

# TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

ÜNİVERSİTE VE ÜZERİ SEVİYESİ FİKİR

KATEGORİSİ

TAKIM ADI

PolyBone

PROJE ADI

Diş Tedavisine Yönelik Kemik Rejenerasyonunu Hızlandıracak

Doğal Kaynaklardan Membran Malzemelerin Geliştirilmesi

BAŞVURU ID

468440

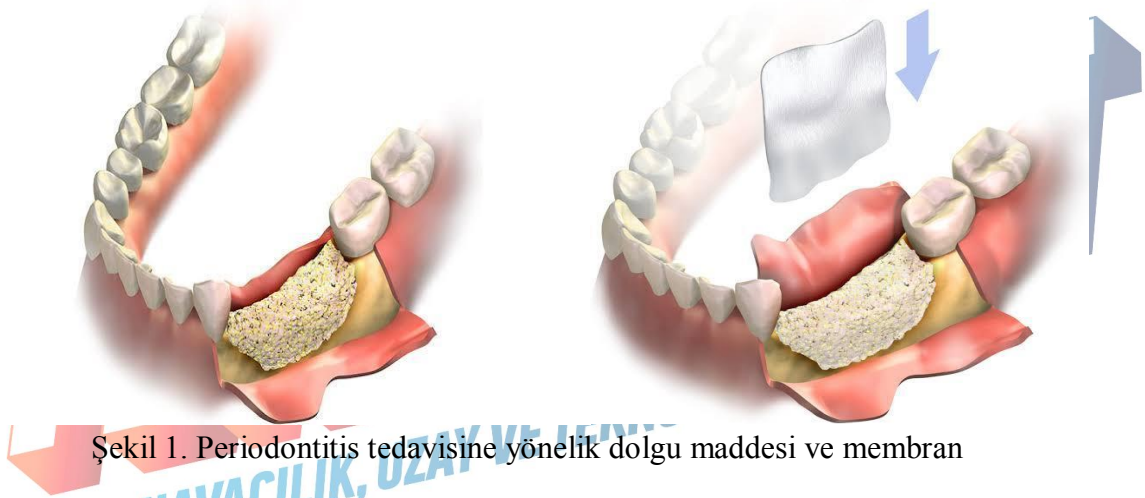
## İçindekiler

1. Proje Özeti (Proje Tanımı) (5 puan)	3
2. Problem/Sorun (5 puan)	3
3. Çözüm (20 puan)	5
4. Yöntem (20 puan)	7
4.1. Kenevirden Selüloz Eldesi	7
4.2. Karides Kabuklarından Kitosan Eldesi	8
4.3. Selüloz/Kitosan Dış Membranı Oluşturulması	9
4.4. Balık Derisinden Kollajen Eldesi	9
4.5. Balık Kemiğinden Hidroksiapatit Eldesi	10
4.6. Hidroksiapatit/Kollajen Dolgu Maddesinin Hazırlanması	11
4.7. Karakterizasyon İşlemi	11
5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü (15 puan)	11
6. Uygulanabilirlik (10 puan)	12
7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması (5 puan)	12
8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar) (5 puan)	13
9. Riskler (10 puan)	14
10. Kaynaklar (5 puan)	15



## 1. Proje Özeti (Proje Tanımı) (5 puan)

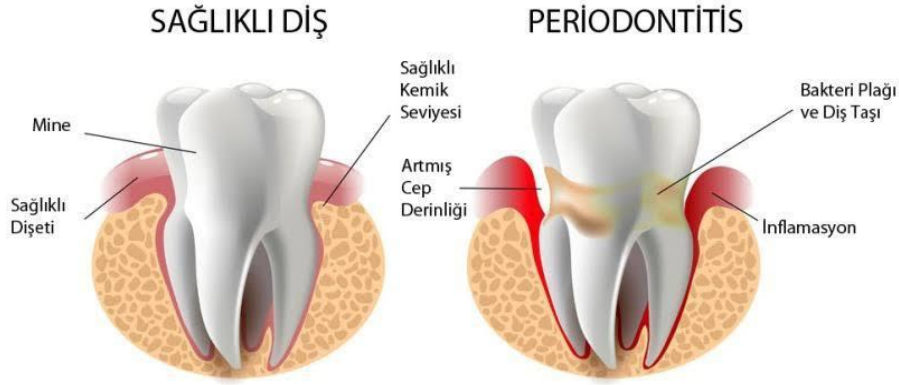
Son zamanlarda periodontal tedavi için yönlendirilmiş doku/kemik rejenerasyonu üzerine çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Çeşitli diş membranları biyoyumluluk, klinik yönetilebilirlik ve çevre doku ile uygun entegrasyon gibi kemik rejenerasyonu için ana tasarım kriterlerini sağlamalıdır. Çünkü bu özellikler kemik oluşumunda dokuya maksimum membran yeteneği ve mekanik destek sağlamak için gereklidir. Bu hedefe yönelik tedavilerde kemik rejenerasyonunu sağlamak için sentetik malzeme içerikli diş membranları yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel olarak doğal olmayan materyallerle üretilen diş membranları ile insan diş dokusu arasında fizyolojik özellikler açısından farklılıklar vardır ve bunun sonucunda kemik kaybı sorunları ortaya çıkabilmektedir. Bu sebeple kusurlu kemik dokularının iyileşmesini veya yenilenmesini sağlamak için yenilikçi ve düşük maliyetli biyomateryaller geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu projede kenevirden selüloz, karides kabuğundan kitosan, balıktan hidroksiapatit ve kollajen ekstrakte ederek polimer bazlı kemik dolgu maddesi ve membran tabakası geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Kemiğin çökmesini engellemek için dolgu maddesi olarak hidroksiapatit/kollajen kompoziti kullanılacaktır. Bu malzemelere ek olarak mukavemet değerlerini artırmak için selüloz ve antibakteriyel özellik sağlamak için de kitosan kompozit membranı dolgu maddesi üstüne yerleştirilerek doku/kemik onarımı sağlanmış olacaktır. Böylece proje kapsamında tarım ve deniz atıkları değerlendirilerek, düşük maliyete sahip polimer bazlı kemik dolgu maddesi ve membran tabakası geliştirilmesi planlanmaktadır.



Şekil 1. Periodontitis tedavisine yönelik dolgu maddesi ve membran

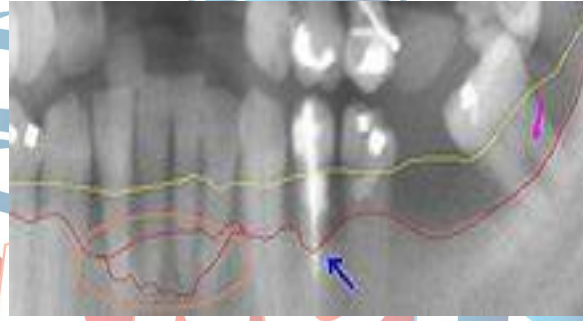
## 2. Problem/Sorun (5 puan)

Diş eti çekilmesi olarak bilinen periodontitis, diş çevresindeki yumuşak dokuya zarar veren, diş ile diş eti arasında bakterilerin kolayca yerleşebileceği bir boşluk oluşturan ve bunun sonucunda diş kaybına neden olan ciddi bir diş eti enfeksiyonudur [1]. Periodontitis, insanlarda en sık görülen rahatsızlıklardan biri olmakla birlikte özellikle 70 yaş ve üzerindeki yetişkin bireylerin yaklaşık %90'ında orta ila şiddetli periodontal hastalıklara rastlanmaktadır.



Şekil 2. Sağlıklı diş ve periodontitis

Periodontal tedavinin hedefi, periodontal sağlığı düzelterek kaybedilen yapıları yeniden oluşturmaktır. Son yıllarda periodontal tedavi için yönlendirilmiş doku/kemik rejenerasyonu (GTR/GBR) yöntemi ile vakalar üzerinde denemeler yapılmıştır [2,3]. GTR/GBR için dental bariyer membranlarının (DBM) kullanılması amacı doku büyümesini sağlamak ve çevredeki bağ dokularından uzakta kemik rejenerasyonu için bir boşluk oluşturmaktır [4]. Bu nedenle DBM'ler biyouyumluluk, yeni doku oluşumuna uygun bozunma hızı, çökmeden bariyer işlevini yerine getirmek için yeterli mukavemet gibi kriterleri karşılamalıdır [4,5].



Şekil 3. Periodontitis

Şekil 3, periodontitisin sebep olduğu %30-80 oranında genelleştirilmiş ciddi kemik kaybını gösterir. Kırmızı çizgi mevcut kemik seviyesini gösterirken sarı çizgi kişide periodontal hastalık gelişmeden önce diş etinin orijinal olarak nerede bulunduğunu (kemiğin 1-2 mm üzerinde) gösterir [6].



Şekil 4. Köpeklerde periodontitis

Aynı zamanda periodontitis, hayvanlarda en sık görülen hastalıklardan biridir ve köpeklerin %80'inden fazlasını etkilemektedir. Şekil 4'de köpekte meydana gelen periodontal hastalık sonucunda oluşan %30-50 oranındaki şiddetli kemik kaybı gösterilmektedir [7].

Periodontitisin tedavisi amacıyla klinik uygulamalarda biyobozunur veya biyobozunur olmayan membranlar olarak sınıflandırılan çok sayıda membran geliştirilmiştir. Biyobozunur olmayan membranlar biyoyuymululuk yönünden etkili bir bariyer işlevi sağlaması ve zarın altındaki boşluğu uzun bir süre koruyabilmesi açısından avantajlı olsa da vücutta emilebilir olmamasından dolayı cerrahi bir operasyonla çıkarılması gerekir. Bu da ek bir iş gücüne ve tedavi edilen bölgenin tekrardan zedelenmesine yol açabilir. Biyobozunur membranlar ise vücut tarafından emilebilir olduğu için ek bir çıkarma operasyonuna ihtiyaç duymaz ve doku hasarının önüne geçerek maliyet-fayda açısından avantaj sağlar. Bununla birlikte, biyobozunur malzemeler tek başına kullanıldığında tahmin edilemeyen emilim derecelerine neden olur. Çok hızlı emilirlerse, sonucunda sertlikte eksiklik ortaya çıkar ve bu ek desteğin gerekliliği anlamına gelir. Membranlar başlangıçta boşluğu tutabilseler de zamanla güçlerini kaybederler ve boşluğa çökerler [8]. Bu durum başarısız bir tedaviyle sonuçlanır ve etkin bir iyileşme sağlanamaz.

### 3. Çözüm (20 puan)

Periodontitis rahatsızlığıyla birlikte kemik üreten hücreler aktif bir şekilde çalışmaz. Bunun sonucunda osteoblastların yeni kemik üretiminde ve kemikte oluşan mikro çatlakların kapanmasındaki üretkenliğinin azalmasıyla kemik yoğunluğu ve dayanımında da azalma meydana gelir. Aynı zamanda periodontitisin ilk aşamalarında diş kaybına yol açacak olan diş eti enfeksiyonu sorunu oluşabilmektedir. Bu sorunların üstesinden gelebilmek için çalışmamızda dişteki klinik uygulamalarda ek bir operasyonla oluşabilecek doku hasarının önüne geçerek etkin bir tedavi sağlamak amacıyla hidroksiapatit ve kollajenden oluşan dolgu maddesi kullanılacaktır. Bu sayede kemik yapısına benzeyen kompozit dolgu malzemesi ile kemik dokusunun büyümesi teşvik edilecektir. Şekil 5'de kollajen ve hidroksiapatitten oluşan dolgu maddesi görülmektedir. Yeni hücrelerin yerleşip doku entegrasyonunu hızlandırması amacı ile de kitosan ve selüloz ile geliştirilen diş membranı dolgu maddesinin üzerine yerleştirilecektir. Bu amaçla kitosan ve selülozdan üretilecek olan membran vücut tarafından emilebilir olduğu için ek bir çıkarma operasyonuna ihtiyaç duymaz ve doku hasarının önüne geçer. Atıklardan geri dönüşümlü elde edildiği için maliyet-fayda açısından avantaj sağlar [9].



Şekil 5. Periodontitis tedavisi yönelik dolgu maddesi ve membran

Dolgu malzemesindeki Hidroksiapatit (HAp), osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerinden dolayı biyomedikal uygulamalarda, özellikle ortopedide, diş hekimliğinde ve metalik implantların yüzeylerinin (kaplamalarının) tedavisinde en çok kullanılan kalsiyum fosfat bazlı seramiklerden biridir. Yüksek derecede biyoaktiviteye sahiptir, anjiyogenezi destekler ve aynı zamanda toksisite veya inflamatuvar yanıtı neden olmadan kemikle bütünleşebilir. Ancak hidroksiapatitin kırılabilirlik ve zayıf mukavemet gibi özellikleri doğrudan uygulamasını sınırlar. Bu sebeple hidroksiapatiti yük taşıyan alanlarda kullanılabilir hale getirmek için farklı yapılarla birleştirmek gerekir [10]. HAp, kollajen gibi daha dirençli malzemelerle takviye edilerek mekanik özellikleri iyileştirilebilir.

Dolgu malzemesinde kullanılacak diğer bir malzeme olan kollajen ise, insanların dokularında bulunmakta olup fibroplastlar ve hücreler tarafından oluşturulan bir protein türüdür. Kollajen vücudun toplam proteininin %30'unu temsil ederek kemik kuru ağırlığının %90'dan fazlasını oluşturur. Aynı zamanda vücuttaki bağ dokusunu güçlendirir. Böylece kemik, eklem, tendon ve organlarımızı bir arada tutarak vücudumuzun bütünlüğünü korur [11]. Bunlara ek olarak kollajen yapışkan özelliğiyle yapıya desteklik sağlayarak epitel göçü önler ve iyileşmeyi hızlandırır [12].

Kemik, ana inorganik faz olan hidroksiapatit (HAp) nanokristalleri ve ana organik faz olan tip I kollajen moleküllerini içeren bir nanokompozittir. HAp nanokristalleri, fibriller ve lifler oluşturmak için kollajen molekülleri boyunca düzenli bir şekilde hizalanır. Kemik nanoyapısı, kemik iki önemli rolünü gerçekleştirmek için uygun bir yapıda ve uygun bir kimyasal bileşimdedir. İlk rolü, vücudu desteklemek ve önemli organları korumak için "sert" bir malzeme olmasıdır. İkincisi ise kalsiyum homeostazını korumak için "yumuşak" bir malzeme olmasıdır. Sert malzeme olarak, HAp ve kollajenin nanokompoziti görünüşte tek bir malzeme gibi davranır. Bu özelliğiyle kollajenin viskoelastisitesini ve HAp'ın sertliğini korunmuş olur. Yumuşak malzeme olarak, HAp nanokristallerinin geniş spesifik yüzey alanı, vücut sıvılarında kalsiyum iyonlarının korunması için osteoklastlar tarafından hızlı çözünmesini ve uygun bir şekilde kemik yeniden şekillenme hızını sağlar. Bu özelliklerin yanısıra kemik dolgu maddesi olarak yapılan klinik bir testte, HAp/Col süngerinin, gözenekli  $\beta$ -trikalsiyum fosfattan çok daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır. HAp/Col süngeri Japon hükümeti tarafından onaylanmıştır ve hastalarda çok ihtiyaç duyulan kemik dolgu maddesi olarak kullanılacaktır. Bu sonuçlar HAp/Col nanokompozitinin kemik dolgusu için iyi bir aday olduğunu göstermektedir [13].

Kemiğin çökmesini engelleyerek yenilenmesine olanak sağlayan, dolgu maddesiyle temasta bulunacak membran geliştirirken uygun malzemelerin seçimi önemli bir noktadır. Bu hususta; kitosan, fonksiyonel çok yönlülüğü ve erişim kolaylığı nedeniyle diş hekimliği alanında geniş bir uygulama alanına sahip, nontoksik, biyobozunur ve biyouyumlu doğal bir polimerdir. Kitosan, selülozdan sonra doğada en çok bulunan ikinci biyopolimer olan kitinin kısmi deasetilasyonu sonucu elde edilir [14]. Aynı zamanda kitosan diş yapıştırıcıları, bariyer membranları olarak kullanılabilir ancak suda ıslandığında zayıf bir gerilme mukavemeti gösterir. Bu eksikliği ortadan kaldırmak için kitosanla birincil yapıdaki benzerliği ve homojen kompozit film oluşumunu kolaylaştırması sebebiyle selüloz kullanılması tercih edilmektedir. Bu sayede selülozun kitosan ile harmanlanmasında, kitosanın mekanik özelliklerini geliştirerek antimikrobiyal özellikte ve yüksek mukavemete sahip bir kompozit oluşturacağı öngörülmektedir.

Yapılan bir çalışmada kitosan, selüloz ve kitosan/selüloz karışımı membranların antibakteriyel özelliklerini test etmek için *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri ile deneyler yapılmıştır. Deneyler sonucunda kitosan/selüloz karışımı membranların, *E. coli*'ye karşı *S. aureus*'unkinden daha etkili antimikrobiyal yetenek gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca kitosan/selüloz membranlarından su buharı geçişi ve *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal yetenek testleri yapıldığında kullanılan membranların yaralı bölgeyi enfeksiyondan koruyabileceği anlaşılmıştır. Tüm bu sonuçlar kitosan/selüloz karışımı membranların antibakteriyel özelliklere sahip bir membran olarak kullanılmaya uygun olduğunu göstermektedir. [15]

Kemik rejenerasyonu için uygun mekanik özellikler, doku ile uygun entegrasyon ve etkin performans sergileyen düşük maliyetli biyomalzemelerin geliştirilmesi üstesinden gelinmesi gereken bir zorluktur. Çalışmamızda önerdiğimiz biyomalzemeler ile mükemmel biyolojik aktivite, kullanılabilirlik ve uygun doku entegrasyonu sağlanabilecektir. Aynı zamanda kullanılan malzemelerin atıklardan elde edilmesiyle de düşük maliyetli tedavi sağlanacağı öngörülmektedir.



Şekil 6. Membran ve Dolgu Maddesi ile Kemik Dokusu Yenilenmesi

#### 4. Yöntem (20 puan)

##### 4.1. Kenevirden Selüloz Eldesi

**Atıklar Temizlemesi:** Ön yıkama gerçekleştirilmiştir. Atıklar kirlerinden ve mumlu maddelerinden uzaklaştırılması amacıyla distile su ile yıkanır.

**Kurutma İşlemi:** su temizleme sonrası kurutma işlemi gerçekleştirilir. Kurutma için 2 ayrı yöntem kullanılır (Liyofilize ve etüvde kurutma).

**Öğütme:** Kurutulmuş selüloz kaynaklar kurutmadan sonra mekanik işlemlerle küçük parçalara öğütülür.

**Soxhlet ile Yağ Giderimi:** Etanol yağların uzaklaştırılması amacıyla çözücü olarak kullanılarak Soxhlet içerisinde çözündürülmesi de sağlanır.

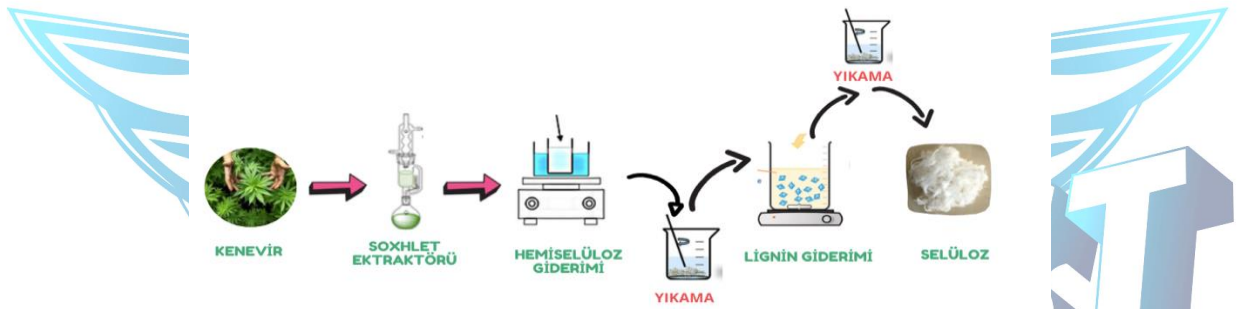
**Alkali İşlem (Hemiselüloz Uzaklaştırılması):**

Örnekleri farklı konsantrasyonlarda %5-10 w/v NaOH ile 60- 80 °C'de ve 1-3 saat boyunca alkali ile muameleye tabi tutularak hemiselüloz uzaklaştırılır.

**Ağartma İşlemi:**

% 1,5 Sodyum Klorit ( $\text{NaClO}_2$ ) ile pH=3-4 arasında 70°C'de 2 saat boyunca işleme tabi tutulur, 3-4 defa tekrarlanarak ağartma işlemi gerçekleştirilir.

**Son İşlem:** Ağartma işleminden sonra örnek sırasıyla 3 defa etanol ve su ile yıkanarak tekrar kurutulur ve selüloz elde edilir [16-21].



Şekil 7. Kenevirden Selüloz Elde Edilmesi

#### 4.2. Karides Kabuklarından Kitosan Eldesi

**Kurutma İşlemi ve Öğütme:** Karides kabukları kurutulmuş, havada küçük parçalara öğütülür.

**Mineral Uzaklaştırılması:** Öğütülen kabuklar minerallerin uzaklaştırılması amacı ile 6 saat boyunca yaklaşık 30°C'de 1 M HCl (1:15 w/v) ile muamele edilir.

**Yıkama İşlemi:** Örnek nötr hale getirilmek için pH 6.5-7 dereceye ulaşana kadar distile suyla yıkanır ve oda sıcaklığında kurutulur.

**Protein Uzaklaştırılması:** Mineralleri uzaklaştırılmış karides kabukları protein uzaklaştırılması amacıyla 4 saat boyunca 65°C'de %3,5 NaOH (1:15 w/v) çözeltisi ile işleme tabi tutulur.

**Yıkama İşlemi:** Örnek nötr hale getirilmek için pH 6.5-7 dereceye ulaşana kadar distile suyla yıkanır.

**Kurutma İşlemi:** Oda sıcaklığında kurutulmuş kitin elde edilir.

**Öğütme:** Elde edilen kitin öğütülür ve eleme işlemine tabi tutulur.

**Asetil Gruplarının Uzaklaştırılması:** Asetil gruplarının uzaklaştırılması amacıyla kitin, 100°C'de 5 saat boyunca %70 NaOH (1:30 w/v) ile muamele edilir.



**Son İşlem:** Kalıntılar pH 6.5-7.0 olana kadar distile su ile yıkanarak kurutulur ve kitosan elde edilir [22].

#### 4.3. Selüloz/Kitosan Dış Membranı Oluşturulması

**Selüloz ve Kitosan Çözeltilerinin Hazırlanması:** Ekstrakte edilen selüloz ve kitosan, selüloz ve kitosan çözeltisinin hazırlanması için sırasıyla sulu asetik asit (ağırlıkça %2.0) ve tetrafloroasetik asit içinde çözündürülür.

**Film Eldesi:** Selüloz ve kitosan solüsyonu farklı oranlarda karıştırılır. 3/1, 1/1 ve 1/3 (w/w) nihai bileşimleri ile karışımlar üretmek için bu çözeltilerin dökülmesiyle şeffaf filmler elde edilir.

**Asit Uzaklaştırılması:** Bu şekilde hazırlanan filmler asitleri uzaklaştırmak için 1 gün oda sıcaklığında 1 N NaOH içinde ıslatılır. Filmler, daldırma prosedürü sırasında plakadan ayrılır.

**Son İşlem:** Daha sonra su ile yıkanır ve oda sıcaklığında kurutulur [23].

#### 4.4. Balık Derisinden Kollajen Eldesi

**Dondurma ve Parçalama:** Dondurulmuş Çipura balığı derisi parçaları jilet ve bisturi yardımıyla istenmeyen kısımlarından (pul, et vb.) temizlenir. Temizlenmiş deri sonraki adımları kolaylaştırmak adına ufak parçalara bölünür.

**Yağ Uzaklaştırılması:** Küçük parçalara ayrılmış örnekte bulunan yağları uzaklaştırmak amacıyla 24 saat boyunca (1:4) w/v oranında aseton eklenir.

**Protein Uzaklaştırılması:** Kollajen dışındaki bileşenleri uzaklaştırmak için numune 24 saat boyunca (her 8 saatte çözelti değiştirilerek) 0.1M NaOH içinde bırakılır. NaOH çözeltisinde proteinler uzaklaştırılır.

**Yıkama İşlemi:** Proteinleri uzaklaştırılmış örnek nötr pH'a ulaşana kadar saf su ile yıkanır.

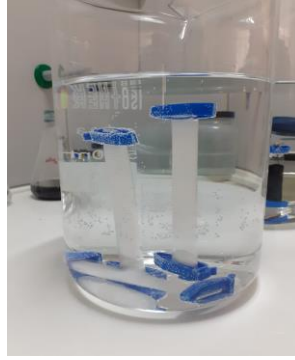
**Karıştırma İşlemi:** Yıkama işleminden sonra numune 0.5 M asetik asit içinde (1:15 w/v) 48 saat boyunca 4°C 'de karıştırılır.



Şekil 8. Balık derisinin asetik asit içerisinde çözündürme işlemi

**Santrifüj İşlemi:** 5000 rpm'de 40 dakika boyunca santrifüjlenerek süpernatantlar toplanır.

**Diyaliz İşlemi:** Toplanan süpernatantlar 24 saat boyunca 0.05 M tris-HCl tamponu ile 7.5 pH'a karşı diyaliz edilir.



Şekil 9. Diyaliz işlemi

**Çöktürme İşlemi:** 2.4 M NaCl ilavesiyle çözeltiler çöktürülür.

**Santrifüj İşlemi:** 5000 rpm'de 4°C 'de 20 dakika boyunca santrifüjlenir.

**Asitte Çözdürme:** Elde edilen çökelti 0.1 M asetik asit içinde çözündürülür.

Bu aşamadan sonra asitte çözünür kollajen elde edilmiş olur, daha saf hale getirmek için diğer işlemlerle devam edilir.

**Diyaliz İşlemi:** Tip I kollajen jeli, pH 6'yı elde etmek için saf suya karşı diyaliz edilir.

**Kurutma İşlemi:** Son olarak -80°C ye dondurulup, liyofilizasyon işlemi gerçekleştirilir.

Kurutma sonucu Tip I kollajeni elde edilmiş olur [24].



Şekil 10. Liyofilizasyon sonucu elde edilen Tip I kollajen

#### 4.5. Balık Kemiginden Hidroksiapatit Eldesi

**Isıl İşlem:** Dondurulmuş Çipura balığının kemikleri doğrudan 100°C sıcaklıktaki sıcak suda 1 saat kaynatılır.

**Yıkama İşlemi:** Yapışan balık eti ve diğer yabancı maddeleri uzaklaştırmak için balık kemiği saf su ile temizlenir. Numunelerin iyi temizlendiğinden emin olmak için bu prosedür iki kez tekrarlanır.

**Kurutma İşlemi:** Daha sonra kemikler iki gün boyunca kurutulur.

**Kalsiyum Uzaklaştırılması:** Kuruyan kemik daha sonra fırında 800°C ve 1000°C'lik farklı sıcaklıklarda havada 5°C/dk ısıtma hızıyla kalsiyumları uzaklaştırmak için kalsine edilir. Organik matrisi uzaklaştırmak için her sıcaklık artışında 3 saat tutulur ve oda sıcaklığında soğutulur.

**Öğütme İşlemi:** Numuneler küçük parçalara öğütülerek nHAp elde edilir [25].

#### 4.6. Hidroksiapatit/Kollajen Dolgu Maddesinin Hazırlanması

Hidroksiapatit (HAp) nanokristalleri, bir asetik asit içinde çözünen kollajen çözeltisine karıştırılır ve karışım, farklı yöntemler kullanılarak kurutulur. HAp nanokristalleri, sulu bir  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  süspansiyonundan başlayarak ve yavaş yavaş  $\text{H}_3\text{PO}_4$  eklenerek çökelti olarak hazırlanır. HAp'nın kristallik derecesini %45-55 civarında kontrol etmek için reaksiyon sıcaklığı 40-50°C civarında tutulur. Kollajen, ağırlıkça %0.3 asetik asit çözeltisi kullanılarak 1:2 oranında seyreltilir ve oda sıcaklığında HAp fazı ile yüklenir. İnorganik fazın kollajen lifleri üzerinde hızlı bir şekilde birikmesini sağlamak için 80/20 ve 60/40'luk bir HAp/Col wt oranı kullanılır. Sulu süspansiyon, numunenin -40°C'de dondurulduğu ve daha sonra vakum altında kademeli olarak 36 saatlik bir sürede 35°C'ye ısıtıldığı bir döngünün ardından dondurularak kurutulur [26].

#### 4.7. Karakterizasyon İşlemi:

Geliştirilen projede uygulanabilirliği ve kaliteyi teyit etmek için, karakterizasyon işlemi yapılacaktır. Yapılması gereken karakterizasyonlar ;

##### 1) Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Selüloz, kitosan, kollajen ve hidroksiapatit FTIR cihazı ile moleküler arasındaki kimyasal bağlara bakarak ticari ürünlere benzerlik oranına bakılır böylece atıklardan elde edilen ürünlerin dolgu maddesinin ve membranın saflığı ve kalitesi belirlenmiş olur [24].

##### 2) X-ışını difraktometresi (XRD)

X-ışını kırınım cihazıyla kayaçların, kristal malzemelerin, ince filmlerin ve polimerlerin nitel ve nicel incelemeleri yapılabilir. Toz, katı ve ince film şeklindeki örneklerde fazlar, fazların miktarı, kristal boyutu, yapıdaki değişimler, kristal yönelmesi ve atom pozisyonları hakkında bilgi verir. Bu cihaz ile hidroksiapatitin kristal parçacıklarının boyutu ve kristal yönelmesi belirlenir [25].

##### 3) Taramalı elektron mikroskopu (SEM)

SEM ile atıklardan elde edilen ürünlerin, dolgu maddesi ve membranın topografi kompozisyon analizleri yapılır [24].

##### 4) Kitosanın deasetilasyon derecesi

0.1 M HCl içerisinde çözülen kitosan 0.1 M NaOH ile titre edilerek ne kadar deasetile edildiği belirlenir [22].

Karakterizasyon yöntemlerinden istenilen sonuçlar elde edilmesi halinde dolgu maddesinin ve membranın biyouyumluluğunun, toksisitesinin ve aktivitesinin belirlenmesi için in vitro/in vivo deneylerin yapılması planlanmıştır [27].

### 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü (15 puan)

- Kollajen/hidroksiapatit dolgu maddesi ve kitosan/selüloz membranı optimum kullanım ve yerleştirme kolaylığı için yırtılmaya karşı dayanıklı bir tedavidir.
- Polimerize olmuş materyaller bakteri çoğalmasını uyarabilir ve alerjik reaksiyonlara sebep olabilir, ancak bu çalışmada kullanılacak olan selüloz ve diğer bileşenler

antimikrobiyal ve antitoksik özellikleriyle enfeksiyonu engelleyerek olası komplikasyonların önüne geçer.

- Bu tip diş membranı ve dolgu maddelerinin yerli muadillerinin sınırlı olması nedeniyle ülkemizde de genellikle atık olarak görülen balık derisinden kollajen, balık kemiğinden hidroksiapatit, kenevir atıklarından selüloz ve karides kabuklarından kitosan ekstrakte ederek sonuçta polimer bazlı kemik dolgu maddesi ve membran tabakası geliştirilerek atık maddelerin ticari bir kaynağa dönüştürülmesi sağlanacaktır.

## 6. Uygulanabilirlik (10 puan)

Dişteki klinik uygulamalarda doku hasarının önüne geçmek adına biyo-uyumlu ve aynı zamanda bulunduğu çevreye zararsız yeni biyomalzemelerin geliştirilmesi önemli bir konudur. Bu biyomalzemeler seramik, polimer ve kompozit malzemeler olabilir. Kompozit biyomalzemeler, bireysel bileşenlerin özelliklerini iyileştiren ve hasarlı dokuları onarmak için kullanılabilen alternatif malzemelerdir. Önerdiğimiz projede atıklarda elde edilen kitosan/selüloz ile diş membranı, kollajen ve hidroksiapatit ile kompozit bir dolgu malzemesi yapılması önerilmiştir. Kompozit malzemelerin kullanımı literatürde oldukça yaygındır. Bizim projemizin farkı ise bu biyomalzemelerin atıklardan ekstrakte edilerek ticari bir kaynağa dönüştürülmesidir.

Hazırlanan kompozit ürünlerin gelecekte kemik doku mühendisliğinde kullanım alanına sahip potansiyel malzemeler olacağı öngörülmektedir. Uyumlu hale getirilebilmesi için geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

## 7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması (5 puan)

Projemizde sarf malzeme ve ekipman bütçesi olmak üzere iki temel harcama planı yapılmaktadır. Ekipman malzemeleri çoğunlukla laboratuvarımızda bulunmakla beraber sarf malzemelerin kullanımı için bütçe gereksinimi olacaktır.

Malzeme Alımları	Tahmini Maliyet
Etanol	100 TL
Sodyum Klorür	70 TL
Sodyum Hidroksit	80 TL
Aseton	100 TL
Asetik Asit	100 TL

<b>Tris-HCl</b>	800 TL
<b>Diyaliz Membranı</b>	4500 TL
<b>Hizmet Alımı (SEM, XRD ve FTIR)</b>	1000 TL
<b>TOPLAM</b>	6750 TL

Tablo 1. Tahmini Maliyet Planlaması

Faaliyet	Dönem		
	Haziran	Temmuz	Ağustos
<b>Tasarım ve Araştırma</b>	•		
<b>Malzeme Alımı</b>	•		
<b>Ekstraksiyon İşlemleri</b>		•	
<b>Karakterizasyon</b>		•	
<b>Dolgu Maddesi ve Membran Üretimi</b>			•
<b>Karakterizasyon</b>			•

Tablo 2. Proje Zaman Planlaması

### 8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar) (5 puan)

Periodontitis çok yaygın görülen bir hastalıktır ve dünya çapında en yaygın ikinci diş hastalığı olarak kabul edilir. Periodontitisin sıklıkla insanların sosyal yaşamını etkilediği bildirilmektedir ve daha yüksek stres ile ilişkili olduğundan sosyoekonomik ölçeğin üst ucundaki insanlardan daha çok alt kesimlerde görülüp bu kesim daha sık acı çekmektedir.

Araştırmalara göre kronik periodontitisin, 2015 yılında küresel olarak 538 milyon kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 30 yaşın üzerindeki

yaklaşık yarısında ve 65 yaşın üzerindekiilerin yaklaşık olarak %70'inde bu hastalık görülmektedir. Ayrıca erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir [28].

Aynı zamanda periodontitis, sadece insanlarda değil hayvanlarda da sık görülen bir hastalıktır. İki yaşından büyük köpeklerin %80'inden fazlasını etkilemektedir. Dolayısıyla periodontitis tedavisi için önerdiğimiz kemik rejenerasyonuna yönelik çalışmanın araştırmacılara, diş hekimlerine, cerrahlara ve veterinerlere hitap edeceği düşünülmektedir.

## 9. Riskler (10 puan)

- Diş membranının bozunma hızının hedef değerlere ulaşması etkin bir tedavinin sağlanması açısından önemlidir. Örneğin değişen fizyolojik koşullarda hidrojel ağlarının şişmesi ve büzülmesinin kontrolü sağlanamadığında membran çok hızlı bir şekilde bozularak vücuttan atılabilir veya membranın mekanik özelliklerini olumsuz etkileyebilir. Bu problemi ortadan kaldırmak için sentetik prosedürlerle uyarlama yapılabilir veya hidrojeller, biyomoleküller, tuz veya nanopartiküller ile formüle edilebilir.
- Dolgu malzemesinin kemik rejenerasyonunu sağlayacak kadar yeterli sürede ortamda kalmaması, bütünlüğünün kaybolması ile kemik dokunun sabitlenememesi ve yüksek miktarda bozulma ve parçacık ayrışması sonucu lokal enflamasyonun artması oluşabilecek riskler arasındadır. bu problemi gidermek için ise Kontrollü bozunum için dolgu maddesini bileşenleri arasında çapraz bağlama ve farklı çapraz bağlama derecelerini denetlenebilir [29,30].



## 10. Kaynaklar (5 puan)

- [1] “Diş Eti Çekilmesi ( Periodontitis ) Nedir? Nasıl Tedavi Edilir?” <https://www.acibadem.com.tr/ilgi-alani/dis-eti-cekilmesi/ACIBADEM> (Erişim Tarihi : 12 Mart 2022)
- [2] B.L. Pihlstrom, B.S. Michalowicz, N.W. Johnson *Lancet*, 366 (2005), p. 1809.
- [3] M.C. Bottino, V. Thomas, G. Schmidt, Y.K. Vohra, T.G. Chu, M.J. Kowolik, G.M. Janowski *Dent. Mater.*, 28 (2012), p. 703.
- [4] P.A. Norowski, J. Babu, P.C. Adatrow, F. Garcia Godoy, W.O. Haggard, J.D. Bumgardner *J. Biomater. Nanobiotechnol.*, 3 (2012), p. 528.
- [5] J.P. Fiorellini, D.M. Kim, Y. Nakajima, H.P. Weber *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, 27 (2007).
- [6] Philip M Preshaw 1, Robin A Seymour , Peter Bir Heasman (2004) "Current Concepts in Periodontal Pathogenesis". *DentalUpdate*. 31 (10); 570–578.
- [7] Dewhirst FE, Klein EA, Thompson EC, Blanton JM, Chen T, Milella L, Buckley CM, Davis IJ, Bennett ML, Marshall-Jones ZV (2012). "The canine oral microbiome". *PLoSOne*. 7 (4). e36067. Bibcode:2012PLoSO...736067D.
- [8] Yunia DwiRakhmatiaDDS, Yasunori AyukawaDDS, PhD Kiyoshi KoyanoDDS, PhD “Current barrier membranes: Titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications” <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2012.12.001>
- [9] Neves, José Guilherme, et al. (2022) "Calcium phosphates Chitosan-Xanthan composite scaffolds associated with mesenchymal stem cells for regenerative dentistry application." *Ceramics International*.
- [10] Chen, Zong-Ju, et al. "A new cancellous bone material of silk fibroin/cellulose dual network composite aerogel reinforced by nano-hydroxyapatite filler." *International Journal of Biological Macromolecules* 182 (2021): 286-297.
- [11] Haciosmanoğlu, K., 2018, Elektro-eğirme yöntemiyle elde edilen kollajen nanofiberlerin alternatif yöntemler kullanılarak dayanıklılığının artırılması, Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Medeniyet Üniversitesi. (syf.5-36).
- [12] Lee, C. H., Singla, A., & Lee, Y. (2001). Biomedical applications of collagen. *International journal of pharmaceuticals*, 221(1-2), 1-22.
- [13] Kikuchi, Manasori . (2013) Hydroxyapatite/Collagen Bone-Like Nanocomposite. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Volume 36 Issue 11 Pages 1666-1669.
- [14] Lee, Donghyun, et al. "Preparation of antibacterial chitosan membranes containing silver nanoparticles for dental barrier membrane applications." *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 66 (2018): 196-202.
- [15] Yu-BeyWubShu-Huei YueFwu-LongMiaChung-WeiWubShin-ShingShyucChih-KangPengBAn-ChongChaod (2004) "Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitosan/cellulose blends " *Carbohydrate Polymers* Volume 57, Issue 4, Pages 435-440.
- [16] Trilokesh, C., Uppuluri, K.B. Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from jackfruit peel. *Sci Rep* 9, 16709 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53412-x>.
- [17] Yang, X., Reid, M.S., Olsén, P., Berglund, L.A. (2019). Eco-Friendly Cellulose Nanofibrils Designed by Nature: Effects from Preserving Native State. *ACS Nano* 2020, 14, 1, 724–735.
- [18] Kazharska, M., Ding, Y., Arif, M., Jiang, F., Cong, Y., Wang, H., Zhao, C., Liu, X., Chi, Z., Liu, C. Cellulose nanocrystals derived from *Enteromorpha prolifera* and their use in developing bionanocomposite films with water-soluble polysaccharides extracted from *E. Prolifera*. *Int J Biol Macromol* 2019 Aug 1;134:390-396. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.05.058.
- [19] Espino, E., Cakir, M., Domenek, S., Román-Gutiérrez, D.A., Belgacem, N., Bras, J. Isolation and

characterization of cellulose nanocrystals from industrial by-products of Agave tequilana and barley. *Industrial Crops and Products* Volume 62, December 2014, Pages 552-559.

[20] Prasanna, N.S., Mitra, J. Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from Cucumis sativus peels. *Carbohydrate Polymers* Volume 247, 1 November 2020, 116706.

[21] Nandi, S., Guha, P. A Review on Preparation and Properties of Cellulose Nanocrystal-Incorporated Natural Biopolymer Cellulose nanocrystals derived from Enteromorpha prolifera and their use in developing bionanocomposite films with water-soluble polysaccharides extracted from E. prolifera. *Materials Science Journal of Packaging Technology and Research*. Published 13 June 2018. doi:10.1007/S41783-018-0036-3.

[22] Demir, M. (2019). Yönlendirilmiş doku rejenerasyonuna yönelik PCL/kitosan içeren formülasyonların geliştirilmesi. Ankara: TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü. [Yayınlanmamış yüksek lisans tezi]

[23] Wu, Y. B., Yu, S. H., Mi, F. L., Wu, C. W., Shyu, S. S., Peng, C. K., & Chao, A. C. (2004). Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitosan/cellulose blends. *Carbohydrate Polymers*, 57(4), 435-440.

[24] Gaspar-Pintiliescu, Alexandra, et al. "3D Gözenekli Pansuman Olarak Şartlandırılmış Karadeniz Çipurası (Sparus aurata)'nın Atılan Derisinden İzole Edilmiş Denatüre Edilmemiş Tip I Kollajenin Geliştirilmiş Yara İyileştirme Aktivitesi." *Kimya ve Biyoçeşitlilik* 18.8 (2021): e2100293.

[25] [26] Ahmad Fara, Ahmad Norman Khalis, Mohd Azha bin Yahya, and Hasan Zuhudi Abdullah. "Preparation and characterization of biological hydroxyapatite (HAp) obtained from Tilapia fish bone." *Advanced Materials Research*. Vol. 1087. Trans Tech Publications Ltd, 2015

[27] Landi E, Tampieri A, Celotti G, Sprio S. Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites. *J Eur Ceram Soc* 2000;20:2377-2387.

[28] Uzun, İsmail Hakkı, and Funda BAYINDIR. "Dental materyallerin biyoyumluluk test yöntemleri." *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 28.2 (2011): 115-122.

[29] CC Lin , KS Anseth Rejeneratif tıpta biyomoleküllerin kontrollü salınımı için PEG hidrojelleri *Farmasötik Araştırma* , 26 ( 2009 ) , s. 631.

[30] AK Gaharwar , SA Dammu , JM Canter , CJ Wu , G. Schmidt Poli(etilen glikol) ve hidroksiapatit nanoparçacıklarından yüksek oranda uzayabilir, sağlam ve elastomerik nanokompozit hidrojeller *Biyomakromoleküller* , 12 ( 2011 ) , s. 1641.

**TEKNOFEST**  
HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ