

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات خاک و آب کشور
بخش آزمایشگاه ها

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک

اندازه گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک

SWRI-S-108

شماره ثبت:

Rev-01-1403/10

ویرایش اول:

۱۴۰۳



روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک		بخش آزمایشگاه‌ها	

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک

اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک

نقل مطالب با ذکر منبع بلامانع است.

نشانی: کرج، میدان استاندارد، جاده مشکین‌دشت، بلوار امام خمینی (ره)، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور

صندوق پستی: ۳۱۷۸۵-۳۱۱

کد پستی: ۳۱۷۷۹۹۳۵۴۵

تلفن: ۰۲۶-۳۶۲۰۱۹۰۰

نمابر: ۰۲۶۳۶۲۱۰۱۲۱

پست الکترونیکی: info@swri.ir

وبسایت: <http://www.swri.ir>

مسئولیت صحت مطالب به عهده نگارندگان است.

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
		اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها

فهرست مطالب

- ۱- مقدمه ۱
- ۲- روش‌های اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم ۲
- ۱-۲- اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم با استفاده از طیف‌سنجی جذب اتمی ۲
- ۱-۲-۱- اصول ۲
- ۱-۲-۲- وسایل ۴
- ۱-۲-۳- مواد و/یا واکنشگرها ۵
- ۱-۲-۴- روش کار ۶
- ۱-۲-۵- محاسبات و گزارش نتایج ۶
- ۲-۲- طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القایی ۷
- ۲-۲-۱- وسایل ۷
- ۲-۲-۲- مواد و/یا واکنشگرها ۷
- ۲-۲-۳- روش کار ۸
- ۲-۲-۴- محاسبات و گزارش نتایج ۸
- ۳-۲- اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم به روش تیتراسیون با EDTA ۹
- ۳-۲-۱- اصول ۹
- ۳-۲-۲- مواد و/یا واکنشگرها ۱۲
- ۳-۲-۳- روش کار ۱۴
- الف) استاندارد کردن محلول دی سدیم EDTA ۱۴
- ب) اندازه‌گیری مجموع کلسیم و منیزیم ۱۵
- ج) اندازه‌گیری کلسیم ۱۷
- د) اندازه‌گیری یون کلسیم با استفاده از معرف مورکساید ۱۷
- ه) اندازه‌گیری منیزیم ۱۸
- ۳-۲-۴- محاسبات و گزارش نتایج ۱۸

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک		
		بخش آزمایشگاه‌ها	

۱- مقدمه

کلسیم و منیزیم عناصر ضروری برای گیاه بوده و به فراوانی در خاک یافت می‌شوند [۱]. کلسیم برای نفوذپذیری غشاء، انتقال املاح و حفظ ساختار سلولی ضروری است. منیزیم برای بسیاری فعالیت‌های سلولی مانند تولید کلروفیل II، سنتز پروتئین، تنظیم pH و تعادل کاتیون-آنیون ضروری است [۲]. با توجه به اینکه بسیاری از ویژگی‌های شیمیایی کلسیم و منیزیم مشابه هستند، هر دوی آن‌ها در گروه شیمیایی عناصر قلیای خاکی در جدول تناوبی قرار گرفته‌اند [۳]. این ویژگی‌ها باعث می‌شود که آن‌ها به صورت انواع کانی‌های کربناتی، سولفاتی، سیلیکاتی، فسفاتی و غیره با حلالیت‌های متفاوت در خاک یافت شوند. کانی‌های کربناتی و سولفاتی (یکی یا هر دو) معمولاً در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک حضور داشته و نقش مهمی در واکنش‌های شیمیایی خاک ایفا می‌نمایند. کلسیم و منیزیم در خاک به سه شکل محلول، قابل تبادل و جامد (به دو صورت معدنی و آلی) یافت می‌شود. در خاک‌های غیر شور، تنها مقادیر محدودی از کلسیم و منیزیم به شکل محلول وجود دارد. خاک‌های شور مقدار قابل توجهی کلسیم و منیزیم محلول دارند و نیازمند این هستند که به عنوان یک ویژگی مستقل از فرکشن قابل تبادل اندازه‌گیری شوند. در خاک‌هایی که نمک به صورت طبیعی یا از طریق آب آبیاری تجمع پیدا کرده است، عصاره اشباع تهیه و برای کاتیون‌های مورد نظر تجزیه می‌شود [۴].

تجزیه محلول‌ها برای عناصر قلیایی خاکی می‌تواند با استفاده از روش‌های متنوعی انجام شود که معمول‌ترین آن‌ها طیف‌سنجی جذب اتمی (AAS) است، که به نسبت سریع بوده و از صحت خوبی برخوردار است. همچنین دارای حد تشخیص رضایت‌بخشی است. طیف‌سنجی نشر شعله کمتر رایج است، اما می‌تواند در بسیاری موارد استفاده شود. طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-AES) غالباً استفاده می‌شود که برای منیزیم و کلسیم مناسب بوده و دارای دقت زیاد، حداقل اثر ماتریس و حد قابل تشخیص مناسب است. روش‌های تیتراسیون که از معرف‌های رنگی استفاده می‌کنند، بسیار دقیق اما زمان‌بر هستند. در نتیجه در حال حاضر غالباً استفاده نمی‌شوند ولی در مواقعی که دستگاه در دسترس نباشد، مورد توجه هستند.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۲ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

۲- روش‌های اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم

۲-۱- اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم با استفاده از طیف‌سنجی جذب اتمی

۲-۱-۱- اصول

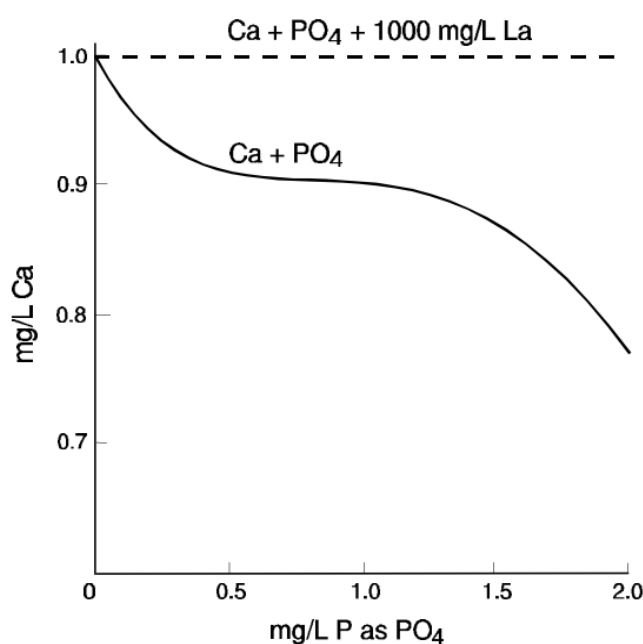
طیف‌سنجی جذب اتمی متداول‌ترین روش تجزیه‌ای است که برای تعیین فلزهای قلیایی خاکی در عصاره آبی استفاده می‌شود. طیف‌سنجی جذبی اتمی بر اساس سطوح انرژی است که در آن عناصر خاصی انرژی را جذب و از حالت پایه برانگیخته می‌شوند. نمونه عصاره توسط نبولایزر به طرف شعله (مخلوط هوا و گاز استیلن) هدایت می‌شود و در آنجا ترکیبات کلسیم و منیزیم به صورت بخار اتم در می‌آیند. طیف‌سنجی جذب اتمی شامل عبور تابش منتشر شده از لامپ هالوکاتد، با طول موج خاص، از داخل این بخار اتمی است که آن تابش می‌تواند توسط عنصر مورد نظر جذب شود و میزان کاهش شدت تابش اندازه‌گیری شده متناسب با غلظت عنصر مورد نظر است. تابش جذب شده برای کلسیم و منیزیم به ترتیب در طول موج‌های $422/7$ و $385/2$ نانومتر مورد سنجش قرار می‌گیرد. این روش سریع، صحیح، با حد تشخیص پایین و نیازمندی‌های آماده سازی نسبتاً کم است. تداخل‌ها در طیف‌سنجی جذب اتمی می‌توانند به تداخل‌های شیمیایی، یونیزاسیون، ماتریس، طیفی یا خودجذبی تقسیم شوند.

عناصر کلسیم و منیزیم معمولاً با استفاده از ترکیب سوختی هوا-استیلن تجزیه می‌شوند. مهمترین تداخلات با تشکیل کمپلکس‌های پایدار اتفاق می‌افتد. در جریان اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم با دستگاه طیف‌سنجی جذب اتمی وجود فسفر در نمونه مورد تجزیه باعث می‌شود ترکیباتی از کلسیم و منیزیم و فسفات در شعله به وجود آید که در اندازه‌گیری ایجاد مزاحمت می‌نمایند. اگرچه فسفر بندرت در غلظت کافی در آب خاک برای ایجاد تداخل وجود دارد ولی مزاحمت آن به راحتی با اضافه کردن لانتانوم برطرف می‌شود. اثر مزاحمت فسفر در اندازه‌گیری کلسیم با دستگاه جذب اتمی در شکل ۱ نشان داده شده است. استفاده از فلز لانتانوم به سبب تمایل بالا برای تشکیل کمپلکس با یون‌های فسفات، این یون‌ها را بلوکه کرده و باعث آزادسازی یون‌های کلسیم می‌شود. همچنین می‌توان با استفاده از کلات‌کننده‌هایی مانند اتیلن دی آمین تتراسید (EDTA) بر تداخلات غلبه کرد. روش دیگر برای غلبه بر

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۳ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک	بفش آزمایشگاه‌ها	

مشکل مزاحمت‌ها استفاده از شعله‌های داغ‌تر (نیتروس اکساید-استیلن) است. دمای بالاتر این شعله انرژی لازم برای شکستن کمپلکس‌ها را فراهم می‌نماید. از این‌رو، در صورتی که از این شعله استفاده شود، نیازی به افزودن لانتانوم نخواهد بود [۵]، اگر چه این کار به دلیل افزایش یونیزاسیون باعث کاهش حساسیت نیز می‌شود.

تداخل‌های یونیزاسیون می‌توانند با اضافه کردن عناصری که به راحتی یونیزه می‌شوند، مانند Rb، Cs یا K کاهش یابند. سیلیکا و آلومینیم نیز ممکن است برای تجزیه کلسیم و منیزیم مزاحمت ایجاد کنند. مزاحمت آلومینیم با استفاده از لانتانوم یا استرانسیم حذف می‌شود [۶].



شکل ۱- مزاحمت فسفر در اندازه‌گیری کلسیم با دستگاه جذب اتمی [۵].

هنگامی که موقعیت شعله (برنر^۱) موازی با پرتو نور باشد، دامنه کاری معمول برای منیزیم ۰/۱ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر است و هنگامی که برنر زاویه داشته باشد، دامنه آن ۲/۵ تا ۵۰ میلی گرم در لیتر خواهد بود. حد تشخیص روش بستگی به دستگاه مورد استفاده دارد. کلیسری و همکاران [۷] حد تشخیص دستگاه جذب اتمی برای منیزیم

^۱ Burner

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۴ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		
		بخش آزمایشگاه‌ها	

را ۰/۰۰۰۵ میلی گرم در لیتر و دامنه غلظتی مناسب را بین ۰/۰۲ تا ۲ میلی گرم در لیتر گزارش کردند. حد تشخیص دستگاه جذب اتمی برای کلسیم نیز ۰/۰۰۳ میلی گرم در لیتر و دامنه مطلوب غلظت ۰/۲ تا ۲۰ میلی گرم در لیتر است. دامنه کاری^۱ معمول برای کلسیم در حالتی که برنر موازی با پرتو نور باشد، ۰/۱ تا ۵ میلی گرم در لیتر بوده و وقتی که برنر با پرتو زاویه دارد، ۱ تا ۶۰ میلی گرم در لیتر است. همچنین استفاده از طول موج‌های با حساسیت کمتر در اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم امکان‌پذیر است. در این طول موج‌ها امکان فراهم نمودن دامنه کاری‌های وسیع‌تر نیز میسر است. لیست طول موج‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم با دستگاه جذب اتمی در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- شرایط عملیاتی دستگاه جذب اتمی برای اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم [۵].

عنصر	طول موج (nm)	شکاف ^۲ (nm)	نویز نسبی ^۳	غلظت مشخصه ^۴ (mg/L)	غلظت مشخصه کنترل ^۵ (mg/L)	دامنه خطی بودن ^۶ (mg/L)
کلسیم	۴۲۲/۷	۰/۷	۱	۰/۰۹۲	۴	۵
	۲۳۹/۹	۰/۷	۱۴	۱۳	۶۰۰	۸۰۰
منیزیم	۲۸۵/۲	۰/۷	۱	۰/۰۰۷۸	۰/۳	۰/۵
	۲۰۲/۶	۰/۷	۳/۹	۰/۱۹	۹	۱۰

۲-۱-۲- وسایل

(۱) وسایل معمول آزمایشگاهی.

(۲) دستگاه جذب اتمی شعله.

^۱ Working range

^۲ Slit

^۳ Relative noise: معیاری از پایداری یک طول موج مشخص است. مقادیر نویز مربوط به هر طول موج نسبت نویز اندازه‌گیری شده با طول موج اولیه (که معمولاً در جداول در ردیف اول گزارش می‌شود) مقایسه می‌شوند.

^۴ Characteristic Concentration: غلظتی از عنصر (بر حسب mg/L) که برای تولید یک سیگنال جذب ۱ درصد (۰/۰۰۴۴ واحد جذب (Absorbance)) مورد نیاز است.

^۵ Characteristic Concentration Check: غلظت استاندارد (بر حسب mg/L) که قرائتی معادل حدود ۰/۲ واحد جذب (Absorbance) ایجاد می‌نماید.

^۶ Linear Range

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۵ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک		
		بخش آزمایشگاه‌ها	

۲-۱-۳ مواد و/یا واکنشگرها

۱) محلول پایه لانتانوم ۵ درصد: مقدار ۲۹ گرم از اکسید لانتانوم (La_2O_3) را در یک بالن حجمی ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با چند میلی‌لیتر آب مقطر آن را به صورت دوغاب درآورید. سپس، به آرامی ۲۵۰ میلی‌لیتر HCl غلیظ با خلوص آزمایشگاهی، همزمان با هم زدن، به آن اضافه کنید (واکنش ممکن است شدید و انفجاری باشد). با آب مقطر بالن را به حجم برسانید. توجه شود که اکسید لانتانوم ناخالصی کلسیم و منیزیم نداشته باشد. از محلول لانتانوم نیترات ($\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) نیز می‌توان برای حذف مزاحمت‌ها در اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم استفاده نمود.

۲) برای تهیه محلول‌های استاندارد مادر کلسیم و منیزیم می‌توانید از تیترازول آماده (محلول‌های استاندارد تجاری) آن‌ها (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) استفاده نمایید. در صورت عدم دسترسی به تیترازول، براساس روش‌های ارائه شده زیر از کلسیم کربنات و منیزیم سولفات محلول استاندارد تهیه نمایید.

- محلول استاندارد منیزیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر: دقیقاً مقدار ۱۰/۱۴۱ گرم منیزیم سولفات ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) را توزین نموده و پس از انحلال در آب مقطر، در یک بالن حجمی یک لیتری به حجم برسانید. در اثر مرور زمان ممکن است مقداری از آب کریستال منیزیم سولفات تبخیر شود، از این‌رو، با استفاده از EDTA آن را استاندارد نمایید.

- محلول استاندارد کلسیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر: مقداری از نمک کلسیم کربنات (CaCO_3) را به مدت ۵ ساعت در آون در دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس قرار دهید و پس از خنک کردن در دسیکاتور دقیقاً مقدار ۲/۵۰۰ گرم از آن را توزین نمایید. پس از انحلال در ۱۲/۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید چهار مولار، با آب مقطر به حجم یک لیتر برسانید.

۳) محلول استاندارد کاری کلسیم و منیزیم را براساس دستورالعمل کاتالوگ دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی در زمینه محلول عصاره‌گیر تهیه نمایید و محلول لانتانوم را با همان غلظتی که به نمونه‌های عصاره اضافه شد، به استانداردها نیز اضافه کنید. غلظت استانداردهای مورد نیاز برای کلسیم صفر تا ۵ و برای منیزیم ۰ تا ۰/۵

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۶ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		
		بخش آزمایشگاه‌ها	

میلی گرم در لیتر است (این دامنه بسته به نوع دستگاه، شرایط دستگاه و طول موج مورد استفاده می‌تواند متغیر باشد، از این‌رو، برای اطلاعات بیشتر باید به دستورالعمل دستگاه مراجعه شود).

۲-۱-۴- روش کار

- (۱) عصاره گل اشباع را با استفاده از SWRI-S-101 تهیه نمایید.
- (۲) با توجه به عنصر مورد اندازه‌گیری و براساس دستورالعمل‌های کارخانه سازنده، دستگاه را تنظیم نمایید. طول موج مورد استفاده برای منیزیم ۲۸۵/۲ و برای کلسیم ۴۳۳/۷ نانومتر است.
- (۳) یک میلی‌لیتر از محلول لانتانوم را به ازاء هر ۱۰ میلی‌لیتر استاندارد یا نمونه اضافه کنید (به‌طور مثال به هر ۲۰ میلی‌لیتر از استاندارد یا نمونه، ۲ میلی‌لیتر از محلول لانتانوم اضافه می‌شود که در این صورت حجم نهایی مساوی ۲۲ میلی‌لیتر خواهد شد. چون به مقدار یکسان به نمونه‌ها و استانداردها اضافه می‌شود، اعمال درجه رقت در محاسبات نیاز نیست). دستگاه را با استفاده از استانداردهای ساخته شده واسنجی نمایید.
- (۴) غلظت عنصر مورد نظر را در محلول‌های استاندارد، شاهد و عصاره‌ها قرائت کنید
- (۵) در صورتیکه غلظت نمونه قرائت شده خارج از دامنه استانداردها بود، آن را رقیق کرده و دوباره قرائت کنید. می‌توان برای عصاره‌های غلیظ‌تر، از طول موج‌های با حساسیت کمتر استفاده نمود.

۲-۱-۵- محاسبات و گزارش نتایج

غلظت کلسیم یا منیزیم (میلی گرم در لیتر عصاره) به‌صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{Ca or Mg (mg/L)} = A \times df \quad (1)$$

که در آن:

A: قرائت دستگاه جذب اتمی بر حسب میلی گرم در لیتر.

df: درجه رقت است.

توجه: چنانچه غلظت‌های کلسیم و منیزیم که در قسمت فوق محاسبه شده است به‌ترتیب بر ۲۰/۰۴ و ۱۲/۱۵۲۵ تقسیم شوند، نتایج بر حسب میلی‌اکی والان در لیتر بدست خواهد آمد.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۷ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		
		بخش آزمایشگاه‌ها	

- نتایج را بر حسب واحد دلخواه و با دو رقم اعشار گزارش نمایید.

۲-۲- طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القایی

دستگاه طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القایی (به صورت خلاصه ICP-AES)، یک روش انتخابی برای بسیاری از عناصر از جمله عناصر قلیایی خاک است. پلاسما با عبور گاز آرگون یونیزه شده از میان مشعل (تورچ)^۱ کوارتزی تولید می‌شود. ژنراتور فرکانس رادیویی (RF) با ۲۷/۱ مگاهرتز، باعث ایجاد یک میدان مغناطیسی نو سان‌کننده و دریایی از الکترون‌ها می‌شود که دمایی تقریباً برابر با ۱۰۰۰۰ درجه کلوین تولید می‌کند. دماهای بالا و افزایش زمان باقیماندن، در مقایسه با طیف‌سنجی جذب اتمی شعله معمولاً باعث افزایش حساسیت و کاهش تداخل شیمیایی می‌شود، اگر چه تداخلات طیفی بایستی بدقت ارزیابی شود. این دستگاه امکان اندازه‌گیری همزمان کلسیم و منیزیم و سایر عناصر (در صورت نیاز) را فراهم می‌نماید.

۲-۲-۱- وسایل

(۱) دستگاه طیف‌سنج نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-AES).

(۲) وسایل معمول آزمایشگاهی.

۲-۲-۲- مواد و/یا واکنشگرها

(۱) محلول استاندارد منیزیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر: این محلول همانند بخش ۲-۱-۳ تهیه شود.

(۲) محلول استاندارد کلسیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر: این محلول همانند بخش ۲-۱-۳ تهیه شود.

(۳) استانداردهای ترکیبی کلسیم و منیزیم (و دیگر عناصر مانند سدیم، پتاسیم، گوگرد، بور و غیره در صورت نیاز):

در ابتدا لازم است از محلول‌های استاندارد مادر، محلول استاندارد ترکیبی کاری تهیه شود. بدین منظور ۱۰

میلی‌لیتر از هر کدام از استانداردهای مادر کلسیم و منیزیم را به یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل کرده

و با آب مقطر به حجم برسانید. محلول حاصل دارای غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم و ۱۰۰ میلی‌گرم در

^۱ Torch

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۸ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

لیتر منیزیم است. از محلول فوق به ترتیب حجم‌های ۰، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر به بالن‌های حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل و با آب مقطر به حجم برسانید. محلول‌های فوق به ترتیب دارای غلظت‌های ۰، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر از کلسیم و منیزیم خواهند بود.

۲-۲-۳- روش کار

- (۱) عصاره گل اشباع را استفاده از SWRI-S-101 تهیه نمایید.
- (۲) دستگاه را با استفاده از دستورالعمل کارخانه سازنده تنظیم نمایید.
- (۳) دستگاه را با استانداردهای ساخته شده واسنجی نموده و غلظت کلسیم و منیزیم را در نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم در لیتر قرائت نمایید.

۲-۲-۴- محاسبات و گزارش نتایج

غلظت کلسیم یا منیزیم (میلی‌گرم در لیتر عصاره) به صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{Ca or Mg (mg/L)} = A \times df \quad (۲)$$

که در آن:

A: قرائت دستگاه ICP بر حسب میلی‌گرم در لیتر.

df: درجه رقت است.

- توجه: چنانچه غلظت‌های کلسیم و منیزیم که در قسمت فوق محاسبه شده است به ترتیب بر ۰۴/۲۰ و ۱۲/۱۵۲۵ تقسیم شوند، نتایج بر حسب میلی‌اکی والان در لیتر بدست خواهد آمد.
- نتایج را بر حسب واحد دلخواه و با دو رقم اعشار گزارش نمایید.

نکات

در ساخت استانداردهای مخلوط برای دستگاه ICP باید دقت شود که عناصر و ترکیبات اختلاط یافته، با همدیگر سازگار باشند، در غیر این صورت ممکن است باعث رسوب ترکیب جدیدی در استاندارد تهیه شده شود.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۹ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک	بفش آزمایشگاه‌ها	

۲-۳- اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم به روش تیتراسیون با EDTA

پیش از توسعه طیف‌سنجی جذب اتمی و طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت شده القایی، روش‌های تیتراسیون، روش‌های شناخته شده برای تجزیه کلسیم و منیزیم بودند. این روش‌ها دقیق و معمولاً بدون تداخلات جدی هستند.

۲-۳-۱- اصول

بیشتر یون‌های فلزی با گونه‌های شیمیایی خاصی که به آن‌ها اصطلاحاً لیگاند^۱ می‌گویند، تشکیل کمپلکس^۲ یا یون کمپلکس می‌دهند. یک لیگاند، یون یا ملکولی است که باید دارای حداقل یک جفت الکترون غیر مشترک باشد و آن‌ها را برای ایجاد پیوند کووالانسی به یون فلزی بدهد. یکی از لیگاندهای چند دندانه‌ای مهم، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید یا به اختصار EDTA است [۸].

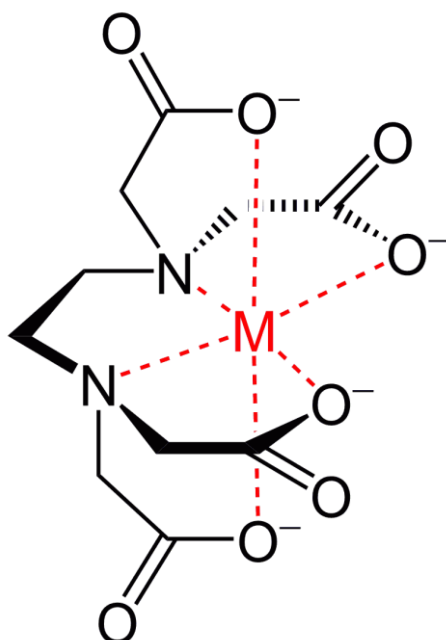
این لیگاند می‌تواند ۶ دندانه‌ای باشد، زیرا قادر به تشکیل دو پیوند از راه دو نیتروژن و ۴ پیوند از راه اکسیژن گروه‌های کربوکسیل خود است (شکل ۲). یک لیگاند چند دندانه‌ای ممکن است با ایجاد پیوند با یک یون فلزی تشکیل حلقه یا کلات^۳ داده که در این صورت به لیگاند، عامل کلات کننده گفته می‌شود. EDTA یک نمونه شاخص از اینگونه لیگاندها است که به‌عنوان عامل کلات کننده، کمپلکس‌های پایدار را با بسیاری از یون‌های فلزی از جمله کلسیم و منیزیم تشکیل می‌دهد. کمپلکس تشکیل شده با این یون‌ها به نسبت مولی ۱:۱ است [۹].

^۱ Ligand

^۲ Complex

^۳ Chelate

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۰ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		
		بفش آزمایشگاه‌ها	



شکل ۲- ساختار شیمیایی کلات EDTA.

از ویژگی‌های تشکیل کمپلکس‌های پایدار EDTA با نسبت مولی ۱:۱ با یون‌های فلزی، برای اندازه‌گیری این فلزها از جمله کلسیم و منیزیم استفاده می‌شود. برای تعیین نقطه پایانی تیتراسیون از معرف‌های مختلفی استفاده می‌شود. این معرف‌ها به هنگام تشکیل کمپلکس با این فلزهای تغییر رنگ داده، ولی کمپلکس تشکیل یافته، از پایداری کمی نسبت به کمپلکس EDTA-فلز برخوردار بوده و از این ویژگی برای تعیین نقطه پایان اندازه‌گیری استفاده می‌شود. یکی از معرف‌ها اریوکروم بلک تی (EBT)^۱ می‌باشد که برای اندازه‌گیری مجموع کلسیم و منیزیم از آن استفاده می‌شود. معرف دیگر که برای اندازه‌گیری کلسیم از آن استفاده می‌شود، کلکان^۲ است. کلسیم و منیزیم می‌توانند به‌طور جداگانه یا به‌صورت مجموع بوسیله اندازه‌گیری غلظت کمپلکس فلز-EDTA تعیین شوند.

مزاحم‌های زیادی ممکن است باعث اختلال در اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم با EDTA گردند. میزان مزاحمت یون‌های فلزی بستگی به ثابت تشکیل کمپلکس EDTA با این یون‌ها و نیز غلظت ماده مزاحم دارد. یون‌های عناصر

^۱ Eriochrome Black T

^۲ Calcon

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۱ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

مختلفی مانند Fe، Mn، Ni، Zn، Cu و Co ممکن است موجب مزاحمت در اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم شوند^۱. مزاحمت یون‌های Fe^{2+} ، Cu^{2+} و Ni^{2+} با اضافه کردن یون سیانید^۲ که کمپلکس خیلی پایداری را با این یون‌ها تشکیل می‌دهد و مانع رقابت این یون‌ها با کلسیم و منیزیم برای تشکیل کمپلکس با EDTA می‌شود، رفع می‌شود. اضافه کردن هیدروکسیل آمین هیدروکلرید باعث کاهش Fe^{3+} به Fe^{2+} می‌شود. آلومینیم و Fe^{2+} با تری اتانول آمین تشکیل کمپلکس می‌دهند. مزاحمت منگنز با رسوب دادن آن به صورت فرو سیانید منگنز کاهش می‌یابد. مزاحمت یون فسفات غالباً (به دلیل غلظت کم) قابل ملاحظه نیست مگر در مواقعی که تجزیه کل خاک صورت می‌گیرد. با روش‌های زیر می‌توان مزاحمت فسفات را از بین برد:

- ۱) تشکیل فسفات زیرکونیم غیر محلول با اضافه کردن نیترات زیرکونیم در شرایط مناسب.
 - ۲) تشکیل کمپلکس فسفو مولیبدات که قابل استخراج با محلولی شامل یک حجم از آن - بوتانول^۳ و سه حجم از $CHCl_3$ می‌باشد.
 - ۳) جدا کردن یون‌های فسفات از محلول توسط رزین آنیونی.
 - ۴) افزون بر روش‌های بالا، می‌توان با حضور یون فسفات عیارسنجی کلسیم و منیزیم را با اضافه کردن EDTA بیش از مقدار لازم و انجام عیارسنجی معکوس با استاندارد کلسیم پس از تنظیم pH انجام داد.
- عیار سنجی کلسیم و منیزیم را می‌توان با هم و یا جدا از هم انجام داد. مجموع کلسیم و منیزیم را می‌توان در pH ۱۰ با استفاده از اریوکروم بلک تی (EBT) اندازه‌گیری نمود. کلسیم را می‌توان در pH ۱۲ یا بیشتر در صورتی که NH_4^+ در محلول نباشد، با استفاده از معرف کلکان عیارسنجی نمود. زیرا در این pH، منیزیم به صورت منیزیم هیدروکسید $Mg(OH)_2$ غیر محلول رسوب می‌کند. به عکس، برای اندازه‌گیری منیزیم، نخست بایستی کلسیم را با یون تنگستات رسوب داده و سپس در pH ۱۰ با معرف اریوکروم بلک تی، منیزیم را اندازه‌گیری نمود [۸].

^۱ غلظت این مزاحم‌ها در عصاره‌های خاک و آب‌ها غالباً در حدی نیست که سبب مزاحمت قابل ملاحظه‌ای شود اما در تجزیه کل خاک (مثلاً هضم با HF) بایستی اقدام به حذف آن‌ها نمود.

^۲ به جای این ماده می‌توان از سدیم دی اتیل دی تیوکاربامات (Sodium diethyl dithiocarbamate) استفاده نمود.

^۳ n-butanol

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب		
SWRI-S- 108	شماره ثبت			
Rev-01-1403/10	ویرایش اول			
صفحه ۱۲ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک			بخش آزمایشگاه‌ها

۲-۳-۲- مواد و/یا واکنشگرها

(۱) محلول بافر: مقدار ۶۷/۵ گرم آمونیم کلرید (NH_4Cl) را درون یک بالن حجمی یک لیتری ریخته و به آن حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و در آن حل کنید. به محلول ۵۷۰ میلی‌لیتر آمونیم هیدروکسید (NH_4OH) غلیظ (۳۵ درصد) اضافه کرده و حجم نهایی را با آب مقطر به یک لیتر برسانید.

(۲) محلول نمک دی‌سدیم EDTA^1 (اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک اسید) ۰/۰۲ نرمال: مقدار ۳/۷۲۲۵ گرم از دی‌سدیم EDTA (وزن مولکولی ۳۷۲/۲۵۴) و ۰/۰۳۹ گرم منیزیم کلرید هگزاهیدرات ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) را درون یک بالن حجمی یک لیتری ریخته و سپس به آن حدود ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کنید و آنقدر هم زنید تا EDTA در آن حل شود. سپس حجم نهایی بالن را با آب مقطر به یک لیتر برسانید.

(۳) محلول استاندارد کلسیم: مقداری (کمتر از یک گرم) از کلسیم کربنات با خلوص بالا (GR) یا معادل آن (با منیزیم خیلی کم) را به مدت حدود ۲ ساعت در دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس خشک نموده و اجازه دهید در دسیکاتور سرد شود. دقیقاً ۰/۵۰۰۴ گرم از آن را وزن نموده و با دقت در یک بالن حجمی یک لیتری قرار دهید (بهتر است این کار با یک قیف پایه بلند صورت گیرد تا از پاشیده شدن آن به دیواره‌های بالن جلوگیری شود)، سپس به آن ۵ میلی‌لیتر از محلول شش مولار هیدروکلریک اسید (HCl) اضافه و کلسیم کربنات را در آن حل کنید. سپس حجم بالن را با آب مقطر به یک لیتر برسانید. غلظت کلسیم در این محلول ۰/۰۰۵ مولار (محلول کلسیم ۰/۰۱ نرمال) خواهد بود. به جای این استاندارد می‌توانید از استانداردهای تجاری موجود نیز برای تهیه محلول استاندارد ۰/۰۰۵ مولار کلسیم استفاده کنید.

(۴) محلول استاندارد منیزیم: دقیقاً مقدار ۰/۱۲۱۶ گرم از قطعات فلز منیزیم با خلوص بالا (GR) یا معادل آن را درون یک بالن حجمی یک لیتری ریخته و به آن ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ مولار هیدروکلریک اسید اضافه کنید و آن را حل کنید و سپس بالن را با آب مقطر به حجم یک لیتر برسانید. غلظت منیزیم در این محلول

¹ Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA disodium)

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۳ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک		
		بخش آزمایشگاه‌ها	

۰/۰۰۵ مولار (محلول منیزیم ۰/۰۱ نرمال) خواهد بود. به جای این استاندارد می‌توانید از استانداردهای تجاری

نیز برای تهیه محلول استاندارد ۰/۰۰۵ مولار منیزیم استفاده کنید.

۵) محلول پتاسیم سیانید (KCN): یک گرم از پتاسیم سیانید را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید (توجه داشته باشید که پتاسیم سیانید سمی است).

۶) محلول هیدروکسیل آمین-هیدروکلرید ($\text{NH}_2\text{OH} - \text{HCl}$): مقدار ۵ گرم از هیدروکسیل آمین-هیدروکلرید را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید.

۷) محلول فروپتاسیم سیانید ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$): مقدار ۴ گرم فروپتاسیم سیانید تری‌هیدرات ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) با خلوص بالا (GR یا معادل آن) را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید.

۸) تری‌اتانول آمین (TEA) با خلوص بالا (GR یا معادل آن).

۹) محلول سدیم تنگستات: مقدار ۲۰ گرم از سدیم تنگستات دی‌هیدرات ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید.

۱۰) معرف اریوکروم بلک تی (EBT): مقدار ۰/۲ گرم از EBT را در ۵۰ میلی‌لیتر متانول حل کنید. چون EBT در تماس با هوا اکسید می‌شود، هر سه هفته محلول جدید تهیه کنید.

▪ معرف اریوکروم بلک تی را می‌توان به صورتی دیگر نیز تهیه نمود، مقدار ۰/۵ گرم اریوکروم بلک تی را در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد حل نمائید. ۴/۵ گرم هیدروکسیل آمین هیدروکلرید به آن افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر تکان دهید. کریستال‌های هیدروکسیل آمین هیدروکلرید که در ته ظرف باقی می‌ماند موجب می‌شود که به مدت شش ماه معرف قابل استفاده باشد. اگر معرف به این صورت تهیه نمودید، نیازی به افزودن محلول هیدروکسیل آمین هیدروکلرید به نمونه مورد اندازه‌گیری نمی‌باشد.

۱۱) معرف کلکان (کلکان کربوکسیلیک اسید برای سنجش میزان کلسیم): مقدار ۲۰ میلی‌گرم کلکان ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$) را در ۵۰ میلی‌لیتر متانول حل کنید. این محلول را هفتگی تهیه کنید.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۴ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

(۱۲) محلول ۱۰ درصد سدیم هیدروکسید (NaOH): مقدار ۱۰ گرم سدیم هیدروکسید با خلوص بالا (GR) یا معادل آن را در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید.

(۱۳) معرف مورکساید: مقدار ۲۰ گرم پودر پتاسیم سولفات را توزین نموده و با ۰/۱ گرم مورکساید (آمونیم پورپورات) کاملاً مخلوط و در هاون چینی ساییده تا کاملاً نرم شود، پس از مخلوط نمودن در ظرف در بسته نگهداری کنید. این پودر باید هفتگی تهیه شود.

(۱۴) تری اتانول آمین ($C_6H_{15}NO_3$) که به‌طور خلاصه با TEA نشان داده می‌شود.

۲-۳-۳- روش کار

تهیه عصاره گل اشباع: عصاره گل اشباع را با استفاده از SWRI-S-101 تهیه نمایید.

الف) استاندارد کردن محلول دی سدیم EDTA

(۱) سه ارلن مایر (یا بشر) ۲۵۰ میلی‌لیتری تمیز انتخاب و به هریک ۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد کلسیم اضافه

نموده و حجم محلول را با آب مقطر به حدود ۱۵۰ میلی‌لیتر برسانید.

(۲) سپس به آن ۱۵ میلی‌لیتر از محلول بافر، ۰/۵ میلی‌لیتر (۱۰ قطره) از هر کدام از محلول‌های KCN^1 ، HCl ،

NH_2OH ، $K_4Fe(CN)_6$ ، TEA و نیز ۱۰-قطره معرف EBT اضافه کنید.

(۳) محلول را، در حال هم‌زدن، با محلول EDTA تا پیدایش رنگ آبی دائمی و ترجیحاً در زیر نور فلئورسنت،

عیارسنجی نمایید. قطرات نهایی را در فواصل ۳ تا ۵ ثانیه اضافه کنید.

(۴) مشابه همین کار را با محلول استاندارد منیزیم تکرار نمایید.

(۵) روش دیگر استاندارد نمودن محلول EDTA، عیارسنجی حجم معینی از EDTA با محلول استاندارد کلسیم

است. برای اینکار حجم معینی از محلول EDTA (مثلاً ۵ میلی‌لیتر) را در سه تکرار درون ارلن مایرهای ۲۵۰

میلی‌لیتری ریخته و حجم آن را با آب مقطر به حدود ۱۵۰ میلی‌لیتر برسانید.

^۱ به جای سیاند پتاسیم می‌توان از سه تا پنج دانه کریستال کاربامید استفاده نمود.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۵ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		
		بنفش آزمایشگاه‌ها	

۶) سپس به هر ارلن ۱۵ میلی لیتر محلول بافر، ۱۰ قطره از هر یک از TEA ، $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ، NH_2OH ، HCl ، KCN و معرف EBT اضافه نموده و با محلول استاندارد کلسیم از رنگ آبی به قرمز مایل به بنفش (یا بنفش مایل به قرمز) دائمی عیارسنجی نمائید.

۷) عیار (غلظت) EDTA در دو روش فوق بایستی یکسان باشد.

۸) استاندارد کردن EDTA را دوباره و این بار با استفاده از معرف کلکان انجام دهید. مطابق فوق به سه ارلن مایر هر کدام ۵ میلی لیتر از محلول استاندارد کلسیم اضافه و حجم را با آب مقطر به حدود ۱۵۰ میلی لیتر برسانید.

۹) سپس ۱۰ قطره از هر یک از محلول‌های TEA ، $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ، NH_2OH ، HCl ، KCN و معرف EBT اضافه کنید و سپس یک میلی لیتر از محلول ۱۰ درصد سدیم هیدروکسید (یا به اندازه کافی از سود) اضافه کنید تا pH محلول به ۱۲ یا اندکی بیشتر از ۱۲ افزایش یابد. pH را با pH متر یا کاغذ pH کنترل کنید.

۱۰) سپس به محلول بین ۵ تا ۱۵ قطره از معرف کلکان اضافه و محلول را با EDTA از قرمز به آبی دائمی ترجیحاً تحت شرایط نوری گفته شده عیارسنجی نمایید. مقدار مصرف EDTA بایستی با اختلاف ۰/۰۵ میلی لیتر با آنچه در بالا بدست آمد، مطابقت داشته باشد. استاندارد کردن EDTA پیش از هر بار اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم بایستی انجام شود.

در هر بار عیارسنجی، سه شاهد^۱ شامل آب مقطر و مواد گفته شده غیر از محلول استاندارد را با EDTA عیارسنجی نمایید. اینکار مانع از خطا در عیارسنجی EDTA شده و میزان آلودگی بشر، بورت و پیپت مورد استفاده را نشان خواهد داد.

ب) اندازه‌گیری مجموع کلسیم و منیزیم

۱) حجمی از محلول (عصاره خاک یا آب یا هر عصاره دیگر) که حاوی یک تا دو میلی گرم کلسیم به اضافه منیزیم باشد را در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و آن را با آب مقطر تا حدود ۱۵۰ میلی لیتر رقیق کنید.

^۱ Blank

روش عملیاتی استاندارد تمیزه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	 بخش آزمایشگاه‌ها
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۶ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		

- ۲) به آن ۱۵ میلی‌لیتر از محلول بافر، ۰/۵ میلی‌لیتر (۱۰ قطره) از هر کدام از محلول‌های NH_2OH ، HCl ، KCN^1 ، $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ و TEA اضافه کنید.
- ۳) آن را برای انجام واکنش چند دقیقه به حال خود رها نمایید (گرم کردن محلول سرعت واکنش را زیاد می‌کند).
- ۴) به محلول ۱۰ قطره EBT اضافه کنید و محلول را به همان شیوه‌ای که EDTA استاندارد گردید، تا پیدایش همان رنگ عیارسنجی نمایید.
- ۵) اگر تشخیص نقطه پایان عیارسنجی مشکل بود، احتمالاً غلظت فسفر در محلول زیاد است. برای حل این مشکل از روش زیر استفاده نمایید.
- ۶) به حجم جدیدی از محلول، آب مقطر اضافه کنید تا حجم به حدود ۱۵۰ میلی‌لیتر برسد.
- ۷) سپس به آن ۱۰ قطره از محلول‌های NH_2OH ، HCl ، KCN ، $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ و TEA اضافه کنید.
- ۸) به محلول حجم معینی از EDTA که بیشتر از حجم لازم برای عیارسنجی کلسیم + منیزیم باشد اضافه کنید و با اضافه کردن ۱۵ میلی‌لیتر یا بیشتر (در صورت نیاز) از محلول بافر، pH محلول را به ۱۰ برسانید. برای افزایش سرعت واکنش محلول را تا نزدیک جوشیدن به مدت چند دقیقه حرارت دهید.
- ۹) پس از سرد شدن محلول ۱۰ قطره EBT به آن اضافه و آن را از رنگ آبی به رنگ قرمز مایل به بنفش دائمی با محلول استاندارد کلسیم عیارسنجی کنید.

نکات

- ۱) اگر از معرف اریوکروم بلاک تی استفاده نمودید، نیازی به افزودن هیدروکسیل آمین هیدروکلرید به نمونه عصاره نمی‌باشد. با بررسی اجمالی عصاره خاک‌های هر منطقه می‌توانید در صورت به دست آمدن نتایج مساوی از افزایش و یا عدم افزایش پتاسیم سیانید و فروسیانید و تری اتانول آمین به عصاره خاک، از افزایش مواد شیمیایی یادآوری شده به نمونه مورد اندازه‌گیری صرف نظر نمایید.

^۱ به جای سیاندی پتاسیم می‌توان از ۳ تا ۵ دانه کریستال کاربامید استفاده نمود.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۷ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

ج) اندازه‌گیری کلسیم

۱) حجمی از محلول که دارای یک تا دو میلی گرم کلسیم است را درون یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و

آن را با آب مقطر تا حدود ۱۵۰ میلی لیتر رقیق کنید.

۲) مقدار ۱۰ قطره از هر کدام از محلول‌های $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ، NH_2OH ، HCl ، KCN و TEA به محلول اضافه نمایید

و به آن به مقدار لازم از محلول سدیم هیدروکسید ۱۰ درصد (معمولاً یک میلی لیتر) اضافه کنید تا pH محلول

به ۱۲ یا اندکی بیشتر از ۱۲ افزایش یابد. pH را با pH متر یا کاغذ pH چک کنید.

۳) سپس ۵ قطره (یا در صورت لزوم بیشتر) از معرف کلکان به محلول اضافه کنید و آن را تا تغییر رنگ از قرمز به

آبی با EDTA عیارسنجی کنید.

۴) اگر تشخیص نقطه پایانی به سبب حضور احتمالی غلظت بالای فسفات مشکل بود، به حجم جدیدی از محلول

آب مقطر اضافه کنید تا حجم به حدود ۱۵۰ میلی لیتر برسد.

۵) سپس به آن ۱۰ قطره از هر کدام از محلول‌های $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ، NH_2OH ، HCl ، KCN و TEA اضافه نموده و

سپس حجم معینی از EDTA که بیشتر از حجم لازم برای عیارسنجی کلسیم باشد به محلول اضافه کنید و با

محلول سدیم هیدروکسید ۱۰ درصد به آرامی pH را تا ۱۲ افزایش دهید.

۶) محلول را به مدت چند دقیقه تا نزدیک نقطه جوش حرارت داده و سپس آن را سرد کنید.

۷) سپس ۵ قطره یا بیشتر معرف کلکان به آن اضافه و آن را با محلول استاندارد کلسیم از آبی به قرمز عیارسنجی

کنید.

د) اندازه‌گیری یون کلسیم با استفاده از معرف مورکساید

۱) مقداری از عصاره خاک (۰/۰۲ تا ۰/۲ میلی اکی‌والان کلسیم) را در داخل یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتر قرار

دهید و حجم را با آب مقطر به ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی لیتر برسانید.

۲) به آن ۱۰ قطره از هر کدام از محلول‌های $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ، NH_2OH ، HCl ، KCN و TEA اضافه نمایید.

۳) به ازای هر ۵ میلی لیتر عصاره یک قطره NaOH چهار نرمال اضافه کنید و هم بزنید.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۸ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

(۴) سپس به ازای هر ۵ میلی لیتر عصاره، ۱۰ میلی گرم معرف مورکساید به آن افزوده و با EDTA آن را عیارسنجی نمایید تا رنگ محلول از صورتی به ارغوانی تبدیل شود. اضافه نمودن EDTA باید به آرامی صورت گیرد، بنابراین، هر پنج تا ده ثانیه یک قطره اضافه شود.

(۵) با هر سری نمونه یک نمونه شاهد تهیه و همانند مراحل فوق عیارسنجی شود.

(ه) اندازه‌گیری منیزیم

(۱) حجمی از محلول که دارای ۲ تا ۴ میلی گرم منیزیم باشد را درون یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتر ریخته و به آن آب مقطر اضافه کنید تا حجم محلول به حدود ۱۰۰ میلی لیتر برسد.

(۲) به محلول ۲۰ میلی لیتر از محلول سدیم تنگستات و به اندازه کافی محلول بافر (معمولاً حدود ۲۰ میلی لیتر) اضافه کنید تا pH به ۱۰ برسد.

(۳) به محلول تعدادی ساچمه شیشه‌ای اضافه کنید و آن را به مدت ۱۵ دقیقه به آرامی بجوشانید^۱.

(۴) پس از سرد شدن محلول، آن را با کاغذ صافی واتمن ۴۲ (یا معادل آن) در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری صاف نموده و رسوب و کاغذ صافی را با ۵۰ میلی لیتر از محلول بافر رقیق شده^۲ (۲۰ برابر رقیق شده) تدریجاً بشوئید.

(۵) محلول صاف شده را اندکی گرم نموده و به آن ۱۰ قطره از هر کدام از محلول‌های KCN ، HCl ، NH_2OH ، $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ و TEA اضافه کنید و چند دقیقه منتظر بمانید تا واکنش کامل شود.

(۶) سپس به محلول ۱۰ قطره معرف EBT اضافه کرده و با EDTA از قرمز به آبی دائمی عیارسنجی نمائید (ظهور نقطه پایان منیزیم کند بوده و گرم کردن محلول باعث بهبود تشخیص می‌شود).

۲-۳-۴- محاسبات و گزارش نتایج

(۱) استاندارد کردن EDTA:

$$M_E = \frac{M_{AS} \times V_{AS}}{(V_E - V_{EB})} \quad (۳)$$

^۱ بررسی انجام شده نشان داده است که گرم کردن محلول کافی نبوده و بایستی محلول را در حدود ۱۵ دقیقه جوشانید.

^۲ برای تهیه این محلول ۵۰ میلی لیتر از بافر را با آب مقطر به حجم یک لیتر برسانید.

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۹ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

۲) مجموع غلظت کلسیم + منیزیم در صورت مشخص بودن نقطه پایان عیارسنجی:

$$M_{Ca+Mg} = \frac{M_E(V_E - V_{EB})D}{V_S} \quad (۴)$$

۳) مجموع غلظت کلسیم + منیزیم در صورت انجام عیارسنجی معکوس:

$$M_{Ca+Mg} = \frac{M_E(V_{EE} - V_{EB} - V_{ED})D}{V_S} \quad (۵)$$

$$V_{ED} = \frac{M_{CaS}V_{CaS}}{M_E} \quad (۶)$$

۴) غلظت کلسیم در صورت مشخص بودن نقطه پایانی:

$$M_{Ca} = \frac{M_E(V_E - V_{EB})D}{V_S} \quad (۷)$$

۵) غلظت کلسیم در صورت انجام عیارسنجی معکوس:

$$M_{Ca} = \frac{M_E(V_{EE} - V_{EB} - V_{ED})D}{V_S} \quad (۸)$$

۶) غلظت منیزیم یا کلسیم:

$$M_{Mg} = M_{Ca+Mg} - M_{Ca} \quad (۹)$$

$$M_{Ca} = M_{Ca+Mg} - M_{Mg} \quad (۱۰)$$

۷) غلظت منیزیم از طریق عیارسنجی:

$$M_{Mg} = \frac{M_E(V_E - V_{EB})D}{V_S} \quad (۱۱)$$

که در آن‌ها:

M_E : مولاریته EDTA، مولاریته مورد استفاده عبارت از میانگین تکرارهای استاندارد کردن EDTA با کلسیم

یا منیزیم یا میانگین هردو است.

M_{AS} : مولاریته محلول استاندارد کلسیم یا منیزیم.

V_{AS} : حجم محلول استاندارد کلسیم یا منیزیم بر حسب میلی‌لیتر.

V_E : حجم EDTA بر حسب میلی‌لیتر.

V_{EB} : میانگین حجم EDTA مصرف شده در عیارسنجی شاهد بر حسب میلی‌لیتر.

M_{Ca+Mg} : مجموع غلظت کلسیم + منیزیم بر حسب مول در لیتر در محلول اولیه (پیش از رقیق شدن).

V_S : حجم نمونه مورد تجزیه بر حسب میلی‌لیتر.

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۲۰ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم محلول در عصاره خاک	بخش آزمایشگاه‌ها	

D: فاکتور رقت نمونه مورد تجزیه (مثلاً اگر حجم نمونه ۵ برابر شده باشد، D برابر با ۵ است).

V_{EE} : حجم EDTA اضافه شده پیش از عیارسنجی معکوس بر حسب میلی لیتر.

V_{ED} : حجم EDTA اضافی که از طریق عیارسنجی معکوس تعیین می‌شود بر حسب میلی لیتر.

M_{CaS} : مولاریته محلول استاندارد کلسیم مصرفی در عیارسنجی معکوس.

V_{CaS} : حجم محلول استاندارد کلسیم مصرف شده در عیارسنجی معکوس بر حسب میلی لیتر.

M_{Ca} : غلظت کلسیم بر حسب مول در لیتر در محلول اولیه (پیش از رقیق شدن).

M_{Mg} : غلظت منیزیم بر حسب مول در لیتر در محلول اولیه (پیش از رقیق شدن).

توجه: چنانچه غلظت‌های کلسیم و منیزیم که در قسمت فوق محاسبه شده است را در دو ضرب کنیم، نتایج بر حسب اکی والان در لیتر به دست خواهد آمد و چنانچه آن‌ها در ۲۰۰۰ ضرب شوند، نتایج بر حسب میلی اکی‌والان در لیتر خواهد بود.

- نتایج را بر حسب واحد دلخواه (میلی گرم در لیتر یا میلی اکی‌والان در لیتر) و با دو رقم اعشار گزارش نمایید.

نکات

- ۱) صحت و دقت این روش قابل قبول بوده و ضریب تغییرات (C.V.) نتایج تجزیه معمولاً ۰/۰۳ درصد است.
- ۲) برای بیشتر نمونه‌های خاک، مقدار واکنشگرها و مواد کافی است اما در شرایط خاص که غلظت Fe و Al زیاد باشد، ممکن است مقدار بیشتری از واکنشگرها نیاز باشد. حتی گاهی در صورت زیاد بودن این دو عنصر، لازم است که این عناصر از محلول (از طریق رسوب دادن به صورت هیدروکسید) جدا شوند.
- ۳) هنگامی که مقدار فسفات خیلی زیاد باشد، بایستی آن را پیش از عیارسنجی از محلول جدا نمود. افزایش یا کاهش مقدار معرف بسته به فرد تجزیه‌گر ممکن است به تشخیص نقطه انتهایی کمک کند.
- ۴) در مواقعی که غلظت منیزیم به اندازه کلسیم و یا بیشتر از آن باشد، تغییر رنگ در نقطه پایان عیارسنجی کلسیم ممکن است کاملاً مشخص نباشد. در چنین مواقعی معرف کلسیم در سطح ذرات $Mg(OH)_2$ جذب شده و

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۲۱ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		
		بفش آزمایشگاه‌ها	

تشخیص نقطه پایان را مشکل می‌کند. اضافه کردن کاربوسل^۱ (به‌عنوان یک کلونید محافظ) مانع جذب معرف شده و مشکل را رفع می‌کند. راه دیگر این است که بیشتر EDTA مصرفی پیش از افزایش pH اضافه شود. در این صورت تغییر رنگ در نقطه پایان واضح خواهد بود [۱۰].

۵) در برخی از خاک‌ها مقدار Sr و Ba به‌ویژه در تجزیه کل خاک ممکن است زیاد بوده و ایجاد مزاحمت نمایند. باریم را می‌توان به‌صورت باریم سولفات رسوب داد. بهتر است در تجزیه کل خاک از روش هضم HF و H₂SO₄ بجای روش ذوب با Na₂CO₃ استفاده نمود، زیرا در این صورت باریم به صورت رسوب BaSO₄ باقی خواهد ماند. قابل یادآوری است که کمپلکس‌های Ba و Sr با EDTA پایداری کمی دارند، لذا در اندازه‌گیری کلسیم مزاحمت چندانی ایجاد نمی‌کنند.

۶) وجود مقادیر جزئی از یون مس در آب یا محلول، به‌دلیل بلوکه کردن معرف EDTA، ایجاد مزاحمت می‌کند. برای تشخیص این نوع مزاحمت می‌توان به‌ترتیب زیر عمل نمود. به ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، چند میلی‌لیتر بافر اضافه کنید. با اضافه کردن EBT محلول بایستی دارای رنگ آب خالص باشد (بدون ته رنگ قرمز یا بنفش). اگر محلول، آب خالص نبود، به آن مقداری EDTA اضافه کنید. اگر محلول آبی رنگ شد، نشان دهنده وجود کلسیم یا منیزیم در محلول است. اگر محلول آبی رنگ نشد، احتمالاً آب دارای مس یا آهن می‌باشد. در این صورت، برای رفع مزاحمت بایستی مقداری پتاسیم سیانید پیش از اضافه کردن EBT به آب اضافه نمود.

۷) برای بررسی تأثیر افزودن محلول‌های پتاسیم سیانید، فروسیانید و تری اتانول آمین برای رفع مزاحمت عناصر در سنجش میزان کلسیم و منیزیم، یک بررسی اجمالی بر روی شش نمونه عصاره خاک مربوط به مناطق مختلف کشور انجام شد. نتایج به‌دست آمده در جدول ۲ نشان داده شده است. در نتایج به دست آمده بین افزودن و عدم افزودن محلول‌های مذکور برای رفع مزاحمت عناصر، اختلاف قابل‌توجهی در غلظت Ca+Mg مشاهده نشد.

^۱ Carboce

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۲۲ از ۲۷	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		
		بفش آزمایشگاه‌ها	

جدول ۲- اثر محلول‌های مختلف (پتاسیم سیانید، فروسیانید و تری اتانول آمین) برای رفع مزاحمت‌ها در اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم.

شماره خاک	EC (dS/m)	Ca + Mg ($\frac{mg}{L}$)	Ca + Mg ($\frac{mg}{L}$)
		افزودن معرف برای رفع مزاحمت‌ها	عدم افزودن معرف برای رفع مزاحمت‌ها
۱	۱۷۲/۵	۳۲۴	۳۲۲
۲	۵۹/۶	۱۲۸	۱۳۰
۳	۸۷/۵	۱۷۴	۱۷۵
۴	۱۷۲/۳	۶۲	۶۳
۵	۶۲/۲	۶۸	۶۸
۶	۳۶/۴	۷۰	۶۸

منابع مورد استفاده

۱. شهبازی، ک.، مارزی، م.، محمدی، م. ح.، اسدی، ح.، فتحی گردلیدانی، ا.، هاشمی نسب زواره، ک.، طلوعی، ر.، بهشتی، م.، آویژگان، ا.، چراغی، م. ۱۴۰۳. روش‌های تجزیه خاک: نمونه برداری، روش‌های شیمیایی و فیزیکی. موسسه تحقیقات خاک و آب. ۱، ۱-۱۰۷۴.
2. Marschner, H., *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. 2011: Academic press.
3. Lanyon, L.E. and W.R. Heald, *Magnesium, calcium, strontium, and barium*. Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties, 1983. 9: p. 247-262.
4. Suarez, D.L., *Beryllium, magnesium, calcium, strontium, and barium*. Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods, 1996. 5: p. 575-601.
5. Williams, T.R., *Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry (Perkin-Elmer Corp.)*. 1996, ACS Publications.
6. Isaac, R.A. and J.D. Kerber, *Atomic absorption and flame photometry: Techniques and uses in soil, plant, and water analysis*. Instrumental methods for analysis of soils and plant tissue, 1971: p. 17-37.
7. Clesceri, L., A. Greenberg, and R. Trussell, *Method 3114B*. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. Am. Public Health Assoc., Washington, DC, 1989.
8. Ali-ehyaei, M., *Chemical methods of soil analysis*. Soil and water Research Institute, 1997. 2: p. 131.
9. Lewis, L. and L. Melnick, *Determination of calcium and magnesium with (ethylenedinitrilo) tetraacetic acid*. Studies in accuracy. Analytical Chemistry, 1960. 32(1): p. 38-42.
10. Van Schouwenburg, J.C., *Micro-EDTA titration of calcium. magnesium interference*. Analytical Chemistry, 1960. 32(6): p. 709-711.

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 108	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم مملول در عصاره خاک		بخش آزمایشگاه‌ها	

تهیه و تدوین:

مصطفی مارزی

عضو هیات علمی بخش آزمایشگاه‌ها (بخش تحقیقات شیمی و فیزیک خاک و فناوری کود)، موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات ترویج و آموزش کشاورزی، کرج، ایران.

کریم شهبازی

رئیس بخش آزمایشگاه‌ها (بخش تحقیقات شیمی و فیزیک خاک و فناوری کود)، موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات ترویج و آموزش کشاورزی، کرج، ایران.

سپاس‌گزاری

بدینوسیله از کلیه کارشناسان محترم بخش آزمایشگاه‌ها (بخش تحقیقات شیمی و فیزیک خاک و فناوری کود) بویژه آقایان دکتر میثم چراغی و دکتر سجاد بیات که تجربیات سالیان متمادی کار در آزمایشگاه را سخاوتمندانه در اختیار مولفان قرار دادند، تشکر و قدردانی می‌گردد. این روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک با حمایت مالی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و محل موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شده است و بدین وسیله نویسندگان از آن مجموعه محترم تقدیر می‌نمایند.



MINISTRY OF AGRICULTURE - JAHAD
Agricultural Research, Education and Extension Organization
Soil and Water Research Institute of Iran
Laboratories Division

Standard Operation Procedure for Soil Analysis

Soluble Calcium and Magnesium Determination in the Soil Extracts

Record No: SWRI-S-108

Version: Rev-01-1403/10

2025

