

تحديد تركيز شاردة الثيوسيانات في دم المدخنين باستخدام طريقة التحليل الطيفي الضوئي اللوني

د. محمد الشحنة*

د. علا مصطفى**

عزيز علي حسن***

(تاريخ الإيداع 1 / 7 / 2018. قُبِلَ للنشر في 27 / 9 / 2018)

□ ملخص □

تم في هذا البحث استقصاء واقع تركيز شاردة الثيوسيانات في مصل الدم والتي لها تأثيرات سلبية وضارة عندما يزداد تركيزها في جسم الإنسان عن حد معين، وهذه الشاردة ناتج استقلاب السيانيد من دخان السجائر. استخدمت طريقة التحليل الطيفي الضوئي اللوني في المجال المرئي عند طول الموجة 460 nm لتشكيل المعقد بين شاردة الثيوسيانات والكاشف كلوريد الحديد وفق شروط مثلى لتشكيل المعقد وهي درجة الحرارة 25°C ، الزمن min 15، PH=4.4 الوسط المناسب، حجم محلول منظم السترات V=0.75 ml، حجم الكاشف المضاف V=1 ml، تركيز الكاشف المضاف 0.02 mg/ml .

أبدت هذه الطريقة دقة وصحة جيدتين، حيث تحققت صحة الطريقة من خلال المردود النسبي المئوي (R=99.3%)، أما دقة الطريقة من خلال القيمة المنخفضة للانحراف المعياري النسبي المئوي (RSD ≤ 1.149)

درس تركيز شاردة الثيوسيانات في مئتين وأربعين عينة لأشخاص غير مدخنين، ومئتين وأربعين عينة لأشخاص مدخنين قسمت جميعها إلى فئات عمرية مختلفة.

سجلت أعلى قيمة لتركيز شاردة الثيوسيانات 89.49 µmol/L في الفئة العمرية الرابعة للأشخاص غير المدخنين والذين أعمارهم أكبر من خمسين سنة، وأعلى قيمة في الفئة العمرية الرابعة للأشخاص المدخنين والذين أعمارهم أكبر من خمسين سنة 190.27 µmol/L ، وبلغ أعلى تركيز لشاردة الثيوسيانات عند الذكور غير المدخنين µmol/L 91.647 وللإناث غير المدخنات µmol/L 86.623 ، أما عند الذكور المدخنين بلغ تركيز شاردة الثيوسيانات µmol/L 204.53 وعند الإناث المدخنات µmol/L 167.33

الكلمات المفتاحية: التدخين، الثيوسيانات، السيانيد، الدم

* أستاذ - قسم الكيمياء كلية العلوم جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

**مدرسة - قسم علم السموم كلية الصيدلة جامعة البعث - حمص - سورية.

***طالب دراسات عليا (ماجستير) - قسم الكيمياء كلية العلوم جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

Determination of the concentration of thiocyanate ion in smokers' blood using photo-spectroscopy

Dr. Mohammad Al-Shihna*
Dr. Aoula Moustapha**
Aziz Hassan***

(Received 1 / 7 / 2018. Accepted 27 / 9 / 2018)

□ ABSTRACT □

In this research, the concentration of thiocyanate ion in serum has been investigated, thiocyanate has negative effects on human body when it increases higher than specific limit, this ion is produced by the metabolism of cyanide which exist in cigarette smoke.

Spectrophotometric method has been used in the visible range at $\lambda=460$ nm, the formation of the complex between thiocyanate and reagent Ferric chloride (FeCl_3) have been made in an ideal parameters such as temperature 25°C , time=15 min, pH=4.4, volume of citrate buffer=0.75 ml, volume of reagent (FeCl_3) =1 ml and concentration of reagent = 0.02 mg/ml.

The selected method showed good accuracy and precision, the accuracy of the method has been validated with $R=99.3\%$, and the precision of relative standard deviation was ($\text{RSD} \leq 1.149\%$).

The concentration of thiocyanate has been studied in a sample of 240 non-smokers' and in a sample of 240 smokers', these samples have been divided into different age groups.

The maximum concentration of thiocyanate was $89.49 \mu\text{mol/L}$ in the fourth group (>50 years) of the non-smokers', and the maximum concentration of thiocyanate was $190.27 \mu\text{mol/L}$ in the fourth group (>50 years) of the smokers'. The maximum concentration of thiocyanate was $91.647 \mu\text{mol/L}$ in the non-smokers' males and $86.623 \mu\text{mol/L}$ for the non-smokers' females, whereas the concentration of thiocyanate was $204.53 \mu\text{mol/L}$ in the male smokers' and $167.33 \mu\text{mol/L}$ in the female smokers'.

Key words: Thiocyanate, Smoking, Cyanide, Blood

* Professor, Department of chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, syria

** Assistant Professor, Department of Toxicology - Faculty of Pharmacy - Al Baath University, Homs, syria

*** Postgraduate Student - Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, syria

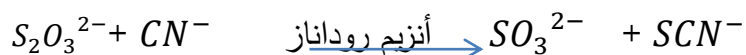
مقدمة:

ينتشر التدخين في كل المجتمعات على اختلاف الأصول والثقافات والمستويات الاجتماعية، وهو سبب مهم لزيادة الوفيات والأمراض في البلدان المتقدمة، ولأزال انتشاره يتزايد ولا سيما في وسط آسيا، وشرق أوروبا وأفريقيا [1]. بينت الدراسات العلمية أن التدخين من أهم العوامل الخطرة على صحة الإنسان لما يحتويه من مواد ضارة ومسرطنة تخرب الخلايا والأنسجة [2]، فهو عند النساء الحوامل المدخنات يؤثر على نمو الجنين ليؤدي إلى تخلفه من الناحيتين العصبية والنفسية وإلى انخفاض القدرات المعرفية عنده [3,4].

يؤدي التعرض للتدخين في مرحلة الطفولة وعند البلوغ لحدوث سرطانات منها سرطان الرئة، والبلعوم، والمري، والبنكرياس، والكلى، والمثانة، وأمراض القلب والأوعية الدموية، والأمراض الدماغية الوعائية، والسكتة الدماغية، ومن الأضرار أيضاً ارتفاع ضغط الدم، وأمراض الفم، واللثة، والأسنان، ويسبب أيضاً فقدان تدريجي للرؤية بسبب التأثير على عدسة العين [5,6]. نريد أن نلفت الانتباه إلى آثار التدخين السلبية وبصورة كبيرة على الجهاز التنفسي عند الإنسان، والذي ينتج عنه انتفاخ الرئة، والتهاب الشعب الهوائية المزمن، والربو وغيرها من الأمراض التي قد تؤدي إلى موت الإنسان [7,8].

يعد السيانيد من المواد الخطرة الناتجة من دخان السجائر، وقد يتم التعرض للسيانيد من خلال المصادر الغذائية مثل اللوز [9,10]، واستنشاق دخان الحرائق والعمل في حقول التعدين وصناعة المعادن [11]، والمهن كصناعة البلاستيك والانتاج الكيميائي كلها تسهم في التعرض للسيانيد، والمصدر الأهم للتعرض للسيانيد هو التدخين [12,13] في دم المدخنين الذي يساهم في ادخال جرعات من السيانيد إلى الجهاز التنفسي أثناء استنشاق دخان السجائر. يتحول السيانيد عندما يدخل إلى الجسم بسرعة إلى مستقلبات أقل سمية في السوائل البيولوجية [14].

تمتلك شاردة الثيوسيانات الصيغة SCN^- ، والوزن الجزيئي $58,078 \text{ g/mol}$ ، و تتشكل الثيوسيانات من خلال عملية التحويل الأنزيمية من شاردة السيانيد بواسطة الأنزيم روداناز مما يساعد هذا على إزالة السموم من الجسم، وبالتالي يمكن الكشف عنها في الدم [15]، واللعاب [16]، والبول [17] وفق المعادلة التالية :



إذ تتراوح التراكيز الفيزيولوجية للثيوسيانات بين $50 - 500 \mu\text{mol/L}$ وذلك اعتماداً على طبيعة التدخين واستهلاك الغذاء [18-19].

أظهرت بيانات الدراسات السكانية أن غالبية البشر لديها مستويات من الثيوسيانات الذاتية أقل من $150 \mu\text{mol/L}$ [18]، وعندما يصل تركيز الثيوسيانات إلى $1000 \mu\text{mol/L}$ يكون مرتبطاً بسمية عصبية، وعندما

يصل مجال تركيز الثيوسيانات $(3000 - 4000) \mu\text{mol/L}$ فإنها تشكل خطراً على صحة وحياة الإنسان [20]. يؤثر ارتفاع مستوى الثيوسيانات في الجسم وتجاوزه الحدود المسموح بها على الكلى ويؤدي إلى غيبوبة، لهذا كان تحديد تراكيز الثيوسيانات وخاصة في العينات الغذائية والبيولوجية والمائية مهم جداً [21]. ذكر أنه يمكن استخدام الثيوسيانات لعلاج ارتفاع ضغط الدم من قبل العالم باولي عام 1903 [22]، و تم التأكد من ذلك عندما حدد تركيز الثيوسيانات في البلازما عام 1940 [23]. يتم التخلص من الثيوسيانات في الكلى بنصف عمر ثلاثة أيام للأشخاص الأصحاء، ويعود ذلك إلى معدل إعادة امتصاص تسعون بالمئة من الثيوسيانات بالترشيح الكبيبي، وإن القصور الكلوي يزيد نصف العمر ليصبح من سبعة حتى تسعة أيام [24-25].

بناءً على ما سبق تمت دراسة الشروط المثلى لتحديد تركيز شاردة الثيوسيانات في دم الإنسان، باستخدام جهاز التحليل الطيفي الضوئي المرئي حيث يتم تشكيل معقد بين شاردة الثيوسيانات و الكاشف كلوريد الحديد عند درجة الحرارة C 25 حيث تقاس امتصاصيته عند طول الموجة 460 nm ومن ثم تحديد تركيز شاردة الثيوسيانات في عينات مختلفة بعد دراسة جميع الشروط المثلى التي تؤدي لتشكيل معقد ثابت ومستقر.

المواد المستخدمة:

كلوريد الحديد $FeCl_3$ نقاوته % 96 (Himedia, India)، ثيوسيانات البوتاسيوم KSCN نقاوته % 98 (Himedia, India)، حمض الخل من شركة SPC الانكليزية، حمض الكبريت H_2SO_4 نقاوته % 98 من شركة دمر بالتعاون مع شركة فيشر الألمانية، حمض كلور الماء HCl نقاوته % 37 من شركة دمر بالتعاون مع شركة فيشر الألمانية، كحول طبي وطني

الأجهزة المستخدمة في البحث:

جهاز سبيكتروفوتوميتر Spekol 1200 صنع شركة analytik Jeana الألمانية، ميزان تحليلي صنع شركة Sartorius الألمانية نموذج BL210s بدقة 0.0001 mg ، مثقلة Centerifuge مودل 2-80 تدور r/min 4000 صينية، ماصات ودوارق بحجوم مختلفة من شركة Marienfeld الألمانية، جهاز تقطير صيني (ثنائي التقطير)، مقياس pH من شركة Sartorius الألمانية نموذج pB11، حمام مائي من شركة Grant الانكليزية نموذج GD120، سيرنجات بحجم 5 ml.

تحضير المحاليل:

1- تم تحضير محلول كلوريد الحديد $FeCl_3$ بتركيز 0,02 mg/ml ، وحضر محلول حمض الخل CH_3COOH بتركيز % 20 ، وحضرت المحاليل المنظمة (المنظم البريتوني، منظم البورات، منظم السترات، والمنظم النشادري)

2- تحضير السلسلة العيارية لثيوسيانات البوتاسيوم :

حضر محلول ثيوسيانات البوتاسيوم بتركيز 0.001 M بوزن 0.097 gr من ثيوسيانات البوتاسيوم، ثم نقلت الوزنة إلى دورق عياري سعة 1000 ml، وأكمل الحجم بالماء ثنائي التقطير حتى إشارة التدرج . حضرت من هذا المحلول الأم سلسلة محاليل عيارية بتركيزات $(25 - 50 - 100 - 250 - 500)$ $\mu\text{mol/L}$. أخذ الحجم المناسب من المحلول الأم لكل تركيز معين وفق الجدول (1).

الجدول (1): الحجم المأخوذ من المحلول الأم لتحضير السلسلة العيارية

500	250	100	50	25	التركيز ($\mu\text{mol/L}$)
50	25	10	5	2.5	الحجم (ml)

نقلت الحجوم إلى دورق عيارية سعة 100 ml وأكمل الحجم بالماء ثنائي التقطير حتى إشارة التدرج .

3- تحضير العينات المدروسة:

جمعت عينات الدم في انابيب اختبار حاوية على مانع تخثر EDTA وثقلت تلك العينات بوساطة مثقلة Centerifuge Model 80-2 (4000 دورة في الدقيقة لمدة 15 دقيقة لتأمين فصل طبقة البلازما ، أخذت طبقة

البلازما 2 mL بواسطة ماصة ميكروية وعولجت بإضافة 1 ml من حمض الخل (20%) لترسيب بروتينات البلازما. بعد عملية المزج لمدة 5 دقائق تبعها عملية تثقيب لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة المخبر باستخدام المثقلة نفسها تم فيها ترسيب البروتين، أخذ 2 ml من الطبقة الطافية (المصل) وأضيف لها 0.75 ml من محلول السيترات المنظم و 1 ml من محلول كلوريد الحديد $FeCl_3$ لتشكيل معقد ملون ثابت ومستقر، قيس امتصاصية هذا المعقد عند طول الموجة λ_{max} 460 nm

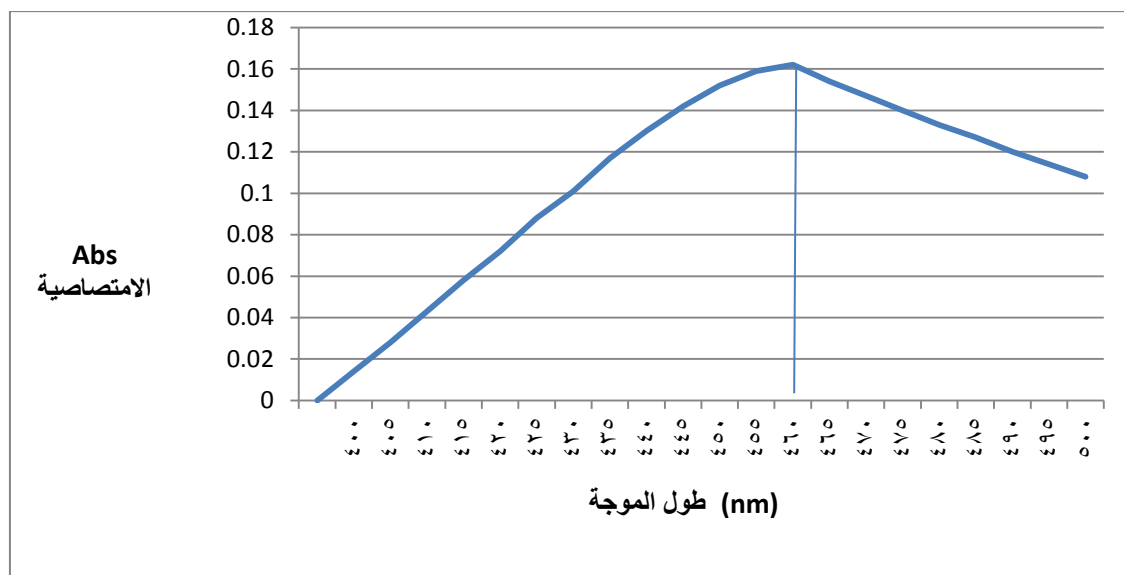
4- شروط تشكيل المعقد :

درس العديد من العوامل من أجل اختيار الشروط المثلى لتشكيل المعقد ومنها :
تأثير الزمن، تأثير طبيعة وقيمة pH المحلول المنظم، تأثير حجم المحلول المنظم، تأثير تركيز الكاشف المضاف، تأثير حجم محلول الكاشف المضاف، تأثير درجة الحرارة

النتائج والمناقشة

1- تحديد طول موجة الامتصاص العظمى λ_{max}

حدد طول الموجة الأعظمي بعد دراسة العوامل المؤثرة في تشكيل المعقد حيث طبقت الشروط المثلى لتشكيل المعقد، أخذ 2 ml من ثيوسيانات البوتاسيوم المحضر سابقاً بتركيز $50 \mu\text{mol/L}$ وأضيف 0.75 ml من المحلول المنظم عند $\text{pH}=4.4$ و 1 ml من الكاشف كلوريد الحديد المحضر سابقاً بتركيز $123.07 \mu\text{mol/L}$ ، حددت امتصاصية المعقد المتشكل ذو اللون الأحمر عند مجال من أطوال موجية مختلفة (400 – 500) nm.

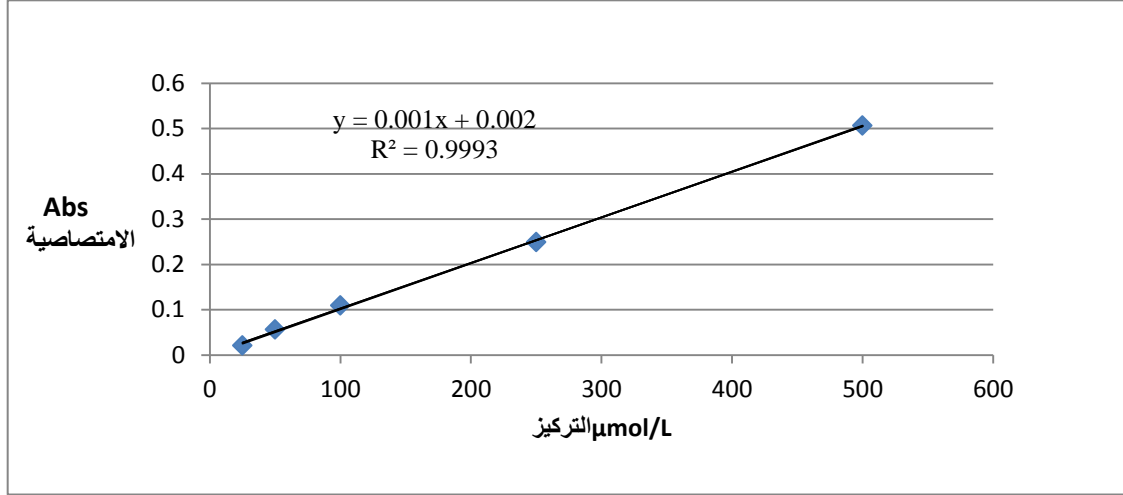


الشكل (1): طيف امتصاص معقد ثيوسيانات الحديد

يبين الشكل السابق أنّ طول موجة الامتصاص العظمى لمعقد ثيوسيانات الحديد هي $\lambda_{max} = 460 \text{ nm}$.

2- المنحني العياري للمعقد المتشكل بين ثيوسيانات البوتاسيوم وكلوريد الحديد :

أخذت سلسلة دوارق حجمية ووضع فيها 2 ml من كل تركيز من المحاليل المحضرة سابقاً لثيوسيانات البوتاسيوم (500-250-100-50-25) $\mu\text{mol/L}$ ، وأضيف لها 0.75 ml من محلول السترات المنظم عند $\text{pH}=4.4$ ، ثم 1 ml من الكاشف كلوريد الحديد المحضر سابقاً بتركيز 0.02 mg/ml ليتشكل المعقد ذو اللون الأحمر. قيست امتصاصية كل معقد ثلاث مرات وأخذ متوسط الامتصاصيات لكل معقد، ورسم المنحني العياري لمعقد ثيوسيانات البوتاسيوم مع كلوريد الحديد كما يوضحه الشكل (2).

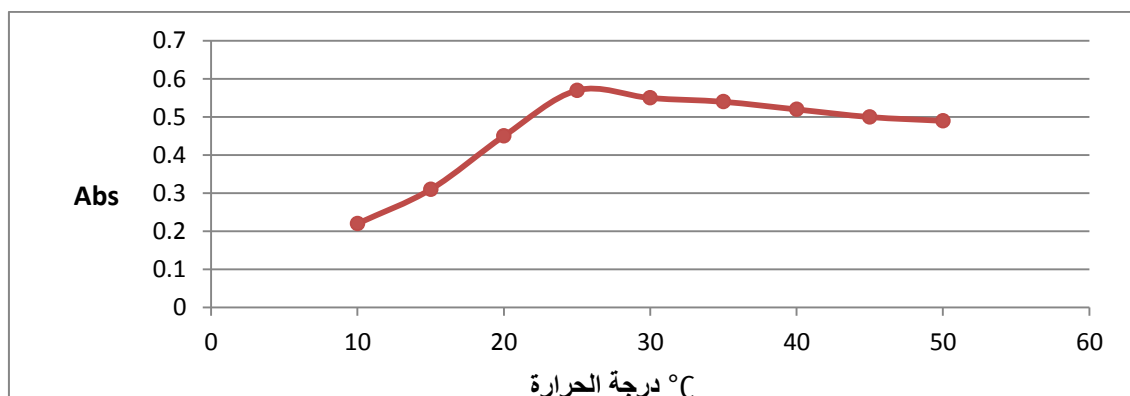


الشكل (2): المنحني العياري لمعقد ثيوسيانات البوتاسيوم مع الكاشف كلوريد الحديد عند طول الموجة $\lambda_{\text{max}} = 460 \text{ nm}$

3- دراسة الشروط المثلى لتشكيل المعقد :

3-1- دراسة تأثير درجة الحرارة في تشكيل المعقد:

تم تحديد درجة الحرارة المثلى لتشكيل المعقد، حيث لاحظ أن المعقد المتشكل يكون ثابتاً ومستقراً عند الدرجة 25°C . حضرت لذلك سلسلة دوارق حجمية سعتها 100 ml، ونقل الى كل منها 2 ml من ثيوسيانات البوتاسيوم بتركيز $50 \mu\text{mol/L}$ و 0.75 ml من المحلول المنظم عند $\text{pH}=4.4$ و 1 ml من كاشف كلوريد الحديد ذو التركيز mg/ml 0.02، ثم أخذت المحاليل و وضع في حمام مائي عند درجات حرارة مختلفة $(50-10)^\circ\text{C}$. حددت امتصاصية المحاليل بعد عودتها الى درجة حرارة المختبر عند طول موجة الامتصاص الأعظمية $\lambda = 460 \text{ nm}$. رسمت العلاقة ما بين قيم الامتصاصية العظمى للمعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمي $\lambda = 460 \text{ nm}$ بدلالة درجة الحرارة، وتم الحصول على المنحني الموضح في الشكل (3).



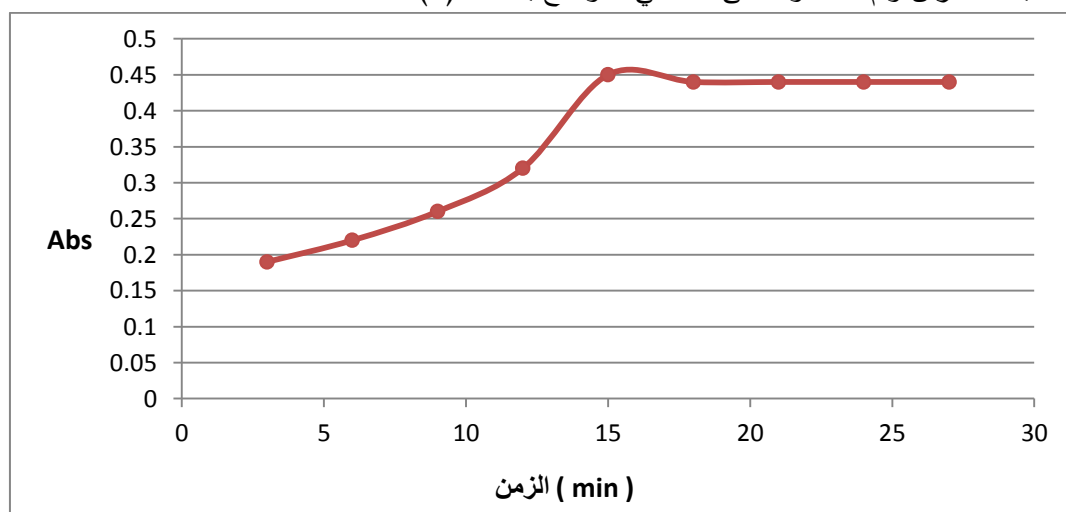
الشكل (3): تأثير درجة الحرارة على امتصاصية المعقد المتشكل

يلاحظ من الشكل (3) أن درجة الحرارة $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ تعطي أفضل امتصاصية وثبات للمعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمي للمعقد $\lambda = 460\text{ nm}$ ، والسبب في ذلك يعود إلى أنه عند هذه الدرجة يكون المعقد ثابت وتكون الامتصاصية أعلى ما يمكن، وبعد ارتفاع درجة الحرارة أكبر من الدرجة $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ يؤدي ذلك إلى تفكك المعقد مع ارتفاع درجة الحرارة وبالتالي إلى تناقص الامتصاصية .

3-2- دراسة تأثير الزمن في تشكل المعقد:

درس تأثير الزمن في تشكل المعقد حيث أخذ دورق حجمي سعة 100 ml مل، نقل اليه 2 ml من ثيوسيانات البوتاسيوم بتركيز $50\text{ }\mu\text{mol/L}$ و 0.75 ml من المحلول المنظم عند $\text{pH}=4.4$ و 1 ml من كاشف كلوريد الحديد بتركيز 0.02 mg/ml وضبطت درجة الحرارة $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ حتى تشكل المعقد، حددت امتصاصية محلول المعقد عند أزمنة مختلفة عند طول موجة الامتصاص الأعظمية $\lambda = 460\text{ nm}$

رسمت العلاقة ما بين قيم الامتصاصية العظمى للمعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية $\lambda = 460\text{ nm}$ بدلالة الزمن وتم الحصول على المنحني الموضح بالشكل (4).



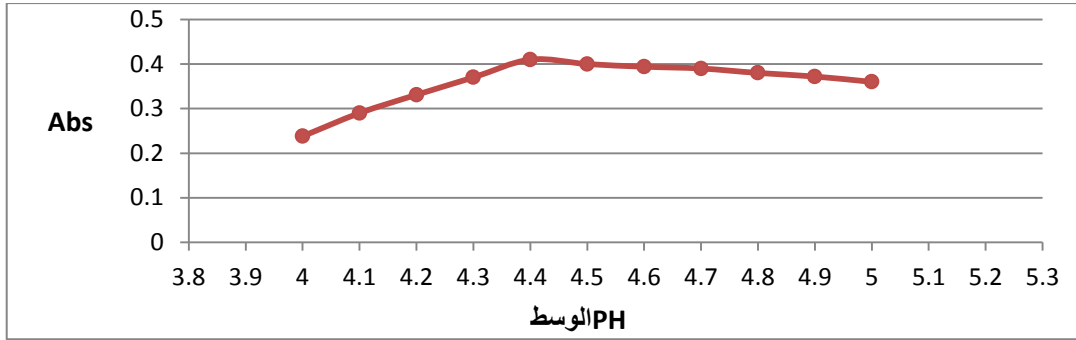
الشكل (4): علاقة امتصاصية المعقد المتشكل بين كلوريد الحديد والثيوسيانات بالزمن

يلاحظ من الشكل (4) أنّ زمن تشكل المعقد هو بعد 15 دقيقة عند درجة حرارة المختبر المقدرة بـ 25°C ، والسبب يعود إلى أن الزمن 15 دقيقة هو الزمن الأمثل لتشكيل المعقد وثباته وبعد هذا الزمن يؤدي إلى تفكك المعقد بشكل ضئيل مما يؤدي إلى تناقص الامتصاصية .

3-3- تأثير pH المحلول المنظم في تشكل المعقد:

درس تأثير بعض المحاليل المنظمة (المنظم البريتوني، منظم السيترات، منظم البورات، المنظم النشادري) في تشكيل المعقد. لخط أنّ منظم السترات كان الأفضل بين تلك المحاليل المنظمة المستخدمة، لأنه أعطى أفضل امتصاصية عند طول موجة الامتصاص الأعظمية للمعقد، لذلك حضرت سلسلة من المحاليل المنظمة من منظم السترات ضمن مجال قيم تتراوح ما بين $\text{PH}=(4.1-5.5)$ رسمت طيوف الامتصاص للمعادن بوجود تركيز ثابت من ثيوسيانات البوتاسيوم $50\ \mu\text{mol/L}$ بأخذ 2 ml وإضافة حجم ثابت من محلول الكاشف كلوريد الحديد قدره 1 ml بتركيز $0.02\ \text{mg/ml}$ و 0.75 ml من حجم المحلول المنظم في دوارق عيارية سعة 100 ml. لخط تشكل معقد أحمر اللون له قمة امتصاص أعظمية عند $\lambda=460\ \text{nm}$ ، لذا قيست امتصاصية المعقد المتشكل في كل محلول عند درجة حرارة المختبر 25°C .

رسمت العلاقة بيانياً بين تغيرات الامتصاصية للمعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية $\lambda=460\ \text{nm}$ رسمت العلاقة بيانياً بين تغيرات الامتصاصية للمعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية $\lambda=460\ \text{nm}$ لكل معقد بدلالة قيمة pH المحلول المنظم (محلول السيترات) كما هو موضح بالشكل (5).

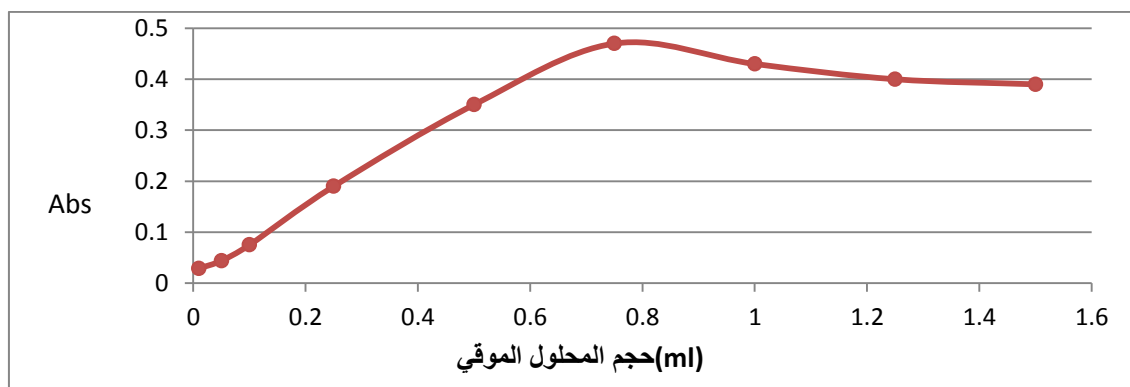


الشكل (5) : امتصاصية المعقد المتشكل عند قيم مختلفة من الدليل الهيدروجيني

يلاحظ من الشكل (5) أنّ القيمة المثالية هي عند ($\text{pH}=4.4$) من أجل أفضل قيمة امتصاص أعظمي للمعقد. والسبب في ذلك يعود إلى أن الوسط المناسب لتشكيل المعقد حمضي ضعيف، ولو استخدم وسط حمضي قوي لكانت شوارد الهيدروجين تفاعلت مع شوارد الثيوسيانات، ولو استخدم أيضاً وسط قلوي لتفاعلت شوارد الهيدروكسيد مع شوارد الحديد الثلاثية مما يؤدي إلى عدم ثبات المعقد أو تشكله فيكون الوسط الأمثل لثبات وتشكيل المعقد عند ($\text{pH}=4.4$) .

3-4- تأثير حجم المحلول المنظم:

درس تأثير الحجم المضاف من محلول السترات المنظم عند $\text{pH}=4.4$ ضمن مجال ($0.5-5$) ml في امتصاصية المعقد، حضرت سلسلة محاليل في دوارق حجمية سعة 100 ml، ووضع في كل منها حجم ثابت من ثيوسيانات البوتاسيوم مقداره 2 ml بتركيز $50\ \mu\text{mol/L}$ ، وحجم ثابت من المحلول الكاشف مقداره 1 ml بتركيز mg/ml 0.02، وحجم متغيرة من محلول السترات المنظم عند $\text{pH}=4.4$. قيست امتصاصية محاليل المعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمي $\lambda=460\ \text{nm}$. رسمت العلاقة ما بين قيم الامتصاصية العظمى للمعقد المتشكل بدلالة حجم المحلول المنظم المضاف عند طول موجة الامتصاص الأعظمية $\lambda=460\ \text{nm}$.

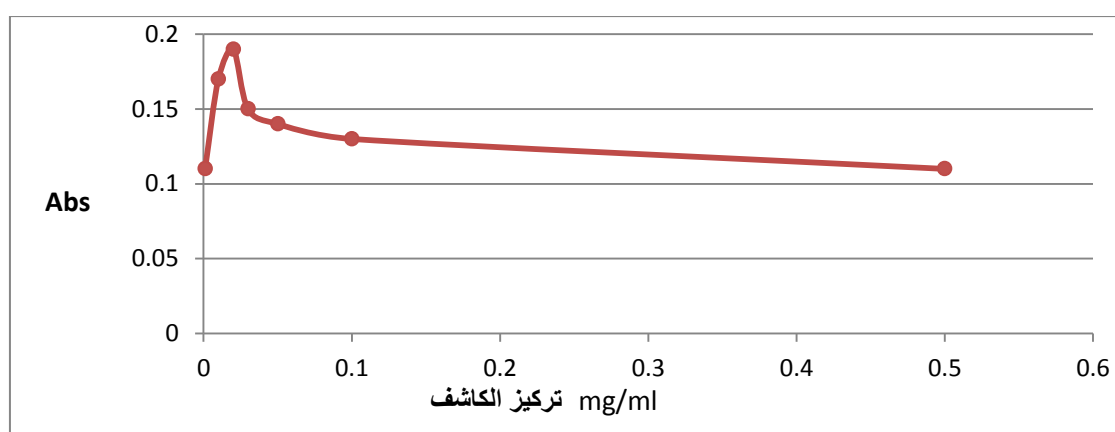


الشكل(6) : تأثير حجم المحلول المنظم على امتصاصية المعقد عند PH=4.4

يلاحظ من الشكل (6) أنه عند إضافة حجم من المحلول المنظم مقداره 0.75 ml يتم الحصول على أكبر امتصاصية بالنسبة للمعقد عند الحجم المذكور، والسبب في ذلك يعود إلى أن زيادة الحجم أكثر من الحجم المذكور يؤدي إلى زيادة القوة الشاردية لهذا المحلول مما يؤثر سلباً على ثبات المعقد وتشكله وبالتالي تناقص الامتصاصية.

3-5- دراسة التركيز الأنسب للكاشف:

أجريت دراسة تأثير التركيز الأنسب للكاشف المضاف في امتصاصية المعقد حيث أخذت سلسلة دوارق حجمية بسعة 100 ml يحوي كل منها على حجم ثابت من ثيوسيانات البوتاسيوم مقداره 2 ml بتركيز 50 $\mu\text{mol/L}$ ، و 0.75 ml من محلول السترات المنظم ذي قيمة pH=4.4، و 1 ml من حجم الكاشف كلوريد الحديد وتراكيز مختلفة و متزايدة من هذا الكاشف. حددت بعدها امتصاصية المحاليل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية 460 nm، ثم رسمت العلاقة بين تغيرات امتصاصية المعقد المتشكل بدلالة تغير تركيز الكاشف المضاف. لحظ من الشكل (7) أن التركيز 0.02 mg/ml من الكاشف المضاف هو التركيز الأمثل لأعلى قيمة امتصاص .



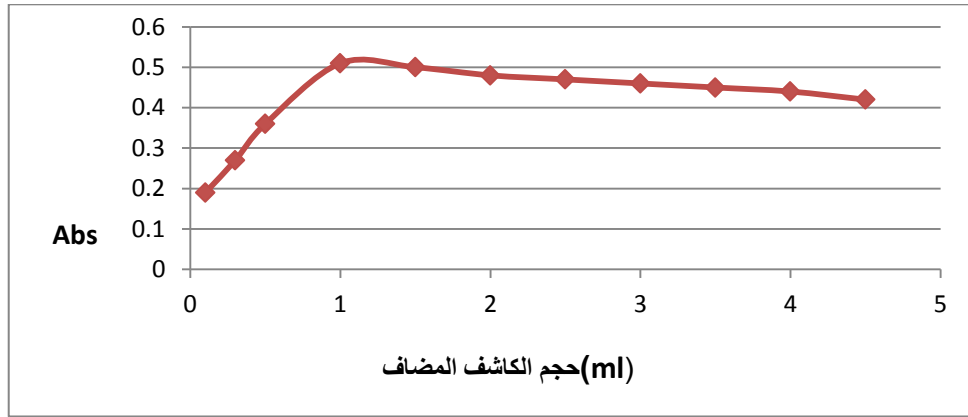
الشكل(7): تأثير تركيز الكاشف المضاف على امتصاصية المعقد المتشكل

يلاحظ من الشكل (7) أن التركيز 0.02 mg/ml من الكاشف المضاف هو التركيز الأمثل لأعلى قيمة امتصاص .

السبب في ذلك يعود إلى أنه بعد إضافة أي تركيز للكاشف فوق القيمة المذكورة يؤدي إلى عدم ثبات المعقد وبالتالي انخفاض أو تناقص في قيمة امتصاصية هذا المعقد وبالتالي التركيز 0.02 mg/ml يكون عنده المعقد أكثر ثباتاً واستقراراً ويعطي اعلى قيمة للامتصاصية .

3-6- دراسة تأثير حجم الكاشف الأنسب:

درس تأثير حجم الكاشف المضاف في امتصاصية المعقد حيث أخذت سلسلة دوارق حجمية بسعة 100 ml يحوي كل منها على حجم ثابت من ثيوسيانات البوتاسيوم مقداره 2 ml بتركيز $50 \mu\text{mol/L}$ ، و 0.75 ml من حجم محلول السترات المنظم ذي قيمة $\text{pH}=4.4$ ، وحجوم مختلفة ومتزايدة من الكاشف كلوريد الحديد بتركيز 0.02 mg/ml . سجلت بعدها امتصاصية المحاليل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية $\lambda = 460 \text{ nm}$ ، ثم درست العلاقة بيانياً بين تغيرات امتصاصية المعقد المتشكل بدلالة تغير حجم الكاشف المضاف .



الشكل (8): تأثير حجم الكاشف كلوريد الحديد المضاف على امتصاصية المعقد المتشكل

يلاحظ من الشكل (8) أن حجم 1 ml من الكاشف المضاف هو الحجم الأمثل لأعلى قيمة امتصاص .

يوضح الجدول (2) أهم الشروط المثلى لتشكل المعقد بين شاردة الثيوسيانات والكاشف كلوريد الحديد

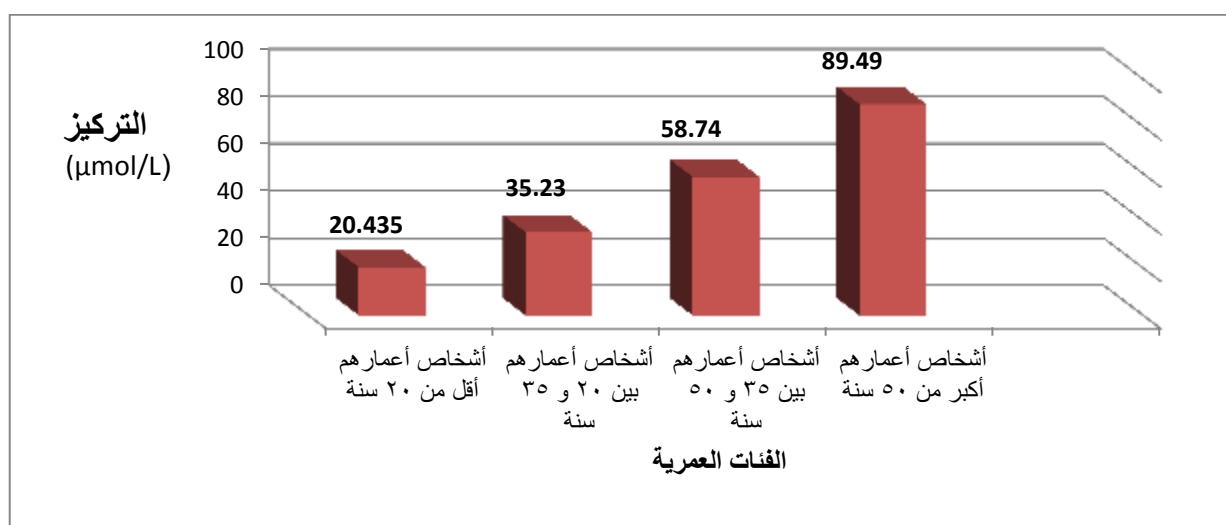
جدول (2) الشروط المثلى لتشكل معقد ثيوسيانات الحديد

محلول السترات $\text{pH}=4.4$	pH المحلول المنظم
0.75 ml	حجم المحلول المنظم
0.02 mg/ml	تركيز الكاشف المضاف
1 ml	حجم محلول الكاشف المضاف
15 دقيقة	زمن تشكل المعقد
درجة حرارة المختبر 25°C	درجة حرارة تشكل المعقد

4- دراسة العلاقة بين تركيز شاردة الثيوسيانات و عمر غير المدخنين:

الجدول (3): تغيرات تراكيز شاردة الثيوسيانات وفق الفئات العمرية

الفئة العمرية	غير مدخنين أعمارهم أقل من 20 سنة	غير مدخنين أعمارهم بين 20 و 35 سنة	غير مدخنين أعمارهم بين 35 و 50 سنة	غير مدخنين أعمارهم أكبر من 50 سنة
التركيز ($\mu\text{mol/L}$)	20.435	35.23	58.74	80.49



الشكل (9): تركيز شاردة الثيوسيانات لأشخاص غير مدخنين وفق فئات عمرية مختلفة

نلاحظ من الجدول (3) والشكل (9) أن تركيز شاردة الثيوسيانات عند الأشخاص غير المدخنين في الفئة العمرية الأولى $20.435 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الثانية $35.23 \mu\text{mol/L}$ ، بينما تركيز شاردة الثيوسيانات في الفئة العمرية الثالثة $58.74 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الرابعة يكون التركيز $89.49 \mu\text{mol/L}$. أعلى تركيز لشاردة الثيوسيانات $89.49 \mu\text{mol/L}$ عند الأشخاص غير المدخنين و الذين أعمارهم أكبر من 50 سنة، مما يدل على أن تركيز شاردة الثيوسيانات يزداد مع تقدم العمر، ويعود السبب في ذلك إلى أن شاردة الثيوسيانات تفرج عن طريق الكلى ومع تقدم العمر يصبح عمل الكلى أبطأ أو أقل مما يؤدي إلى تراكم شاردة الثيوسيانات في الدم وبالتالي ازدياد تركيزها.

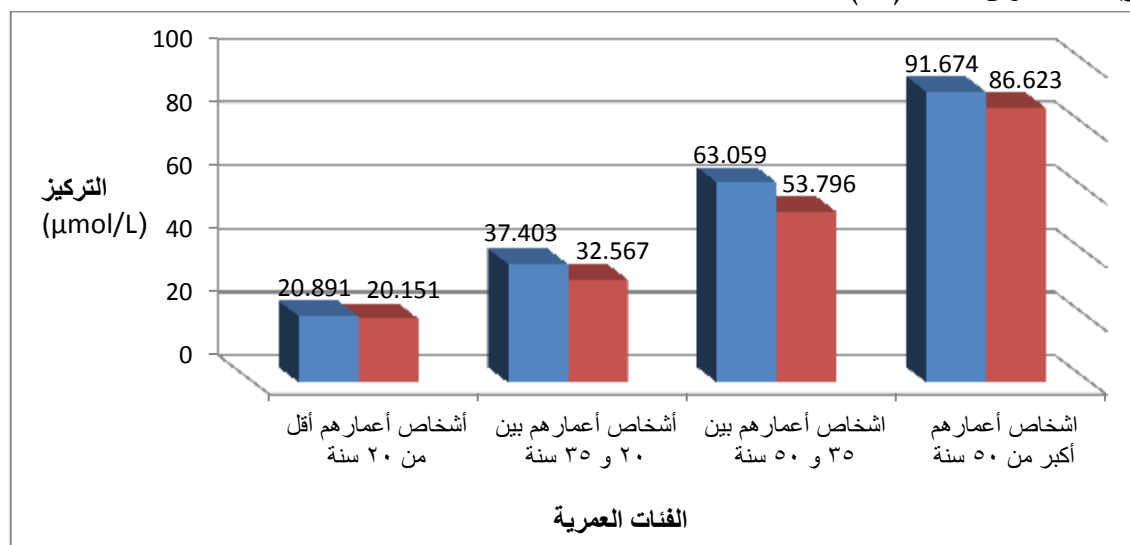
5- تحديد تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور والإناث غير المدخنين

الجدول (4): تراكيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور والإناث غير المدخنين

الفئة العمرية	الجنس	التركيز ($\mu\text{mol/L}$)
غير مدخنين أعمارهم أقل من 20 سنة	ذكور	20.891
	إناث	20.151
غير مدخنين أعمارهم بين 20 و 35 سنة	ذكور	37.403

32.567	إناث	غير مدخنين أعمارهم بين 35 و 50 سنة
63.059	ذكور	
53.796	إناث	غير مدخنين أعمارهم أكبر من 50 سنة
91.674	ذكور	
86.623	إناث	

درس تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور والإناث غير المدخنين، وذلك بعد تصنيف العينات إلى ذكور وإناث ولفئات عمرية مختلفة وفق الشكل (10).



الشكل (10): تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور والإناث غير المدخنين عند فئات عمرية مختلفة

نلاحظ من الجدول (4) والشكل (10) أن تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور غير المدخنين في الفئة العمرية الأولى $20.891 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $20.151 \mu\text{mol/L}$ ، بينما تركيز شاردة الثيوسيانات في الفئة العمرية الثانية عند الذكور $37.403 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $32.567 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الثالثة يكون تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور $63.059 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $53.796 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الرابعة يكون تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور $91.674 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $86.623 \mu\text{mol/L}$.

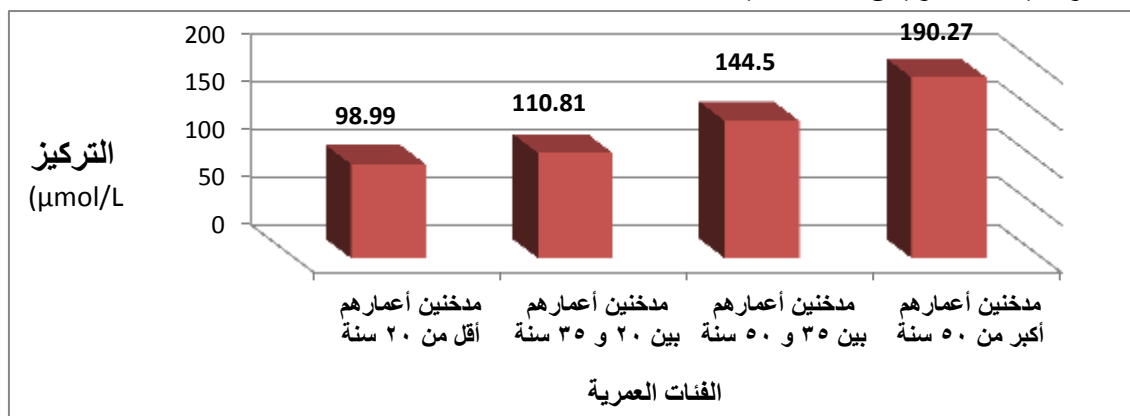
يدل ذلك على أن تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور غير المدخنين أعلى من تركيز شاردة الثيوسيانات عند الإناث غير المدخنات في جميع الفئات العمرية المختلفة، ويعود ذلك الاختلاف بالاستقلاب بين الذكور و الإناث .

6- دراسة العلاقة بين تركيز شاردة الثيوسيانات و عمر المدخنين:

الجدول (5): تركيز شاردة الثيوسيانات عند المدخنين

الفئة العمرية	مدخنين أعمارهم أقل من 20 سنة	مدخنين أعمارهم بين 20 و 35 سنة	مدخنين أعمارهم بين 35 و 50 سنة	مدخنين أعمارهم أكبر من 50 سنة
التركيز (µmol/L)	98.99	110.81	144.5	190.27

رسمت العلاقة لتحديد تركيز شاردة الثيوسيانات لأشخاص مدخنين مع العمر وفق الشكل (11)، وذلك بعد سحب العينات وتشكيل المعقد وقياس الامتصاصية.



الشكل(11): تركيز شاردة الثيوسيانات عند المدخنين للفئات العمرية المختلفة

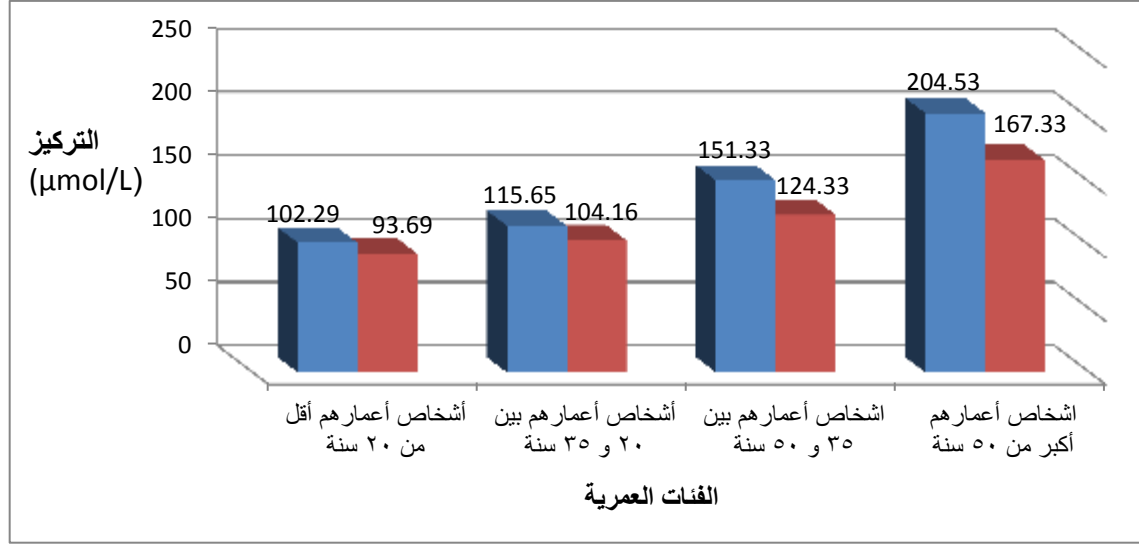
نلاحظ من الجدول (5) والشكل (11) أن تركيز شاردة الثيوسيانات عند الأشخاص المدخنين في الفئة العمرية الأولى $98.99 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الثانية $110.81 \mu\text{mol/L}$ ، بينما تركيز شاردة الثيوسيانات في الفئة العمرية الثالثة $144.5 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الرابعة يكون التركيز $190.27 \mu\text{mol/L}$. أعلى تركيز لشاردة الثيوسيانات $190.27 \mu\text{mol/L}$ عند الأشخاص المدخنين و الذين أعمارهم أكبر من 50 سنة، مما يدل على أن التدخين سبب رئيس وهام في زيادة شاردة الثيوسيانات في الدم، ومع تقدم العمر يزداد تركيز شاردة الثيوسيانات في الدم .

7- تحديد تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور والإناث المدخنين :

الجدول (6): تركيز شاردة الثيوسيانات في عينات الدم للذكور و الإناث المدخنين.

التركيز (µmol/L)	الجنس	الفئة العمرية
102.29	ذكور	مدخنين أعمارهم أقل من 20 سنة
93.69	إناث	
115.65	ذكور	مدخنين أعمارهم بين 20 و 35 سنة
104.16	إناث	
151.33	ذكور	مدخنين أعمارهم بين 35 و 50 سنة
124.33	إناث	
204.53	ذكور	مدخنين أعمارهم أكبر من 50 سنة
167.33	إناث	

رسمت الأعمدة البيانية لتحديد تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور و الإناث المدخنين وفق الشكل(12)، وذلك بعد تصنيف العينات إلى ذكور وإناث وإلى فئات عمرية مختلفة .



الشكل(12): تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور والإناث المدخنين

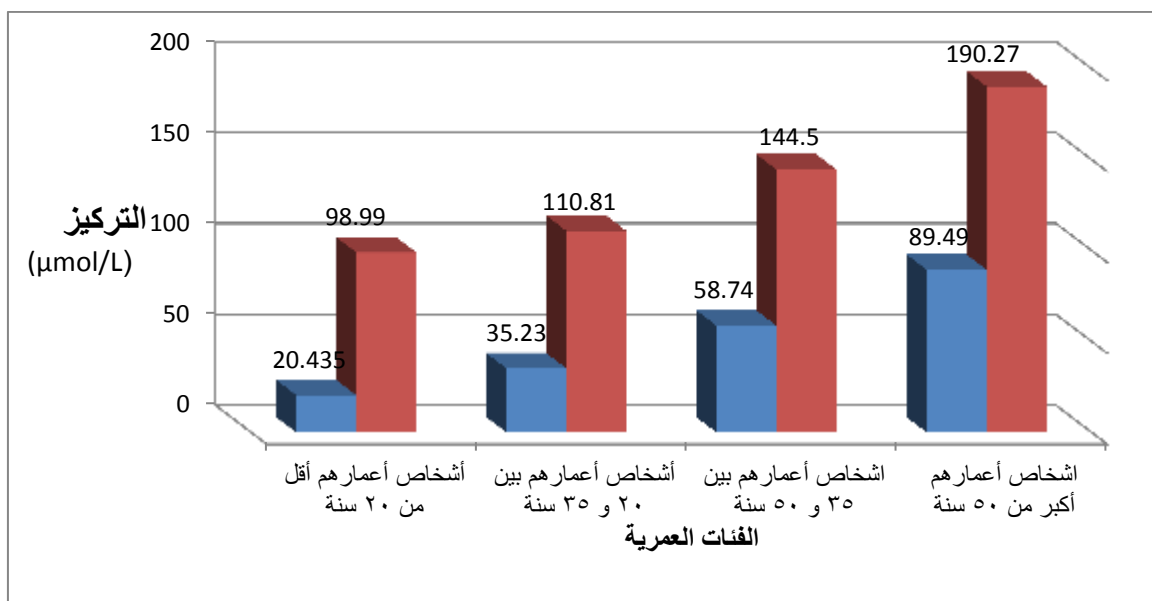
نلاحظ من الجدول (6) والشكل (12) أن تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور المدخنين في الفئة العمرية الأولى $102.29 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $93.69 \mu\text{mol/L}$ ، بينما تركيز شاردة الثيوسيانات في الفئة العمرية الثانية عند الذكور $115.65 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $104.16 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الثالثة يكون تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور $151.33 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $124.33 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الرابعة يكون تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور $204.53 \mu\text{mol/L}$ وعند الإناث $167.33 \mu\text{mol/L}$. يدل ذلك على أن تركيز شاردة الثيوسيانات عند الذكور المدخنين أعلى من تركيز شاردة الثيوسيانات عند الإناث المدخنات في جميع الفئات العمرية المختلفة بسبب الاختلاف بالاستقلاب بين الذكور والإناث .

8- مقارنة تركيز شاردة الثيوسيانات بين المدخنين وغير المدخنين:

الجدول (7): مقارنة تراكيز شاردة الثيوسيانات عند المدخنين وغير المدخنين

التركيز (µmol/L)	حالة التدخين	الفئة العمرية
20.435	غير مدخنين	أشخاص أعمارهم أقل من 20 سنة
98.99	مدخنين	
35.23	غير مدخنين	أشخاص أعمارهم بين 20 و 35 سنة
110.81	مدخنين	
58.74	غير مدخنين	أشخاص أعمارهم بين 35 و 50 سنة
144.5	مدخنين	
89.49	غير مدخنين	أشخاص أعمارهم أكبر من 50 سنة
190.27	مدخنين	

رسم الشكل البياني لمقارنة تركيز شاردة الثيوسيانات بين المدخنين وغير المدخنين لتبيان مدى تأثير التدخين على هذا الأيون.



الشكل (13): الاختلاف في تركيز شاردة الثيوسيانات بين المدخنين وغير المدخنين

نلاحظ من الجدول (7) والشكل (13) أنّ تركيز شاردة الثيوسيانات عند الأشخاص غير المدخنين في الفئة العمرية الأولى $20.43 \mu\text{mol/L}$ وعند المدخنين $98.99 \mu\text{mol/L}$ ، بينما تركيز شاردة الثيوسيانات في الفئة العمرية الثانية عند غير المدخنين $35.23 \mu\text{mol/L}$ وعند المدخنين $110.81 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الثالثة يكون تركيز شاردة الثيوسيانات عند غير المدخنين $58.74 \mu\text{mol/L}$ وعند المدخنين $144.50 \mu\text{mol/L}$ ، وفي الفئة العمرية الرابعة يكون تركيز شاردة الثيوسيانات عند غير المدخنين $89.49 \mu\text{mol/L}$ وعند المدخنين $190.27 \mu\text{mol/L}$. يدل ذلك على أنّ تركيز شاردة الثيوسيانات في دم الأشخاص المدخنين أعلى من تركيز شاردة الثيوسيانات في دم الأشخاص غير المدخنين في جميع الفئات العمرية، نستنتج من ذلك أنّ التدخين يلعب دور رئيس ومهم في زيادة تركيز شاردة الثيوسيانات في الدم نتيجة زيادة تراكمها مع تقدم العمر وبالتالي زيادة تركيزها .

الدراسة الاحصائية :

الجدول (8): النتائج الاحصائية التحليلية لتقدير صحة دقة الطريقة الطيفية المقترحة لتحديد شاردة الثيوسيانات

$$\alpha = 0.95 , n=3 , \lambda =460 \text{ nm} , \text{PH}=4.4$$

مجال الثقة CL	الانحراف المعياري التحليلي ASE	المردود R%	الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD%	الانحراف المعياري SD	C, (µmol/L)	
					التركيز المحدد	التركيز المأخوذ
24.4 ± 0.677	0.244	97.6	1.73	0.424	24.4	25
49.2 ± 0.904	0.326	98.4	1.149	0.565	49.2	50
99.11 ± 1.007	0.363	99.11	0.634	0.629	99.11	100
248 ± 2.265	0.816	99.2	0.570	1.414	248	250
496.99 ± 3.386	1.22	99.3	0.428	2.12	496.99	500

تدل النتائج الموضحة في الجدول (8) أن الطريقة المقترحة تمتاز بدقة وصحة جيدتين، حيث تحققت ميزة الصحة من خلال المردود النسبي المئوي (R% 99.3) أما دقة الطريقة تميزت بالقيمة المنخفضة للانحراف المعياري ($SD \leq 2.12$) وبالتالي الانحراف المعياري النسبي المئوي ($RSD \leq 1.149$)، كما حسب كل من الخطأ المعياري التحليلي ASE، وحد الثقة CL عند مستوى ثقة 95% .

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات

- 1- يشكل الثيوسيانات معقداً أحمر اللون مع الحديد لثلاثي في وسط مائي ثابت لمدة 24 ساعة و يمتص عند طول الموجة $\lambda_{max} = 460 \text{ nm}$ ، عند شروط مثلى أدت إلى ثبات المعقد مثل درجة الحرارة (25°C)، الزمن (15 دقيقة)، PH الوسط (4.4)، وحجم محلول السترات المنظم (0.75ml)، وحجم الكاشف المضاف (1ml)، وتركيز الكاشف المضاف 0.02 mg/ml .
- 2- اختبرت الطريقة المقترحة في هذا البحث على عينات تجريبية ذات تراكيز معلومة من شوارد الثيوسيانات وتبين أن صحة الطريقة محققة من خلال المردود النسبي المئوي ($R=99.3\%$)، أما دقة الطريقة فتميزت بالقيمة المنخفضة للانحراف المعياري ($SD \leq 2.12$) وبالتالي تراوحت قيمة الانحراف المعياري النسبي المئوي بين $RSD \leq 1.149$). تؤكد هذه النتائج إمكانية تطبيق الطريقة المقترحة تحليلياً.
- 3- بينت الدراسة أن تركيز شاردة الثيوسيانات في الدم يزداد مع تقدم العمر .
- 4- بينت الدراسة أن تركيز شاردة الثيوسيانات في دم الأشخاص المدخنين أعلى من تركيز شاردة الثيوسيانات في دم الأشخاص غير المدخنين .
- 5- بينت الدراسة أن تركيز شاردة الثيوسيانات في دم الذكور أعلى من تركيز شاردة الثيوسيانات في دم الإناث وذلك في حالة الأشخاص المدخنين وغير المدخنين .

المراجع:

1. Eriksen M, Mackay J, Schluger N, Gomeshtapeh F, Drope J (2015) The tobacco atlas American Cancer Society and world lung foundation: Fifth edition.
2. Ryttilä P., Kinnula V., Keuhkohtaumataudin varhaisdiagnostiikka: keuhkofunktio tutkimuksista inflammaatiagnostiikkaan. *Duodecim* 121:2421–30. (In Finnish), 2005
3. Olds DL, Henderson CR, Jr., Tatelbaum R., Prevention of Intellectual Impairment in Children of Women Who Smoke Cigarettes During Pregnancy. *Pediatrics* 93:973-86, 1994.
4. Poswillo D, Alberman E., Effects of smoking on the fetus, neonate, and child. New York: Oxford University Press, p. 230, 1992.
5. Peto R, Sarah D, Deo H, Silcocks P, Whitley E, Doll R, Smoking, smoking cessation, and lung cancer in the UK since 1950: combination of national statistics with two case-control studies. *British Medical Journal (BMJ)* 321(7257):323–29, 2000.

6. Halken S, Prevention of allergic disease in childhood: clinical and epidemiological aspects of primary and secondary allergy prevention. *Pediatr Allergy Immunol* 16:9-32, 2004.
7. Burr ML, Anderson HR, Austin JB, Respiratory symptoms and home environment in children: a national survey. *Thorax* 54:27-32, 1999.
8. Prescott SL, Effects of early cigarette smoke exposure on early immune development and respiratory disease. *Paediatr Respir Rev* 9:3-9, 2008
9. Murray, S., Lake, B.G., Lake, S., Edwards, A.J., Springall, C., Bowey, E.A. et al. (2001) Effect of cruciferous vegetable consumption on heterocyclic aromatic amine metabolism. *Carcinogenesis*, 22, 1413–1420.
10. Baud, F.J., Barriot, P., Toffis, V., Riou, B., Vicaut, E., Lecarpentier, Y. et al. (1991) Elevated blood cyanide concentrations in victims of smoke inhalation. *New England Journal of Medicine*, 325,1761–1766.
11. Scherer, G. (2006) Carboxyhemoglobin and thiocyanate as biomarkers of exposure to carbon monoxide and hydrogen cyanide in tobacco smoke. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 58,101–124.
12. Forsyth, J.C., Mueller, P.D., Becker, C.E., Osterloh, J., Benowitz, N.L., Rumack, B.H. et al. (1993) Hydroxycobalamin as a cyanide antidote: Safety, efficacy, and pharmacokinetics in heavily smoking normal volunteers. *Clinical Toxicology*, 31, 277–294.
13. Ghawabi, S.H.E., Gaafar, M.A., El-Saharti, A.A., Ahmed, S.H., Malash, K.K. (1975) Chronic cyanide exposure: A clinical, radioisotope, and laboratory study. *Occupational and Environmental Medicine*, 32,215–219
14. Baskin, S.I., Porter, D.W., Rockwood, G.A., Romano, J.A., Patel, H.C., Kiser, R.C. et al. (1999) In vitro and in vivo comparison of sulfur donors as antidotes to acute cyanide intoxication. *Journal of Applied Toxicology*, 19, 173–183.
15. Kage, S., Nagata, T., and Kudo, K., 1996, *J. Chromatogr. B*, 696, 1, 27–32.
16. Themelis, D.G., and Tzanavaras, P.D., 2002, *Anal. Chim. Acta*, 452,2, 295–302.
17. Imanari, T., Tanabe, S., and Toida, T., 1982, *Chem. Pharm. Bull.*, 30, 10, 3800–3801.
18. Foss OP, Lund-Larsen PG. Serum thiocyanate and smoking: interpretation of serum thiocyanate levels observed in a large health study. *Scand J Clin Lab Invest* 1986;46:245-251.
19. Zil R, Rahman MA. Serum thiocyanate levels in smokers, passive smokers and never smokers. *J Pak Med Assoc* 2006;56:323-326.
20. Scherer G. Carboxyhemoglobin and thiocyanate as biomarkers of exposure to carbon monoxide and hydrogen cyanide in tobacco smoke. *Exp Toxicol Pathol* 2006;58:101-124.
21. Bendtsen, A. B., Hansen, E.H. Spectrophotometric flow injection determination of trace amounts of thiocyanate based on its reaction with 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol and dichromate: assay of the thiocyanate level in saliva from smokers and nonsmokers, *Analyst*, 116, 647, 1991.
22. Themelis, D.G., and Tzanavaras, P.D., 2002, *Anal. Chim. Acta*, 452,2, 295–302.
23. Imanari, T., Tanabe, S., and Toida, T., 1982, *Chem. Pharm. Bull.*, 30, 10, 3800–3801.
24. Vesey CJ, Cole PV. Blood cyanide and thiocyanate concentrations produced by long-term therapy with sodium nitroprusside. *Br J Anaesth.* 1985; 57:148–55. [PubMed: 3970795].
25. Schulz V. Clinical pharmacokinetics of nitroprusside, cyanide, thiosulphate and thiocyanate. *Clin Pharmacokinet.* 1984; 9:239–51. [PubMed: 6375932]