



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 285 198 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) G 01 N 33/21
C 12 Q 1/34

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD G 01 N / 329 951 5

(22) 26.06.89

(44) 05.12.90

(71) siehe (73)

(72) Häfner, Barbara, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Lychatz, Sven, Dipl.-Ing., DD

(73) Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Bodenfruchtbarkeit Münchenberg, Wilhelm-Pieck-Straße 72, Münchenberg, 1278, DD

(54) Verfahren zur Beurteilung des aktuellen Humuszustandes von Böden

(55) Beurteilung; Humuszustand; Enzymgemisch; Bodenprobe; Unterscheidung

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Beurteilung des aktuellen Humuszustandes von Böden. Ziel der Erfindung ist es, ein Verfahren zu schaffen, das eine schnelle, sichere und signifikante Unterscheidung der Böden in bezug auf qualitative Humuszusammensetzung gewährleistet. Erfindungsgemäß wird dies dadurch erreicht, daß die Bodenprobe mit einem komplexen mikrobiellen Enzymgemisch, unter definiertem Zeit-, Temperatur- und pH-Regime zur Reaktion gebracht, Natriumhydroxid und 3,5 Dinitrosalicylsäure zugegeben, am Spektral die farblich sichtbar werdenden, reduzierenden Gruppen hoch- bzw. niedermolekularen Zuckers gemessen und über eine Eichkurve der Zuckergehalt bestimmt werden. Die Erfindung kann als Serienbestimmungsverfahren, insbesondere in landwirtschaftlichen Produktionsbetrieben, zur qualitativen Beurteilung der Humuszustände bewirtschafteter Flächen angewendet werden.

Patentanspruch:

1. Verfahren zur Beurteilung des aktuellen Humuszustandes von Böden, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Bodenprobe mit einem komplexen mikrobiellen Enzymgemisch unter definiertem Zeit-, Temperatur- und pH-Regime zur Reaktion gebracht, mit Natriumhydroxid und 3,5-Dinitrosalicylsäure versetzt und am Spektral die sichtbar werdenden, reduzierenden Gruppen hoch- bzw. niedermolekularen Zuckers gemessen werden.
2. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Reaktion des Bodensubstrates mit dem komplexen mikrobiellen Enzymgemisch bei $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ erfolgt und die Inkubationszeit 60 Minuten beträgt.
3. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das komplexe mikrobielle Enzymgemisch vorzugsweise aus Zellularen, Lichenase, Laminarinase, Glukosidase, Xylanase, Glukoamylase und Protease besteht.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Beurteilung des aktuellen Humuszustandes von Böden. Sie kann als Serienbestimmungsverfahren, insbesondere in landwirtschaftlichen Produktionsbetrieben, zur qualitativen Beurteilung des Humuszustandes bewirtschafteter Flächen angewendet werden.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Die in den zurückliegenden 15–20 Jahren entwickelten Verfahren und Methoden zur Beschreibung der Humusstoffgruppen (ZIEHMANN, 1981) beruhen auf dem Prinzip von energetischen Zustandsmessungen der Bindungskräfte an C-Donator-Acceptor-Komplexen bei Huminstoffen. Sie sind finanziell sehr aufwendig und sind keine direkte Entscheidungshilfe für die Bewirtschaftung landwirtschaftlichen Böden. Um den gewachsenen Produktionsanforderungen besser gerecht zu werden, ist es notwendig, über den Standortfaktor organische Bodensubstanz und seine qualitative Variabilität Aussagen treffen zu können. Dies erfordert, neue Methoden zu entwickeln, die rationeller arbeiten als die bisher in der Praxis benutzten. Der Einsatz einer biokatalytischen Methode gestattet den Versuch, den mikrobiellen Zelluloseabbau mit einer gesteuerten Enzymreaktion als Prüfgröße für die Umsetzungsverhältnisse der organischen Primärschubstanz im Boden auszunutzen. Dabei können auf Erfahrungen für die Bewertung von Futtermitteln mittels Bestimmung des Gesamtzuckerghaltes zurückgegriffen werden (TGL 21875/22). Diese Methode erlaubt die Prüfung von Futtermitteln hinsichtlich ihrer Verdaulichkeit und ihres Nährwertes innerhalb von 45 Tagen.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein Verfahren zu entwickeln, mit dem Böden in bezug auf ihre Humusqualität schnell, sicher und signifikant unterschieden werden können. Der materiell-technische Aufwand soll dabei minimiert und eine ausreichende Genauigkeit erzielt werden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein Verfahren zu schaffen, mit dem Bodenproben mit unterschiedlichem C₁-Gehalt aufgrund von Reaktionsproduktion signifikant unterschieden werden können. Erfindungsgemäß wird dies dadurch erreicht, daß die Bodenprobe mit einem komplexen Enzymgemisch, unter definiertem Zeit-, Temperatur- und pH-Regime zur Reaktion gebracht, Natriumhydroxid und 3,5-Dinitrosalicylsäure zugegeben, am Spektral die farblich sichtbar werdenden, reduzierenden Gruppen hoch- bzw. niedermolekularen Zuckers registriert und über eine Eichkurve bestimmt werden. Durch das erfindungsgemäße Verfahren ist es möglich, den umgesetzten Anteil der organischen Primärschubstanzen zu ermitteln und so den landwirtschaftlichen Produktionsbetrieben eine Entscheidungshilfe zu liefern.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll anhand eines Ausführungsbeispiels näher erläutert werden. 30 g lufttrockenes und auf 2 mm gesiebtes Bodensubstrat wird abgewogen und mit 50 ml Aqua-dest. versetzt. Danach wird der Thermostat auf 45°C aufgeheizt und das Bodensubstrat erwärmt. Parallel dazu wird das komplexe mikrobielle Enzymgemisch, welches aus Zellulasen, Lichenase, Laminarinase, Glukosidase, Xylanase, Glukoamylase und Protease besteht, mit dem Bodensubstrat versetzt und 60 Minuten inkubiert. Danach wird die Enzymreaktion durch 5minütiges Kochen abgestoppt, die entstandene Produktenlösung abzentrifugiert, 1,5 ml dieser Lösung mit 1 ml 0,33 molares Natriumhydroxid und 1 ml 3,5-Dinitrosalicylsäure-Lösung versetzt, in sprudelndem Wasser 5 Minuten gekocht, im Wasserbad abgekühlt sowie mit 6,5 ml Aquandest. aufgefüllt.

Durch Extinktion am Spekol kann nun der umgesetzte Anteil der organischen Primärsubstanz gemessen werden.

Um über die Bodenprobe eine Komplexaussage zu erhalten, wird ein Leerwert vom jeweilig zu untersuchenden Boden (Probe mit 30g Substrat und 50ml Aque-dest.) angesetzt, an dem alle Verfahrensschritte nachvollzogen werden.

Damit die mit dem Spekol gemessenen Extinktionswerte einer bestimmten Konzentration nieder- bzw. hochmolekularen Zuckers zugeordnet werden können, ist es notwendig, eine Eichkurve zu erstellen.

Dazu werden 0,25g Glukose in 25ml Wasser gelöst und in unterschiedlichen Konzentrationen mit Natriumazetat-Puffer verdünnt.

Den diesen Verdünnungen entsprechenden Glukosekonzentrationen konnten folgende Extinktionswerte zugeordnet und für eine Eichkurve genutzt werden (Tabelle 1).

Für die zu bestimmende Bodenprobe wurde ein Extinktionswert von 0,178 am Spekol gemessen, welcher einem Glukoseäquivalent von 0,4mg/ml Glukose entspricht.

Tab. 1:

Eichkurve zur Bestimmung der Zuckerkonzentration

Glukose (mg/ml)	Extinktionswert
0,04	0,010
0,10	0,010
0,20	0,023
0,40	0,078
0,60	0,178
0,80	0,378
1,00	0,480