

نویسندگان

تهمینه ذاتی مصلحتی^{۱*}
 اشرف سادات کریمان^۲
 الهه ابولحسنی^۳، محمود رفیعی^۴

T.maslehati@wri.ac.ir

آنچه که کارشناس آزمایشگاه آنالیز شیمیایی از آماده‌سازی نمونه باید بداند

چکیده

این مقاله، مروری بر چگونگی آماده‌سازی نمونه‌های مایع و جامد، به‌منظور خوانش با دستگاه جذب اتمی و پلاسما جفت شده القایی نشر اتمی است. آماده‌سازی نمونه برای انجام آنالیز شیمیایی، شامل بخش‌های بسیار مهم و اساسی است به‌طوری که اگر آماده‌سازی به درستی انجام نگیرد، خطاهای زیادی در نتایج آزمایش‌ها به‌وجود می‌آورد.

واژه‌های کلیدی

آماده‌سازی نمونه، جذب اتمی، نشر اتمی - پلاسما جفت شده القایی -، هضم اسیدی، میکروویو.

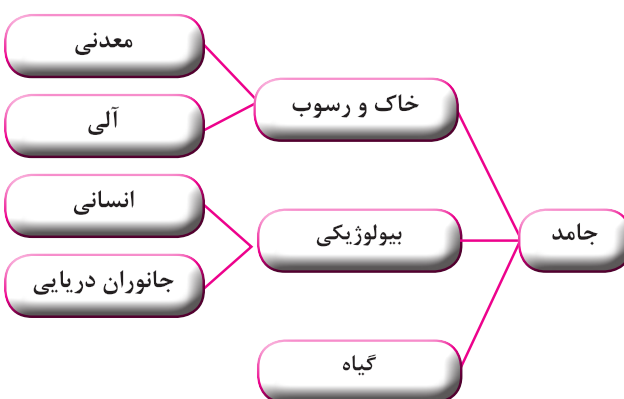
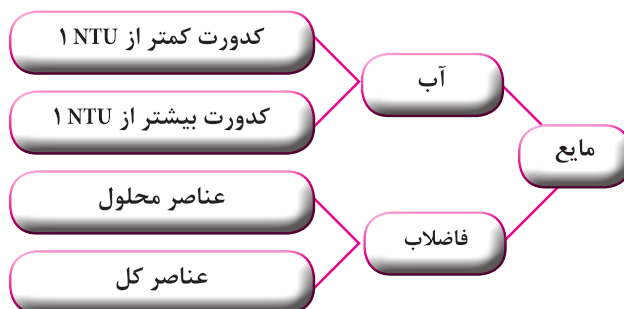
مقدمه

در آنالیز شیمیایی برای تعیین مقادیر عناصر، چه در روش‌های کلاسیک مانند تیتراسیون (حجم سنجی)، وزن سنجی و طیف‌سنجی نور مرئی و ماوراء بنفش و چه در روش‌های جدیدتر مانند طیف‌سنجی جذب اتمی و طیف‌سنجی نشر اتمی در محیط پلاسما جفت شده القایی، نمونه مورد نظر باید به‌طور کامل حل شود. روش‌هایی که برای این منظور استفاده می‌شود با توجه به نوع نمونه اعم از این که خاک، رسوب، بافت موجودات زنده، گیاه و غیره باشد، با هم متفاوت خواهند بود و باید هم از نظر معرف‌ها و مواد شیمیایی به کار رفته و هم از نظر وسایل و ابزار مورد نیاز، مقرون به صرفه باشند. به دلیل این که هدف، آنالیز عنصری نمونه است، باید روش‌های به کار برده شده طوری باشند که ماهیت اصلی نمونه‌ها تغییر نکند و تمامی عناصر در محیط باقی بمانند.

در بیشتر این روش‌ها معمولاً از اسیدهای معدنی مختلف و یا مخلوطی مناسب از آنها به همراه مواد اکسید کننده، محلول‌های بازی و یا در مورد برخی عناصر مقاوم، از ذوب قلیایی در حضور کمک ذوب‌های مناسب استفاده می‌شود. در واقع در حالت‌های عادی، آماده‌سازی نمونه تقریباً ۶۰ درصد زمان کل آنالیز را در بر می‌گیرد؛ در نتیجه، نقش مهمی در دقت و صحت نتایج حاصل از آنالیز، به‌خصوص در مورد عناصر کمیاب و ناچیز خواهد داشت.

در مورد نمونه‌هایی که حاوی عناصر دیرگداز مانند: آلومینیوم، سیلیسیم، زیرکونیوم، برلیوم، تالیم، لانتانیم و توریم هستند، به دلیل مقاومت شیمیایی بالا، آماده‌سازی آنها چه از نظر نوع و مقدار عوامل شیمیایی و چه از نظر مدت زمان انجام فرآیند هضم، مشکلات زیادی را در پی خواهد داشت.

انواع نمونه



روش‌های هضم نمونه‌های مایع

در مورد نمونه‌هایی که از ابتدا به صورت محلول هستند، به منظور آنالیز عنصری، نمونه‌ها بدون آماده‌سازی به دستگاه‌ها تزریق می‌شوند، مشروط بر این‌که نمونه‌ها کاملاً شفاف بوده و حاوی ذرات معلق نباشند.

به منظور آنالیز عناصر غیر محلول موجود در نمونه‌های مایع، نمونه را باید به کمک اسیدهای معدنی هضم نمود. در این روش به ازای یک لیتر نمونه آب، ۵ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ به نمونه اضافه می‌شود. برای هضم این نمونه، ۱۰۰ میلی‌لیتر از این مخلوط را برداشته و آن را درون بشر می‌ریزیم؛ سپس ۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید ۱ به ۱ به آن اضافه می‌نماییم و به مدت ۱۵ دقیقه، داخل حمام بخار یا روی هیتر قرار می‌دهیم [۱].

نکته: در صورت وجود مواد جامد، ابتدا نمونه فیلتر و سپس نمونه صاف شده را داخل بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به کمک آب یون‌زدایی شده (دو بار تقطیر) آن را به حجم می‌رسانیم. با توجه به نوع عنصر، روش‌های هضم متفاوتی وجود دارد. در ادامه به روش‌های هضم نمونه مایع با توجه به نوع فلز مورد نظر به تفکیک اشاره خواهد شد. به طور کلی، نیتریک اسید برای هضم کلیه فلزات مناسب است. استفاده از دیگر اسیدهای مکمل (پرکلریک اسید، سولفوریک اسید، فلوئوریدریک اسید و پرکلریک اسید) به منظور هضم کامل، برای برخی از عناصر توصیه نمی‌شود. هضم نمونه حاوی نقره به دو روش انجام می‌شود:

۱. مخلوط نیتریک اسید و هیدروکلریک اسید به نسبت ۱ به ۳ (یک حجم اسید نیتریک و سه حجم هیدروکلریک اسید) استفاده می‌شود.

۲. مخلوط اسید نیتریک و هیدروکلریک اسید به نسبت ۱ به ۳ (یک حجم نیتریک اسید و سه حجم هیدروکلریک اسید) به علاوه محلول آمونیاکی ۳۰ درصد برای تشکیل کلرید نقره آمونیاکی استفاده می‌شود.

هضم نمونه‌های حاوی قلع، آنتیموان و روتنیم به کمک مخلوط نیتریک اسید و هیدروکلریک اسید انجام می‌گیرد که در برخی مواقع استفاده از کلریدریک اسید می‌تواند مفید باشد.

عنصر سرب و توریم: در این نمونه‌ها از نیتریک اسید استفاده می‌شود.

عنصر تیتانیم: مخلوط نیتریک اسید و سولفوریک اسید مورد استفاده قرار می‌گیرد.

هضم نمونه‌های حاوی مواد آلی: در این نمونه‌ها از مخلوط نیتریک اسید و پرکلریک اسید استفاده می‌شود.

هضم نمونه حاوی مواد سیلیسی: در این نمونه‌ها از مخلوط هیدروکلریک اسید و فلوئوریدریک اسید استفاده می‌شود. توجه داشته باشید که در صورت استفاده از فلوئوریدریک اسید به هیچ عنوان از دستگاه نشر شعله به منظور خوانش نمونه‌ها استفاده نشود. نکته: در صورت استفاده از فلوئوریدریک اسید، برای از بین بردن اثرات مخرب آن باید به ۵۰ میلی‌لیتر از نمونه، ۰/۵ گرم بوریک اسید افزوده شود.

نکته: به منظور هضم نمونه حاوی باریم، سرب و نقره هرگز از سولفوریک اسید استفاده نشود.

هضم نمونه جامد

در روش هضم نمونه‌های جامد به صورت کلاسیک، نمونه تحت تأثیر اسیدهای معدنی قرار می‌گیرد تا پیوندها شکسته شده و عناصر فلزی وارد فاز محلول شوند. انواع روش‌های هضم:

♦ هضم به روش تیزاب سلطانی [۲]

این روش برای اندازه‌گیری فلزات از جمله کادمیم، کروم، کبالت، نیکل، روی، وانادیم، آهن، منگنز، جیوه، سرب، مولیبدن، کلسیم، منیزیم، آنتیموان، قلع و غیره مناسب است.

در این روش، یک گرم نمونه خشک را درون بشر توزین نموده و به آن ۵ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ و ۱۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ اضافه می‌کنیم. سپس به مدت ۳۰ دقیقه نمونه را در دمای محیط قرار داده و بشر را روی هیتر در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه حرارت می‌دهیم تا عملیات هضم کامل شده و مایع شفاف حاصل شود.

نکته: در مورد هضم نمونه‌هایی که حاوی مقادیر بالای سرب هستند، بعد از مرحله پایانی، ۲۰ تا ۲۵ میلی‌لیتر آمونیم استات اشباع به محتویات بشر اضافه نموده و دوباره روی هیتر حرارت می‌دهیم تا بخارات سفید رنگ از آن خارج شود. بعد از این مرحله، محتویات

روش دوم

مواد شیمیایی مورد نیاز:

۱. سدیم هیدروکسید
۲. پتاسیم هیدروکسید.

هیدروکسیدهای سدیم و پتاسیم ذوب کننده‌های قلیایی بسیار قوی محسوب می‌شوند ولی باید توجه داشت که این ترکیبات در شرایط خاصی مورد استفاده قرار می‌گیرند. عمومیت نداشتن این گونه ذوب‌ها را می‌توان ناشی از دو عامل دانست؛ اول آن که، این ذوب در بوت‌های پلاتینی عملی نبوده و باید از بوت‌های طلا، نقره و نیکل و یا بوت‌ه زیرکونیم استفاده نمود و دیگر آن که، این مواد را به آسانی به خلوص سایر ذوب کننده‌ها نمی‌توان به دست آورد. اشکال دیگر در مورد استفاده از پتاسیم هیدروکسید این است که مقدار زیادی نمک‌های پتاسیم به محلول اضافه می‌شود. این مواد به خاطر خاصیت جذب رطوبت زیاد، هنگامی که حرارت زیاد باشد کف نموده و از ظرف خارج می‌شوند.

روش کار: ۵ میلی‌لیتر سود ۳۰ درصد را درون بوت‌ه نیکلی ریخته، آن را تا مرحله خشک شدن حرارت می‌دهیم؛ سپس حدود ۰/۳ گرم از نمونه را به آن اضافه نموده و عمل حرارت دادن را ادامه می‌دهیم تا ذوب انجام گیرد. بعد از خنک شدن بوت‌ه به کمک آب مقطر، محتویات بوت‌ه را به بالن ۵۰۰ یا ۱۰۰۰ میلی‌لیتری انتقال داده و برای خنثی شدن سود از ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ استفاده می‌کنیم. بالن را با کمک آب یون‌زدایی شده به حجم می‌رسانیم. این محلول به‌منظور خوانش عناصر سیلیسیم و آلومینیم (عناصر دیرگداز) با دستگاه جذب اتمی و یا پلاسما جفت شده القایی - نشر اتمی آماده است.

هضم گیاه [۵]

روش اول

ابتدا اندام برگی نمونه را جدا نموده و با آب شستشو می‌دهیم؛ سپس در آن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد آن را خشک می‌کنیم. نمونه خشک شده را آسیاب نموده؛ یک گرم از آن را توزین و به آن ۵ میلی‌لیتر فلوئوریدریک اسید و ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید و ۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید می‌افزاییم و آن را تا دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت می‌دهیم تا نمونه شفاف شود. سپس نمونه را با کمک نیتریک اسید ۴ درصد به حجم می‌رسانیم. نمونه برای خوانش با دستگاه جذب اتمی آماده است.

روش دوم

به‌منظور اندازه‌گیری عناصر Al, B, Ca, Cu, K, Mg, Na, P, Pb, Zn ۱ گرم نمونه خشک را داخل بشر وزن نموده و ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید به آن می‌افزاییم. مخلوط را روی هیتر قرار داده تا اسید آن تبخیر شود و حدود ۱ میلی‌لیتر از آن باقی بماند؛

بشر را داخل بالن ۱۰۰ یا ۲۵۰ میلی‌لیتر به حجم می‌رسانیم و به‌منظور اندازه‌گیری، به دستگاه‌های جذب اتمی و یا نشر شعله داده می‌شود.

هضم چهار اسید [۳]

در این روش، یک گرم نمونه خشک را درون بوت‌ه تفلونی توزین نموده و به آن ۵ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ اضافه می‌نماییم و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار می‌دهیم. سپس به آن ۱۰ میلی‌لیتر پرکلریک اسید و ۲ میلی‌لیتر فلوئوریدریک اسید غلیظ اضافه نموده و روی هیتر گذاشته و دمای آن را تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌دهیم. در این روش چون هدف، هضم کامل نمونه جامد است، اضافه نمودن فلوئوریدریک اسید تا شفاف شدن نمونه ادامه پیدا می‌کند. در پایان، ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ اضافه نموده و به مدت ۱۰ دقیقه نمونه را در همان دما نگه می‌داریم. پس از سرد شدن نمونه، آن را به بالن حجمی ۵۰ یا ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال داده و با آب دو بار تقطیر به حجم می‌رسانیم.

روش هضم ذوب قلیایی [۴]

این روش برای نمونه‌های حاوی Al_2O_3 و SiO_2 و همچنین نمونه‌هایی که حاوی مقادیر بالایی از مس، روی و سرب هستند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش ذوب قلیایی بر دو نوع است:

روش اول

مواد شیمیایی مورد نیاز:

۱. کربنات سدیم بدون آب
۲. اسید کلریدریک ۶ نرمال
۳. اسید کلریدریک ۱۲ نرمال

روش کار: در حدود ۵ گرم کربنات سدیم را روی ۱ گرم خاک خشک درون بوت‌ه پلاتینی و یا نیکلی ریخته و آن را با خاک به‌طور کامل مخلوط نمایید. سپس یک گرم کربنات سدیم را روی سطح مخلوط ریخته و در کوره گذاشته و کم‌کم دمای کوره را زیاد نموده تا به دمای ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد برسد؛ ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در این دما بماند. سپس گاهی در بوت‌ه چینی را بردارید تا شرایط اکسیداسیون در آن ایجاد شود؛ در این مرحله، دما را تا ۱۰۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش دهید و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه نمونه در این دما نگه داشته شود. در اثر حرارت، مواد به‌صورت توده مذاب تغییر حالت می‌دهند. (در صورتی که در پایان مرحله ذوب و در مرحله خنک شدن، حباب هوا در نمونه دیده شود به معنی ناقص بودن مرحله ذوب است. لذا حرارت دادن نمونه را به مدت ۱۵ دقیقه ادامه می‌دهیم).

کمی آب مقطر درون بوت‌ه ریخته سپس به آرامی محتویات آن را درون بشر می‌ریزیم، ۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۶ نرمال به بوت‌ه اضافه نموده تا موادی که احتمالاً به ته بوت‌ه چسبیده است جدا شود؛ سپس آن را به بشر انتقال می‌دهیم. محتویات بشر، آماده خوانش با دستگاه جذب اتمی و یا پلاسما جفت شده القایی - نشر اتمی است.

یک گرم از آن را توزین نموده، ۱۰ میلی‌لیتر تیزاب سلطانی و ۷ میلی‌لیتر پرکلریک اسید ۳۷ درصد به نمونه اضافه می‌نماییم و روی هیتر تا دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت می‌دهیم تا هضم، کامل شود. نمونه شفاف را در بالن ۵۰ میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم می‌رسانیم. نمونه آماده خوانش با دستگاه جذب اتمی و یا پلاسما جفت شده القایی - نشر اتمی است.

هضم با استفاده از ماکروویو [۹]

روش هضم به کمک دستگاه‌های ماکروویو آزمایشگاهی بنا به مدل دستگاه و شرکت سازنده، متفاوت است. ولی به‌طور کلی همه ماکروویوهای آزمایشگاهی براساس دمای ۲۰۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و در فشار بالا عمل هضم را انجام می‌دهند. در جدول صفحه بعد به چند روش آزمایشگاهی برای هضم نمونه خاک و رسوب با دستگاه ماکروویو اشاره شده است.

نکات مهم در مورد کار با اسید:

- هنگام استفاده از پرکلریک اسید دقت شود که به آرامی و به مقدار کم به محلول اضافه شود. در صورت عدم رعایت موارد ایمنی احتمال انفجار وجود دارد.
- هنگام استفاده از آب اکسیژنه برای محلول‌های اسیدی و یا نمونه‌های حاوی مقادیر زیاد مواد آلی دقت شود از جوشیدن نمونه هنگام استفاده از H_2O_2 پرهیز شود.
- در نمونه‌هایی که حاوی مقادیر کم سرب هستند به‌منظور تثبیت نمونه، pH مناسب، ۵ تا ۶ است.



شکل ۱: نمونه‌ای از یک دستگاه ماکروویو

سپس ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید، ۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه به آن اضافه می‌کنیم و دوباره حرارت می‌دهیم. در انتها محتویات بشر را به یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل نموده و با آب یون‌زدایی شده به حجم می‌رسانیم. در صورتی که نمونه احتیاج به صاف کردن داشته باشد آن را با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف می‌کنیم. این نمونه آماده خوانش با دستگاه پلاسما جفت شده القایی - نشر اتمی است [۱۰].

هضم جانوران دریایی

روش هضم جانوران کفزی [۶]

نمونه را با آب مقطر شستشو می‌دهیم و در آون در دمای پایین خشک می‌کنیم. نمونه خشک شده را آسیاب و یک گرم از آن را توزین نموده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر تیزاب سلطانی و ۷ میلی‌لیتر پرکلریک اسید ۳۷ درصد اضافه نموده، روی هیتر گذاشته و حرارت می‌دهیم تا هضم، کامل شود. در پایان، نمونه به یک مایع شفاف تبدیل می‌شود. محتویات بشر را درون بالن ۵۰ ریخته و با آب مقطر به حجم می‌رسانیم.

روش هضم ماهی [۷]

روش اول

نمونه عضله ماهی را ابتدا با آب مقطر شستشو می‌دهیم و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک می‌کنیم. نمونه خشک شده را آسیاب، یک گرم از آن را توزین نموده و درون بشر ریخته و به آن ۶ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ اضافه می‌کنیم. نمونه را با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم و با دستگاه جذب اتمی و یا پلاسما جفت شده القایی - نشر اتمی آنالیز می‌کنیم.

روش دوم

برای هضم نمونه‌های بیولوژیکی مانند عضله و کبد ماهی و گیاه با استفاده از حمام شنی یا هیتر، حدود ۰/۲ گرم از نمونه خشک را در بوته تفلونی وزن می‌نماییم. ۵ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ به آن اضافه نموده و درب ظرف را با پوشش آلومینیومی می‌بندیم و نمونه‌ها را در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت قرار می‌دهیم. سپس نمونه‌ها را روی هیتر در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده و اجازه می‌دهیم تا نمونه‌ها در دمای اتاق سرد شوند. سپس پوشش آلومینیومی را برداشته و محتویات داخل بوته را با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف می‌نماییم. محلول صاف شده را در بالن ۵۰ میلی‌لیتری با آب یون‌زدایی شده به حجم می‌رسانیم. نمونه آماده خوانش با دستگاه جذب اتمی و یا پلاسما جفت شده القایی - نشر اتمی است [۱۱].

هضم نمونه انسانی (مو و ناخن) [۸]

نمونه مو و یا ناخن را در آون خشک می‌نماییم. نمونه را خرد و

نمونه	مقدار میلی گرم	روتور	مواد معرف	پروفایل	برنامه			
					قدرت دما	روند افزایش دما	زمان ماندگاری	خنک کننده
رس	۱۰۰-۵۰۰	HF	۲ میلی لیتر نیتریک اسید	دما	۲۴۰	۱۵	۴۵	۱
		100	۴ میلی لیتر فسفریک اسید ۲ میلی لیتر پرکلریک اسید					۲
رسوب رودخانه	۱۰۰-۵۰۰	HF 100	۱ میلی لیتر نیتریک اسید	دما	۲۴۰	۱۵	۲۵	۱
			۲ میلی لیتر هیدروکلریک اسید					۲
			۳ میلی لیتر فلوتوریدریک اسید					
رسوب	۵۰-۳۰۰	MF 100	۳ میلی لیتر نیتریک اسید	دما	۱۹۰	۱۰	۲۰	۱
			۹ میلی لیتر هیدروکلریک اسید					۲

مراجع

[1] Standard methods for the examination of water & wastewater -21st Edition, 2005

[2] ASTM D 4698 Edition approved Oct.15,1992 2001

[3] Standard methods for the examination of water & wastewater , 3030 -21st Edition, 2005

[۴] نشریه شماره ۸۹۳ سال ۱۳۷۲ وزارت کشاورزی - موسسه تحقیقات خاک و آب

[5] Determination of Heavy Metal Accumulation in Ipomoea Aquatica using Wet DEstruction Method, Faculty of Chemical & Natural Resources Engineering University Malaysia Pahang, November2010

[6] Decomposition of fish samples for determination of Mercury, Institute for medical research and occupational Health , Zagreb Croatia, November 1998

[7] Decomposition of fish samples for determination of Mercury, Institute for medical research and occupational health , Zagreb Croatia, November 1998

[8] Preparation of Hair for measurement of element by (ICP-OES),Accepted March 5, 1998

[9] Multiwave 3000 – Classified List of Applications, Anton Paar

[10] Liberty SerirsII Analytical Methods book .publication No.8510150000 October 1999

[11] Moopam 1999

نتیجه گیری

برای انتخاب روش هضم مناسب، ابتدا باید به نمونه دقت شود تا با توجه به بافت نمونه، روش هضم مناسب و اسیدهای مناسب آن را انتخاب نمود. از طرفی باید توجه داشت که براساس نوع دستگاه و روشی که به منظور آنالیز انتخاب می‌شود، از اسید و مواد مناسبی برای ذوب نمونه استفاده نمود تا در حد امکان مزاحمت‌های طیفی و دستگاهی به حداقل برسد.

پی نوشت

۱. کارشناس ارشد شیمی خاک، موسسه تحقیقات آب
۲. کارشناس محیط زیست، موسسه تحقیقات آب
۳. کارشناس ارشد شیمی، سازمان زمین شناسی و اکتشافات معدنی ایران
۴. کارشناس ارشد شیمی، شرکت تولیدی و تحقیقاتی صنعتی آبسار کویر
۵. عضو کارگروه تخصصی آنالیز عنصری شبکه آزمایشگاهی فناوری‌نانو
۶. به هنگام استفاده از اسیدهای ذکر شده، رعایت نکات ایمنی و مطالعه برگه‌های ایمنی MSDS الزامی است. به‌عنوان مثال، استفاده نادرست از پرکلریک اسید موجب بروز انفجار می‌شود.