

测定土壤有机物质中 ^{12}C 及 ^{14}C 分解速率的密闭培养法*

孙 波 车玉萍 林心雄

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要

将五六十年代提出的测定土壤有机碳矿化速率的密闭培养法用于测定土壤有机物质中 ^{12}C 及 ^{14}C 分解速率。为此,专门设计了一种吸收容量瓶,从而简化了实验室操作步骤,减少了 ^{14}C 的污染。

关键词 有机物质; 分解速率; ^{12}C ; ^{14}C ; 密闭培养法

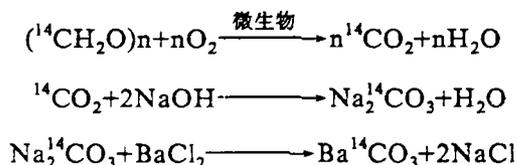
土壤中有机物质的分解速率受很多因素的影响,这些因素包括水热条件、土壤理化性质及植物物质化学组成等。在研究单因子或多因子对植物物质分解速率综合影响时,室内模拟培养试验方法是十分有效的。土壤中有机物质在好气条件下分解,最终形成 CO_2 ,通过测定不同时期内 CO_2 的释放量,就可计算出土壤中有机物质的分解速率;或者测定不同时期土壤的残留碳量,计算出有机物质的分解速率。通常采用前者,因为后者需要布置较多的处理重复,给样品预处理以及测定分析增加了不少工作量。

本文提出的测定 CO_2 释放量的方法实际上是密闭培养法^[1]的一种改进,主要是设计了一种吸收容量瓶,从而简化了实验操作,减少了因 $^{14}\text{CO}_2$ 吸收液的转移所造成的 ^{14}C 污染。改进后的方法适用于研究好气条件下土壤中 ^{14}C 标记有机物质及土壤原有有机物质(^{12}C)的分解速率。

1 方法原理

土壤中有机物质在好气条件下经微生物分解,最终形成 CO_2 和 H_2O ,释放出的 CO_2 吸收在过量的 NaOH 溶液中。 NaOH 吸收液定容后吸取一部分加入闪烁液,测定 ^{14}C 蜕变数(DPM),计算 ^{14}C 的释放量;另吸取一部分吸收液,加入过量的 BaCl_2 沉淀掉 CO_3^{2-} ,然后用标准 HCl 溶液滴定剩余的 NaOH ,计算出 ^{12}C 的释放量。

测定过程中标记碳(^{14}C)参与的反应如下:



* 国家自然科学基金资助项目。

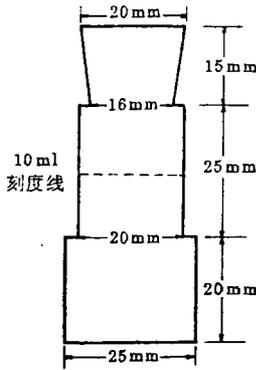


图1 用于吸收 CO₂ 的特制吸收容量瓶的规格

HCl 定容至 1000ml, 用硼砂标定其浓度; (3)1mol L⁻¹BaCl₂ 溶液: 称取 244g BaCl₂ · 2H₂O (化学纯)溶于 1000ml 无 CO₂ 蒸馏水中; (4)酚酞指示剂: 称取 0.5g 酚酞溶于 100ml 酒精中; (5)闪烁液: 称取 2,5-二甲基噻唑(PPO) 6g、1,4-双-(5-苯基噻唑基-2)苯(POPOP)0.15g 溶于 700ml 二甲苯和 400ml 乙二醇甲醚中, 然后加入 550ml 曲拉通(Triton X-100)混匀。

3 操作步骤

3.1 试验装置

称取 100g 土样(以干土计), 在操作箱内按土重的 0.15% 加入 ¹⁴C 标记的有机物料, 置于培养瓶中小心混匀。将新鲜的土壤悬液(水土比为 10:1)过滤后, 吸取 10ml 滤液加入培养瓶中接种微生物, 再加入全素营养液^[2], 两者体积的总和为供试土壤田间持水量的 60%。在培养瓶内的土壤表面垫一块尼龙网, 放入一只小烧杯, 杯中放置内盛 5ml 1mol L⁻¹NaOH 溶液的特制吸收容量瓶, 培养瓶封盖后称重, 置于恒温室内培养。

每 1 个试验处理重复 2 次, 并设置有不加土壤的空白对照瓶及观察瓶(为一透明培养瓶, 内装土壤及物料, 只是 NaOH 吸收液中加入酚酞指示剂, 用以观察培养过程中 NaOH 吸收液的消耗情况, 便于及时采样分析)。

3.2 ¹²C 及 ¹⁴C 释放量的测定

定期在通风橱中取出培养瓶内的吸收容量瓶, 同时换入新的吸收瓶, 然后继续培养(整个培养期间, 间隙将培养瓶称重并补充水分)。取出的吸收液定容至 10ml, 吸取 0.1ml 至闪烁瓶中, 加入 8ml 闪烁液, 用聚四氟乙烯薄膜及内外盖密封, 摇匀后静置过夜, 置于液闪仪上测定 ¹⁴C 蜕变数(DPM)。另吸取 3ml 吸收液至 50ml 烧杯中, 在自动滴定仪上用 0.15mol L⁻¹HCl 标准液滴定至第 1 个终点; 或加入 1ml 1mol L⁻¹BaCl₂ 溶液及 2 滴酚酞指示剂, 用 10ml 半自动滴定管滴定剩余的 NaOH。

4 结果计算

4.1 有机物质中 ¹⁴C 分解率(%)的计算

$$^{14}C(\%) = \frac{(D_1 - D_0) \times K}{A \times W \times 60} \times 100$$

2 仪器和试剂

2.1 仪器

(1)培养瓶: 配有内外盖的密封性良好的 800ml 棕色瓶; (2)吸收容量瓶: 特制的 19 号磨口 10ml 容量瓶(图 1); (3)闪烁瓶; (4)自动滴定仪或 10ml 半自动滴定管; (5)液体闪烁仪: Beckman LS-9800 型。

2.2 试剂

(1)1 molL⁻¹ NaOH 溶液: 称取 40g NaOH 溶于 100ml 无 CO₂ 蒸馏水中; (2)0.15mol L⁻¹HCl 标准液: 吸取 12.5ml 浓

