بررسی روش‌ها و عصاره‌گیری جهت استخراج کربوهیدرات‌های خاک

جابر فلاح زاده و محمدعلی حاج عباسی*[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۲/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۲۶)

چکیده

برای مطالعه کربوهیدرات‌های خاک ابتدا می‌بایست آنها را استخراج کرد که بدین منظور روش‌های مختلفی پیشنهاد شده است. سه روش و پنج محلول عصاره‌گیر جهت استخراج کربوهیدرات‌ها از سه نوع خاک جنگلی، رسی و شور مورد استفاده قرار گرفت. روش‌های عصاره‌گیری شامل تکان دادن نمونه‌ها به مدت ۱۶ ساعت، حرارت دادن نمونه‌ها در حمام بخار به مدت ۲/۵ ساعت و حرارات دادن نمونه‌ها در آون به مدت ۲۴ ساعت و محلول‌های عصاره‌گیر شامل اسیدکلریدریک ۰/۵ مولار، اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار، اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار، سولفات‌پتاسیم ۰/۵ مولار و آب مقطر بود. غلظت کربوهیدرات‌ها با روش فنل- اسیدسولفوریک تعیین گردید. نتایج نشان داد که در اثر اضافه‌کردن فنل به عصاره استخراج‌شده با اسیدکلریدریک، رسوب شیری‌رنگی تشکیل شد، به همین علت در روش فنل- اسیدسولفوریک نمی‌توان از این عصاره‌گیر جهت استخراج کربوهیدرات‌های خاک استفاده نمود. در همه خاک‌ها روش تکان دادن مقادیر کمتری کربوهیدرات نسبت به روش‌های آون و حمام بخار عصاره‌گیری کرد و در خاک‌های جنگلی و شور تفاوتی در میزان کربوهیدرات عصاره‌گیری شده با روش‌های آون و حمام بخار دیده نشد. در خاک رسی، روش آون مقدار کربوهیدرات بیشتری نسبت به روش حمام بخار عصاره‌گیری کرد. در تمام خاک‌ها، اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشترین مقدار کربوهیدرات را عصاره‌گیری نمود و در خاک‌های جنگلی و شور آب مقطر کمترین مقدار کربوهیدرات را عصاره‌گیری کرد. در مجموع استفاده از روش حمام بخار (در خاک‌های جنگلی و شور) و روش آون (در خاک رسی) با محلول اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشترین مقدار کربوهیدرات را عصاره‌گیری نمود.

واژه‌های کلیدی: کربوهیدرات، خاک، روش عصاره‌گیری، عصاره‌گیر

Archive of SID

مقدمه

مواد آلی با وزن مولکولی کم از تجزیه مواد آلی درشت مثل مواد آلی خاک و بقایای گیاهی به وجود می‌آیند. این مواد شامل اسیدهای آمینه، اسیدهای کربوکسیلیک و کربوهیدرات‌ها بوده که ۱۰ درصد از مواد آلی محلول را تشکیل می‌دهند (۱۲).

محققان از وجود کربوهیدرات‌ها در خاک تقریباً از یک قرن پیش آگاهی داشتند ولی فقط پس از ابداع روش تجزیه کروماتوگرافی، ماهیت این کمپلکس‌ها مشخص شد (۵). از لحاظ کشاورزی مهم‌ترین خصوصیت و وظیفه مرتبط با کربوهیدات‌های خاک، پیونددادن ذرات در خاکدانه‌های

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hajabbasi@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir

پایدار است. این ترکیبات هم‌چنین به نگه‌داری آب در خاک کمک می‌کنند (۱۶). مونوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها، کربوهیدرات‌های خاک را تشکیل می‌دهند و پنج قند منوساکارید شامل گلوکز (Glucose)، گالاکتوز (Galactose)، مانوز (Mannose)، آرابینوز (Arabinose) و زایلوز (Xylose)، بیش از ۹۰ درصد از کربوهیدرات‌های قابل عصاره‌گیری را شامل می‌شوند. منبع اصلی انرژی جمعیت میکروبی خاک پلی‌ساکاریدها هستند (۴). کربوهیدرات‌های خاک به علت تأثیر در تشکیل و پایداری خاکدانه‌ها، در کیفیت خاک نقش بسزایی دارند (۱۶).

انواع مختلفی از روش‌های رنگ‌سنجی برای تعیین کمی کربوهیدرات‌های خاک در طی چند سال گذشته استفاده شده است که روش فنل- اسیدسولفوریک (۶) و روش آنترون- اسیدسولفوریک (۳) از آن جمله‌اند. مطالعات انجام شده نشان دادند که روش آنترون- اسیدسولفوریک برای تعیین مقدار کل کربوهیدرات‌ها در خاک صحیح نمی‌باشد و روش فنل- اسیدسولفوریک روش مناسبی برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های خاک است و مقادیرکربوهیدرات تعیین‌شده با استفاده از روش آنترون- اسیدسولفوریک کمتر از روش فنل- اسیدسولفوریک می‌باشد (۱۵). فنل در اسیدسولفوریک غلیظ با مشتقات فورفورال حاصل از قندها واکنش داده و رنگ زردی را حاصل می‌کند و شدت رنگ زرد نشان‌دهنده مقدار کربوهیدرات می‌باشد (۵). هم‌چنین در برخی از مطالعات به منظور تعیین کربوهیدرات‌های خاک از روش‌های نوین مثل کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance, HPLC Liquid Chromatography,) استفاده شده است. با این روش علاوه بر مقدار کربوهیدرات می‌توان نوع آن را نیز مشخص نمود (۷).

استخراج صحیح کربوهیدرات‌ها برای تعیین نقش آنها در خاک ضروری است. جهت بررسی وضعیت کربوهیدرات‌ها در خاک ابتدا می‌بایستی این نوع مواد آلی هیدرولیز گردند. محققان جهت هیدرولیز کربوهیدرات‌ها از عصاره‌گیرهای مختلف استفاده نموده‌اند، که مقادیر کربوهیدرات استخراجی در هر عصاره‌گیر متفاوت بوده است (۱۳). در اکثر مطالعات، از اسیدسولفوریک (با غلظت‌های مختلف) و آب مقطر جهت استخراج کربوهیدرات‌ها استفاده شده است. استفاده از اسید غلیظ باعث هیدرولیز ترکیبات سلولزی می‌شود (۵ و ۱۶) و اسید رقیق بیشتر ترکیبات غیر سلولزی را هضم و هیدرولیز می‌کند (۱۶). آدسودون و همکاران (۱) از دو عصاره‌گیر اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار و آب مقطر جهت آزادسازی و استخراج کربوهیدرات‌های خاک استفاده کردند. پاگت و همکاران (۱۶) برای هیدرولیز کربوهیدرات‌ها در خاک سه محلول اسیدسولفوریک غلیظ (۱۲ مولار)، اسیدسولفوریک رقیق (۰/۵ مولار) و آب داغ (۸۰ $^{\circ}C$) را به کار بردند. نتایج این محققان نشان داد که در روش اسید غلیظ و آب داغ گلوکز قند غالب بوده و گالاکتوز در رتبه دوم قرار دارد. در روش اسید رقیق مقدار گلوکز استخراج‌شده کمتر از روش اسید غلیظ است. به نظر آنان در روش اسید رقیق زایلوز کربوهیدرات غالب محسوب می‌شود. هاینس و فرانسیز (۱۰) معتقدند که کربوهیدراتی که با روش آب داغ استخراج می‌شود، بیشتر شامل پلی‌ساکاریدهای ترشح‌شده از توده‌های میکروبی است. این در حالی است که نتایج پاگت و همکاران (۱۶) نشان داد روش آب داغ بیشتر کربوهیدرات‌هایی را عصاره‌گیری می‌کند که منشاء میکروبی و گیاهی دارند. ترشحات ریشه‌ای (Mucilage) نیز در آب داغ محلول بوده در نتیجه قابل عصاره‌گیری با آب داغ است (۱۶). چشییر (۵) جهت استخراج کربوهیدرات‌های خاک از ترکیب دو عصاره‌گیر اسیدسولفوریک غلیظ و اسیدسولفوریک گرم و رقیق استفاده نمود. به نظر این محقق این روش قادر است تمام ترکیبات از جمله سلولز را از خاک استخراج کند. بر اساس نتایج پاگت و همکاران (۱۶) در حالی که روش اسیدسولفوریک غلیظ ترکیبات سلولزی را هیدرولیز کرده و مقادیر زیادی گلوکز آزاد می‌کند، روش اسیدسولفوریک رقیق قادر به هیدرولیز سلولز نبوده و احتمالاً همی‌سلولز را هیدرولیز می‌کند که منجر به آزادسازی زایلوز می‌گردد. مارتنز و لوفلمن

www.SID.ir

(۱۳) بیان کردند که استفاده از اسیدسولفوریک با غلظت کمتر از ۱۸ مولار نمی‌تواند به طور کامل سلولز را حل کند. با این وجود برخی از محققان استفاده از اسید غلیظ را جهت استخراج کربوهیدرات توصیه نمی‌کنند (۵ و ۱۶). چشییر (۵) در مطالعات خود دریافت که محلول اسید غلیظ ممکن است باعث تخریب پنتوزها مثل زایلوز گردد. هم‌چنین به اعتقاد پیکولو و همکاران (۱۵) استفاده از اسیدسولفوریک غلیظ جهت عصاره‌گیری، منجر به تخریب بخشی از کربوهیدرات‌های آزاد می‌شود. به نظر این محققان اسیدسولفوریک غلیظ به دلیل قدرت زیادی که برای پراکنده‌کردن ذرات رس دارد برای عصاره‌گیری کربوهیدرات‌ها درخاک‌های غنی از رس مناسب می‌باشد (۱۵). هم‌چنین روویرا و والجو (۱۷) اظهار داشتند که اسید غلیظ بیشتر به منظور هضم و استخراج مواد آلی پایدار و مقاوم به تجزیه مورد استفاده قرار می‌گیرد. لازم به ذکر است که علاوه بر اسیدسولفوریک و آب مقطر در تعداد معدودی از تحقیقات از سولفات پتاسیم ۰/۵ مولار جهت استخراج کربوهیدرات استفاده شده است (۱۱). اسید کلریدریک (HCl) نیز در برخی از تحقیقات جهت استخراج کربوهیدرات خاک مورد استفاده محققان قرار گرفته است. سلویرا و همکاران (۱۸) از غلظت‌های مختلف (۱ و ۶ مولار) اسیدکلریدریک جهت استخراج کربوهیدرات استفاده نمودند. در اکثر مطالعات جهت هیدرولیز و استخراج کربوهیدرات‌ها، از نمونه خاک استفاده می‌شود ولی از عصاره خاک نیز می‌توان کربوهیدرات استخراج نمود. در این راستا قانی و همکاران (۹) از عصاره خاک جهت تعیین مقدار کربوهیدرات‌ها استفاده کردند. در این روش بدون انجام عملیات هضم مقدار کربوهیدرات مستقیماً در عصاره خاک اندازه‌گیری می‌گردد.

در رابطه با روش‌های مختلف عصاره‌گیری، آدسودون و همکاران (۱) با دو روش حرارت دادن و تکان دادن کربوهیدرات‌های محلول در آب را عصاره‌گیری کردند. بر اساس نتایج آنان مقدار کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ (روش حرارت دادن) بیشتر از کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب سرد (روش تکان دادن) است. با وجود این‌که در بیشتر مطالعات جهت هیدرولیز کربوهیدرات‌ها، اقدام به حرارت‌دادن نمونه‌ها می‌کنند (۱۳) ولی روش و نحوه حرارت‌دادن نمونه جهت هضم و استخراج بهتر کربوهیدرات‌ها به خوبی مشخص نشده است. با توجه به وجود روش‌ها و محلول‌های متعدد در زمینه استخراج کربوهیدرات‌های خاک، در این تحقیق روش‌ها و محلول‌های مختلف جهت استخراج کربوهیدرات‌ها استفاده گردید تا تفاوت آنها در میزان هضم و استخراج کربوهیدرات‌ها در هر نوع خاک مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام آزمایش سه نوع خاک جنگلی، رسی و شور انتخاب و در سه تکرار از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری گردید. خاک جنگلی از جنگل‌های بلوط شهرستان لردگان، خاک رسی از دشت جوانمردی واقع در ۳۰ کیلومتری شرق لردگان و خاک شور از ایستگاه تحقیقاتی رودشت اصفهان جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده جهت انجام آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی، هواخشک گردیده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. در این تحقیق بافت خاک به روش پیپت (۸)، قابلیت هدایت الکتریکی(EC) در عصاره ۱:۱، pH خاک در گل اشباع، درصد نیتروژن کل به روش کلدال (۱۴) و مقدار مواد آلی خاک با روش والکی و بلاک (۱۹) اندازه‌گیری گردید. برخی از ویژگی‌های خاک‌هایی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت، در جدول ۱ آورده شده است.

برای هضم و عصاره‌گیری کربوهیدرات‌های خاک از سه روش آون، تکان دادن و حمام بخار و پنج محلول عصاره‌گیر شامل اسیدکلریدریک ۰/۵ مولار، اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار، اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار، سولفات‌پتاسیم ۰/۵ مولار و آب مقطر استفاده گردید. در روش آون به یک گرم از هر نوع خاک ۱۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر افزوده و به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون و دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و با سانتریفوژ عصاره‌گیری صورت گرفت. در روش تکان دادن به یک گرم از

www.SID.ir

جدول ۱. برخی از خصوصیات خاک‌های مورد مطالعه

نوع خاک	محل نمونه‌برداری	نوع کاربری	بافت	$EC_{(1:1)}$ (dS/m)	pH -	ماده آلی ٪	نیتروژن کل ٪
جنگلی	لردگان	جنگل‌های بلوط	رس سیلتی	۰/۶۰	۸/۲	۷/۰	۰/۳۷
رسی	دشت جوانمردی	گندم آبی	رسی	۰/۴۰	۸/۵	۱/۳۰	۰/۰۷
شور	رودشت	چغندرقند	رس سیلتی	۱۴/۳	۸/۴	۰/۹۰	۰/۰۶

هر نوع خاک ۱۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر افزوده و به مدت ۱۶ ساعت در داخل دستگاه تکان دهنده (Shaker) با دور آرام قرار داده شد و توسط سانتریفوژ عصاره‌گیری گردید. در روش حمام بخار به یک گرم از هر نوع خاک ۱۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر افزوده و به مدت ۲/۵ ساعت در داخل حمام بخار قرار گرفت و با سانتریفوژ عصاره‌گیری صورت گرفت. در مرحله بعد، جهت ایجاد رنگ زرد متمایل به نارنجی، به ۲ میلی‌لیتر از هر عصاره ۰/۰۵ میلی‌لیتر محلول فنل ۸۰ درصد وزنی- وزنی (۸۰ گرم فنل در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ (با خلوص ۹۸ درصد) اضافه گردید و مقدار جذب در طول موج ۴۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (۶). برای تهیه منحنی استاندارد جهت محاسبه مقدار کربوهیدرات، از محلول گلوکز استفاده گردید (۱). پس از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسات میانگین (آزمون LSD) با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده با روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. به‌طورکلی استفاده از روش‌ها و محلول‌های مختلف باعث اختلاف معنی‌دار در میزان عصاره‌گیری کربوهیدرات‌ها در خاک گردیده که نتایج آن به صورت جداگانه برای هر یک از عوامل آورده شده است. در تمام خاک‌ها، اثر عامل نوع روش عصاره‌گیری در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردیده است.

جدول ۳ مقادیر کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با روش‌های مختلف را نشان می‌دهد. در خاک جنگلی روش‌های هضم با آون و حمام بخار نسبت به روش تکان دادن باعث آزادسازی مقادیر زیادتری کربوهیدرات شده ولی با این حال اختلاف معنی‌داری بین این دو روش در سطح ۵ درصد دیده نشد. در خاک رسی، روش هضم با آون نسبت به روش حمام بخار باعث استخراج مقادیر بیشتری کربوهیدرات شده و همانند سایر خاک‌ها حداقل مقدار کربوهیدرات آزادشده در بین روش‌های هضم، مربوط به روش تکان دادن بوده است (جدول ۳). در خاک شور قدرت استخراج کربوهیدرات توسط روش‌های هضم آون و حمام بخار دو برابر روش تکان دادن بود. با این وجود همانند خاک جنگلی تفاوت معنی‌داری بین روش آون و حمام بخار دیده نشد (جدول ۳).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده با روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف نشان داد که در تمام خاک‌ها مشابه با عامل روش عصاره‌گیری، عامل نوع محلول عصاره‌گیر نیز در سطح ۱ درصد معنی‌دار شده است (جدول ۲). لازم به ذکر است که با وجود این‌که در برخی از تحقیقات جهت استخراج کربوهیدرات‌های خاک از اسیدکلریدریک استفاده شده (۱۸) ولی در این تحقیق پس از افزودن فنل به عصاره استخراج‌شده توسط اسیدکلریدریک، رسوب شیری‌رنگی تشکیل شد که این رسوب باعث تغییر رنگ محلول و ایجاد اختلال در میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر گردید. در نتیجه در صورت استفاده از

www.SID.ir

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس مقادیر کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات
	خاک جنگلی		
تکرار (R)	۲	۰/۰۴	۰/۰۲
فاکتور A (روش عصاره‌گیری)	۲	۱۴۰	۷۰**
فاکتور B (محلول عصاره‌گیر)	۳	۳۶	۱۲**
اثر متقابل AB	۶	۳۵	۵/۸**
خطا	۲۲	۵/۹	۰/۲۷
کل	۳۵	۲۱۷	
	خاک رسی		
تکرار (R)	۲	۲/۳	۱/۲*
فاکتور A (روش عصاره‌گیری)	۲	۵۴	۲۷**
فاکتور B (محلول عصاره‌گیر)	۳	۴۳	۱۴/۴**
اثر متقابل AB	۶	۵/۷	۰/۹۵*
خطا	۲۲	۵/۸	۰/۲۶
کل	۳۵	۱۱۱	
	خاک شور		
تکرار (R)	۲	۰/۱۶	۰/۰۸
فاکتور A (روش عصاره‌گیری)	۲	۱۴	۶/۸۱**
فاکتور B (محلول عصاره‌گیر)	۳	۱۴۵	۴۸**
اثر متقابل AB	۶	۲/۳	۰/۳۸*
خطا	۲۲	۲/۷	۰/۱۲
کل	۳۵	۱۶۴	

* و **: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار شدن در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

جدول۳. مقادیر کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با روش‌های مختلف (گرم در کیلوگرم خاک)

خاک	روش عصاره‌گیری کربوهیدرات			LSD
	آون	تکان دادن	حمام بخار	
جنگلی	۷/۲ A*	۳/۰ B	۷/۱ A	۰/۴۴
رسی	۳/۸ A	۱/۰ C	۳/۱ B	۰/۴۳
شور	۲/۵ A	۱/۳ B	۲/۷ A	۰/۲۹

*: اعداد در هر سطر که دارای حروف متفاوت‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد هستند.

اسیدکلریدریک جهت استخراج کربوهیدرات، دیگر نمی‌توان از روش فنل- اسیدسولفوریک جهت تعیین کربوهیدرات استفاده نمود. به همین دلیل نتایج مربوط به محلول اسیدکلریدریک ۰/۵ مولار در این قسمت گنجانده نشده است. لازم به ذکر است که سلویرا و همکاران (۱۸) از محلول ۱ و ۶ مولار اسیدکلریدریک به منظور استخراج کربوهیدرات‌ها و از روش تشدید مغناطیس هسته (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) جهت تعیین مقدار کربوهیدرات‌ها استفاده نمودند. مقادیر کربوهیدرات

Archive of SID

www.SID.ir

عصاره‌گیری‌شده با عصاره‌گیرهای مختلف در خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۴ آورده شده است. در تمام خاک‌ها اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشترین مقدار کربوهیدرات را نسبت به سایر محلول‌ها استخراج نموده است. در خاک جنگلی بر خلاف سایر خاک‌ها، سولفات‌پتاسیم ۰/۵ مولار نسبت به اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار کربوهیدرات بیشتری آزاد کرده است. در این خاک، آب مقطر دارای حداقل قدرت هضم و استخراج کربوهیدرات بوده است (جدول ۴). در خاک رسی با وجود این‌که اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشترین مقدار کربوهیدرات را آزاد کرد ولی تفاوت معنی‌داری بین سایر محلول‌های عصاره‌گیر در سطح ۵ درصد مشاهده نشد (جدول ۴). در خاک شور اسیدسولفوریک و به طور ویژه اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشترین مقدار کربوهیدرات را در بین سایر محلول‌ها آزاد کرده است. از سوی دیگر آب مقطر در مقایسه با سایر استخراج‌کننده‌ها منجر به استخراج مقادیر کمتری کربوهیدرات گردید و اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار نسبت به سولفات پتاسیم قدرت استخراج بیشتری داشته است.

در خاک جنگلی نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده با روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف نشان داد که اثر متقابل عامل نوع روش عصاره‌گیری و عامل نوع محلول عصاره‌گیر در سطح ۱ درصد معنی‌دار شده است (جدول ۲). شکل ۱ مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده با روش و عصاره‌گیرهای مختلف در این خاک را نشان می‌دهد. در این خاک بین محلول‌های مختلف در روش آون اختلاف معنی‌داری دیده نشد. در روش هضم حمام بخار مقدار کربوهیدرات استخراج‌شده با محلول اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشتر از اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار و آب مقطر بوده است. در روش تکان دادن، اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار و آب مقطر به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار کربوهیدرات را استخراج کرده و تفاوت معنی‌داری بین اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار و سولفات‌پتاسیم مشاهده نشده است. هم‌چنین در روش تکان دادن و حمام بخار مقدار کربوهیدرات استخراج‌شده با سولفات‌پتاسیم بیشتر از آب مقطر است. کمترین میزان کربوهیدرات استخراج‌شده با عصاره‌گیر آب مقطر در روش تکان دادن به دست آمد.

در خاک رسی اثر متقابل دو عامل نوع روش عصاره‌گیری و نوع محلول عصاره‌گیر در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردیده است (جدول ۲). شکل ۲ مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده با روش و عصاره‌گیرهای مختلف در این خاک را نشان می‌دهد. در خاک رسی بیشترین مقدار کربوهیدرات عصاره‌گیری شده مربوط به محلول اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار در روش آون بود و بر خلاف سایر خاک‌ها مقدار کربوهیدرات استخراج‌شده با اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار در روش آون بیشتر از روش حمام بخار است. در تمام روش‌ها اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشترین مقدار کربوهیدرات را استخراج کرده و بین عصاره‌گیرهای دیگر اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

در خاک شور نیز مشابه با خاک رسی اثر متقابل دو عامل نوع روش عصاره‌گیری و نوع محلول عصاره‌گیر در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردیده است (جدول ۲). مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده با روش‌ها و عصاره‌گیرهای مختلف خاک شور در شکل ۳ نشان داده شده است. اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار در روش‌های آون و حمام بخار بیشترین مقدار کربوهیدرات را استخراج کرده است. این در حالی است که برای تمام محلول‌ها، تفاوتی بین روش حمام بخار و آون از نظر میزان استخراج کربوهیدرات دیده نشد و کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده توسط محلول‌های مختلف با روش تکان دادن در مقایسه با روش‌های آون و حمام بخار به صورت معنی‌داری کمتر بوده است. کمترین میزان کربوهیدرات استخراج‌شده با عصاره‌گیر آب مقطر در روش تکان دادن به دست آمد.

بحث

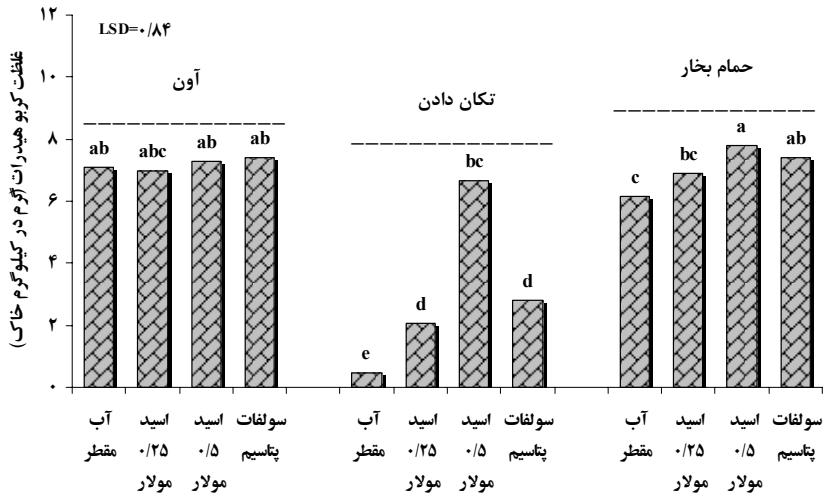
در تمام خاک‌ها مقادیر کربوهیدرات استخراج‌شده توسط روش‌های آون و حمام بخار که در آنها نمونه تحت تأثیر حرارت قرار می‌گیرد، بیشتر از روش تکان دادن بود. آدسودون

www.SID.ir

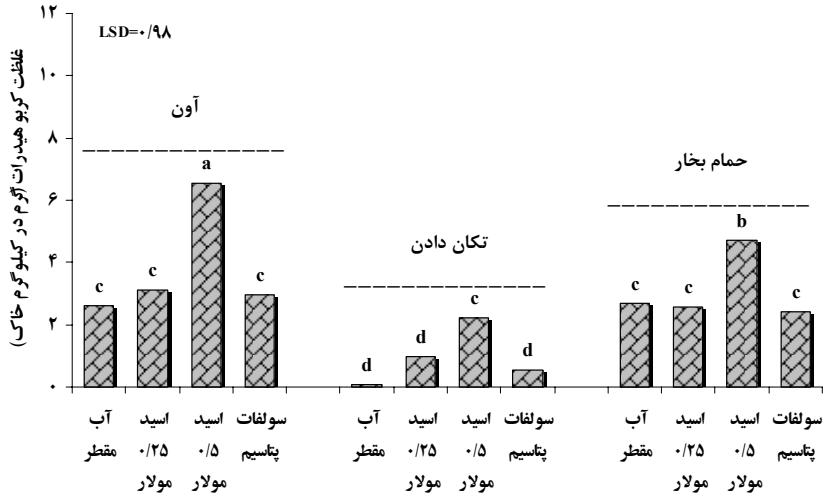
جدول۴. مقادیر کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با عصاره‌گیرهای مختلف (گرم در کیلوگرم)

خاک	محلول عصاره‌گیر				LSD
	آب مقطر	H_2SO_4 ۰/۲۵ مولار	H_2SO_4 ۰/۵ مولار	K_2SO_4 ۰/۵ مولار	
جنگلی	۴/۵ D*	۵/۳ C	۷/۳ A	۵/۹ B	۰/۵۱
رسی	۱/۸ B	۲/۲ B	۴/۵ A	۲/۰ B	۰/۵۰
شور	۰/۶ D	۱/۴ B	۵/۶ A	۱/۰ C	۰/۳۴

*: اعداد در هر سطر که دارای حروف متفاوت‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد هستند.

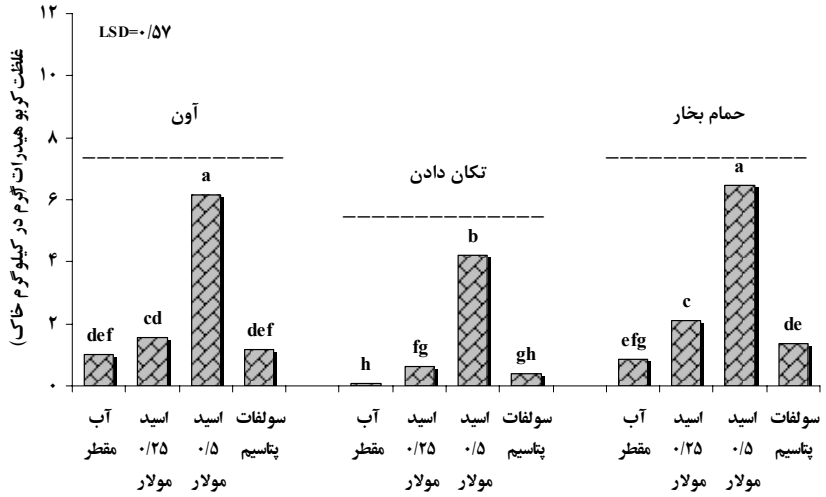


شکل ۱. مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری شده با روش و عصاره‌گیرهای مختلف در خاک جنگلی
میانگین‌ها با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.



شکل ۲. مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری شده با روش و عصاره‌گیرهای مختلف در خاک رسی
میانگین‌ها با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.

www.SID.ir



شکل ۳. مقادیر کربوهیدرات اندازه‌گیری شده با روش و عصاره‌گیرهای مختلف در خاک شور
میانگین‌ها با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.

و همکاران (۱) نیز در پژوهش خود دریافتند که میزان کربوهیدراتی که به وسیله فرایند حرارت‌دادن (آب داغ) از خاک استخراج می‌شود بیشتر از مقدار کربوهیدراتی است که با روش تکان دادن (آب سرد) عصاره‌گیری می‌شود. در اکثر مطالعات جهت هیدرولیز کامل‌تر و سریع‌تر کربوهیدرات‌ها، اقدام به حرارت دادن نمونه‌ها می‌کنند (۱۳) ولی نتایج این تحقیق نشان داد که نحوه حرارت دادن نمونه‌ها نیز در هیدرولیز و استخراج کربوهیدرات‌ها تأثیرگذار بوده و در برخی از موارد منجر به نتایج متفاوتی می‌گردد. به‌طور مثال در خاک رسی حرارت‌دادن با روش آون باعث آزادسازی کربوهیدرات بیشتری نسبت به روش حمام بخار شده است. در روش تکان دادن کربوهیدرات‌های خاک تنها بوسیله لرزش و با کمترین میزان هضم، از خاک استخراج می‌شوند و در مقایسه با روش‌های حرارتی، مقادیر کربوهیدرات کمتری آزادسازی می‌شود. هم‌چنین در تمام خاک‌ها با افزایش غلظت اسیدسولفوریک مقدار کربوهیدرات بیشتری استخراج گردیده است. پاگت و همکاران (۱۶) نیز در پژوهش خود به افزایش میزان آزادسازی کربوهیدرات‌ها با افزایش غلظت اسیدسولفوریک اشاره داشته‌اند. استفاده از آب مقطر در مقایسه با سایر استخراج‌کننده‌ها (بویژه اسیدسولفوریک) منجر به استخراج مقادیر کمتری کربوهیدرات شده است. این نتایج با یافته‌های آدسودون و همکاران (۱)، پاگت و همکاران (۱۶)، بونگیوانی و لوبارتینی (۲) و هاینز و فرانسیز (۱۰) مطابقت دارد. آدسودون و همکاران (۱) دریافتند که مقدار کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار بیشتر از کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب مقطر است. پاگت و همکاران (۱۶) و بونگیوانی و لوبارتینی (۲) نیز گزارش کردند که مقدار کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشتر از آب مقطر است. به نظر هاینز و فرانسیز (۱۰) به این علت که روش عصاره‌گیری با اسید رقیق می‌تواند همی‌سلولز را نیز استخراج کند، و روش عصاره‌گیری با آب داغ قادر به استخراج این نوع کربوهیدرات نیست، مقادیر کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با آب داغ کمتر از کربوهیدرات قابل عصاره‌گیری با اسید رقیق است. اساساً روش عصاره‌گیری با آب داغ پلی‌ساکاریدهای ترشح شده از ریشه گیاهان (۱۰ و ۱۶) و موجودات ریز خاک (۱۶) را عصاره‌گیری می‌کند. در اکثر خاک‌ها میزان کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با سولفات‌پتاسیم بیشتر از آب مقطر بوده است. در واقع قدرت هضم سولفات‌پتاسیم بالاتر از آب مقطر بوده که این احتمالاً به دلیل توانایی این محلول در آزادسازی کربوهیدرات توده زنده

www.SID.ir

میکروبی باشد (۱۱). در خاک شور اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار نسبت به سولفات‌پتاسیم مقادیر بیشتری کربوهیدرات استخراج کرده در حالی که در خاک جنگلی مقدار کربوهیدرات استخراج‌شده با محلول سولفات‌پتاسیم نسبت به اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار بیشتر بوده است. از آنجایی که سولفات‌پتاسیم قادر است کربن و کربوهیدرات توده زنده میکروبی را استخراج کند (۱۱)، به نظر می‌رسد در خاک‌های جنگلی میزان کربوهیدرات مرتبط با توده زنده میکروبی خیلی بیشتر از سایر خاک‌ها باشد.

در خاک رسی در تمام روش‌های عصاره‌گیری، اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار بیشترین مقدار کربوهیدرات را استخراج کرده و بین عصاره‌گیرهای دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. به نظر پیکولو و همکاران (۱۵) اسیدسولفوریک غلیظ به این دلیل که دارای قدرت زیادی برای پراکنده‌کردن ذرات رس بوده، برای عصاره‌گیری کربوهیدرات‌ها درخاک‌های غنی از رس مناسب‌تر از اسیدسولفوریک رقیق است. با توجه به اختلاف شدید مقادیر کربوهیدرات استخراج‌شده با اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار در مقایسه با سایر محلول‌ها، به نظر می‌رسد در خاک رسی، اسیدسولفوریک ۰/۲۵ مولار، سولفات‌پتاسیم و آب مقطر قدرت کافی جهت آزادسازی کربوهیدرات خاک را نداشته‌اند. هم‌چنین با توجه به مقادیر کربوهیدرات استخراج‌شده به وسیله روش‌های آون و حمام بخار مشخص می‌شود که تنها در خاک رسی، روش آون نسبت به روش حمام بخار کربوهیدرات بیشتری آزاد کرده است. از آنجایی که مواد آلی به ویژه کربوهیدرات‌ها با قسمت معدنی خاک (رس‌ها) در ارتباط بوده (۲۰) و از طرفی در روش آون زمان هضم ۲۴ ساعت و در روش حمام بخار ۲/۵ ساعت است، در نتیجه این احتمال وجود دارد که در روش حمام بخار زمان کافی جهت استخراج و آزادسازی کربوهیدرات‌هایی که به ذرات رس متصل شده‌اند، وجود نداشته و به همین علت مقدار کربوهیدرات استخراج شده با روش آون بیشتر از روش حمام بخار بوده است. به نظر می‌رسد در خاک‌های رسی جهت پراکنده کردن ذرات رس و در نتیجه هیدرولیز کامل‌تر کربوهیدرات‌ها، به اسید قوی و زمان زیادی نیاز باشد.

نتیجه‌گیری

در روش اندازه‌گیری فنل- اسیدسولفوریک، استفاده از عصاره‌گیر اسیدکلریدریک ۰/۵ مولار به این علت که موجب تشکیل رسوب شیری‌رنگ می‌گردد، جهت عصاره‌گیری کربوهیدرات‌های خاک مناسب نیست. محلول اسیدسولفوریک ۰/۵ مولار در بین سایر محلول‌های عصاره‌گیر بیشترین میزان کربوهیدرات را استخراج نمود و مقادیر کربوهیدرات عصاره‌گیری‌شده با روش شیکر کمتر از روش‌های آون و حمام بخار بود.

منابع مورد استفاده

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. Bongiovanni, M. D. and J. C. Lobartini. 2006. Particulate organic matter, carbohydrate, humic acid contents in soil macro and microaggregates as affected by cultivation. Geoderma 136: 660–665.
3. Brink, R. H., P. Dubar and D. L. Lynch. 1960. Measurement of carbohydrates in soil hydrolysates with anthrone. Soil Sci. 89: 157–166.
4. Cheshire, M.V. 1977. Origins and stability of soil polysaccharide. Soil Sci. 98: 371–376.
5. Cheshire, M.V. 1979. Nature and Origin of Carbohydrates in Soils. Academic Press, London.
6. Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28: 350–356.
7. Fischer, K., M. Wacht and A. Meyer. 2003. Simultaneous and sensitive HPLC determination of mono- and disaccharides, uronic acids, and amino sugars after derivatization by reductive amination. Acta Hydrochimica et

Archive of SID
www.SID.ir

Hydrobiologica 31: 134–144.
8. Gee, G. W. and J.W. Bauder. 1986. Particle-size analysis. PP. 383–411. *In*: Klute A. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part I: American Society of Agronomy, Madison, WI.
9. Ghani, A., M. Dexter and K.W. Perrott. 2003. Hot-water extractable carbon in soils: A sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. Soil Biol. Biochem. 35: 1231–1243.
10. 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. Soil Sci. 44: 665–675.
11. Joergensen, R. G., T. Mueller and V. Wolters. 1996. Total carbohydrates of the soil microbial biomass in 0.5 M K2SO4 soil extracts. Soil Biol. Biochem. 28: 1147-1153.
12. Kuzyakov, Y. and G. Domanski. 2000. Carbon input by plants into the soil. Review. Plant Nutr. Soil Sci. 163: 421–431.
13. Martens, D. A and K. L. Loeffelmann. 2002. Improved accounting of carbohydrate carbon from plants and soils. Soil Biol. Biochem. 34: 1393–1399.
14. Page, A. L., R. H. Miller and D. R. Keeney. 1992. Methods of Soil Analysis, In: II. Chemical and Mineralogical Properties. SSSA Pub., Madison, WI.
15. Piccolo, G. A., A. Zena and P. Conte. 1996. A comparison of acid hydrolysis for the determination of carbohydrate in soils. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 27: 2909–2915.
16. 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.
17. Rovira, P. and V.R. Vallejo. 2000. Examination of thermal and acid hydrolysis procedures in characterization of soil organic matter. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 31: 81–100.
18. Silveira, M. L., N. B. Comerford, K. R. Reddy, W. T. Cooper and H. El-Rifai. 2008. Characterization of soil organic carbon pools by acid hydrolysis. Geoderma 144: 405– 414.
19. Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of digestion method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37: 29-38.
20. Zinn, Y. L., R. Lal, J.M. Bigham and D. V. S. Resck. 2007. Edaphic controls on soil organic carbon retention in the Brazilian Cerrado: Texture and Mineralogy. Soil Sci. Soc. Am. J. 71: 1204–1214.

Archive of SID

www.SID.ir