



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 نیتروژن معدنی در خاک

SWRI-S-119

شماره ثبت:

Rev-01-1403/10

ویرایش اول:

۱۴۰۳



روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بفش آزمایشگاهها	

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک

اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک

نقل مطالب با ذکر منبع بلامانع است.

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

صندوق پستی: ۳۱۷۸۵-۳۱۱

کد پستی: ۳۱۷۷۹۹۳۵۴۵

تلفن: ۰۲۶-۳۶۲۰۱۹۰۰

نمبر: 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- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بخش آزمایشگاه‌ها	

فهرست مطالب

۱- مقدمه	۱
۲- اصول	۱
۳- وسایل	۳
۴- مواد و/یا واکنشگرها	۳
۵- روش کار	۷
الف- تهیه عصاره	۷
۵-۱- اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی	۸
۵-۱-۱- محاسبات و گزارش نتایج	۸
۵-۲- اندازه گیری $N - (NO_3^- + NO_2^-)$	۹
۵-۲-۱- محاسبات و گزارش نتایج	۹
۵-۳- اندازه گیری $N - (NH_4^+ + NO_3^- + NO_2^-)$	۱۰
۵-۳-۱- محاسبات و گزارش نتایج	۱۰
۵-۴- اندازه گیری $N - NH_4^+ + NO_3^-$	۱۰
۵-۵- اندازه گیری $N - NO_3^-$	۱۱
۵-۵-۱- محاسبات و گزارش نتایج	۱۱
۶- منابع مورد استفاده	۱۳

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	 بخش آزمایشگاه‌ها
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱ از ۱۸		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک	

۱- مقدمه

نیتروژن یکی از اساسی‌ترین عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان است که نقشی کلیدی در فرآیندهای زیستی و متابولیسمی ایفا می‌کند. این عنصر به عنوان بخش اصلی ساختار مولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک (DNA و RNA) و کلروفیل، برای حفظ رشد و فتوسنتز گیاهان ضروری است. گیاهان معمولاً حاوی ۶-۱ درصد وزنی نیتروژن بوده و N را به هر دو شکل نیترات (NO_3^-) و آمونیوم (NH_4^+) از خاک جذب می‌کنند. نیتروژن در خاک، به‌ویژه در لایه سطحی، بیشتر به صورت ترکیبات آلی وجود دارد. از این رو، فرآیند تجمع نیتروژن در خاک با تجمع مواد آلی رابطه نزدیکی دارد. این عنصر در خاک به دو شکل آلی و معدنی وجود دارد. بیشتر نیتروژن خاک (بیش از ۹۵ درصد از نیتروژن کل) را بخش آلی تشکیل می‌دهد و عمدتاً از بقایای گیاهی و میکروبی ناشی می‌شود. بخش معدنی کمتر از ۵ درصد از نیتروژن کل را تشکیل داده و شامل یون‌های آمونیوم (NH_4^+)، نیترات (NO_3^-) و مقدار بسیار کمی نیتريت (NO_2^-) است. چندین شکل دیگر نیتروژن معدنی به عنوان وا سطه در تبدیلات میکروبی نیتروژن در خاک پی شنهاد شده اند، مانند هیدروکسیل آمین (NH_2OH)، هیپونیتروس ($\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_2$) و نیتراآمید (NH_2NO_2)، اما این ترکیبات از نظر ترمودینامیکی ناپایدار بوده و در خاک قابل اندازه گیری و شناسایی نیستند. برای اندازه گیری شکل‌های مختلف نیتروژن معدنی معمولاً از ۲ KCl مولار به عنوان عصاره گیر استفاده می‌شود [۱].

۲- اصول

اصول این روش بر پایه عصاره گیری خاک با پتاسیم کلرید دو مولار است. در ادامه برای اندازه گیری آمونیوم از MgO به عنوان ماده قلیایی و برای اندازه گیری نیترات از دواردا آلوی^۱ به عنوان ماده احیاء کننده استفاده می‌شود. مقدار یون نیتريت را می‌توان از اختلاف حالتی که روش با سولفامیک اسید و یا بدون سولفامیک اسید انجام می‌شود، تخمین زد. پیش از شروع عمل تقطیر، یون نیتريت موجود در محیط با استفاده از سولفامیک اسید طبق واکنش زیر حذف می‌شود.

^۱ Devarda Alloy

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۲ از ۱۸	اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک	بفش آزمایشگاه‌ها	



سپس اقدام به اندازه گیری آمونیوم و نیترات می شود. اسید سولفامیک تأثیری بر یون های نیترات و آمونیوم ندارد و مزاحمتی در اندازه گیری این یون ها ایجاد نمی کند. روش اندازه گیری گفته شده بسیار ساده، سریع و دقیق است. مسئله رنگی بودن عصاره خاک در آن ایجاد مزاحمت نمی نماید. همچنین نیاز به عصاره گیری های مجزا برای اندازه گیری یون های آمونیوم و نیترات نمی باشد. این روش ها در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱- روش های تقطیر بخار برای اندازه گیری نیتروژن معدنی در عصاره خاک.

روش ^۱	شکل نیتروژن
تقطیر بخار با MgO	NH_4^+
تقطیر بخار با MgO و دواردا آلودی پس از حذف NO_2^- با سولفامیک اسید و NH_4^+ توسط تقطیر بخار با MgO^2	NO_3^-
تقطیر بخار با MgO و دواردا آلودی پس از حذف NO_2^- با سولفامیک اسید**	$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$
تقطیر بخار با MgO و دواردا آلودی پس از حذف NH_4^+ توسط تقطیر بخار با MgO	$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$
تقطیر بخار با MgO و دواردا آلودی	$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$

۱. در هر روش، NH_3 تولید شده در محلول معرف- بوریک اسید جمع و توسط عیارسنجی با سولفوریک اسید ۰/۰۰۵ مولار اندازه گیری می شود.

۲. اگر NO_2^- وجود ندارد، مرحله تیمار با اسید سولفامیک حذف شود.

این روش می تواند بر روی عصاره خاک و یا مستقیماً روی نمونه خاک پس از تیمار با پتاسیم کلرید دو مولار انجام شود، که در نتیجه مرحله عصاره گیری حذف می شود. این روش تقطیر مستقیم (نمونه خاک) با موفقیت برای دامنه وسیعی از خاک های مختلف به کار رفته است. با این وجود، زمانیکه از خاک به جای عصاره خاک در روش تقطیر استفاده می شود، احتمال تداخل ناشی از حضور ترکیبات آلی حاوی نیتروژن در خاک افزایش می یابد. این مسئله منجر به ثبت مقادیر بالاتری از نیتروژن آمونیمی در خاک های آلی و شالیزاری در روش تقطیر مستقیم، در مقایسه با روش تقطیر عصاره می شود. علاوه بر این، خروج دی اکسید کربن در طول تقطیر خاک های آهکی یا غیرهوازی می تواند خطای منفی در عیارسنجی $\text{N} - \text{NH}_4^+$ یا $\text{N} - \text{NO}_3^-$ ایجاد کند. با توجه به این مشکلات،

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۳ از ۱۸	اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بخش آزمایشگاه‌ها

روش‌های تقطیر-بخار مستقیم تنها زمانی باید استفاده شوند که بازیابی نیتروژن اضافه شده به خاک‌های مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شده باشد.

۳- وسایل

- (۱) ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم.
- (۲) ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم.
- (۳) سیستم بلوک هضم برای هضم نمونه‌ها با سولفوریک اسید در دمای 390 ± 10 درجه سلسیوس.
- (۴) لوله‌های سیستم کج‌دال با حجم ۱۰۰ میلی لیتر مناسب برای بلوک‌های هضم.
- (۵) واحد تقطیر، با سیستم تولید بخار.
- (۶) هود آزمایشگاهی.
- (۷) بورت با دقت ۰/۰۱ میلی لیتر. از بورت‌های خودکار یا تیترا تورهای خودکار (متصل به pH-متر یا غیر متصل) نیز می‌توان استفاده کرد.
- (۸) همزن مغناطیسی.
- (۹) شیکر رفت و برگشتی؛
- (۱۰) قیف بوخنر، با قطر ۵/۵ سانتی متر؛
- (۱۱) پمپ خلأ.

۴- مواد و/یا واکنشگرها

تمام واکنشگرها باید دارای درجه تجزیه‌ای باشند. از آب درجه ۲ همانند با ISO 3696 استفاده کنید.

- (۱) مس سولفات پنج آبه ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- (۲) پتاسیم سولفات (K_2SO_4).
- (۳) سولفوریک اسید (H_2SO_4)، با چگالی ۱/۸۴ گرم در سانتی متر مکعب.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۴ از ۱۸		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک	

نکته: از هیدروکلریک اسید (HCl) با چگالی ۱/۱۹ گرم در سانتی متر مکعب به عنوان جایگزین می توان استفاده کرد.

۴) بوریک اسید (H_3BO_3).

۵) سدیم هیدروکسید (NaOH).

۶) بروموکروزول گرین (مگر اینکه از تیترا تور دارای pH متر استفاده شود).

۷) متیل رد (مگر اینکه از تیترا تور دارای pH متر استفاده شود).

۸) اتانول ۹۶ درصد (مگر اینکه از تیترا تور دارای pH متر استفاده شود).

۹) مخلوط کاتالیزوری: ۶ گرم مس سولفات پنج آبه ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) و ۹۴ گرم پتاسیم سولفات (K_2SO_4) را به

خوبی کوبیده و با ۱ گرم سلینیوم مخلوط کنید. سولفات مس پنج آبه کوبیده شود و به پتاسیم سولفات و سلینیوم

اضافه و تا رسیدن به یک ترکیب با رنگ یکنواخت سابیده و مخلوط شود. این مخلوط در یک ظرف پلاستیکی

دربدار و به دور از رطوبت نگهداری شود.

نکته: اگر کاتالیزوهای تجاری موجود باشد می توان از قرص های کاتالیزور استفاده کرد.

نکته: اگر واکنش طولانی باشد (در انواع خاصی از خاک ها)، می توان جزء دیگری را به مخلوط کاتالیزور اضافه کرد،

به عنوان مثال، دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) به همان نسبت $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (۶ گرم).

۱۰) محلول بوریک اسید، ۲ درصد: 20 ± 0.1 گرم از H_3BO_3 را در ۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر از پیش گرم شده در

دمای کمتر از ۶۰ درجه سلسیوس حل کنید و اجازه دهید تا دمای اتاق سرد شود. pH را با اضافه کردن سدیم

هیدروکسید ۰/۱ مولار یا سولفوریک اسید ۰/۱ مولار روی ۴/۸ تا ۵ تنظیم کنید و با آب مقطر به حجم یک

لیتر برسانید.

نکته: برای تجهیزات تقطیر خودکار و لوازمی که برای تعداد زیاد نمونه طراحی شده اند، محلول بوریک اسید با اضافه

معرف می تواند در حجم زیاد تهیه شود.

برای این کار، 400 ± 0.1 گرم از H_3BO_3 در ۱۹ لیتر آب مقطر از پیش گرم شده در دمای کمتر از ۶۰ درجه

سلسیوس حل کنید و همزمان ۰/۵ گرم بروموکروزول گرین و ۰/۳۵ گرم متیل رد را در ۵۰۰ میلی لیتر اتانول حل کرده

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۵ از ۱۸	اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بخش آزمایشگاه‌ها

و به محلول بوریک اسید اضافه کنید و اجازه دهید تا دمای اتاق سرد شود. pH را با اضافه کردن سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار یا سولفوریک اسید ۰/۱ مولار روی ۴/۸ تا ۵ تنظیم کنید و با آب مقطر به حجم ۲۰ لیتر برسانید.

(۱۱) محلول سدیم هیدروکسید (NaOH)، ۱۰ مولار: ۴۰۰ گرم سدیم هیدروکسید را در ۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و اجازه دهید تا دمای اتاق سرد شود، در نهایت محلول را به حجم یک لیتر برسانید.

(۱۲) سولفوریک اسید (H_2SO_4)، غلظت ۰/۰۰۵ مولار: اگر در آزمایشگاه تهیه می شود باید با یک محلول استاندارد شده غلظت آن کنترل شود.

نکته: از محلول هیدروکلریک اسید (HCl) ۰/۰۱ مولار می توان به جای محلول سولفوریک اسید استفاده کرد.

(۱۳) معرف مخلوط: ۰/۱ گرم بروموکروزول گرین و ۰/۰۷ گرم متیل رد را در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول (۹۶٪) حل کنید. معرف مخلوط دارای طیف رنگی با تغییرات pH است که تقریباً از pH=۴/۸ (صورتی) تا pH=۵/۵ (سبز زمردی) تغییر رنگ می دهد.

(۱۴) سدیم هیدروکسید (NaOH)، ۰/۱ مولار: می توان از سدیم هیدروکسید ۱۰ مولار محلول رقیق را تهیه کرد (۱) میلی لیتر را در بالن حجمی با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید).

(۱۵) سولفوریک اسید (H_2SO_4)، ۰/۰۵ مولار: ۰/۲۸ میلی لیتر از سولفوریک اسید غلیظ را در بالن حجمی به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید. همیشه اسید را به آب اضافه کنید، $1 \text{ mL of } 0.005 \text{ M } H_2SO_4 = 0.14 \text{ mg of N}$ –



(۱۶) سولفات آمونیوم $((NH_4)_2SO_4)$.

(۱۷) برای کنترل کیفی داده ها استفاده از ماده مرجع خاک (RM۱) با مقدار مشخص محتوای نیتروژن (KjN) پیشنهاد می شود.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب		
SWRI-S- 119	شماره ثبت			
Rev-01-1403/10	ویرایش اول			
صفحه ۶ از ۱۸		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بفش آزمایشگاه‌ها

۱۸) مواد با محتوای نیتروژن معین برای کنترل کل روش استفاده شود. این مواد ممکن است شامل اتیلن‌دی‌آمین-تتراستیک اسید (EDTA)، استانیلید، L-آسپاراجین اسید، سولفانیل اسید یا دیگر اسیدهای آمینه با مقدار نیتروژن معین باشد. از آمونیوم سولفات $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ برای کنترل فرآیند تقطیر استفاده شود.

۱۹) نمونه کنترل یا ماده مرجع داخلی (IRM^1) مناسب برای تجزیه نمونه‌ها استفاده شود.

۲۰) پتاسیم کلرید ۲ مولار: مقدار ۱۵۰ گرم پتاسیم کلرید را در حدود ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به حجم یک لیتر برسانید.

۲۱) منیزیم اکسید (MgO): مقداری منیزیم اکسید را به مدت ۲ ساعت و در دمای ۶۰۰-۷۰۰ درجه سلسیوس در کوره الکتریکی حرارت داده، سپس آن را در دسیکاتور که حاوی پتاسیم هیدروکسید است، سرد کنید و در بطری با درب محکم نگهداری نمایید.

۲۲) محلول بوریک اسید - معرف: مقدار ۲۰ گرم بوریک اسید خالص را در حدود ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به بالن حجمی ۱ لیتری که حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک و ۲۰ میلی‌لیتر معرف (۰/۳ گرم بروموکروزل گرین و ۰/۱۶۵ گرم متیل رد در ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول) می‌باشد، انتقال دهید. پس از مخلوط نمودن، به محتویات بالن قطره قطره سود ۰/۰۵ نرمال اضافه نموده تا رنگ آن از صورتی به سبز کمرنگ تبدیل شود (این رنگ شبیه رنگی است که با مخلوط نمودن یک میلی‌لیتر از معرف با یک میلی‌لیتر آب ایجاد می‌شود). سپس بالن را به حجم یک لیتر رسانده و کاملاً مخلوط نمایید.

۲۳) دواردا آلوی: (مس ۵۰ درصد، آلومینیوم ۴۵ درصد و روی ۵ درصد)، این ماده شیمیایی باید از الک ۱۰۰ مش (۰/۱۵ میلی‌متر) و حداقل ۷۵ درصد آن از الک ۳۰۰ مش (۰/۰۵ میلی‌متر) عبور داده و در ظرف در بسته نگهداری شود. این ماده می‌تواند به صورت تجاری تهیه شود.

۲۴) سولفامیک اسید ($\text{NH}_3\text{SO}_3\text{H}$) ۰/۲ مولار: مقدار ۲ گرم سولفامیک اسید را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نمایید (این ماده باید در یخچال نگهداری شود).

۲۵) سولفوریک اسید (H_2SO_4)، استاندارد ۰/۰۰۵ مولار.

¹ Internal Reference Material

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	 بخش آزمایشگاه‌ها
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۷ از ۱۸		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک	

۲۶) محلول استاندارد $N - (NH_4^+ + NO_3^-)$: مقدار ۰/۲۳۵۸ گرم آمونیوم سولفات $(NH_4)_2SO_4$ و ۰/۳۶۰۹ گرم پتاسیم نیترات (KNO_3) را در آب مقطر حل کرده و در بالن حجمی به حجم یک لیتر رسانده و کاملاً مخلوط کنید. این محلول حاوی ۵۰ میکروگرم نیتروژن به صورت آمونیاکی $(N - NH_4^+)$ و ۵۰ میکروگرم نیتروژن به صورت نیتراتی $(N - NO_3^-)$ در هر میلی لیتر است. این محلول را در یخچال نگهداری نمائید.

۲۷) محلول استاندارد $N - (NH_4^+ + NO_3^- + NO_2^-)$: مقدار ۰/۲۳۵۸ گرم آمونیوم سولفات $(NH_4)_2SO_4$ ، ۰/۱۲۳۲ گرم سدیم نیتريت $(NaNO_2)$ و ۰/۳۶۰۹ گرم پتاسیم نیترات (KNO_3) را در آب مقطر حل کرده و در بالن حجمی به حجم یک لیتر برسانید و کاملاً مخلوط کنید. این محلول دارای ۵۰ میکروگرم نیتروژن به صورت آمونیاکی $(N - NH_4^+)$ ، ۲۵ میکروگرم نیتروژن نیتريتی $(N - NO_2^-)$ و ۵۰ میکروگرم نیتروژن به صورت نیتراتی $(N - NO_3^-)$ در هر میلی لیتر است. استاندارد تهیه شده را در یخچال نگهداری نمائید.

۲۸) کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ (قطر ۵/۵ سانتی متر): پیش از استفاده با ۲۰ میلی لیتر محلول KCl ۲ مولار و ۲۰ میلی لیتر آب مقطر شستشو داده شود و در هوای آزاد یا آون (۴۰-۷۰ درجه سلسیوس) خشک شود.

۵- روش کار

الف- تهیه عصاره

۱) مقدار ۱۰ گرم خاک هوا خشک را در ظرف پلی اتیلنی ۲۵۰ میلی لیتری دهانه گشاد ریخته و ۱۰۰ میلی لیتر محلول پتاسیم کلرید ۲ مولار به آن اضافه کنید. نسبت ۱:۱۰ عصاره گیر به خاک همیشه در هنگام کار رعایت شود، زیرا ممکن است در نسبت های کمتر استخراج کامل نشود. همچنین زمان شیکر اگر کمتر از ۱ ساعت باشد، امکان دارد استخراج کامل نشود [۲].

۲) در ظرف را بسته و به مدت یک ساعت بر روی شیکر دورانی تکان دهید (دو نمونه شاهد باید همراه نمونه ها تهیه شود).

۳) نمونه ها را ۳۰ دقیقه به حال خود قرار داده تا ته نشین شود. اگر از روش تقطیر بخار برای اندازه گیری شکل های مختلف نیتروژن استفاده شود، نیازی به صاف کردن سوسپانسیون نیست و می توان از قسمت

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب		
SWRI-S- 119	شماره ثبت			
Rev-01-1403/10	ویرایش اول			
صفحه ۸ از ۱۸		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بخش آزمایشگاه‌ها

شفاف محلول با پی پت دهانه گشاد استفاده کرد [۲]. در صورتی که نتوان عصاره شفاف شده را در مدت ۲۴ ساعت مورد تجزیه قرار داد، باید سوسپانسیون خاک را به صورت زیر صاف نموده و تا زمان انجام تجزیه در یخچال نگهداری کرد.

۴) با مقدار کمی از محلول شفاف رویی کاغذ صافی روی قیف بوخنر را مرطوب کرده و قیف را به پمپ خلأ متصل و محلول را صاف کنید.

۵-۱- اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی

۱) مقدار ۵ میلی لیتر از محلول بوریک اسید و معرف را در ارلن مایر ۵۰ میلی لیتری ریخته (ارلن مایر باید در محل حجم ۳۰ میلی لیتر واسنجی و با علامت مشخص شود) و به گونه ای در زیر مبرد دستگاه سمی-میکروکجلدال که انتهای مبرد ۴ سانتی متر بالاتر از سطح اسید بوریک قرار گیرد.

۲) مقدار ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر از عصاره خاک را به درون بالن تقطیر پیپت نموده و ۰/۲ گرم پودر MgO داخل بالن تقطیر اضافه کنید (پودر با قیف بلند به ته بالن اضافه کنید. پودر نباید به جداره بالن تقطیر بچسبد).

۳) بلافاصله بالن را به سیستم بخار- تقطیر متصل کنید تا عمل تقطیر انجام پذیرد (باید منبع حرارتی را طوری تنظیم نمود که در هر دقیقه ۷ تا ۸ میلی لیتر از محتویات بالن تقطیر شود و دمای آب خروجی مبرد نباید از ۲۲ درجه سلسیوس بیشتر باشد).

۴) وقتی محتویات ارلن مایر زیر مبرد به ۳۰ میلی لیتر رسید، تقطیر را متوقف نمایید و انتهای مبرد را با کمی آب مقطر شستشو دهید. سپس با سولفوریک اسید ۰/۰۵ نرمال (با استفاده از میکروپورت) تیتیر کنید.

۵) یک میلی لیتر سولفوریک اسید ۰/۰۵ نرمال، معادل با ۷۰ میکروگرم نیتروژن آمونیاکی است. در انتهای عیارسنجی تغییر رنگ از سبز به صورتی کم رنگ می باشد.

۵-۱-۱- محاسبات و گزارش نتایج

غلظت نیتروژن به شکل آمونیم را می توان از رابطه زیر محاسبه نمود.

$$N - NH_4(mg/kg) = \frac{(a - b) \times 14 \times N \times V_1 \times 1000}{V_2 \times W} \quad (2)$$

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب		
SWRI-S- 119	شماره ثبت			
Rev-01-1403/10	ویرایش اول			
صفحه ۹ از ۱۸		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بخش آزمایشگاه‌ها

که در آن:

a: حجم اسید مصرفی برای تیتراسیون ۲۰ میلی لیتر عصاره نمونه بر حسب میلی لیتر

b: حجم اسید مصرفی برای تیتراسیون ۲۰ میلی لیتر عصاره شاهد بر حسب میلی لیتر

N: نرمالیت اسید مصرفی بر حسب میلی اکی والان بر لیتر

۱۴: وزن اکی والان نیتروژن

V₁: حجم عصاره گیر یا محلول KCl اضافه شده بر حسب میلی لیتر

V₂: حجم عصاره استفاده شده برای اندازه گیری آمونیاک بر حسب میلی لیتر

W: وزن نمونه خاک بر حسب گرم

مقدار اسید مصرفی برای نمونه شاهد باید از مقدار اسید مصرفی برای نمونه کم شود و سپس حاصل را در محاسبه

تأثیر داد.

$$\text{mg/kg N} - \text{NH}_4^+ = 35 (a - b) \quad (3)$$

- غلظت آمونیم (نیتروژن به فرم آمونیم) را بر حسب میلی گرم در کیلوگرم خاک و با دو رقم اعشار گزارش نمائید. نتایج باید بر اساس خاک هوا خشک یا آون خشک گزارش شود.

۵-۲- اندازه گیری (NO₃⁻ + NO₂⁻) N

۱) مقدار ۵ میلی لیتر از محلول بوریک اسید - معرف را در ارلن مایر ۵۰ میلی لیتری ریخته (ارلن مایر باید در محل

حجم ۳۰ میلی لیتر واسنجی و با علامت مشخص شود) و در زیر مبرد دستگاه سمی - میکروکجلاال قرار دهید

(انتهای مبرد ۴ سانتی متر بالاتر از اسید بوریک قرار گیرد).

۲) به همان نمونه ای که در آن نیتروژن آمونیاکی را اندازه گیری نمودیم، ۰/۲ گرم پودر دواردا آلوی اضافه کنید.

بلافاصله به دستگاه تقطیر وصل و عمل تقطیر و عمل عیارسنجی را مانند روش اندازه گیری آمونیاک انجام دهید.

۵-۲-۱- محاسبات و گزارش نتایج

$$\text{mg/kg N} - (\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-) = 35 (a - b) \quad (4)$$

a: مقدار اسید مصرفی برای ۲۰ میلی لیتر از عصاره نمونه.

b: مقدار اسید مصرفی برای ۲۰ میلی لیتر از نمونه شاهد.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۰ از ۱۸	اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بخش آزمایشگاه‌ها

- غلظت نیترات و نیتريت (نیتروژن به فرم نیترات و نیتريت) در خاک را برحسب میلی گرم در کیلوگرم و با دو رقم اعشار گزارش نمائید. نتایج باید بر اساس خاک هوا خشک یا آون خشک گزارش شود.

۵-۳- اندازه گیری $N - (NH_4^+ + NO_3^- + NO_2^-)$

(۱) مقدار ۵ میلی لیتر از محلول بوریک اسید - معرف را در ارلن مایر ۵۰ میلی لیتر ریخته (ارلن مایر باید مثل روش

آمونیاک واسنجی شود) و در زیر مبرد دستگاه سمی-میکروکجدال قرار دهید.

(۲) مقدار ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر از عصاره را در بالن تقطیر ریخته و ۰/۲ گرم پودر MgO و ۰/۲ گرم دواردا آلوی اضافه

و بلافاصله آن را به دستگاه تقطیر وصل نمائید.

(۳) پس از اینکه حجم ارلن زیر مبرد به ۳۰ میلی لیتر رسید تقطیر را متوقف کنید و انتهای مبرد را با آب مقطر

بشوید. سپس محتویات ارلن مایر را با سولفوریک اسید ۰/۰۰۵ نرمال و با استفاده از میکروپورت تیتیر نمائید تا

رنگ آن از سبز به صورتی تغییر یابد.

۵-۳-۱- محاسبات و گزارش نتایج

$$mg/kg N - (NH_4^+ + NO_3^- + NO_2^-) = 35 (a - b) \quad (5)$$

a: مقدار اسید مصرفی برای ۲۰ میلی لیتر از عصاره نمونه.

b: مقدار اسید مصرفی برای ۲۰ میلی لیتر از نمونه شاهد.

- غلظت آمونیم، نیترات و نیتريت (نیتروژن به فرم آمونیم، نیترات و نیتريت) در خاک را برحسب میلی گرم در کیلوگرم و با دو رقم اعشار گزارش نمائید. نتایج باید بر اساس خاک هوا خشک یا آون خشک گزارش شود.

۵-۴- اندازه گیری $N - (NH_4^+ + NO_3^-)$

مانند روش اندازه گیری مجموع ازت آمونیاکی، نیتراتی و نیتريتی عمل نمایید. فقط پیش از اضافه نمودن MgO و دواردا

آلوی به بالن تقطیر، مقدار ۱ میلی لیتر اسید سولفامیک اضافه و سپس به مدت چند ثانیه آن را تکان دهید تا اسید

سولفامیک تمام NO_2 را تجزیه نماید.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب		
SWRI-S- 119	شماره ثبت			
Rev-01-1403/10	ویرایش اول			
صفحه ۱۱ از ۱۸	اندازه گیری نیترژن معدنی در خاک			بخش آزمایشگاه‌ها

۵-۵- اندازه گیری $\text{NO}_3^- - \text{N}$

- ۱) مقدار ۵ میلی لیتر از محلول بوریک اسید - معرف را در ارلن مایر ۵۰ میلی لیتری ریخته (ارلن مایر باید در محل حجم ۳۰ میلی لیتری واسنجی و با علامت مشخص شود) و در زیر مبرد دستگاه سمی میکروکجلدال قرار دهید (انتهای مبرد ۴ سانتی متر بالاتر از سطح اسید بوریک باشد).
- ۲) مقدار ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر از عصاره را در بالن تقطیر ریخته و یک میلی لیتر سولفامیک اسید به آن اضافه کنید و به مدت چند ثانیه هم بزنید تا NO_2 تجزیه و از محیط خارج شود.
- ۳) مقدار ۰/۲ گرم پودر MgO را با استفاده از قیف بلند به بالن تقطیر اضافه کنید (پودر نباید به جداره بالن تقطیر بچسبد) و آن را به سیستم تقطیر متصل کنید تا عمل تقطیر انجام پذیرد (باید منبع حرارتی را طوری تنظیم نمود که در هر دقیقه، ۷ تا ۸ میلی لیتر از محتویات بالن تقطیر شود و آب خروجی مبرد نباید از ۲۲ درجه سلسیوس بیشتر باشد).
- ۴) وقتی محتویات ارلن مایر زیر مبرد به ۳۰ میلی لیتر رسید تقطیر را متوقف کنید و انتهای مبرد را با کمی آب مقطر بشوید و ارلن را از سیستم خارج کنید. با این عمل یونهای آمونیاک و نیتريت از محیط خارج شده و فقط یونهای نیترات در بالن تقطیر باقی می ماند که باید مورد سنجش قرار گیرد.
- ۵) مقدار ۵ میلی لیتر اسید بوریک و معرف را در ارلن مایر ۵۰ میلی لیتری ریخته و زیر مبرد سیستم تقطیر قرار دهید. سپس مقدار ۰/۲ گرم پودر دواردا آلوی به همان بالنی که در آن حذف آمونیاک و نیتريت انجام گرفته بود اضافه و بلافاصله سیستم تقطیر را برقرار نمائید تا حجم محتویات ارلن مایر زیر مبرد به ۳۰ میلی لیتر برسد.
- ۶) عمل تقطیر را متوقف کنید و انتهای مبرد را با کمی آب مقطر بشوید و سپس با سولفوریک اسید ۰/۰۵ نرمال (با استفاده از میکروپورت) تیتتر کنید تا رنگ محلول از سبز به صورتی کم رنگ تبدیل شود.

۵-۵-۱- محاسبات و گزارش نتایج

$$\text{mg/kg N} - \text{NO}_3^- = 35 (a - b) \quad (۶)$$

a: مقدار اسید مصرفی برای ۲۰ میلی لیتر از عصاره نمونه.

روش عملیاتی استاندارد تمیزه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
صفحه ۱۲ از ۱۸	اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		بخش آزمایشگاه‌ها

b: مقدار اسید مصرفی برای ۲۰ میلی لیتر از نمونه شاهد.

نکته: به جای استفاده از عصاره خاک می توان ۲ گرم خاک و ۱۰ میلی لیتر محلول پتاسیم کلرید دو مولار را در بالن تقطیر ریخته و بقیه مراحل را از ردیف ۳ بدون هیچ تغییری انجام داد.

- غلظت نیترات (نیتروژن به فرم نیترات) در خاک را بر حسب میلی گرم در کیلوگرم و با دو رقم اعشار گزارش نمائید. نتایج باید بر اساس خاک هوا خشک یا آون خشک گزارش شود.

نکات

۱) پیش از شروع به تقطیر نمونه، با ۵ میلی لیتر از استاندارد نیتروژن نیتراتی و آمونیاکی و ۵ میلی لیتر از استاندارد نیتروژن نیتراتی، آمونیاکی و نیتریتی دستگاه باید چک شود.

۲) محلول های استاندارد را می توان برای چند ماه در یخچال نگهداری کرد.

۳) روش یادآوری شده در بالا را می توان برای اندازه گیری نیتروژن نیتراتی و آمونیاکی در خاک هایی که با پتاسیم کلرید یک مولار، پتاسیم کلرید دو مولار، آب و پتاسیم سولفات (K_2SO_4) عصاره گیری شده اند، انجام داد. اگر خاک با محلول اسیدی عصاره گیری شده است، پیش از تقطیر عصاره را خنثی نمائید.

۴) عصاره خاک به دست آمده برای اندازه گیری نیتروژن نیتراتی و آمونیاکی را می توان به مدت چند ماه در یخچال نگهداری کرد.

۵) مدت زمان تقطیر نباید طولانی شود زیرا ممکن است نیتروژن آلی وارد فعل و انفعالاتی شود و ایجاد خطا کند.

۶) برای تمیز کردن بالن تقطیر آلوده به MgO و دواردا آلوی، می توان از هیدروکلریک اسید رقیق استفاده کرد.

۷) برای اندازه گیری آمونیوم از MgO سنگین^۱ استفاده شود زیرا MgO سبک^۲ روی جداره بالن تقطیر حرکت می کند و سایر قسمت های دستگاه تقطیر را آلوده می نماید.

۸) MgO را باید حتماً در کوره قرار داد زیرا گاهی این ماده آلوده به $MgCO_3$ است که باید از بین برود. ماده شیمیایی MgO باید در ظرف در بسته و حتی الامکان دور از CO_2 هوا نگهداری شود.

^۱ Heavy MgO

^۲ Light MgO

روش عملیاتی استاندارد تجزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب		
SWRI-S- 119	شماره ثبت			
Rev-01-1403/10	ویرایش اول			
صفحه ۱۳ از ۱۸		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک		
		بفش آزمایشگاهها		

۹) آب مقطر که برای تأمین بخار و حرارت مرحله تقطیر استفاده می‌شود باید دارای مقدار بسیار کمی سولفوریک اسید باشد تا NH_3 موجود در آب از بین برود.

۱۰) پیش از شروع به اندازه‌گیری نمونه می‌بایست دستگاه تقطیر به مدت ۱۰ دقیقه کار کند تا مقدار جزئی NH_3 که ممکن است در دستگاه تقطیر وجود داشته باشد، خارج شود.

۱۱) برای اضافه نمودن MgO و دواردا آلوی به نمونه می‌توان یک بار برای همیشه اسپاتول را واسنجی نموده تا نیاز به توزین برای هر نمونه نباشد، بلکه با همان اسپاتول واسنجی شده مقادیر مورد نیاز MgO و دواردا آلوی به نمونه عصاره اضافه شود.

۱۲) اگر آزمایش بلافاصله روی عصاره خاک انجام شود، نیازی به صاف کردن نمونه نیست. پس از نیم ساعت که خاک ته نشین شد، ۲۰ میلی‌لیتر از مایع رویی را پیپت کرده و عملیات تقطیر را روی آن انجام دهید. در صورتی که مایع رویی کدر و یا دارای مواد معلق باشد تأثیری در میزان نیتروژن آمونیایی و نیتراتی نخواهد داشت (برای پیپت کردن این محلول از پیپت با نوک گشاد استفاده شود).

۶- 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.

- Mulvaney, R.L., Nitrogen—inorganic forms. Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods, 1996. 5: p. 1123-1184.
- Bremner, J. and D. Keeney, Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. Exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by extraction-distillation methods. Soil Science Society of America Journal, 1966. 30(5): p. 577-582.

روش عملیاتی استاندارد تمیزیه خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
SWRI-S- 119	شماره ثبت		
Rev-01-1403/10	ویرایش اول		
		اندازه گیری نیتروژن معدنی در خاک	بخش آزمایشگاهها

تهیه و تدوین:

مهدی بهشتی

دانش آموخته دکتری دانشگاه تهران، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.

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.

میثم چراغی

دانش آموخته دکتری دانشگاه تهران، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.

سپاس‌گزاری

بدینوسیله از کلیه کارشناسان محترم بخش آزمایشگاهها (بخش تحقیقات شیمی و فیزیک خاک و فناوری کود) بویژه سرکار خانم مهندس الهه ملک زاده، خانم مهندس فاطمه منصوری و 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

Determination of Inorganic Nitrogen in Soil

Record No: SWRI-S-119

Version: Rev-01-1403/10

2025

