

مقایسه دو روش عصاره‌گیری دنباله‌ای برای جزءبندی مس در برخی خاک‌های استان گلستان

سید هادی علوی^۱، مجتبی بارانی مطلق^{۲*}، اسماعیل دردی‌پور^۳

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۲۰)

چکیده

اجزای مختلف عناصر در خاک تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای به لحاظ واکنش‌پذیری شیمیایی و زیست‌فراهمی دارند. توزیع عناصر در بین اجزای خاک جهت ارزیابی پتانسیل خاک برای تأمین مقادیر کافی عناصر غذایی کم مصرف جهت رشد گیاه دارای اهمیت است. روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای برای شناسایی و ارزیابی تحرک و فراهمی عناصر در نمونه‌های خاک استفاده شده‌اند. در این تحقیق ده نمونه خاک که از لحاظ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متنوع بودند، از خاک‌های کشاورزی استان گلستان جمع‌آوری گردید. قابلیت استخراج و جزءبندی مس فاز جامد خاک با استفاده از دو روش عصاره‌گیری دنباله‌ای تعیین شد و سپس رابطه این اجزاء با یکدیگر و با جذب گیاهی بررسی شد. نتایج نشان داد که مقادیر مس تبدلی (۰/۳ درصد) و پیوندیافته با کربنات‌ها (۰/۴ درصد) بسیار پایین بود. مس در این خاک‌ها غالباً با شبکه کریستالی کانی‌ها متصل بود (روش تسیر ۰/۸۰٪ و روش سینگ ۰/۳۷٪). در دیگر جزءها یعنی مس پیوند یافته با مواد آلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز نتایج بدست آمده با دو روش به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای با هم متفاوت بود. این مطالعه نشان داد که انحلال اکسیدهای آهن در طی مرحله احیا روش تسیر ناقص بوده که این امر منجر به بیش‌برآورد جزء باقی‌مانده گردید. وجود رابطه معنی‌دار و منفی ($r = -0.692^*$) بین غلظت مس در گیاه و مس قابل استخراج با هیپوکلریت سدیم (پیوند یافته با مواد آلی، روش سینگ) در ۱۰ خاک آهکی می‌تواند بیانگر نقش برجسته مواد آلی در نگهداری و زیست‌فراهمی مس باشد. چنین ارتباطی در هنگام استفاده از روش تسیر حاصل نشد که می‌تواند حاکی از تناسب هیپوکلریت سدیم (NaOCl) برای استفاده در روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای باشد.

واژه‌های کلیدی: ذرت، زیست‌فراهمی، شکل‌های شیمیایی، هیپوکلریت سدیم

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (مکاتبه کننده)

۳- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*پست الکترونیک: mbarani2002@yahoo.com

مقدمه

توزیع عنصر در جزء‌های مختلف و مشارکت یک عنصر غذایی برای جذب به‌وسیله گیاه دانشی اساسی و مورد نیاز برای فهم شیمی خاک است. جزءبندی بینشی را برای شکل‌های آنها و قابلیت دسترسی آنها فراهم می‌کند. (Luo & Christie, 1996؛ Ma & Uren, 1995). روش عصاره‌گیری دنباله‌ای شامل استفاده پشت سرهم از عصاره‌گیرهای شیمیایی می‌باشد که بر روی یک نمونه انجام می‌شود و برای حل کردن انتخابی اجزای شیمیایی مختلف یک عنصر در نظر گرفته شده‌اند (Filgueiras et al., 2003). قدرت عصاره‌گیرها عموماً مرحله به مرحله در روش افزایش می‌یابد و از شرایط ملایم ابتدایی (عصاره‌گیری با آب، یک محلول نمکی یا اسید استیک رقیق) تا استفاده از واکنشگرهای قوی‌تر (مانند اسیدهای معدنی داغ) پیش می‌رود. از این رو، جزءهایی که در طی مراحل آغازین استخراج می‌شوند عموماً ضعیف‌ترین پیوند را با فاز جامد داشته و لذا پتانسیل تحرک و زیست‌فراهمی بیشتری نسبت به جزءهایی دارند که پس از آنها در مراحل بعد آزاد می‌شوند (Bacon & Davidson, 2008). عصاره‌گیرهای مورد استفاده در روش‌های عصاره‌گیری متوالی بر پایه انتخابگری احتمالی آنها و نیز اختصاصی بودنشان نسبت به شکل‌های شیمیایی معین انتخاب می‌شوند، هرچند در قدرت عصاره‌گیر، حجم و زمان عصاره‌گیری بین روش‌های مختلف تفاوت زیادی وجود دارد (Li et al., 1995). هدف اصلی از جزءبندی مؤثر، تبدیل فلزهای پیوندیافته در فازهای جامد به شکل‌های محلول با استفاده از عصاره‌گیرهای استفاده شده در هر مرحله است (Filgueiras et al., 2003). روش‌های استخراج در روش عصاره‌گیری دنباله‌ای متغیر است. در بعضی جزءها استخراج از طریق جذب سطحی رقابتی و مکانیسم‌های تبادل‌ی آزاد انجام می‌شود در حالی که برای عصاره‌گیری برخی دیگر از جزءها، عصاره‌گیر فاز جاذب را حل می‌کند (Voegelin et al., 2008). خصوصیات شیمیایی یک عصاره‌گیر انتخاب شده، راندمان عصاره‌گیری آن، اثر پارامترهای آزمایشی، توالی مراحل و اثرات ویژه مانند بافر شدن pH و جذب سطحی مجدد از جمله فاکتورهای مهم و مؤثر بر نتیجه عصاره‌گیری هستند (Filgueiras et al., 2003). طبیعت عنصر، شکل شیمیایی عنصر، ماتریکسی که اجزاء باید از آن استخراج شود و تکنیک‌های

قابل دسترس در آزمایشگاه برای اندازه‌گیری نهایی در انتخاب نوع عصاره‌گیر ارتباط دارد (Filgueiras et al., 2003). محققان مختلف برای جداسازی شکل‌های مختلف عناصر کم‌مصرف از ترکیبات گوناگونی استفاده کردند. روش‌های مک‌لارن و کروفرود (Mclaren & Crawford, 1973)، شومن (Shuman, 1985)، تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979)، اسپوزیتو و همکاران (Sposito et al., 1982) و سینگ و همکاران (Singh et al., 1988) از جمله این روش‌ها هستند. انتخاب روش بستگی به همبستگی با پاسخ‌های گیاهی، در دسترس بودن ابزارها و مواد و راحتی روش تجزیه دارد (Ghafarinejad & Karimian, 2007). از سوی دیگر، تناسب و کارایی روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای در پیش‌بینی زیست‌فراهمی عناصر عموماً از طریق مقایسه با مقادیر عناصر در قسمت‌های مختلف گیاه بویژه در بخش هوایی گیاهان ارزیابی می‌گردد (Chaignon et al., 2003)؛ (Brun et al., 2001). این روش‌ها پیش از این برای مطالعه جزءبندی عناصر در خاک مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Qingsong et al., 2013; Vandenhove et al., 2014; Hamdoun et al., 2015; Goleatani Fard et al., 2015). این رو، این پژوهش با هدف مقایسه دو روش عصاره‌گیری تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) و سینگ و همکاران (Singh et al., 1988) برای ارزیابی توزیع شکل‌های مس در تعدادی از خاک‌های زیرکشت استان گلستان و نیز تعیین همبستگی بین این شکل‌ها با پاسخ‌های گیاهی به انجام رسید.

مواد و روش‌ها

با استفاده از گزارش‌های خاک‌شناسی مناطق مختلف استان گلستان، تعداد ۱۰ نمونه مرکب خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر از سری‌های غالب خاک‌های زراعی استان جمع‌آوری گردید. نمونه‌های هوا خشک شده به آرامی کوبیده شده و پس از عبور از الک ۲ میلیمتری، بعضی خواص فیزیکی و شیمیایی آنها با روش‌های استاندارد تعیین شد. مقدار مس قابل استخراج با DTPA (Lindsay & Norvell, 1978) نیز پس از عصاره‌گیری توسط دستگاه جذب اتمی مدل UNICAM 919 AA اندازه‌گیری شد. نام سری و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک‌های انتخاب شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی خاک‌های مورد استفاده
Table 1- Some chemical and physical properties of the used soils

ظرفیت تبادل کاتیونی CEC	شن Sand	سیلت Silt	رس Clay	کربن آلی OC	کربنات کلسیم معادل Calcium Carbonat Eq.	EC _e	pH (1:2)	DTPA ex. Cu	رده بندی خاک Soil Classification	سری خاک Soil Series	شماره خاک Soil No.
cmol _c kg ⁻¹	←			%	→	dS m ⁻¹		mg kg ⁻¹			
14.06	15	74	11	0.88	12.33	0.62	7.43	1.05	Typic Agrixerolls	مینودشت	1
16.17	13	71	16	0.58	32.00	1.88	7.46	1.31	Typic Haploxerolls	علی آباد	2
15.11	41	53	6	0.79	15.17	1.39	7.74	1.14	Typic Haploxerolls	قزلی	3
12.47	9	71	20	0.93	22.00	1.39	7.59	1.21	Typic Endoaquolls	معصوم آباد	4
11.94	9	55	36	0.39	7.50	0.79	7.62	1.89	Typic Haploxerolls	علی آباد	5
15.85	7	60	33	0.85	14.50	0.82	7.54	2.83	Typic Haploxerepts	آزادشهر	6
13.31	28	53	19	0.46	14.83	1.48	7.39	2.12	Typic Endoaquepts	کردکوی	7
13.00	26	49	25	1.00	14.67	0.82	7.60	1.51	Typic Haploxerepts	آزادشهر	8
15.63	5	65	30	1.60	12.67	0.59	7.16	1.52	Typic Haploxerepts	آزادشهر	9
16.69	11	58	31	1.03	10.83	1.10	7.65	3.06	Typic Haploxerepts	قوچ مراد	10
11.94	5	49	6	0.39	7.50	0.59	7.16	1.05			حداقل
16.69	41	74	36	1.60	32.00	1.88	7.74	3.06			حداکثر
11.68	70.48	14.51	43.86	40.11	43.67	39.51	2.20	40.11			ضریب تغییرات (/.)

جدول ۲- خلاصه روش عصاره‌گیری دنباله‌ای و مشخصات شکل مس استخراج شده در روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988)
Table 2- Summary of sequential extraction method and characteristic of extracted Cu form in Singh *et al.* procedure (1988)

نسبت خاک به عصاره گیر Soil:extractant Ratio	ترکیب عصاره گیر Reagent	مدت تکان دادن (ساعت) Shaking time (h)	علامت Abbreviation	شکل شیمیایی مس Cu chemical forms
5:20	1 M Mg(NO ₃) ₂	2	CuEx	محلول + تبادلی (Soluble + Exchangeable)
5:20	1 M NaOAc + CH ₃ COOH (pH = 5)	5	CuCar	کربناتی (Carbonates)
5:10	0.7 M NaOCl (pH = 8.5)	0.5	CuOM	آلی * (bound to organic matter)
5:50	0.1 M NH ₂ OH.HCl + HNO ₃ (pH = 2)	0.5	CuMnox	متصل به اکسیدهای منگنز (associated with Mn oxides)
5:50	0.25 M NH ₂ OH.HCl + 0.25 M HCl	0.5	CuAFeox	متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل (associated with Amorphous Fe oxides)
5:50	0.2 M (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ + 0.2 M H ₂ C ₂ O ₄ + 0.1 M C ₆ H ₈ O ₆	0.5	CuCFeox	متصل به اکسیدهای آهن متبلور (associated with Crystalline Fe oxides)

*: دو بار عصاره‌گیری (two times extraction)

جدول ۳- خلاصه روش عصاره‌گیری دنباله‌ای و مشخصات شکل مس استخراج شده در روش تسییر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979)
Table 3- Summary of sequential extraction method and characteristic of extracted Cu form in Tessier *et al.* procedure (1979)

نسبت خاک به عصاره گیر Soil:extractant Ratio	ترکیب عصاره گیر Reagent	مدت تکان دادن (ساعت) Shaking time (h)	علامت Abbreviation	شکل شیمیایی مس Cu chemical forms
1:8	1 M MgCl ₂	1	CuEx	تبادلی (Soluble + Exchangeable)
1:8	1 M NaOAc + CH ₃ COOH (pH = 5)	5	CuCar	کربناتی (Carbonates)
1:20	0.04M NH ₂ OH/HCl in 25% (v/v) HOAc	6	CuOX	متصل به اکسیدهای آهن و منگنز (associated with Fe and Mn oxides)
1:3/1:5	3 ml 0.02M HNO ₃ + 5 ml 30% H ₂ O ₂ (pH 2)	2		
1:5	5 ml 30% H ₂ O ₂ (pH 2)	3	CuOM	پیوند یافته با مواد آلی (bound to organic matter)
1:5	5 ml 3.2M NH ₄ OAC in 20% (v/v) HNO ₃)	30 (دقیقه)		

(1988) و تسییر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) استفاده
شد. مراحل عصاره‌گیری و ترکیب هر عصاره‌گیر به
روش‌هایی که در پژوهش حاضر بکار رفته به‌طور خلاصه

تعیین شکل‌های شیمیایی مس
برای جداسازی و تعیین شکل‌های شیمیایی مس در
خاک‌ها از دو روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*,)

چند متغیره گام به گام با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت.

نتایج و بحث

توزیع نسبی شکل‌های مختلف مس

بر اساس روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988)، به‌طور میانگین مس محلول به‌اضافه تبادلی حدود ۰/۳ درصد، متصل به کربنات‌ها ۰/۴ درصد، متصل به ماده آلی حدود ۵ درصد، متصل به اکسیدهای منگنز ۱/۳ درصد، متصل به اکسیدهای آهن بی‌شکل ۲۵/۵ درصد، متصل به اکسیدهای آهن متبلور ۳۰/۶ درصد و باقی‌مانده ۳۶/۸ درصد مجموع شکل‌های اندازه‌گیری شده را تشکیل می‌دهند. درحالی‌که در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) نیز مس باقی‌مانده بیشترین میزان مس و مس تبادلی کمترین میزان مس را داراست و ترتیب شکل‌ها از روند زیر پیروی می‌کند: محلول + تبادلی \geq کربناتی > پیوند یافته با مواد آلی > پیوند یافته با اکسیدها > باقی‌مانده.

مقایسه دو روش عصاره‌گیری دنباله‌ای

در این پژوهش از دو روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) و تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) که از روش‌های عصاره‌گیری رایج و متداول در جزءبندی عناصر کم مصرف در خاک است استفاده گردید. تفاوت‌های اصلی این دو روش نوع عصاره‌گیر، تعداد مراحل عصاره‌گیری و ترتیب و توالی مراحل است به‌گونه‌ای که در روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988)، از نیترات منیزیم برای جزء تبادلی استفاده می‌کند درحالی‌که در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) از نمک کلریدی استفاده می‌شود. در روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) جزء قابل احیا شدن به ۳ بخش تقسیم شده است: بخش به راحتی قابل احیا شدن^۱ (اکسیدهای منگنز)، جزئی که به‌صورت متوسط قابل احیا شدن^۲ است (اکسیدهای آهن بی‌شکل) و جزئی که به‌صورت ضعیف قابل احیا شدن^۳ (اکسیدهای آهن متبلور) است و استخراج هر سه جزء پیش از شکل آلی صورت می‌گیرد که بوسیله هیپوکلریت سدیم استخراج می‌گردد در حالی‌که در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*

در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. مقدار مس در جزء باقی‌مانده از کم کردن مجموع شکل‌های مختلف از مس کل به‌دست آمد. غلظت کل مس پس از هضم نمونه‌ها با $\text{HF} + \text{HClO}_4 + \text{HCl}$ (Tessier *et al.*, 1979) تعیین گردید. لازم به ذکر است که جهت به حداقل رساندن تأثیر ماده زمینه، استانداردهای مس در محلول‌هایی که از نظر ترکیب و غلظت تقریباً مشابه عصاره‌گیرهای هر مرحله بود تهیه گردید. بعد از عصاره‌گیری مس توسط روش فوق در هر مرحله غلظت مس بوسیله دستگاه جذب اتمی مدل Unicam 919 قرائت گردید.

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش گلخانه‌ای با کشت گیاه ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ خاک و ۴ تکرار انجام شد. در ابتدا کلیه عناصر غذایی لازم به جز مس (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی منگنز) بر اساس نتایج آزمون خاک به‌صورت محلول به خاک هر گلدان (۵ کیلوگرم) اضافه شده و رطوبت گلدان‌ها به دامنه ۷۰-۹۰ درصد ظرفیت مزرعه رسانده شد. سپس ۱۰ عدد بذر ذرت در عمق مناسب کاشته شده و پس از استقرار و سبز شدن کامل بذور در پایان هفته دوم، تعداد گیاهان هر گلدان به ۳ بوته یکنواخت تنک گردید. در طول دوره رشد گیاه، سعی شد رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه نگه داشته شود. ۹۰ روز پس از کاشت، بخش هوایی گیاهان بریده شده و پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن در آون (۶۵ درجه سانتی‌گراد) توزین و وزن خشک قسمت‌های هوایی گیاه اندازه‌گیری شد. ماده خشک گیاهی حاصل از هر گلدان با آسیاب پودر شده و یک گرم از آن در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شده و سپس در ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال حل گردید (Benton Jones and Case, 1990). نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف و حجم هر نمونه به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و غلظت مس در نمونه‌ها به وسیله دستگاه جذب اتمی تعیین گردید. وزن ماده خشک گیاهی، غلظت مس در گیاه و جذب کل مس از خاک هر گلدان (حاصل‌ضرب وزن ماده خشک در غلظت مس در گیاه) به عنوان پاسخ‌های گیاهی در نظر گرفته شد. مطالعات آماری شامل ضرایب همبستگی خطی و رگرسیون

3- Poorly – reducible

1- Easily reducible

2 -Moderately reducible

عصاره‌گیری اکسیدهای فلزی (فاز قابل احیا شدن) قرار دارد. علاوه بر این، در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) یک مرحله اضافی عصاره‌گیری با استات آمونیوم برای جلوگیری از جذب سطحی مجدد فلز پس از مرحله استخراج با آب اکسیژنه نیز نیاز دارد.

(*al.*, 1979) استخراج همزمان اکسیدهای آهن و منگنز از طریق استفاده از یک محلول هیدروکسیل آمین ۰/۰۴ مولار تهیه شده در اسید استیک ۲۵ درصد حجمی انجام می‌شود (Gleyzes *et al.*, 2002؛ Filgueiras *et al.*, 2002) و استخراج ماده آلی بوسیله آب اکسیژنه، بعد از مرحله‌ی

جدول ۴- مقایسه شکل‌های مختلف مس (میکروگرم در گرم خاک) در خاک‌های مورد مطالعه با دو روش عصاره‌گیری دنباله‌ای
Table 4- Comparison of different forms of Cu ($\mu\text{g/g}$) in studied soils with two sequential extraction methods

باقی‌مانده (Residual)	پیوند یافته با مواد آلی (bound to organic matter)		پیوند یافته با اکسیدها (associated with oxides)		کربناتی (Carbonates)		قابل تبادل (Exchangeable)		شماره خاک Soil No.	
Singh Tessier	Singh Tessier	Singh Tessier	Singh Tessier	Singh Tessier	Singh Tessier	Singh Tessier	Singh Tessier	Singh Tessier		
تفاضل کل و مجموع شکل‌ها Toal - $\sum\text{Cu}$ forms	هیپوکلریت سدیم NaOCl	آب اکسیژنه H_2O_2	$\text{NH}_2\text{OH.HCl} +$ $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4^*$	$\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ pH=2	استات سدیم NaOAc	استات سدیم NaOAc	نیترات منیزیم $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	کلرید منیزیم MgCl_2		
28.08	54.08	5.19	8.44	32.73	2.90	0.43	0.74	0.56	0.85	1
37.52	75.48	5.00	5.68	42.65	3.50	0.55	0.90	0.28	0.44	2
30.37	32.51	2.29	0.64	15.02	14.25	0.14	0.24	0.28	0.36	3
33.26	23.11	3.00	7.03	18.39	24.00	0.19	0.48	0.16	0.39	4
20.24	56.66	2.32	4.49	42.91	3.90	0.33	0.65	0.20	0.30	5
5.21	37.06	1.72	5.96	41.55	5.60	0.42	0.45	0.11	0.23	6
4.68	46.23	1.56	7.68	52.48	4.43	0.19	0.28	0.09	0.21	7
19.63	55.71	4.88	5.98	42.13	4.50	0.25	0.45	0.12	0.36	8
7.00	71.94	2.67	1.66	71.03	6.50	0.13	0.26	0.17	0.64	9
56.86	66.93	0.39	4.70	16.29	1.50	0.23	0.40	0.23	0.48	10
24.28 ^b	51.97 ^a	2.90 ^b	5.23 ^a	37.52 ^a	7.11 ^b	0.29 ^b	0.49 ^a	0.21 ^b	0.43 ^a	میانگین

* مجموع مس پیوند یافته با اکسیدهای منگنز، اکسیدهای آهن بی شکل و اکسیدهای آهن متبلور

Sum of Cu bounded with Mn oxides, Amorphous Fe oxides and Crystalline Fe oxides

برتری نمک‌های نیتراتی بر کلریدی بوده و استفاده از نمک‌های خنثی با بنیان‌های نیتراتی را در استخراج جزء تبادلی در روش‌های جزءبندی توصیه می‌کنند از آن جمله رحمان خان (Rahman Khan, 2001) بیان کرده است که یک الکترولیت که شامل یون‌های نیترات است اغلب ترجیح داده می‌شود که در استخراج مس قابل تبادل استفاده شود زیرا تغییر محسوسی در pH ایجاد نمی‌کند و نیز دیگر بخش‌ها را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد. اسپوزیتو و همکاران (Sposito *et al.*, 1982)، شومن (Shuman, 1985) و سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) نیز معتقدند که آنیون کلرید یک آنیون کمپلکس‌کننده قوی‌تری نسبت به نیترات بوده و بدین دلیل از نمک نیترات در روش‌های جزءبندی خود استفاده کردند. پیکرینگ (Pickering, 1986) بیان نموده است که به نمک‌های نیتراتی توجه کمتری شده است و این ماده حداقل به همان اندازه نمک‌های کلرید مؤثر است و از

همان‌طور که مشاهده می‌شود (جدول ۴) در هر دو روش مورد استفاده در بین شکل‌های مختلف، کمترین مقدار مربوط به شکل تبادلی است هرچند که بنظر می‌رسد کلرید منیزیم قادر به استخراج مقدار بیشتری از مس در خاک‌های مورد مطالعه است. با توجه به پایین بودن مقدار مس تبادلی در تمامی خاک‌های مورد بررسی، بنظر نمی‌رسد کلرید منیزیم بر نیترات منیزیم برتری قابل توجهی داشته باشد و انتخاب هر کدام از این دو می‌تواند بر اساس قابل دسترس بودن در آزمایشگاه مد نظر قرار گیرد. ضریب همبستگی مثبت معنی‌دار بین این دو شکل در سطح ۱ درصد ($r=0.838^{**}$) نیز می‌تواند مؤید این استنتاج باشد. نمک‌های خنثی با آنیون‌های غیر کمپلکس‌کننده از جمله $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ برای استخراج فلزات قابل تبادل در pH خاک ترجیح داده می‌شوند. از این‌رو، برخی محققان بنا به دلایلی معتقد به

سوی دیگر کمپلکس مس بوسیله یون‌های کلر نیز اتفاق نمی‌افتد. واکنشگری که عمدتاً در روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای برای رهاسازی جزء فلزی متصل با کربنات‌ها بکار رفته است، استات سدیم - اسیداستیک بافر شده در غلظت یک مولار و در $\text{pH} = 5$ است (Filgueiras et al., 2002). این واکنشگر می‌تواند بدون حمله‌ی قابل توجه به مواد آلی، اکسیدهای آهن و منگنز و آلومینوسیلیکات‌ها، کربنات‌ها و دولومیت را حل کند (Filgueiras et al., 2002). با این وجود انحلال دولومیت توسط این واکنشگر به‌طور کامل صورت نمی‌گیرد (Gleyzes et al., 2002). هر دو روش سینگ و همکاران (Singh et al., 1988) و تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) نیز برای فلزات پیوندیافته با کربنات‌ها از استات سدیم (NaOAC) یک مولار $\text{pH} = 5$ استفاده می‌کنند. در خاک‌های مورد بررسی، شکل کربناتی مس $0/74$ و $0/44$ درصد از مس کل را به‌ترتیب در روش‌های تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) و سینگ و همکاران (Singh et al., 1988) به خود اختصاص داده است. فیلگورز و همکاران (Filgueiras et al., 2002) اظهار داشتند که کربنات زمانی می‌توانند جذب‌کننده‌ی مهمی برای تعداد زیادی از فلزات باشد که مواد آلی و اکسیدهای آهن و منگنز فراوانی کمتری در سیستم‌های آبی داشته باشند. آنان همچنین بیان کردند جزء کربناتی درصد نسبتاً کمی از غلظت کل فلز را دربر می‌گیرند. در این تحقیق نیز غلظت مس در گیاه ذرت با مس کربناتی بدست آمده با هر دو روش همبستگی معنی‌داری نشان داد (جدول ۵) اما این رابطه‌ها منفی بود. این امر احتمالاً می‌تواند مؤید اثر منفی کربنات‌ها بر قابلیت استفاده مس در خاک‌های مورد مطالعه باشد. می‌توان این‌گونه تصور کرد که این جزء، مس را به طریقه‌ای نگه‌داری می‌کند که منجر به غیر قابل استفاده شدن آن توسط گیاه می‌شود. نکته قابل تأمل دیگر در جدول ۴ بیشتر بودن مقدار مس کربناتی استخراجی در روش تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) نسبت به روش سینگ و همکاران (Singh et al., 1988) است؛ اگرچه نوع عصاره‌گیر و مرحله‌ی استخراج برای هر دو روش یکسان است. دلیل این امر می‌تواند به نسبت متفاوت خاک به عصاره‌گیر در این دو روش باشد. در روش تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) این نسبت ۱:۸ بوده در حالی که نسبت خاک به عصاره‌گیر در روش سینگ و همکاران

می‌باشد لذا در روش تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) حجم واکنشگر در محیط بیشتر بوده و استخراج بیشتری رخ داده است. با این وجود همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r=0/89^{**}$) بین مس کربناتی استخراجی دو روش بدست آمد. یکی از تفاوت‌های اصلی و عمده دو روش تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) و سینگ و همکاران (Singh et al., 1988) نوع عصاره‌گیر مورد استفاده و مرحله استخراج جزء آلی است. همانگونه که پیش از این اشاره گردید در روش تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) از آب اکسیژنه برای استخراج جزء آلی و پس از مرحله‌ی عصاره‌گیری اکسیدهای فلزی استفاده می‌شود و نیز برای جلوگیری از جذب سطحی مجدد فلز پس از مرحله استخراج با آب اکسیژنه یک مرحله اضافی عصاره‌گیری با استات آمونیوم نیز انجام می‌شود در حالی که در روش سینگ و همکاران (Singh et al., 1988) شکل آلی بوسیله هیپوکلریت سدیم و قبل از جداسازی جزءهای اکسیدی استخراج می‌گردد.

از نتایج ارائه شده در جدول ۴ می‌توان دریافت که مقدار مس پیوند یافته با مواد آلی استخراج شده توسط آب اکسیژنه حدود ۲ برابر مقدار جداسازی شده بوسیله هیپوکلریت سدیم است با این وجود ارتباط معنی‌داری بین جزء آلی روش تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) با غلظت مس گیاه بدست نیامده است (جدول ۵) در حالی که همبستگی معنی‌دار اما منفی ($r=-0/692^{*}$) بین جزء آلی استخراج شده توسط هیپوکلریت سدیم و غلظت مس گیاه مشاهده گردید (جدول ۵).

از این نتیجه دو نکته را می‌توان استنباط کرد. نخست آن که به‌نظر می‌رسد مواد آلی از طریق جذب اختصاصی مس اثری منفی بر مقدار مس قابل استفاده گیاه دارد. جذب اختصاصی مس به تشکیل کمپلکس‌های پایدار بین یون مس و گروه‌های عامل ویژه در سطح کلویدهای آلی و غیر آلی خاک اشاره دارد. در جذب اختصاصی، یون‌ها با قدرت بسیار زیادی بوسیله بارهای سطحی نگه‌داری می‌شوند (Rahman Khan, 2001). استیون سون و فتیج (Stevenson & Fitch, 1981) بیان کردند که کلویدهای آلی نقش بسیار اساسی را در نگهداری مس در خاک ایفا می‌کنند. زالیدیس و همکاران (Zalidis et al., 1999) نیز بیان داشتند که رفتار ماده آلی با فلزات متفاوت است به‌گونه‌ای که در مورد مس، کمپلکس ماده آلی با مس

ارتباط معنی‌داری بین جزء آلی روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) (استخراج شده با آب اکسیژنه) با غلظت مس گیاه و مشاهده همبستگی معنی‌دار بین جزء آلی استخراج شده توسط هیپوکلریت سدیم و غلظت مس گیاه (روش Singh *et al.*, 1988) می‌توان اینگونه استنتاج کرد که هیپوکلریت سدیم واکنشگر مناسب‌تری نسبت به آب اکسیژنه برای اکسایش مواد آلی و جداسازی عناصر پیوند یافته با این جزء است. به‌طور کلی، استخراج فلزات پیوند یافته با مواد آلی با مشکلاتی همراه است. اکسیداسیون مواد آلی بوسیله H_2O_2 با استفاده از روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) یا روش‌های مشابه دارای مشکلاتی است. اکسیداسیون ناقص و واکنش بیش از حد با H_2O_2 منجر به بیرون پاشیدن نمونه از لوله سانتریفیوژ می‌گردد. علاوه بر این، محلول‌های H_2O_2 یک مایع شفاف و تمیز بین ماده جامد و فاز مایع در اثر سانتریفیوژ کردن ایجاد نمی‌کند.

موجب کاهش قابلیت جذب گیاهی آن می‌گردد. لیانگ و همکاران (Liang *et al.*, 1991) نیز بر روی سرنوشت مس اضافه شده به خاک در خاک‌های ساسکاچوان مطالعه کرده و دریافتند که مواد آلی و سزکویی اکسیدها مهمترین ترکیبات مسئول در جذب سطحی مس اضافه شده هستند. همچنین مولینز و همکاران (Mullins *et al.*, 1982) مشاهده کردند که مس پیوند یافته با مواد آلی و محبوس شده بوسیله سزکویی اکسیدها بیشتر مس افزوده شده را جذب می‌کنند. آنان بیان کردند که این شکل‌های مس به عنوان شکل‌های غیرقابل دسترس مدنظر قرار می‌گیرند. وجود رابطه منفی و معنی‌داری ($r = -0.752^*$) بین مس قابل استخراج با DTPA و مس پیوند یافته با مواد آلی نیز این نظریه را تقویت می‌کند (جدول ارائه نشده است). هرچند، همبستگی‌های مثبت و معنی‌داری بین شکل آلی این عنصر و غلظت و جذب کل آن در گیاه نیز گزارش شده است (Gunkel *et al.*, 2003; Yu & Zhou, 2006; Zolfi & Bavaryani & Maftoun, 2010). افزون بر این، عدم وجود

جدول ۵- مقایسه همبستگی شکل‌های شیمیایی در خاک‌ها با پاسخ‌های گیاهی با دو روش عصاره‌گیری دنباله‌ای

Table 5- Correlation comparison of chemical forms in soils with plant responses with two sequential extraction methods

وزن ماده خشک گیاهی Dry matter	جذب کل مس Plant uptake	غلظت مس در گیاه Cu concentration in plant	شکل‌های مس Cu chemical forms	روش عصاره‌گیری دنباله‌ای sequential extraction methods
-0.258	-0.804**	-0.837**	Cu-Ex	سینگ و همکاران (1988) (Singh <i>et al.</i> , 1988)
0.458	-0.464	-0.769**	Cu-Car	
0.202	-0.489	-0.692*	Cu-OM	
-0.415	-0.497	-0.370	Cu-Mnox	
-0.090	-0.143	-0.101	Cu-AFeox	
0.348	0.306	0.171	Cu-CFeox	
0.013	-0.180	-0.209	Cu-Res	
-0.407	-0.671	-0.607	Cu-Exch	تسیر و همکاران (1979) (Tessier <i>et al.</i> , 1979)
0.277	-0.620	** -0.859	Cu-Car	
-0.517	-0.087	0.178	Cu-Ox	
0.169	-0.144	-0.285	Cu-OM	
-0.407	-0.671*	-0.607	Cu-Res	
0.346	0.568	0.487	DTPA ex. Cu	مس کل (Total Cu)
0.170	-0.267	-0.378		

1983؛ Miller *et al.*, 1986). از سوی دیگر، هیپوکلریت سدیم بطور انتخابی مواد آلی را با حداقل لطمه و ضربه به فازهای کربنات، اکسیدهای فلزی و رس‌های سیلیکاتی در

ذرات ریز رس در اثر قل قل زدن H_2O_2 در محلول معلق باقی می‌ماند (Amacher, 1996). علاوه بر این، پراکسید هیدروژن فلزات پیوند یافته با مواد آلی را استخراج می‌کند اما اکسیدهای فلزی را نیز استخراج خواهد کرد (Shuman,

با اکسیدهای منگنز، اکسیدهای آهن بی شکل و اکسیدهای آهن متبلور در روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) حدود ۵ برابر مقدار برآورد شده از طریق استخراج همزمان در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) است. با این وجود مس استخراج شده با روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد با مجموع مس پیوند یافته با اکسیدهای آهن (بی شکل و آهن متبلور) ($r=0.892^{**}$) و مجموع مس پیوند یافته با اکسیدهای روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) (آهن بی شکل و متبلور و منگنز) نشان داد ($r=0.886^{**}$). هرچند همبستگی معنی‌داری بین مس استخراج شده با روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) و اجزاء اکسیدی جداسازی شده با روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) مشاهده نگردید (جدول ارائه نشده است). همچنین دو جزء اکسیدهای آهن بی‌شکل و متبلور با ضریب‌های مثبت در معادله رگرسیونی مربوط به مس متصل به اکسیدهای استخراج شده با روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) وارد شده‌اند.

$$\text{CuOx} = -0.572 + 0.163 \text{ CuCFeox} + 0.056 \text{ CuCFeox} \\ R^2 = 0.996^{**}$$

از نتایج یاد شده اینگونه استنباط می‌شود که در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) محلول هیدروکسیل آمین قادر به استخراج همزمان اکسیدهای آهن (بی شکل و متبلور) و منگنز در یک مرحله به‌طور کامل نیست. توانایی هیدروکسیل آمین هیدروکلراید برای حل کردن اکسیدهای فلزی مختلف وابسته به pH، غلظت، دما و زمان استخراج است (Gleyzes *et al.*, 2002). بنا بر ادعای گلپیز و همکاران (Gleyzes *et al.*, 2002) انحلال کامل اکسیدهای منگنز، اکسیدهای آهن بی‌شکل و بخشی از اکسیدهای آهن متبلور از طریق کاهش pH محلول عصاره گیر (pH=۱/۷)، افزایش غلظت هیدروکسیل آمین هیدروکلراید به ۰/۲۵ مولار و دو برابر شدن نسبت جامد/ مایع امکان‌پذیر است. همچنین همبستگی معنی‌داری بین مس متصل به اکسیدهای استخراج شده با روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) و اجزاء اکسیدی جداسازی شده با روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) با غلظت و جذب مس گیاه مشاهده نگردید (جدول ۵). مک لارن و کرافورد (McLaren & Crawford, 1973) بیان داشتند که مس

خاک اکسید خواهد کرد. اما متاسفانه، در pH بالای عصاره-گیری (pH=۸/۵)، جذب سطحی مجدد یونهای فلزی آزاد شده در طی اکسیداسیون مواد آلی بوسیله باقیمانده فازهای معدنی محتمل است. NaOCl بایستی پیش از هر کدام از عصاره‌گیری‌های اکسید فلزی مورد استفاده قرار گیرد در حالی که H₂O₂ بایستی پس از تمامی مراحل استخراج اکسید فلزی مورد استفاده قرار گیرد (Amacher, 1996). با این وجود، استفاده از هیپوکلریت سدیم به عنوان یک عامل اکسید کننده در شرایط آهکی، به تخریب بهتر مواد آلی و به حداقل رساندن حمله به اجزای سازنده بی شکل و کانی‌های رسی ختم می‌شود (Gleyzes *et al.*, 2002). اوموتی (Omueti, 1981) نیز بیان داشت که هیپوکلریت سدیم نسبت به آب‌اکسیژنه برای استخراج مواد آلی موثرتر بوده و تخریب کمتر کربنات و اکسیدها نیز اتفاق می‌افتد. فیلگورز و همکاران (Filgueiras *et al.*, 2002) بیان داشتند که هیپوکلریت سدیم در pH= ۸/۵ هیچ یک از اکسیدهای آهن و منگنز را حل نمی‌کند و برای استخراج کربن آلی نسبت به پراکسید هیدروژن ترجیح داده می‌شود. عصاره-گیری عموماً در pH= ۸/۵ با هیپوکلریت سدیم ۰/۷ مولار در دمای بالا اتفاق می‌افتد. این روش عموماً به عنوان مرحله دوم در روش جزءبندی بعد از مرحله قابل تبادل استفاده می‌شود (Gleyzes *et al.*, 2002). با این وجود، در هنگام استفاده از این عصاره گیر در مورد خاک‌های آهکی، بخش قابل توجهی از جزء کربناتی حل می‌شود (Gleyzes *et al.*, 2002). بنابراین در مورد خاک‌های آهکی، این عصاره‌گیری باید بعد از مرحله‌ی قابل حل در اسید (کربناتی) قرار گیرد (Gleyzes *et al.*, 2002).

اکسیدهای خاک سطح واکنش‌پذیری برای جذب مقدار مشخصی از مس دارند. مس می‌تواند به طور اختصاصی توسط اکسید آهن و منگنز و آلومینیوم جذب شود (Rahman Khan, 2001). در روش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1988) جزء متصل به اکسیدها به ۳ بخش تقسیم شده است: اکسیدهای منگنز، اکسیدهای آهن بی شکل و اکسیدهای آهن متبلور. درحالی‌که تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) از یک محلول هیدروکسیل آمین ۰/۰۴ مولار تهیه شده در اسید استیک ۲۵ درصد حجمی برای استخراج همزمان اکسیدهای آهن (بی شکل و متبلور) و منگنز استفاده کردند (Gleyzes *et al.*, 2002). دقت در داده‌های جدول ۴ نشان می‌دهد که مجموع مس پیوند یافته

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که مقدار مس پیوند یافته با مواد آلی استخراج شده توسط آب اکسیژنه حدود ۲ برابر مقدار جداسازی شده بوسیله هیپوکلریت سدیم است با این وجود ارتباط معنی‌داری بین جزء آلی روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) با غلظت مس گیاه بدست نیامده است درحالی‌که همبستگی معنی‌دار اما منفی ($r = -0.692^*$) بین جزء آلی استخراج شده توسط هیپوکلریت سدیم (Singh *et al.*, 1988) و غلظت مس گیاه مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان داد که مجموع مس پیوند یافته با اکسیدهای منگنز، اکسیدهای آهن بی شکل و اکسیدهای آهن متبلور در روش تسیر و همکاران (Singh *et al.*, 1988) حدود ۵ برابر مقدار برآورد شده از طریق استخراج همزمان در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) است. این امر ممکن است ناشی از انحلال ناقص اکسیدهای آهن (بی شکل و متبلور) و منگنز توسط محلول هیدروکسیل آمین در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) باشد. دو برابر بودن میزان مس باقی‌مانده بدست آمده در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) نسبت به مس باقی‌مانده برآورد شده توسط روش تسیر و همکاران (Singh *et al.*, 1988) می‌تواند مؤید این یافته باشد که محلول هیدروکسیل آمین قادر به احیاء و جداسازی همزمان اکسیدهای آهن (بی شکل و متبلور) و منگنز در یک مرحله نیست.

موجود در محلول خاک، تبادلی و نیز و پیوند یافته آلی در تعادل با یکدیگر بوده و بیانگر شکل‌های قابل دسترس برای جذب گیاه می‌باشند درحالی‌که شکل‌های اکسیدی و باقیمانده مس برای گیاهان نسبتاً غیرقابل دسترس می‌باشند. هرچند در برخی از پژوهش‌ها همبستگی معنی‌داری بین مس متصل با اکسیدهای آهن و منگنز با شاخص‌های گیاهی گزارش شده است (Liang *et al.*, 1991; Bakircioglu *et al.*, 2011).

نتیجه قابل ذکر دیگر این است که میزان مس باقی‌مانده بدست آمده در روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) بیش از دو برابر میزان مس باقی‌مانده برآورد شده توسط روش تسیر و همکاران (Singh *et al.*, 1988) است که خود می‌تواند مؤید یافته‌های پیشین باشد که محلول هیدروکسیل آمین قادر به احیاء و جداسازی همزمان اکسیدهای آهن (بی شکل و متبلور) و منگنز در یک مرحله به‌طور کامل نبوده و لذا بر مقدار مس برآورد شده در شکل باقی‌مانده اضافه شده است. تعدادی از محققان نیز تأیید کرده‌اند که انحلال ناقص اکسیدهای آهن در طی مرحله احیاء روش تسیر و همکاران (Tessier *et al.*, 1979) منجر به زیاد برآورد شدن جزء باقی‌مانده می‌شود (Barona & Romero, 1996; Force & Fendorf, 2000; Gleyzes *et al.*, 2002). مارتین و همکاران (Martin *et al.*, 1996) نیز دریافته‌اند که زمان تماس توصیه شده، گاهی برای گونه‌های جذب سطحی شده کافی نبوده و در طول مرحله بعدی به علت اثرات سینتیکی، عصاره‌گیری فلزی را افزایش می‌دهد.

References

- Alloway B.J. 1995. Heavy Metals in Soils, Blackie Academic and Professional, Glasgow. 368 p.
- Amacher M.C. 1996. Nickel, Cadmium and Lead. In: Sparks, D. L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. American Society of Agronomy, Madison, WI. pp. 739-768.
- Bacon J.R., and Davidson C.M. 2008. Is there a future for sequential chemical extraction? *Analyst*, 133: 25-46.
- Bakircioglu D., Y. Bakircioglu Kurtulus and H. Ibar. 2011. Investigation of trace elements in agricultural soils by BCR sequential extraction method and its transfer to wheat plants. *Journal of Environmental Monitoring and Assessment*, 175:303-314.
- Barona A., and Romero F. 1996. Fractionation of lead in soils and its influence on the extractive 559 cleaning with EDTA. *Environmental Technology*, 17: 63-70.
- Benton Jones J., and Case V.W. 1990. Sampling, handling and analyzing plant tissue samples, In: Westerman, R.L. (Ed.), Soil testing and plant analysis, 3rd ed., Book series No. 3. SSSA, Inc., Madison, WI., USA. pp. 389-428
- Brun L.A., Maillet J., Hinsinger P., and Pe'pin M. 2001. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental Pollution*, 111: 293-302.

- Chaignon V., Sanchez-Neira I., Herrmann P., Jaillard B., and Hinsinger P. 2003. Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. *Environmental Pollution*, 123: 229–238.
- Filgueiras A. V., Lavilla I., and Bendicho C. 2002. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *Journal of Environmental Monitoring*, 4(6): 823-857.
- Force M.J. La, and Fendorf S. 2000. Solid-Phase Iron Characterization during common selective sequential extractions. *Soil Science Society of America Journal*, 64:1608- 1615.
- Ghafarinejad A., and Karimian N. 2007. Determination of chemical forms of Mn in relation to Soybean response in some soils of Fars province. *Journal of Scientific and Technological Agriculture and Natural Resources*, 1: 125-135. (In Persian)
- Gleyzes Ch., Tellier S., and Astruc M. 2002. Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. *Analytical chemistry*, 21(6-7): 451-467.
- Golestani Fard A.R., Mirseyed Hosseini H., Aryan A., Abbaszadeh Dahaji P., and Tafvizi M. 2015. Changes of chemical forms of Zinc in the rhizosphere of some turnip and radish cultivars. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 4(4):193-214. (In Persian)
- Gunkel P., Roth E., and Fabre B. 2004. Sequential extraction of copper from soils and relationships with copper in maize. *Environmental Chemistry Letters*, 2:99–103 .
- Hamdoun H., Leleyter L., Van-Veen E., Coggan J., Basset B., Lemoine M., and Baraud F. 2015. Comparison of three procedures (single, sequential and kinetic extractions) for mobility assessment of Cu, Pb and Zn in harbour sediments. *Comptes Rendus Geoscience*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crte.2015.03.003>.
- Li X., Coles B. J., Ramsey M. H., and Thornton I. 1995. Sequential extraction of soils for multielement analysis by ICP-AES. *Chemical Geology*, 124: 109-123.
- Liang J., Stewart J.W.B., and Karamanos R. E. 1991. Distribution and plant availability of soil copper fractions in Saskatchewan. *Canadian Journal of Soil Science*, 71: 89- 99.
- Lindsay W. L., and Norvell W. A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42: 421-428.
- Luo Y.M. and Christie, P. 1996. Chemical fractions of copper and zinc in organic-rich particles from aqueous extracts of a metal-contaminated granite soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 27: 2973-2986.
- Ma Y.B., and Uren N.C. 1995. Application of a new fractionation scheme for heavy metals in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26: 3291- 3303.
- Martin N., Schuster I; Peiffer, S. 1996. Two experimental methods to determine the speciation of Cadmium in sediment from the river Neckar. *Acta Hydrochimica Hydrobiologica*, 24: 68-76.
- Mclaren R.G., and Crawford D.V. 1973. Studies on soil copper: I. The fractionation of copper in soils. *European Journal of Soil Science*, 24: 172-181.
- Miller W.P., Martens D.C; and Zelazny, L.W. 1986. Short term transformation of copper in copper amended soils. *Journal of Environmental Quality*, 16: 176- 181.
- Mullins G.L., Martens D.e., Miller W.P., Kornegay E.T., and Hallock D.L. 1982. Copper availability, form, and mobility in soils from three annual copper enriched hog manure applications. *Journal of Environmental Quality*, 11: 316-320.
- Omueti J.A. I. 1981. The effect of H₂O₂ and NaOCl pretreatment for organic matter removal on selected mineral constituents in some Nigerian soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 12(2): 139-146.
- Pickering W.F. 1986. Metal ion speciation-soils and sediments (a review). *Ore Geology Reviews*, 1: 83-146.
- Qingsong H., Yue R., Ibrahim M., Maha A., Waseem H., and Fangui Z. 2013. Assessment of Trace and Heavy Metal Distribution by Four Sequential Extraction Procedures in a Contaminated Soil. *Soil and Water Research*, 8: (2): 71–76.
- Rahman Khan M. A. 2001. Transformation and plant availability of copper pasture soils. Ph. D thesis of Soil Sciences. Massey University, Palmerston North, New Zealand. 260 p.

- Reyhanitabar A., Karimian N., Ardalan M., Savaghebi Gh. R., and Ghanadha M.R. 2006. Distribution of different forms of Zn and its relation with soil properties in some calcareous soils of Tehran province. *Journal of Scientific and Technological Agriculture and Natural Resources*, 3: 125-135. (In Persian)
- Salomons W. and Forstner U. 1984. Metals in the hydrocycle. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 267p.
- Shuman L.M. 1985. Frsctionation method for soil microelements. *Soil Science*, 140: (1): 11-22.
- Shuman L.M. 1983. Sodium hypochlorite methods for extracting micronutrients and their distribution among fractions. *Soil Science Society of America Journal*, 47: 656-660.
- Singh J.P., Karwasra S.P.S., and Singh M. 1988. Distribution and forms of copper, Iron, manganese, and Zinc in calcareous soils of Iindia. *Soil Science*, 146(5): 359- 366.
- Sposito G., Lund L.J., and Chang A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in soil phases. *Soil Science Society of America Journal*. 46: 260–264.
- Stevenson F.J. and Fitch A. 1981. Reactions with organic matter. In J. F. Loneragan, A.D. Robson and R.D. Graham. (Eds.), Copper in soils and plants. Academic press, Newyork. pp. 69-95.
- Tessier A., Campbell P.G.C., and Bisson M., 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51: 844-851.
- Vandenhove H., Vanhoudt N., Duquene L., Antunes K., and Wannijn L. 2014. Comparison of two sequential extraction procedures for uranium fractionation in contaminated soils. *Journal of Environmental Radioactivity*, 137: 1-9.
- Voegelin A., Tokpa G., Jacquat O., Barmettler K., and Kretschmar R. 2008. Zinc fractionation in contaminated soils sequential and single extractions: influence of soil properties and zinc content. *Journal of Environmental Quality*, 37: 1190-1200.
- Yu Y., and Zhou Q.X. 2006. Impacts of soybean growth on Cu speciation and distribution in two rhizospher soils. *Biology and Fertility of Soils*, 42(5): 450- 456.
- Zalidis G., Barbayiarinis N., and Matsi T. 1999. Forms and distribution of heavy metals in soils of the axios delta of northern Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 30: 817- 827.
- Zolfi bavaryani M. and Maftoun M. 2010. Effect of zinc, copper and their chemical forms on growth and chemical composition of rice in a calcareous soil. *Journal of Scientific and Technological Agriculture and Natural Resources*, 14(54): 111-120. (In Persian)

Comparison of Two Sequential Extraction Procedures for Copper Fractionation in Some Soils of Golestan Province

Hadi Alavi¹, Mojtaba Barani Motlagh^{2*}, Esmail Dordipour³

(Received: January 2016 Accepted: November 2016)

Abstract

The different fractions of soil metals vary considerably in their chemical reactivity and bioavailability. The distribution of metals among soil components is important for assessing the soils potential to supply sufficient micronutrients for the growth of plant. The sequential extraction procedures have been used to identify and evaluate the mobility and the availability of the metals in soil samples. Ten soil samples with a wide range of chemical and physical properties were collected from agricultural soils of Golestan province. The extractability and solid-phase fractionation of copper (Cu) in the soils was determined by two different sequential extraction procedures and then studied relationship between this fractions together and with plant uptake. Results indicated that the amounts of Cu present in exchangeable form and associated with carbonates were very small (0.3 and 0.4%, respectively). Copper in these soils was dominantly associated with mineral lattices (Tessier procedure: 80%; Singh procedure: 37%). In the remaining fractions i.e. (associated with organic matter and associated with Mn and Fe oxides), the results obtained by Tessier et al. procedure were differed considerably from those obtained by employing Singh et al. procedure. This study demonstrated that dissolution of iron oxides was incomplete during the reductive step of Tessier's scheme, leading to an overestimation of the residual fraction. Strong and negative correlation ($r=-0.692^*$) was found between plant Cu concentration and the Sodium hypochlorite-extractable Cu (associated with organic matter, Singh procedure) in the 10 calcareous soils, suggesting a prominent role of organic matter in the retention and bioavailability of Cu. Such relation was not observed when employing Tessier's scheme, suggesting suitability of NaOCl for use in the sequential extraction procedures.

Keywords: Bioavailability, Chemical forms, Maize, NaOCl

1- M.Sc. Graduate, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

2- Associate Professor, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

3- Associate Professor, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

* Corresponding author Email: mbarani2002@yahoo.com