22372

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

İYON SELEKTİF FLORÜR ELEKTRODUNUN DİŞLERDE FLORÜR İYONU MİKTAR TAYİNİ İÇİN KULLANILMA KOŞULLARININ BELİRLENMESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Mehmet Cemal Ören

TEZ YÖNETİCİSİ

Doç.Dr.M.Tevfik ORBEY

ANKARA, 1992

İ Ç İ N D E K İ L E R

sayfa no

I- GİRİŞ ve AMAÇ 1

II- GENEL BİLGİLER 4

II.1. Membran Elektrotlar ve Diğer İyon Seçici Elektrotlar Hakkında Temel Bilgiler 4

II.2. Seçicilik Özelliği İle İlgili Bilgiler 11

II.3. Ölçüm Sonuçlarının Kalibrasyon Grafiği Yardımıyla Elde Edilmesi..... 13

II.4. Ölçüm Sonuçlarına Etki Eden Temel Faktörlerin TISAB Kullanımı İle Standardizasyonu..... 14

II.4.1. Aktivite Konsantrasyon İlişkisi 15

II.4.2. pH Etkisi 23

II.4.3. Kompleks Oluşumu Etkisi 24

II.5. Ölçüm Sonuçlarına Etki Eden Diğer Faktörler 25

II.5.1. Sıcaklık Etkisi 25

II.5.2. Elektrostatik ve Manyetik Etkiler ... 26

II.6. Tekrarlanabilirlik 27

II.7. Cevap Süresi 27

II.8. Ölçme Sınırı 29

III- MATERYAL ve YÖNTEM 32

III.1. Kullanılan Araç ve Gereçler..... 32

III.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler..... 33

III.3. Kullanılan Biyolojik Materyal 34

III.4. Örneklere Florür Uygulanması 35

III.5. Örneklerden Biyopsi Alınması 37

III.6. Standart Çözeltilerin Hazırlanması ve İyon Selektif Florür Elektrodunun Kalibrasyonu 38

sayfa no

III.7. Biyopsi Örneklerinde Florür Ölçümü 41

III.8. Biyopsi Örneklerinde Kalsiyum Analizi 42

III.9. Biyopsi Uygulaması Sonucu Kaldırılan Mine Derinliğine Bağlı Olarak Florür Konsantrasyonlarının Hesaplanması 44

III.10. Çalışmamızda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması 46

IV- BULGULAR..... 48

V- TARTIŞMA ve SONUÇ..... 62

VI- ÖZET..... 67

VII- SUMMARY..... 68

VIII- KAYNAKLAR..... 69

I- G İ R İ Ş ve A M A Ç

Uzun yıllar boyunca birçok araştırıcı tarafından biyolojik ve doğal materyal içinde bulunan florür iyonunun miktar tayini spektrofotometri [10.21.29.52.67], titrimetri[16.] ve kromatografi [14.45] gibi farklı yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemlerdeki işlemler uzun zaman alan zor, zahmetli ve çoğu kez özel cihazlar gerektiren işlemlerdir[46].

1966 Yılında M.S. Frant ve J.W. Ross tarafından iyon selektif florür elektrodunun geliştirilmesi, florür analizlerine yeni bir bakış açısı getirmiştir [25.]. Aynı araştırıcılar tarafından yapılan bir çalışmada iyon selektif florür elektrodu ve spektrofotometrik yöntem kullanılarak sularda florür iyonu miktar tayini yapılmış ve sonuçların birbirine son derece yakın olduğu, iyon selektif florür elektrodunun hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir[26.41.51].

Birçok araştırıcı tarafından iyon selektif florür elektrodu modifiye edilmiş, nanogram seviyesinde florür iyonu az miktardaki numunelerde bile büyük bir doğrulukla saptanabilmiştir[6.20.22.31.39].

Florür tayini çalışmalarının pratikteki çok önemli uygulama alanlarından biri de diş hekimliğidir.

Ağız ve diş sağlığı sorunlarının başında periodontal hastalıklar ve diş çürükleri gelmektedir. Koruyucu diş hekimliğinde yeterli miktarda ve düzenli florür alımının diş çürüklerini ve ağız hastalıklarını büyük ölçüde önlediği ispatlanmıştır [3,28,55]. Zira diş çürüklerini önlemede en önemli husus diş minesini ağızda oluşan asitlere karşı dirençli bir yapıya kavuşturmaktır. Bu da diş minesindeki Hidroksiapatit'in Floroapatit şekline dönüştürülmesi ile sağlanmaktadır[5,65]. Bu amaçla çocuklarda süt dişlerinin çıkması ile başlayan ve devamlı dişlerin çıkması ile tamamlanan süre içinde kliniklerde topik florür uygulaması yapılmaktadır[27,30]. Bu uygulamalarda değişik teknikler kullanılmaktadır[19]. Bu tekniklerin başarısı dişin yapısına geçen florür miktarı ve florürün geçiş derinliğinin ölçülmesi ile değerlendirilmektedir. Dişin florür profilinin[37] ortaya çıkarılması doğru, hassas, tekrarlanabilir ve uygun bir yöntem ile florür miktarının saptanmasına bağlıdır. Analiz yönteminin doğruluğu ve başarısı, uygulanan tekniğin başarısını doğru bir şekilde gösterebilecektir[54,60].

Bu amaçla yapılan çalışmalarda iyon selektif florür elektrodu 1968 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Aynı yıl H.G. McCann iyon selektif florür elektrodu kullanarak uyguladığı pencere metodu ile dişlerde florür iyonu miktar tayini yapmış ve bir günde yaklaşık 50 tayinin ± %2 hata ile uygulanabileceğini bildirmiştir[43].

McCann'ın bulduğu ve daha sonra geliştirilerek modifiye edilen bu metot kullanılarak iyon selektif florür elektrodu yardımı ile dişlerde florür miktar tayinleri birçok araştırıcı tarafından yapılmış ve tutarlı sonuçlar elde edilmiştir [1.11.54.56].

G.Ü. Diş Hekimliği Fakültesinde yapılan bir doktora çalışmasında çocuk dişlerine, özellikle ara yüzeylere florürlü diş ipi yardımıyla uygulama yapılmış, uygulama sonuçlarının başarısının pencere metodu[43] ve iyon selektif florür elektrodu kullanılarak değerlendirilmesi planlanmıştır[60] . Florürlü diş ipi ile yapılan uygulamanın başarısının kontrol grubuna karşı değerlendirilip dişin florür profilinin çıkarılmasında çalışılan koşullarda florürün doğru ve hassas olarak belirlenmesi önemli bir analitik kimya problemidir.

Profillerin çıkarılması amacıyla laboratuvarımız koşullarında yapılan florür tayinlerinde elektrodun doğru, hassas ve kolayca tekrarlanabilir sonuçları vereceği koşulların araştırılması ve bu koşulları sağlayan bir biyopsi ortamının önerilmesi yüksek lisans tezimizin konusu olarak saptanmıştır.

II- G E N E L B İ L G İ L E R

II.1. Membran Elektrotlar ve Diğer İyon Seçici Elektrotlar Hakkında Temel Bilgiler[12.24.44.49.53.58.59.61.62.68.69]

Membran elektrotların gelişmesi cam elektrodun keşfi ile başladığından ilk membran elektrot cam elektrottur denilebilir. Cam elektrodun çok önemli bir sorun olan pH ölçülmesinde geniş ölçüde kullanılmasına karşın, elektrodun çalışma mekanizması bütün ayrıntıları ile açıklanamamıştır. En kaba çizgileri ile bir cam elektrodu,ince çeperli (50 μm) özel bir cam baloncukla sonuçlanan bir cam boru olarak tarifleyebiliriz. Baloncuğun yapıldığı cam, özel bir yapıya, diğer camlara göre alçak ergime noktasına ve yüksek elektriksel iletkenliğe sahiptir. Baloncukla sonuçlanan bu boru içine pH'sı belli bir çözelti (örneğin 0.1 N HCl çözeltisi) ve potansiyeli belli bir elektrot (örneğin Ag/AgCl elektrot) yerleştirilmiştir.

Elektrot, pH'sı ölçülecek çözeltiye batırıldığında, çözeltinin pH değeri ile doğrusal olarak değişen bir potansiyel ve böylece bir ölçüm elektrodu (endikatör elektrot) özelliği kazanır. Elektrot potansiyeli, bir tuz köprüsü yardımıyla bir referans elektroda (örneğin kalomel elektrot) karşı ölçülebilir. Tarif edilen düzenek elektrokimyasal bir yazılımla şöyle gösterilebilir:

Ag	$AgCl_{(k)}$	0.1 N HCl	Özel CAM membran	pH'sı ölçülecek çözelti (test çözeltisi)		Kalomel Elektrot

<——— ölçüm elektrodu olarak CAM elektrot ———>< Referans elektrot>

Düzenekte ölçülen elektromotor kuvvet " E " ile gösterilirse;

$E = e_{Ag/AgCl} + e_{cam} + e_{kalomel}$ olup

$e_{Ag/AgCl}$ ve $e_{kalomel}$ sabit olduğundan ölçülen E değeri e_{cam} değerine bağlıdır, onun da çözeltinin pH değeri ile doğrusal ilişkisi daha önce belirtilmişdi.

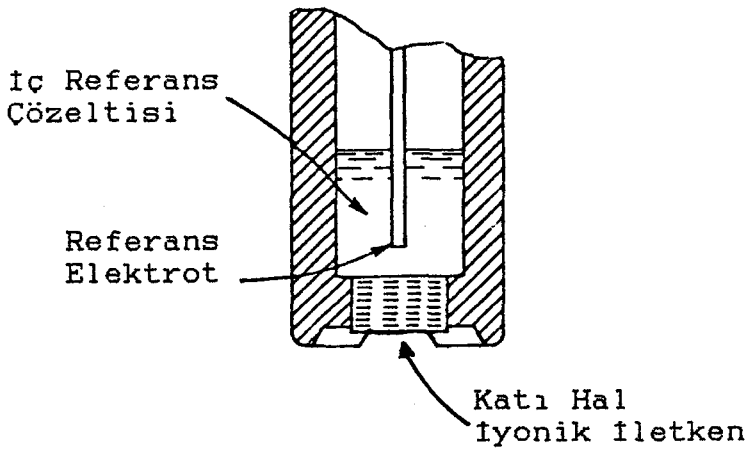
Daha sonra geliştirilen özel membranlar ve başka düzenekler içeren elektrotlar yardımıyla hidrojen iyonundan başka iyonların, örneğin Na^+, K^+, Ag^+, Ca^{+2}, Cd^{+2}, Pb^{+2}, Cu^{+2}, Cl^-, Br^-, I^-, F^-, CN^-, NO_3^-, S^{-2} iyonlarının da çözelti içerisindeki aktiviteleri potansiyometrik olarak tayin edilebilmektedir. Ayrıca bazı organik katyonlara ve bileşiklere duyarlı elektrotlar da geliştirilmiştir. Bunların başlıcaları kuarterner amonyum katyonları, histidin, ürik asit ve penisilin tayini için elektrotlardır. Her bir katyon veya anyon için ayrı bir iyon seçici elektrot kullanılması gerekmektedir.

İyon seçici bir elektrodun kazandığı potansiyel, içine batırıldığı çözeltideki ilgili iyonun aktivitesi ile orantılı olarak değişir. Ölçmelerde cam elektrot uygulamasında olduğu gibi bir referans elektrot (genellikle kalomel elektrot) kullanılır. Potansiyometrik olarak ölçülen elektromotor kuvvetten konsantrasyona geçmek için aynı maddenin iyon aktivitesi belli olan çeşitli çözeltileri yardımıyla daha önceden hazırlanmış bir konsantrasyon-potansiyel ölçü (kalibrasyon) grafiğinden yararlanılır. Ortamda bulunan başka iyonlar, çözeltinin iyon şiddetinin yeterince büyük olmaması durumu, ortamın pH'sı gibi bazı faktörler sonuçları etkiliyebilir.

Günümüzde iyon seçici elektrotlar aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

1- Cam elektrotlar : Cam membranın bileşimi değiştirilmek suretiyle farklı iyonlar için seçici elektrotlar elde edilir. Bu amaçla alkali silikat (Na-Ca-Silikat) camların bileşiminde ve özellikle Al_2O_3 yüzdesinde değişiklikler yapılır. Günümüzde H^+ iyonunun yanı sıra Na^+, Ag^+ ve Li^+ iyonları için seçici cam elektrotlar vardır.

2- Katı hal tipi elektrotlar : Elektrodun yapısı ticari cam pH elektrotunun yapısına çok benzer. Buradaki membran, cam yerine iyonik yapıda iletken bir maddeden yapılmıştır ve disk şeklindedir. Membranın aktif kısmı,örneğin florür elektrotunda bir lantan florür (LaF_3) kristalidir, elektrik direncini azaltmak ve ayrıca iyon yükü iletilmesini kolaylaştırmak için buna bir miktar öropyum (europium) II iyonu katılmıştır. Bu hassas bölüm, 1 cm çapında ve 1-2 mm kalınlığındadır ve epoksi yapıştırıcısı ile sert polivinil klorürden yapılmış bir tüpün ucuna yerleştirilmiştir. Tüp florür ve klorür iyonu taşıyan bir çözelti ile doldurulmuştur (genellikle 0.1 M NaF ve 0.1 M KCl). Elektriksel iletkenlik AgCl çözeltisi ve gümüş tel ile sağlanmıştır. (Şekil 1)



Şekil 1 : Katı hal iyon seçici elektrodun yapısı

Billuri (kristalin) katı hal elektrodu da denilen böyle bir elektrodu içeren elektrokimyasal hücre şöyle bir şema ile gösterilebilir.

$Ag|AgCl,Cl^-(0.1\ M),\ F^-(0.1\ M)|LaF_3$ kristali|test çözeltisi|| referans elektrot

Bu hücrenin 25°C deki elektromotor kuvvetini gösteren denklem (Nernst denklemi) :

a_F molar aktiviteler ve E^o Flor-Florür için standart indirgenme potansiyelini göstermek şartıyla;

$$E = E^o + 0.0591 \log \frac{a_{F^-}\ \text{içteki}}{a_{F^-}\ \text{dıştaki}}$$ şeklindedir.

$pF = -\log a_{F^-\ dış}$(ölçülen),

$E^* = E^o + 0.0591 \log a_{F^-iç}$ = sabit olduğundan denklem aşağıdaki şekle dönüşür.

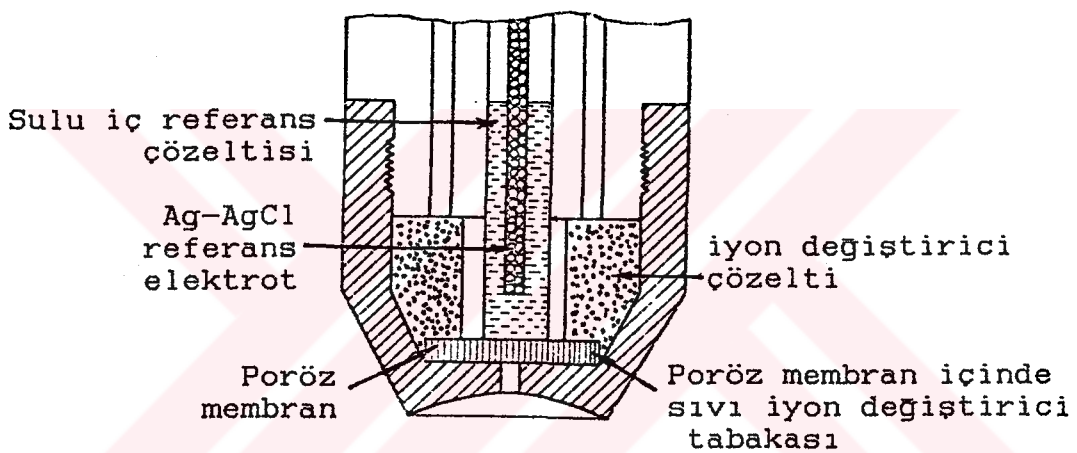
$$E = E^* + 0.0591\ pF$$

Katı hal elektrotlarının bir türü olan polimer membran elektrotlarda aktif kısım olarak bir çökelti kullanılır. Çökelti tipi denilen bu elektrotları hazırlarken o cins elektrot için uygun olan bir çökelti (örneğin Cl^- elektrodu için AgCl), silikon monomeri ile (en az % 50 oranında) karıştırılır ve ısıtılmadan polimerize edilerek bir tür silikon lastiği yapılır, sonra bundan hazırlanan bir membran, elektrodun cam gövdesine yapıştırılır. Katı hal elektrotlarına başka örnekler : Br^-, Cd^{+2}, Cl^-, Cu^{+2}, CN^-, I^- Pb^{+2}, Ag^+, S^{-2}, Na^+ ve SCN^- elektrotlarıdır.

3- **Sıvı membran elektrotlar** : Sıvı membran elektrotlarda potansiyel, analiz edilecek çözelti ile tayin edilecek iyonu selektif olarak bağlayan çözeltinin ara yüzeyinde oluşmaktadır. Sıvı membran elektrodun önemi,birçok polivalent katyon ve bazı anyonların direkt olarak potansiyometrik tayinine imkan vermesidir.

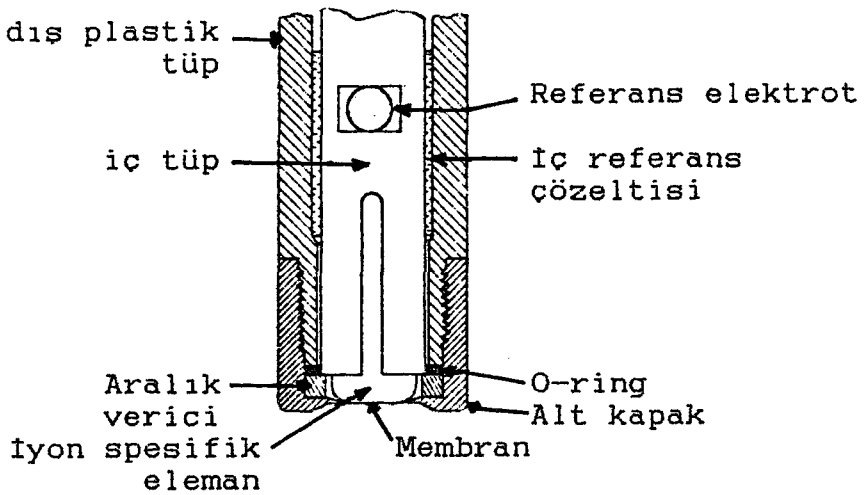
Sıvı membran elektrodun cam membran elektrottan farkı aktivitesi bilinen ve sabit olan çözeltinin, tayin edilecek çözeltiden ince bir cam membran yerine, ince bir organik sıvı (su ile karışmayan) tabakası ile ayrılmasıdır. Poröz hidrofobik plastik bir diske organik çözücü emdirilerek iki çözelti arasına konur. İç tüp aktivitesi tayin edilecek katyonun sulu çözeltisini içerir. Bu çözelti Ag tel ile Ag/AgCl referans elektrodu oluşturması için AgCl ile doyurulur. Organik sıvı uçucu olmayan, su ile karışmayan asidik, bazik veya kompleksleyici fonksiyonel gruplar içeren bir organik iyon değiştiricidir (Şekil 2).

Bir çözeltinin Katyon aktivitesini ölçmek için çözeltiye membran elektrotla beraber bir referans elektrot, genellikle kalomel elektrot daldırılır. Örneğin kalsiyum selektif elektrotta iyon değiştirici polar bir çözücüde çözünmüş olan H_3PO_4 ün alifatik di esteridir. Di esterde zincir uzunluğu 8-16 karbon arasıdır ve bir tek asidik proton olduğundan iki değerlikli bir katyonu bağlamak için iki molekül di estere ihtiyaç vardır.



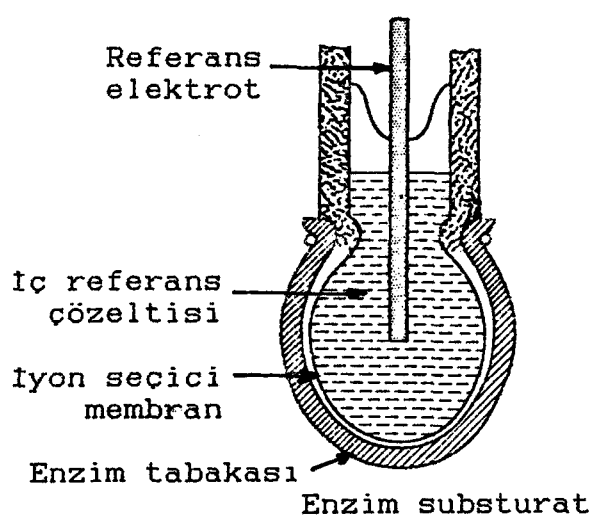
Şekil 2 : Sıvı membran elektrodun yapısı

4-Gaza duyarlı elektrotlar ve enzim elektrotları : Gaza duyarlı elektrotlar bir referans elektrot ve bir iyon spesifik elektrodun silindirik plastik bir tüp içinde bulunan elektrolit içine daldırılmasıyla oluşurlar. Tüpün ucu ince ve değiştirilebilen bir membran ile kapatılır. Membran hidrofobik plastikden yapılmış ince mikroporöz bir filmden meydana geldiğinden, sulu çözeltilerin geçmesine izin vermez, porlarından sadece hava veya çözeltide bulunan gazlar geçebilir (Şekil 3).



Şekil 3 : Gaza duyarlı elektrodun yapısı

Enzim elektrotlarında ise enzim, katyona duyarlı bir cam elektrot üzerine bir jel tabakası halinde sürülmek sureti ile tespit edilmiştir. Örneğin NH_4^+ iyonuna duyarlı bir elektrotda bu enzim üreas'dır ve akrilamid jeli halinde cam elektrodun yuvarlak ucuna ince bir sellofan tabaka ile tutturulmuştur. Amonyum iyonu jel tabakasına diffüzlenerek elektrot tarafından algılanır (Şekil 4).



Şekil 4 : Enzim elektrodunun yapısı

II.2. Seçicilik Özelliği İle İlgili Bilgiler

Katı hal membran elektrotlarda seçicilik, membran yüzeyindeki reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkar. Tayini yapılan iyon, membranın yüzeyindeki bir diğer iyonla yer değiştirmek suretiyle membran yüzeyi ile reaksiyona girer, bunun sonucunda elektrot belli bir potansiyel kazanır. Bazı durumlarda tayini yapılan iyonun yanı sıra ortamda bulunan diğer iyonlar da benzer reaksiyonlar verebilir. Bu arzu edilmeyen bir durumdur. Eğer membranın iyonik yapısı K^+A^- şeklinde ve enterferans yapıcı iyonlar I^+ ve J^- şeklinde gösterilirse istenmeyen iki yüzey reaksiyonu oluşabilir[24].

Katyonik iyon selektif elektrot için katyon enterferansı;

$$K^+A^-_{(membran)} + I^+_{(çözelti)} \rightleftharpoons I^+A^-_{(yüzey)} + K^+_{(çözelti)}$$

Aynı şekilde anyonik iyon selektif elektrot için anyon enterferansı;

$$K^+A^-_{(membran)} + J^-_{(çözelti)} \rightleftharpoons K^+J^-_{(yüzey)} + A^-_{(çözelti)}$$

dengeleri sonucunda ortaya çıkar, yani tayin edilecek iyon yerine bir başkası membran ile reaksiyona girer.

Florür selektif elektrotda önemli derecede etkili enterferansı olan hidroksil iyonunun etkisi, pH etkisi başlığı altında bölüm II.4.2 de ayrıca incelenecektir. İyon selektif elektrodun ortamdaki diğer iyonlar yanında kazandığı potansiyel cevabı Nernst eşitliği yardımıyla bulunur[24].

İyon selektif elektrodun cevap potansiyeli :

$$E_H = E^\circ - (RT/Fn) \ln a_{F^-}$$

Enterfere eden iyon içeren çözeltideki cevap potansiyeli :

$$E_H = E^* \pm (RT/F) \ln [a_i^{1/n} + k_{iy}\, a_y^{1/q}]$$

a : aktiflik
i : elektrodun seçici olduğu iyon (Florür)
y : enterferansa sebep olan iyon
k_{iy} : iki iyon arasındaki seçicilik katsayısı
q : enterferansa sebep olan iyonun yükü
n : elektrodun seçici olarak cevap verdiği iyonun değerliği
E^* : elektroda özgü sabit
R : gaz sabiti
T : mutlak sıcaklık
F : Faraday sabiti

Problemlerden bir diğeri de, ortamda birden fazla enterferans kaynağı iyon varlığında yapılacak hesaplamadır. Bu koşulda her bir iyonun seçicilik katsayısı[34] ve aktiviteleri hesaplanır ve Nernst eşitliği aşağıdaki genel eşitlik haline döner:

$$E = E^* \pm (RT/F) \ln [a_i^{1/n} + \Sigma\, k_{ij}.a_{ij}^{1/q}]$$

k_{ij} : enterferans kaynağı her bir iyonun seçicilik katsayısı
a_j : enterferans kaynağı her bir iyonun aktivitesi
q : enterferans kaynağı iyonun yükü

Katyonların ve pek çok anyonun (Cl^-, Br^-, I^-, SO_4^{-2}, HCO_3^-, NO_3^-, PO_4^{-3}) florür selektif elektrodun cevabına olan enterferans etkisi yapılan çalışmalarda ihmal edilebilir[25]. Bununla beraber bu etkilerin bilinmesi ve gerektiğinde doğrulukla hesaplanabilmesi önemlidir.

İyon selektif florür elektrodu üzerine klorür iyonunun enterferansı çok azdır. Zira F^- ile Cl^- arasındaki seçicilik katsayısı(k_{F^-,Cl^-}) çok küçüktür ve elektrot üzerine olan etkisi ihmal edilebilir.

$$LaF_{3(\text{membran})} + 3Cl^-_{(\text{çözelti})} \rightleftharpoons LaCl_{3(\text{yüzey})} + 3F^-_{(\text{çözelti})}$$

Çok büyük miktarda klorür iyonu varlığında bile uzun zaman içinde çok zayıf bir reaksiyon oluşur ve çok ufak miktarda $LaCl_3$ meydana gelir. Bu sebeple TISAB (Total Ionic Strength Adjustment Buffer) çözeltilerinde inert iyon olarak yüksek derişimlerde kullanılan Cl^- iyonu bir problem yaratmamaktadır. M.S. Frant ve J.W. Ross 10^{-4} M F^- yanında 0.1 M Cl^- veya NO_3^- bulunması halinde elektrot cevabında 7 mV luk bir azalma, yine 1000:1 oranında TISAB ilavesiyle cevapta yaklaşık 20 mV luk bir azalma olacağını belirtmişlerdir.[25]

II.3. Ölçüm Sonuçlarının Kalibrasyon Grafiği Yardımıyla Elde Edilmesi

Daha önce de belirtildiği gibi florür selektif elektrot ölçüm ortamında serbest halde bulunan F^- iyonlarının aktifliğine (etkin konsantrasyon) bağlı olarak belli bir potansiyel kazanır. Bu potansiyel değeri ölçüm ortamındaki serbest florür iyonu aktifliği ile doğru orantılı olduğundan, aktiflik değerleri farklı bir dizi florür çözeltisi içinde elektrodun kazandığı potansiyellerin ölçülmesi ve bu değerlerin aktifliklere karşı grafiğe alınmasıyla doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde edilir.

Halbuki rutin analitik işlemlerde iyon selektif elektrodun cevabının konsantrasyon cinsinden alınması, çalışmaları kolaylaştıran bir faktördür. Bu durumda kalibrasyon grafiği çizimi için kullanılacak saf NaF çözeltilerinin hazırlanışında sadece maddenin tartılarak alınması ve belli hacimlere tamamlanması söz konusudur.

Bölüm II.4.1 de açıklanacağı üzere TISAB kullanıldığında aktiflik katsayısının sabit kalacağı düşünülürse, uygulamada aktiflikler yerine konsantrasyon değerleri kullanılabilir ve elektrodun verdiği cevap ,

$E_H = E^{\circ} - 0.0591 \log C_F -$ eşitliğinden hesaplanır.

Eşitlikten görüldüğü gibi konsantrasyonun değişiminin logaritması ile, elektrot potansiyeli arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu sebeple kalibrasyon grafiği çizilirken ya konsantrasyonun logaritması alınmalı ya da semilogaritmik kağıt kullanılmalıdır .

Daha sonra benzer koşullarda test çözeltisi içinde florür elektrodunun kazandığı potansiyel ölçülerek kalibrasyon grafiği yardımıyla sonuca varılır.

II.4. Ölçüm Sonuçlarına Etki Eden Temel Faktörlerin TISAB Kullanımı İle Standardizasyonu

TISAB, Total Ionic Strength Adjustment Buffer (ortamın iyon şiddetini ayarlayan tampon çözelti) olarak isimlendirilen bu çözelti, ortamda yüksek bir iyon şiddeti temin etmek amacıyla kullanılır. TISAB içerisinde ortamı tamponlayan, tayin esnasında enterferansa neden olan iyonları komplekse alan ajanlar da bulunmaktadır.

TISAB kullanımının nedenleri aşağıda özetlenmiştir[24]:

1. Çözeltinin iyonik yapısı ve iyon şiddeti bakımından devamlılığını sağlar. Yapısında bulunan iyonlar neticesi yüksek ve sabit bir iyon şiddeti yaratır.Dışarıdan yapılacak ilavelerle bu değer pratikçe değişmez.

2. Çözelti içinde bulunan iyonlar yardımıyla ortamın pH sını ayarlayan tampon çözelti özelliği gösterir, bu nedenle pH sabit tutulur ve böylece hidroksil enterferansı önlenmiş olur.

3. Çözelti içindeki kompleks veren ajanlar vasıtasıyla florür iyonunu bağlayan Fe^{+3},Al^{+3} gibi iyonlar komplekse alınır.

II.4.1. Aktivite Konsantrasyon İlişkisi

Bölüm II.3 de açıklandığı gibi iyon selektif elektrot yardımıyla deneysel olarak çözeltinin iyon aktifliği okunur.

Buna karşılık konsantrasyonu bilinen çözeltileri hazırlamak daha kolaydır, bunlar primer standart madde özelliklerini taşıyan maddeler yardımı ile hazırlanabilirler. Konsantrasyonu bilinen bir çözeltinin aktifliğini hesaplayabilmek için çözeltinin aktiflik katsayısının (f) bilinmesi gerekir ve aşağıdaki eşitlik kullanılarak molar konsantrasyondan (C), aktifliğe (a) geçilebilir [24]:

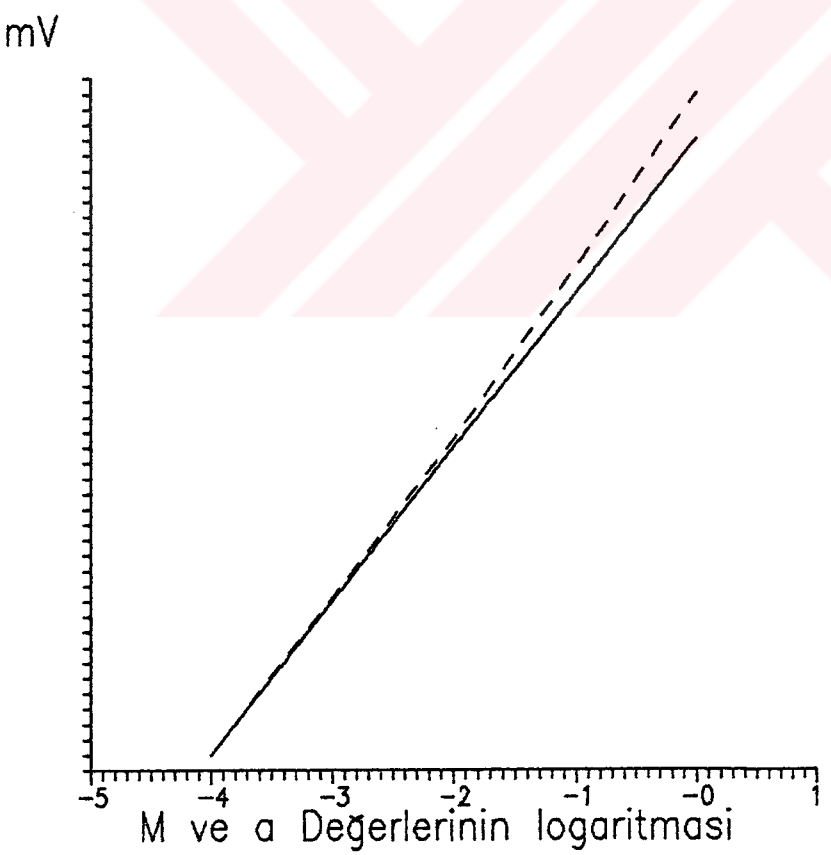
$a_i = f_i \cdot c_i$

Eğer aktivitesi belirli bir standart çözelti hazırlamak gerekiyorsa, elektrodun seçici olduğu iyonun çözelti içindeki aktiflik katsayısı f bilinmelidir. Bu sayede istenen aktifliği sağlayan uygun molar konsantrasyondaki çözelti hazırlanabilir.

Teorik olarak seyreltik çözeltilerde iyonların etkileşerek iyon grupları oluşturma şansları çok azaldığından molar konsantrasyon değeri aktiflik (etkin konsantrasyon)

değerine çok yaklaşır, bu durumda aktiflik katsayısı 1 değerine yaklaşır. Bu durum $\lim_{c \to 0} f=1$ denklemiyle formüle edilir. Pratik uygulamalar teoriyi doğrulamaktadır.

1:1 Elektrolitlerde örneğin NaF de 10^{-3} M ın altındaki konsantrasyonlarda deneysel aktivite-potansiyel ve konsantrasyon-potansiyel eğrileri üst üste çakışmaktadır. Divalent elektrolitlerde ise konsantrasyon ne kadar düşük olursa, aktivite ve konsantrasyon eğrileri o kadar yakınlaşır ve çok düşük konsantrasyonlarda ise konsantrasyon yerine aktivite kullanılabilir. Grafik 1 de bu eğriler gösterilmiştir[24].



Düz çizgi : Konsantrasyon cinsinden
Kesikli çizgi : Aktivite cinsinden

Grafik 1: İyon selektif florür elektrodu için aktivite ve konsantrasyon cinsinden çizilebilecek kalibrasyon eğrileri

Seyreltik florür iyonu çözeltilerinde ölçülen aktiflik değerleri konsantrasyon olarak değerlendirilebilir, ama biyolojik materyal, örneğin diş ile çalışırken ortamda pek çok başka iyon bulunmaktadır. Ayrıca bazı durumlarda ortamın pH'sının tampon çözelti yardımıyla belli bir aralıkta tutulması gerekmekte ve bu nedenle de ortama iyonlar ilave edilmektedir.

Aktiflik katsayısı f, çözeltinin total iyonik yapısının bir fonksiyonudur ve çözeltideki inert iyonlardan da etkilenmektedir. Çalışma koşullarımızda f 1'e eşit olmadığından artık a = c alınamaz. Bu durumda aktiflik katsayısını hesaplayarak, elektrot yardımıyla ölçülen aktifliklerden konsantrasyonlara geçilmesi düşünülebilir.

Aktiflik katsayısının hesaplanabilmesi için birçok ampirik formül türetilmiştir. Bunlardan biri de Debye-Hückel formülüdür. Bu formül ancak çok seyreltik çözeltilerin aktiflik katsayısını doğrulukla hesaplayabildiği için Debye-**Hückel limit yasası** adını alır[12,13].

$$\log f_i = -A.Z_i^2 \sqrt{I}$$

Burada A, ortamın dielektrik sabiti ve sıcaklığa bağlı olan bir sabitdir. A sabiti şu formülden hesaplanır:

$$A = \frac{1.824 \times 10^6}{(D \times T)^{3/2}}$$

D : dielektrik sabiti su için D= 78.54 dür
T : mutlak sıcaklık

Bu formül kullanılarak su için 25°C da A sabiti 0.512 olarak hesaplanır

I : çözeltinin iyon şiddeti
C_i : iyonun derişimi
Z_i : iyonun yükü olmak üzere,

$I = 1/2 \Sigma C_i \times Z_i^2$ formülü ile hesaplanır.

10^{-1} M dolayındaki konsantrasyonlar için iyon yarı çapı da bilinmeli ve aşağıdaki eşitlik kullanılmalıdır:

$$\log f_i = \frac{-A.Z_i^2 \sqrt{I}}{1+B.d \sqrt{I}}$$

B : iyonun yaklaşma uzaklığı
d : hidrate olmuş iyonun yarıçapı olarak tarif edilen sabit değerlerdir.

Eğer konsantrasyon 10^{-1} M dan daha yüksek ise daha kompleks teoriler geçerlidir, aktiflik katsayısı daha karmaşık formüllerle hesaplanır.

Aktiflik katsayısının hesaplanabilmesi için önerilen bütün formüllerde çözeltinin iyon şiddetinin, dolayısıyla iyonik bileşiminin bilinmesi gerekmektedir. Diş çalışmalarında ortamdaki matriks iyonlar nedeniyle bu mümkün olmamaktadır. Bu durumda problem TISAB kullanılarak çözülmektedir. Bölüm II.4.2 ve II.4.3 de açıklanacağı gibi florür selektif elektrot çalışmalarında ortamın pH'sının ayarlanması ve tayin edilecek florür iyonunun ortamda serbest halde bulunması da gereklidir. Ortama ilave edilen TISAB yardımıyla bu hususlar da sağlanmaktadır.

Aktiflik katsayısının total iyonik yapının bir fonksiyonu olduğu belirtilmişdi. Eğer total iyonik yapı tüm standart ve ölçüm numunelerinde aynı olursa tayin edilen iyon

için "f" değeri sabit kalacağından, elektrot yardımıyla ölçülen aktiflik değeri molar konsantrasyona,

$a_i = f_i \cdot c_i$

ilişkisi ile bağlanmış olacaktır.

Bu durumda elektrokimyasal potansiyel aşağıdaki gibi hesaplanacaktır :

$E_H = E \pm (0.0591/n)\log c_i.f_i$

$E_H = E \pm (0.0591/n)\log f_i \pm (0.0591/n)\log c_i$

ölçüm yapılan çözeltilerde n sabit ve f_i de sabit olduğuna göre,

$(0.0591/n)\log f_i$ = sabit olur.

Bu sabit, E sabit değeri ile birleştirilirse yeni bir sabit değer elde edilir (E"). Nernst eşitliği şu şekilde yazılabilir.

$E_H = E" \pm (0.0591/n)\log c_i$

Bu ifadeden görüldüğü gibi hücre potansiyeli, konsantrasyonun logaritması ile değişmektedir. TISAB çözeltileri ortamın iyonik yapısının devamlılığını ve sabit kalmasını sağlayan konsantre çözeltilerdir. Standart ve örnek çözeltilere eşit miktarda ilave edildiğinde karışımın iyonik şiddeti, iyonik şiddetlerin toplanabilirliği özelliği nedeniyle[24];

$I_{(karışım)} = I_{(TISAB)} + I_{(örnek)}$

eğer $I_{(TISAB)} >> I_{(örnek)}$ ise

$I_{(TISAB)} \approx I_{(TISAB)} + I_{(örnek)}$ olarak kabul edilebilir.

O zaman,

$I_{(karışım)} = I_{(TISAB)}$ olur

Bu durumda ölçümler esnasında iyonik yapı pratikce değişmeyeceğinden, sabit bir iyon şiddeti ve aktiflik katsayısı geçerli olacaktır.

TISAB çözeltileri amaca uygun olarak çeşitli şekillerde hazırlanabilir. Burada önemli bir nokta, bu çözeltilerin iyon şiddetini yükseltici ve sabit tutucu inert iyonlar, ortam pH sını ayarlayıcı bir tampon çifti ve uygun kompleks ajanları içermesidir.

M.S. Frant ve J.W. Ross şehir sularında florür tayini için aşağıdaki çözeltiyi önermişlerdir[26].

57 mL Glasiyal asetik asit

58 g Sodyum klorür

0.30 g Sodyum sitrat 500 mL saf suda çözülür.

1 M NaOH ile pH 5.00 - 5.50 arasına getirilir, soğutulur ve 1 L'ye su ile tamamlanır.

Benzer bir çözeltiyi E. Kıssa da önermiştir[39]. Bu çözeltide kompleksleyici ajan olarak 0.30 g Sodyum sitrat yerine 4 g CDTA (trans 1,2-Diaminosikloheksan N,N,N',N'-tetraasetik asit veya sikloheksilendiamintetraasetik asit) kullanıldığında TISAB II çözeltisi elde edilmiştir.

Ölçümler çok düşük konsantrasyonda yapılacaksa, ortamdaki Fe^{+3} ve Al^{+3} iyonlarının varlığı önem taşır.Bu sebeple yeni bir formülasyon olan TISAB IV kullanılmaktadır[49]. Bu çözelti 1 ppm florür iyonu yanında 100 ppm Fe^{+3}, Al^{+3} iyonlarını komplekse alabilir ve 200 ppm Fe^{+3}, Al^{+3} varlığında florür hatası % 5 den küçüktür.

Bu çözelti aşağıda belirtilen şekilde hazırlanır:

84 mL derişik Hidroklorik asit % 36-38

242 g TRIS (Hidroksimetilaminometan)

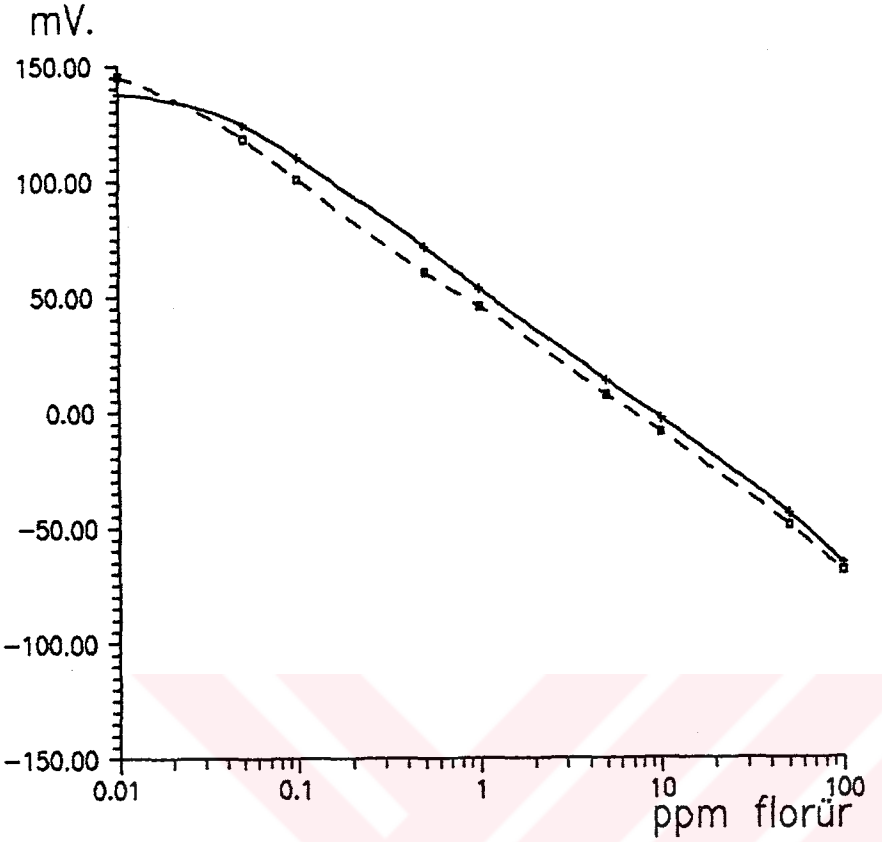
230 g Sodyum tartarat ($Na_2C_{21}H_4O_6$. 2 H_2O)

500 mL suda çözülür,soğutulur ve 1 L'ye su ile tamamlanır.

Alkali çözeltilerde florür iyonu tayininde (10^{-4}M dan daha düşük konsantrasyonda ve pH > 9.5 ise) kullanılması önerilen TISAB çözeltisi 4 M CH_3COOK tamponudur[49]. Standart ve numunede 1:10 oranında kullanıldığında OH^- enterferansını önler ve ortam pH sını 5.00-6.00 arasına getirir. 2 Kısım 6 M CH_3COOH 'e 1 kısım su katılır ve karıştırılır. Üzerine pH 5.00-6.00 arasına gelene kadar % 50 lik KOH ilave edilir ve soğutulur.

H.G. McCann ise 0.5 M $HClO_4$ ile 0.5 M $C_4H_4H_6Na_3$ (trisodyum sitrat)'ın 1:4 oranında karıştırılması ile [43] oluşan çözeltiyi kullanmıştır.

İyon selektif florür elektrotunun sulu çözeltide ve TISAB içinde verdiği cevap eğrisi Grafik 2 de gösterilmiştir[26].



Düz çizgi : Saf sodyum florür çözeltisi
Kesikli çizgi: TISAB içinde sodyum florür çözeltisi

Grafik 2 : İyon selektif florür elektrodunun TISAB içinde ve sulu çözeltide verdiği cevap eğrileri

Saf NaF çözeltisinde 100 ppm'den 0.01 ppm'e kadar elektrot cevabı her ondalık değişimi için 56 mV'dur ve doğrusal bir ilişki içindedir. 0.01 ppm ile algılama limitinin sonu olan 0.005 ppm arasında ise ilişki doğrusallıktan uzaklaşmaktadır. 1:1 Oranında TISAB ile karıştırıldığında ise elektrodun her ondalık değişim için verdiği cevap 58.3 mV olmaktadır[49].

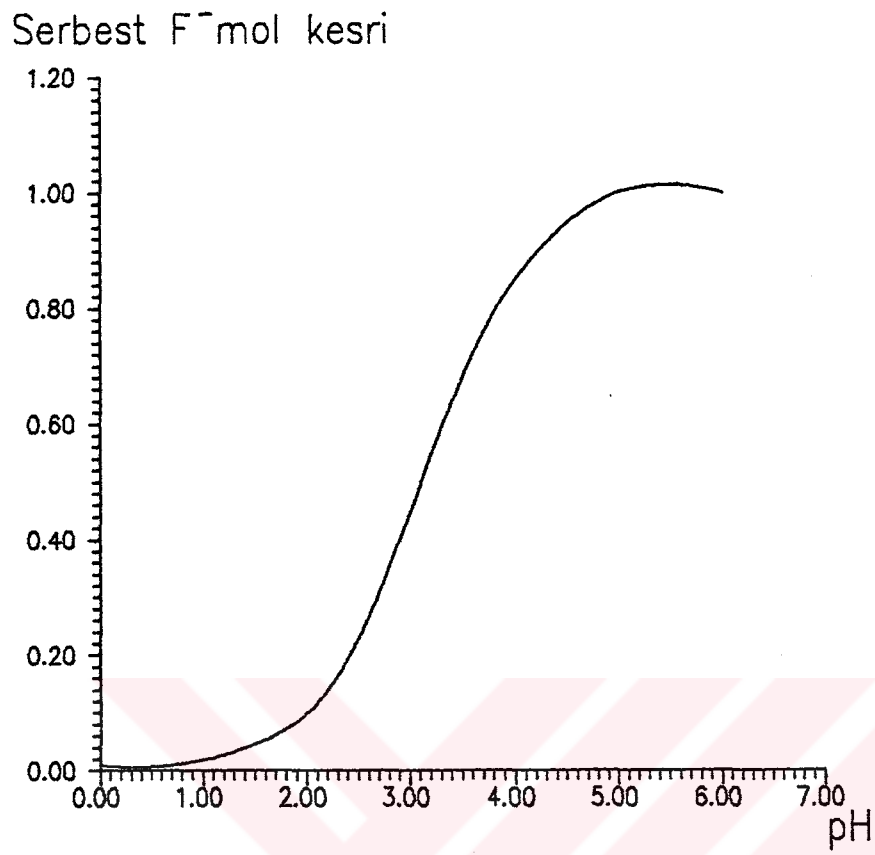
II.4.2. pH Etkisi

İyon selektif florür elektrodu için en önemli enterferans kaynağı OH^- iyonudur. Enterferansın şiddeti ortamda bulunan florür ve OH^- konsantrasyonlarına bağlıdır. OH^- iyonunun konsantrasyonu florür iyonunkinden on kat ya da daha fazla olduğu durumlarda OH^- enterferansı önem kazanır. Enterferans elektrot yüzeyindeki katının oluşturduğu bileşiğin çözünürlüğünden kaynaklanır. LaF_3 ün sudaki çözünürlüğü $La(OH)_3$ den çok daha azdır[24].Bu sebeple,

$$LaF_{3\,(membran)} + 3OH^-_{(çözelti)} \rightleftharpoons La(OH)_{3\,(yüzey)} + 3F^-_{(çözelti)}$$

eşitliği OH^- konsantrasyonu büyüklüğüne bağlı olarak sağ tarafa kayacaktır.

pH 7 ve altında OH^- konsantrasyonu 10^{-7} M veya daha azdır ve bu durumda florür iyonu ölçümlerinde OH^- enterferansı görülmez. Fakat asidik çözeltilerde (pH 5'in altında) bir kısım florür iyonu H^+ ile ayrışmayan HF asidi ve HF_2^- oluşturur. Grafik 3 de asidik çözeltilerde bulunabilecek serbest F^- miktarı gösterilmiştir. Grafikden de görüleceği üzere en uygun çalışma ortamında pH 5.00-5.50 arasındadır[49].



Grafik 3: Asidik çözeltilerde serbest F^- mol kesrinin pH'ya bağlı değişimi

Florür standartlarına ve örneklerine TISAB II ilavesinde pH, 5.00 - 5.50 arasına ayarlanır ve OH^- enterferansı ve F^- nun H^+ ile verdiği kompleks etkisinden kurtulunur. TISAB IV ilavesi pH yı 8.5'a ayarlar ve düşük konsantrasyondaki ölçümler için kullanılması uygun değildir[49].

II.4.3. Kompleks Oluşumu Etkisi

Florür iyonu Al^{+3},Si^{+3}, Fe^{+3} ve diğer bazı polivalent iyonlar ile kompleksler oluşturur. İyon selektif elektrot, yanlızca serbest F^- aktivitesine duyarlı olduğundan

ortamdaki bu tür iyonların bulunması oluşacak florür kompleksleri sonucu hatalı ölçümlere sebep olur. Ortamdaki florür iyonunun vereceği kompleks ortamdaki kompleksleyici ajanların konsantrasyonuna, florür iyonu miktarına ve TISAB miktarı ile cinsine bağlıdır. TISAB II içinde bulunan CDTA (Sikloheksilendiamintetraasetik asit) sayesinde Al^{+3} ve Fe^{+3} komplekse alınabilir. 1 ppm florür iyonu yanında 5 ppm Al^{+3} ve Fe^{+3} komplekslenebilir. Daha yüksek seviyedeki Al^{+3} ve Fe^{+3} için TISAB IV kullanılması uygundur[49].

II.5. Ölçüm Sonuçlarına Etki Eden Diğer Faktörler

II.5.1. Sıcaklık Etkisi

İyon selektif elektrotların potansiyelleri ortam sıcaklığına bağlıdır ve sıcaklık değişimlerinden etkilenirler. Kullanılan örnek ve standart çözeltilerin aynı sıcaklıkta ölçülmesi gerekir.10^{-3} M F^- konsantrasyonunda sıcaklıkdaki 1°C lık değişiklik yaklaşık % 2 lik hatalı ölçüme sebep olur[49].

Hücredeki potansiyel değişikliğinin kaynağı referans elektrodun potansiyelinin sıcaklık karşısında değişmesidir. Bu değişikliğin sebebi referans elektrotdaki çözünürlük dengesinin sıcaklık değişiminden etkilenmesidir.Bu nedenle iyon selektif elektrodun ölçüm sonuçlarının eğim değeri sıcaklıkdan etkilenir ve değişir. Tablo 1 de belirli sıcaklıklarda iyon selektif florür elektrotun teorik eğim değerleri gösterilmiştir. Elektrot 0 - 100 °C arasındaki

herhangi bir sıcaklıkda kullanılabilir. Fakat ölçümler esnasında çevre sıcaklığının değişmemesine dikkat edilmeli ya da sıcaklık konpenzasyonu yöntemi kullanılmalıdır.

Tablo 1 : Belirli sıcaklıklarda elektrodun teorik eğim değerleri

T °C	S (eğim)	T °C	S (eğim)
0	54.20	30	60.15
10	56.18	40	62.13
20	58.16	50	64.11
25	59.16	100	74.04

II.5.2. Elektrostatik ve Manyetik Etkiler

Önemli bir enterferans türü de elektrostatik ve manyetik enterferanstır. Çalışmalar sırasında ortamın elektrostatik yoğunluğunun değişmemesi gerekmektedir. Bu sebeple ölçüm yapılan ortamda elektrostatik etki yaratacak elektrikle çalışan cihazların mümkün olduğunca kullanılmaması, kullanılması zorunlu olanların ise ölçümlemeler sırasında değil ölçümlemeye başlamadan çalıştırılması veya ölçümleme süresince açık bırakılması gerekmektedir.

Elektromagnetik enterferansın en önemli kaynaklarından biri ise ortamı karıştırmaya yarayan magnet-manyetik karıştırıcı çiftidir. Manyetik karıştırıcı çalışırken ortamda devamlı değişen bir manyetik alan yaratmakta ve bu alan değişikliği bir potansiyel farkı meydana getirmektedir. Bu fark direkt potansiyel ölçen cihaza(mV metre) yansımaktadır.

II.6. Tekrarlanabilirlik

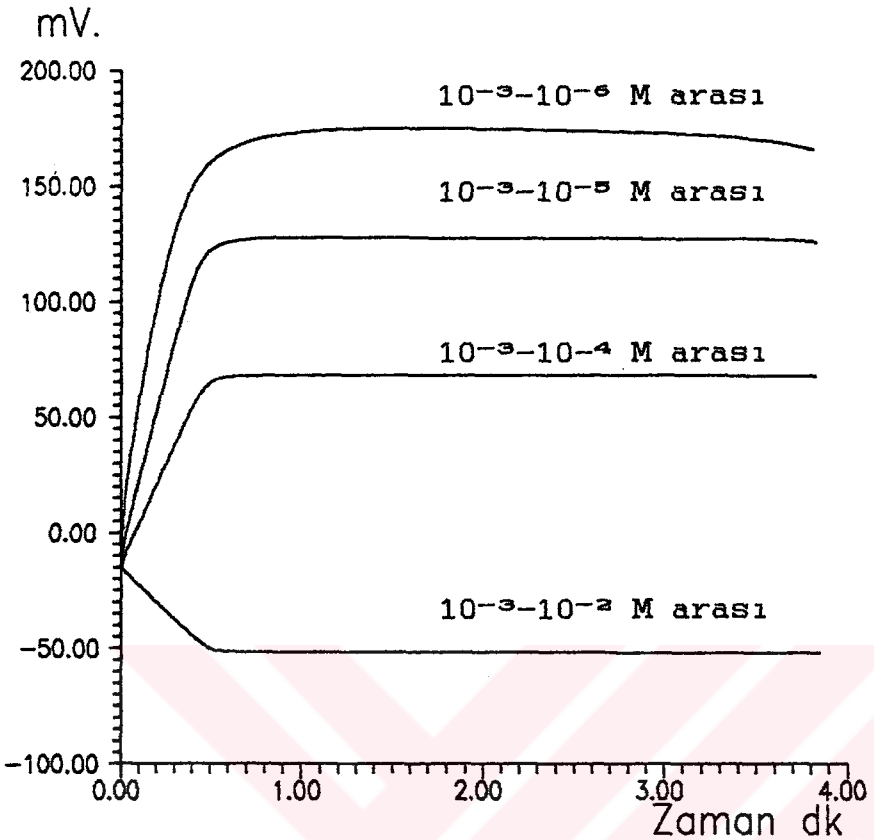
İyon selektif elektrotlarda tekrarlanabilir sonuçlar alınabilmesi için ortamın iyonik yapısının ve pH'sının uygun şekilde ayarlanması gerektiği daha önceki bölümlerde belirtilmişdi. Ayrıca karıştırma hızı ve biçimi, elektrodun çözelti içindeki konumu, eğer varsa referans elektrodun konumu elektrodun tekrarlanabilir sonuçlar vermesinde etkili faktörlerdir. Tüm şartlar yeterince ayarlandığında aynı çözeltide peşpeşe gerçekleştirilen ölçümler arasındaki fark 1 mV dan az olmaktadır ve tekrarlanabilir sonuçlar alınmaktadır[25,49].

II.7. Cevap Süresi

İyon selektif elektrotlar konsantrasyon ölçümlerine genellikle çok çabuk cevap verirler. Elektrot cevabı ölçümün başlamasından itibaren en fazla 1 dakika içinde alınabilir. IUPAC cevap süresini şöyle tarif eder[24] :

" Cevap süresi hücrede denge potansiyeline ulaşıldıktan sonra 1 mV luk bir değişiklik değerine erişmek için geçen süredir".

Grafik 4 iyon selektif florür elktrodu için 10^{-6} M 'a kadar olan konsantrasyonlarda elektrot cevabı için gerekli olan süreyi göstermektedir. Bu süre konsantrasyonun 10^{-6} M 'ın altına inmesiyle uzar.



Grafik 4 : İyon selektif florür elektrodunun konsantrasyon-cevap süresi arasındaki ilişki

İyon selektif elektrotlarda cevap süresi üzerine etki eden faktörler şöyle sıralanabilir :

1- Membran Tipi : Cam membran ve katı hal membran elektrotlarda cevap süresi, sıvı iyon değiştiren ve gaza hassas membran elektrotlara nazaran daha kısadır.Cevap süresi çok yavaş bile olsa genelde 30 saniyeyi geçmez.

2- Konsantrasyon değişiminin büyüklüğü : Grafik 4 geniş bir konsantrasyon aralığında elektrot cevap süresinin konsantrasyon değeri ile ilişkisini göstermektedir. İyon konsantrasyonu ne kadar büyük ise, cevap süresi o kadar kısadır.

3- Çalışılan çözeltinin toplam hacmi : Genellikle küçük hacimlerde cevap süresi, büyük hacimlere nazaran daha kısadır.

4- Çözelti ortamının karıştırılması : İyon hareketliliği bakımından ortamın belirli ve sabit bir hızda karıştırılmasında cevap süresinin kısaltılması bakımından fayda vardır.

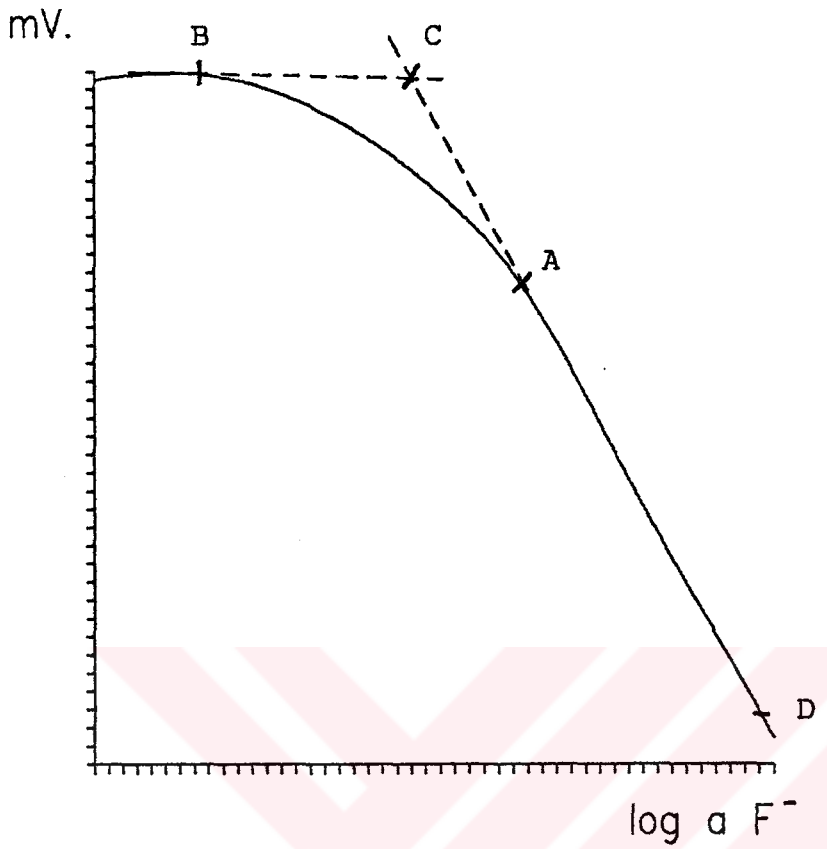
5- Enterfere edici iyonlar : Enterfere edici iyonların bulunuşu genellikle cevap süresini uzatır.

6- Sıcaklık : Çoğunlukla kimyasal reaksiyon üzerine etkisi nedeni ile, cevap süresi sıcaklık değişimi ile uzayabilir veya kısalabilir.

7- Potansiyel farkını okuyucu cihaz etkileri : Yukarıdaki faktörlerin tümü elektrodun kendisi ile ilgili faktörlerdir. Hücre potansiyeli bir milivoltmetre tarafından okunmaktadır. Voltmetreler, elektrot denge potansiyelindeki değişimleri elektrot kadar hızlı yansıtmazlar. Voltmetre'nin hızı birim zamandaki örnekleme sayısına ve kalitesine bağlıdır.

II.8. Ölçme Sınırı

Ölçme sınırları, uygun cevap süresi sonucunda, konsantrasyon ile ölçülen hücre potansiyeli değerlerinin doğrusal olarak değiştiği konsantrasyon sınırları olarak tariflenebilir. Elektrodun okuma yaptığı sınırlara ise algılama sınırları adı verilir. Grafik 5 geniş bir konsantrasyon alanı içinde bir florür selektif elektrodun, konsantrasyonun logaritmasına karşı oluşan hücre potansiyeli değerinin değişimini göstermektedir.



Grafik 5 : Geniş bir konsantrasyon alanı içinde, florür selektif elektrodun, konsantrasyonun logaritmasına karşı kazandığı potansiyelin grafiği

Bu grafikte A – D noktaları arasındaki ilişki Nernst eşitliğine uygundur ve doğrusaldır. İlişkinin doğrusal olduğu bu bölge çalışma için en güvenilir bölgedir. A noktası Nernst denklemine uygun doğrusal cevapların alınabileceği en alt konsantrasyon sınırdır.

Grafiğin A ile B noktası arasında kalan kısmında da çalışma yapılabilir. Fakat, yapılacak çalışma daha fazla sayıda ölçüm ve uzun zaman gerektirir. Bunun nedeni bölgedeki ilişkinin doğrusal olmaması ve kesin bir eğim değerinin de bulunmayışıdır.

Grafik B noktasından sonra X eksenine parelel olarak gitmektedir. Bu noktanın altında çözeltinin konsantrasyonu ölçülemeyecek derecede seyrelmiştir.

IUPAC ölçülebilecek en alt sınırı şöyle tarif eder[24] : "Alt ölçme sınırı, araştırılan iyonun çalışma grafiğinin ekstrapole edilmiş doğrusal kısmı ile, bu iyonun son derece düşük konsantrasyondaki cevabının ekstrapole edilmiş doğrusal kısmının kesiştirildiği noktanın konsantrasyonudur". Bu nokta Grafik 5 de C noktası olarak gösterilmiştir.

Çalışma koşulları göz önüne alınarak bir iyon selektif elektrodun verdiği cevabın alt sınırı daha da düşürülebilir. Bunun için iyonun o ortamdaki çözünürlüğünün arttırılması gereklidir. Çeşitli çözücülerde iyonun çözünürlüğü değişiktir. Çözücü değiştirerek çözünürlük arttırılabilir.

Alt sınır üzerine etkili diğer bir faktör de standart ve çözücü safsızlıklarıdır. Bu safsızlıklar alt cevap sınırının yükselmesine sebep olmaktadır. Tüm faktörleri önceden belirlemek ve etkilerini hesaplamak imkansızdır. Bu sebeple en etkili yol çalışma koşullarına uygun bir kalibrasyon grafiği çizmek, doğrusallıktan uzaklaşılan alt sınırı belirlemek ve analiz sırasında tüm şartlara hakim olmaktır.

III- M A T E R Y A L ve Y Ö N T E M

Giriş bölümünde de belirtildiği gibi çalışmamız, G.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi'nde yapılan "Ara yüzlerine diş ipliği ile asidüle fosfat florür uygulanması sonucu süt dişleri minelerindeki florür alımının in vitro olarak değerlendirilmesi" konulu doktora tezi ile ilgili bir yan çalışmadır.

Söz konusu tezde araştırmacılar süt dişlerine, geliştirdikleri bir teknik ile in vitro olarak florür uygulamışlar daha sonra bu dişlerin florür profilini kontrol grubuna karşı inceleyerek florlama yöntemlerinin başarısını değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bizim çalışmamız dişlerin florür profilinin çıkarılması için uygulanan analiz koşullarının düzenlenmesini konu almaktadır. Yapılan çalışmanın bir bütün olarak algılanabilmesi amacıyla Materyal ve Yöntem bölümüne anılan doktora tezinden "örneklere florür uygulanması","örneklerden biyopsi alınması","Biyopsi uygulaması sonucu kaldırılan mine derinliğinin hesaplanması" hakkındaki kısımlar alınmıştır. Bulgular bölümünde florür profiline ait sonuçlar da aynı çalışmada elde edilen değerlerdir.

III.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Hassas Terazi : Bosch S-2000

pH Metre : Bilmar model 101 pH/mV/Temp meter

Cam Elektrot : Russel CN 74 Kombine elektrot

İyon Selektif Elektrot : Russel 96-6099 Kombine elektrot

Etüv : Heraeus

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi : Perkin Elmer 2380

Plastik Tüp : LP Italiana SPA,Milan-Italy (Gamma ışınları ile sterilize)

III.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Ölçü maddesi Fulldent (CH-1261 ARZIER/VD- Switzerland)

Asidüle fosfat florür jeli Nupragel (Johnson-Johnson)

Potasyum hidrojen fosfat (Merck)

Potasyum sülfosiyanür (Merck)

Disodyum hidrojen fosfat (Merck)

Sodyum bikarbonat (Merck)

Sodyum klorür (Merck)

Potasyum klorür (Merck)

Üre (Sigma)

Laktik asit (Horasan Kimya)

Potasyum Hidroksit (Merck)

Perklorik asit (Merck)

Trisodyum sitrat (Merck)

Kalsiyum klorür (Merck)

100 ppm Florür çözeltisi (Russell 949070)

Etilendiamintetraasetikasit (Merck)

Sodyum hidroksit (Merck)

CDTA (sikloheksilendiamintetraasetikasit) (Aldrich)

III.3. Kullanılan Biyolojik Materyal

Araştırmamızda Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Kliniğinden temin edilen 10-12 yaş grubundaki çocuklardan çekilmiş 30 adet süt dişi kullanıldı. Alt ve üst çeneye ait olan bu dişlerin hiçbirinde çürük lezyonu bulunmamaktadır. Çekilen dişler diş fırçası ile akar su altında fırçalanarak araştırmamızda kullanılıncaya kadar, distile su içinde buzdolabında 4°C'da saklandılar[18] . Bu dişler fissür firez kullanılarak bukkolingulal yönde eşit iki parçaya bölündü. Böylece araştırma için gerekli olan aynı dişe ait distal ve meziyal iki yüzey elde edildi.

Dişlerde florür iyonu miktar tayini için McCann'ın önerdiği " pencere metodu " uygulandı[43]. Bu amaçla tüm dişlerin distal ve meziyal ara yüzeylerine, daha önceden bir zımba yardımı ile kesilmiş 4 mm çapındaki etiketler yapıştırıldı. Bu dişler bir pens yardımı ile tırnak cilası içine daldırıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu. Bu işlem diş yüzeyleri tamamiyle kaplanana kadar birkaç kez tekrarlandı. Diş yüzeylerine yapıştırılan etiketler dikkatlice çıkarıldı ve dişler tek tek bir mikroskop altında incelendi. Pencere kenarları düzgün olmayan ya da tüm yüzeyi tırnak cilası ile kaplanamamış dişler ayrıldı. Böylece tüm dişlerde asit ile dağlamaya uygun 4 mm çapında bir mine yüzeyi elde edildi (Resim 1).

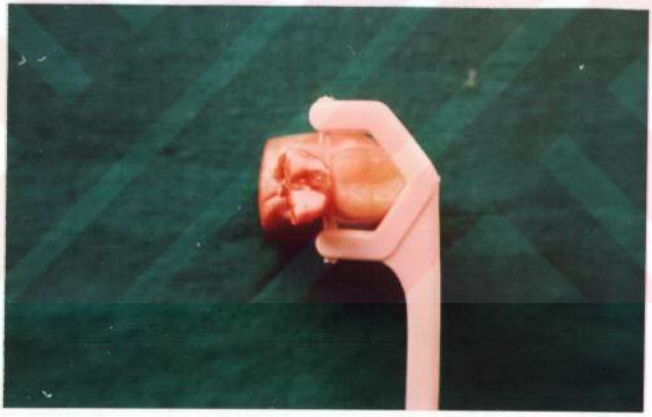
Resim 1 : Biyopsi islemi için mine yüzeyinin hazırlanması

III.4. Örneklere Florür Uygulanması

Her dişe ait kontrol ve çalışma grubunu oluşturacak distal veya meziyal yarılar rastgele seçildi ve ayrıldı. Tüm diş yarıları sağlam başka bir dişin arayüzü ile temas edecek şekilde silikon esaslı bir ölçü maddesi içine, çenedeki dizilişine uygun olarak gömüldü[33] (Resim 2).

Ara yüzeye florür uygulamasında kullanılacak olan mumsuz tip diş ipleri % 1.23 oranında florür iyonu içeren asidüle fosfat florür jeli içinde bekletilerek, ipin jel ile doyması sağlandı. Bu diş ipleri çalışma grubundaki dişlerin ara yüzeyine 45 saniye süre ile uygulandı [9,15,32,38,42] (Resim 3).

Resim 2 : Diş yarısının ölçü maddesi içine sağlam başka bir diş ile temas oluşturacak şekilde gömülmesi



Resim 3 : Asidüle fosfat florür jeli ile doyurulmuş diş ipliğinin uygulanması

Uygulamanın hemen ardından dişler akan distile su altında 20 saniye yıkandı.Çalışma grubundaki her bir diş için yeni bir diş ipi kullanıldı.Aynı işlem 3 gün süre ile sabah ve akşam olmak üzere günde 2 defa tekrar edildi.Böylece her bir dişe toplam 4.5 dakika süre ile asidüle fosfat florür jeli uygulanmış oldu. Yıkanan dişler diğer uygulamaya kadar, ağzı

kapaklı plastik tüpler içindeki 20.0 mL yapay salya içinde, 37 °C'de etüvde bekletildi. Her uygulamadan sonra yapay salya değiştirildi. Jel uygulaması hariç diğer tüm işlemler kontrol grubundaki dişlere de aynı paralellikde uygulandı[60].

III.5. Örneklerden Biyopsi Alınması

Üçüncü günün sonunda çalışma ve kontrol grubundaki dişler ölçü maddesinden çıkarıldı. Gevşek bağlı florürün diş yüzeyinden uzaklaştırılması amacı ile 50.0 mL 1 M KOH çözeltisinde 24 saat bekletildi[17,47].

Çalışmada McCann[43]'ın " florür iyon elektrodu ile sert dokularda florür analizi" metodu kullanıldı. Her biyopsi için 50 mL lik, konik uçlu tüpler kullanıldı.

Biyopsi için hazırlanan dişler, içinde 1.0 mL 0.5 M $HClO_4$ bulunan tüplere bir pens ile tutularak daldırıldı. Asit çözeltisi içinde pens uçlarının erimesi ve ortamı kirletmesi söz konusu olduğu için, pensin uçları tırnak cilası ile örtüldü. Mineden ayrılan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} ın yeniden mine üzerine çökmesini engellemek için [37,56] asit çözeltisi içindeki dişler küçük darbelerle çalkalandı [36] (Resim 4).

Asit ile dağlama 60 ar saniye olmak üzere ardarda üç kez uygulandı. Asit uygulaması sonunda dağlanmış mine yüzeyi 4.0 mL 0.5 M $C_6H_5O_7Na_3$ (trisodyum sitrat) çözeltisi ile yıkandı. Yıkama işlemi sonucu, mine yüzeyinde kalan asit çözeltisi ortama alınmış ve ortam tamponlanmış oldu. Tüm işlemler aynı tüp içinde tamamlandığından, toplam 5.0 mL ve birbirinden bağımsız ardarda üç biyopsi çözeltisi elde edilmiş oldu[64].

Resim 4 : Dişin pens ile tutularak tüp içindeki aside daldırılması

III.6. Standart Çözeltilerin Hazırlanması ve İyon Selektif Florür Elektrodunun Kalibrasyonu

Kalibrasyon esnasında kullanılacak standart çözeltilerin iyonik yapısının, biyopsi ortamı ile tam bir bütünlük oluşturması gerekmektedir. Bu amaçla biyopsi ortamında kullanılan $C_6H_5O_7Na_3$ ve $HClO_4$ arasındaki 4:1 oranı, standart çözeltilere uygulandı. $C_6H_5O_7Na_3$ ve $HClO_4$ 4:1 oranında karıştırıldığında ortam pH' sının 5.67 olduğu saptandı. Uygun çalışma pH 'sının 5.00 - 5.50 arasında olduğu bilinmekle beraber[26], karışım pH'sının bu değerlere yakın olduğu ve çalışma sonuçlarını etkilemediği görüldü.

İyon selektif florür elektrodu ile çözeltideki florür iyonu konsantrasyonu değil, florür iyonu aktivitesi ölçüldüğünden daha önce belirli konsantrasyonlarda standart florür iyonu çözeltileri hazırlayıp, bu çözeltilerin aktivitelerinin saptanması ve bir kalibrasyon grafiği çizilmesi gerekmektedir.

Standart florür çözeltisi hazırlamak amacıyla 100 ppm'lik standart çözeltiden hareketle 0.5 M $C_6H_5O_7Na_3$ içinde 1.0 ppm ve 4.0 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilere "S_1" ve "S_2" çözeltileri adı verildi. Bu çözeltiler polietilen şişelerde saklandı. Tüm çalışma süresince elektrot kalibrasyonu için kullanılacak standart çözeltiler bu S çözeltilerinden hareketle hazırlandı.

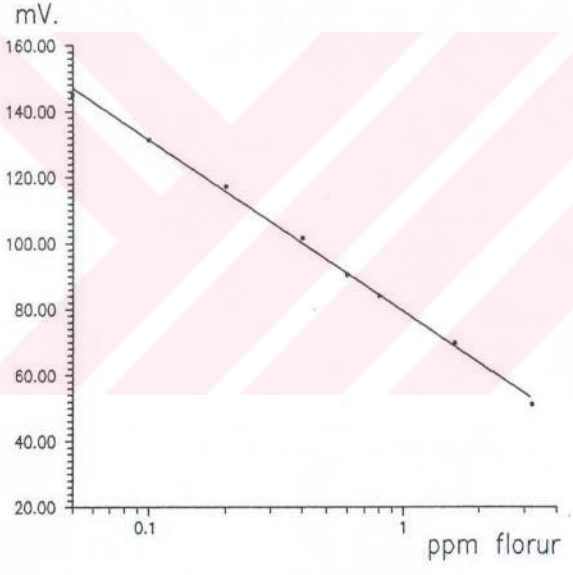
Her çalışmadan önce elektrot yeniden kalibre edildi.Elde edilen biyopsi ortamında bulunabilecek florür iyonu konsantrasyonunun 0.05 ppm ile 3.20 ppm arasında olacağı ve bu sınırları geçmeyeceği düşünüldüğünden[60] kalibrasyon bu sınırlar arasında yapıldı. Biyopsi çözeltileri florür iyonu değerleri bu sınırlar dışına çıkmadı.

Tablo 2 : Elektrot kalibrasyonu için standart çözeltilerin hazırlanışı ve okunan mV değerleri

ppm Florür	S_1 çözeltisi mL	S_2 çözeltisi mL	$C_6H_5O_7Na_3$ mL	$HClO_4$ mL	Okunan mV
0.05	0.25	-	3.75	1.00	145.1
0.10	0.50	-	3.50	1.00	131.4
0.20	1.00	-	3.00	1.00	117.3
0.40	2.00	-	2.00	1.00	101.6
0.60	3.00	-	1.00	1.00	90.4
0.80	4.00	-	-	1.00	84.0
1.60	-	2.00	2.00	1.00	69.7
3.20	-	4.00	-	1.00	51.2

İyon selektif florür elektrodunun hücre potansiyeli florür iyonu aktifliğinin logaritması ile değiştiğinden, florür iyonu miktarı (ppm) "X", elektrotta okunan değerler (mV) "Y" parametresi olarak alınırsa yarı logaritmik bir grafik kağıdında azalan bir doğrusal fonksiyon elde edilir.

Bu grafik, milimetrik bir grafik kağıdı üzerine "X" parametresinin logaritması alınarak da çizilebilir. Elde edilen değerler arasında regresyon analizi yapılarak çizilen grafik üzerinden florür iyonu konsantrasyonları bulunabilir[23,57]. Matematiksel bir denklem ile de ifade edilebilir. Grafik 6 kalibrasyon doğrusunu ve denklemini göstermektedir.



Doğru denklemi : y = 79.27 -52.04 log (X) r:-0.9990

Grafik 6 : İyon Selektif Florür Elektrotu için çizilen kalibrasyon grafiği ve doğru denklemi

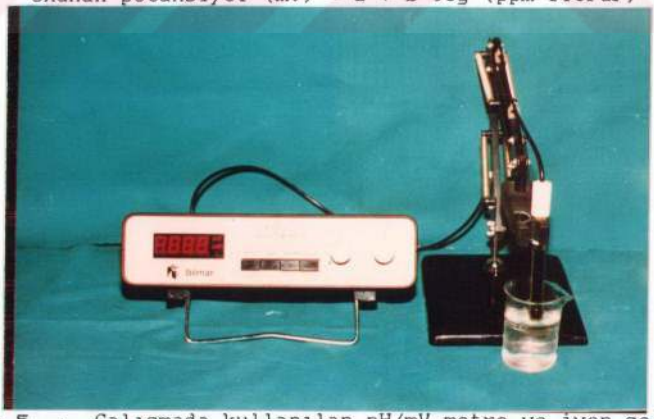
III.7. Biyopsi Örneklerinde Florür Ölçümü

Florür ölçümleri Russel 96-6099 model kombine iyon selektif elektrot ve Bilmar model 101 pH/mV/Temp meter kullanılarak gerçekleştirildi (Resim 5).

Kalibrasyon ve biyopsi çözeltilerinin ölçümleri sırasında, ortamın sabit ve sürekli şekilde karıştırılmasını sağlamak için bir manyetik karıştırıcı ve küçük boyutlu bir magnetten yararlanıldı. Kalibrasyon çözeltilerinde okuma işlemine en küçük konsantrasyon olan 0.05 ppm'den başlandı ve stabil bir okuma için 5 dakika beklendi. Diğer kalibrasyon ve biyopsi çözeltileri için de aynı sürede stabil okuma sağlandığı görüldü.

Standart doğru denklemi elde edildikten sonra her biyopsi örneği için elde edilen mV değerleri standart doğru denklemine yerleştirilerek (y = a + b logx) florür konsantrasyonları hesaplandı.

Okunan potansiyel (mV) = a + b log (ppm florür)



Resim 5 : Çalışmada kullanılan pH/mV metre ve iyon selektif elektrot

III.8. Biyopsi Örneklerinde Kalsiyum Analizi

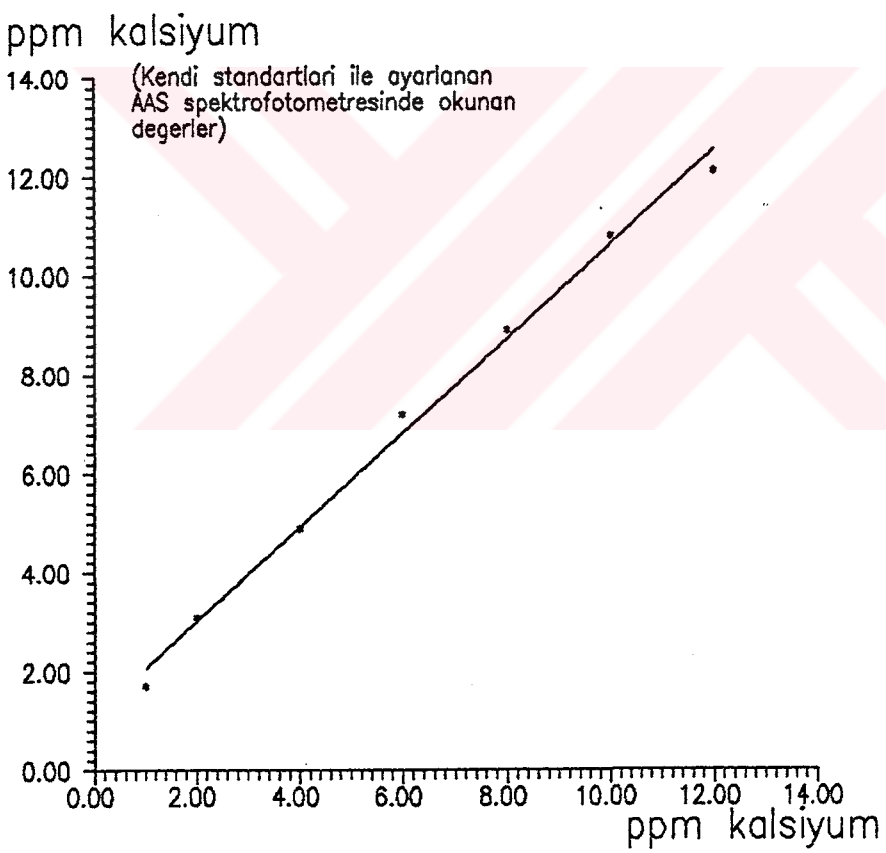
Araştırmamızda kalsiyum analizi için Perkin Elmer 2380 atomik absorbsiyon spektrofotometresi kullanıldı.

Biyopsi çözeltilerinde kalsiyum absorpsiyonunu enterfere edici[7,40,56,63] diğer iyonlar da bulunduğundan bu enterferans etkisinin saptanması amacı ile konsantrasyonları 1.0 ile 12.0 ppm arasında değişen bir seri standart kalsiyum çözeltisi 100.0 ppm'lik stok kalsiyum klorür çözeltisinden (Z çözeltisi) hareketle hazırlandı. Bu standart çözeltilerin içine de biyopsi örneklerinin de taşıdığı 1:4 oranında perklorik asit ve trisodyumsitrat (T Çözeltisi) ve 2.0 mL 0.1 M etilendiamintetraasetikasidin trisodyum tuzu (Na_3ETDA) ilave edildi. Toplam hacim distile su ile 10.0 mL'ye tamamlandı

Tablo 3 : Kalsiyum analizi için standart çözeltilerin hazırlanışı ve okunan değerler (ppm)

Kalsiyum ppm	Z çözeltisi mL	T çözeltisi mL	Na_3ETDA mL	Su mL	Okunan ppm
1.0	0.1	0.2	2.0	7.7	1.7
2.0	0.2	0.2	2.0	7.6	3.1
4.0	0.4	0.2	2.0	7.4	4.9
6.0	0.6	0.2	2.0	7.2	7.2
8.0	0.8	0.2	2.0	7.0	8.9
10.0	1.0	0.2	2.0	6.8	10.8
12.0	1.2	0.2	2.0	6.6	12.1

Önerilen koşullarda atomik absorpsiyon spektrofotometresinden elde edilen sonuçlar ile kalsiyum iyonu konsantrasyonları arasında artan doğrusal bir ilişki olduğu gözlendi. Bu doğrusal ilişkiden standart doğru denklemi elde edildi (y= a + bx) ve biyopsi çözeltilerindeki kalsiyum konsantrasyonları bu denklem yardımıyla hesaplandı. Grafik 7 biyopsi çözeltilerindeki kalsiyum iyonu konsantrasyonlarını hesaplamak için çizilen grafik ve doğru denklemini göstermektedir.



Doğru denklemi : y (ppm) = 1.12 + 0.95 X (ppm) r: 0.9971

Grafik 7 : Kalsiyum konsantrasyonlarını hesaplamak için çizilen kalibrasyon grafiği

Biyopsi ve kontrol grubu çözeltilerinden 0.2 mL alınarak 10 mL'ye distile su ile tamamlandı ve bu çözeltilerin aynı şartlarda konsantrasyonları okundu. Elde edilen doğru denkleminden hareketle kalsiyum konsantrasyonları hesaplandı.

III.9. Biyopsi Uygulaması Sonucu Kaldırılan Mine Derinliğine Bağlı Olarak Florür Konsantrasyonlarının Hesaplanması

Mineden çözünen kalsiyumun μg olarak bulunması derinliğin de matematiksel yolla hesaplanmasını sağlar[56].

$M = V \times D$ Bir cismin kütlesi, hacmi ile yoğunluğunun çarpımına eşittir.

Biyopsi için dişlerin yüzeyine 4mm çapında açılan pencerelerin yüzeyi 12.5 mm^2 , mine ağırlığının ortalama % 37 si Kalsiyum ve ortalama mine yoğunluğu 2.95 g/mL olduğuna göre [1,2,17,33,35] ,

$$d\ (derinlik) = \frac{M\ (Kütle)}{Biyopsi\ alanı\ (cm^2) \times Yoğunluk\ (g/mL)}$$

$$M = \mu g\ Ca^{+2} \times \frac{1}{1000} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{37}\ g\ mine$$

Oluşturulan lezyonda hacmi hesaplamak için üç boyut gereklidir. Bu durumda,

V = biyopsi alanı (cm^2) x derinlik (d)

$$d\ (derinlik) = \frac{M\ (Kütle)}{Biyopsi\ alanı\ (cm^2) \times Yoğunluk\ (g/mL)}$$

$$d\ (derinlik) = \frac{\mu g\ Ca^{+2} \times \frac{1}{1000} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{37}}{Biyopsi\ alanı\ (cm^2) \times 2.95\ (g/mL)}$$

Çıkan sonuç cm. olduğu için 10000 ile çarpılarak μm cinsinden derinlik bulunur.

Asitle dağlama sonucu çözünen mine derinliğindeki florür miktarı ppm olarak ifade edilir.Minedeki ppm çinsinden F^- miktarı gram olarak çözünen mine içindeki μg F^- miktarıdır.

$$\text{ppm } F^- = \frac{F^- \ (\mu g)}{\text{mine (g)}}$$

Bulunan ppm F^- değeri asitde çözünen mine derinliğindeki miktar değildir. Çünkü pek çok iyon gibi F^- miktarı da minenin dış yüzünden içeri doğru gidildikçe değişir. Değişim dış tabakada lineer ve iç tabakalara doğru ilerledikçe logaritmik olarak azalmaktadır[4,18,35] . Hesap edilen μg F^- miktarı tüm mineden ayrılan kısımdır ve F^- konsantrasyonu dişin dış yüzeyinde yüksek, iç tabakalarda ise daha düşük bulunmuştur. Bundan dolayı μg F^- miktarı poröz derinliğin hesaplanan noktasında değil, o noktaya kadar olan kütlenin tümündeki değerdir. Dolayısıyla poröz derinliğin tam ortasındaki mine florür konsantrasyonu olarak kabul edilebilir. Yani ppm F^- d/2 deki florür konsantrasyonudur[36].

Biyopsi derinliği, kontrol edilemeyen bir değişken olduğundan deney ve kontrol grupları arasında doğrusal bir karşılaştırma yapabilmek amacı ile, biyopsi derinlikleri birinci biyopsilerde 20 μm'ye, ikinci biyopsilerde 40 μm'ye ve üçüncü biyopsilerde 60 μm'ye standardize edildi. Bu amaçla dağlama sonucu ulaşılan derinlikdeki florür iyonu konsantrasyonlarının logaritması ile,

[Derinlik 1 + 2 +.....(n-1)]+1/2 Derinlik (n)

ifadesinden elde edilen derinlik değerlerinin logaritmasından her bir diş için elde edilen $y = a.x^{-b}$ denklemi[50] ile standart derinliklerdeki (20 μm, 40 μm ve 60 μm) ppm florür miktarları hesaplandı.

III.10. Çalışmamızda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Sentetik Salyanın Hazırlanması:

0.20 g. potasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), 0.33 g. potasyum sülfosiyanür (KSCN), 0.26 g. disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), 1.50 g. sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$), 0.70 g. sodyum klorür (NaCl), 1.20 g. potasyum klorür (KCl), 0.13 g. üre bir balonjoje içinde toplanarak distile su ile 1000 mL' ye tamamlandı. Bu çözeltinin pH'sı 7.5 olduğundan ağızdaki salyanın ortalama pH değeri olan 6.7'ye ulaşıncaya kadar laktik asit ilave edildi[60].

1 M Potasyum Hidroksit (KOH) Çözeltisinin Hazırlanması:

56 g. potasyum hidroksit 1 L lik balonjoje içine konulup, distile su eklenerek hacme tamamlandı.

0.5 M Perklorik Asit ($HClO_4$)' in Hazırlanması:

54.5 mL. perklorik asit (% 60, d=1.53 g/mL.) 1 L lik balonjoje içine konuldu, distile su eklenerek hacme tamamlandı.

0.5 M Trisodyum sitrat ($C_6H_5Na_3O_7$. 5.5 H_2O)'ın Hazırlanması:

178.6 g trisodyumsitrat tartılıp 1 L lik balonjoje içine alındı, üzerine bir miktar distile su konarak manyetik karıştırıcı ile çözünmesi sağlandı, distile su ile hacme tamamlandı.

Ana Stok Çözeltinin Hazırlanması:

100 ppm'lik stoktan 0.5 mL. alınıp trisodyum sitrat ile 50.0 mL.' ye tamamlandı . Böylece 1 ppm'lik bir çözelti elde edildi. Literatürde referans standart olarak NaF yerine KF öneren bir makaleye de[48] raslanılmasına rağmen Russell 100 ppm stok Florür çözeltisi (NaF) kullanıldı.

Kalsiyum Analizinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması:

1- Kalsiyum Stok Çözeltisinin Hazırlanması:

125°C' da 2 saat kurutulan kalsiyum klorürden ($CaCl_2.2H_2O$) 183.8 mg. alınarak 100.0 mL.'lik balonjoje içinde distile su ile çözüldü ve hacme tamamlandı. Bu çözeltiye 500 ppm'lik stok çözelti adı verildi. Bu stok çözeltiden 10.0 mL. alınıp, 50.0 mL.'ye distile su ile tamamlanarak 100 ppm'lik çözeltiler elde edildi.

2- Etilendiamintetraasetikasid'in Trisodyum tuzu (Na_3EDTA)'nun hazırlanması:

0.372 g. etilendiamintetraasetikasidin disodyum tuzu 1 L'lik balonjojede distile su ile çözünüp, hacme tamamlandı. 1 M sodyum hidroksitden pH'sı 8.6 oluncaya kadar ilave edilerek etilendiamintetraasetikasidin trisodyum tuzu elde edildi.

IV- B U L G U L A R

Çalışmamızda kullandığımız iyon selektif florür elektrodunun doğrusallık sınırlarını tayin etmek amacıyla 100.0 ppm lik stok NaF çözeltisinden hareketle hazırladığımız konsantrasyonları 0.005-50.00 ppm arasında değişen bir seri çözelti karşısında; TISAB II , Distile su ve 1:4 oranında karıştırılmış perklorik asit ile trisodyum sitrat varlığında alınan cevaplar (mV) tablo 4 de gösterilmiştir.

Tablo 4 : Doğrusallık sınırının tayini için elde edilen değerler

ppm F^-	TISAB II içinde mV	Distile Su içinde mV	1:4 $HClO_4$,$C_6H_5Na_3O_7$ içinde mV
0.005	148.6	154.2	122.1
0.01	137.7	145.4	132.0
0.05	124.4	118.4	112.0
0.1	109.9	100.7	97.7
0.5	71.5	60.4	62.8
1.0	53.3	45.6	46.0
5.0	13.7	7.5	9.4
10.0	-2.9	-8.8	-7.2
50.0	-43.9	-49.0	-46.5

Bu değerlerin regresyon analizleri yapıldığında 0.01 ppm den sonra doğrusallıktan uzaklaşıldığı görülmektedir. Tüm çalışmalarda bu değerin altında ölçüm yapılmadığından, regresyon analizine 0.01 ppm değerinden başlanmıştır.

Analiz sonuçları aşağıdadır :

Doğru denklemi : mV = a + b log (ppm F^-)

TISAB II için : mV = 50.19 - 51.63 log (ppm F^-) r:-0.9924

Distile Su için : mV = 44.47 - 53.50 log (ppm F^-) r:-0.9988

Deney ortamı için: mV = 42.74 - 49.09 log (ppm F^-) r:-0.9964

Karıştırma sırasında manyetik karıştırıcı hızının 120 devir/dakika olması, ortamın yeterince karıştırılabilmesi açısından uygun görülmüştür.

Ölçüm zamanı saptamak için yapılan ön çalışmada ölçülen en küçük değer olan 0.05 ppm için, stabil potansiyele ulaşma zamanının 3.5 dakika olduğu tespit edildi. Tüm çalışmalarda bu süre 5 dakika'ya uzatıldı.

Anılan koşullarda yapılan analizler sonunda elde edilen sonuçlar aşağıdadır.

Asidüle fosfat florür uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol grubu) simetrik diş yarılarından 60 saniyelik perklorik asit uygulamaları ile üç biyopsi sonucu çözünen mine ağırlıkları (mg.), biyopsi derinlikleri (μm.) ve bu derinliklerdeki florür iyonu değerleri (μg.) tablo 5 ve tablo 6' da verilmiştir.

Asidüle fosfat florür uygulanmış çalışma ve kontrol grubunda 60 saniyelik perklorik asit uygulanması sonucu kaldırdığımız mine kalınlıklarının 20, 40, 60 μm standart derinliklere uyarlanması sonucu bu derinliklerdeki florür iyonu değerlerinin, çalışmada kullanılan 30 dişteki dağılımı tablo 7 ve tablo 8' de gösterilmiştir.

Asidüle fosfat florür uygulanmış grupta, kontrol grubuna kıyasla 20, 40 ve 60 µm standart mine derinliklerindeki NET florür iyonu alınım değerleri (ppm) tablo 9' da gösterilmiştir.

Çalışma ve kontrol grubunda 20 µm, 40 µm ve 60 µm derinlikdeki mine florür iyonu değerlerine uygulanan t testi[57] sonuçları tablo 10, 11 ve 12' de gösterilmiştir.

20 µm, 40 µm ve 60 µm derinliklerde minenin ortalama net florür iyonu alınım değerleri ve standart sapmaları tablo 13' de gösterilmiştir.

Tablo 5-a: Asidüle fosfat florür uygulanmış grupta 60 saniyelik perklorik asit uygulamalarıyla elde edilen biyopsi sonucu çözünen mine ağırlıkları (mg.), biyopsi derinlikleri (μm.) ve bu derinliklerdeki florür iyonu değerlerinin (μg.) 1-10' nolu dişlerdeki dağılımı.

Diş No		1. Biyopsi	2. Biyopsi	3. Biyopsi
1	M mg:	1.82	1.82	2.50
	d μm:	49.47	49.47	67.79
	F μg:	4.44	0.57	0.47
2	M mg:	1.55	3.71	2.77
	d μm:	42.14	100.54	75.12
	F μg:	13.22	10.67	9.41
3	M mg:	1.89	1.21	1.15
	d μm:	51.30	32.98	31.14
	F μg:	4.99	2.11	1.59
4	M mg:	0.94	1.28	1.49
	d μm:	25.65	34.81	40.31
	F μg:	12.54	8.49	1.52
5	M mg:	0.74	1.28	1.55
	d μm:	20.15	34.81	42.14
	F μg:	7.25	6.65	3.10
6	M mg:	2.30	2.36	2.84
	d μm:	62.29	64.13	76.95
	F μg:	4.48	3.15	0.68
7	M mg:	0.61	0.88	1.22
	d μm:	16.49	23.82	32.98
	F μg:	4.36	3.75	3.49
8	M mg:	0.81	0.88	1.08
	d μm:	21.98	23.82	29.31
	F μg:	2.62	1.82	1.07
9	M mg:	1.62	2.23	1.89
	d μm:	43.97	60.46	51.30
	F μg:	4.07	0.83	0.45
10	M mg:	2.09	2.50	3.65
	d μm:	56.80	67.79	98.94
	F μg:	10.81	5.63	1.41

Tablo 5-b: Asidüle fosfat florür uygulanmış grupta 60 saniyelik perklorik asit uygulamalarıyla elde edilen biyopsi sonucu çözünen mine ağırlıkları (mg.), biyopsi derinlikleri (µm.) ve bu derinliklerdeki florür iyonu değerlerinin (µg.) 11-20' nolu dişlerdeki dağılımı.

Diş No		1. Biyopsi	2. Biyopsi	3. Biyopsi
11	M mg:	1.01	2.16	2.23
	d µm:	27.48	58.63	60.46
	F µg:	15.86	7.78	6.10
12	M mg:	1.02	0.62	2.36
	d µm:	27.60	16.90	64.13
	F µg:	20.70	8.10	3.60
13	M mg:	2.30	2.23	2.30
	d µm:	62.29	60.46	62.29
	F µg:	4.26	2.83	1.65
14	M mg:	1.82	1.89	2.09
	d µm:	49.47	51.30	56.80
	F µg:	5.58	3.10	0.63
15	M mg:	0.81	1.15	1.22
	d µm:	21.98	31.14	32.98
	F µg:	3.80	2.35	1.23
16	M mg:	1.01	0.61	2.36
	d µm:	27.48	16.49	64.13
	F µg:	26.70	8.80	3.65
17	M mg:	0.68	0.81	1.89
	d µm:	18.32	21.98	51.30
	F µg:	29.87	5.18	1.68
18	M mg:	0.81	1.28	3.11
	d µm:	21.98	34.81	84.28
	F µg:	8.40	5.53	3.28
19	M mg:	0.54	0.54	0.81
	d µm:	14.65	14.65	21.98
	F µg:	4.42	2.80	2.21
20	M mg:	1.96	1.55	2.03
	d µm:	53.13	42.14	54.93
	F µg:	19.40	2.60	2.00

Tablo 5-c: Asidüle fosfat florür uygulanmış grupta 60 saniyelik perklorik asit uygulamalarıyla elde edilen biyopsi sonucu çözünen mine ağırlıkları (mg.), biyopsi derinlikleri (µm.) ve bu derinliklerdeki florür iyonu değerlerinin (µg.) 21-30' nolu dişlerdeki dağılımı.

Diş No		1. Biyopsi	2. Biyopsi	3. Biyopsi
21	M mg:	0.88	0.81	1.15
	d µm:	23.82	21.98	31.14
	F µg:	11.11	2.69	1.22
22	M mg:	1.69	1.01	1.55
	d µm:	45.80	27.48	42.14
	F µg:	8.37	5.38	3.09
23	M mg:	0.54	0.81	0.94
	d µm:	14.65	21.98	25.65
	F µg:	4.72	1.39	0.87
24	M mg:	1.01	0.41	0.61
	d µm:	27.48	10.99	16.49
	F µg:	4.94	1.61	0.77
25	M mg:	1.55	1.69	1.62
	d µm:	42.14	45.80	43.97
	F µg:	3.23	1.58	1.21
26	M mg:	1.89	2.23	2.09
	d µm:	51.30	60.46	56.80
	F µg:	4.70	0.69	0.94
27	M mg:	0.88	1.29	1.35
	d µm:	23.82	34.81	36.64
	F µg:	4.22	2.14	1.10
28	M mg:	1.69	0.81	0.74
	d µm:	45.80	21.98	20.15
	F µg:	4.94	3.18	2.42
29	M mg:	0.81	2.30	2.09
	d µm:	21.98	62.29	56.80
	F µg:	6.50	5.09	2.58
30	M mg:	0.88	0.47	1.15
	d µm:	23.79	22.98	31.14
	F µg:	11.10	2.70	1.22

Tablo 6-a: Kontrol grubuna 60 saniyelik perklorik asit uygulamasıyla üç biyopsi sonucu çözünen mine ağırlıkları (mg.), biyopsi derinlikleri (µm.) ve bu derinliklerdeki florür iyonu değerlerinin (µg.) 1-10'nolu dişlerdeki dağılımı.

Diş No		1. Biyopsi	2. Biyopsi	3. Biyopsi
1	M mg:	1.28	1.22	1.55
	d µm:	34.81	32.98	42.14
	F µg:	0.69	0.36	0.29
2	M mg:	1.49	1.83	1.08
	d µm:	40.30	49.71	29.31
	F µg:	4.49	0.85	0.39
3	M mg:	0.68	1.28	0.54
	d µm:	18.32	34.81	14.65
	F µg:	2.12	0.65	0.35
4	M mg:	1.22	1.28	1.49
	d µm:	32.98	34.81	40.31
	F µg:	4.53	2.26	1.43
5	M mg:	0.81	0.81	0.68
	d µm:	21.98	21.98	18.32
	F µg:	2.62	1.02	0.20
6	M mg:	0.81	0.88	0.74
	d µm:	62.29	64.13	76.95
	F µg:	1.50	0.42	0.29
7	M mg:	0.61	0.74	0.74
	d µm:	16.49	20.15	20.15
	F µg:	0.34	0.24	0.18
8	M mg:	0.47	0.41	0.47
	d µm:	12.82	10.99	12.82
	F µg:	0.44	0.39	0.27
9	M mg:	2.43	2.03	2.03
	d µm:	65.96	54.97	54.97
	F µg:	0.79	0.30	0.28
10	M mg:	1.28	1.42	1.49
	d µm:	34.81	38.47	40.31
	F µg:	1.38	0.96	0.29

Tablo 6-b: Kontrol grubuna 60 saniyelik perklorik asit uygulamasıyla üç biyopsi sonucu çözünen mine ağırlıkları (mg.), biyopsi derinlikleri (μm.) ve bu derinliklerdeki florür iyonu değerlerinin (μg.) 11-20'nolu dişlerdeki dağılımı.

Diş No		1. Biyopsi	2. Biyopsi	3. Biyopsi
11	M mg:	1.77	1.42	2.43
	d μm:	46.86	38.47	65.96
	F μg:	6.68	0.73	0.54
12	M mg:	0.95	1.96	1.50
	d μm:	25.76	53.13	40.65
	F μg:	5.68	0.54	0.32
13	M mg:	1.08	0.81	1.55
	d μm:	29.31	21.98	42.14
	F μg:	0.61	0.45	0.30
14	M mg:	0.81	0.88	0.95
	d μm:	21.98	23.82	25.65
	F μg:	0.39	0.32	0.31
15	M mg:	0.41	0.54	0.61
	d μm:	10.99	14.65	16.49
	F μg:	2.63	1.15	0.33
16	M mg:	0.99	1.96	1.35
	d μm:	25.65	53.13	36.64
	F μg:	5.68	0.53	0.30
17	M mg:	0.68	0.61	0.95
	d μm:	18.32	16.49	25.65
	F μg:	10.20	7.70	0.36
18	M mg:	1.22	1.35	0.68
	d μm:	32.98	36.64	18.32
	F μg:	3.77	0.31	0.30
19	M mg:	1.35	0.81	1.01
	d μm:	36.64	21.98	27.48
	F μg:	0.45	0.31	0.22
20	M mg:	0.68	0.68	1.15
	d μm:	18.32	18.32	31.14
	F μg:	7.80	0.57	0.48

Tablo 6-c: Kontrol grubuna 60 saniyelik perklorik asit uygulamasıyla üç biyopsi sonucu çözünen mine ağırlıkları (mg.), biyopsi derinlikleri (µm.) ve bu derinliklerdeki florür iyonu değerlerinin (µg.) 21-30'nolu dişlerdeki dağılımı.

Diş No		1. Biyopsi	2. Biyopsi	3. Biyopsi
21	M mg:	0.68	1.28	1.69
	d µm:	18.32	34.81	45.80
	F µg:	0.46	0.25	0.18
22	M mg:	1.49	1.82	1.08
	d µm:	40.31	49.47	29.31
	F µg:	4.49	0.85	0.38
23	M mg:	0.54	0.47	0.47
	d µm:	14.65	12.82	12.82
	F µg:	0.61	0.33	0.28
24	M mg:	0.54	0.47	0.41
	d µm:	14.65	12.82	10.99
	F µg:	0.31	0.18	0.18
25	M mg:	1.08	0.41	0.27
	d µm:	42.14	45.80	43.97
	F µg:	1.05	0.53	0.23
26	M mg:	0.68	1.35	1.15
	d µm:	18.32	36.64	31.14
	F µg:	2.45	0.37	0.23
27	M mg:	1.89	2.36	2.03
	d µg:	51.30	64.13	54.97
	F µg:	1.20	0.68	0.43
28	M mg:	0.95	0.41	0.47
	d µm:	25.65	10.99	12.82
	F µg:	0.30	0.26	0.23
29	M mg:	1.62	0.61	1.08
	d µm:	43.97	16.49	29.31
	F µg:	0.32	0.25	0.26
30	M mg:	0.68	1.28	1.68
	d µm:	18.32	34.82	45.78
	F µg:	0.45	0.25	0.19

Tablo 7 : Asidüle fosfat florür uygulanmış grupta 20, 40 ve 60 µm' ye standardize edilmiş mine derinliklerindeki florür iyonu alınım değerleri (ppm) dağılımı

Diş No	20 µm	40 µm	60 µm
1	7051	1342	506
2	17925	7234	4253
3	8285	2298	1085
4	13356	3254	1424
5	8434	3254	1862
6	11565	2847	1261
7	5315	2454	1559
8	2766	976	533
9	6102	1281	515
10	24733	5939	2576
11	17817	6502	3602
12	19458	4800	2115
13	7756	2631	1397
14	11743	2549	1040
15	3851	1288	678
16	23332	5220	2169
17	12732	2312	850
18	9166	3417	1921
19	3959	1492	845
20	36882	6278	2215
21	7539	1485	574
22	13031	4102	2048
23	2522	678	312
24	3973	719	262
25	4475	1471	768
26	7010	1681	728
27	4176	1288	646
28	7322	2481	1311
29	7675	2990	1722
30	7593	1512	588

Tablo 8 : Kontrol grubunda 20, 40 ve 60 μm'ye standardize edilmiş mine derinliklerindeki florür iyonu alınım değerleri (ppm) dağılımı

Diş No	20 μm	40 μm	60 μm
1	841	292	154
2	6237	1125	411
3	1410	366	167
4	5492	1722	872
5	1695	298	108
6	1058	258	113
7	399	129	77
8	477	183	108
9	1315	414	208
10	1912	536	253
11	10156	1647	569
12	3756	685	253
13	746	305	176
14	475	217	136
15	990	231	99
16	3715	658	240
17	5166	732	231
18	3254	488	158
19	597	210	113
20	2305	353	118
21	434	156	86
22	6251	1112	407
23	475	163	90
24	271	102	59
25	1044	217	86
26	1234	264	108
27	1993	644	339
28	366	156	95
29	420	190	113
30	434	163	90

Tablo 9 : Asidüle fosfat florür uygulanmış grupta, kontrol grubuna kıyasla 20, 40 ve 60 μm standart mine derinliklerindeki NET florür iyonu alınım değerleri (ppm) dağılımı

Diş No	20 μm	40 μm	60 μm
1	6210	1050	352
2	11688	6109	3842
3	6875	1932	918
4	7864	1532	552
5	6739	2956	1754
6	10507	2589	1148
7	4976	2325	1482
8	2319	793	425
9	4787	867	307
10	22821	5403	2323
11	7661	4855	3033
12	15702	4115	1862
13	7010	2326	1221
14	11268	2332	904
15	2861	1057	579
16	19604	4562	1929
17	7566	1580	619
18	5912	2929	1763
19	3362	1218	732
20	34577	5925	2097
21	7105	1329	488
22	6780	2990	1677
23	2047	515	222
24	3702	617	203
25	3431	1254	682
26	5776	1417	620
27	2183	644	307
28	6956	2325	1220
29	7255	2800	1609
30	7159	1349	498

Tablo 10 : Çalışma ve kontrol grubunda 20 μm derinlikdeki mine florür iyonu değerlerine uygulanan t testi sonuçları

	Çalışma grubu	Kontrol grubu
$\bar{X}$:	10584.8	2160.9
SD :	7718.3	2376.4
n :	30	30
SE :	1409.2	394.5

Fark	:	8423.9
SE	:	1474.4
t	:	5.71 (S.D : 58)
Olasılık	:	2.01×10^{-7}

Bu ortalama florür iyonu değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında $p > 0.001$ anlamlı bir fark bulunmuştur.

Tablo 11 : Çalışma ve kontrol grubunda 40 μm derinlikdeki mine florür iyonu değerlerine uygulanan t testi sonuçları

	Çalışma grubu	Kontrol grubu
$\bar{X}$:	2859.2	467.2
SD :	1853.0	424.8
n :	30	30
SE :	522.0	85.3

Fark	:	2391.9
SE	:	343.9
t	:	6.95 (S.D : 58)
Olasılık	:	1.74×10^{-9}

Bu ortalama florür iyonu değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında $p > 0.001$ anlamlı bir fark bulunmuştur.

Tablo 12 : Çalışma ve kontrol grubunda 60 μm derinlikdeki mine florür iyonu değerlerine uygulanan t testi sonuçları

	Çalışma grubu	Kontrol grubu
$\bar{X}$:	1380.0	201.2
SD :	949.9	173.6
n :	30	30
SE :	251.9	36.7

Fark	:	1178.8
SE	:	176.3
t	:	6.68 (S.D : 58)
Olasılık	:	4.92×10^{-9}

Bu ortalama florür iyonu değerlerinin karşılaştırılması sonucu gruplar arasında $p > 0.001$ anlamlı bir fark bulunmuştur.

Tablo 13 : 20 μm, 40 μm ve 60 μm derinliklerde minenin ortalama net florür iyonu alınım değerleri (ppm) ve standart sapmaları

Derinlik :	20 μm	40 μm	60 μm
Florür iyonu :	84235 ±6885.3	2391.9 ±1616.6	1178.7 ± 880.2

V-TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada diş ipliği yardımıyla, arayüzlerine asidüle fosfat florür uygulanmış dişlerin, söz konusu yüzlerinden McCann yöntemiyle alınan biyopsi örneklerinde ve kontrol grubu örneklerinde iyon selektif florür elektrodu ile yapılan florür analizi koşullarının ve aynı diş minelerinde florür profilini çıkarmak için gerekli kalsiyum analizi koşullarının optimize edilmesi amaçlandı.

Florür analizleri için uygun koşulları saptama çalışmaları sonunda ulaşılan sonuçlar:

1- Analiz için gerekli numune hacmi ; Analizlerde kullanılan Russell 96-6099 tipi kombine elektrotla ölçüm yapılabilmesi için en az 1 mL'lik bir analiz örneği gerekmektedir. Uygulanan yöntemde analiz numuneleri 5 mL olduğundan bu açıdan bir problem çıkmamıştır.

2- Ölçüm sonuçlarının konsantrasyon cinsinden ifade edilmesi; İyon selektif florür elektrot, numunedeki florür aktifliğini okuyan bir elektrottur. Gerek kalibrasyon grafiği çizilmesi için hazırlanan çözeltilerde, gerekse numune sonuçlarında aktiflik-konsantrasyon ilişkisinin sabit bir aktiflik katsayısı yardımıyla kurulabilmesi için ortamın iyonik şiddetini sabit bir değerde tamponlamak gerekir.

Bu amaçla 1 mL 0.5 M $HClO_4$ sulu çözeltisinde dişler dağlandıktan sonra 4 mL 0.5 M $C_6H_5Na_3O_7$ (trisodyum sitrat) sulu çözeltisi ilave edilerek analiz örneğinde oldukça yüksek bir iyon şiddeti değeri elde edilmiştir.

Ortamın uygun bir TISAB ortamı olduğuna şu deney verilerinden yararlanılarak karar verilmiştir;

Saf suda hazırlanan 0.05-50.0 ppm aralığında NaF çözeltilerinin analizi sonucunda;

potansiyel(mV) = a+b log C_{F^-}(ppm)

doğrusal ilişkisinde korelasyon katsayısı r : -0.9988 olarak bulundu. Bu uygun korelasyon seyreltik çözeltilerde I = 0 ve f = 1 olması nedeniyle ppm cinsinden konsantrasyonların aktiflik değerine çok yakın olması ile açıklanabilir.

Diş örneklerinde dişten gelecek diğer iyonların etkisini gidermek için aynı seriyi literatürde çok kullanılan bir TISAB olan TISAB II içinde hazırladığımızda;

potansiyel(mv) = a+b log C_{F^-}(ppm)

doğrusal ilişkisinde korelasyon katsayısı r : -0.9924 olarak bulundu, bu kabul edilebilir bir değerdir.

1 mL 0.5 M $HClO_4$ + 4 mL 0.5 M $C_6H_5Na_3O_7$ içinde aynı seri hazırlandığında;

potansiyel(mV) = a+b log C_{F^-}(ppm)

doğrusal ilişkisinde korelasyon katsayısı r : -0.9964 olarak bulundu ve bu sonuçla çalışma ortamının uygun bir TISAB ortamı olduğuna karar verildi. Konsantrasyon(ppm)- Potansiyel kalibrasyon grafikleri, 0.05-3.2 ppm F^- içerecek tarzda bu ortamda hazırlanmış standart çözeltilerden yararlanarak çizildi.

3- Ortamın pH'sının ayarlanması ; Florür selektif elektrot için en önemli enterferans kaynağı OH^- iyonlarının varlığıdır. Bu iyonların belli bir değerin altında tutulması gerekmektedir. Bu sonuca numune çözeltilerinin pH'sını kontrol altında tutarak ulaşılabilir. Literatürde optimum pH aralığı olarak 5.00-5.50 değerleri verilmiştir.ölçüm için hazırlanan çözeltilerimizde pH=5.67 civarında olup, ortamdaki tampon sistemle sabitleşmektedir. Bu pH değerinin uygun çalışma koşulu kabul edilebileceği saptanmıştır.

4- Dişden gelen matriks iyonların enterferans etkisinin incelenmesi ; Dişden analiz numunesine gelen başlıca iyonlar kalsiyum ve fosfat iyonlarıdır. Florür selektif elektrot için katyon enterferansı söz konusu olmadığından kalsiyum iyonlarının etkisi önemsizdir. Anyonlardan özellikle enterferans etkisi literatürde belirtilen iyon hidroksil iyonudur.(Hidroksil konsantrasyonunun kontrol altına alınma mekanizması belirtilmişdi) Fosfat enterferansının ise özellikle ortamdaki çok düşük konsantrasyonlarda etkili olmadığı gözlenmiştir.

5- Ölçüm süresinin belirlenmesi ; Kıssa[39], Florür selektif elektrotda stabil bir elektrot potansiyeli elde edilebilmesi için gerekli olan sürenin (ölçüm süresi) ortamdaki florür konsantrasyonunun artması ve karıştırma ile kısaldığını saptamıştır. Yapılan analizlerin optimum bir sürede tamamlanabilmesi için 5 dakikalık okuma süresinin uygun olacağı düşünüldü. 12.5 mm^2 pencere açıklığı ve 0.5 M 1 mL $HClO_4$ sulu çözeltisinde gerçekleştirilen 60 saniyelik bir dağlama ile analiz çözeltisine geçen florür iyonları 0.05-3.2

ppm sınırları arasında olmaktadır. Bu örneklerde 120 devir/dakikalık bir hızla manyetik karıştırıcı yardımıyla yapılan 3.5 dakikalık karıştırma sonucunda karıştırma kesildikten 1.5 dakika sonra stabil okumalar yapılmıştır.

Numunedeki F^- iyonu konsantrasyonunun, pencere açıklığı büyütülerek veya dağlama süresi uzatılarak arttırılabileceği ve böylece okuma süresinin kısaltılabileceği düşünülürse de bu durumda dişten numune ortamına geçen enterferans yapan iyonların konsantrasyonun da artması söz konusu olabilecektir.

Karıştırma hızının arttırılması ise çözeltinin elektrotla temasında problemler çıkarmaktadır. Saptanan 5 dakikalık okuma süresi optimum bir değerdir.

6- Elektrostatik ve manyetik enterferansın önlenmesi ; Karıştırma işlemi bir manyetik karıştırıcı yardımıyla gerçekleştirilmektedir, ortamdaki devamlı manyetik alan hareketi elektrot potansiyelinde artışa neden olmaktadır. Bu nedenle okuma işlemleri karıştırıcının çalışması durdurulup plastik konik uçlu tüpdeki numune, topraklanmış bir metal kılıf (Faraday kafesi) içine konulduktan sonra gerçekleştirildi.

Elde edilen optimum koşullarda gerçekleştirilen analiz sonuçları tablo 9 da gösterilmiştir.

Bu koşulların dişlerin dağlanması ile elde edilen numunelere uygulandığı şekilde, günümüzde florlama amacıyla sulara, sütlere, sakızlara ve diş macunlarına[66] katılan florür miktarlarının saptanmasında da geçerli olacağını düşünüyoruz.

Ülkemizde bu amaçla yapılan florür analizleri 1955 senesinden bu güne sürmektedir[8]. Ama gerek florlama vasıtalarının çeşitlenerek artması (sakız, diş ipi vb) gerekse analiz tekniklerinin gelişimi bu tür araştırmaları hep gündemde tutmaktadır.

Araştırmamızın ikinci bölümünü dişlerin florür derinlik profillerinin çıkarılması amacıyla, aynı numunelerde gerçekleştirilen kalsiyum analizi şartlarının optimizasyonu oluşturdu. Kalsiyum analizi AAS (atomik absorpsiyon spektrofotometrisi) yöntemi ile gerçekleştirildi. Optimum analiz koşullarına ait bulgularımız aşağıdadır :

Standart kalsiyum çözeltilerinin hazırlanması:

$CaCl_2$ den hareketle 100 ppm Ca^{+2} içeren sulu stok çözeltisi hazırlandı.Tablo 3 de gösterildiği gibi stok çözelti ve trisodyum EDTA sulu çözeltisi karışımları yapılarak 1-12 ppm Ca^{+2} içeren standart çözelti serisi hazırlandı. Ayrıca her çözeltiye biyopsi ortamında bulunan oranlarda $HClO_4$ ve Trisodyumsitrat içeren sulu çözeltiden 0.2 mL ilave edildi.

Numunelerin hazırlanması :

Florür analizinden sonra alınan 0.2 mL çözelti üzerine 2 mL 0.1 M sulu EDTA çözeltisi ilave edildi, toplam hacim distile su ile 10.0 mL ye tamamlandı.

Ölçüm koşulları :

Lamba Akımı : 3 mA
Yanıcı Gaz : Asetilen
Destek Gaz : Azot Oksit
Band Genişliği : 0.5 nm
Lamba Dalga Boyu : 442.7 nm

Doğrusallık sınırları : 1-12 ppm arasında r : 0.9971

VI- Ö Z E T

Bu çalışmada florür uygulaması yapılan ve kontrol grubu olarak seçilen dişlerden alınan biyopsi örneklerindeki florürün iyon selektif florür elektrodu yardımıyla miktar tayini için uygun analiz koşulları incelendi. Aynı biyopsi örneklerindeki kalsiyum iyonlarının AAS ile miktar tayini yapılarak dişlerin florür profili çıkarıldı.

VII- S U M M A R Y

The purpose of this study was to examine suitable analysis conditions for the quantitative analysis of floride ion on the floride applied teeth and control group in biopsy samples by the aid of ion selective floride electrode.

Floride profiles of teeth were determined through quantitative analysis of calcium ions by AAS in the biopsy sample.

VIII- K A Y N A K L A R

1- AASENDEN,R.,MORENO,C. : Evaluation of Biopsy Data in Human Enamel Fluoride Studies, Archs.Oral Biol., 16, 1413-1426, 1971

2- AASENDEN,R.,MORENO,C.,BRUDEVOLD,F. : Control of Sampling Areas for Human Tooth Enamel Biopsies, Archs.Oral Biol., 17, 355-358, 1972

3- ARAS,K.,YILMAZ,T. : Diş Biyolojisinde Florun Yeri ve Floridasyonun Diş Sağlığı Yönünden Önemi, A.Ü.Dişhek.Fak. Derg., 2(2), 91-97, 1975.

4- ATHANASSOULI,T.,TRONG,M.,PANAGOPOULOS,H.,WEATHERELL,J.A. : Patterns of Fluoride Distribution on the Surface of a Tooth Fragment after Clinical Treatment with Fluoride Gel, Caries Res., 22, 134-138, 1988.

5- BALAMIR,A.,BATIRBAYGIL,Y.: Florürlerin Etki Mekanizmaları, H.Ü.Dişhek.Fak.Derg., 7(2), 117-124, 1983

6- BAUMANN,E.W. : Trace Fluoride Determination with Specific Ion Electrode, Anal.Chim.Acta, 42, 127-132, 1968.

7- BAWDEN,J.W.,CRENSHAW,M.A. : Effect of Inhibition of Net Calcium Uptake on Net Fluoride Uptake in Developing Rat Molars, J.Dent.Res., 63(5), 642-645, 1984.

8- BAYIRLI,G.: Fluor Araştırmalarına Genel Bakış, M.Ü.Dişhek. Fak.Derg., 1(1), 15-21, 1983.

9- BEAL,J.F.,ROCK,W.P. : Fluoride Gels, Brith.Dent.J., 140, 307-310, 1976.

10- BELLACK,E.,SCHOUBOE,P.J. : Rapid Photometric Determination of Fluoride in Water, Anal.Chem., (30)12, 2032-2034, 1958.

11- BENEDIKTSSON,S.,RETIEF,D.H.,BRADLEY,E.L.,SWITZER,P. : The Effect of Contact Time of Acidulated Phosphate Fluorid on Fluoride Concentration in Human Enamel, Archs.Oral.Biol., 27, 567-572, 1982.

12- BIRYOL, İ. : Analitik Kimya Ders kitabı, A.Ü. Eczacılık Fakültesi, A.Ü. Basımevi, Ankara, 244-245, 1987.

13- BIRYOL,İ. : Yüksek Lisans Ders Notları, A.Ü. Eczacılık Fakültesi, Ankara

14- BLACK,S.A.,MATTHEWS,G.P.: Colorimetric and Chromatographic Determination of Total Fluoride in Toothpastes Containing Ionic and Covalent Fluoride, Anal.Proceed., 26, 67-69, 1989.

15- BOTTENBERG,P.,SLOP,D.,COOMANS,D. : Penetration of Fluoride Containing Self-Gelling Liquits into Human Molar Occlusal Fissures in Vitro, Caries Res., 23, 303-308, 1989.

16- CALKINS,R.C. : Determination of Macro Amounts of Fluoride by Steam Distillation and High-Frequency Titration, Anal.Chem., 34(7), 873-840, 1962.

17- CASLAVSKA,V.,GARON,P.,AHERN,J.M. : Fluoride Acquisition by Enamel from Solutions and Self-Gelling Preparations, Caries Res., 21, 333-338, 1987.

18- CHOW,L.C.,BEAUDREAU,G.M.,BROWN,W.E. : Enamel Fluoride Profile Construction from Biyopsy Data, Caries Res., 19, 103-112, 1985.

19- CRALL,J.J.,BREJGA,J.M. : Enamel Fluoride Retantion after DCPD and APF Application and Prolonged Exposure to Fluoride in Vitro, J.Dent.Res., 65(3), 387-389, 1986.

20- DEUTSCH,D.,ZARINI,S. : Determination of Subnanogram and Nanogram Amounts of Fluoride by Fluoride and Calomel Reference Electrodes, Anal.Chem., 52 , 1167-1168, 1980.

21- DUFF,E.J. : An Infrared and X-Ray Diffractometric Study of the Incorporation of Fluoride into Hydroxyapatite Under Conditions of the Cyclic Variation of pH, Archs.Oral Biol., 20, 763-769, 1975.

22- DUST,R.A.,TAYLOR,J.K. : Modification of the Fluoride Activity Electrode for Microchemical Analysis, Anal.Chem., 39(12), 1483-1485, 1967.

23- ERIKSSON,T. : The Application of Linear Regression to Potentiometric Titration of Millimolar Solutions of Fluoride with Lanthanun (III), Anal.Chim.Acta, 58, 437-444, 1972.

24- EVANS,A. : Potentiometry and Ion Selective Electrodes, Thames Polytechnic, London, 1987.

25- FRANT,M.S.,ROSS,J.W. : Electrode for Sensing Fluoride Ion Activity in Solution, Science, 154, 1553-1554, 1966.

26- FRANT,M.S.,ROSS,J.W. : Use of a Total Ionic Strength Adjustment Buffer for Electrode Determination of Fluoride in Water Supplies, Anal.Chem., 40(7), 1169-1171, 1968.

27- FEJERSKOV,O.,STEPHEN,K.W.,RICHARDS,A.,SPEIRS,R. : Combined Effect of Systemic and Topical Fluoride Treatments on Human Deciduous Teeth-Case Studies, Caries Res., 21, 452-459, 1987.

28- GRAY,A.S. : Fluoridation Time for a New Base Line, J.Canad.Dent.Assn., 10, 763-765, 1987.

29- GRIMALDI,F.S.,INGRAM,B.,CUTTITTA,F. : Determination of Small and Large Amounts of Fluorine in Rocks, Anal.Chem., 27(6), 918-921, 1955.

30- GRON,P.: Chemistry of Topical Fluorides, Caries Res., 11 (Suppl.1), 172-204, 1977.

31- HALLSWORTH,A.S.,WEATHERELL,J.A.,DEUTSCH,D. : Determination of Subnanogram Amounts of Fluoride with the Fluoride Electrode, Anal.Chem., 48(12), 1160-1164, 1976.

32- HATTAB,F.N. : Diffusion of Fluorides in Human Dental Enamel in Vitro, Archs.Oral Biol., 31, 811-814, 1986.

33- HELLWIG,E.,KLIMEK,J.,SCHMIDT,H.F.M.,EGERER,R. : Fluoride Uptake in Plaque-Covered Enamel after Treatment with the Fluoride Lacquer Duraphat, J.Dent.Res., 64(8), 1080-1083, 1985.

34- HULANICKI,A.,LEVENSTAM,A. : Model of Treatment of Selectivity Coefficients for Solid-State Ion Selective Electrodes, Anal.Chem., 53(9), 1401-1405, 1981.

35- IIJIMA,Y.,KATAYAMA,T. : Fluoride Concentration in Deciduous Enamel in High and low Fluoride Areas, Caries Res., 19, 262-265, 1985.

36- IYER,B.V.,FOX,J.L.,HIGUCHI,W.I.,HEFFERREN,J.J.,VISHNUPAD, K.S.: A New Acid Abrasion Procedure for Studying F Profiles in Demineralized / Remineralized Bovine Tooth Enamel, Caries Res., 17, 297-303, 1983.

37- JONG,H.P.,VAN PELT,A.W.J.,BUSSCHER,H.J.,ARENDS,J. : The Effect of Topical Fluoride Applications on the Surface Free Energy of Human Enamel, J.dent.Res., 63(5), 635-641, 1984.

38- KIRKEGAARD,E.: In Vitro Fluoride Uptake in Human Dental Enamel from Various Fluoride Solutions, Caries Res., 11, 16-23, 1977.

39- KISSA,E.: Determination of Fluoride at Low Concentrations with the Ion-Selective Electrode, Anal.Chem., 55, 1445-1448, 1983.

40- LARSEN,M.J.: Chemical Events During Tooth Dissolution, J.Dent.Res., 69 (Spec.Iss), 575-580, 1990.

41- LIBERTI,A.,MASCINI,M. : Anion Determination with Ion Selective Electrodes Using Gran's Plot's, Anal.Chem., 41(4) 676-679, 1969.

42- MARGOLIS,H.C.,MORENO,E.C. : Physicochemical Perspectives on the Cariostatik Mechanisms of Systemic and Topical Fluorides, J.Dent Res., 69(Spec.Iss.), 606-613, 1990.

43- McCANN,H.G. : Determination of Fluoride in Mineralized Tıssues Using The Fluoride Ion Electrode, Archs.Oral Biol., 13, 475-477, 1968.

44- NIŞLI,G.,YENİGÜL,B. : Membran Elektrotlar ve Bu Alandaki Gelişmeler, E.Ü. Kimya Fakültesi, İzmir , 1979.

45- POTTER,J.J.,HILLIKER,A.E.,BREEN,G.J. : Determination of Fluoride and Monofluorophosphate in Toothpastes by Ion Chromatography, J.Chromatog., 367, 423-427, 1968.

46- RETIEF,D.H.,SUMMERLIN,D.J.,HARRIS,B.E.,BRADLEY,E.L. : An Evaluation of Three Procedures for Fluoride Analysis, Caries Res., 19, 248-254, 1985.

47- RICHARDSON,B. : Fixation of Topically Applied Fluoride in Enamel, J.Dent.Res., 46(Suppl. 1), 87-91, 1967.

48- ROBINSON,R.A.,DUER,W.C.,BATES,R.G. : Potassium Fluoride - A Reference Standart for Fluoride Activity, Anal.Chem., 43(12), 1862-1865, 1971.

49- RUSSELL ION SELECTIVE ELECTRODE (Fluoride Electrode Model 96-6099) Instruction Manual

50- SHIDA,N.,MATSUSHIMA,K.,WADA,M. : A New Method for Analyzing the Distribution of Fluoride in Human Enamel, J.Nihan Univ.Sch.Dent., 28(1), 61-76, 1986.

51- SINGER,L.,ARMSTRONG,W.D. : Determination of Fluoride in Bone with the Fluoride Electrode, Anal.Chem., 40(3), 613-614, 1968.

52- SINGER,L.,ARMSTRONG,W.D. : Determination of Fluoride in Blood Serum, Anal.Chem., 51(1),105-109, 1959.

53- SKOOG,D.A.,WEST,D.M. : Principles of Instrumental Analysis, Holt,Rinehart and Winston, Inc.,New York, 446-498, 1971.

54- SOYMAN,M. : Diş Minesi İle İlgili Çalışmalarda Diş Seçimi, M.Ü.Dişhek.Fak.Derg., 3(14), 34-42, 1987.

55- SOYMAN,M. :Fluorun Yalnız ve Eser Metallerle (Aluminyum ve Stronsiyum) Beraber Uygulanması Sonucu Minenin Fluor Alımı ve Olayın Mine çözülmesine Etkisi, H.Ü.Dişhek.Fak.Derg., 5(1-2), 50-62, 1981.

56- SOYMAN,M.,ŞİRİN,Ş.,AKINCI,T. : Diş Minesi Çözülmesinin Matematiksel Yönden İncelenmesi ve Bundan Yararlanılarak Minedeki Fluorid Miktarının Saptanması, H.Ü.Dişhek.Fak. Derg., 1(2), 17-27, 1984.

57- SÜMBÜLOĞLU,K.,SÜMBÜLOĞLU,V. : Biyoistatistik, Çağ Matbaası, Ankara, 1987.

58- ŞENGÜN, F.İ. : Analitik Kimya, İ.Ü. Eczacılık Fakültesi, Taş matbaası, İstanbul, 1984.

59- TULUS, M.R., İMRE, S. : Analitik Kimya, İ.Ü. Eczacılık Fakültesi, Gençlik Basımevi, İstanbul, 280-286, 1989.

60- US,Z. : Arayüzeylerine Diş İpliği İle Asidüle Fosfat Florid Uygulaması Sonucu Süt Dişleri Minelerindeki Florid Alımının İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, G.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti Anabilim Dalı, Ankara , 1991.

61- ÜNERİ, S. : Elektrokimya, A.Ü. Fen Fakültesi, 2. Baskı, Cilt I, A.Ü. Basımevi, Ankara, 204-210, 1988.

62- VASSOS,B.H.,EWING,G.W. : Electroanalytical Chemistry,A Wiley-Interscience Publication New York, 48-59, 1983.

63- VOGEL,G.L.,CHOW,L.C.,BROWN,W.E. : A Microanalitical Procedure for the Determination of Calcium,Phosphate and Fluoride in Enamel Biopsy Samples, Caries Res.,17, 23-31, 1983.

64- WEATHERELL,J.A.,NAYROL,G.,HALLSWORTH,A.S. : Measurement of Topical Fluoride Acquired by Sound Human Enamel, Caries Res.,11, 231-236, 1977.

65- WEFEL,J.S.: Mechanisms of Action of Fluorides Pediatric Dentistry, STEWART,R.E.,BARBER,T.K.,TROUTMAN,K.C. WEI,S.H.Y. (Ed), The C.C. Mosby Company, St.Louis, Toronto, 772-779, 1982.

66- WEI,S.H.Y.,WEFEL,J.S. : Advences in Fluoride Research in STEWART,R.E.,BARBER,T.K.,TROUTMAN,K.C.,WEI,S.H.Y. (Ed) : Pediatric Dentistry, The C.C. Mosby Company, St.Louis, Toronto, London, 780-789, 1982.

67- WHARTON,H.W. : Isolation and Determination of Microgram Amounts of Fluoride in Materials Containing Calcium and Orthophosphate, Anal.Chem., 34(10), 1296-1298, 1962.

68- WILLARD,H.H.,MERRITT,L.L.,DEAN,J.A.,SETTLE,F.A.: Instrumental Methods of Analysis, 6.Baskı, D.Van Nostrand Company, New York, 1981.

69- ZEREN,A. : Elektrokimya, 3. Baskı, Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım A.Ş., Konya, 1991.

TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo		Sayfa No
1.	Belirli Sıcaklıklarda Elektrodun Teorik Eğim Değerleri	26
2.	Elektrot Kalibrasyonu için Standart Çözeltilerin Hazırlanışı ve Okunan mV Değerleri.....	39
3.	Kalsiyum Analizi İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanışı ve Okunan Değerler (ppm).....	42
4.	Doğrusallık Sınırının Tayini için Elde Edilen Değerler.....	48
5.	Asidüle Fosfat Florür Uygulanmış Grupta 60 Saniyelik Perklorik Asit Uygulamalarıyla elde Edilen Biyopsi Sonucu Çözünen Mine Ağırlıkları (mg),Biyopsi Derinlikleri (μm) ve bu Derinliklerdeki Florür İyonu Değerlerinin (μg) Dişlerde Dağılımı.....	51
6.	Kontrol Grubuna 60 Saniyelik Perklorik Asit Uygulamasıyla Üç Biyopsi Sonucu Çözünen Mine Ağırlıkları(mg), Biyopsi Derinlikleri (μm) ve bu Derinliklerdeki Florür İyonu Değerlerinin (μg) Dişlerde Dağılımı.....	54
7.	Asidüle Fosfat Florür Uygulanmış Grupta 20, 40, ve 60 μm'ye Standardize Edilmiş Mine Derinliklerindeki Florür İyonu Alınım Değerleri (ppm) Dağılımı.....	57
8.	Kontrol Grubunda 20 , 40 , ve 60 μm 'ye Standardize Edilmiş Mine Derinliklerindeki Florür İyonu Alınım Değerleri (ppm) Dağılımı...	58
9.	Asidüle Fosfat Florür Uygulanmış Grupta Kontrol Grubuna Kıyasla 20, 40 ve 60 μm Standart Mine Derinliklerindeki NET Florür İyonu Alınım Değerleri (ppm) Dağılımı.....	59
10.	Çalışma ve Kontrol Grubunda 20 μm Derinlikdeki Mine Florür İyonu Değerlerine Uygulanan t Testi Sonuçları.....	60
11.	Çalışma ve Kontrol Grubunda 40 μm Derinlikdeki Mine Florür İyonu Değerlerine Uygulanan t Testi Sonuçları.....	60

Tablo | Sayfa No

12. Çalışma ve Kontrol Grubunda 60 μm Derinlikdeki Mine Florür İyonu Değerlerine Uygulanan t Testi Sonuçları..... 61

13. 20 μm, 40 μm ve 60 μm Derinliklerde Minenin Ortalama Net Florür İyonu Alınım Değerleri ve Standart Sapmaları..... 61

GRAFİKLERİN LİSTESİ

Grafik | Sayfa No

1. İyon Selektif Florür Elektrodu İçin Aktivite ve Konsantrasyon Cinsinden Çizilebilecek Kalibrasyon Eğrileri..... 16

2. İyon Selektif Florür Elektrodunun TISAB İçinde ve Sulu Çözeltide Verdiği Cevap Eğrileri..... 22

3. Asidik Çözeltilerde Serbest F^- Mol Kesrinin pH' ya Bağlı Değişimi..... 24

4. İyon Selektif Florür Elektrodunun Konsantrasyon-Cevap Süresi Arasındaki İlişki..... 28

5. Geniş Bir Konsantrasyon Alanı İçinde Florür Selektif Elektrodun Konsantrasyonun Logaritmasına Karşı Kazandığı Potansiyelin Grafiği..... 30

6. İyon Selektif Florür Elektrodu İçin Çizilen Kalibrasyon Grafiği ve Doğru Denklemi..... 40

7. Kalsiyum Konsantrasyonlarını Hesaplamak İçin Çizilen Kalibrasyon Grafiği..... 43

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim		Sayfa No
1.	Biyopsi İşlemi İçin Mine Yüzeyinin Hazırlanması	35
2.	Diş Yarısının Ölçü Maddesi İçine Sağlam Başka Bir Diş İle Temas Oluşturacak Şekilde Gömülmesi	36
3.	Asidüle Fosfat Florür Jeli İle Doyurulmuş Diş İpliğinin Uygulanması	36
4.	Dişin Pens İle Tutularak Tüp İçindeki Aside Daldırılması	38
5.	Çalışmada Kullanılan pH/mV Metre ve İyon Selektif Elektrot	41

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil		Sayfa No
1.	Katı Hal İyon Seçici Elektrodun Yapısı	7
2.	Sıvı Membran Elektrodun Yapısı	9
3.	Gaza Duyarlı Elektrodun Yapısı	10
4.	Enzim Elektrodunun Yapısı	10

Ö Z G E Ç M İ Ş

1963 Yılında Ankara'da doğdum. İlk öğrenimimi Ankara Hamdullah Suphi İlkokulu'nda, orta öğrenimimi Ankara Bahçelievler Ortaokulu'nda ve lise öğrenimimi Ankara Cumhuriyet Lisesi'nde tamamladım. 1981 yılında girdiğim G.Ü. Eczacılık Fakültesi'nden 1985 yılında mezun oldum.

1987-1989 yılları arasında askerlik görevimi yerine getirdim. 1990 yılında G.Ü. Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak girdim. Halen aynı kurumda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.