutta salınabilmesi ile hücrelerin kemiğe yapışmasını ve burada çoğalmasını sağlayan uyarıcı bir etkiye sahip olan akermanit [13], in vitro ve in vivo koşullarda üstün biyoaktif özellikler göstermektedir [14]. İlgili literatür incelendiğinde, kitosan esaslı kompozit doku iskelesi üretimine ait çok sayıda çalışma olduğu, ancak akermanit içeren doku iskelesi üretimine ait yeterli sayıda çalışma olmadığı ve püskürtmeli kurutma yöntemi kullanılarak geliştirilmiş akermanit katkılı kitosan doku iskelesine ait ise herhangi bir çalışma bulunmadığı belirlenmiştir. Bu malzemeler metal oksitlerle takviyelendirilerek kullanıldığında mekanik özelliklerde ciddi iyileşmeler olduğu bilinmektedir. Önceki çalışmalarda kullanılan birçok takviye arasında, **TiO₂** mükemmel biyouyumluluk, üstün mekanik özellikler ve yüksek kemikle bağlanma kabiliyetine bağlı olarak büyük ilgi görmüştür [15]. Yapılan pek çok çalışmada, iskelelerin mekanik özelliklerinde önemli iyileşmeler olduğu ve TiO₂

katkısının iskelelerde kemik benzeri apatit oluşturma ve hücre bağlanmasını destekleme yeteneğine sahip olduğu doğrulanmıştır.

Üç boyutlu baskılama (3DP) yöntemi ile, doku iskelelerinde gözenek boyutunun kontrolü, homojen gözeneklilik dağılımı ve açık bir gözeneklilik yapısı hızlı bir şekilde elde edilmektedir. Uygulama açısından çok çeşitli özelliklere sahip doku iskeleleri üretmek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, halen üretim yöntemi ve biyomalzeme ilişkisi tam olarak belirlenememiştir. Bu nedenle, bu çalışmada akermanit sentezi ve biyobaskılama yöntemi kullanılarak alternatif doku iskelesi tasarımı konusunda hem biyomalzeme hem de üretim yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır.

Sunulan tez çalışmasının amacı, kemik doku yenilenmesini destekleyecek özelliklere sahip TiO_2 /akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin üretilmesi ve kemik doku uygulamalarında kullanılacak alternatif bir kompozit doku iskelesinin elde edilmesidir. Bu amaca yönelik olarak, akermanit sentezi birkaç yöntemle gerçekleştirilmiş olup, en iyi sonuçlar püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilmiştir. TiO_2 nanopartikülleri ise, hidrotermal yöntemle sentezlenmiştir. Kitosan ve akermanitin sahip olduğu özellikler birleştirilerek ve bu malzemeler TiO_2 ile takviyelendirilerek yüksek gözeneklilik içeriği, kuvvetli destek yapısı ve kemikle yüksek bağlanma yeteneği gibi spesifik özelliklere sahip doku iskelelerinin üretimi üç boyutlu baskılama yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması kapsamında üretilen mekanik özellikleri iyileştirilmiş açık ve düzgün gözenekli yapıdaki TiO_2 /akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin kemik doku mühendisliği uygulamalarında ümit vaat eden bir malzeme olacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

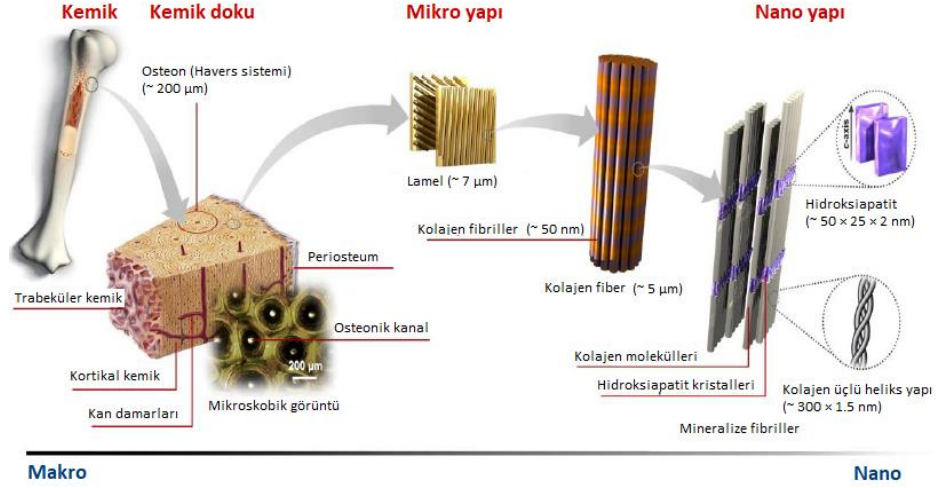
Bu bölümde, sunulan tez çalışmasının temelini oluşturan konularla ilgili literatür bilgileri dört ana başlık altında özetlenmiştir. İlk bölümde, kemik dokunun yapısı ve özellikleri, kemik oluşumu ve yenilenmesi hakkında bilgilere yer verilmiştir. İkinci bölümde kemik doku mühendisliği başlığı altında kemik hasarları için kemik doku mühendisliği yaklaşımı ve bu yaklaşımın bileşenlerinden biri olan kemik doku iskelelerinin sahip olması gereken özellikler ile ilgili açıklamalar yapılmıştır. Ardından, doku iskelelerinin yapımında kullanılan biyomalzemeler ve bu malzemelerin üretim yöntemleri hakkında genel bilgiler verilmiştir. Buna ek olarak, tez çalışmasına özgünlük kazandıran akermanit mineralinin yapısı, özellikleri ve kemik doku oluşumu üzerine etkilerine yönelik literatür bilgilerinden bahsedilmiştir. Ayrıca, akermanite katkı olarak ilave edilen titanyum dioksit de değinilmiştir. Doku iskelelerinin üretimi için kullanılan çeşitli yöntemler ve tez çalışması kapsamında kullanılacak olan üç boyutlu biyobaskılama yöntemi de bu bölümde anlatılmıştır. Son bölümde ise, doku iskelelerinin biyoaktivite değerlendirmeleri için yapay vücut sıvısı içerisinde apatit oluşumu hakkında bilgi verilmiştir.

2.1 Kemik Doku

2.1.1 Kemik dokunun yapısı ve özellikleri

Kemik, yaşam süresince vücudu yapısal olarak destekleyen ve vücudun hareketini sağlayan iskelet sisteminin bir bileşenidir [5]. **Kemik doku**, kemik iliği ve bunları çevreleyen osteojenik (kemik oluşturucu) özellikte bir bağ doku olan periosteumdan oluşan kemik, aynı zamanda yaşamsal organların ve vücuttaki diğer dokuların korunmasını sağlayan sert ve dinamik bir dokudur [16].

Kemik doku, makrodan nanoya kadar değişen ölçeklerde uyum içinde çalışan bileşenleri içeren oldukça karmaşık ve hiyerarşik bir yapısal düzenlemeye sahiptir. Şekil 2.1’de kemiğin hiyerarşik yapısı gösterilmiştir.

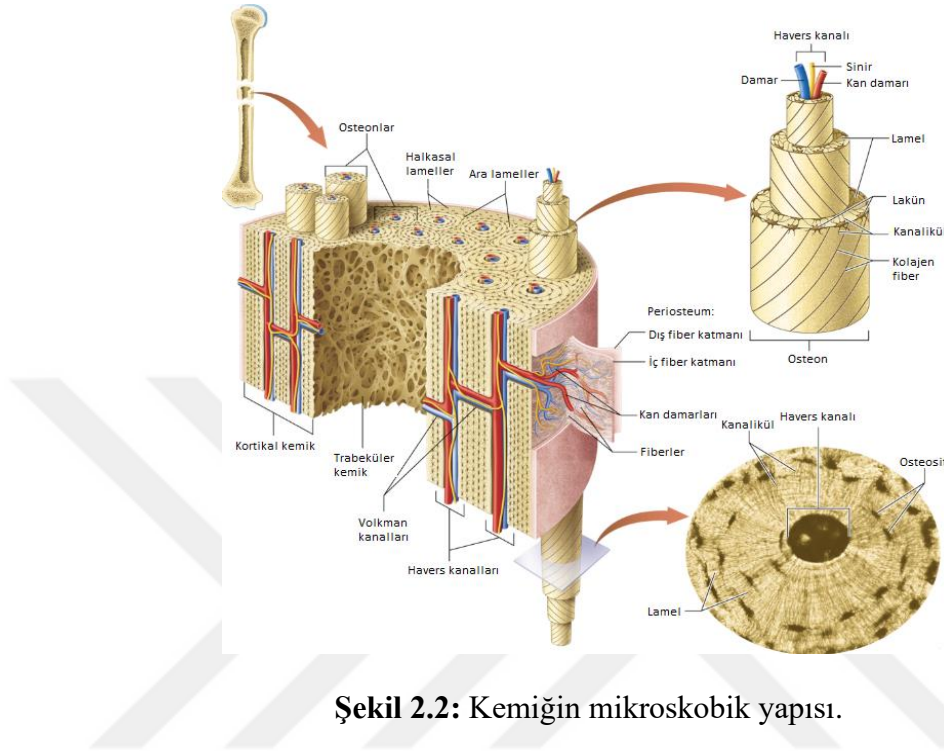


Şekil 2.1 : Kemiğin hiyerarşik yapısı [17].

Kemik doku, sert ve yoğun bir kabuk bölgesi olan kortikal (kabuksal) kemik ve gözenekli bir çekirdek bölgesi olan trabeküler (süngerimsi) kemik olmak üzere iki ana bölümden oluşmaktadır. İskelet kütlelerinin %80'ini kortikal kemik, %20'sini ise trabeküler kemik oluşturur [18]. Dikey iskeletin sert kemiği olan kortikal kemik, sadece %10 gözenekliliğe sahiptir. Trabeküler kemik ise, %50-90 gözenekliliğe sahiptir ve genellikle uzun kemiklerin ortasında bulunur [19]. Kortikal kemik mekanik ve koruyucu bir fonksiyon üstlenirken, trabeküler kemik metabolik fonksiyondan sorumludur [20].

Mikroskobik olarak incelendiğinde, kortikal kemiğin; havers sistemi olarak adlandırılan kortikal osteonların içerisindeki havers kanallarından, bu kanalların etrafındaki lamellerden, çeşitli hücrelerden ve sert bir matristen oluştuğu görülmektedir. Kortikal kemiğin içerisinde dikey eksene paralel olarak bulunan osteonlar, 200-250 µm çapındaki silindirik yapılardır [21]. Bu yapılar, 20-100 µm çapındaki kanalları, bu kanalların etrafındaki 3-7 µm kalınlığındaki lamelleri ve her bir lamelde bulunan lakün ve kanalikülleri içerir [22]. Havers kanalı diğer kanallarla, kemik iliği ve kemik zarlarıyla volkman kanalları ile bağlantı kurar. Kortikal kemiğin dış ve iç yüzeyleri bağ dokusundan oluşan zarlar ve çeşitli kemik hücreleriyle çevrilidir. Dıştaki zar, periosteum, içteki zar ise endosteumdur [4]. Dış ve iç fiber katmanlarından oluşan periosteum, kemiğin onarımı, büyümesi ve beslenmesi için önemlidir. Periosteumun dış fiber katmanı, kolajen lifler ve bağ dokunun temel hücreleri olan fibroblastlardan oluşur [23]. Periosteumun içteki katmanında ise, kemiğin ana hücreleri olan osteoprogenitor hücreler bulunur. Bu hücreler, mezankimal

(olgunlaşmış) hücre kökenli olup, çoğalma ve bir çok yeni osteoblast üretme potansiyeli ile kemik büyümesinde aktif rol alırlar [23]. Periosteumun altında bulunan endosteum, kemik iliği boşluğunu ve kortikal kemiğin kanallarını çevreleyen ince bir bağ dokusudur [24]. Şekil 2.2’de kemiğin mikroskobik yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.2: Kemiğin mikroskobik yapısı.

Kemiğin oluşumunda, büyümesinde ve onarımında çeşitli hücre tipleri görev almaktadır. Bunlar, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır. Mezenkimal kök hücrelerden kaynaklanan osteoblastlar, kemik matrisinin organik bileşenlerini üretir. Kemik yüzeyindeki aktif osteoblastlar, salgıladıkları alkalin fosfataz enzimi ile kalsifiye olarak (kireçlenme) kemik dokuda mineralizasyonu gerçekleştirir. Osteositler, henüz kalsifiye olmamış kemik matrisi içerisinde gömülü kalan ve metabolik faaliyetleri azalan osteoblastlardan farklılaşan esas kemik hücreleridir. Kemik matrisinin kanalcıkları olan lakünler içerisinde bulunan osteositler, hücreler arası uzantılarıyla kanalikülleri oluşturur ve moleküllerin hücreden hücreye geçmesini sağlar. Dolayısıyla kemik dokunun canlı kalabilmesi için gereklidir. Osteoklastlar ise, kemik yapımı sırasında kemik iliğinden gelen hücrelerin kaynaşması ile oluşur ve kemikler son şeklini alınca yok olur. Fonksiyonlarından dolayı makrofaj türü hücre tipi olan osteoklastlar, kemik yıkımı ve rezorpsiyonundan sorumlu olan çok çekirdekli hücrelerdir [25].

Kemik hücre dışı matrisi (ECM), organik ve inorganik olmak üzere iki bileşen içerir. Organik yapı, tip I kolajen gibi mineralize olmayan bileşenlerin yanı sıra, glikoproteinler, proteoglikanlar ve sialoproteinler gibi çok sayıda matris proteinini de içermektedir [26, 27]. Tip I kolajen molekülleri, yaklaşık 300 nm uzunluğunda ve 1,5 nm çapında olup, kolajen fibrillerini oluşturur. Bu fibrillerin bir araya gelmesiyle elde edilen kolajen lifler, farklı doku türleri için gereken fiziksel ve mekanik özellikleri sağlar [28]. Hücre dışı matris, glikozaminoglikan yan zincirlerine sahip olan proteoglikanların fiziksel ve kimyasal olarak çapraz bağlanmasıyla oluşan ve çeşitli protein fibrillerini içeren hidratlanmış bir ağ yapısında olup, hücre yapışması ve göçünün gerçekleşmesini sağlar [29].

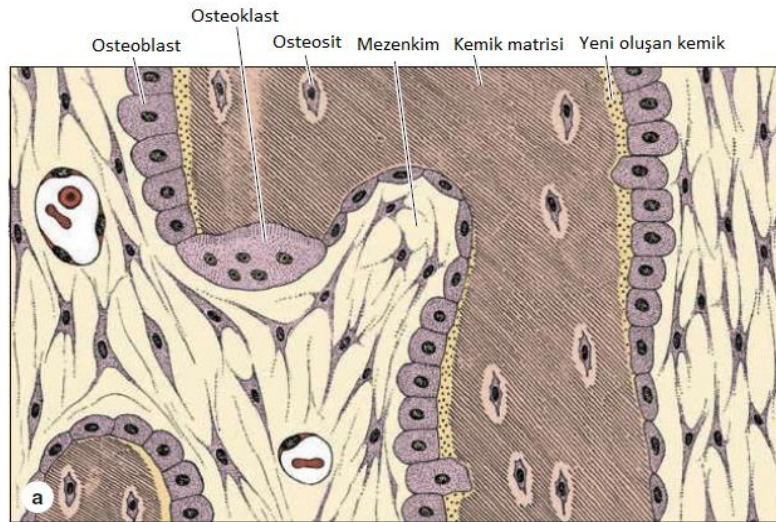
Kemik matrisinin inorganik yapısı ise, hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunan kalsiyum ve fosfatların yanı sıra sitrat ve magnezyum gibi bileşenlerden oluşmaktadır. Kemik dokunun inorganik bileşenleri ve bu bileşenlerin ağırlıkça yüzdeleri Çizelge 2.1’de verilmiştir. Gelişmiş bir kemik dokuda, kolajen lifler aralarında hidroksiapatit kristallerini barındıran gözenekler oluşturacak şekilde paralel olarak uzanır [30]. Kolajen lifler ve hidroksiapatit kristalleri, kemiğe sertlik ve dayanıklılık verir [31]. Kısacası kemik, genetik ve metabolik faktörlerden etkilenen bir yapı içerisinde kalsiyum fosfat kristallerinin birikmesiyle kuvvetlenmiş organik bir matristen oluşan mineralize bir dokudur [5].

Çizelge 2.1 : Kemiğin inorganik bileşenleri [32].

Kemiğin inorganik bileşimi	Ağırlık (%)
Kalsiyum, Ca ⁺²	34,80
Fosfor, P	15,20
Ca/P (molar)	1,71
Sodyum, Na ⁺	0,90
Magnezyum, Mg ⁺²	0,72
Potasyum, K ⁺	0,03
Karbonat, CO ₃ ⁻²	7,40
Flor, F ⁻	0,03
Klor, Cl ⁻	0,13
Pirofosfat, P ₂ O ₇ ⁻⁴	0,07
Toplam inorganik	65,00
Toplam organik	25,00
H ₂ O	10,00
Eser elementler: B ⁺³ , Sr ⁺² , Pb ⁺² , Zn ⁺² , Cu ⁺² , Fe ⁺³	

2.1.2 Kemik oluşumu ve yenilenmesi

Kemikler, intramembranöz ve endokondral olmak üzere iki farklı gelişim süreciyle kemikleşir [33]. İntramembranöz kemikleşme ile kemik oluşumu, minerallerin kemik matrisi içerisinde doğrudan çökmesi ile gerçekleşir. Mezankimal kök hücreleri bölünerek osteoprogenitör hücrelere, bu hücreler de farklılaşarak osteoblastlara dönüşür. Kemik doku ara maddesini sentezleyen osteoblastlar, osteositlere farklılaşır. Kemikleşme sürecindeki devamlılık, osteoblastların osteositlere dönüşürken boşalttıkları yere yeni kemik hücrelerinin yerleşmesi ile sağlanmaktadır. Bu süreçte trabeküler kemik büyür ve kemik doku şekillenir. Kısaca kemik doku, çeşitli kemik hücreleri ile bu hücrelerin salgıladığı ara maddeden oluşmaktadır [23]. Şekil 2.3'te intramembranöz kemikleşme süreci görülmektedir.



Şekil 2.3 : İntramembranöz kemikleşme sırasında meydana gelen olaylar [23].

Endokondral kemikleşme ile kemik oluşumu ise, mezankimal hücrelerden kıkırdak bir model oluşumu sonrası bunun yerini kemik dokunun alması şeklinde gerçekleşir [31]. Kafatası kemikleri ve medial köprücük kemikleri intramembranöz kemikleşme ile oluşurken, yüz kemikleri, apendiküler kemikler, omurga ve lateral köprücük kemikleri olan uzun kemikler endokondral kemikleşme ile oluşur [34].

Kemik doku, vücudun diğer dokularında da olduğu gibi belirli bir oranda kendi kendini yenileyebilir özelliğindedir. Bunun nedeni, kemikteki periosteum ve endosteum gibi bağ dokularında ve kemik iliğinde bulunan osteoprogenitör hücreler ve kan damarlarıdır [23]. Kemik kırıklarının ve diğer hasarların onarımı, biyokimyasal ve elektriksel pek çok

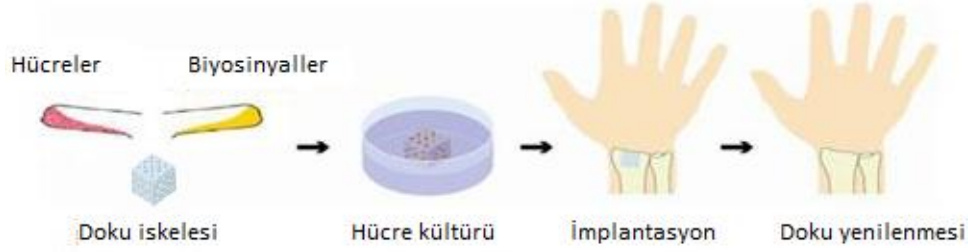
uyaranın yanı sıra birçok hücrenin ve salgılanan hormonların da görev aldığı karmaşık bir süreçtir. Kemik yenilenmesi, hasarlı kemiğin rezorpsiyonu ve kemik dokunun rejenerasyonu ile birlikte kemiğin tekrar işlevselliğe sahip olacak şekilde iyileştirilebilmesidir. Kemiğin kırılması durumunda meydana gelen olaylar kısaca şu şekildedir; kemik matrisi yıkılır ve kan damarları tahrip olup kemik hücreleri ölür. Hasar görmüş kan damarları bölgesel kanamaya yol açar ve kan pıhtılaşır. Pıhtılaşmış kan, makrofajlarla doku döküntüleri ile birlikte alınır ve hasarlı, hücresiz kemik matrisi osteoklastlar tarafından emilir. İyileşme sürecinde, kırık etrafındaki bağ dokular hızlı ve yoğun hücre çoğalması ile kırığı saran bir doku hazırlar ve kırık uçlarını kaplar. Bu doku, intramembranöz ve endokondral kemikleşme ile yerini esas kemik dokuya bırakır ve onarılmış kemik normal şekline ve fonksiyonlarına kavuşur [23].

2.2 Kemik Doku Mühendisliği

Kemik, belirli bir oranda kendi kendini yenileme özelliğine sahip olan dinamik bir doku olmasına rağmen, bu özellik çeşitli biyokimyasal bozukluklar, normal olmayan iskelet gelişimi ve enfeksiyonlar gibi kemik iyileşmesinin zayıf olduğu durumlarda veya kemik kanserleri nedeniyle oluşan tümörlerin neden olduğu büyük hasarların onarımında yetersiz kalmaktadır [1]. Geleneksel tedavi yöntemleri içerisinde öne çıkan otoplast (hastanın kendisinden elde edilen) ve alloplast (başka bir vericiden alınan) kemik nakli, hastaya ikinci bir cerrahi işlem yapılmasına ihtiyaç duyulması ve hasarlı alanın büyüklüğü nedeniyle yeterli greftin alınamaması gibi çeşitli dezavantajları nedeniyle etkin bir tedavi sağlayamamaktadır. Bununla birlikte, kemik hasarlarının tedavisinde kullanılan kemik çimentosu, çeşitli metaller ve sentetik polimerler gibi malzemeler aşınmakta ya da doğal kemik gibi davranmamaktadır. Bu noktada '**kemik doku mühendisliği**' yaklaşımı gündeme gelmektedir [2].

Doku mühendisliği kavramı, Langer ve Vacanti'nin 1993 yılında yaptığı biyolojik doku ve organların üretimi çalışmaları ile tanımlanmıştır [3]. Günümüzde üzerinde en çok çalışılan ve disiplinler arası bir alan olan kemik doku mühendisliği, **biyomalzeme**, hücre ve biyosinyal moleküllerin sinerjik bir şekilde bir araya getirilmesi ile hasar gören dokuların laboratuvar koşullarında en iyi şekilde taklit edilmesini ve fonksiyonel kemik yenilenmesini amaçlamaktadır [3]. Şekil 2.4'te kemik doku mühendisliği yaklaşımı şematik olarak gösterilmiştir. Bu yaklaşım ile kemik dokunun yenilenmesinin sağlanması için doku iskelesi, çeşitli kemik hücreleri ile bu hücrelerin

büyümesini ve mineralize kemik doku oluşumunu destekleyen büyüme faktörleri gereklidir. Bu üç bileşenin tamamını kullanılabileceği gibi, sadece hücreler ve doku iskelesinin kullanımı ile de çok çeşitli doku iskeleleri geliştirilmiştir. Çeşitli özelliklere sahip doku iskeleleri kullanılarak kemik doku elde edilmekte ve hasarlı bölgeye implante edilerek süreç tamamlanmaktadır.



Şekil 2.4 : Kemik doku mühendisliği yaklaşımı [35].

2.2.1 Doku iskeleleri ve temel özellikleri

Kemik dokunun üç boyutlu hücre dışı matrisine benzer olarak tasarlanan **doku iskeleleri**, kemik doku mühendisliğinin üç temel bileşeninden biridir [4]. Doku iskelelerinin kullanımı hasarlı bölgeye yapısal destek sağlamanın yanı sıra, hücreler için uygun bir mikro ortam sağlama, biyolojik değişikliklere cevap vermek için hücre içi sinyaller ile çevre doku ile etkileşim kurma ve doğal hücre dışı matrisin yeniden oluşumunu desteklemektedir [28].

Kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılacak olan doku iskelelerinden beklenen bazı özellikler vardır. İdeal bir doku iskelesi, vücut içerisinde istenmeyen doku tepkilere yol açmamalı, yani biyouyumlu özellikte olmalıdır. **Biyouyumluluk**, vücutta canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan biyomalzemelerin, uygulama sırasında vücut sistemine uygun cevap verebilmesi, yani vücutla uyuşabilir olmasıdır. Doku iskelelerinin üretiminde kullanılacak olan bir biyomalzemenin en önemli özelliği biyouyumluluktur. Hücre canlılığı için gerekli besin maddelerinin ve oksijenin difüzyonunu sağlayacak, hücre göçüne izin verecek şekilde içsel bağlantılı ve kontrol edilebilir özellikte **gözenekli yapıda olması**, doku iskelelerinden beklenen bir diğer özelliktir. Uygun gözeneklilik ve gözenek dağılımının homojenliği; hücre tutunması ve doku gelişimi için özgül yüzey alanını artırmada önemli değişkenlerdir. Bunların sağlanması, hücrelerin düzgün dağılımını, besinlerin yeterli taşınmasını ve hücre atık ürünlerin

uzaklaştırılmasını kolaylaştırmaktadır [36]. Gözenekli yapıdaki doku iskeleleri, büyüyüp geliştirebilecekleri boşluklar sayesinde doku ile malzemenin kaynaşma aktivitesini yoğun yapılara göre daha hızlı bir şekilde gerçekleştirmekte ve kemiğin yenilenmesine daha fazla destek olmaktadır. Bununla birlikte, gözenek boyutlarının çok küçük olması gözeneklerin hücreler tarafından kapatılmasına neden olur ve bu durum hücre göçünü sınırlandırır. Bunun aksine, gözenek boyutlarının çok büyük olması ise hücre yapışmasını olumsuz yönde etkiler [37]. Kemik dokunun oluşabilmesi için, en az 100 μm 'luk gözenek çapı ve yaklaşık % 90 gözeneklilik gereklidir [38].

Bir doku iskelesinin mekanik özellikleri, yerine geçeceği kemiğin mekanik özelliklerine yakın olmalıdır. Kemik gibi yük taşıyan dokuların yerine kullanılacak olan doku iskelelerinin mekanik dayanımlarının yüksek olacak şekilde tasarlanmaları oldukça önemlidir. Kortikal kemik ve trabeküler kemiğin mekanik dayanımları birbirlerinden farklıdır. Kortikal kemiğin basma dayanımı 170-193 MPa arasında iken, trabeküler kemikte bu değer 7-10 MPa arasındadır. Çizelge 2.2'de kemiğin mekanik özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.2 : Kemiğin mekanik özellikleri [30].

Özellikler	Kortikal kemik	Süngerimsi kemik
Young modülü (GPa)	14-20	0,05-0,5
Çekme dayanımı (MPa)	50-150	10-20
Basma dayanımı (MPa)	170-193	7-10
Kırılma tokluğu (MPa $\text{m}^{1/2}$)	2-12	0,1
Yorulma dayanımı	1-3	5-7
Yoğunluk (g/cm^3)	18-22	0,1-1,0
Görünür yoğunluk (g/cm^3)	1,8-2,0	0,1-1,0
Yüzey/kemik hacmi (mm^2/mm^3)	2,5	20
Toplam kemik hacmi (mm^3)	$1,4 \times 10^6$	$0,35 \times 10^6$
Toplam iç yüzey	$3,5 \times 10^6$	$7,0 \times 10^6$

Bunların dışında, kemik doku yenilenmesinin amaçlandığı uygulamalarda kullanılan biyomalzemelerin osteoinduktif ve osteokonduktif özellikte olmaları beklenmektedir. Osteoinduktif malzemeler osteoprojenitör hücrelerin osteoblastlara farklılaşarak kemik oluşturmalarını sağlarken, osteokonduktif malzemeler hücrelerin üremelerini destekleyerek, kemiğin üç boyutlu yapısının oluşmasını sağlar. Hücreler kendi hücre dışı matrislerini oluşturacak kapasiteye ulaştıklarında ve doku oluşumu tamamlandığında, doku iskelelerine ihtiyaç kalmayacaktır. Bu nedenle, doku iskelelerinin vücut ortamında parçalanabilen **biyobozunur** özellikteki

biyomalzemelerden üretilmesi gerekmektedir. Bozunma ürünleri, malzemenin biyoyumluluğunu değiştirmemeli ve toksik etki göstermemelidir [28]. Bununla birlikte, bozunma hızı önemlidir ve yeni doku oluşum hızı ile eş zamanlı olmalıdır [25]. Bu özelliklerin yanı sıra, kullanım amacına uygun olarak istenilen boyutta üretilebilir doku iskeleleri, kemik doku uygulamaları için oldukça önemlidir.

2.2.3 Doku iskelelerinde kullanılan biyomalzemeler

Kemik doku uygulamalarında kullanılan biyomalzemeler; metalik biyomalzemeler, polimerik biyomalzemeler, seramik biyomalzemeler ve bunların birleşiminden oluşan kompozit biyomalzemeler olarak sınıflandırılabilir. Doku iskelesi üretiminde, kemik hücrelerinin farklılaşarak kemiğin üç boyutlu yapısının oluşmasını sağlayan bir matris için kullanılacak malzemenin seçimi oldukça önemlidir. Seçilen malzemenin, yerine geçeceği dokuya benzer özellikler göstermesi gerekir. İnorganik hidroksiapatit kristallerinin kolajen fiberler üzerinde birikmesiyle güçlenmiş organik bir matristen oluşan kemik doku, doğal bir kompozit malzemedir [5].

Metalik biyomalzemelerin biyolojik ortamda bozunur olmama ve sınırlı işlenebilirlik gibi önemli dezavantajları kemik doku uygulamalarında kullanımını sınırlamaktadır [39]. Ayrıca, metallerin insan vücudunda korozyona uğrama ve korozyon ürünlerini doku içerisine salma gibi riskleri de bulunmaktadır. Buna karşılık, polimerik ve seramik biyomalzemelerin bir arada kullanılmasıyla doğal kemik yapısına benzer özellikler gösteren kompozit bir matris elde edilebilir. Biyobozunur özelliğe sahip olan polimerler kemiğin üç boyutlu yapısının elde edilmesini sağlarken, biyoaktif özelliğe sahip olan seramikler kemik yenilenmesini hızlandırır.

Polimerik biyomalzemeler, doku iskelesi üretiminde öncüdür [32]. Bu malzemeler, hücre farklılaşması, çoğalması, hücre dışı matris oluşumu ve mineralizasyonu için mekanik ve bozunma özelliklerindeki çeşitlilik ile doku iskelesi uygulamalarında farklı dokuları taklit ederek hasarlı bölgenin yenilenmesi için en uygun ortamı sağlayabilmektedir [40, 41]. Bununla birlikte, birbirine bağlı gözeneklilik, değişken yüzey kimyası ve doku yenilenmesini yönlendirmek için benzersiz geometriler sağlamaktadır [42]. Doku iskelesi üretiminde **biyobozunur** yapıda çok çeşitli polimerler kullanılmakta olup, **doğal** ve **sentetik polimerler** olmak üzere iki grupta incelenebilir. Doğal polimerler; nişasta, aljinat, kitin/kitosan ve hiyaluronik asit türevleri gibi polisakkaritleri ve soya, kolajen, fibrin jeller ve ipek gibi proteinleri içerir

[43]. Hayvanlar ve bitkilerden elde edilen doğal polimerler, biyolojik ortamdaki makromoleküllere benzer özellik gösterir. Böylece diğer polimerlerden daha iyi biyouyumluluk ve daha düşük toksisite gösteren doku iskeleleri doğal polimerler kullanılarak elde edilebilmektedir. Bununla birlikte, farklı biyolojik dokulardan izole olduklarından elde edildikleri kaynağa göre bileşimlerinin değişmesi ve düşük mekanik özelliklere sahip olmaları kullanım alanlarını kısıtlamaktadır [36, 39]. Sentetik polimerler ise, doğal polimere göre daha iyi mekanik özelliklere ve işlenebilirliğe sahiptir. Genellikle kontrollü koşullar altında üretilen sentetik polimerlerin bozunma hızı, elastik modülü ve gerilme mukavemeti öngürülebilir ve tekrarlanabilir mekanik ve fiziksel özellikler sergiler. Ancak, kemik doku uygulamalarında hücre büyümesine izin vermeyen empüriteler içermesi sentetik polimerlerin önemli bir dezavantajıdır [44]. Doğal polimerler, kemik doku mühendisliği uygulamalarında sentetik polimerlere göre daha fazla ilgi uyandırmaktadır. Bunun nedeni, yüksek derecede organize olmuş yapılar olan doğal polimerlerin, hücre reseptörlerine bağlanmayı sağlayan hücre dışı matris bileşenlerini içermeleri ile üç boyutlu yapının elde edilmesi ve doğal kemik dokusuna benzer mekanik özellikler göstermesidir [45].

Literatür incelendiğinde, pek çok polimerik biyomalzeme kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmıştır. Çizelge 2.2’te sıklıkla kullanılan polimerlerin sınıflandırılması verilmiştir.

Doğal bir polimer olan **kitosanın**, kemik doku uygulamalarında kullanımı büyük ilgi görmektedir [46-48]. Antimikrobiyal özelliklere sahip olan kitosan, aynı zamanda, biyomedikalden endüstriyel alanlara kadar çok sayıda uygulamada farklı şekillerde (jeller, filmler, parçacıklar, membranlar ve doku iskeleleri) yaygın olarak kullanılır [49, 50]. Kitosan; yengeç, karides, istakoz gibi eklem bacaklıların kabuklarında, bazı bakteri ve mantarların hücre duvarlarında bulunan kitinin, yüksek sıcaklıkta ve alkali ortamda (50% sodyumhidroksit gibi) deasetilasyonu ile elde edilmektedir. Moleküler ağırlığı 50-2000 kDa arasında olan kitosanın deasetilasyon derecesi elde edildiği kaynağa ve hazırlama yöntemine göre farklılık göstermektedir. Kitin yüksek oranda deasetile edildiğinde, daha yavaş bozunmaktadır [51].

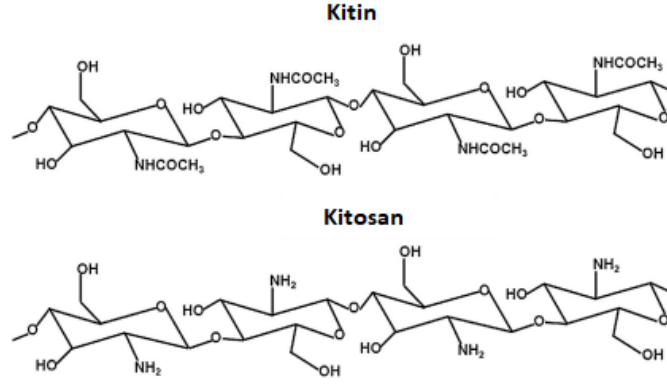
Çizelge 2.3 : Doğal ve sentetik biyobozunur polimerlerin sınıflandırılması [52].

Doğal Polimerler	Sentetik Polimerler
1. Polisakkaritler Nişasta Selüloz Kitin	1. Poliamidler
2. Proteinler Kolajen/Jelatin Kazein, Albümin, Fibrinojen, İpek	2. Polianhidritler
3. Polyesterler Polihidroksialkanatlar	3. Poliamid-enaminler
4. Diğer Polimerler Lignin Lipitler Şellak Doğal kauçuk	4. Polivinilalkol
	5. Polivinilasetat
	6. Polyesterler Poliglikolik asit Polilaktik asit Polikaprolakton Poliortoesterler
	7. Polietilen oksitler
	8. Polifosfazenler Poliglikolik asit Polilaktik asit Polikaprolakton Poliortoesterler

Kitosan yapısal olarak, hidroksil gruplarının yanında asetilemin ve serbest amino grupları içermektedir. Glikozaminoglikanlar hücre dışı matrisin temel bileşeni olup, bu bileşenlerin yapısı kitosanın polisakkarit anazincirinin yapısına benzemektedir [6]. Bu benzerlik, zarar görmüş olan kemik dokunun iyileşmesini olumlu yönde etkilemektedir [7]. Ayrıca, kitosanın hücrelerin bağlanması ve büyümesinde önemli bir rolü vardır [53-55] ve gözenekli yapılar halinde üretildikten sonra matris olarak kullanılmaktadır [56].

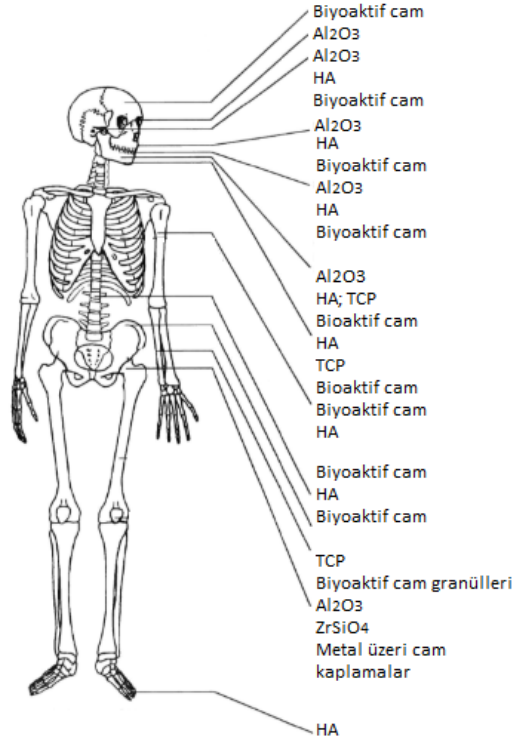
Kitosan, üstün kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan ideal bir biyopolimer malzemedir. Ancak, kemik gibi sert dokularda mineralizasyon oluşumu zayıf olmakla birlikte, düşük mekanik dayanım göstermektedir. Kitosan matrisleri, tek başına gereken mekanik özellikleri karşılamadığında başka bir malzeme ile birlikte kullanılmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, kitosan içeren doku iskelelerinin kalsiyum fosfat biyoseramikleriyle katkılanması üzerine odaklanmışlardır [10]. Kitosan ve kalsiyum fosfat esaslı biyoseramik malzemeler bir arada kullanıldığında, rezorpsiyon ve bozunma kinetiğinin arttığı, biyoyumluluk ve sert doku entegrasyonunun geliştiği bilinmektedir [48].

Vücudun yıpranan, hasar gören ya da işlevini yitiren parçalarının onarımı için geliştirilen özel tasarımlı seramikler, **biyoseramikler** olarak adlandırılır.



Şekil 2.5 : Kitin ve kitosanın yapısı [50].

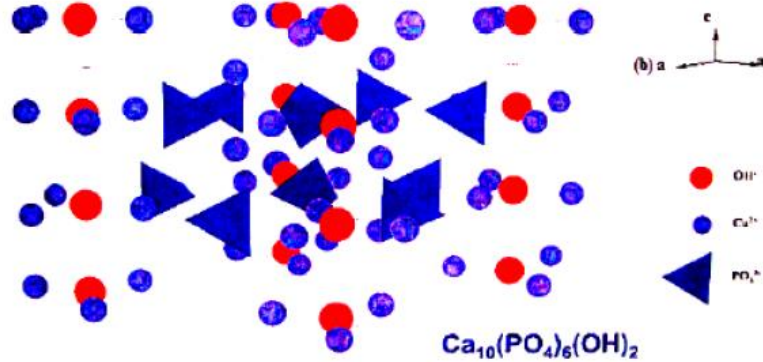
Biyoseramikler, temasta buldukları kemik dokusu ile çeşitli reaksiyonlar verebilmektedir. Bu reaksiyonlar; biyoaktif ve biyo inert olmak üzere iki grupta incelenir. Biyoaktif seramikler, temas halinde olduğu canlı doku ile kaynaşıp sıkı biyokimyasal bağlar kurar. Böylece, doku hücreleri içerisine doğru büyüme eğilimi gerçekleşir. Biyo inert seramikler ise, kimyasal olarak karardır ve çevre dokular ile bağlanma göstermezler. Şekil 2.6'da insan vücudunda kullanılan biyoseramik malzemeler gösterilmiştir.



Şekil 2.6 : Klinik uygulamalarda insan vücudunda kullanılan biyoseramik malzemeler [57].

Yapısal işlevlerine göre biyoseramikler üç sınıfa ayrılabilir: kalsiyum fosfat seramikleri, oksit seramikler ve silikat seramikleri. Kalsiyum fosfat seramikleri, kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılardır. Hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat ve oktakalsiyum fosfat kalsiyum fosfat biyoseramiklerindedir. Bu kalsiyum fosfat yapıları, biyoaktif özelliğe sahip olup kemiğe yüksek oranda bağlanma kapasitesine sahiptir [32]. Kemik dokunun kimyasal ve kristal yapısı ile benzer özellik gösteren bu bileşikler; biyouyumlu, osteokondüktif ve osteoindüktiftir [58]. Kemiğin önemli bileşenlerinden biri olan inorganik yapıdaki kalsiyum fosfatlar, kimya, biyoloji, tıp ve jeoloji gibi pek çok disiplinlerarası alanda 20 yıldan bu yana sıklıkla kullanılmaktadır.

Hidroksiapatit, kalsiyum fosfat seramikleri arasında en iyi bilinen doku iskelesi malzemesidir. Kemiğin temel bileşeni olan hidroksiapatit, apatit yapısında olup genel formülü $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ olarak bilinmektedir [59]. Kemik yapısı, %60 oranında hidroksiapatit kristallerinden ve %20 oranında kolajen fiberlerden oluşmaktadır [30]. Hidroksiapatitte kalsiyum ve fosfor sitokiyometrik oranı 1,67'dir. Hidroksiapatitin atomlarının tam olarak yerlerini gösteren kristal yapısı ilk olarak, bir mineralden, Beevers ve McIntyre tarafından belirlenmiş, daha sonra Kay tarafından sentetik hidroksiapatit kullanılarak düzeltilmiştir [44]. Şekil 2.7, hidroksiapatitin kristal yapısını göstermektedir.



Şekil 2.7 : Hidroksiapatitin kristal yapısı [44].

Hidroksiapatit tozları, yaş kimyasal yöntem (çöktürme) [60], termal çökeltme [61], sürekli çökeltme [62], sol-jel yöntemi [63, 64] ve hidrotermal yöntem [65] gibi pek çok yöntemle sentezlenebilmektedir. Hidroksiapatit sentetik olarak üretilebilmesinin yanı sıra, organik malzemelerden hidrotermal olarak da dönüştürülebilmektedir. Organik malzemelerden hazırlanan hidroksiapatit için, genellikle insan diş minesini ve

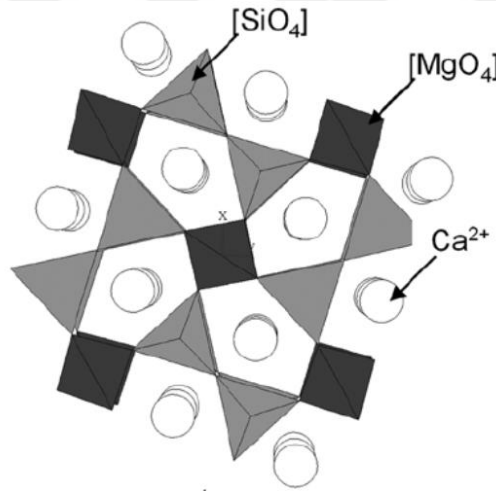
kemiği, balık ve koyun gibi hayvanların kemikleri kullanılmaktadır [44]. Hidroksiapatit toz halde ya da gözenekli blok şeklinde kemik dolgu malzemesi olarak kullanılmaktadır [59, 66]. Gözenekli yapıdaki hidroksiapatit seramikleri vücutta hormonlar, enzimler ve antikor parçaları gibi maddelere yüksek bağlanma afinitesi gösterirler. Bununla birlikte hidroksiapatitin gözenekli yapısı, vücut sıvılarının malzemeye kolayca erişebilmesi ve kemik yenilenmesine destek olmasından dolayı yoğun yapılarına göre avantajlıdır. Kemiğin hızlı bir şekilde yenilenmesini sağlayan hidroksiapatit biyoseramikleri, kemik doku mühendisliği uygulamalarının yanı sıra dişçilikte ve dental cihazlarda, gübre ve ilaç endüstrisinde ve su arıtma cihazlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Sağlık alanındaki kullanımı biyoaktif özelliğe sahip olmasının yanı sıra, herhangi bir uygulamada toksik etki göstermemesinden kaynaklanmaktadır. Yumuşak ve kaslı dokulara ara yüzey oluşturmadan doğrudan yapışabilme kabiliyeti, mükemmel biyouyumluluk ve osteokondüktif özellikleri ise biyomalzeme olarak vücutta kullanılmasını sağlamaktadır [67]. Ancak biyobozunur özelliğe sahip olmaması, mekanik özelliklerinin zayıflığı ve işlenme zorluğu gibi çeşitli dezavantajları kemik doku uygulamalarında kullanımını sınırlamaktadır [58]. Önceki çalışmalar, kalsiyum fosfat seramiklerinin, özellikle hidroksiapatitin biyolojik olarak bozunabilir olmadığını göstermiştir [68].

Kalsiyum fosfat esaslı seramiklerden bir diğeri olan **β -TCP (β -Ca₃(PO₄)₂)** ise, yüksek biyouyumluluk, osteokondüktivite kabiliyeti ve kemik dokularında bulunan biyolojik apatitlere kimyasal benzerliklerinden dolayı kemik doku mühendisliği uygulamaları için kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır [67, 69-72]. β -TCP'nin çözünme hızı hidroksiapatite göre daha hızlıdır. Bunun nedeni Ca/P oranının hidroksiapatitten düşük olmasıdır [44]. β -TCP biyoseramikleri, kemik tedavilerinde seramik blok, granül ve kalsiyum fosfat çimento halinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, β -TCP'in biyouyumlu olmasına rağmen, in vivo olarak yavaş kemik oluşumu gösterdiği ve her zaman ideal bir osteointegrasyona (çevreleyen kemiğe bağlanma özelliği) sahip olmadığı bildirilmiştir [73, 74]. β -TCP seramiklerinin düşük basma dayanımı ve kırılma tokluğu gibi mekanik özelliklerindeki dezavantajları ise, kemik dokusunun onarımı için daha geniş uygulamalarını kısıtlamaktadır [70, 75]. β -TCP seramikleri biyolojik olarak parçalanabilen maddeler olmalarına rağmen, bozunma kinetikleri yavaş olma eğilimindedir [68].

Yaygın olarak kullanılan biyoseramiklerden hidroksiapatit ve β -TCP'ın, kemik doku uygulamaları için beklenen mekanik özellikleri karşılayamadığı belirlenmiştir [58, 70, 75]. Bu malzemelerin düşük basma dayanımı ve kırılma tokluğu gibi dezavantajlarından dolayı araştırmacılar yeni malzeme arayışına girmiştir. Kontrol edilebilir mekanik özellik ve yüksek bozunma hızı gibi üstün özellikleriyle öne çıkan silikat esaslı biyoseramik bir malzeme olarak akermanit, son zamanlarda ilgi çeken bir malzeme olmuştur [11, 12].

2.2.3.1 Akermanit

Akermanit, ilk olarak Herman Lie Vogt tarafından yüksek fırın prosesinden elde edilen cürufun incelenmesiyle tanımlanmıştır [76]. Kalsiyum ve magnezyum silikat içeren bir mineral olan akermanit, silikat esaslı minerallerden melilit grubunun bir üyesidir. Akermanit, >1450 °C erime sıcaklığına ve $2,944$ g/cm³ yoğunluğa sahiptir [77]. Bununla birlikte, çift tetrahedral yapısında olup, Şekil 2.8'de kristal yapısı gösterilmiştir.



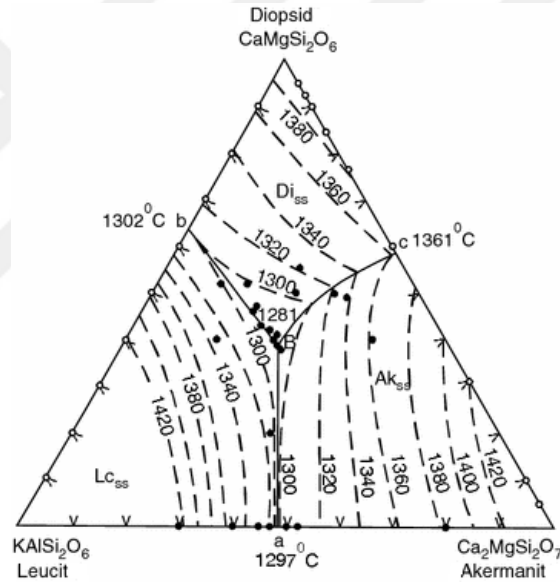
Şekil 2.8 : Akermanitin kristal yapısı [78].

Akermanit, içerdiği inorganik iyonların vücutta salınabilmesi ile hücrelerin kemiğe yapışmasını ve burada çoğalmasını sağlayan uyarıcı bir etkiye sahiptir [13]. İnsan vücudundaki önemli eser elementlerden biri olan **Si**; kemikte 100 ppm, hücre dışı matris bileşenlerinde ise 200-550 ppm seviyesindedir [68]. Kemik doku mineralizasyonu için gerekli olan Si [79-82], kollajen sentezi [83] ve çapraz bağların oluşumu [84] ile kemik metabolizmasında [85, 86] ve iskelet gelişiminde [87] önemli bir rol oynamaktadır. Aynı şekilde **Mg** da kemik doku mineralizasyonu ile yakın ilişki içindedir [88, 89]. Önceki çalışmalarda, inorganik iyonların kemik hücrelerini uyarıcı

etkiyi sağlayabildiği ve böylece hücre çoğalmasını attırdığı doğrulanmış, bu uyarıcı etkinin malzemelerin hücreler ve dokularla etkileşime girerek kemik yenilenmesini uyarma yeteneği olan **biyoaktivite** için önemli değerlendirme kriterlerinden biri olduğu belirlenmiştir [90]. Akermanit, in vitro ve in vivo koşullarda üstün biyoaktif özellikler göstermektedir [14]. Wu ve çalışma ekibi tarafından yapılan bir çalışmada [13], akermanit çözünmesi ile elde edilen iyonik ürünlerin hücre oluşturma ve akermanitin kemik benzeri apatit oluşum kabiliyeti yapay vücut sıvısında (SBF) incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, akermanit biyoseramiklerinden salınan Ca, Mg ve Si iyonlarının hücre çoğalmasını önemli ölçüde uyarıcı etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, iyi biyoaktif özellik gösterdiğini ve kemik benzeri apatit oluşum yeteneğini de doğrular niteliktedir. Wu ve çalışma ekibi tarafından Ca, Si ve Mg iyonlarının birlikte hücre çoğalmasını artırıcı kabiliyete sahip olmasının yanısıra, bu hücrelerin farklılaşmasında Si ve Mg iyonlarının uyarıcı etkisinin, Ca iyonlarından daha önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir [91]. Bununla birlikte akermanit, kontrol edilebilir bir bozunma hızına sahiptir [15, 92]. Bozunma hızı, silikat esaslı malzemelerin vücut içerisindeki mineralizasyon yeteneğini artırmaktadır [68].

Yapılan çalışmalarda akermanit tozları, farklı başlangıç malzemeleri kullanılarak yanma, sol-jel, mekanik öğütme ve sinterleme gibi pek çok yöntemle başarılı bir şekilde sentezlenmiştir [14, 93]. Bununla birlikte, akermanit üretimi ile ilgili yapılan çalışmalarda sol-jel en sık kullanılan yöntemdir. Wu ve çalışma ekibi [77], sol-jel ve ardından 1370 °C'de 6 saat boyunca uyguladıkları ısıl işlem yöntemleriyle tetraetil ortosilikat ((C₂H₅O)₄Si, TEOS), magnezyum nitrat heksahidrat (Mg(NO₃)₂ .6H₂O) ve kalsiyum nitrat tetrahidrat (Ca(NO₃)₂ .4H₂O) başlangıç tozlarını kullanarak akermanit tozlarını üretmişlerdir. Üretilen akermanit tozlarının, SBF'ında 10 gün bekletildikten sonra kemik benzeri apatit tabakası oluşturabildiğini ve biyoaktif implant malzemeleri olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Hou ve çalışma ekibi [94], sol-jel ve 1350 °C'de 4 saat boyunca uygulanan ısıl işlem yöntemleriyle aynı başlangıç tozlarını kullanarak akermanit tozu sentezini gerçekleştirmiştir. Üretilen akermanit tozları, 20 MPa basınç altında preslenerek disk şekline getirilmiş ve yüzey yapıları incelenmiştir. Yüzeyi 3 µm çapındaki gözeneklere sahip olan akermanit seramiklerinin, SBF çözeltisi içerisinde biyoaktivitesi değerlendirilmiş ve gözenekliliğin apatit oluşumunu kolaylaştırdığı gözlenmiştir. Wu ve çalışma ekibinin yaptığı diğer bir çalışmada [95],

sol-jel yöntemi ve aynı başlangıç tozları kullanılarak 1300 °C’de akermanit sentezi gerçekleştirilmiştir. Ancak, oluşan safsızlıkların çok az miktarının bile SBF çözeltisi içerisindeki apatit oluşumunu azalttığı gözlemlenmiştir. 1200 °C’de gerçekleştirilen bir diğer çalışmada [96], akermanit tozlarının saf bir şekilde sentezlenemediği belirlenmiştir. Sharafabadi ve çalışma ekibinin gerçekleştirdiği bir çalışmada [14], mekanik öğütme yöntemiyle nispeten düşük bir sıcaklık olan 900 °C’de 5 saat boyunca uygulanan ısı işlem ile magnezyum oksit (MgO), silisyum dioksit (SiO₂) ve kalsiyum kaynağı olarak da yumurta kabukları kullanılarak akermanit tozları sentezlenebilmiştir. Yapılan çalışmalar, uygulanan ısı işlem sıcaklığı ve süresinin üretilen tozların yapıları üzerindeki etkisinin önemini vurgulamaktadır. Şekil 2.9’da akermanitin faz diyagramı gösterilmiştir. Akermanit fazının, 1300 °C’den 1420 °C’ye kadar olan sıcaklıklarda oluştuğu görülmektedir.



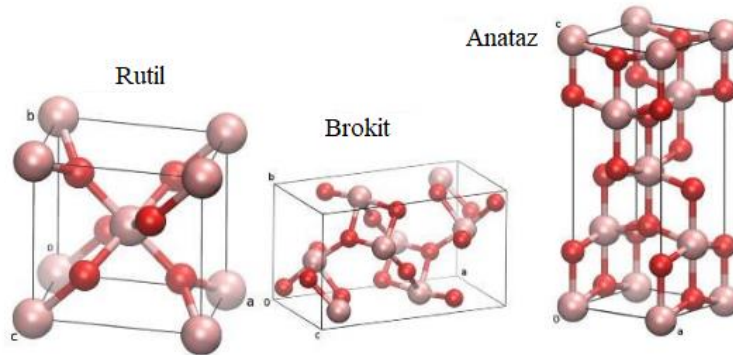
Şekil 2.9 : Akermanitin faz diyagramı [97].

Akermanit, nispeten geniş bir kimyasal bileşime sahip olmakla birlikte, kemik doku yenilenmesinin gereksinimlerini karşılamak için optimize edilebilir. Önceki araştırmalar akermanit esaslı doku iskelelerinin kemik oluşturabilme yeteneğini ve kalsiyum fosfat esaslı malzemeler ile karşılaştırıldığında kemik oluşumu yönündeki üstünlüğünü doğrulamıştır [13, 77, 91, 98, 99]. Akermanit, doku iskelesi malzemesi olarak büyük bir potansiyele sahiptir [15]. Ancak, yük gerektiren uygulamalarda mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi gerekmektedir. Kemik doku uygulamalarında kullanılan biyoseramik malzemelerin mekanik özellikleri metal oksitler, karbon nanotüpler ve biyocamlar gibi katkılarla iyileştirilebilmektedir. İlgili literatür

incelendiğinde kullanılan birçok katkı malzemesi arasında **titanyum dioksit (TiO₂)**, biyoyoumluluk ve yüksek mekanik özellikleriyle öne çıkmaktadır [15].

2.2.3.2 Titanyum dioksit (TiO₂)

Oksit seramiklerinden biri olan TiO₂, titanyum ve oksijen atomlarının bir araya gelmesiyle oluşan bir yarı iletkenidir. TiO₂ çok sayıda kristal yapıya sahip olup, bu yapılar içerisinde **anataz**, **rutil** ve **brokit** yapıları en önemlileridir. Rutil ve anataz fazları tetragonal yapıda iken brokit ortorombik yapıdadır [100]. TiO₂'nin tüm kristal yapıları, oktahedral (düzgün sekizyüzlü) koordinasyonuna sahiptir. Anataz ve rutil yapıları, her bir Ti⁺⁴ iyonunun oktahedral oluşturan altı O⁻² iyonu ile çevrelenen TiO₆ zincirleriyle tanımlanabilir. Bu yapılar arasındaki farklılık, oktahedral yapıların biçimidir. Rutil fazda her bir oktahedral doğrusal zincir yapısında olup, ortorombik distorsiyon gösterir. Anataz fazında ise, yapı doğrusal olmayıp daha az distorsiyona uğramıştır. Bununla birlikte, rutil fazda titanyum ve oksijen atomları arasındaki mesafe anataz fazına göre daha uzunken, iki titanyum atomu arasındaki mesafe daha kısadır. Bu farklılıklar, her iki fazın da bant aralıklarına yansımaktadır. Rutilin yasak bant aralığı 3,2 eV iken anatazın yasak bant aralığı 3,0 eV'tur [101, 102]. Enerji bant aralığının düşük olması, daha düşük dalga boylarındaki ışığı absorblaması anlamına gelmektedir. Ayrıca, rutil fazı en kararlı faz olup, diğer fazlar ısıtıldıklarında rutil faza dönüşerek yarı kararlı hale geçmektedirler [103]. Bununla birlikte parçacık boyutu ve sıcaklık, malzemelerin kararlılığı ve performansının belirlenmesinde önemli parametrelerdir. Parçacık boyutu nano boyuta indirildiğinde, anataz fazının daha kararlı yapıda olduğu bilinmektedir [104]. Şekil 2.10'de TiO₂'nin kristal yapıları gösterilmiştir.



Şekil 2.10 : TiO₂'nin rutil, brokit ve anataz fazlarının kristal yapıları [105].

TiO₂ nanopartikülleri, sol-jel, homojen çökeltme, alev sentezi, mekanokimyasal yöntemler ve hidrotermal yöntemle sentezlenebilmektedir [106]. Kullanılan yöntem ve başlangıç malzemelerinin miktarı, TiO₂ partiküllerinin boyutunu etkilemektedir.

TiO₂, benzersiz özellikleri nedeniyle pek çok uygulama alanında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu alanlar; pigmentler, adsorbanlar, katalizör destekleri, filtreler, kaplamalar, foto iletkenler ve dielektrik malzemelerdir [107]. TiO₂'in anataz formu genellikle fotokatalitik uygulamalarda kullanılırken, rutil formu yük taşıyan uygulamalarda mekanik özelliklerin geliştirilmesi için kullanılmaktadır. TiO₂, mükemmel biyouyumluluk ve yüksek mekanik özelliklerinden dolayı kemik doku uygulamalarında da büyük ilgi görmüştür [15]. Khalil ve çalışma ekibi yaptıkları çalışmada [108], hidroksiapatitin (HAp) mekanik özelliklerini geliştirmek amacıyla katkı olarak TiO₂'yi kullanmış ve ağırlıkça %5'lik TiO₂ katkısının kırılma tokluğu ve ısıl işlem görmüş numunelerin basma dayanımını iyileştirebileceğini bildirmiştir. Kailasanathan ve çalışma ekibi [109], katkı olarak TiO₂ içeren nano-HAp/jelatin kompozitlerini hazırlamış ve TiO₂ ile güçlendirilmiş doku iskelelerinin basma dayanımının, nano-HAp/jelatin kompozitlerinden oldukça yüksek olduğunu göstermiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise [110], farklı oranlarda TiO₂ katkılı TCP seramikleri geliştirilmiş ve TiO₂ katkısının SBF çözeltisinde bekletilen seramiklerin basma dayanımını arttırdığı vurgulanmıştır. Bununla birlikte, TiO₂, SBF çözeltisi içerisinde çekirdeklenme ve kristalleşmeyi sağlayarak kemik benzeri apatit oluşumunu arttırmaktadır [110, 111]. TiO₂'in kemikle bağlanma yeteneği olarak tanımlanan osseointegrasyon özelliği yüksektir. Böylece, TiO₂ ile katkılanmış biyomalzemelerin vücut içerisinde doğal kemikle bağlanma özellikleri artmakta ve farklılaşarak kemikle bütünlük oluşturmaları hızlanmaktadır.

2.2.4 Doku iskelelerinde kullanılan biyomalzemelerin üretim yöntemleri

Kemik doku uygulamalarında kullanılan biyoseramik tozların üretim yönteminin seçimi oldukça kritiktir. Bunun nedeni; üretim yönteminin malzemenin nihai özelliklerini etkilemesidir. Sol-jel, mekanik öğütme, püskürtmeli kurutma ve hidrotermal yöntem, önemli toz üretim yöntemleridir.

2.2.4.1 Sol-jel yöntemi

Seramik tozlarının sentez yöntemlerinden biri, **sol-jel** yöntemidir. Bu yöntem, bir sıvı faz içerisinde bulunan katı taneciklerden oluşan kolloidal süspansiyonlardan, üç boyutlu inorganik ağı yapıların oluşmasını içermektedir [112]. **Sol** adı verilen kolloid tanecikler, 500 nm ve altındaki boyutlara sahip olup, sıvı içerisinde dağılmış olarak bulunurlar. Yani sol; sıvı içerisinde katı partiküllerin kolloidal bir süspansiyonudur [113]. Tanecikler arası elektriksel itme ve moleküller arası van der waals kuvvetleri, yer çekimi kuvvetinden büyüktür. Bu nedenle solü oluşturan malzemeler kendiliğinden dibe çökmez. Kolloid taneciklerin çeşitli işlemlerle çöktürülmesiyle elde edilen **jel** yapısı, katı ve sıvı faz arasındaki bir geçiş fazıdır [114]. Sol-jel yöntemi, çeşitli inorganik bileşiklerin başlangıç malzemesi olarak seçilerek uygun bir çözücü ve katalizör varlığında ileri teknoloji seramiklerinin düşük sıcaklıklarda üretilmesine olanak sağlamaktadır. Metallerin nitrat, asetat gibi tuzları, hidroksitler, çeşitli metal ve ametal oksitler ve metal alkoksitler sol-jel yönteminde sıklıkla kullanılan başlangıç malzemeleridir. Bu malzemelerin belirli sıcaklıklarda karıştırılması ve homojen bir çözelti hazırlanması ile birbirini izleyen kimyasal reaksiyonlar gerçekleşmektedir. Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları ile başlayan sol-jel süreci, bu sırada meydana gelen polimerizasyon işlemi ile devam eder. Polimerizasyon sonucu oluşan sol yapının viskozitesi, hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları ile jel yapı oluşana kadar düşer. Daha sonra sol yapı üzerinde yoğunlaşma reaksiyonları başlar ve moleküller ağı yapıyı oluşturmak üzere birbirlerine bağlanarak jelleşir [115]. Son ürünün şekli ve boyutu jelleşme aşamasında belirlendiği için, bu aşamanın kontrolü oldukça önemlidir. Jelleşme süresinin artması ile partiküllerin yoğunluğunun da arttığı bilinmektedir [116]. Jel yapı, sıvı içerisindeki gözenekli bir ağ olarak düşünülebilir. Gözeneklerdeki sıvının uzaklaştırılarak jelin kuruması, sol-jel prosesinin kritik aşamalarından biridir. Kuruma sırasında meydana gelen kapiler gerilimler, jelde çatlamalara ve son ürünün mekanik özelliklerini olumsuz etkileyecek sonuçlara neden olmaktadır [116, 117]. Sol-jel yönteminin içerdiği kimyasal reaksiyonlar, kararlı fazın üretimi ve uygun tasarımı için başlangıç malzemelerinden nihai ürüne kadar tüm prosesin kontrolüne imkan verdiğinden oldukça önemlidir [115].

2.2.4.2 Mekanik öğütme yöntemi

Bilyalı öğütme, toz karışımı halinde bulunan farklı malzemelerden, homojen yeni bir malzeme üretimine olanak sağlayan bir toz işleme yöntemidir. Bilyalı öğütme bilya-toz-bilya çarpışmaları ile oluşan yüksek deformasyon etkisine sahip bir yöntem olup, bu yöntemle çok çeşitli malzemeler üretilebilmektedir. Bu malzemeler; seramik ve metal matrisli kompozitler, mikro ve nano boyuttaki parçacıklar ve metaller arası bileşikler olarak sıralanabilir [118]. Bilyalı öğütme işlemi, haznenin kendi ekseninde etrafında döndürülmesi ve oluşan merkezkaç kuvvetleriyle hazne içerisindeki tozlar ve bilyaların çarpışarak öğütülmesi prensibine dayanır. Bilyalı öğütme işleminde, soğuk kaynak, kırılma ve tozların tavlama gibi eş zamanlı gerçekleşen olaylar meydana gelmektedir [119]. Bu olaylar, sünek veya gevrek özelliğe sahip olan malzemelerde farklılık gösterir. Metaller gibi sünek tozlar, yassı morfolojiye geçiş yapıp artan deformasyon ile birbirlerine soğuk kaynak olurken, mekanik öğütme süresi arttıkça tozlar gevrekleşerek kırılır. Belirli bir soğuk kaynak-kırılma döngüsünden sonra öğütme sistemi kararlı hale ulaşır. Seramik esaslı tozlarda ise bilya ve tozların çarpışmaları ile sürekli kırılmalar gerçekleşmektedir. Bu kırılmalar çeşitli öğütme parametrelerine bağlı olup, kırılma eğilimi en düşük değere ulaştığında kararlılık gösterir [118]. Bilyalı öğütme yönteminde üretilen tozun son yapısına etki eden temel parametreler; değirmen tipi, öğütücü hazne, bilya/toz ağırlık oranı, öğütme hızı, öğütme süresi, ortam sıcaklığı ve öğütme atmosferidir. Başlangıç tozlarının mekanik olarak öğütülmesinde kullanılan öğütme cihazları ise; kapasitelerine, öğütme verimlerine ve ilave ekipmanlarına göre farklılık göstermektedir [120]. Mekanik öğütmede, spex tipi çalkalayıcı, atritor ve gezegen bilyalı değirmenler sıklıkla kullanılmaktadır. Öğütme, en çok gezegen bilyalı değirmenlerde yapılmaktadır. Bilyalı değirmenlerde kullanılan öğütme hazneleri ve bilyalar genellikle, zirkonya (ZrO_2), silisyum nitrür (Si_3N_4), krom çeliği ve tungsten karbür (WC) malzemelerden yapılmaktadır [120]. Mekanik öğütme ile elde edilecek nihai ürünün istenilen özelliklerde olması, tüm parametrelerin birlikte optimizasyonu ile sağlanmaktadır.

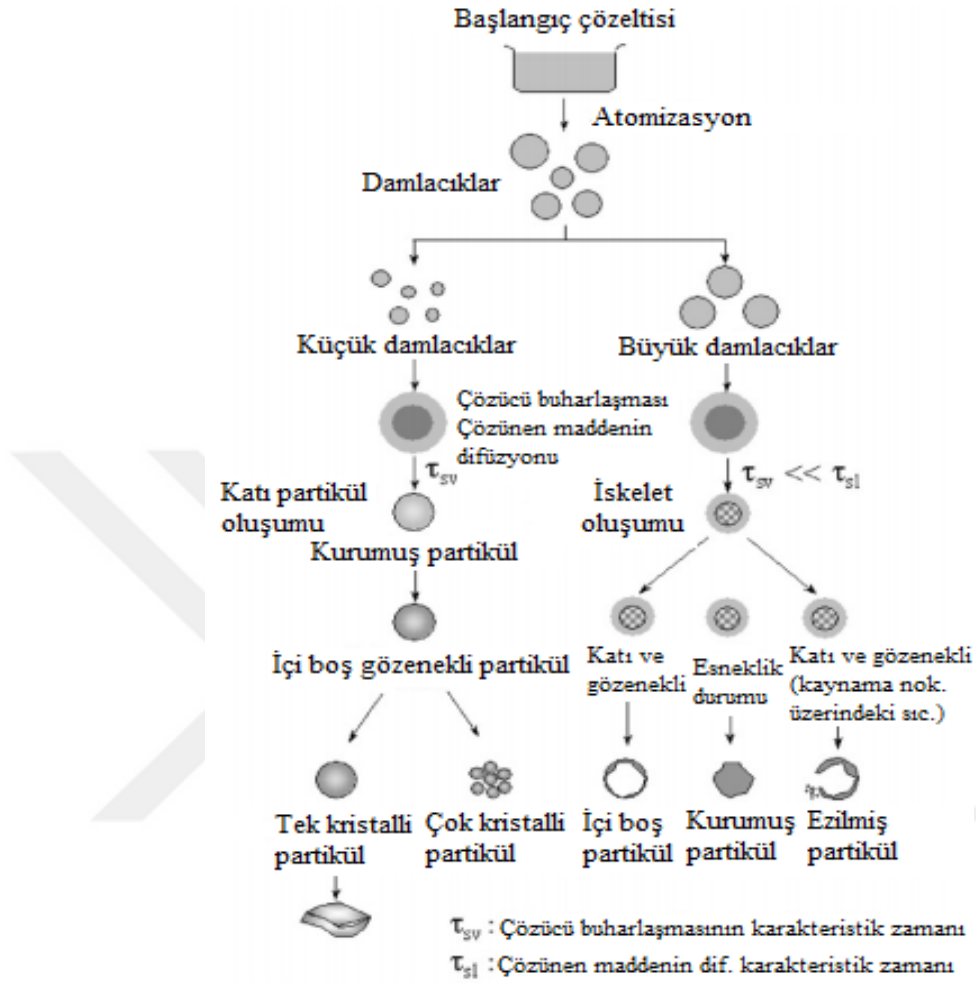
2.2.4.3 Püskürtmeli kurutma yöntemi

Püskürtmeli kurutma, endüstriyel yöntemler arasında en çok kullanılan toz üretim yöntemidir [121]. Bu yöntem, akışkan haldeki beslemenin sıcak kurutma ortamına püskürtülmesiyle partikül veya granül halinde kuru toza dönüştürülmesi işlemini

içermektedir. Bununla birlikte, tozların granül şeklinde üretilmesinde en yaygın olarak kullanılan yöntemdir [122]. **Granülasyon;** partiküllerin bir araya getirilerek kontrollü aglomerasyonunun sağlanmasıdır. Tozların akışkanlık yeteneğine, yüksek paketlenme yoğunluğuna ve güçlü preslenme özelliğine sahip olması granülasyonun avantajlarıdır [123]. Püskürtmeli kurutma ile, homojen dağılımlı ve küresel şekillerde çok çeşitli granüller üretilmektedir. Püskürtmeli kurutma ile granül oluşumu; akışkan beslemenin fiziksel ve kimyasal özelliklerine, kurutucu tasarımına ve kurutma parametrelerine bağlıdır [124].

Püskürtmeli kurutma işleminde kurutulacak çözelti, bir atomizör kullanılarak küçük damlacıklar halinde sıcak kurutma odasına üstten püskürtülür. Kurutma gazı olarak hava kullanılmasının yanı sıra, çözücü olarak genellikle su özel durumlarda da alkol ve bazı organik sıvılar kullanılabilir [125]. İdeal bir atomizasyon, istenilen boyutta ve dar bir boyut dağılımında damlacıkların oluşumu ile gerçekleşir. Püskürtülen damlacıklar sıcak hava ile karşılaşır. Başlangıç çözeltisi ve hava karışımı, damlacıkların küresel şekli bozulmadan kurutucu tabanına doğru iner. Bu aşamadan sonra, başlangıç çözeltisi içerisindeki çözücü buharlaşır ve sıcak gaz ile hava karışımı kurutucuyu terk eder. Damlacıklar, nem içeriğinde değişiklik olmadan kurutma havasıyla dengeye ulaşır ve kurutma sabit bir şekilde devam eder. Bu esnada damlacıkların çapı azalmakta, ancak yüzey sıcaklığı değişmemektedir. Kuruma hızı, damlacıkların yüzeyi altındaki sıcaklık arttıkça düşmektedir. Kuruyan nihai ürün siklonunda toplanırken, buraya santrifüj kuvvetiyle giren sıcak hava merkezkaç kuvvetinin etkisinde fırlatılır. Katı parçacıklardan ayrılmış hava siklonu terk eder. İdeal olarak, homojen bir paketleme oluştuğunda kritik noktaya ulaşılır [121, 125, 126]. Püskürtmeli kurutma karmaşık bir yöntem olmasına rağmen, süreç dört aşamada özetlenebilir. Bu aşamalar; beslemenin atomizasyonu ve damlacık oluşumu, besleme ve hava teması, beslemenin kuruması ve kurutulmuş ürünün havadan ayrılarak partikül oluşumudur. Püskürtmeli kurutma, seramik tozlarının sentezi için önemli yöntemlerden biridir. Sol adı verilen koloidal parçacıklar belirli stokiometrik oranlarda karıştırılarak başlangıç malzemesi olarak kullanılabilir. Seramik tozları bir bağlayıcı, yağlayıcı veya köpük önleyici çeşitli katkılarla birlikte başlangıç malzemelerinden oluşan beslemenin püskürtülmesiyle üretilmektedir. Bu yöntemle, başlangıç malzemelerinin uygun bir biçimde karışımı sağlanarak homojen ve dar

boyut dağılımlı istenilen özelliklerde küresel parçacıklar kolaylıkla elde edilebilmektedir. Şekil 2.11’da püskürtmeli kurutma süreci gösterilmektedir.



Şekil 2.11 : Püskürtme yöntemiyle hazırlanan tozun morfolojisi [127].

2.2.4.4 Hidrotermal yöntem

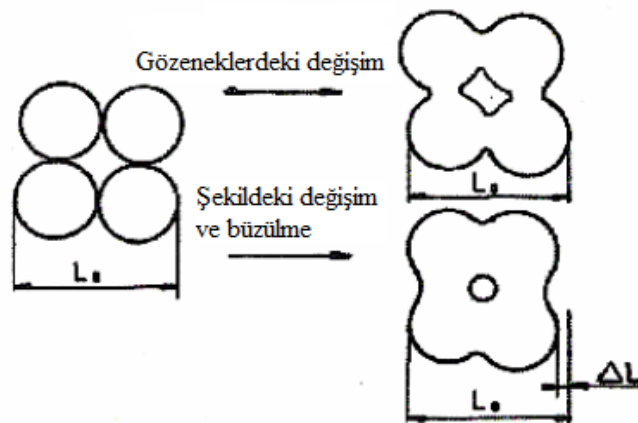
Hidrotermal yöntem, normal şartlarda çözünemeyen malzemelerin yüksek basınç ve sıcaklık altında çözülerek yeniden kristalleştirilmesi olarak tanımlanmaktadır [128]. Bu yöntemde, başlangıç malzemeleri ve çözücü **otoklav** adı verilen kapalı bir kaba yerleştirilerek yüksek bir sıcaklığa ısıtılır. Bu sıcaklıkta, başlangıç malzemeleri çözünme ve çökelme yoluyla reaksiyona girer ve dönüşür. Otoklav kabının oda sıcaklığına soğumasından sonra, ürün santrifüj yoluyla yıkanır ve saf ürün elde edilir. Başlangıç malzemelerinin sitokiyometrik oranı, hazırlanan çözeltinin pH değeri, sıcaklık ve süre nihai ürün özelliklerini etkileyen önemli parametrelerdir [129]. Hidrotermal reaksiyonlarda kristal çekirdeklenmesi ve büyümesi, esas olarak reaksiyon sıcaklığının ve basıncının bir fonksiyonudur. Hidrotermal üretim

yönteminde, çözücü olarak genellikle su kullanılır. Ancak, suda yeterli çözünürlüğe sahip olmayan bileşiklerin kristalizasyon işlemini hızlandırmak için mineralizer adı verilen bileşikler reaksiyon ortamına eklenebilmektedir. Bu mineralizerler; alkali metallerin hidroksitleri ve klorürleri ile zayıf asitlerin alkali tuzları olarak sıralanabilir [130]. Hidrotermal yöntemde kullanılan otoklav kapları ise, 250 °C sıcaklığa ve 1800 psi (~124 bar) basınca kadar dayanabilen iç kısmı teflon dış kısmı çelik silindirden imal edilmektedir [131]. Ayrıca, iç kısmın alt ve üst tabanında korozyon ve basınç dengeleme diskleri, otoklav kaplarının diğer parçalarıdır. Hidrotermal yöntem ile partikül üretimi çalışmalarında, otoklav kaplarının doldurulma oranı da önemlidir.

Hidrotermal yöntem, dar bir boyut dağılımına sahip, kontrol edilebilen morfolojide ve yüksek saflıkta parçacık üretimine olanak sağlayan en etkili yöntemlerden biridir. Bu yöntemle, istenilen fiziksel ve kimyasal özelliklerde ve yüksek çözünme gücünde karmaşık malzemeler sentezlenebilmektedir.

2.2.4.5 Isıl işlem yöntemi

Seramik tozlarının üretiminde en önemli aşamalardan biri, ısıl işlem uygulanmasıdır. **Sinterleme** olarak da bilinen ısıl işlem yöntemi, ısıl enerji uygulanarak metal veya seramik tozlarından yoğunluk kontrollü malzemeler üretmek için kullanılan bir tekniktir [132]. Bu yöntemde, birbirine temas eden parçacıklar atomik difüzyon yoluyla boyunlaşarak bağlanırlar. Şekil 2.12'de ısıl işlem uygulanması ile tozların birbirine bağlanması ve gözenek morfolojileri gösterilmiştir [121].



Şekil 2.12 : Isıl işlem esnasında tozların birbirine kenetlenmesi ve gözenek miktarı ile gözenek morfolojisinin değişimi [121].

Yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen bu işlem ile, atomların yayılması ve yüzey enerjilerinin azalmasıyla birlikte tozlar arası gözenekler yok edilir. Bununla birlikte, atomların birim hacimde sahip olduğu yüzey enerjisi, tozların boyutu ile ters orantılıdır. Küçük boyutlardaki tozlar, yüksek özgül yüzey alanına sahiptir ve daha hızlı sinterlenir.

Bir toz sisteminin sinterlenebilirliğini ve sinterleme ile mikroyapısının değişimini belirleyen pek çok parametre vardır. Bu parametreler; başlangıç malzemeleri ve ısıl işlem koşulları ile ilgili olmak üzere ikiye ayrılabilir. Isıl işlem sıcaklığı, süresi ve atmosferi son ürün üzerinde oldukça önemli etkilere sahiptir [115]. Çizelge 2.4'te bu değişkenler özetlenmiştir.

Çizelge 2.4 : Sinterlenebilirliği ve mikroyapıyı etkileyen değişkenler [132].

Başlangıç malzemeleriyle ilgili	Sinterleme koşullarıyla ilgili
Toz: şekil, boyut, boyut dağılımı, aglomerasyon	Sıcaklık, süre, basınç, atmosfer, ısıtma/soğutma hızı
Kimya: kompozisyon, safsızlık, homojenlik	

Temel olarak sinterleme; **kati hal** ve **sıvı hal sinterlemesi** olarak ikiye ayrılmaktadır. Kati hal sinterlemesi, ısıl işlem süresince sıvı bir fazın iç yapıda oluşmadığı ve yoğunlaşmanın kati halde meydana geldiği bir işlem olup, yayılma ile malzeme taşınımını içermektedir. Bu işlem için itici güç, boyun bölgesi ile toz yüzeyi arasında oluşan serbest enerji veya kimyasal potansiyel farktır. Basınç ve enerji farklılığı sonucu yüzeyin her iki tarafında oluşan kavisler ile yüzey alanı azalır. Yüzey alanındaki azalma ile düşen serbest yüzey enerjisi, yoğunlaşma ile sonuçlanan serbest enerji değişimini meydana getirmektedir. Tane boyutu ve kavis çapı azaldıkça, bu etkiler kuvvetlenmektedir. Sıvı hal sinterlemesi ise, uygulanan ısıl işlem sıcaklığında fazlardan en az biri sıvı halde olduğunda gerçekleşmektedir. Bu işlem için, sıvı bir faz oluşturması için ilave edilen malzemenin ergime sıcaklığı, sinterlenecek malzemenin düşük olmalı ve bu malzemenin yüzeyini ıslatabilmelidir. Ayrıca, ilave edilen malzeme kati tane ile reaksiyona girip çözelti oluşturabilmelidir. Sıvı faz ile sinterlemede, çözültiden çökelen yeni kati faz ile yoğunluğun artması sağlanmaktadır [132, 133]. Kati hal ve sıvı hal sinterlemelerine ek olarak, viskoz akış sinterlemesi ve geçici sıvı faz sinterlemesi gibi yöntemler de uygulanabilmektedir.

2.2.4 Doku iskelesi üretim yöntemleri

Kemik doku mühendisliği uygulamalarında en önemli basamaklardan biri, doku iskelesi tasarımı ve üretimidir. Yenilenmesi hedeflenen doku için gerekli özellikleri taşıyan bir doku iskelesinin elde edilebildiği yöntem, üretim için uygun yöntemdir. Doku iskelesi üretim süreçlerinde, belirli bir uygulama alanı için gerekli olan temel özelliklerin kontrolü hassas bir şekilde sağlanmalıdır. Kullanılacak doku iskelesi malzemesine bağlı olarak çeşitli üretim yöntemleri ve koşulları nihai performans beklentileri göz önüne alınarak optimize edilmelidir. Üretim yöntemi, malzemelerin kimyasal özelliklerini ve biyouyumluluğunu değiştirmemelidir. Ayrıca, uygun morfoloji ve boyutta, tamamen birbirine bağlı yoğun gözenekliliğe sahip ve tekrar üretilebilir özellikteki doku iskelelerinin üretimine izin vermelidir [134]. İşlenmesi ve şekil verilmesi zor malzemeler olan metaller ve seramikler yüksek sıcaklıklarda işlenerek, belirli geometrilere doku iskelesi üretilebilmektedir. Polimerler ise kolay işlenebilir malzemeler olup, hasarlı dokunun yenilenmesi için uygun bir ortam sağlar. Bu nedenle, istenilen özelliklerde seramik ve polimerlerden oluşan doku iskelelerinin üretimine yönelik pek çok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler **geleneksel yöntemler** ve **hızlı prototipleme yöntemleri** olarak 2 grupta incelenebilir. Doku iskelesi üretiminde kullanılan geleneksel yöntemler; dondurarak kurutma, elektroçirme, fiber bağlama, faz ayırımı, çözücü döküm/parçacık uzaklaştırma, membran laminasyonu ve eriyik kalıplamadır [135]. **Dondurarak kurutma yöntemi**, çözeltinin bir kalıp içerisinde dondurulup çözücünün vakumlu süblimasyon yoluyla çıkartılması prensibine dayanır. Çözeltinin viskozitesi ve donma sıcaklığına bağlı olarak, doku iskelelerinde farklı gözenek büyüklüğü ve gözeneklilik elde edilebilir. Viskozite ve donma sıcaklığı azaldıkça, gözenek boyutu da azalır [136]. Dondurarak kurutma yöntemi ile doku iskelesi üretiminde, yüksek gözenekli yapı ve iskelenin yüksek bağlantılı gözeneklere sahip olması gibi avantajlar elde edilirken, kapalı gözenek morfolojisi bu yöntemin bir dezavantajıdır. Geleneksel yöntemlerle üretilen doku iskelelerinde istenilen iskele geometrisinin oluşturulmasının, gözenek boyutunun kontrolü ve gözeneklilik dağılımı açısından yetersiz kaldığı tespit edilmiştir [137]. Bu nedenle üç boyutlu doku iskelesi üretimi için hızlı prototipleme yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler üç boyutlu baskılama yöntemi, seçici lazer sinterleme ve eriterek birikim modellemesidir.

Çizelge 2.5’de yaygın olarak kullanılan çeşitli üretim tekniklerinin avantaj ve dezavantajları özetlenmiştir [32].

Çizelge 2.5 : Doku iskelesi üretim yöntemleri [32].

Üretim Yöntemi	Avantajları	Dezavantajları
Geleneksel Yöntemler		
Dondurarak Kurutma	Yüksek gözenekli yapı Yüksek bağlantılı gözenek	Küçük gözenek çapı
Elektroeğirme	Düşük Maliyet Ayarlanabilir şekil,büyüklük ve mekanik özellik Çok çeşitli polimer kullanabilme Düzenlenmiş nanofiber üretimi	Organik çözücülerin kullanılması Üç boyutlu yapıların üretimde elverişsiz
Fiber Bağlama	Kolay işleme Yüksek gözeneklilik Yüksek yüzey alanı/hacim oranı	Amorf olmayan polimerler için yüksek işleme sıcaklığı Düşük mekanik dayanım Çözücü uzaklaştırma problemi
Faz Ayırım	Biyoaktif ajanslarla etkileşime uygun Yüksek gözenekli yapı Ayarlanabilir şekil, büyüklük ve mekanik özellik	Mikroyapının kontrolünde yetersiz Düşük üretim verimi Farklı boyutlarda gözenek elde etmek için elverişsiz
Çözücü Döküm/Parçacık Uzaklaştırma	Farklı boyutlarda gözenek çapı Yüksek gözeneklilik Kristalinite ayarlanabilir	Düşük mekanik özellik Membran kalınlığı sınırlı Çözücülerin yeterince uzaklaştırılmaması
Membran Laminasyonu	Makro yapının kontrolü Gözeneklilik ve gözenek boyutunun bağımsız kontrolü	Düşük mekanik özellik Çözücünün uzaklaştırılmaması Üretim süresinin uzunluğu Gözenekler arası zayıf bağlantı

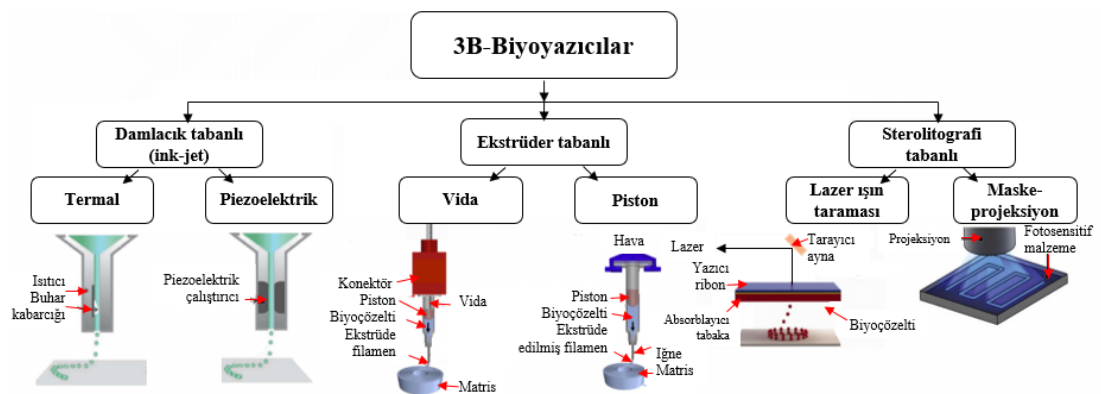
Çizelge 2.5 (devam): Doku iskelesi üretim yöntemleri [32].

Üretim Yöntemi	Avantajları	Dezavantajları
Geleneksel Yöntemler		
Eriyik Kalıplama	Makro yapının kontrolü Gözeneklilik ve gözenek boyutunun bağımsız kontrolü	Amorf olmayan polimerler için yüksek işleme sıcaklığı
Hızlı Prototipleme Yöntemleri		
Üç boyutlu baskılama yöntemi	Yüksek gözeneklilik Gözenek çapı: 45-100 µm Kolay işleme Yüksek yüzey alanı/hacim oranı Gözenekler arası yüksek bağlantı Farklı polimerleri işleyebilme	Toksik organik çözücülerin kullanımı Zayıf mekanik dayanım
Eriterek birikim modellemesi (FDM)	Yüksek gözeneklilik Gözenek çapı: 250-1000 µm Yüksek yüzey alanı/hacim oranı Gözenekler arası yüksek bağlantı Çözücü kullanımı gerektirmez Gözeneklilik ve gözenek boyutunun bağımsız kontrolü	Yüksek işleme sıcaklığı Sınırlı sayıda polimer için uygun Farklı yönlerde gözenek oluşturma kısıtlı Farklı geometrilerde üretim zorluğu
Lazerle Kalıplama (SLS)	Yüksek gözeneklilik Gözenek çapı: 45-100 µm Yüksek yüzey alanı/hacim oranı Gözenekler arası yüksek bağlantı Çözücü kullanımı gerektirmez Farklı polimerler işleyebilme Gözeneklilik ve gözenek boyutunun bağımsız kontrolü	Yüksek işleme sıcaklığı Küçük gözenek çapı

Geleneksel üretim yöntemlerinin sınırlamalarının üstesinden gelebilmek için yeni geliştirilen yöntemlerden biri olan **üç boyutlu baskılama**, doku iskelelerinin istenilen özelliklerde üretilmesinin sağlandığı bir yöntemdir [138]. Üç boyutlu baskılama, dijital üç boyutlu model verilerinden karmaşık geometrilere sahip çok çeşitli yapıları hızlı bir şekilde imal etmek için kullanılan bir eklemeli imalat tekniğidir. Bu yöntem, bilgisayar ile bir prototip tasarımı yapıp katılma özelliği olan herhangi bir malzemenin enine kesitler halinde üst üste yazdırılması prensibine dayanır. Birbiri üzerinde oluşan ardışık malzeme katmanlarının yazdırılması ile üç boyutlu yapının oluşumu gerçekleşir.

Biyobaskılama için kullanılan **üç boyutlu yazıcılar** ilk kez Charles Hull tarafından morötesi ışınlarla sertleşebilen malzemelerin stereolitografi adı verilen bir yöntemle tabaka tabaka basılması ile tanımlanmıştır. Günümüzde, biyomalzemelerin baskılanması damlacık, ekstrüder ve sterolitografi tabanlı olmak üzere üç temel biyoyazıcı çeşidi ile gerçekleştirilmektedir.

Biyobaskılama için hazırlanacak olan biyoçözeltilerin sahip olması gereken özellikler; baskılanabilirlik, biyoyumluluk, biyobozunurluk ve mekanik özelliklerdir. Biyobaskılanabilirlik, biyoçözeltinin işleme ve depolama için uygun viskoziteye sahip olmasıdır. Ekstrüder tabanlı pistonlu biyoyazıcılarda, çalışılabilecek viskozite aralığı ise 30 mPa ve üzeri olup [139], hazırlanan biyoçözelti içerisine viskozite arttırıcı katkı maddeleri ilave edilerek bu değere ulaşılabilir. Bununla birlikte, aljinat, kolajen ve kitosan gibi çeşitli biyopolimerler pistonlu yazıcılarda kullanılabilir. Üç boyutlu biyoyazıcılar ile baskılanan son ürünün başarısı; biyoyazıcının verimliliğine, biyoçözeltinin fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özelliklerine bağlıdır [140]. Şekil 2.11’de üç boyutlu biyoyazıcı çeşitleri şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.13 : Üç boyutlu biyoyazıcı çeşitlerinin şematik gösterimi [139, 140].

Üç boyutlu baskı yöntemi sanat, tıp, mühendislik gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmış olup, son yıllarda biyolojik bilimler ve malzeme biliminin bir araya gelmesiyle disiplinler arası bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Kemik doku uygulamalarında, kişiye özel üretilebilen ve kusurlu bölgeyi istenilen geometrilerde hızlı bir şekilde doldurabilen doku iskelelerin üretilebilmesi bu yöntemin bir avantajıdır. Üç boyutlu baskılama ile doku iskelesi üretimi, yüksek gözeneklilik, 45-100 µm gözenek çapı, kolay işleme, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, gözenekler arası yüksek bağlantı gibi üstün özelliklere sahiptir. Bu yöntem, biyomalzemelerin karmaşık doku ve organların yapısına benzer bir şekilde katman katman üretilmesini mümkün kılmıştır [138]. Bu yöntemin kullanımı, tasarım aşamasından üretim aşamasına hızlı, doğru ve güvenilir malzemelerin üretimine olanak sağlamaktadır [141].

Doku iskelesi üretim yöntemlerine bir alternatif olarak, biyobaskılama ile dondurarak kurutma yöntemlerinin bir araya getirilmesiyle kemik doku uygulamalarında kullanıma uygun içsel bağlantılı ve açık gözenekli yapının elde edilebildiği doku iskeleleri üretilmiştir.

2.4 Yapay Vücut Sıvısı İçinde Apatit Oluşumu

Yapay vücut sıvısı (SBF), insan vücut sıvısına benzer bir organik tuz bileşimi ile uygun pH ve sıcaklıkta elde edilen yarı kararlı sentetik vücut sıvısıdır. SBF çözeltileri, metalik, seramik ve polimerik malzemeler üzerinde apatit kalsiyum fosfat tabakası oluşturmaktadır [142]. SBF içerisine daldırılan malzemeler üzerinde belirli şartlar altında oluşan kalsiyum fosfat tabakaları, çeşitli biyomalzemelerin biyoaktivitesinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [143]. Bu malzemelerin in vivo kemik biyoaktivitesi, yüzeyde oluşan kalsiyum fosfat tabakasının incelenmesiyle tahmin edilebilmektedir [94]. Kalsiyum fosfat oluşumları, vücuttaki biyolojik mineralleşme ile benzerlik göstermektedir.

SBF ilk olarak Ringer, Earle (EBSS, Earle's balanced salt solution) ve Hanks (HBSS) tarafından insan kan plazmasının başarılı bir şekilde taklit edilmesiyle tuz dengeli çözelti olarak hazırlanmıştır [144]. Bu SBF çözeltileri, nispeten düşük Ca^{+2} (2,5 mM) ve HPO_4^{-2} (1,0 mM) iyon konsantrasyonlarına sahiptir. Kokubo ve çalışma ekibi ise yaptıkları çalışmalarda, organik içerikten bağımsız ve insan kan plazmasıyla eşit iyon konsantrasyonuna sahip olan SBF içerisindeki kalsiyum fosfat oluşumlarını göstermişlerdir [12, 143, 145]. Hazırlanan SBF çözeltilerinin pH değeri, 7,4 olarak

fizyolojik pH değerinde Tris (Hidroksimetil) Aminometan (TRIS) ve 4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit (HEPES) gibi organik tamponlar kullanılarak hazırlanmıştır. Ancak, bu tamponların insan kan plazmasında bulunmadığı ve çeşitli dezavantajları olduğu iyi bilinmektedir [146].

Kalsiyum fosfat tabakası, SBF içerisindeki osteoindüktif malzemeler üzerinde çökelmektedir. Bunun nedeni; SBF'nin aşırı doygun bir çözelti olması ve öncelikle kemik benzeri malzemeler üzerinde çökebilmesidir. Bununla birlikte, SBF'nin doygunluk seviyesi nedeniyle çökeltme hızı yavaş olmaktadır ve mineralleşmeyi hızlandırmak için iyon konsantrasyonu artırılmış çeşitli SBF çözeltileri geliştirilmiştir [147]. Çizelge 2.6'da hazırlanan SBF çözeltilerinin iyon derişimleri, insan kan plazması ile karşılaştırılmalı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.6 : İnsan plazmasının ve sentetik çözeltilerin iyon derişimleri, mM [144].

	Kan plazması	Ringer's	EBSS	HBSS	Kokubo c-SBF	Taş-SBF	Bigi SBF	Kokubo r-SBF
Na ⁺	142,0	130	143,5	142,1	142,0	142,0	1415	142,0
K ⁺	5,0	4,0	5,37	5,33	5,0	5,0	5,0	5,0
Ca ⁺²	2,5	1,4	1,8	1,26	2,5	2,5	2,5	2,5
Mg ⁺²	1,5	-	0,8	0,9	1,5	1,5	1,5	1,5
Cl ⁻	103,0	109,0	123,5	146,8	147,8	125,0	124,5	103,0
HCO ₃ ⁻	27,0	-	26,2	4,2	4,2	27,0	27,0	27,0
HPO ₄ ⁻²	1,0	-	1,0	0,78	1,0	1,0	1,0	1,0
SO ₄ ⁻²	0,5	-	0,8	0,41	0,5	0,5	0,5	0,5
Ca/P	2,5	-	1,8	1,62	2,5	2,5	2,5	2,5
Tampon	-	-	-	-	TRIS	TRIS	HEPES	HEPES
pH	7,4	6,5	7,2-7,6	6,7-6,9	7,4	7,4	7,4	7,4

Taş ve çalışma ekibi, iyon konsantrasyonu 10 katına artırılmış 10xSBF'yi başarıyla hazırlamışlardır [146]. Hazırlanan SBF içerisindeki Ti₆A₄V alaşımının yüzeyinin 2-6 saat arasında kalsiyum fosfat tabakası ile kaplandığı gözlemlenmiştir.

Literatür incelendiğinde, üretilen biyomalzemelerin biyouyumluluk ve biyoaktiviteleri, hazırlanan çeşitli SBF çözeltileri içerisinde daldırma yöntemiyle tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda, çeşitli biyomalzemelerin SBF yüzeyinde kemik benzeri apatit oluşturmaları değerlendirilerek kemik doku uygulamalarında kullanılabilme potansiyelleri ortaya konulmuştur.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Sunulan tez çalışması kapsamında, ilk aşama olarak çalışmada kullanılacak toz numunelerin farklı yöntemler ile sentezi ve sentezlenen bu tozların karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Yüksek saflıkta akermanit tozlarının elde edilebilmesi için çeşitli yöntemler ve farklı sıcaklıklar denenmiş olup, bu tozlar en uygun proses olarak püskürtmeli kurutma ve ardından ısıtma işlemi ikili proses yöntemi ile üretilmiştir. Daha sonra, akermanit tozlarına katılan TiO_2 nanopartikülleri hidrotermal ve ardından ısıtma yöntemleri ile sentezlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında, sentezlenen tozların belirli oranlarda kitosana katılması ile kompozit malzemeler oluşturulmuş ve üç boyutlu biyoyazıcı kullanılarak akermanit katkılı kitosan ve TiO_2 /akermanit katkılı kitosan doku iskeleleri hazırlanmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise, sentezlenen tozların ve üretilen doku iskelelerinin karakterizasyonları yapılmış ve bu iskelelerin SBF içerisinde *in vitro* biyoaktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyonları tamamlanan doku iskelelerinin kemik doku oluşturma potansiyellerinin belirlenmesine yönelik sonuçlar değerlendirilmiştir. Bu bölümde yukarıda belirtilen tüm deneysel çalışmalar hakkında ayrıntılı bilgiler verilmiştir.

3.1 Kullanılan Malzemeler

Kitosan doku iskelesi üretiminde kullanılan $\% \geq 75$ deasetilasyon derecesine sahip kitosan Sigma-Aldrich™ (Almanya), kitosanın çözücüsü olan asetik asit ise Honeywell (Amerika) firmasından satın alınmıştır. Akermanit tozlarının üretiminde, tetraetilortosilikat ($SiC_8H_{20}O_4$; TEOS), magnezyum nitrat heksahidrat ($Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$; Mg-nitrat) ve kalsiyum nitrat tetrahidrat ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$; Ca-nitrat) Alfa Aesar™ firmasından ve magnezyum oksit (MgO), silisyum dioksit (SiO_2) ve kalsiyum oksit (CaO) Merck™ (Almanya) firmasından alınan başlangıç malzemeleri ile kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan nitrik asit (HNO_3) Merk™ firmasından temin edilmiştir. TiO_2 nanopartikülleri ise, Alfa Aesar™ firmasından titanyum (IV) izopropoksit (TTIP, $C_{12}H_{28}O_4Ti$) ve Merk™ firmasından üre (CH_4N_2O) satın alınarak sentezlenmiştir. Doku iskelelerinin üretimi için hazırlanan kompozitlerin

viskozitesini arttırmak amacıyla teknik kalite karboksimetil selüloz (CMC) kullanılmıştır.

Üretilen TiO₂/Akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin biyoaktivitelerinin değerlendirilmesi için hazırlanan SBF için sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl), kalsiyum klorür dihidrat (CaCl₂.2H₂O), magnezyum klorür hekzahidrat (MgCl₂.6H₂O) ve sodyum dihidrojen fosfat monohidrat (NaH₂PO₄.H₂O) Merck™ (Almanya) firmasından ve sodyum bikarbonat (NaHCO₃) Sigma-Aldrich™ (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Kompozit doku iskelelerinin su içeriğinin belirlenmesinde kullanılan fosfat tampon çözeltisi (PBS) ise, Gündüz™ Kimya (Türkiye) firmasından temin edilmiştir.

3.2 Akermanit Toz Sentezi

Bu çalışmada kullanılan akermanit tozları, üç farklı ikili proses kullanılarak sentezlenmiştir. Bu ikili prosesler;

1. sol jel - ısı işlem,
2. mekanik öğütme - ısı işlem,
3. püskürtmeli kurutma - ısı işlem yöntemleridir.

3.2.1 Sol-jel-ısı işlem yöntemleri

Akermanit tozları, ilk olarak TEOS, Mg-nitrat ve Ca-nitrat başlangıç tozları kullanılarak sol-jel ve ardından ısı işlem yöntemleri ile sentezlenmiştir. Sol-jel işleminde öncelikle TEOS, saf su ve HNO₃ malzemeleri 1:8:0,16 stokiometrik oranında karıştırılarak 30 dk. boyunca hidrolize edilmiştir. Daha sonra TEOS/Mg-nitrat/Ca-nitrat 2:1:2 stokiometrik oranında olacak şekilde Mg-nitrat ve Ca-nitrat tozları tartılmış ve karışıma eklenmiştir. Tüm başlangıç malzemeleri 5 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda (Stuart™ UC152D) karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti, bir etüvde (Ecocell™) 60 °C'de 24 saat boyunca kurutulduktan sonra, 120 °C'de 48 saat bekletilmiş ve kuru jel elde edilmiştir. Elde edilen jel, agat havanda öğütülüp 250 mesh elekten geçirilerek ısı işlem deneyine hazır hale getirilmiştir.

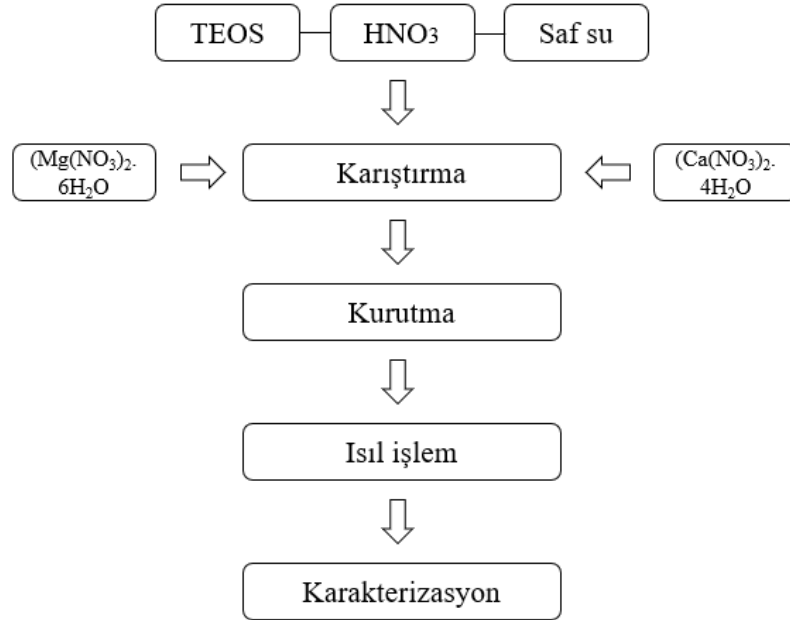
Sol-jel işleminin ardından, kuru jel laboratuvar fırınında hava atmosferinde 1300 °C'de 3 saat boyunca ısı işleme tabi tutulmuştur. Isıl işlem deneylerinde kullanılan

Protherm™ PLF 160/7 kamara tipi laboratuvar fırını Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Deneylede seçilen ısıtma/soğutma hızı 5 °C/dk’dır.



Şekil 3.1 : Protherm™ PLF 160/7 kamara tipi laboratuvar fırını.

Akermanit tozlarının sol-jel ve ardından ısıtma yöntemleriyle üretimi ve karakterizasyonu çalışmasının akış şeması Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2 : Akermanit tozlarının sol-jel ve ardından ısıtma yöntemleriyle sentezi ve karakterizasyonu çalışmasının akış şeması.

3.2.2 Mekanik öğütme-ısıl işlem yöntemleri

Akermanit tozları, ikinci olarak bilyalı değirmen ve ardından ısıl işlem yöntemleri ile üretilmiştir. Öğütme deneyleri, Şekil 3.3'de gösterilen bir gezegen tipi bilyalı değirmende (Fritsch Pulverisette™ 6) gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bilyalar, zirkonyum dioksit (ZrO_2) malzemeden imal edilmiş ve bilya çapı 10 mm olarak seçilmiştir. Değirmen kabına, CaO, MgO ve SiO_2 başlangıç tozları 2:1:2 stokiyometrik oranında tartılarak yüklenmiştir. Başlangıç tozları, üzerine saf su ve bilyalar ilave edilmesiyle mekanik öğütme işlemine hazır hale getirilmiştir. Deneylerde bilya/toz oranı 10:1, öğütme devri 500 rpm ve öğütme süresi 4 saat olarak seçilmiştir. Çizelge 3.1'de kullanılan başlangıç malzemelerinin kimyasal kompozisyonları verilmiştir.

Çizelge 3.1 : Başlangıç malzemelerinin kimyasal kompozisyonu.

CaO	MgO	SiO_2	Saf su	Bilya
8 gr	4 gr	8 gr	80 ml	200 gr

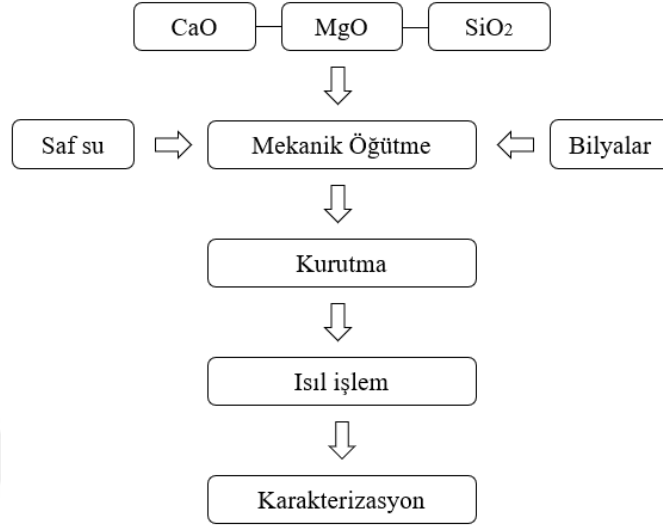
Sulu öğütme sonrası, etüvde 100 °C'de 24 saat boyunca kurutularak öğütülen tozlar elde edilmiştir. Daha sonra, tüm öğütülmüş tozlara kamara tipi laboratuvar fırınında hava atmosferinde 1300 °C'de 3 saat boyunca ısıl işlem uygulanmıştır. Deneylerde seçilen ısıtma/soğutma hızı 5°C/dk'dır.



Şekil 3.3 : Gezegen tipi bilyalı değirmen.

Sulu öğütme sonrası, etüvde 100 °C'de 24 saat boyunca kurutularak öğütülen tozlar elde edilmiştir. Daha sonra, tüm öğütülmüş tozlara kamara tipi laboratuvar fırınında hava atmosferinde 1300 °C'de 3 saat boyunca ısıl işlem uygulanmıştır. Deneylerde

seçilen ısıtma/soğutma hızı 5°C/dk'dır. Şekil 3.4'de akermanit tozlarının mekanik öğütme ve ardından ısıl işlem yöntemleriyle sentezi ve karakterizasyonu çalışmasının akış şeması gösterilmektedir.



Şekil 3.4 : Mekanik öğütme yöntemi ile akermanit sentezinin akış şeması.

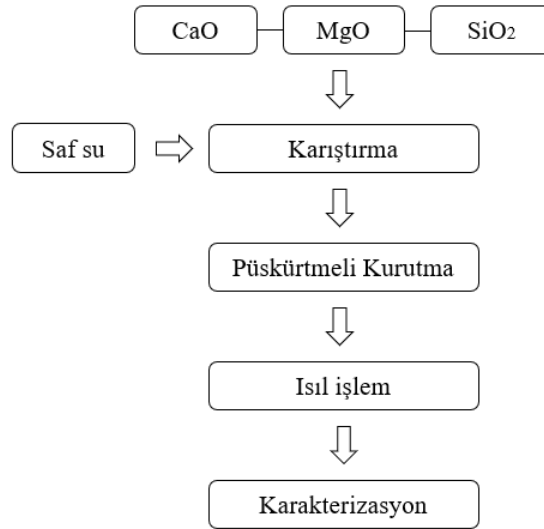
3.2.3 Püskürtmeli kurutma-ısıl işlem yöntemleri

Akermanit tozları, son olarak CaO, MgO ve SiO₂ başlangıç tozları kullanılarak püskürtmeli kurutma ve ardından ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenmiştir. Öncelikle CaO, MgO ve SiO₂ başlangıç tozları, sırasıyla 2:1:2 stokiyometrik oranında tartılmıştır. Püskürtmeli kurutma yöntemi için önemli parametrelerden biri homojen bir süspansiyonun hazırlanması olup yapılan ön çalışmalar neticesinde süspansiyonun toplam katı ağırlığı % ağı. 40 olarak belirlenmiştir. Püskürtmeli kurutma deneyleri, Şekil 3.5'de gösterilen laboratuvar tipi bir püskürtmeli kurutucuda (Büchi™ mini püskürtmeli kurutucu B-290) gerçekleştirilmiştir. Püskürtmeli kurutma koşulları, ilgili sistemde yapılan ön çalışmalar ile optimize edilerek sırasıyla giriş sıcaklığı, aspiratör kapasitesi, pompalama hızı ve püskürtme akış hızı 180-200 °C, % 100, % 15-20 ve 4-5 bar aralıklarında seçilmiştir.

Püskürtmeli kurutma işleminin ardından, tüm tozlara kamara tipi laboratuvar fırınında hava atmosferinde sırasıyla 1200, 1250, 1300 ve 1325 °C'de 3 saat boyunca ısıl işlem uygulanmıştır. Deneylerde seçilen ısıtma ve soğutma hızı 5°C/dk'dır. Şekil 3.6'da akermanit tozlarının püskürtmeli kurutma ve ardından ısıl işlem yöntemleriyle üretimi ve karakterizasyonu çalışmasının akış şeması gösterilmektedir.



Şekil 3.5 : Büchi™ püskürtmeli kurutucu B-290.



Şekil 3.6 : Püskürtmeli kurutma yöntemi ile akermanit sentezinin akış şeması.

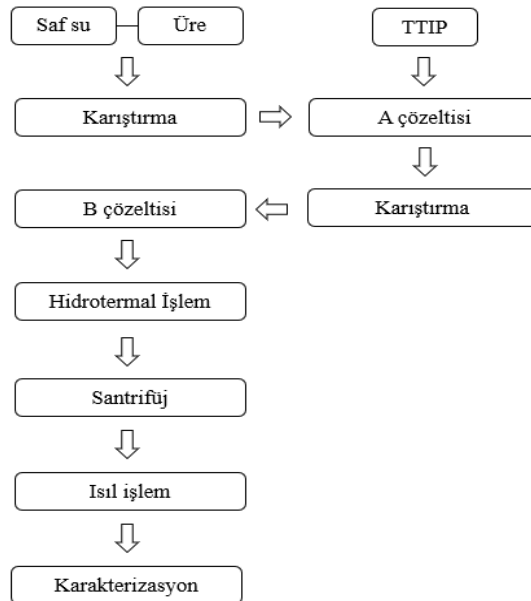
3.3 Hidrotermal Yöntemle TiO₂ Nanopartikül Sentezi

Bu çalışmada sentezlenen akermanit tozlarına katkı olarak ilave edilen TiO₂ nanopartikülleri, hidrotermal yöntem ile sentezlenmiştir. Bu amaçla, TiO₂ kaynağı olarak TTIP ve katalizör olarak üre başlangıç malzemeleri olarak seçilmiştir. Öncelikle, 200 ml saf su ve 5 g üre manyetik karıştırıcıda berrak bir çözelti elde edilene kadar karıştırılmış ve elde edilen çözelti A çözeltisi olarak adlandırılmıştır. Daha sonra 50 ml TTIP, damlalıkla yavaş yavaş A çözeltisine damlatılarak yeni bir çözelti elde edilmiştir. Bu çözelti ise, B çözeltisi olarak adlandırılmış ve 30 dk. boyunca

karıştırılmıştır. B çözeltisi, yavaş yavaş A çözeltisine damlatılarak 1 saat boyunca tam olarak karışması beklenmiştir. Elde edilen çözelti, otoklav kaplarına konularak kurutma fırınında 100 °C’de 24 saat boyunca hidrotermal işleme tabi tutulmuştur. Şekil 3.7’de gösterilen deneylerde kullanılan otoklav kapları, teflon malzemeden imal edilmiş ve 200 ml.’lik olarak seçilmiştir. Etüvden alınan otoklav kapları, oda sıcaklığında bir süre soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan kaplar içerisinde, bir kısmı dibe çöken katı yapının süspansiyon halden ayrıştırılması için santrifüj cihazı (Hettich™ Universal 320/320R) kullanılmıştır. Reaktörde meydana gelen homojen çökelti öncelikle birkaç kez aseton ile yıkanmış ve sonra saf su ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Saf su ile yıkanması ile, atık haldeki anyonik safsızlıkların yaş haldeki toz yüzeyinden uzaklaştırılması ve partikül boyut farklılığını engellenmesi sağlanmıştır.



Şekil 3.7 : Hidrotermal yöntemde kullanılan otoklav kapları.



Şekil 3.8 : Hidrotermal yöntem ile TiO₂ nanopartiküllerinin sentezlenmesinin akış şeması.

Hidrotermal çöktürme ile hazırlanan toz 90 °C’de etüvde 12 saat süre ile kurutulmuştur. Bu işlemlerden sonra elde edilen tozlara, kamara tipi laboratuvar fırınında hava atmosferinde 300, 500 ve 800 °C sıcaklıklarda 4 saat boyunca kalsinasyon işlemi uygulanmıştır. Kalsinasyon işlemi için ısıtma ve soğutma hızı 5 °C/dk. olarak belirlenmiştir.

3.4 Akermanit ve TiO₂ /Akermanit Katkılı Doku İskelelerinin Üretimi

Bu çalışmada sentezlenen tozlar kitosana katılarak dokuz farklı doku iskelesi, üç boyutlu baskılama ve ardından dondurarak kurutma yöntemleri ile üretilmiştir. Bunlar; sırasıyla ağırlıkça %25, %50, %60, %75, %80 akermanit katkılı kitosan ve ağırlıkça %1, %3, %5, %7 TiO₂ ve % ağırlıkça 80 akermanit katkılı kitosan olup, aşağıda üretimleri hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

Öncelikle %2’lik (ağırlık/hacim) kitosan çözeltisi, 0,2 M asetik asit içeren saf su ile manyetik karıştırıcıda yaklaşık bir gün boyunca oda sıcaklığında karıştırılarak hazırlanmıştır. Elde edilen çözelti, farklı miktarlardaki akermanit tozları ve TiO₂ partikülleri ile katılandırılarak dokuz farklı katkılı kompozit çözelti elde edilmiştir. Çizelge 3.2’de hazırlanan kompozitler ve bu kompozitlere verilen kodlar görülmektedir.

Çizelge 3.2 : Hazırlanan kompozitler ve kodları.

Kompozitler	Kodlar
% ağırlıkça 20 akermanit katkılı kitosan	K-20A
% ağırlıkça 50 akermanit katkılı kitosan	K-50A
% ağırlıkça 60 akermanit katkılı kitosan	K-60A
% ağırlıkça 75 akermanit katkılı kitosan	K-75A
% ağırlıkça 80 akermanit katkılı kitosan	K-80A
% ağırlıkça 1 TiO ₂ ve % ağırlıkça 80 akermanit katkılı kitosan	K-1T-80A
% ağırlıkça 3 TiO ₂ ve % ağırlıkça 80 akermanit katkılı kitosan	K-3T-80A
% ağırlıkça 5 TiO ₂ ve % ağırlıkça 80 akermanit katkılı kitosan	K-5T-80A
% ağırlıkça 7 TiO ₂ ve % ağırlıkça 80 akermanit katkılı kitosan	K-7T-80A

Kompozit çözeltilerin her biri, kitosan miktarı sabit tutularak ve katkıları ayrı ayrı suda çözülüp yavaşça kitosan çözeltisine eklenerek 10’ar ml olarak hazırlanmıştır. % ağırlıkça 80 akermanit tozlarına % ağırlıkça 1, % ağırlıkça 3, % ağırlıkça 5 ve % ağırlıkça 7 TiO₂ katkıları ilave edilerek hazırlanan kompozitler kimyasal kompozisyonları Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3 : Hazırlanan kompozitlerin kimyasal kompozisyonları.

Kompozitlerin kodları	Kitosan miktarı (gr)	Akermanit miktarı (gr)	TiO ₂ miktarı (gr)
K-20A	0,1	0,03	-
K-50A	0,1	0,1	-
K-60A	0,1	0,15	-
K-75A	0,1	0,3	-
K-80A	0,1	0,4	-
K-1Ti-80A	0,1	0,4	0,006
K-3Ti-80A	0,1	0,4	0,018
K-5Ti-80A	0,1	0,4	0,03
K-7Ti-80A	0,1	0,4	0,042

TiO₂ ve akermanit içeren kompozit doku iskelelerinin hazırlanması için ise, her bir kompozit çözeltisine bir miktar CMC viskozite artırıcı ajan olarak eklenmiştir. Böylece kitosan kompozitler, üç boyutlu baskılama yöntemi ile doku iskelesi üretimine hazır hale getirilmiştir. Bu aşamadan sonra, doku iskelelerinin üretiminde kullanılan ve Şekil 3.9’da gösterilen pnömatik özellikli biyoyazıcının (Cellink™ BIO-X) çeşitli parametrelerinin optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Her bir kompozit için baskılama hızı 15 (mm/sn), gözenek yoğunluğu, boyut 30 x 30 x 3 mm olarak seçilmiştir.



Şekil 3.9 : Cellink marka BIO-X model pnömatik özellikli biyoyazıcı.

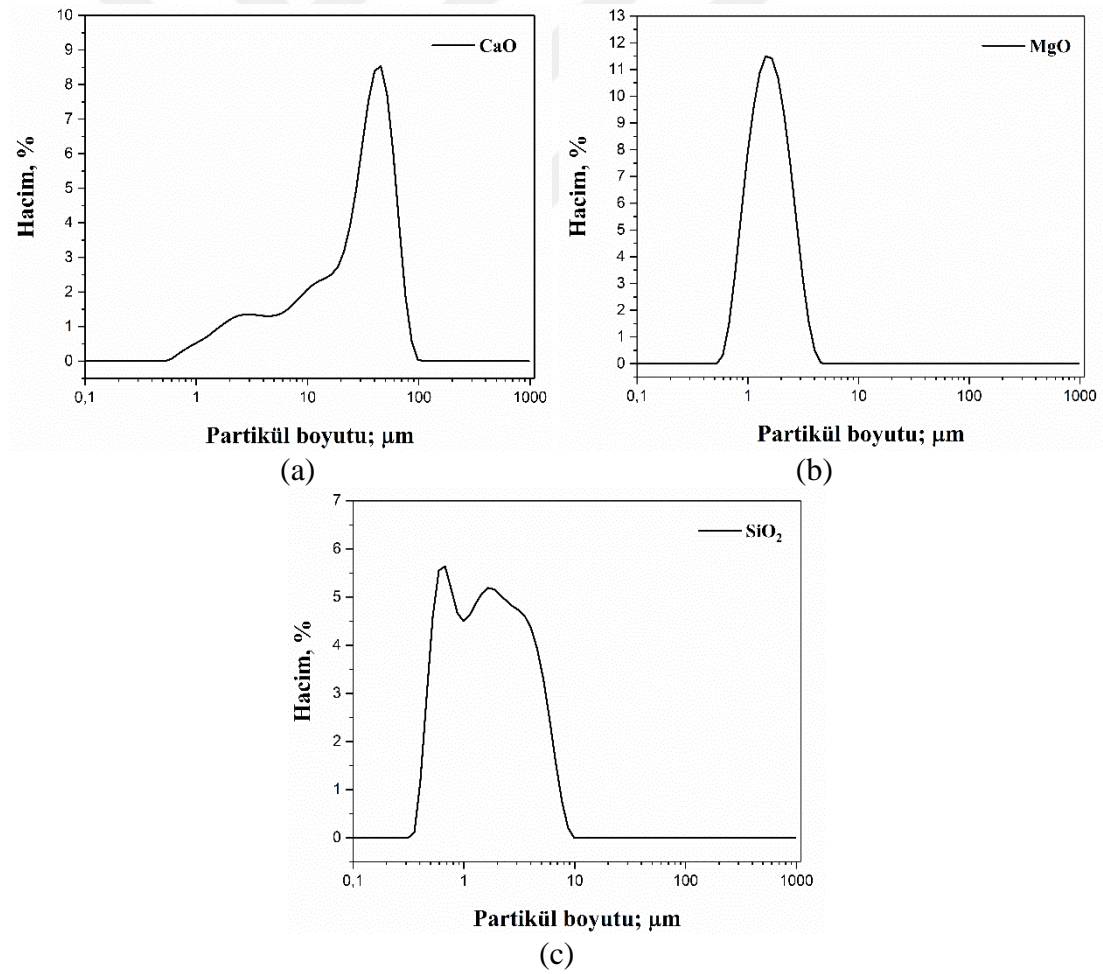
Doku iskelesi üretimi için hazırlanmış olan biyoçözeltiler, belirlenen parametrelerde baskılanarak hedeflenen açık gözenekli iskele üretimi “üç boyutlu baskılama yöntemi” ile gerçekleştirilmiştir. Üretilen iskeleler, -20 °C’de dondurulmuş ve bir liyofilizatör kullanılarak -56 °C’de 48 saat boyunca “dondurarak kurutma” işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlem için Bursa Teknik Üniversitesi (BTÜ) Gıda Mühendisliği Laboratuvarlarında Toros marka TRS 2/2V model liyofilizatör cihazı kullanılmıştır.

Böylece üç boyutlu baskılama yöntemi ile elde edilen açık gözenekli yapı, iskeleler içerisindeki buz kristallerinin dondurarak kurutma yöntemi ile liyofilize edilmesiyle içsel bağlantılı hale getirilmiştir.

3.5 Karakterizasyon Çalışmaları

3.5.1 Partikül boyut analizleri

Tez çalışması kapsamında kullanılan oksit esaslı başlangıç tozların ve sentezlenen tüm tozların partikül boyut ölçümleri, BTÜ Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndaki (MERLAB) Malvern™ Mastersizer 3000 cihazıyla gerçekleştirilmiştir. Partikül boyut ölçümlerinde dağıtıcı ortam olarak saf su kullanılmıştır. Başlangıç tozlarına ait partikül partikül boyut dağılım grafikleri Şekil 3.10'da, partikül boyut ölçüm sonuçları ise Çizelge 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.10 : Başlangıç tozlarına ait partikül boyut dağılım grafikleri.

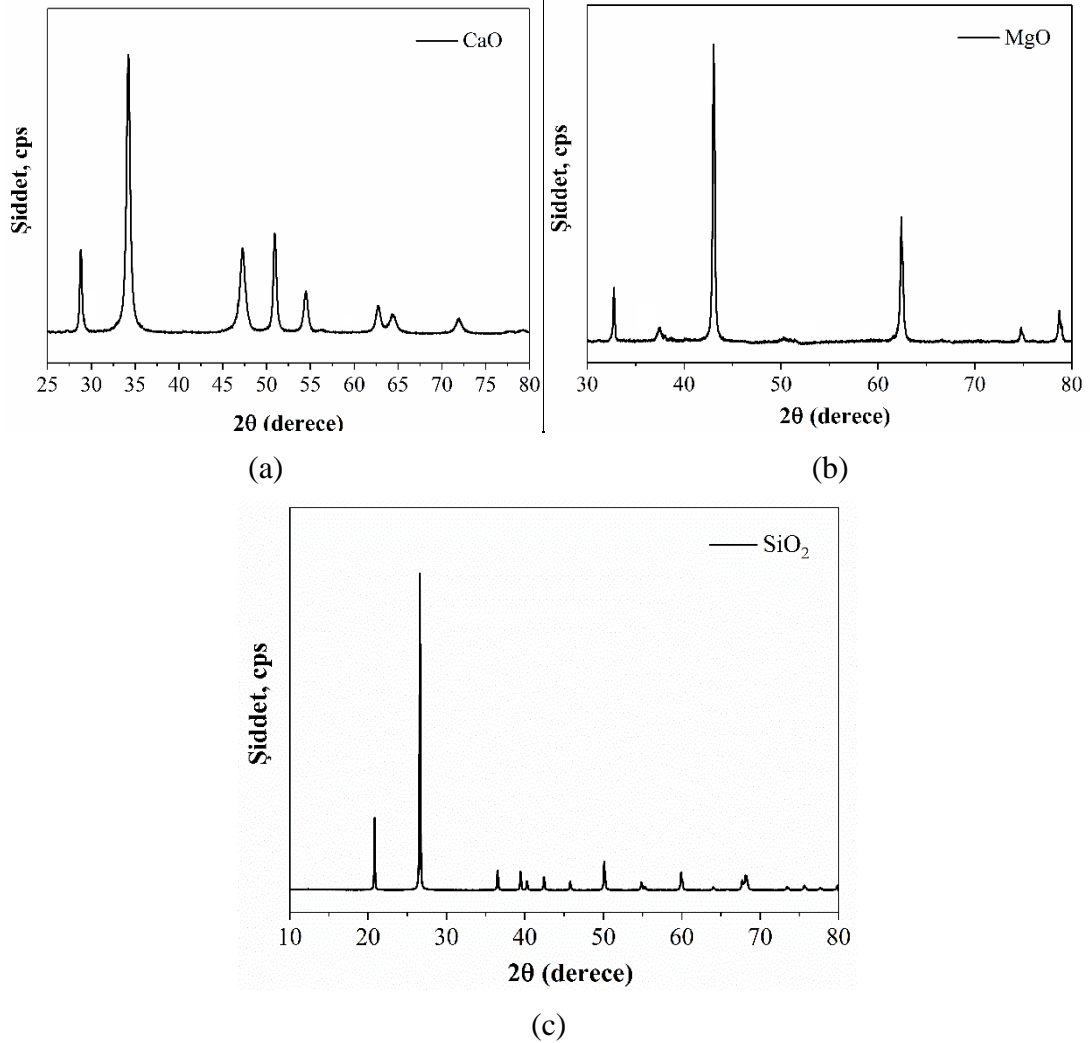
Çizelge 3.4 : Başlangıç tozlarına ait partikül boyut ölçüm sonuçları.

	CaO	MgO	SiO ₂
D ₁₀	3,19 µm	0,97 µm	0,61 µm
D ₅₀	31,7 µm	1,64 µm	1,70 µm
D ₉₀	62,0 µm	2,80 µm	4,94 µm
D _{ort}	31,9 µm	1,78 µm	2,28 µm

Partikül boyut dağılımı sonuçlarına göre; CaO, MgO ve SiO₂ tozlarının ortalama partikül boyutları sırasıyla 31,9, 1,78 ve 2,28 µm, D50 değerleri ise 31,7, 1,64 ve 1,70 µm olarak tespit edilmiştir.

3.5.2 Faz analizleri

Sentezlenen tüm tozların ve üretilen iskelelerin faz analizleri, BTÜ Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndaki (MERLAB) Bruker™ Discovery D8 Advantage X-ışınları difraktometre (XRD) cihazıyla gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.11 : Akermanit sentezinde oksit esaslı kullanılan başlangıç tozların XRD analizleri: (a) CaO, (b) MgO ve (c) SiO₂.

Numuneler için ölçüm aralığı 20-80° (2θ) arasında olup adım aralığı 5° artacak şekilde ayarlanmıştır. XRD analizinde 40 kV potansiyel fark ve 40 mA akım uygulanmış ve ölçümler monokromatik CuK_α radyasyonu (λ = 0,1540 nm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mevcut fazlar uluslararası difraksiyon verileri® (The International Centre for Diffraction Data®; ICDD) ile karşılaştırılarak yapılmıştır.

3.5.3 Mikroyapı analizleri

Sentezlenen tüm tozların ve üretilen iskelelerin mikroyapılarının belirlenmesi amacıyla stereo mikroskop ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) cihazlarıyla farklı büyütme oranlarında görüntüler alınmıştır. Bu görüntüler, BTÜ MERLAB'daki Carl Zeiss™ Discovery V12 stereo mikroskop ve Carl Zeiss™ Gemini 300 SEM cihazı kullanılarak incelenmiştir. Ayrıca SEM cihazına bağlı olan Bruker™ EDS dedektörü ile elemental analizler gerçekleştirilmiştir. Numuneler SEM görüntüleme öncesi ~12 nm civarında altın-paladyum tabakası ile kaplanarak iletkenlik kazanması sağlanmıştır.

3.5.4 Termal analizleri

Tez çalışmasında kullanılan kitosanın termal davranışı, TA™ SDT650 termal gravimetrik/diferansiyel termal analiz (TGA/DTA) cihazı ile incelenmiştir. TGA çalışması; 25-600°C sıcaklık aralığında, 10°C/dk ısıtma hızı ile azot ortamında yürütülmüştür.

3.5.5 Şişme çalışmaları

Üretilen akermanit ve TiO₂/akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin su tutma özelliklerini belirlemek amacıyla şişme deneyleri yapılmıştır. Doku iskelelerinin kuru ağırlıkları (W₀) belirlenmiş ve ardından 37 °C sabit sıcaklıkta 25 ml fosfat tampon çözeltisine (PBS, pH 7,4) konulmuştur. Belirli zaman aralıklarında (30, 60 ve 120 dakika) ortamdaki uzaklaştırılan doku iskelelerinin yüzey nemi alınmış ve hassas terazide (Shimadzu™ - AUX321; ± 0,0001 g duyarlılık) ağırlıkları belirlenmiştir (W_s). Doku iskelelerinin şişme deneylerinde gravimetrik analiz kullanılmış olup, şişme oranları kuru ağırlık temel alınarak Eşitlik (3.1)'e göre hesaplanmıştır. Çalışmalar 3 paralel örnek ile yürütülmüştür.

$$\text{Şişme oranı} = (W_S - W_0) / W_0 \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte W_0 , doku iskelesinin kuru ağırlığını, W_t ise doku iskelesinin t zamanındaki şişmiş ağırlığını ifade etmektedir. Hesaplanan şişme oranları \pm standart sapma değerleriyle verilmiştir.

3.5.6 Yoğunluk ve gözeneklilik ölçümleri

Üretilen doku iskelelerinin yoğunluk ölçümleri sıvı yer değiştirme yani Arşimet yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde, yer değiştirici olarak kullanılan saf su içerisinde kuru ağırlıkları ölçülen doku iskeleleri bir süre bekletilmiştir. Bu süre zarfında sahip olduğu hacim kadar saf su yer değiştirmiştir. Üretilen doku iskelelerinin yoğunluk ve gözenekliliği aşağıda verilen eşitlikler (Eşitlik 3.2, 3.3 ve 3.4) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Porozite} = [1 - (\text{özgül yoğunluk} / \text{gerçek yoğunluk})] \times 100 \quad (3.2)$$

$$\text{Özgül yoğunluk} = W / (V_2 - V_3) \quad (3.3)$$

W : doku iskelesinin ağırlığı

V_2 : saf su ve saf su içerisinde bekletilmiş doku iskelesinin toplam hacmi

V_3 : doku iskelesini sıvıdan çıkarıldıktan sonra kalan saf suyun hacmi

$$\text{Gerçek yoğunluk} = W / V_0 \quad (3.4)$$

V_0 : doku iskelesinin kuru hacmi

$$\text{Toplam hacim: } V = (V_2 - V_1) + (V_1 - V_3) = V_2 - V_3$$

V_1 : sıvı yer değiştiricisi olarak kullanılan saf suyun hacmi.

3.5.7 Mekanik dayanım analizi

Üretilen akermanit ve TiO_2 /akermanit katkılı tüm doku iskelelerinin mekanik dayanıklılıkları BTÜ Lif ve Polimer Mühendisliği Laboratuvarlarında bulunan mekanik test cihazında (ShimadzuTM AGS-X; Japonya) incelenmiştir. 10 mm çapa ve 1 mm yüksekliğe sahip doku iskelelerinin üzerine, 500 N'luk bir yüke sahip ve 1 mm/dk'luk sabit hızla kuvvet uygulanmış ve doku iskelelerinin gerilim-gerinim (stress/strain) eğrileri elde edilmiştir. Test sonucunda elde edilen gerilim-gerinim eğrisinin doğrusal bölgesindeki eğim alınarak basma modülü değerleri hesaplanmıştır.

3.6 Yapay Vücut Sıvısı (SBF) Hazırlanması ve Biyoaktivite Çalışmaları

Bu çalışmada üretilen akermanit ve TiO_2 /akermanit katkılı tüm doku iskelelerinin in vitro biyoaktivite çalışmaları, SBF içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, Maviş ve ark. tarafından geliştirilen SBF tercih edilerek literatürden faydalanılmıştır [147]. Kullanılan SBF'nin 10x olarak adlandırılmasının nedeni, insan kan plazmasındaki kalsiyum ve fosfat iyonlarının 10 katını içermesidir. Böylece Ca/P çekirdeklenmesinin daha hızlı gerçekleşmesi sağlanmıştır. Çizelge 3.5'te çalışma kapsamında toplam hacmi 1 L olarak hazırlanan 10xSBF çözelti reçetesi verilmiştir.

Çizelge 3.5 : 10xSBF çözelti reçetesi.

Bileşenler	Ekleme sırası	Derişim	Miktar (g)
NaCl	1	1000,00	58,443
KCl	2	5,00	0,373
CaCl ₂ .2H ₂ O	3	25,00	3,675
MgCl ₂ .6H ₂ O	4	5,00	1,016
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	5	3,62	0,250
NaHCO ₃ *	6	10,00	0,084

*100 ml SBF için

Yapay vücut sıvısı hazırlama işleminde, 37 °C'ye getirilen 800 ml saf su içerisinde Çizelge 3.5'te verilen kimyasallar sırayla çözülmüştür. Ardından hacim 37 °C'deki saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Kimyasalların eklenme sırası ve her birinin eklendikten sonra iyice çözülmüş olması çok önemlidir. Son olarak, hazırlanan 10xSBF çözültiden 100 ml cam beher içine alınarak konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde NaHCO₃ ilave edilmiş ve bir pH metre (Seven Compact Duo S214, Mettler™ Toledo, İsviçre) ile pH değerinin 7,4 olması sağlanmıştır. Çözelti sıcaklığının 36,5 ve pH değerinin 7,4 olarak ayarlanmasının nedeni, insan vücut ortamının sağlanabilmesidir. Bu ortamın oluşturulabilmesi için yapay vücut sıvısı hazırlanma işleminde pH değerinin kontrolü oldukça önemlidir. Hazırlanan SBF çözeltisi hemen kullanılabilmesi gibi, 4 °C'de 1 ay boyunca muhafaza edilebilir.

Tez çalışması kapsamında üretilen dokuz farklı kompozit doku iskelesi, hazırlanan SBF çözeltisi içerisine daldırılarak biyoaktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Üretilen tüm iskeleler, apatit oluşumu için bir miktar SBF içeren cam beherlere ayrı ayrı konulmuş ve beherlerin ağızları hava almayacak şekilde kapatılmıştır. 10 gün boyunca SBF içerisinde bekletilen doku iskeleleri, saf suyla yıkandıktan sonra dondurarak kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Kuruyan iskelelerin SEM-EDS analizi

ile yüzey morfolojileri incelenmiş ve kemik doku oluşturma potansiyellerinin belirlenmesine yönelik sonuçlar değerlendirilmiştir.



4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar sunulmuş ve ortaya çıkan bulgular üzerinde tartışmalar yapılmıştır. İlk olarak, sentezlenen akermanit tozlarının hazırlama yöntemleri ve karakterizasyon çalışmalarının sonuçlarına yer verilmiştir. Ardından, akermanit tozlarına katkı olarak ilave edilen TiO_2 nanopartiküllerin sentezi ve karakterizasyon çalışmaları açıklanmıştır. Üçüncü bölümde, kemik doku uygulamalarında kullanılmak üzere bir araya getirilen akermanit ve TiO_2 /akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin üç boyutlu biyobaskılama ve dondurarak kurutma yöntemleriyle üretimi ve karakterizasyonu için yapılan çalışmaların sonuçlarına yer verilmiştir. Son olarak, üretilen doku iskelelerinin SBF çözeltisi içerisinde gerçekleştirilen biyoaktivite çalışmalarının sonucunda biyoaktivite durumları belirlenmiş ve elde edilen bulgular üzerinde tartışmalar yapılmıştır.

4.1 Akermanit Tozlarının Sentezi ve Karakterizasyonu

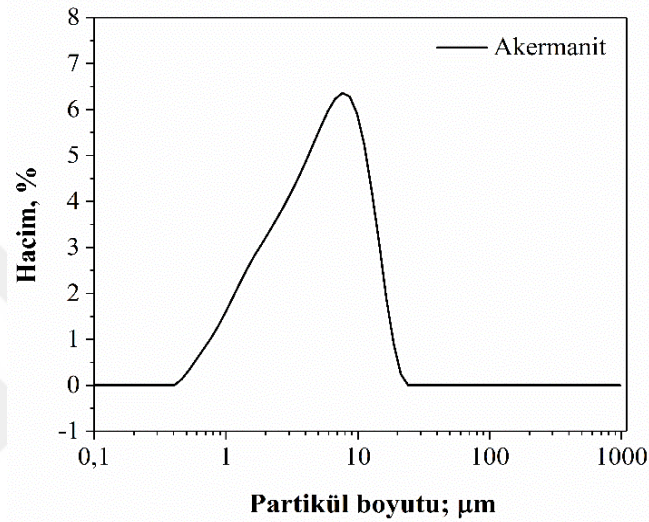
Yapılan çalışmalarda akermanit tozlarının sentezi pek çok yöntemle gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, literatürde püskürtmeli kurutma ve ısıtma işlem prosedürlerini içeren ardışık yöntem kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışma olmadığı belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında, akermanit tozları sol jel, mekanik öğütme, püskürtmeli kurutma ve bunların ardından ısıtma işlem yöntemleri kullanılarak sentezlenmiş olup, homojen ve dar boyut dağılımlı istenilen özelliklerdeki tozlar püskürtmeli kurutma ve ısıtma işlem ardışık yöntemleriyle başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Sentezlenen akermanit tozlarının tane boyut dağılımları, faz analizleri ve iç yapı morfolojileri çeşitli karakterizasyon yöntemleriyle analiz edilmiştir.

4.1.1 Sol jel-ısıtma işlem yöntemleriyle akermanit tozlarının sentezi ve karakterizasyonu

Mg-nitrat, Ca-nitrat ve TEOS kullanılarak sol jel yöntemi ile tozlar elde edilmiş olup akermanit fazına dönüşümünün tamamlanması için ısıtma işlem uygulanmıştır. Şekil

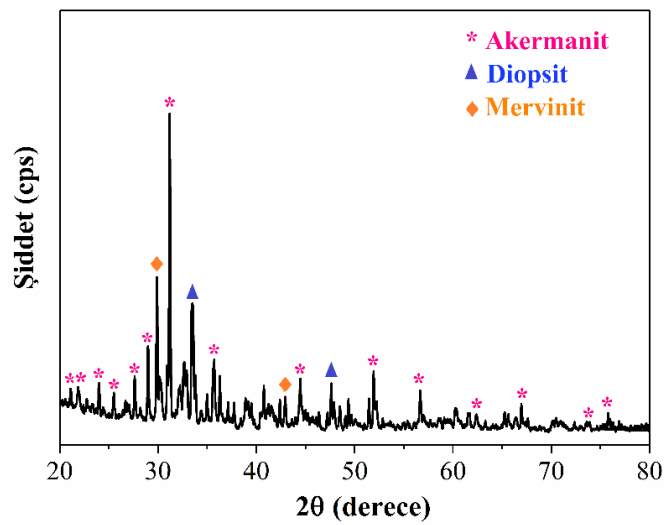
2.9’da gösterilen akermanitin faz diyagramı incelendiğinde; akermanit fazının 1300 °C ila 1420 °C arasındaki sıcaklıklarda oluştuğu görülmektedir [148]. Bu sebeple; ısı işlem sıcaklığı olarak 1300 °C tercih edilmiştir.

Sol jel ve ardından 1300 °C sıcaklıkta ısı işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımı Şekil 4.1’de verilmiştir. Partikül boyut dağılımı incelendiğinde, sentezlenen akermanit tozlarının ortalama partikül boyutları 6,4 µm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.1 : Sol jel ve 1300 °C sıcaklıkta ısı işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımı.

Sol jel ve 1300 °C sıcaklıkta ısı işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozların XRD paterni Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 : Sol jel ve 1300 °C sıcaklıkta ısı işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının XRD analiz sonucu.

XRD analizinde görüldüğü gibi; sentezlenen tozların $2\theta=31,2^\circ$ noktasında gözlemlenen keskin bir piki, tetragonal yapıdaki JCPDS 96-900-6937 numaralı referans karta göre akermanit ile uyumludur. XRD analizi, ana faz olarak akermanit dışında ikincil fazlar olarak mervinit ($\text{Ca}_3\text{MgSi}_2\text{O}_8$) ve diopsidin ($\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$) varlığını göstermektedir. Dörtgen kristal sisteminde örgü parametresi $a = 7.83650 \text{ \AA}$ ve $c = 5.01079 \text{ \AA}$ olarak bulunmuştur. Choudhary ve çalışma ekibinin yapmış olduğu XRD çalışmaları ile uyumlu olduğu saptanmıştır [93].

Şekil 4.3’de sol jel ve ardından 1300°C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının stereo mikroskop fotoğrafı ve $200\times$ büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir. Şekil 4.3 incelendiğinde, ısıl işlemin etkisiyle sentezlenen tozların bir araya gelerek kümeleştiği, homojen bir yapının oluşmadığı gözlenmektedir.



(a)

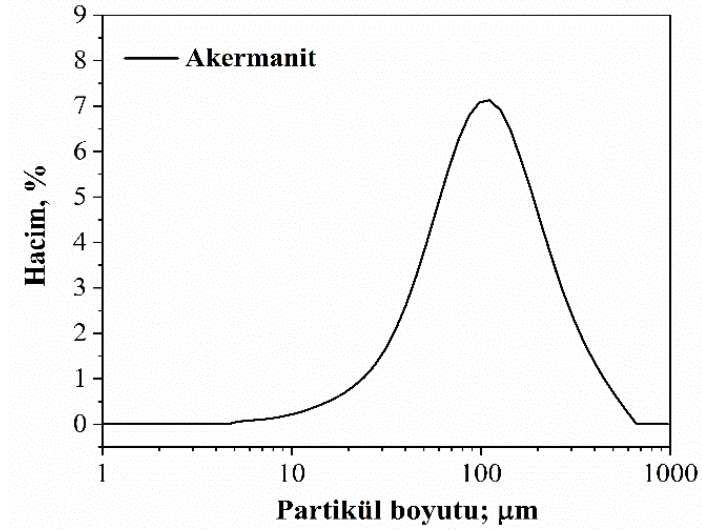
(b)

Şekil 4.3 : Sol jel ve 1300°C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının (a) stereo mikroskop fotoğrafı ve (b) SEM fotoğrafı.

4.1.2 Mekanik öğütme-ısıl işlem yöntemleriyle akermanit tozlarının sentezi ve karakterizasyonu

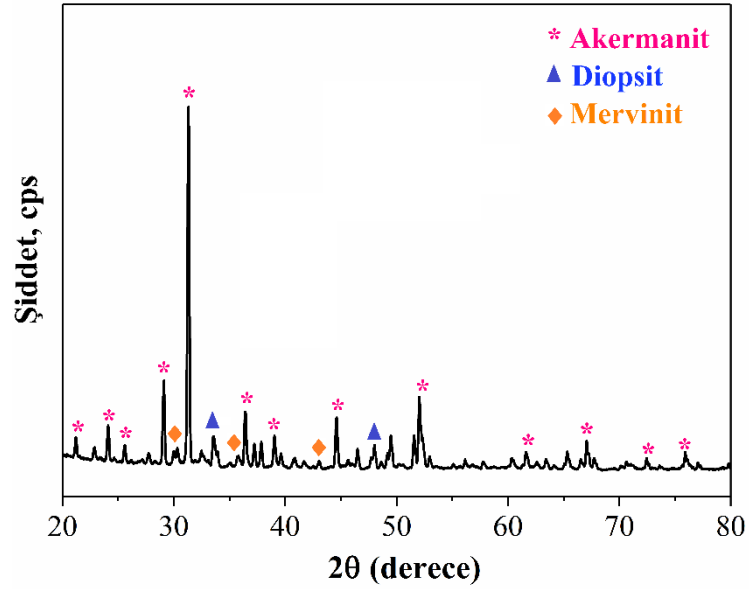
Mekanik öğütme ve 1300°C sıcaklıkta ısıl işlem proseslerini içeren ardışık yöntem ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımları Şekil 4.4’te verilmiştir. Partikül boyut dağılımı incelendiğinde, sentezlenen akermanit tozlarının ortalama partikül boyutları $\sim 64 \mu\text{m}$ olarak tespit edilmiştir.

Mekanik öğütme ve ardından 1300°C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarına ait XRD paterni Şekil 4.5’te verilmiştir.



Şekil 4.4 : Mekanik öğütme ve ardından 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımı.

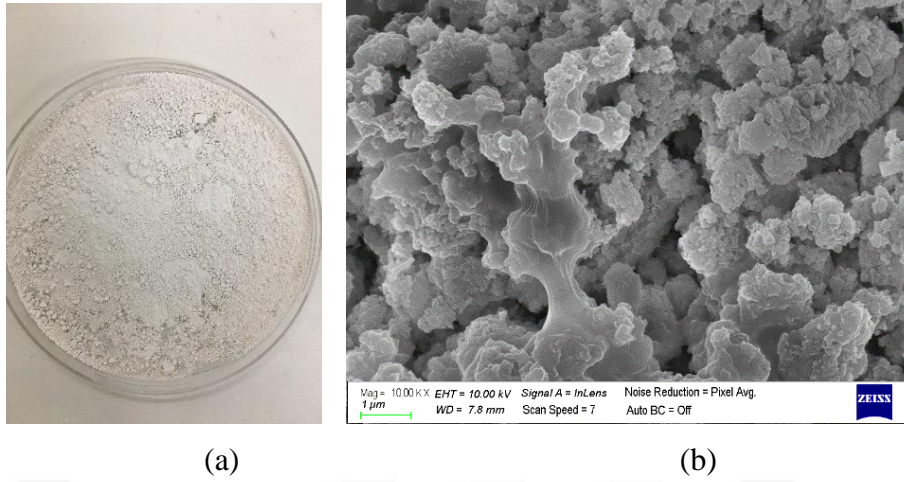
XRD paterni incelendiğinde, sentezlenen tozların yapısında, tetragonal yapıda akermanit ile birlikte diopsit ve mervinit fazların da oluştuğu görülmektedir. Sentezlenen bu tozlar Şekil 4.2’de gösterilen sol jel ve ardından ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozları ile kıyaslandığında; oluşan diopsit ve mervinit ikincil fazlarının şiddetlerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.5 : Mekanik öğütme ve ardından 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının XRD analiz sonucu.

Şekil 4.6’da mekanik öğütme ve ardından 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının stereo mikroskop fotoğrafı ve 1000x büyütmedeki

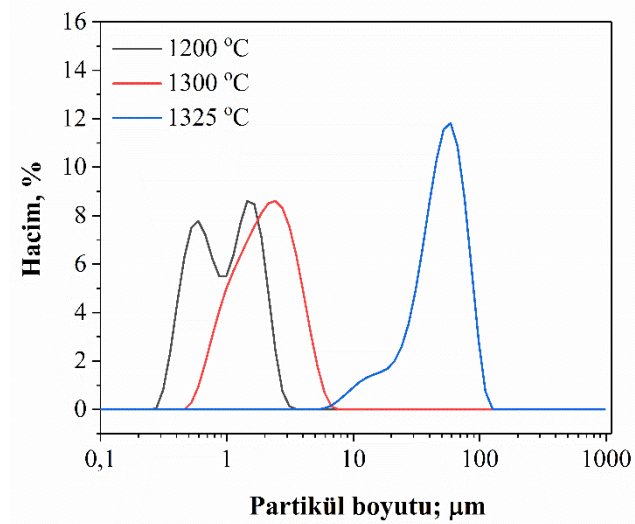
SEM görüntüsü verilmiştir. Şekil 4.6 incelendiğinde, ısıtılmanın etkisiyle sentezlenen tozların aglomere olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6 : Mekanik öğütme ve 1300 °C sıcaklıkta ısıtılma yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının (a) stereo mikroskop fotoğrafı ve (b) SEM fotoğrafı.

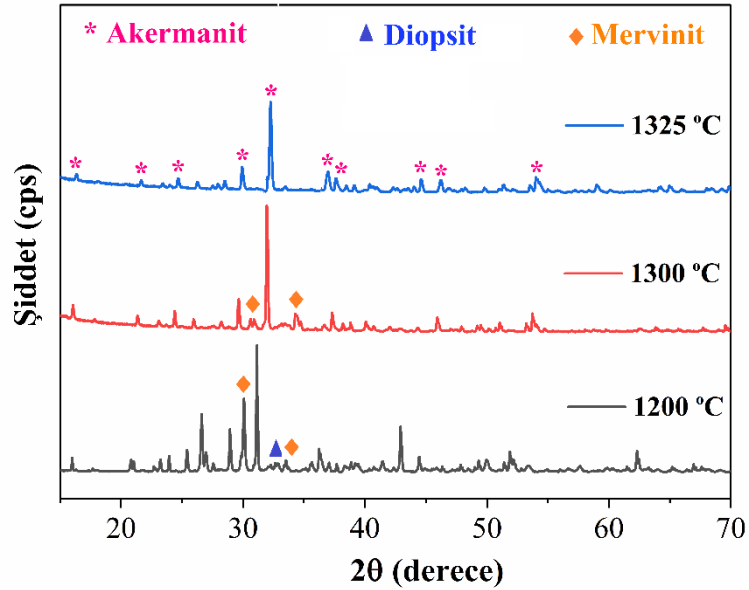
4.1.3 Püskürtmeli kurutma-ısıtılma yöntemleriyle akermanit tozlarının sentezi ve karakterizasyonu

Bu tez kapsamında, akermanit tozlarının sentezlenmesine yönelik literatürde bulunmayan ve yeni bir yöntem olan püskürtmeli kurutma ve ısıtılma proseslerini içeren ardışık bir yöntem tercih edilmiştir. Püskürtmeli kurutma yöntemi, kontaminasyona maruz kalmadan homojen dağılımlı tozlar elde edildiği için tercih edilmiştir [121]. Akermanit tozları püskürtmeli kurutma yönteminin ardından 1200 °C, 1300 °C ve 1325 °C gibi farklı sıcaklıklarda ısıtılma uygulanarak sentezlenmiştir. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile homojen dağılmış tozlar elde edildiği için daha düşük sıcaklıkta akermanit fazının oluşabileceği düşüncesiyle 1200 °C sıcaklıkta ısıtılma uygulanmıştır. Ancak 1300 °C ve 1325 °C sentezlenen akermanit tozlarının sonuçları daha başarılıdır. Sentezlenen akermanit tozların ortalama partikül boyut dağılımları Şekil 4.7’de verilmiştir. Partikül boyut sonuçlarına göre; 1200 °C, 1300 °C ve 1325 °C sıcaklıklarda sentezlenen akermanit tozlarının ortalama partikül boyutları sırasıyla 1,17 µm, 2,37 µm ve 45 µm olarak tespit edilmiştir. Isıtılma sıcaklığının artması ile ortalama partikül boyutunun artmasına rağmen partikül boyutu dağılımı daraldığı belirlenmiş olup, Juang ve Hon’un yapmış olduğu çalışma ile oldukça uyumludur [149].



Şekil 4.7 : Püskürtmeli kurutma ve farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının partikül boyut dağılımları.

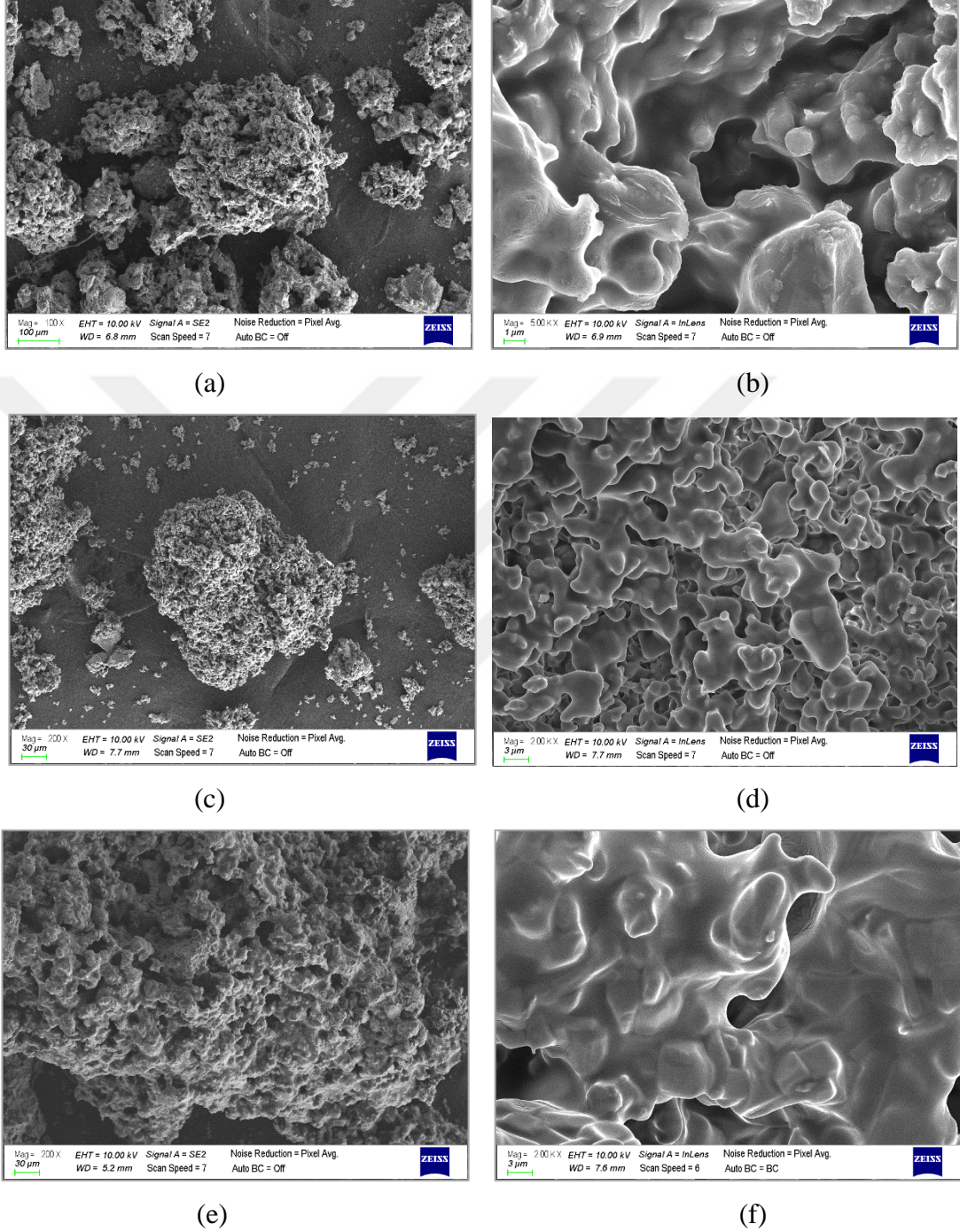
Püskürtmeli kurutma ve ardından 1200 °C, 1300 °C ve 1325 °C sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarına ait XRD paterni Şekil 4.8’da verilmiştir.



Şekil 4.8 : Püskürtmeli kurutma ve ardından farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının XRD analizi.

1200 °C’de ısıl işlem sonucu sentezlenen akermanit tozlarının XRD paterni (Şekil 4.8), ana faz olarak akermanit ve ikincil fazlar olarak mervinit ve diopsitin varlığını göstermektedir. Isıl işlem sıcaklığındaki artışla birlikte diopsit fazı tamamen kaybolmuş ve mervinit (%15) piklerinin yoğunluğu azalmıştır. Bununla birlikte,

yüksek sıcaklıkta (1325 °C) akermanitin tek faz olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Akermanit fazı (Şekil 4.8), standart JCPDS kart no (96-900-6937) ile eşleşmekte ve aynı şekilde indekslenmektedir.

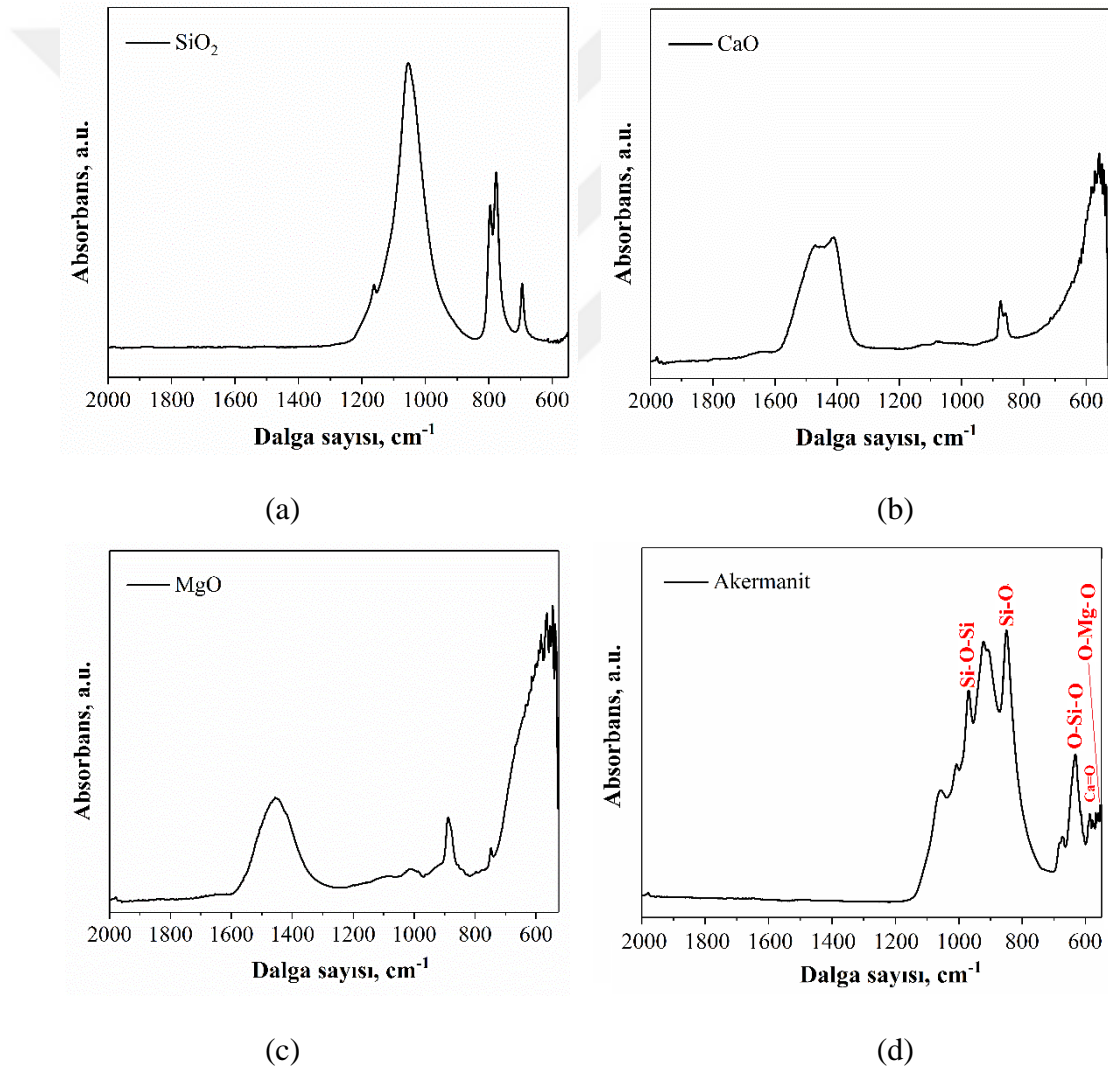


Şekil 4.9 : Püskürtmeli kurutma ve ardından farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının SEM fotoğrafları: (a) ve (b) 1200 °C, (c) ve (d) 1300 °C, (e) ve (f) 1325 °C.

Püskürtmeli kurutma ve ardından farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen tüm akermanit tozlarının SEM mikroyapı görüntüleri ile belirlenmiştir.

Şekil 4.9’da sentezlenen toz halindeki örneklerin farklı büyütmelelerdeki görüntülerine yer verilmiştir. Şekil 4.9 incelendiğinde, sol jel, mekanik öğütme ve püskürtmeli kurutma yöntemlerinin ardından uygulanan 1300 °C sıcaklıkta ısıl işlem ile sentezlenen akermanit tozları birbirleri ile kıyaslandığında homojen olmayan bir dağılım sergiledikleri ancak püskürtmeli kurutma yöntemi ile daha küresel partiküllerin elde edilmiştir. Isıl işlem sıcaklığının artması ile tozların kümeleşme ve aglomerasyonunun arttığı belirlenmiştir.

Şekil 4.10’da başlangıç tozlarının yanısıra püskürtmeli kurutma ve ardından farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit tozlarının FTIR spektrumları görülmektedir.



Şekil 4.10 : Tozların FTIR spektrumları: (a) SiO₂, (b) CaO, (c) MgO ve (d) püskürtmeli kurutma ve farklı sıcaklıklarda ısıl işlem yöntemleri ile sentezlenen akermanit.

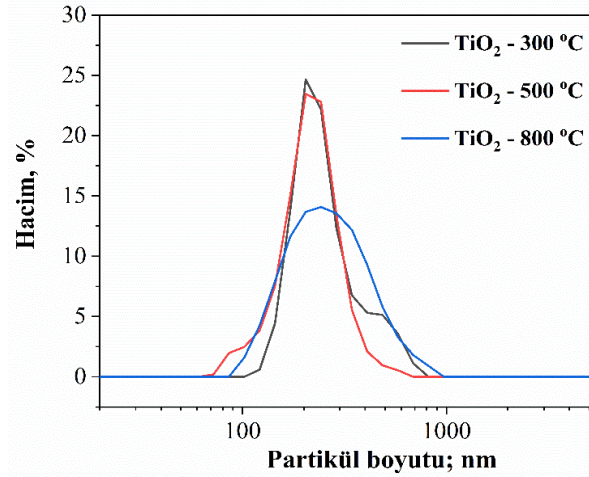
Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, 750-1000 cm^{-1} ve 850 cm^{-1} bölgelerindeki bantların, sırasıyla silikat yapının germe titreşimlerine ve eğilme titreşimlerine bağlı olduğunu göstermiştir [150, 151]. Sentezlenen akermanit tozlarının FTIR spektrumları (Şekil 4.10), yayınlanmış çalışmalarla tutarlı olup, Si-O-Si, Si-O, O-Mg-O, Ca=O ve O-Si-O bağlarının titreşim modları ile ilişkilendirilmektedir.

4.2 TiO₂ Nanopartiküllerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada hidrotermal ve farklı sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerinin fiziksel özellikleri Çizelge 4.1’de, ortalama partikül boyut dağılımları ise Şekil 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 : Hidrotermal ve farklı sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerin fiziksel özellikleri.

Numune Kodu	Ortalama Partikül Boyut (nm)	BET Yüzey Alanı (m^2/g)	Gerçek Yoğunluk (g/cm^3)
TiO ₂ -300	200.0	26.4	3.89
TiO ₂ -500	235.4	21.6	4.09
TiO ₂ -800	254.2	18.9	4.22

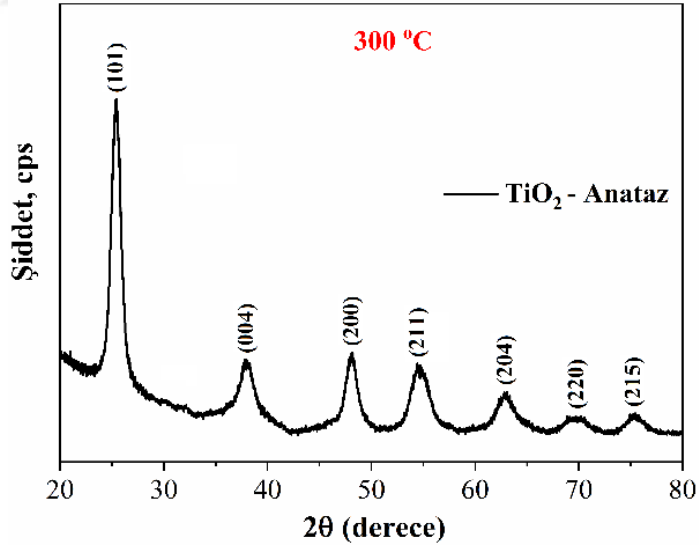


Şekil 4.11 : Hidrotermal ve farklı sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerin partikül boyut dağılımları.

Sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerinin ortalama partikül boyutları 300,500 ve 800 °C sıcaklıklarda sırasıyla 200.0, 235.4 ve 254.2 olarak tespit edilmiştir. Yapılan BET analizlerine göre; TiO₂ nanopartiküllerinin yüzey alanı sırasıyla 26.4, 21.6 ve 18.9 m^2/g olarak bulunmuştur. TiO₂ nanopartiküllerinin yoğunluk ölçüm sonuçlarına göre

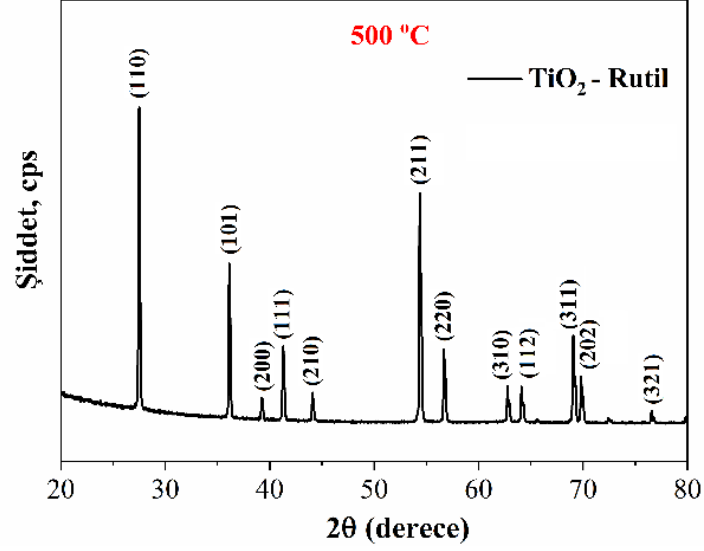
ise, gerçek yoğunlukları sırasıyla 3.89, 4.09 ve 4.22 g/cm³ olarak ölçülmüştür. Buna göre; kalsinasyon sıcaklığı arttıkça ortalama partikül boyutları ve gerçek yoğunluk değerlerinin arttığı, BET yüzey alanının ise azaldığı görülmektedir.

Hidrotermal ve 300, 500 ve 800 °C sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerine ait XRD paternleri Şekil 4.12’de verilmiştir. TiO₂’nin anataz ve rutil formlarının karakteristik pikleri olan (101) ve (110) kırınımları [152], sentezlenen partiküllerin yapısında görülmüştür. TiO₂’nin anataz formu, 400-1200 °C sıcaklıkta uygulanan ısı işlemlerle rutil forma dönüşmektedir [148]. Spekturumlar incelendiğinde, 300 °C’de kalsine edilen TiO₂ partiküllerinin tetragonal anataz kristal yapısında, 500 ve 800 °C’de kalsine edilen TiO₂ partiküllerinin ise tetragonal rutil kristal yapısında olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak tüm numunelerin, XRD paternleri arasında belirgin farklar bulunmamakla birlikte, rutil forma dönüşen TiO₂ partiküllerinin pik şiddetlerinin keskinleştiği açıkça görülmektedir. XRD sonuçları incelendiğinde sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerinin anataz veya rutil fazından farklı herhangi bir ikincil kristalin faz içermediği tespit edilmiştir. Çalışmanın devamında, rutil formda sentezlenen TiO₂ partikülleri kullanılmıştır.

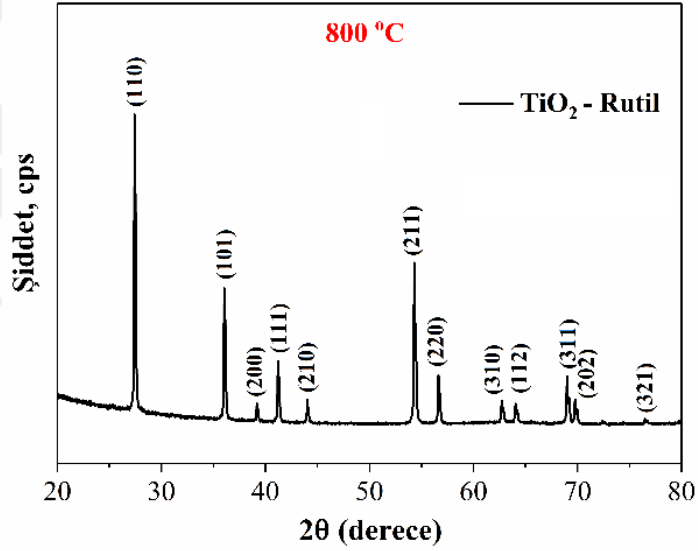


(a)

Şekil 4.12 : Hidrotermal ve farklı sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerinin XRD analiz sonuçları: (a) 300 °C (b) 500 °C ve (c) 800 °C.



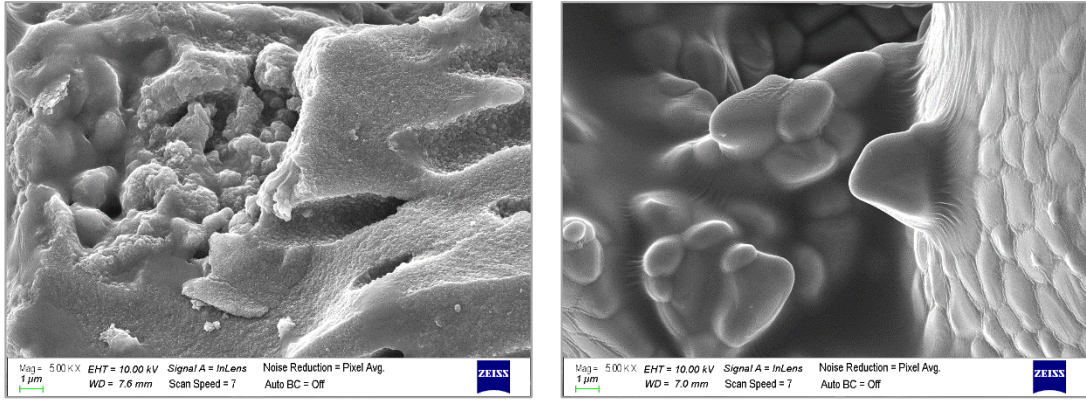
(b)



(c)

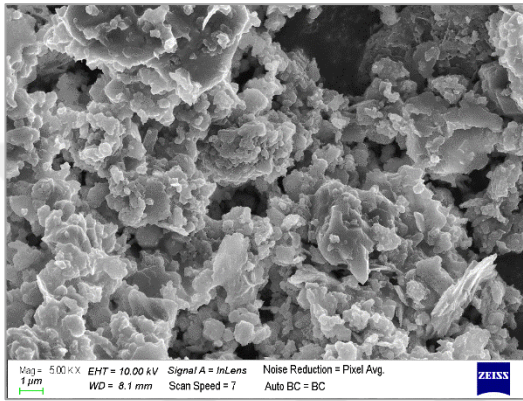
Şekil 4.12 (devam): Hidrotermal ve farklı sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerinin XRD analiz sonuçları: (a) 300 °C (b) 500 °C ve (c) 800 °C.

Hidrotermal ve 300, 500 ve 800 °C sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerine ait SEM görüntüleri ve bu partiküllerin EDS sonuçları Şekil 4.13'te verilmiştir. Bu görüntüler incelendiğinde, hidrotermal yöntemle sentezlenen tozlarda aglomerasyonun engellenemediği gözlemlenmiştir. EDS sonuçları ile, yapıda Ti ve O atomlarının varlığı gösterilmiştir.

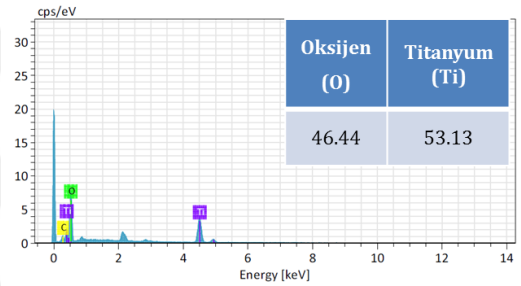


(a)

(b)



(c)



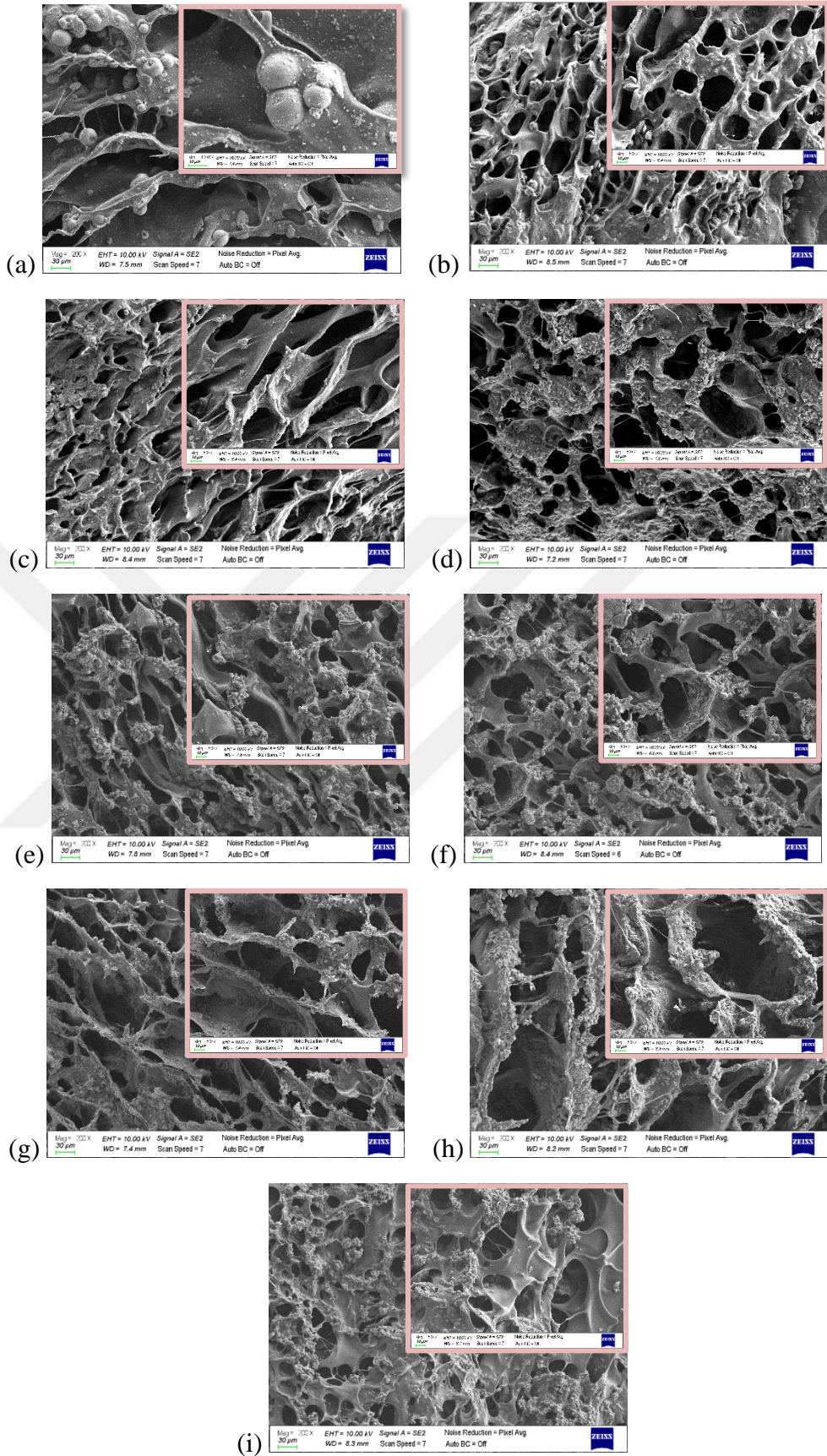
(d)

Şekil 4.13 : Hidrotermal ve farklı sıcaklıklarda kalsinasyon yöntemleri ile sentezlenen TiO₂ nanopartiküllerin SEM fotoğrafları: (a) TiO₂-300, (b) TiO₂-500, (c) TiO₂-800 ve (d) TiO₂ nanopartiküllerin EDS sonucu.

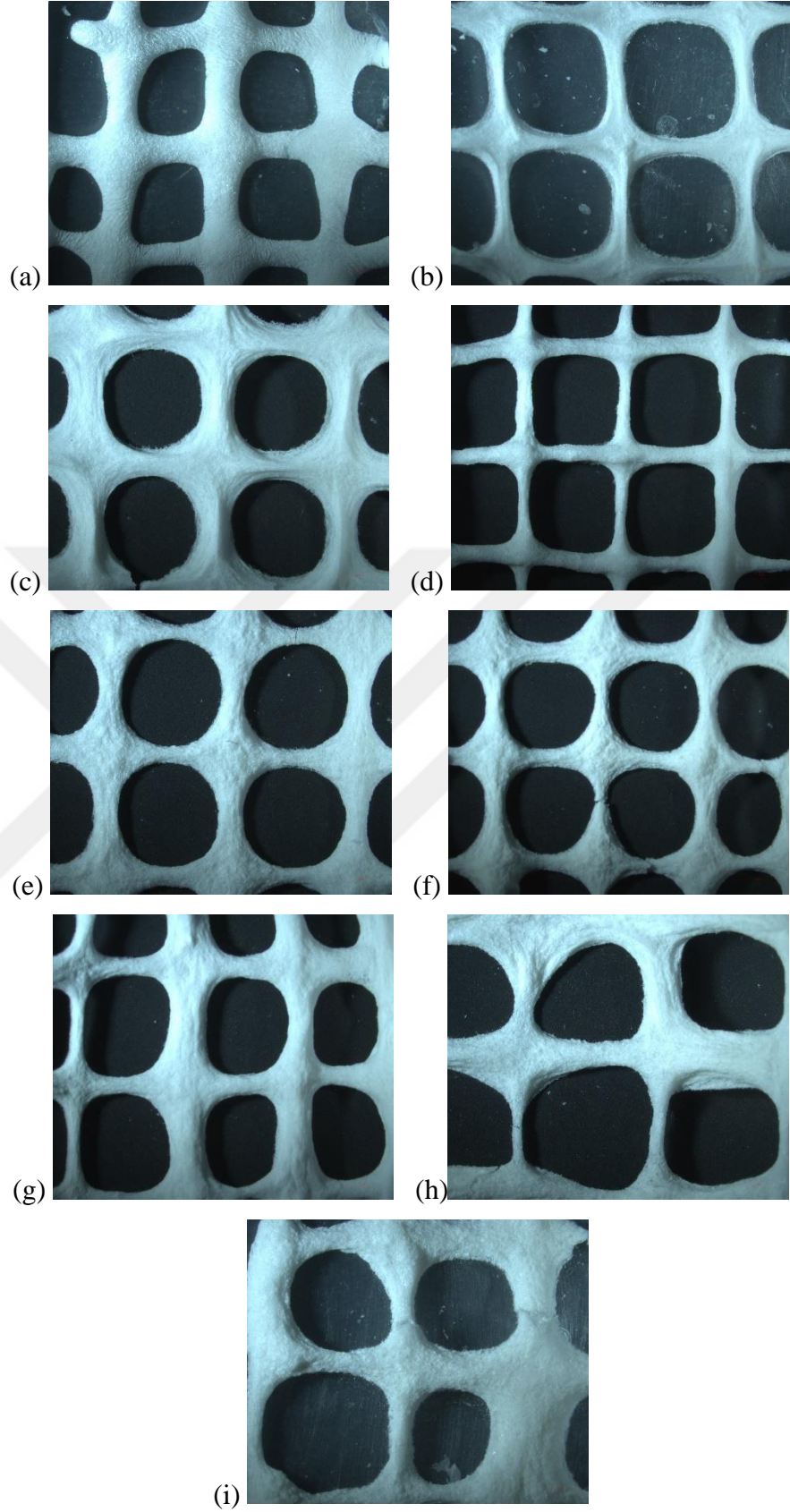
4.3 Kompozit Doku İskelelerinin Karakterizasyonu

4.3.1 Mikroyapı analizi

Üretilen kompozit doku iskelelerinin içsel bağlantılara sahip makro gözenekli morfolojileri SEM görüntüleri ile belirlenmiştir. Şekil 4.14’de üç boyutlu biyobaskılama ve ardından dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen akermanit ve TiO₂/akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin 200X ve 500X büyütmelelerdeki görüntülerine yer verilmiştir. Bu görüntüler incelendiğinde, doğal kemik yapısına benzer içsel bağlantılı gözenek yapısının dondurarak kurutuma sonucu üretilen tüm doku iskelelerinde görüldüğü ve katkı oranı arttıkça gözenek çaplarının küçüldüğü gözlemlenmektedir. Üretilen tüm doku iskelelerinin açık gözenekli yapısı ise, Şekil 4.15’teki Stereo mikroskop görüntülerinde görülmektedir.



Şekil 4.14 : Kompozit doku iskelelerine ait 200X ve 500X büyütmeledeki SEM görüntüleri (a) K-20A, (b) K-50A, (c) K-60A, (d) K-75A, (e) K-80A, (f) K-1Ti-80A, (g) K-3Ti-80A, (h) K-5Ti-80A ve (i) K-7Ti-80A.



Şekil 4.15 : Kompozit doku iskelelerine ait Stereo mikroskop görüntüleri (a) K-20A, (b) K-50A, (c) K-60A, (d) K-75A, (e) K-80A, (f) K-1Ti-80A, (g) K-3Ti-80A, (h) K-5Ti-80A ve (i) K-7Ti-80A.

4.3.2 Şişme çalışmaları

Akermanit katkılı kitosan ve TiO₂ akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin 37°C’de PBS (pH=7.4) içerisinde 30, 60 ve 120 dk boyunca gerçekleştirilen şişme deneyleri sonucunda elde edilen şişme değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : Üretilen doku iskelelerinin şişme karakteristikleri

Doku iskelesi	30 dk	60 dk	120 dk
K-20A	0.95	1.09	1.19
K-50A	0.55	0.67	0.88
K-60A	0.69	0.75	0.76
K-75A	0.53	0.68	0.72
K-80A	0.65	0.77	0.80
K-1Ti-80A	0.39	0.49	0.57
K-3Ti-80A	0.49	0.53	0.57
K-5Ti-80A	0.54	0.55	0.58
K-7Ti-80A	0.51	0.53	0.56

Üretilen doku iskelelerinin şişme oranları incelendiğinde, kompozit doku iskelelerinden kitosan içeriği yüksek olan doku iskelesinin şişme oranının en yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, akermanit katkısının şişme oranını belirgin bir şekilde azalttığı gözlenmektedir. En düşük şişme oranlarının ise, akermanit ile birlikte TiO₂ katkılı doku iskelelerinde olduğu görülmektedir. Doku iskelelerinin şişme oranının azalmasında, akermanit katkısı ile daha homojen bir yapı elde edilmesinin ve küçük çaplardaki TiO₂ katkısı ile daha sıkı bir yapı elde edilmesinin etkisi olduğu düşünülmektedir. Şişme çalışmaları sonunda, şişmeye bağlı olarak tüm doku iskelelerinin hacimlerinde artış olduğu gözlenmekle birlikte, kitosan içeriği yüksek olan doku iskelesinin yapı bütünlüğünün bozulduğu görülmüştür.

4.3.3 Yoğunluk ve gözeneklilik ölçümleri

Üretilen doku iskelelerinin yoğunluk ve gözeneklilik değerleri hesaplanarak Çizelge 4.3’te elde edilen sonuçlara yer verilmiştir. Doku iskelelerinin yoğunluk değerleri incelendiğinde, akermanit katkısı arttıkça yoğunluğun arttığı ve en yüksek yoğunluk değerlerinin akermanit/TiO₂ katkılı kitosan doku iskelelerinde olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, akermanit ve TiO₂ katkılarının, tüm doku iskelelerinin yoğunluklarını arttırdığı açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.3 : Üretilen doku iskelelerinin hesaplanan yoğunluk değerleri ve gözeneklilik ölçümleri

Doku iskelesi	Yoğunluk	Gözeneklilik
K-20A	1,01	0,77
K-50A	1,07	0,64
K-60A	1,18	0,18
K-75A	1,18	0,08
K-80A	2,24	0,05
K-1Ti-80A	3,60	0,04
K-3Ti-80A	4,11	0,04
K-5Ti-80A	4,18	0,03
K-7Ti-80A	4,19	0,03

Zhang ve çalışma ekibi tarafından yapılan bir çalışmada [153], kitosan esaslı iskelelerin 0,85 olan gözeneklilik değerleri hidroksiapatit ilavesi ile azalmıştır. Bu çalışmada hesaplanan gözeneklilik değerleriyle karşılaştırıldığında, akermanit ve TiO₂ katkı oranı arttıkça gözeneklilik daha da azalmaktadır.

4.3.4 Mekanik dayanım analizi

Üretilen doku iskelelerinin basma testi ile gerçekleştirilen mekanik dayanım değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Zhang ve çalışma ekibi yaptıkları çalışmada [153] kitosan esaslı doku iskelesinin 0,506 MPa olan basma dayanımını hidroksiapatit ilavesi ile 0,680 MPa'ya arttırmıştır. Bu çalışmada, akermanit seramiklerinin kalsiyum fosfat esaslı seramiklerle karşılaştırıldığında daha yüksek mekanik özellik gösterdiği kanıtlanmıştır. Ancak, akermanit içeren doku iskelelerinin sahip olduğu mekanik özellikler kortikal kemiğinkinden düşüktür ve yük taşıma uygulamalarında kullanımını sınırlamaktadır [15]. Bu çalışmada, akermanitin nispeten düşük olan mekanik dayanımı TiO₂ ilavesi ile artırılmış ve mekanik özellikleri iyileştirilmiştir.

Çizelge 4.4 : Doku iskelelerinin mekanik dayanımları.

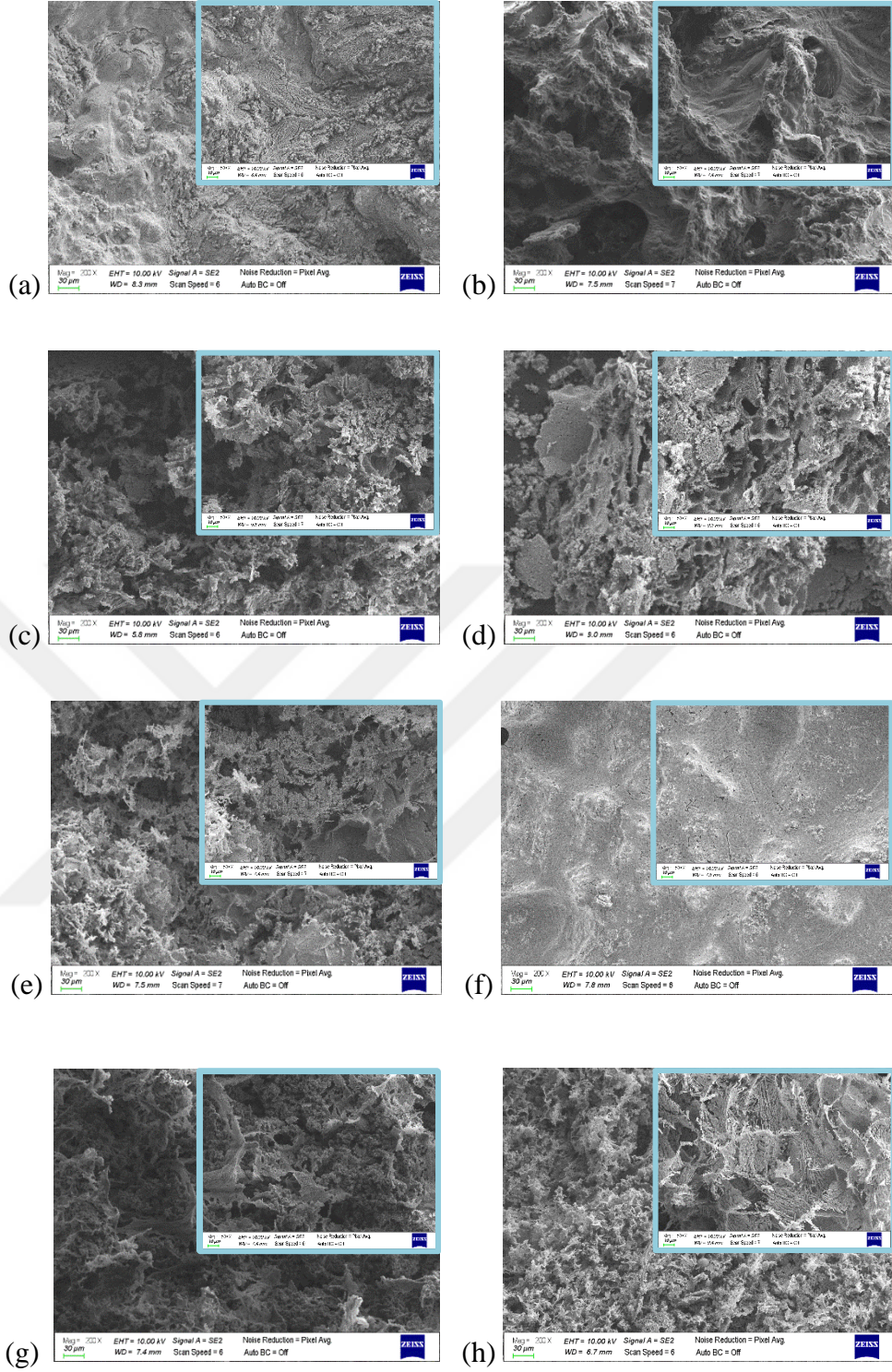
Doku iskelesi	Dayanım (MPa)
K-20A	0,30895
K-50A	0,64775
K-60A	2,01750
K-75A	2,96608
K-80A	3,09654
K-1Ti-80A	3,18842
K-3Ti-80A	3,09664
K-5Ti-80A	3,74643
K-7Ti-80A	4,56939

Bu değerler incelendiğinde, en dūřuk mekanik dayanımın en az akermanit katkısı olan iskelede olduğu gōr÷lmektedir. Akermanit katkısı arttıķa mekanik dayanımın y÷kselmekte olduğu, TiO₂ katkısı ile ise en y÷ksek değerlere ulaştığı aķıkķa gōr÷lmektedir.

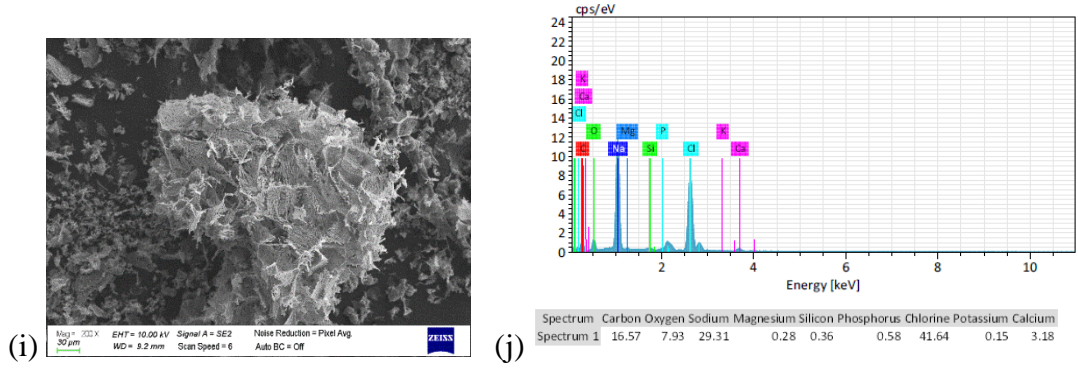
4.4 Doku İskelelerinin Biyoaktivite alışmalarının Sonuçları

Tez alışması kapsamında üretilen ve SBF ōzeltisi içerisinde bekletilen akermanit katkılı kitosan ve TiO₂/akermanit katkılı kitosan doku iskelelerinin y÷zey morfolojileri alınan SEM gōr÷nt÷leri ve EDS analizleri ile değerlendirilmiştir. şekil 4.15’de üretilen kompozit doku iskelelerinin 10xSBF içerisinde 10 g÷n boyunca bekletildikten sonra kemik benzeri apatit tabakası oluşumunu gōsteren farklı b÷y÷tmelerdeki SEM gōr÷nt÷leri gōr÷lmektedir.

şekil 4.15 incelendiğinde, doku iskelelerinin y÷zeyinde Ca/P öbeklerinin oluşmasının yanı sıra, neredeyse t÷m y÷zeyin apatit tabakasıyla kaplandığı gōzlenmiřtir. 10 g÷n boyunca 10xSBF’de bekletilen iskelelerin y÷zeyinde mineralize apatit kristalleri oluşmuştur. Yapılan alışmalar, akermanitten salınan inorganik iyonların biyoaktivite üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu ve 10xSBF ōzeltisi içerisinde akermanit içeren doku iskelelerinin kemik benzeri apatit oluşumunu ind÷klediğini doğrulamıştır. Oluşan apatit tabakalarının yoğunlukları karşılaştırıldığında, en iyi biyoaktivite sonuçlarının TiO₂ ve akermanit katkılı doku iskelelerinde gōzlendięi sonucuna varılmıştır. Biyoinert özelliğe sahip bir seramik olan TiO₂, gōzenekli doku iskeleleri içerisine m÷mk÷n olduğunca az miktarlarda katkılandırılmalıdır. Yapılan bir çalışmada [15], %5 ve %7 nano TiO₂ katkılı akermanit içeren doku iskelelerinin in vitro biyoaktiviteleri 6 g÷n boyunca SBF içerisinde bekletilerek değerlendirilmiş ve %5 TiO₂ katkılı akermanit içeren iskelelerin daha iyi biyoaktiviteye sahip olduğu gōzlenmiřtir. Tez alışması kapsamında şekil 4.15(h)’da gōsterilen EDS sonucunun ve şekil 16’da gōsterilen FTIR spektrumunun, iskelelerin apatit tabakası kaplanmış mineralize y÷zeyi için P elementinin varlığını ortaya koymuştur. Doku iskelelerinin y÷zeyinde biriken kemik benzeri apatit tabakalarının, hAP’in Ca/P (1,67) oranından daha y÷ksek bir Ca/P oranına sahip olduğunu doğrulamıştır. 10 g÷n boyunca 10xSBF içerisinde bekletilen iskelelerin, %1 TiO₂ içeren akermanit katkılı iskelelerin Ca/P oranı 5,48 iken, %7 TiO₂ içeren iskelelerin Ca/P oranı 5,28’dir.

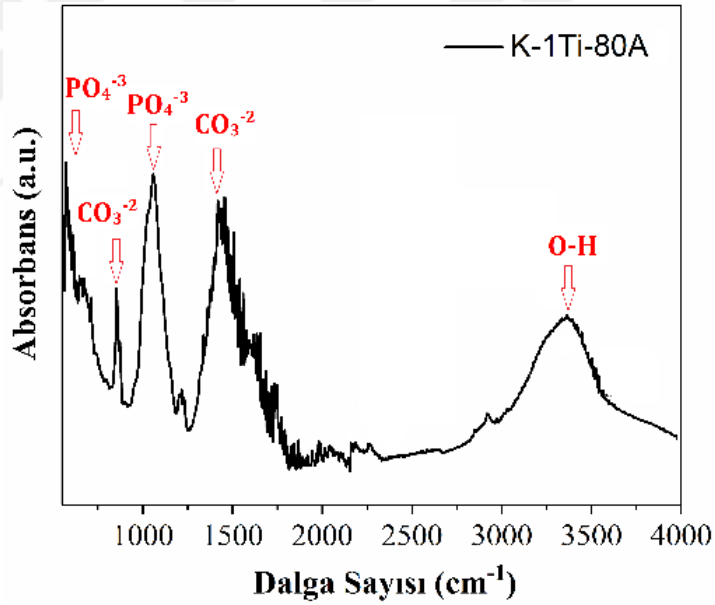


Şekil 4.16 : 10 gün boyunca 10xSBF içerisinde bekletilmiş olan kompozit doku iskelelerine ait 200X ve 500X büyütmeledeki SEM görüntüleri (a) K-20A-SBF, (b) K-50A-SBF, (c) K-60A-SBF, (d) K-75A-SBF, (e) K-80A-SBF, (f) K-1Ti-80A-SBF, (g) K-3Ti-80A-SBF, (h) K-5Ti-80A-SBF, (i) K-7Ti-80A-SBF ve (j) K-7Ti-80A-SBF'in EDS görüntüsü.



Şekil 4.16 (devam) : 10 gün boyunca 10xSBF içerisinde bekletilmiş olan kompozit doku iskelelerine ait 200X ve 500X büyütmeledeki SEM görüntüleri (a) K-20A-SBF, (b) K-50A-SBF, (c) K-60A-SBF, (d) K-75A-SBF, (e) K-80A-SBF, (f) K-1Ti-80A-SBF, (g) K-3Ti-80A-SBF, (h) K-5Ti-80A-SBF, (i) K-7Ti-80A-SBF ve (j) K-7Ti-80A-SBF'in EDS görüntüsü.

Şekil 4.17'de SBF içerisinde bekletilmiş olan doku iskelelerinin FTIR spektrumunu verilmiştir. Bu spektrumlar incelendiğinde, doku iskelelerinin yüzeylerindeki Ca/P tabakasının varlığı kanıtlanmıştır.



Şekil 4.17 : 10 gün boyunca 10xSBF içerisinde bekletilmiş olan K-1Ti-80A-SBF kompozit doku iskelesine ait FTIR spektrumu.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında, püskürtmeli kurutma ve ısıl işlem proseslerini içeren ardışık yöntem ile akermanit tozları sentezlenmiş ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında katkı olarak kullanılan TiO_2 nanopartikülleri ise hidrotermal yöntem ile sentezlenmiştir. Sentezlenen tozların katkısı akermanit ve TiO_2 /akermanit katkılı kompozit kitosan doku iskeleleri üretilmiş ve uygun yöntemler ile karakterize edilerek doku mühendisliği uygulamalarındaki kullanımının araştırılmıştır.

Bu bölümde yapılan tez çalışması sonucunda elde edilen sonuçlar özetlenmiştir.

- Üretilen kompozit doku iskelelerinin tamamının içsel bağlantılı ve açık gözeneklere sahip yapıda olduğu tespit edilmiştir. Belirlenen oranlarda akermanit ve TiO_2 /akermanit katkısının doku iskelesinin gözenek yapısını etkilemediği ve kemik doku mühendisliği uygulamaları için üretilen doku iskelelerinin uygun mikroyapıda oldukları belirlenmiştir.
- Hazırlanan kompozit doku iskelelerinin akermanit ve TiO_2 /akermanit katkılılandırılmasının su tutma oranlarında azalmaya neden olduğu görülmüştür.
- Gözenek özellikleri ve mekanik dayanıklılıkları doku iskelesi için görülen sınırlar içinde bulunmuştur. TiO_2 /akermanit tozları, doku iskelelerinin yapısını önemli bir şekilde etkilemiş ve mekanik özelliklerini etkileyen oldukça önemli bir parametre olduğu kanıtlamıştır.
- Deneysel verilerimize dayanarak, kompozit doku iskeleleri mükemmel biyoaktivite ve biyouyumluluk göstermiştir.

KAYNAKLAR

- [1] **Huri, P.Y., Hasirci, N., Hasirci, N.** (2010). Kemik Doku Mühendisliği, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*,19 (4), 206-219.
- [2] **Burg, K.J., Porter, S., Kellam, J.F.** (2000). Biomaterial Developments for Bone Tissue Engineering, *Biomaterials*,21 (23), 347-2359.
- [3] **Langer, R. & Vacanti, J.P.** (1993). Tissue Engineering, *Science*, 260, 920-927.
- [4] **Ülker, N.** (2013). *Işık-Etkili Kemik Doku Mühendisliği*. (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [5] **Barrère, F., Blitterswijk, C.A., Groot, K.** (2006). Bone Regeneration: Molecular and Cellular Interactions with Calcium Phosphate Ceramics. *International Journal of Nanomedicine*,1 (3), 317.
- [6] **Suh, J.K.F. & Matthew, H.W.** (2000). Application of Chitosan-Based Polysaccharide Biomaterials in Cartilage Tissue Engineering: A Review. *Biomaterials*,21 (24), 2589-2598.
- [7] **Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite R.M., Chiellini, E.** (2011). Chitosan-A Versatile Semi-Synthetic Polymer in Biomedical Applications. *Progress in polymer science*,36 (8), 981-1014.
- [8] **Han, W.T., Kitiyanant, Y., Misra, R.** (2008). Chitosan as Scaffold Matrix for Tissue Engineering. *Materials Science and Technology*,24 (9), 1062-1075.
- [9] **Deepthi, S., Venkatesan, J., Kim, S.K., Bumgardner, D., Jayakumar, R.** (2016). An Overview of Chitin or Chitosan/Nano Ceramic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 1338-1353.
- [10] **Yin, Y., Ye, F., Cui, J., Zhang, F., Li, X., Yao, K.** (2003). Preparation and Characterization of Macroporous Chitosan-Gelatin/ β -Tricalcium Phosphate Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials*,67 (3), 844-855.
- [11] **Wu, C. & Chang, J.** (2007). Degradation, Bioactivity and Cytocompatibility of Diopside, Akermanite and Bredigite Ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials*,83 (1), 153-160.
- [12] **Kokubo, T.** (1991). Bioactive Glass Ceramics: Properties and Applications. *Biomaterials*,12 (2), 155-163.
- [13] **Wu, C., Chang, J., Ni, Si., Wang, J.** (2006). In Vitro Bioactivity of Akermanite Ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials*,76 (1), 73-80.

- [14] **Sharafabadi, A.K., Abdellahi, M., Kazemi, A., Khandan, A., Ozada, N.** (2017). A Novel and Economical Route for Synthesizing Akermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) Nano-Bioceramic. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 1072-1078.
- [15] **Feng, P., Gao, C., Shuai, C., Peng, S.** (2015). Toughening and Strengthening Mechanisms of Porous Akermanite Scaffolds Reinforced with Nano-Titania. *RSC Advances*, 5 (5), 498-3507.
- [16] **Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.** (2004). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Elsevier.
- [17] **Shojai, M.S., Khorasani, M.T., Khoshdargi, E.D., Jamshidi, A.** (2013). Synthesis Methods for Nanosized Hydroxyapatite with Diverse Structures. *Acta Biomaterialia*, 9 (8), 7591-7621.
- [18] **Martin, R.B., Burr, D.B., Sharkey, N.A., Fyhrie, D.P.** (1998). *Skeletal Tissue Mechanics*, 190. Springer.
- [19] **Salgado, A.J., Coutinho, O.P., Reis, R.L.** (2004). Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends. *Macromolecular Bioscience*, 4 (8), 743-765.
- [20] **Aydil, S.** (2005). *Osteoporozda Egzersiz Programının Solunum Fonksiyonlarına ve Yaşam Kalitesine Etkisi*. (Uzmanlık tezi). İstanbul 70. Yıl Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Eğitim v eAraştırma Hastanesi, İstanbul.
- [21] **Rho, J.Y., Spearing, L.K., Zioupos, P.** (1998). Mechanical Properties and the Hierarchical Structure of Bone. *Medical Engineering & Physics*, 20 (2), 92-102.
- [22] **Rogel, M.R., Qiu, H., Ameer, G.A.** (2008). The Role of Nanocomposites in Bone Regeneration. *Journal of Materials Chemistry*, 18 (36), 4233-4241.
- [23] **Mescher, A.L.** (2016). *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas 14. Edition*. McGraw-Hill Education, USA, 138-158.
- [24] **Irmak, G.** (2013). *β -Estradiol Yüklü Doku İskeleleri ile in-Vitro Kemik Doku Mühendisliği*. (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [25] **Durukan, M.D.** (2012). *Mikrodalga-Destekli Kitosan/Hidroksiapatit Doku İskelesi Üretimi ve in-Vitro Kemik Doku Mühendisliği*. (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [26] **Weiner, S. & Wagner, H.D.** (1998). The Material Bone: Structure-Mechanical Function Relations. *Annual Review of Materials Science*, 28 (1), 271-298.
- [27] **Stevens, M.M.** (2011). Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Materials today*, (5) 18-25.
- [28] **Gümüşderelioğlu, M.** (2007). Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji. *Bilim ve Teknik Özel Eki, Tübitak Yayınları*.
- [29] **Tuzlakoglu, K., Bolgen, N., Salgado, A.J., Gomes, M.E.** (2005). Nano-and Micro-Fiber Combined Scaffolds: A New Architecture for Bone Tissue Engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (12), 1099-1104.

- [30] **Murugan, R. & Ramakrishna, S.** (2005). Development of Nanocomposites for Bone Grafting. *Composites Science and Technology*,65 (15-16), 2385-2406.
- [31] **Köse, A. & R. Dinçer.** (2015). *Kemik Büyüme Faktörleri, Kemik Kartilaj Yapısı*. Derman Tıbbi Yayıncılık.
- [32] **Tunçay, Ö.E.** (2013). *Biyomimetik Yöntemle Bor Katkılı Doku İskelelerinin Geliştirilmesi ve Kemik Doku Mühendisliğindeki Etkinliklerinin Araştırılması*. (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [33] **Deschaseaux, F., Sensébé, L., Heymann, D.** (2009). Mechanisms of Bone Repair and Regeneration. *Trends in Molecular Medicine*,15 (9), 417-429.
- [34] **Meyer, U. & Wiesmann, H.P.** (2006). *Bone and Cartilage Engineering*. Springer.
- [35] **Drosse, I., Volkmer, E., Capanna, R., Biase, P.D., Mutschler, W., Schieker, M.** (2008). Tissue Engineering for Bone Defect Healing: An Update on a Multi-Component Approach. *Injury*,39, 9-20.
- [36] **Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S., Kenny, J.M.** (2010). Biodegradable Polymer Matrix Nanocomposites for Tissue Engineering: A Review. *Polymer Degradation and Stability*,95 (11), 2126-2146.
- [37] **Murphy, C.M., Haugh, M.G., O'brien, F.J.** (2010). The Effect of Mean Pore Size on Cell Attachment, Proliferation and Migration in Collagen–Glycosaminoglycan Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*,31 (3), 461-466.
- [38] **Rezwan, K., Chen, Q.Z., Blaker, J.J., Boccaccini, A.R.** (2006). Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*,27 (18), 3413-3431.
- [39] **Yang, S., Leong, K.F., Du, Z., Chua, C.K.** (2001). The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue engineering*,7 (6), 679-689.
- [40] **Ravichandran, R., Sundarrajan, S., Venugopal, J.R., Mukherjee, S., Ramakrishna, S.** (2012). Advances in Polymeric Systems for Tissue Engineering and Biomedical Applications. *Macromolecular Bioscience*,12 (3), 286-311.
- [41] **Nair, L.S. & Laurencin, C.T.** (2007). Biodegradable Polymers as Biomaterials. *Progress in Polymer Science*,32 (8-9), 762-798.
- [42] **Hutmacher, D.W.** (2001). Scaffold Design and Fabrication Technologies for Engineering Tissues-State of the Art and Future Perspectives. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*,12 (1),107-124.
- [43] **Swetha, M., Sahithi, K., Moorthi, A., Srinivasan, N., Ramasamy, K., Selvamurugan, N.** (2010). Biocomposites Containing Natural Polymers and Hydroxyapatite for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*,47 (1), 1-4.
- [44] **Demirkol, N.** (2013). *Koyun Hidroksiapatit Esaslı Kompozitlerin Üretimi ve Karakterizasyonu*. (Doktora Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- [45] **Rosso, F., Marino, G., Giordano, A., Barbarisi, M., Parmeggiani, D.** (2005). Smart Materials as Scaffolds for Tissue Engineering. *Journal of Cellular Physiology*,203 (3), 465-470.
- [46] **Tıǧlı, R.S., Karakeçili, A., Gümüşderelioǧlu, M.** (2007). In vitro Characterization of Chitosan Scaffolds: Influence of Composition and Deacetylation Degree. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*,18 (9), 1665-1674.
- [47] **Akman, A.C., Tıǧlı, R.S., Gümüşderelioǧlu, M., Nohutcu, R.M.** (2010). Bone Morphogenetic Protein-6-Loaded Chitosan Scaffolds Enhance the Osteoblastic Characteristics of MC3T3-E1 cells. *Artificial Organs*,34 (1), 65-74.
- [48] **Han, W.T & Misra, R.** (2009). Biomimetic Chitosan-Nanohydroxyapatite Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Acta Biomaterialia*,5 (4), 1182-1197.
- [49] **Balan, V. & Verestiuc, L.** (2014). Strategies to Improve Chitosan Hemocompatibility: A Review. *European Polymer Journal*, 53, 171-188.
- [50] **Anitha, A., Sowmyaa, S., Kumar, P.T.S., Deepthi, S., Chennazhi, K.P., Ehrlichb, H., Tsurkanc, M., Jayakumar, R.** (2014). Chitin and Chitosan in Selected Biomedical Applications. *Progress in Polymer Science*,39 (9), 1644-1667.
- [51] **Reis,R.L. & Román, J.S.** (2004). *Biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine*. CRC press.
- [52] **John, M.J. & Thomas,S.** (2008). Biofibres and Biocomposites. *Carbohydrate Polymers*,71 (3), 343-364.
- [53] **Meng, S., Liu, Z., Zhong, W., Wang, Q., Du, Q.** (2007). Phosphorylcholine Modified Chitosan: Appetent and Safe Material for Cells. *Carbohydrate polymers*,70 (1), 82-88.
- [54] **Zhu, Y., Gao, C., Liu, X., He, T., Shen, J.** (2004). Immobilization of Biomacromolecules onto Aminolyzed Poly (L-lactic acid) Toward Acceleration of Endothelium Regeneration. *Tissue engineering*,10 (1-2), 53-61.
- [55] **Reis, R.L., Neves, N. M., Mano, J. F., Gomes, M. E., Marques, A. P., Azevedo, H. S.** (2008). *Natural-Based Polymers for Biomedical Applications*. Elsevier.
- [56] **Madihally, S. V. & Matthew, H. W.** (1999). Porous Chitosan Scaffolds for Tissue Engineering. *Biomaterials*,20 (12), 1133-1142.
- [57] **June, W.** (1993). *An introduction to bioceramics*. World scientific.
- [58] **Mitra, J., Tripathi, G., Sharma, A., Basu, B.** (2013). Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Role of Surface Patterning on Osteoblast Response. *Rsc Advances*,3 (28), 11073-11094..
- [59] **Uysal, U.** (2012). *Nano ve Mikron Boyutta Hidroksiapatit Üretimine Proses Parametrelerinin Etkisinin İncelenmesi*. (Doktora Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- [60] **Kivrak, N. & Taş, A.C.** (1998). Synthesis of Calcium Hydroxyapatite-Tricalcium Phosphate (HA-TCP) Composite Bioceramic Powders and Their Sintering Behavior. *Journal of the American Ceramic Society*,81 (9), 2245-2252.
- [61] **Shi, D., Jiang, G., Wen, X.** (2000). In Vitro Behavior of Hydroxyapatite Prepared by a Thermal Deposition Method. *Processing And Fabrication Of Advanced Materials VIII*, 117-124.
- [62] **Tadic, D. & M. Epple.** (2003). Mechanically Stable Implants of Synthetic Bone Mineral by Cold Isostatic Pressing. *Biomaterials*, 2003. 24(25): p. 4565-4571.
- [63]. **Balamurugan, A., Kannan, S., Rajeswari, S.** (2002). Bioactive Sol-Gel Hydroxyapatite Surface for Biomedical Application-in Vitro Study. *Biomaterials and Artificial Organs*,16 (1), 18-20.
- [64] **Layrolle, P., Ito, A., Tateishi, T.** (1998). Sol-gel Synthesis of Amorphous Calcium Phosphate and Sintering into Microporous Hydroxyapatite Bioceramics. *Journal of the American Ceramic Society*,81 (6), 1421-1428.
- [65] **Sivakumar, M., Kumar, T. S., Shantha, K. L., Rao, K. P.** (1996). Development of Hydroxyapatite Derived from Indian Coral. *Biomaterials*,17 (17), 1709-1714.
- [66] **Cengiz, B.** (2007). *Hidroksiapatit nanoparçacıklarının sentezi.* (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [67] **LeGeros, R. Z.** (2002). Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 395, 81-98.
- [68] **Wu, C. & Chang, J.** (2013). A Review of Bioactive Silicate Ceramics. *Biomedical Materials*,8 (3), 032001.
- [69] **Ogose, A., Kondo, N., Umezu, H., Hotta, T., Kawashima, H., Tokunaga, K., Endo, N.** (2006). Histological Assessment in Grafts of Highly Purified Beta-Tricalcium Phosphate in Human Bones. *Biomaterials*,27 (8), 1542-1549.
- [70] **Miranda, P., Pajares, A., Saiz, E., Tomsia, A. P., Guiberteau, F.** (2008). Mechanical Properties of Calcium Phosphate Scaffolds Fabricated by Robocasting. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials*,85 (1), 218-227.
- [71] **Tanimoto, Y. & Nishiyama, N.** (2008). Preparation and Physical Properties of Tricalcium Phosphate Laminates for Bone-Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials*,85 (2), 427-433.
- [72] **Dorozhkin, S. V. & Epple, M.** (2002). Biological and Medical Significance of Calcium Phosphates. *Angewandte Chemie International Edition*,41 (17), 3130-3146.
- [73] **Arinzeh, T. L., Tran, T., Mcalary, J., Daculsi, G.** (2005). A Comparative Study of Biphasic Calcium Phosphate Ceramics for Human Mesenchymal Stem-Cell-Induced Bone Formation. *Biomaterials*,26 (17), 3631-3638.

- [74] **Frayssinet, P., Trouillet, J. L., Rouquet, N., Azimus, E., Autefage, A.** (1993). Osseointegration of Macroporous Calcium Phosphate Ceramics Having a Different Chemical Composition. *Biomaterials*,14 (6), 423-429.
- [75] **Oktar, F.N. & Göller, G.** (2002). Sintering Effects on Mechanical Properties of Glass-Reinforced Hydroxyapatite Composites. *Ceramics International*,28 (6), 617-621.
- [76] **Akermanite.** Erişim: 3 Aralık, 2019, <https://www.mindat.org/min-70.html>
- [77] **Wu, C., & Chang, J.** (2006). A novel akermanite bioceramic: preparation and characteristics. *Journal of biomaterials applications*,21 (2), 119-129.
- [78] **Dimitrova, S. V., Mihailova, I. K., Nikolov, V. S., Mehandjiev, D. R.** (2012). Adsorption Capacity of Modified Metallurgical Slag, Proceedings of the 3. National Crystallographic Symposium, (pp.30-36). Bulgaria.
- [79] **Najda, J., Gmiński, J., Drózdź, M.** (1993). The Action of Excessive, Inorganic Silicon (Si) on the Mineral Metabolism of Calcium (Ca) and Magnesium (Mg). *Biological Trace Element Research*,37 (2-3), 107-114.
- [80] **LeVier, R. R.** (1975). Distribution of Silicon in the Adult Rat and Rhesus Monkey. *Bioinorganic Chemistry*,4 (2), 109-115.
- [81] **Seaborn, C. D., & Nielsen, F. H.** (2002). Dietary Silicon and Arginine Affect Mineral Element Composition of Rat Femur and Vertebra. *Biological Trace Element Research*,89 (3), 239-250.
- [82] **Seaborn, C. D., & Nielsen, F. H.** (1994). Effects of Germanium and Silicon on Bone Mineralization. *Biological Trace Element Research*,42 (2), 151-164.
- [83] **Seaborn, C. D. & Nielsen, F. H.** (2002). Silicon Deprivation Decreases Collagen Formation in Wounds and Bone and Ornithine Transaminase Enzyme Activity in Liver. *Biological trace element research*,89 (3), 251-261.
- [84] **Reiser, K. M. & Last, J. A.** (1986). Collagen Crosslinking in Lungs of Rats with Experimental Silicosis. *Collagen and Related Research*,6 (4), 313-324.
- [85] **Reffitt, D. M., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H. F. J., Evans, B. A. J., Thompson, R. P. H., Hampson, G. N.** (2003). Orthosilicic Acid Stimulates Collagen Type 1 Synthesis and Osteoblastic Differentiation in Human Osteoblast-Like Cells in Vitro. *Bone*,32 (2), 127-135.
- [86] **Hott, M., Pollak, C., Modrowski, D., Marie, P. J.** (1993). Short-Term Effects of Organic Silicon on Trabecular Bone in Mature Ovariectomized Rats. *Calcified tissue international*,53 (3), 174-179.
- [87] **Carlisle, E. M.** (1972). Silicon: An Essential Element for the Chick. *Science*,178 (4061), 619-621.
- [88] **Kim, S. R., Lee, J. H., Kim, Y. T., Riu, D. H., Jung, S. J., Lee, Y. J., Kim, Y. H.** (2003). Synthesis of Si, Mg Substituted Hydroxyapatites and Their Sintering Behaviors. *Biomaterials*,24 (8), 1389-1398.
- [89] **Di Mario, C., Griffiths, H. U. W., Goktekin, O., Peeters, N., Verbist, J. A. N., Bosiers, M., Ilsley, C.** (2004). Drug-Eluting Bioabsorbable Magnesium Stent. *Journal of Interventional Cardiology*,17 (6), 391-395.

- [90] **Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D., Hench, L. L., Polak, J. M.** (2000). Ionic Products of Bioactive Glass Dissolution Increase Proliferation of Human Osteoblasts and Induce Insulin-Like Growth Factor II mRNA Expression and Protein Synthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276 (2), 461-465.
- [91] **Wu, C., Chang, J., Zhai, W., Ni, S., Wang, J.** (2006). Porous Akermanite Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Preparation, Characterization and in Vitro Studies. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials*, 78 (1), 47-55.
- [92] **Xia, L., Yin, Z., Mao, L., Wang, X., Liu, J., Jiang, X., Fang, B.** (2016). Akermanite Bioceramics Promote Osteogenesis, Angiogenesis and Suppress Osteoclastogenesis for Osteoporotic Bone Regeneration. *Scientific Reports*, 6, 22005.
- [93] **Choudhary, R., Koppala, S., Swamiappan, S.** (2015). Bioactivity Studies of Calcium Magnesium Silicate Prepared from Eggshell Waste by Sol-gel Combustion Synthesis. *Journal of Asian Ceramic Societies*, 3 (2), 173-177.
- [94] **Hou, X., Yin, G., Chen, X., Liao, X., Yao, Y., & Huang, Z.** (2011). Effect of Akermanite Morphology on Precipitation of Bone-Like Apatite. *Applied Surface Science*, 257 (8), 3417-3422.
- [95] **Wu, C. & Chang, J.** (2004). Synthesis and Apatite-Formation Ability of Akermanite. *Materials Letters*, 58 (19), 2415-2417.
- [96] **Wu, C., Zhang, M., Zhai, D., Yu, J., Liu, Y., Zhu, H., Chang, J.** (2013). Containerless Processing for Preparation of Akermanite Bioceramic Spheres with Homogeneous Structure, Tailored Bioactivity and Degradation. *Journal of Materials Chemistry B*, 1 (7), 1019-1026.
- [97] **Gupta A.K.** (2015). *Mellilite and Leucite Bearing Systems - In Origin Potassium-rich Silica-deficient Igneous Rocks*. Springer. New Delhi.
- [98] **Sun, H., Wu, C., Dai, K., Chang, J., Tang, T.** (2006). Proliferation and Osteoblastic Differentiation of Human Bone Marrow-Derived Stromal Cells on Akermanite-Bioactive Ceramics. *Biomaterials*, 27 (33), 5651-5657.
- [99] **Liu, Q., Cen, L., Yin, S., Chen, L., Liu, G., Chang, J., Cui, L.** (2008). A Comparative Study of Proliferation and Osteogenic Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells on Akermanite and β -TCP Ceramics. *Biomaterials*, 29 (36), 4792-4799.
- [100] **Banfield, J. F., Veblen, D. R., Smith, D. J.** (1991). The Identification of Naturally Occurring TiO_2 (B) by Structure Determination using High-Resolution Electron Microscopy, Image Simulation and Distance-Least-Squares Refinement. *American Mineralogist*, 76 (3-4), 343-353.
- [101] **Linsebigler, A. L., Lu, G., Yates Jr, J. T.** (1995). Photocatalysis on TiO_2 Surfaces: Principles, Mechanisms and Selected Results. *Chemical reviews*, 95 (3), 735-758.
- [102] **Hanaor, D. A. & Sorrell, C. C.** (2011). Review of the Anatase to Rutile Phase Transformation. *Journal of Materials science*, 46 (4), 855-874.

- [103] **Canan, C.** (2012). *Titanya (TiO₂) Metal Oksit Nano Malzemeler* (Yüksek Lisans Tezi). Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- [104] **Koparde, V. N. & Cummings, P. T.** (2008). Phase Transformations during Sintering of Titania Nanoparticles. *ACS nano*,2 (8), 1620-1624.
- [105] **Janzeer, Y.** (2013). *Surface Modification of Titanium and Titanium Alloys to Enhance Bone Healing*. (Doktora Tezi). Dental Schools of Guy's and St. Thomas' Hospitals, London.
- [106] **Billik, P. & Plesch, G.** (2007). Mechanochemical Synthesis of Anatase and Rutile Nanopowders from TiOSO₄. *Materials Letters*,61 (4-5), 1183-1186..
- [107] **Thamaphat, K., Limsuwan, P., Ngotawornchai, B.** (2008). Phase Characterization of TiO₂ Powder by XRD and TEM. *Kasetsart J. Nat. Sci.*,42 (5), 357-361.
- [108] **Khalil, K. A., Kim, S. W., Kim, K. W., Dharmaraj, N., Kim, H. Y.** (2011). A Novel Bio-Nanocomposites Composed of Hydroxyapatite Reinforced with TiO₂ Electrospun Nanofiber Consolidated Using High-Frequency Induction Heating. *International Journal of Applied Ceramic Technology*,8 (3), 523-531.
- [109] **Kailasanathan, C. & Selvakumar, N.** (2012). Comparative Study of Hydroxyapatite/Gelatin Composites Reinforced with Bio-Inert Ceramic Particles. *Ceramics International*,38 (5), 3569-3582.
- [110] **Seeley, Z., Bandyopadhyay, A., Bose, S.** (2007). Influence of TiO₂ and Ag₂O Addition on Tricalcium Phosphate Ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*,82 (1), 113-121.
- [111] **Kasuga, T., Kondo, H., Nogami, M.** (2002). Apatite Formation on TiO₂ in Simulated Body Fluid. *Journal of Crystal Growth*,235 (1-4), 235-240.
- [112] **Evcin, A.** (2016). *İleri Sol Jel Prosesleri Ders Notu*. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Afyonkarahisar.
- [113] **Siouffi, A. M.** (2003). Silica Gel-Based Monoliths Prepared by the Sol–Gel Method: facts and figures. *Journal of Chromatography A*,1000 (1-2), 801-818.
- [114] **Evcin, A. & Demişulam, C.** Sol-jel Yöntemiyle Düşük Ergime Sıcaklıklı Sır Üretimi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*,9 (3), 239-244.
- [115] **Toygun, Ş., Köneçoğlu, G., Kalpaklı, Y.** (2013). General Principles of Sol-gel. *Sigma: Journal of Engineering & Natural Sciences Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*,31 (4), 456-476.
- [116] **Dilsiz, N. & Akovalı, G.** (2002). Study of Sol–gel Processing for Fabrication of Low Density Alumina Microspheres. *Materials Science and Engineering: A*,332 (1-2), 91-96.
- [117] **Maruszewski, K., Stręk, W., Jasiorski, M., Ucyk, A.** (2003). Technology and Applications of Sol-gel Materials. *Radiation Effects and Defects in Solids*,158 (1-6), 439-450.
- [118] **Varol, T.** (2017). Mekanik Öğütme Yöntemi ile Üretilen Mikronaltı Al₂O₃ Seramik Parçacıklarının Fiziksel Özellikleri Üzerine Öğütme Zamanı, Öğütme Hızı ve Bilye Toz Ağırlık Oranının Etkisi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*,24 (4), 635-642.

- [119] **Aysin, B.** (2012). *Photocatalytic Properties of Silver Loaded Titanium Dioxide Powders Produced by Mechanical Ball Milling*. (Doktora Tezi). Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [120] **Suryanarayana, C.** (2001). Mechanical Alloying and Milling. *Progress in Materials Science*,46 (1-2), 1-184.
- [121] **Duman, Ş.** (2009). *Püskürtmeli Kurutma Tekniği ile Zno-Pva Kompozit Tozlarının Hazırlanması ve Bu Tozların Yüksek Sıcaklık Davranışlarının Etüdü*. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [122] **Lukasiewicz, S.** (1991). *Granulation and Spray Drying*. ASM International, 4, 100-108.
- [123] **Kim, D. J. & Jung, J. Y.** (2007). Granule Performance of Zirconia/Alumina Composite Powders Spray-Dried using Polyvinyl Pyrrolidone Binder. *Journal of the European Ceramic Society*,27 (10), 3177-3182.
- [124] **Masters, K.** (1991). *Spray Drying Handbook, Fifth Edition*, Longman Scientific and Technical, Denmark.
- [125] **Poudeh, L. H.** (2014). *High Energy Milling and Spray Drying Characteristics of MoO₃, Cr₂O₃ and WO₃ Powders*. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [126] **Jr Walker, W. J., Reed, J. S., Verma, S. K.** (1999). Influence of Slurry Parameters on the Characteristics of Spray-Dried Granules. *Journal of the American Ceramic Society*,82 (7), 1711-1719.
- [127] **Okuyama, K. & Lenggoro, I. W.** (2003). Preparation of Nanoparticles via Spray Route. *Chemical engineering science*,58 (3-6), 537-547.
- [128] **Byrappa, K. & Yoshimura, M.** (2001). *A Technology for Crystal Growth and Materials Processing*. Niersity of Mysore Manasagangotri, India, Apparatus, 82-160.
- [129] **Byrappa, K. & Yoshimura, M.** (2012). *Handbook of Hydrothermal technology*. William Andrew.
- [130] **Schubert, U. & Hüsing, N.** (2019). *Synthesis of Inorganic Materials*. John Wiley & Sons.
- [131] **Ergun, R. S.** (2018). *Investigating the Hydrothermal Process Parameters' Effect on the MxOy (M: Ni, Mn, Co) Powder Properties and Evaluating Their Performances When Used as Anodes for Lithium Ion Batteries*. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [132] **Kang, S. J. L.** (2004). *Sintering: Densification, Grain Growth and Microstructure*. Elsevier.
- [133] **Avcıoğlu, C.** (2014). *Püskürtmeli Kurutma Yöntemi İle Pva Katkılı TiO₂ Tozlarının Granülasyonu Ve Sinterlenmiş Numunelerin Karakterizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [134] **Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A. M., Chiellini, E.** (2010). Polymeric Materials for Bone and Cartilage Repair. *Progress in Polymer Science*,35 (4), 403-440.

- [135] **Liu, X. & Ma, P. X.** (2004). Polymeric Scaffolds for Bone Tissue engineering. *Annals of Biomedical Engineering*,32 (3), 477-486.
- [136] **O'Brien, F. J., Harley, B. A., Yannas, I. V., Gibson, L. J.** (2005). The Effect of Pore Size on Cell Adhesion in Collagen-GAG Scaffolds. *Biomaterials*,26 (4), 433-441.
- [137] **Lam, C. X. F., Mo, X. M., Teoh, S. H., Hutmacher, D. W.** (2002). Scaffold Development using 3D Printing with A Starch-Based Polymer. *Materials Science and Engineering: C*,20 (1-2), 49-56.
- [138] **Zhang, X. & Zhang, Y.** (2015). Tissue Engineering Applications of Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Biochemistry and Biophysics*,72 (3), 777-782.
- [139] **Mandrycky, C., Wang, Z., Kim, K., Kim, D. H.** (2016). 3D Bioprinting for Engineering Complex Tissues. *Biotechnology advances*,34 (4), 422-434.
- [140] **Irmak, G.** (2019). *3 Boyutlu Yazıcı ile Metakrilatlanmış Jelatin/PRP Hidrojel ve Mezenkimal Kök Hücre İçeren Osteokondral Gradyan Sistemlerin Hazırlanması ve in-Vitro Etkinliklerinin Belirlenmesi.* (Doktora Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [141] **Altun, E., Ekren, N., Kuruca, S. E., Gunduz, O.** (2019). Cell studies on Electrohydrodynamic (EHD) 3D Bioprinted Bacterial Cellulose/ Polycaprolactone Scaffolds for Tissue Engineering. *Materials Letters*,234, 163-167.
- [142] **Jalota, S., Bhaduri, S. B., Tas, A. C.** (2006). Effect of Carbonate Content and Buffer Type on Calcium Phosphate Formation in SBF Solutions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*,17 (8), 697-707.
- [143] **Takadama, H. and Kokubo, T.** (2008). *In Vitro Evaluation of Bone Bioactivity in Bioceramics and Their Clinical Applications.* Elsevier, 165-182.
- [144] **Jalota, S., Bhaduri, S. B., Tas, A. C.** (2007). Osteoblast Proliferation on Neat and Apatite Like Calcium Phosphate Coated Titanium Foam Scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*,27 (3), 432-440.
- [145] **Kokubo, T. & Takadama, H.** (2006). How Useful is SBF in Predicting in Vivo Bone Bioactivity?. *Biomaterials*,27 (15), 2907-2915.
- [146] **Tas, A. C. & Bhaduri, S. B.** (2004). Rapid Coating of Ti₆Al₄V at Room Temperature with a Calcium Phosphate Solution Similar to 10× Simulated Body Fluid. *Journal of Materials Research*,19 (9), 2742-2749.
- [147] **Mavis, B., Demirtaş, T. T., Gümüşderelioğlu, M., Gündüz, G., Çolak, Ü.** (2009). Synthesis, Characterization and Osteoblastic Activity of Polycaprolactone Nanofibers Coated with Biomimetic Calcium Phosphate. *Acta biomaterialia*,5 (8), 3098-3111.
- [148] **Shannon, R. D. & Pask, J. A.** (1965). Kinetics of the Anatase-Rutile Transformation. *Journal of the American Ceramic Society*,48 (8), 391-398.
- [149] **Juang, H. Y., & Hon, M. H.** (1996). Effect of calcination on sintering of hydroxyapatite. *Biomaterials*, 17 (21), 2059-2064.
- [150] **Karamian, E., Abdellahi, M., Gheisari, H.** (2015). Fluorine-Substituted HA Reinforced with Zircon as A Novel Nano-Biocomposite Ceramic: Preparation

and Characterization. *International Journal of Materials Research*,106 (12), 1285-1290.

- [151] **Ghorbanian, L., Emadi, R., Razavi, M., Shin, H., Teimouri, A.** (2012). Synthesis and Characterization of Novel Nano Diopside Bioceramic Powder. *Journal of Nanostructures*,2 (3), 357-361.
- [152] **Wang, C. C. & Ying, J. Y.** (1999). Sol-gel Synthesis and Hydrothermal Processing of Anatase and Rutile Titania Nanocrystals. *Chemistry of Materials*,11 (11), 3113-3120.
- [153] **Zhang, J., Nie, J., Zhang, Q., Li, Y., Wang, Z., Hu, Q.** (2014). Preparation and characterization of bionic bone structure chitosan/hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 25 (1), 61-74.



ÖZGEÇMİŞ



Ad-Soyad : Büşra BULUT
Doğum Tarihi ve Yeri : 13.01.1993 / BURSA
E-posta : mbusrabulut@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, Karabük Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği (%100 ing.)

DİĞER ESERLER, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Tezel, Meydaneri, F., Varlık, E., Engin, B., **Bulut, B.**, Özbay, O., Influence of Heat Treatment on Thermal Mechanical and Microstructural Characterization of Al based Mg-Al-Sb Eutectic Alloy, International Conference on Engineering Technology and Innovation (ICETI)'2017, 22-26 March 2017 – Sarajevo – Bosnia and Herzegovina. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)
- **Bulut, B.**, Duman, Ş. (2019). Production and Characterization of PVP Doped Akermanite Powders. The Porous and Powder Materials Symposium and Exhibitions, PPM 2019, 09-11 October 2019 – Marmaris – Turkey. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
- **Bulut, B.**, Duman, Ş. (2019). Ni Katkılı Karbon Kaplı TiO₂ Nanopartiküllerin Yapısal, Optik ve Fotokatalitik Özellikleri, X. Uluslararası Katılımlı Seramik Kongresi, 14-16 Ekim 2019 – Afyon – Türkiye. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)
- Parın, F. N, **Bulut, B.**, Borand, G., Duman, Ş., Uzunsoy, D., Yıldırım, K. (2019). Characterization and Production of Mn Doped TiO₂ Nanofibers via Electrospinning Method. International Materials Technologies and Metallurgy Conference 2019 (MTM 2019), 31 October – 1 November 2019 – İstanbul – Turkey. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)