

بررسی شاخص هوموسی شدن اسید هومیک استخراج شده از خاک‌های مناطق جنگلی

استان گیلان

مرجان انوشا^۱، اکبر فرقانی^۲ و محمود فاضلی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، ۲- دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان و ۳- استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

چکیده

مواد هومیکی در مقایسه با مولکول‌های آلی، بسیار پیچیده، بزرگ و دارای وزن مولکولی بیشتری هستند که از تجزیه کامل مواد غیر زنده و آلی تغییر شکل یافته، حاصل می‌شوند. این فرآیند را هوموسی شدن می‌نامند. مواد زائد تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با بقایای گیاهی و جانوری اولیه از تجزیه پذیری کمتری برخوردار است. چون در این فرآیند غلظت ساختارهای مقاوم مانند ساختارهای آروماتیک و آلیفاتیک افزایش یافته که ناشی از واکنش‌های پلیمریزاسیون در طول هوموسی شدن است. در این تحقیق میزان استخراج اسید هومیک از خاک‌های مناطق مختلف استان گیلان و پایداری آنها با توجه به شاخص هوموسی شدن و نسبت اسپکتروفوتومتری هر یک از نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نتایج نشان داد در شرایط یکسان محیطی، با افزایش شاخص هوموسی شدن، نسبت E_4/E_6 کاهش یافته و پایداری ترکیبات افزایش می‌یابد، البته در برخی از خاک‌ها استثناهایی نیز ملاحظه گردید. واژه‌های کلیدی: استخراج اسید هومیک، نسبت E_4/E_6 ، هوموسی شدن.

مقدمه

هوموسی شدن مواد آلی بعنوان یک شاخص مناسب برای ارزیابی پایداری مواد آلی در نظر گرفته شده است. مطالعه هوموسی شدن معمولاً به منظور ارزیابی و شناخت تحولات مواد آلی انجام می‌شود. تغییرات هوموسی شدن و ثبات ماده آلی در خاک معمولاً توسط نسبت‌هایی که شاخص ثبات نامیده می‌شود، ارزیابی می‌گردد (Adamtey et al., 2009; ahmad et al., 2008; Rao et al., 2007). مواد آلی در طی فرآیندی بنام هوموسی شدن به مواد معدنی و مواد آلی جدیدی بنام ترکیبات هوموسی (مواد هومیک) تبدیل می‌شود که پایداری و کیفیت بالاتری نسبت به مواد اولیه دارند (Hemati et al., 2012). اجزای اصلی مواد آلی خاک، مواد هومیک (HS) بوده که می‌توان آن را به اسید هومیک (HA)، اسید فلوویک (FA) و هومین (HM) طبقه بندی کرد (Stevenson, 1994). به طور کلی مواد هومیک خاک از تجزیه بقایای گیاهی و جانوری تشکیل یافته که حاوی نسبت‌های مختلفی از ساختارهای آروماتیک که احتمالاً به دلیل حضور کربن سیاه و بقایای زغال سنگ (Mao et al., 2012; DiDonato et al., 2016). و ساختارهای آلیفاتیک، پروتئین، چربی و پلی ساکارید است (Jindo 2011; DiDonato et al., 2016). شکل‌گیری بیولوژیکی اسید هومیک احتمالاً نتیجه تأثیر باکتری‌ها و تأثیر شیمیایی آنها در بافت گیاهی و به دنبال آن واکنش پیچیده‌ای چون پلیمریزاسیون پلی‌فنل‌های موجود در بافت گیاهان می‌باشد. تراکم آنها با آمینو اسیدها، متابولیسم بوسیله میکرو ارگانیسم‌های موجود در خاک منجر به کمپلکس شدن با سزکوئی اکسیدها و سیلیکات‌ها می‌شود. اسید هومیک، یک پلیمر طبیعی است که دارای مواضع یون هیدروژن مربوط به عامل‌های اسید کربوکسیل، بنزوئیک و فنلی (مکان‌های تبادلی کاتیونی) است (سردشتی و محمدیان، ۱۳۸۶). این اسید ماکرومولکول هتروژنی است که از تجزیه شیمیایی و فیزیکی و بیولوژیکی مواد آلی به وجود می‌آیند (Stevenson, 1992). وزن مولکولی آن‌ها از چند هزار تا بالای یک میلیون دالتون متغیر است (Swift, 1989). اسید هومیک به عنوان ماده آلی، عمدتاً نامحلول در پی‌اچ‌های غالب خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک، می‌تواند بر تحرک یون‌های فلزی خاک اثر بگذارد. ولی میزان برهمکنش آن به ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی اسید هومیک و محیط شیمیایی حاکم بر خاک بستگی دارد. اسیدهای هومیک، با منشأهای مختلف، از لحاظ ترکیب عنصری و مقدار و نوع گروه‌های عاملی و درجه هوموسی شدن

متفاوت‌اند (Datta et al, 2001). لذا ویژگی‌های اسیدهای هومیک از مکانی به مکان دیگر متفاوت بوده و نتایج مربوط به اسید هومیک استخراج شده از یک نوع خاک را نمی‌توان به خاک دیگر تعمیم داد (Sensi et al, 2003; Buurman et al, 2009). نسبت E_4/E_6 درجه تراکم ساختار کربنی از ترکیبات آروماتیک را نشان می‌دهد. هر چه این نسبت بالاتر باشد نسبت ترکیبات آلیفاتیک به آروماتیک بیشتر می‌شود و هرچه این نسبت کمتر باشد نسبت ترکیبات آلیفاتیک به آروماتیک کمتر می‌شود (Campitelli et al, 2006).

مواد و روش‌ها

استخراج، جداسازی و خالص‌سازی اسید هومیک از خاک به روش پیشنهادی تان (Tan, 2003) انجام گرفت. در این پژوهش ده نمونه خاک از عمق ۲۰-۰ سانتی متری از جنگل‌های پهن برگ استان گیلان که دارای مواد آلی مختلفی بودند انتخاب شد، پس از هوا خشک شدن و کوبیدن، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. به مقداری از خاک محلول سود ۰/۱ مولار اضافه شد تا نسبت خاک به محلول برابر ۵ به ۱ شود. سوسپانسیون به مدت ۲۴ ساعت تکان داده شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی در ظرفی نگهداری شد. خاک باقی مانده با آب مقطر شستشو داده شد و به محلول رویی پیشین افزوده شد. محلول رویی مرکب حاوی مواد هومیک، مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد تا از حذف کامل رس‌های کلوئیدی اطمینان حاصل گردد. پس از رسوب جامدات معلق، محلول رویی جدا و به آن اسید کلریدریک اضافه شد تا pH آن به ۲ کاهش یابد. سوسپانسیون به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه با همان دور سانتریفیوژ و رسوب (اسید هومیک) از محلول رویی (اسید فلووئیک) جدا شد. رسوب اسید هومیک خام بدست آمده با سود ۰/۱ مولار حل شده و سانتریفیوژ شد. بخش نامحلول دور ریخته شد و بخش محلول برای رسیدن تا pH برابر ۲ اسیدی شد. پس از اسیدی شدن، رسوب از محلول به وسیله سانتریفیوژ کردن به مدت ۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه جدا شد. برای کاهش درصد خاکستر و سیلیس اسید هومیک، به رسوب محلول ۰/۱ مولار HCl + ۰/۳ مولار HF اضافه و پس از تکان دادن و سانتریفیوژ مخلوط HCl و HF دور ریخته شد. رسوب اسید هومیک به طور کامل با آب مقطر شسته، سانتریفیوژ و آب شستشو دور ریخته شد. در یک مرحله خالص‌سازی نهایی، اسید هومیک با سود ۰/۱ مولار حل شده و از یک ستون تبادل کاتیونی اشباع از یون هیدروژن عبور داده شد. برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، کربن آلی به روش والکی بلک (Nelson and sommers, 1996)، پی اچ در عصاره ۱:۲/۵ اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری نسبت‌های اسپکتروفتومتری (E_4/E_6) ۳ میلی‌گرم از هر نمونه اسید هومیک در ۱۰ میلی‌لیتر بافر بی‌کربنات سدیم ۰/۰۵ مولار حل شد و به مدت ۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری تا به تعادل رسید سپس برای تعیین نسبت‌های اسپکتروفتومتری E_4/E_6 میزان جذب در طول موج‌های ۴۶۵ و ۶۶۵ نانومتر با دستگاه JENWAY 6705 UV/VIS اندازه‌گیری شد (Campitelli et al, 2006).

نتایج و بحث

در این بررسی، اسید هومیک استفاده شده از خاک‌های جنگلی استان گیلان، که زیر پوشش درختان پهن برگ قرار دارد، استخراج شد. اسید هومیک موجود در این خاک‌ها در فرآیندی کاملاً طبیعی و تدریجی به وجود می‌آید برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

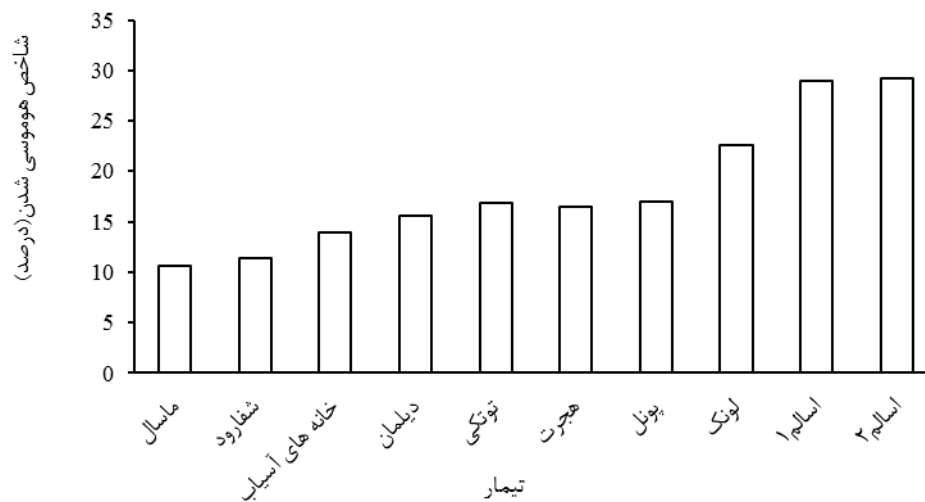
جدول ۱. برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده

نمونه	موقعیت مکانی	پی اچ	کربن آلی (%)	مقدار اسید هومیک (%)	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	بافت
۱	آستارا (خانه های آسیاب)	۶/۱۶	۳/۱۲	۰/۴۳۶	۴۷	۳۵	۱۸	لومی
۲	آستارا (هجرت)	۶/۳۳	۲/۷۳	۰/۴۵۰	۶۱/۵	۲۵/۳	۱۳/۲	لوم شنی
۳	طوالش (اسالم ۱)	۵/۶۸	۶/۶۳	۱/۹۲۰	۴۳	۳۰	۲۷	لومی
۴	طوالش (اسالم ۲)	۵/۷۵	۵/۸۵	۱/۷۱۰	۵۳/۵	۲۸/۷	۱۷/۸	لوم شنی
۵	رضوانشهر (شفارود)	۶/۷۱	۳/۵۱	۰/۴۰۰	۶۱/۵	۲۷/۸	۱۰/۷	لوم شنی
۶	رضوانشهر (پونل)	۵/۷۶	۲/۳۴	۰/۳۹۸	۶۶/۵	۲۲/۸	۱۰/۷	لوم شنی
۷	ماسال	۷/۱۷	۴/۶۸	۰/۴۹۵	۲۷/۱	۳۷/۹	۳۵	لوم رسی
۸	سیاهکل (توتکی)	۶/۴	۲/۷۳	۰/۴۶۰	۶۱/۴	۲۶/۸	۱۱/۸	لوم شنی
۹	سیاهکل (لونک)	۶/۰۳	۶/۲۴	۱/۴۱۰	۳۵/۳	۳۴/۸	۲۹/۹	لوم رسی
۱۰	سیاهکل (دیلمان)	۵/۶۶	۵/۰۷	۰/۷۹۰	۴۴/۸	۳۰/۷	۲۴/۵	لومی

اسید هومیک به دشواری و به آهستگی از این خاکها استخراج شد. زیرا اسید هومیک موجود در خاکها در مراحل پس از تشکیل با انواع کاتیونها و سطوح جامد خاک پیوندهای متعددی تشکیل داده و تا حد زیادی نامحلول گردیده بود. درباره استخراج اسید هومیک از خاک با استفاده از مواد شیمیایی دیدگاههای مختلفی وجود دارد. دیدگاه گروهی این است که اسید هومیک در فرآیند استخراج تغییر می کند و این تغییر آن را از اسید هومیک موجود در خاک متفاوت می کند. (Swift, 1966). اما در حال حاضر جز استفاده از مواد شیمیایی راه دیگری برای استخراج مواد هومیکی وجود ندارد. با وجود این، به نظر بیشتر پژوهشگران، اسید هومیک استخراج شده با مواد شیمیایی نه چندان قوی واجد بسیاری از ویژگی های اسید هومیک موجود در خاک است (ملاعلی عباسیان، ۱۳۹۳). شاخص هوموسی شدن با استفاده از رابطه زیر محاسبه می شود:

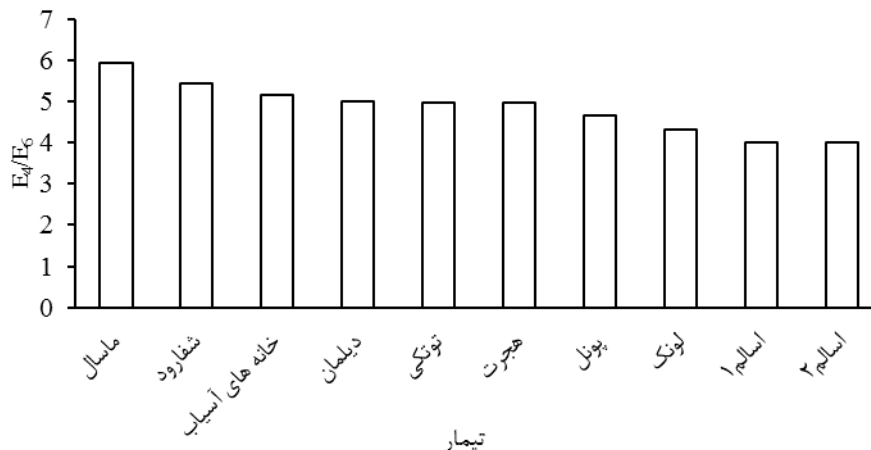
$$HI = (HA/OC) \times 100$$

در این معادله HA مقدار اسید هومیک، OC مقدار کربن آلی و HI شاخص هوموسی شدن که بیانگر درجه اشباع و پایداری است. درجه اشباع مواد هومیکی بر اساس عواملی نظیر میزان عوامل پاتوزن، مواد محلول در آب و مواد آلی ناپایدار تعیین می گردد. هر چه عوامل مذکور بزرگتر باشند درجه پایداری و کیفیت مواد هومیک کاهش می یابد. علت افزایش این شاخص در نمونه های خاک، مربوط به وجود ترکیبات پایدار و آروماتیک در ساختارشان است (Hemati, 2012). کاهش شاخص هوموسی شدن می تواند به علت درجه اکسیداسیون بالا و وجود ترکیبات دارای فعالیت شیمیایی زیاد در ساختار این ماده باشد که سبب کاهش پایداری و درجه اشباعیت این منبع گردید (Kumar et al, 2001; Busato et al, 2012). شکل ۲ شاخص هوموسی شدن برخی خاکهای مناطق جنگلی استان گیلان را نشان می دهد که بیشترین و کمترین شاخص هوموسی شدن به ترتیب در خاک اسالم ۲ (۲۹/۲۳٪) با بافت لومی شنی و ماسال (۱۰/۵۷٪) با بافت لومی رسی مشاهده گردید. خاکهایی که تقریباً درصد کربن آلی بالاتری دارند مقدار اسید هومیک بیشتری از آنها استخراج شده در نتیجه شاخص هوموسی شدن بالاتری نسبت به خاکهای دیگر را نشان می دهد. مقادیر کربن آلی خاک اغلب به مقدار زیادی از ویژگی های ذاتی خود خاک تاثیر می پذیرد. بافت خاک مشخصاً در این مورد مهم است اگر عامل های محیطی مشابه باشد خاک های ریز بافت موجب انباشتگی مقادیر بیشتری کربن آلی می شود. ذرات ریز بافت خاک اغلب مقادیر زیادی سطوح معدنی فراهم می کنند که با ترکیب های آلی پیوند شیمیایی برقرار کرده و با تشکیل خاکدانه به گونه ای فیزیکی ماده آلی را از حمله میکروبی حفاظت می کنند. در مقابل خاک های درشت بافت، سطح موثر کمتری برای پیوند با مواد آلی دارند، زیست توده گیاهی کمتری تولید می کنند و سالانه درصد بالاتری از مقدار ماده آلی را به وسیله تنفس میکروبی از دست می دهد (حق نیا و همکاران، ۱۳۹۳).



شکل ۱- میزان شاخص هوموسی شدن در برخی خاک‌های مناطق جنگلی استان گیلان

ملاک کیفیت و پایداری منابع مختلف مواد هومیکی، مقدار اسید هومیک می باشد افزایش مقدار اسید هومیک در یک منبع (خاک) نشانه پایداری و کیفیت بالاتر این منبع می باشد (Stevenson, 1994). تان و همکاران (Tan et al., 2003) گزارش کردند که مواد هومیک استخراج شده از لئوناردیت آمریکایی پایدارترین مواد هومیک معرفی شده است. در حالی که لئوناردیت واقع در مناطقی از اروپا دارای مقادیر کمی اسید هومیک بودند که نشاندهنده وجود ترکیبات آلیفاتیک و کمتر پایدار است. پایداری و دوام مواد هومیکی وابسته به ماده اصلی اولیه آن یعنی اسید هومیک و هومین می باشد. اهمیت مواد هومیکی تنها به خاطر افزایش مواد آلی نیست بلکه به علت ایجاد شرایطی است که باعث انجام کامل هوموسی شدن و به عبارتی تبدیل آن به اسید هومیک یا هومین می شود. همانگونه که ذکر شد هرچه مقدار ماده آلی بالا باشد اسید هومیک موجود در آن بالا بوده در نتیجه شاخص هوموسی شدن و پایداری بالایی خواهد داشت. در اکثر خاک‌ها این موضوع صدق می کند. شاخص هوموسی شدن با نسبت E_4/E_6 رابطه معکوس دارد. شکل ۲ نسبت E_4/E_6 در خاک‌ها را نشان می دهد که تراکم ترکیبات آلیفاتیک به آروماتیک را بیان می کند. با افزایش این نسبت تراکم ترکیبات آلیفاتیک بیشتر از آروماتیک می شود، و از متوسط وزن مولکولی و شاخص هوموسی شدن کاسته می شود و نسبت E_4/E_6 پایین، درجه‌ی بالایی از ترکیبات آروماتیک را نشان می دهد که اندازه و وزن مولکولی بالایی دارند. (kononova, 1966). بنابراین به دلیل بالا بودن این نسبت در خاک ماسال حداقل پایداری را داشته و خاک اسالم ۲ با داشتن پایین ترین نسبت، بیشترین پایداری را دارد.



شکل ۲- نسبت اسپکتروفتومتری (E_4/E_6) در برخی خاک‌های مناطق جنگلی استان گیلان

منابع

- سردشتی، ع. و محمدیان مقدم، س. ۱۳۸۶. تعیین ظرفیت تبدلی کاتیونی اسید هومیک استخراج شده از خاک جنگلی نهالخوران گرگان، نسبت به یون‌های روبیدیم، مس و کادمیوم به روش ناپیوسته ظرفی در محیط آبی، مجله شیمی و مهندسی شیمی ایران، شماره ۳، صفحه‌های ۹ تا ۱۷.
- حق‌نیا، غ.م، قربانی، ر. و رمضانیان، ع. ۱۳۹۳. ماده آلی در کشاورزی پایدار (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- ملاعباسیان، س. ۱۳۹۴. مقایسه جذب نسبی کادمیوم، روی و نیکل توسط اسید هومیک خاکی، صفحه‌های ۴۵۰ تا ۴۵۴.
- مقاله‌های کلیدی چهاردهمین کنگره علوم خاک ایران، دانشگاه ولی عصر (عج)، رفسنجان.
- Adamtey N., Co e O., Ofosu-Budu G.K., Danso S.K.A. and Forster, D. 2009. Production and storage of N-enriched co-compost. *Waste Management*, 29: 2429–2436.
- Ahmad R., Khalid A., Arshad M., Zahir Z.A. and Mahmood T. 2008. Effect of compost enriched with N and L-tryptophan on soil and maize. *Agronomy for Sustainable Development*, 28(2): 299–305
- Bouyoucos C.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soil. *Agronomy of Journal*, 54: 464-465.
- Busato J.G., Lima LS., Aguiar N.O., Canellas L.P. and Olivares, F.L. 2012. Changes in labile phosphorus forms during maturation of vermicompost enriched with phosphorus-solubilizing and diazotrophic bacteria. *Bioresource Technology*. 110: 390–395.
- Buurman P., et al. 2009. Analytical pyrolysis and thermally assisted hydrolysis and methylation of Eurosoil humic acid samples- Akey to their source. *Geoderma*, 150: 10-22.
- Campitelli P.A. Velasco M.I. and Ceppi S.B. (2006) Chemical and physicochemical characteristics of humic acids extracted from compost, soil and amended soil. *Talanta*, 69:1234–1239.
- Datta A., Sanyal S. K., and Saha S. 2001. A study on natural and synthetic humic acids and their complexing ability towards cadmium. *Plant and Soil*, 235: 115-125.
- DiDonato N., Chen H., Waggoner D. and Hatcher P.G. 2016. Potential origin and formation for molecular components of humic acids in soils. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 178: 210–222.
- Determination of humification degree of organic matter of an oxisol and of its organo-mineral fractions. *Quim. Nova*, 31: 1994–1996.
- Hemati A., Alikhani H.A., Bagheri Marandi G. and Mohammadi L. 2012. Assessment the possibility of humic acid extraction from vermicopost with urea. *International Journal of Agriculture: Res & Rev*, 2(6): 705-709.
- Jindo K., Hernández T., García C. and Sánchez-Monedero, M.A. 2011. Influence of stability and origin of organic amendments on humification in semiarid soils. *Soil Science society of American Journal*, 75: 2178-2187.
- Kononova M.M. 1966. *Materia Orgánica del Suelo*. Vilassarde Mar. Barcelona, España.



- Kumar V. and Singh K.P., 2001. Enriching vermicompost by nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Bioresource Technology*. 76: 173-175.
- Mao J.D., Johnson R.L., Lehmann J., Olk D.C., Neves E.G. and Thompson, M.L., et al., 2012. Abundant and stable char residues in soils: implications for soil fertility and carbon sequestration. *Environ. Technol Science*, 46: 9571-9576.
- Nelson D.W. and Sommers L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods-SSSA Book Series no. 5*:961-1010.
- Rao J.R., Watabe M., Stewart T.A., Millar B.C. and Moore J.E., 2007. Pelleted organomineral fertilisers from composted pig slurry solids, animal wastes and spent mushroom compost for amenity grasslands. *Waste Manage.* 27 (9): 1117- 1128.
- Senesi N., et al. 2003. Humic acids in the first generation of eurosoils. *Geoderma*, 116: 325-344.
- Stevenson F.J. 1992. *Humus chemistry. Genesis, composition and reactions*, 2nd, Wiley, New York.
- Stevenson F.J. 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley & Sons. New York.
- Swift R. S. 1989. Molecular weight, size, shape, and charge characteristics of humic substances: some basic considerations. In: Hayes M.H.B., MacCarthy P., Malcolm R.L., Swift R.S. (Eds.), *Humic Substances: II*. John Wiley and Sons. New York, 449- 465.
- Swift R.S. 1996. Organic matter characterization. In: Sparks, D. L., et al, (Eds.), *Methods of Soil Analysis: Part 3. Chemical Methods, SSSA Book Series 5*. Soil Science Society of America, Madison, WI, 1018- 1020.
- Tan K.H., 2003. *Humic matter in soil and the environment. Principles and controversies*, Marcel Dekker, New York, USA.

Studying the humification index of extracted humic acid from soils of forest areas of guilan province

M. Anoosha¹, A. Forghani² and M. Fazeli³

1-MS.C soil science engineering, Faculty of agriculture, University of Guilan, 2-Associated Prof. Department of science and soil engineering, Faculty of agriculture, University of Guilan and 3- Assistant Prof. Department of science and soil engineering, Faculty of agriculture, University of Guilan

Abstract

humic substances in comparison to organic molecules are very complex, large, and have more molecular weight. They're resulted from complete decomposition of non-living and organic transformed materials. This process is called humification. The produced waste by microorganisms compared to the primary remains of plants and animals have lower degradability. In this process the densities of resistant structures such as aromatic and aliphatic structures have increased as a result of polymerization reactions during humification process. In this study the rate of humic acid extraction from soils of different regions of guilan province and their resistance considering humification index and spectrophotometer ratio of each of the samples were examined. Study results indicate under the same environmental conditions with increasing humification index, decreased E_4/E_6 ratio and stability of the compounds increases, but exceptions in some soils were also observed.

Keywords: Extraction of humic acid, E_4/E_6 ratio, Humification.