


آزمایشگاه شیمی خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
1 از 4	صفحه		
اندازه‌گیری فسفر قابل جذب خاک			

اندازه‌گیری فسفر قابل جذب

1- اصول و دامنه کاربرد


برای اندازه‌گیری فسفر قابل جذب خاک از محلول بی‌کربنات سدیم با $\text{pH}=8/5$ بعنوان عصاره‌گیر استفاده می‌شود. OH^- و CO_3^{2-} موجود در محلول NaHCO_3 ، غلظت یا فعالیت یون‌های Ca^{2+} و Al^{3+} را کاهش می‌دهد و در نتیجه این واکنش حلالیت فسفر در محلول افزایش می‌یابد. این عصاره‌گیر برای هر دو نوع خاک‌های اسیدی و آهکی مناسب است. مکانیسم عمل این عصاره‌گیر در خاک‌های اسیدی و قلیایی تا حدودی متفاوت است. بطوریکه در خاک‌های آهکی غلظت بالای یون CO_3^{2-} باعث کاهش غلظت یون کلسیم به دلیل تشکیل رسوب CaCO_3 می‌شود. این کاهش غلظت یون کلسیم باعث افزایش حلالیت فسفات‌های کلسیم می‌شود. در حالیکه در خاک‌های اسیدی یا خنثی، غلظت بالای یون OH^- باعث تشکیل کمپلکس‌های آلومینات و رسوب Fe^{3+} به شکل اکسید گردیده و در نتیجه غلظت یون‌های Fe^{3+} و Al^{3+} کاهش می‌یابد. در نتیجه این کاهش غلظت فسفات‌های آهن و آلومینیم افزایش می‌یابد. در pH های بالا افزایش بارهای منفی یا کاهش مکان‌های جذب در سطوح اکسیدهای آهن و آلومینیوم می‌تواند مسئول دفع و آزادسازی فسفر جذب شده به محلول باشد. فسفر موجود در عصاره خاک استخراج شده به روش اولسن، با بکارگیری اسید آسکوربیک بعنوان ماده احیاء کننده، به روش رنگ سنجی اندازه‌گیری می‌شود.

2- وسایل مورد نیاز

- ترازوی الکتریکی با دقت $\pm 0/001$ گرم.
- بالن حجمی 50، 100 و 1000 میلی‌لیتری.
- ارلن مایر 125 میلی‌لیتری.
- قیف پلاستیکی یا شیشه‌ای.
- کاغذ صافی واتمن 42 یا فیلتر 0/45 میکرون.
- اسپکتروفتومتر با قابلیت تنظیم بر روی طول موج 880 نانومتر.
- شیکر مکانیکی رفت و برگشتی.

3- مواد / واکنشگرها


- محلول عصاره‌گیری بی‌کربنات سدیم (NaHCO_3) 0/5 نرمال $\text{pH}=8/5$: 42 گرم بی‌کربنات سدیم را در یک لیتر آب مقطر حل کرده و pH آنرا با سود یک مولار بر روی 8/5 تنظیم نمائید. در صورت تجاوز pH بیش از

آزمایشگاه شیمی خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
2 از 4	صفحه		
اندازه‌گیری فسفر قابل جذب خاک			

- 8/5 می‌توان از محلول بی‌کربنات سدیم نیم نرمال برای پایین آوردن آن استفاده نمود. اگر محلول بی‌کربنات در حجم زیادی تهیه و نگهداری می‌شود باید قبل از استفاده pH محلول مجدداً روی 8/5 تنظیم کنید.
- سولفوریک اسید (H₂SO₄) 2/5 مولار : 139 میلی‌لیتر از اسید سولفوریک غلیظ (18 مولار) را به 800 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کنید. پس از سرد شدن به حجم یک لیتر برسانید.
- سدیم هیدروکسید 1 مولار (NaOH): 40 گرم سدیم هیدروکسید را در یک لیتر آب مقطر حل کنید.
- کربن فعال.
- پارا- نیترو فنول¹ (C₆H₅NO₃) 0/25 درصد: 0/25 گرم پارا-نیترو فنول در 100 میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید.
- آمونیوم مولیبدات (NH₄)₆Mo₇O₂₄ .4H₂O: 20 گرم از آمونیوم مولیبدات را در 500 میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید. محلول در یک ظرف شیشه‌ای درب‌دار نگهداری شود.
- پتاسیم آنتیموان تارتارات 1/2H₂O . KSbOC₄H₄O₆ (1 Sb mg/ml): 0/2728 گرم آنتیموان تارتارات را در صد میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید.
- آسکوربیک اسید (C₆H₈O₆)، 0/1 مولار : 1/76 گرم از آسکوربیک اسید را در 100 میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید. این محلول به صورت روزانه تهیه شود.
- محلول مخلوط: 50 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 2/5 مولار، 15 میلی‌لیتر محلول آمونیوم مولیبدات، 30 میلی‌لیتر محلول آسکوربیک اسید و 5 میلی‌لیتر محلول پتاسیم آنتیموان تارتارات را با هم در یک ظرف پلی اتیلن یا پیرکس مخلوط کنید. این محلول به صورت تازه و روزانه تهیه شود.
- محلول استاندارد ذخیره² فسفر، 50 میلی‌گرم بر لیتر فسفر: 0/2197 گرم از نمک KH₂PO₄ (در آن 40 درجه سانتی‌گراد خشک شده است) را در آب مقطر حل کنید. 25 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 2/5 مولار اضافه کرده و به حجم یک لیتر برسانید.
- محلول استاندارد کاری فسفر، 5 میلی‌گرم بر لیتر فسفر: 10 میلی‌لیتر از استاندارد 50 mg P/L را در بالن حجمی 100 میلی‌لیتری به حجم برسانید.
- سری استانداردها : از محلول 5 میلی‌گرم بر لیتر فسفر به ترتیب 4، 6، 8، 10، 12 و 14 میلی‌لیتر برداشته با بی‌کربنات سدیم به حجم 50 میلی‌لیتر برسانید. (با توجه به غلظت فسفر در نمونه‌های خاک می‌توان غلظت استانداردها را تغییر داد) برای استاندارد صفر از بی‌کربنات سدیم استفاده شود. این محلول‌ها دارای 0/4، 0/6، 0/8، 1، 1/2، 1/4 میلی‌گرم بر لیتر فسفر می‌باشند.

¹ p-nitrophenol

² Stock

آزمایشگاه شیمی خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
3 از 4	صفحه		
اندازه‌گیری فسفر قابل جذب خاک			

4- روش کار

- 2 گرم از نمونه خاک را توزین کرده و به ارلن مایر 125 میلی لیتر منتقل کنید.
- دو نمونه بدون خاک نیز به عنوان شاهد به نمونه‌ها اضافه نمائید.
- 40 میلی لیتر از محلول عصاره‌گیری بی‌کربنات سدیم به آنها اضافه کرده و به مدت نیم ساعت در دور rpm 150 تکان دهید. بلافاصله آنرا بوسیله کاغذ صافی واتمن شماره 42 (یا فیلتر 0/45 میکرون) صاف کنید.
- در صورت رنگی بودن عصاره، معمولاً به هر نمونه 0/1 گرم کربن فعال به عصاره اضافه کرده، نیم ساعت تکان داده و سپس صاف نمائید. در صورت اضافه کردن مقادیر مختلف کربن به نمونه‌ها برای هر نمونه، شاهد تهیه شود، چون کربن فعال ممکن است مقداری فسفر به عصاره وارد یا از عصاره جذب نماید.
- مقداری از عصاره را که بین 2 تا 40 میکروگرم فسفر می‌باشد به بالن حجمی 50 میلی لیتری منتقل و به آن 5 قطره از معرف پارا- نیتروفنول اضافه کنید.
- pH محلول را با افزودن آرام اسید سولفوریک 2/5 مولار تا زمانی که محلول بی رنگ شود کاهش دهید. به منظور جلوگیری از خروج سریع گاز CO₂ و از دست رفتن محلول، اضافه کردن اسید باید از طریق تماس با دیواره بالن انجام شود.
- عصاره حاصل را با آب مقطر تا حدود 25 میلی لیتر رقیق کنید.
- 8 میلی لیتر محلول مخلوط اضافه کنید.
- محلول را به حجم رسانده و به خوبی مخلوط کنید.
- بعد از 10 دقیقه میزان جذب را در طول موج 880 نانومتر اندازه‌گیری کنید.
- دو نمونه شاهد حاوی تمامی واکنش‌گرها به جز محلول فسفر نیز تهیه کنید.

5- محاسبات


$$P_{\text{قابل جذب}} \text{ (mg/kg)} = P_i \times \frac{50}{V_1} \times \frac{40}{W_{\text{soil}}}$$

که در آن :

$P_{\text{قابل جذب}}$: مقدار فسفر قابل جذب بر حسب میلی گرم در کیلو گرم خاک.

P_i : غلظت فسفر در عصاره بر حسب میلی گرم بر لیتر .

V_1 = حجم نمونه استفاده شده برای اندازه‌گیری فسفر بر حسب میلی لیتر.

آزمایشگاه شیمی خاک		موسسه تحقیقات خاک و آب	
4 از 4	صفحه		
اندازه‌گیری فسفر قابل جذب خاک			

W_{soil} : وزن خاک خشک برحسب گرم.

6- نکات

- برای نگهداری محلول بی‌کربنات سدیم بهتر است از ظروف پلاستیکی استفاده شود. در صورت استفاده از ظروف شیشه‌ای محلول باید بصورت تازه و ماهانه تهیه گردد.
- pH محلول بی‌کربنات سدیم مرتباً کنترل شود زیرا با گذشت زمان pH محلول بالا رفته و باعث می‌شود مقدار فسفر عصاره‌گیری شده بیشتر شود.
- بعد از اتمام مرحله شیکر سریعاً باید نسبت به صاف نمودن نمونه‌ها اقدام شود.

7- منابع مورد استفاده

1. Olsen, S.R., 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. US Department of Agriculture.
2. Ehyaei, M., A. Behbahanizadeh. 1993. Chemical methods of soil and analysis. Soil and Water Research Institute. (In Persian).