

TCVN 7593 : 2006

ISO 15473 : 2002

Xuất bản lần 1

**CHẤT LƯỢNG ĐẤT –
HƯỚNG DẪN THỬ TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM ĐỐI VỚI
QUÁ TRÌNH PHÂN HỦY SINH HỌC CỦA CÁC CHẤT
HỮU CƠ TRONG ĐẤT Ở ĐIỀU KIỆN YẾM KHÍ**

*Soil quality – Guidance on laboratory testing for biodegradation
of organic chemicals in soil under anaerobic conditions*

HÀ NỘI – 2008

Lời nói đầu

TCVN 7593 : 2006 hoàn toàn tương đương với ISO 15473 : 2002.

TCVN 7593 : 2006 do Ban kĩ thuật Tiêu chuẩn TCVN / TC 190 "*Chất lượng đất*" biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành .

Tiêu chuẩn này được chuyển đổi năm 2008 từ Tiêu chuẩn Việt Nam cùng số hiệu thành Tiêu chuẩn Quốc gia theo quy định tại Khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 6 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật.

Lời giới thiệu

Các chất hữu cơ có thể được đưa vào đất theo cách chủ định và không chủ định, sau đó chúng có thể bị phân hủy do các hoạt động sinh học. Đối với các hóa chất phân hủy, tốc độ phân hủy có thể thay đổi đáng kể phụ thuộc không chỉ vào cấu trúc phân tử của hóa chất, mà còn phụ thuộc vào điều kiện đất như nhiệt độ, nước và oxy có trong đất làm ảnh hưởng đến hoạt tính vi sinh vật. Hoạt tính của các loài vi sinh vật thường đóng vai trò chính trong quá trình phân hủy.

TCVN 6499 (ISO 11266 [3]) đưa ra các hướng dẫn chung về cách lựa chọn và các phương pháp thử để xác định độ phân hủy sinh học của các chất hữu cơ trong đất ở điều kiện hiếu khí.

Phải có sẵn phép thử trong phòng thí nghiệm để ước lượng tốc độ và mức độ sự phân hủy sinh học ở điều kiện yếm khí, và để đánh giá khả năng phân hủy các hóa chất hữu cơ của đất trong những điều kiện này.

Tiêu chuẩn này cũng đưa ra hướng dẫn về phương pháp thử để xác định độ phân hủy sinh học của các chất hữu cơ trong đất ở điều kiện yếm khí.

Chất lượng đất – Hướng dẫn thử trong phòng thí nghiệm đối với quá trình phân hủy sinh học của các chất hữu cơ trong đất ở điều kiện yếm khí

Soil quality – Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under anaerobic conditions

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này đưa ra hướng dẫn cách lựa chọn và các phương pháp thử phù hợp để xác định quá trình phân hủy sinh học các chất hữu cơ trong mẫu đất ở điều kiện yếm khí.

CHÚ THÍCH Nếu phương pháp nhằm mục đích thử để đăng ký hóa chất, nên tham khảo thêm các yêu cầu thử bổ sung trong Hướng dẫn của OECD về sự phân hủy trong đất [20].

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất.

TCVN 5960 : 1995 (ISO 10381-6 : 1993) Chất lượng đất – Lấy mẫu – Hướng dẫn về thu thập, vận chuyển và lưu giữ mẫu đất để đánh giá các quá trình hoạt động của vi sinh vật hiếu khí tại phòng thí nghiệm.

TCVN 5979 : 1995 (ISO 10390 : 1994) Chất lượng đất – Xác định pH.

TCVN 6642 : 2000 (ISO 10694 : 1995) Chất lượng đất – Xác định hàm lượng cacbon hữu cơ và cacbon tổng số sau khi đốt khô (phân tích nguyên tố).

TCVN 6646 : 2000 (ISO 11260 : 1994) Chất lượng đất – Xác định khả năng trao đổi cation thực tế và độ bão hòa bazơ bằng cách sử dụng dung dịch bari clorua.

TCVN 6498 : 1999 (ISO 11261 : 1995) Chất lượng đất – Xác định nitơ tổng – Phương pháp kenden (Kjeldahl) cải biên.

TCVN 7593 : 2006

TCVN 7594 : 2006 (ISO 11271) Chất lượng đất – Xác định quá trình oxy hóa khử – Phương pháp đồng ruộng.

TCVN 6651 : 2000 (ISO 11274 : 1998) Chất lượng đất – Xác định đặc tính giữ nước – Phương pháp trong phòng thí nghiệm.

TCVN 6862 : 2001 (ISO 11277 : 1998) Chất lượng đất – Xác định sự phân bố cấp hạt trong đất khoáng – Phương pháp rây và sa lắng.

TCVN 6865 : 2001 (ISO 14239 : 1997) Chất lượng đất – Các hệ thống ủ trong phòng thí nghiệm để đo quá trình khoáng hóa các chất hữu cơ trong đất ở điều kiện hiếu khí.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau:

3.1

Phân hủy sinh học (biodegradation)

Sự phân hủy phân tử của một chất hữu cơ do hoạt động của các sinh vật sống.

[TCVN 6858 : 2001 (ISO 11266)].

3.2

Phân hủy sinh học sơ cấp (primary biodegradation)

Sự phân hủy của một chất đến mức đủ để làm mất đi một vài tính chất đặc trưng của phân tử ban đầu. Trên thực tế, điều này được xác định bằng phân tích sự tiêu hao của hợp chất ban đầu hay một vài chức năng đặc thù của hợp chất ban đầu.

[TCVN 6858 : 2001 (ISO 11266)].

3.3

Phân hủy sinh học hoàn toàn (ultimate biodegradation)

Sự phá hủy một hợp chất hữu cơ thành cacbon dioxit, mêtan, nước, muối vô cơ của bất kỳ nguyên tố nào có mặt và các sản phẩm kết hợp với các quá trình yếm khí thông thường của vi sinh vật.

3.4

Sự chuyển hóa yếm khí (anaerobic transformation)

Phản ứng xảy ra trong điều kiện không có oxy (điều kiện khử).

CHÚ THÍCH Phản ứng nói chung xảy ra khi thế oxy hóa khử (E_h) nhỏ hơn 200 mV [17].

3.5

Tính bền (persistence)

Thời gian tồn tại của các loại hóa chất trong điều kiện môi trường xác định.

[TCVN 6858 : 2001 (ISO 11266)].

3.6

DT-50**Thời gian phân hủy 50** (disapperarance time 50)

Khoảng thời gian để nồng độ của hợp chất đã cho giảm 50% giá trị ban đầu của nó.

[TCVN 6858 : 2001 (ISO 11266)].

3.7**DT-90****Thời gian phân hủy 90** (disapperarance time 90)

Khoảng thời gian để nồng độ của hợp chất đã cho giảm 90 % giá trị ban đầu của nó.

[TCVN 6858 : 2001 (ISO 11266)].

3.8**Cặn liên kết** (bound residue)**Cặn không chiết tách được** (non-extractable residue)

Các chất có cùng nguồn gốc trong đất, ví dụ các phân tử hữu cơ không chiết tách được bằng các phương pháp mà không làm thay đổi đáng kể bản chất hóa học của những cặn này.

CHÚ THÍCH Các chất cặn không thể chiết tách này là không tính đến phần tái tuần hoàn qua quá trình trao đổi chất dẫn tới các sản phẩm tự nhiên [12].

3.9**Đất** (soil)

Là lớp trên cùng của vỏ trái đất bao gồm các hạt vô cơ, chất hữu cơ, nước, không khí và các sinh vật.

[TCVN 6495-1 : 1999 (ISO 11074-1)]

3.10**Chất thử** (test substance)

Hóa chất được thêm vào hệ thống thử trong cuộc điều tra nghiên cứu.

3.11**Đất bão hòa** (saturated soil)

Phần đất được bão hòa nước hoàn toàn.

4 Nguyên tắc

Hai phương pháp thử thích hợp được mô tả:

- a) Ủ một hợp chất thử trong đất ở điều kiện sinh ra khí metan và monitoring quá trình phân hủy sinh học của chúng.

TCVN 7593 : 2006

b) ủ một hợp chất thử trong đất ở điều kiện ngập nước và monitoring quá trình phân hủy sinh học của chúng.

Phương pháp (b) tương tự với điều kiện yếm khí tự nhiên, trong khi đó phương pháp (a) sử dụng các hóa chất để làm giảm thế oxy hóa - khử thấp trong đất, và là phương pháp được lựa chọn để đo thế đối với quá trình phân hủy trong đất ở điều kiện sinh ra khí metan. Đối với phương pháp đất ngập nước, việc thiết lập thế oxy hóa khử thấp mất nhiều thời gian hơn trong điều kiện sinh ra khí metan của phép thử.

Nếu lựa chọn điều kiện đất ngập nước, đất sẽ tạo nên các điều kiện phụ thuộc vào bản chất của đất. Các điều kiện như vậy có thể là khử nitrat (từ 450 mV đến 200 mV, pH 7), khử sắt (từ +150 mV đến -100 mV, pH7), hoặc khử sunphat (từ -50 mV xuống -200 mV, pH 7). Nếu điều kiện sinh ra khí metan được lựa chọn, thế oxy hóa khử sẽ nhỏ hơn -200 mV.

Phương pháp ngập nước thích hợp hơn đối với đất hiếu khí đang quá trình chuyển sang yếm khí. Điều kiện sinh ra khí metan thường thích hợp hơn đối với đất có bề mặt đầm lầy hữu cơ (luôn luôn ngập nước), bãi chôn lấp và đất được cải tạo bằng bùn.

CHÚ THÍCH Đất hữu cơ chứa các chất hữu cơ dễ phân hủy có thể đạt được điều kiện sinh ra khí metan ngay cả trong điều kiện thử ngập nước.

Sau khi thêm hợp chất thử vào đất đã được chọn (5.1), sự phân hủy sinh học được đo trong điều kiện yếm khí thông qua việc sinh ra cacbon dioxit, metan và các chất dễ bay hơi khác. Nếu phải xác định các hợp chất dễ bay hơi thì nên sử dụng ^{14}C (phóng xạ). Sự phân hủy của hợp chất thử cũng có thể đo được bằng các phân tích chất đặc thù.

Cũng có thể sử dụng chất thử có đánh dấu phóng xạ để xác định tốc độ phân hủy của hợp chất thử và sự tạo thành các chất chuyển hóa và các chất cặn không chiết tách được. Sự chuyển hóa có thể được nhận biết bằng các phương pháp phân tích phù hợp.

5 Vật liệu

5.1 Đất

5.1.1 Lựa chọn và lấy mẫu

Nếu thuận tiện, đất được chọn để thử phải lấy ngay tại nơi đã dự đoán là có tiếp xúc với hóa chất. Tuy nhiên, nếu không lấy được mẫu do ô nhiễm đã xảy ra từ trước đó thì đất được chọn phải có những tính chất gần giống với đất bị ô nhiễm.

Lý lịch thực địa của đất sử dụng phải được xem xét và cần phải lưu ý đến các quá trình cải tạo đất gần đây như canh tác và sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Phải có các dữ liệu chính xác về nơi lấy mẫu, về vị trí của nó, tình trạng thoáng khí (màu sắc, chế độ nước, mùi) về các thực vật hiện có hoặc mùa màng trước đó, thời gian lấy mẫu từ thực địa và độ sâu lấy mẫu.

5.1.2 Các đặc tính của đất

Hiểu biết về các đặc tính của đất là điều rất cần để giải thích một cách đầy đủ các kết quả nghiên cứu. Vì vậy, ít nhất cần phải tiến hành những phân tích sau đối với mẫu đất đã lựa chọn.

a) Tính chất lý học:

- 1) Cấp hạt, phân tích theo TCVN 6862 : 2001 (ISO 11277);
- 2) Hàm lượng nước thực địa, theo phương pháp thích hợp;
- 3) Sức chứa ẩm toàn phần và/hoặc đặc tính giữ nước theo TCVN 6651 : 2000 (ISO 11274).

b) Tính chất hóa học:

- 1) pH của đất, theo TCVN 5979 : 1995 (ISO 10390), hoặc pH trong dung dịch KCl hay dung dịch CaCl_2 ;
- 2) Hàm lượng chất hữu cơ, theo TCVN 6642 : 2000 (ISO 10694);
- 3) Khả năng trao đổi cation (CEC), theo TCVN 6646 : 2000 (ISO 11260 : 1994);
- 4) Hàm lượng nitơ, theo TCVN 6498 : 1999 (ISO 11261 : 1995).
- 5) Thế oxy hóa – khử, theo TCVN 7594 (ISO 11271).

c) Tính chất sinh học:

Cần phải xác định sinh khối vi sinh vật đất. Có thể xác định bằng phương pháp thích hợp, ví dụ phương pháp đo hô hấp cảm ứng chất nền [4]. Tuy nhiên, nếu sự phân hủy sinh học hiếu khí chiếm ưu thế trong đất lựa chọn thì nên sử dụng phương pháp xông hơi [5].

5.2 Vật liệu thử

Các chất được dùng để thử phải là các hợp chất tinh khiết (độ tinh khiết hóa học > 95 % phần khối lượng). Cần phải xem xét đến ảnh hưởng của bất cứ chất mang hoặc thành phần tạo thành.

Các dữ liệu về các hợp chất sau đây rất quan trọng để giải thích các kết quả:

- Tên (IUPAC);
- Cấu trúc;
- Khối lượng tương đối của phân tử;
- Dữ liệu về độ tinh khiết và bản chất hóa học của tạp chất chính;
- Tính ổn định trong nước và trong dung môi hữu cơ;
- Tính hòa tan trong nước;
- Áp suất hơi;
- Hệ số thành phần octanol/nước;
- Hằng số hấp thụ;
- Hằng số phân ly axit;
- Đối với các hóa chất được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ:
- Bản chất và vị trí của dấu;

TCVN 7593 : 2006

- Hoạt tính riêng;
- Độ tinh khiết hóa chất phóng xạ.

CHÚ THÍCH Kết quả của những nghiên cứu sử dụng các chất đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ phụ thuộc vào vị trí của đồng vị phóng xạ. Do vậy vị trí đánh dấu trong cấu trúc phân tử cần được xem xét cẩn thận.

5.3 Dụng cụ thủy tinh và thiết bị

Các thiết bị và dụng cụ thủy tinh phòng thí nghiệm thông thường, và các thiết bị sau:

5.3.1 Bình đáy tròn (khoảng 250 ml và 500 ml)

5.3.2 Thùng đựng đá.

5.3.3 Cột chứa đồng khử.

5.3.4 Đường khí với bơm tiêm và kim tiêm.

5.3.5 Ống nghiệm thủy tinh hoặc bình có nút bằng cao su butyl

5.3.6 Pipet có ống nghiệm PVC đường kính trong từ 0,5 mm đến 1 mm

5.3.7 Bơm tiêm kín khí (10 ml, 20 ml, 50 ml và 100 ml)

5.3.8 Thiết bị và điện cực để đo thế oxy hóa khử

Ngoài ra, đối với nghiên cứu sử dụng vật liệu thử là cacbon đánh dấu ^{14}C

5.3.9 Hỗn hợp chất nhấp nháy

5.3.10 Máy đếm chất nhấp nháy dạng dung dịch

5.3.11 Lọ đựng chất nhấp nháy

5.4 Thuốc thử

Tất cả hóa chất được sử dụng phải là tinh khiết phân tích.

5.4.1 Nitơ không chứa oxy, **heli (tinh khiết)** hoặc **argon**

5.4.2 Titan (III) clorua

5.4.3 Natri xitrat

5.4.4 Kali dihydrophosphat (KH_2PO_4)

5.4.5 Dinatri hydrophosphat ngậm 2 nước ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

5.4.6 Natri cacbonat

5.4.7 Titan(III) xitrat

Chuẩn bị titan xitrat như sau. Trung hòa 5 ml titan (III) clorua (15 %) (5.4.2) trong 50 ml dung dịch natri xitrat 0,2 mol/l (5.4.3) bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa (5.4.6), lọc nếu cần, và bảo quản trong khí không chứa oxy.

6 Thu thập, xử lý và bảo quản đất

Nếu quá trình hiếu khí chiếm ưu thế trong đất thu thập, phải tuân thủ TCVN 5960 : 1995 (ISO 10381-6) để đảm bảo đạt tối đa khả năng sống của vi sinh vật trong quá trình lấy mẫu. Nếu quá trình yếm khí chiếm ưu thế trong đất thu thập thì quá trình lấy mẫu, xử lý và bảo quản mẫu phải giảm thiểu sự tiếp xúc của mẫu đất với oxy.

7 Cách tiến hành

7.1 Thêm chất thử

Nồng độ được dùng trong thử nghiệm phụ thuộc vào mục đích thí nghiệm (ví dụ nồng độ có thể xảy ra ở điều kiện ngoài hiện trường) và phụ thuộc vào chất thử sẽ được dùng:

- Cho đất; hoặc
- Cho pha lỏng phủ đất.

Điều kiện yếm khí phải được thiết lập trong hệ thống thử nghiệm trước khi chất thử được dùng cho pha nước.

Chất thử có thể được bổ sung theo các cách sau:

- a) Trong nước (phụ thuộc vào độ hòa tan trong nước);
- b) Hòa tan trong dung môi hữu cơ có lẫn nước (phụ thuộc vào độ hòa tan trong dung môi). Lượng dung môi cần dùng để hòa tan hợp chất phải hạn chế đến mức thấp nhất (<1 %). Cần phải tính đến độ độc và độ phân hủy sinh học của dung môi.
- c) Chất rắn, ví dụ trộn với cát thạch anh (trước khi trộn với đất).

Phải cẩn thận để tránh bổ sung chất thử ở mức gây độc. Những hợp chất độc hoặc hợp chất có hiệu ứng ức chế đối với vi sinh vật trong đất ở nồng độ đó sẽ cản trở quá trình xác định độ phân hủy sinh học.

7.2 Ủ trong điều kiện sinh ra khí metan

7.2.1 Chuẩn bị môi trường ủ không có oxy

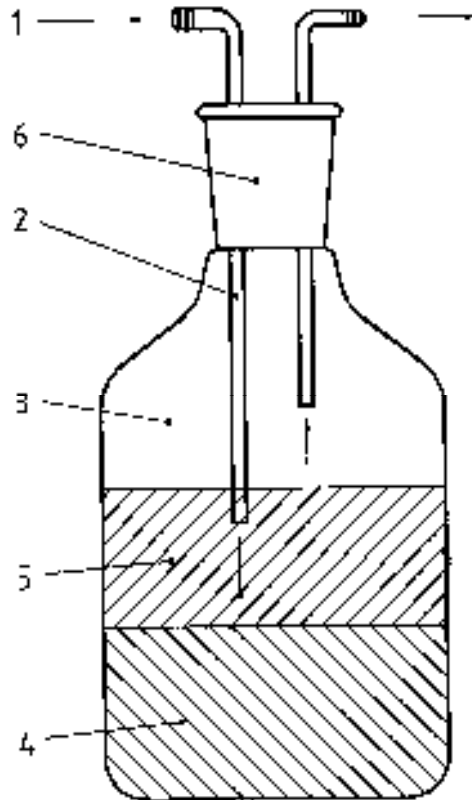
Lấy khoảng 100 ml nước vào bình đáy tròn dung tích 250 ml hoặc 500 ml (5.3.1), đặt kim tiêm (5.3.4) vào trong nước và thổi vào cột một dòng khí nitơ hoặc heli không chứa oxy (5.4.1) đã đi qua cột đồng được gia nhiệt (350 °C) (5.3.3). Đun sôi nước trong khi vừa sục khí nitơ không chứa oxy trong khoảng 1 min. Sau đó, bình nước được duy trì ở điều kiện yếm khí bằng cách thay thế hơi nitơ hoặc heli không chứa oxy bằng thùng được làm mát trong đá. Sau khi làm mát, thêm titan (III) xitrat (5.4.7) $c = 0,8$ mmol/l, KH_2PO_4 (5.4.4) $\rho = 0,27$ g/l và $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5.4.5) $\rho = 0,56$ g/l và hòa tan (dưới đây gọi là “đệm không oxy”) [7].

7.2.2 Hệ thống ủ

Hệ thống ủ được dùng phải đảm bảo duy trì được điều kiện yếm khí.

Một số các hệ thống nhỏ là có sẵn [7, 8, 9, 13, 14, 16, 18].

Hệ thống được mô tả trong tiêu chuẩn này bao gồm một bình thủy tinh (250 ml) (5.3.5) và một hệ thống khí có bơm tiêm và kim tiêm (5.3.4). Xem ví dụ về một hệ thống ở hình 1. Hệ thống ống được dùng phải không thấm khí (ví dụ cao su butyl dầy). Bình phải được đóng kín bằng nút cao su. Tuy nhiên, mọi hệ thống khác phù hợp đều được sử dụng miễn là hệ thống đó phải theo hướng dẫn của tiêu chuẩn này.



Chú giải

1. Nitơ không có oxy
2. Ống thủy tinh hoặc kim tiêm
3. Bình
4. Đất
5. Đệm
6. Nút

Hình 1 - Ví dụ về một hệ thống ủ cho nghiên cứu phân hủy yếm khí trong đất

Nếu phải đo các chất dễ bay hơi như $^{14}\text{CO}_2$, cần sử dụng hệ thống ủ lọc khí hoặc hệ thống ủ đo sinh học như mô tả trong TCVN 6865 : 2001 (ISO 14239). Trong hệ thống lọc khí, phải sử dụng khí trơ. Hệ thống như ở hình 1 là thích hợp cho một hệ thống lọc khí.

7.2.3 Ủ

7.2.3.1 Chuẩn bị

Chia đất thành các phần nhỏ, mỗi phần ít nhất là 40 g (tương đương khối lượng khô) và được đưa vào bình ủ (5.3.5). Cho một lượng vừa đủ dung dịch đệm không chứa oxy đã chuẩn bị vào mỗi bình có chứa đất (ít nhất lượng chất lỏng phải cao hơn bề mặt đất khoảng 1 cm), dung dịch đệm này phải được sục

TCVN 7593 : 2006

dòng khí trợ không chứa oxy liên tục trong suốt quá trình chuẩn bị bằng một kim tiêm. Đệm phải đưa vào bằng pipét thích hợp với ống PVC mỏng, dài (5.3.6, xem [7]). Sau khi rút kim tiêm, đóng ngay nút cao su butyl của bình. Dùng kim tiêm chọc xuyên qua nút để tránh cho áp suất không bị vượt quá quy định và cho phép thu hồi mẫu khí để phân tích, hoặc để nối với hệ thống ống như trong hình 1.

Nói chung cần phải ủ ít nhất hai lần nhắc lại cho một điểm lấy mẫu. Tuy nhiên, độ chính xác của phép thử càng cao nếu như tăng số lần nhắc lại mẫu ủ.

Cần đồng thời làm mẫu đối chứng. Mẫu này có đất và lượng dung dịch đệm đã sử dụng cho vật liệu thử trong các mẫu đã được xử lý.

Đất không bổ sung chất phụ gia có thể được dùng làm mẫu đối chứng.

7.2.3.2 Điều kiện ủ

7.2.3.2.1 Duy trì điều kiện yếm khí

Sự phân hủy sinh học yếm khí trong đất được xem là chiếm ưu thế nếu thế oxy hóa khử nhỏ hơn khoảng 200 mV. Kiểm chứng độ yếm khí, xem 7.2.3.3.

7.2.3.2.2 Nhiệt độ

Nhiệt độ ủ phải được lựa chọn theo mục tiêu cụ thể của nghiên cứu. Nói chung, hoạt tính tối đa của vi sinh vật trong đất đạt được ở khoảng từ 25 °C đến 35 °C. Đối với đất ở vùng khí hậu ôn hòa, nhiệt độ từ 10 °C đến 25 °C là đủ và nhiệt độ này đặc trưng hơn cho điều kiện tự nhiên.

Cần phải đo và ghi lại nhiệt độ tối đa và tối thiểu tại những khoảng thời gian đều đặn trong suốt quá trình ủ và nhiệt độ này không được thay đổi quá ± 2 °C.

7.2.3.2.3 Chiếu sáng

Thử nghiệm phải được tiến hành trong bóng tối.

7.2.3.3 Kiểm chứng độ yếm khí

Thỉnh thoảng kiểm tra độ yếm khí trong suốt quá trình nghiên cứu bằng cách đo thế oxy hóa khử theo TCVN 7594 : 2006 (ISO 11271).

Kết thúc thử nghiệm, đo nồng độ Fe hòa tan, nồng độ Mn hòa tan và nồng độ $\text{NH}_4^+/\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$.

7.2.3.4 Thời gian thử

Thời gian tối thiểu tiến hành một phép thử không được đề xuất, nhưng vì hoạt tính vi sinh trong đất giảm khi thời gian ủ kéo dài nên quá trình thử không nên kéo dài quá 100 ngày.

7.2.3.5 Lấy mẫu

Cần tiến hành lấy mẫu ở những khoảng thời gian đều đặn trong quá trình ủ, tần suất lấy mẫu tùy thuộc vào thời gian tiến hành thử và tốc độ phân hủy sinh học của chất thử. Để xây dựng được đường cong phân hủy yêu cầu phải có ít nhất năm điểm lấy mẫu. Vì nhiều vật liệu phân hủy nhanh ở giai đoạn đầu của quá trình ủ, tần suất lấy mẫu nên như sau: 0, 2, 4, 8, 16, 40 và 100 ngày sau khi dùng chất thử. Đối

với các phương pháp lấy mẫu phá hủy, ví dụ như khi phân tích đất trực tiếp, thì thử toàn bộ đất của từng bình ủ riêng biệt.

7.3 Ủ trong điều kiện ngập nước

Cho nước ngập lên đất (khoảng 1 cm trên bề mặt đất) để đạt được điều kiện yếm khí trong đất. [19, 20].

Cách tiến hành theo từ 7.2.1 đến 7.2.3.5 nhưng thay dùng dung dịch đệm (7.2.3) bằng sử dụng nước.

Hệ thống ngập nước này có giá trị thế oxy hóa khử cao hơn hệ thống được xử lý bằng dung dịch đệm không chứa oxy (7.2). Thông thường, hệ thống ngập nước có giá trị thế oxy hóa - khử dương trong khi hệ thống dùng dung dịch đệm không chứa oxy có giá trị âm.

7.4 Monitoring sự phân hủy

7.4.1 Khái quát

Phương pháp phân tích được lựa chọn để monitoring quá trình phân hủy sinh học sẽ tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu và yêu cầu dữ liệu về phân hủy sinh học sơ cấp và/hoặc phân hủy sinh học hoàn toàn.

Các phân tích tùy thuộc vào chính hóa chất và có sử dụng hợp chất đánh dấu phóng xạ hay không.

Nói chung cần xem xét các phân tích sau:

a) Đối với phân hủy sơ cấp (các chất không đánh dấu):

- Sự tiêu hao của chất ban đầu.

b) Đối với quá trình trao đổi chất, kể cả phân hủy hoàn toàn (các chất được đánh dấu):

- Xác định các chất dễ bay hơi, cả chất ban đầu và chất chuyển hóa;
- Xác định lượng nước hoặc dung môi chiết tách được;
- Xác định lượng cặn liên kết không chiết tách được.

Đối với việc xác định các vật liệu chiết tách được thì phải sử dụng loại dung môi không ảnh hưởng đến chất ban đầu hoặc chất chuyển hóa của chúng. Phải cẩn thận khi tiến hành quá trình chiết tách để lượng chiết tách đạt được tối đa. Phân tích các chất chuyển hóa và chất ban đầu có thể thực hiện khi dùng sắc ký bản mỏng (TLC), sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) và sắc ký khí (GC).

7.4.2 Đo sự tạo thành $^{14}\text{CO}_2$

Xác định $^{14}\text{CO}_2$ tạo ra theo phương pháp được quy định trong TCVN 6865 : 2001 (ISO 14239).

7.4.3 Đo sự tạo thành $^{14}\text{CH}_4$

Xác định $^{14}\text{CH}_4$ tạo ra thông qua oxy hóa $^{14}\text{CO}_2$ sử dụng đồng oxit. Trước khi tiến hành quy trình này, cần cung cấp cách thức bẫy CO_2 sinh ra tự nhiên bằng vôi soda trong thí nghiệm này.

8 Biểu thị kết quả

Tất cả các dữ liệu phải được trình bày dưới dạng bảng và đồ thị (đường cong phân hủy).

TCVN 7593 : 2006

Giá trị DT-50 và DT-90 phải được tính toán bằng cách sử dụng, ví dụ mô hình được mô tả ở [15] hoặc các mô hình thích hợp khác.

Thông tin có ích bổ sung bao gồm việc xác định các hợp chất dễ bay hơi, sự tạo thành và thời gian tồn tại của chất trao đổi và cặn không chiết tách được.

CHÚ THÍCH

Nếu không quan sát được quá trình phân hủy sinh học, các nguyên nhân có thể là:

- a) Chất thử là độc;
- b) Chất thử không phân hủy sinh học;
- c) Hoạt tính của vi sinh vật trong đất bằng không.
- d) Chất thử không có hiệu lực sinh học (do sự bay hơi hoặc hấp phụ).

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải gồm những thông tin sau:

- a) Dữ liệu về chất thử (xem 5.2);
- b) Dữ liệu về đất đã sử dụng (xem 5.1);
- c) Dữ liệu về qui trình thử, phương pháp thử đã sử dụng, nồng độ đã sử dụng, phương pháp áp dụng, dữ liệu về tính năng của phép thử, độ yếm khí, dữ liệu về lấy mẫu,... (xem điều 5);
- d) Dữ liệu về phương pháp phân tích đã sử dụng, ví dụ, giới hạn phát hiện, quy trình kiểm soát chất lượng, các chất đối chứng đã phân tích;
- e) Dữ liệu chưa xử lý về kết quả phân tích;
- f) Cân bằng khối lượng, nếu sử dụng chất thử là ^{14}C đánh dấu (tùy chọn);
- g) Đánh giá và kết luận của đánh giá.

Danh mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6827 : 2001 (ISO 9408 : 1999) Chất lượng nước - Đánh giá sự phân hủy sinh học hiếu khí hoàn toàn của các hợp chất hữu cơ trong môi trường nước bằng cách xác định nhu cầu oxi trong máy đo hô hấp kín.
- [2] TCVN 6495-1 : 1999 (ISO 11074-1 : 1996) Chất lượng đất – Từ vựng. Phần 1: Thuật ngữ và định nghĩa liên quan đến bảo vệ và ô nhiễm đất.
- [3] TCVN 6858 : 2001 (ISO 11266 : 1994) Chất lượng đất – Hướng dẫn thử trong phòng thí nghiệm đối với quá trình phân hủy sinh học của các chất hữu cơ trong đất ở điều kiện kỵ khí.
- [4] TCVN 6856 -1 : 2001 (ISO 14240-1 : 1997) Chất lượng đất – Xác định sinh khối vi sinh vật đất – Phần 1: Phương pháp đo hô hấp cảm ứng chất nền.
- [5] TCVN 6856 -2 : 2001 (ISO 14240-1 : 1997) Chất lượng đất – Xác định sinh khối vi sinh vật đất – Phần 1: Phương pháp chiết xông hơi.
- [6] AHLRICHS, J.L. in: Organic Chemical in the Soil Environment, Goring, C.A.I., and Hamaker J.W., eds., Dekker, New York, 1972, p.40.
- [7] ALEF, K., NANNIPIERI, P. Method in applied soil microbiology and biochemistry, Academic Press, London, 1995, pp. 271-310.
- [8] ATTAWAY, H.H., PAYNTER, M.J.B. and CAMPER, N.D. Degradation of selected phenylurea herbicides by anaerobic pond sediment, J. Environ. Sci. Health, B17 (6), 1982, pp.683-699.
- [9] BELAND, F.A., FARWELL, S.O. and GEER, R.D. Anaerobic degradation of 1,1,1,2-Tetrachloro-2,2-bis (p-chlorophenyl)ethane (DTE), J.Agr.Food Chem., 22, 1974, pp. 1148-1149.
- [10] GOWDA, T.K.S and SETHUNATHAN, N. Persistence of Endrin in Indian soils under flooded conditions, J. Agric. Food Chem., 24, 1976, pp. 750-753.
- [11] HEALY, J.B. and YOUNG, L.Y. Anaerobic biodegradation of eleven aromatic compounds to methane, Appl. and Environ. Microbiol., 38, 1979, pp. 84-89.
- [12] KEARNEY, Ph. C.IUPAC Pesticide Commission report, Technical communication, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 65, 1982, pp. 1030-1032.
- [13] MADSEN, T., BECK-RASSMUSSEN, H., NILSSON, L. Methods for screening anaerobic biodegradability and toxicity of organic chemicals, Miljøprojekt No. 336, 1996.
- [14] SHELTON, D.R. and TIEDJE, J.M. General method for determining anaerobic biodegradation potential, Appl. Environ. Microbiol., 47 (4), 1984, pp. 850-857.
- [15] TIMMER, G., FREHSE, H. and LASKA, V. Interpretation and graphischen Darstellung des Abbauverhaltens von Pflanzenschutzmittel-Rückständen, II. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 39, 1986, pp. 188-204.

TCVN 7593 : 2006

[16] WARD, T.E. Aerobic and anaerobic biodegradation of nitrilotriacetate in subsurface soils, *Ecotoxicol. Environmental Safety*, 11, 1986, pp. 112-125.

[17] WOLFE, N.L., MINGELGRIN U., MILLER, G. Abiotic transformations in water, sediments and soils. In: Cheng, H.H. (ed), *Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modelling*, SSSA book Series 2, 1990, pp. 103-168.

[18] ZORO, J.A., HUNTER, J.M., EGLINTON, G. and WARE, G.C. Degradation of p,p'-DDT in reducing environments, *Nature*, 247, 1974, pp. 235-237.

[19] U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC, *Pesticide Assessment Guiderlines*, Subdivision N Chemistry: Environmental Fate, Oct. 18, 1982, 162-2 Anaerobic soil metabolism studies.

[20] OECD Guideline 307 for Testing of chemicl, Final Document (2000) Aerobic and anaerobic Transformations in soil.

