

## بومی سازی روش DGT در ایران و کاربرد آن در اندازه گیری میزان فسفر آب و خاک

عادل ریحانی تبار\*<sup>۱</sup>، صابر حیدری<sup>۲</sup>، علی اولاد<sup>۳</sup>

۱. استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲. دانشجوی دکتری گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۳. دانشیار گروه شیمی کاربردی دانشکده شیمی دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۲۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۸/۲۷)

### چکیده

فسفر، بعد از نیتروژن، مهم ترین عامل محدودکننده تولیدات کشاورزی در جهان است. روش های مختلفی برای ارزیابی مقدار فسفر در آب و خاک وجود دارد. یکی از شیوه های جدید در این زمینه روش شیب پخش در غشای نازک (DGT) است. این روش بر پایه انتقال یون ها یا عناصر به صورت پخشیدگی از لایه پخش و جذب آن ها در لایه جذب عمل می کند. در ساخت زل های مورد نیاز در روش DGT، به طور معمول، از مواد انحصاری و دارای حق ثبت استفاده می شود. در این بررسی از زل آکرلامید- آلایل آگاروز به منزله لایه پخش و فری هیدرات در زل آکرلامید- آلایل آگاروز به منزله لایه جذب در DGT استفاده شد و اثر این ماده در ضریب پخشیدگی یون فسفر در زل پخش، واکنش پذیری زل پخش، سینتیک واجذب فسفر از زل جذب، راندمان استحصال فسفر از زل جذب، و عملکرد DGT در آب و خاک بررسی شد. نتایج نشان داد ضریب پخشیدگی یون فسفر در این زل با ۰.۳ درصد از آلایل آگاروز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس  $10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  بود و با افزایش غلظت آلایل- آگاروز کاهش یافت. در این تحقیق راندمان استحصال فسفر از زل جذب با ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۰.۱۵ مولار تقریباً ۱۰۰ درصد بود. همچنین مقدار فسفر اندازه گیری شده با روش DGT همبستگی خطی نزدیکی با مقدار فسفر موجود در محلول ( $r=0.98^{**}$ ) داشت. در این تحقیق همبستگی بسیار خوبی بین مقدار فسفر اندازه گیری شده با روش DGT و فسفر قابل جذب در سه خاک آهکی مورد مطالعه ( $r=0.99^{**}$ ) وجود داشت که نشان می دهد ممکن است روش DGT جانشینی مناسب برای اندازه گیری سریع فسفر قابل جذب در خاک های آهکی باشد.

**کلیدواژگان:** آکرلامید، آلایل آگاروز، خاک، فسفر، DGT.

### مقدمه

خاک های آهکی و آهن و آلومینیوم در خاک های اسیدی، در طول فصل رشد درصد کمتری از مقدار کل فسفر خاک برای گیاهان قابل استفاده است و اثربخشی کودهای شیمیایی فسفره افزوده شده به خاک در مقایسه با دیگر عناصر با سرعت بیشتری کاهش می یابد (Oustan, 2004). روش های مختلفی برای ارزیابی مقدار فسفر آب و خاک وجود دارد. روش مرسوم در آب بر اساس تقسیم جزء به جزء استاندارد شده<sup>۲</sup> است. در این روش، فسفر فعال به طور مستقیم توسط رنگ سنجی<sup>۳</sup>، فسفر معدنی با هیدرولیز اسیدی، و فسفر کل توسط هضم با پرسولفات اندازه گیری می شود (APHA et al, 1998). غلظت فسفر در خاک نیز با عصاره گیری های مختلف قابل ارزیابی است. از روش های بسیار معمول روش اولسن و مهلیج و بری است. اما معمولاً همبستگی فسفر استخراجی توسط این عصاره گیرها با

فسفر عنصری ضروری برای همه شکل های حیات است و نقشی مهم در ساختار DNA و RNA دارد. این عنصر اهمیتی فراوان در انتقال انرژی در گیاهان به واسطه تشکیل ATP دارد (Westheimer, 1987). فعالیت های انسانی، مثل کشاورزی و معدن کاری و جنگل زدایی، انتقال فسفر را از منابع زمینی به آب های سطحی افزایش می دهد و نقشی کلیدی در آب تباهی یا غنی شدگی<sup>۱</sup> آب های سطحی ایفا می کند (Rumhayati et al, 2010). مهم ترین اثر افزایش غلظت فسفر در رودخانه ها و دریاچه ها رشد سریع جلبک ها است که می تواند اثری مخرب بر کیفیت اکوسیستم بگذارد (Nijboer and Verdonschot, 2004). همچنین فسفر از عناصر پرمصرف برای گیاهان است و به دلیل تثبیت آن در خاک، در اثر واکنش با کلسیم محلول در

\* نویسنده مسئول: areyhani@tabrizu.ac.ir

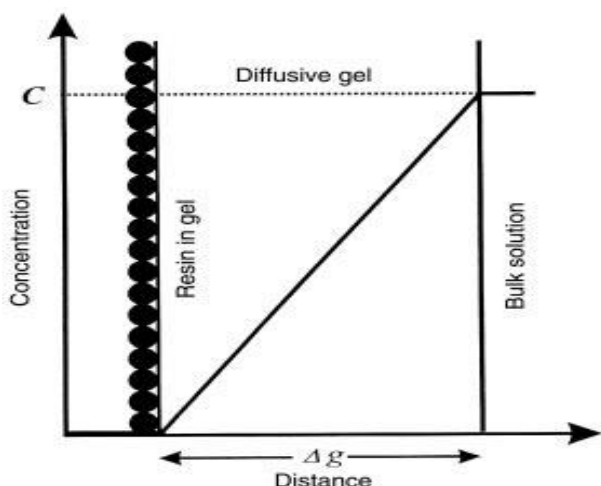
1. Eutrophication

2. Standardized fractionation  
3. Colorimetry

## مواد و روش‌ها

### اصول روش DGT

این روش بر پایه انتقال به صورت پخشیدگی آنالیت‌ها در لایه نازک هیدروژل (لایه پخش)<sup>۳</sup> و جذب آن‌ها در لایه جذب<sup>۴</sup> است. همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، لایه جذب با لایه پخش به ضخامت  $\Delta g$ ، که نسبت به یون‌ها نفوذپذیر است، از محلول جدا شده است (Zhang and Davison, 1999).



شکل ۱. شکل شماتیک از شیب غلظت در لایه‌های DGT در حالت ماندگار (Hooda et al, 1999)

وجود لایه پخش سبب ایجاد شیب غلظت ماندگار از محلول به سمت لایه جذب می‌شود. اندازه‌گیری غلظت آنالیت‌ها در محلول با استفاده از قانون اول فیک<sup>۵</sup> و مقدار آنالیت‌های تجمع‌یافته در لایه جذب انجام می‌شود. برای اندازه‌گیری فسفر از ژل اشباع‌شده با فری‌هیدرات<sup>۶</sup> به منزله لایه جذب استفاده می‌شود. اگر شیب غلظت در طول زمان کاربرد ثابت بماند، شار فسفر پخشیده‌شده از لایه پخش به سمت لایه جذب به صورت رابطه ۱ بیان می‌شود (Zhang et al, 1998):

$$F = D(C-C')\Delta g \quad (\text{رابطه ۱})$$

D ضریب پخشیدگی مؤثر فسفر در ژل، C غلظت در محلول، و C' غلظت در سطح تماس بین لایه پخش و لایه جذب است. اگر فسفر به صورت مؤثر با لایه جذب پیوند یابد، C' صفر می‌شود. بنابراین رابطه ۱ به صورت رابطه ۲ ساده می‌شود:

$$C = F\Delta g/D \quad (\text{رابطه ۲})$$

جذب گیاهی پایین است؛ که به طور عمده ناشی از اختصاصی بودن عصاره‌گیرها برای خاک‌های اسیدی یا قلیایی است. یکی دیگر از دلایل اصلی نسبت زیاد محلول عصاره‌گیر به خاک است که شباهتی به وضعیت طبیعی خاک مزرعه ندارد (Menon et al, 1990). یکی از روش‌های جدید برای اندازه‌گیری فسفر روش شیب پخش در غشای نازک<sup>۱</sup> (DGT) است. این روش را Davison and Zhang (1994) ارائه کردند که برای اندازه‌گیری فسفر محلول در آب استفاده می‌شود. این روش بر پایه انتقال آنالیت‌ها به صورت پخشیدگی در لایه نازک هیدروژل و جذب آن‌ها در لایه جذب است. این لایه قادر به جذب آنالیت‌هاست. یون‌هایی که از لایه پخش عبور می‌کنند به سرعت در این لایه جذب می‌شوند (Zhang et al, 1998). از سال ۱۹۹۴ تا کنون تحقیقات بسیاری در زمینه استفاده از این روش در آب و رسوبات و اخیراً در خاک صورت گرفته است (Davison et al, 1995; Zhang and Davison, 1995; Zhang et al, 1995; 1994; Chang et al, 1998; Harper et al, 1999; Degryse et al, 2003). از مزیت‌های این روش اندازه‌گیری در جای یون‌ها، به‌ویژه در محیط‌های آبی، مانند رودخانه‌ها و دریاچه‌ها و دریا، است. با کاربرد این روش می‌توان از بروز مشکلاتی که در حمل نمونه‌های آبی به محل اندازه‌گیری ایجاد می‌شود جلوگیری کرد. همچنین، به دلیل قابلیت کاربری آسان می‌توان از آن برای اندازه‌گیری یون‌ها یا عناصر در اعماق مختلف محیط‌های آبی استفاده کرد، بدون اینکه به نمونه‌برداری‌های هزینه‌بر نیاز باشد (Zhang et al, 1998). اگرچه روش DGT به صورت دقیق نمی‌تواند همه فرایندهای درگیر در جذب عناصر توسط گیاه را نشان دهد، همبستگی مناسب آن نشان می‌دهد به احتمال زیاد فرایندهای اصلی در خاک‌ها را تقلید می‌کند. فرایندهای فیزیکوشیمیایی کنترل‌کننده سیستم DGT- خاک می‌تواند در تشخیص عوامل اصلی کنترل‌کننده فراهمی عناصر به سمت گیاه مفید باشد (Ernstberger et al, 2005). استفاده از این روش به دلیل هزینه بالای واردات آن تا کنون در ایران عملیاتی نشده است و چون در ساخت ژل‌های مورد نیاز در DGT از مواد انحصاری و دارای حق ثبت<sup>۲</sup> استفاده می‌شود امکان ساخت نمونه اصلی آن فراهم نیست. هدف این تحقیق ساخت ابزار DGT مشابه نمونه خارجی، مطالعه ساختار شیمیایی ژل‌ها و استفاده از مواد جایگزین در ساخت آن‌ها، و در نهایت اندازه‌گیری فسفر جهت ارزیابی دقت و واسنجی آن در آب و خاک است.

3. Diffusion layer  
4. Binding agent  
5. Fick's 1st Law  
6. Ferrihydrite (5Fe2O3·9H2O)

1. Diffusive gradient in thin-films (DGT) technique  
2. Patented Cross-Linker

محلول ۰/۱ مولار شد. ژل‌ها حداقل ۲ ساعت در این محلول نگهداری شدند تا Fe به صورت یکنواخت در درون و بیرون ژل توزیع شود. در مرحله بعد ژل‌ها برداشت شد و بعد از چند ثانیه قراردادن در آب دی‌یونیزه، برای حذف آهن موجود در سطح ژل، در محلول MES<sup>۵</sup> (۰/۰۵ مولار) که یک بافر بود و pH آن در ۶/۷ تنظیم شده بود قرار داده شد. فری‌هیدرات شروع به رسوب می‌کند. بعد از ۳۰ دقیقه، ژل‌ها از بافر برداشته و به مدت ۲ ساعت در آب دی‌یونیزه قرار داده شد. در طول این مدت حداقل دو بار آب تعویض شد تا همه مواد ناخواسته از ژل خارج شود. در پایان ژل‌ها برای تثبیت و شکل‌گیری نهایی در محلول ۰/۰۳ مولار NaCl به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. این ژل‌ها تا سی و سه روز، با نگهداری در محلول ۰/۰۳ مولار NaCl و در یخچال، قابل استفاده‌اند (Santner et al, 2010).

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، DGT شامل دو قسمت پلاستیکی است که لایه‌ها را به یک‌دیگر متصل و ساندویچ می‌کند. لایه پخش<sup>۶</sup> (ژل و فیلتر غشایی) روی لایه جذب<sup>۷</sup> قرار گرفته است. فیلتر غشایی با محیط بیرون در تماس است و قطر قسمت پنجره‌ای ژل، که با محیط بیرون تماس دارد، ۲۰ میلی‌متر است. ضخامت لایه جذب ۰/۶، لایه پخش ۰/۸، و فیلتر غشایی ۰/۱۳۵ میلی‌متر است (Zhang and Davison, 1995).

ضخامت ژل‌های استفاده‌شده اهمیت زیادی دارد و میزان مواد مصرفی در ساخت ژل بر ضخامت و آماس آن پس از آب‌گیری اثرگذار است. بنابراین، مقدار آماس ژل پس از آب‌گیری باید اندازه‌گیری شود. برای بررسی میزان آماس ژل از نسبت آماس<sup>۸</sup> رابطه ۵ به کار رفت (Bajpai and Giri, 2003):

$$SR (\%) = 100 \times (\text{وزن ژل خشک} / \text{وزن ژل آماس شده})$$

#### اندازه‌گیری ضریب پخشیدگی فسفر در ژل پخش

به منظور مطالعه ضریب پخشیدگی فسفر در ژل‌های پخش، از ابزاری شبیه شکل ۳ استفاده شد که شامل دو قسمت مجزا است که با منفذی دایره‌شکل به قطر ۱/۵ سانتی‌متر به یک‌دیگر متصل شده‌اند. ژل با قطر ۲/۵ سانتی‌متر به طور مناسب در این قسمت قرار داده شد. در یک قسمت از ابزار محلول فسفر با غلظت ۱۰۰ ppm و در قسمت دیگر همان مقدار محلول بدون فسفر افزوده شد. به طور متناوب در فواصل زمانی حدوداً ۵ دقیقه از محلول بدون فسفر ۵ میلی‌لیتر نمونه تهیه و میزان فسفر آن قرائت شد.

با توجه به تعریف شار  $(F=M/At)$ ، جرم فسفر جذب‌شده در لایه جذب است که از لایه با سطح A در زمان معین (t) پخش شده است. در نتیجه، غلظت فسفر در محلول با رابطه ۳ قابل محاسبه است:

$$C = M \Delta g / (DA t) \quad (\text{رابطه ۳})$$

البته مقدار M را به صورت مستقل نیز می‌توان محاسبه کرد. در این روش، لایه جذب پس از مصرف جدا و در حجم مشخصی از اسید سولفوریک ۰/۲۵ مولار ( $V_{gel}$ ) در این روش ۱۰ میلی‌لیتر) قرار داده می‌شود. غلظت فسفر در اسید ( $C_e$ ) با روش مالاشیت سبز (Rao et al, 1997) با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری و مقدار جرم فسفر با رابطه ۴ محاسبه می‌شود:

$$M = C_e (V_{gel} + V_{acid}) \quad (\text{رابطه ۴})$$

#### تهیه ژل پخش

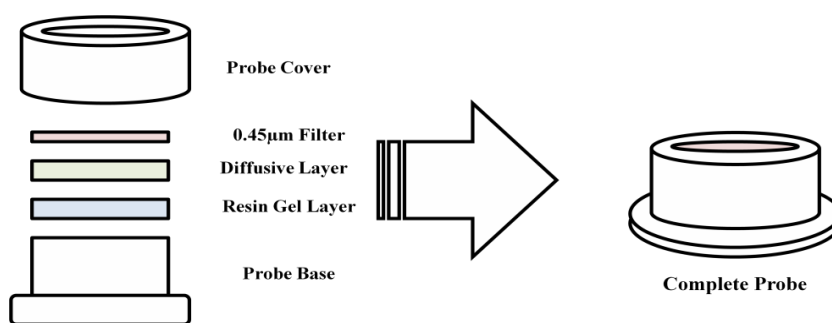
در نمونه خارجی برای ساخت ژل‌های DGT از آکرلامید، که مونومرهای آن با یک عامل پیوندی عرضی (کراس‌لینکر) به یک‌دیگر متصل می‌شوند، استفاده می‌شود. در تحقیق حاضر برای ساخت ژل آکریل امید از عامل پیوندی عرضی مشتق‌شده از آگاروز با پیوندهای آلیلی استفاده شد. عامل پیوندی عرضی با افزودن ۳۳ میلی‌گرم سدیم بوروهیدرید و ۱/۶ میلی‌لیتر آلایل‌گلیسیدیل‌اتر به مخلوط آگاروز (۱ گرم) و سود (۳۳ میلی‌لیتر و ۰/۳ نرمال) و تکان دادن به مدت ۱۲ ساعت و سپس آب‌گیری با متانول و خشک‌کردن در آن به دست آمد. ژل پخش با انحلال آلایل آگاروز ۰/۳ درصد (w/v) در آب ۹۵ درجه سلسیوس و افزایش آکریل امید ۱۵ درصد (w/v)، پرسولفات آمونیوم ۱۰ درصد (w/v) به منزله آغازگر<sup>۱</sup> و کاتالیزور<sup>۲</sup> TEMED، و قالب‌گیری بین دو شیشه با فاصله مشخص تهیه شد (Chiari et al, 1996).

#### تهیه ژل لایه جذب

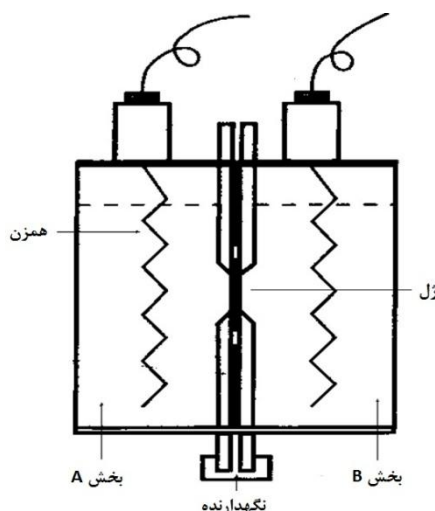
این لایه، که به مثابه جذب فسفر عمل می‌کند، اشباع از فری‌هیدرات<sup>۴</sup> یا اکسید آهن بی‌شکل است که توانایی زیادی در جذب ارتوفسفات‌ها دارد. به منظور تهیه لایه جذب، لایه پخش با ضخامت ۰/۶ میلی‌متر و دایره‌شکل به قطر ۲/۵ سانتی‌متر طبق روش بالا تهیه شد. ۲/۷ گرم از  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه حل و سه ژل پخش با اندازه مناسب در آن قرار داده شد. سپس، دوباره به آن آب افزوده شد تا حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد. در نتیجه، غلظت  $FeCl_3$

5. 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid  
6. Diffusive gel  
7. Resin gel  
8. Swelling Ratio (SR)

1. Cross-Linker  
2. Initiator  
3. N,N,N',N'- tetramethylethylenediamine  
4. Ferrihydrite



شکل ۲. شکل شماتیک ابزار DGT



شکل ۳. ابزار استفاده شده در اندازه‌گیری ضریب پخشیدگی فسفر در ژل

حجم محلول در آن قسمت، جرم (M) فسفر محاسبه شد. برای محاسبه دقیق‌تر می‌توان حجم محلولی را نیز که برای اندازه‌گیری فسفر از قسمت B برداشته می‌شود از هر مرحله کم کرد. در زمان کمتر از ۲ ساعت غلظت در قسمت B نسبت به قسمت A بسیار کمتر است و اختلاف غلظت در زمان‌های مختلف تفاوت ندارند. با رسم نمودار M در مقابل t، که به صورت یک خط درمی‌آید، شیب آن برابر  $\alpha$  قابل محاسبه است. با توجه به رابطه  $\alpha = DSC/x$  و مقدار معلوم  $s, x, \alpha$ ، و اختلاف غلظت میانگین در هر زمان میزان ضریب پخشیدگی محاسبه شد (Zhang and Davison, 1999).

#### واکنش‌پذیری ژل<sup>۱</sup> پخش

ژل‌ها در محلول با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر فسفر و در حال هم‌خوردن به مدت ۰/۵ تا ۲۴ ساعت قرار گرفت و در نهایت غلظت فسفر در ژل اندازه‌گیری شد (Zhang and Davison, 1999).

برای محاسبه ضریب پخشیدگی در ژل از قانون اول فیک (رابطه ۶) استفاده می‌شود:

$$F = D(\partial C/\partial x) \quad (\text{رابطه ۶})$$

F شدت جریان و  $\partial C/\partial x$  شیب غلظت در ژل است. با گذشت زمان، پخشیدگی فسفر از غلظت بیشتر به غلظت کم است و معمولاً یک شیب خطی بین دو قسمت ایجاد می‌شود. در هر زمانی شدت جریان لحظه‌ای با رابطه ۶ قابل محاسبه است. با توجه به اینکه مقدار پخش در زمان‌های کوتاه بسیار کم است، اختلاف غلظت نسبت به فاصله یا همان ضخامت ژل ثابت می‌شود؛ که در این صورت شدت جریان نیز ثابت است. مقدار شدت جریان با رابطه ۷ و از مقدار جرم (M) بر واحد سطح (S) بر زمان (t) به دست می‌آید.

$$F = M/St \quad (\text{رابطه ۷})$$

با ترکیب رابطه‌های ۶ و ۷ و با فرض شیب یا اختلاف غلظت ثابت رابطه ۸ حاصل می‌شود:

$$M = (DtS\Delta C)_x \quad (\text{رابطه ۸})$$

در آزمایشگاه غلظت فسفر در بخشی از ابزار که محلول بدون فسفر ریخته شد (B) با زمان به دست آمد. با دانستن

1. Gel reactivity

لایه بیرونی آن شکسته شد و به ترتیب لایه فیلتر و لایه پخشنده برداشته و دور ریخته شد. ولی لایه جاذب یا اکسید آهن در لوله سانتریفیوژ قرار داده شد (شکل ۴). ۱۰ میلی‌لیتر اسید  $H_2SO_4$  ۰/۲۵ مولار روی آن ریخته و به مدت ۲ ساعت شیک شد. میزان فسفر موجود در این محلول با استفاده از روش مالاشیت سبز اندازه‌گیری شد (Menzies et al, 2005).



شکل ۴. نمای کلی از برداشت لایه جاذب از ابزار DGT

### یافته‌ها و بحث

با توجه به میزان عامل پیوندی عرضی استفاده‌شده در ساخت این ژل‌ها، که ۰/۳ درصد بود، مقدار آماس ژل ۲۰۰ درصد به دست آمد؛ به این معنی که هر ژل بعد از ۲۴ ساعت آب‌گیری به اندازه دو برابر افزایش حجم یافت. با افزایش عامل پیوندی عرضی، به دلیل نزدیک شدن ساختارهای آکریلامید به یک‌دیگر، میزان آماس ژل کاهش یافت. هنگامی که عامل پیوندی عرضی از ۰/۳ درصد به ۰/۶ درصد و از ۰/۶ درصد به ۰/۱ درصد رسانده شد، مقدار آماس ژل نیز به ترتیب به ۱۷۴ درصد و ۱۵۰ درصد کاهش یافت. Zhang et al (1998) نیز بیان کردند که ژل‌های ساخته‌شده بعد از آب‌گیری ۲۰۰ درصد آماس نشان دادند.

### ضریب پخشیدگی فسفر

در تحقیق حاضر از عامل پیوندی عرضی آلایل آگاروز برای آکریلامید استفاده شد تا قطر منافذ به اندازه‌ای باشد که در عبور یون فسفر از ژل خللی ایجاد نشود. نمودار ۱ مقدار فسفر

### راندمان استحصال<sup>۱</sup> فسفر از ژل جاذب

با قراردادی ژل در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر فسفر و تکان دادن آن به مدت ۲۴ ساعت و سپس اندازه‌گیری غلظت فسفر محلول و غلظت فسفر جذب‌شده در ژل با ۱۰ میلی‌لیتر شوینده ۰/۲۵ مولار  $H_2SO_4$  و مقایسه این دو راندمان استحصال فسفر از ژل جاذب به دست آمد (Zhang et al, 1998).

### سینتیک جذب فسفر در ژل جاذب

صفحات ژل در ۱۰ میلی‌لیتر محلول فسفر با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر لیتر قرار داده شد و بعد از تکان دادن در شیکر خطی با سرعت ۲۰۰ رفت و برگشت در دقیقه در زمان‌های ۱، ۳، ۶، ۱۰، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، و ۳۰۰ دقیقه در محلول ۰/۲۵ مولار اسید سولفوریک قرار گرفت و مقدار فسفر در محلول اسیدی اندازه‌گیری شد (Santner et al, 2010).

### عملکرد DGT در محلول فسفر

به منظور بررسی عملکرد DGT در محلول، DGT در ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول فسفر با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر لیتر، که قدرت یونی آن‌ها با محلول  $NaNO_3$  ۰/۰۳ مولار تنظیم شده بود، قرار داده شد و در زمان‌های بین ۱ تا ۲۴ ساعت DGT از محلول‌ها برداشت شد. ژل جاذب بعد از جداسازی از ابزار در محلول ۰/۲۵ مولار اسید سولفوریک قرار داده شده و غلظت فسفر در اسید اندازه‌گیری شد (Ding et al, 2010).

### عملکرد DGT در خاک

برای این بررسی از سه نمونه خاک با مقادیر فسفر قابل جذب متفاوت استفاده شد. نمونه‌ها پس از هواخشک شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. بافت خاک به روش هیدرومتری چهار زمانه (Gee and Bauder, 1986)، pH در نسبت ۱:۲ خاک به آب (Thomas, 1996)، و کربن آلی خاک به روش اکسایش تر (Nelson and Sommers, 1982) اندازه‌گیری شد. مقدار فسفر قابل جذب با روش اولسن عصاره‌گیری و اندازه‌گیری شد (Olsen and summers, 1982). ۵۰ گرم از خاک‌ها در ظروف جداگانه قرار داده شد. خاک‌ها با استفاده از آب دیونیزه اشباع و به مدت ۷۲ ساعت در این حالت نگهداری شد. بعد از این مدت، ابزارهای DGT در عمق ۱ تا ۲ سانتی‌متری در هر خاک و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، ابزار از خاک خارج و با آب دیونیزه سطح تماس آن با خاک تمیز شد. با استفاده از شکافی که در ابزار وجود دارد و با کمک پیچ‌گوشتی،

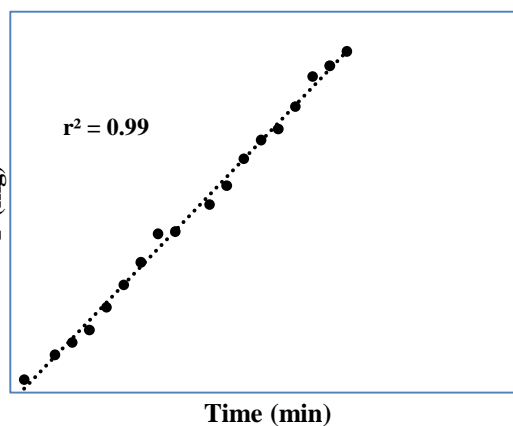
از ژل پخش مؤثر است. مقدار عامل پیوندی عرضی استفاده شده در ساخت ژل در مقاومت آن در برابر پارگی و قابلیت حمل آن مؤثر است. به این ترتیب که با افزایش عامل پیوندی عرضی در ساخت ژل، به دلیل کوچک‌تر شدن منافذ ژل، مقاومت آن به پارگی افزایش می‌یابد و در نتیجه کاربری آن آسان‌تر می‌شود. ولی انتظار بر این است که ضریب پخشیدگی فسفر یا عناصر دیگر در آن کاهش یابد. به همین دلیل لازم است عامل پیوندی عرضی به مقداری اضافه شود که علاوه بر اینکه مقاومت مناسبی در برابر پارگی دارد میزان ضریب پخشیدگی فسفر در آن تحت تأثیر قرار نگیرد. با توجه به نتایج به دست آمده از ضرایب پخشیدگی در ژل در باقی تحقیقات از ژل با عامل پیوندی عرضی ۰/۳ درصد استفاده شد.

اندازه‌گیری شده را در قسمت B از ابزار استفاده شده ( شکل ۳) در مقابل زمان نشان می‌دهد که با استفاده از شیب خط برازش داده شد و مقدار ضریب پخشیدگی فسفر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس  $8,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  به دست آمد. تغییرات ضریب پخشیدگی فسفر در سه ژل با مقدار عامل پیوندی عرضی متفاوت در جدول ۱ می‌آید. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، ضریب پخشیدگی فسفر با افزایش عامل پیوندی عرضی کاهش یافته است. Zhang and Davison (1999) ضریب پخشیدگی فسفر را در DGT با عامل پیوندی عرضی دارای حق ثابت، در دمای ۱۷ درجه سلسیوس،  $7,39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  به دست آوردند. این محققان در تحقیقات خود قطر منافذ ژل آکرلامیدی ساخته شده با عامل پیوندی عرضی دارای حق ثابت را بیشتر از ۵ نانومتر اعلام کردند و همین اندازه منافذ در عبور راحت‌تر یون‌ها

جدول ۱. تغییرات ضریب پخشیدگی فسفر در آب و ژل ساخته شده با عامل پیوندی عرضی آلیل آگاروز

ژل ساخته شده از 15% Acrylamide + 1% allylagaroseCrossLinker	ژل ساخته شده از 15% Acrylamide + 0,6% allylagaroseCrossLinker	ژل ساخته شده از 15% Acrylamide + 0,3% allylagaroseCrossLinker	یون آب
$6,8 \times 10^{-6}$	$7,6 \times 10^{-6}$	$8,2 \times 10^{-6}$	P

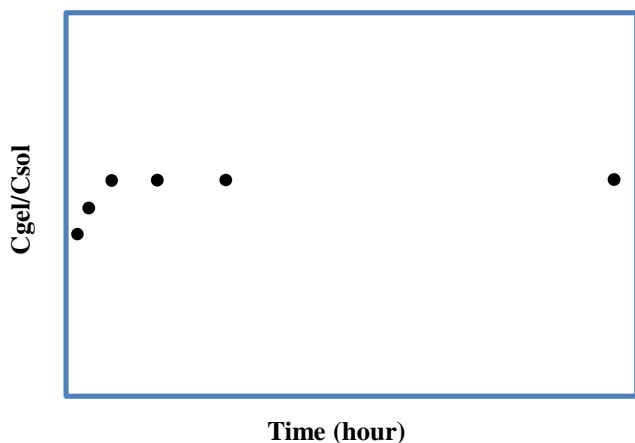
کلی DGT تأثیرگذار نیست. وجود بارهای مثبت یا منفی در سطح یا درون ژل در گروه‌های عاملی باعث جذب یون می‌شود و می‌تواند در ضریب پخشیدگی یون و عبور آن از لایه پخش مؤثر باشد. افزایش الکترولیت‌هایی مثل  $\text{NaNO}_3$  در مراحل پایانی ساخت ژل اثر بارهای مثبت و منفی را در کاهش یا افزایش ضریب پخشیدگی یون‌ها کاهش می‌دهد ( Zhang and Davison, 1999).



نمودار ۱. مقدار فسفر اندازه‌گیری شده در قسمت B از ابزار استفاده شده ( شکل ۳) در مقابل زمان

#### واکنش‌پذیری ژل پخش

نسبت غلظت فسفر در ژل پخش به غلظت فسفر در محلول در مقابل زمان در نمودار ۲ می‌آید. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، این نسبت تا زمان ۲۴ ساعت تقریباً ثابت شده و به عدد ۴ رسیده است. Dočekalová and Diviš (2005) تجمع یون را در ژل پخش ۴/۵ برابر مقدار آن یون در محلول به دست آوردند و گزارش کردند این مقدار تجمع یون در لایه پخش در عملکرد



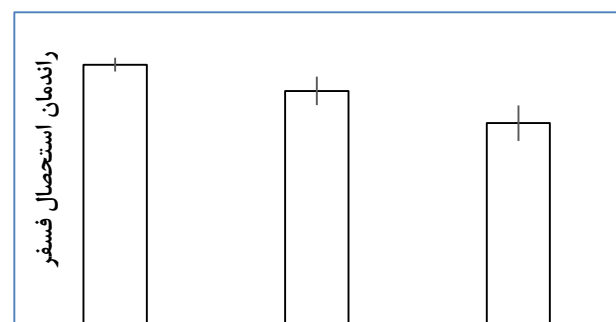
نمودار ۲. نسبت غلظت فسفر در ژل پخش به محلول در مقابل زمان

### راندمان استحصال ژل جاذب

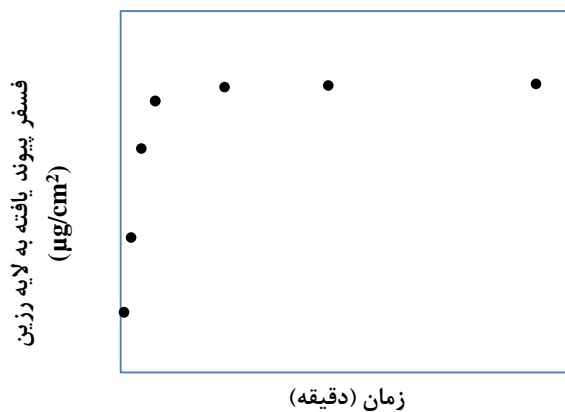
Zhang *et al* (1998) گزارش کردند به منظور اندازه‌گیری مقدار فسفر جذب‌شده توسط ژل جاذب لازم است آن را در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۲۵ مولار به مدت ۲ ساعت تکان داد یا به مدت ۱۲ ساعت آن را در این اسید قرار داد. در این مدت زمان ۱۰۰ درصد فسفر چسبیده به لایه جاذب از آن جدا می‌شود. چون در این تحقیق از ژل جاذب با عامل پیوندی جایگزین استفاده شد، لازم است این بررسی برای ژل دوباره انجام شود. همان‌طور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود، میزان راندمان استحصال فسفر از ژل جاذب با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۱۵ مولار تقریباً ۱۰۰ درصد است و با افزایش غلظت اسید این میزان در تکرارهای مختلف کاهش یافته است. Linge and Oldham (2001) گزارش کردند اندازه‌گیری فسفر به روش رنگ‌سنجی مالاشیت سبز به غلظت اسید حساس است و با افزایش غلظت اسید سولفوریک قابلیت این روش کاهش می‌یابد و میزان فسفر را کمتر از میزان واقعی نشان می‌دهد. البته این محققان غلظت اسید بیشتر از ۰/۵ مولار را اثرگذار دانسته‌اند؛ ولی در تحقیق حاضر این کاهش رنگ در محلول‌های با اسید ۰/۲۵ و ۰/۳۵ مولار مشاهده شد.

### سینتیک جذب فسفر در لایه جاذب

در این تحقیق جذب فسفر توسط فری‌هیدرات موجود در لایه جاذب در زمان ۱۰ دقیقه به حداکثر مقدار خود رسید (نمودار ۴).



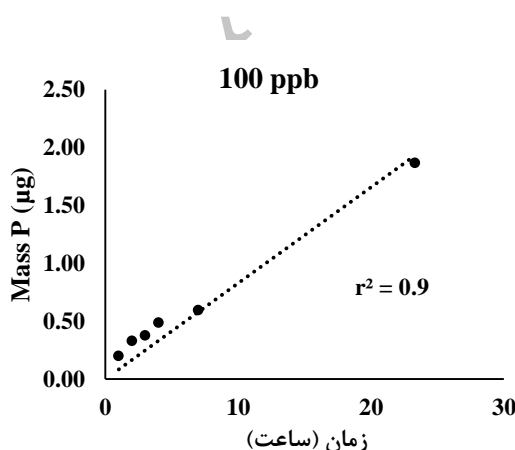
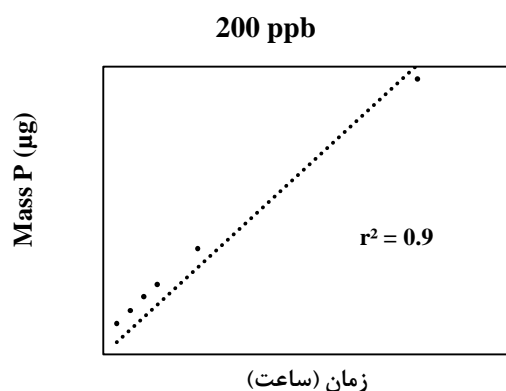
نمودار ۳. راندمان استحصال فسفر با ۲ ساعت تکان دادن ژل جاذب در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک در غلظت‌های متفاوت



نمودار ۴. سینتیک جذب فسفر توسط ژل جاذب

### عملکرد DGT در محلول فسفر

در این قسمت از آزمایش‌ها DGT در ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول فسفر با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر لیتر قرار داده شد و در زمان‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۷، و ۲۴ ساعت از محلول‌ها برداشت شد و مقدار فسفر تجمع‌یافته در لایه جاذب هر DGT با رابطه ۴ (نمودار ۵) و مقدار فسفر موجود در سطح تماس DGT با محلول با رابطه ۳ (نمودار ۶) محاسبه شد.



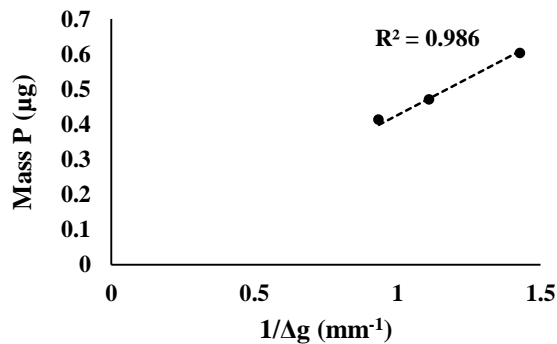
نمودار ۵. فسفر تجمع‌یافته در لایه جاذب DGT نسبت به زمان کاربرد در دو محلول با غلظت فسفر ۱۰۰ و ۲۰۰ ppb

Mason *et al* (2005) جذب برخی کاتیون‌ها و آنیون‌ها را

در ژل جاذب با مخلوطی از فری‌هیدرات و chelex-100، که یک نوع رزین تبادل کاتیونی است، مطالعه و گزارش کردند جذب این عناصر تا زمان ۶۰ دقیقه به حداکثر مقدار خود می‌رسد. افزایش سرعت جذب فسفر یا دیگر عناصر به لایه جاذب توان این لایه را به منزله جذب‌کننده بی‌نهایت افزایش می‌دهد.



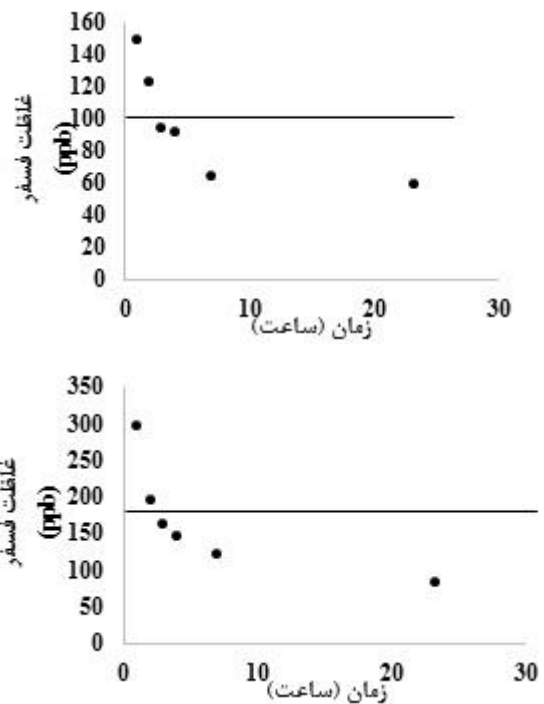
محلول ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر فسفر در زمان ۶ ساعت به کار رفت که نتایج آن در نمودار ۷ می‌آید. نتایج نشان‌دهنده وجود رابطه‌ای خطی بین مقدار فسفر تجمع‌یافته در لایه جذب و ضخامت لایه پخش است. هر چه ضخامت لایه پخش افزایش یابد، در زمانی یکسان، مقدار فسفر تجمع‌یافته در لایه جذب کاهش می‌یابد. Harper *et al.* (1998) اعلام کردند با کاربرد چند DGT با ضخامت لایه پخش متفاوت در محلول مشخص و در زمان یکسان وجود رابطه خطی بین مقدار عنصر تجمع‌یافته در لایه جذب و عکس ضخامت لایه پخش شرط ضروری برای این است که غلظت محاسبه‌شده در سطح تماس DGT به منزله غلظت در محلول تفسیر شود.



نمودار ۷. مقدار فسفر تجمع‌یافته در لایه جذب در DGT نسبت به عکس ضخامت لایه پخش

به منظور بررسی عملکرد DGT در محلول فسفر، ۱۰ لیتر از محلول فسفر در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، و ۴۰۰ میکروگرم بر لیتر تهیه شد و یک DGT در این محلول، که به خوبی در حال شیک و مخلوط شدن است، قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، DGT برداشت شد و مقدار فسفر تجمع‌یافته در لایه جذب و مقدار فسفری که در تماس با سطح آن بود با رابطه‌های ۱ تا ۴ محاسبه شد. همان‌طور که در نمودار ۸ ملاحظه می‌شود، همبستگی مناسب و معناداری بین مقدار فسفر اندازه‌گیری‌شده در DGT و محلول وجود دارد.

Zhang *et al.* (1998) اعلام کردند مقدار فسفر اندازه‌گیری‌شده با روش DGT در دریاچه‌ای در انگلستان بسیار نزدیک به مقادیر اندازه‌گیری‌شده با روش FRP<sup>۱</sup> بود. تکنیک FRP روشی پذیرفته‌شده برای اندازه‌گیری فسفر زیست‌فراهم است و با آن فسفر کلئیدی (فسفر پیوندیافته با مواد آلی) نیز اندازه‌گیری می‌شود. ولی در روش DGT، به دلیل اندازه منافذ ژل، ممکن است برخی از انواع فسفرهای کلئیدی قادر به عبور از ژل پخش و اتصال به لایه جذب نباشند. به همین دلیل در



نمودار ۶. مقدار غلظت اندازه‌گیری‌شده توسط DGT در مقابل زمان در دو محلول با غلظت ۲۰۰ و ۱۰۰ خط ممتد نشان‌دهنده مقدار دقیق غلظت فسفر در محلول اولیه قبل از کاربرد DGT است.

Zhang *et al.* (1995) اعلام کردند ایجاد حالت شبه‌ماندگار و رسیدن به شیب غلظت ثابت در لایه پخش و کاهش ناهمخوانی محاسبات با کاربرد DGT (با ضخامت لایه پخش ۰/۵ میلی‌متر) در زمان کاربرد بیشتر از ۱ ساعت اتفاق می‌افتد. در DGT استاندارد (ضخامت لایه پخش حدود ۰/۷) این زمان ۳ ساعت است. با افزایش ضخامت لایه پخش، مثلاً تا ۲ میلی‌متر، حالت شبه‌ماندگار ممکن است تا پایان ۲۴ ساعت نیز حاصل نشود. همان‌طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود، در زمان‌های کمتر از ۳ ساعت، به دلیل ایجاد شار در لایه پخش، مقدار فسفر محاسبه‌شده در سطح تماس DGT با محلول بیشتر از مقدار فسفر محلول بوده است و با افزایش بیشتر زمان کاربرد به ۲۴ ساعت مشاهده می‌شود که مقدار فسفر محاسبه‌شده با DGT کمتر از فسفر اولیه محلول خواهد بود. Harper *et al.* (2000) گزارش کردند اگر فراهمی مناسبی از عنصر نزدیک DGT وجود نداشته باشد، از آنجا که به هم‌خوردگی به پخشیدگی مولکولی محدود می‌شود که آن هم سرعت مناسبی برای حفظ غلظت در نزدیکی DGT ندارد، غلظت عنصر در سطح تماس با DGT و شارش آن در لایه پخش با زمان کاهش می‌یابد.

در بخش دیگری از بررسی عملکرد DGT در محلول، سه نوع DGT با لایه پخش در ضخامت‌های مختلف در ۴ لیتر

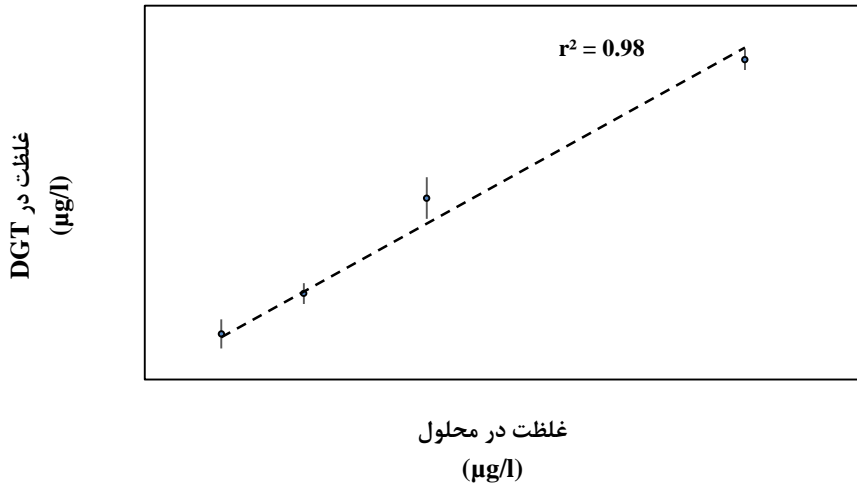
1. Filterable reactive phosphorus



**عملکرد DGT در خاک**

برخی ویژگی‌های خاک‌های مورد نظر در جدول ۲ و میزان فسفر اندازه‌گیری‌شده با روش اولسن و DGT در جدول ۳ می‌آید.

روش DGT ارتوفسفات‌های بیشتری اندازه‌گیری می‌شوند. البته فسفر کلئیدی، به دلیل ساختاری که دارد، به صورت مستقیم زیست‌فراهم نیست. در نتیجه فسفر اندازه‌گیری‌شده با روش DGT نسبت به روش FRP نزدیک‌تر به فسفر زیست‌فراهم است.



نمودار ۸. غلظت اندازه‌گیری‌شده فسفر توسط DGT نسبت به غلظت فسفر در محلول در زمان کاربری ۲۴ ساعت

جدول ۲. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی سه خاک استفاده‌شده در تحقیق

pH	*CaCO <sub>3</sub>	OC	clay	Sand	بافت خاک	
					شماره خاک	%
۷٫۹۸	۲۶٫۵	۱٫۶۱	۲۵٫۷۱	۴۴٫۴۱	لوم	۱
۸٫۱۹	۲۹٫۵	۰٫۶۹	۲۶٫۵۳	۴۳٫۰۷	لوم	۲
۸٫۲۵	۷٫۳۷	۱٫۳۵	۲۰٫۰۳	۴۷٫۷۵	لوم	۳

\* معادل

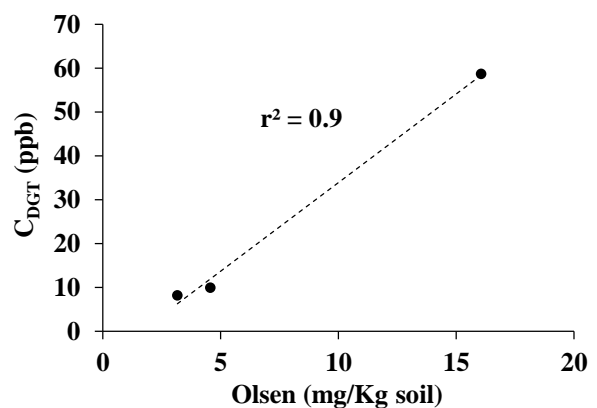
ضرایب همبستگی بین فسفر اندازه‌گیری‌شده توسط DGT و روش اولسن در نمودار ۹ می‌آید. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، همبستگی بالایی بین دو پارامتر وجود دارد. *Menziez et al* (2005) تحقیقی در زمینه ارزیابی قابلیت دسترسی فسفر در اراضی کودداده‌شده، با استفاده از روش DGT و دیگر روش‌های معمول، انجام دادند. نتایج آنان نشان داد ارزیابی فسفر با استفاده از روش DGT همبستگی بالایی با مقدار فسفر اندازه‌گیری‌شده با روش اولسن دارد.

**نتیجه‌گیری**

روش DGT برای اولین بار در دانشگاه لانکستر کشور انگلستان در سال ۱۹۹۴ ارائه شد. از آن پس در بسیاری از کشورهای جهان تحقیقات متعددی در این زمینه انجام یافته است. در ایران به دلایل متعدد این تکنیک تا کنون استفاده نشده و مقاله منتشرشده‌ای درباره کاربرد آن وجود ندارد. از جهت دیگر، چون در ساخت ژل‌های استفاده‌شده در این ابزار از عامل پیوندی عرضی با حق ثبت استفاده شده است، امکان ساخت آن از نمونه

جدول ۳. فسفر اندازه‌گیری‌شده سه خاک استفاده‌شده در تحقیق

C <sub>DGT</sub> (µg/L)	Olsen (mg/Kg)	شماره خاک
۱۰٫۸۷	۶٫۵۷	۱
۸٫۱۵	۲٫۱۷	۲
۵۸٫۶۱	۱۶٫۰۷	۳



نمودار ۹. رابطه میزان فسفر اندازه‌گیری‌شده توسط DGT و روش اولسن

به حداکثر مقدار خود رسید. از نتایج بسیار مهم این تحقیق همبستگی خوب فسفر اندازه‌گیری‌شده توسط DGT با فسفر محلول و فسفر قابل جذب خاک است. البته در تحقیقات بعدی این موضوع در تعداد زیادی از خاک‌های ایران، به‌ویژه خاک‌های آهکی، باید دوباره آزمایش شود.

### سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از گزارش نهایی طرح پژوهشی «امکان‌سنجی ساخت ابزار DGT و کاربرد آن در خاک به شماره ۷-۲۷/۳۵۱۰ صص مصوب مورخه ۹۲/۱۱/۲۶ دانشگاه تبریز» می‌باشد که از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه تبریز اجرا شده است. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به دلیل تأمین هزینه تحقیق و مساعدت‌های لازم تقدیر می‌شود. از همه داوران این مقاله سپاسگزاریم.

### REFERENCES

- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) and WEF (Water Environment Association), (1998). In: Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., Eaton, A. D. (Eds.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edn. American Public Health Association, Washington, DC. 139-152. ch. 4.
- Chang, L., Y., Davison, W., Zhang, H., and Kelly, M. (1998). Performance characteristics for the measurement of Cs and Sr by diffusive gradients in thin films (DGT). *Analytica Chimica Acta*, 368, 243-253
- Chiari, M., Campoleoni, A., Conti, P., Felli, C., Patrosso, M. C., and Brogren, C. H. (1996). Electrophoretic separation of biopolymers in a matrix of polyacrylamide covalently linked to agarose. *Electrophoresis*, 17, 473-478.
- Davison, W. and Zhang, H. (1994). In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature*, 367.
- Davison, W., Zhang, H., and Grime, G. W. (1994). Performance characteristics of gelprobes used for measuring the chemistry of pore waters. *Environmental science and technology*, 28, 1623-1632.
- Degryse, F., Smolders, E., Oliver, I., and Zhang, H. (2003). Relating Soil Solution Zn Concentration to Diffusive Gradients in Thin Films Measurements in Contaminated Soils. *Environmental Science and Technology*, 37, 3958-3965.
- Ding, S., Xu, D., Sun, Q., Yin, H., and Zhang, C. (2010). Measurement of dissolved reactive phosphorus using the diffusive gradients in thin films technique with a high-capacity binding phase. *Environmental Science and Technology*, 44, 8169-8174.
- Dočekalová, H. and Diviš, P. (2005). Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems. *Talanta*, 65, 1174-1178.
- Ernstberger, H., Zhang, H., Tye, A., Young, S., and Davison, W. (2005). Desorption Kinetics of Cd, Zn, and Ni Measured in Soils by DGT. *Environmental Science and Technology*, 39, 1591-1597.
- Gee, G. W. and Bauder, J. W. (1986). Particle size analysis. Pp.383-412. In: A. Klute (ed). *Methods of Soil Analysis*. Part 1. 2nd ed. ASA, SSSA. Madison, WI. USA: 201-214.
- Harper, M., Davison, W., and Tych, W. (1999). Estimation of Pore Water Concentrations from DGT Profiles: A Modelling Approach. *Aquatic Geochemistry*, 5, 337-355.
- Harper, M. P., Davison, W., and Tych, W. (2000). DIFS—a modelling and simulation tool for DGT induced trace metal remobilisation in sediments and soils. *Environmental Modelling and Software*, 15, 55-66.
- Harper, M. P., Davison, W., Zhang, H., and Tych, W. (1998). Kinetics of metal exchange between solids and solutions in sediments and soils interpreted from DGT measured fluxes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62, 2757-2770.
- Hooda, P., Zhang, H., Davison, W., and Edwards, A. (1999). Measuring bioavailable trace metals by diffusive gradients in thin films (DGT): soil moisture effects on its performance in soils. *European Journal of Soil Science*, 50, 285-294.
- Linge, K. L. and Oldham, C. E. (2001). Interference from arsenate when determining phosphate by the malachite green spectrophotometric method. *Analytica Chimica Acta*, 450, 247 – 252.
- Mason, S., Hamon, R., Nolan, A., Zhang, H., and

- Davison, W. (2005). Performance of a mixed binding layer for measuring anions and cations in a single assay using the diffusive gradients in thin films technique. *Analytical chemistry*, 77, 6339-6346.
- Menon, R. G., Chien S. H., and Hammond, L. L. (1990). Development and evaluation of the Pi soil test for plant-available phosphorus. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 21, 1131-1150.
- Menzies, N. W., Kusumo, B., and Moody, P. W. (2005). Assessment of P availability in heavily fertilized soils using the diffusive gradient in thin films (DGT) technique. *Plant and soil*, 269, 1-9.
- Nelson, D. W. and Sommers, L. E. (1982). Total carbon, organic carbon and organic matter. P. 539-580, In: A. L. (Eds). *Methods of Soil Analysis: Part 2. Chemical and Microbiological Methods*, 2<sup>nd</sup> ed. Agron, Monogr. 9. ASA and SSSA. Madison, USA.
- Nijboer, R. C. and Verdonshot, P. F. (2004). Variable selection for modelling effects of eutrophication on stream and river ecosystems. *Ecological Modelling*, 177, 17-39.
- Olsen, S. R. and Sommer, L. E. (1982). Phosphorus. In: Klute, A. (Ed). *Methods of soil Analysis: Chemical and microbiological Properties*, part 2. 2nd Ed. Agron. Monogr. No. 9. ASA and SSSA, Madison WI, pages 403-430.
- Oustan, Sh. (2004). Kinetics and equilibrium studies on phosphorus in some soils of Iran. Ph.D. dissertation. University of tehran. Karaj. (In Farsi)
- Rao, A. S., Reddy, K. S., and Takkar, P. (1997). Malachite green method compared to ascorbic acid for estimating small amounts of phosphorus in water, 0.01 M calcium chloride, and Olsen soil extracts. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 28, 589-601.
- Rumhayati, B., Bisri, C., and Fajarina, W. O. (2010). The performance of chitosan-ferrihydrite membrane for phosphate uptake. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9, 404-409.
- Santner, J., Prohaska, T., Luo, J., and Zhang, H. (2010). Ferrihydrite containing gel for chemical imaging of labile phosphate species in sediments and soils using diffusive gradients in thin films. *Analytical chemistry*, 82, 7668-7674.
- Thomas, G. W. (1996). Soil pH and soil acidity. In: Sparks, D.L. (Ed), *Methods of Soil Analysis, Chemical Methods*. SSSA. Madison, Wisconsin, 475-483.
- Westheimer, F. H. (1987). Why nature chose phosphates. *Science*, 235, 1173-1178.
- Zhang, H. and Davison, W. (1995). Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. *Analytical Chemistry*, 67, 3391-3400.
- Zhang, H. and Davison, W. (1999). Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. *Analytica Chimica Acta*, 398, 329-340.
- Zhang, H., Davison, W., Gadi, R., and Kobayashi, T. (1998). In situ measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT. *Analytica Chimica Acta*, 370, 29-38.
- Zhang, H., Davison, W., Miller, S., and Tych, W. (1995). In situ high resolution measurements of fluxes of Ni, Cu, Fe, and Mn and concentrations of Zn and Cd in porewaters by DGT. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59, 4181-4192.