

تهیه مشتق تازه‌ای از بازشیف تیوفن ترا هیدرو بنزو و کاربرد آن در اندازه‌گیری فلورسانس در خمیر دندان به عنوان یک حسگر تازه فلورسانی فلورسید

علی یگانه فعال⁺، مریم موجدیان، مهدی کلهر، عبدالمحمد عطاران

تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه شیمی، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵

رضا تبارکی

ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

چکیده: در این پژوهش از یک ترکیب که برای اولین بار تهیه و گزارش شده است به عنوان یک حسگر فلورسانس برای اندازه‌گیری فلورسانس استفاده شده است. فلورسید، یک ماده معدنی طبیعی است که در پوسته زمین به فراوانی یافت می‌شود. عنصر فلورس و یون آن بسیار سمی بوده و در منطقه‌هایی که میزان فلورس کم باشد، پوسیدگی دندان‌ها دیده می‌شود. مانند هر ماده دیگر، اگر فلورسید بیش از اندازه و بی رویه مصرف شود مسمومیت ایجاد می‌کند. این موضوع نشان دهنده اهمیت اندازه‌گیری فلورسید در نمونه‌های دارای فلورسید به ویژه خمیر دندان است. پرتو سنجی فلورسانی، با توجه به حساسیت بالای آن برای این منظور در این پژوهش به کار گرفته شد. افزون بر گزارش یک سامانه تازه نورتابی فلورسانی، کاربرد تجزیه‌ای این سامانه در اندازه‌گیری ترکیب‌های آسکوربیک اسید، اوره، استامینوفن و یون فلورسید بررسی شد. بر اساس نتیجه‌های به دست آمده، این سامانه برای اندازه‌گیری یون فلورسید در یک نمونه حقیقی به کار رفت. اثر عامل‌های گوناگون مانند pH، غلظت مشتق باز شیف و نیروی یونی بر شدت فلورسانی مشتق باز شیف بررسی شد. برای اندازه‌گیری یون فلورسید از روش افزایش استاندارد استفاده شد. گستره دینامیکی، حد تشخیص، دقت و صحت روش تعیین شد. گستره دینامیکی $4.7 \times 10^{-6} - 4.31 \times 10^{-4}$ ، حد تشخیص 2.1×10^{-6} و انحراف استاندارد میانگین برای $n=5$ اندازه‌گیری برابر 1.098 درصد برای غلظت 10^{-4} مولار به دست آمد. اثر کاتیون‌ها بر این سامانه نورتابی فلورسانی جدید بررسی شد. این نتیجه‌ها نشان می‌دهد که این روش از دقت بسیار خوبی برخوردار است. بررسی اثر عامل‌های مزاحم همچون برخی از کاتیون‌ها و آنیون‌ها نشان داد این روش برای اندازه‌گیری یون فلورسید به عنوان یک روش تجزیه‌ای نو دلخواه بوده و به عنوان یک حسگر جدید فلورسانی حساس فلورسید می‌تواند مطرح شود.

واژه‌های کلیدی: باز شیف؛ فلوریمتری؛ فلورسید؛ خمیر دندان؛ تیوفن.

KEYWORDS: Schiff base; Spectrofluorimetric; Toothpaste; Thiophene; Fluoride.

+E-mail: yeganehfaal@yahoo.com

*عهده دار مکاتبات

مقدمه

فلوئورید، یک ماده معدنی طبیعی است که در پوسته زمین به فراوانی یافت می‌شود. عنصر فلوئور و یون آن بسیار سمی هستند. خاک، اصلی‌ترین منبع فلوئور می‌باشد. گیاهان دارای مقدارهای متفاوت فلوئورید ناشی از آب و خاک می‌باشند. در برخی از مواد غذایی، به ویژه در ماهیان، چای و سبزیجات، مقدار زیادی فلوئورید یافت می‌شود. مهم‌ترین منبع دریافت فلوئورید در رژیم غذایی، پس از آب آشامیدنی، چای می‌باشد. اگر فلوئورید در آب آشامیدنی شهر به میزان مناسب موجود باشد، پوسیدگی‌های دندان را تا حدود ۶۰ درصد کاهش می‌دهد. در منطقه‌هایی که میزان فلوئور کم است، پوسیدگی دندان‌ها دیده می‌شود. فلوئورید نیز مثل هر ماده دیگر اگر بیش از اندازه و بی رویه مصرف شود مسمومیت ایجاد می‌کند [۱-۳].

به طور معمول علامت‌های مسمومیت با فلوئورید بعد از خوردن ۲۵۰ میلی گرم شروع می‌شود. علامت‌های آغاز مسمومیت با فلوئورید سرگیجه، اسهال، درد معده و اسپاسم عضلات می‌باشد. این مسمومیت در شرایط حاد می‌تواند به مرگ فرد منجر شود. بررسی اثرهای افزایش فلوئورید در آب آشامیدنی نشان می‌دهد که مقدارهای ۰/۸ تا یک ppm فلوئورید باعث کاهش چشمگیر پوسیدگی دندان می‌شود. مقدارهای بالاتر از یک ppm در مورد دندان‌های دائمی، باعث شروع تغییرهای محسوس در میناهای درحال تشکیل خواهد شد. این تغییرها شامل لکه‌هایی است که در معاینه دقیق دندان‌ها ممکن است دیده شود. بروز این لکه‌ها اولین مرحله فلوروزیس محسوب می‌شود. تغییرهای قابل اندازه‌گیری در ترکیب شیمیایی استخوان در مقدارهای بالاتر از ۴ ppm ایجاد می‌شود. بدین ترتیب که ۱۰٪ کربنات و ۱۵٪ منیزیم از املاح استخوان کاسته می‌شود. با این وجود در عکس‌های رادیوگرافی این تغییرها را نمی‌توان تشخیص داد. با افزایش مقدارهای فلوئورید به ۸ ppm اولین تغییرهای رادیولوژیک پدیدار می‌شود. سه نوع عارضه بر اثر ازدیاد مصرف فلوئورید در انسان گفته شده است: مسمومیت حاد، فلوروزیس دندان و فلوروزیس فلج کننده.

این موردها نشان دهنده اهمیت اندازه‌گیری فلوئورید در نمونه‌های دارای فلوئورید می‌باشد. خمیر دندان به عنوان یک فراورده‌ی بهداشتی در این زمینه می‌تواند مورد توجه باشد. این مسئله به ویژه در مورد مسمومیت کودکان و نوجوانان با فلوئورید موجود در خمیر دندان اهمیت زیادی دارد [۴، ۵]. اهمیت این موضوع آن‌چنان

شایان توجه است که در گزارش سالانه انجمن‌های سلامتی همواره مد نظر می‌باشد و بر اساس استانداردهای FDA تعیین فلوئورید در تمامی خمیر دندان‌های دارای فلوئورید اجباری است و به صورت پیوسته کنترل می‌شود [۶]. این کنترل در کشور‌های گوناگون به صورت پیوسته انجام می‌گیرد [۷].

اندازه‌گیری آنیون‌ها به روش‌های اسپکتروفوتومتری و به طور خاص فلوئورید گزارش شده است [۸، ۹]. دیمتریوس^(۱) و همکاران، یک روش اسپکتروفوتومتری به روش تزریق در جریان وارون برای تشخیص فلوئورید و یون مونوفلوروفسفات در خمیردندان پیشنهاد کردند. این مقاله براساس روش واسنجی، با روش اثر بازدارندگی یون فلوئورید بر روی آهن (III) اکسید شده در حضور ۲،۴-دی آمینو فنل، به وسیله آب اکسیژنه انجام شده است. نمودار واسنجی خطی از ۰ تا ۹ میلی گرم بر لیتر برای یون فلوئورید گزارش شده است و انحراف استاندارد نسبی خوبی در حدود ۰/۵٪ و حد تشخیص ۰/۰۹ میلی گرم بر لیتر به دست آمده است [۱۰]. تعیین فلوئورید در نمونه‌های گوناگون با استفاده از الکتروود یون‌گزین گزارش شده است. حد تشخیص در این نمونه‌ها ۰/۰۰۱ میلی گرم بر لیتر و درصد بازیابی ۹۸-۱۰۳ درصد گزارش شده است. [۱۱]

اندازه‌گیری یون فلوئورید با استفاده از حسگر نسبت فلورسانسی مشتقی از هیدروکسی فنیل بنزوایمیدازول در دو طول موج انجام شده است. بیش‌ترین نسبت نشر فلورسانس در طول موج ۴۴۵ به ۳۶۰ نانومتر با افزایش یون فلوئور افزایش می‌یابد. بازه‌ی خطی در این روش بین ۰/۳ تا ۸ میکرو مول بر لیتر و حد تشخیص ۰/۱۹ میکرو مول بر لیتر گزارش شده است [۱۲]. کیویو و همکاران در سال ۲۰۱۶ میلادی یک حسگر نوری و فلورسانسی بسیار حساس با حد تشخیص ۲/۷ ppb گزارش نموده‌اند [۱۳]. همچنین با استفاده از مشتقی از اسپیرو پائرن نشانده شده بر روی گرافن یک روش سریع رنگ سنجی برای اندازه‌گیری فلوئورید گزارش شده است. اساس روش مبتنی بر یک واکنش جانشینی حساس و گزینش پذیر برای اندازه‌گیری یون فلوئورید می‌باشد [۱۴]. ایکس یانگ یان و همکاران در سال ۲۰۱۶ میلادی یک حسگر فیبر نوری مینیاتوری برای اندازه‌گیری فلوئورید با حد تشخیص ۸ ppb گزارش نموده‌اند. [۱۵]

در سال ۲۰۱۱ میلادی، هایک کلیسنر^(۲) و همکاران، با استفاده از دستگاه جذب اتمی و کوره گرافیتی روشی برای تعیین فلوئور محلول

(۱) Demetrius

(۲) Heike Gleisner

تعیین فلوتورید با روش اسپکتروفلوریمتری می‌باشد. در این گزارش یون فلوتور باعث افزایش سرعت تشکیل کمپلکس آلومینیوم - اریوکروم قرمز بی می شود. متغیرهای گوناگون فیزیکی و شیمیایی مؤثر بر این فرایند و سینتیک آن مورد بررسی قرار گرفته است. [۲۲]

در سال های اخیر حسگر فلورسانی بر اساس تاثیر فلوتورید بر فلورسانس آمینو بنزو هیدرازید گزارش شده است [۲۳]. مقاله‌های مروری نیز برای انواع روش‌های اندازه‌گیری فلوتورید منتشر شده است [۹، ۸]. در سال ۲۰۱۵ میلادی کتابی با عنوان فلورین: شیمی، آنالیز، تأثیرها و عوارض توسط انتشارات آمازون منتشر شده است. فصل ۵ این کتاب به اندازه‌گیری فلوتورید در نمونه‌های شیر، چای و نمونه آب پرداخته است [۲۴]. این گزارش‌ها نشان دهنده اهمیت اندازه‌گیری فلوتورید با روش‌های فلورسانی می‌باشد. در پژوهش حاضر از یک ترکیب که برای اولین بار تهیه و گزارش می‌شود به عنوان یک حسگر فلورسانی برای اندازه‌گیری فلوتور استفاده شد. ساخت حسگرهای فلورسانی تازه یک چالش برای تعیین عناصر کم مقدار می‌باشد

بخش تجربی

مواد شیمیایی و دستگاه‌ها

در کلیه آزمایش‌ها، حلال به کار رفته اتانول و اتیل استات با درجه اسپکتروسکوپی بود که از فرآورده‌های شرکت مرک خریداری شد. سایر نمک‌ها و ترکیب‌ها نیز از فرآورده‌های شرکت مرک تهیه شد. در این پژوهش از لیگاند بازشیف سنتزی جدید ۲-[[۲-هیدروکسی-۴-متوکسی بنزیلیدن) آمینو] -۷و۵و۶و۴- ترا هیدرو-۱- بنزوتیوفن-۳- کربو اکسامید، استفاده شده است. ساختار مشتق باز شیف مورد استفاده در شکل ۱ آورده شده است. دستگاه اسپکتروفلوریمتر مدل Cary Eclipse شرکت اجیلنت ساخت کشور استرالیا برای ثبت پرتوهای فلورسانی به کار رفت. دستگاه pH متری که برای کنترل pH محلول‌های مورد اندازه‌گیری، دستگاه pH/mV - سنج مترهم مدل ۸۲۷ بود. این دستگاه دارای الکتروود مرکب شیشه - کالومل ساخت کشور سوئیس برای اندازه‌گیری pH محلول‌ها است. از دستگاه‌های سانتیفریوژ هتیج^(۱) مدل EBA20 ساخت کشور آلمان برای آماده سازی نمونه استفاده شده است. ترازوی تجزیه‌ای

در خمیردندان مطرح کردند، در این روش نشان داده شده است که با استفاده از یک منبع پیوسته در دستگاه جذب اتمی می‌توان جذب مولکولی گالیوم مونو فلوتورید به منظور تعیین فلوتورید به کار برد. با این روش کمترین حد قابل اندازه‌گیری در یک نمونه واقعی خمیر دندان حدود ۳۰ ppm بود. نتیجه‌های به دست آمده نشان داد که روش دارای دقت و صحت بسیار خوبی بوده و سرعت انجام آنالیز پنج برابر روش‌های دیگر بود. [۱۶]

در سال ۲۰۱۱ میلادی، سیلوان موریس^(۱) و همکاران، تعیین فلوتورید موجود در چای را با استفاده از روش طیف سنجی جذب مولکولی با کوره گرافیتی برای تعیین کلسیم مونو فلوتورید گزارش نموده‌اند. حد تشخیص فلوتورید ۰/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر و منحنی واسنجی در بازه‌ی بین ۰/۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر با ضریب همبستگی ۰/۹۹۹۴(R) گزارش شده است [۱۷]. آلین بورقس در سال ۲۰۱۶ میلادی یک روش مبتنی بر جذب اتمی کوره گرافیتی را برای اندازه‌گیری فلوتورید در فرآورده‌ی آرایشی سایه چشم توسعه داد. مقادیرهای فلوتورید در نمونه‌های آزمایش شده مقدار ۰/۸ تا ۲/۷ گرم در هر کیلوگرم از این فرآورده‌ی آرایشی بهداشتی را گزارش نموده است. [۱۸]

در سال ۲۰۱۲ میلادی، ظاهر برقوتی و سمیر امیرح^(۲) برای تعیین فلوتورید در آب‌های زیرزمینی بر مبنای تشکیل کمپلکس‌های آبی رزورسین با یون فلوتورید و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری گزارشی را منتشر کردند. در این روش غلظت فلوتورید ۰/۵۴ میلی‌مول گزارش شد. حساسیت، حد تشخیص، بازه‌ی کمی و درصد بازیابی به ترتیب ۰/۳۵۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۰/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر، ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر و ۱۰۱/۱ گزارش شده است. [۱۹]

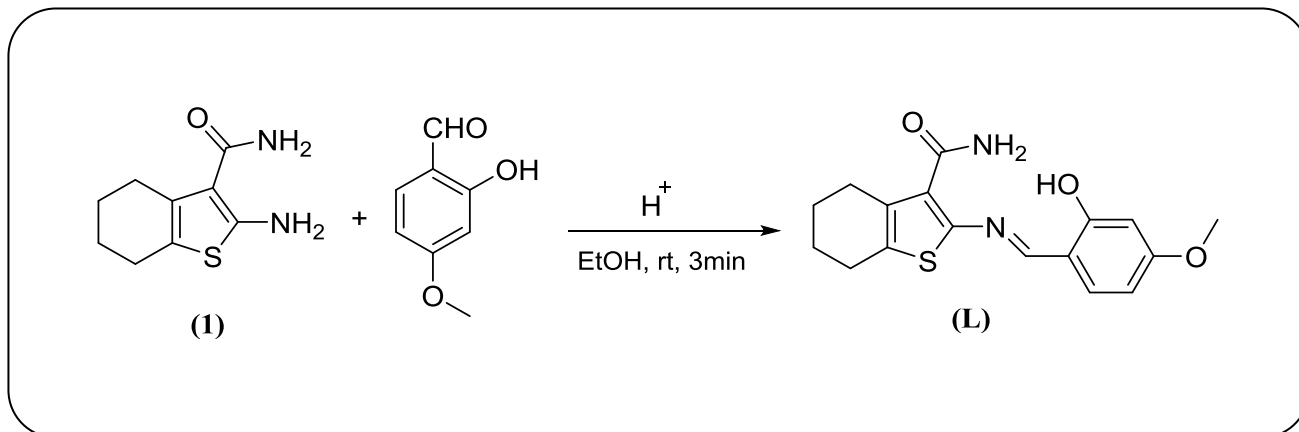
در سال ۲۰۱۲ میلادی، ظاهر برقوتی و سمیر امیرح^(۲) با استفاده از کمپلکس کوئین آلزارین تعیین فلوتورید در آب آشامیدنی را به روش اسپکتروفتومتری انجام دادند. بازه‌ی خطی در حدود ۰/۳ تا ۵ میلی‌گرم بر لیتر در طول موج ۵۵۳ نانومتر بود. حد تشخیص، کم‌ترین حد قابل اندازه‌گیری و درصد بازیابی به ترتیب ۰/۱۱۷ میکروگرم بر لیتر، ۰/۱ و ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است. [۲۰]

اندازه‌گیری مقادیرهای اندک یون فلوتورید بر اساس تشکیل کمپلکس سه تایی یون فلوتورید - زیرکونیوم و کلسین بلو گزارش شده است [۲۱]. یک گزارش دیگر شامل یک روش سینتیکی

(۱) Silvano Mores^a

(۲) Zaher Barghouthi and Sameer Amereih

(۲) Zaher Barghouthi and Sameer Amereih



شکل ۱- تهیه مشتق باز شیف (L) از مشتق ۲- آمینو تیوفن (۱).

داده های طیفی ۲- آمینو ۴،۵،۶،۷- ترا هیدرو بنزو تیوفن-۳- استامید

ویژگی های پرتو IR و $^1\text{H-NMR}$ مشتق باز شیف L به شرح

زیر می باشد.

2-(2-Hydroxy-4-methoxybenzylideneamino)-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b] thiophene-3-carboxamide (L): Yellow powder. M.p. 277 °C. IR (KBr, ν_{max}): 3176, 3361 (NH), 3014, 2935 (CH), 1631 (C=O), 1595 (C=N), 1462, 1506 (C=C), 1280 (C-O), 1209 (O-Me), 1112 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): $\delta_{\text{H}} = 1.69-1.75$ (q, $J = 5.70$ Hz, 4H, H-cyclohexane), 2.46-2.67 (m, 4H, H-cyclohexane), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 6.40-6.57 (m, 2H, H-Aryl), 7.48 (s, 1H, NH), 7.57 (d, $J = 8.70$ Hz, 1H, H-Aryl), 7.85 (s, 1H, NH), 8.55 (s, 1H, -N=CH), 12.17 (s, 1H, OH) ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz): $\delta_{\text{C}} = 22.4, 23.2, 25.3, 25.8$ (4C, Aliphatic), 55.9 (OCH₃), 101.3, 107.5, 113.8, 130.9, 132.1 133.3, 134.6, 148.2 (C-S), 157.0 (C=N), 161.9, 164.1 (C-O), 165.0 (C=O) ppm.

روش کار

برای تهیه محلول ها از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد. محلول استاندارد از لیگاند مشتق باز شیف 5.0×10^{-5} مولار، محلول استاندارد NaF 1.0×10^{-4} مولار، محلول بافر استات 1.0×10^{-3} مولار، بافر فسفات از محلول سدیم دی هیدروژن فسفات 1.0×10^{-3} مولار، محلول بافر آمونیاک 1.0×10^{-3} مولار تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی تأثیر یون ها بر فلورسانسی ترکیب، حجم معینی از لیگاند را در داخل سل فلورسانسی ریخته و با افزودن مقادیر معینی از یون مورد نظر تیتراسیون اسپکتروفلوریمتری انجام شد. از برازش نتیجه های تجربی

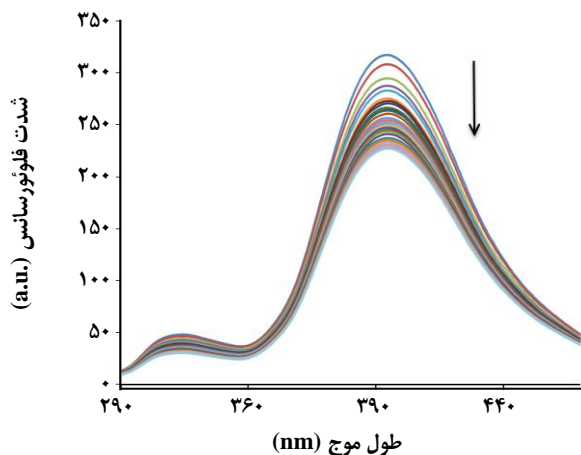
با دقت 0.1 mg مدل ED2245 ساخت شرکت سارتریوس کشور آلمان برای توزین استفاده شد.

تهیه مشتق ۲- آمینو ۴،۵،۶،۷- ترا هیدرو بنزو تیوفن-۳- استامید

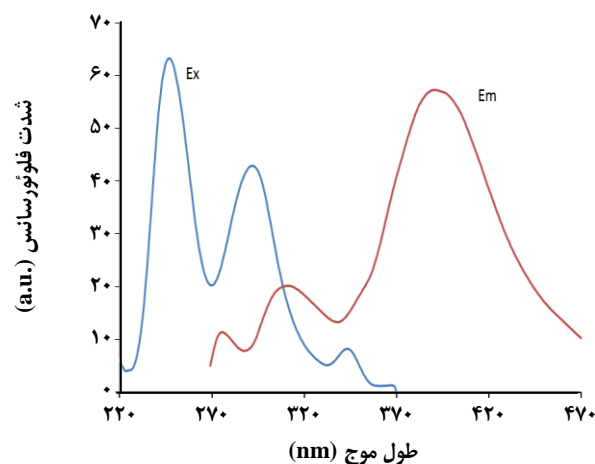
ترکیب ۱ طبق واکنش گوالد در آزمایشگاه تهیه شد به این ترتیب که در یک ارلن مایر ۵۰ میلی لیتری مقدار 0.05 مول از یک ترکیب کتون (سیکلو هگزانون) و 0.05 مول از ترکیب سیانو استامید و 0.05 مول پودر گوگرد در ۸ میلی لیتر اتانول ریخته و مقدار ۵ میلی لیتر مورفولین قطره قطره به آن افزوده شد. مخلوط واکنش به مدت ۳ ساعت در دمای حدود ۵۰ درجه سلسیوس ضمن همزدن با همزن مغناطیسی گرما داده شد. سپس محتویات ارلن در دمای محیط خنک شد و رسوب به دست آمده پس از صاف کردن در اتانول داغ متبلور شد. بازده این واکنش ۷۳٪ بوده و نقطه ذوب آن ۱۱۹ درجه سلسیوس می باشد که سرانجام فرآورده ی زرد رنگ به دست آمد.

تهیه باز- شیف ۲- آمینو تیوفن

0.01 مول از ترکیب آمینی را در یک بالن ته گرد دارای ۱۰ میلی لیتر اتانول ریخته و پس از حل شدن، 0.01 مول از ترکیب آلدئیدی مربوطه و یک قطره سولفوریک اسید به آن افزوده شد. فرآورده پس از سه دقیقه به هم خوردن در دمای محیط تشکیل شد. فرآورده ی به دست آمده صاف شده و با آب و اتانول به نسبت ۵۰:۵۰ شستشو داده شد و با اتانول خالص سازی شده که بلورهای رنگی مشتق باز شیف (L) به دست آمد.



شکل ۲- طیف فلورسانس لیگاند L با مقادیر اضافه شده از یون مس در دمای اتاق.



شکل ۱- طیف تحریک فلورسانس (Ex) و طیف نشری فلورسانس (Em) لیگاند L.

آزمایش های اسپکتروفتومتری

پرتو فلورسانس لیگاند L با غلظت 1.0×10^{-6} مول بر لیتر در محلول بافر (pH=6) انجام شده است. دیده شد که لیگاند L فلورسانس قوی در محلول نشان می‌دهد. پرتو تحریک و نشر به ترتیب در طول موج ۲۵۲ و ۳۹۱ نانومتر ثبت شد. استوکیومتری و پایداری کمپلکس های تشکیل شده از لیگاند L با یون های Cd^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Ag^{+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} و Pb^{2+} , Ni^{2+} , Ti^{+} , Cr^{3+} به روش اسپکتروفتومتری به دست آمد. نتیجه‌ها در جدول ۲ و شکل ۴ ارایه شده است.

نمودار تغییر شدت نشر بر حسب نسبت مولی ترکیب‌ها و یون فلئورید به لیگاند در شکل‌های زیر نشان داده شده است. همان‌گونه که دیده می‌شود، نمودارها دقیقاً در یک نسبت مولی معین ۱ شکست دارد، که این موضوع نیز دلالت بر تشکیل کمپلکس ML در محلول می‌باشد.

با توجه به جدول ۱ بیش‌ترین ثابت تشکیل کمپلکس، مربوط به تشکیل کمپلکس ML برای یون فلئور است که این نشان دهنده تأثیر متقابل موثر بین یون فلئور و لیگاند L در این نوع کمپلکس است. با توجه به ثابت های پایداری به دست آمده، به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که گزینش پذیری ویژه ای برای یک کاتیون خاص وجود ندارد. با توجه به مجموع نتیجه‌های به دست آمده از ثابت‌های پایداری کمپلکس های ML و ML₂ با کاتیون‌ها و انیون فلئور نشان داده شد که این ترکیب می‌تواند به عنوان

با استفاده از نرم افزار کین فیت میزان تاثیر متقابل یون ها با لیگاند به دست آمد.

اثر عامل‌های گوناگون از قبیل pH، غلظت لیگاند، نیروی یونی بر شدت فلورسانس لیگاند بررسی شد. برای اندازه گیری یون فلئورید از روش افزایش استاندارد استفاده شد. بدین منظور از خمیردندان دارای سدیم فلئورید شرکت مریدنت استفاده شد. مزاحمت های یون‌های گوناگون به روش پیشنهادی مورد بررسی قرار گرفت.

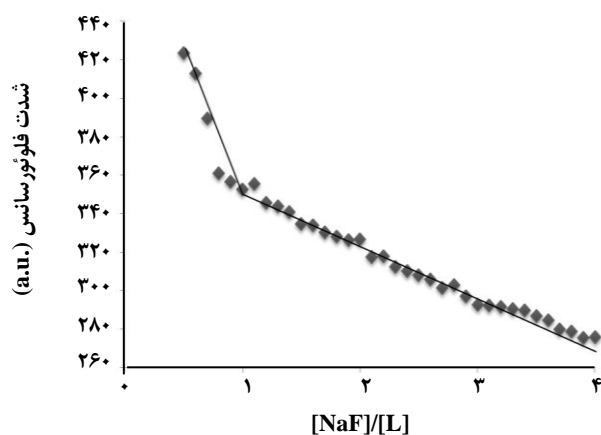
نتیجه‌ها و بحث

ابتدا ۲-آمینو تیوفن (۱) به‌وسیله یک واکنش چند جزئی سیانو استامید، سیکلو هگزانون گوگرد عنصری در حضور مورفولین به‌عنوان یک کاتالیست مطابق روش کمی اصلاح شده گوالد و گزارش‌های پیشین در آزمایشگاه تهیه شد. داده‌های فیزیکی، شیمیایی و طیف‌سنجی آن با گزارش‌های پیشین به‌طور کامل مطابقت داشته و ساختار مور نظر را تایید کرد. [۸، ۹] در ادامه باز شیف جدید (L) با توجه به تجربه‌های پیشین در تهیه باز شیف‌ها [۸، ۹] طی واکنش ۴-متوکسی سالیسیل آلدهید با ۲-آمینو تیوفن (۱) در حلال اتانول، دمای محیط و در حضور مقدار بسیار کم سولفوریک اسید به‌عنوان یک کاتالیست مؤثر، در زمان کوتاه و با بازده عالی به دست آمد. نتیجه‌های طیفی IR، ^{13}C NMR، ^1H و سایر ویژگی‌های فیزیکی ساختار این ترکیب را اثبات می‌کند (شکل ۱). [۲۵]

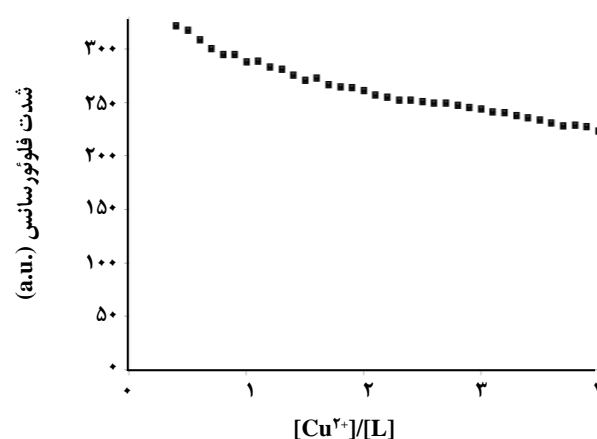
(۱) Fluorescence emission spectrum

جدول ۱- مقادیرهای لگاریتم ثابت تشکیل کمپلکس‌های یون‌های فلزی مختلف با لیگاند L در محلول بافر pH=7.

یون فلز	ML	یون فلز	ML _r
Cu ⁺²	۴,۵۲ ± ۰,۲۴	Cr ⁺³	۵,۶۰ ± ۰,۱۴
Mn ⁺²	۱,۸۹ ± ۰,۲۲	Zn ⁺²	۶,۰۲ ± ۰,۰۰۱
Fe ⁺³	۶,۵۷ ± ۰,۲۷		
Ni ⁺²	۴,۷۹ ± ۰,۰۲		
Co ⁺²	۵,۷۴ ± ۰,۱۹		
Ca ⁺²	۴,۵۳ ± ۰,۲۲		
Pb ⁺²	۳,۲۳ ± ۰,۱۰		
Cd ⁺²	۷,۰۲ ± ۰,۰۶		
Ag ⁺	۲,۰۸ ± ۰,۰۳		
Hg _r ⁺²	۲,۲۰ ± ۰,۲۶		
F ⁻	۷,۳۲ ± ۰,۱۲		



شکل ۳b- نمودار تغییر نشر بر حسب کسر مولی یون فلورسانس L به لیگاند L در طول موج ۳۹۳ nm.



شکل ۳a- نمودار تغییر نشر بر حسب کسر مولی فلز مس به لیگاند L در طول موج ۳۹۳ nm.

همچنان که گزارش‌های قبلی نیز موید این موضوع را تأیید می‌کنند [۲۶، ۲۷].

بهینه‌سازی شرایط اسپکتروفلوریمتری برای اندازه‌گیری یون فلورسانس
تمام عامل‌های موثر بر نشر فلورسانس حسگر به کار رفته برای حصول شرایط بهینه اندازه‌گیری یون فلورسانس مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی اثر pH در میزان شدت فلورسانس یون فلورسانس،

یک حسگر فلورسانس برای تعیین یون فلورسانس به کار رود. مزاحمت سایر آنیون‌ها نیز در بخش بررسی اثر مزاحمت‌ها مورد پژوهش قرار گرفت. نتیجه‌های به دست آمده نشان داد که ترکیب به دست آمده می‌تواند به عنوان یک حسگر فلورسانس به کار رود. با توجه به وجود گروه‌های عاملی آمیدی و فنولی در مشتق تهیه شده امکان پروتونه شدن این گروه‌ها و به تبع آن تأثیر متقابل قوی بین این مشتق با آنیون فلورسانس قابل تبیین می‌باشد،

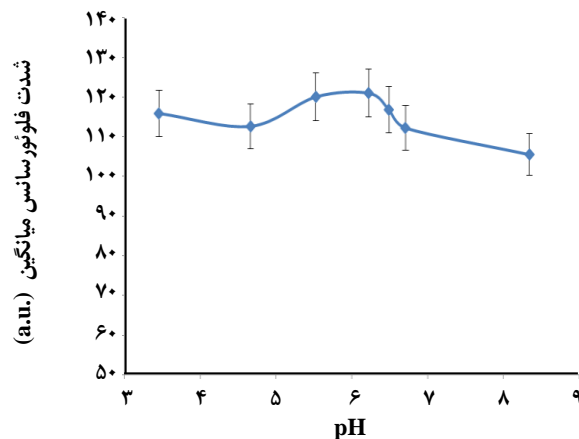
حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی^(۱) روش پیشنهادی محاسبه شد. مقدار RSD برای محلول‌هایی با غلظت 10^{-4} مولار محاسبه شد. حد تشخیص برابر $2/1 \times 10^{-6}$ مولار محاسبه شد. به منظور بررسی دقت روش، محلول‌هایی با غلظت 10^{-4} تهیه شد و سپس در شرایط بهینه ۵ اندازه‌گیری بر روی هر یک از آن‌ها در طول موج ۳۲۳ nm انجام گرفت. در مرحله بعد انحراف استاندارد میانگین از ۵ اندازه‌گیری برابر ۱٫۰۹۸ درصد به دست آمد. این نتیجه‌ها نشان می‌دهد که این روش از دقت بسیار خوبی برخوردار است. تمام این داده‌ها برای روش‌های فلورسانس در جدول ۳ نشان داده شده‌اند.

اثر مزاحمت‌ها بر شدت نشر

در مرحله بعد بررسی اثر گونه‌هایی که امکان مزاحمت آن‌ها وجود دارد، انجام شد. بنابراین پس از یافتن شرایط بهینه، اثر گونه‌های گوناگون مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌های بررسی مزاحمت چند کاتیون و آنیون معمول موجود در محلول بافر بر شدت نشر فلورسانس لیگاند L با یون فلوراید در جدول ۴ آورده شده است. نتیجه‌ها نشان دهنده آن است که در بازه غلظتی انجام شده به تقریب همه گونه‌های بررسی شده در این جدول مزاحمت چشمگیری برای اندازه‌گیری یون فلوراید ایجاد نمی‌کنند. از مهم‌ترین این موارد می‌توان به یون‌های آهن و آلومینوم اشاره نمود که با وجود انتظار ما برای ایجاد مزاحمت به علت تمایل چشمگیر لیگاند چند دندان‌ای بازشیف به آنیون فلوراید، در حضور این لیگاند مزاحمت جدی برای یون فلوراید ایجاد نمی‌نمایند. این موضع از نتیجه‌های بسیار ارزنده این پژوهش به شمار می‌رود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که لیگاند L از گزینش پذیری بسیار خوبی برخوردار می‌باشد و از آن به خوبی می‌توان برای اندازه‌گیری یون فلوراید در نمونه‌های حقیقی استفاده نمود. در این آزمایش‌ها شدت نشر کمپلکس لیگاند و یون فلوراید پیش و پس از افزودن مزاحم ثبت و نتیجه‌های کمی در جدول نشان داده شده‌اند. تمام آزمایش‌ها در بافر pH=۶ انجام شد.

اندازه‌گیری یون فلوراید در نمونه خمیر دندان شرکت مریدنت با روش افزایش استاندارد

برای بررسی کارایی روش پس از رسم منحنی واسنجی، میزان یون فلوراید موجود در خمیر دندان با روش افزایش



شکل ۴- تغییر شدت نشر فلورسانس کمپلکس یون فلوراید با لیگاند L در pH های گوناگون.

شدت نشر فلورسانس کمپلکس ایجاد شده از لیگاند L با یون فلوراید با روش کار توضیح داده شده انجام و نمودار شدت نشر بر حسب تغییرهای pH برای تعیین pH بهینه رسم شد. نتیجه‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است.

همان‌گونه که در نتیجه‌ها دیده می‌شود شدت نشر، در pH=۶ بیش‌ترین مقدار است. به همین دلیل pH برابر ۶ (در بافر فسفات) برای ادامه کار استفاده شد.

به منظور بررسی اثر نیروی یونی در میزان شدت فلورسانس یون فلوراید، تغییرهای شدت نشر فلورسانس کمپلکس ایجاد شده از لیگاند L- یون فلوراید بر حسب تغییرهای نیروی یونی به دست آمد. نتیجه‌های به دست آمده نشان داد که شدت نشر، در نیروی یونی 1×10^{-4} مناسب‌ترین مقدار است. افزایش بیش از این مقدار نیروی یونی باعث کاهش بیش از اندازه فلورسانس شده و سیگنال تجزیه‌ای را محدود می‌نماید. از کاهش نیروی یونی کمتر از این مقدار نیز، به منظور اطمینان یافتن از شرایط مناسب، برای کاربرد این روش در نمونه‌های حقیقی خودداری شد. به همین دلیل از محلول KNO_3 ، با غلظت 1×10^{-4} و بافر فسفات با pH=۶ برای ادامه کار استفاده شد.

به منظور بررسی اثر غلظت لیگاند در میزان شدت نشر فلورسانس یون فلوراید، تغییرهای شدت نشر فلورسانس بر حسب تغییر غلظت لیگاند L رسم شد. نتیجه‌ها رسم شده نشان می‌دهند که نشر فلورسانس با یک رفتار خطی و در یک بازه غلظتی معین، متناسب با غلظت یون فلوراید موجود در محلول بافری حاوی لیگاند L به صورت خطی تغییر می‌نماید.

(۱) Relative standard deviation

جدول ۲- کارایی تجزیه‌ای روش حسگر فلورسانسی پیشنهادی.

نام ترکیب	بازه خطی (mol/L)	حد تشخیص (mol/L)	R ²
اسکوربیک اسید	$1.4 \times 10^{-4} - 4.8 \times 10^{-5}$	2.3×10^{-5}	۰.۹۹۲
اوره	$4.2 \times 10^{-4} - 9.9 \times 10^{-6}$	6×10^{-6}	۰.۹۹۷
استامینوفن	$3.9 \times 10^{-4} - 5.3 \times 10^{-5}$	2.6×10^{-5}	۰.۹۷۹
یون فلوراید	$4.31 \times 10^{-4} - 4.7 \times 10^{-6}$	2.1×10^{-6}	۰.۹۹۵

جدول ۳- اثر مزاحمت یون‌ها بر شدت نشر کمپلکس لیگاند L با یون فلوراید... محلول همه کاتیون‌ها از نمک نیترات آن‌ها تهیه شد. غلظت لیگاند L و یون فلوراید به ترتیب در $1.0 \times 10^{-6} M$ و $1.0 \times 10^{-4} M$

گونه مزاحم	غلظت (mol/L)	$\Delta F = F - F_0$	$(\Delta F/F_0) \times 100$
Ag ⁺	1.0×10^{-2}	-۱.۴۶	-۲.۳۸
Mn ²⁺	1.0×10^{-2}	-۰.۷۹	-۱.۳۲
Al ³⁺	1.0×10^{-2}	۰.۵۲	۰.۸۷
Cd ²⁺	1.0×10^{-2}	۱	۱.۷۶
Ca ²⁺	1.0×10^{-2}	۱.۱۸	۲.۱
Co ²⁺	1.0×10^{-2}	-۰.۳۶	-۰.۶۱
Cr ³⁺	1.0×10^{-2}	-۲.۳	-۴.۴
Cu ²⁺	1.0×10^{-2}	۲.۲۷	۴.۱۷
Fe ³⁺	1.0×10^{-2}	-۰.۳۵	-۰.۵۸
Mg ²⁺	1.0×10^{-2}	-۲.۲۳	-۴.۸۸
Ni ²⁺	1.0×10^{-2}	-۲.۴۶	-۴.۸۱
Tl ⁺	1.0×10^{-2}	-۱.۸۶	-۳.۰۱
Zn ²⁺	1.0×10^{-2}	۲.۸۴	۴.۴۲
K _۲ SO _۴	1.0×10^{-2}	۰.۷۹	۱.۳۳
KI	1.0×10^{-2}	-۰.۱۰۲	-۰.۱۰۳
KNO _۳	1.0×10^{-2}	-۱.۸۱	-۲.۹
Na _۲ SO _۴	1.0×10^{-2}	-۱.۲۲	-۲.۰۶
NaCL	1.0×10^{-2}	۰.۹۴	۱.۶
NaCO _۳	1.0×10^{-2}	-۱.۷۹	-۳.۱۵
NaNO _۳	1.0×10^{-2}	-۲.۶۲	-۴.۳۵
استامینوفن	1.0×10^{-2}	-۲.۸۹	-۴.۴۸
ویتامین C	1.0×10^{-2}	-۳.۴۸	-۴.۸۶
اوره	1.0×10^{-2}	۰	۰

مناسب در اندازه گیری مقدارهای ناچیز یون فلوئورید برای نمونه‌های واقعی به عنوان یک حسگر فلورسانی حساس به کار برده شود. در این پژوهش، یون فلوئورید با حد تشخیص ۲/۱ میکرو مولار قابل اندازه گیری است. این روش همچنین از دقت بسیار خوبی برخوردار است. بررسی اثر گونه‌های گوناگون آنیونی و کاتیونی بر روی اندازه گیری یون فلوئورید نشان داد که روش تا حد زیادی از وجود این عناصر تاثیر نمی پذیرد. حساسیت بالا، سادگی و سهولت انجام آزمایش ها، ارزان و در دسترس بودن دستگاه‌ها و امکانات و زمان کم لازم و سادگی انجام آزمایش‌ها را می‌توان به عنوان برتری‌های این روش نام برد. قابلیت روش برای اندازه‌گیری فلوئورید موجود در نمونه‌های حقیقی تأیید شد. نتیجه‌های به دست آمده نشان می‌دهد که روش پیشنهادی در مورد نمونه های حقیقی و طبیعی کاربرد دارد. این روش برای اندازه‌گیری یون فلوئورید به عنوان یک روش تجزیه‌ای تازه دلخواه و به‌عنوان مبنایی برای ساخت حسگرهای فلورسانی حساس فلوئورید می‌تواند پیشنهاد شود [۲۸، ۲۹]

قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های دانشگاه پیام نور صمیمانه تشکر می‌نمایند.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۵

استاندارد اندازه‌گیری شد. پس از رقیق سازی و آماده نمودن محلول نمونه خمیر دندان، طبق روش ارایه شده در بخش تجربی، با استفاده از روش اسپکتروفلوریمتری اندازه گیری فلوئورید در این نمونه انجام شد. با استفاده از نتیجه‌های به دست آمده از این پرتوها منحنی افزایش استاندارد رسم شد. بر اساس نتیجه‌های به دست آمده غلظت فلوئور در نمونه خمیر دندان به دست آمد. غلظت فلوئور به دست آمده در این نمونه خمیر دندان برابر ۲۲۴/۰۸۲ ppm می‌باشد. بر طبق استانداردهای بین المللی میزان فلوئورید توصیه شده در فرآورده‌ی نهایی خمیر دندان برابر ۱۰۰۰ ppm می‌باشد. حد استاندارد برای خمیر دندان‌ها توسط FDA برابر ۸۵۰-۱۵۰۰ ppm و در کشورهای با اقتصاد ثابت (EEC) غلظت نهایی مجاز فلوئورید در خمیر دندان برابر ۱۵۰۰ ppm تعیین شده است. بر این اساس مقدار به دست آمده در این نمونه خمیر دندان کمتر از پایین ترین حد بازه‌ی استاندارد تعیین شده قرار دارد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش از مشتق بازشیف تهیه شده تازه و با استفاده از روش اسپکتروفلوریمتری برای اندازه گیری یون فلوئورید استفاده شد. بررسی انجام شده در این پژوهش نشان داد که مشتق بازشیف به کار برده شده در این پژوهش با داشتن بالاترین ثابت تشکیل کمپلکس با یون فلوئورید نسبت به دیگر یون های فلزهای سنگین و ترکیب‌های آزمایش شده می‌تواند به عنوان یک ترکیب

مراجع

- [1] Amanlou M., Hosseinpour M., Azizian H., Khoshayand M.R., Navabpoor M., Sour E., [Determination of Fluoride in the Bottled Drinking Waters in Iran, Iranian Journal of Pharmaceutical Research \(IJPR\)](#), **9**(1): 37-42 (2009).
- [2] Peckham S, Awofeso, N. [Water Fluoridation: A Critical Review of the Physiological Effects of Ingested Fluoride as a Public Health Intervention, The Scientific World Journal](#), **10** (2014).
- [۳] حسن پهلوان زاده، حمید رضا زارع نژاد اشکذری، فلوراید زدایی از آب آشامیدنی با ستون جذب بستر ثابت با استفاده از جاذب ارزان قیمت بوکسیت، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۲) ۳۱: ۱۷ تا ۲۴ (۱۳۹۲).
- [4] Bentley E.M., Ellwood R.P., Davies R.M., [Oral Hygiene: Fluoride Ingestion from Toothpaste by Young Children, Br Dent J.](#), **186**(9): 460-2 (1999).

- [5] Freire I.R., Pessan J.P., Amaral J.G., Martinhon C.C.R., Cunha R.F., Delbem A.C.B., [Anticaries Effect of Low-Fluoride Dentifrices with Phosphates in Children: A Randomized, Controlled Trial](#), *Journal of Dentistry*, **50**; 37-42 (2016).
- [6] Mowry J.B., Spyker D.A., Cantilena L.R., Jr., Bailey J.E., Ford M., "2012 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS)": 30th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila)*, **51**(10): 949-1229 (2013).
- [7] Sebastian S.T., Siddanna S., [Total and Free Fluoride Concentration in Various Brands of Toothpaste Marketed in India](#), *Journal of Clinical and Diagnostic Research (JCDR)*, **9**(10): ZC09-ZC12 (2015).
- [8] Gomez-Hens A., Valcarcel M., [Spectrofluorimetric Determination of Inorganic Anions: A Review](#), *Analyst.*, **107**(1274): 465-94 (1982).
- [9] Yahyavi H., Kaykhahi, M., Mirmoghaddam M., [Recent Developments in Methods of Analysis for Fluoride Determination](#), *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **46**(2):106-21 (2016).
- [10] Themelis D.G., Tzanavaras P.D., [Simultaneous Spectrophotometric Determination of Fluoride and Monofluorophosphate Ions in Toothpastes Using a Reversed Flow Injection Manifold](#), *Analytica Chimica Acta*, **429**(1): 111-6 (2001).
- [11] Švarc-Gajić J., Stojanović Z., Vasiljević I., Kecojić I., [Determination of Fluorides in Pharmaceutical Products for Oral Hygiene](#), *Journal of Food and Drug. Analysis*, **21**(4): 384-9 (2013).
- [12] Yang X-F., Qi H., Wang L., Su Z., Wang G., [A ratiometric Fluorescent Probe for Fluoride Ion Employing the Excited-State Intramolecular Proton Transfer](#), *Talanta*, **80**(1): 92-7 (2009).
- [13] Qiu B., Zeng Y., Cao L., Hu R., Zhang X., Yu T., Chen J., Yang G., Li Y., [A Colorimetric and Ratiometric Fluorescence Sensor for Sensitive Detection of Fluoride Ions in Water and Toothpaste](#), *RSC Advances*, **6**(54): 49158-63 (2016).
- [14] Li Y., Duan Y., Zheng J., Li J., Zhao W., Yang S., Yang R., [Self-Assembly of Graphene Oxide with a Silyl-Appended Spiropyran Dye for Rapid and Sensitive Colorimetric Detection of Fluoride Ions](#), *Analytical Chemistry*, **85**(23): 11456-63 (2013).
- [15] Xiong Y., Wang C., Tao T., Duan M., Tan J., Wu J., et al., [Fabrication of a Miniaturized Capillary Waveguide Integrated Fiber-Optic Sensor for Fluoride Determination](#), *Analyst*, **141**(10): 3041-9 (2016).
- [16] Gleisner H., Einax J.W., Morés S., Welz B., Carasek E., [A Fast and Accurate Method for the Determination of Total and Soluble Fluorine in Toothpaste Using High-Resolution Graphite Furnace Molecular Absorption Spectrometry and Its Comparison with Established Techniques](#), *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **54**(5): 1040-6 (2011).
- [17] Morés S., Monteiro G.C., Santos FdS., Carasek E., Welz B., [Determination of Fluorine in Tea Using High-Resolution Molecular Absorption Spectrometry with Electrothermal Vaporization of the Calcium Mono-Fluoride CaF](#), *Talanta*, **85**(5): 2681-5 (2011).

- [18] Borges A.R., Duarte Á.T., Potes MdL., Silva M.M., Vale M.G.R., Welz B., [Fluorine in Eye Shadow: Development of Method Using High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Molecular Absorption Spectrometry via Calcium Mono-fluoride with Direct Solid Sample Introduction](#), *Microchemical Journal*, **124**: 410-5 (2016).
- [19] Zaher Barghouthi S.A., [Spectrophotometric Determination of Fluoride in Groundwater Using Resorcin Blue Complexes](#), *American Journal of Analytical Chemistry*, **3**(9): 651-655 (2012).
- [20] Barghouthi Z., Amereih S., [Field Method for Estimation of Fluoride in Drinking Groundwater by Photometric Measurement of Spot on Aluminium Quinalizarin Reagent Paper](#), In Press, *Arabian Journal of Chemistry*, (2013).
- [21] Har T.L., West T.S., [Spectrofluorimetric Determination of traces of Fluoride ion by Ternary Complex Formation with Zirconium and Calcein Blue](#), *Analytical Chemistry*, **43**(1): 136-9 (1971).
- [22] Marco V., Carrillo F., Pérez-Conde C., Cámara C., [Kinetic Flow-Injection Spectrofluorimetric Method for the Determination of Fluoride](#), *Analytica Chimica Acta.*, **283**(1): 489-93 (1993).
- [23] Anand T., Sivaraman G., Iniya M., Siva A., Chellappa D., [Aminobenzohydrazide Based Colorimetric and 'Turn-on' Fluorescence Chemosensor for Selective Recognition of Fluoride](#), *Analytica Chimica Acta.*, **876**: 1-8 (2015).
- [24] Cury J.A. MG, Buzalaf M.A.R., Akman S., Men Y., Rigalli A., Ahmed I., Brahman K.D., Welz B., [Fluorine : Chemistry, Analysis, Function and Effects](#). In: Preedy VR, editor. "Fluorine: Chemistry, Analysis, Function and Effects." Cambridge, United Kingdom: Royal Society of Chemistry; p. (2015).
- [25] Huang W., Li J., Tang J., Liu H., Shen J., Jiang H., [Microwave-Assisted Synthesis of 2-Amino-thiophene-3-Carboxylic Derivatives Under Solvent-Free Conditions](#), *Synthetic Communications*, **35**(10): 1351-7 (2005).
- [26] Lee D.H., Im J.H., Lee J.-H., Hong J.-I., [A New Fluorescent Fluoride Chemosensor Based on Cnformational Restriction of a Biaryl Fluorophore](#), *Tetrahedron Letters*, **43**(52): 9637-40 (2002).
- [27] Lee K.H., Lee H.-Y., Lee D.H., Hong J.-I., [Fluoride-Selective Chromogenic Sensors Based on Azophenol](#), *Tetrahedron Letters*, **42**(32): 5447-9 (2001).
- [28] Hu R., Feng J., Hu D., Wang S., Li S., Li Y., Yang G., [A Rapid Aqueous Fluoride Ion Sensor with Dual Output Modes](#), *Angewandte Chemie International Edition*, **49**(29): 4915-8 (2010).
- [29] Bamesberger A., Schwartz C., Song Q., Han W., Wang Z., Cao H., [Rational Design of a Rapid Fluorescent Approach for Detection of Inorganic Fluoride in MeCN-H₂O: a New Fluorescence Switch Based on N-aryl-1,8-Naphthalimide](#), *New Journal of Chemistry*, **38**(3): 884-8 (2014).