

سنتر کمپلکس های اسیدهای آمینه با فلز آهن به عنوان منبع تامین کننده آهن در کشت آبی و خاکی

آتنا میربلوک، میر حسن رسولی صدقیانی، ابراهیم سپهر^۱، امیر لکزیان^۲، محمد حکیمی^۳
۱: به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه، ۲: استاد گروه علوم خاک دانشگاه فردوسی مشهد، ۳: استاد گروه شیمی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد

خلاصه

امروزه استفاده از کیلیت های آلی در افزایش قابلیت دسترسی فلز آهن در خاک و هیدروپونیک، مورد توجه قرار گرفته است. به این منظور از اسیدهای آمینه به عنوان کمپلکس کننده فلز آهن استفاده شد. اطلاعات مربوط به FTIR و CHN به منظور شناسایی و تایید تشکیل کمپلکس ها بدست آمد. حلالیت و رسوب ترکیبات با تغییر pH محیط ارزیابی شدند. با توجه به نتایج بدست آمده کمپلکس ها همه با راندمان بالا تشکیل شدند و نتایج IR اسپکتروسکوپی نیز این امر را تایید کرد. در بین کمپلکس های سنتز شده فنیل آلانین- آهن و گلايسين- آهن کاملا محلول بوده و تیروزین - آهن پایداری بیشتری را در pH های بالا نشان دادند.

واژه های کلیدی: کمپلکس های آلی، اسید های آمینه، آهن

مقدمه

کمبود عناصر غذایی گیاهان، به ویژه عناصر کم مصرف در دهه های اخیر به دلایل کشت و کار متراکم، استفاده از ارقام گیاهی اصلاح شده با عملکرد بالا، کاربرد بدون مدیریت کودهای شیمیایی حاوی عناصر پرمصرف، آبخویی و کاهش استفاده از کودهای آلی، بسیار افزایش یافته است. عناصر کم مصرف (میکرو) در مقدار کم مورد نیاز گیاه هستند ولی برای تکمیل چرخه های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ضروری می باشند.

آهن یکی از عناصر کم مصرف بسیار مهم برای گیاه به شمار می آید و در فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین هم، DAN، RNA و هورمون ها در گیاهان دخالت دارد. کمبود آهن منجر به زردبرگی، کاهش فتوسنتز و غلظت کلروفیل، کاهش وزن خشک بخش هوایی و ریشه و تغییر غلظت و محتوای آهن و سایر عناصر فلزی در بافتهای گیاهی می شود. این صفات ارتباط بسیار نزدیکی با عملکرد گیاهان زراعی دارند. همچنین، کلروز آهن با تراکم خاک، زهکشی و شرایط آب و هوای سرد و مرطوب مرتبط است. در چنین شرایطی، استفاده مداوم از آهن برای گیاهان میسر نیست و آهن به کار رفته در این خاکها تثبیت خواهد شد (Chen *et al.*, 2004). کمبود آهن در خاکها و گیاهان بیشتر مناطق کشاورزی دنیا، مخصوصا در خاکهای آهنی، که بخش عمده ای از خاکهای مناطق خشک و نیمه خشک ایران را نیز تشکیل می دهند، وجود دارد (Alloway, 2008). منابع معدنی آهن مانند سولفات ها در خاک به سرعت هیدراته شده و به صورت هیدروکسید آهن رسوب می کند و برای گیاه قابل استفاده نیست. بنابراین اشکال کیلیت این عناصر برای افزایش کارایی جذب آنها در خاک پیشنهاد شده است (Epstein, 1999). کیلیت یک لیگاند چند دندانه است که کمپلکس های قوی و محلولی را با کاتیونهای دو و سه ظرفیتی تشکیل می دهد و با محافظت از رسوب یونهای فلزی، قابلیت دسترسی آنها را برای گیاه افزایش می دهند. چوهورا و همکاران (۲۰۰۷) و Comasa و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که کود کلات آهن به طور قابل ملاحظه ای عملکرد را نسبت به دیگر کودهای آهن افزایش می دهد. از اواخر دهه ۱۹۸۰ ابتدا استفاده از کیلیت های سنتزی رایج شد که EDTA اولین کیلیتی بود که توانایی خوبی را در افزایش قابلیت دسترسی عناصر کم مصرف در خاکها و محلول های آبکشت نشان داد (Blaylock *et al.*, 1997). از معایب آنها می توان به گرانی قیمت، تجزیه پذیری زیستی اندک (Nowack, 2002) و تجزیه نوری سریع (Metsarinne, 2004) آنها اشاره داشت. با توجه به معایب کیلیت های

سنتزی امروزه استفاده از کیلیت های آلی و طبیعی مثل اسیدهای آمینه به دلیل وجود عامل کربوکسیل در ساختارشان و توانایی ایجاد کمپلکس با فلزات (Arvind and Prasad, 2005) و همچنین حساسیت کمتر نسبت به تجزیه نوری در این زمینه مورد مطالعه قرار گرفته اند. نتایج بدست آمده از مطالعات Ghasemi و همکاران (۲۰۱۲) روی جذب کیلیت های اسید آمینه - آهن نشان داد که استفاده از این کیلیت ها در محلول های آبی می تواند کمبود مقدار آهن را برای جذب گیاه جبران کند و همچنین منجر به بهبود رشد ریشه و اندام های هوایی در گیاه گوجه فرنگی شد. هدف از این مطالعه سنتز و شناسایی چند کیلیت اسید آمینه - آهن بوده تا با ارزیابی ویژگی های شیمیایی آنها بتوانیم کیلیت های موثر و کارایی را در فرایند جذب آهن در کشت خاکی و آبی معرفی بنماییم.

مواد و روش ها

سنتز کیلیت های آهن با اسیدهای آمینه: کیلیت های آهن با استفاده از اسیدهای آمینه های آلانین، گلايسین، فنیل آلانین، تیروزین و متیونین ساخته شدند. بدین منظور محلول ۲ میلی مولار اسیدهای آمینه آماده شد و به محلول ۱ میلی مولار سولفات آهن در حضور اکسید کلسیم اضافه شد. مخلوط به مدت ۲ ساعت در حرارت ۷۰ درجه سانتی گراد هم زده شد تا نمک ها به طور کامل حل شوند، در ادامه سولفات کلسیم رسوب کرده و بلورهای آمینو اسید - فلز با نسبت مولی ۱:۱ آماده شدند (Ashmead SD, 2002).

ویژگی های فیزیکی کیلیت ها: اندازه کیلیت ها، طول پیوندها و تایید تشکیل کمپلکس توسط FTIR اسپکتروسکوپی با دیسک KBr انجام شد.

حلالیت کیلیت ها: حلالیت کیلیت ها بر اساس مقدار جامد حل شده در آب تعیین خواهد شد. نمونه ها در بافر فسفات خنثی می شوند و سپس جامد نامحلول در به وسیله سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ و زمان ۳۰ دقیقه رسوب داده شده و در انتها برای حذف حلال سه بار با آب مقطر شسته می شود. کل ترکیبات محلول و غیر محلول در آون و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد خشک شدند (Ilyaina et al, 2000). حلالیت طبق رابطه زیر محاسبه شد:

حجم نمونه / (وزن مواد جامد غیر محلول - کل وزن بخش جامد خشک شده)

پایداری کمپلکس ها با تغییر pH: برای این منظور کمپلکس های اسیدهای آمینه و آهن را با استفاده از سود یک نرمال در معرض تغییر pH محیط قرار داده و pH ی که با شروع ایجاد رسوب در محیط همراه است، بدست آمد.

نتایج و بحث:

داده های مربوط به ساخت و تشکیل کمپلکس ها بین اسید آمینه و فلز آهن در جدول ۱ گزارش شده است. در این جدول فرمول شیمیایی کمپلکس ها، وزن مولکولی و راندمان تولید محصول آورده شده است. همه کمپلکس های آهن با اسیدهای آمینه که در این مطالعه ساخته شدند، دارای راندمان بالای ۸۰ درصد بودند. در این جدول نتایج مربوط به CHN نیز گزارش شده است که با نتایج قابل انتظار هم خوانی دارند.

جدول ۱: داده های بدست آمده از CHN آنالایزر مربوط به کمپلکس های اسید های آمینه و آهن

| FeAAC | Formula weight | Yield (%) | %Found (calculated) | | |
|--|----------------|-----------|---------------------|-------------|---------------|
| | | | C | H | N |
| [Fe(Arg) ₂].SO ₄ .2H ₂ O | 371.68 | 83.25 | 19.38 (19.39) | 6.14 (4.88) | 15.97 (15.07) |
| [Fe(Met) ₂].SO ₄ .H ₂ O | 468.35 | 82.12 | 25.98 (25.64) | 5.95 (5.17) | 5.50 (5.98) |
| [Fe(Tyr) ₃].SO ₄ .0.5H ₂ O | 704.48 | 80.10 | 46.17 (46.03) | 6.33 (4.86) | 5.81 (5.96) |
| [Fe(Ala)].SO ₄ .2.5H ₂ O | 286.04 | 83.5 | 12.56 (12.60) | 4.39 (4.23) | 4.38 (4.90) |
| [Fe(Phe)].SO ₄ .1.5H ₂ O | 264.46 | 81.23 | 40.81 (40.87) | 6.99 (5.66) | 5.07 (5.30) |
| [Fe(Gly)].(SO ₄) ₂ .5H ₂ O | 413.11 | 82.13 | 6.30 (5.81) | 4.17 (3.66) | 2.97 (3.39) |

اسیدهای آمینه در ساختار کریستالی خود به صورت دو قطبی هستند یعنی یک مولکول طبیعی که هر دو بار مثبت و منفی را دارا می باشد. جدول ۲ نتایج اسپکتروسکوپی IR را برای کمپلکس های اسیدهای آمینه با آهن نشان می دهد.

جدول ۲: پیوند های IR اسپکتروسکوپی انتخاب شده (cm^{-1}) کمپلکس های اسید های آمینه و آهن

| FeAAC | ν (NH ₂) | ν (C=O) | ν (C-O) | ν (C-N) | δ (C=O) |
|--|--------------------------|-------------|-------------|-------------|----------------|
| [Fe(Arg) ₂]. SO ₄ . 2H ₂ O | 3394.5 | 1608.5 | 1550 | 1118.6 | 725 |
| [Fe(Met) ₂]. SO ₄ . H ₂ O | 3444.6 | 1608.5 | 1550 | 1107.1 | 775 |
| [Fe(Tyr) ₃]. SO ₄ . 0.5H ₂ O | 3205.5 | 1589.2 | 1515.9 | 1153.4 | 798.5 |
| [Fe(Ala)]. SO ₄ . 2.5H ₂ O | 3506.3 | 1616.2 | 1508.2 | 1107.1 | 771.5 |
| [Fe(Phe)]. SO ₄ . 1.5H ₂ O | 3460.1 | 1585.4 | 1450.4 | 1118.6 | 702 |
| [Fe(Gly)].(SO ₄) ₂ . 5H ₂ O | 3413.8 | 1593.1 | 1492.8 | 1080.1 | 725 |

در ساختار اسیدهای آمینه پیک های غالب IR به صورت ν (NH₂)، ν (C=O)، ν (C-O)، ν (C-N) و δ (C=O) مشاهده می شوند. تغییر مکان پیک در اسید آمینه نسبت به کمپلکس های آن با فلز آهن می تواند تاییدی بر تشکیل کمپلکس در محیط باشد. در کمپلکس بین اسیدهای آمینه و فلز، اسید آمینه به عنوان لیگاند دو دندانه عمل کرده و با یک اکسیژن و یک نیتروژن خود با فلز پیوند برقرار می کند. در اسپکتروسکوپی FTIR الگوی جذب کمپلکس های اسیدهای آمینه با آهن مثل خود اسیدهای آمینه در ناحیه cm^{-1} ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ مشاهده می شود. عمده تغییرات مربوط به پیک های کمپلکس اسیدهای آمینه با آهن در ν (C=O) و ν (NH₂)، ν (C-O) می باشند. تغییرات پیوندها برای گروه -NH₂ در فاصله cm^{-1} ۳۲۰۰ تا ۳۵۵۰ می باشند که خیلی به واکنش های درون مولکولی حساس هستند. در مقایسه با اسیدهای آمینه، در کمپلکس های آنها پیوندهای N-H در فرکانس های بالاتر ظاهر می شوند که این امر درگیری گروه های آمین را در تشکیل کمپلکس با فلز تایید می کند. مثلاً پیوند N-H در اسید آمینه آرژنین در طیف ۳۳۵۹٫۸ ظاهر می شود، در صورتیکه در کمپلکس آرژنین - آهن این پیک در طیف cm^{-1} ۳۳۹۴٫۵ قابل رویت است، یعنی بعد از تشکیل کمپلکس، فرکانس حدود ۳۰ واحد افزایش داشته است. یونهای کربوکسیلی که در اسیدهای آمینه با فلز پیوند برقرار کرده اند به صورت تک دندانه بوده و گروه های ν (C-O) نسبت به ν (C=O) حساس تر نسبت به تشکیل لیگاند با فلز بوده و تغییر شیف بیشتری را نشان می دهند. در آرژنین پیک C-O در فرکانس cm^{-1} ۱۶۰۴ و در کمپلکس آرژنین با آهن در cm^{-1} ۱۵۵۰ مشاهده می شود.

جدول ۳ داده های مربوط به حلالیت و رسوب کمپلکس های اسیدهای آمینه با فلز آهن را نشان می دهد. اهمیت حلالیت کمپلکس ها با توجه به کاربرد کشاورزی آنها بر ما پوشیده نیست. همه کمپلکس ها حلالیت خوبی را در آب نشان می دهند و این امر کاربرد آنها را در خاک و مخصوصاً محیط های کشت هیدروپونیک تایید می کند. کمپلکس های فنیل آلانین و گلیسین صد در صد محلول در آب بودند و کمترین حلالیت در کمپلکس آرژنین با آهن مشاهده شد. pH اولیه کلیه محلولهای اسیدهای آمینه اسیدی قوی بود. pH شروع رسوب ترکیبات نیز در ستون سوم جدول ۳ گزارش شده است. همان طور که مشاهده می شود کمپلکس های آرژنین، متیونین، آلانین و گلیسین با تقریباً دو واحد افزایش در pH رسوب کردند. کمپلکس تیروزین با آهن مقاومت بالاتری را نسبت به رسوب در pH های بالاتر نشان داد. با توجه به اطلاعات بدست آمده در مورد pH، کیلیت های آرژنین، متیونین، آلانین و گلیسین برای محیط های هیدروپونیک مناسب هستند و کمپلکس های تیروزین و فنیل آلانین را با اطمینان بیشتری می توان در خاک مورد استفاده قرار داد. برای کامل شدن نتایج این تحقیق لازم است که کلیه این کمپلکس ها در محیط هیدروپونیک و خاک به کار روند و با بررسی کارایی جذب آنها توسط گیاه، استفاده از آنها برای کاربری کشاورزی تایید شود.



جدول ۳: حلالیت و رسوب کمپلکس های اسید های آمینه با فلز آهن

| Type of complexes | Solubility in water (%) | pH of solution | pH of precipitation |
|--|-------------------------|----------------|---------------------|
| [Fe(Arg) ₂].SO ₄ .2H ₂ O | 75 | 3.5 | 5.5 |
| [Fe(Met) ₂].SO ₄ .H ₂ O | 95 | 3.5 | 5.5 |
| [Fe(Tyr) ₃].SO ₄ .0.5H ₂ O | 87 | 3.6 | 7.4 |
| [Fe(Ala)].SO ₄ .2.5H ₂ O | 90 | 3.5 | 5.2 |
| [Fe(Phe)].SO ₄ .1.5H ₂ O | 100 | 3.7 | 6.2 |
| [Fe(Gly)].(SO ₄) ₂ .5H ₂ O | 100 | 3.5 | 5.8 |

منابع:

- Alloway B.J. 2008. Zinc in soils and crop nutrition, 2nd edn. IZA and IFA, Brussels/Paris.
- Amin A., Gharib AEF, El-Awadia M, Rashad ESM. 2011. Physiological response of onion plants to foliar application of putrescine and glutamine. *Sci Hort* 129: 353–360.
- Aravind P., Prasad MNV. 2005. Cadmium-induced toxicity reversal by zinc in *Ceratophyllum demersum* L. (a free floating aquatic macrophyte) together with exogenous supplements of amino and organic acids. *Chemosphere* 61:1720–1733.
- Ashmead SD. 2002. Composition and method for preparing amino acids chelate hydroxides free of interfering ions. US patent. 6458981 B1.
- Blaylock M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I., 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31: 860–865.
- Chen Y. J., Shi, G., Tin, S. Zheng and Q. Lin. 2004. Fe deficiency induces Cu uptake and accumulation in *Commelia communis*. *Plant Sci.* 166: 1371-1377.
- Chohura P. E., Kolota and A. Komosa. 2007. The effect of different sources of iron on nutritional value of greenhouse tomato fruit grown in peat substrate. *Vegetable Crops Res. Bull.* 67: 55-61.
- Epstein A.L., Gussman, C.D., Blaylock, M.J., Yermiyahu, U., Huang, J.W., Kapulnik, Y., Orser, C.S. 1999. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. *Plant Soil* 208: 87-94.
- Ghasemi S., Khoshgoftarmanesh A., Hadadzadeh H., Jafari M. 2012. Synthesis of iron–amino acid chelates and evaluation of their efficacy as iron source and growth stimulator for tomato in nutrient solution culture. *J Plant Growth Regul.*
- Ilyina A. V., Tikhonov V. E., Albulov A. I., & Varlamov V. P. 2000. Enzymatic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry*, 35: 563–568.
- Komasa, A., E. Kolota and P. Chohura. 2002. Usefulness of iron chelates for fertilization of greenhouse tomato cultivated in rockwool. *Veget. Crop Res. Bull.* 55: 35-40
- Metsarinne, S, Rantanen P, Aksela R, Tuhkanen T. 2004. Biological and photochemical degradation rates of diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) in the presence and absence of Fe (III). *Chemosphere* 55:379–388.
- Wang HJ, Wu LH, Wang MY, Zhu YH, Tao QN, Zhang FS. 2007. Effects of amino acids replacing nitrate on growth, nitrate accumulation, and macro element concentrations in pak-choi (*Brassica chinensis* L.). *Pedosphere* 17: 595–600

The synthesis of amino acids complexes with iron as a source of iron in soil and hydroponicA. Mirbolook, M. H. Rasouli-Sadaghiani, E. Sepehr¹, A. Lakzian², M. Hakimi³

1 :Ph.D. student, Professor and Assoc. Professor in Soil chemistry department of Urmia university

2 : Professor, Soil Science department of Ferdowsi University of Mashhad

3: Professor, Chemistry department of Payam Noor University of Mashhad

Abstract

Today, the use of organic chelates for increase the availability of iron in the soil and hydroponics, is considered. For this purpose, the amino acids used as chelator of iron element. Information of CHN Analysis and FTIR Spectroscopy were obtained to identify and confirm the formation of the complexes. Solubility and



پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران



۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: شیمی و حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه

precipitation of compounds were evaluated by changing the pH environment. According to the results, all the complexes were formed with high efficiency and IR spectroscopy results also confirmed this. Between the complexes synthesized, phenylalanine-Fe and Glycine-Fe were totally soluble and tyrosine-Fe showed more stability in high pH.

Key Word: organic complexes, Amino acids, Iron