جامعة حماه
كلية الهندسة الزراعية

الجلسة العملية الحادية عشر
تقدير محتوى العينات النباتية من بعض العناصر المغذية

1- تقدير النتروجين الكلّي Total Nitrogen

المبدأ

يختلف محتوى النبات من النتروجين باختلاف نوع النبات وعمره والجزء النباتي ومستوى التغذية بالنتروجين.. إلخ، ويمكن أن يتراوح بين 0,2 - 6 % من الوزن الجاف للنبات.

ويعيّن النتروجين الكلّي في النبات بطريقة كلدال Kjeldahl Method التي تستعمل أيضاً في تقدير النتروجين الكلّي في التربة. ويقوم مبدأ هذه الطريقة على تحويل النتروجين العضوي واللاعضوي إلى سلفات الأمونيوم، ومن ثم تحرير الأمونيوم بواسطة محلول مركز من هيدروكسيد الصوديوم وتقطيره في محلول من حمض الكبريت القياسي، الذي تتم معايرته رجعياً بمحلول قياسي من هيدروكسيد الصوديوم بوجود دليل مناسب. ومن خلال معرفة الحجم المستهلك من حمض الكبريت القياسي يتم حساب الكمية الكلية للنتروجين (راجع تقدير النتروجين الكلي في التربة).

الأدوات

أنابيب كلدال سعة 300 مل، مخبار مدرج سعة 100 مل، دورق مخروطي سعة 500 مل، سحّاحة، ماصة، وحدة هضم كلدال، وحدة تقطير كلدال (أو جهاز تقطير الأمونيا نموذج Wagnar-Parnas)، قارورة غسل، ميزان حسّاس.

الكواشف

خليطة السلفات: يخلط 500 غ من سلفات الصوديوم اللامائية Na_2SO_4 مع 8 غ من سلفات النحاس $Cu\ SO_4 .5H_2O$ و8 غ من مسحوق السيلينيوم Se، ثم يطحن الخليط الناتج في هاون ويُحفظ في زجاجة محكمة الإغلاق.

حمض الكبريت-ساليسيليك: يذاب 60 غ من حمض الساليسيليك HOC_6H_4COOH في لتر أحد من حمض الكبريت $H_2\ SO_4$ المركز.

محلول هيدروكسيد الصوديوم (30 %): ويحضر بإذابة 300 غ من هيدروكسيد الصوديوم NaOH في حوالي 700 مل من الماء المقطر، ثم يكمل حجم المحلول إلى لتر بالماء المقطر ويجانس جيداً.

محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N): يذاب 4 غ من هيدروكسيد الصوديوم NaOH النقية في لتر من الماء المقطر، وتضبط نظامية المحلول الناتج بواسطة محلول قياسي من حمض كلور الماء (HCl; 0.1N) أو فتالات البوتاسيوم الحامضية 0.1N.

ثيوسلفات الصوديوم $Na_2S_2O_3 . 5H_2O$: بودرة جافة.

محلول الدليل المزدوج: ويحضر بالطريقة الآتية:

- أذب (0.2) غ من دليل أحمر الميتيل المطحون جيداً في حوالي (500) مل كحول ايتيلي في دورق حجمي سعة 1000 مل (محلول A).
- أذب (0.5) غ من دليل أزرق الميتلين في (100) مل ماء مقطر (محلول B).
- أضف المحلول (B) إلى الدورق الحجمي الحاوي على المحلول (A)، ثم أكمل الحجم بالماء المقطر حتى (1) لتر.

حمض الكبريت (0, 1 N) : يمدد 82 مل من حمض الكبريت المركز(H_2SO_4 ; 98%, 1.84 g/cm^3) إلى لتر بالماء المقطر. تضبط نظامية المحلول الناتج عن طريق المعايرة بهيدروكسيد الصوديوم (0, 1 N) بوجود دليل الفينول فتالين.

طريقة العمل

أ - هضم العينة

1 - زن من 0.5 غ من المادة النباتية المطحونة والمجففة على درجة 105 ^oC وضعها في دورق كلدال سعة 300 مل.

2 – أضف للعينة المأخوذة (3) غ من خليطة السلفات، و (1) غ من ثيوسلفات الصوديوم.

3- أضف للعينة 40 مل من حمض الكبريت – ساليسيليك. حرّك الدورق جيداً وضعه في حامل الأنابيب الخاص بوحدة الهضم، ومن ثبّت حامل الأنابيب في المكان المخصص له في وحدة هضم كلدال.

4 – اهضم العينة على درجة حرارة قدرها (350 ^oC)حتى الحصول على محلول رائق تماماً. كما في الشكل رقم (1)

ب - التقطير (الشكل رقم 2)

1 – انقل انبوب كلدال (انبوب الهضم) إلى المكان المخصص له في وحدة تقطير كلدال.

2 – ضع في دورق الاستقبال (أرلينة 250 أو 500 مل) (10) مل من محلول حمض الكبريت القياسي (0.1 N)، ثم مدِّد بالماء المقطر (25 مل) و أضف (10-12) قطرة من الدليل المزدوج.

3 - ثبّت دورق الاستقبال في المكان المخصص له في وحدة التقطير.
4- أضف محلول هيدروكسيد الصوديوم (30%) إلى الوعاء الخاص بذلك والملحق بوحدة التقطير، وأضف ماء مقطر إلى الوعاء الآخر الملحق بوحدة التقطير.
5 – قطِّر العينة (بوجود هيدروكسيد الصوديوم 30 % والماء المقطر) لمدة (210) ثانية.
6 - يفضل برمجة وحدة التقطير قبل البدء بعملية التقطير على النحو التالي:
- (5) ثانية لتزويد العينة بالماء المقطر.
- (10) ثانية لتزويد العينة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم (30 %).
- (210) ثانية لمرحلة التقطير.
- (97) ثانية لتفريغ الأنبوب من محتوياته في نهاية عملية التقطير.

حـ - المعايرة (الشكل رقم 3)
1 – عاير الفائض من حمض الكبريت القياسي في دورق الاستقبال بمحلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N) حتى تحول لون المحلول من الأزرق النيلي إلى الأخضر أو الأخضر المزرق. سجّل الحجم المستهلك من الأساس (وليكن A مل).
2 - أعمل تجربة شاهد (بدون عينة نباتية) مكرراً المراحل (هضم، تقطير، معايرة) و الخطوات السابقة نفسها. سجّل الحجم المستهلك من الأساس (وليكن B مل). كما في الشكل رقم(3).

الشكل رقم (1) : هضم العينات النباتية لتقدير النتروجين الكلي

الشكل رقم(2): طريقة تقطير العينات النباتية لتقدير النتروجين الكلي

الشكل رقم(3): مرحلة المعايرة في تجربة تقدير محتوى النبات من النتروجين.

طريقة الحساب

$$\text{Total N}(\%) = \frac{[(A-B)\times N]\times E\times 100}{1000\times W}$$

حيث: A , B - حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم (مل) المستهلك في معايرة الشاهد، والعينة على التوالي.
N - نظامية محلول هيدروكسيد الصوديوم المستخدم في المعايرة.
E - الوزن المكافئ للنتروجين.
W - وزن العينة النباتية (غ).

مثال

بفرض أن وزن العينة النباتية المأخوذة للتحليل كان 500 مغ، وأنَّ حجم هيدروكسيد الصوديوم (0,1N) المستهلك في معايرة الشاهد كان 9.95 مل، وفي معايرة العينة 1,55 مل فيكون:

$$\text{Total}-\text{N} = \frac{[(9,95-1,55)\times 0,1]\times 14\times 100}{1000\times 0,5} = 2,35\%$$

2- تقدير الفوسفور Determination of phosphorus

مقدمة

تتراوح نسبة الفوسفور في معظم النباتات بين 0,1 – 1 % من الوزن الجاف للنبات، ويتركّز هذا العنصر - غالباً - في البذور، بينما تقل كميته في السوق والجذور وتحتوي الأوراق على كمية متوسطة منه.

يُقدّر الفوسفور في النبات بطريقة الفاندات – موليبدات، التي تعتمد على تفاعل الفاندات والموليبدات مع الفوسفات الذائبة في وسط حمضي، حيث يتشكل معقد أصفر اللون، تقاس شدته بجهاز القياس الطيفي عند موجة طولها 470 ميلي ميكرون. وبمقارنة القراءة الناتجة مع قراءات لمحاليل قياسية للفوسفور يمكن معرفة كمية الفوسفور في العينة النباتية. وعلى الرغم من كون هذه الطريقة أقل حساسية من الطرق الأخرى (كطريقة الفوسفو موليبدات مثلاً)، إلا أنها تمتاز بثبات اللون الأصفر المتشكل لمدة طويلة من الزمن مقارنة بالطرق الأخرى، كما أنها لا تتأثر بالأيونات الأخرى التي قد تتواجد في وسط التفاعل.

الأدوات

بوتقة، دورق معياري سعة 100 مل وآخر سعة 50 مل، ورق ترشيح، قمع زجاجي، ماصة، قارورة غسل، مرمّدة كهربائية، حمّام بخاري، جهاز القياس الطيفي Spectrophotometer (أو جهاز قياس الألوان Colorimeter)، ميزان حسّاس.

الكواشف

محلول موليبدات الأمونيوم – فاندات الأمونيوم: ويحضر كالآتي:

- يذاب 22,5 غ من موليبدات الأمونيوم $(NH_4)_6\ Mo_7\ O_{24}.\ 4H_2O$ في 400 مل من الماء المقطر الساخن ويترك المحلول حتى يبرد (محلول A).
- يذاب 1,25 غ من فاندات الأمونيوم NH_4VO_3 في 300 مل من الماء المقطر الساخن ويترك المحلول ليبرد (محلول B).

- يضاف محلول (B) إلى محلول (A)، ثم يضاف 250 مل من حمض الآزوت المركز HNO_3 ويبرّد المحلول ومن ثم يمدد الحجم إلى لتر بالماء المقطر.

محلول فوسفور قياسي (50 ppm P) : يذاب 0,2195 من فوسفات البوتاسيوم الأحادية KH_2PO_4 في قليل من الماء المقطر ، ثم يمدد الحجم بالماء المقطر حتى لتر.

محلول نترات المغنزيوم (50 %) : يحضر بإذابة 50 غ من نترات المغنزيوم $Mg(NO_3)_2 . 6H_2O$ في 100 مل من الماء المقطر. يضاف هذا المحلول إلى العينة النباتية قبل ترميدها بهدف ربط الفوسفور ومنعه من الفقد بالتطاير في أثناء الترميد، و يمكن لاستعاضة عنه بمحلول خلات المغنزيوم (30 %).

طريقة العمل

أ – هضم العينة

1 – خذ وزناً مناسباً (0,2 – 1 غ) من العينة النباتية الجافة والمطحونة وضعها في بوتقة من البورسلين ، ثم أضف إليها 3 مل من محلول نترات المغنزيوم وامزج محتويات البوتقة جيداً، ثم جفِّف على حمام بخاري .

2 - أنقل البوتقة إلى مرمّدة وارفع درجة الحرارة تدريجياً حتى 600 °C ، واترك العينة على هذه الدرجة لمدة ساعة *.

3 – برّد البوتقة وأضـــف 1 مل من الماء المقطر و 2 مل من حمض الآزوت المركز، ثم أغلِ على حمّام مائي لمدة خمس دقائق بهدف التخلص من الكربون المتبقي.

4 – أنقل محتويات البوتقة نقلاً كمياً إلى دورق معياري سـعة 100 مل وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى العلامة (رشِّـح إذا تطلب الأمر ذلك).

---

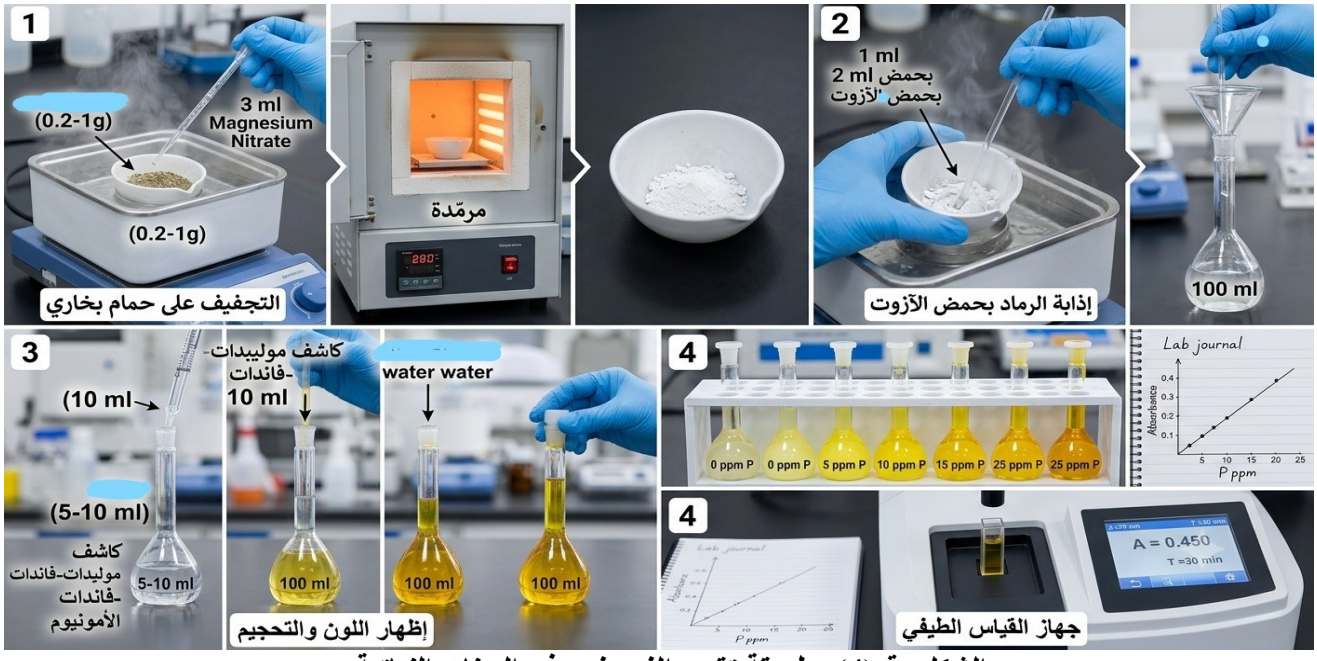
* يجب أن يكون لون الرماد في نهاية عملية الترميد أبيض تقريباً، وإلا وجب متابعة الترميد لمدة إضافية.

ب – إظهار اللون والقياس

1 – خذ حجماً مناسـباً من الراشـح (5 – 10 مل) وضـعه في دورق معياري سـعة 100 مل وأضـف إليه 10 مل من محلول موليبدات – فاندات الأمونيوم. أمزج محتويات الدورق، ثم أكمل الحجم بالماء المقطر حتى العلامة ومن ثم سـد الدورق وجانس محتوياته جيداً.

2 – انتظر لمدة 30 دقيقة كي تصـل شـدة اللون إلى أقصـاها، ثم خذ القراءة (قيمة الامتصـاص الطيفي A) على جهاز القياس الطيفي عند موجة طولها 470 ميلي ميكرون.

3 – حضر محاليل قياسية للفوسفور بأخذ الحجوم التالية : 0 , 5 , 10 , 20 , 30 , 40 ,50 مل من المحلول القياسي للفوسفور الحاوي على 50 ppm P في دوارق معيارية سـعة كل منها 100 مل للحصـول على محاليل قياسـية للفوسـفور: 0 - 2,5 - 5- 10 - 15 - 20 - 25 ppm P . خذ بالماصـة 10 مل من المحلول القياسـي وضـعها في دورق معياري سعة 100 مل وعاملها معاملة مستخلص العينة ذاتها، ثم أظهر اللون وخذ القراءة الموافقة كما سبق. (الشكل رقم4)



الشكل رقم(4): طريقة تقدير الفوسفور في العينات النباتية

طريقة الحساب

ارسم خطاً بيانياً يبين العلاقة بين تركيز الفوسفور (ppm P) وقيمة الامتصاص الضوئي (قيمة A)، ثم أسقط قراءة العينة على هذا الخط وأقرأ التركيز الموافق لها ومن ثم أحسب تركيز الفوسفور في النبات من العلاقة:

$$P(\%) = \frac{C \times Y \times V \times 100}{v \times 1000 \times W}$$

حيث: C – التركيز المقروء من الخط البياني (ppm P).
Y – حجم الدورق المعياري (مل).
v, V – الحجم الكلي للراشح (مل)، والحجم المأخوذ على التوالي.
W – وزن العينة النباتية (مغ).

تعيين البوتاسيوم Potassium

مقدمة:

تتراوح نسبة البوتاسيوم في النبات من 0,2 % وحتى أكثر من 4 %، ويختلف تركيز البوتاسيوم من نبات لآخر، فمثلاً تحوي أوراق التبغ نسبة مرتفعة من هذا العنصر (حوالي 4,4%)، ويختلف تركيز البوتاسيوم في النبات بحسب الجزء النباتي المستخدم للتحليل (سوق - أوراق - جذور . . . إلخ)، ويلاحظ ارتفاع تركيز هذا العنصر في أوراق وسيقان العائلة النجيلية مقارنة مع البذور.

تقدير البوتاسيوم باستخدام جهاز اللهب F lame Photometer :

الكواشف:

1 - محلول بوتاسيوم (ppm 1000) : يحضر بإذابة 1,9069 غ من كلوريد البوتاسيوم النقية والمجففة ، في لتر من حمض الكبريت 0.05 N .

2-محلول بوتاسيوم (ppm 100): 100 مل من محلول البوتاسيوم 1000 ppm تمدد إلى لتر باستخدام حمض الكبريت 0,05 N .

3 - محلول ليثيوم (ppm 1000) :يذاب 9,94 غ من نترات الليثيوم في 1 لترمن حمض الكبريت 0,05 N.

4 - محلول ليثيوم (ppm 100) : ينقل 100 مل من محلول الليثيوم ذو التركيز 1000 ppm إلى دورق حجمي سعة 1 لتر، ويمدد حتى العلام بحمض الكبريت 0,05 N .

5 - محلول حمض كبريت N 0,05 : ينقل 1,4 مل من حمض الكبريت (d = 1,84) إلى دورق معياري سعة 100 مل يحوي قليلاً من الماء المقطر، ثم يكمل الحجم إلى لتر بالماء المقطر، ويمزج جيداً.

- ورد مبدأ طريقة اللهب وكذلك تشغيل الجهاز ورسم المنحني البياني وأيضاً معايرة الجهاز وأخذ القراءات في بحث تقدير الصوديوم والبوتاسيوم في التربة.

طريقة العمل:

1 - أنقل 2,5 مل من المستخلص النباتي الأساسي المحضر حسب الطريقة الرطبة لتقدير العناصر الكبرى إلى دورق حجمي سعة 100 مل.

2 - أضف إلى الدورق 25 مل من محلول الليثيوم القياسي ذو التركيز 100 ppm ، ثم أكمل الحجم بالماء المقطر حتى العلام.

3 - رج الدورق جيداً ، إن نظامية هذا المحلول من H_2SO_4 تعادل 0,05 N .

4 - خذ أربعة دوارق حجمية سعة 100 مل ، وأضف إليها الحجوم التالية من البوتاسيوم ذو التركيز 100 ppm على التوالي : 5 , 10 , 15 , 20 مل .

5 - أضف إلى كل دورق 25 مل من محلول الليثيوم ذو التركيز 100 ppm ، وذلك لجعل تركيزه النهائي مساوياً ppm 25 .

6 - أكمل الحجم باستخدام حمض الكبريت 0,05 N ، وامزج جيداً ، فتحصل على محاليل قياسية للبوتاسيوم تراكيزها كما يلي : 5 , 10 , 15 , 20 ppm .

7 - كرّر الخطوات من 4 - 6 مستخدماً محلول الصوديوم 100 ppm عوضاً عن البوتاسيوم ، فتحصل على محاليل قياسية للصوديوم هي : 5 , 10 , 15 , 20 ppm .
8 - انقل 2,5 مل من عينة الشـــاهد المســـتخدمة في أثناء الهضـــم الرطب بهذه الطريقة ، ثم عاملها معاملة المســـتخلص الأساسي للنبات.
9 - اتبع التعليمات الواردة في بحث تقدير البوتاسيوم والصوديوم في التربة من أجل إجراء القياس على جهاز اللهب. كما في الشكل رقم (5).

الشكل رقم(5): طريقة تقدير البوتاسيوم في النبات

الحساب :

$$Ppm\ (K) = C_1 \times F = C_1 \times 400$$

حيث : C_1 - تركيز عنصر البوتاسيوم بالـ ppm المقروء من الخط البياني للمحاليل القياسية للبوتاسيوم .
F – معامل تمديد العينة .

ومن أجل حساب التركيز بالنسبة المئوية لكل من K نقسم الـ ppm على 10000 .

مثال :
إذا كان تركيز البوتاسيوم المقروء من الخط البياني مساوياً 16 ppm ، فيكون محتوى النبات من هذا العنصر مساوياً :

$$ppm\ (K) = 16 \times 400 = 6400$$

$$\%\ (K) = 0,6\ \%$$

ملاحظة : إذا كان تركيز البوتاسيوم في العينة كبيراً، فيمكن تمديدها باستخدام محلول حمض الكبريت ذو النظامية N 0,05 ، مع الحرص على جعل تركيز الليثيوم مساوياً 25 ppm .

..... نهاية الجلسة الحادية عشر .....

المرجع:
- المعلومات العلمية من: عودة، محمود وشمشم، سمير (2007): كتاب خصوبة التربة وتغذية النبات (الجزء العملي)، منشورات جامعة حمص.

- الصور: بالاعتماد على الذكاء الصنعي 2026.