

CODEN: IBBRAH (9-80) 1-24 (1980)

INSTITUUT VOOR BODEMVRUCHTBAARHEID

RAPPORT 9-80

EEN POGING DE DOOR MICRO-ORGANISMEN GEMAKKELIJK ONTLEEDBARE ORGANISCHE STOF IN GROND TE BEPALEN. MET BIJLAGE; BEPALING VAN ORGANISCHE KOOLSTOF IN WATERIGE (ZOUT)OPLOSSINGEN

*With a summary: an attempt to determine easily degradable (by micro-organisms) organic matter in soil. With an appendix: determination of organic carbon in watery (salt) solutions*

door

E.H. BRUINS

1980

Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Oosterweg 92, Postbus 30003,  
RA Haren (Gr.)

---

*Inst. Bodemvruchtbaarheid, Rapp. 9-80 (1980) 24 pp.*

## INHOUD

|  |    |
|--|----|
| 1. Inleiding   | 3  |
| 2. Eerste proefopzet   | 5  |
| 3. Resultaten en bespreking eerste proefopzet                                  | 9  |
| 4. Tweede proefopzet en resultaten hiervan                                     | 14 |
| 5. Naschrift   | 16 |
| 6. Samenvatting en conclusie   | 17 |
| 7. Summary and conclusion  | 18 |
| 8. Literatuur  | 19 |
| 9. Bijlage: Bepaling van organische koolstof in waterige<br>(zout) oplossingen | 21 |

## 1. INLEIDING

Voor vele facetten van het grondonderzoek bestaat de behoefte aan een bepaling van het percentage organische stof, dat relatief snel door micro-organismen kan worden gemineraliseerd. Incubatieproeven met grondmonsters, die deze bepaling in beginsel mogelijk maken, verlopen normaliter zo traag dat de scheiding tussen gemakkelijk en moeilijk ontleedbaar vrij traag en willekeurig is. Men heeft daarom pogingen gedaan om het doel langs chemische weg te bereiken. Reeds in 1941 werd door Springer voorgesteld hiervoor de grond te behandelen met acetylbromide. Hierbij werd uitgegaan van de verwachting, dat de hoeveelheid door acetylering in oplossing te brengen organische stof gecorreleerd zou zijn met de hoeveelheid langs enzymatische weg door de bodemmicroben af te breken organische stof.

Hoewel het aannemelijk kon worden gemaakt, dat deze correlatie inderdaad bestaat, was het niet mogelijk hierover exacte gegevens te verkrijgen, daar men immers niet beschikte over een hanteerbare methode om aan de hand van het verloop van de "bodemademhaling", d.w.z. van het tempo van koolzuurvorming, de grens tussen de snelle en de langzame afbraak van de organische stof in de grond vast te stellen.

Hetzelfde euvel kleeft ook aan andere chemische methoden zoals bv. die welke door Gerretsen (pers.mededeling) in 1950 werd toegepast. Hierbij werd de grond aan hydrolyse met 80% zwavelzuur onderworpen gedurende een bepaalde tijd. Zowel in de oorspronkelijke als in de gehydrolyseerde grond werd het gehalte aan organisch gebonden koolstof bepaald. Het verschil in gehalte voor en na hydrolyse zou een maat zijn voor de gemakkelijk afbreekbare fractie van de organische stof in de grond.

Hoewel Gerretsen aannemelijk heeft gemaakt, dat hydrolyse in zuur milieu nauwer aansluit bij de aërobe enzymatische afbraak van de organische stof dan de behandeling met acetylbromide, bleef het bij een slechts graduele, een niet-fundamentele verbetering.

Hier kan ook worden verwezen naar de diverse pogingen gedaan door De Roos en Van Dijk (1967) om langs chemische weg de inerte (verkooldde) organische stof in de grond te bepalen, die geen van alle tot het gewenste

doel leiden.

Het bovenstaande heeft dan ook geleid tot een poging om de "natuurlijke" afbraak door micro-organismen zodanig te versnellen, dat men langs deze weg een methode zou verkrijgen, die ook voor seriebepalingen bruikbaar is.

## 2. EERSTE PROEFOPZET

De beoogde versnelling van het natuurlijke proces werd nagestreefd door de volgende ingrepen:

1. de aeratie moet worden versterkt;
2. de grond moet voortdurend worden geroerd;
3. de temperatuur moet optimaal zijn;
4. er moet een ruime overmaat aan minerale voeding aanwezig zijn;
5. het gevormde koolzuur moet voortdurend worden afgevoerd;
6. het te onderzoeken grondmonster moet voor het aanzetten van de proef goed worden gemengd en desgewenst zelfs fijngemalen.

Om deze eisen te realiseren werd een klein representatief grondmonster gesuspendeerd in een ruime hoeveelheid van een veelzijdige minerale voedingsoplossing; door deze suspensie werd een krachtige luchtstroom geleid, zodat de grond niet kon bezinken. Door deze werkwijze werd reeds voldaan aan de eisen 1, 2, 4 en 5. Door vergelijkende bepalingen werd vastgesteld dat de temperatuur van 28-29 °C als optimaal kan worden beschouwd. De bepalingen werden als regel bij deze temperatuur uitgevoerd, zodat ook aan de derde eis was voldaan.

Op het mengen en/of malen van de grond zal later nader worden ingegaan. Aanvankelijk werd slechts intensief gemengd zonder tot fijnmalen van de gronddeeltjes over te gaan. In beginsel kan men uitgaan van grond met een natuurlijk vochtgehalte, maar aangezien het zeer lastig is om kleine, volkomen aan elkaar gelijke monsters vochtige grond af te wegen, werd als regel uitgegaan van luchtdroge gezeefde grond. Anderzijds heeft men bij een vochtige grond minder last van ontmenging.

Bij de opstelling van de proef werd gebruik gemaakt van puntig toelopende glazen buizen, afgesloten door een dubbel doorboorde stop, waarin twee buisjes voor de toe- en afvoer van de luchtstroom. Figuur 1 geeft de opstelling weer. De afmetingen van de reactiebuis kunnen willekeurig worden gekozen.

In het hier besproken onderzoek werden buizen van 40 mm inwendige diameter en een lengte van 40 cm gebruikt. De inhoud bedroeg  $\pm$  500 ml. Het

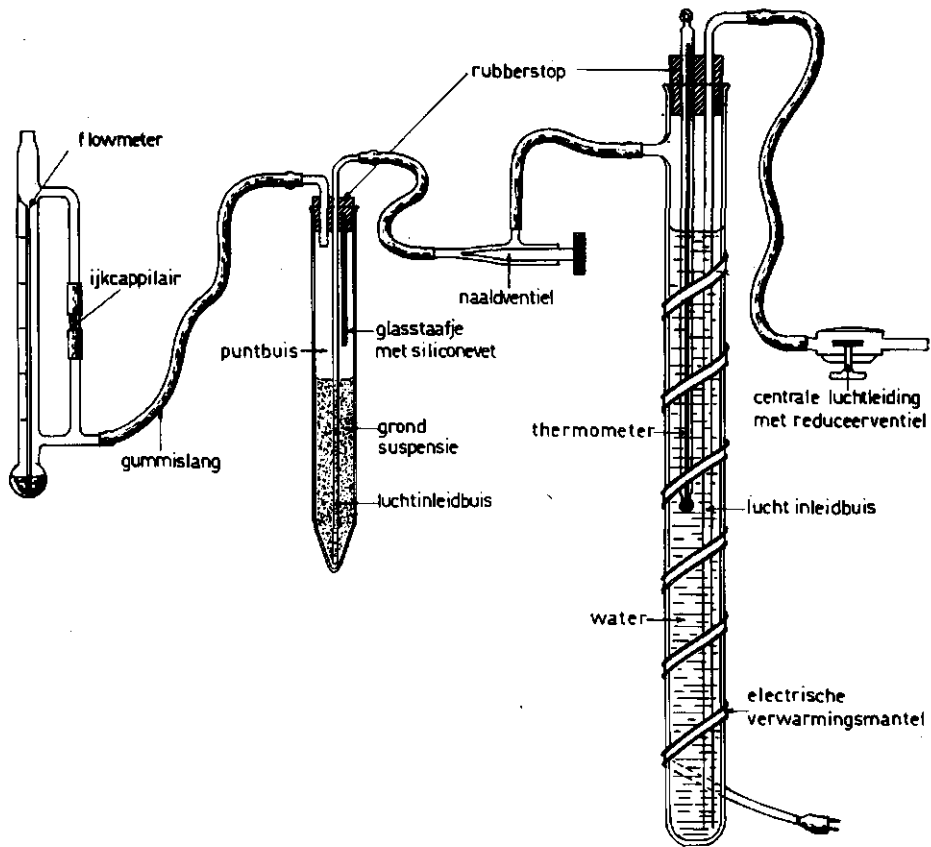


Fig. 1. Schematische opstelling voor het bepalen van de microbiologisch afbreekbare fractie organische stof in grond.

*Fig. 1. Schematic presentation of the setup for the determination of the microbiologically degradable part of organic matter in soil.*

was niet mogelijk in deze buizen met meer dan 200 ml vloeistof te werken, zodat voor het handhaven van een zeer ruime overmaat aan minerale voeding daarin slechts ca. 0,5% organische stof kon worden gesuspenderd. Van een grond met bv. 5% organische stof kon derhalve slechts 20 g worden afgewogen. Deze geringe hoeveelheid stelde hoge eisen aan de nauwkeurigheid van mengen en afwegen van de grond, evenals aan de uitvoering van de bepaling van de afbraak.

De samenstelling van de gebruikte voedingsoplossing was:

|   |   |       |                   |
|---|---|-------|-------------------|
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                  | - | 2     | $\text{g.l}^{-1}$ |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | - | 1     | "                 |
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$                  | - | 1     | "                 |
| $\text{CaSO}_4$                           | - | 0,1   | "                 |
| $\text{NaCl}$                             | - | 0,1   | "                 |
| $\text{FeCl}_3$                           | - | spoor |                   |
| Grondextract (steriel)                    | - | 1     | volumeprocent*    |

Daar als regel werd uitgegaan van gedroogde grond, die veelal reeds geruime tijd was bewaard, werd enting met 1 volumeprocent filtraat van verse grond noodzakelijk geacht om het monster met de volledige microflora te enten. Bij voorkeur werd dit filtraat gemaakt van de te onderzoeken grond\*\*. De met het grondextract en het infuus toegevoegde koolstof werd bepaald om de analyses hiervoor te kunnen corrigeren. Het verloop van de analyse was als volgt:

Het gehalte aan organische stof van de te onderzoeken grond, uitgedrukt als organisch gebonden koolstof, werd bepaald volgens de element-analyse van Ter Meulen en Heslinga (1930). Dezelfde bepaling werd opnieuw uitgevoerd in het aan mineralisatie onderworpen monster, dat na afloop van de gestelde reactietijd werd afgecentrifugeerd, gedroogd, gewogen en gemalen. De vermindering van het gehalte aan organisch gebonden koolstof geeft het deel van de organische stof aan, dat werd geacht tijdens de proef te zijn gemineraliseerd. Bij carbonaathoudende gronden werd zowel vóór als ná de behandeling de carbonaat-koolstof gravimetrisch bepaald met behulp van het apparaat van Geissler. De regeling van de aëratie-luchtstroom geschiedde door een naaldventiel bij de invoer en een flowmeter na het passeren van de reactiebuis. De luchtstroom bleek  $\pm 1$  l per minuut te moeten zijn teneinde bezinken van de grond in de punt van de reactiebuis

---

\* Het grondextract werd bereid door 1 kg grond te mengen met 2 l leidingwater en dit gedurende een half uur in de autoclaaf bij  $110^\circ\text{C}$  te steriliseren. Daarna werd het extract door een vouwfilter gefiltreerd en opnieuw gedurende een half uur bij  $110^\circ\text{C}$  in de autoclaaf gesteriliseerd.

\*\* Hiervoor werd 1 deel grond met 1 deel leidingwater goed gemengd, geschud en daarna gefiltreerd.

te voorkomen. Om verdamping van de vloeistof zoveel mogelijk te voorkomen werd de ingevoerde lucht bevochtigd, zoals aangegeven in figuur 1. Toch bleek er enige verdamping op te treden, zodat om de drie dagen het vloeistofniveau tot het oorspronkelijke peil moest worden aangevuld met gedestilleerd water. Een ander euvel, nl. het schuimen van de vloeistof, werd afdoende verholpen door een weinig siliconenvet in de vloeistof te brengen met behulp van een glasstaafje.

Bij de eerste proeven werd veel last ondervonden van verstopping van de uitmonding van de aëratiebuisjes in de suspensie. Dit bleek het gevolg te zijn van kalkaanslag (ketelsteen) op de rand van het buisje. Tijdens de periodieke aanvulling van de aëratievloeistof werd deze aanslag met een pennetje losgemaakt.



## 3. RESULTATEN EN BESPREKING EERSTE PROEFOPZET

Na het overwinnen van de boven omschreven moeilijkheden werd een reeks bepalingen verricht, waarbij een aantal reactiebuizen tegelijk werd aangezet en na verloop van verschillende incubatietijden geanalyseerd om zodoende het verloop van de mineralisatie van de organische stof te kunnen vervolgen. Deze proeven leken de verwachting te bevestigen, dat de afbraak aanvankelijk zeer snel verloopt om daarna spoedig vrijwel tot stilstand te komen. Zowel bij kalkhoudende kleigronden als bij zure diluviale zandgronden werd dit verloop geconstateerd.

De uitkomsten van twee representatieve bepalingen zijn weergegeven in de tabellen I en II. De voornaamste eigenschappen van deze twee gronden zijn: grond 1: diluviale zandgrond in gebruik als akkerland; koolstofgehalte ( $C_t$ ) 2,64 gewichtsprocenten op drogestof, pH 5,23. grond 2: jonge zeeklei, in gebruik als akkerland; 7,25%  $CaCO_3$ , 3,05% organische koolstof, pH 7,50.

TABEL I. Verdwijnen van koolstof uit zandgrond met aanvankelijk 2,64% koolstof.

TABLE I. Disappearance of carbon from a sandy soil with an initial carboncontent of 2.64%.

| Aëratieduur<br>(dagen) | % $C_t$ in residu        |           | vermindering in % van<br>oorspronkelijk |
|------------------------|--------------------------|-----------|---|
| 15                     | 2,24; 2,20               | gem. 2,22 | 15,9                                    |
| 30                     | 2,20; 2,16               | gem. 2,18 | 17,4                                    |
| 60                     | 2,08; 2,06<br>2,10; 2,06 | gem. 2,07 | 21,6                                    |
| 200                    | 1,97; 1,91<br>1,97; 1,95 | gem. 1,95 | 26,0                                    |
| 300                    | 2,01; 2,06               | gem. 2,04 | 22,8                                    |

TABEL II. Verdwijnen van koolstof uit kleigrond met aanvankelijk 3,05% koolstof.

TABLE II. Disappearance of carbon from a clay soil with an initial carbon content of 3.05%.

| Aëratieduur<br>(dagen) | % C <sub>t</sub> in residu | vermindering in % van<br>oorspronkelijk |
|------------------------|----------------------------|---|
| 1                      | 2,76                       | 9,5                                     |
| 3                      | 2,69                       | 11,8                                    |
| 6                      | 2,64                       | 13,5                                    |
| 15                     | 2,60                       | 14,8                                    |
| 20                     | 2,63                       | 13,8                                    |
| 30                     | 2,61                       | 14,4                                    |

In deze cijfers valt het op, dat het verdwijnen van organische stof in beide gronden aanvankelijk in ongeveer hetzelfde tempo verloopt, in de kleigrond echter reeds na ca. 10 dagen tot stilstand komt bij een afname van ca. 14%, terwijl in de zandgrond eerst na ongeveer 100 dagen geen meetbare afname meer wordt waargenomen, nadat ongeveer 23,5% van de organische stof uit de vaste fractie van de grond is verdwenen. Om er zeker van te zijn, dat het verloop van de afname van koolstof, zoals in de beide gegeven voorbeelden werd gevonden, niet wordt beïnvloed door uitputting van één of meer bestanddelen van de voedingsvloei-stof tijdens de incubatie, werd in enkele proeven na het tot stilstand komen van de afname een hoeveelheid voedingsvloei-stof in geconcentreerde vorm aan het reactievat toegevoegd. De afname kwam hierdoor echter niet meer op gang. Uitputting van de voorraad aan minerale voedingsstoffen was derhalve niet de oorzaak van beëindiging van de "ontleding". Dit werd ook niet veroorzaakt door ophoping van afbraakstoffen in de vloei-stof, die eventueel remmend zouden kunnen werken op de mineralisatie. Afcentrifugeren van de vaste stof en opnieuw suspenderen in verse voedingsoplossing bracht de "mineralisatie" namelijk evenmin weer op gang.

Er bleef nog het probleem van de teleurstellend grote spreiding van de uitkomsten, vooral bij enkele gronden. Dat werd in de eerste plaats toegeschreven aan de reeds vermelde moeilijkheid om van gronden, die grove partikels bevatten, kleine en toch representatieve monsters af te wegen. Dat geldt vooral voor gronden die partikels organische stof bevatten naast zuiver minerale deeltjes, zoals in de meeste diluviale zandgronden het geval is. Het fijnmalen van de grond voor het afwegen leek de aangewezen weg tot het voorkomen van deze moeilijkheid. Maar men kon reeds bij voorbaat verwachten, dat de afbreekbaarheid van de organische stof hierdoor zou worden verhoogd. Bij een in dit opzicht lastige zandgrond werd nagegaan hoe groot deze invloed is en of het aanvaardbaar zou zijn de gronden te malen. Tabel III geeft het verloop van de afname in de gemalen en in de niet gemalen monsters weer. De grond bevatte 1,44% C en de pH bedroeg 5,70.

TABEL III. Afname van organische stof in zandgrond.

*TABLE III. Decrease of organic matter in a sandy soil.*

| aantal dagen<br>incubatie | afname in mg C |         |
|---------------------------|----------------|---------|
|                           | ongemalen      | gemalen |
| 1                         | 7              | 14      |
| 7                         | 20             | 28      |
| 14                        | 22             | 36      |
| 28                        | 44             | 52      |

In percentages bedroeg de afname na 28 dagen bij de ongemalen grond 15,4% en bij de fijngemalen grond 18,2%. Hieruit blijkt dat de afname door het fijnmalen aanmerkelijk wordt versneld en over dezelfde tijdsduur een hoger percentage bereikt. Het malen van de grond moet derhalve in beginsel worden beschouwd als een vreemde ingreep, die men niet onnodig moet toepassen, mede om het feit dat de invloed daarvan in verschillende gronden ongelijk is. Ingeval van bepalingen, die een grote mate van

nauwkeurigheid vereisen zou men zonder fijnmalen de incubatie in veelvoud moeten uitvoeren.

Bij de vergelijkende bepaling van de "mineralisatie" met en zonder malen van de grond werden na beëindiging van de proeven tevens plaattellingen verricht van bacteriën- en actinomycetenkiemen op grondextract agar. De uitkomsten van deze tellingen zijn weergegeven in tabel IV.

TABEL IV. De verhouding van het aantal bacteriekoloniën bij gemalen grond tot dat bij ongemalen grond.

TABLE IV. Ratio between number of bacteria colonies in ground and unground soil.

|               |   |    |   |    |    |    |    |    |     |     |
|---------------|---|----|---|----|----|----|----|----|-----|-----|
| aantal dagen: | 0 | 1  | 3 | 7  | 14 | 30 | 60 | 90 | 180 | 365 |
| verhouding:   | 2 | 3½ | 5 | 1½ | 1½ | 1½ | 1  | 1  | 1   | 1   |

Hoewel de gevonden aantallen kiemen, zoals meestal het geval is, vrij onregelmatig schommelen, ziet men toch duidelijk dat het fijnmalen van de grond een verhoogde aantastbaarheid van de organische stof tot gevolg heeft, hetgeen de geprononceerde verhoging van het aantal microben veroorzaakt. Deze invloed resulteerde in zowel veel hogere aantallen kiemen tijdens de top van de curve ( $34 \times 10^9$  in de gemalen grond tegen  $7,2 \times 10^9$  in de ongemalen grond) drie dagen na het inzetten van de proef, alsook in een snellere aanloop, waardoor na één dag  $2,7 \times 10^9$  kiemen aanwezig bleken te zijn in de suspensie van de gemalen grond, tegen slechts  $0,7 \times 10^9$  in die van de ongemalen grond. De aanvankelijk ontstane voor- sprong van de gemalen grond liep echter spoedig terug en viel op den duur zelfs geheel weg.

Tenslotte moet nóg een moeilijkheid worden genoemd, nl. het opspatten en schuimen van de suspensie tijdens het aërereren. Hierdoor vormde zich in de reactiebuis boven het vloeistofniveau een kraag van aan het glas aanklevende grond. Deze grond kwam daardoor in voor de mineralisatie veel minder gunstige omstandigheden te verkeren, ook al bleef de grond vochtig en werd de glaswand tegelijk met het aanvullen van het volume

verdampte vloeistof om de drie dagen afgespoeld. Het schuimen werd, zoals reeds vermeld, beperkt door toepassing van siliconenvet. Daar deze stof echter bij controle voor 30% uit koolstof bleek te bestaan, moest worden gevreesd dat de uitkomsten in oncontroleerbare mate door kleine hoeveelheden siliconenvet zouden worden beïnvloed. Verscheidene pogingen werden aangewend om aan de door spatten en schuimen veroorzaakte nadelen te ontkomen, aanvankelijk echter zonder enig succes. Pas nadat erkend werd, dat aan de bepaling zoals boven beschreven, een principiële bezwaar kleefde en men ertoe overging de opstelling en uitvoering van de bepaling fundamenteel te wijzigen door het gebruik van een geheel gesloten systeem, kon ook het schuimen geheel en het spatten van de suspensie ten dele worden voorkomen.

Tijdens het verloop van het onderzoek rees nl. steeds sterker het vermoeden dat de onevenredig snelle afname van het koolstofgehalte in de grond in de eerste dagen niet (geheel) op een werkelijke ontleding en mineralisatie van de organische stof berust. Om het vermoeden te bevestigen dat veel van de uit de vaste stof verdwenen koolstof in oplossing was gegaan, maar nog niet was gemineraliseerd, werd de grond één uur geschud met de voor de proeven gebruikte minerale oplossingen. Na afcentrifugeren, drogen en analyseren bleek uit de vaste stof ongeveer evenveel koolstof te zijn verdwenen als tijdens de eerste dagen van een normale proef. Ter controle werd de afgecentrifugeerde vloeistof, na indampen onder vacuum bij lage temperatuur, op koolstof geanalyseerd. (De methode is beschreven in de bijlage). Een groot deel van de uit de vaste fase verdwenen koolstof bleek in de vloeistof te worden teruggevonden. Om een pH-invloed bij dit in oplossing gaan zoveel mogelijk te vermijden werd voortaan de pH-waarde van de minerale voedingsoplossing gebracht op de pH van de onderzochte grond.

Uit het bovenstaande blijkt dat de ontworpen werkwijze geen betrouwbare resultaten oplevert. Om de werkelijke mineralisatie te kennen moet ook het bij de afbraak gevormde  $\text{CO}_2$  worden bepaald.

## 4. TWEEDE PROEFOPZET EN RESULTATEN HIERVAN

De volgende fase van het onderzoek was gericht op het construeren van een opstelling als gesloten systeem. Daarbij werd door middel van een membraampomp de lucht continu rondgepompt door de grondsuspensie en door een oplossing van barium-hydroxide, waarin het gevormde koolzuur werd opgevangen. Het volume in het gehele apparaat was ca. 1,5 liter, hetgeen ruim voldoende bleek te zijn om anaërobie te voorkomen.

De bereiding en CO<sub>2</sub>-vrije bewaring van de bariumhydroxide titrant-oplossing vergt veel zorg. De continue "titratie" van geabsorbeerde koolzuur, zoals beschreven door Bruins (1963), vond plaats door het absorptievat te plaatsen in een hoogfrequent elektrisch veld en de door de CO<sub>2</sub> veroorzaakte "verstoring" in het elektrisch circuit met behulp van een recorder vast te leggen.

Op zichzelf is dit een zeer fraaie en snelle bepaling. De omslachtige nevenhandelingen, zoals regelmatig ijken en controleren, maken echter de methode, althans in de huidige uitvoeringspraktijk, voor routinewerk minder geschikt.

Enkele resultaten worden weergegeven in de tabellen V en VI.

TABEL V. Afbraak van organische stof uit een zandgrond (Gieten; pH-KCl 5,37; C<sub>t</sub> 3,26%; ingewogen 504 mg C).

TABLE V. Breakdown of organic matter from a sandy soil.

| aëratieduur<br>(dagen) | mg C       |              |                     |     |
|------------------------|------------|--------------|---------------------|-----|
|                        | in residue | in oplossing | als CO <sub>2</sub> | som |
| 3                      | 445        | 33           | 15                  | 493 |
| 7                      | 453        | 32           | 17                  | 502 |
| 14                     | 435        | 27           | 24                  | 486 |
| 28                     | 431        | 31           | 39                  | 501 |
| 42                     | 433        | 29           | 83                  | 545 |
| 56                     | 429        | 28           | 84                  | 541 |

TABEL VI. Afbraak van organische stof uit een kleigrond (Bedum; pH-KCl 7,15;  $C_t$  1,88%; ingewogen 376 mg C).

TABEL VI. Breakdown of organic matter from a clay soil.

| aëratieduur<br>(dagen) | mg C      |              |                     |     |
|------------------------|-----------|--------------|---------------------|-----|
|                        | in residu | in oplossing | als CO <sub>2</sub> | som |
| 1                      | 332       | 16           | 10                  | 358 |
| 3                      | 340       | 8            | 14                  | 362 |
| 7                      | 392       | 9            | 25                  | 426 |
| 14                     | 310       | 6            | 46                  | 362 |
| 30                     | 360       | 6            | 94                  | 460 |

Uit deze voorbeelden blijkt dat de koolstof-mineralisatie niet, zoals gehoopt, korte tijd hevig is om daarna vrij abrupt af te vlakken, maar evenals bij de normale incubatie van grond na een snelle start slechts zeer geleidelijk afneemt.

## 5. NASCHRIFT (van H. van Dijk)

Bovenbeschreven, in de zestiger jaren nog onder leiding van dr. G.W. Harmsen verricht onderzoek bevestigt de huidige opvatting dat de organische stof in de grond bestaat uit een zodanig gevariëerd complex van stoffen dat alle gradaties van afbreekbaarheid aanwezig zijn. Eigenlijk is dat ook niet verwonderlijk bij een regelmatige toevoer van vers organisch materiaal zoals normaliter plaatsvindt. Elke scheiding op deze eigenschap is dan inderdaad arbitrair. Bovendien, zo bleek uit onderzoek van Jager en Bruins (1975), is de afbreekbaarheid van dit complex niet een vast gegeven aangezien door o.a. afwisselend drogen en bevochtigen de afbraak sterk kan worden bevorderd.

Koolstof en stikstof zijn in de grond betrokken in een voortdurend proces van omzettingen, waarbij organische complexen worden opgebouwd (o.a. in de vorm van biomassa) en afgebroken, zij het dat de afbraak (de mineralisatie) uiteindelijk overheerst. De snelheid variëert afhankelijk van de kwaliteit van de toevoerbron, de betrokken organismen en de fysische en chemische omstandigheden. De hoeveelheid jonge en daardoor nog relatief goed afbreekbare humus kunnen we vooralsnog beter schatten uit het toevoerpatroon en de afbraaksnelheid van vers organisch materiaal dan dat we in staat zijn de aantastbaarheid met één of twee simpele bepalingen vast te stellen.



## 6. SAMENVATTING EN CONCLUSIE

In het verleden zijn meermalen pogingen ondernomen om langs chemische weg zeer moeilijk of niet afbreekbare organische stof in grond te onderscheiden van de afbreekbare fractie. De uitkomsten waren sterk arbitrair.

Daarom werd getracht een voor seriewerk geschikte methode te ontwikkelen waarbij de natuurlijke afbraak sterk versneld plaatsvindt (in een grondsuspensie) en aldus na korte tijd alleen de "bestendige" organische stof zou overblijven. Daarbij bleek echter dat de mineralisatie niet korte tijd hevig is om daarna abrupt af te vlakken, maar evenals bij de normale incubatie van grond na een snelle start slechts zeer geleidelijk afneemt.

Dit bevestigt de huidige opvatting dat de organische stof in de grond bestaat uit een zodanig gevarieerd complex van stoffen dat alle gradaties van afbreekbaarheid aanwezig zijn.

## 7. SUMMARY AND CONCLUSION

In the past, several attempts have been made to chemically distinguish difficultly degradable or undegradable organic matter from the degradable fraction. The findings were strongly arbitrary.

The author therefore attempted to develop a method suitable for routine analysis in which the natural breakdown would be accelerated strongly (in a soil suspension), thus leaving only "recalcitrant" organic matter after a short time. It became apparent, however, that mineralisation is not intense during a short period to subsequently level out abruptly, but, as with normal incubation of soil, after a rapid start levels out only very gradually.

This confirms the current view that organic matter in soil consists of such a varied complex of materials that all gradations of degradability are present.

## 8. LITERATUUR

- Bruins, E.H. Determination of carbon dioxide using a high frequency oscillator. *Anal.Chem.* 35 (1963) 934-936.
- Geiszler. Apparaten voor koolzuurbepaling. RIB, Cat. V<sup>e</sup> afdeling, Den Haag (1958)5.
- Jager, G. and E.H.Bruins. Effect of repeated drying at different temperatures on soil organic matter decomposition and characteristics, and on the soil microflora. *Soil Biol. Biochem.* 7 (1975) 153-159.
- Meulen, H. ter en J. Haslinga. Nieuwe methoden voor elementair analyse. 2e druk (1930). Delft.
- Roos, H.P. de en H. van Dijk. Chemische bepaling van de inerte (verkoelde) organische stof in de grond. *Inst. Bodemvruchtbaarheid, Rapp.* 6-67 (1967) 29 pp.
- Springer, U. *Fortschr.Landw. Chem. Forsch. Sonderh.* 17 (1941) 18-31.

## BIJLAGE I

## BEPALING VAN ORGANISCHE KOOLSTOF IN WATERIGE (ZOUT) OPLOSSINGEN

*Werkwijze*

Na vooraf te zijn ontdaan van eventueel  $\text{Cl}^-$  en stikstofoxyden wordt de daarna ingedampte rest aan een *natte* verbranding met chroomzuur blootgesteld en het gevormde koolzuurgas gewogen.

*Uitvoering der analyse*

Een bepaald volume van het te onderzoeken water (zoutoplossing) wordt met voldoende sterk fosforzuur in een rondbodemkolfje, voorzien van een normaal slijpstuk, door middel van een roterende vacuumverdamer ingedampt. De kolf bevindt zich in een regelbaar verwarmd waterbad. Het ontstane zoutzuur en zure stikstofoxyden worden hierbij door een goed werkende waterstraal-luchtpomp afgezogen. Het is van belang dat het vacuum in de kolf zo hoog mogelijk is. Nadat de reactie is voltooid, zuigt men nog ca. 10 minuten door met een beetje "leklucht".

Daarna wordt het kolfje aangesloten aan het apparaat voor koolstofbepaling. Als smeermiddel voor de slijpstukken wordt sterk geconcentreerd fosforzuur gebruikt.

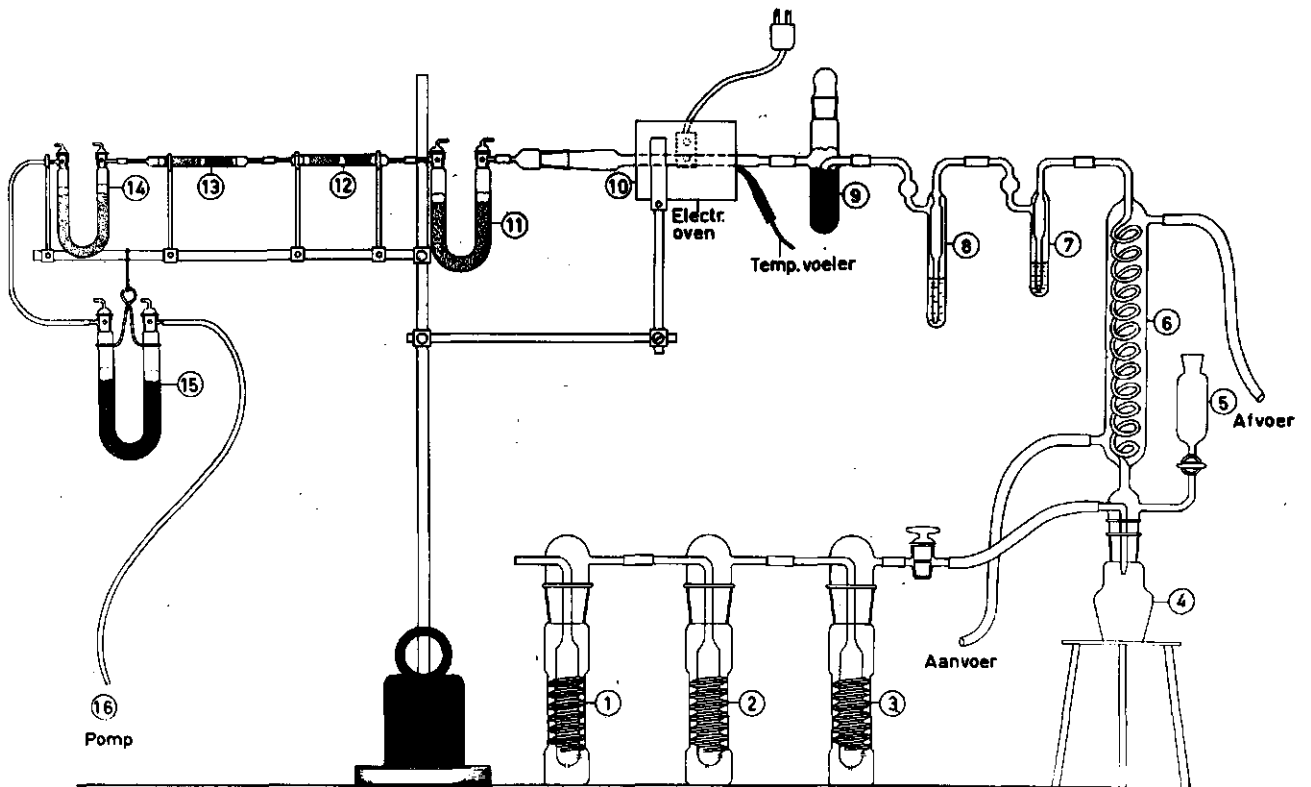
Nadat een koolzuurvrije luchtstroom in het toestel is toegelaten wordt voorzichtig 25 ml van het chroomzuurmengsel bij het te onderzoeken extract in het kolfje gevoegd.

Nu wordt voorzichtig met een gasvlam de oxydatievloeistof verhit tot koken, hetgeen een kwartier wordt volgehouden.

In de koeler boven het kolfje condenseert de verdampde vloeistof. Het ontstane koolzuurgas passeert nu eerst nog een tweetal met gec. zwavelzuur gevulde wasflesjes en gaat daarna door een laagje mangaandioxyde. Het komt tenslotte in een verhitte kwartsbuis, die is gevuld met een mengsel van bruinsteen en loodperoxyde; deze buis is afgesloten met een prop zilverwol. Daarna wordt het koolzuurgas gedroogd door een U-buis met magnesiumperchloraat, waarna het droge gas wordt geabsorbeerd in twee achter elkaar geschakelde weegbuisjes die zijn gevuld met een sterk koolzuur absorberende stof en anhydrone, dat vocht absorbeert, wat is vrijgekomen bij de absorptie van koolzuur.

Uit het verschil in gewicht van de weegbuisjes voor en na de verbranding weet men hoeveel koolzuur c.q. hoeveel koolstof in het extract aanwezig was.

Beschrijving van het gebruikte apparaat



1. Schroefwasfles met kaliloog ( 3 delen KOH + 2 delen water)
- 2, 3. Schroefwasflessen met geconcentreerd zwavelzuur.
4. "Verbrandings"kolf (enigszins puntvormig) inhoud 100 ml, met normaal slijpstuk B 29; pyrex.
- 5, 6. Spiraalkoeler met ingesmolten buis en scheidtrechter met kraan voor toevoeging van het chroomzuurmengsel.
- 7, 8. Microwasflesjes gevuld met geconcentreerd zwavelzuur.
9. Absorptievaatje gevuld met mangaandioxyde.
10. Verbrandingsbuis van kwartsglas; gevuld met gelijke hoeveelheden bruinsteen en loodperoxyde; aan het uiteinde voorzien van een prop zilverwol.  
Electrische oven waarmee de buis op 400 °C wordt gehouden.
11. U-buis gevuld met anhydrone (magnesiumperchloraat).
- 12,13. Weegbuisjes gevuld met gelijke delen Colorcarb (Perkin-Elmer) en anhydrone.
14. U-buis gevuld met anhydrone.
15. U-buis gevuld met  $\text{CaCl}_2$ .

Het uiteinde van buis 15 is verbonden met een membraam zuigpomp no. 16.

De microwasflesjes 7 en 8 alsmede het absorptievat 9 dienen voor de absorptie van eventueel toch nog ontstane stikstofdioxyden; terwijl de vulling van de verbrandingsbuis dient voor de omzetting van eventueel gevormd koolmonoxyde in koolzuurgas en om eventuele zwavelverbindingen vast te leggen. De zilverwol legt meegevoerde halogenen vast.

Het mangaandioxyde dat in de verbrandingsbuis wordt toegepast is bereid volgens H.A.J. Pieters - Z.f.Anal.Chem. 85 (1931) 113.

De samenstelling van chroomzuurmengsel is:

1,5 g  $KJ\text{O}_3$   
15 g  $\text{CrO}_3$   
30 g  $\text{P}_2\text{O}_5$   
130 ml gec. $\text{H}_2\text{SO}_4$   
25 ml 90%  $\text{H}_3\text{PO}_4$

Dit mengsel wordt gedurende 3 minuten op  $160^\circ\text{C}$  verwarmd onder voortdurend roeren. Alle chemicaliën zijn pro analysi.

De gebruikte weegbuisjes moeten zijn gemaakt van zeer dunwandig (zacht) glas. Voor het wegen worden ze met een zeemleer opgenomen en met een speciale pincet vastgehouden, zodat er geen besmetting door vingergrepen kan optreden.