

TCVN 6856 - 2 : 2001

ISO 14240 - 2 : 1997

**CHẤT LƯỢNG ĐẤT –
XÁC ĐỊNH SINH KHỐI VI SINH VẬT ĐẤT
Phần 2: PHƯƠNG PHÁP CHIẾT XÔNG HƠI**

Soil quality – Determination of soil microbial biomass

Part 2: Fumigation-extraction method

HÀ NỘI - 2001

Lời nói đầu

TCVN 6856 - 2 : 2001 hoàn toàn tương đương với ISO 14240 -2 : 1997.

TCVN 6856 - 2 : 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 2: Phương pháp chiết - xông hơi

Soil quality - Determination of soil microbial biomass

Part 2: Fumigation-extraction method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp đánh giá sinh khối vi sinh vật của đất bằng cách đo toàn bộ lượng vật liệu sinh khối hữu cơ có thể chiết được từ các vi sinh vật mới bị giết. Phương pháp cũng được sử dụng để đánh giá nitơ của vi sinh vật và nitơ hoạt hoá bằng ninhydrin của vi sinh vật trong đất, nhưng tiêu chuẩn này chỉ mô tả cách đo cacbon hữu cơ chiết được. Phương pháp chiết xông hơi (CXH) sử dụng cho đất khô và ướt (ngập úng, ruộng lúa nước) với tất cả giá trị pH của đất. Sinh khối được xác định trong đất có chứa các chất nền phân huỷ mạnh và đất bão hoà dung dịch kali sunphat.

Chú thích - Sự xông hơi bằng clorofom cũng ảnh hưởng tới hệ động vật đất. Phần đóng góp cacbon của các cơ thể loại này thường nhỏ (< 5%) và có thể bỏ qua.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

TCVN 5960 : 1995 (ISO 10381-6: 1993) Chất lượng đất - Lấy mẫu - Hướng dẫn 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 6642 : 2000 (ISO 10694: 1995) Chất lượng đất - Xác định cacbon hữu cơ và cacbon tổng số sau khi đốt khô (phân tích nguyên tố).

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 sử dụng các định nghĩa sau

TCVN 6856 - 2: 2001

3.1 sinh khối vi sinh vật đất

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

Chú thích - Thông số này có thể được đánh giá bằng cách đo 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.

4 Nguyên tắc

Bằng cách xông hơi mẫu đất, các tế bào nguyên vẹn được hoà tan và chất hữu cơ vi sinh vật được giải phóng. Chất hữu cơ của đất không ở thể sống thì không bị ảnh hưởng của việc xông hơi. Các mẫu đất được xông hơi cloroform trong 24 h. Cacbon hữu cơ chiết bằng dung dịch kali sunphat 0,5 mol/l được xác định cho mẫu xông hơi và không xông hơi và hiệu số của cacbon hữu cơ chiết được sử dụng để xác định lượng cacbon sinh khối vi sinh vật. Phương pháp này thường được gọi là chiết xông hơi.

5 Vật liệu và thuốc thử

5.1 Đất

Hướng dẫn thu thập, vận chuyển và lưu giữ mẫu đất theo TCVN 5960 : 1995 (ISO 10381-6) nếu sử dụng được. Nếu yêu cầu các mẫu đất cần phải đồng nhất thì sàng các mẫu ở khả năng giữ nước (KNGN) là 40 %.

Xác định khả năng giữ nước của đất (KNGN) theo phụ lục A.

Hàm lượng nước của mẫu phải cao hơn khả năng giữ nước 30 % để đảm bảo độ phân tán đều của cloroform và để cho sự xông hơi có hiệu quả. Cần chú ý tránh làm đất ướt đóng khối và ố bần. Mẫu lấy từ đất ngập nước không phải sấy khô trước khi phân tích.

5.2 Thuốc thử

Sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, bao gồm

5.2.1 Mỡ silicon (độ nhớt trung bình)

5.2.2 Clorofom không có rượu etylic.

Cảnh báo: Khi có ánh sáng, clorofom không có rượu etylic phân huỷ nhanh tạo thành khí phosgen (COCl_2) không mùi và rất độc.

5.2.3 Dung dịch kali sunphat, $c(\text{K}_2\text{SO}_4) = 0,5 \text{ mol/l}$ ($\rho = 87,135 \text{ g/l}$).

5.2.4 Vôi xút

6 Thiết bị, dụng cụ

6.1 Phòng hoặc phòng ủ có khả năng duy trì nhiệt độ $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$.

6.2 Bình hút ẩm được bảo vệ chống nổ.

6.3 Giấy lọc¹⁾

6.4 Cốc đốt thủy tinh

6.5 Đĩa petri

6.6 Chai nhựa polyetylen, dung tích 250 ml.

6.7 Hệ tạo chân không (bơm tia nước hoặc bơm điện)

6.8 Máy lắc nằm ngang hoặc đứng

6.9 Tủ đá, hoạt động ở -15°C đến -20°C

6.10 Hạt chống trào

7 Xông hơi và chiết

7.1 Xông hơi

Lót bình hút ẩm (6.2) bằng giấy lọc ẩm (6.3) để xông hơi mẫu đất.

Cân ít nhất ba mẫu đất ẩm (5.1) trong cốc đốt thủy tinh (6.4) (hoặc trong đĩa Petri) (5.6), mỗi mẫu chứa khối lượng tương đương với 25 đến 50 g đất khô kiệt. Sau đó đặt chúng vào bình hút ẩm cùng với cốc đốt chứa 25 ml cloroform không chứa rượu etylic (5.2.2), cho một ít hạt chống trào (6.10) vào cốc cloroform và cốc đốt chứa vôi xút (5.2.4). Tạo chân không cho bình hút ẩm cho tới khi cloroform bên trong bình sôi mạnh khoảng 2 phút. Đóng khoá chân không của bình hút ẩm và để ở phòng ủ (6.1) có nhiệt độ $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ trong bóng tối trong khoảng 22h đến 24 h.

Nếu như không có đủ đất thì dùng mẫu nhỏ hơn nhưng giữ cho tỉ lệ khối lượng đất và dung môi chiết không đổi (1:4). Trong đất có chứa chất hữu cơ nhiều hơn 20 % (nếu đã xác định theo TCVN 6642 : 2000 (ISO 10694 : 1995)) thì tăng tỉ lệ đất: dung môi trên 1:4 (cho tới tối đa là 1:30 đối với đất chứa 95 % chất hữu cơ, ví dụ tầng thảm mục) để thu được chất được chiết. Ghi lại lượng đất đã sử dụng.

Sau khi xông hơi kết thúc, lấy cốc cloroform và giấy lọc ra khỏi bình hút ẩm. Sau đó tiến hành tách hơi cloroform trong mẫu đất bằng cách hút chân không bình hút ẩm (lặp lại sáu lần mỗi lần hai phút) và mẫu đất có thể mang đi chiết được.

¹ Whatman No42, Schleicher & Schull 595 1/2, Machery & Nagel 261 G 1/4 là ví dụ về những sản phẩm thích hợp có sẵn trên thị trường. Thông tin này chỉ tạo điều kiện thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này, chứ không đưa ra sự xác nhận của tiêu chuẩn đối với chất lượng của chúng.

TCVN 6856 - 2: 2001

Cho ba mẫu đối chứng ẩm không xông hơi (50 g khối lượng khô) vào chai nhựa PE (6.6) và dùng 200 ml dung dịch kali sunphat (5.2.3) để chiết ngay như chỉ dẫn ở điều 7.2.

7.2 Chiết

Để chiết tách cacbon hữu cơ, chuyển mẫu đất vào chai nhựa PE (6.6) thật cẩn thận, cho thêm 200 ml dung dịch kali sunphat (5.2.3), lắc chai trên máy lắc nằm ngang (6.8) ở tốc độ 200 vòng/phút trong 30 phút hoặc máy lắc đứng ở tốc độ 60 vòng / phút trong 45 phút và lọc dung môi chiết qua giấy lọc (6.3). Chiết đối chứng không xông hơi và lọc dung môi chiết cũng như vậy.

Nếu như không phân tích ngay, bảo quản dịch chiết của mẫu đất xông hơi và không xông hơi ở tủ đá (6.9) giữ ở nhiệt độ từ -15 °C đến -20 °C. Trước khi sử dụng làm tan dịch chiết đến nhiệt độ phòng và đồng nhất chúng.

Chú thích

- 1 Trong khi bảo quản dung môi chiết thường xuất hiện kết tủa trắng (đặc biệt khi giữ ở nhiệt độ đông lạnh) bởi vì chúng thường bị bão hoà với canxi sunphat (CaSO_4). Không cần hoà tan lượng canxi sunphat dư này vì nó không tác dụng với bất cứ hoá chất nào trong quá trình tiến hành phân tích theo phương pháp này.
- 2 Các màng tế bào của các rễ non, sống cũng bị ảnh hưởng qua quá trình xông hơi bằng clorofom. Nếu như đất có chứa nhiều rễ cây sống cần phải tiến hành thêm một qui trình xử lý trước khi chiết theo phụ lục B.

8 Xác định cacbon trong dịch chiết

Hàm lượng cacbon của vi sinh vật trong mẫu đất được xác định bằng cách phân tích và hàm lượng này có thể sử dụng để so sánh các mẫu đất khác nhau. Nếu như cần số liệu về sinh khối vi sinh vật hiện tại, thì lúc đó các phân tích như vậy được nhân với hệ số chuyển đổi được rút ra từ các thực nghiệm, tương quan giữa khối lượng tế bào đã biết với lượng cacbon sau khi xông hơi và chiết tách. Tất cả các hệ số chuyển đổi đã sử dụng đều tương quan theo hệ số ban đầu này.

Xác định hàm lượng cacbon trong dịch chiết bằng phương pháp oxy hoá dicromat (8.1) hoặc phương pháp phân tích trên máy (8.2).

8.1 Xác định cacbon sinh khối vi sinh vật bằng phương pháp oxy hoá dicromat

8.1.1 Nguyên tắc

Trong môi trường axit mạnh chất hữu cơ bị oxy hoá và Cr(VI) bị khử thành Cr (III). Lượng dicromat còn lại được chuẩn độ ngược.

8.1.2 Thuốc thử bổ sung

8.1.2.1 Kali dicromat, $c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = 0,0667 \text{ mol/l}$ (19,6125 g kali dicromat khô/lit nước).

Cảnh báo: Do bản chất nguy hại của kali dicromat, phải rất cẩn thận khi sử dụng và thải bỏ.

8.1.2.2 Axit photphoric, (H_3PO_4), $\rho = 1,71$ g/ml.

8.1.2.3 Axit sunfuric, (H_2SO_4), $\rho = 1,84$ g/ml.

8.1.2.4 Sắt (II) amoni sunphat, dung dịch chuẩn độ $c[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O] = 0,040$ mol/l.

Sắt (II) amoni sunphat (15,69 g) hoà tan trong nước cất, thêm 20 ml axit sunfuric (8.1.2.3), sau đó cho tiếp nước cất đến mức 1000 ml.

8.1.2.5 Dung dịch phức sunphat 1,10-phenanthrolin, 0,025 mol/l.

8.1.2.6 Hỗn hợp axit: Hai thể tích axit sunfuric (8.1.2.3) trộn với một thể tích axit photphoric (8.1.2.2).

8.1.3 Thiết bị bổ sung

8.1.3.1 Sinh hàn Liebig (làm lạnh bằng nước)

8.1.3.2 Bình đáy tròn 250 ml

8.1.3.3 Buret 10 ml, chia độ 0,05 ml

8.1.3.4 Pipet 2 ml

8.1.4 Cách tiến hành

Dùng pipet 2 ml (8.1.3.4) lấy 2 ml dung dịch kali dicromat (8.1.2.1) (P_D) và 15 ml hỗn hợp axit (8.1.2.6) cho vào 8 ml dịch chiết đã được lọc (7.1) (P_S) trong bình đáy tròn 250 ml (8.1.3.2). Đun hồi lưu nhẹ (8.1.3.1) toàn bộ hỗn hợp trong vòng 30 phút, sau đó làm lạnh và pha loãng với khoảng 20ml đến 25 ml nước qua đường sinh hàn để tráng.

Cũng tiến hành tương tự như vậy với mẫu trắng, có chứa 8 ml dung dịch K_2SO_4 (5.2.3)

Chú thích - Những mẫu trắng này còn được gọi là “mẫu trắng hồi lưu”.

Xác định lượng dicromat thừa bằng cách chuẩn độ ngược (8.1.3.3) với muối kép sunphat sắt (II) amoni (8.1.2.4) dùng một vài giọt dung dịch phức 1,10-phenanthrolin- sunphat sắt (II) (8.1.2.5) làm chỉ thị.

8.1.5 Tính toán kết quả

Tính lượng cacbon hữu cơ chiết ra được bằng công thức (1) và (2)

$$C(\mu\text{g/ml}) = [(V_H - V_S)/V_C] \times M P_D \times E \times 1000/P_S \quad \dots(1)$$

trong đó

V_S là thể tích dung dịch chuẩn độ (8.1.2.4) đã dùng để chuẩn mẫu, tính bằng mililít;

V_H là thể tích dung dịch chuẩn độ (8.1.2.4) đã dùng để chuẩn mẫu trắng hồi lưu, tính bằng mililít;

V_C là thể tích dung dịch chuẩn độ (8.1.2.4) đã dùng để chuẩn mẫu trắng không hồi lưu, tính bằng mililít;

M là $c(K_2Cr_2O_7)$, tính bằng mol trên lit;

TCVN 6856 - 2: 2001

P_D là thể tích dung dịch $K_2Cr_2O_7$ bổ sung, tính bằng mililit;

P_S là thể tích mẫu bổ sung, tính bằng mililit;

E là $3\{$ chuyển đổi cacbon hữu cơ $C[C]$ thành $CO_2[C(+IV)]\}$.

$$C(\mu\text{g/g đất khô}) = C(\mu\text{g/ml}) \times (P_K/D_W + S_W) \quad \dots(2)$$

trong đó

P_K là khối lượng dung môi chiết, tính bằng gam;

D_W là khối lượng đất khô (xác định theo TCVN 6648: 2000 (ISO 11465 : 1993)), tính bằng gam;

S_W là nước trong đất (g nước/ g đất khô) (xác định theo TCVN 6648: 2000 (ISO 11465 : 1993)).

Tính lượng cacbon sinh khối, B_C , theo công thức (3):

$$B_C = E_C/k_{EC} \quad \dots(3)$$

trong đó

E_C = (khối lượng cacbon hữu cơ chiết được từ đất được xông hơi) - (khối lượng cacbon hữu cơ chiết được từ đất không xông hơi)

$k_{EC} = 0,38$.

Chú thích - Hệ số k_{EC} được tính toán từ mối liên quan giữa kết quả của phương pháp ủ xông hơi và phương pháp chiết - xông hơi (12 loại đất).

8.2 Xác định cacbon sinh khối vi sinh vật bằng phân tích cacbon theo phương pháp quang phổ

8.2.1 Nguyên tắc

Với sự có mặt của kali persunphat ($K_2S_2O_8$), cacbon hữu cơ chiết được của đất bị oxy hoá thành cacbon dioxit và lượng cacbon dioxit được đo bằng phổ (IR) và (UV).

8.2.2 Thuốc thử bổ xung

8.2.2.1 Kali persunphat ($K_2S_2O_8$).

8.2.2.2 Axit photphoric (xem 8.1.2.2).

8.2.2.3 Natri polyphosphat $[(NaPO_3)_n]$, rất tinh khiết

8.2.2.4 Thuốc thử kali persunphat

Hoà tan 20 g kali persunphat (8.2.2.1) trong 900 ml nước cất, dùng axit phosphoric(8.2.2.2) điều chỉnh pH của dung dịch bằng 2 và sau đó cho nước cất vừa đủ đến 1000 ml.

8.2.2.5 Thuốc thử natri polyphosphat

Hoà tan 50 g natri polyphosphat (8.2.2.3) trong 900 ml nước cất, dùng axit phosphoric (8.2.2.2) điều chỉnh pH của dung dịch trên đến 2 sau đó thêm nước cất đến 1000 ml.

8.2.3 Thiết bị bổ sung

8.2.3.1 Máy phân tích cacbon tự động với bộ phát hiện hồng ngoại²⁾ hoặc với hệ thống dòng liên tục với đầu đo so màu³⁾.

Trong tiêu chuẩn này việc xác định cacbon sinh khối vi sinh vật dựa trên cơ sở oxy hoá cacbon hữu cơ bằng persunphat được hoạt hoá tia cực tím.

8.2.4 Cách tiến hành

Đối với phương pháp oxy hoá tự động bằng persunphat - tia cực tím, trộn 5 ml phần chiết từ đất bằng dung dịch kali sunphat (7.1) với 5 ml thuốc thử natri polyphosphat (8.2.2.5). Bất kỳ kết tủa nào của CaSO₄ đều được hoà tan trong quá trình này. Thuốc thử kali persunphat (8.2.2.4) được đưa một cách tự động vào buồng oxy hoá UV, ở đây sự oxy hoá thành CO₂ được thực hiện bằng tia cực tím. CO₂ tạo thành được đo bằng hấp thụ hồng ngoại hay bằng quang phổ UV.

8.2.5 Tính toán kết quả

Tính lượng cacbon hữu cơ chiết được (C) theo công thức (4):

$$C(\mu\text{g}/\text{g đất khô}) = [(V \times D_V) - (B \times D_B)] \times (P_k / D_w + S_w) \quad \dots(4)$$

trong đó

V là $C(\mu\text{g}/\text{ml})$ của mẫu;

B là $C(\mu\text{g}/\text{ml})$ của mẫu trắng;

D_V là độ pha loãng của mẫu bằng natri phosphat, tính bằng mililit;

D_B là độ pha loãng của mẫu trắng bằng natri phosphat, tính bằng mililit;

P_k xem công thức (2);

D_w xem công thức (2);

S_w xem công thức (2);

Tính lượng sinh khối B_c sử dụng công thức (5)

$$B_c = E_c / k_{EC} \quad \dots(5)$$

trong đó

$E_c = (\text{cacbon hữu cơ chiết được từ đất xông hơi}) - (\text{cacbon hữu cơ chiết được từ đất không xông hơi})$

² Dohrman DC 80, Maihak Tocor 4, là ví dụ về những máy thích hợp có sẵn trên thị trường. Thông tin này chỉ tạo điều kiện thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này, chứ không đưa ra sự xác nhận của tiêu chuẩn đối với chất lượng của chúng.

³ Skalar, Perstorp Alpkem, là ví dụ về những máy thích hợp có sẵn trên thị trường. Thông tin này chỉ tạo điều kiện thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này, chứ không đưa ra sự xác nhận của tiêu chuẩn đối với chất lượng của chúng.

TCVN 6856 - 2: 2001

$$k_{EC} = 0,45.$$

Chú thích

- 1 Hệ số k_{EC} được tính từ mối liên quan giữa kết quả của phương pháp ủ xông hơi và kết quả của phương pháp chiết - xông hơi (23 loại đất).
- 2 Có thể sử dụng phương pháp chiết - xông hơi kết hợp với nghiên cứu phân huỷ của các chất hữu cơ đánh dấu ^{14}C .

9 Độ chính xác

Những vấn đề chi tiết về độ chính xác thử liên phòng thí nghiệm của phương pháp được tổng kết ở phụ lục C. Những giá trị rút ra từ phép thử liên phòng thí nghiệm có thể không áp dụng được đối với dãy nồng độ và nguyên vật liệu khác với dãy nồng độ và nguyên vật liệu đã cho.

Phụ lục A

(qui định)

Phương pháp đo khả năng giữ nước của đất

A.1 Phạm vi áp dụng

Phương pháp này áp dụng để xác định giá trị khả năng giữ nước của đất cho các ứng dụng không đòi hỏi giá trị chính xác một cách tuyệt đối.

A.2 Nguyên tắc

Cho đất (không đầy) vào một ống đong có đáy đục lỗ, đập lại, nhúng ngập nước và làm ráo nước. Lượng nước giữ lại trong đất được xác định bằng cách cân và sấy đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 105 °C và cân lại.

A.3 Thiết bị

A.3.1 Ống đong, có dung tích biết trước, chiều dài khoảng 50 mm - 150 mm và đường kính từ 50 mm đến 100 mm, có lỗ ở đáy.

A.3.2 Nồi cách thuỷ (nhiệt độ phòng)

A.3.3 khay với lỗ thoát nước có chứa lớp cát thạch anh mịn, chiều dày từ 20mm đến 50 mm.

A.3.4 Tủ sấy, có thể duy trì được nhiệt độ 105 °C ± 2 °C.

A.3.5 Cân, có độ chính xác ± 0,01 g.

A.4 Cách tiến hành

Đập lỗ ở đáy ống đong (A.3.1) bằng giấy lọc và cân ống đong cùng giấy lọc. Cho đất vào ống đong (không đầy) và đập nút. Ngâm ống đong vào nồi cách thuỷ 2 h ở nhiệt độ phòng, lưu ý để mức nước thấp hơn đầu ống. Sau đó, hạ thấp đầu ống dưới mực nước trong 1 h. Lấy ống đong ra khỏi nồi cách thuỷ và đặt lên khay thoát nước có cát (A.3.3) và để ráo nước trong vòng từ 2h đến 24 h tùy thuộc vào loại đất. Cân ống đong, lấy riêng đất ra và sấy khô đến khối lượng không đổi ở 105 °C và cân lại.

A.5 Tính toán kết quả

Khả năng giữ nước (*KNGN*) được tính bằng phần trăm theo công thức sau

$$KNGN = \frac{S - T - D}{D} \times 100$$

trong đó

S là khối lượng đất bão hoà nước + ống đong + giấy lọc, tính bằng gam;

T là khối lượng bì (khối lượng ống đong + giấy lọc), tính bằng gam;

D là khối lượng đất khô, tính bằng gam.

A.6 Biểu thị kết quả

Khả năng giữ nước của đất (*KNGM*) được biểu thị bằng phần trăm khối lượng đất khô.

Phụ lục B

(Tham khảo)

Đánh giá sinh khối vi sinh vật trong đất có chứa nhiều rễ cây sống -

Qui trình chiết sơ bộ

B.1 Thuốc thử bổ sung

B.1.1 Dung dịch kali sunphat $c(K_2SO_4) = 0,05 \text{ mol/l}$; (8,714 g/l kali sunphat rất tinh khiết).

B.2 Thiết bị bổ sung

B.2.1 Máy ly tâm

B.3 Cách tiến hành

Cho đất ẩm (25g đến 50 g khối lượng khô) vào bình thuỷ tinh 250 ml có chứa 100 ml dung dịch kali sunphat (B.1.1) để chiết trong vòng 20 min trên máy lắc 200 vòng/phút và sàng (đối với đất canh tác kích thước lỗ là 2mm, còn đối với đất đồng cỏ là 3mm). Rửa thật sạch rễ cây (và hạt đá nhỏ) trên sàng bằng 75 ml dung dịch kali sunphat bổ sung thêm (B.1.1) và sấy khô, cân chúng. Ly tâm (B.2.1) khoảng 500g huyền phù gồm đất và dung dịch kali sunphat trong bình thuỷ tinh trong 15 phút. Sau đó chất nước lọc phía trên. Cho thêm ba giọt clorofom (5.2.2) vào đất để xông hơi. Qui trình như 7.1

B.4 Bàn luận

Nếu có các rễ cây sống trong đất thì nhất thiết phải sử dụng qui trình trên. Hơn nữa, qui trình này tạo cho việc đo nitơ sinh khối vi sinh vật dễ dàng hơn bằng việc giảm lượng nitơ vô cơ nền có trong đất. Nó còn giảm những khó khăn khi đo sinh khối vi sinh vật trong đất khô và vì vậy rất tiện lợi cho việc đo sự dao động của cacbon sinh khối vi sinh vật đất và nitơ trong năm. Sinh khối vi sinh vật đo được không bị chiết tách ra khỏi đất bằng qui trình chiết sơ bộ này.

Phụ lục C

(tham khảo)

Kết quả thử của liên phòng thí nghiệm

Phương pháp được tiến hành giữa 11 phòng thí nghiệm ở Đức. Đã sử dụng 2 loại đất canh tác là đất hoàng thổ và đất thịt. Kết quả trình bày ở bảng C.1 liên quan tới cacbon hữu cơ được chiết từ đất xông hơi và không xông hơi và giá trị E_c . Giá trị E_c được tính toán từ hiệu số giữa cacbon hữu cơ được chiết ra từ đất xông hơi và cacbon hữu cơ được chiết từ đất không xông hơi. Hàm lượng sinh khối của đất được tính bằng cách chia E_c cho hệ số k_{EC}

Bảng C.1 - Kết quả thử liên phòng thí nghiệm ở Đức về việc đánh giá sinh khối vi sinh vật của đất bằng phương pháp chiết - xông hơi.

Thông số	Trung bình μg/g	CV ¹⁾ %	SE ²⁾
Đất hoàng thổ			
Cacbon được chiết từ mẫu không xông hơi	71	21	6,7
Cacbon được chiết từ mẫu xông hơi	207	15	7,4
E_c ³⁾	136	23	9,2
Đất thịt			
Cacbon được chiết từ mẫu không xông hơi	85	18	5,4
Cacbon được chiết từ mẫu xông hơi	265	11	7,1
E_c ³⁾	180	15	8,6

1) CV = hệ số biến thiên

2) SE = sai số chuẩn của trung bình (m = 4) của một phòng thí nghiệm tham gia.

3) Hiệu số giữa kết quả từ mẫu xông hơi và không xông hơi

Phụ lục D

(tham khảo)

Tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 5979 : 1995 (ISO 10390: 1994) Chất lượng đất - Xác định pH.
- [2] TCVN 6651: 2000 Chất lượng đất - Xác định đặc tính giữ nước - Phương pháp trong phòng thí nghiệm.
- [3] BROOKES P.C., và cộng sự. Xông hơi chlorofom và sự thải hồi nitơ của đất: Phương pháp chiết trực tiếp để đo nitơ trong sinh khối vi sinh vật của đất. Sinh hoá- sinh vật học của đất, **17**, 1985, trang 637 - 842.
- [4] HARDEN T., và cộng sự. Sinh khối vi sinh vật của đất được đánh giá bằng chiết - xông hơi và hô hấp cơ chất cảm ứng ở hai loại đất được xử lý thuốc trừ sâu. Sinh học - Hoá sinh của đất, **25**, 1993, trang 679 -683.
- [5] HARDEN T., và cộng sự. vô cơ hoá rơm và sự tạo thành sinh khối vi sinh vật của đất trong đất sử lý Simazen và Dinoterb. Sinh học - Hoá sinh của đất, **25**, 1993, trang 1273 - 1276.
- [6] INUBUSHI K., BROOKES P.C. và JENKINSON D.S. Cacbon vi sinh vật trong đất, nitơ và nitơ ninhydrin trong đất hiếu khí và không hiếu khí được đo bằng phương pháp chiết xông hơi. Sinh học hoá sinh của đất, **23**, 1991, trang 737-741.
- [7] MUELLER T., JOERGENSEN R.G. và MEYER B. Xác định cacbon sinh khối vi sinh vật trong đất với sự có mặt của rễ cây sống bằng phương pháp chiết xông hơi. Sinh học - Hoá sinh của đất, **24**, 1992, trang 179-181.
- [8] OCIO J.A. và BROOKES P.C. Đánh giá phương pháp đo sinh khối vi sinh vật trong đất kèm theo sự bổ sung rơm lúa mì và các tính chất của sinh khối lúc đó. Sinh học - Hoá sinh đất, **22**, 1990, trang 685-694.
- [9] SPARLING G.P., và cộng sự. Đánh giá cacbon sinh khối vi sinh vật bằng phương pháp chiết xông hơi sử dụng đối với đất có hàm lượng hữu cơ cao, và đánh giá lại hệ số K_{EC} Sinh học - Hoá sinh đất, **22**, 1990, trang 301-607.
- [10] WU J., và cộng sự. Đo cacbon sinh khối vi sinh vật bằng phương pháp chiết xông hơi, quá trình tự động, sinh học - Hoá sinh đất, **22**, 1990, trang 1167-1169.
- [11] VANCE D.E., BROOKES P.C và JENKINSON D.S. Phương pháp chiết để đo lượng cacbon vi sinh vật, sinh học - Hoá sinh đất, **19**, 1987 trang 707-708.
- [12] WU J., BROOKES P.C. và JENKINSON D.S. Sự tạo thành và phân huỷ glucoza và thân cây lúa mạch đen trong đất, Sinh học - Hoá sinh đất. **25**, 1993, trang 1435-1441.