هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌های خاک با روش‌ها و محلول‌های مختلف

جابر فلاح‌زاده[1]، مرجان مهدوی[2]، راضیه کاظمی[2] و نسرین بقایی[2]

1- کارشناس ارشد آزمایشگاه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان (اصفهان)

2- دانشجویان کارشناسی خاک‌شناسی، دانشگاه صنعتی اصفهان

آدرس پست الکترونیکی مکاتبه کننده (jaber84023@yahoo.com)

چکیده

در این تحقیق سه روش (تکان‌دادن، حرارت‌دادن با آون و حمام‌بخار) و شش محلول عصاره‌گیر (آب‌مقطر، کلریدپتاسیم، سولفات‌پتاسیم، سولفات‌سدیم، سولفات‌آمونیوم و اسیدسولفوریک 0/25 مولار) جهت هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌ها در دو نوع خاک دست‌نخورده (جنگلی) و دست‌خورده (کشاورزی) واقع در لردگان، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در هر دو خاک، روش‌های آون و حمام‌بخار نسبت به روش تکان‌دادن، کربوهیدرات بیشتری هضم و آزادسازی کرده‌اند. محلول اسید سولفوریک 0/25 مولار در بین محلول‌های عصاره‌گیر، بیشترین میزان کربوهیدرات را استخراج نموده و در بین نمک‌های بکار رفته سولفات‌سدیم بیشترین و کلریدپتاسیم کمترین میزان کربوهیدرات را عصاره‌گیری کرده است.

کلمات کلیدی: **کربوهیدرات، هضم و آزادسازی، روش عصاره‌گیری، محلول عصاره‌گیر**

مقدمه

هضم و آزادسازی صحیح کربوهیدرات‌های خاک برای تعیین نقش آنها (تشکیل و پایداری خاک‌دانه‌ها و نگهداری آب) ضروری است. بدین منظور پژوهش‌گران از روش‌های مختلفی مانند حرارت‌دادن و تکان‌دادن استفاده کرده‌اند که بر اساس نتایج آنها مقادیر کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با روش حرارت‌دادن بیشتر از روش تکان‌دادن است (آدسودون و همکاران 2001). هرچند در بیشتر مطالعات جهت هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌ها، اقدام به حرارت‌دادن نمونه‌ها می‌کنند (مارتنز و لوفلمن 2002)، اما روش حرارت‌دادن نمونه جهت هضم و استخراج بهتر کربوهیدرات‌ها به خوبی مشخص نشده است. به منظور استخراج کربوهیدرات‌ها، محلول‌هایی مانند آب‌مقطر، اسیدسولفوریک (پاگت و همکاران 1999، آدسودون و همکاران 2001) و سولفات‌پتاسیم 0/5 مولار (جورجنسن و همکاران 1996) نیز استفاده شده است. با این حال، اطلاعاتی در رابطه با تأثیر محلول‌های نمکی بر هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌های خاک در دسترس نیست. با توجه به وجود روش‌ها و محلول‌های متعدد در زمینه استخراج کربوهیدرات‌های خاک، در این پژوهش روش‌ها و محلول‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت تا تفاوت آنها در میزان هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌های خاک مشخص گردد.

مواد و روشها

جهت انجام آزمایش دو نوع خاک با مواد آلی بالا انتخاب و در سه تکرار از عمق صفر تا 20 سانتی‌متری نمونه‌برداری شد. خاک دست‌نخورده از جنگل‌های بلوط (با 8 درصد ماده آلی) و خاک دست‌خورده (با 2 درصد ماده آلی) که بعد از تغییر کاربری زیر کشت گوجه فرنگی و لوبیا رفته است، از شهرستان لردگان جمع‌آوری گردید.

برای هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌های خاک از سه روش تکان‌دادن، آون و حمام‌بخار و شش محلول عصاره‌گیر شامل آب‌مقطر، کلریدپتاسیم 2 مولار ، سولفات‌پتاسیم 0/5 مولار، سولفات‌سدیم 0/5 مولار، سولفات‌آمونیوم 0/5 مولار و اسیدسولفوریک 0/25 مولار استفاده گردید. در روش آون به یک گرم از هر نوع خاک 10 میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیر افزوده و به مدت 16 ساعت در داخل آون (دمای 85 درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و به مدت 30 دقیقه با سانتریفوژ (3000 دور در دقیقه) عصاره‌گیری صورت گرفت. در روش تکان‌دادن به یک گرم از هر نوع خاک 10 میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیر افزوده و به مدت 16 ساعت در داخل دستگاه تکان‌دهنده (Shaker) قرار داده شد و با سانتریفوژ (3000 دور در دقیقه) به مدت 30 دقیقه عصاره‌گیری گردید. در روش حمام‌بخار به یک گرم از هر نوع خاک 10 میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیر افزوده و به مدت 2/5 ساعت در داخل حمام‌بخار (دمای 85 درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و به مدت 30 دقیقه با سانتریفوژ (3000 دور در دقیقه) عصاره‌گیری صورت گرفت. در مرحله بعد، جهت ایجاد رنگ زرد متمایل به نارنجی، به 2 میلی‌لیتر از هر عصاره 0/05 میلی‌لیتر محلول فنل 80 درصد وزنی-وزنی (80 گرم فنل در 20 میلی‌لیتر آب مقطر) و 5 میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ (با خلوص 98 درصد) اضافه گردید و مقدار جذب در طول موج 490 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (دوبایز و همکاران 1956). برای تهیه منحنی استاندارد جهت محاسبه غلظت کربوهیدرات‌ها، از محلول گلوکز استفاده گردید (آدسودون و همکاران 2001). پس از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها (آزمون LSD) با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج بدست‌آمده از تجزیه واریانس مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده با روش‌ها و محلول‌های مختلف در جدول 1 نشان داده شده است. برای هر دو خاک، اثر نوع روش و نوع محلول عصاره‌گیری در سطح آماری 0/0001 معنی‌دار گردیده است (جدول 1).

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) غلظت کربوهیدرات‌های عصاره‌گیری‌شده با روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف

نوع خاک	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	نسبت F
	تکرار	2	0/9	2/6
خاک	فاکتور A (روش عصاره‌گیری)	2	173/4	480/0**
دست‌نخورده	فاکتور B (محلول عصاره‌گیر)	5	79/2	219/3**
	اثر متقابل AB	10	1/2	3/2*
	تکرار	2	0/1	0/9
خاک	فاکتور A (روش عصاره‌گیری)	2	17/3	144/1**
دست‌خورده	فاکتور B (محلول عصاره‌گیر)	5	38/7	322/8**
	اثر متقابل AB	10	3/0	25/0**

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دارشدن در سطح آماری 0/01 و 0/0001 می‌باشد.

در هر دو خاک مقادیر کربوهیدرات استخراج‌شده توسط روش‌های آون و حمام‌بخار که در آنها نمونه تحت تأثیر حرارت قرار می‌گیرد، بیشتر از روش تکان‌دادن بود (جدول 2) که این نتایج با یافته‌های آدسودون و همکاران (2001) هم‌خوانی داشت. در روش تکان‌دادن کربوهیدرات‌های خاک تنها به‌وسیله لرزش و با کمترین میزان هضم، از خاک استخراج می‌شوند و در مقایسه با روش‌های حرارتی، مقادیر کربوهیدرات کمتری آزادسازی می‌شود.
در هر دو خاک، بین دو روش آون و حمام‌بخار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 2). از آنجایی که در روش آون نمونه‌ها 16 ساعت و در روش حمام‌بخار 2/5 ساعت تحت تأثیر حرارت قرار می‌گیرند، پس روش حمام‌بخار در مقایسه با روش آون سریع‌تر بوده و در نتیجه به منظور هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌های خاک، مناسب‌تر به نظر می‌رسد.

جدول2- غلظت کربوهیدرات (گرم در کیلوگرم خاک) عصاره‌گیری‌شده با روش‌های مختلف

خاک	روش عصاره‌گیری کربوهیدرات			LSD
	آون	تکان‌دادن	حمام‌بخار	
دست‌نخورده	10/9 A*	5/4 B	10/6 A	0/4
دست‌خورده	3/6 A	1/8 B	3/4 A	0/2

*: اعداد در هر سطر که دارای حروف متفاوت‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 5 درصد آزمون LSD می‌باشند.

در هر دو خاک میزان کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با اسیدسولفوریک 0/25 مولار بیشتر از سایر محلول‌ها بود (جدول 3) که این به دلیل توانایی این محلول در استخراج همی‌سلولز است (پاگت و همکاران 1999). محلول سولفات‌سدیم 0/5 مولار نیز در بین سایر محلول‌های نمکی بیشترین میزان کربوهیدرات را استخراج نموده است (جدول 3). احتمالاً به خاطر قدرت بالای سدیم در پراکنده‌کردن (Dispersion) ذرات مواد آلی، کربوهیدرات بیشتری در فاز محلول قرار گرفته و در نتیجه کربوهیدرات بیشتری نیز عصاره‌گیری شده است.

جدول3- غلظت کربوهیدرات (گرم در کیلوگرم خاک) عصاره‌گیری‌شده با عصاره‌گیرهای مختلف

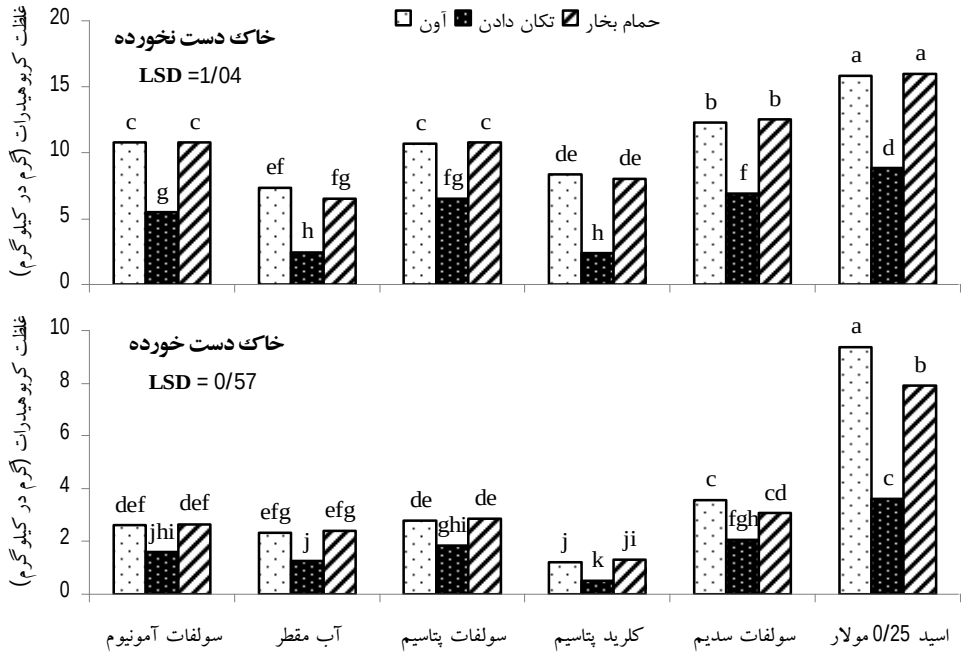
خاک	محلول عصاره‌گیر						LSD
	آب مقطر	KCl 2 مولار	$(NH_4)_2SO_4$ 0/5 مولار	K_2SO_4 0/5 مولار	Na_2SO_4 0/5 مولار	H_2SO_4 0/25 مولار	
دست‌نخورده	5/4 E*	6/2 D	9/0 C	9/3 C	10/6 B	13/6 A	0/6
دست‌خورده	2/0 D	1/0 E	2/3 CD	2/5 C	2/9 B	10/6 A	0/3

*: اعداد در هر سطر که دارای حروف متفاوت‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 5 درصد آزمون LSD می‌باشند.

هر چند اطلاعاتی در رابطه با تأثیر محلول‌های نمکی بر هضم و آزادسازی کربوهیدرات‌های خاک در دسترس نیست، اما ماتلو و هاینس (2006) مشاهده کردند که میزان کربن آلی عصاره‌گیری‌شده با کلریدپتاسیم بیشتر از سولفات‌پتاسیم بوده و میزان کربن آلی عصاره‌گیری‌شده با آب مقطر در مقایسه با محلول‌های نمکی کمتر است. همچنین جونز و ویلیت (2006) گزارش کردند که کلریدپتاسیم نسبت به آب مقطر کربن آلی محلول بیشتری هضم و استخراج می‌کند. با این وجود، هانی و همکاران (1999) دریافتند که میزان کربن آلی عصاره‌گیری‌شده با آب مقطر بیشتر از

سولفات‌پتاسیم است. به اعتقاد این پژوهش‌گران هم‌آوری (Flocculation) کلوئیدهای خاک در عصاره‌های سولفات‌پتاسیم موجب جذب دوباره کربن آلی استخراج‌شده بروی کلوئیدهای خاک می‌شود.

اثر متقابل روش و نوع محلول عصاره‌گیری برای خاک دست‌نخورده و دست‌خورده در سطح آماری 0/01 و 0/0001 معنی‌دار شد (جدول 1). در بین روش‌ها و محلول‌های مختلف، اسیدسولفوریک 0/25 مولار به‌همراه روش آون و حمام‌بخار (در خاک دست‌نخورده) و روش آون (در خاک دست‌خورده) بیشترین میزان کربوهیدرات را استخراج کرده است (شکل 1). کمترین میزان کربوهیدرات استخراج‌شده در خاک دست‌نخورده مربوط به محلول‌های کلریدپتاسیم و آب‌مقطر در روش تکان‌دادن و در خاک دست‌خورده مربوط به محلول کلریدپتاسیم در روش تکان‌دادن بوده است (شکل).



شکل 1- غلظت کربوهیدرات استخراج شده با روش‌ها و محلول‌های مختلف در خاک دست‌نخورده و دست‌خورده.
میانگین‌ها با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد آزمون LSD می‌باشند.

منابع

Adesodun JK, Mbagwu JSC, and Oti N, 2001. Structural stability and carbohydrate contents of an Ultisol under different management systems. Soil and Tillage Research 60: 135–142.

Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. Analytical Chem. 28: 350–356.

Haney RL, Franzluebbers AJ, Hons FM, Zuberer DA, 1999. Soil C extracted with water or K2SO4: pH effect on determination of microbial biomass. Canadian Journal of Soil Science. 79: 529–533.

Haynes RJ and Francis GS, 1993. Changes in microbial biomass C, soil carbohydrate composition and aggregate stability induced by growth of selected crop and forage species under field conditions. Soil Science 44: 665–675.

Joergensen, R.G., T. Mueller and V. Wolters. 1996. Total carbohydrates of the soil microbial biomass in 0.5 M K2SO4 soil extracts. Soil Biology and Biochemistry 28: 1147-1153.

Jones DL and Willett VB, 2006. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. Soil Biology and Biochemistry 38: 991–999.

Martens DA and Loeffelmann KL, 2002. Improved accounting of carbohydrate carbon from plants and soils. Soil Biology and Biochemistry 34: 1393–1399.

Matlou MC, Haynes RJ, 2006. Soluble organic matter and microbial biomass C and N in soils under pasture and arable management and the leaching of organic C, N and nitrate in a lysimeter study. Applied Soil Ecology. 34: 160–167.

Puget P, Angers DA and Chenu C, 1999. Nature of carbohydrates associated with water-stable aggregates of two cultivated soils. Soil Biolology and Biochemistry. 31: 55–63.