



Katkısız ve Gümüş Katkılı Hidroksiapatitin Fiziksel ve Kimyasal Karakterizasyonu

Physical and Chemical Characterization of Pure and Silver Doped Hydroxyapatite

Mustafa B. Türköz¹, Ümit Erdem²

¹ Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği, Karabük Üniversitesi, 78050, Karabük, TÜRKİYE

² Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kırıkkale Üniversitesi, 71450, Kırıkkale, TÜRKİYE

Başyuru/Received: 13/03/2019

Kabul/Accepted: 29/04/2019

Son Versiyon/Final Version: 30/06/2019

Öz

Bu çalışmada çöktürme yöntemiyle nano boyutlu katkısız Hidroksiapatit (HAp) ve %0,05, %0,20, %0,40 (w/v) oranlarında Ag(I) iyonu katkılanmış HAp örnekleri üretilerek, bu örneklerin fiziksel ve kimyasal karakterizasyonları yapılmıştır. Kimyasal yapı ve kristalografik incelemede XRD, yüzey morfolojisi incelemesinde SEM, elementel analizde SEM-EDS ve ICP-OES, tane boyut incelemesinde Zeta Sizer, bileşen gruplarının belirlenmesinde FTIR, yoğunluk ölçümü için Archimed yöntemleri kullanılmıştır. XRD sonuçlarına göre, katkısız HAp için $2\theta=31,77$ olarak belirlenmiştir. Katkı oranlarındaki değişimin yüzey morfolojisine net bir etkisinin olmadığı SEM sonuçlarından elde edilmiştir. EDS ile Ca/P oranı katkısız HAp için 1,668 olarak bulunmuştur. SEM ve Zeta Sizer ölçümlerinden 100-500 nm aralığında tane boyutları elde edilmiştir. Üretilen örnekler için yoğunluk değeri 3,051 - 3,140 gr/cm³ olarak ölçülmüştür. Tüm bu sonuçların ışığında, üretimi yapılan katkısız ve Ag(I) katkılı örnekler literatürle uyumlu ve biyolojik çalışmalarda kullanılabilir özelliklerde olduğu anlaşılmaktadır.

Anahtar Kelimeler

"Hidroksiapatit, Gümüş, Dentin, Tübül"

Abstract

In this study, nano-sized pure HAp and 0.05%, 0.20%, 0.40% (w / v) Ag (I) ion-doped HAp samples were produced by precipitation method also physical and chemical characterization of these samples were made. According to the XRD results, $2\theta= 31.77^\circ$ for pure HAp. No significant changes were observed in the 2θ values according to the silver dopping rate. From the SEM images, it was observed that the change in the dopping rates did not have a clear effect on the surface morphology. The Ca / P ratio with the SEM were 1.6685 for HAp. The Ca / P ratio for pure HAp in ICP-OES device was found to be 1.6630. Grain size mean values of samples were measured 100-400 nm. FTIR results were consistent with the literature. From the produced samples, the density value for pure HAp was found to be 3,051 gr / cm³. It was observed that the densities of Ag (I) -HAp powders increased as the contribution ratio increased. In the light of all these results, it is understood that the pure and silver doped samples are compatible with the literature and can be used in biological studies.

Key Words

"Hydroxyapatite, Silver, Dentin, Tubule"

1. Giriş

Ağız hijyeni bilincinin eksik olması, yeme, içme alışkanlıkları ve bakteriyel metabolizmalardan kaynaklanan asit saldırıları, dişin sert dokularında mineral erimesine ve diş sağlığının bozulmasına neden olabilir (Chu, Lo, and Lin 2002, Llodra et al. 2005, Tan et al. 2010, Zhang et al. 2013). Bu olumsuz etkiler sonucunda dişte meydana gelen aşınmalar, diş tübül yüzeylerinin açılmasına sebep olarak diş hassasiyeti ve diş çürüklerinin oluşmasına yol açabilirler (Earl et al. 2011, Arnold, Prange, and Naumova 2015). Bunun sonucunda soğuk, sıcak veya dokunsal uyarıcılar ağrılara sebep olurlar (Gysi 1900, Byers and Dong 1983, Hirvonen and Narhi 1986). Dentin tübüllerindeki açıklıktan kaynaklanan ağrılarla ortaya çıkan şikâyet, ilk olarak 1964 yılında Brannstrom tarafından “dentin hassasiyeti” olarak adlandırılmıştır (Brännström and Åström 1964). Bu tanının tedavisi için kullanılan yaygın iki yöntemden birisi dentin geçirgenliğini azaltarak dentin içinde sıvı akışlarının önlenmeye çalışıldığı tübül tıkama yöntemidir (Addy and Mostafa 1988, Pashley et al. 1978). Tübül tıkama yönteminde hidroksiapatit (HAp), stronsiyum tuzları (klorür, asetat), kalsiyum sodyum fosfosilikat, kalsiyum karbonatlı ajanlar, oksalatlar, florür bileşikler ve çeşitli fonksiyonelleştirici moleküller içeren nanopartiküller kullanılmaktadır (Earl et al. 2011, Addy and Mostafa 1988, Lee, Kwon, and Kim 2008, Lavender et al. 2010, Cummins 2011, Cunha-Cruz et al. 2011, Wang et al. 2014).

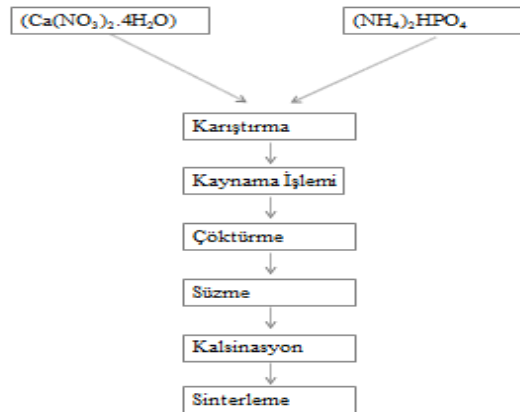
Açığa çıkan dentin tübüllerinin fonksiyonel açıklıklarını önemli ölçüde bloke edebilen veya kısmen azaltabilen ve daha sonra tübüller içindeki sıvı akışını azaltabilen biyoaktif potansiyeli olan materyaller geliştirmeye çalışılmaktadır (Arnold, Prange, and Naumova 2015, Gysi 1900, Byers and Dong 1983, Hirvonen and Narhi 1986). Diş minelerinin %95' inden fazlası HAp kristallerinden oluşur (Cummins 2011) ve dişteki dikkate değer HAp mineral oranı dentin tübüllerinin tıkanması çalışmalarında HAp'yi diğer malzemelerin önüne geçirmektedir (Chiang et al. 2010). Aynı zamanda, HAp'nin toksik olmaması, lifli bir yapısının olmaması, iltihabik bir etkisinin olmaması ve immünolojik reaksiyonlara sebep olmaması gibi biyolojik özellikleri nedeniyle tercih edilen ve kullanılabilen bir biyomalzemedir (Vallet-Regí 2006). Bununla birlikte HAp, insanın doğal kemik yapısıyla özdeş bir kimyasal yapıya ve yüksek biyouyumluluğa sahiptir (Kweh, Khor, and Cheang 1999). Bu özelliğinden dolayı HAp vücut içerisinde yapılacak uygulamalarda, vücuttaki fizyolojik sıvılar ile temas ettiğinde fizyolojik çevre ile çözünme, çökeltme ve iyon değişimi gibi kimyasal reaksiyonlar sonucunda vücut için zararlı olabilecek reaksiyon ürünleri ortaya çıkarmamaktadır. Bu durum HAp' nin kemik hücresiyle etkileşip, kemik dokusuna bağlanma yeteneği olabilen ve doğal dokunun kendi kendini tamir ettiği yapıyı taklit edebilen dinamik bir biyomalzeme olarak adlandırılmasını sağlamaktadır. Kimyasal ve fiziksel yapısından kaynaklı biyoaktif özellikleri ile mineralizasyon sürecine de katkı sağlamaktadır (Vallet-Regí 2006, Kweh, Khor, and Cheang 1999).

Bu çalışmada, diş yüzeyinin onarılmasında kullanılmak üzere, çöktürme yöntemiyle nano boyutta HAp sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, çöktürme metoduyla (Addy and Mostafa 1988) nano boyutlu katkısız HAp ve %0,05, %0,20, %0,40 (w/v) oranlarında Ag(I) iyonu katkılanmış HAp örnekleri üretilerek, bu örneklerin fiziksel ve kimyasal karakterizasyon parametreleri açıklanacaktır. Fizikokimyasal karakterizasyon işlemi; kimyasal yapı ve kristalografik incelemede XRD, yüzey morfolojisi incelemesinde SEM, elementel analizde SEM-EDS ve ICP-OES, tane boyut incelemesinde Zeta Sizer ve SEM, Ca/P oranının belirlenmesinde SEM-EDS ve ICP-OES, bileşen gruplarının belirlenmesinde FTIR, yoğunluk ölçümü için Archimed yöntemi kullanılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1 Hidroksiapatit Tozlarının Üretimi

HAp Sentez Yöntemleri bölümünde açıklanan ve üretim süreçleri için referans alınan çöktürme metodunda (Turkoz, Atilla, and Evis 2013) Şekil 2.1'de gösterilen aşamalar uygulanarak üretim yapılmıştır.



Şekil 2.1 Reaksiyon 1 HAp üretim aşamaları

Katkısız HAp üretimi için, Ca/P = 1,67 olacak şekilde, (NH₄)₂HPO₄ ve (Ca(NO₃)₂·4H₂O) tuzları uygun oranlarda tartılarak belli bir miktar saf su eklenip, gözle görünür bir çözünme elde edilinceye kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Yeterli çözünmenin elde edilmesinden sonra her iki çözelti karıştırılmıştır. Elde edilen karışım kısa bir süre kaynatıldıktan sonra 12

saat karıştırma işlemi uygulanmıştır. Karıştırma işleminden sonra oluşan süspansiyonun çökmesi için belirli bir süre bekletilmiş, sonrasında ise süzme işlemi yapılmıştır. %0,05 - %0,20 - %0,40 Ag(I) iyon katkılı HAp üretimi için, Ca-Ag/P =1,67 olacak şekilde uygun miktarlarda $(NH_4)_2HPO_4$, $(Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O)$ ve $AgNO_3$ kullanılmış ve katkısız HAp için geçerli aşamalar tekrarlanarak Ag katkılı Ag(I)-HAp örnekleri üretilmiştir.

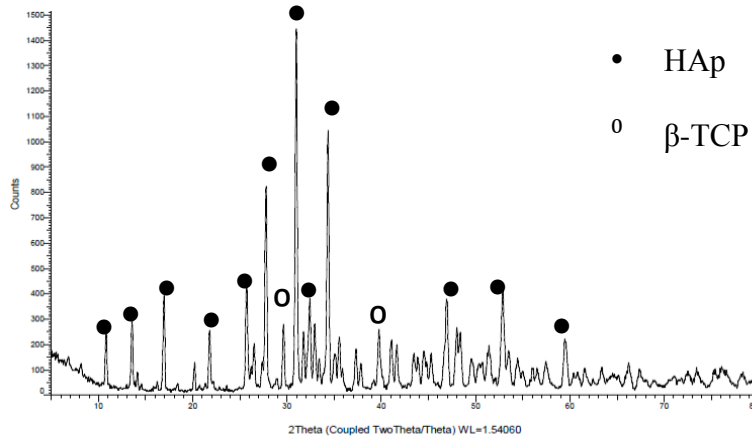
2.2 Hidroksiapatit Tozlarının Karakterizasyonu

HAp tozlarının kristalografik özelliklerinin karakterize edilmesi için, bakır (Cu) X-ışını tüpüne sahip, 40 kV ve 40 mA' da, 1,544 Å dalga boyunda ve Cu $K\alpha$ X-ışınlarına sahip XRD cihazı kullanılmıştır. XRD analizinde 2θ tarama aralığı 10° ile 80° arasında ve çözünürlük $0,1^\circ$ olarak seçilmiştir. Aynı zamanda Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi (JCPDS) tarafından HAp için belirlenen (JCPDS no. 09-0169 ve JCPDS no. 09-0432) dosya numarası ile tanımlanan karakteristik HAp indis değerleri her bir açı için dikkatlice incelenmiştir ve 09-0432 koduna göre referans 2θ açı değerleri kullanılarak faz tanımlama işlemi yapılmıştır. Üretilen katkısız HAp ve %0,05, %0,20, %0,40 katkı oranlı Ag(I)-HAp örneklerinin kristalografik incelemesinin yapılması amacıyla XRD çalışması yapılmıştır. Elde edilen XRD grafikleri üzerinde tepe noktalarına karşılık geldiği 2θ açı değerlerinin literatürle karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte XRD çalışmasından HAp için a ve c örgü parametreleri cihaz çıktısı olarak elde edilmiştir. Üretilen malzemenin yüzey morfolojisinin incelenmesi, tane yapıları ve boyutları ile Ca/P oranlarının belirlenmesi için SEM-EDS ve ICP-OES cihazları kullanılmıştır. SEM ile elde edilen tane boyut değerleri Zeta Sizer cihazıyla elde edilen tane boyut değerleriyle karşılaştırılmıştır. Tane boyut analizi için Zeta Sizer cihazı ile Mie Teorisi (Jones 2003) kullanılarak ISO 14887'ye uygun olarak yapılmıştır. Cihaz programıyla verilen ortalama tane boyut değerlerinin, SEM incelemesi sonucunda elde edilen değerlerle uyumluluğu değerlendirilmiştir. Bileşen gruplarının belirlenmesi için FTIR kullanılmıştır. FTIR spektroskopisi, birçok malzemenin kimyasal yapısını belirleme de kullanıldığı gibi, CaP ürünlerinin de kimyasal analizinde sıklıkla kullanılmaktadır (Ślósarczyk, Paszkiewicz, and Paluszkiwicz 2005, Destainville et al. 2003). Bu analiz sonucunda elde edilen spektrum piklerin konum, yoğunluk, genişlik ve dalga sayısı gibi bilgileri göstererek, ürünün fonksiyonel gruplarının yorumlanmasında katkı sağlamaktadır. Ayrıca örneklerin yoğunluk ölçümü için Archimed yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen yoğunluk değerlerindeki değişim, katkı oranındaki değişime göre incelenmiştir. Üretilen katkısız HAp ve Ag(I) katkılı HAp örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ISO 13779-1 (DIN Deusches Institut für Normen e.V. 2007), ASTM F1185 (ASTM 2013), ASTM E2149 (ASTM 2013) ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi (U.S. Food and Drug Administration 1992) tarafından belirtilen kriterlere uygunluğu kontrol edilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

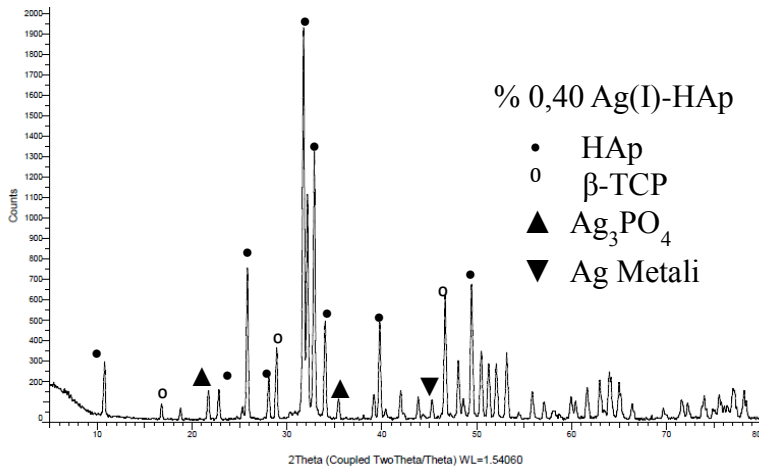
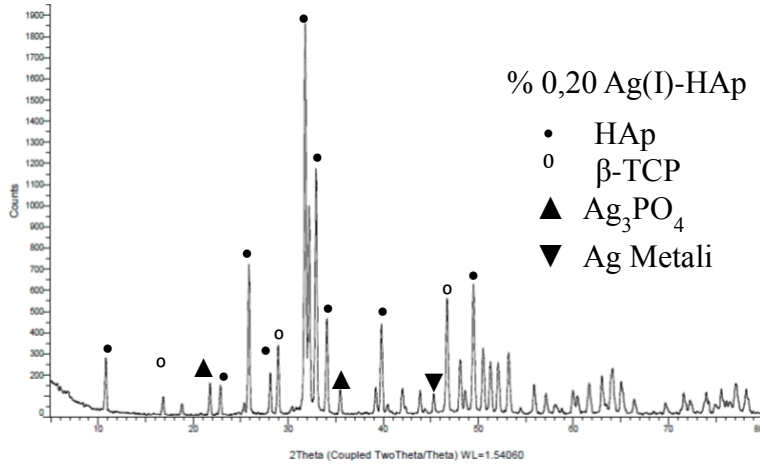
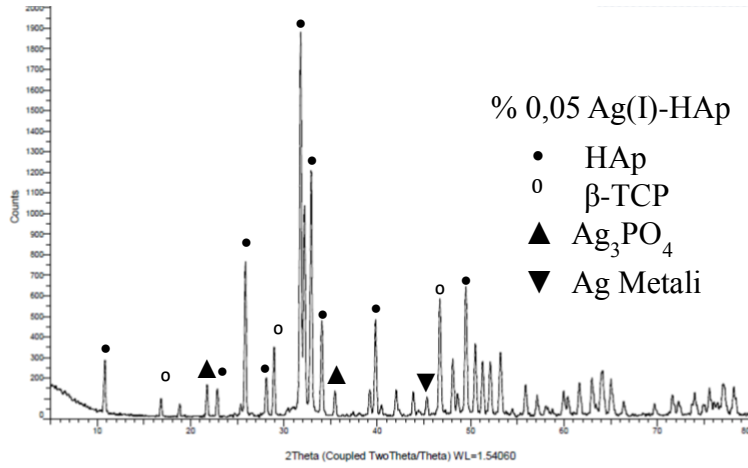
3.1 Faz Tanımlama ve Faz Safsızlığı İncelemesi

Katkısız HAp ve % 0,05, %0,20, %0,40 gümüş katkılı Ag(I)-HAp örneklerinin XRD desenleri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de gösterilmiştir. XRD grafikleri üzerinde HAp, β -TCP, CaO, Ag ve Ag_3PO_4 için karakteristik olan 2θ açı değerleri gösterilmiştir. Katkısız HAp ve gümüş katkılı Ag(I)-HAp örneklerinin XRD desenlerinin HAp' nin sahip olduğu karakteristik XRD desenine çok benzediği bulunmuştur. Bununla birlikte sırasıyla katkısız HAp, % 0,05, % 0,20 ve %0,40 katkılı için sırasıyla $2\theta=31,77^\circ$, $31,80^\circ$, $32,02^\circ$, $31,90^\circ$ olarak elde edilmiştir. Gümüş katkılama oranına göre 2θ değerlerinde dikkate değer bir değişim gözlenmemiştir. Katkılama oranlarında ciddi bir fark olmadığından 2θ değerlerinde ciddi bir fark zaten beklenmemektedir. Gümüş eklenen tüm HAp örneklerinin XRD desenlerinde gösterildiği gibi gümüş fosfat (Ag_3PO_4) ve gümüş metali (Ag) varlığı gözlenmiştir. Artan gümüş içeriği ile birlikte, Ag_3PO_4 piklerinin şiddetinde katkı oranıyla orantılı bir artış da gözlenmiştir. Bununla beraber her bir grup için $2\theta=45,31^\circ$ 'de küçük tepe noktası metal gümüşün varlığını göstermektedir. Ayrıca yaklaşık $2\theta=20^\circ$ ve 36° açı değerlerinde Ag_3PO_4 varlığı tespit edilmiştir. Alınan XRD sonuçlarına göre tüm XRD modellerinin kalsiyum fosfatlar için geçerli Uluslararası Kırılma Verileri Merkezi (ICDD) dosyaları ile tutarlı karakteristik zirvelere sahip olduğu görülmüştür. XRD analizi sonucunda üretimi yapılan HAp' nin faz safsızlığı %99,05 ($\pm 0,5$), a = 9,4263 ($\pm 0,04$) (9,4420 nm (Puajindanetr 1993)) ve c= 6,8944 ($\pm 0,04$) nm (6,8800 nm (Puajindanetr 1993)) örgü parametreleri belirlenmiştir. Kaydedilen örgü parametre değerleri ile elde edilen XRD modelleri literatürde bulunan tipik HAp karakterizasyonları ile birebir uygun olduğu görülmüştür (Kweh, Khor, and Cheang 1999, Turkoz, Atilla, and Evis 2013) (Puajindanetr 1993, Smičiklas, Onjia, and Raičević 2005).



Şekil 3.1 Üretilen HAp XRD sonucu

XRD modellerinde elde edilen sonuçlara göre HAp ve farklı gümüş katkılı Ag(I)-HAp örneklerinin hepsinde CaO'nun eser elementleri gözlemlenmemesine rağmen çok az miktarda β -TCP fazına ait pikler gözlemlenmiştir. β -TCP fazı Ag(I)-HAp' ler için HAp'den daha fazla gözlemlenmiştir. Ca'dan eksiltme olarak yapılan Ag ilavesinin bir sonucu olarak Ca oranındaki azalma ile Ag(I)-HAp' lerde HAp' den daha fazla β -TCP fazı gözlemlenmiştir. Üretim aşamalarında Ca ve P grupları öncelikle kendi aralarında çözelti haline getirilip daha sonra birbirleriyle karıştırılmaktadır. ICP-OES cihazıyla belirlenmeye çalışılan Ca ve P' nin reaktif oranlarına göre Ca ve P' nin bütünü reaksiyona girmemektedir. Reaksiyona giren Ca ve P varlığı Ca/P molar oranını sağlamaktadır. Reaksiyona girmeyen Ca ve P' lerin süzdürme işlemiyle tam uzaklaştırılmaması HAp kirliliğine neden olacaktır. Reaksiyona fazla Ca girmesi ya da fazla P girmesi yapının safsızlığını etkileyeceğinden bu durum çok istenmemektedir (Puajindanetr 1993, Hellmich, C. and Ulm 2002). Çöktürme yöntemiyle elde edilen HAp'lerde saf olmayan yapılar ya da tam HAp olmayan apatitler ısıtma sırasında ayrışır (Kweh, Khor, and Cheang 1999, Turkoz, Atilla, and Evis 2013).



Şekil 3.2 Üretilen Ag(I)-HAp XRD sonucu

Safsızlık üzerinde etkisi olduğu için istenmeyen bu durumlar aslında Ca/P molar oranı 1,67'yi aştığı ya da altında kaldığı durumlardır. Ca/P molar oranı 1,67'yi aşarsa, fazla Ca varlığı CaO oluşmasına, Ca/ P molar oranı 1,67'nin altında kalması

durumunda ise fazla P varlığı da β -TCP fazının oluşmasına neden olacaktır (Kweh, Khor, and Cheang 1999, Smičiklas, Onjia, and Raičević 2005). Bu iki sonucun ortaya çıkmaması için başlangıç reaktif oranları dikkatlice ayarlanmalıdır. Reaksiyona girmeyen Ca ve P süzdürme işlemiyle düzgün bir şekilde uzaklaştırılmalıdır. $(Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O)$, $(NH_4)_2HPO_4$, NH_3 , $AgNO_3$ ana girdi ürünlerin reaksiyonu sonucunda oluşan $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ HAp formülü, çöktürme metodu içerisinde gerçekleştirilen kurutma ve sinterleme işlemleri sonucunda $20NH_4NO_3$ ve $6H_2O$ bileşenlerinin yapıdan ayıldığını göstermektedir. Bununla beraber üretim için kullanılan ana girdi ürünlerinin safsızlığı da elde edilecek ürünün saflılığını etkileyeceğinden önemlidir. Üretilen HAp örneklerinin sahip olabileceği kirlilikler ya da yabancı iyonlar XRD analizi ile açıkça belirlenebilmektedir. Elde edilen XRD sonuçlarına göre üretim aşamasında kullanılan girdi ürünlerinde az miktarda da olsa bulunabilen sodyum (Na^{2+}), amonyum (NH_4^+), potasyum (K^+), klorür (Cl^-) ve nitrat (NO_3^-) (Hellmich, C. and Ulm 2002) gibi iyonların üretilen örneklerde bulunmadığı görülmüştür. Bu iyonlar üretilen HAp' nin safsızlığına direkt etki edebilen iyonlar olarak kristal örgü içine kolayca dâhil olabileceğinden (Kweh, Khor, and Cheang 1999, Puajindanetr 1993), XRD modelinde bulunmamaları üretim metodunun etkinliğini ve reaksiyon sentezinde kullanılan ana malzemelerin safsızlığını göstermektedir. HAp sentezlenmesi aşamasında tercih edilen çöktürme yönteminin etkinliği XRD modelinden elde edilen sonuçlarla da doğrulanmıştır.

Bu çalışma içeriğinde HAp ve farklı oranlarda Ag(I) iyonları katkılanmış Ag(I)-HAp tozları oda sıcaklığında üretilmiştir. Düşük sıcaklıklar ya da oda sıcaklığı gibi bir değerde sentezlemenin HAp saflığı üzerindeki etkisi çok sayıda araştırmacı tarafından incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda 20 ± 2 °C reaksiyon sıcaklığının önemi vurgulanmıştır (Keskin A 2000, Giuca et al. 2010, Touger-Decker and Van 2003, Hardie 1982, Verron, Boulter, and Guicheux 2012). Bu çalışma içeriğinde yapılan XRD sonuçlarına göre reaksiyon için tercih edilen laboratuvar şartlarının 20 ± 2 °C sıcaklığının uygunluğu ile HAp üretimi için kritik bir sıcaklık olduğunu görülmüştür. Tercih edilen bu sıcaklık değerleri, üretim esnasında çözeltilerin karıştırma hızlarına ve sürelerine dikkat edilmezse nihai örneklerin kalitesine doğrudan etki etmektedir. Bu sıcaklıklarda yavaş bir karıştırma hızı (100 rpm) ve kısa bir süre tercih edilirse reaksiyon gerçekleşme hızı yavaşlayacağından yabancı fazların oluşmasına neden olabileceği bildirilmiştir (Seckler et al. 2005). Üretim esnasında 12 saat gibi bir karıştırma süresinin CaO fazlarının varlığını önemli ölçüde azalttığı bilindiğinden yapılan çalışma sonucunda elde edilen XRD modelinde CaO fazının bulunmaması, tercih edilen karıştırma hızının ve süresinin uygunluğunu göstermektedir. Hızlı tercih edilen karıştırma hızının yanında çok yavaş karıştırma hızı Monetit (DCPA), Brushite (DCPD), TCP, CaO gibi fazların oluşmasına neden olduğundan (Seckler et al. 2005) karıştırma hızı ve karıştırma süresi sıcaklıkla beraber optimize edilmiştir. Çözeltilerin karıştırılmasından sonra gerçekleştirilen çöktürme süresi de nihai HAp' nin kalitesi üzerinde etki edeceğinden çöktürme işlem süresini uzun tutmak tavsiye edilmektedir (Seckler et al. 2005). Elde edilen XRD modellerine göre bu çalışma içeriğinde uygulanan 12 saatlik çöktürme süresinin yeterli bir süre olduğu sonucu elde edilmiştir. Üretim parametreleri içinde nihai HAp ürününün kalitesi üzerindeki etkili faktör kalsinasyon ve sinterleme işlemlerinde tercih edilen sıcaklıklar ve uygulama süreleridir (Seckler et al. 2005). Kurutma işleminde amaç reaksiyon sonucunda açığa çıkan uçucuların yapıdan çıkarılmasıdır. Bu kurutma işleminde en düşük sıcaklıkta uçabilecek gruba göre ayarlanmalıdır. Kurutma süresi az tercih edilen çalışmalar da yine CaO ve β -TCP gibi fazların oluşmasına neden olacağı bildirilmiştir (Seckler et al. 2005). Kurutma ve sinterleme sıcaklığı malzemenin yüzey morfolojisi üzerinde de etkili olduğundan dikkatlice optimize edilmiştir. Sinterleme sıcaklığı ve süresi malzemenin morfolojisi, tane yapısı ve tane boyutu üzerinde etkili olduğundan HAp' nin mekanik özelliklerine de etki etmektedir (Turkoz, Atilla, and Evis 2013). Bu çalışmada bu etki SEM cihazı ile morfolojik olarak incelenmiştir. XRD analizi sonucunda çalışma içeriğinde tercih edilen $200^\circ C$ ve 12 saatlik kurutma sıcaklığının ve süresinin, $1100^\circ C$ ve 1 saatlik sinterleme sıcaklığının ve süresinin uygun HAp malzemeleri elde etmek için ideal değerler olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

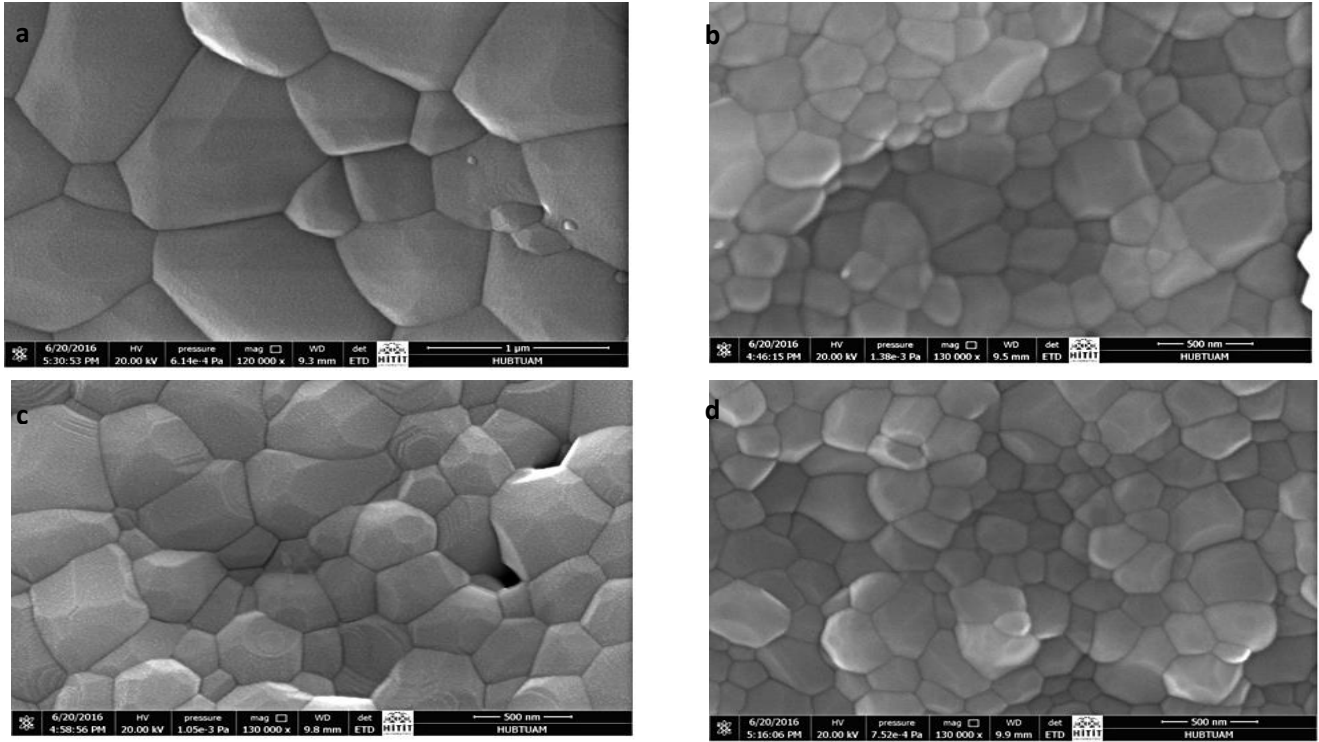
Bu çalışma içeriğinde tercih edilen çöktürme metodunda uygulanan reaksiyondaki hammaddelerin nihai ürün üzerinde etkili olmakla beraber safsızlığa etki edecek kirlenici etkilerinin çok az olduğu görülmüştür. Bununla beraber bu reaksiyonda kullanılan yüksek sinterleme sıcaklığı da nihai ürün üzerinde olabilecek kirlenmeleri ortadan kaldırması da avantajlı bir durum olarak değerlendirilmiştir. XRD piklerinin pik alanları dikkatle incelendiğinde (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2) dar zirvelere sahip bir sonuç gözlenmiştir. Dar pik alanları daha büyük kristallenmeyi geniş pik alanları ise daha az kristallenmeyi göstermektedir (Kweh, Khor, and Cheang 1999). Çalışma içeriğinde değerlendirilen HAp örneklerinin sahip olduğu dar ve uzun pik varlığı kristallenmenin uygunluğunu göstermektedir.

3.2 Yüzey Morfolojisi İncelemesi

Bu çalışmada, görüntüleme işleminde yüksek çözünürlük oluşturduğu için SEM tercih edilmiştir. Üretilen katkısız HAp ve %0,05 - %0,20 - %0,40 Ag(I) iyonları katkılanmış Ag(I)-HAp biyomalzemelerinin SEM görüntüleri Şekil 3.3'de gösterilmiştir. Her iki grup için yapılan çalışma sonucunda elde edilen SEM görüntülerinde yoğun ve bal peteği desenli bir morfoloji gözlemlenmiştir. HAp' nin morfolojik olarak değerlendirmesinden beklenen az deformeli, düzgün dağılımlı, küresel ve düzenli şekilli parçacıklara sahip olduğu görülmüştür. Üretimde kullanılan çöktürme yöntemi parametreleri, her bir örnek için aynı tutulduğundan yüzey morfolojileri üzerine etki edebilecek tek etken iyon katkılama ve bu iyonların katkı oranlarıdır. Bu çalışma içeriğinde elde edilen SEM görüntülerine göre seçilen katkı oranlarındaki değişimin yüzey morfolojisine net bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Ancak bu katkı oranındaki artışın morfolojiyi değiştirmeyeceği anlamına gelmemektedir. Yüzey morfolojisinde katkılama oranına göre değişimin incelendiği bir çalışma da morfoloji değişimi için kritik bir değer tanımlanmıştır (Turkoz, Atilla, and Evis 2013). Belirtilen çalışmada Ag(I) iyonu katkılanmış HAp için %2 gibi bir değerden sonra morfolojisinin düzensiz ve tanelerde ısıl işlem izlerinin gözlemlendiği bildirilmiştir (Turkoz, Atilla, and Evis 2013). Yaptığımız çalışma için tercih edilen katkı oranları için bu denli keskin farklılıklar gözlenmemiştir.

Üretilen katkısız HAp tozlarının yüzey morfolojisi üzerine etki eden en önemli üretim parametresi sinterleme sıcaklığıdır (Kweh, Khor, and Cheang 1999). Yüzey düzgünlüğünü arttırmak için sinterleme sıcaklığı yüksek bir değer ve çöktürme süresi için en az 12 saatlik bir süre ve ideal bir Ca/P oranı seçilmesi (Kweh, Khor, and Cheang 1999; Turkoz, Atilla, and Evis 2013) gerektiği, almış olduğumuz SEM görüntüleriyle de doğrulanmıştır. $1100^\circ C$ ve 1 saat olarak ayarlanan sinterleme işlemi ile

düzenli, pürüzsüz, bal peteği desenli ve nano boyutta HAp parçacıklarının olduğu görülmüştür. HAp' nin sahip olduğu bu pürüzsüz yüzey, yüzeye yapışma ve/veya tutunma ihtimalini azaltacağından diş tedavilerinde diş yüzeyine mikroorganizmaların tutunmasını engelleyen ideal bir yüzey oluşturacaktır. Dentin tübülleri üzerine kaplama amaçlı kullanacağımız bu ürün mikroorganizmalarla ilk karşılaşacak yer olacağından yüzey pürüzlülüğünün az olması tedavinin etkinliği için çok pozitif bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

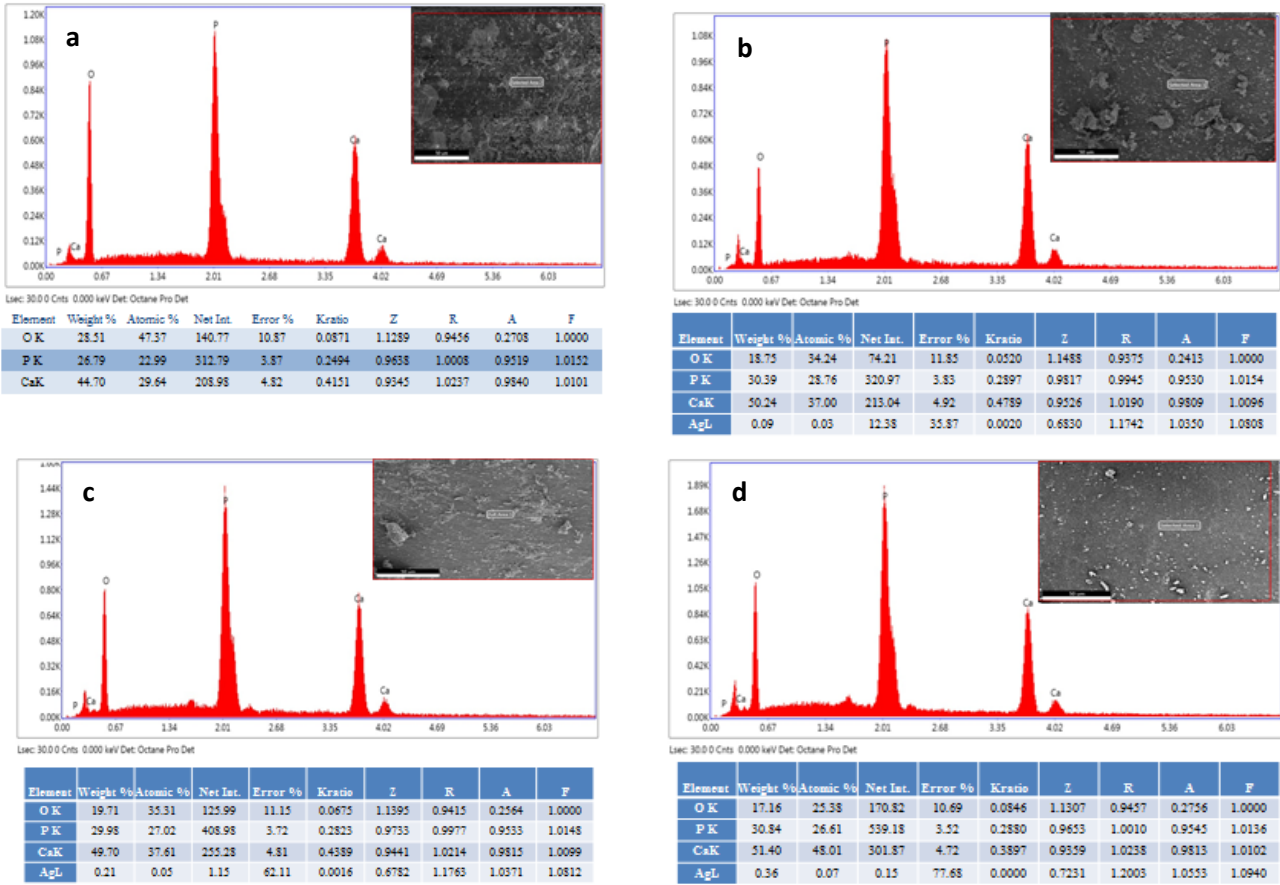


Şekil 3.3: Üretilen Katkısız (a) ve Ag(I)-HAp SEM görüntüleri b) % 0,05 c) % 0,20 d) % 0,40 Ag(I)-HAp

Bu çalışmada çökeltme işlemi için 12 saatlik bir süre uygulanmıştır. Parçacıkların çökmesi için belirlenen süre az olursa ve çökelen kısımla sıvı içerik birbirinden tam ayrılmazsa çözelti ve parçacık karışımı ile ısıtma işlemi süreleri başlayacaktır. Bu durumda parçacıkların çözeltiden tamamen ayrılmaması ve hızlı uygulanan ısıtma işlemiyle beraber malzemenin yüzey morfolojisi de pürüzlü hale gelecektir (Giulietti et al. 2001). Bu nedenle ısıtma işlemi öncesi parçacıkların çözeltiden tamamen ayrılması için 12 saatlik bir çökeltme işlemi uygulanmıştır. Aynı zamanda süzme işleminde de yeterli bir süre beklemeyle beraber düşük vakum pompası kullanılarak daha etkin bir ayırma sağlanmaya çalışılmıştır. Normalde bütün HAp yapıları ısıtma işlemi başladığı ilk andan ısıtma işlemi bittiği son ana kadar ki sürede pürüzlüden pürüzsüz yüzeye doğru ilerlerler (Giulietti et al. 2001). İlk anda yani pürüzlü durumda moleküller daha fazla yapışma ve büyüme eğilimine sahiptirler. Isıtma işlemiyle beraber pürüzlü yüzeyden pürüzsüz yüzeye dönüşüm başlayacaktır. Yüzey pürüzsüzleştikçe de moleküllerin eklenmesi yavaşlayacak ve nihai yapı ortaya çıkacaktır (Giulietti et al. 2001). Yaptığımız çalışmalar sonucunda elde edilen verilere göre pürüzlü yüzey olarak ortaya çıkabilecek negatif etkiyi azaltmak için ilk kurutma işlemi bir süre daha artırarak bu yan etkilerin ortadan kaldırılabileceği görülmüştür. Bu çalışmada ise çökeltme sıcaklığı laboratuvar şartlarındaki sıcaklık, kurutma sıcaklığı 200°C ve sinterleme sıcaklığı da 1100°C olarak uygulanmıştır. Reaksiyon sıcaklıklarıyla beraber ısıtma işlemlerinin uygulandığı sürelerde malzemelerin yüzey kalitesini etkilemektedir (S. Lazić et al. 1996, Slavica Lazić et al. 2001). HAp üretim yöntem parametrelerinin faz safsızlığına etkisi XRD çalışmasında tanımlanmıştır. Ca fazlalığından CaO ve P fazlalığından da β -TCP fazlarının ortaya çıkacağı açıklanmıştır. Kalsiyum fosfat bileşiklerinden HAp, TCP' den biyolojik olarak daha etkindir (Kweh, Khor, and Cheang 1999). Bu çalışma içeriğinde dentin tübül yüzeylerine kaplama hedefi, biyolojik bir yüzeye kaplama işlemi olduğundan HAp' nin sahip olduğu Ca/P değerleri safsızlığı da göstermek için ayrıca belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada Ca/P oranı SEM-EDS kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Ölçümlerde 50 μm ölçek değerinde alınan genel SEM görüntüsünde yaklaşık 200 μm^2 'lik bir alan seçilerek ölçümleme yapılmıştır. Katkısız HAp ve Ag(I)-HAp' lere ait SEM-EDS spektrumları ve sonuçları sırasıyla Şekil 3.4'de gösterilmiştir. Aynı zamanda bütün gruplar için elde edilen Ca/P oranları Çizelge 3.1'de görülmektedir.

Çizelge 3.1 Ca/P değerleri

Örnek	Ca	P	Ca/P
Katkısız HAp	44,70	26,79	1,6685
% 0,05 Ag(I)-HAp	50,24	30,39	1,6531
% 0,20 Ag(I)-HAp	49,70	29,98	1,6577
% 0,40 Ag(I)-HAp	51,40	30,84	1,6666



Şekil 3.4 Üretilen Katkısız (a) ve Ag(I)-HAP, SEM-EDS Spektrumları, b) % 0,05 c) % 0,20 d) % 0,40 Ag(I)-HAP

SEM-EDS çalışmaları sonucunda elde edilen spektrumlarından sağlanan verilerle hazırlanan Çizelge 3.1 incelendiğinde kalsiyum fosfat seramikleri için tanımlanan (S. Lazić et al. 1996, Slavica Lazić et al. 2001, Touger-Decker and Van 2003, Verron, Bouler, and Guicheux 2012, Dorozhkin 2010) Ca/P oranları elde edilmiştir. Bu sonuçlarda hem XRD hem de FTIR analizlerinden elde edildiği gibi katkısız HAP mineralini göstermektedir. Üretimde elde edilen bu değer diş dentin tübül hassasiyet tedavilerinde kullanımı düşünülen HAP için istenen bir Ca/P değeridir. Ancak bu şekilde belirlenen Ca/P değeri uygulanan metodun geçerliliği açısından düşündürücüdür. Yani SEM-EDS analizinde seçilen bölgeye göre veri alımı olduğu için aslında örneğin bütünü temsil etmemektedir. Tekrarlı yapılan ölçümler sonucunda alınan ortalama değerle malzemelerin Ca/P oranları hakkında bilgi edinmemizi sağlamaktadır. Bu olumsuz yaklaşımı ICP-OES cihazıyla bütün malzemenin sahip olduğu Ca, P değerlerini miktar olarak belirleyerek aşılabileceği düşünüldüğü için EDS ölçümlerini doğrulamak adına ICP-OES cihazıyla Ca/P oranını belirlenmeye çalışılmıştır. ICP-OES cihazıyla elde edilen Ca, P değerleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Bu işlem tekrarıyla bütün olarak bir HAP yapısının varlığı da doğrulanmış olacaktır. Hem daha gerçekçi bir Ca/P değeri hem de yapıyı bütün olarak skorlamak verilerin doğru kaydedilmesi açısından önemlidir.

Burada ICP-OES cihazıyla yapılan ölçümlerden alınan sonuçlardan sadece katkısız HAP için elde edilen sonuçlar verilmiştir. Katkısız HAP tozu için elde edilen Ca, P değerleri sırasıyla 1,821 ppm ve 1,095 ppm olarak ölçülmüştür. Bu değerler sonucunda elde edilen Ca/P oranı 1,6630 olarak bulunmuştur. SEM-EDS sonucundan elde edilen 1,6685 Ca/P değeriyle oldukça uyumludur. Bölgesel ve seçime bağlı alınan EDS ölçümlerinden alınan sonucun ICP-OES gibi bütünü miktar olarak belirleyen çalışmayla uyumlu çıkması tamamen bir HAP yapısının varlığını göstermektedir.

Çizelge 3.2 Katkısız HAP, ICP-OES Sonucu

Ölçüm	Sonuç (ppm)		
1	1148990	1.111	1.882
2	1145730	1.095	1.818
3	1145560	1.080	1.823
Ortalama	1146760	1.095	1.821
	Ar 430.010	P 177.495	Ca 317.993

Sonuç olarak çöktürme yöntemiyle sentezlenen katkısız HAP ve Ag(I)-HAP biyomalzemeler bal peteği desenli ve düzenli şekilli, yüzeyleri pürüzsüz parçacıklara sahiptir. Elde edilen bu morfoloji ve Ca/P değerleri üretilen bu biyomalzemelerin yüksek reaksiyon sıcaklıklarında, uzun çökeltme zamanlarında üretildiğinin de bir göstergesi olmuştur. Bu biyomalzemeler morfolojik olarak yüzey pürüzlüğü gibi negatif bir etki doğuracak özelliğe sahip olmadığından ve Ca/P oranıyla HAP fazını

net bir şekilde doğruladığından bu haliyle diş dentin tübüleri hassasiyet çalışmalarında kaplama malzemesi olarak kullanılmasının uygun olduğu sonucu elde edilmiştir.

3.3 Tane Boyutu İncelemesi

Üretilen katkısız HAp ve farklı katkı oranlı Ag(I)-HAp örneklerin tane boyutları, SEM ve Zeta Sizer cihazı ölçüm sistemleri kullanılarak belirlenmiştir. Ölçülen tane boyutları ve ortalama tane boyutu değerleri çizelge halinde listelenmiştir. Bununla beraber Zeta Sizer cihazıyla yapılan ölçüm sonuçları her bir örnek için Şekil 3.5’de gösterilmiştir. Hem SEM cihazı hem de Zeta Sizer cihazıyla yapılan tane boyut ölçüm sonuçları karşılaştırılmıştır. Tane boyut dağılımları üzerindeki dikkate değer değişim, malzemenin mekanik özelliklerini değiştireceğinden katkısız HAp ve farklı katkı oranlı Ag(I)-HAp örnekleri kendi aralarında değerlendirilerek iyon katkılamanın etkileri incelenmiştir.

SEM cihazıyla görüntüler üzerinden rastgele 10 ölçüm sonucunda elde edilen tane boyut değerleri yaklaşık 100–500 nm aralığındadır (Çizelge 3.3). Elde edilen bu tane boyut değerleri hem kendi içinde hem de gruplar içinde değerlendirildiğinde nano boyutta tane boyut değerleri elde edilmiştir. Çöktürme metoduyla yapılan üretimde tercih edilen kurutma ve sinterleme sıcaklığı malzemelerin tane boyutlarının dağılımı üzerinde pozitif bir etki göstermiştir. Dentin tübüleri üzerinde kaplanabilen bir malzeme üretme hedefi için ana kriter olan nano boyutta malzeme sentezleme hedefinin gerçekleştiği bu sonuçlarla doğrulanmıştır. SEM ölçümlerinde görüntü alınan yerden tane boyut değerlendirmesi yapıldığı için rastgelelik içeren bir sonuç vardır. Yani analiz edilen bölgedeki dağılım tüm malzeme dağılımı için fikir verse de kesin bir sonuç vermemektedir. Bu nedenle üretilen katkısız HAp ve farklı katkı oranlı Ag(I)-HAp örneklerinin tane boyutları Zeta Sizer cihazıyla da ölçülmüştür. Zeta Sizer cihazında konulan madde miktarındaki bütün tanelerin tane boyut dağılımını belirlediğinden genel tane boyut dağılımı için daha iyi bir fikir elde etmeyi sağlamaktadır. Ölçümler sonucunda elde edilen tane boyut dağılımları Şekil 3.5’de gösterildiği gibidir. Cihaz çıktısı olarak verilen sonuç ortalama bir tane boyut dağılımını göstermektedir.

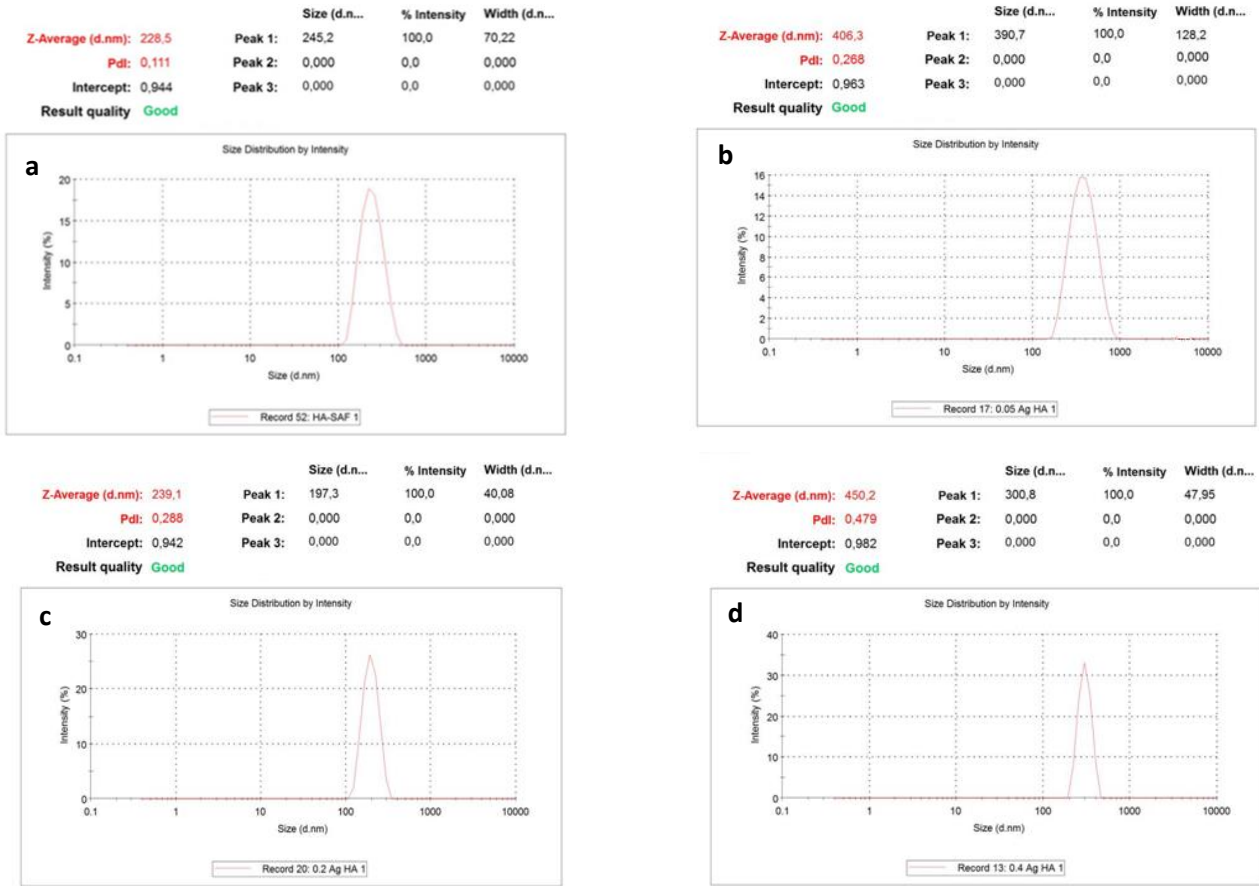
Çizelge 3.3 SEM’den Elde Edilen Tane Boyut Ölçümleri.

Numune	Ölçüm (nm)										Ortalama
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Katkısız HAp	226	313	322	210	185	233	230	153	228	183	228
% 0,05 Ag(I)-HAp	206	112	282	263	338	149	445	212	173	228	240
% 0,20 Ag(I)-HAp	239	196	113	322	241	303	400	369	253	120	256
% 0,40 Ag(I)-HAp	395	177	513	302	186	408	466	376	392	475	369

Zeta Sizer sonuçlarında katkısız HAp için 111 nm, %0,05 Ag(I)-HAp için 268 nm, %0,20 Ag(I)-HAp için 288 nm ve %0,40 Ag(I)-HAp için 479 nm ortalama tane boyut değerleri elde edilmiştir. Ca’dan eksiltme olarak uygulanan gümüş katkılama Ca oranını azalttığından Ag(I) iyonu ilavesi ile tane boyutlarının küçülmesi beklenmektedir (Turkoz, Atilla, and Evis 2013). Bu haliyle katkı oranlarındaki artışa göre tane boyutlarının büyüdüğü sonucuna ulaşılmıştır. Ancak buradan, artan katkı oranı tane boyut dağılımını artırır sonucuna ulaşamayacağı düşünülmüştür. Çünkü böyle bir sonuç ifade edebilmek için malzeme yoğunluklarının da bilinmesi gerekmektedir. Yoğunluk artması malzemelerin aynı hacme daha fazla tane girmesi olduğundan normalde beklenen tane boyutların azalmasıdır. Fakat burada Zeta Sizer’ da gözlenen tane boyut değerindeki artış cihazda kullanılan ölçüm tekniğiyle de ilişkilendirilebilir. Analiz süresi boyunca HAp tozlarının topaklaşması analiz etkinliğini sorgulamamıza neden olmaktadır. Topaklaşmayla beraber cihaz daha yüksek bir tane boyutu değeri okuyacaktır. Ancak bu çalışmada tercih edilen katkı oranları bu etkinin net olarak gözlemlenmesi için yeterli oranlar değildir. Bu etkinin net olarak gözlemlenmesi için daha yüksek oranlı katkı tercih edilmelidir.

İlk bakışta bu farklı değerler, hem iyon katkılamanın hem de iyon katkı oranlarındaki değişimin tane boyut dağılımı üzerinde etkisinin var olduğu şeklinde yorumlansa da çalışma içeriğinde hedeflenen 1-2 µm’lik dentin tübüleri için bütün değerler uygun olduğundan bu dağılım farkı önemli olarak değerlendirilmemiştir. Tane boyut dağılımı üzerinde malzeme yoğunlukları da etkilidir. Çünkü Zeta sizer ölçümlerinde kullanılan ortam yoğunluğu her malzeme için aynıdır. Fakat her malzemenin kendi yoğunluğu aynı değildir. Bu nedenle bu tane boyut dağılımları malzeme yoğunlukları da dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Yoğunluk ölçümlerinde daha detaylı tartışılacak olsa da malzeme yoğunluklarında değişimin çok büyük olmaması da Zeta Sizer’ daki tane boyut ölçümünde göreceli bir artışı göz ardı etmemize sebep olmuştur. Zeta Sizer ölçümleri esnasında hem katkısız HAp hem de farklı katkı oranlı Ag(I)-HAp örneklerinde gözlemlenen hızlı topaklaşma analiz için dikkate değer bir sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle Zeta Sizer ölçümlerinde HAp’ den daha yoğun bir sıvı ortamı kullanıp, bu sıvı içinde en az 30 dakika sonike işlemi analizin verimliliği açısından önemli olarak değerlendirilmiştir. Çöktürme yöntemiyle sentezlenmiş HAp ve Ag(I)-HAp’lerin sahip oldukları 100–500 nm aralığındaki tane boyut değerlerinin FDA tarafından biyolojik uygulamalarda kullanılacak CaP biyoseramik ürünleri için tanımlanan tane boyut dağılımlarını açık bir şekilde sağladığı görülmüştür. Çöktürme metoduyla üretilen HAp ve %0,05 - %0,20 - %0,40 Ag(I)-HAp tozlarının çöktürme işlem parametrelerinin elde edilen nihai HAp özellikleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde üretilen katkısız HAp tozlarının arzu edilen özelliklere ulaşmış olmasının

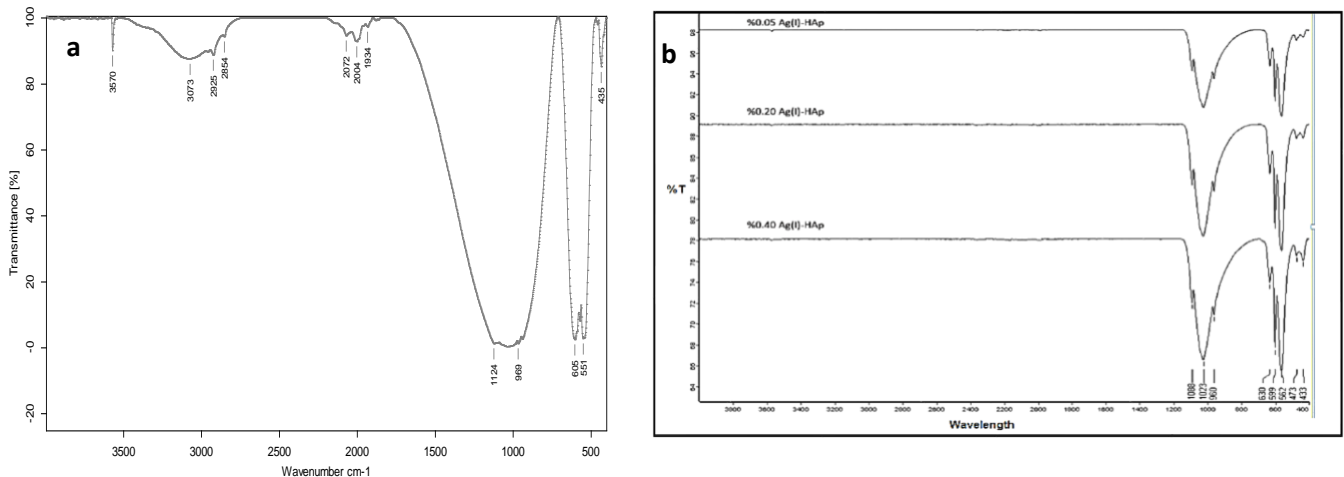
çöktürme işlemi parametresine büyük ölçüde bağlı olduğu belirlenmiştir. Dişte dentin tübül hassasiyet giderme çalışmalarında dentin tübül tıkama amaçlı kullanımı hedeflenen HAp ve %0,05 - %0,20 - %0,40 Ag(I)-HAp tozlarının faz saflılığının ve bileşen gruplarının, yoğunluğunun, yüzey morfolojisinin ve tane boyutlarının, Ca/P oranının biyolojik uygulamalar için gerekli olan kriterleri sağladığı görülmüştür.



Şekil 3.5 Üretilen Katkısız (a) ve Ag(I)-HAp Zeta Sizer Sonuçları b) %0,05, c) %0,20, d) %0,40 Ag(I)-HAp

3.4 Bileşen Grupları İncelemesi

Çöktürme yöntemiyle üretilen katkısız HAp ve katkılı Ag(I)-HAp' nin sahip olduğu PO_4^{3-} , OH^- , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} bileşen gruplarının belirlenmesinde FTIR analizi kullanılmıştır. Bu analizlerde elde edilen spektrumlar HAp ve Ag(I)-HAp için Şekil 3.6'da gösterilmiştir. FTIR çalışması sonucunda elde edilen spektrumlara göre PO_4^{3-} grupları sahip oldukları dalga boyu değerleriyle üretilen HAp' nin hem HAp fazınının hem de XRD sonucuyla örtüşecek şekilde çok az miktarda β -TCP fazının varlığını göstermektedir. Bükme titreşimi (ν_2) 477 cm^{-1} , O-P-O bükme titreşimi (ν_4) 571 ve 603 cm^{-1} , P-O arasında simetrik gerilme titreşimi (ν_1) 969 cm^{-1} , P-O arasında asimetrik gerilme titreşimi (ν_3) 1037 ve 1100 cm^{-1} , OH titreşim (ν_1) ve gerilme (ν_s) titreşimleri 640 ve 3570 cm^{-1} dalga boylarında gözlemlenmiştir. 3600 ila 2600 cm^{-1} dalga boyu değerlerinde gözlemlenmesi beklenen su bandına ait piklerde gözlemlenmiştir.



Şekil 3.6 Üretilen Katkısız (a) ve Ag(I)-HAp (b) FTIR Sonuçları

HAp'nin temel yapısı içinde karbonat iyonlarının bulunması beklenmemesine rağmen sentez koşullarına bağlı olarak, CO₂'nin suda çözünmesi ve sonuçta meydana gelen karbonat iyonlarının kristal kafes içine dâhil edilmesi nedeniyle çoğu zaman karbonat içeren bir HAp elde edilir (Destainville et al. 2003). PO₄³⁻ grubunun CO₃²⁻ grubuna bağlanmasını gösteren soğurma CO₃²⁻ pikleri 1700 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gözlemlenmiştir. Zayıf şiddetli PO₄³⁻, asimetric gerilme titreşimi (ν₃) ve simetric gerilme titreşimi (ν₁) emme bantları 1934 ve 2072 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gözlemlenmiştir. Bununla birlikte HAp ve Ag(I)-HAp için sırasıyla 432 cm⁻¹ ve 1127 cm⁻¹, 433 cm⁻¹ ve 1132 cm⁻¹ dalga boylarında çok az bir pik şiddetiyle β-TCP fazına ait olan pikler de gözlemlenmiştir. Üretim sonucunda elde edilen ürünün FTIR sonuçlarında gözlemlenen β-TCP fazı XRD sonuçlarıyla uyumludur. Farklı katkı oranlı Ag(I) iyonları eklenerek üretimi yapılan Ag(I)-HAp tozları için yapılan FTIR çalışmalarında da HAp için yapılan FTIR analiziyle uyumlu bileşen grupları bulunmuştur. Sentezlenen HAp ve Ag(I)-HAp tozlarına ait kimyasal bağlarının soğurulma bantları için elde edilen spektrum değerleri literatür değerleriyle kıyaslanarak Çizelge 3.4' de gösterilmiştir. Elde edilen dalga boyu değerleri HAp ve Ag(I)-HAp için geçerli pik noktalarıyla uyumludur.

Çöktürme yöntemiyle üretilen HAp' lerde emilen suyun çıkarılması için kalsinasyon işlemi ve katkısız HAp fazının oluşması için sinterleme işlemi uygulanmaktadır. Bu işlemlerde ki uygunsuzluklar XRD analizinde olduğu gibi FTIR analizinde de gözlemlenmektedir. Kurutma işleminde süre ve sıcaklık değerlerinde ki hatalar FTIR analizlerinde su varlığını gösteren dalga boyu noktalarında açığa çıkmaktadır. HAp tozlarının FTIR analizlerinde çok az miktarda su varlığını gösteren pikler gözlemlenmiştir. Ancak bu su varlığı üretimle birlikte FTIR analizinde tercih edilen analiz yönteminden de olabilir. FTIR analizi için örnekler, toz halinde kullanılabileceği gibi, tozların KBr ile karıştırarak hazırlanan pelletlerin kullanılarak ölçümün yapılması da mümkündür. Bu çalışmada KBr pellet hazırlanarak analizler yapılmıştır. Bu örnek hazırlama yönteminin, hazırlanan pelletin kalınlığının her ölçüm için birbirine yakın hazırlanması, KBr içine katılan örneğin homojen dağılması gibi bazı dezavantajları olsa da madde miktarının sabit ayarlanması, gelen ışığın örnek üzerine daha iyi odaklanması gibi avantajları nedeniyle analizin güvenilirliğine pozitif katkı sağlamaktadır. Yapmış olduğumuz analizler sırasında gözlemlenen su soğurma bandı KBr' nin ortamdan su moleküllerini çekmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun sonucu olarak spektrumda su bantları oluşturmuştur. Normalde HAp analizlerinde de az bir miktar soğurulan su varlığı gözlemlense de KBr ile yapılan pelletleme sonucunda bu su varlığı artmıştır. Bu su bantlarının ortadan kaldırılması için hazırlanan pelletler belli bir süre kurutma işlemine tabi tutularak ve özel hermetik kaplarda analiz öncesi bekletilirse, adsorbe edilen geniş su bantları daraltılabilir. Ag(I)-HAp'lerde analiz için hazırlanan pelletler 35 °C sıcaklıkta ve yaklaşık 20 dakika süreyle etüvde bekletilerek FTIR analizleri yapılmıştır. Bunun sonucunda yoğun su soğurma bantları gözlemlenmemiştir (Şekil 3.6).

Hem üretim esnasında hem de karakterizasyon aşamalarında soğurulan suyun kaybedilmesi kafes parametrelerini etkilememektedir (Destainville et al. 2003). FTIR analizlerinde üretilen HAp' ler için sentez parametrelerinden ve safsızlıklarından kaynaklanan H₂O grubu pikleri gözükse de NO₃⁻ ve NH₄⁺ gruplarına ait pikler gözlemlenmemiştir. Sentez parametreleri ve safsızlık kaynaklı piklerin var olması nihai ürün için negatif bir etki olarak düşünülmektedir (Destainville et al. 2003). Bu nedenle XRD sonuçları üzerinde etkili olmayacaktır. Yani malzemenin yapısında ve faz safsızlığında bir değişime neden olmayacaktır. Ancak bu grupların varlığının biyolojik uygulamalar için önemli olduğunu düşünülmektedir. Bu uçucuların varlığının biyolojik uygulamalarda oluşabilecek reaksiyonlar nedeniyle ortadan kaldırılması önemli olarak değerlendirilmektedir. Yapılan bu çalışmada su grubu gözlemlenmişken amonyum ve diğer uçucu grupları gözlemlenmemiştir. Üretim aşamalarında uygulanan sinterleme ısıl işlemindeki farklılıklar da CaP seramiklerinin faz safsızlığına, faz türüne ve örnek tane boyutuna etki etmektedir. Bu etkiler XRD analizinde gözlemlendiği gibi FTIR analizinde de gözlemlenebilir. Üretim esnasında kullanılan ısıl işlem sıcaklığının ve süresinin bir sonucu olarak amonyumun kalıntıları da bazen bileşen grupları içinde gözlenebilmektedir. 1320 -1480 cm⁻¹ dalga boyları arasındaki bölgede karakteristik amonyum zirvelerin gözlemlenmemesi ısıl işlem sonucu bu grubun yapıdan uzaklaştığı şeklinde değerlendirilmiştir. Üretimini yapmış olduğumuz HAp tozları için yapılan FTIR analizinde çok az β-TCP fazına ait olan dalga boyu değeri gözlemlenmiştir. Bu da XRD ile elde edilen sonucu destekleyici bir bilgi olarak not edilmiştir. Bu fazın varlığı, Ca grubunun çözeltisinin hazırlanmasında yapılan karıştırma süresi, hızı ve ana bileşenlerin safsızlığı ile ilgili bir eksiklikten kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 3.4 HAp FTIR Sonuçları

Bileşen Grubu	Soğurma Bandı, cm ⁻¹		
	Referans	HAp	Ag(I)-HAp
CO ₃ ²⁻	1640, 1650	1700	1695
	460, 474	477	473
	560 ve 600	571 ve 603	562 ve 599
	571 ve 604		
PO ₄ ³⁻	960, 961	969	960
	1020 ve 1120	1037 ve 1100	1023 ve 1088
	1046 ve 1090		
	1950-2100		
OH ⁻	630 ve 3540	640 ve 3570	3580
	631 ve 3572		
HPO ₄ ²⁻	875	-	-
Soğurulan Su	3600, 3600	2600 - 3600	2600-3600

FTIR, biyolojik uygulamalarda sıklıkla tercih edilen saf ve termal olarak kararlı bir HAp ve β-TCP elde etmek için sentez parametrelerini değerlendirmemize yardımcı olan bir analiz yöntemidir (Destainville et al. 2003). FTIR sonuçlarından elde

edilen bilgilere göre HAp tozlarının karakteristik özelliklerinin sağlanması için ana girdi ürünlerin yüksek düzeyde saf olması gerektiği anlaşılmıştır. Ayrıca istenen ürünü elde etmek için malzemenin ısıtma süreçlerinde tercih edilen sıcaklık ve sürelerin dikkatle seçilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte yapmış olduğumuz üretimde elde edilen ürünlerden alınan FTIR analiz sonuçlarına göre kurutma sıcaklığı ve süresinin koşullarının yoğun HAp yapısının elde edilmesi için ideal değerler olduğu sonucu elde edilmiştir. Çöktürme yöntemiyle sentezlenmiş HAp ve Ag(I)-HAp'lerin fazlara göre sahip oldukları bileşen gruplarını belirlemek amacıyla kullanılan FTIR analiz sonuçlarıyla da FDA tarafından biyolojik uygulamalarda kullanılacak CaP biyoseramik ürünleri için tanımlanan özellikleri sağladığı görülmüştür.

3.5 Yoğunluk İncelemesi

Üretilen HAp tozlarının karakteristik özelliklerinden olan yoğunluk değerinin belirlenmesi için Archimed yöntemi kullanılmıştır (Turkoz, Atilla, and Evis 2013). Yapılan yoğunluk ölçümleri ile ilgili sonuçlar Çizelge 3.5' de gösterilmiştir. Malzemelerin görel yoğunluk değerleri deneysel olarak ölçülen yoğunluk değerinin teorik olarak bilinen yoğunluk değerine bölünmesi ile hesaplanmıştır (Katkısız HAp teorik yoğunluğu 3.156 g/cm^3 (Turkoz, Atilla, and Evis 2013)). Elde edilen yoğunluk ölçüm sonuçlarına göre çöktürme yöntemiyle üretilen katkısız HAp örneklerinin yoğunluk değeri $3,051 \text{ gr/cm}^3$ ve görel yoğunluğu %96,673 olarak belirlenmiştir. Üretimi yapılan katkısız HAp örneklerinin katkısız HAp için tanımlı teorik yoğunluk değeri olan $3,156 \text{ gr/cm}^3$ değerine kıyasla daha az yoğunudur. Farklı katkı oranlarında %0,05 - %0,20 - %0,40 Ag(I) iyonları katkılanmış Ag(I)-HAp örnekleri için sırasıyla $3,089$ – $3,112$ – $3,140 \text{ gr/cm}^3$ olarak yoğunluk değerleri ölçülmüştür. Katkı oranı arttıkça Ag(I)-HAp tozlarının yoğunluklarının arttığı görülmektedir. Yapılan yoğunluk ölçümlerinde malzemelerin yoğunlukları hacimlerinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Archimed metodunda sabit kütle olarak ayarlanan örnekler önce hassas terazide ölçümlenmiş daha sonra aynı kütlelere sahip örnekler ayrı ayrı su içine daldırılarak, sudaki hacim artışı gözlemlenmiştir. Hem katkısız hem de farklı Ag(I) iyonları katkılanmış Ag(I)-HAp örneklerinin sabit basınç ve sabit sıcaklık altında, sabit kütleler kullanılarak yoğunluklar belirlenmeye çalışıldığından yoğunluk sonuçlarındaki farklılık ölçülen örneklerin hacimlerindeki değişimden kaynaklanmaktadır. Yani aynı kütleye sahip olan örneklerden farklı hacim değerleri sağlamıştır. Bu da artan yoğunluk değerine göre aynı kütlede azalan bir hacim ortaya çıkarmaktadır. Katkısız HAp'ye yapılan iyon katkılanmayla beraber kapladığı hacim azalmış ve daha yoğun bir malzeme haline gelmiştir. Aynı şekilde farklı Ag(I) iyonları katkılanmış Ag(I)-HAp örneklerde de artan katkı oranıyla beraber azalan bir hacim değeriyle daha yoğun bir malzeme elde edilmiştir.

Seramik biyomalzemeler için sabit kütlede, katı kütle yoğunluğundaki artış gözenekli yapının azalmaya başladığı ve hacmi oluşturan tanelerin birbirine daha sıkı halde yaklaştığı şeklinde yorumlanmıştır. Aynı şekilde üretilen katkısız hem de farklı Ag(I) iyonları katkılanmış Ag(I)-HAp örneklerin daha sıkı bir paketlenme göstererek yoğunluk değerlerinde artma olmuştur. Ancak katkı oranı arttıkça bu sıkı paketlenmenin sürekliliği artacağı anlamına gelmemelidir. Mustafa ve arkadaşlarının (Turkoz, Atilla, and Evis 2013) yaptığı çalışmada yoğunluk değerlerinde belli bir kritik katkı oranı değerine kadar yoğunluk değerinde artış gözlenmişken, her iyon için farklı olan kritik katkı oranı değeri aşıldıkça malzeme yoğunlukları azalmaya başlamıştır. Bu azalış yapıya tutunmaların azaldığı şeklinde değerlendirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmadan elde edilen sonuçlara göre seçilen maksimum katkı oranında bile yoğunluk için bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış sonucunda elde edilen bütün yoğunluk değerleri HAp'nin biyolojik uygulamalarında istenen $3,00$ – $3,22 \text{ gr/cm}^3$ (Turkoz, Atilla, and Evis 2013) değerleri aralığındadır. Teorik olarak biyolojik uygulamalar için tarif edilen değerlerin içinde yoğunluk sonuçlarının elde edilmesi bu çalışma içerisinde uygulanan üretim metodunun etkinliğini göstermiştir.

Çizelge 3.5 Yoğunluk Ölçüm Sonuçları

Örnek	Sinterlenmiş Yoğunluk (g/cm^3)	Görel Yoğunluk (%)
HAp	3,051	96,673
%0,05 Ag(I)-HAp	3,089	97,877
%0,20 Ag(I)-HAp	3,112	98,605
%0,40 Ag(I)-HAp	3,140	99,493

Bu çalışma içerisinde karşılaştırılan katı maddelerin sabit kütlede hacmindeki azalma tane boyutlarındaki değişimle açıklanmaya çalışılmıştır. Artan yoğunluk değerleri sonucunda azalan tane boyutları boyutsal olarak biyolojik uygulamalar için kabul edilebilir bir sonuç olsa da azalan boyut değerleriyle malzemenin bozunma olasılığının artması istenen bir durum değildir. Bu nedenle ideal bir yoğunluk ve tane boyut değeri yakalanmalıdır. Yoğunluk değerlerindeki değişimler malzemelerin tane boyutları ve morfolojisi üzerinde etkili olduğundan HAp için ayırt edici temel özellikler olan mekanik eğilme mukavemeti, gerilme mukavemeti ve kırılma dayanıklılığı gibi değerler üzerinde de değişimlere sebep olacaktır (Turkoz, Atilla, and Evis 2013). Özellikle ortopedi uygulamalarında mekanik özelliklerde ki değişimler dikkatle incelendiğinden bu değişimlerin bu tarz uygulamalar için değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

4. Sonuçlar

Çöktürme yöntemiyle üretilen HAP'nin ve gümüş katkılı HAP'lerin faz tanımlaması ve faz safsızlıklarının belirlenmesi için XRD cihazı kullanılmıştır. Alınan tüm XRD sonuçlarının ICDD dosyaları ile tutarlı karakteristik zirvelere sahip olduğu görülmüştür. HAP ve farklı gümüş katkılı HAP örneklerinin XRD grafiklerinde CaO'nun eser elementleri gözlemlenmemesine rağmen çok az miktarda β -TCP fazına ait pikler gözlenmiştir. Burada gözlenen β -TCP fazı % 0,5'in altında gözlemlendiği için malzeme safsızlığında dikkate değer bir oran olarak değerlendirilmemiştir. Kalsiyum fosfat (CaP) bazlı en çok incelenen ve kullanılan ayrıca klinik olarak test edilmiş sentetik malzemeler HAP, β -trikalsiyum fosfat (β -TCP - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ve iki fazlı HAP/ β -TCP karışımları olduğundan üretimi yapılan ürünlerde çok az β -TCP gözlemlenmesinin klinik uygulamalarda sorun teşkil etmeyeceği düşünülmektedir.

Çöktürme yönteminde ana girdi ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_3 , AgNO_3 ' dür. Ana girdilerle başlatılan üretimin sonucunda %99,0 üzerinde katkısız $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ HAP'nin XRD piklerinin varlığı ve NH_4^+ , NO_3^- yabancı bileşenlerin XRD piklerinin gözlemlenmemesi, çöktürme metodu içerisinde gerçekleştirilen kurutma ve sinterleme işlemleri sonucunda $20\text{NH}_4\text{NO}_3$ ve $6\text{H}_2\text{O}$ bileşenlerinin yapıdan tamamen ayıldığını göstermektedir. Çöktürme yöntemiyle üretimi yapılan HAP ve %0,05 - %0,20 - % 040 Ag katkılanmış HAP örneklerinin sahip olduğu PO_4^{3-} , OH^- , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} bileşen gruplarının belirlenmesi için FTIR analizi yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda HAP'in sahip olduğu PO_4^{3-} ana bileşeninin dalga boyu değerleriyle, üretilen HAP örneklerinin hem HAP fazı hem de XRD sonucuyla örtüşecek şekilde çok az miktarda β -TCP fazının varlığını göstermiştir. Bununla birlikte CO_2 ' nin suda çözünmesi ve sonuçta meydana gelen karbonat iyonlarının HAP kristal kafesi içine dâhil olmasıyla CO_3^{2-} bileşenleri, FTIR analizinde gözlemlenmiştir. HAP ve %0,05 - %0,20 - %0,40 oranlı Ag iyonları eklenmiş gümüşlü HAP tozları için yapılan FTIR çalışmalarında karakteristik HAP'le uyumlu bileşen grupları gözlemlenmiştir. Üretilen HAP örnekleri için yapılan FTIR analizlerinde sentez parametrelerinden kaynaklanan H_2O grubu pikleri gözükse de NO_3^- ve NH_4^+ gruplarına ait pikler gözlenmemiştir.

Çöktürme yöntemiyle üretimi yapılan HAP ve %0,05 - %0,20 - %0,40 Ag katkılanmış HAP örneklerinin SEM görüntülerinde tane boyutu < 500 nm seviyelerinde olan, az deformeli, düzgün dağılımlı, küresel ve düzenli şekilli parçacıklara sahip ve bal peteği desenli bir morfoloji gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu çalışma içeriğinde seçilen gümüş katkılama oranındaki değişimin HAP morfolojisi üzerinde bir etki göstermediği görülmüştür. Isıl işlemin başlangıcından bitişine kadar HAP yüzeyleri pürüzlüden pürüzsüze doğru ilerlediğinden yüzey pürüzsüzlüğünün üretim parametrelerine bağlı olduğu görülmüştür. Elde edilen bu pürüzsüz yüzey çöktürme yönteminde uygulanan parametrelerin uygunluğunu göstermiştir. Üretilen HAP'lerin sahip olabileceği fazlar XRD ve FTIR analizleriyle belirlenebilirken nihai üründen elde edilen Ca/P molar oranının bulunmasıyla da belirlenebileceği görülmüştür. SEM-EDS ve ICP-OES analizleri ile Ca/P oranı belirlenerek XRD, FTIR ve SEM sonuçları desteklenmeye çalışılmıştır. SEM-EDS ve ICP-OES analiz çalışmaları sonucunda kalsiyum fosfat seramikleri için tanımlanan Ca/P değeri HAP ve gümüşlü HAP'ler için 1,65–1,67 değerleri arasında elde edilmiştir. Bu sonuçlarda XRD, FTIR analizlerinden elde edildiği gibi katkısız HAP mineralini göstermektedir. Çöktürme yöntemiyle üretimi yapılan HAP ve %0,05 - %0,20 - %0,40 Ag katkılanmış HAP örneklerinin her birinin tane boyutları SEM ve Zeta Sizer analizleri ile belirlenmiştir. Her iki analiz sonucunda da bütün HAP'lerin < 500 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir. Elde edilen tane boyut değerleri ile göre FDA tarafından biyolojik uygulamalarda kullanılacak CaP biyoseramik ürünleri için tanımlanan kriterleri sağladığı görülmüştür.

Çöktürme yöntemiyle sentezlenmiş HAP ve %0,05 - %0,20 - %0,40 oranlı Ag iyonları eklenmiş gümüşlü HAP faz safsızlıklarını belirlemek amacıyla yapılan XRD, sahip oldukları bileşen gruplarını belirlemek amacıyla kullanılan FTIR, yüzey morfolojisini belirlemek amacıyla yapılan SEM, Ca/P oranının belirlenmesi amacıyla yapılan EDS ve ICP-OES, yoğunluk ve tane boyut analizlerinden elde edilen sonuçlarla FDA tarafından biyolojik uygulamalarda kullanılacak CaP biyoseramik ürünlerini tanımlayan kriterlere uygun olduğu görülmüştür.

Referanslar

- Addy, M, and P Mostafa. 1988. "Dentine Hypersensitivity. I. Effects Produced by the Uptake in Vitro of Metal Ions, Fluoride and Formaldehyde onto Dentine." *Journal of Oral Rehabilitation* 15(6): 575–85.
- Arnold, W H, M Prange, and E A Naumova. 2015. "Effectiveness of Various Toothpastes on Dentine Tubule Occlusion." *Journal of dentistry* 43(4): 440–49.
- ASTM. 2013. "E2149. Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions." *ASTM Standard Book*.
- Brännström, Martin, and Arne Åström. 1964. "A Study on the Mechanism of Pain Elicited from the Dentin." *Journal of dental research* 43(4): 619–25.
- Byers, Margaret R, and Willie K Dong. 1983. "Autoradiographic Location of Sensory Nerve Endings in Dentin of Monkey Teeth." *The Anatomical Record* 205(4): 441–54.

- Chiang, Y-C et al. 2010. "A Novel Mesoporous Biomaterial for Treating Dentin Hypersensitivity." *Journal of dental research* 89(3): 236–40.
- Chu, C H, E C M Lo, and H C Lin. 2002. "Effectiveness of Silver Diamine Fluoride and Sodium Fluoride Varnish in Arresting Dentin Caries in Chinese Pre-School Children." *Journal of dental research* 81(11): 767–70.
- Cummins, D. 2011. "Advances in the Clinical Management of Dentin Hypersensitivity: A Review of Recent Evidence for the Efficacy of Dentifrices in Providing Instant and Lasting Relief." *Journal of Clinical Dentistry* 22(4): 100.
- Cunha-Cruz, J et al. 2011. "Dentin Hypersensitivity and Oxalates: A Systematic Review." *Journal of dental research* 90(3): 304–10.
- Destainville, A., E. Champion, D. Bernache-Assollant, and E. Laborde. 2003. "Synthesis, Characterization and Thermal Behavior of Apatitic Tricalcium Phosphate." *Materials Chemistry and Physics*.
- DIN Deuschtes Institut für Normen e.V. 2007. Beuth Verlag *DIN EN 13779*.
- Dorozhkin, Sergey V. 2010. "Calcium Orthophosphates as Bioceramics: State of the Art." *Journal of Functional Biomaterials*.
- Earl, J S et al. 2011. "Physical and Chemical Characterization of Dentin Surface Following Treatment with NovaMin Technology." *The Journal of clinical dentistry* 22(3): 62–67.
- Giuca, M R, G Cei, F Gigli, and P Gandini. 2010. "Oral Signs in the Diagnosis of Celiac Disease: Review of the Literature." In *Minerva Stomatol.*,
- Giulietti, M. et al. 2001. "Industrial Crystallization and Precipitation from Solutions: State of the Technique." *Brazilian Journal of Chemical Engineering*.
- Gysi, Alfred. 1900. "An Attempt to Explain the Sensitiveness of Dentine." *Brit J Dental Sci* 43: 865–68.
- Hardie, J M. 1982. "The Microbiology of Dental Caries." *Dental update*.
- Hellmich, C. and Ulm, F. J. 2002. "Micromechanical Model for Ultrastructural Stiffness of Mineralized Tissues." *Journal of Engineering Mech* 128(8): 898–908.
- Hirvonen, T J, and M V O Narhi. 1986. "The Effect of Dentinal Stimulation on Pulp Nerve Function and Pulp Morphology in the Dog." *Journal of dental research* 65(11): 1290–93.
- Jones, Rod M. 2003. "Particle Size Analysis by Laser Diffraction: ISO 13320, Standard Operating Procedures, and Mie Theory." *American Laboratory*.
- Keskin A. 2000. "Hidroksiapatit Seramiklerinin Mekanik Özelliklerinin Zirkonya İlavesi İle Geliştirilmesi." İstanbul Teknik Üniversitesi.
- Kweh, S W K, K A Khor, and P Cheang. 1999. "The Production and Characterization of Hydroxyapatite (HA) Powders." *Journal of Materials Processing Technology* 89: 373–77.
- Lavender, Stacey Ann et al. 2010. "Mode of Action Studies of a New Desensitizing Dentifrice Containing 8.0% Arginine, a High Cleaning Calcium Carbonate System and 1450 Ppm Fluoride." *American journal of dentistry* 23(Special Issue): 14A-19A.
- Lazić, S., J. Katanić-Popović, S. Zec, and N. Miljević. 1996. "Properties of Hydroxyapatite Crystallized from High Temperature Alkaline Solutions." *Journal of Crystal Growth*.
- Lazić, Slavica, Slavica Zec, Nada Miljević, and Slobodan Milonjić. 2001. "The Effect of Temperature on the Properties of Hydroxyapatite Precipitated from Calcium Hydroxide and Phosphoric Acid." *Thermochemica Acta*.
- Lee, S Y, H K Kwon, and B I Kim. 2008. "Effect of Dentinal Tubule Occlusion by Dentifrice Containing Nano-carbonate Apatite." *Journal of Oral Rehabilitation* 35(11): 847–53.
- Llodra, J C et al. 2005. "Efficacy of Silver Diamine Fluoride for Caries Reduction in Primary Teeth and First Permanent Molars of Schoolchildren: 36-Month Clinical Trial." *Journal of dental research* 84(8): 721–24.

- Pashley, David Henry, M J Livingston, O W Reeder, and J Horner. 1978. "Effects of the Degree of Tubule Occlusion on the Permeability of Human Dentine in Vitro." *Archives of oral biology* 23(12): 1127–33.
- Paujindanetr, S. 1993. "Characterisation and Sintering of Precipitated Hydroxyapatite." Queen Mary and Westfield College London.
- Seckler, M.M. et al. 2005. "Influence of Process Conditions on Hydroxyapatite Crystallinity Obtained by Direct Crystallization." *Materials Research*.
- Ślósarczyk, Anna, Zofia Paszkiewicz, and Czesława Paluszkiwicz. 2005. "FTIR and XRD Evaluation of Carbonated Hydroxyapatite Powders Synthesized by Wet Methods." In *Journal of Molecular Structure*,.
- Smičiklas, Ivana, Antonije Onjia, and Slavica Raičević. 2005. "Experimental Design Approach in the Synthesis of Hydroxyapatite by Neutralization Method." *Separation and Purification Technology*.
- Tan, H P et al. 2010. "A Randomized Trial on Root Caries Prevention in Elders." *Journal of dental research* 89(10): 1086–90.
- Touger-Decker, R, and Loveren C Van. 2003. "Sugars and Dental Caries. [Review] [101 Refs]." *American Journal of Clinical Nutrition*.
- Turkoz, Mustafa, Aykan Onur Atilla, and Zafer Evis. 2013. "Silver and Fluoride Doped Hydroxyapatites: Investigation by Microstructure, Mechanical and Antibacterial Properties." *Ceramics International* 39(8): 8925–31.
- Vallet-Regí, María. 2006. "Revisiting Ceramics for Medical Applications." *Dalton Transactions* (44): 5211–20.
- Verron, E., J. M. Boulter, and J. Guicheux. 2012. "Controlling the Biological Function of Calcium Phosphate Bone Substitutes with Drugs." *Acta Biomaterialia*.
- Wang, Ronghan et al. 2014. "Enhancement of Nano-Hydroxyapatite Bonding to Dentin through a Collagen/Calcium Dual-Affinitive Peptide for Dentinal Tubule Occlusion." *Journal of biomaterials applications* 29(2): 268–77.
- Zhang, W, C McGrath, E C M Lo, and J Y Li. 2013. "Silver Diamine Fluoride and Education to Prevent and Arrest Root Caries among Community-Dwelling Elders." *Caries research* 47(4): 284–90.