

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**

Soil quality – Determination of soil microbial biomass

Part 1: Substrate-induced respiration method

HÀ NỘI - 2001

Lời nói đầu

TCVN 6856 - 1 : 2001 hoàn toàn tương đương với ISO 14240 -1 : 1997.

TCVN 6856 - 1 : 2001 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC190 Chất lượng đất biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

Chất lượng đất – Xác định sinh khối vi sinh vật đất

Phần 1: Phương pháp đo hô hấp cảm ứng chất nền

Soil quality – Determination of soil microbial biomass

Part 1 :Substrate-induced respiration method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp đánh giá sinh khối vi sinh vật hiếu khí, dị dưỡng đang hoạt động trong đất nông nghiệp để ải và đất khoáng.

Tiêu chuẩn này không áp dụng để xác định ảnh hưởng của hoá chất đối với sinh khối.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

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 6862 : 2001 (ISO 11277:1998) Chất lượng đất – Xác định sự phân bố theo kích thước hạt phân tán trong vật liệu đất khoáng - Phương pháp sàng và lắng gạn .

TCVN 6648 : 2000 (ISO 11465 : 1993) Chất lượng đất – Xác định chất khô và hàm lượng nước trên cơ sở khối lượng – Phương pháp khối lượng.

3 Định nghĩa

Trong phạm vi của tiêu chuẩn này áp dụng các định nghĩa sau

3.1 Sinh khối vi sinh vật của đất:

Khối lượng các tế bào vi sinh vật nguyên vẹn trong lượng đất đã cho.

TCVN 6856-1 : 2001

Chú thích - Thông số này có thể được đánh giá bằng cách đo hàm lượng cacbon hoặc nitơ của các tế bào này hoặc bằng cách đo khả năng khoáng hoá nguồn cacbon bổ xung của các tế bào đó. Các tế bào chết và các mảnh tế bào có thể phát hiện được bằng phương pháp phân tích nitơ và cacbon, nhưng chỉ các tế bào nguyên vẹn mới phát hiện được bằng phương pháp hô hấp.

3.2 Tốc độ hô hấp của đất

Thể tích cacbon dioxit thoát ra từ một đơn vị khối lượng đất trong một đơn vị thời gian.

4 Nguyên tắc

Đất được bổ xung glucoza theo một dãy nồng độ tăng dần cho tới khi tốc độ hô hấp đạt tới cực đại (thường trong một giờ đầu của thí nghiệm). Từ tốc độ này, được gọi là tốc độ hô hấp ban đầu cực đại, có thể đánh giá sinh khối đang hoạt động.

5 Điều kiện thử

Quá trình xác định sinh khối sống phải được tiến hành ở nhiệt độ không đổi $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ và hàm lượng ẩm không đổi. Hàm lượng nước trong đất phải tương tự với môi trường nơi đất được lấy mẫu.

Chú thích - Hệ số sử dụng để chuyển đổi tốc độ hô hấp thành biểu đồ sinh khối (xem điều 9) được tính ở nhiệt độ $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

6 Vật liệu và thuốc thử

6.1 Đất, các tính chất sau đây của đất cần được xác định:

a) Tính chất lý học:

- phân bố theo kích thước hạt, theo TCVN 6862 : 2001 (ISO 11277);
- hàm lượng nước trong thời gian ủ, theo TCVN 6648 : 2000 (ISO 11465);

b) Tính chất hóa học:

- pH của đất, theo TCVN 5979 : 1995 (ISO 10390), hoặc xác định trong dung dịch KCl hay dung dịch CaCl_2 ;
- hàm lượng chất hữu cơ, theo TCVN 6642 : 2000 (ISO 10694);

Hướng dẫn việc thu thập, vận chuyển và lưu giữ mẫu đất theo TCVN 5960 : 1995 (ISO 10381 - 6) nếu có thể được, áp dụng càng nhiều càng tốt.

6.2 D-glucoza nghiền mịn

6.3 Cát thạch anh mịn, kích thước hạt từ 0,1 mm đến 0,5 mm, hoặc bột tan để trộn với glucoza (6.2).

7 Thiết bị, dụng cụ

Thiết bị thông thường trong phòng thí nghiệm và các dụng cụ, thiết bị sau:

7.1 Cối sứ, để nghiền glucoza (6.2) với cát thạch anh hoặc bột tan (6.3)

7.2 Máy trộn xách tay chạy điện

7.3 Thiết bị đo tốc độ cacbon dioxit (CO₂) thoát ra từ mẫu đất trong từng khoảng thời gian nhất định. Có thể dùng thiết bị phân tích khí hồng ngoại tự động, sắc ký khí hoặc bất kỳ một phương pháp nào thích hợp.

8 Cách tiến hành

8.1 Xác định nồng độ glucoza tối ưu

Cho một lượng dư glucoza (6.2) vào mẫu đất cần thử (6.1) để xác định nồng độ glucoza mà ở tại nồng độ này khí CO₂ thoát ra quan sát được. Cần phải đảm bảo chắc chắn rằng lượng glucoza bổ sung không gây ảnh hưởng ức chế, nghĩa là phát triển điều kiện thẩm thấu ngược.

Cần chuẩn bị đủ (ít nhất năm) mẫu để xác định dãy nồng độ glucoza thích hợp

Chú thích 1 - Thí dụ, dãy nồng độ glucoza đối với đất canh tác khoảng từ 500 mg/kg đến 6 000 mg/kg.

Nghiền kỹ glucoza trong cối sứ (7.1) với cát thạch anh hoặc bột tan (6.3) ở tỷ lệ 1 : 5 và sau đó trộn với đất.

Chú thích 2 - Cỡ của mẫu đất thử tùy thuộc vào lượng đất có sẵn, hoạt tính vi sinh vật của đất và phương pháp xác định CO₂ được dùng.

Sau mỗi giờ, đo tốc độ CO₂ thoát ra từ từng mẫu đất bằng các thiết bị đã được chọn (7.3), ít nhất trong vòng sáu giờ. Ở giai đoạn này không cần đo lại.

Xác định nồng độ glucoza mà ở đó lượng CO₂ thoát ra với tốc độ cực đại quan sát được.

8.2 Xác định sinh khối vi sinh vật

Tiến hành qui trình như ở 8.1 trong mẫu lặp lại (ít nhất ba mẫu đồng thời), chỉ sử dụng nồng độ glucoza mà ở đó cho lượng CO₂ cực đại.

Chú thích - Có thể xác định sinh khối bằng sử dụng qui trình 8.1 nếu như có đủ mẫu để lặp lại.

9 Tính toán kết quả

Tính sinh khối từ tốc độ CO₂ thoát ra thấp nhất nhận được sau khi bắt đầu đo, sử dụng công thức sau:

$$X = 40 R + 0,37$$

trong đó:

X là nồng độ cacbon vi sinh vật đất, tính bằng miligam / kilogam

R là tốc độ CO₂ thoát ra, tính bằng mililit/kilogam/giờ.

Chú thích: 40 là hệ số tương quan giữa tốc độ hô hấp và lượng sinh khối vi sinh vật đất đo được bằng phương pháp xông hơi và bằng phương pháp ủ trong phụ lục A, tài liệu tham khảo [5]

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm những thông tin sau:

- a) tính chất của đất (xem 6.1);
- b) thông tin trong qui trình thử, có nghĩa là phương pháp luận, thiết bị và máy móc được sử dụng (xem điều 8);
- c) dữ liệu thô, số liệu và/ hoặc bảng kết quả phân tích.

Phụ lục A

(tham khảo)

Tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6642 : 2000 (ISO 10694 : 1995) Chất lượng đất - Xác định hàm lượng cacbon hữu cơ và cacbon tổng số sau khi đốt khô.
- [2] TCVN 6646 : 2000 (ISO 11260 : 1994) Chất lượng đất – Xác định khả năng trao đổi cation thực tế và độ bão hoà bazơ bằng cách sử dụng dung dịch bary clorua.
- [3] TCVN 6858 : 2001 (ISO11266 : 1994) Chất lượng đất – Hướng dẫn thử trong phòng thử nghiệm đối với quá trình phân huỷ sinh học của các chất hữu cơ trong đất trong điều kiện hiếu khí.
- [4] Andéon, J.P.E và DOMSCH, K.H.A Phương pháp sinh lý học để đo số lượng sinh khối vi sinh trong đất. Soil Biol. Bichem., 10.1978, trang 215-221.
- [5] JENKINSON D.S. và Powlson, D.S. Hiệu ứng của việc sử lý biocidal lên quá trình trao đổi chất trong đất V. Phương pháp đo sinh khối của đất. Soil Biol. Bichem., 8.1976, trang 209-213.
-