

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
1431 هـ
1431 هـ

اندازه گیری فلزات سنگین در نمونه های خاک

کبری هاشمی نسب

k.hasheminasab@areeo.ir

مقدمه

سلامت خاک پایه و اساس برای تولید مواد غذایی سالم بوده و هر گونه خلل و آلودگی در خاک موجب به خطر افتادن امنیت غذایی و در نهایت سلامت انسان ها می شود.

- **سمیت بالا:** فلزات سنگین به علت سمیت، ماندگاری در شرایط طبیعی، قابلیت ورود و تجمع در زنجیره های غذایی، به عنوان آلوده کننده های جدی تلقی می گردند.
- **ماندگاری در شرایط طبیعی:** برخلاف آلاینده های آلی که پس از مدتی تجزیه می شوند، فلزات سنگین سالها و دهه ها در محیط باقی می مانند.
- **قابلیت ورود به زنجیره غذایی:** این فلزات از خاک جذب ریشه گیاهان می شوند، سپس به بدن دام و در نهایت به بدن انسان راه پیدا می کنند.
- **تجمع زیستی:** فلزات سنگین قابلیت تجمع در بافت های نرم و سخت بدن را داشته و باعث ایجاد اختلال در عملکرد کلیه، سیستمهای عصبی و سیستم گردش خون و قلب می شوند. همچنین مواجهه با سرب باعث کند ذهنی کودکان می شود.

یکی از پایدارترین آلاینده های محیط زیستی فلزات سنگین است که از هر دو منشأ طبیعی و انسانی وارد محیط زیست می شود.

آماده سازی نمونه خاک

4

خشک کردن

- حذف رطوبت نمونه بدون تغییر در ساختار شیمیایی یا کانی‌شناسی خاک.

آسیاب کردن

- کاهش اندازه ذرات برای دستیابی به همگنی کامل و افزایش سطح تماس با اسید در مرحله هضم.

الک کردن

- جدا کردن ذرات با اندازه مشخص و حذف ذرات درشت (مانند شن و قطعات آلی بزرگ)

هضم اسیدی

- انتقال فلزات سنگین از فاز جامد خاک به فاز محلول (یونی) برای اندازه‌گیری با دستگاه‌هایی مانند AAS و ICP

اهمیت آماده سازی

5

۷۰٪ خطای آنالیز ← مرحله آماده سازی

چرا آماده سازی مهم است؟

آلودگی با فلز (از آسیاب، ظرف، گردوغبار)

تلفات عنصر (تبخیر جیوه، آرسنیک)

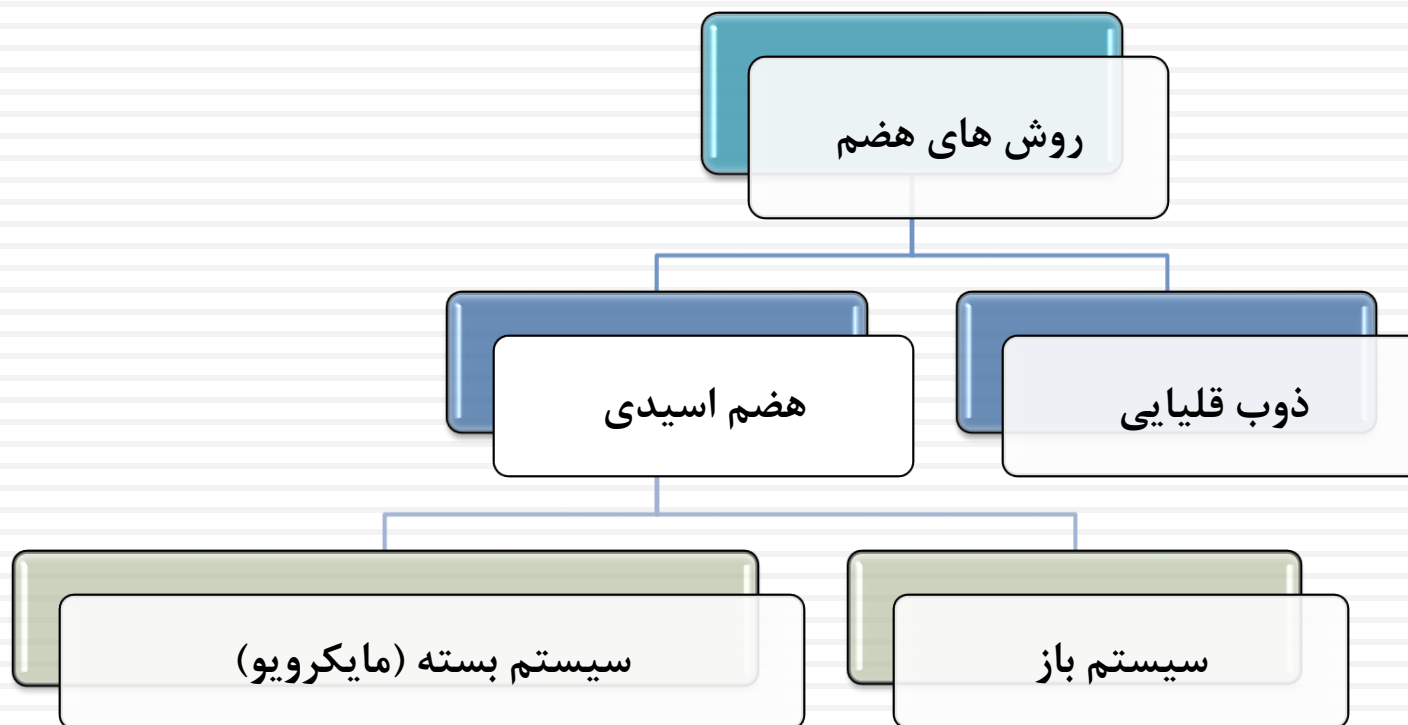
نمونه ناهمگن (دانه های درشت و ریز کنار هم)

هضم ناقص

روش های هضم خاک

6

مزایای هضم اسیدی نسبت به تجزیه قلیایی
غلظت کمتری از مواد ناخواسته فرعی را به محلول نهایی وارد می کند و مزاحمت کمتری در اندازه گیری غلظت عناصر در محلول ایجاد می کند (مخصوصاً در مواردی که از اسپکترومتری جذب اتمی و یا اسپکتروسکوپی پلاسمای جفت شده القایی استفاده می شود)، ترجیح داده می شود.



مقایسه روش های هضم خاک

7

هضم اسیدی باز (هات پلیت)	هضم اسیدی با مایکروویو	ذوب قلیایی	
۳-۴ ساعت	۱۵-۳۰ دقیقه	۱-۲ ساعت	زمان
جیوه، آرسنیک و سلنیوم	-	جیوه، آرسنیک و سلنیوم	تلفات عناصر فرار
خطر استنشاق بخارات اسیدها و سوختگی شیمیایی	تماس کارشناس حداقل	خطر سوختگی حرارتی (۹۰۰ درجه) و پاشیده شدن مواد مذاب	ایمنی کارشناس
مواد مزاحم کم (سیگنال زمینه کم)	مواد مزاحم کم (سیگنال زمینه کم)	ورود املاح به محلول و آسیب به دستگاه و افزایش سیگنال زمینه	تداخل در آنالیز دستگاهی
پایین	بالا	متوسط	هزینه

روش هضم اسیدی

8

مزیت: هم برای مواد آلی و هم مواد غیرآلی مؤثر واقع شده است. این روش اغلب ماتریس نمونه را تخریب و یا خارج می‌نماید و از این‌رو، برای کاهش برخی مزاحمت‌ها کمک کننده است.

خواص برخی اسیدهای معدنی مورد استفاده در هضم نمونه های خاک

اسید	فرمول شیمیایی	درجه خلوص (%)	مولاریته	جرم مخصوص	دمای جوش (°C)
هیدروکلریک	HCl	۳۶	۱۲	۱/۱۸	۱۱۰
هیدروفلوئوریک	HF	۴۸	۲۹	۱/۱۵	۱۱۲
نیتریک	HNO ₃	۷۰	۱۵	۱/۴۲	۱۲۰
پرکلریک	HClO ₄	۷۰	۱۲	۱/۶۷	۲۰۳
فسفریک	H ₃ PO ₄	۸۵	۱۵	۱/۷۰	۲۱۳
سولفوریک	H ₂ SO ₄	۹۸	۱۸	۱/۸۴	۳۳۸

مکانیسم عملکرد اسیدها:

اسیدهای اکسیدکننده: از طریق اکسید کردن ساختمان آلی و غیرآلی نمونه باعث از بین رفتن آن شده و از این‌رو، آنالیت موردنظر آزاد شده و وارد محلول می‌شود.

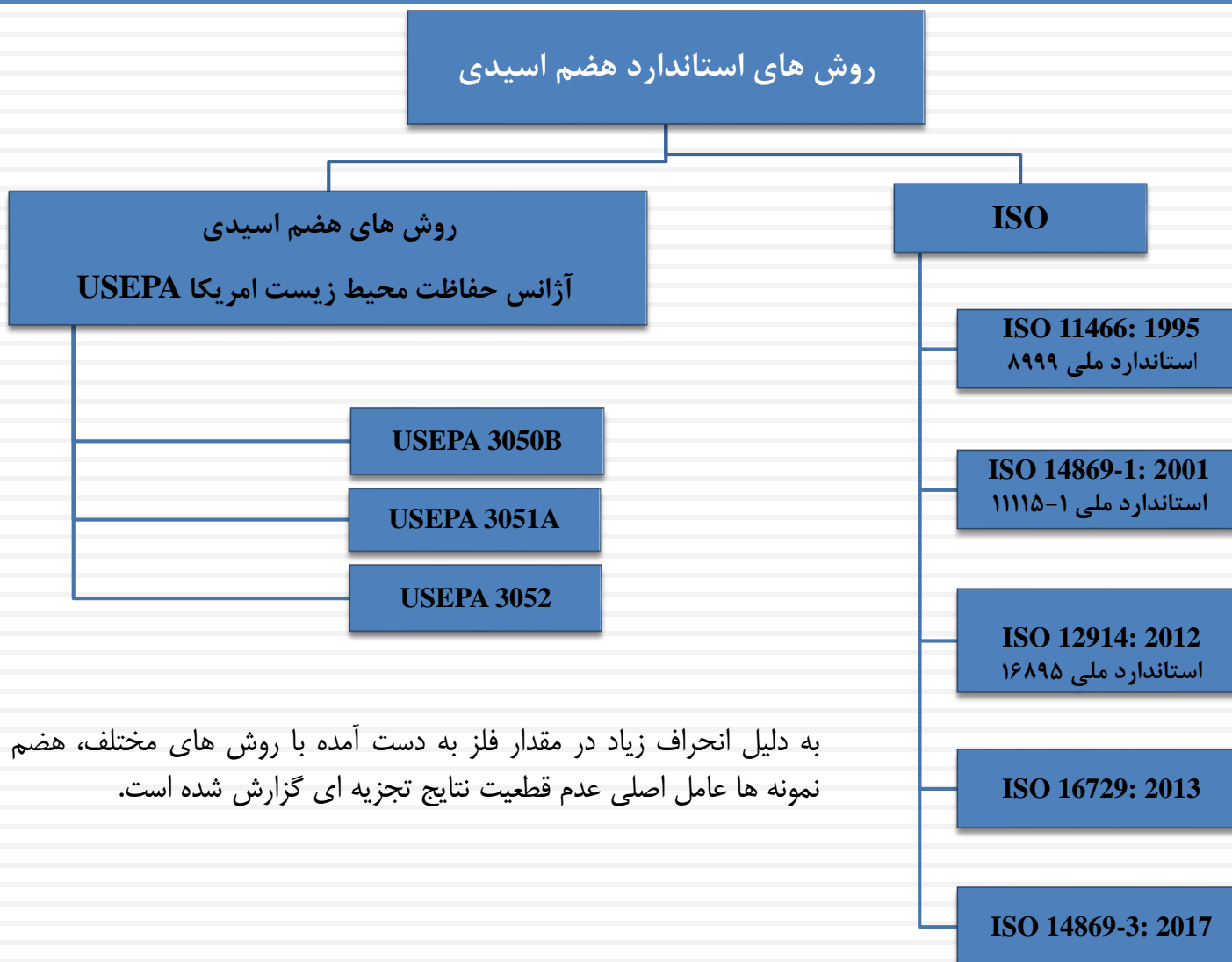
اسیدهای غیر اکسید کننده: از طریق کمپلکس کردن عناصر معدنی موجود در بافت نمونه آن‌ها را از ساختمان نمونه خارج می‌کنند و باعث فروپاشی ساختار نمونه می‌شوند.

به‌عنوان مثال F^- موجود در HF میل ترکیبی بالایی با Si دارد و استفاده از آن برای هضم نمونه‌های سیلیکاتی موجب خارج کردن Si از ساختار نمونه و در نهایت انحلال نمونه می‌شود.

استفاده از محلول‌های رقیق بوریک اسید یا دیگر روش‌های خنثی‌سازی برای برطرف نمودن اثر مزاحمت HF بر دستگاه مورد تجزیه می‌تواند مفید باشد.

روش های استاندارد هضم اسیدی

9



به دلیل انحراف زیاد در مقدار فلز به دست آمده با روش های مختلف، هضم نمونه ها عامل اصلی عدم قطعیت نتایج تجزیه ای گزارش شده است.

روش های هضم اسیدی USEPA و ISO

10

روش هضم	ترکیب اسید	نحوه حرارت دهی	نوع سیستم	مقدار بازیابی عنصر
USEPA 3050B	$\text{HNO}_3\text{-HC1}$	هات پلیت	باز	شبه کل
USEPA 3051	HNO_3	میکروویو	بسته	شبه کل
USEPA 3051A	$\text{HNO}_3\text{-HC1}$	میکروویو	بسته	شبه کل
USEPA 3052	$\text{HNO}_3\text{-HC1-HF}$	میکروویو	بسته	کل
ISO 11466: 1995	$\text{HNO}_3\text{-HC1}$	هات پلیت	باز	شبه کل
ISO 14869-1: 2001	$\text{HNO}_3\text{-HF- HClO}_4$	هات پلیت	باز	کل
ISO 12914: 2012	$\text{HNO}_3\text{-HC1}$	میکروویو	بسته	شبه کل
ISO 16729: 2013	HNO_3	میکروویو	بسته	شبه کل
ISO 14869-3: 2017	$\text{HNO}_3\text{-HF- HClO}_4$	میکروویو	بسته	کل

شبه کل: این روش هضم نمونه را به صورت کامل انجام نمی دهد. بخشی از عناصر که به سیلیس کانی ها پیوند شده است آزاد نمی شوند.

غلظت های آنالیت عصاره گیری شده منعکس کننده مقدار کل آن ها در نمونه نخواهد بود. (برای مطالعات تخمین تحرک و رفتار عناصر در خاک مفید است.)

معیارهای انتخاب روش های هضم نمونه

11

ترکیب نمونه

غلظت آنالیت در نمونه

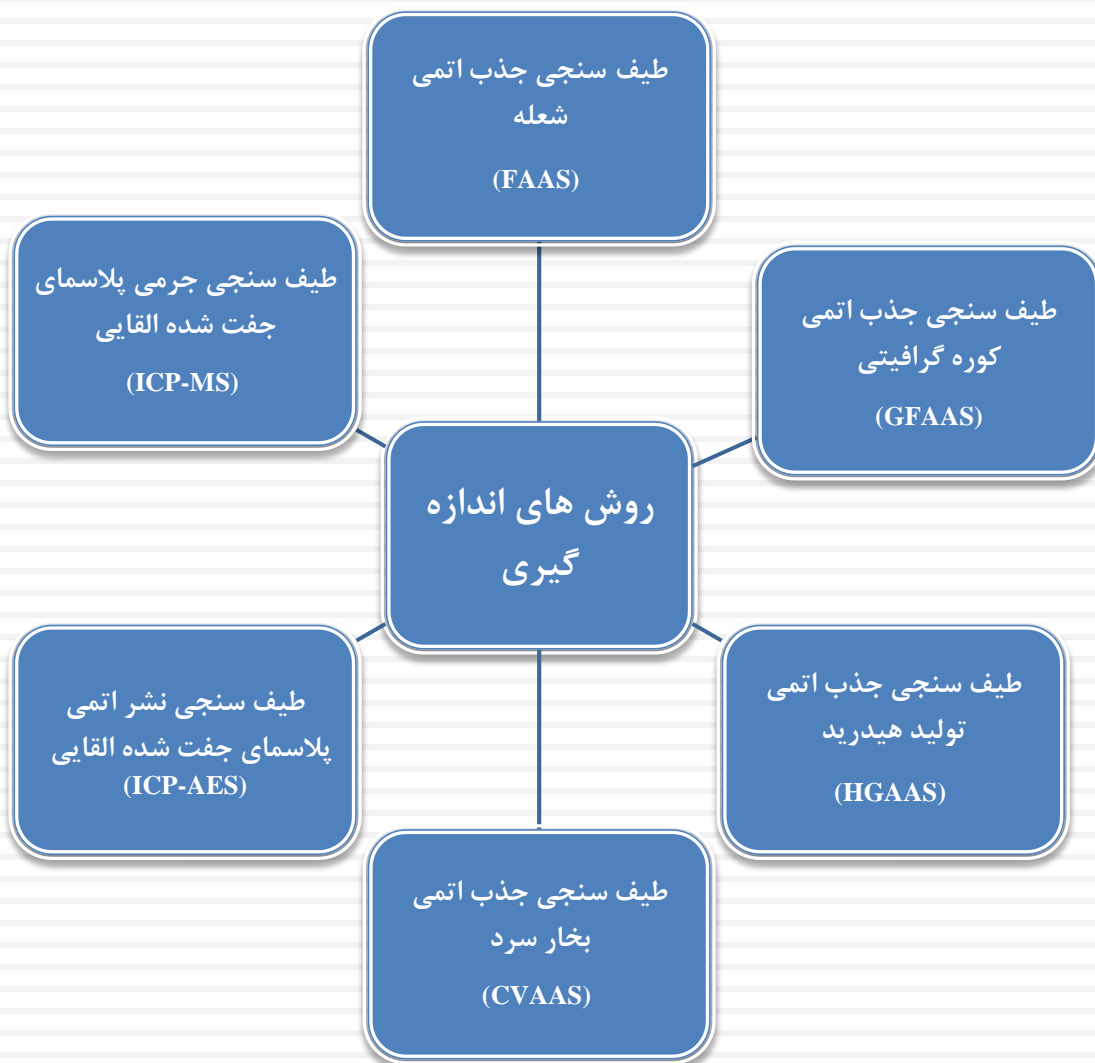
سازگاری هضم با روش اندازه گیری

استفاده از چندین معرف که برای تجزیه کامل ماتریس یا برای پایدار کردن عناصری خاص ضروری هستند، ممکن است باعث ایجاد محدودیت در روش تجزیه دستگاهی مورد استفاده شود. مزاحمت هیدروکلریک اسید برای دستگاه های FAAS، ICP-AES، GFAAS و ICP-MS شناخته شده است. هیدروفلوئوریک اسید که قادر به انحلال سیلیکات ها است ممکن است حذف مقادیر اضافی آن مورد نیاز باشد یا اینکه از وسایل غیر شیشه ای استفاده شود.

پایداری آنالیت در طول هضم

روش های اندازه گیری فلزات سنگین

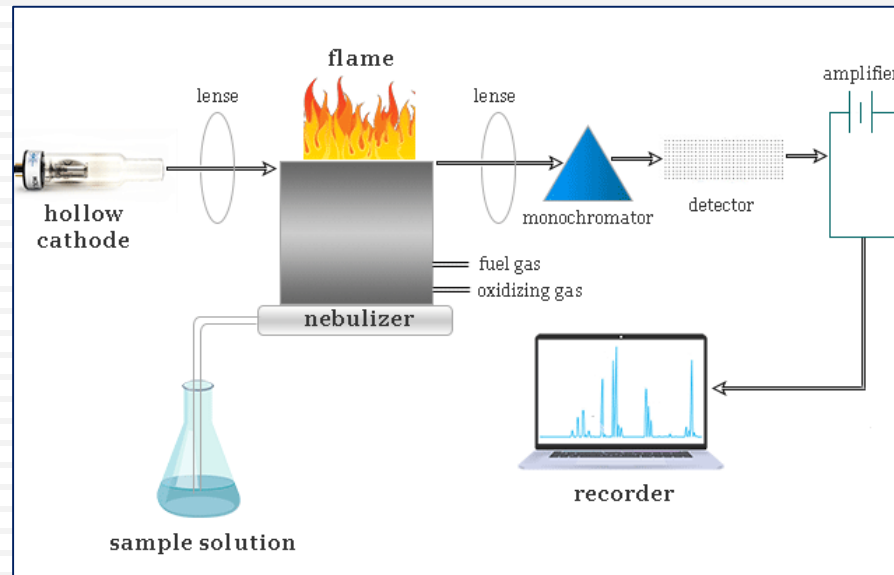
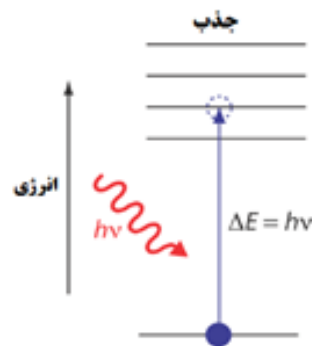
12



طیف سنجی جذب اتمی شعله (FAAS)

13

در سیستم جذب اتمی شعله (FAAS)، تمام یا قسمتی از محلول نمونه به وسیله مهپاش به صورت مه رقیقی به داخل شعله‌ای که در مسیر تابش قرار دارد، افشانه می‌شود. محلول نمونه به صورت قطره‌های ریز به درون شعله پاشیده و به علت گرمای زیاد شعله، حلال موجود در محلول با سرعت زیاد تبخیر می‌شود. ذرات جامد مواد حل شده که پس از تبخیر حلال باقی می‌مانند، ذوب شده و به مایع تبدیل می‌شوند، سپس به حالت گازی درآمده و در پایان به اتم تفکیک می‌شوند. قسمتی از تابش لامپ که از درون شعله می‌گذرد، توسط اتم‌های نمونه جذب می‌شوند. مقدار این تابش جذب شده توسط آشکارساز اندازه‌گیری می‌شود.

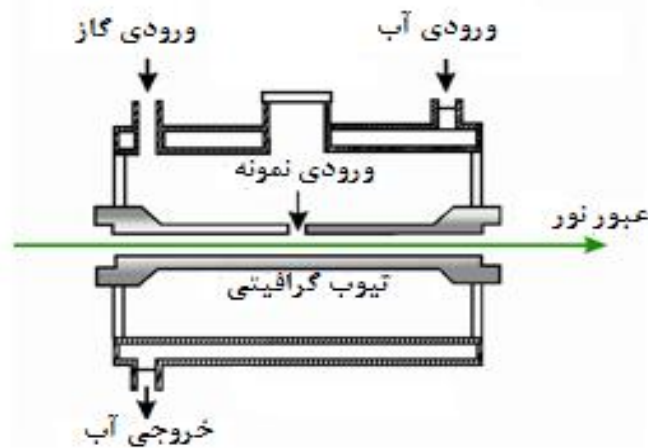


طیف سنجی جذب اتمی کوره گرافیتی

GFAAS

14

متداول ترین اتم ساز الکترو گرمایشی، کوره های گرافیتی هستند. کوره های گرافیتی برای استفاده در این روش به صورت لوله های استوانه های از جنس گرافیت و معمولاً به طول ۵ cm و قطر داخلی کمتر از ۱ cm هستند. سوراخ کوچکی برای ورود نمونه در مرکز استوانه تعبیه شده است. در روش طیف سنجی جذب اتمی کوره چون سیستم مهپاش وجود ندارد از این رو، کل نمونه تزریق شده اتمی می شود. به علاوه زمان ماند اتم های آزاد در مسیر نوری نیز طولانی است، به همین دلایل حساسیت بالاتر و حدود تشخیص پایین تر نسبت به اتم سازی در شعله و پلاسما فراهم می شود.

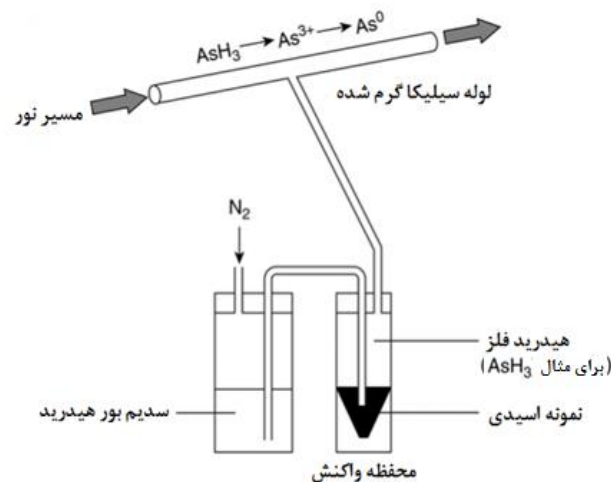


طیف سنجی جذب اتمی تولید هیدرید (HGAAS)

15

در این روش، عناصر به صورت گازهای هیدریدی وارد اتمساز می‌شوند. این روش برای فلزهایی نظیر تلوریم (Te)، قلع (Sn)، سلنیم (Se)، آنتیموان (Sb)، آرسنیک (As)، ژرمانیم (Ge) و بیسموت (Bi) که هیدرید فرار تشکیل می‌دهند، به کار می‌رود.

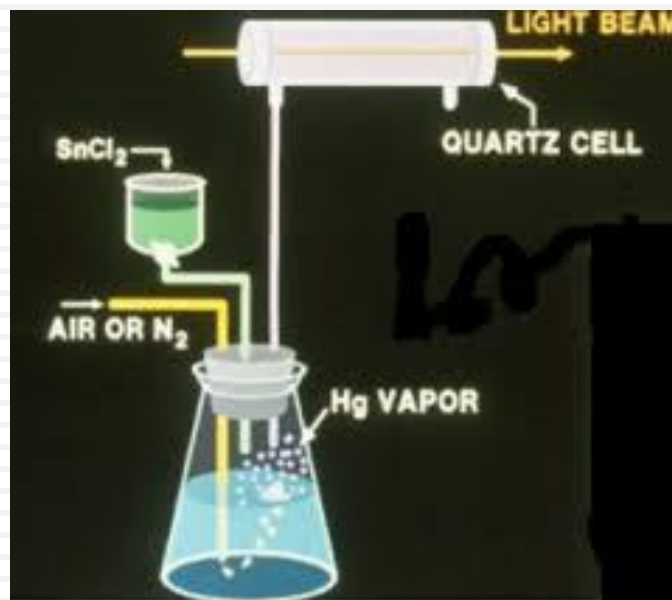
این روش شامل تبدیل آنالیت به هیدرید گازی، انتقال هیدرید به اتمساز و تفکیک مولکولی گونه هیدرید برای تجزیه با FAAS و GFAAS است. در این روش نسبت به تجزیه مستقیم با FAAS حساسیت به‌طور چشم‌گیری بهبود می‌یابد. حساسیت این روش برای عناصر یادآوری شده، نسبت به روش طیف سنجی جذب اتمی شعله، بسیار بیشتر بوده و در محدوده ppb است. در این روش مقدار بیشتری ($50-100$ میلی‌لیتر) از نمونه استفاده شده و کل آنالیت به اتمساز وارد می‌شود. در ضمن زمان اقامت بخار اتمی برای جذب نور افزایش می‌یابد. مزیت بزرگ روش HG-AAS جداسازی آنالیت از ماتریس نمونه است و از این‌رو، مزاحمت طیفی بسیار کمی در این روش مشاهده می‌شود.



طیف سنجی جذب اتمی بخار سرد (CVAAS)

16

جیوه در دمای اتاق می‌تواند به صورت بخار اتمی وجود داشته باشد از این رو، برای تفکیک مولکولی نیازی به حرارت نیست. تکنیک بخار سرد از برخی جنبه‌ها مشابه سیستم تولید هیدرید است و برای اندازه‌گیری جیوه به روش جذب اتمی استفاده می‌شود. محلول نمونه را در داخل ظرف واکنش قرار داده و با عامل کاهنده قوی مثل SnCl_2 ، KBH_4 یا NaBH_4 تیمار می‌شود. بخار اتمی جیوه تولید شده و به داخل سلول نمونه که در مسیر نور اسپکترومتر است، برای اندازه‌گیری جذب منتقل می‌شود. این روش در مقایسه با جذب اتمی شعله، بسیار حساس است به این دلایل که از حجم زیادی نمونه (۵۰ میلی‌لیتر) می‌تواند استفاده شود، بازدهی آزادسازی محلول از نمونه بالاست، زمان اقامت اتم در مسیر نور طولانی بوده و اگر هم گونه‌ی مزاحمی در زمینه وجود داشته باشد، کم است.



تداخل‌ها در طیف‌سنجی جذب اتمی

نوع تداخل	علت	راهکار
طیفی	مزاحمت نشری	مدولاسیون لامپ
	جذب زمینه	اثر زیمان
غیر طیفی (شیمیایی)	تشکیل ترکیب پایدار	افزودن عامل رهاشونده (لانتانیم)
	یونیزاسیون	افزودن عامل یونیزه‌کننده (سزیم)
	تداخل فیزیکی	رقیق‌سازی، تطابق ماتریکس

طیف‌سنجی نشر اتمی

18

در طیف‌سنجی نشر اتمی نمونه، خود منبع نور است. به نمونه انرژی می‌دهیم (معمولاً به شکل حرارت بسیار بالا، مانند پلاسما آرگون). این انرژی، اتم‌های آنالیت را برانگیخته می‌کند. وقتی اتم‌ها به حالت پایه بازمی‌گردند، نور نشر می‌کنند. ما شدت نور نشر شده را اندازه می‌گیریم. هر چه غلظت آنالیت بیشتر باشد، نور بیشتری نشر می‌شود.



تکنیک‌های نشری دو مزیت عمده دارند:

اختصاصی:

مزیت اختصاصی بودن آن است که برخی از عناصر می‌توانند با حساسیت بالاتر یا آزادی بیشتر از تداخل‌ها، توسط طیف‌سنجی نشری در مقایسه با طیف‌سنجی جذبی، تجزیه شوند.

کلی‌تر:

نمونه، خود منبع نور در یک آزمایش نشری است. این بدان معنی است که چندین عنصر می‌توانند به طور همزمان تجزیه شوند و از این‌رو، صرفه‌جویی زیادی در زمان تجزیه به دست می‌آید. یک طیف‌سنج نشری، اندازه‌گیری سریع چندین عنصر را به طور همزمان میسر می‌سازد.

طیف سنجی نشر اتمی شعله‌ای

19

بسیاری از دستگاه‌های جذب اتمی شعله قابلیت جابجایی بین جذب و نشر را دارند.
بهترین شعله برای نشر نیتروژا اکسید - استیلن
(بالاترین دما ← شدیدترین نشر)

تداخلات نشر اتمی شعله

- شیمیایی
- یونیزاسیون
- طیفی: تداخل طیفی در نشر بسیار بزرگتر از جذب است. خود جذبی، نشر زمینه

دلایل کاربرد کمتر نشر اتمی شعله

- تداخل بیشتر
- توسعه روش‌های پلاسمایی: روش‌های پلازما با دمای بالا از بسیاری مشکلات عاری هستند.

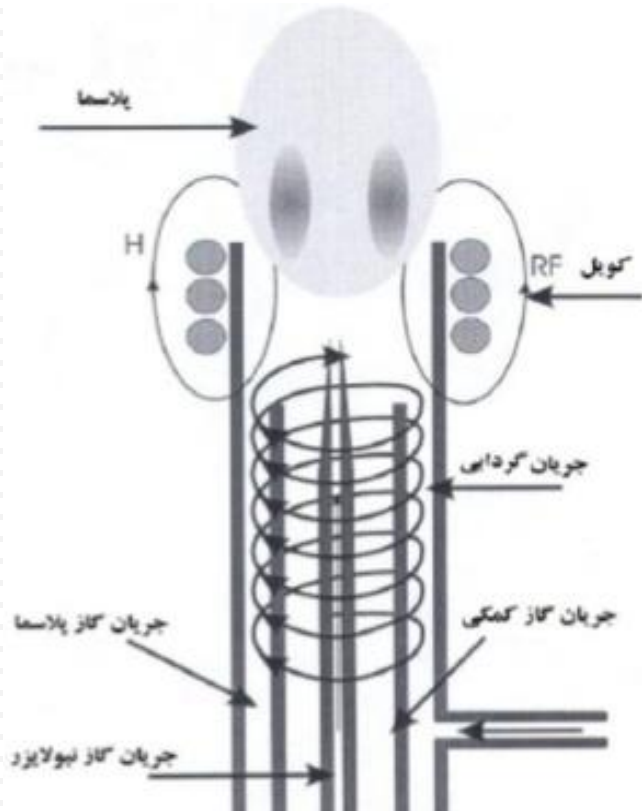
نکته مهم: نشر شعله‌ای عملاً در سنجش فلزات سنگین کاربرد ندارد. این روش فقط برای فلزات قلیایی مثل سدیم و پتاسیم مناسب است، نه برای سرب، کادمیوم و سایر فلزات سنگین.

طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القائی

(ICP-AES)

20

مشعل از سه لوله کوارتزی متحدالمرکز تشکیل شده است. در مشعل ICP، سه جریان گاز در طول سه لوله هم‌مرکز مورد نیاز است. نمونه به صورت آئروسل در داخل آرگون به درون مرکز پلازما کشیده می‌شود. جریان گاز دوم پلازما را حفظ می‌کند. سومین جریان جریان خنک‌کننده در اطراف بیرون پلازما، برای جلوگیری از ذوب لوله کوارتزی لازم است.



مزایای طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القائی

21

- ✓ حساسیت بالا برای طیف وسیعی از فلزات سنگین
- ✓ اندازه‌گیری هم‌زمان چند عنصر
- ✓ محدود خطی وسیع
- ✓ تداخلات کمتر

- در پلاسما اتمی شدن در یک محیط شیمیایی خنثی انجام می‌شود و به دلیل ممانعت از تشکیل اکسید سبب افزایش طول عمر آنالیت می‌شود.
- به دلیل دمای بالای پلاسما (۸۰۰۰-۴۰۰۰ درجه کلوین) اتمی شدن نمونه کامل‌تر و تداخل شیمیایی کمتری حاصل می‌شود.
- سطح مقطع دمایی پلاسما نسبتاً یکنواخت است در نتیجه آثار خودجذبی بروز نمی‌کنند. از این‌رو، منحنی-های واسنجی خطی با چند مرتبه بزرگی غلظت معمولاً مشاهده می‌شود. تجزیه هم‌زمان چند عنصری است.

تداخل‌ها در طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القائی

22

تداخل‌های شیمیایی و آثار بافت نمونه در منابع پلاسما در مقایسه با سایر اتم‌سازها به مراتب کمتر است.
دلیل: به دلیل دمای بالای پلاسما و محیط خنثی آرگون

از آنجا که طیف‌های ICP برای بسیاری از عناصر در طول موج‌ها بسیار غنی‌اند، امکان **تداخل‌های طیفی** از همپوشانی طول موج بسیار زیاد است. اکثر عناصر چند طول موج برجسته دارند که می‌توان برای هدف‌های شناسایی و تعیین به کار برد.

راه حل: افزایش قدرت جداسازی طیف‌سنج یا انتخاب طول موج جایگزین باشد.

طیف‌سنج جرمی پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-MS)

23

طیف‌سنج جرمی، دستگاهی است که یون‌های متحرک سریع را بر اساس نسبت جرم به بار آن‌ها (m/z) جدا می‌کند.

تفاوت اساسی ICP-MS با ICP-AES

هر دو روش از پلاسمای آرگون با دمای بالا برای اتمیزه کردن نمونه استفاده می‌کنند. اما تفاوت در نحوه اندازه‌گیری است:
ICP-AES: شدت نور نشر شده توسط اتم‌های برانگیخته را اندازه می‌گیریم.
ICP-MS: یون‌های تولید شده در پلاسما را بر اساس نسبت جرم به بار m/z جدا و شمارش می‌کنیم.

ICP-AES می‌گوید «چه نوری منتشر می‌شود؟»
ICP-MS می‌گوید «چه جرمی دارد و چقدر از آن وجود دارد؟»

مرحله	عنوان	خلاصه
اول	تولید یون	نمونه در پلاسمای ۶۰۰۰-۱۰۰۰۰ درجه به یون تبدیل می‌شود
دوم	استخراج یون‌ها	یون‌ها از پلاسما خارج و متمرکز می‌شوند
سوم	جداسازی بر اساس جرم	چهارقطبی یون‌ها را بر اساس نسبت جرم به بار جدا می‌کند
چهارم	آشکارسازی و شمارش	آشکارساز پالس‌ها را شمارش کرده و غلظت را محاسبه می‌کند

ICP-MS: پیشرفته‌ترین و حساس‌ترین روش اندازه‌گیری فلزات سنگین

مزاحمت‌ها در ICP-MS

24

مزاحمت‌های طیفی:

مزاحمت‌های طیف‌سنجی هنگامی اتفاق می‌افتند که مقادیر m/z یک گونه یونی در پلاسما برابر مقدار m/z آنالیت باشد. چنین مزاحمت‌هایی به چهار دسته تقسیم می‌شوند: یون‌های ایزوبار، یون‌های افزایشی یا چند اتمی، یون‌های با بار چندگانه، یون‌های اکسید دیرگداز

مزاحمت‌های غیرطیفی (ناشی از بافت نمونه):

در نتیجه‌ی مشکلات ناشی از بافت نمونه برای توصیف کاهش پاسخ تجزیه‌ای با افزایش غلظت عنصر ماتریس در محلول آزمایش، به کار رفته است. منشأ این مزاحمت‌ها می‌تواند بسیار متفاوت باشد. اثرهای ماتریسی در غلظت‌های بزرگتر از حدود ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر قابل توجه می‌شوند. اثرهای بافت نمونه را می‌توان با استفاده از محلول‌های رقیق‌تر، تغییر روش وارد کردن نمونه یا بوسیله جداسازی گونه‌های مزاحم به حداقل رساند. این اثرهای را نیز با استفاده از یک استاندارد داخلی مناسب حذف می‌شود.

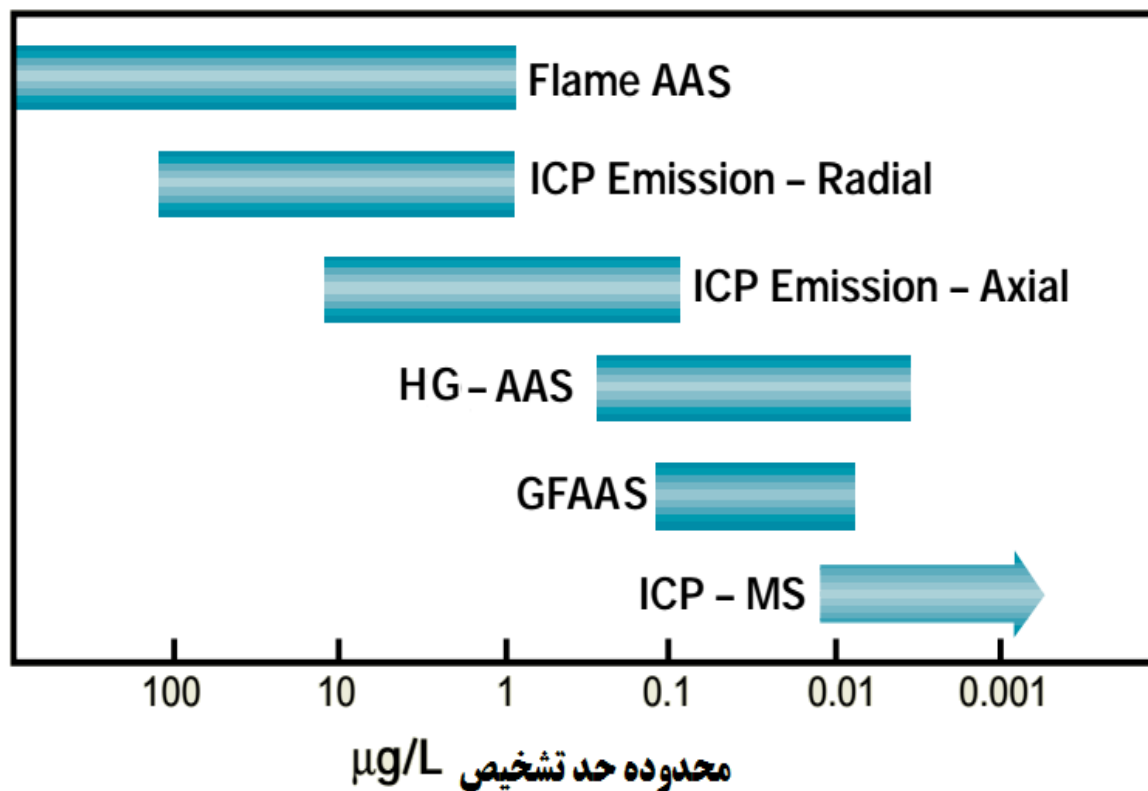
مقایسه روش‌های مختلف طیف‌سنجی اتمی

25

پارامتر	جذب اتمی کوره گرافیتی (GFAA)	جذب اتمی شعله (FAA)	پلاسمای جفت شده القایی (ICP)
حدود تشخیص	برای عناصری که اتمی می‌شوند حدود ۱۰-۱۰۰ برابر حساس‌تر از ICP یا FAA	شبیه ICP است اما برای عناصر گروه اول و عناصری فرار Na، K، Pb، Zn، Cd بهتر است.	برای عناصر مقاوم و نادر و عناصری که خط رزونانسی زیر ۱۹۰nm دارند مانند P و S بهتر است.
حد خطی غلظت	۱۰ ^۲	۱۰ ^۳	۱۰ ^۴ -۱۰ ^۶
دقت تجزیه (RSD%)	۵-۵۰	۱-۱۰	۲-۳۰
تداخل‌های شیمیایی	بیشترین	متوسط	کمترین
تداخل‌های طیفی	متوسط	کمترین	بیشترین
تداخل یونیزاسیون	متوسط	بیشترین	کمترین
سرعت کالیبراسیون و تجزیه	آهسته	بسیار سریع برای کمتر از ۶ عنصر در نمونه	بسیار سریع برای ۶ یا عناصر بیشتر در نمونه
هزینه اولیه	متوسط	پایین	بالا
هزینه اپراتوری	متوسط	پایین	بالا

مقایسه حد تشخیص روش‌های مختلف طیف‌سنجی اتمی

26



کنترل کیفیت و تضمین کیفیت نتایج در آزمایشگاه

27

عناصر کلیدی کنترل کیفیت (QC) در آزمایشگاه:

- ✓ شاهد (Blank): تشخیص آلودگی معرفها
- ✓ نمونه مرجع استاندارد (CRM): خاک استاندارد با غلظت معلوم (تأیید صحت روش)
- ✓ اسپایک (Spike): افزودن مقدار مشخص فلز به نمونه (محاسبه بازیابی)
- ✓ تکرار (Duplicate): آنالیز حداقل سه بار از یک نمونه (تأیید تکرارپذیری)
- ✓ کالیبراسیون (Calibration): منحنی با ۵ نقطه، $R^2 > 0.995$ (دقت دستگاه)
- ✓ استاندارد داخلی (Internal Standard): تصحیح اثرات ماتریسی

در آنالیز فلزات سنگین، یک نتیجه بدون QC، اعتبار ندارد و بی فایده است.



با تشکر از توجه شما

خاک ایران، سرمایه ملی ماست.