


VARIAN

PSD 120
Programmable Sample Dispenser

GTA 120
Graphite Tube
Analyzer

AA280Z
AA280Z Atomic
Absorption Spectrophotometer

HNO_3
0,3% -ig
- Triton X



بر اساس جدول تناوبی از یک جایی به بعد فلزات سنگین قرار دارند

عناصری از جدول تناوبی

1. فلز (چکش خوار، درخشش فلزی، رسانایی الکتریکی، کاتیون تشکیل می دهند، اکسید بازی دارند).

2. جرم حجمی بالایی دارند.

اما Hg, Al, AS

تاریخچه تعریف

اولین بار در سال ۱۹۳۶ فلزات سنگین مطرح شدند و دوباره در ۳۰-۴۰ سال اخیر مصطلح شده است، مجموعه ای از فلزات و شبه فلزات که با آلودگی های غذایی یا محیطی و یا مسمومیت در ارتباطند

تعاریف گوناگون از فلزات در مطالعات بیولوژیکی و محیطی

Metal: چکش خوار، درخشش فلزی، توانایی انتقال حرارت و یون

Metalloid: ظاهر و خواص فیزیکی یک فلز را دارند ولی رفتاری غیر فلزی دارند

Light Metal: برای عناصری که دانسیته آنها کمتر از 4 g/cm^3

Heavy Metal: اصطلاحی مبهم برای گروهی از عناصر با دانسیته بیش از 4 g/cm^3

Essential Metal: عناصر ضروری برای زندگی موجود زنده که نبودش موجب بروز عوارضی می شود

تعاریف گوناگون از فلزات سنگین بر پایه هایی مختلف بیان شده است.

تعریف بر مبنای دانسیته: اولین بار در سال ۱۹۳۶ برای عناصری که دانسیته آن ها بالاتر از 7 g/cm^3

در سال ۱۹۶۴ مبنای دانسیته بیش از 4 g/cm^3 مجددا عوض شد

در حال حاضر چه عناصری را فلزات سنگین می دانند؟ بطور کلی فلزات و شبه فلزاتی که دانسیته نسبتاً بالا (بیشتر از 4g/cm^3 یا ۵) دارند و در غلظت های پایین اثرات سمی ایجاد میکنند به دلیل ایجاد عوارض نامناسب حضور آن ها در مواد غذایی و محیط زیست نیازمند تعیین حدود مجاز است

مهمترین فلزات سنگین Pb, Cd, As, Hg, Ag, Cr, Cu, Zn, Fe, Pt

منابع انتشار فلزات سنگین در طبیعت

در پوسته زمین و صخره ها بصورت سنگ معدن هایی با اشکال شیمیایی گوناگون وجود دارند و از آنجا استخراج می شوند

سنگ معدن های سولفیدی: Ni, Ag, Au, Zn, Co, Pb, As, Fe

سنگ معدن های اکسیدی: Sb, Se, Au, Mn, Al

سنگ معدن های سولفیدی-اکسیدی: Fe, Cu, Co

منبع اصلی انتشار فلزات سنگین در طبیعت : استخراج معادن توسط انسان

منابع دیگر انتشار: عوامل طبیعی مثل آتشفشان ها، صنایع، محصولات صنعتی حاوی فلزات سنگین که پس از استفاده در طبیعت رها می شوند، ریخته گری ها، سوخت

فلزات سنگین، آلاینده های محیطی پایدار در طبیعت

گردش فلزات سنگین در طبیعت

1. استخراج معادن و آلوده شدن آبهای سطحی و زیر زمینی به فلزات سنگین

2. آلوده شدن خاک های کشاورزی

3. جذب شدن فلزات در گیاهان و تجمع در بافت های آن ها

4. تغذیه حیوانات و آبزیان از آب ها و گیاهان آلوده

5. تجمع در بافت های حیوانی

6. ورود فلزات سنگین به بدن انسان با مصرف انسان / محصولات گیاهی، حیوان آلوده

سمیت فلزات سنگین

(Fe, zn, ca, mg): essential metals

(pb, cd, as, hg, ag): Toxic metals

علائم کلی مسمومیت: اختلالات گوارشی، اسهال، استفراغ و....

انواع مسمومیت های ممکن: حاد، مزمن، تحت مزمن

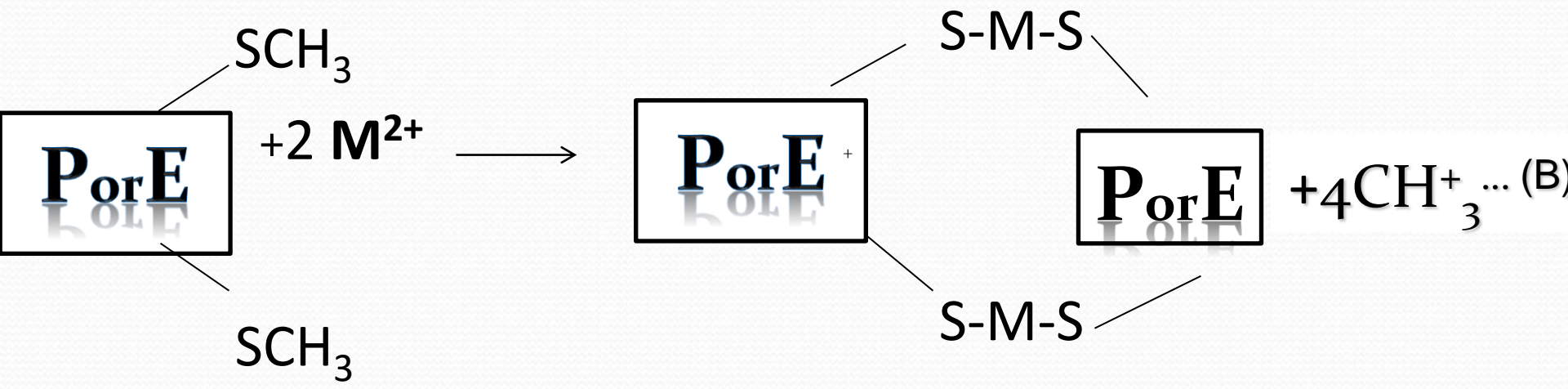
بیوشیمی سمیت فلزات سنگین

ورود فلزات سنگین به بدن از راه خوراکی

تبدیل به اکسیداسیون پایدار در محیط اسیدی معده

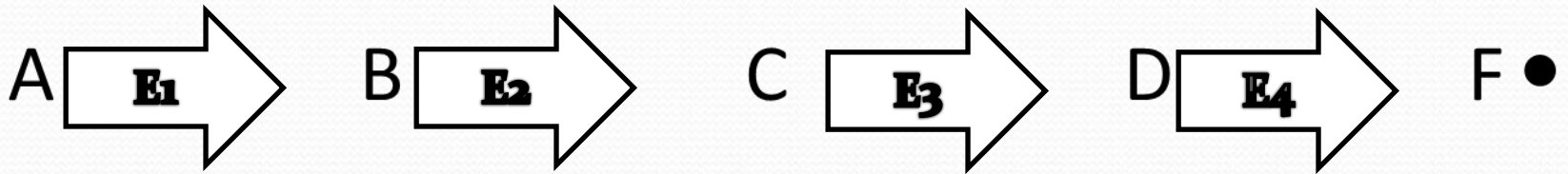
(Pb^{2+} , cd^{2+} , as^{2+} , hg^{2+} , zn^{2+})

تشکیل پیوندهای قوی با پروتئین ها، آنزیم ها و سایر بیومولکول ها



فلزات سنگین از چندین راه با بیو مولکول های بدن واکنش داده و عوارض بیولوژیک ایجاد می کنند

• ترکیب با محصول نهایی یک زنجیره آنزیمی و ایجاد کمپلکس غیر قابل مصرف توسط بدن



ایجاد اختلال در

تجمع فلز (کمپلکس فلز- آنزیم) در بافت

• نتیجه: غیر قابل مصرف شدن محصول نهایی
بخشی از سیستم بیولوژیکی

• جایگزینی فلز سنگین به جای یون ساختاری یک آنزیم یا پروتئین با همان اندازه

بروز مسمومیت کادمیوم

• مثل جایگزینی cd^{2+} به جای Zn^{2+} در آنزیم های هیدروژناز

• تخریب ساختار آنزیم ها: حمله As^{2+} موجود در ساختمان بعضی از آفت کش ها به گروه های سولفیدریل آنزیم های بدن و توقف فعالیت آنزیمی

عنصر	اثرات حاد	اثرات مزمن	نوع مسمومیت
کادمیوم	التهاب ریه	سرطان ریه نرم‌استخوانی پروتئینوری احتمال آسیب شدید کلیه	مسمومیت کادمیوم
جیوه	اسهال تب استفراغ	التهاب دهان تهوع لرزش	مسمومیت جیوه
سرب	انسفالوپاتی اختلال مغزی	کم‌خونی	مسمومیت سرب
کروم	خونریزی دستگاه گوارش خون‌کافت نارسایی حاد کلیه	فیبروز ریه سرطان ریه	مسمومیت کروم
آرسنیک	آریتمی قلب پلی‌نوریت	دیابت سرطان	مسمومیت آرسنیک

نتیجه گیری

بررسی واژه فلزات سنگین

منابع انتشار در طبیعت

راه های ورود به بدن

عوارض سمی

بیوشیمی سمیت

امروزه استفاده از آنها اجتناب ناپذیر است ولی باید به طور مرتب پایش شود

لزوم استفاده از روش های آزمایشگاهی مناسب و دقیق جهت استخراج و تعیین مقدار فلزات سنگین

اصول کلی در تهیه نمونه آزمایش

الف-نمونه برداری sampling

اولین و مهمترین بخش مراحل آماده سازی نمونه است

تهیه و استفاده از نمونه های کاملا همگن (هموژن)

روش های همگن کردن نمونه:

•تکان دادن و هم زدن نمونه

•آسیاب کردن

•تهیه دوغاب (slurry) نمونه جامد و آب در همزن آسیاب می شود و یک دوغاب به وجود می آید

•یک نمونه مناسب مجموعه ای از ۵-۱۰ نمونه کوچکتر از یک نمونه اصلی است

ب- آماده سازی نمونه sample preparation

قاعده کلی در همه روش های آماده سازی نمونه، دستیابی به یک محلول شفاف است

زیرا اکثر روش های تعیین مقدار فلزات سنگین بر اساس نمونه های مایع (محلول) عمل می کند

اصول مورد توجه در آماده سازی نمونه جهت آنالیز فلزات سنگین

• شستشوی اسیدی

• استفاده از ظرف مناسب که جاذب یون های مورد سنجش نباشد مهمترین ظروف : استفاده از ظروف و ابزار پلاستیکی به جای شیشه ای (لوله های فالكون و ظروف پلیمری مناسب)

• عدم استفاده از کروزه های پلاتینی برای عناصر خاص: فلزاتی مثل Pd, Au, Hg, Fe ممکن است در اثر حرارت بطور کامل جذب ظروف پلاتینی شوند(عدم استفاده از ظروف مناسب و یا اسیدواش نکردن ظروف، ضمن کم کردن غلظت آنالیت به خاطر جذب فلزات به جداره ظرف، سبب آلودگی آزمایشات بعدی نیز خواهند شد)

• جلوگیری از تبخیر و تغییر غلظت نمونه آماده شده

• عدم استفاده از حرارت زیاد برای عناصر فرار : جیوه و آرسنیک

عوامل موثر در فراریت یک عنصر

ماهیت عنصر

ماتریس نمونه: چنانکه ممکن است یک عنصر فرار در یک نمونه و در دمای خاص بازیافت خوب داشته باشد ولی در ماتریس دیگری بازیافت خوبی نداشته باشد

- استفاده از اسید ها در شرایط ایمن
- کار با اسید حتما باید در زیر هود انجام شود
- استفاده از ماسک ، عینک ایمنی، دستکش ضد حلال (نیتریلی) و پوشش محافظتی لباس
- مخلوط کردن اسیدهای غلیظ و اکسید کننده ها برای هضم نمونه خطر آفرین است: سوختگی سریع پوست، انفجار
- بدلیل احتمال واکنش شدید بین اسید غلیظ و نمونه بهتر است ابتدا مقدار کمی اسید رقیق به نمونه اضافه شود و بعد اسید غلیظ اضافه شود تا واکنش آهسته تر شود
- اکسید کننده های قوی مثل پر کلریک اسید فقط زمانی باید اضافه شوند که بخش زیادی از نمونه توسط اسید نیتریک اکسیده و تخریب شده باشد

دقت های ضروری در صورت استفاده از HF
به راحتی جذب پوست شده با شستشو به طور کامل پاک نمی شود و سبب سوختگی های شدید می شود

- آماده سازی و تزریق نمونه در هوای کاملاً تمیز و تهویه شده
- از آنجا که کل نمونه مورد آزمایش در هنگام تزریق به دستگاه فقط به چند میکرولیتر کاهش می یابد یک ذره کوچک غبار هوا نیز حتی با قرار گرفتن روی نمونه می تواند تفاوت های قابل توجه در نتیجه ایجاد کند.
- استفاده از حلال های ULTRA PURE
- اجتناب از رساندن به حجم زیاد: در صورت عدم اطلاع از میزان تقریبی آنالیت نمونه را در کمترین حجم تهیه کنید.
- فاصله زمانی کوتاه بین تهیه نمونه و اندازه گیری

روش های رایج آماده سازی نمونه جهت آنالیز فلزات سنگین

الف- روش هضم اسیدی Acid Digestion

ب- خاکسترگیری Dry Ashing

روش هضم اسیدی

فرایند هضم ماتریس نمونه توسط یک اسید قوی انجام می شود در مورد ماتریس های آلی برای تخریب کامل ماتریس نمونه ، ممکن است از یک اکسید کننده نیز استفاده شود.

اسید استفاده شده معمولا اسید نیتریک است. چرا؟

از پر اکسید هیدروژن نیز برای افزایش قدرت اکسید کنندگی اسید استفاده می شود.

انواع روش های هضم اسیدی

1. روش های هضم باز Open Vessel

2. روش های هضم بسته Close Vessel

*روش هضم باز: ساده ترین روش هضم مرطوب است که در یک ظرف در باز انجام می شود
نمونه پس از توزین در یک بشر قرار داده می شود ← افزودن محلول هضم کننده ←
پوشاندن بشر با شیشه ساعت ← حرارت دادن روی هات پلیت ← نمونه به آرامی
شروع به جوشیدن می کند

باید هر از چند گاهی مقداری اسید به نمونه اضافه شود تا نمونه خشک نشود

می توان از آب اکسیژنه هم برای کمک به اکسیداسیون بیشتر استفاده کرد

پس از هضم کامل نمونه و ظاهر شدن یک محلول شفاف و کم رنگ تا نزدیک به خشک شدن تبخیر
می شود ← انتقال به ظروف حجمی ← به حجم رسانی با آب یا اسید رقیق

HNO_3 روی ۵ گرم نمونه را پوشاند ← بعد مقداری H_2O_2 (مقدار H_2O_2 کم باشد ۲۵ / ۰
مقدار HNO_3)

این روش پایه ، روشهای هضم اسیدی باز است برای نمونه های مختلف میتوان جستجو کرد.

نکات مورد توجه:

نمونه نباید بطور کامل خشک شود

در صورت صاف کردن محلول نمونه، کاغذ صافی نیز باید به دقت شسته شود تا آنالیت جذب شده
روی آن به محلول برگردد

انتخاب اسید مناسب در روش هضم اسیدی باز

استفاده از یک اسید رقیق : برای نمونه های غیر آلی محلول و نمک ها

استفاده از یک اسید غلیظ : برای نمونه های نامحلول

استفاده از $HCl (1 N)$ برای هضم بهتر: بعد از هضم اسید نیتریک و قبل از صاف کردن و به حجم رسانی

استفاده از اسید سولفوریک: اگر نمونه با اسید نیتریک تنها یا اسید نیتریک همراه با اسید کلریدریک هضم خوبی پیدا نکند، مخلوط اسید نیتریک - سولفوریک (۱+۲) اضافه می شود.

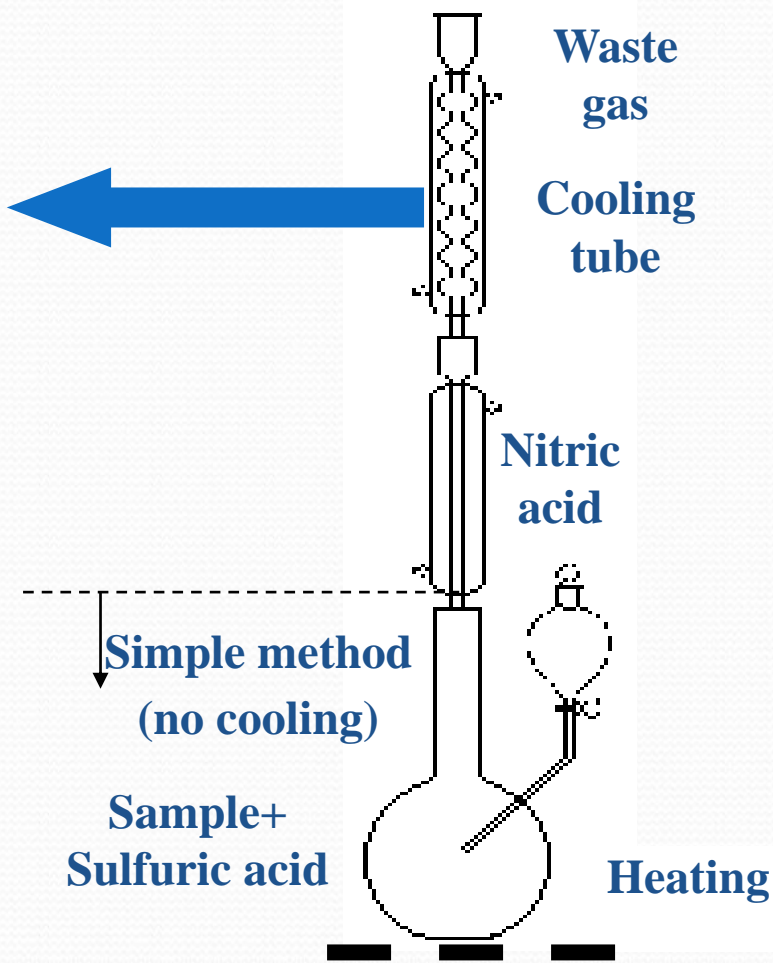
روش هضم شدیدتر: هضم با اسید نیتریک تا باقی ماندن چند میلی لیتر اسید ← سرد کردن نمونه ← افزودن مخلوط اسید نیتریک - اسید پرکلریک (۱+) ← ادامه حرارت تا ظاهر شدن بخارات سفید متراکم پرکلریک اسید

استفاده از اسید هیدروفلوریک: برای هضم نمونه های سخت تر
استفاده از تیزاب سلطانی: اسید کلریدریک-اسید نیتریک (۱+۳): می تواند طلا و پلاتین را نیز در خود حل کند

ترکیب اسید سولفوریک - پروکسید هیدروژن : بعنوان یک اکسید کننده قوی عمل میکند.

Wet Decomposition Method

Kjeldahl flask wet decomposition method



*- روشهای هضم بسته

هضم اسیدی نمونه در یک ظرف کاملا بسته صورت میگیرد .

ظروف مورد استفاده در این روش ، باید قابلیت تحمل حرارت و فشار زیاد را داشته و در برابر خاصیت خوردگی اسیدهای داغ مقاوم باشند

معمولا از ظروف در دار PTFE استفاده میشود

نمونه رایج دستگاهی روش هضم بسته دستگاه هضم مایکروویو است Microwave Digestion

ظروف در دار تفلونی هضم اسیدی (قیمت پایین و کارایی نسبتا خوب ولی ایمنی کم میشود)

اجزای یک دستگاه هضم ماکروویو

از سه قسمت تشکیل شده است

1. یک آون ماکروویو

2. یک سیستم چرخان که وسل های هضم به آن متصل است

3. سیستم تهویه

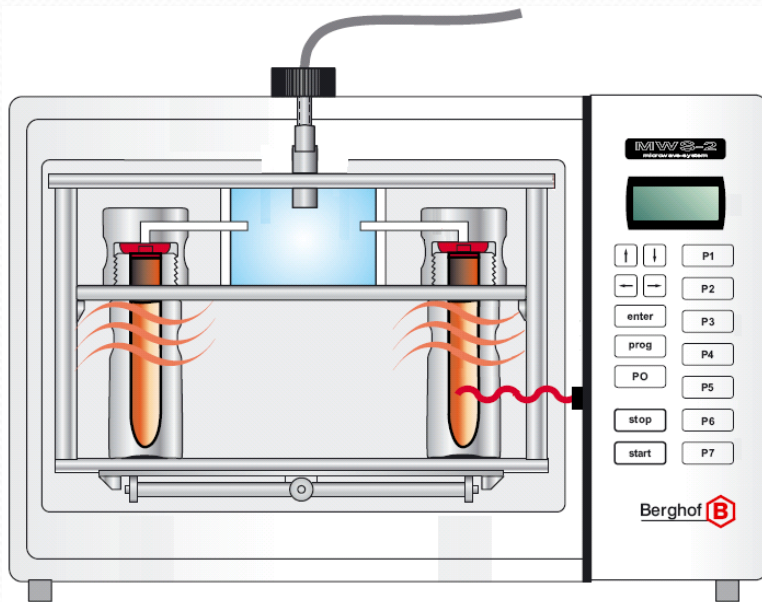


Pretreatment Microwave Decomposition

Decompose the sample together with an acid in a sealed container. □

Decomposition possible in a short time with little vaporization or contamination. □

- Ideal for the pretreatment of trace elements and trace samples.
- Food products, living organisms, pharmaceuticals, airborne dust, soil, etc.



Microwave Digestion



High-pressure Decomposition Container

محدودیت وزن یعنی حداکثر نمونه ، 0.5gr

H2O2 ، 2cc

HNO3 ، 5cc

ویژگیهای هضم اسیدی بسته (هضم مایکروویوی)

1. در این روش ظروف هضم از پلیمرهای مقاوم به دمای زیاد ساخته میشود .
2. احتمال انتقال آلودگیهای فلزی از این ظروف ، نسبت به ظروف شیشه ای و سرامیکی و کرومه ها کمتر است
3. حذف احتمال نفوذ آلودگیهای ناشی از گرد و غبار
4. نیاز به حجم کمتری از اسیدها در ظروف درب بسته تحت فشار ، به دلیل کاهش میزان تبخیر حلال
5. کاهش قابل توجه از دست رفتن عناصر فرار (معضلی مهم در روشهای هضم در ظروف باز و روش خاکستر گیری خشک)
6. کاهش نیاز به دقت اپراتور به دلیل دارا بودن سیستم خودکار
7. بخارات اسیدی که در روشهای هضم باز

خاکسترگیری Dry Ashing

روشی مناسب برای نمونه های آلی مرطوب مثل نمونه های مواد غذایی و گیاهی :

- به دلیل سرعت و سهولت در تخریب مقادیر زیاد مواد آلی
- مناسب برای عناصر غیر فرار

- نوعی روش هضم باز (Open vessel) است : انتقال نمونه به داخل یه کروزه (از جنس چینی ، سیلیس ، پیرکس یا پلاتین) ← حرارت دادن روی شعله تا کربنیزه شدن ← انتقال به کوره الکتریکی سرد و رساندن به حرارت ۴۵۰ درجه سانتی گراد ← چندساعت ماندن در کوره تا تشکیل یک خاکستر سفید (حداقل ۴ ساعت)

در صورت عدم تشکیل خاکستر سفید : خارج کردن کروزه از کوره ← مرطوب کردن نمونه با اسید نیتریک غلیظ ← تبخیر اسید روی هات پلیت ← انتقال مجدد به کوره

- افزودن حدود HCL ، 5^{cc} ۶مولار به خاکستر ← تبخیر اسید روی هات پلیت ← افزودن اسید نیتریک ۱ / ۰ مولار و رساندن به حجم نهایی

نکات روش خاکستر گیری :

برای عناصر سرب ، کادمیم ، مس ، آهن ، روی در مواد غذایی در دمای ۴۵۰ درجه بازیافت کافی نشان داده است

روش مناسبی است برای تعیین مقدار عناصر مغذی در مواد غذایی از جمله : پتاسیم ، آهن ، منیزیم ، منگنز ، کلسیم

(به دلیل مقدار زیاد در مواد غذایی و پایداری در دماهای بالا)

مشکلات روش خاکستر گیری :

برای عناصر فرار مناسب نیست

احتمال آلوده شدن نمونه از هوای آزمایشگاه یا داخل کوره (سیستم باز) درب کروزه داخل کوره ببندیم.

نیاز به اسید شویی کامل ظروف به دلیل احتمال جذب فلزات از آزمایشات قبلی

کروزه ها را با اسید غلیظ تر مثلا تا ۳۰ درصد برای شستشوی کروزه استفاده شود

دشواری در خاکسترگیری نمونه های روغن و چربی به دلیل احتمال شعله ور شدن نمونه

مقایسه مزایا و معایب :

هضم اسیدی بسته	هضم اسیدی باز	خاکستر گیری	
گمتر از یک ساعت	چند ساعت	چند ساعت	زمان مصرف شده
کاملا مناسب	تاحدی مناسب	نامناسب	حفظ عناصر فرار
تاحدی	زیاد	کم	مخاطره برای کاربر
متوسط	نسبتا زیاد	متوسط	میزان مصرف حلال ها
کم	نسبتا زیاد	نسبتا زیاد	احتمال انتقال آلودگی از ظروف
بسیار کم	نسبتا زیاد	نسبتا زیاد	احتمال آلودگی از هوا
کم	زیاد	متوسط	نیاز به دقت کاربر

تعیین مقدار دستگاهی فلزات سنگین :

دستگاه طیف سنجی اتمی

یکی از پر کاربردترین و دقیق ترین دستگاههای سنجش میزان فلزات سنگین
اساس : تشکیل بخار اتمی از عنصر مورد نظر و تعیین مقدار بر اساس میزان جذب نور هالوکاتد

دستگاه جذب اتمی کوره Furnace AAS

مهمترین نوع سیستمهای جذب اتمی در آزمایشگاههای مواد غذایی
بدون داشتن آن از توانایی لازم جهت اندازه گیری مقادیر trace فلزات برخوردار نخواهد بود
ترجیحا اتوسمپلر

اساس اندازه گیری

تزریق محلول نمونه به داخل یک لوله گرافیتی

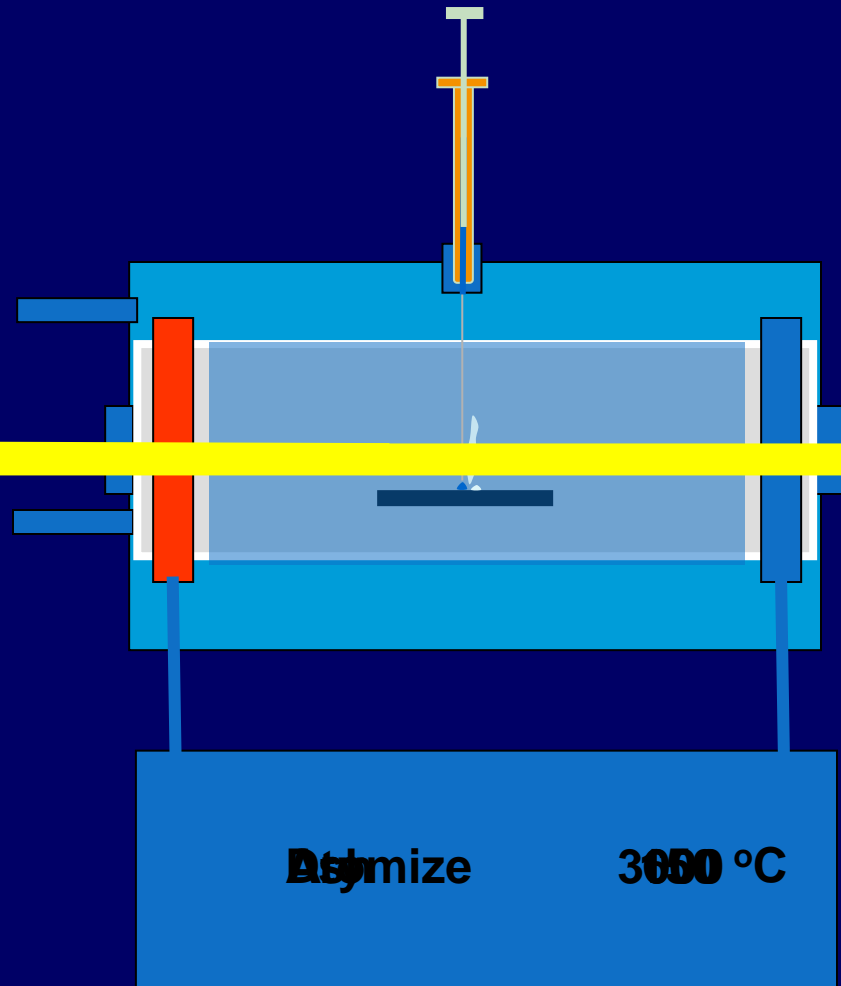
گرم شدن چند مرحله ای لوله ی گرافیتی طی یک برنامه حرارتی

تبخیر نمونه و تشکیل بخار اتمی از فلز مورد نظر

جذب نور هالوکاتد توسط بخار اتمی

تعیین غلظت فلز بر اساس میزان جذب نور هالوکاتد

Graphite Furnace



برنامه حرارتی دستگاه جذب اتمی

حدود ۹ مرحله برنامه دمایی

۴ مرحله دمایی اصلی :

الف - Drying خشک کردن ۸۵ درجه سانتی گراد

ب - Ashing سه بار تکرار خاکستری گیری (کربن خارج شود) ۴۰۰ درجه سانتی گراد

ج - Atomizing اتمایز (افزایش ناگهانی دما) ۲۱۰۰ - ۴۰۰ درجه سانتی گراد

د - cooling (تمیز و خنک شدن) حدود ۲۶۰۰ درجه سانتی گراد

نکات مورد توجه در کار با اتمیک کوره

کنترل‌های پیش از اندازه گیری

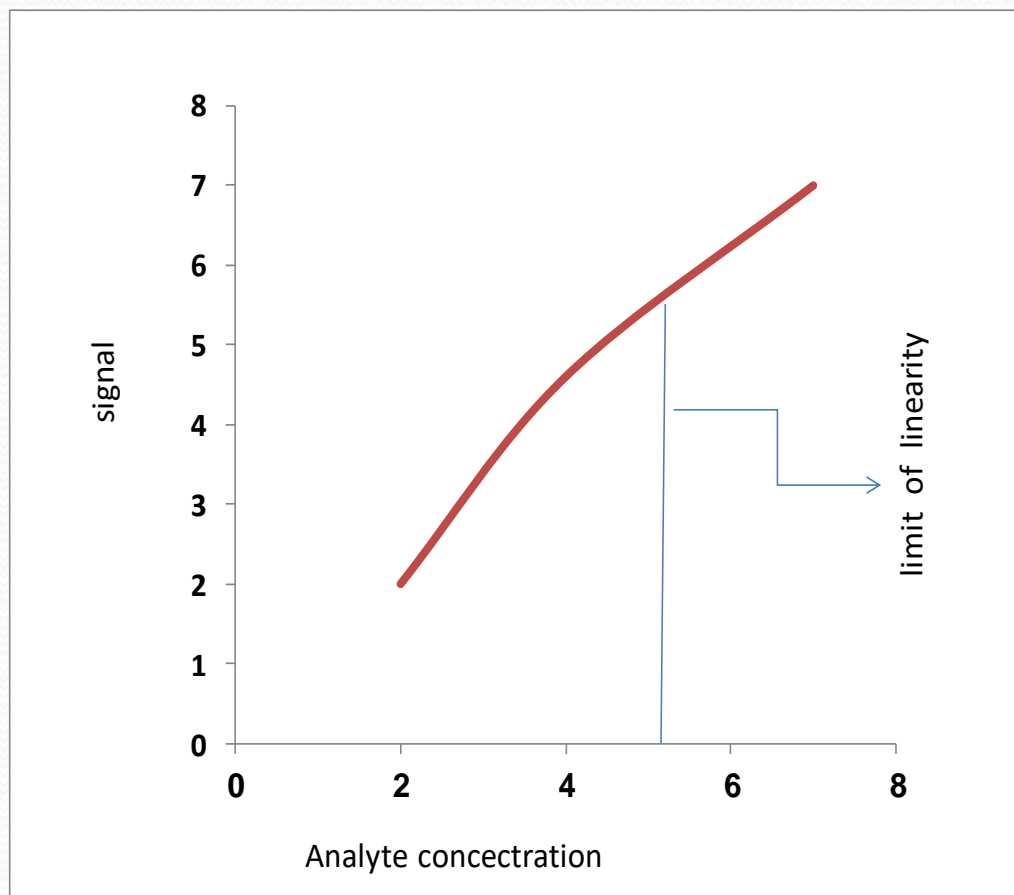
محل‌ها :

1. رسیدن استاندارد ها به دمای محیط ، قبل از تزریق
2. تهیه روزانه استانداردهای کاری ، بدلیل غلظت پایین آنها

دستگاهی :

1. بررسی وضعیت سالم بودن لوله گرافیتی و موقعیت صحیح آن
2. تنظیم عبور نور هالوکاتد لامپ از داخل لوله گرافیتی از طریق پیچ های حرکت دهنده لوله گرافیتی یا پیچ های لامپ
3. گرم شدن لامپ به مدت ۱۵ - ۱۰ دقیقه قبل از شروع کار
4. روشن کردن هود بالای دستگاه
5. تمیز کردن گرافیت تیوپ و نوک سمپلر توسط نرم افزار
6. استفاده از ویال های اسید واش شده کاملا تمیز و خشک
7. تنظیم دقیق ورود نوک اتو سمپلر به داخل گرافیت تیوپ
8. تعیین محدوده غلظتی استانداردهای کالیبراسیون

مرحله اول : شناسایی محدوده خطی شدن نسبت به $dose/response$ به کمک اطلاعات موجود در دفترچه فنی و تجربه



مرحله دوم :

ساخت استانداردهای کالیبراسیون بر اساس غلظت مورد انتظار آنالیت در محلول در محلول نمونه
مثال شناسایی محدوده خطی شدن :

0.5 _ 1 _ 2 _ 3 ppb
5 _ 10 _ 20 _ 50 ppb
100 _ 200 _ 300 _ 400 ppb

دفترچه

تجربی

تجربی

مثلا در این محدوده خطی دیده شده

ساخت استانداردهای کالیبراسیون بر اساس غلظت مورد انتظار آنالیت در محلول نمونه

Expected Value 10 ppb

رنج کالیبراسیون بسته به نوع نمونه متغیر است

Dilution Factor 5 (5 >> 25)

انتظار داریم غلظت در نمونه ۲ باشد : Expected value in sample solution :

$$10/5 = 2 \text{ ppb}$$

پس باید از منحنی 0.5 _ 1 _ 2 _ 3 استفاده کنیم .

۱۱ - استاندارد سازی **Auto mix** سریعتر و دقیق تر از **Premix**

۱۲ - استفاده از ترکیبات اصلاح کننده (مودیفایر) برای کاستن از تداخلات به عنوان مثال:

اسید ارتو فسفریک برای سرب

۱۳ - تلاش شود جذب خاص مربوط به یک استاندارد خاص که در دستگاه مشخص شده بدست آید

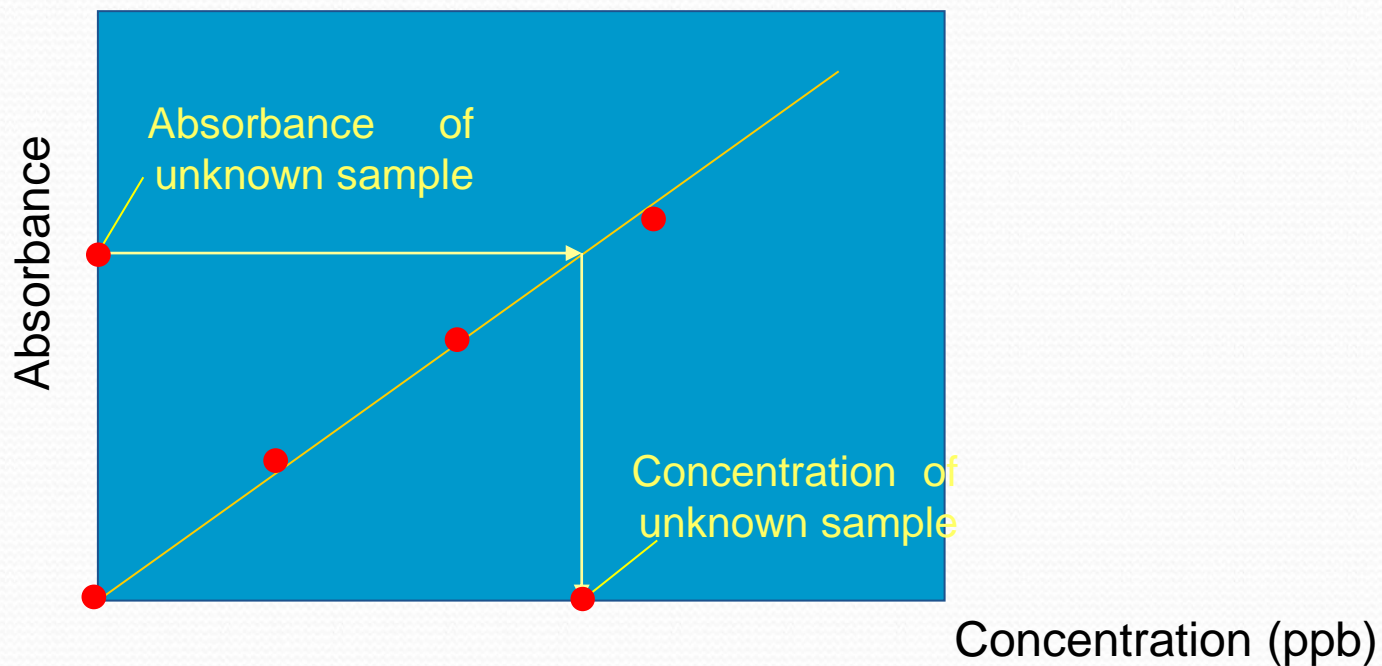
۱۴ - مقایسه میزان جذب استانداردها و بلانک با دفعات پیش

۱۵ - حداقل ۳ تزریق برای هر یک از استانداردها و نمونه ها

$RSD \leq 10$ نشانگر قابل پذیرش بودن نتیجه بدست آمده

$RSD > 10$ نشانگر وجود اشکال در تزریق نمونه

۱۶- حذف یک نقطه پرت و بدست آوردن $r > 0.99$



اگر r بهتر شد Mask کنید .

Curve fit = liner orgin

Characteristic conc = 0.38 ug/l

$r = 0.9963$

۱۷- مشاهده پیک تزریق های انجام شده :

پیک استانداردها باید بر روی هم و پیک نمونه ها نیز در همان محل و به همان شکل باشد اگر خیلی انحراف داشته باشد ممکن است حتی آن عنصر مورد نظر و در حال اندازه گیری ما نباشد.

۱۸- بررسی جذب تک تک نمونه ها

باید در محدوده منحنی کالیبراسیون باشد

نمونه هایی که جذب بیشتر از کالیبراسیون دارند ← رقیق سازی بطور دستی یا از طریق سیستم خودکار دستگاه ← تزریق مجدد ← تاثیر دادن ضریب دقت در جواب نهایی

۱۹- استفاده از اتمیک شعله در صورت نیاز به رقیق سازی های زیاد (بیشتر از ۵۰ بطور تجربی)

بدلیل افزایش احتمال بروز خطا در تعیین غلظت

۲۰- وارد کردن وزن و حجم دقیق و ضریب دقت نمونه در برنامه دستگاه

دستگاه اندازه گیری شعله

دقت اندازه گیری آن برای استانداردها در حد ppm

اساس اندازه گیری : مکش محلول نمونه توسط نازل بر روی برنری که شعله پرقدرت را روشن نگه میدارد

اتمی شدن نمونه در حرارت زیاد و تشکیل بخاراتی و جذب نورها لوکاتد لامپ توسط بخاراتی

تعیین غلظت عنصر بر اساس میزان جذب نور لامپ

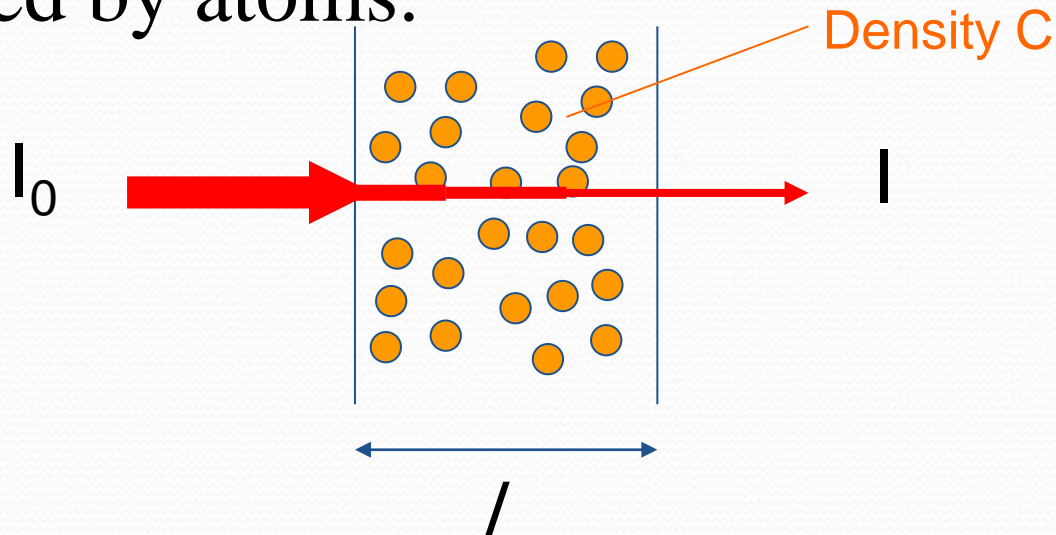
انواع شعله :

هوا - استیلن 2300

نیتروکساید - استیلن 2800

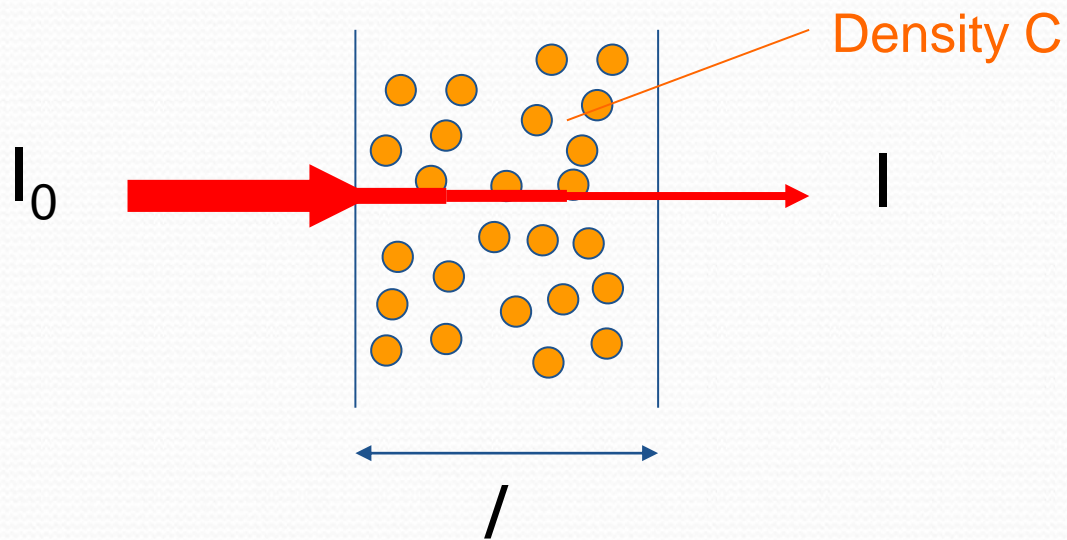
Relation between light absorption and density

- When light of a certain intensity is given to many atom in ground state, part of this light is absorbed by atoms.



Relation between light absorption and density

Lambert-beer's Law



$$A = \log I_0 / I$$

$$A = abc$$

a: ضریب جذب ماده

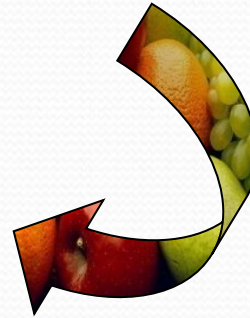
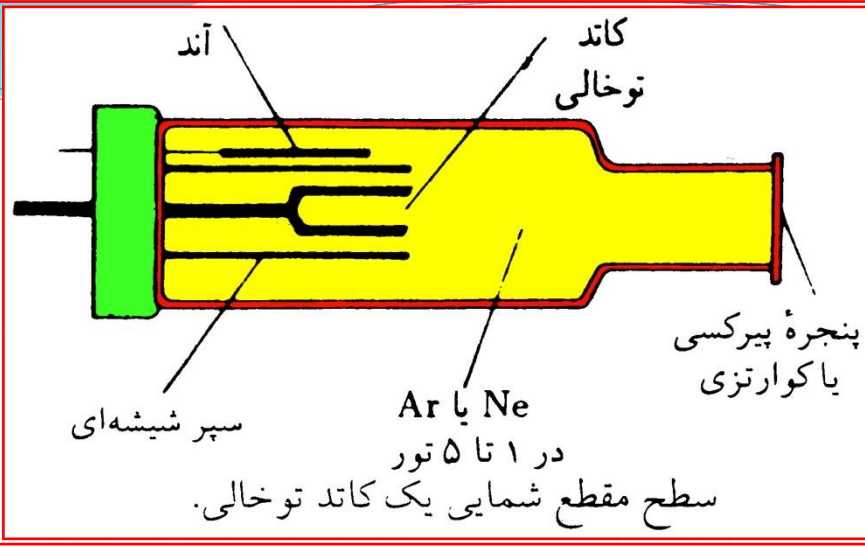
b: طول نمونه

c: غلظت نمونه

A hollow cathode lamp for Aluminum (Al)

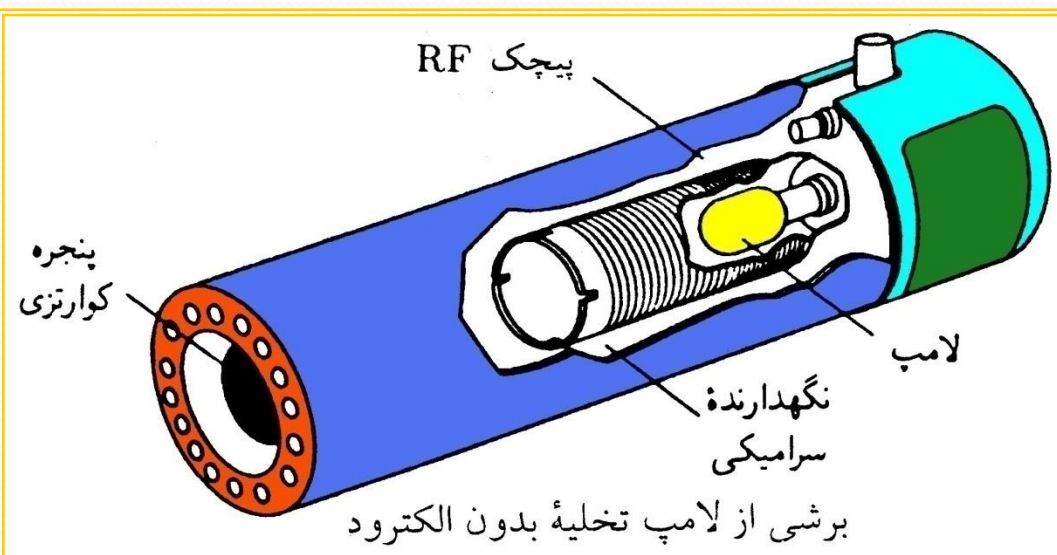


لامپ های کاتدی توخالی : (HCL)



لامپ تخلیه بدون الکتروود : (EDLS)

- در مقایسه با لامپ های کاتدی توخالی مشابه شدت های تابشی معمولاً یک تا دو مرتبه بزرگی در اختیار می گذارد .

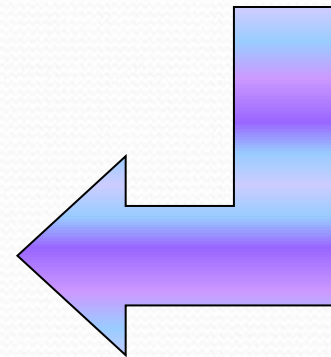
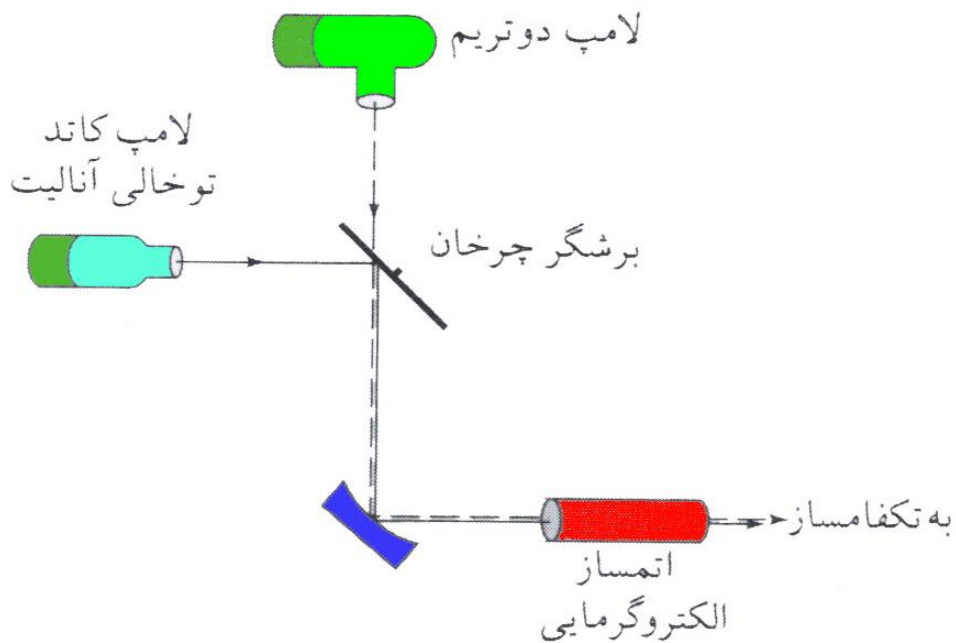


روش تصحیح دو خطی :



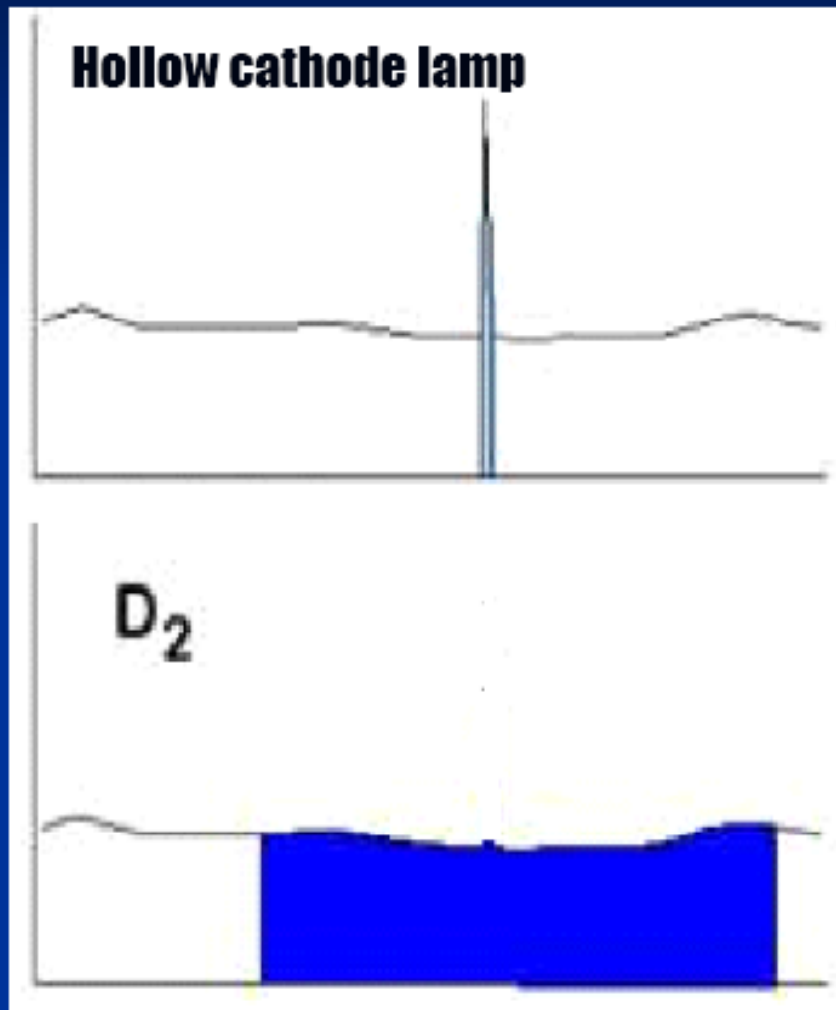
- روش تصحیح دو خطی به حضور یک خط مرجع از منبع نیاز دارد
- این خط باید تا آنجا که ممکن است به خط آنالیت نزدیک باشد .
- اما نباید به وسیله آنالیت جذب شود .

روش تصحیح با منبع پیوسته :



شمایی از یک سیستم تصحیح زمینه‌ای منبع پیوسته. توجه کنید که با تپی کردن متناوب هر لامپ می‌توان از برشگر صرفنظر کرد.

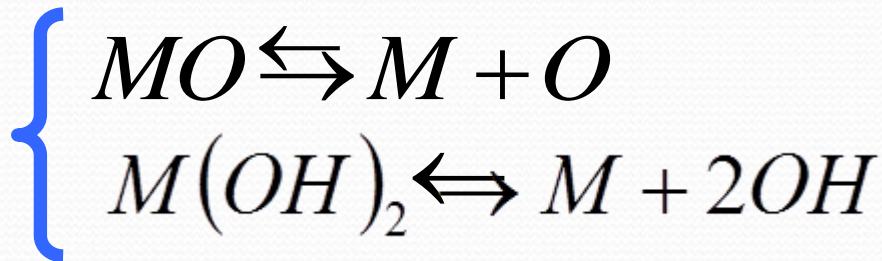
D₂ Background Correction



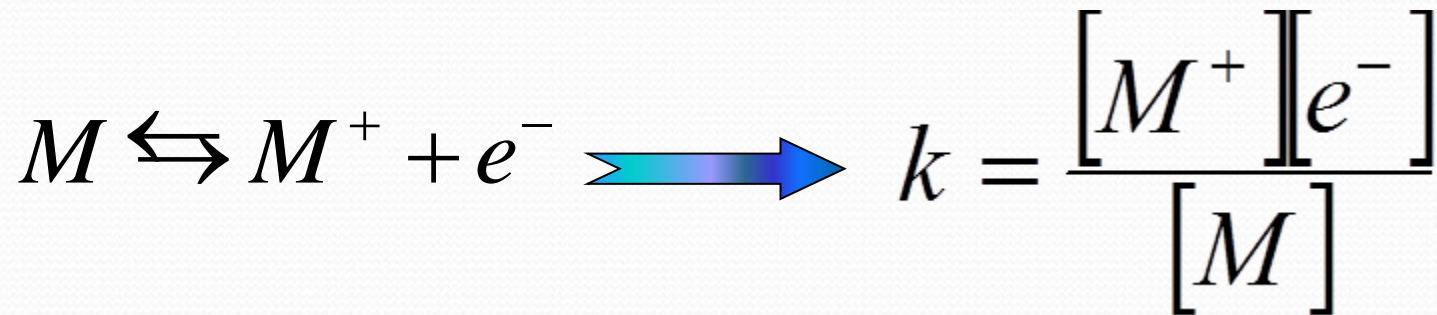
- With the hollow cathode lamp, we measure absorption of our element and background over a very narrow bandwidth.
- With the D₂ lamp, we measure absorption over a much larger bandwidth. Because the elemental line is so narrow, we mostly measure background.

تعادل های تفکیک :

- در محیط گازی داغ یک شعله یا یک کوره ، واکنش های متعدد تفکیک یا تجمع سبب تبدیل مواد متشکله فلزی به حالت های عنصری می شوند .

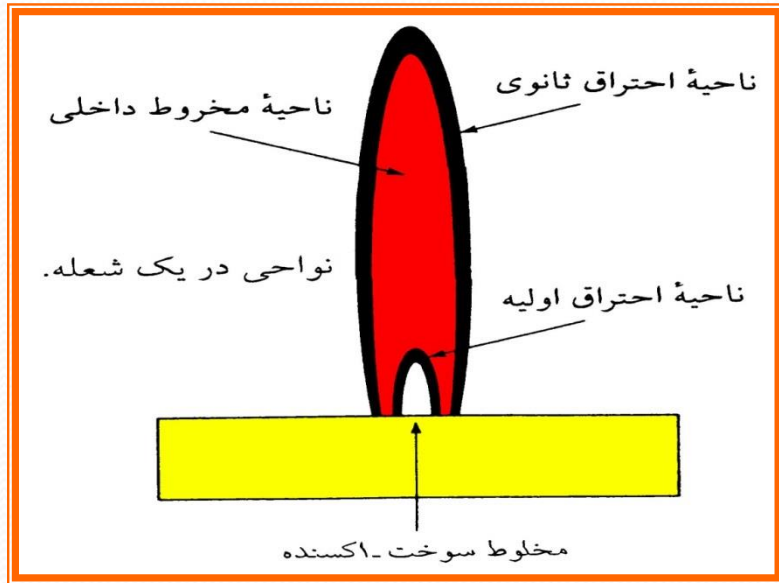


تعادل های یونش :

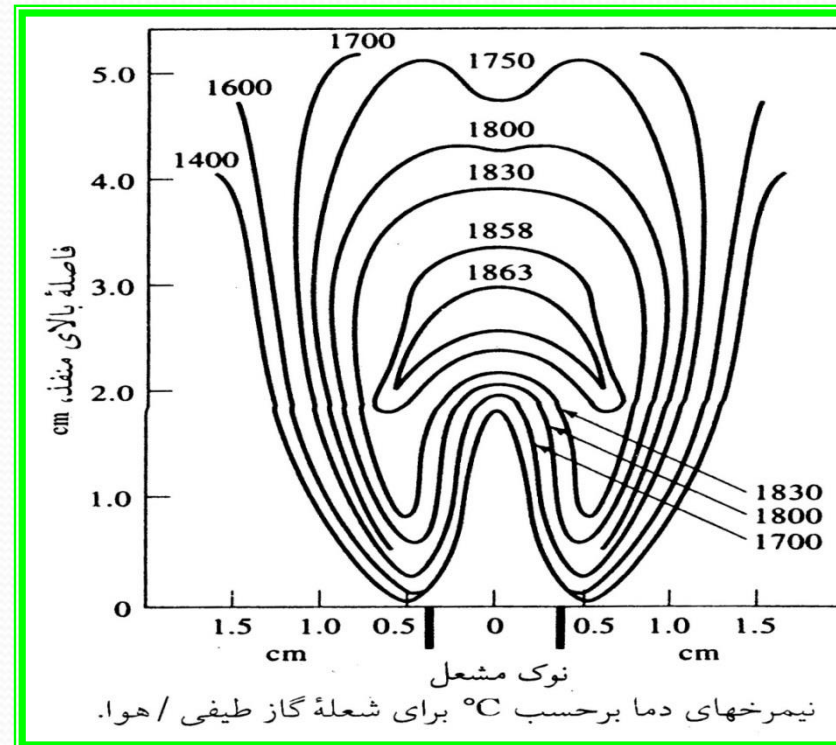


- شدت خط های نشر یا جذب اتمی فلزات قلیایی ، به ویژه پتاسیم ، روییدیم و سزیم ، به طریق پیچیده ای تحت تاثیر دما قرار می گیرد .

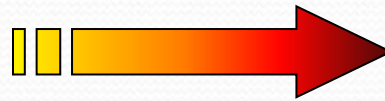
طیف بینی جذب ، نشر و فلوئورسانس اتمی



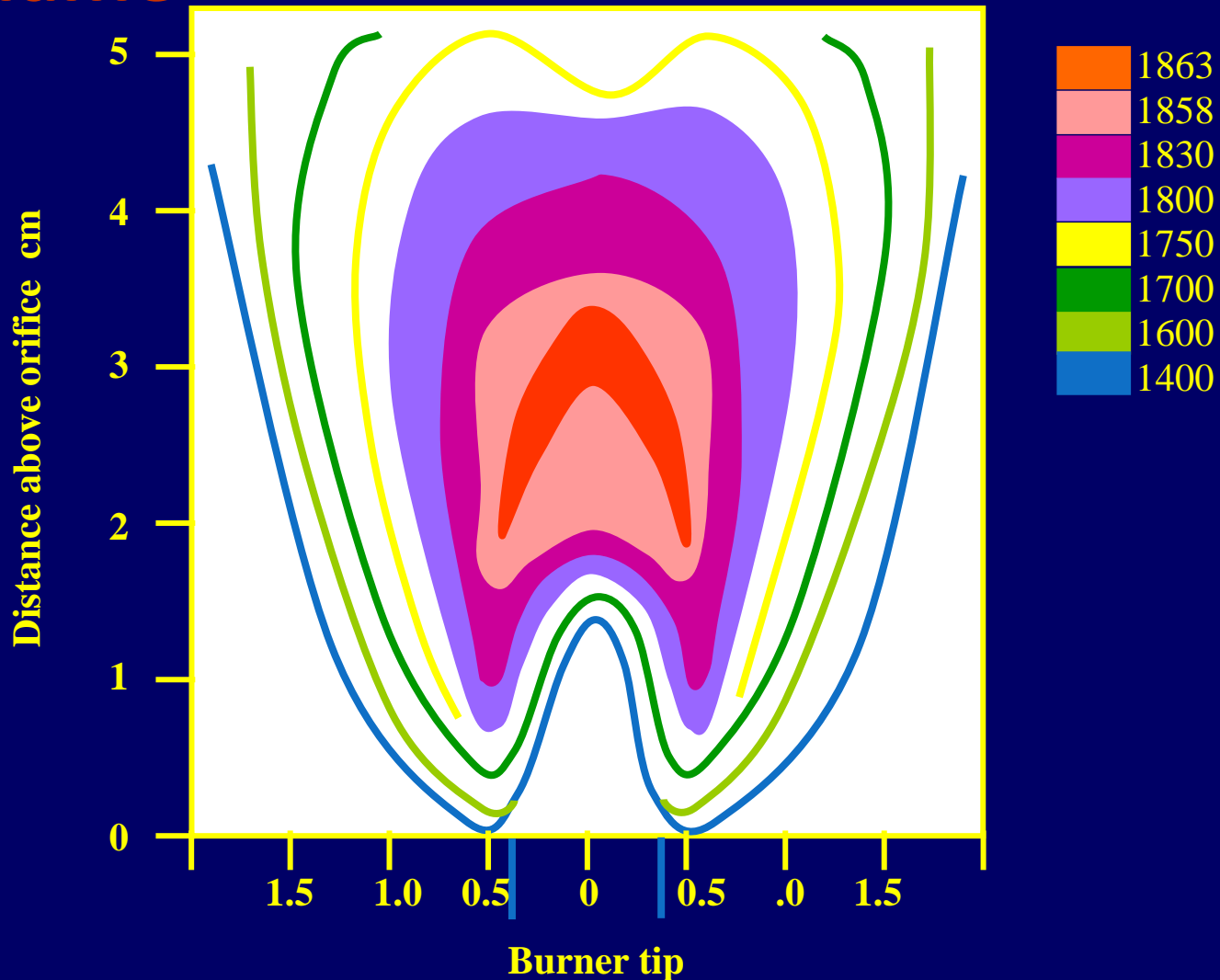
ساختار شعله :



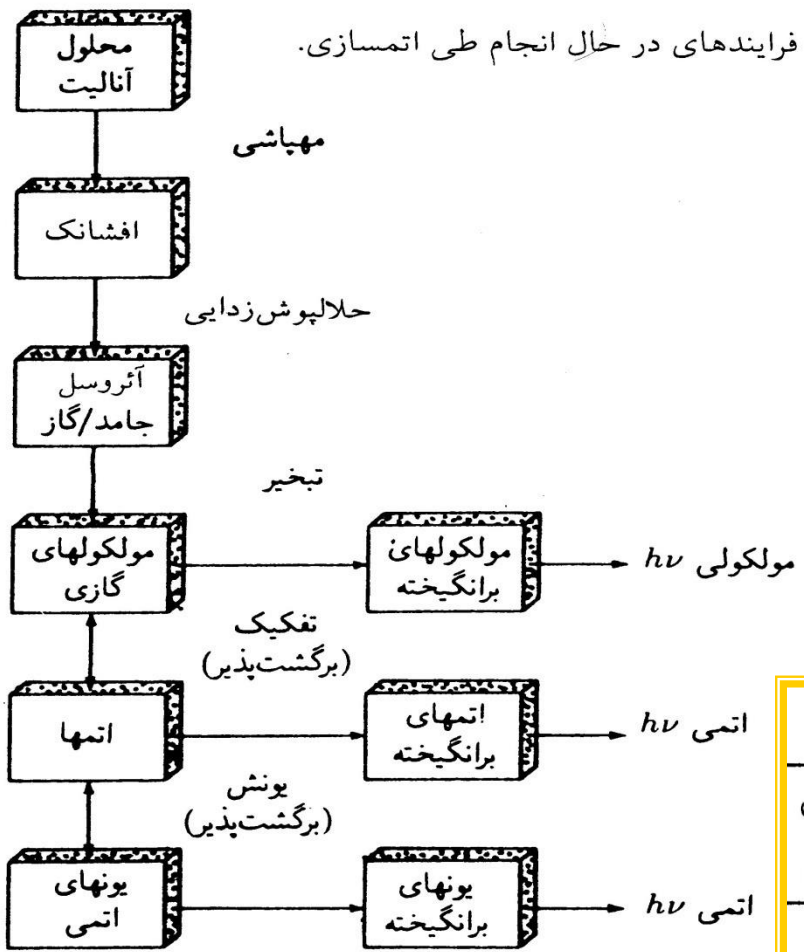
نیم رخ های دما :



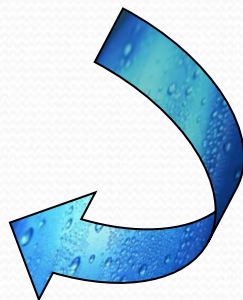
Temperature Profile in °C for a Natural Gas /Air Flame



فرایندهای در حال انجام طی اتمسازی.



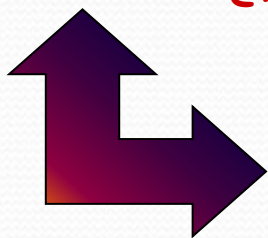
• فرآیندهای اتم سازی شعله ای :



خواص شعله‌ها

سوخت	اکسنده	دما، °C	سوخت (cm s ⁻¹)	ماکسیمم سرعت
گاز طبیعی	هوا	۱۷۰۰ تا ۱۹۰۰	۳۹ تا ۴۳	
گاز طبیعی	اکسیژن	۲۷۰۰ تا ۲۸۰۰	۳۷۰ تا ۳۹۰	
هیدروژن	هوا	۲۰۰۰ تا ۲۱۰۰	۳۰۰ تا ۴۴۰	
هیدروژن	اکسیژن	۲۵۵۰ تا ۲۷۰۰	۹۰۰ تا ۱۴۰۰	
استیلن	هوا	۲۱۰۰ تا ۲۴۰۰	۱۵۸ تا ۲۶۶	
استیلن	اکسیژن	۳۰۵۰ تا ۳۱۵۰	۱۱۰۰ تا ۲۴۸۰	
استیلن	نیتروژن اکسید	۲۶۰۰ تا ۲۸۰۰	۲۸۵	

➤ انواع شعله ها :



روش های اتم سازی

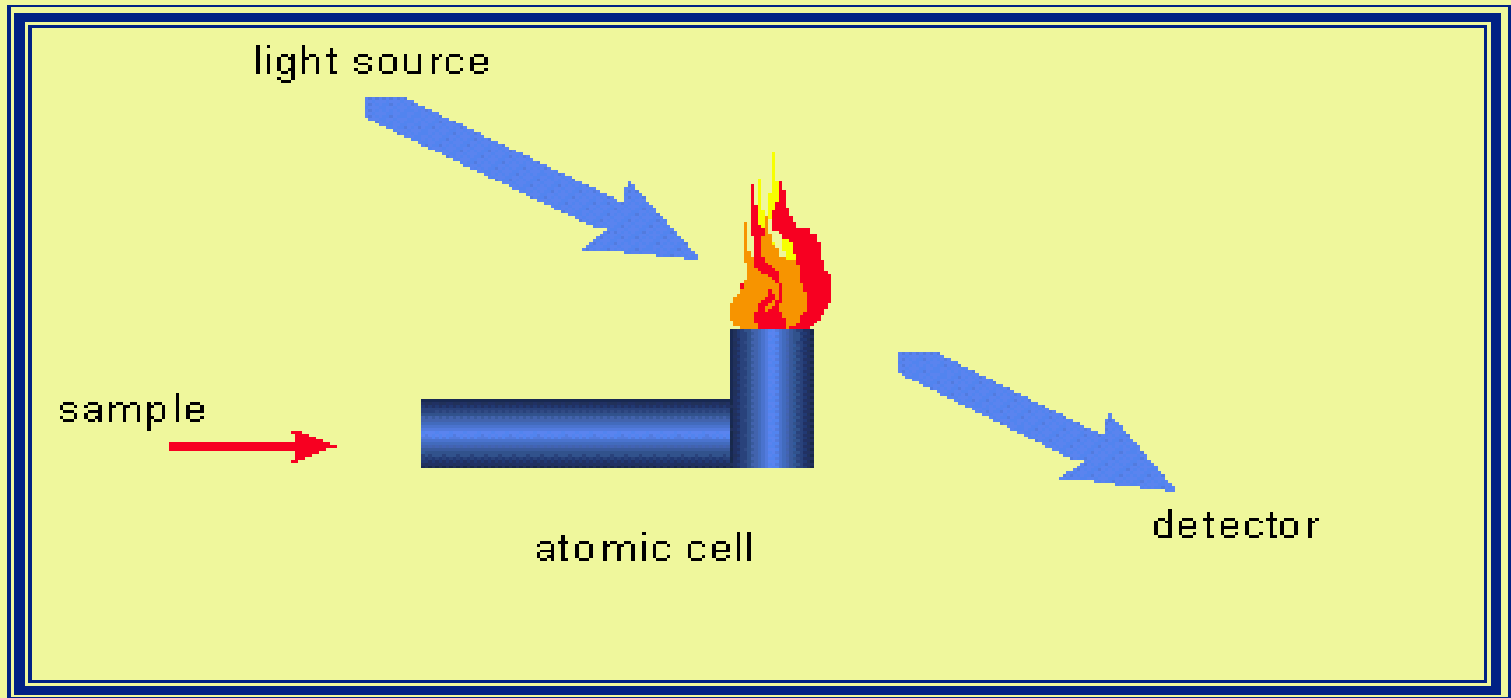
● فرآیندی که در آن نمونه به بخار اتمی تبدیل می شود ، اتم سازی نام دارد

اتم سازی شعله ای :

➤ در یک اتم ساز شعله ای ، محلولی از نمونه به وسیله جریانی از اکسنده گازی مخلوط شده با سوخت گازی ، مهپاشی و به درون شعله ای حمل می شود که در آنجا اتم سازی صورت می گیرد .

انواع اتمسازهای به کار گرفته شده برای طیف بینی اتمی

نوع اتمساز	دمای اتمساز نوعی، °C
شعله	۱۷۰۰ تا ۳۱۵۰
تبخیر الکترو گرمایی (ETV)	۱۲۰۰ تا ۳۰۰۰
پلاسمای جفت شده القایی (ICP)	۴۰۰۰ تا ۶۰۰۰
پلاسمای آرگون با جریان مستقیم (DCP)	۴۰۰۰ تا ۶۰۰۰
پلاسمای آرگون القایی ریز موج (MIP)	۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰
پلاسمای تخلیه افروزشی (GD)	ناگرمایی
قوس الکتریکی	۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰
جرقه الکتریکی	۴۰۰۰۰ (?)



تداخل ها در طیف بینی جذب اتمی

تداخل های طیفی
تداخل های شیمیایی

تداخل طیفی :

- الف) تداخل ناشی از همپوشانی خطوط :
- مثلاً یک خط وانادیم در $11/3092$ آنگستروم در هر تجزیه مبتنی بر خط جذب آلومینیم در $15/3082$ آنگستروم انجام شود تداخل می کند .
- ب) تداخل های ناشی از حضور محصولات احتراق :
- توان باریکه عبور کرده را کاهش می دهند و به خطاهای تجزیه ای مثبت منجر می شوند .
- ج) منبع جذب یا پراکندگی ناشی از ماتریس نمونه :
- یک خطای مثبت در جذب و بنابراین در غلظت حاصل می شود .
- د) تداخل طیفی ناشی از پراکندگی توسط محصولات اتم سازی

تداخل های شیمیایی :

● تشکیل ترکیب کم فرار :

● شاید متداولترین نوع تداخل ، تداخل به وسیله آنیون هایی باشد که ترکیبات کم فراری با آنالیت می سازند و بنابراین سرعت اتم سازی را کاهش می دهند .

● به طور مثال مشاهده می شود که در یک غلظت ثابت از کلسیم ، جذب کلسیم با افزایش غلظت سولفات و فسفات تا زمانی که نسبت آنیون به کلسیم به حدود ۵/۰ برسد ، تقریبا به طور خطی کاهش می یابد .

استفاده از شعله با دمای بالا

استفاده از عوامل رهاکننده

عوامل حفاظتی

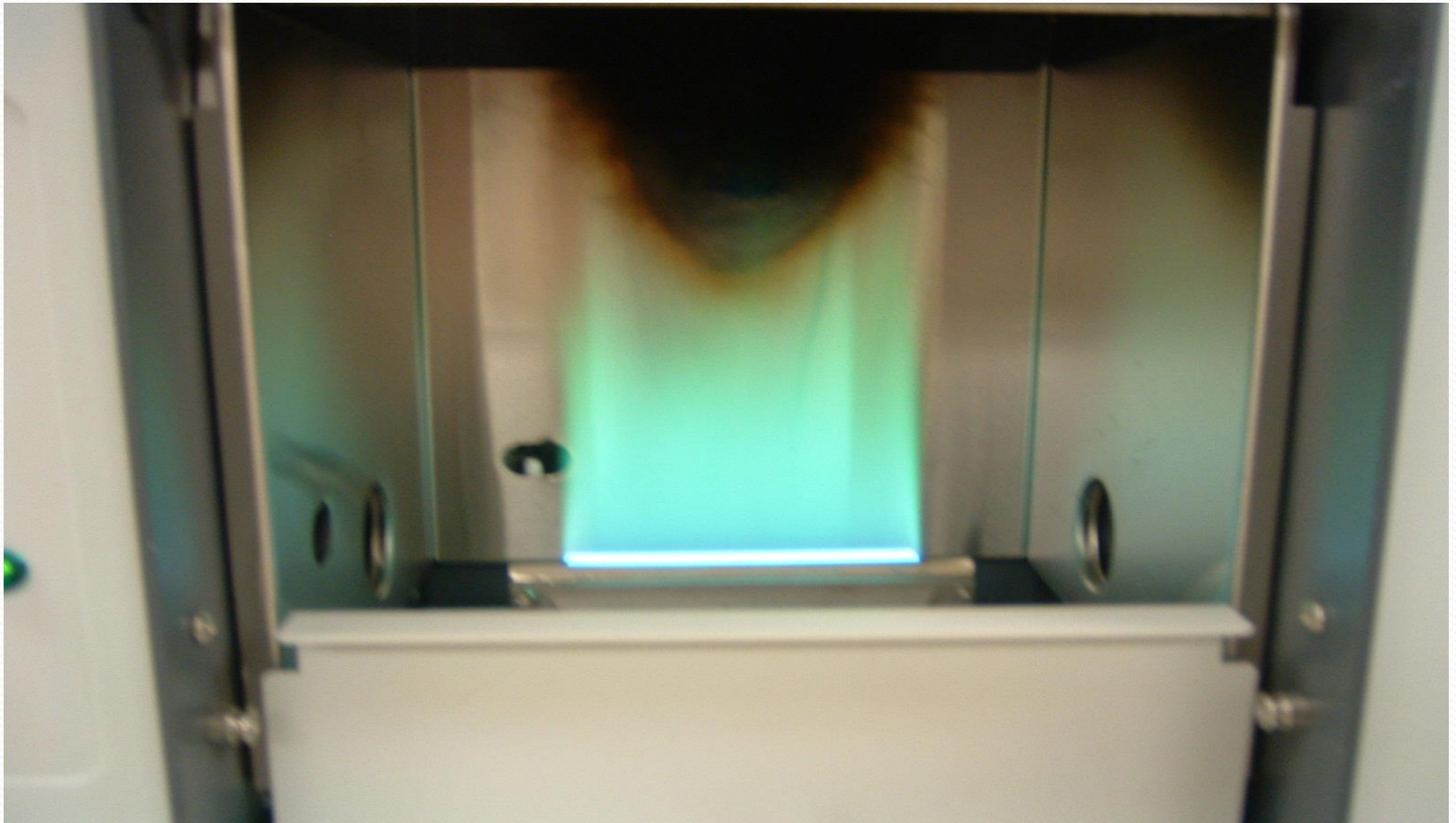
● روش های حذف :

The Calcium Flame

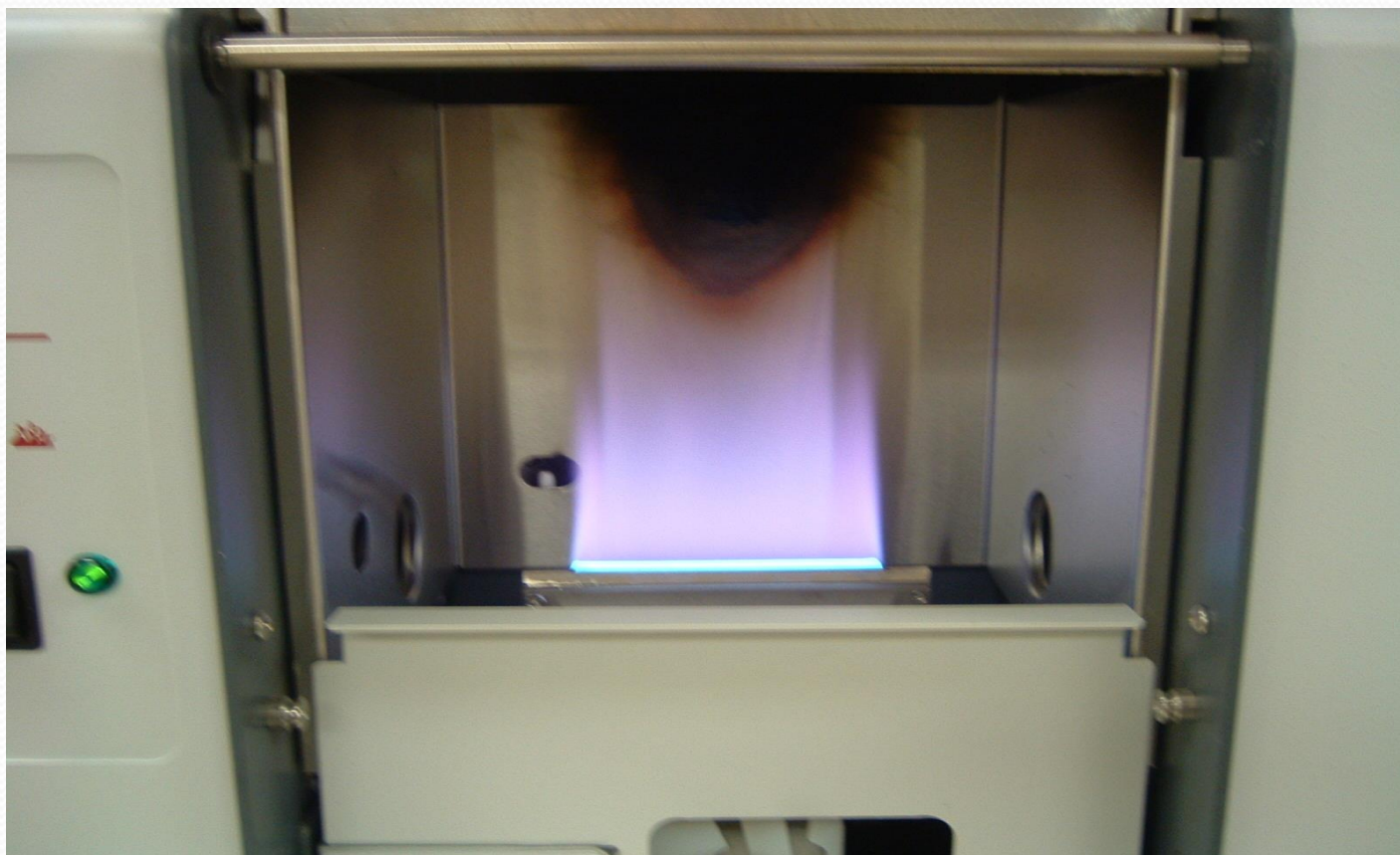
The calcium flame is red. This is intensely red because the calcium content is high.



The Copper Flame



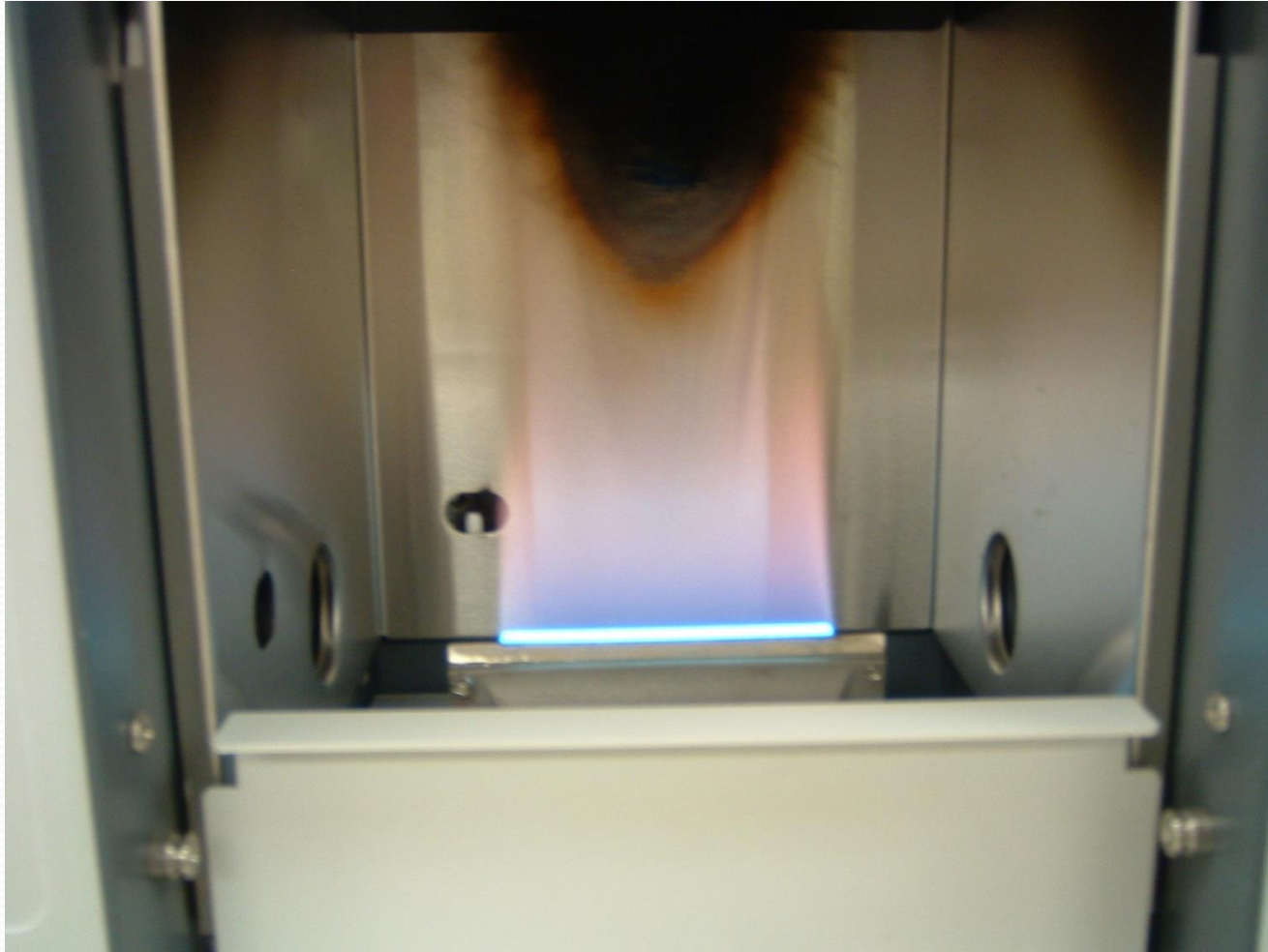
The Potassium Flame



The Manganese Flame

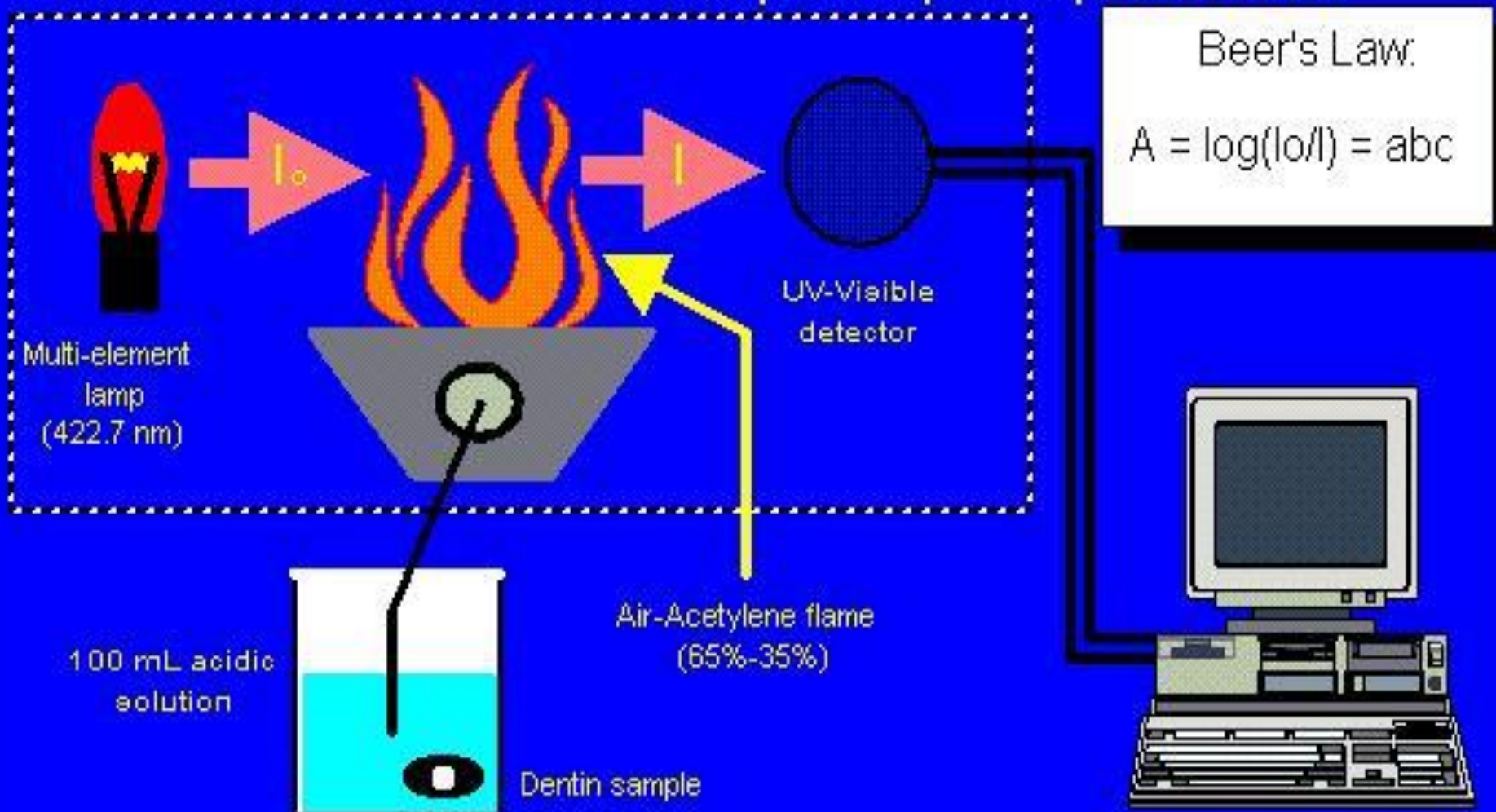


The Cobalt Flame

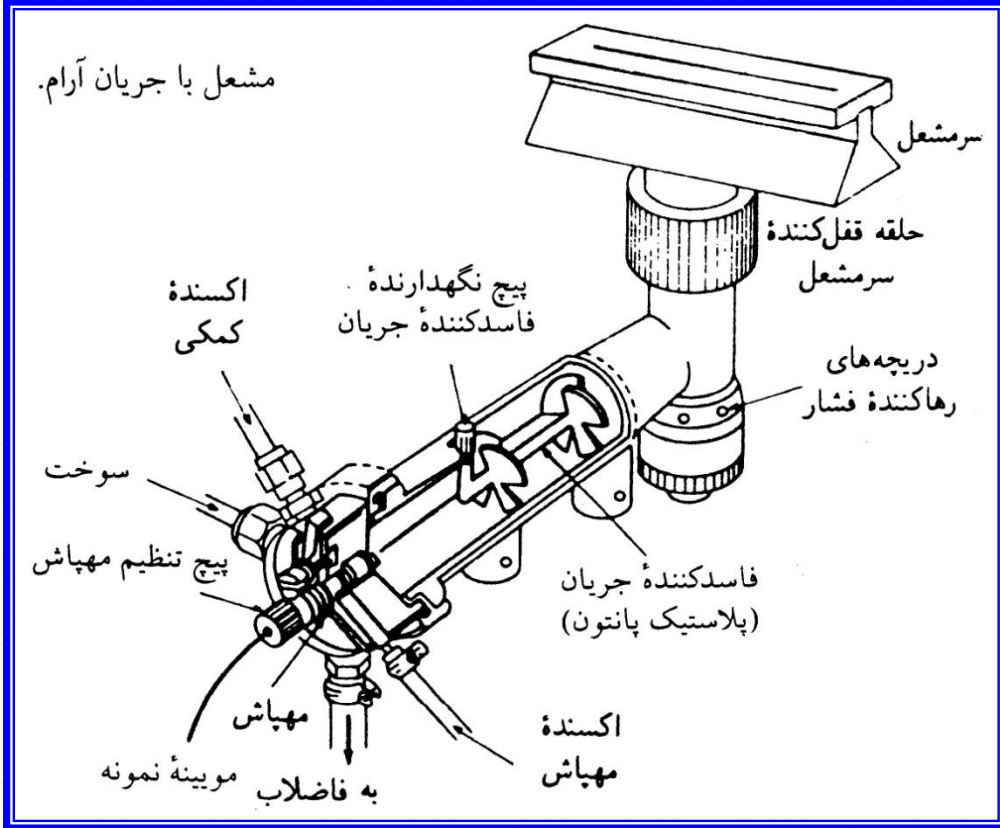
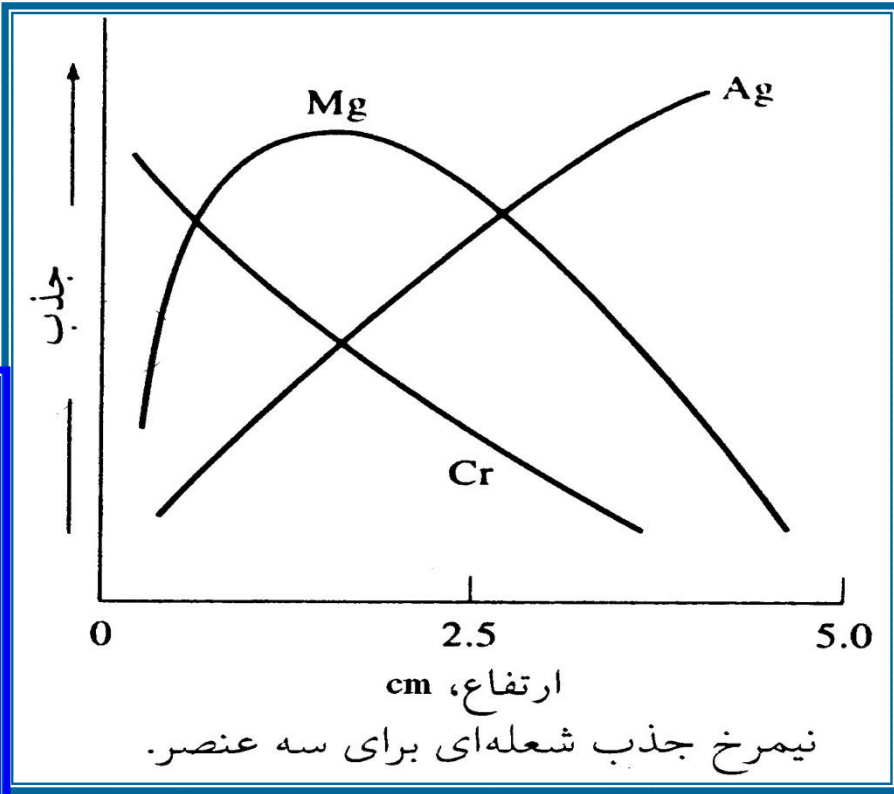


Atomic Absorption Spectroscopy

Perkin-Elmer 703 Atomic Absorption Spectrophotometer

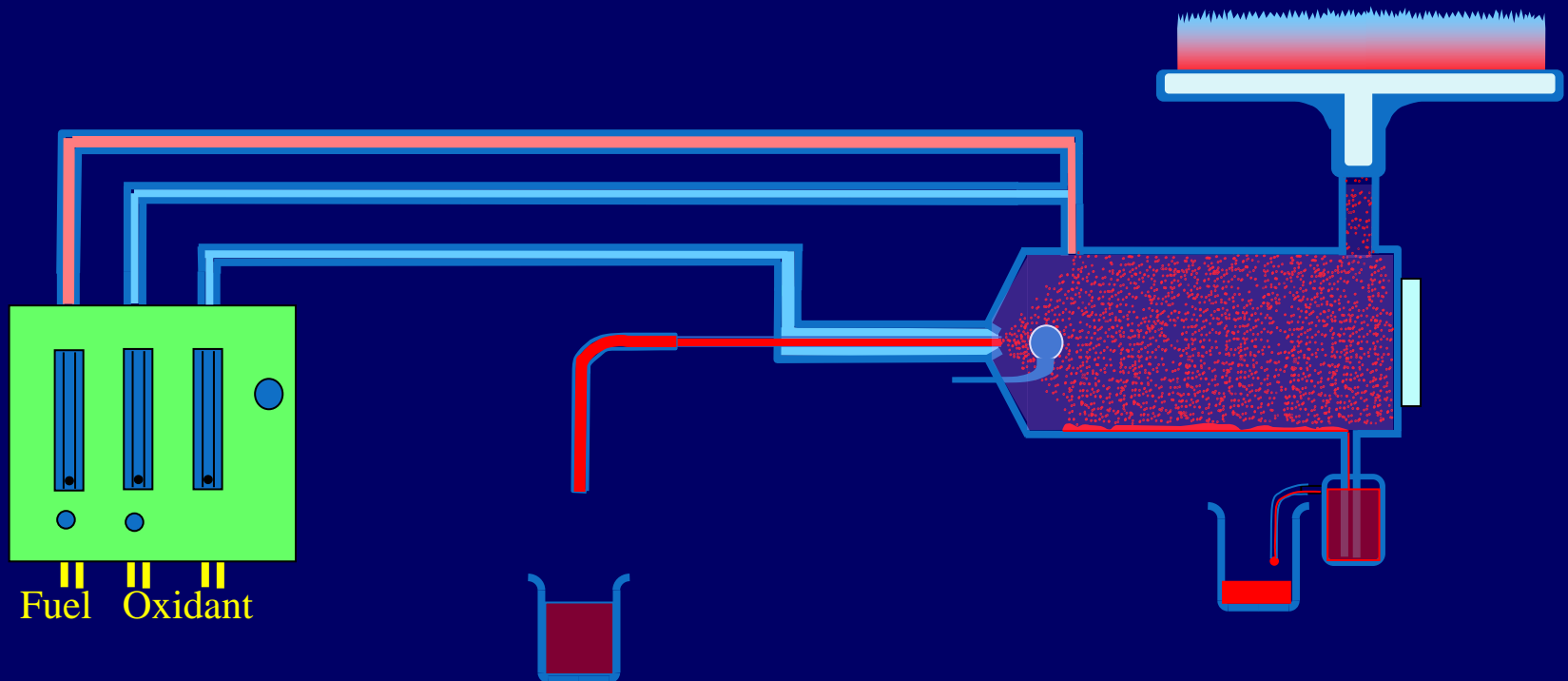


نیم رخ های جذب شعله ای



اتم سازهای شعله ای :

The Premixed Burner



نکات مورد توجه در کار با اتمیک شعله

محلها

1. رسیدن استانداردها به دمای محیط قبل از شروع کار دستگاه
2. تهیه روزانه استانداردهای کاری

دستگاهی

3. بررسی تمیز بودن تیغه برنر (محل خروج شعله)
 4. تنظیم نور هالوکاتد بر ارتفاع مشخصی از تیغه برنر
 5. گرم شدن لامپ به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه قبل از شروع کار
 6. روشن کردن هود بالای شعله
 7. خالی کردن ظرف ضایعات خروجی
 8. توجه به میزان گازاستیلن
 9. زمان کافی برای رسیدن نمونه بر روی شعله در نظر گرفته شود
- انتخاب محدوده ی کالیبراسیون و کنترل های پس از اندازه گیری

دستگاه جذب اتمی هیدرید

اساس کار:

انجام یک واکنش شیمیایی منجر به تولید هیدرید عنصر مورد نظر که به دلیل گازی بودن به سمت شعله حرکت میکند

برای تعیین مقدار تعداد محدودی از عناصر استفاده میشود

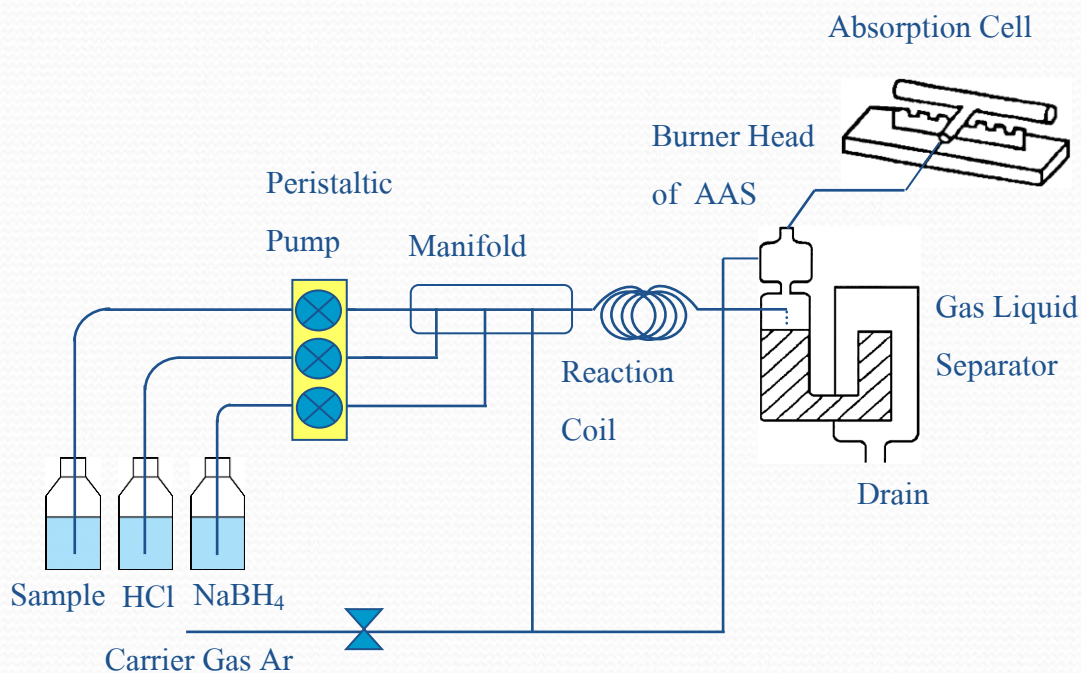
As,Hg,Se,Pb,Bi,Sb,Sn,Te

دقت اندازه گیری در حد ppb

Hydride Vapor Generation Technique

- As, Se, Sb, Sn, Te, Bi, Hg and other metals produce a metal hydride by this method

Elements	Concentration (ppb)
As	5~20
Sb	5~20
Te	5~20
Bi	5~20
Se	10~40
Hg	20~80
Sn	30~90



Structural Diagram of Hydride Vapor Generator

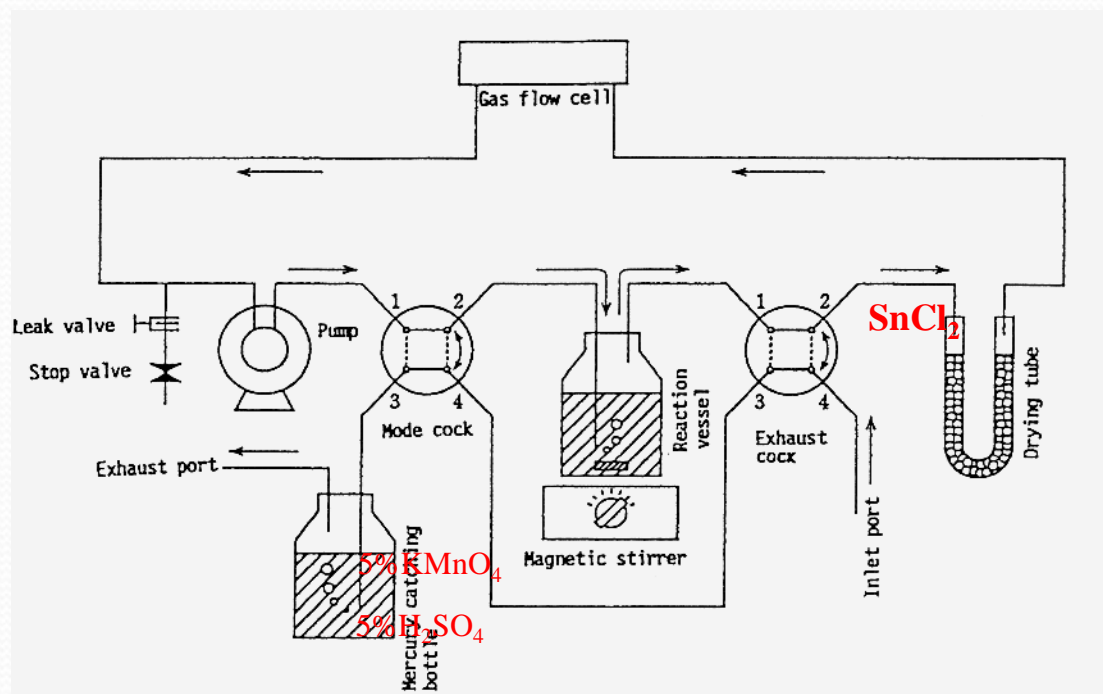


Cold Vapor Technique



λ 253.6 nm

H^0



نکات مورد توجه در کار با جذب اتمی هیدرید

محلولها :

1. رسیدن استانداردها به دمای محیط ، قبل از تزریق
2. تهیه روزانه
3. تنظیم بیشترین عبور نور هالوکاتد لامپ از داخل سل کوارتزی
4. گرم شدن لامپ
5. روشن کردن هود بالای دستگاه
6. خالی کردن ظرف ضایعات خروجی
7. توجه به میزان گاز استیلن
8. زمان کافی برای رسیدن نمونه بر روی شعله در نظر گرفته شود.
9. در صورتیکه عناصر Hg , As باید در یک نمونه تعیین مقدار شود، ابتدا جیوه و بعد آرسنیک
- ۱۰ - تمیز بودن داخل سل جداکننده گاز - مایع و نیز مسیر خروج ضایعات
- ۱۱ - تعیین مقدار حداقل یک نمونه اسپایک یا مرجع CRM در کنار هر سری از نمونه ها

اعتبار سنجی روش آزمایش Method Validation

تعریف : اعتبار سنجی روش فرایندی سیستماتیک است که نشان میدهد آیا روش مورد استفاده برای اهداف مورد نظر مناسب هست یا خیر

در دو حالت روش آزمایش باید اعتبار سنجی شود

— روشی که بار اول ابداع میشود

— روشی که قرار است در یک آزمایشگاه راه اندازی شود

هدف از اعتبار سنجی : اطمینان و تایید درستی نتایج بدست آمده از روش مورد استفاده

اعتبار سنجی (validation) :

مجموعه ای از اقدامات زیر :

— اختصاصی بودن روش

— تعیین محدوده خطی

— دقت

— صحت

— حد تشخیص

— حد تعیین مقدار

اختصاصی بودن روش Specificity

تعریف :

توانایی روش برای اندازه گیری میزان دقیق آنالیت در حضور سایر اجزای نمونه (ماتریکس) هر قسمتی از ماتریکس - غیر از آنالیت - که پاسخی ایجاد کند باعث بروز خطای ثابت یا نسبی خواهد شد (روش غیر اختصاصی)

راه تشخیص اختصاصی بودن روش :

آزمایش کردن بلانک نمونه با روش مورد نظر و آشکار نشدن ترکیبات مداخله گر در آن و یا قابل تمایز بودن آنها از آنالیت (تعریف AOAC)
تعیین محدوده خطی Linearity

خطی بودن منحنی کالیبراسیون نشان دهنده توانایی روش در بدست آوردن نتایج متناسب با غلظت است

تعیین محدوده غلظتی استانداردهای کالیبراسیون :

مرحله اول : شناسایی محدوده خطی شدن نسبت $dose/response$ به کمک اطلاعات موجود در دفترچه فنی و تجربی

مرحله دوم : ساخت استانداردهای کالیبراسیون بر اساس غلظت مورد انتظار آنالیت در نمونه معمولا در ۴ سطح غلظتی به نسبت $0/5 - 1 - 1/5 - 2$ برابر غلظت مورد نظر به مدت سه روز کاری

هر یک از استانداردها حداقل ۲ و ترجیحا ۳ بار باید تعیین مقدار شوند و میانگین آنها در رسم منحنی استفاده شود

غلظت اولین استاندارد باید بیشتر از LOQ باشد

ضریب همبستگی (r) : نشانگر خطی بودن کالیبراسیون هرچه r به یک نزدیکتر باشد بهتر است

حد تشخیص روش (LOD) Limit of Detection

تعریف : کمترین غلظتی از آنالیز که با اطمینان تشخیص داده میشود اما تعیین مقدار نمیشود

LOD بسته به دستگاه مورد استفاده و شرایط مختلف آزمایش تعیین میشود

روشهای تعیین LOD

در روشهای کروماتوگرافی : نسبت سیگنال به نویز (۳:۱)

در روشهای اسپکتروفتومتری (جذب اتمی)

الف : $LOD = 3 \times SD_{blank}$ ($n \geq 20$)

عدد بدست آمده باید در معادله ی کالیبراسیون قرار گیرد تا LOD بر اساس غلظت مورد اندازه گیری بدست آید

ب : $LOD = (3.3 SD) / S$ LOD استاندارد این میشود

مثلا : LOD سرب حدود $1_{ppb} - 0.5$ بدست می آید

SD : انحراف معیار میزان جذب بلانک

S : شیب خط کالیبراسیون

حد تشخیص برای هر نمونه

ضریب رقت نمونه \times حد تشخیص دستگاه = **حد تشخیص نمونه**

حد تشخیص نمونه را برای نمونه هایی که منفی خوانده ایم و یا کمتر از LOD است نباید عدد اعلام کنیم
می گوئیم قابل تشخیص نیست

(وزن توزین شده نمونه / حجم نهایی محلول نمونه) = **ضریب رقت هر نمونه**

حد تعیین مقدار (LOQ) Limit Of Quantification

تعریف : غلظتی است که در آن و بالاتر ، آنالیت می تواند با اطمینان تعیین مقدار شود
روش های تعیین LOQ:

الف - نسبت سیگنال به نویز (۱۰ به ۱)

ب - $LOQ = (10SD) / S$: برای بلانک

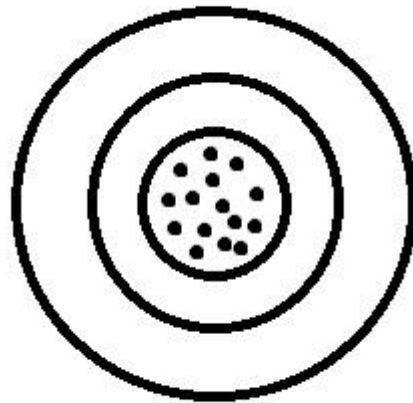
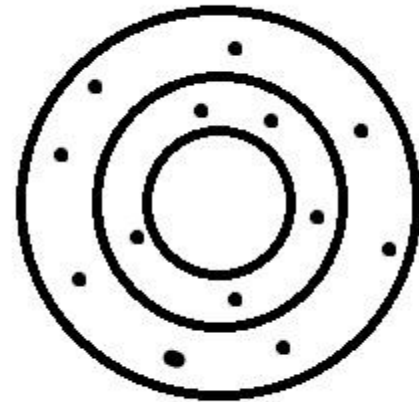
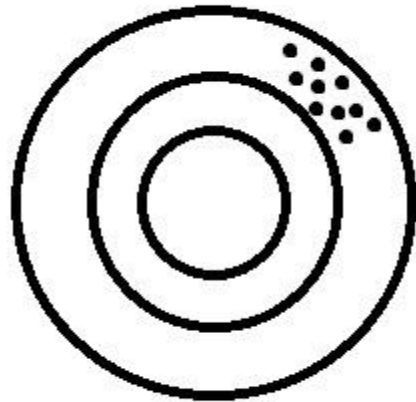
$$LOD \times 3 = LOQ$$

اولین نقطه استاندارد باید بیشتر از LOQ باشد .

حد تعیین مقدار برای هر نمونه :

ضریب رقت نمونه \times حد تعیین مقدار دستگاه = حد تعیین مقدار نمونه

وزن توزین شده نمونه / حجم نهایی محلول نمونه = ضریب رقت هر نمونه



دقت

- تعریف: میزان پراکندگی نتایجی که از چندین بار آزمایش یک نمونه همگن بدست می آیند.
- در غلظت های پایین تر دقت اندازه گیری نیز کمتر میشود
- دقت با درصد انحراف معیار نسبی (R S D) / ضریب تغییرات (C V) نشان داده می شود.
- R S D در غلظت های پایین زیاد میشود ولی در این حالت مشکلی ندارد (کمتر از L O D)
- برای تعیین دقت روش ، پاسخهای بدست آمده از یک نمونه ، حتی الامکان باید مستقل از هم باشند یعنی: بجای چند بار خواندن یک نمونه، یک نمونه به چند بخش تقسیم شود و جدا از هم آزمایش و تعیین مقدار شوند.

صحت آزمایش

- تعریف: میزان انحراف نتایج آزمایش از واقعی
- روشهای تعیین میزان صحت نتایج:
- استفاده از نمونه مرجع (C R M): اندازه گیری میزان آنالیت در یک Certified reference material و مقایسه نتیجه با میزان واقعی آن
- تعیین میزان بازیافت آنالیت (recovery) از نمونه های اسپایک

حدود آشکارسازی (ng/mL) (الف) برای عناصر برگزیده (ب)

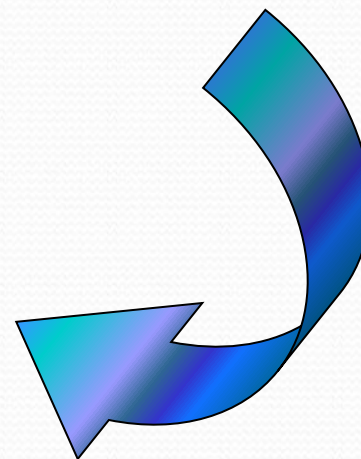
AFS	AES	AES	AAS	AAS	عنصر
شعله	ICP	شعله	الکتروگرمایی	شعله	
۵	۲	۵	۰٫۰۰۰۵	۳۰	Al
۱۰۰	۴۰	۰٫۰۰۰۰۵	۰٫۰۰۲	۱۰۰	As
۰٫۰۰۰۱	۰٫۰۲	۰٫۱	۰٫۰۰۲	۱	Ca
۰٫۰۰۱	۲	۸۰۰	۰٫۰۰۰۰۱	۱	Cd
۴	۰٫۳	۴	۰٫۰۰۱	۳	Cr
۱	۰٫۱	۱۰	۰٫۰۰۰۲	۲	Cu
۸	۰٫۳	۳۰	۰٫۰۰۰۵	۵	Fe
۲۰	۱	۰٫۰۰۰۰۴	۰٫۰۰۱	۵۰۰	Hg
۱	۰٫۰۵	۵	۰٫۰۰۰۰۰۲	۰٫۱	Mg
۲	۰٫۰۶	۵	۰٫۰۰۰۰۲	۲	Mn
۶۰	۰٫۲	۱۰۰	۰٫۰۰۰۵	۳۰	Mo
-	۰٫۲	۰٫۱	۰٫۰۰۰۰۲	۲	Na
۳	۰٫۴	۲۰	۰٫۰۰۲	۵	Ni
۱۰	۲	۱۰۰	۰٫۰۰۰۲	۱۰	Pb
۵۰	۳۰	۳۰۰	۰٫۰۰۱	۲۰	Sn
۷۰	۰٫۲	۱۰	۰٫۰۰۱	۲۰	V
۰٫۰۲	۲	۰٫۰۰۰۰۵	۰٫۰۰۰۰۰۵	۲	Zn

الف) میلی لیتر / نانوگرم = $10^{-3} \mu\text{g/mL} = 10^{-3} \text{ppm}$

ب) طیف بینی جذب اتمی = AAS، طیف بینی نشری اتمی = AES، طیف بینی

فلوئورسانی اتمی = AFS، پلاسما جفت شده القایی = ICP

حدود آشکارسازی :



صحت :

- تحت شرایط معمولی ، خطای نسبی همراه با تجزیه جذبی شعله ای در حدود یک تا دو درصد است.
- خطاهای همراه با اتم سازی الکتروگرمایی در مقایسه با اتم سازی شعله ای ، معمولاً 5 تا 10 برابر بزرگترند .