مقایسه روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف جهت استخراج کربوهیدرات‌ها در خاک

جابر فلاح‌زاده[۱] و محمدعلی حاج‌عباسی[۲]

[۱]دانشجوی سابق کارشناسی ارشد خاکشناسی، [۲]دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

کربوهیدرات‌ها جزء مواد آلی ناپایدار خاک بوده و مهمترین خصوصیت آنها، پیونددادن ذرات در خاکدانه‌ها و نگهداری آب در خاک می‌باشد [۴]. استخراج صحیح کربوهیدرات‌ها برای تعیین نقش آنها در خاک ضروری است. روش فنول-اسید سولفوریک روش مناسبی برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های خاک می‌باشد [۲]. اما محققین تاکنون جهت استخراج کربوهیدرات‌ها از روش‌های مختلفی از قبیل حرارت‌دادن، تکان‌دادن و همچنین عصاره‌گیرهایی مثل آب مقطر و اسید سولفوریک استفاده نموده‌اند، که مقادیر کربوهیدرات استخراجی از هر روش و هر نوع عصاره‌گیر متفاوت است. [۱]. در این تحقیق سعی شده است کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف در چند خاک متفاوت، مقایسه شوند تا روش و عصاره‌گیر مناسب جهت عصاره‌گیری کربوهیدرات در هر نوع خاک مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام آزمایش چهار نوع خاک رسی غیر شور، رسی شور، رسی با مواد آلی بالا و شنی انتخاب و در سه تکرار از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری شد. خاک رسی غیر شور از دشت جوانمردی در شرق لردگان، خاک رسی شور از ایستگاه رودشت اصفهان، خاک رسی-آلی از جنگل‌های بلوط لردگان و خاک شنی از اراضی کشاورزی شهرستان ابرکوه جمع‌آوری گردید. برای عصاره‌گیری کربوهیدرات‌های خاک از سه روش آون، شیکر و حمام بخار استفاده شد. در روش آون از چهار عصاره‌گیر اسید سولفوریک ۰/۲۵ و ۰/۵ مولار، آب مقطر و سولفات پتاسیم ۰/۵ مولار استفاده گردید و به یک گرم از هر خاک ۱۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر افزوده و به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون (۸۰ $^{\circ}$C) قرار داده شد و با سانتریفوژ (rpm ۱۰۰۰۰) به مدت ۱۵ دقیقه عصاره‌گیری گردید. در روش شیکر از چهار عصاره‌گیر اسید سولفوریک ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ مولار و سولفات پتاسیم ۰/۵ مولار استفاده شد و به یک گرم از هر خاک ۱۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر افزوده و به مدت ۱۶ ساعت در داخل شیکر قرار داده شد و با سانتریفوژ (۳۰۰۰ rpm) به مدت ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری گردید. در روش حمام بخار از چهار عصاره‌گیر اسید سولفوریک ۰/۲۵ و ۰/۵ مولار، آب مقطر و سولفات پتاسیم ۰/۵ مولار استفاده شد و به یک گرم از هر خاک ۱۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر افزوده و به مدت ۲/۵ ساعت در داخل حمام بخار قرار گرفت و با سانتریفوژ (۳۰۰۰ rpm) به مدت ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری گردید. در مرحله بعد، به ۲ میلی‌لیتر از هر عصاره ۰/۰۵ میلی‌لیتر محلول فنول ۸۰ درصد وزنی و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ جهت ایجاد رنگ زرد متمایل به نارنجی اضافه گردید و مقدار جذب در طول موج ۴۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای تهیه منحنی استاندارد جهت محاسبه مقدار کربوهیدرات‌ها، از محلول گلوکز استفاده گردید [۴].

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

خاک‌های مورد مطالعه	$EC_{(1:1)}$ (dS/m)	pH -	کربن آلی (گرم درکیلوگرم)	نیتروژن کل (گرم درکیلوگرم)
رسی غیر شور	۰/۴	۸/۵	۷/۳	۰/۷۷
رسی شور	۱۴/۳	۸/۴	۵/۰	۰/۶۴
رسی با مواد آلی بالا	۰/۶	۸/۲	۴۰/۰	۳/۷۰
شنی	۳/۰	۷/۹	۲/۶	۰/۵۴

نتایج و بحث

مقادیر کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با روش شیکر کمتر از روش‌های آون و حمام بخار است. در خاک رسی-آلی سولفات‌پتاسیم نسبت به آب مقطر کربوهیدرات بیشتری عصاره‌گیری می‌کند و در بقیه خاک‌ها تفاوت معنی‌داری بین این دو عصاره‌گیر وجود ندارد. به این علت که اسید رقیق قادر به تجزیه ترکیبات سلولزی نیست [۵]، با افزایش غلظت اسید، غلظت کربوهیدرات استخراج‌شده نیز افزایش یافته است. بر این اساس‌که کربوهیدرات‌ها ۵ الی ۲۵ درصد کربن آلی خاک را تشکیل می‌دهند [۳]، در این تحقیق استفاده از اسید ۱ مولار موجب شد که مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده در خاک‌ها (به جزء خاک رسی–آلی) بسیار زیاد باشد (براساس مقدار کربن آلی خاک – جدول ۱)، در نتیجه فقط در خاک‌هایی با مواد آلی زیاد می‌توان از اسید ۱ مولار جهت عصاره‌گیری کربوهیدرات ها استفاده نمود.

جدول ۲- مقادیر کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده (g/Kg) با روش و عصاره‌گیرهای متفاوت

محلول‌های عصاره‌گیر	روش‌های عصاره‌گیری	نمونه‌های خاک مورد مطالعه			
		شنی	رسی- شور	رسی- آلی	رسی-غیر شور
سولفات‌پتاسیم ۰/۲۵ مولار	آون	۱/۴^{cde} (۰/۴۳)	۱/۲^{ef} (۰/۱۵)	۱۵/۹^{b} (۱/۱۴)	۳/۰^{bc} (۱/۶۴)
	شیکر	۰/۴^{g} (۰/۰۴)	۰/۴^{g} (۰/۰۱)	۴/۱^{d} (۱/۰۲)	۰/۵^{d} (۰/۲۲)
	حمام بخار	۱/۰^{de} (۰/۰۲)	۱/۴^{e} (۰/۲۸)	-	۲/۴^{bcd} (۱/۱۴)
آب مقطر	آون	۰/۹^{de} (۰/۲۶)	۱/۰^{efg} (۰/۱۵)	۷/۴^{cd} (۰/۱۴)	۲/۶^{bcd} (۱/۴۷)
	حمام بخار	۰/۷^{de} (۰/۱۳)	۰/۹^{efg} (۰/۰۵)	-	۲/۷^{bcd} (۱/۴۵)
اسید سولفوریک ۰/۲۵ مولار	آون	۲/۷^{bc} (۰/۹۸)	۱/۵^{de} (۰/۰۶)	۱۲/۴^{bc} (۰/۹۸)	۳/۱^{bc} (۱/۵۸)
	شیکر	۰/۸^{de} (۰/۵۵)	۰/۶^{fg} (۰/۰۵)	۶/۱^{cd} (۰/۳۸)	۱/۰^{cd} (۰/۲۳)
	حمام بخار	۳/۰^{b} (۱/۰۲)	۲/۱^{d} (۰/۳۴)	-	۲/۶^{bcd} (۰/۹۴)
اسید سولفوریک ۰/۵ مولار	آون	۵/۷^{a} (۰/۵۵)	۶/۱^{a} (۰/۳۱)	۲۹/۵^{a} (۱/۰۴)	۶/۶^{a} (۰/۵۷)
	شیکر	۲/۰^{bcd} (۰/۱۶)	۴/۲^{c} (۰/۶۰)	۹/۳^{cd} (۰/۱۶)	۲/۰^{bcd} (۰/۸۳)
	حمام بخار	۶/۷^{a} (۱/۹۰)	۶/۵^{a} (۰/۸۲)	-	۴/۷^{ab} (۱/۹۰)
اسید سولفوریک ۱ مولار	شیکر	۲/۷^{bc} (۰/۲۳)	۵/۰^{b} (۰/۶۸)	۱۰/۸^{bc} (۰/۵۰)	۶/۳^{a} (۱/۹۸)

مقادیر در هر ستون با حرف مشابه، در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند. اعداد داخل پرانتز انحراف استاندارد می‌باشند.

استفاده از اسید ۰/۵ مولار (با روش‌های عصاره‌گیری آون یا حمام بخار) مناسب نبوده و تنها با روش شیکر و در خاک رسی-آلی و رسی-غیر شور می‌توان از این عصاره‌گیر استفاده کرد. همچنین استفاده از اسید ۰/۲۵ مولار (با روش‌های آون یا حمام بخار) برای خاک شنی مناسب نیست. در اغلب نمونه‌های خاک غلظت کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با آب مقطر کمتر از اسید ۰/۵ و ۱ مولار بوده و حتی در خاک شنی مقادیر کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب مقطر کمتر از اسید ۰/۲۵ مولار است. آدسودون و همکاران [۱] نیز مقدار کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با آب مقطر را کمتر از اسید ۰/۲۵ مولار گزارش کردند. همچنین بر اساس نتایج پاگت و همکاران [۵] مقدار کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با اسید ۰/۵ مولار بیشتر از آب مقطر است. روش عصاره‌گیری با اسید می‌تواند همی‌سلولز را نیز استخراج کند، درحالی‌که روش عصاره‌گیری با آب مقطر قادر به استخراج این نوع کربوهیدرات نیست و اساساً پلی‌ساکاریدهای ترشح شده از ریشه گیاهان را عصاره‌گیری می‌کند [۴]. در مجموع، مناسب‌ترین و در حین حال ساده‌ترین روش عصاره‌گیری کربوهیدرات در خاک شنی حمام بخار (آب مقطر)، در خاک رسی- شور حمام بخار (سولفات‌پتاسیم)، در خاک رسی- آلی شیکر (اسید ۰/۵ و ۱ مولار) و در خاک رسی- غیر شور شیکر (اسید ۰/۵ مولار) می‌باشد.

منابع

[1] Adesodun, J. K., J. S. C Mbagwu and N. Oti. 2001. Structural stability and carbohydrate contents of an ultisol under different management systems. Soil Till. Res. 60: 135–142.

[2] Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. Analyt. Chem. 28: 350–356.
[3] Guggenberger, G., W. Zech and R. J. Thomas. 1995. Lignin and carbohydrate alteration in particle-size separates of an Oxisol under tropical pastures following native savanna. Soil Biol. Biochem. 27: 1629–1638.
[4] Haynes, R. J. and G. S. Francis. 1993. Changes in microbial biomass C, soil carbohydrate composition and aggregate stability induced by growth of selected crop and forage species under field conditions. J. Soil Sci. 44: 665–675.
[5] Puget, P., D. A. Angers and C. Chenu. 1999. Nature of carbohydrates associated with water-stable aggregates of two cultivated soils. Soil Biol. Biochem. 31: 55-63.