

Dikalsiyum Silikat–Nişasta Biyokompozit Elyafların Üretim ve Karakterizasyonu

Mehmet Okan ERDAL¹, Gülsüm AYDIN²

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Meslek Yüksekokulu, Konya.

²Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya.

moerdal@erbakan.edu.tr ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4469-3438>

gkalemtas@gmail.com ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3868-8563>

Geliş Tarihi: 08.09.2019; Kabul Tarihi: 15.09.2019

Öz

Bu çalışmada gümüş asetat takviyeli Ca₂SiO₄ nişasta biyokompozit elyafların üretim ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Nişasta biyobozunur, biyouyumlu, yenilenebilir, kolaylıkla temin edilebilen ve ekonomik bir yarı kristalin doğal polimerdir. Nişasta esaslı biyokompozitler kemikle ilgili terapi uygulamalarında, doku iskelesi uygulamalarında ve kemik çimentosu uygulamalarında kullanım imkanı bulmaktadır. Çalışmada kullanılacak olan dikalsiyum silikat yumurta kabuğu ve silikanın katı hal sinterlemesi yöntemiyle 1200°C'de 1,5 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Elyaf üretiminde kullanımını kolaylaştırmak ve yüzey alanını arttırmak amacıyla sentezlenen dikalsiyum silikat aksel değirmende öğütme işlemine tabi tutulmuştur. Dikalsiyum silikat katkılı nişasta elyaf üretimi elektro-eğirme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Kompozit elyaf üretim sürecinde nişasta/DMSO oranı, dikalsiyum silikat derişimi, uygulanan voltaj, elyaf çekim mesafesi ve elyaf ilerleme hızı süreç değişkenlerinin önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Üretilen kompozit elyafların mikroyapısı taramalı elektron mikroskopuyla (SEM), faz analizi x-ışını kırınım (XRD) yöntemiyle ve yapısal karakterizasyon çalışmaları Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ~0,1–10,0 µm çapında biyokompozit elyaf elde edilmiştir. Üretilen seramik–polimer biyokompozit elyafların *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler

Biyokompozit elyaf;
Dikalsiyum Silikat;
Nişasta Elyaf;
Elektro–Eğirme.

Production and Characterization of Dicalcium Silicate–Starch Biocomposite Fibers

Abstract

In this study, production and characterization of silver acetate and Ca₂SiO₄ reinforced starch biocomposite fibers were performed. Starch is a biodegradable, biocompatible, renewable, readily available and economical semi-crystalline natural polymer. Starch-based biocomposites are available for many applications such as bone-related therapy, tissue scaffold, and bone cement applications. Dicalcium silicate ceramic synthesis was carried out via solid state sintering method. Eggshell and silica were used as starting materials and sintering was done at 1200°C for 1.5 hours. In order to facilitate its application in fiber production and to increase the surface area, synthesized dicalcium silicate was milled in planetary ball mill. Dicalcium silicate reinforced starch fiber production was carried out by electro-spinning method. It was determined that the important fiber production parameters were starch/DMSO ratio, dicalcium silicate concentration, shooting distance, applied voltage and feeding rate. Microstructure of the composite fibers were investigated by scanning electron microscopy (SEM), phase analysis by X-ray diffraction method (XRD), and structural characterization studies were carried out by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. In this study, biocomposite fibers with an average diameter of ~0,1–10,0 µm were achieved. The ceramic–polymer biocomposite fibers exhibited antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Keywords

Biocomposite fiber;
Dicalcium Silicate;
Starch Fiber;
Electro–Spinning.

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

1. Giriş

Özellikle geçtiğimiz son 40 yılda biyoaktif seramikler ve bu seramiklerin biyomalzeme olarak kullanımı üzerinde oldukça yoğun araştırmalar yapılmaktadır. (Gou, Chang, Zhai, & Wang, 2005b; Hajiali, Tajbakhsh, & Shojaei, 2018; Hoppe, Güldal, & Boccaccini, 2011; Nour et al., 2019; Rabiee, Nazparvar, Azizian, Vashae, & Tayebi, 2015; Sanmartin de Almeida, Fernandes, de Oliveira, & Granjeiro, 2018; Siqueira et al., 2019; Thamaraiselvi & Rajeswari, 2004; Wu & Chang, 2013) Bu alanda hidroksiapatit seramiklerin özellikle ön plana çıktığı görülmektedir. Ancak hidroksiapatit düşük bir kırılma tokluğuna sahip olduğu için klinik uygulamalarda tek başına kullanımı sınırlı kalmaktadır. Son yıllarda özellikle mükemmel biyoaktiviteye sahip olan ve farklı mekanik özellikler sergileyebilen biyoaktif camlar ve kalsiyum silikat seramikler gibi $CaO-SiO_2$ içeren biyoaktif inorganik malzemelere olan ilgi önemli ölçüde artmıştır. Son dönemlerde gerçekleştirilen bilimsel çalışmalar Portland çimentosu, refrakter uygulamaları ve ısıya dayanıklı kaplamalar gibi pek çok farklı uygulamada kullanım imkanı olan dikalsiyum silikat seramiklerin (Ca_2SiO_4) biyoaktif ve biyouyumlu bir biyomalzeme olarak kullanım imkanı olduğunu, canlı kemik ve yumuşak dokuya bağlandığını ortaya koymuştur. (Gou & Chang, 2004; Gou, Chang, & Zhai, 2005a; Gou et al., 2005b; Jansen, Wei, Dorfman, Peters, & Nagy, 2002; Liu, Tao, & Ding, 2002; Sasaki, Ishida, Okada, & Mitsuda, 1993; Vogan, Hsu, & Stetson, 1981) Dikalsiyum silikat seramiklerin sert doku onarımı, kemik/diş onarımı için enjekte edilebilir implant malzemesi, metal biyomalzemelerin yüzeyi için kaplama uygulamaları ve biyomedikal uygulamalar için inorganik çimento uygulamaları gibi farklı biyolojik uygulamalarda kullanım potansiyeli bulunmaktadır. (Chen et al., 2016; Hughes, Yanni, Jamshidi, & Grover, 2015; Sun et al., 2016) Ancak dikalsiyum silikat seramiklerin gösterdiği zayıf hidrasyon aktivitesi uygulama alanlarını sınırlayan önemli bir özelliktir. (Okada, Ishida, Sasaki, Young, & Mitsuda, 1994)

Seramik malzemelerin çok daha geniş bir uygulama alanında tek başlarına kullanımlarını sınırlayıcı en

önemli yanlarından biri düşük tokluğa sahip olmalarıdır. Ancak kompozit yaklaşımıyla farklı malzemeler ile birlikte kullanılarak seramiklerin özelliklerini geliştirmek mümkündür. Bu çalışmada da dikalsiyum biyoseramik malzemesiyle nişasta polimeri birlikte kullanılarak elyaf formunda kompozit malzemelerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Nişasta, yeryüzünde bulunan en bol, kolay elde edilebilen ve ekonomik polimerlerden biridir. Ayrıca sentetik polimerlere göre hidrofilik özellik, biyouyumluluk, biyo-bozunabilirlik, biyo-emilebilirlik gibi pek çok önemli fonksiyonel avantaja sahiptir. Kapsülleme amaçlı umut verici bir malzeme olarak da değerlendirilmekte olan nişasta (Shimoni, 2008) aynı zamanda lif yapısını da oluşturabilmektedir. Yakın zamanlarda literatürde nişasta elyaf üretimine yönelik çok sayıda çalışma yapılmakta olduğu görülmektedir. (Hemamalini & Giri Dev, 2018; Hietala, Mathew, & Oksman, 2013; Liu, Gu, Hong, Cheng, & Li, 2017) Ancak nişastayla birlikte farklı malzemelerin kullanımıyla hedeflenen özelliklere sahip kompozit nişasta lifleri üretmek o kadar da kolay bir süreç değildir. Çoğu zaman nişastayla birlikte maliyeti artıracak farklı polimerlerin de kullanımı, plastikleştiriciler veya çapraz bağlayıcılar gibi farklı ilavelerin kullanılması ve bu malzemelerin doğru şekilde kullanılabilmesi için proses koşullarının optimize edilmesi gerekir. Bu durum da çoğunlukla zahmetli ve uzun soluklu bir çalışmayı beraberinde getirebilmektedir.

Dikalsiyum silikat seramiklerin sentezlenmesi için sol-jel (Doval, Palou, & Mojumdar, 2006; Gou & Chang, 2004), hidrotermal sentez (Gou & Chang, 2004), kimyasal çöktürme ve Pechini prosesi (Hong & Young, 1999) gibi farklı teknikler kullanılabilir. Bu çalışmada ise pahalı başlangıç malzemeleri kullanılarak toz sentezi yerine, tavuk yumurtası kabuğu ve silikanın yüksek sıcaklıkta reaksiyonu ile dikalsiyum silikat seramik sentezi gerçekleştirilmiştir. Böylece düşük maliyete sahip başlangıç malzemeleri kullanılarak yüksek katma değere sahip bir biyomalzeme üretimi hedeflenmiştir.

Yumurta kabuğunun ağırlığı yumurtanın toplam ağırlığının yaklaşık olarak %11'i kadardır. Yumurtanın Dünya çapında en fazla tüketilen gıdalardan biri olduğu düşünülünce ortaya çıkmakta olan atık yumurta kabuğu miktarının da çok büyük miktarlarda olacağı açıkça anlaşılmaktadır. Ne yazık ki yumurta kabukları önemli ölçüde değerlendirilememekte ve çevre açısından sakıncalı bir atık olarak görülmektedir. Oysa ki, yumurta kabuğu ~%94 oranında kalsiyum karbonat, ~%4 oranında organikler, ~%1 magnezyum karbonat ve ~%1 kalsiyum fosfat ve az miktarda da çözünmez proteinler içermektedir. (Li-Chan & Kim, 2008; Rivera et al., 1999) Bu bileşimi sayesinde yumurta kabukları önemli bir kalsiyum kaynağı iken; günümüzde büyük oranda yararsız olarak kabul edilen bir tarımsal atık olup, ayrıca çevreyi kirletici etkisi de bulunmaktadır. Ancak gerçekleştirilen bu çalışmada yumurta kabukları yüksek kalsiyum karbonat içeriği dolayısıyla, dikalsiyum silikat sentezinde kalsiyum kaynağı olarak değerlendirilmiştir. Böylece hem çevre kirliliğinin azaltılmasına katkı sağlanması, hem de tarımsal bir atığın katma değeri yüksek bir ürüne dönüştürülmesi hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1 Dikalsiyum silikat sentez ve karakterizasyonu

Toz sentezinde kullanılacak olan atık yumurta kabukları yerel bir işletmeden temin edilmiş ve temizleme işlemi için distile su kullanılmıştır. Atık yumurta kabukları üzerindeki kirlilikler bir fırça yardımıyla mekanik olarak temizlenmiştir. Temizleme işlemi sonrası yumurta kabuklarından zar kısmı ayrılmış ve kabukların tekrar distile suyla yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Temizleme işlemi tamamlanan atık yumurta kabukları etüvde 100°C'de 48 saat süreyle kurutulmuştur. Kurutma sonrası yumurta kabukları agat havan içerisinde elle öğütülerek toz haline getirildikten sonra larnite (Ca_2SiO_4) sentezinde kullanılmıştır.

Larnite sentezi için belirlenen toz bileşimi (Çizelge 1) aksenel değirmende 300 devir/dakika hızla 45 dakika süreyle, sulu ortamda öğütmeye tabi tutulmuştur. Kullanılan toz bileşimi:su oranı ağırlıkça 1:2 olacak şekilde seçilmiştir. Öğütme sonrası hazırlanan karışım etüvde kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Larnite sentezi 10°C/dakika ısıtma ve soğutma hızı

uygulanarak, 1200°C'de 1,5 saat bekleme süresiyle alümina altlık içerisinde ve atmosfer koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Larnite sentezi için kullanılan bileşim

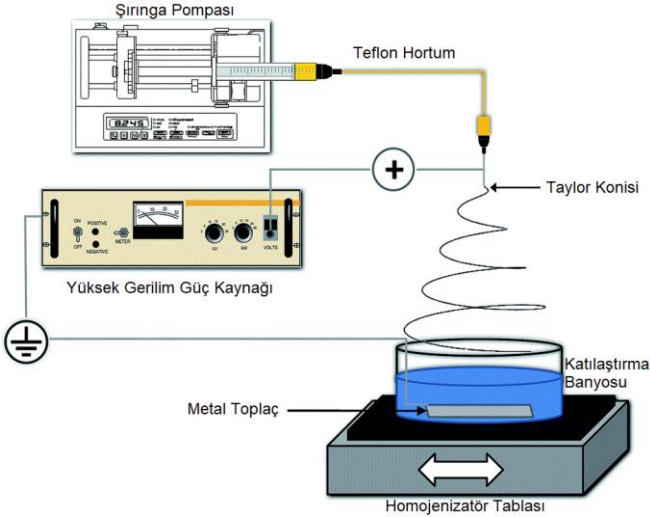
Yumurta kabuğu, ağ. %	Silika, ağ. %
77,27	22,73

Yumurta kabuğu ve silika kullanılarak yüksek sıcaklıkta sentezlenen seramik tozlar nişasta kompozit elyaf üretiminde kullanılmadan önce aksenel değirmende 300 devir/dakika hızla 45 dakika süreyle yaş öğütmeye tabi tutulmuştur. Ardından da 100 °C'de 48 saat süreyle kurutma işlemi uygulanmıştır.

Sentezlenen seramiğin faz analizi Bruker marka D8 model XRD cihazı ile Cu-K α radyasyonu ($\lambda=1.5406\text{\AA}$) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen seramik fazın morfoloji ve tane boyutu ise Hitachi marka SU1510 model taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.2 Elyaf üretim ve karakterizasyonu

Bu çalışmada, gümüş asetat + kalsiyum silikat katkı nişasta elyaf elektro-eğirme yöntemi ile üretilmiştir. Elektro-eğirme yöntemi, polimer çözeltilerinin veya eriyiklerinin nano boyutta elyaf üretimi için elektrik alanını kullanan bir üretim yöntemidir. Elektro-eğirme yönteminin temelinde dört bileşen vardır; (i) yüksek gerilim güç kaynağı, (ii) polimer çözeltisinin bulunduğu şırınga, (iii) mikro şırınga pompası ve (iv) metal malzemedeki yapılmış bir toplaç (Şekil 1). Elyaf elde edilecek polimer çözeltisi önce şırıngaya alınır ve mikro pompaya yerleştirilir. Bu çözelti güç kaynağından gelen metal elektrot ile temas halindedir. Pompa belirlenen akış hızına ayarlanır ve çalıştırılır. Yüksek voltaj kaynağı açılır. Metal toplaç ile şırınga ucundaki iğne arasına uygulanan yüksek voltaj kritik değere ulaştığında, iğnenin ucunda asılı bir damlacık olarak duran çözelti, jet biçiminde ve elektriksel olarak yüklenmiş olarak toplaca doğru hareket etmeye başlar. Damlacık üzerine uygulanan doğru akım gerilim değeri yüzey gerilim kuvvetlerini yenebilecek değere ulaştığında, polimer nano-lifler şeklinde tüpün ucundan toplaç üzerine ulaşır. (Uslu, 2010)



Şekil 1. Islak elektro-eğirme cihazına ait şematik gösterim (Zheng et al., 2014)

Elektro-eğirme yöntemi, uçucu çözücüler içinde çözülmüş çeşitli polimerlerden mikro ve nano boyutlu elyaflar hazırlamak için kullanılan çok yönlü bir işlemdir. Ancak oda sıcaklığında kolayca buharlaşamayan iyonik çözücülerde çözülmüş polimerler için ıslak elektro-eğirme adı verilen bir yöntemde, elyaf toplamak için kullanılan katılaştırma banyosu başarılı bir üretim çözümü sunmaktadır. (Zheng et al., 2014)

Bu çalışmada; ağırlıkça %7,5 mısır nişastası/DMSO solüsyonu, 10 kV elektrik alan şiddeti, 7 cm toplaç mesafesi, 4 ml/h şırınga besleme hızı ve bir ekseninde gelgit hareketi yapan ve katılaştırma banyo sıvısı olarak etanolün bulunduğu petri kabı ıslak toplaç olarak kullanılmıştır. Katkisız, gümüş asetat katkılı, dikalsiyum silikat katkılı ve gümüş asetat + dikalsiyum silikat katkılı olmak üzere toplam dört farklı numune hazırlanmıştır. Katkılı numuneler için nişasta miktarının ağırlıkça %20'si oranında dikalsiyum silikat + gümüş asetat kullanılmıştır. Deneysel çalışma normal atmosferik ortamda oda sıcaklığı ve nem koşullarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen elyaflar vakumlu filtre sisteminden geçirildikten sonra etanol ile yıkanmış, sonrasında ise 70°C'de vakumlu etüvde 2 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işleminden sonra 40 °C'deki vakumlu etüv içerisinde, 24 saat süreyle glutaraldehit buharında bekletilmiştir. Bu işlem elyafların çapraz bağlar oluşturarak ıslak ortamlarda daha dayanıklı olmasını sağlamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Üretilen elyaflardan glutaraldehit

kalıntılarının uzaklaşması için oda sıcaklığında atmosferik ortamda 24 saat bekletildikten sonra bakteri kültürüne alınmıştır.

Elektro-eğirme yöntemi ile üretilen elyafın morfoloji ve tane boyutu Hitachi marka SU1510 model taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Numunelerin Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FTIR) analizleri ise Thermo Scientific marka Nicolet iS5 model spektroskopi cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Elyafın FTIR incelemeleri 500–4000 cm^{-1} dalga boyları arasında gerçekleştirilmiştir.

2.3 Antibakteriyel aktivite testi

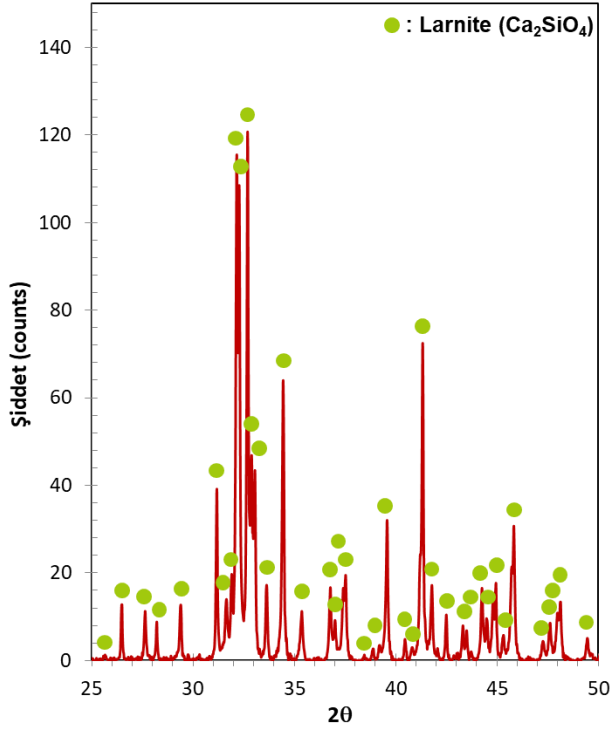
Elektro-eğirme yöntemi ile hazırlanmış elyaf 5 mg ağırlığında tartılmış ve UV ışık altında 60 dk bekletilerek sterilize edilmiştir. Kullanılacak olan bakteri kültürünün hazırlanması amacıyla Nutrient broth besiyerine tek bir *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) kolonisi inoküle edilerek 37°C'de çalkalamalı olarak 16 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen bakteri kültürü Nutrient Broth besiyeri kullanılarak 10^8 kob/ml olacak şekilde seyreltilmiştir. Hazırlanmış olan elyaf örneklerinin üzerine seyreltilmiş *S. aureus* kültüründen 1 ml ilave edilmiş ve 5 saat süreyle 37°C'de 250 devir/dakika hızda inkübe edilmiştir. Elyaf örneğinin ilave edilmediği bir bakteri kültürü hazırlanarak aynı şekilde inkübe edilmiş ve kontrol olarak kullanılmıştır. İnkübasyon süresi tamamlandığında bakteri kültürlerinden yüzer μl örnek alınarak Nutrient Agar içeren petri kaplarına yayma yöntemiyle ekim yapılmış ve 37°C'de 16 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra her bir petride üreyen bakteri miktarı kontrol ile karşılaştırılarak, üretilmiş olan elyafın bakterilerin büyümesine etkisi değerlendirilmiştir.

3. Bulgular

3.1 Faz Analizi

Yumurta kabukları ve silika kullanılarak 1200 °C'de 90 dakika süreyle ısıl işleme tabi tutularak sentezlenen biyoseramiğe ait XRD analiz sonucu Şekil 2'de sunulmaktadır. Gerçekleştirilen faz analizi sonucunda yapıda sadece larnite (Ca_2SiO_4) fazının bulunduğu belirlenmiştir. Elde edilmiş olan XRD paterninde piklerin oldukça keskin olduğu ve çekimde gürültü oranının da oldukça düşük olduğu saptanmıştır.

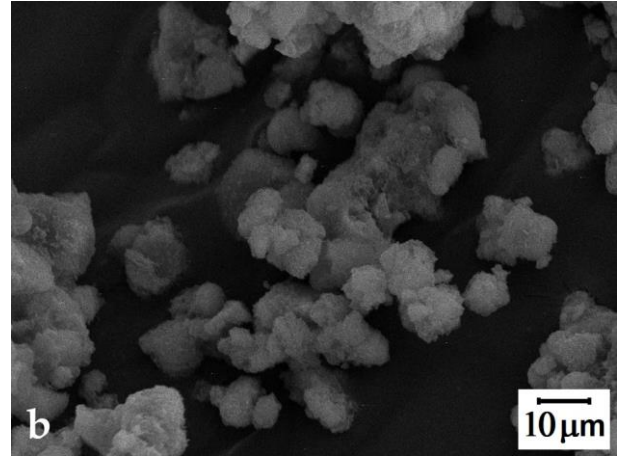
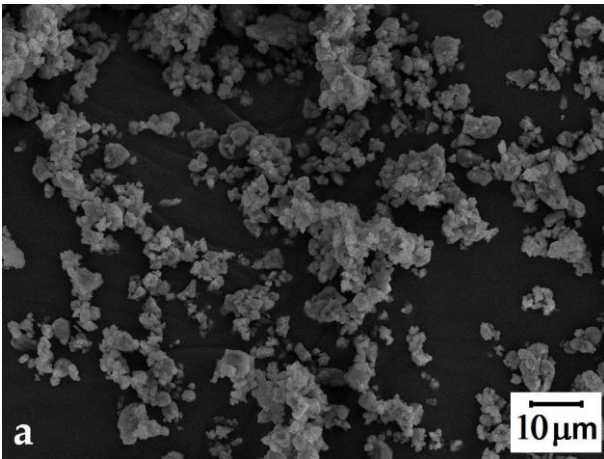
Böylece sentezlenen larnite seramiğinde önemli bir oranda amorf fazın bulunmadığı anlaşılmıştır.



Şekil 2. Sentezlenen biyoseramiğe ait XRD analiz sonucu

3.2 İçyapı Analizi

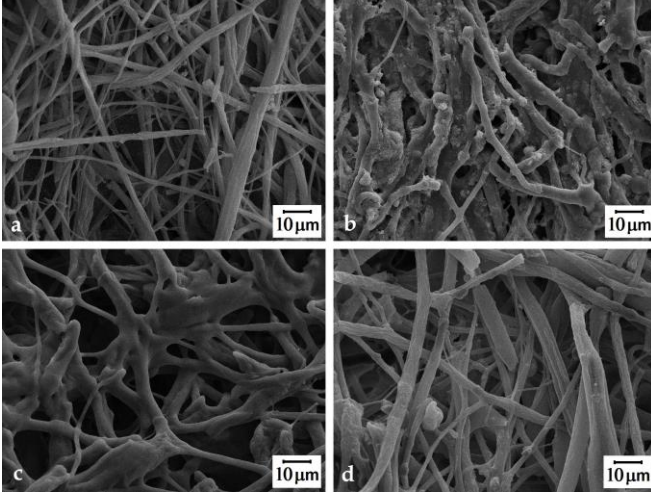
Sentezlenen larnite (Ca₂SiO₄) seramik tozuna ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 3'te sunulmaktadır. SEM görüntülerinden görüldüğü üzere sentezlenen larnite seramiğinin tane boyutu oldukça incedir. Ancak sentezlenen fazın tane boyutu ince olduğu için tozda ~1–5 µm boyutlarında aglomerasyon olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Sentezlenen larnite seramiğine ait (a) 1 kX ve (b) 5 kX büyütmeledeki SEM görüntüleri.

Üretilen katkısız ve katkılı nişasta elyaflara ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 4'te sunulmaktadır. SEM görüntülerinden de açıkça görüldüğü üzere üretilen dört numune de elyaf çaplarının hem kendi içlerinde, hem de birbirlerine kıyasla önemli derecede farklılıklar gösterdiği görülmektedir (Şekil 4). Nişasta elyafların elektro-eğirme yöntemi özellikle son yıllarda üzerinde çokça çalışma yapılmakta olan ancak henüz süreç değişkenlerinin diğer sentetik polimerlerde olduğu gibi çok net ortaya konmadığı ve kullanılan nişastaya bağlı olarak da hayli karmaşık olabilecek bir sistemdir. Bu nedenle de, sistemde yer alan pek çok süreç değişkeninin tek tek ve ardından da birlikte olmak üzere optimizasyonu gerekmektedir. Bu da oldukça zorlu ve uzun soluklu çalışma gerektiren bir süreçtir. Gerçekleştirilen bu çalışma, ülkemizde bu alanda gerçekleştirilecek olan araştırmalara önemli ölçüde katkı sağlayacak ve kendi alanında bir ilk olma özelliğindedir. Bu çalışma ile mikro boyutta katkılı ve katkısız nişasta elyaflar başarıyla üretilmiştir. Ancak elyaf çaplarının boyut dağılımı beklendiği üzere dar bir dağılım göstermemektedir. Örneğin dört numune içerisinde nispeten en homojen çap dağılımına sahip elyaflardan oluşan katkısız nişasta sisteminde bile çap dağılımının ~0,1–7,0 µm gibi oldukça geniş olarak kabul edilebilecek bir aralıkta değiştiği görülmektedir (Şekil 4). Nişastaya dikalsiyum silikat veya gümüş asetat ilavesi yapıldığında elde edilen elyafların yapısının oldukça heterojen olduğu ancak bu iki ilave aynı anda birlikte kullanıldığında ise çok daha homojen

elyafların elde edildiği belirlenmiştir (Şekil 4). Nişastaya dikalsiyum silikat + gümüş asetat ilavesi yapılarak üretilen elyafların katkısız nişasta elyaflara oranla daha kalın olduğu belirlenmiştir.

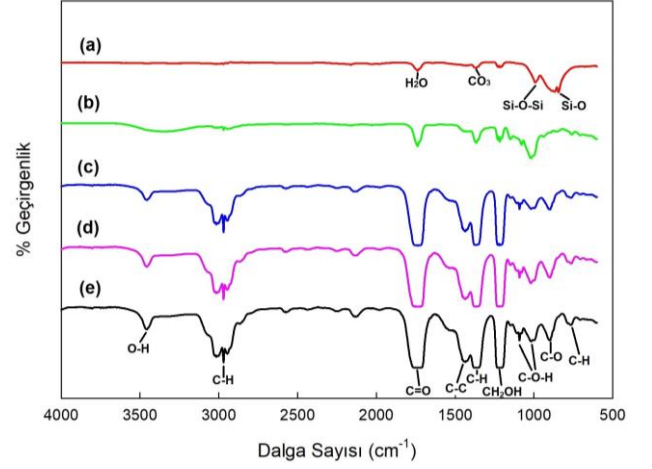


Şekil 4. Üretilen (a) katkısız nişasta elyaf, (b) dikalsiyum silikat katkılı nişasta elyaf, (c) gümüş asetat katkılı nişasta elyaf ve (d) dikalsiyum silikat + gümüş asetat katkılı nişasta elyafına ait 1 kX büyütmedeki SEM görüntüleri.

3.3 FTIR Analizi

Farklı ilaveler kullanılarak elyaf üretim süreçlerinde kimyasal yapıda meydana gelen değişimlerin incelenmesi için FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir. Üretilen 4 farklı elyaf için elde edilen spektrumlar karşılaştırmalı olarak Şekil 5'de sunulmaktadır. Nişastaya ait olan spektrumda 3460 cm^{-1} bölgesindeki pik O–H gerilme titreşimine, 1648 cm^{-1} 'deki pik amorf bölgedeki bağlı suya ait –OH makaslama titreşimine, 1155 cm^{-1} 'deki pik C–O–H grubundaki C–O gerilme titreşimine, 2970 cm^{-1} 'deki pik alifatik C–H gerilme titreşimine aittir (Şekil 5–e). Ayrıca 1735 cm^{-1} bölgesinde görülen pik C=O adsorbsiyonuna işaret etmektedir. (Hebeish, Aly, El-Shafei, & Zaghoul, 2009; Odiongenyi, Essien, Ukpe, 2016) Şekil 5–a'da larnite seramiğinin FTIR spektrumunda 970 cm^{-1} de görülen pik Si–O–Si asimetrik gerdirme titreşimini temsil etmektedir. $848\text{--}893\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki bantlar, Si–O bağının simetrik germe modlarını göstermektedir. 1330 cm^{-1} de görülen pik CO_3^{2-} titreşimini göstermektedir. $1760\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ arasında bulunan pik ise numunenin nem aldığını göstermektedir. (Choudhary, Venkatraman, Rana, & Swamiappan, 2016) Şekil 5–b'de temsil edilen numunede kalsiyum

silikat katkısı nişastanın baskın piklerinin şiddetinin önemli ölçüde azalmasına sebep olmuştur. Şekil 5–c ve 5–d grafiklerinde pik şiddetleri haricinde nişasta numunesinden farklı bir pike rastlanmamıştır.



Şekil 5. Numunelere ait FTIR analiz sonucu; (a) dikalsiyum silikat toz, (b) dikalsiyum silikat katkılı nişasta elyaf, (c) gümüş asetat katkılı nişasta elyaf, (d) dikalsiyum silikat + gümüş asetat katkılı nişasta elyaf ve (e) nişasta elyaf.

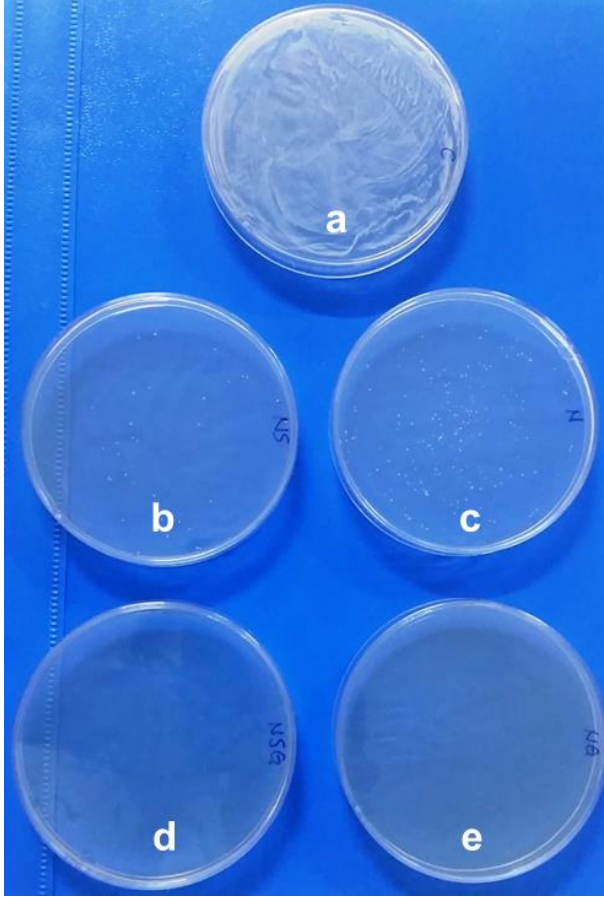
3.4 Antibakteriyel Özellikler

Üretilen elyafın *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri Şekil 6'da gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlar elyaf ilave edilen bakteri kültürlerinin tümünde canlı bakteri sayısının kontrole (elyaf ilave edilmeyen bakteri kültürü) nazaran ciddi oranda azaldığını göstermektedir. Çizelge 2'de elyaf ilave edilen ve edilmeyen kültürlerdeki koloni sayıları sunulmuştur.

Bakteri oranı 10^8 kob/ml olarak seyreltilen *S. aureus* kültüründeki canlı hücre sayısı 5 saat inkübasyon süresi sonunda $5,6 \times 10^8$ olarak belirlenmiştir. Bu oran katkısız nişasta elyafın ve larnite katkılı nişasta elyafın ilave edildiği kültürlerde çok daha düşük olmuştur. Gümüş katkılı nişasta elyaf ve larnite + gümüş katkılı nişasta elyafın ilave edildiği kültürlerde ise bakterilerin tümü ölmüştür. Bu sonuçlar elyafın antibakteriyel özellik kazandırmak amacıyla ilave edilen gümüş asetatın beklenen etkiyi gösterdiğine işaret etmektedir. Larnite katkılı nişasta elyafınla inkübe edilen bakteri kültüründeki canlı hücre sayısı da kontrole oranla önemli ölçüde azalmıştır. Yapılmış olan bu çalışmada gözlenen antibakteriyel etki literatürde çeşitli kalsiyum silikat

biyoseramiklerinin kullanıldığı başka çalışmalarda da gözlenmiştir. (Demiryürek, Özyürek, Gülhan, & Keskin,

2016; Hu et al., 2011; Wu, Wei, Hsueh, & Ding, 2015)



Şekil 6. Üretilen nişasta elyafın *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri. (a) kontrol (b) larnite katkılı nişasta elyaf (c) katkısız nişasta elyaf (d) larnite ve gümüş asetat katkılı nişasta elyaf (e) gümüş asetat katkılı nişasta elyaf.

Çizelge 2. Elyaf ilave edilen ve edilmeyen (kontrol) *S. aureus* kültürlerinin 37°C'de 5 saat inkübasyonu sonucunda belirlenen koloni (kob/ml) sayıları.

Elyaf	Koloni sayısı (kob/ml)
Katkısız nişasta elyaf	$1,9 \times 10^3$
Larnite katkılı nişasta elyaf	$3,6 \times 10^2$
Gümüş katkılı nişasta elyaf	0
Larnite ve gümüş katkılı nişasta elyaf	0
Kontrol	$5,6 \times 10^8$

4. Tartışma ve Sonuç

- Bu çalışmada kullanılan larnite fazı (Ca_2SiO_4) yumurta kabukları ve silika kullanılarak, 1200°C'de 90 dakika uygulanan bir ısıl işlem süreciyle başarıyla sentezlenmiştir. Bu şekilde ekonomik başlangıç malzemeleri kullanılarak ve ekonomik bir yöntem olan kalsinasyonla bir biyomalzeme sentezi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca çevre açısından zararlı olan bir atık olan yumurta kabuğunun yüksek katma değerli bir ürüne dönüştürülmesi gerçekleştirilmiştir.
- Elektro-eğirme yöntemiyle nişasta elyaf, dikalsiyum silikat katkılı nişasta elyaf, gümüş asetat katkılı nişasta elyaf ve dikalsiyum silikat + gümüş asetat katkılı nişasta elyafın üretimi gerçekleştirilmiştir. Uluslararası literatürde henüz elektro-eğirme yöntemiyle dikalsiyum silikat + gümüş asetat katkılı nişasta elyafın üretimine dair herhangi bir yayına tarafımızca

ulaşılammıştır. Gerçekleştirilen bu çalışma elyaf özellikleri henüz en iyi hale getirilememiş olsa da alanında öncü olma niteliğindedir.

- Üretilen 4 elyaf da elyaf çapının geniş bir aralıkta değiştiği ve elyaf formunun heterojen çaplarda geliştiği belirlenmiştir.
- Süreç değişkenleri ve kullanılan başlangıç malzemeleri çeşitlendirilerek çalışmalara devam edilecektir.

5. Kaynaklar

Chen, L., Zhang, Y., Liu, J., Wei, L., Song, B., & Shao, L. 2016. Exposure of the murine RAW 264.7 macrophage cell line to dicalcium silicate coating: assessment of cytotoxicity and pro-inflammatory effects. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 27(3): 59.

- Choudhary, R., Venkatraman, S. K., Rana, A., & Swamiappan, S. 2016. In vitro bioactivity studies of Iarnite and Iarnite/chitin composites prepared from biowaste for biomedical applications. *Bulletin of Materials Science*, 39(5): 1213-1221.
- Demiryürek, E. Ö., Özyürek, T., Gülhan, T., & Keskin, C. 2016. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of calcium silicate based retrograde filling materials.
- Doval, M., Palou, M., & Mojumdar, S. 2006. Hydration behavior of C2S and C2AS nanomaterials, synthesized by sol-gel method. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 86(3): 595-599.
- Gou, Z., & Chang, J. 2004. Synthesis and in vitro bioactivity of dicalcium silicate powders. *Journal of the European Ceramic Society*, 24(1): 93-99.
- Gou, Z., Chang, J., & Zhai, W. 2005a. Preparation and characterization of novel bioactive dicalcium silicate ceramics. *Journal of the European Ceramic Society*, 25(9): 1507-1514.
- Gou, Z., Chang, J., Zhai, W., & Wang, J. 2005b. Study on the self-setting property and the in vitro bioactivity of β -Ca₂SiO₄. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 73(2): 244-251.
- Hajiali, F., Tajbakhsh, S., & Shojaei, A. 2018. Fabrication and properties of polycaprolactone composites containing calcium phosphate-based ceramics and bioactive glasses in bone tissue engineering: a review. *Polymer reviews*, 58(1): 164-207.
- Hebeish, A., Aly, A., El-Shafei, A., & Zaghloul, S. 2009. Synthesis and Characterization of Cationized Starches for Application in Flocculation, Finishing and Sizing. *Egypt. J. Chem.*, 52: 73-89.
- Hemamalini, T., & Giri Dev, V. R. 2018. Comprehensive review on electrospinning of starch polymer for biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106: 712-718.
- Hietala, M., Mathew, A. P., & Oksman, K. 2013. Bionanocomposites of thermoplastic starch and cellulose nanofibers manufactured using twin-screw extrusion. *European Polymer Journal*, 49(4): 950-956.
- Hong, S. H., & Young, J. F. 1999. Hydration kinetics and phase stability of dicalcium silicate synthesized by the Pechini process. *Journal of the American Ceramic Society*, 82(7): 1681-1686.
- Hoppe, A., Güldal, N. S., & Boccaccini, A. R. 2011. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*, 32(11): 2757-2774.
- Hu, S., Ning, C., Zhou, Y., Chen, L., Lin, K., & Chang, J. 2011. Antibacterial activity of silicate bioceramics. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.*, 26(2): 226-230.
- Hughes, E., Yanni, T., Jamshidi, P., & Grover, L. 2015. Inorganic cements for biomedical application: calcium phosphate, calcium sulphate and calcium silicate. *Advances in Applied Ceramics*, 114(2): 65-76.
- Jansen, F., Wei, X., Dorfman, M. R., Peters, J. A., & Nagy, D. R. 2002. Performance of dicalcium silicate coatings in hot-corrosive environment. *Surface and Coatings Technology*, 149(1): 57-61.
- Li-Chan, E. C., & Kim, H.-O. 2008. Structure and chemical composition of eggs, *Egg bioscience and biotechnology*: 1-96: John Wiley and Sons Inc., New Jersey.
- Liu, G., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L., & Li, C. 2017. Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 252: 95-107.
- Liu, X., Tao, S., & Ding, C. 2002. Bioactivity of plasma sprayed dicalcium silicate coatings. *Biomaterials*, 23(3): 963-968.
- Nour, S., Baheiraei, N., Imani, R., Rabiee, N., Khodaei, M., Alizadeh, A., & Moazzeni, S. M. 2019. Bioactive Materials: A Comprehensive Review on Interactions with Biological Microenvironment Based on the Immune Response. *Journal of Bionic Engineering*, 16(4): 563-581.
- Okada, Y., Ishida, H., Sasaki, K., Young, J. F., & Mitsuda, T. 1994. Characterization of C-S-H from Highly Reactive β -Dicalcium Silicate Prepared from Hillebrandite. *Journal of the American Ceramic Society*, 77(5): 1313-1318.
- Rabiee, S. M., Nazparvar, N., Azizian, M., Vashaei, D., & Tayebi, L. 2015. Effect of ion

- substitution on properties of bioactive glasses: a review. *Ceramics International*, 41(6): 7241-7251.
- Rivera, E. M., Araiza, M., Brostow, W., Castano, V. M., Diaz-Estrada, J., Hernández, R., & Rodriguez, J. R. 1999. Synthesis of hydroxyapatite from eggshells. *Materials Letters*, 41(3): 128-134.
- Sanmartin de Almeida, M., Fernandes, G. V. d. O., de Oliveira, A. M., & Granjeiro, J. M. 2018. Calcium silicate as a graft material for bone fractures: a systematic review. *Journal of International Medical Research*, 46(7): 2537-2548.
- Sasaki, K., Ishida, H., Okada, Y., & Mitsuda, T. 1993. Highly Reactive β -Dicalcium Silicate: V, Influence of Specific Surface Area on Hydration. *Journal of the American Ceramic Society*, 76(4): 870-874.
- Shimoni, E. 2008. Starch as an encapsulation material to control digestion rate in the delivery of active food components, *Delivery and controlled release of bioactives in foods and nutraceuticals*: 279-293: Elsevier.
- Siqueira, R. L., Alves, P. F. S., da Silva Moraes, T., Casemiro, L. A., da Silva, S. N., Peitl, O., Martins, C. H. G., & Zanotto, E. D. 2019. Cation-doped bioactive ceramics: In vitro bioactivity and effect against bacteria of the oral cavity. *Ceramics International*, 45(7): 9231-9244.
- Sun, M., Liu, A., Ma, C., Shao, H., Yu, M., Liu, Y., Yan, S., & Gou, Z. 2016. Systematic investigation of β -dicalcium silicate-based bone cements in vitro and in vivo in comparison with clinically applied calcium phosphate cement and Bio-Oss®. *RSC Advances*, 6(1): 586-596.
- Thamaraiselvi, T., & Rajeswari, S. 2004. Biological evaluation of bioceramic materials-a review. *Carbon*, 24(31): 172.
- Uslu, I. 2010. Elektrospinleme Yöntemi ile Seramik Nano Borkarbür Üretimi ve Karakterizasyonu: Konya.
- Vogan, J., Hsu, L., & Stetson, A. 1981. Thermal barrier coatings for thermal insulation and corrosion resistance in industrial gas turbine engines. *Thin Solid Films*, 84(1): 75-87.
- Wu, B., Wei, C., Hsueh, N., & Ding, S. J. 2015. Comparative cell attachment, cytotoxicity and antibacterial activity of radiopaque dicalcium silicate cement and white-coloured mineral trioxide aggregate. *International endodontic journal*, 48(3): 268-276.
- Wu, C., & Chang, J. 2013. A review of bioactive silicate ceramics. *Biomedical materials*, 8(3): 032001.
- Zheng, Y., Miao, J., Maeda, N., Frey, D., Linhardt, R. J., & Simmons, T. J. 2014. Uniform nanoparticle coating of cellulose fibers during wet electrospinning. *Journal of Materials Chemistry A*, 2(36): 15029-15034.