

الدرس العملي الاول ارشادات العمل المختبري

إفعل أو لا تفعل

1. ارتداء صدرية المختبر للمحافظة على الملابس من التلف بالمواد والصبغات الكيميائية.
2. تجنب العمل وحيدا في المختبر.
3. لاتحاول تذوق او شم اي ماده داخل المختبر فانت تتعامل مع مواد كيميائية قد تكون خطيره.
4. لاتستخدم الماصه الزجاجيه الاعتياديه (بالقم) في سحب الاحماض والقواعد المركزه بل استخدم الاسطوانه المدرجه (السلندر) او استخدم بالونه المص المطاطيه suction (bulb)
5. لاتتعامل مع الاحماض والقواعد المركزه اوالمواد الكيميائية الخطره الا في غرفة سحب الغازات (fume hood).
6. عند تخفيف الاحماض المركزه، اضف الحامض المركز الى الماء وليس العكس.
7. عند سقوط حامض مركز على يدك اغسل يدك بمحلول بيكربونات الصوديوم ثم بالماء وفي حالة القواعد المركزه اغسل يدك بحامض الخليك المخفف ثم بالماء.
8. كن حريصا على سلامتك وسلامة الاجهزه المختبريه من خلال عدم تشغيل اي جهاز الا بعلم مسؤول المختبر واتباع اجراءات السلامه.
9. لاتحاول فتح باب المحرقه (muffle furnace) بعد اكتمال عملية الحرق الجاف للعينه النباتيه، ولكن اطفئ الجهاز وانتظر بعدها افتح باب المحرقه وبشكل تدريجي (على مراحل).
10. لاتفتح غطاء جهاز الطرد المركزي الا بعد ان يتوقف الجهاز تماما.
11. استعمل القفازات الحراريه والكلاليب لاجراج المواد من المحرقه.

12. احرص على عدم تلوث المواد الكيميائيه بعضها ببعض اثناء استخدامك لها وذلك من خلال وضع سداة قنينه على قنينه اخرى اووضع ماصه في محلول معين ثم وضعها في محلول اخر، او وضع المواد الزجاجيه المستخدمه على طاولة العمل (البنج)، كما يجب عدم ترك قناني المواد الكيميائيه مفتوحه لضمان عدم تغير تركيزها.
13. عند تقريب محلول من قنينة مواد كيميائيه، لاتحمل سداة القنينه بين اصابعك ولا تضعها على الطاولة (البنج) بل ضعها في زجاجة ساعه نظيفه.
14. لاتحاول ارجاع محاليل المواد الكيميائيه المتبقية بعد الانتهاء من العمل الى القناني التي سحبت منها وذلك منعا لحصول اي خطأ.
15. كن دقيقا في وزن المواد الكيميائيه ولاتنقل المواد الموزونه المراد اذابتها الى الدورق المعياري مباشرة بل انقل المواد الى بيكر وقم باذابتها ثم انقلها بعد اكتمال ذوبانها نقلا كمي الى الدورق الحجمي.
16. لاتحاول وزن المواد الكيميائيه بعد اخراجها من الفرن مباشرة بل ضعها في مجفف (desiccator) لمدة نصف ساعه على الاقل قبل وزنها.
17. عند استخدام الماصه اغسلها بالماء العادي ثم بالماء المقطر واخيرا اغسلها بقليل من المحلول المراد استخدامه وعند افراغها من المحلول لاتحاول نفخ او هز الماصه.
18. عند التسحيح، في المحاليل الشفافه تسجل قراءة السحاحه بحيث يكون تقعر المحلول على الاشاره اما في المحاليل الملونه فيكون التقعر اسفل الاشاره.
19. احرص على ان يكون هناك مكررين على الاقل وعينه مقارنه (blank) لكل عينه يراد تحليلها في المختبر.
20. عند سكب المواد الكيميائيه والفضلات السائله في حوض الماء، اسكبها بحذر مع فتح حنفية الماء لتخفيف هذه المحاليل وتقليل الضرر الناتج عنها.
21. احرص على نظافة المختبر والمواد الزجاجيه المستخدمه بعد الانتهاء مباشرة من العمل.

غسل وتنظيف المواد الزجاجية المختبرية

من اجل الحصول على نتائج تحليل دقيقه للعينات النباتيه، ينبغي ان تكون المواد الزجاجية المستخدمه على درجه عاليه من النظافه خصوصا واننا نتعامل مع عناصر غذائيه ذات تراكيز واطئه جدا تصل الى اجزاء قليله من المليون كما هو الحال في العناصر الصغرى. تغمرالمواد الزجاجيه قبل استخدامها بالماء العادي ثم تغسل باحد محاليل التنظيف التاليه ويعاد غسلها بالماء العادي ثم بالماء المقطر :

1. مخلوط حامضي الهيدروكلوريك والنتريك المركزين بنسبة 3 : 1 (يمكن استخدام احماض تجاربه).
2. محلول برمنكنات البوتاسيوم + هيدروكسيد الصوديوم: 5 غم من $KMnO_4$ تذاب في 100 مل من محلول NaOH 10% الساخن.
3. محلول كرومات البوتاسيوم: 10غم من $K_2Cr_2O_7$ يذاب في 100مل ماء ساخن + 100 مل حامض H_2SO_4 المركز.

التعبير عن التراكيز

1 - التعبير عن التركيز في المحاليل:

أ - النسبه المئويه:

النسبه المئويه الحجميه: وهي حجم المحلول (مل) من السائل المذاب في 100 مل من المحلول النهائي.

حجم المذاب (مل)

$$100 \times \frac{\text{حجم المذاب (مل)}}{\text{حجم المحلول (مل)}} = \% \text{ V/V}$$

حجم المحلول (مل)

النسبه المئويه الوزنيه: وهي وزن المذاب (غم) في 100غم من الماده المذيبه او 100 مل من المذيب (المذيب هو الماء)

وزن المذاب (غم)

$$100 \times \frac{\text{وزن المذاب (غم)}}{\text{وزن المذيب (غم)}} = \% \text{ W/W}$$

وزن المذيب (غم)

مثلا عند اذابة 1 غم من اي ماده في 100 مل من الماء التركيز هو 1 %
وعند اذابة 5 غم في 100 مل يكون التركيز 5 %
مثال: يراد تحضير لتر من محلول 5 %.

5 غم من الماده في 100 مل من الماء يكون التركيز 5 % اما في لتر
 $10 \times 5 = 50$ غم من الماده تذوب في لتر من الماء المقطر.

ب- المولاريه: هي عدد الاوزان الجزيئيه الغراميه (عدد المولات) من المذاب في لتر واحد من المحلول.

عدد مولات المذاب

$$\frac{\text{عدد مولات المذاب}}{\text{حجم المحلول بالالتار}} = (M) \text{ المولاريه}$$

حجم المحلول بالالتار

وزن الماده المذابه

$$\frac{\text{وزن الماده المذابه}}{\text{عدد المولات}} =$$

وزنها الجزيئي

وزن الماده 1000

$$\frac{1000}{\text{وزنها الجزيئي}} \times \frac{\text{حجم المحلول (مل)}}{\text{وزنها الجزيئي}} = (M) \text{ المولاريه}$$

حجم المحلول (مل)

ج-العياريه (N): هي عدد الاوزان المكافئه الغراميه من المذاب في لتر من المحلول.

عدد الاوزان المكافئه الغراميه للمذاب

العياريه (N) = -----

حجم المحلول بالالتار

وزن المذاب

عدد الاوزان المكافئه الغراميه = -----

الوزن المكافئ الغرامي

وزن ماده 1000

العياريه (N) = ----- × -----

وزنها المكافئ حجم المحلول (مل)

الوزن الجزيئي

الوزن المكافئ = -----

التكافؤ

مثال: عند تقدير النتروجين في النبات نحتاج لتحضير (10 N) من NaOH:

الوزن الجزيئي للملح هو 40

الوزن الجزيئي 40

الوزن المكافئ = ----- = 40 =

التكافؤ 1

الوزن الجزيئي = مجموع الاوزان الذريه

لايجاد مولارية حامض مركز:

الوزن النوعي × النسبه المئويه × 10

المولاريه = -----

الوزن الجزيئي

مثلا لتحضير 1 مولار من NaCl

الوزن الجزيئي لـ NaCl = 35.5 + 23 = 58.5

يذوب 58.5 غم من NaCl في دورق حجمي لتر ويكمل الى العلامه بالماء المقطر

ولتحضير 4 مولار من الملح السابق: 4 × 58.5 = 234 غم يذوب في دورق حجم

لتر ويكمل الى العلامه بالماء المقطر.

مثال: حضر 250 مل من محلول (0.1) مولاري من MgCl₂.6H₂O علما ان

الاوزان الذريه: Mg: 24 Cl: 35.5 H: 1 O: 16.

الوزن الجزيئي للمركب = مجموع الاوزان الذريه = 203

وزن ماده 1000

المولاريه (M) = ----- × -----

وزنها الجزيئي حجم المحلول (مل)

س 1000

----- × ----- = 0.1

250 203

س = 5.075 غم يوزن من الملح ويوضع في دورق حجمي 250 ويكمل الى العلامه

بالماء الاذابه.

(الطازج) فيستعمل في حالات خاصه عندما يكون الهدف من التحليل هو القياس في الوزن الرطب ويكون هذا ملائما للاختبارات السريعه للنبات وهو **مزروع** ، ويعبر عن تركيز العناصر الغذائيه في النبات بوحدة النسبه المئويه (غم/ 100غم ماده جافه) او بالمليغرام/ غم ماده جافه او غم/ كغم ماده جافه كما تستعمل وحدة الجزء بالمليون (ppm) خصوصا عند تقدير العناصر الصغرى وهي عباره عن عدد ملغرامات العنصر الموجوده في كغم من ماده الجافه (ملغم/ كغم) وهي تساوي ايضا عدد مايكروغرامات العنصر الموجوده في غرام واحد من ماده الجافه (مايكروغم/ غم).

$$\text{ملغم/ غم} = \% \times 10$$

$$\text{غم/ كغم} = \% \times 10$$

$$\text{ppm} = \% \times 10000$$

ومن تركيز العنصر الغذائي في النبات يمكن حساب الكميه الممتصه من العنصر او مايسمى الامتصاص الكلي **total uptake** للعنصر وهي تمثل الكميه الكليه من العنصر الغذائي التي امتصها النبات، وهي تعطي دليل على جاهزية العنصر في التربيه، ويمكن حساب الكميه الممتصه من العلاقه التاليه:

$$\text{الامتصاص الكلي للعنصر} = \text{تركيز العنصر} \times \text{الوزن الجاف للنبات}$$

كما يمكن من تركيز العنصر حساب عامل الانتقال للعنصر داخل **النبات** من خلال المعادله التاليه :

$$\text{تركيز العنصر في الاجزاء العليا (shoot)}$$

$$\text{عامل الانتقال (Translocation factor):} \text{-----}$$

$$\text{تركيز العنصر في الجذور (root) للعنصر}$$

$$35.65 \times V_1 = 0.25 \times 500$$

$$V_1 = 3.50 \text{ مل يسحب من الحامض المركز ويوضع في دورق حجم نصف لتر ويكمل الى العلامه بالماء المقطر.}$$

تركيز المحلول بالملي مكافئ/ لتر: هو عباره عن عدد الملمكافئات الغراميه من ماده المذابه في لتر من المحلول.

الوزن المكافئ

$$\text{الملي مكافئ} = \text{-----}$$

$$1000$$

د- نسبة الوزن الى الحجم W/V: وزن ماده المذابه الى حجم معين من المحلول مثل غم/لتر او ملغم/ لتر (جزء بالمليون ppm) او مايكروغرام/ لتر (ppb)

$$\text{Ppm} = \text{ملغم/ لتر} = \text{مايكروغرام/ مل}$$

الوزن (غم)

$$\text{Ppm} = \text{-----} \times 10^6$$

الحجم (مل)

2 - التعبير عن تركيز العناصر الغذائيه في النبات:

يقاس تركيز العناصر الغذائيه في العينات النباته المجففه تجفيف اولي على درجة 70 مئوي منعا للمشاكل التي قد تحدث في التركيب الكيميائي **للعيهه** عند التجفيف على درجة 105 - 100، وبعد ذلك تؤخذ عينه نباتيه وتجفف في الفرن على درجة - 100 105 لحساب الوزن الجاف تماما، ويتم حساب نتائج التحليل الكيميائي للنبات بشكل عام اعتمادا على الوزن الجاف وليس الوزن الرطب للنبات حيث ان الوزن الرطب غير ثابت ويتغير من وقت **لاخر بتغير** رطوبة التربيه والظروف الجويه المحيطه كما انه يختلف باختلاف نوع النبات وعمره والجزء النباتي المأخوذ للتحليل، اما الوزن الرطب

الدرس العملي التاسع الكلوريد في النبات

الاهمية الفسيولوجية للكلوريد

- يمتص النبات الكلور من التربة على صورة ايون الكلوريد Cl^- وان الحد الحرج للكلوريد في المادة الجافة للنبات بشكل عام هو (100 - 70) جزء بالمليون ، ويتواجد الكلوريد غالبا داخل النبات بصورة املاح معدنية دون ان يشترك في التراكيب العضوية للخلايا.
- 1 - ان احدى وظائف الكلور الرئيسية هي تحفيزه لانزيمات التركيب الضوئي التي تساعد في تحلل الماء ضوئيا (photolysis).
 - 2 - يؤثر الكلوريد في الضغط الازموزي للخلية النباتية وله دور في التوازن الايوني وهذا يعود الى حركته العاليه حيث يقوم بعمل الايون الذي يعوض عن تدفق البوتاسيوم ويحافظ على التوازن الايوني.
 - 3 - يؤثر بشكل غير مباشر في النظام الثغري للخلايا الحارسة حيث ان عدم وجود الكلوريد يوقف فتح الثغور .

أعراض نقص الكلوريد على النبات

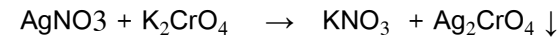
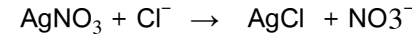
ان اهم اعراض نقص الكلوريد على النبات هو ظهور اللون الاصفر على الاوراق الحديثة وربما تصبح منخوره ثم يتبع ذلك ذبول عام على النبات بالاضافه الى نقص الحاصل ورياءة نوعيته.

من الناحية التطبيقية فان النباتات نادرا ماتعاني من نقص الكلوريد وذلك لان ماموجود من كلوريد في الهواء الجوي هو اكثر من حاجة النبات، ويتم تقدير الكلوريد في العينات النباتية بسبب المشاكل الناجمه عن ارتفاع تركيزه في التربة حيث ان المحاصيل النامية في الترب المتأثره بالاملاح تظهر عليها اعراض سمية الكلوريد وهي احتراق حافات الاوراق وتلونها باللون البرونزي والاصفر قبل اكتمال نموها ثم سقوط هذه الاوراق.

الفكره الاساسيه لتقدير الكلوريد في العينات النباتيه

أ- طريقة الحرق الجاف

بسبب درجات الحراره العاليه المستخدمه اثناء الحرق الجاف للعينه النباتيه فان هناك احتمال لتطاير الكلوريد من العينه، لهذا فانه عند تقدير الكلوريد في العينه النباتيه فان عملية الحرق الجاف يجب ان تجرى في وسط قاعدي لمنع تطاير الكلوريد ويتم بذلك بخلط العينه النباتيه مع اوكسيد الكالسيوم CaO قبل الحرق، وبعد اكمال عملية الحرق يستخلص الكلوريد من الرماد باستخدام الماء الحارثم يضبط الـ pH عند (6 - 7) باستخدام حامض الخليك وأخيرا يقدرن طريق المعايره مع نترات الفضة $AgNO_3$ وبوجود دليل كرومات البوتاسيوم K_2CrO_4 حيث يتكون راسب احمر جلدي من كرومات الفضة Ag_2CrO_4 :



راسب احمر جلدي

من كرومات الفضة

المواد المستخدمه

- 1 - اوكسيد الكالسيوم CaO: يحضر من تسخين كاربونات الكالسيوم $CaCO_3$.
- 2 - حامض الخليك: اضافه 200 مل حامض الخليك الى دورق حجم لتر ثم يكمل الى العلامه بالماء المقطر .
- 3 - دليل كرومات البوتاسيوم : يحضر باذابة 5 غم من الدليل في 80 مل ماء مقطر ثم نضيف عدة نقط من محلول مشبع من نترات الفضة الى ان يتكون راسب احمر واضح بعدها يرشح ويكمل الراشح الى 100 مل بالماء المقطر .

4 - نترات الفضة 0.005 N: يذاب 0.85 غم من نترات الفضة في لتر ماء مقطر (يحفظ المحلول في مكان مظلم).

طريقة العمل

- 1 - يوزن 1 غم من العينة النباتية الجافة المطحونه وتوضع في جفنه من الخزف الصيني وتخلط مع 0.25 غم من اوكسيد الكالسيوم CaO ثم ترطب بقليل من الماء المقطر بحيث تتكون عجينه رقيقه.
- 2 - توضع الجفنه في محرقه muffle furnace وتحرق تدريجيا على درجة 550 لمدة ساعه ونصف على الاقل.
- 3 - بعد اخراج الجفنه من المحرقه تبرد ثم يستخلص الكلوريد من الرماد باضافة 15 مل ماء ساخن وتوضع على سخان كهربائي وبعد التسخين ترشح مع غسل الراسب عدة مرات بالماء الساخن.
- 4 - يبرد الراشح ثم يضبط الـ pH عند 6 - 7 باضافة حامض الخليك نقطه نقطه بالاستعانه بجهاز pH - meter .
- 5 - يضاف 5 نقط من دليل كرومات البوتاسيوم ثم يسحح مع نترات الفضة (يفضل استخدام نترات الفضة 0.05 عياري بدلا من 0.005 عياري اذا استخدم الراشح كله) الى ان يتغير لون المحلول من الاصفر الى الاحمر الجلدي، يسجل حجم نترات الفضة من السحاحه.

الحسابات

$$\frac{\text{حجم AgNO}_3 \times \text{عياريته} \times \text{الوزن المكافئ لـ Cl}}{\text{وزن العينه}} \times \frac{100}{1000} = \% \text{Cl}$$

الوزن المكافئ لـ Cl : 35.5

ب - طريقة الحرق الرطب

وفيها يتم هضم العينه النباتيه باستخدام حامض الكبريتيك المركز وبيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ ثم ضبط الـ pH لمستخلص النبات الحامضي عند 6 - 7 باستخدام هيدروكسيد الصوديوم وبوجود دليل المثل البرتقالي وأخيرا اجراء عملية التسحيح مع نترات الفضة وبوجود دليل كرومات البوتاسيوم K₂CrO₄ الى ان يتكون راسب احمر جلدي من كرومات الفضة Ag₂CrO₄.

المواد المستخدمه

- 1 - دليل المثل البرتقالي methyl orange: يحضر باذابة 0.5 غم من الدليل في 100 مل من الكحول الايثيلي 95 %.
- 2 - هيدروكسيد الصوديوم لضبط الـ pH.
- 3 - دليل كرومات البوتاسيوم كما حضر سابقا.
- 4 - نترات الفضة 0.005 N كما حضر سابقا.

طريقة العمل:

- 1 - يؤخذ (2) مل من المستخلص الحامضي للحرق الرطب ويوضع في دورق مخروطي (50) مل ثم يضاف (25) مل ماء مقطر .
- 2 - يضاف قطره من دليل المثل البرتقالي ثم يسحح مع هيدروكسيد الصوديوم الى ان يتغير اللون من الاحمر الى البرتقالي - يسجل حجم هيدروكسيد الصوديوم اللازم للمعايره.
- 3 - تسكب العينه - يؤخذ (2) مل من المستخلص النباتي ويخفف بـ (25) مل ماء مقطر .
- 4 - يضاف حجم NaOH الذي تم حسابه في الخطوه (2).

5 - يضاف (5) قطرات من دليل كرومات البوتاسيوم ثم يسحج مع نترات الفضة (0.005) عياري الى ان يتغير لون المحلول من الاصفر الى الاحمر الجلدي، يسجل حجم نترات الفضة من السحاحه.

الحسابات:

$$\frac{100}{\text{وزن العينه}} \times \frac{\text{الحجم المستخدم}}{\text{الحجم الكلي}} \times \frac{\text{حجم AgNO}_3 \times \text{عياريته} \times \text{الوزن المكافئ لـ Cl}}{1000} = \% \text{Cl}$$

عند تقدير الكلوريد في النبات يجب مراعات مايلي :

- 1 - التاكيد من عدم وجود الاحماض المعدنيه - حيث ان هذه الاحماض تذيب كرومات الفضة وتمنع ظهور الراسب الاحمر الجلدي.
- 2 - التاكيد من عدم وجود المواد العضويه - هذه المواد تختزل نترات الفضة في الوسط المتعادل وتؤدي الى نتائج خاطئه.
- 3 - في حالة وجود الحديد بكميات كبيره في العينه النباتيه فيجب اضافة عدة نقط زياده من دليل كرومات البوتاسيوم K_2CrO_4 - حيث ان الحديد يتفاعل مع جزء منها مكونا كرومات مترسبه.

مثال: عينه نباتيه وزنها (5) غم، هضمت واكمل الحجم الى (100) مل، اخذ من هذا المستخلص (10) مل لتقدير الكلوريد فكان حجم نترات الفضة (0.005 عياري) اللازم للمعايره (0.5) مل، احسب تركيز الكلوريد بالعينه بوحدة 1 - % - 2 ppm - الحل:

1 - نسبه مئويه %

$$\frac{100}{\text{وزن العينه}} \times \frac{\text{الحجم المستخدم}}{\text{الحجم الكلي}} \times \frac{\text{حجم AgNO}_3 \times \text{عياريته} \times \text{الوزن المكافئ لـ Cl}}{1000} = \% \text{Cl}$$

$$\frac{100}{5} \times \frac{100}{10} \times \frac{35.5 \times 0.005 \times 0.5}{1000} = \% \text{Cl}$$

$$0.0177 =$$

2 - بوحدة ppm

$$10000 \times \% = \text{ppm}$$

$$10000 \times 0.0177 =$$

$$177 =$$

اعراض نقص الفسفور على النبات

1. ضعف نمو النبات - تقزم المجموع الخضري وضعف نمو وانتشار المجموع الجذري والافرع رقيقه كما ان الثمار تكون ضغيره وذات بذور مشوهه.
 2. تكون الاوراق ذات لون اخضر داكن مزرق وصغيرة الحجم وتتلون عروق الاوراق واعناقها باللون الارجواني المحمر نتيجة تكون صبغة الانثوسيانين وهذه تتكون بسبب عدم تحلل المواد الكربوهيدراتيه.
 3. تظهر اعراض نقص الفسفور على الاوراق القديمه لان الفسفور عنصر متحرك داخل النبات حيث انه ينتقل بسهولة من الاوراق والاجزاء القديمه الى الاوراق الحديثه لذلك تظهر اعراض نقصه على الاجزاء القديمه.
 4. في حالة النقص الشديد يظهر التبرقش على الاوراق القديمه ثم يتبع ذلك سقوط هذه الاوراق.
- تعالج اعراض نقص الفسفور على النبات باضافة الاسمده الفوسفاتيه مثل سماد السوبر فوسفات بانواعه او سماد فوسفات الامونيوم او الاسمده المركبه الحاويه على الفسفور وتضاف هذه الاسمده بمعدلات تختلف باختلاف النبات والتربه والظروف البيئيه.

الدرس العملي الخامس

الفسفور في النبات

الاهميه الفسيولوجيه للفسفور

يعتبر عنصر الفسفور من المغذيات الضروريه الكبرى التي يحتاجها النبات ويمتص النبات هذا العنصر على شكل $H_2PO_4^-$ او HPO_4^{2-} وبكميات اقل مما هي عليه في حالة النتروجين والبوتاسيوم حيث يشكل الفسفور 0.03 - 0.3 % من الماده الجافه للنبات وترتفع هذه النسبه في البذور لتصل الى 1.5 %، وعلى الرغم من هذه الكميه القليله الا ان الفسفور يلعب دور كبير في حياة النبات ولا يستطيع النبات اكمال دورة حياته بدون هذا العنصرحيث انه

- 1 - يشترك في تكوين الاحماض النوويه مثل الـ DNA و الـ RNA والبروتينات النوويه Nucleoproteins.
- 2 - يدخل في تركيب غشاء الخليه النباتيه على شكل phospholipids.
- 3 - يدخل في تركيب مرافقات الانزيمات coenzymes مثل NAD و $NADP^+$
- المهمه في عمليات التنفس والتركييب الضوئي والاكسده والاختزال.
- 4 - يدخل في تركيب مركبات الطاقه مثل ATP وهذه تلعب دور كبير في نقل وتخزين الطاقه وتنشيط التفاعلات المختلفه.
- 5 - يشارك الفسفور في تحليل الكربوهيدرات لانتاج الطاقه الازمه للعمليات الحيويه.
- 6- يؤدي دور مهم في انبات البذور وزيادة عدد الازهار كما يزيد الفسفور من نمو الجذور وزيادة تفرعاتها.

المواد المستخدمة:-

مولبيدات الامونيوم . فاندات الامونيوم في حامض النتريك:

- 1 . محلول (a): أذب 22.5 غم من مولبيدات الامونيوم $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ في 400 مل ماء مقطر .
- 2 . محلول (b): اذب 1.25 غم فاندات الامونيوم NH_4VO_3 في 300 مل ماء مقطر .
- 3 . اضع محلول (b) الى محلول (a) في دورق حجمي لتر، اترك المزيج يبرد .
- 4 . اضع بحذر 250 مل من حامض النتريك المركز HNO_3 الى المزيج السابق، اترك المزيج يبرد حتى درجة حرارة الغرفة ثم اكمل الحجم الى لتر بالماء المقطر .

طريقة العمل:

- 1 . يسحب 10 مل من المستخلص الحامضي للنبات ويوضع في دورق حجمي 100 مل .
- 2 . يضاف 10 مل من محلول مولبيدات . فاندات الامونيوم الى الدورق .
- 3 . يضاف ماء مقطر الى نصف الدورق ويرج ثم يكمل الى العلامه بالماء المقطر .
- 4 . بعد 30 دقيقة تتم قراءة الامتصاصيه على جهاز الطيف الضوئي (جهاز ال Spectrophotometer) وعند طول موجي 410 نانوميتر وتسجل قراءة الجهاز لعينة المستخلص النباتي .

5 . يتم تحضير محاليل قياسييه للفسفور بتركيز متدرجه :

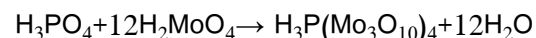
0.5ppm , 1ppm , 1.5ppm , 2ppm , 2.5ppm

- 6 . تسجل قراءة كل محلول من المحاليل القياسييه السابقه على جهاز ال Spectrophotometer وعند طول موجي 410 نانوميتر .
- 7 . يرسم منحنى قياسي والذي يوضح العلاقة بين تراكيز المحاليل القياسييه وقراءة الجهاز لهذه المحاليل .
- 8 . يتم تسقيط قراءة الجهاز لعينة المستخلص النباتي على المنحنى القياسي للحصول على تركيز الفسفور بوحدة ملغم/لتر (ppm بعد التسقيط) .

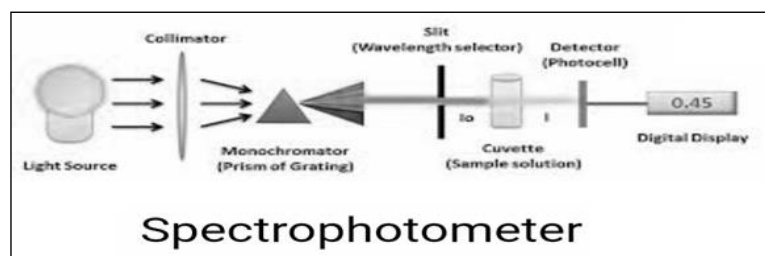
تقدير الفسفور في العينات النباتيه

الفكره الاساسيه للتقدير

يتفاعل الفسفور الموجود في المستخاص النباتي مع الموليبيدات تحت الظروف الحامضيه (حامض النتريك) مكون معقد فوسفو . موليبيداتي اصفر اللون كما في المعادله:



يتم تطوير اللون الاصفر بوجود الفاندات، شدة اللون الاصفر تعتمد على تركيز الفسفور في المستخلص ويمكن قياس شدة هذا اللون باستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي spectrophotometer وعند طول موجي 410 نانوميتر، وعادة يظهر اللون الاصفر خلال عدة دقائق (يترك المحلول عادة 30 دقيقه حتى يظهر اللون بصورة كامله) ويبقى هذا اللون ثابت لمدة شهرين عند تراكيز الفسفور العاليه ولكنه يظل ثابت لمدة اسبوعين عندما تكون تراكيز الفسفور بحدود 5ppm ، من محاسن هذه الطريقه السهوله و البساطه وثباتية اللون كما انها خاليه من التداخلات .



4. بعد (30) دقيقة تسجل قراءة كل محلول من المحاليل السابقة على جهاز spectrophotometer وعند طول موجي 410 نانوميتر.
5. يتم عمل عينة مقارنة (Blank) لتصفير الجهاز وهذه العينة تتضمن جميع المواد المستخدمة في التقدير باستثناء عينة النبات.

الحسابات:

$$\% P = \frac{\text{حجم الدورق المستخدم للتقدير}}{1000} \times \frac{\text{حجم المستخلص الكلي}}{100} \times \frac{\text{وزن العينة}}{\text{حجم المستخلص المستخدم}}$$

مثال:

عينه نباتيه وزنها الجاف 1 غم هضمت واكمل الحجم النهائي الى 100مل، اخذ منها 1مل لتقدير الفسفور حيث وضعت في دورق حجمي 100 مل، فاذا علمت ان ppm بعد التسقيط من المنحنى كانت 0.05 احسب تركيز الفسفور في العينه بوحدات:

1 - نسبة مئوية 2 - ppm 3 - غم/ كغم

الحل:

(1) %

$$\% P = \frac{\text{حجم الدورق المستخدم للتقدير}}{1000} \times \frac{\text{حجم المستخلص الكلي}}{100} \times \frac{\text{وزن العينة}}{\text{حجم المستخلص المستخدم}}$$

$$0.025\% = \frac{100}{1000} \times \frac{50}{100} \times \frac{1}{1}$$

تحضير المحاليل القياسية للفسفور:

1. يتم تحضير محلول قياسي اصلي (محلول الام) للفسفور stock solution بتركيز 50 ppm من أي ملح يحتوي على الفسفور (يجب ان يكون هذا الملح معلوم التركيب و نقي وسهل الذوبان وغير متميع) مثل ملح KH_2PO_4 وذلك اعتمادا على الاوزان الذرية:

غم KH_2PO_4	غم P
136	31
x	0.05

- $X = 0.2195$ غم يوزن من ملح فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KH_2PO_4 الجاف (يجفف الملح في فرن قبل الوزن على درجة 105 ° م لمدة ساعه ويبرد في مجفف) ويوضع في دورق حجمي واحد لتر ويكمل الى العلامه بالماء المقطر.
2. من المحلول القياسي (50 ppm) تحضر المحاليل القياسية:

0.5 ppm, 1 ppm, 1.5 ppm, 2ppm , 2.5 ppm

وذلك في دوارق حجميه 100 مل اعتمادا على القانون التالي:

$$\frac{\text{الحجم المطلوب} \times \text{التركيز المطلوب}}{\text{التركيز الاصلي}} = \text{الحجم المطلوب اخذه من المحلول الاصلي}$$

- تسحب الاحجام 5, 4, 3, 2, 1 مل من المحلول الاصلي (50ppm) ويوضع كل حجم في دورق حجمي 100 مل.
3. يضاف 10 مل من محلول موليبدات . فاندات الامونيوم الى كل دورق من الدوارق السابقة ثم تكمل الى العلامه بالماء المقطر.

ppm (2)

$$\frac{\text{حجم الدورق المستخدم}}{\text{حجم المستخلص الكلي}} \times \frac{\text{حجم المستخلص المستخدم}}{\text{وزن العينة}} \times \text{ppm} = \text{ppm}$$

$$\frac{1000}{1000} \times \frac{50}{1} \times \frac{100}{1000} \times 0.05 = \text{ppm}$$

$$\text{فسفور} = 250 \text{ ppm}$$

او يحل بطريقة اخرى:

$$10000 \times \% = \text{ppm}$$

$$10000 \times 0.025 =$$

$$\text{ppm} = 250$$

(3) غم/كغم

نسبة الفسفور 0.025 % أي كل 100 غم نبات تحتوي على 0.025 غم فسفور

فسفور (غم) وزن النبات (غم)

$$\frac{100}{1000} = \frac{0.025}{X}$$

$$X = \frac{0.025 \times 1000}{100}$$

$$X = 0.25 \text{ غم فسفور/كغم نبات}$$

مثال: حضر محلول قياسي للفسفور من ملح KH_2PO_4 بتركيز 25 ppm في دورق حجمي 500 مل ؟

الحل:

$$25 \text{ ppm} = 25 \text{ ملغم/لتر}$$

هذا الوزن في لتر (1000مل) اما في 500 مل فيكون:

mg	ml
-----	-----
25	1000
x	500
-----	-----

$$X = 12.5 \text{ ملغم فسفور/ 500 مل}$$

غم P	غم KH_2PO_4
-----	-----
31	136
0.0125	X
-----	-----

$X = 0.054$ غم يذوب من الملح في دورق 500 مل ويكمل الى العلامة بالماء المقطر.

مثال: لديك 1.10 غم من ملح KH_2PO_4 ، حضر منه محلول قياسي في دورق حجمي لتر ثم حضر من هذا المحلول محلول قياسي اخر تركيز 5 ppm في دورق حجمي 50 مل ؟

الحل:

غم P	غم KH_2PO_4
31	136
x	1.10

$$X = 0.250 \text{ غم فسفور} = 250 \text{ ملغم} = 250 \text{ ppm تركيز المحلول الاصيلي}$$

الحجم المطلوب × التركيز المطلوب

$$\frac{\text{الحجم المطلوب اخذه من المحلول الاصيلي}}{\text{التركيز الاصيلي}} =$$

$$5 \times 50$$

$$\frac{5 \times 50}{250} =$$

$$250$$

= 1 مل يسحب من المحلول الاصيلي ويوضع في دورق 50 مل ويكمل الى العلامه بالماء المقطر للحصول على محلول قياسي تركيزه 5 جزء بالمليون.

س/ لديك ثلاث دوارق حجميه 250 ، 500 ، 1000 مل اضيف الى كل دورق من هذه الدوارق 4.38 غم من ملح KH_2PO_4 النقي واكمل الحجم الى العلامه بالماء المقطر، احسب تركيز الفسفور بال ppm في كل دورق.

س/ اذيب 0.219 غم من ملح KH_2PO_4 النقي في لتر ماء مقطر، بعد ذلك سحبت الاحجام 2 ، 4 ، 6 مل من المحلول السابق ووضع كل حجم في دورق معياري 100 مل واكمل الحجم الى العلامه بالماء المقطر، احسب تركيز الفسفور كجزء بالمليون في هذه المحاليل.

اعراض نقص النتروجين على النبات:

- 1- ضعف نمو النبات حيث تتميز النباتات التي تعاني من نقص النتروجين بصغر حجمها وقلة تفرعاتها وتكون السيقان رفيعة وطويلة والاوراق صغيرة كما ان الاوراق القديمة تتساقط قبل اكتمال نضجها.
 - 2- ازدياد نسبة الجذور الى الاجزاء العليا.
 - 3- اصفرار الاوراق chlorosis بسبب قلة تكون الكلوروفيل - يبدأ الاصفرار براس الورقة ثم العرق الوسطي وبعد ذلك يغطي معظم الورقة ويكون توزيع الاصفرار منتظم على كل الورقة.
 - 4- اعراض النقص والاصفرار تظهر اولا على الاوراق السفلية والقديمة حيث ان النتروجين عنصر متحرك داخل النبات فينتقل من الاوراق والاعضاء القديمة الى الاوراق الحديثة لذلك تظهر اعراض نقصه على الاجزاء القديمة.
 - 5- وفي المراحل الاخيره لنقص العنصر يظهر موت موضعي لانسجة الورقة.
- اعراض نقص النتروجين يمكن ان تعالج عن طريق اضافة الاسمدة النتروجينية المعدنيه (كبريتات الامونيوم، نترات الامونيوم، نترات الكالسيوم، اليوريا وغيرها من الاسمدة) او الاسمدة العضويه او كليهما وبمعدلات تختلف باختلاف نوع النبات وخصوبة التربه والعوامل البيئيه الاخرى.
- عند الزيادة المفرطه للنتروجين في وسط النمو تظهر على النبات علامات الاخضرار الغامق وكثرة النمو الخضري على حساب الانتاج الثمري وضعف السيقان وطراوة الاوراق واضطجاع النبات بسبب طراوة النبات (وهذه ناتجه عن زيادة كمية البروتين على الكربوهيدرات في النبات) كما ان زيادة النتروجين كثيرا في وسط النمو تعرض النبات للاصابه بالامراض والحشرات بسبب رقة جدران الخلايا.

الدرس العملي الرابع

النتروجين في النبات

الاهميه الفسيولوجيه للنتروجين:

يمتص النبات عنصر النتروجين على صورة امونيوم NH_4^+ او على صورة نترات NO_3^- ويعتبر هذا العنصر من اهم العناصر الضروريه التي يحتاجها النبات بعد عناصر الكربون والهيدروجين والاكسجين حيث تحتوي ماده النباتيه الجافه بشكل عام على مايقرب من 2-4% نتروجين، وعلى الرغم من قلة هذه الكميته فان النتروجين عنصر لاغنى عنه حيث انه:

- 1- يدخل في تركيب البروتينات والانزيمات ومرافقات الانزيمات.
- 2- يدخل في تركيب القواعد العضويه مثل pyrimidine و purines وهذه القواعد تدخل في تركيب الاحماض النوويه مثل RNA و DNA المسؤوله عن نقل الصفات الوراثيه.
- 3- يدخل في تركيب الكلوروفيل (لهذا فان عنصر النتروجين يزيد من خضرة النبات) والسايبتوكروم المهمتين في عملية التركيب الضوئي وعملية التنفس.
- 4- يشترك النتروجين في تركيب بعض الفيتامينات وبعض الهرمونات النباتيه مثل الاندول اسيتيك اسد indol acetic acid (IAA).

تقدير النتروجين في العينات النباتية

الفكره الاساسيه للتقدير

يوجد النتروجين في النبات بعدة صور:

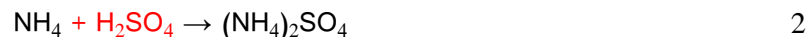
- 1 - الصوره العضويه (مثل الاحماض الامينييه، البروتينات).
 - 2 - الصوره المعدنيه: وهي اما ان تكون بصوره نترات NO_3 وهي تمثل الصوره المؤكسده او تكون بصوره امونيوم NH_4 وهي الصوره المختزله.
- ان فكره تقدير النتروجين تتضمن اكسدة ماده العضويه ثم اختزال المركبات النتروجينييه الى صوره نشادر (امونيوم) يسهل اتحادهها مع حامض الكبريتيك المركز لتكوين كبريتات الامونيوم ثم تطرد الامونيا وتقدر بطريقه معينه وعادة تجرى عملية الاختزال على الصوره العضويه والصوره النتراتيه وبالتالي سوف تكون جميع الصور بصوره نتروجين امونيومي.

تتلخص خطوات التقدير بالمراحل الثلاثه التاليه:

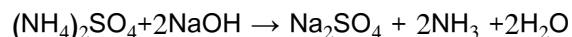
- 1 - مرحله الهضم Digestion: هي عملية هضم العينه النباتيه (وفيها ترفع درجة الحراره تدريجيا) وفي هذه مرحله يتم تحويل صور النتروجين العضوي والنتراتى الى صوره امونيوم وتتم على مرحلتين:

أ-اكسدة ماده العضويه عن طريق حامض الكبريتيك المركز .

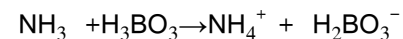
- ب-اختزال المركبات النتروجينييه عن طريق SO_2 الذي يتكون نتيجة تفاعل حامض الكبريتيك المركز مع ثايوكبريتات الصوديوم :



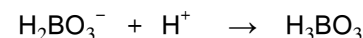
- مرحله التقطير Distillation: تجرى عملية التقطير للعينه وذلك باستخدام جهاز كدال kjeldahl لاطلاق الامونيا من كبريتات الامونيوم وتتم هذه العمليه في وسط قاعدي بوجود قاعده قويه مثل NaOH



وهذه الامونيا المتحرره تستقبل في حامض البوريك H_3BO_3 مكونه بورات الامونيوم



- 3 - مرحله التسحيح Titration: وفيها يتم تسحيح ايونات البورات لبورات الامونيوم مع حامض معلوم العياريه وبوجود دليل مناسب مثل دليل المخلوط:



المواد المستخدمه:

- 1- مخلوط حامض الكبريتيك والسلسليك: 1 غم حامض السلسليك + 30 مل حامض الكبريتيك المركز .

2-ثايوكبريتات الصوديوم.

- 3-مخلوط الكبريتات ($K_2SO_4 + FeSO_4 + CuSO_4$) بنسبه 10 : 1 : 0.5

- 4-هيدروكسيد الصوديوم (10) عياري: 400 غم/لتر

- 5-حامض البوريك 2% : 20 غم/لتر

- 6- دليل المخلوط (احمر المثل + ازرق المثيلين):

أ- يوزن 0.125 غم احمر المثل ويذوب في 100 مل كحول ايثانول 95%

ب- يوزن 0.2 غم ازرق المثيلين ويذوب في 100 مل ماء مقطر

ج- يؤخذ 80 مل من الاول + 20 مل من الثاني

دليل المخلوط (بروم كريزول كرين + احمر المثل)

- أ- يوزن 0.1 غم من بروم كريزول كرين ويذوب في 100 مل ماء مقطر + 2 مل من NaOH (0.1) عياري

- ب- يوزن 0.1 غم من احمر المثل ويذوب في 100 مل كحول ايثانول 95% + 3 مل NaOH (0.1) عياري

- ج- يؤخذ 75 مل من الاول + 25 مل من الثاني ثم تخفف المحتويات الى 200 مل من

كحول الايثانول 95%.

8- تجرى عملية التسحيح مع محلول حامض HCl (0.014) عياري الى ان يتحول لون المحلول من الاخضر الى اللون البنفسجي، يسجل حجم الحامض المستهلك في عملية التسحيح.

الحسابات:

حجم الحامض × عياريته الحامض = عدد مليمكافئات الحامض = عدد مليمكافئات النتروجين
عدد مليمكافئات النتروجين × الوزن المكافئ للنتروجين = ملغرام نتروجين

$$\%N = \frac{\text{حجم الحامض} \times \text{عياريته} \times \text{الوزن المكافئ لـ N}}{\text{حجم المستخلص المستخدم} \times \text{وزن العينة}} \times 100$$

الوزن المكافئ للنتروجين: 14

يجب مراعات مايلي عند اجراء عملية الهضم:

أ- ان استعمال مواد مؤكسده قويه مثل حامض البركلوريك يؤثر على مرحلة الاختزال وبالتالي يجب عدم استخدام مثل هذه المواد حتى لاتطغى عملية الاكسده على عملية الاختزال.

ب- استخدام حامض H_2SO_4 المركز وبالتالي يمكن ان تفقد النترات وللتغلب على هذه المشكله تضاف مواد مساعده مختزله (عادة مواد تتحد مع النترات قبل فقدانها) مثل Cu, Fe او باضافة حامض السلسليك او مادة الفينول حيث ان هذه المواد لها القدره على مسك النترات ومنعها من الفقد مكونه نترو فينول او نترو سلسليك وهذه الصور يمكن اختزالها بسهولة عن طريق SO_2 الذي يتكون نتيجة تفاعل حامض الكبريتيك مع ثايوكبريتات الصوديوم.

7- مخلوط (حامض البوريك + دليل المخلوط): 980 مل محلول حامض البوريك + 20 مل دليل المخلوط.

8- حامض HCl (0.014) عياري

طريقة العمل:

1- يوزن (0.5 - 0.1)غم من العينه النباتيه الجافه المطحونه وتوضع في دورق جهاز كدال (يعتمد الوزن على نوع النسيج النباتي وتركيز العنصر).

2- يضاف (25 - 5) مل من مخلوط حامض السلسليك والكبريتيك مع الرج الرجوي ومن ثم تترك لمدة ساعه (يفضل ترك العينه ليله كامله).

3- يضاف (2.5 - 0.5) غم ثايوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ ويسخن لمدة 5دقائق بحيث لا يحدث فوران شديد.

4- تبرد العينه ثم يضاف (5- 1) غم من مخلوط الكبريتات وتبدا عملية الهضم في جهاز كدال (Macro kjeldahl) ويستمر الهضم (ربع ساعه - ساعه) الى ان يصبح المحلول رائقا.

5- تبرد العينه ويضاف (150-30)مل ماء مقطر ثم يضاف (50- 10) مل NaOH مركزه

6- يضاف بعض الكرات الزجاجيه لتنظيم الغليان ثم تجرى عملية تقطير الامونيا حيث تستقبل في دورق مخروطي يحوي (25-10) مل من مخلوط حامض البوريك + دليل المخلوط (يكون لونه بنفسي عند استعمال دليل احمر المثل +ازرق المثيلين) على ان تكون نهاية انبوب التقطير منغمسه في محلول حامض البوريك.

7- ترفع انبوبة المكثف (بعد ان يملأ 1/2 - 2/3) الدورق المخروطي وبشرط ان يتحول لون المحلول من البنفسجي الى الاخضر مع مراعات غسل انبوبة المكثف للتخلص مما يكون عالقا بها من محلول العينه.

(2) :

ppm = ملغم/كغم

$$\begin{aligned} &= \text{ح الحامض} \times \text{عياريته} \times 14 \times \frac{\text{حجم المستخلص الكلي}}{\text{حجم المستخلص المستخدم}} \times \frac{1000}{\text{وزن العينة}} \\ &= 1 \times 0.014 \times 14 \times \frac{50}{5} \times \frac{1000}{0.5} \\ &= 3920 \end{aligned}$$

او يتم حل السؤال كما يلي:

$$\text{ppm} = \text{النسبه المئويه} \% \times 10000$$

$$= 0.392 \times 10000$$

$$= 3920$$

س/ اذا كان تركيز النتروجين في عينه نباتيه هو 1000 ppm فما هو تركيز هذا العنصر بوحدات: 1- نسبه مئويه 2 - ملغم/كغم 3 - غم/كغم

س/ اخذ (5) مل من مستخلص نباتي حجمه الكلي (100) مل ومحضر من هضم 1 غم ماده نباتيه وتم تقدير النتروجين بطريقة kjeldahl فكان عدد مملكافئات الحامض اللازم للمعايره هو 0.05 مملكافي، احسب تركيز النتروجين بالعينه بوحدات:

غم/ 100 غم ، مايكروغرام/ غم

ج- فائدة اضافة مخلوط الكبريتات:

K_2SO_4 : لرفع درجة غليان مخلوط العينه النباتيه مع الحامض المركز

$FeSO_4 + CuSO_4$: عوامل مساعده للهضم والاختزال

يجب مراعات مايلي عند اجراء عملية التقطير:

أ- يجب تلافي اضافة كميات زائده من NaOH حتى لا يحدث نقل ميكانيكي لل NaOH اثناء تقطير العينه وبالتالي يجب ان تضاف الكميّه المناسبه لتطاير الامونيا كما ان الاضافه يجب ان تكون على جدران قمع الجهاز خوفا من حدوث حراره شديده تؤدي الى كسر الجهاز.

ب- يجب التأكد من انغماس نهاية انبوب التقطير في حامض البوريك لكي لا يحدث فقد الامونيا نتيجة لاختلاط الـ NaOH بالحامض قبل بداية التقطير.

مثال:

عينه نباتيه وزنها الجاف(0.5) غم هضمت واكمل الحجم النهائي الى (50) مل، اخذ منها (5) مل لتقدير النتروجين فكان حجم حامض HCl هو (1) مل وعياريته (0.014)، احسب تركيز النتروجين بالعينه بوحدات: 1 - نسبه مئويه 2 - ppm
الحل:

(1) :

$$\begin{aligned} \%N &= \frac{\text{حجم الحامض} \times \text{عياريته} \times \text{الوزن المكافئ} \times 1000}{\text{حجم المستخلص المستخدم} \times \text{وزن العينة}} \\ &= \frac{1 \times 0.014 \times 14 \times 1000}{0.5 \times 5} \\ &= 0.392 \% \end{aligned}$$

الدرس العملي الثالث هضم العينات النباتية



تجفف العينات النباتية على درجة 70 - 75⁵ م لمدة 24.72 ساعة وذلك اعتمادا على نوع النسيج النباتي، والوزن الناتج من عملية التجفيف (والذي تبلغ نسبته بشكل عام 15 % من الوزن الرطب او الاخضر) يطلق عليه الوزن الجاف الخام crude dry weight، وتشكل عناصر الكربون والاكسجين والهيدروجين حوالي 90 % من هذا الوزن وماتبقى من الوزن الجاف (10 %) يمثل وزن العناصر المعدنية الضرورية التي يحتاجها النبات وبهذا فان العناصر المعدنية لا تشكل سوى 1.5 % من الوزن الرطب للنبات، وعلى الرغم من انخفاض هذه النسبة فانها تلعب دور مهم في حياة النبات لان الجزء الاعظم من هذه العناصر تنطبق عليها شروط العنصر الضروري وغيابها يعتبر محدد لنمو النبات.

عند اجراء عملية الحرق للمادة النباتية الجافة المطحونه يفقد الكربون على صورة ثاني اوكسيد الكربون بينما يفقد الهيدروجين والاكسجين على شكل بخار ماء وتبقى العناصر المعدنية على شكل رماد (ash) يطلق عليه رماد العينة **النباتية** ، **وتتوقف** كمية الرماد على نوع النبات وتركيز العناصر الغذائية في وسط نمو النبات.

توجد العناصر المعدنية داخل النبات في صور عديده اما متحده في صورة مركبات عضويه او مركبات غير عضويه او في صورة ايونات مدمصه على السطوح **الغرويه** ، **وعالبا** ماتوجد الايونات في صوره عضويه (باستثناء الكلوريد الذي يوجد عادة بصورة املاح معدنيه) بينما توجد الكاتيونات بصورة املاح معدنيه ولوان عناصرالمغنيسيوم والكالسيوم والحديد تتواجد عادة بصور عضويه حيث يدخل الغنيسيوم في تركيب الكلوروفيل والكالسيوم في تركيب جدار الخليه والحديد في تركيب السايتركروم.

4. قد تعامل العينه قبل الحرق بحامض الكبريتيك للحصول على رماد مكبرت صعب الانصهار نسبيا.
5. اضافة بعض الاملاح عند تقدير عناصر معينه وذلك لمنع تطاير هذه العناصر بسبب درجات الحراره العاليه فمثلا يضاف نترات الغنيسيوم عند تقدير الفسفور ويضاف اوكسيد الكالسيوم عند تقدير الكلوريد.

طريقة العمل:

1. يوزن 1 غم من العينه النباتيه المطحونه وتوضع في جفنه من الخزف الصيني.
2. توضع الجفنه في فرن كهربائي وتسخن تدريجيا ثم تنقل الى المرمده الـ muffle حيث ترفع درجة الحراره حتى 550 الى 500⁰ م ولفترة 6 . 8 ساعات اعتمادا على نوع النبات ولحين الحصول على رماد ابيض خالي من أي سواد.
3. تستخرج الجفنه من المحرقه وتبرد ثم يضاف قليل من الماء المقطر بعد ذلك يتم اذابة الرماد باضافة قليل من حامض HCl تركيز 1:1.
4. توضع الجفنه في حمام مائي حتى جفاف محتوياتها(تقريبا ساعتين) ، يضاف 10 مل من حامض HCl تركيز 1:1 ثم تسخن الجفنه ثانية حتى تمام ذوبان محتوياتها.
5. ترشح محتويات الجفنه باستخدام ورق ترشيح خاص (whatman 42) ويستقبل الراشح في دورق حجمي 100 مل مع غسل الجفنه بالماء الساخن حيث تنقل محتويات الجفنه نقل كمي الى الدورق عبر ورقة الترشيح ثم يكمل الدورق الى العلامه بالماء المقطر- هذا الحجم يمثل حجم المستخلص الكلي للعينه النباتيه.
6. تنقل محتويات الدورق الحجمي الى غلبه زجاجيه ذات غطاء محكم لغرض اجراء التحليل الكيميائي.
7. لغرض تقدير السليكون بالعينه النباتيه ، تؤخذ ورقة الرشيع (المتبقية من العمليه السابقه) بما عليها من راسب (السليكات) وتوضع في محرقه muffle حيث تحرق حرق تام على 950⁰ م وتحسب النسبه المئويه للسليكون بالعينه.

للحصول على رماد العينه النباتيه تقوم باجراء عملية الحرق والاكسده للماده العضويه اما بالحرق في الهواء الجوي (الحرق الجاف) او الحرق باستخدام محاليل مؤكسده قويه (الحرق الرطب).

انواع الحرق

1. الحرق الجاف: Dry ashing

وهوعباره عن حرق العينه النباتيه في درجات حراره عاليه (500 . 550) درجة مئوية في الهواء الجوي لمدة 6 . 8 ساعات وتتم باستخدام جهاز المحرقه (المرمده) muffle furnace على ان ترفع درجة الحراره بشكل تدريجي لضمان حصول حرق كامل للماده العضويه، وتمتاز هذه الطريقه بانها بسيطه وسهله وغير خطره وغير مكلفه حيث لاتحتاج الى استخدام مواد كيميائويه عديده مما يقلل من احتمال التلوث خاصة عند تقدير العناصر الغذائيه الصغرى ، هذه الطريقه تصلح لتقدير عناصر Na, K,Ca, Mg والعناصر الصغرى - عند تقديرها في النباتات ذات المحتوى المنخفض من السليكا- وبسبب درجات الحراره العاليه المستخدمه فان هناك بعض المساوي التي تؤخذ على طريقه الحرق الجاف:

1. فقدان بعض العناصر بالتطاير مثل الفسفور الذي يفقد عند 600⁰ م والزنك الذي يفقد عند 450⁰ م والبوتاسيوم عند 480⁰ م.
 2. انصهار بعض الاملا ح واحاطتها للكربون غير المحترق مما يعيق عملية الحرق
 3. تكون بعض المركبات السليكاتيه مع العناصرالمعدنيه وهذه المركبات لاتذوب في حامض HCl في الخطوه الاحقه.
- لتجنب هذه المشاكل يجب:
1. ان لاتزيد درجة الحراره عن 550⁰ م.
 2. اجراء حرق تدريجي للعينه النباتيه.
 3. مراعات توفر الهواء الجوي.

2. الحرق الرطب (المبتل): Wet ashing

هو حرق العينه النباتيه باستخدام امحاض مركزه وتجرى عملية الحرق في غرفة سحب الغازات fume hood، يمتاز هذا النوع من الحرق بانه يتم في وسط حامضي وبذلك تتم عملية الاكسده على درجة حراره غير مرتفعه - لانتزيد عن درجة غليان المخلووط الحامضي المستعمل بعملية الهضم - لذلك لاتظهرمشاكل الحراره العاليه التي نكرناها في الحرق الجاف الا ان هناك احتمال لتلوث العينه النباتيه بسبب استخدام المواد الكيميائيه خصوصا عند تقدير العناصر الغذائيه الصغرى.

توجد عدة طرق لاجراء هذا النوع من الهضم منها:

أ . استخدام خليط الاحماض الثلاثي Triacid mixture:

وفيها يستخدم خليط من كل من حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4 ، حامض النتريك المركز HNO_3 وحامض البركلوريك (60-62 %) $HClO_4$ حيث تخلط الاحماض الثلاثه بنسب 2 : 5: 1 على التوالي ودور كل حامض في عملية الهضم:

حامض النتريك HNO_3 : هو مصدر الاوكسجين اللازم لعملية الاكسده.

حامض البركلوريك $HClO_4$ يعمل على تكسير اواصر المواد العضويه لتحويلها الى مواد بسيطه سهله الهضم والاكسده كذلك يقلل من تطاير بعض مركبات العينه النباتيه نتيجة وجود الاحماض الاخرى.

حامض الكبريتيك: H_2SO_4 تطيف جو التفاعل وتنظيم عمليات تكسير الروابط واكسدة ماده العضويه.

هذه الطريقه لاتصلح لتقدير عناصر الكبريت، النتروجين، الكلوريد وذلك بسبب احتواء خليط الاحماض المستخدم على هذه العناصر.

طريقة العمل:

1. يوزن 1 غم من العينه المطحونه وتوضع في دورق مخروطي حجم 100 مل.

2. يضاف 10 مل من خليط الاحماض الثلاثي.

3. يسخن الدورق في غرفة سحب الغازات على درجة حراره منخفضه لمدة 3 - 5 دقائق (لمنع تطاير حامض النتريك المضاف- الى الجو على صورة اكاسيد النتروجين) بعد ذلك ترفع درجة الحراره تدريجيا ونستمر بالتسخين حتى تتصاعد الابخره البيضاء ويتحول لون المحلول الى رائق (عديم اللون).

4. يبرد الدورق وتخفف محتوياته بالماء المقطر - بعد ذلك ير شح باستخدام ورق ترشيح خاص مع غسل دورق الهضم بالماء المقطرويستقبل الراشح في دورق حجمي 100 مل ويكمل الى العلامه بالماء المقطر.

5. تتقل محتويات الدورق الى قنينه زجاجيه ذات غطاء محكم حيث تكون جاهزه للتحليل الكيميائي.

ب . استخدام خليط الاحماض الثنائي Diacid mixture:

وفيها يستخدم خليط من حامض النتريك المركز HNO_3 **وحامض البركلوريك $HClO_4$** حيث يخلط الحامضين بنسبة 9:4 ، هذه الطريقه لايمكن استخدامها عند تقديرعنصري النتروجين والكلوريد بسبب احتواء الخليط الحامضي على هذين العنصرين بينما تصلح لتقدير عناصر:

P , K , Ca , Mg , S , Fe , Mn , Zn , and Cu في العينه النباتيه.

طريقة العمل:

1. يوزن 1 غم من العينه النباتيه الجافه والمطحونه وتوضع في دورق مخروطي حجم 100 مل

2. يضاف 10 مل من خليط الحامضين ويحرك الدورق حركه رحويه لخلط المكونات مع بعضها.

3. يسخن الدورق تسخين اولي على درجة حراره واطئه في غرفة سحب الغازات،بعد ذلك ترفع درجة الحراره تدريجيا وتبخر محتويات الدورق حتى يصبح حجم المحلول 3-

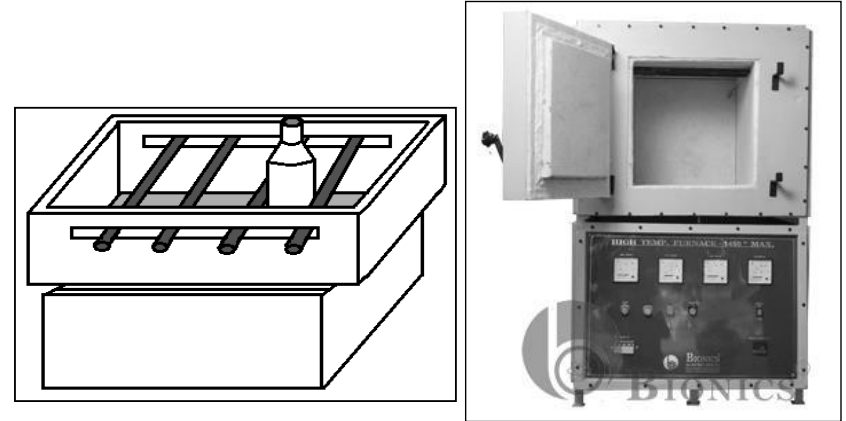
- 4 . يبرد الدورق وتخفف محتوياته بالماء المقطر - بعد ذلك **يرشح** باستخدام ورق ترشيح خاص مع غسل دورق الهضم بالماء المقطرويستقبل الراشح في دورق حجمي 100 مل ويكمل الى العلامة بالماء المقطر .
- 5 . تنقل محتويات الدورق الى قنينه زجاجيه ذات غطاء محكم حيث تكون جاهزه للتحليل الكيميائي.

- 5 مل مع تقادي جفاف العينه ويستدل على نهاية عملية الهضم بتحول لون المحلول الى عديم اللون.
- 4 . يبرد الدورق وتخفف محتوياته بالماء المقطر - بعد ذلك يرشح باستخدام ورق ترشيح خاص مع غسل دورق الهضم بالماء المقطرويستقبل الراشح في دورق حجمي 100 مل ويكمل الى العلامة بالماء المقطر .
- 5 . تنقل محتويات الدورق الى قنينه زجاجيه ذات غطاء محكم حيث تكون جاهزه للتحليل الكيميائي.

ج . استخدام حامض الكبريتيك المركز وبيروكسيد الهيدروجين $H_2SO_4 + H_2O_2$ في هذه الطريقة تستخدم كميات قليلة من بيروكسيد الهيدروجين تركيز 30% - بعد اضافة حامض الكبريتيك المركز وتسخين العينه - وذلك للمساعدة في هضم العينه وتقليل الرغوه الناتجه عن تفاعل الحامض مع العينه، مع ملاحظة انه لايمكن استخدام هذه الطريقة عند تقدير الكبريت في العينات النباتيه.

طريقة العمل:

- 1 . يوزن 1 غم من العينه النباتيه الجافه والمطحونه وتوضع في دورق مخروطي 100 مل.
 - 2 . يضاف 10 مل من حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4 وتسخن العينه مبدئيا على درجة حراره منخفضه (يفضل ترك العينه مع الحامض ليله كامله over night قبل التسخين).
 - 3 . ترفع درجة الحراره تدريجيا ونستمر بالتسخين حتى الغليان - تبرد العينه ثم يضاف قطرات من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 ثم نعيد تسخين العينه حتى خروج الابخره البيضاء .
- تكرر الخطوه السابقه عدة مرات حتى يتحول لون المحلول الى رائق .



اعراض نقص الكبريت على النبات

- 1 - تظهر اعراض نقص الكبريت في البدايه على الاوراق والاجزاء القديمه فتتلون هذه الاجزاء باللون الاصفر الفاتح ثم الداكن وفي المراحل المتقدمه من النقص يغطي الاصفرار كل النبات.
- 2 - تظهر اعراض النقص اولا على الاوراق القديمه من النبات وذلك لان الكبريت عنصر متحرك حيث ينتقل من الاجزاء القديمه الى النموات الحديثه فتظهر اعراض نقصه على الاجزاء القديمه.
- 3 - ضعف نمو النبات بشكل عام حيث تكون الاوراق صغيره والسيقان ضعيفه والنباتات تبدو صلبه ولكنها سهلة الكسر.
- 4 - اعراض نقص الكبريت تشابه اعراض نقص النتروجين الا ان النتروجين اسرع حركة داخل النبات من الكبريت لهذا تظهر اعراض نقصه قبل الكبريت كذلك فان الاصفرار في حالة نقص الكبريت يتحرك الى جميع اجزاء النبات ويكون شاحب ولا تسقط الورقة كما هو الحال عند نقص النتروجين.

تقدير الكبريت في العينات النباتيه

يمكن تقدير الكبريت الكلي في العينات النباتيه بعدة طرق، والطريقه السائده هي باستخدام الهضم الرطب wet ashing ثم يقدر الكبريت باستخدام طريقه العكاره. بعد الهضم الرطب للعينات النباتيه فان جميع الكبريت يصبح على صورة كبريتات SO_4 وهذه الكبريتات عند معاملتها مع كلوريد الباريوم $BaCl_2$ تترسب على شكل كبريتات الباريوم البيضاء $BaSO_4$ وهذه تجهز العكاره للمحلول والتي تتناسب مع كمية الكبريتات الموجوده في العينه ، تقرأ الامتصاصيه للمحلول على جهاز الـ spectrophotometer عند طول موجي 420 نانوميتر، ان عملية ترسيب كبريتات الباريوم وتكوين العكاره هي عمليه حساسه ومن ثم من الضروري تهيأة الظروف الملائمه حيث ان كبريتات الباريوم تميل الى الترسيب اذا لم يكن المحلول حامضيا لهذا السبب يجب اضافه محلول ملحي

الدرس العملي الثامن

الكبريت في النبات

الاهميه الفسيولوجيه للكبريت

يعتبر عنصر الكبريت من العناصرالغذائيه الضروريه الكبرى التي يحتاجها النبات ويمتص النبات هذا العنصر امتصاص حيوي عن طريق الجذورعلى شكل ايون الكبريتات SO_4^{-2} كما ان كميه قليله منه يمكن ان تدخل الى النبات عن طريق الاوراق على شكل غازثاني اوكسيد الكبريت SO_2 وتتراوح نسبة الكبريت في ماده النباتيه الجافه بشكل عام بين 0.2-0.5 %، ويلعب الكبريت دور مهم في حياة النبات حيث ان نقص هذا العنصر يعيق النبات من القيام بفعالياته الحيويه بشكل طبيعي مما يؤثر سلبا في نمو النبات وانتاجيته، ويمكن تلخيص دورالكبريت واهميته من خلال النقاط التاليه:

- 1 - يدخل في تركيب البروتينات من خلال دخوله في تركيب بعض الاحماض الامينيه مثل cysteine و methionine.
- 2 - يدخل في تركيب بعض مرافقات الانزيمات مثل coenzyme A (الذي يشترك في عمليه التنفس) وبعض الفيتامينات مثل Biotin .
- 3 - للكبريت دورفي عمليه تصنيع الكلوروفيل الا انه لايدخل في تركيبه.
- 4 - يدخل في تركيب بعض الزيوت المسؤوله عن بعض الصفات كرائحة البصل والثوم والفجل
- 5 - يدخل في تركيب انزيم الـ nitrogenase المسؤول عن تثبيت النتروجين في البقوليات.

X = 0.543 غم ينوب من ملح K_2SO_4 النقي في دورق حجمي لتر ويكمل الى العلامة بالماء المقطر - تركيز المحلول 100 ppm كبريت.

طريقة العمل

1 - من المحلول الاصيلي السابق تحضر التراكيز المتدرجه التاليه , 16 , 12 , 8 , 4
20 جزء بالمليون كبريت في دوارق حجميه 50 مل وذلك بتطبيق القانون:

$$\frac{\text{الحجم المطلوب} \times \text{التركيز المطلوب}}{\text{التركيز الاصيلي}} = \text{الحجم المطلوب اخذه من المحلول الاصيلي}$$

فتصبح الاحجام المطلوب سحبها من المحلول الاصيلي (100 ppm) لتحضير المحاليل القياسيه السابقه هي على التوالي: 10, 8 , 6 , 4 , 2 مل تسحب ويوضع كل حجم في دورق معياري 50 مل.

2 - يضاف الى كل دورق من الدوارق السابقه 5 مل من المحلول الملحي المنظم + 1 مل من حامض HCl 6 عياري + 1 مل من صمغ اكاسيا 0.5 % ثم يمزج جيدا.

3 - يضاف 0.5 غم من بلورات كلوريد الباريوم ويرج لحين ذوبان كلوريد الباريوم.

4 - يكمل الحجم بالماء المقطر ويرج جيدا - المحاليل الناتجه تعطي التراكيز

4 , 8 , 12 , 16 , 20 جزء بالمليون كبريت على التوالي.

5- نقرأ الامتصاصيه للمحلول على جهاز الـ spectrophotometer على طول موجي 420 نانوميتر.

6 - يرسم منحني قياسي والذي يوضح العلاقه بين تراكيز المحاليل القياسيه وقراءة الجهاز لهذه المحاليل.

7 - لتقدير الكبريت في العينه النباتيه - يسحب 10مل من المستخلص النباتي (مستخلص الهضم) ثم تطبق عليه الخطوات السابقه الخاصه بتحضير المحاليل القياسيه.

منظم لتنظيم pH المحلول، معدل الترسيب يسيطر عليه عن طريق اضافه $BaCl_2$ النقي ذي البلورات الناعمه كما يضاف صمغ الاكاسيا Gum acacia للمساعده في ثباتية العكاره.

المواد المستخدمه

1 - كلوريد الباريوم $BaCl_2 \cdot 2H_2O$

ذي بلورات mesh 20- 60 (تمر بلوراته من خلال منخل 20mesh بينما يحتفظ بها منخل mesh 60.

2 - محلول صمغ اكاسيا Gum acacia

اذابه 0.5 غم من مسحوق Gum acacia في مزيج يحتوي 50 مل حامض الخليك الجليدي glacial acetic acid و 50 مل ماء مقطر - يحفظ المحلول في ثلاجه لتجنب نمو الاحياء الدقيقه.

3 - محلول ملحي منظم salt buffer solution

يحتوي على 50 غم $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ و 4.1 غم KNO_3 و 28مل ايثانول/ لتر.

4 - حامض HCl 6N

5 - محلول قياسي للكبريت 100 ppm

يحضر محلول قياسي اصلي للكبريت تركيز 100 ppm من ملح كبريتات البوتاسيوم K_2SO_4 النقي:

غم S	غم K_2SO_4
32	174
0.1	X

الدرس العملي الثاني

أخذ العينات النباتية وإعدادها للتحليل الكيميائي

من أهم خطوات إجراء التجارب الزراعيه هي عملية أخذ العينه النباتيه التي تؤخذ لتمثل المتوسط الحقيقي للنمو في التجربه، لهذا يجب مراعات الدقه وأن نعتني بعنايه فائقه عند اخذ أي عينه نباتيه حيث انه اذا حدث أي خطأ في طريقه اخذ العينه لغرض تحليلها في المختبر فان هذا التحليل يصبح عديم الفائده وبذلك يضيع الجهد المبذول في كافة العمليات **اللا-** حقه كما يجب ان تكون العينه النباتيه ممثله تماما للماده النباتيه المراد تحليلها، وتتوقف عملية اخذ العينه على الغرض الذي تؤخذ من اجله العينه (الهدف من الدراسه) ونوع النبات المزروع، ويتم اختيار الجزء النباتي الذي سيقطع ويؤخذ للتحليل بحيث يمثل حالة النبات الغذائيه وفي اغلب الاحيان تؤخذ اوراق النباتات كعينات لغرض اجراء التحليل الكيميائي عليها حيث ان الاوراق تعتبر من افضل اجزاء النبات لغرض اجراء التحاليل فهي مركز **معظم** العمليات الحيويه التي يقوم بها النبات وعادة تؤخذ الاوراق الناضجه لانها اكثر نشاطا وتأثرا بالمحتوى المعدني باستثناء حالات نقص الحديد ومحتوى البورون في بعض المحاصيل فتؤخذ **الاوراق الفتية** ، اما البذور فنادرا ماتستخدم للتحليل الا في حالات معينه كتحقيق سمية البورون ونقص عنصري الزنك والفسفور في بعض المحاصيل.

وقت أخذ العينه

يختلف وقت أخذ ألعينه النباتيه تبعاً للهدف من الدراسه ولكن بشكل عام تؤخذ العينات في احد الاوقات التاليه:

1. قد تؤخذ العينات النباتيه في اخر عمر النبات اي في فترة الانتاج.
2. او تؤخذ في فترة نمو معينه كان تكون في فترة النمو الخضري او فترة الازهار
3. أو قد تؤخذ العينات النباتيه على طول عمر النبات وبشكل مستمر فتؤخذ عينه في كل فترة نمو ولكافه مراحل نمو النبات.

يتضمن اخذ العينه وإعدادها لغرض التحليل ثلاث خطوات اساسيه هي:

8 - يتم تسقيط قراءة الجهاز لعينه المستخلص النباتي على المنحنى القياسي للحصول على تركيز الكبريت بوحده ملغم/لتر (ppm بعد التسقيط).

الحسابات

$$\text{ppm} = \frac{\text{حجم الدورق المستخدم}}{1000} \times \frac{\text{حجم المستخلص الكلي}}{\text{حجم المستخلص المستخدم}} \times \frac{100}{\text{وزن العينه}} \times \% S$$

مثال: عينه نباتيه وزنها الجاف 1غم هضمت واكمل الحجم النهائي الى 100مل، اخذ منها 1مل لتقدير الكبريت حيث وضعت في دورق حجمي 100 مل، فاذا علمت ان ppm بعد التسقيط من المنحنى كانت 0.25 احسب تركيز الكبريت في العينه بوحدهات: 1 - نسبه مئويه

2- ppm

الحل:

$$\text{ppm} = \frac{\text{حجم الدورق المستخدم للتقدير}}{1000} \times \frac{\text{حجم المستخلص الكلي}}{\text{حجم المستخلص المستخدم}} \times \frac{100}{\text{وزن العينه}} \times \% S$$

$$\text{ppm} = \frac{100}{1000} \times \frac{100}{100} \times \frac{100}{1} \times \% S$$

$$0.25 =$$

$$\text{ppm} \quad (2)$$

$$10000 \times \% = \text{ppm}$$

$$10000 \times 0.25 =$$

$$2500 =$$

هـ - عند اخذ العينات النباتية من حقل عام يجب الابتعاد عن طرق المواصلات الرئيسييه وطرق المواشي ومناطق خزن السماد والمناطق القريبه من كيبالات الطاقه الكهربائيه والاسيجه المطليه بالمعادن كذلك تجنب اخذ العينات مباشرة بعداجراء عمليات المكافحه الحيويه او بعد الري وسقوط الامطار الغزيره اوبعد عمليات التسميد حيث تعتبر الاسمده مصدرا من مصادر تلوث العينه النباتيه عند اضافتها اثناء نمو النبات نتيجة التصاقها باجزاء النبات.

2 - قطع النبات:

الاجزاء الهوائيه:

- تقطع الاجزاء الهوائيه على ارتفاع مناسب من سطح التربه (2-1) انج باستخدام اله حاده لتقادي تلف الانسجه النباتيه، وفي حالة النباتات العلفيه (التي تؤخذ على شكل حشوات) فتقطع على ارتفاع 4 انج، ويتم القطع فوق سطح التربه لتجنب تلوث العينه النباتيه بحبيبات التربه الذي غالبا ماينتج عنه حصول اخطاء في نتائج التحليل الكيميائي.

- تختلف درجة تلوث العينه النباتيه بحبيبات التربه على حسب نوع العنصر الغذائي المطلوب **تقديره** ، حيث تزداد خطورة التلوث على نتائج تحليل العناصر التي توجد بكميات ضئيله داخل النبات مثل البورون على العكس من العناصر التي تتواجد بتراكيز عاليه مثل البوتاسيوم فيكون تأثير التلوث اقل، كذلك يؤثر نوع التربه النامي فيها النبات على درجة التلوث فتلوث العينه النباتيه بحبيبات التربه الرمليه لايؤثر كثيرا في نتائج تقدير **Ca** و **Mg** بينما تلوث النبات بحبيبات تربه جيرييه ينتج عنه اخطاء كبيره في تقدير هذين العنصرين.

الاجزاء اللاهوائيه:

للحصول على اجزاء النبات النامي تحت سطح التربه (مثل درنات بطاطه او بنجر سكري) نقوم بازالة النباتات المجاوره للنبات الذي ستؤخذ منه العينه بعد ذلك نقوم بحفر خندق حول هذا النبات ثم يقلع من الاسفل باستخدام اله مناسبه بحيث نحصل عليه

1. تحديد مكان اخذ العينه النباتيه

2. قطع النبات

3. تحضير العينه في المختبر

1. تحديد مكان اخذ العينه النباتيه:

لغرض تحديد مكان اخذ العينه النباتيه في تجارب الحقل يجب الاخذ بنظر الاعتبارا لنقاط التاليه:

أ- يتم جمع العينه النباتيه من مناطق متفرقه من الحقل المعامل بمعامله واحده لتمثل العينه الماخوذه هذا الحقل تمثل حقيقي ، ولجميع مكررات هذه المعامله حيث يجب عدم اغفال اي مكررحتى وان ظهرت هذه المكررات متجانسه فهناك اختلافات لايمن تميزها بالنظر **فقط** .

ب - يجب ان لا يكون مكان اخذ العينه الجديده ملاصق لمكان اخذ منه عينه سابقه حيث ان ازالة النباتات من المكان القديم قد يؤدي الى نمو غير طبيعي في المكان المجاور بسبب توفر كميه زائده من الماء والغذاء في المكان الخالي من النباتات.

ج- يفضل ان يكون عدد النباتات في العينه الواحده متساويا ولجميع المعاملات ومكرراتها فاذا كان الحقل مزروع نثرا كما في الحنطه والشعير فيتم تحديد المساحه التي تؤخذ منها العينه النباتيه بوضع اطار ذي ابعاد محدد في المكان المحدد من الحقل ويتم اخذ النباتات الموجوده داخل هذا الاطار، اما في حالة النباتات المزروعه على خطوط كما في الزره والقطن فيتم اخذ النباتات الموجوده على خط معين وبمسافه محدده للمكرر الاول ، على ان تؤخذ النباتات الموجوده على نفس الخط وبنفس المسافه لبقية المكررات، فمثلا تؤخذ النباتات الموجوده على طول متر من الخط الثالث من المكررلاول وهكذا لبقية المكررات.

د - عدم التحيز عند اخذ العينات (وذلك بتاثير معلومات سابقه عن التجريه) حيث ان هذا التحيز يؤدي في اغلب الاحيان الى نتائج خاطئه.

ان معاملة النبات في المختبر تعتمد على الهدف من الدراسه فاما ان يعامل النبات كوحده واحده في عمليات التقطيع والتجفيف والطحن او ان يقطع النبات الى اجزاء مختلفه بحيث ان كل جزء يمثل عضو من اعضاء النبات كأن يقسم النبات الى اوراق وفروع وسيقان وجذور والغرض من دراسة اجزاء النبات هو تتبع عملية حركة العنصر وانتقاله من كل جزء من النبات الى الاجزاء الاخرى خلال عمر النبات.

ب - تجفيف العينه :

بعد تعليم العينات ووضع البيانات الداله عليها، توضع العينات داخل كيس ورقي مثقب ثم توضع في الفرن، وفي عملية التجفيف يراعى ماياتي:

- يكون التجفيف على درجة حراره 60-70 درجة مئوية لمدة 24-72 ساعه اعتمادا على نوع النسيج النباتي، هذه الدرجة كافيه لقتل الانزيمات وايقاف العمليات الحيويه داخل النبات

- عدم وضع عدد كبير من العينات داخل الفرن اوكبس العينات في الفرن وذلك لاعطاء مجال لخروج الماء الساخن من العينه وحتى لايتغير لون العينه النباتيه الى اللون الاسود والاسود المخضر، التجفيف الصحيح هو ان تحتفظ العينه بلونها الطبيعي في الحقل.

- تقليب العينه داخل الفرن بين وقت واخر للمساعده في سرعة التجفيف.

- عند تجفيف العينات النباتيه ذات المحتوى العالي من الماء خصوصا تلك الناميه تحت سطح التربيه مثل الدرنات يتم تقطيعها الى شرائح ثم توضع في صواني تجفيف مثقبه (مشبك) بعد ذلك توضع في الفرن.

- يتم التأكد من تمام عملية التجفيف بوزن العينه ثم اعادتها الى الفرن واعادة وزنها بعد فتره وفي حالة ثبات الوزن تكون العينه قد وصلت الى نهاية عملية التجفيف.

- بعد اكتمال عملية التجفيف تخرج العينه من الفرن وتترك لتبرد لكي تحصل حالة الاتزان مع الهواء الجوي، توزن العينه ويسمى الوزن الناتج بالوزن الجاف الخام crude dry weight.

كاملا وخالي من اي جروح اوخدوش، في تجارب السنادين يمكن الحصول على المجموع الجذري للنبات عن طريق غمر السناده بالماء بعد ذلك تقلب السناده في غربال (لمنع فقدان اي جزء من الجذور) ثم يسלט **تيارغير قوي** من الماء لمنع تقطع الجذور (يسخدم دوش ماء) وبهذه العمليه يتم التخلص من التربيه والحصول على المجموع الجذري بشكل كامل.

- بعد الحصول على العينات النباتيه توضع في اكياس ورقيه ثم يكتب على الكيس من الخارج معلومات كامله عن النبات مثل نوع وصنف وعمر النبات ونوع المعامله وتاريخ اخذ العينه كذلك توضع داخل الكيس بطاقه تعريفيه تتضمن المعلومات السابقه، ثم ترسل العينات الى المختبر لغرض اعدادها للتحليل الكيميائي.

3 - تحضير العينه في المختبر:

عند وصول العينه الى المختبر يجب الاسراع في اعداد وتحضير العينه خوفا من حصول تغيرات في التركيب الكيميائي للعينه نتيجة استمرار عمليتي التنفس والنتح والتي يواصل النبات القيام بها لعدة ساعات بعد قطعه.

مختبر اعداد وتجهيز العينات يجب ان يحتوي على: ميزان حساس لوزن العينات، منضده من الرخام لتحضير العينات عليها، ادوات تقطيع حاده، فرن كهربائي لتجفيف العينات، طاحونه لطحن العينات.

تنظف العينات النباتيه عند وصولها الى **المختبر وهي** خضراء لازالة ماعلق بها من غبار او تراب او اي مواد اخرى وذلك بغسلها بالماء العادي ثم بالماء المقطر مع ملاحظه عدم غسل العينات التي تتضمن تقديرات العناصر الذائبه او العينات المجروحه او المخدوشه او غسلها باقل كميته من الماء ثم تجفيفها بقطعه من القماش الناعم.

عملية تحضير العينه في المختبر تتضمن ثلاث خطوات هي:

أ- تقطيع العينه ب - تجفيف العينه ج - طحن العينه

أ - تقطيع العينه:

الدرس العملي السابع الكالسيوم والمغنيسيوم في النبات

الاهمية الفسيولوجية للكالسيوم

يعتبر عنصر الكالسيوم من العناصر الغذائية الضروريه الكبرى التي يحتاجها النبات ويمتص النبات هذا العنصر على شكل ايونات كالسيوم Ca^{+2} وتتراوح نسبته في الماده النباتيه الجافه من 3 - 0.5 % وذلك اعتمادا على عمر النبات (محتوى النبات من الكالسيوم يزداد بازدياد عمر النبات) ونوع النبات (فمثلا النباتات ذوات الفلقتين تحتوي على كميه اعلى من الكالسيوم مقارنة بنباتات ذوات الفلقه الواحده) والجزء النباتي الماخوذ للتقدير (الجنور بشكل عام ذات محتوى اعلى من الكالسيوم من الاجزاء العليا)، يلعب الكالسيوم دور مهم في حياة النبات من خلال دخوله في كثير من العمليات الحيويه التي يقوم بها النبات والتي يمكن ايجازها بما يلي:

1. يدخل في تركيب الجدار الخلوي على شكل بكتات كالسيوم calcium pectate وهو بذلك يعمل على تماسك جدران الخلايا مع بعضها، لهذا يلعب الكالسيوم دور مهم في انقسام ونمو الخلايا المرستيميه.
2. يدخل في تركيب الاغشيه الخلويه مما يعطي الكالسيوم دورا مهما في التحكم في دخول وخروج المواد من والى الخليه، أي ان نقص الكالسيوم يزيد من نفاذية الاغشيه فتصبح اكثر نضوحا.
3. له دور مهم في تثبيت النتروجين الجوي (بواسطة النباتات البقوليه) وتكوين العقد الجذريه.
4. يزيد الكالسيوم من امتصاص النترات مما يؤدي الى زياده البروتين في النبات.
5. للكالسيوم دور مهم في انتقال الكربوهيدرات داخل النبات.
6. يلعب دور العامل المساعد والمحفز لعدد من الانزيمات.

ج- طحن العينه:

بعد تجفيف العينات النباتيه نقوم بطحنها باستخدام طاحونه كهربائيه ، وتعتبر الطواحين المستخدمه احد مصادر تلوث العينات النباتيه خصوصا عند تقدير العناصر الصغرى لذلك يجب عدم استخدام طاحونه مصنوعه من نفس العنصر المراد تقديره، فمثلا لاستخدم طاحونه مصنوعه من الحديد عندما يكون العنصر المراد تقديره هو الحديد وانما يستخدم في طحن العينه هاون من الخزف الصيني، وبشكل عام يفضل في طحن العينات النباتيه طواحين مصنوعه من الفولاذ، بعد طحن العينه تتخل بمنخل قطر 0.5 (I -) ملم ويحفظ المسحوق الناتج في علب زجاجيه ذات غطاء محكم مع تسجيل كافة المعلومات التي تدل على العينه على هذه العلبه وبالتالي تكون هذه العينه جاهزه للتحليل الكيميائي.

اعراض نقص المغنيسيوم على النبات

- 1 . يعتبرالمغنيسيوم من العناصر المتحركه داخل النبات فينتقل من الاجزاء القديمه الى الاجزاءوالنموات الحديثه لهذا فان اعراض نقصه تظهر اولا على الاوراق القديمه.
- 2 . نقص المغنيسيوم يؤدي الى قلة الكلوروفيل الذي يظهر على شكل بقع ذات لون اخضر فاتح تتحد مع بعضها لتكون اشطره صفراء بين عروق الورقه بينما تبقى العروق خضراء اللون.
3. بعد ذلك يغطي اللون الاصفر جميع سطح الورقه ماعدا القمه والقاعده.
- 4 . مع استمرار النقص يتحول اللون الاصفر الى بني غامق ثم تبدا الاوراق بالسقوط من اسفل الى اعلى.

أعراض نقص الكالسيوم على النبات

1. تظهر اعراض نقص الكالسيوم على الاوراق الناميه الحديثه ونهايات النبات حيث ان الكالسيوم من العناصرغير المتحركه داخل النبات.
- 2 . تتلون الاوراق الحديثه باللون الاخضر المصفرمع ظهور بقع ميتة كما ان حافات الوراق تلتف اوتموج بسبب عدم انتظام نمو الخلايا.
- 3 . يكون النبات متقزم ومتخشب وذلك لاهمية الكالسيوم في انقسام ونمو الانسجه المرستيميه في البراعم والقمه الناميه للساق والجذر والاوراق.
- 4 . يسبب نقص الكالسيوم ظهور وانتشار بعض الامراض الفسيولوجيه على النبات.

تقدير الكالسيوم والمغنيسيوم في العينات النباتيه

يتم تقدير الكالسيوم والمغنيسيوم في العينات النباتيه بطريقة الخلب باستخدام المواد المخلبيه chelating agent وهي مواد عضويه انيوناتها لها القدره على الارتباط مع بعض العناصرمكونه مركب حلقي والعنصر الذي يرتبط بهذا التركيب الحلقي (الذي يخلب) يفقد سيطرته على تفاعلاته الكيميائيه أي يترسب داخل التركيب الحلقي.

يوجد العديد من المواد المخلبيه ولكن يستخدم في تقدير كل من الكالسيوم والمغنيسيوم ماده المخلبيه EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic acid) والتي تسمى بالفيرسين التي تكون مواد مخلبيه مع عدد من الكاتيونات الثنائيه التكافؤ مثل الكالسيوم والمغنيسيوم.

الاهمية الفسيولوجيه للمغنيسيوم

يعتبر عنصرالمغنيسيوم من العناصرالغذائيه الضروريه الكبرى التي يحتاجها النبات ويمتص النبات هذا العنصر **على** شكل ايونات مغنيسيوم Mg^{+2} وبكميات اقل مماهي عليه في حالة البوتاسيوم او الكالسيوم وبشكل عام فان معدل محتوى الماده النباتيه الجافه من المغنيسيوم 0.5 %، يؤدي المغنيسيوم دورا كبيرا في العديد من العمليات الحيويه التي تجري داخل النبات والتي يمكن ايجازها بالنقاط التاليه:

- 1 . يدخل في تركيب الكلوروفيل حيث يشكل %2.7 من وزن جزيئة الكلوروفيل ولهذا فانه يلعب دور مهم في عملية التركيب الضوئي التي تصبح مستحيله في حال غياب الكلوروفيل.
- 2 . يشترك في حركة ونقل القسفور داخل النبات.
- 3 . يعتبرمساعد و منشط للعديد من الانزيمات خصوصا تلك التي تشارك في تفاعلات الفسفوروتكوين وتحلل الكربوهيدرات.
- 4 . يلعب دور في تكوين السكريات وتوزيع النشا داخل النبات.
- 5 . ضروري في تكوين البروتين حيث يقوم بربط وحدات الريبوسوم مع بعضها.

تتلخص الفكرة الاساسيه للتقدير باجراء عملية التسحيح مع ماده المخلبيه (الفيرسين) فيتكون مركب مخلبي بين العنصر المراد تقديره وبين الماده المخلبيه، ويتم التعرف على نقطة نهاية التفاعل (نهاية عملية الخلب) باستخدام ادله حساسه تظهر الوان مختلفه بحيث يكون لها لون مميز عند ارتباطها بالعنصر المعدني وعندما تكون بصوره حره (بدون ارتباط) يكون لها لون اخر،حيث يقدر الكالسيوم اولا ثم يقدر(الكالسيوم +

تقدير الكالسيوم

عند تقدير الكالسيوم نقوم برفع درجة تفاعل المستخلص النباتي (الـ pH) الى 12 باضافة هيدروكسيد الصوديوم (4) عياري حيث تترسب ايونات المغنيسيوم على صورة هيدروكسيد المغنيسيوم وتبقى ايونات الكالسيوم في المحلول، ويستخدم في التقدير دليل بربرات الامونيوم (الميروكسيد) الذي له ميل اتحادي مع الكالسيوم اكثر من الميل الاتحادي مع المغنيسيوم خصوصا عند pH (12) حيث يصبح هذا الدليل متخصص تماما للكالسيوم فقط ، وعند معايره مع الفرسين، يقوم الفرسين بخلب الكالسيوم تدريجيا حتى ينتهي من المحلول حيث يتغير لون المحلول من اللون الوردى (Ca + دليل الميروكسيد) الى اللون البنفسجي (لون الدليل لوحده).

المواد المستخدمة

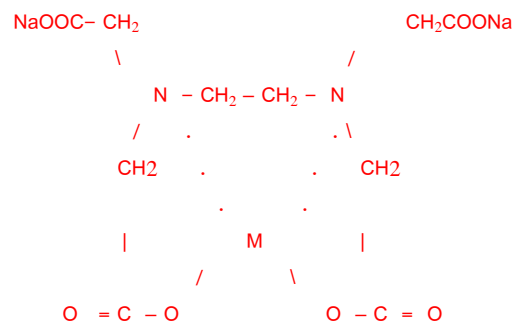
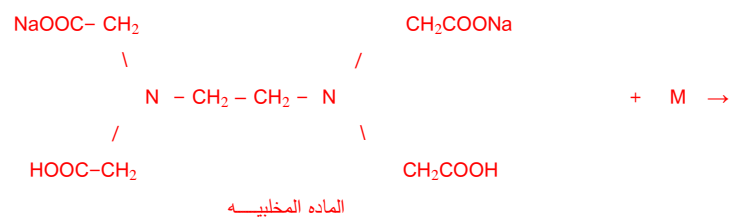
- 1 - هيدروكسيد الصوديوم (4 N) عياري: يحضر باذابة 160 غم من NaOH في لتر ماء مقطر.
- 2 - دليل بربرات الامونيوم (الميروكسيد): يحضر بخلط 0.5 غم من بربرات الامونيوم مع 100 غم من كبريتات البوتاسيوم.
- 3 - محلول الفرسين EDTA (0.01) يحضر باذابة 2 غم من الفرسين ثنائي الصوديوم مع 0.05 غم من كلوريد المغنيسيوم $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ في ورق حجمي لتر ثم نكمل الى العلامة بالماء المقطر.

طريقة العمل

- 1 - يسحب بواسطة الماصة (2) مل من المستخلص الحامضي للعينه النباتيه وتوضع في جفنه من الخزف الصيني وتخفف باضافة (10) مل من الماء المقطر.
- 2 - يرفع الـ pH الى 12 باضافة هيدروكسيد الصوديوم 4 ع بالاستعانه بجهاز الـ pH meter او ورق زهرة الشمس.

المغنيسيوم) وبطرح الاول من الثاني نحصل على المغنيسيوم، ويفضل استخدام فرسين ثنائي الصوديوم EDTA- disodium salt لانه مركب سهل التقنيه وغير هيكلوسكوبي والمركبات المخليه التي يكونها تكون اكثر ثباتا.

عملية الخلب تتم كما في المعادله:



الماده المخليه مع العنصر

M: كاتيون لعنصر معدني مثل الكالسيوم اوالمغنيسيوم

المواد المستخدمة

1 - المحلول المنظم: $NH_4OH + NH_4Cl$

يذوب (67.5) غم من NH_4Cl في (570) مل من NH_4OH مركز ثم يخفف الى لتر بالماء المقطر.

2 - دليل (ال E.B.T) اسود الايروكروم : يحضر باضافة (0.5) غم من الدليل الى (4.5) غم من Hydroxyl amine hydro chloride ثم الاذابه في (100) مل من كحول الايثانول 95%.

3 - محلول الفرسين (0.01) ع كما حضر سابقا.

طريقة العمل

1 - يسحب بواسطة الماصه (2) مل من المستخلص الحامضي للعينه النباتيه وتوضع في جفنه من الخزف الصيني وتخفف باضافة (10) مل من الماء المقطر.

2 - يرفع الـ pH الى 10 باضافة المحلول المنظم بالاستعانه بجهاز الـ pH meter او ورق زهرة الشمس.

3 - يضاف حوالي (3-4) قطرات من دليل (ال E.B.T).

4 - يسحح مع الفرسين (0.01) ع الى ان يتغير اللون من القرمزي الى الازرق - يسجل حجم الفرسين المستهلك من السحاحه.

الحسابات:

حجم الفرسين × عيارية الفرسين = مملكاتئات الفرسين = مملكاتئات (الكالسيوم + المغنيسيوم)

مملكاتئات المغنيسيوم = مملكاتئات (الكالسيوم + المغنيسيوم) - مملكاتئات الكالسيوم
= (حجم الفرسين في حالة $Ca+Mg$ × عياريته) - (حجم الفرسين في حالة Ca × عياريته)

3 - يضاف حوالي 50 ملغم من دليل الميروكسيد.

4 - يسحح مع الفرسين (0.01) ع الى ان يتغير اللون من الوردى الى البنفسجي - يسجل حجم الفرسين المستهلك من السحاحه.

الحسابات

حجم الفرسين × عيارية الفرسين = مملكاتئات الفرسين = مملكاتئات الكالسيوم
مملكاتئات الكالسيوم × الوزن المكافئ للكالسيوم (20) = ملغم كالسيوم

$$\% Ca = \frac{\text{حجم الفرسين} \times \text{عيارية الفرسين} \times 20}{\text{حجم المستخلص المستخدم} \times 100} \times \frac{\text{حجم المستخلص المستخدم}}{\text{وزن العينه}}$$

تقدير (الكالسيوم + المغنيسيوم) (Ca + Mg)

عند تقدير (الكالسيوم + المغنيسيوم) يضبط الـ pH عند 10 وذلك باستخدام المحلول المنظم (Buffer Solution) حيث يكون كل من الكالسيوم والمغنيسيوم بشكل ايونات في المستخلص وهنا يستخدم دليل اسود الايروكروم (ال E.B.T) Erio chrome black T الذي له ميل اتحادي مع الكالسيوم والمغنيسيوم معا عند هذا الـ pH، وعند المعايير مع الفرسين يقوم الفرسين بخلب الكالسيوم + المغنيسيوم ويستدل على نهاية عملية الخلب (انتهاء عملية التسحيح) بتغير لون المحلول من اللون القرمزي الى اللون الازرق.

$$\frac{\text{ملمكافئات المغنيسيوم} \times \text{الوزن المكافئ Mg}}{\text{حجم المستخلص الكلي}} \times \frac{100}{\text{وزن العينة}} = \% \text{ Mg}$$

$$\frac{1000}{12} = \text{Mg ل الوزن المكافئ}$$

$$\frac{100}{0.5} \times \frac{100}{2} \times \frac{12 \times 0.005}{1000} = \% \text{ Mg}$$

$$= 0.6 \%$$

ملاحظه: وجود (Fe , Mn , Al) بتركيز اكثر من 4 – 0.3 ppm يحدث تداخل مع دليل E.B.T لذلك قد يضاف 2 مل من سيانوز الصوديوم 2% الى المستخلص المراد تقدير (الكالسيوم + المغنيسيوم) فيه لغرض ترسيب العناصر المعدنية الثقيله.

مثال: عينه نباتيه وزنها (0.5) غم هضمت واكمل الحجم النهائي الى (100) مل، اخذ منها (2) لتقدير الكالسيوم و(2) مل لتقدير (الكالسيوم + المغنيسيوم) فكان حجم الفرسين (0.01 غ) اللازم للمعايره (1) مل للكالسيوم و (1.5) مل لـ (الكالسيوم + المغنيسيوم)، احسب النسبه المئويه لكل من الكالسيوم والمغنيسيوم في العينه.

الحل:

$$\frac{\text{حجم الفرسين} \times \text{عيارية الفرسين} \times 20}{\text{حجم المستخلص الكلي}} \times \frac{100}{\text{وزن العينة}} = \% \text{ Ca}$$

$$\frac{100}{0.5} \times \frac{100}{2} \times \frac{20 \times 0.01 \times 1}{1000} = \% \text{ Ca}$$

$$\% \text{ Ca} = 2 \%$$

ملمكافئات المغنيسيوم = ملمكافئات (الكالسيوم + المغنيسيوم) - ملمكافئات الكالسيوم

$$0.005 = (0.01 \times 1) - 0.01 \times 1.5$$

س/ احسب نسبة المغنيسيوم في عينه نباتيه وزنها الجاف 0.5غم ونسبة الكالسيوم فيها 2% علما ان حجم الفرسين (0.01ع) عند تقدير (Ca+ Mg) كان 2مل وحجم المستخلص المستخدم لكل من Ca و (Ca+Mg) هو 2 مل وحجم المستخلص الكلي 100

اعراض نقص البوتاسيوم على النبات

1. ضعف نمو النبات بشكل عام حيث تكون الاوراق صغيره والسيقان قصيره وقلة الانتاج وردائه حيث ان الثمارتقعد الوانها المميزه و تكون غير متجانسه في نضجها
2. اسمرار داكن على حواف الاوراق (احتراق الحواف) يمتد الى الوسط ثم يصبح لون الحواف بنيا.
3. التفاف حواف الاوراق الى الاعلى والاسفل بسبب عم نمو الخلايا بشكل متساوي
4. تظهر اعراض النقص على الاوراق القديمه اولا ومن ثم تنتقل الى الاجزاء الاخرى وذلك لان البوتاسيوم عنصر متحرك داخل النبات ينتقل من الاوراق القديمه الى الاوراق الحديثه.

تقدير البوتاسيوم في العينات النباتيه

يتم تقدير البوتاسيوم في المستخلص الحامضي للعينه النباتيه مباشرة باستخدام جهاز

قياس العناصر باللهب Flame photometer

يتكون الجهاز بشكل عام من الوحدات الرئيسيه التاليه:

1. وحدة اللهب - مصدر طاقه لتوليد حراره عاليه كافيه لتهييج الالكترونات.
- 2 - ضاغطه هواء compressor لتحويل المستخلص الى رذاذ.
3. وحدة الترشيح - موشور او فلتر خاص بكل عنصر - لتعيين طول موجة الضوء الخاص بالاشعه الصادره عن عنصر معين.
4. وحدة الخليه الضوئيه - لتحويل الاشعه الكهرومغناطيسيه الى تيار كهربائي.
- 5- وحدة تقوية التيار amplifier.
6. وحدة القياس - كلفانوميتر - لقياس التيار الكهربائي.

الدرس العملي السادس

البوتاسيوم في النبات

الوظائف الفسيولوجيه للبوتاسيوم

يمتص النبات عنصر البوتاسيوم على شكل ايونات البوتاسيوم (K^+) وبشكل نشط (حيوي) حيث يتجمع البوتاسيوم داخل النبات ضد التدرج بالتركيز مع المحيط الخارجي، وتتراوح نسبة هذا العنصر في النبات بين 0.2-3.5 % ولم يثبت علميا دخوله في تكوين مواد عضويه داخل النبات (يوجد غالبا بصورة املاح معدنيه) لذلك يمكن استخلاصه من العينه النباتيه باستخدام احماض مخففه مثل حامض الخليك 2 %، يلعب البوتاسيوم دور مهم في حياة النبات من خلال الوظائف المهمه التي يؤديها وهي:

1. يقوم البوتاسيوم بدور العامل المساعد في عمليات التركيب الضوئي وتكوين

الكلوروفيل.

2. له دور مهم في تكوين الكربوهيدات ونقل السكريات داخل النبات.

3. له دور مهم في ميكانيكية فتح وغلق الثغور وتنظيم المحتوى المائي للخليه النباتيه

4. يساعد في مقاومة النبات لدرجات الحراره المنخفضه.

5. يلعب دور في اختزال النتترات وتكوين البروتين.

6 - ضروري وعامل مساعد لتحفيز عدد كبير من الانزيمات مثل

starch synthetase , pyruvate kinase

طريقة العمل

1 - تحضير محاليل قياسييه للبووتاسيوم:

يتم تحضير محلول قياسي اصلي للبووتاسيوم stock solution بتركيز 1000 ppm من أي ملح للبووتاسيوم (معروف التركيب، نقي، سهل الذوبان، غير متميع) مثل ملح KCl وذلك اعتمادا على الاوزان الذرية:

K غم	KCl غم
39	74.5
1	x

$X = 1.906$ غم يوزن من ملح KCl الجاف (يجفف الملح قبل الوزن على درجة 60 مئوية لمدة ساعه ثم يبرد في مجفف) ويوضع في دورق حجمي لتر ويكمل الى العلامه بالماء المقطر.

من المحلول القياسي الاصلي السابق (1000 ppm) يتم تحضير المحاليل القياسييه:

10 ppm , 20 ppm , 30 ppm , 40 ppm , 50 ppm

في دوارق حجميه 100 مل وذلك بتطبيق القانون :

التركيز المطلوب × الحجم المطلوب

----- = الحجم المسحوب (مل) من المحلول الاصلي

التركيز الاصلي

لتحضير محلول قياسي 10 ppm في دورق 100 مل من المحلول القياسي الاصلي

1000 ppm

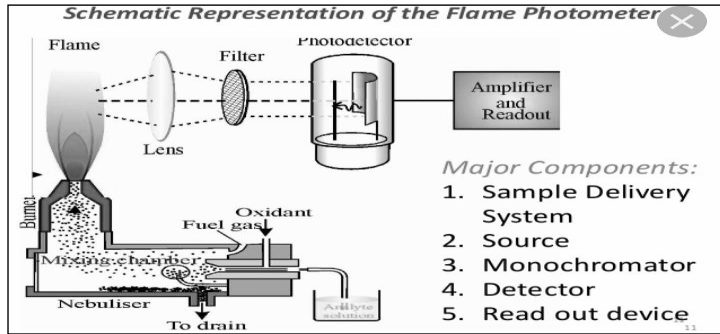
100 × 10

----- = 1 مل يسحب من المحلول الاصلي ويوضع في

1000

الفكره الرئيسييه لعمل الجهاز

ان العناصر المعدنيه وخاصة القلوبه منها عندما تتعرض الى مصدر طاقه كافييه لتهييج الالكترونات الموجوده في المدارات الخارجيه لذرات هذه العناصر فان هذه الالكترونات تمتص هذه الطاقه وتزداد طاقتها الحركيه فتنتقل الى مدارات اكثر بعدا عن النواة أي الى مستويات اعلى من الطاقه Higher Energy Levels ، وعند ابتعادها عن مصدر التغذية بالطاقه فانها تعود الى مداراتها الاصليه وتفقد الطاقه التي اكتسبتها على شكل اشعه كهرومغناطيسييه، وبما ان عدد الالكترونات وتوزيعها في المدارات الخارجيه يختلف من عنصر لآخر فان طول موجة الضوء او الاشعه الصادره تكون مميزه للعنصر حيث ان لكل عنصر لون خاص باللهب اعتمادا على طوله الموجي ، وحيث ان شدة الاشعه المرسله من عنصر معين تتوقف على تركيز ذرات هذا العنصر في المحلول فان قياس شدة الاشعه تكون بمثابة قياس كمي للعنصر .



مثلا عند سحب 2 مل من المستخلص النباتي واطافة 18 مل ماء مقطر يكون عدد مرات التخفيف:

$$\text{عدد مرات التخفيف} = \frac{18 + 2}{2} = 10$$

يجب الانتباه الى ان :

1. جهاز الـ Flame photometer يقيس عناصر الليثيوم Li ، الكالسيوم Ca ، الصوديوم Na ، البوتاسيوم K لذلك عند القياس يجب التأكد من استخدام المرشح (الفلتر) الخاص بكل عنصر للتأكد من ان لون الضوء المميز للعنصر هو فقط المؤثر على الخليه الضوئية.
2. يجب الحصول على لهب أزرق قبل البدء بقراءة العينات كما يجب المحافظه على مستوى ثابت لضغط الهواء وغاز الاحتراق اثناء عملية التقدير.
3. يمكن تقدير عنصر الصوديوم في العينه النباتيه بنفس الطريقه السابقه وفي هذه الحاله يستخدم ملح يحتوي على الصوديوم مثل NaCl بدلا من KCl.
- 4 - تمتاز طريقة القياس باللهب بعدم الحاجه الى دلائل كيميائيه كما هو الحال بالاجهزه الفوتوكهربائيه.

استخلاص البوتاسيوم والصوديوم من العينه النباتيه

احيانا يتطلب العمل تقدير كل من البوتاسيوم والصوديوم فقط في العينه النباتيه، وفي هذه الحاله يمكن اجراء استخلاص لهذين العنصرين من العينه دون الحاجه الى هضم العينه النباتيه ويتم ذلك باستخدام محلول خلات الامونيوم المتعادله تركيز 1 عياري.

طريقة العمل:

دورق حجمي 100 مل ويكمل الى العلامه بالماء المقطر، وهكذا بالنسبه لبقية التراكيز، اذن الاحجام المطلوب سحبها من المحلول الاصلي لتحضير التراكيز السابقه هي على التوالي: 1 , 2 , 3 , 4 , 5 مل
يوضع كل حجم من الحجم السابقه في دورق حجمي 100 مل ويكمل الى العلامه بالماء المقطر

2. بعد الانتهاء من تحضير المحاليل القياسيه نقوم بقراءتها بجهاز قياس العناصر باللهب جهاز الـ Flame photometer
- 3 - يرسم منحنى قياسي يوضح العلاقه بين تراكيز المحاليل القياسيه وقراءة الجهاز لهذه المحاليل
- 4 - يؤخذ المستخلص الحامضي للعينه النباتيه (سواء المحضر بطريقتة الحرق الجاف او الحرق الرطب) ويقرأ بجهاز قياس العناصر باللهب.
5. يتم تسقيط قراءة الجهاز لمستخلص العينه النباتيه على المنحنى القياسي للحصول على (ppm بعد التسقيط)

الحسابات:

$$\% K = \frac{\text{ppm بعد التسقيط}}{1000} \times \frac{\text{حجم المستخلص الكلي}}{100} \times \text{وزن العينه الجاف}$$

في حالة اجراء تخفيف لمستخلص العينه النباتيه يضرب الناتج بعدد مرات التخفيف الذي يمكن حسابه من العلاقه التاليه:

$$\text{عدد مرات التخفيف} = \frac{\text{مل مستخلص نباتي} + \text{مل ما مقطر}}{\text{مل مستخلص نباتي}}$$

$$\text{ppm بعد التسقيط} \times \frac{\text{حجم المستخلص الكلي}}{1000} \times \frac{100}{\text{وزن العينة الجاف}} \times \text{عدد مرات التخفيف} = \% K$$

$$5 \times \frac{100}{0.5} \times \frac{100}{1000} = \% K$$

$$0.5 = \% K$$

2. ملغم/كغم = ppm

$$\text{Ppm} = \text{النسبة المئوية} \% \times 10000$$

$$5000 = 10000 \times 0.5$$

3. غم/كغم

نسبة K هي 0.5 %

اي 0.5 غم K لكل 100 غم نبات

وزن النبات غم	K غم
100	0.5
1000	X

$$5 = X \text{ غم/كغم}$$

1 - يوزن 1 غم عينه نباتيه جافه ومطحونه وتوضع في دورق تفاعل.

2 . يضاف 40 مل من محلول خلات الامونيوم 1 عياري ثم يرغ الدورق في جهاز رجاج نصف ساعه.

3 - يرشح ويستقبل الراشح في دورق حجمي 100 مل مع غسل الدورق عدة مرات بمحلول خلات الامونيوم حتى الوصول الى العلامه.

4 - يستخدم جهاز الـ Flame photometer لحساب تركيز Na، K بوجود المحاليل القياسيه الخاصه بكل عنصر بنفس الطريقه السابقه.

مثال:

عينه نباتيه جافه وزنها 0.5 غم هضمت واكمل الحجم النهائي الى 100 مل، قدر البوتاسيوم في العينه فكان ppm من المنحنى (بعد التسقيط) 5 فاذا علمت ان العينه قد تم تخفيفها باخذ 5 مل مع 20 مل ماء مقطر احسب نسبة البوتاسيوم بالنبات

بوحداث:

1 . نسبه مئويه% 2 . ملغم/كغم 3 . غم/كغم

الحل:

مل مستخلص نباتي + مل ما مقطر

عدد مرات التخفيف = -----

مل مستخلص نباتي

20 + 5

$$5 = \frac{\text{-----}}{5}$$

5

الحل:

2K غم	K ₂ SO ₄ غم
-----	-----
78	174
1	x

X = 2.23 غم من K₂SO₄ للحصول على 1000 ppm بوتاسيوم

غم ملح K₂SO₄ ppm

-----	-----
1000	2.23
x	0.223

X = 100 جزء بالمليون تركيز البوتاسيوم في المحلول.

او يحل بطريقه اخرى:

2K غم	K ₂ SO ₄ غم
-----	-----
78	174
x	0.223

X = 0.0999 غم بوتاسيوم

99.9 = 1000 × 0.0999 ويساوي تقريبا 100 = 100 جزء بالمليون تركيز

البوتاسيوم.

مثال:

حضر محلول قياسي للبوتاسيوم من ملح KCl بتركيز 50 ppm في دورق حجمي

100 مل، علما ان الاوزان الذريه: Cl: 35.5 K: 39

الحل: 1 ppm = 1 mg/ L

50 ppm = 50mg/L

ml	mg
-----	-----
1000	50
100	x
X = 5	
=5mg/ 100ml	
5mg =0.005 g	
غم K	غمKCl
-----	-----
39	74.5
0.005	x

X = 0.0095 غم يوزن من الملح ويوضع في دورق 100 مل ويكمل الى العلامه

بالماء المقطر

مثال:

تم تحضير محلول قياسي للبوتاسيوم وذلك باذابة 0.223 غم من ملح K₂SO₄ في

دورق حجمي لتر، احسب تركيز البوتاسيوم في هذا المحلول ؟

الدرس العملي العاشر

المحلول المغذي

المحلول المغذي هو محلول يحتوي على مجموعة من العناصر الغذائية الضرورية التي يحتاجها النبات بنسب ثابتة ومعلومه وفي حالة اتزان، وهذه العناصر هي العناصر الكبرى (N , P , K , Ca , Mg , S) والعناصر الصغرى (Fe , Zn ,) (Mn , Cu, B, Mo) ويتم تحضير هذا المحلول من املاح نقيه تحتوي على العناصر الغذائية السابقه، وفي حالة دراسة اهمية عنصر غذائي معين يتم حذف هذا العنصر من المحلول المغذي على ان يتم تعويض ملح العنصر الغذائي المحذوف بملح اخر للمحافظة على ازموزية المحلول، ويطلق على عملية نمو النبات في المحلول المغذي مصطلح هيدروپونكس Hydroponics وهي كلمه يونانيه مكونه من Hydro وهي الماء و ponics وهي عمل اي عمل الماء بينما الزراعه بالتريه يطلق عليها Geoponics.

لا يوجد محلول غذائي واحد يصلح لكافة النباتات ويرجع ذلك الى اختلاف النباتات في احتياجاتها للعناصر الغذائية فقد يكون تركيب المحلول مناسباً لنبات معين وغير مناسب لنبات اخر كذلك تختلف حاجة النبات الواحد للعناصر الغذائية باختلاف عمر النبات ومراحل نموه المختلفه.

هناك نقاط مهمه يجب ملاحظتها عند تحضير المحاليل المغذية:

- 1 - استخدام املاح نقيه في عملية التحضير.
- 2 - ان يحتوي المحلول المغذي على الكميات المناسبه من العناصر الغذائية التي يحتاجها النبات كما يجب ان تكون النسبه بين العناصر مناسبه للاحتياجات النباتيه.
- 3 - يجب المحافظه على درجة تفاعل المحلول المغذي (الـ pH) بين (4.5 - 6.5).
- 4 - ان يكون الضغط الازموزي للمحلول المغذي بين (1 - 0.5) ض.ج.

س/ تم تحضير محلول قياسي للبوتاسيوم من ملح K_2SO_4 في دورق حجمي لتر ثم حضر من هذا المحلول محلول قياسي ثاني بتركيز 0.5 ppm و ذلك بسحب 1 مل من المحلول الاول ووضعه في دورق حجمي 100 مل واكمل الحجم الى العلامه بالماء المقطر، احسب كمية الملح المستخدمه لتحضير المحلول القياسي الاول.

س/ تم تحضير محلول قياسي للبوتاسيوم وذلك باذابة 0.0557 غم من ملح K_2SO_4 في ربع لتر ماء مقطر، احسب تركيز البوتاسيوم في هذا المحلول.

ppm

$$\text{مليمكافئ/لتر} = \frac{\text{الوزن المكافئ}}{\text{-----}}$$

ومنه: ppm = مليمكافئ/لتر × الوزن المكافئ

ppm

$$\text{مليمول/لتر} = \frac{\text{الوزن الجزيئي}}{\text{-----}}$$

ومنه: ppm = مليمول/لتر × الوزن الجزيئي

$$\text{مليمول/لتر} \times \text{التكافؤ} = \text{مليمكافئ/لتر}$$

$$\text{مليمول/لتر} = \frac{\text{التكافؤ}}{\text{-----}}$$

1 - تحضير محلول مغذي مكون من ثلاث املاح

تعتبر المحاليل المغذية المكونه من ثلاث املاح من ابسط انواع المحاليل المغذيه، والاملاح الثلاثه المستخدمه في عملية التحضير هي:

- 1 - نترات الكالسيوم $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ وزنه الجزيئي : 236
- 2 - فوسفات البوتاسيوم KH_2PO_4 وزنه الجزيئي : 136
- 3 - كبريتات المغنيسيوم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ وزنه الجزيئي : 246

مصادر تلوث المحلول المغذي يعتبر التلوث احد المعوقات الرئيسييه التي تواجه تحضير المحاليل المغذيه والتي تقلل من كفاءة وفعالية المحلول المغذي، واهم مصادر هذا التلوث:

- 1 - الاملاح والماء المستخدمين في عملية تحضير المحلول المغذي، فيجب ان تكون الاملاح على درجه عاليه من النقاوه كذلك الماءيجب ان يكون مقطر خالي من الايونات.
- 2 - الاوعيه التي يوضع فيها المحلول المغذي وتعتبر الاوعيه المصنوعه من زجاج الباريكس هي الاوعيه الاكثر ملائمة لهذا الغرض.
- 3 - البذور التي قد تكون ملوثه ببعض العناصر الصغرى مثل النحاس والزنك.

تحضير المحاليل المغذيه

- 1- محلول مغذي يتم تحضيره من ثلاث املاح ويحتوي على ستة عناصر كبرى وهي (N , P , K , Ca , Mg , S).
- 2- محلول مغذي يتم تحضيره من اربعة املاح ويحتوي على العناصر الكبرى السابقه. وفي كلا المحلولين تضاف العناصر الصغرى التي يحتاجها النبات بكميات صغيره وعلى شكل محلول واحد.

تستخدم العلاقات التاليه عند تحضير المحاليل المغذيه:

$$\text{ppm} = \frac{\text{ملغم}}{\text{لتر}}$$

$$\text{المولار} = \frac{\text{وزن جزيئي}}{\text{لتر}}$$

الوزن الجزيئي

$$\text{الوزن المكافئ} = \frac{\text{-----}}{\text{التكافؤ}}$$

التكافؤ

1 - نترات الكالسيوم: 5 مليمول

مليمول × التكافؤ = مليمكافئ/ لتر

$$\text{Ca}^{+2} = 2 \times 5 = 10 \text{ مليمكافئ/ لتر}$$

$$\text{NO}_3^- = 2 \times 5 = 10 \text{ مليمكافئ/ لتر}$$

2 - فوسفات البوتاسيوم: 5 مليمول

$$\text{K}^+ = 1 \times 5 = 5 \text{ مليمكافئ/ لتر}$$

$$\text{H}_2\text{PO}_4^- = 1 \times 5 = 5 \text{ مليمكافئ/ لتر}$$

3 - كبريتات المغنيسيوم : 2 مليمول

$$\text{Mg}^{+2} = 2 \times 2 = 4 \text{ مليمكافئ/ لتر}$$

$$\text{SO}_4^{-2} = 2 \times 2 = 4 \text{ مليمكافئ/ لتر}$$

يجب ان يكون هناك اتزان بين الايونات في المحلول المغذي أي أن:

مجموع الكاتيونات يجب ان يساوي مجموع الانيونات

الملح	انيونات			كاتيونات		
	SO_4^{-2}	H_2PO_4^-	NO_3^-	Mg^{+2}	K^+	Ca^{+2}
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	---	---	10	----	---	10
KH_2PO_4	---	5	---	----	5	---
MgSO_4	4	---	---	4	----	---
			19			19

مجموع الكاتيونات = مجموع الانيونات

اذن

يتم تحضير محلول 1 مولر من كل ملح كل على حده - فمثلا اذا اريد تحضير

محلول مغذي بتركيز: نترات الكالسيوم 5 مليمول

فوسفات البوتاسيوم 5 مليمول

كبريتات المغنيسيوم 2 مليمول

نأخذ الوزن الجزيئي لـ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ وهو (236) غم ويذوب في دورق حجمي

لتر ويكمل الى العلامة بالماء المقطر - تركيز المحلول النهائي 1 مولر.

نأخذ الوزن الجزيئي لـ KH_2PO_4 وهو (136) غم ويذوب في دورق حجمي لتر

ويكمل الى العلامة بالماء المقطر - تركيز المحلول النهائي 1 مولر.

نأخذ الوزن الجزيئي لـ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ وهو (246) غم ويذوب في دورق حجمي

لتر ويكمل الى العلامة بالماء المقطر - تركيز المحلول النهائي 1 مولر.

وحيث ان: 1 مولر = 1000 مليمول = 1000 سم³

اذن 1 سم³ = 1 مليمول

5 سم³ = 5 مليمول

للحصول على 5 مليمول من $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ نسحب 5 سم³ من الدورق 1

مولر $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ويوضع في دورق حجمي فارغ حجم 1 لتر للحصول

على 5 مليمول من KH_2PO_4 نسحب 5 سم³ من الدورق 1 مولر KH_2PO_4

ويوضع في الدورق السابق

للحصول على 2 مليمول من $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ نسحب 2 سم³ من الدورق 1

مولر $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ويوضع في نفس الدورق السابق، ثم يملأ هذا الدورق الى

النصف بالماء المقطر (ويضاف 1 سم³ من محلول العناصر الصغرى + 1 سم³ من

محلول الحديد) ويتم ضبط الـ pH للمحلول بعدها يكمل الدورق الى العلامة بالماء

المقطر.

نحسب تراكيز المحاليل السابقة بالملمكافئ/ لتر للتأكد من حالة الاتزان حيث ان

الكاتيونات يجب ان تساوي الانيونات:

يمكن من خلالها دراسة تغير عنصر معين دون تغير تراكيز العناصر الأخرى، وهذه الأملاح هي:

- 1 - نترات الكالسيوم $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 5 مليمول
- 2 - نترات البوتاسيوم KNO_3 5 مليمول
- 3 - فوسفات البوتاسيوم KH_2PO_4 1 مليمول
- 4 - كبريتات المغنيسيوم MgSO_4 2 مليمول

يتم تحضير 1 مولر من كل ملح كل على حده وذلك بإذابة الوزن الجزيئي لكل ملح في ورق معياري واحد لتر، ثم يؤخذ من الدورق الأول 5 سم³ للحصول على 5 مليمول نترات كالسيوم، ويؤخذ من الدورق الثاني 5 سم³ للحصول على 5 مليمول نترات البوتاسيوم ويؤخذ من الدورق الثالث 1 سم³ للحصول على 1 مليمول فوسفات بوتاسيوم بينما يؤخذ من الدورق الرابع 2 سم³ للحصول على 2 مليمول كبريتات مغنيسيوم، توضع هذه الأحجام في ورق معياري حجم لتر ثم تضاف العناصر الصغرى (يضاف 1 سم³ من محلول العناصر الصغرى + 1 سم³ من محلول الحديد) ويكمل الحجم الى لتر بالماء المقطر.

لحساب التراكيز السابقة على شكل ppm :

المكافئ × الوزن المكافئ = ppm

$$\text{ppm } 200 = 20 \times 10 = \text{Ca}^{+2}$$

$$\text{ppm } 620 = 62 \times 10 = \text{NO}_3^-$$

$$\text{ppm } 195 = 39 \times 5 = \text{K}^+$$

$$\text{ppm } 485 = 97 \times 5 = \text{H}_2\text{PO}_4^-$$

$$\text{ppm } 48 = 12 \times 4 = \text{Mg}^{+2}$$

$$\text{ppm } 192 = 48 \times 4 = \text{SO}_4^{-2}$$

تحضير محلول العناصر الصغرى:

يتكون محلول العناصر الصغرى (عدا الحديد) من الأملاح التالية التي تذوب جميعها في ورق واحد حجم لتر:

- 1 - حامض البوريك 2.86 غم/لتر.
- 2 - كلوريد المنغنيز 1.81 غم/لتر.
- 3 - كبريتات الزنك 0.221 غم/لتر.
- 4 - كبريتات النحاس 0.081 غم/لتر.
- 5 - حامض الموليبيدك 0.021 غم/لتر.

تحضير محلول الحديد:

يحضر بإذابة 0.5 غم من نترات الحديد في 100 مل ماء مقطر.

2 - تحضير محلول مغذي مكون من أربعة أملاح:

من أهم عيوب المحاليل المغذية المكونة من ثلاث أملاح هو أن أي محاولة لتغيير تركيز أي كاتيون يتبعه تغير في تركيز الأنيون المرافق للكاتيون في الملح، ولهذا لا يمكن دراسة تأثير تغير التركيز لأيون معين لأن الأيون المرافق له في الملح سيتغير تركيزه أيضاً، من أجل ذلك وجدت المحاليل المغذية المكونة من أربعة أملاح والتي

مثال: حضر لتر واحد من محلول مغذي يحتوي على التراكيز التاليه:

ppm 744 : NO₃⁻ ppm 160 : Ca
 ppm 192 : SO₄⁻² ppm 48 : Mg
 ppm 97 : H₂PO₄⁻ ppm 195 : K

الحل: نحسب التراكيز على اساس الملمكافئ/ لتر للتأكد من حالة الاتزان:

$$\begin{aligned} & \text{الملمكافئ/ لتر} = \frac{\text{ppm}}{\text{الوزن المكافئ}} \\ & \text{Ca} : \frac{160}{8} = 20 \text{ ملمكافئ} \\ & \text{Mg} : \frac{48}{4} = 12 \text{ ملمكافئ} \\ & \text{K} : \frac{195}{39} = 5 \text{ ملمكافئ} \\ & \text{NO}_3 : \frac{744}{62} = 12 \text{ ملمكافئ} \\ & \text{SO}_4 : \frac{192}{48} = 4 \text{ ملمكافئ} \end{aligned}$$

97

$$\text{H}_2\text{PO}_4 : \frac{97}{1} = 97 \text{ ملمكافئ}$$

نحدد الاملاح التي سوف تستخدم في تحضير المحلول المغذي بشرط وجود حالة الاتزان بين الايونات حيث ان الكاتيونات يجب ان تساوي الانيونات:

المح	انيونات			كاتيونات		
	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻²	NO ₃ ⁻	K ⁺	Mg ⁺²	Ca ⁺²
Ca(NO ₃) ₂	---	---	8	----	---	8
MgSO ₄	---	4	---	----	4	---
KNO ₃	----	----	4	4	----	---
KH ₂ PO ₄	1	----	---	1	----	----
	17			17		

اذن مجموع الكاتيونات = مجموع الانيونات
 نحسب التركيز على اساس المليمول :
 المليمكافئ
 المليمول = -----
 التكافؤ

$$4 \text{ مليمول} = \frac{8}{2} = \text{Ca(NO}_3)_2$$

$$2 \text{ مليمول} = \frac{4}{2} = \text{MgSO}_4$$

$$4 \text{ مليمول} = \frac{4}{1} = \text{KNO}_3$$

$$1 \text{ مليمول} = \frac{1}{1} = \text{KH}_2\text{PO}_4$$

يحضر بعد ذلك محلول 1 مولر من كل ملح من الاملاح الاربعه السابقه وذلك باذابة الوزن الجزيئي لكل ملح في دورق حجمي لتر ثم يكمل كل دورق الى العلامه بالماء المقطر.

لتحضير 4 مليمول $\text{Ca(NO}_3)_2$: نسحب 4 مل من الدورق 1 مولر لملح $\text{Ca(NO}_3)_2$ ويوضع في دورق حجمي لتر

لتحضير 2 مليمول MgSO_4 : نسحب 2 مل من الدورق 1 مولر لملح MgSO_4 ويوضع في نفس الدورق الحجمي السابق

لتحضير 4 مليمول KNO_3 : نسحب 4 مل من الدورق 1 مولر لملح KNO_3 ويوضع في الدورق الحجمي السابق

لتحضير 1 مليمول KH_2PO_4 : نسحب 1 مل من الدورق 1 مولر لملح KH_2PO_4 ويوضع في الدورق الحجمي السابق

يملا الدورق السابق الى النصف بالماء المقطر ثم تضاف العناصر الصغرى (يضاف 1 سم³ من محلول العناصر الصغرى + 1 سم³ من محلول الحديد) ويتم ضبط الـ pH وبعدها يكمل الى العلامه بالماء المقطر.