

土壤微生物碳测定方法

(氯仿熏蒸培养法和氯仿熏蒸—直接浸提法 TOC-VCPH 有机碳分析仪)

一、方法原理

土壤有机碳的测量方法主要有两种，即氯仿熏蒸培养法和氯仿熏蒸—直接浸提法。

1. 氯仿熏蒸培养法^[1]：土壤经氯仿熏蒸后再进行培养，测定培养时间内熏蒸与未熏蒸处理所释放 CO₂ 之差来计算土壤生物量碳。

2. 氯仿熏蒸直接浸提法^[2]：土壤经氯仿熏蒸后直接浸提进行，测定浸提液中的碳含量，以熏蒸和不熏蒸土壤中总碳的差值为基础计算土壤微生物含碳量。

直接提取法与氯仿熏蒸培养法相比，直接提取法具有简单、快速、测定结果的重复性较好等优点。直接提取法测定土壤微生物量的碳的方法日趋成熟。现在氯仿熏蒸—K₂SO₄ 提取法已成为国内外最常用的测定土壤微生物碳的方法。本实验以氯仿熏蒸直接浸提法为例介绍土壤微生物量碳氮的浸提与测定。

二、主要仪器

振荡机、真空干燥器、真空泵、TOC-VCPH 有机碳分析仪。

二、试剂

1. 氯仿（去乙醇）：普通氯仿一般含有乙醇作为稳定剂，使用前要去除乙醇。将氯仿按照 1 : 2 (v/v) 的比例与蒸馏水一起放入分液漏斗中，充分振荡，慢慢放出底部氯仿，重复 3 次。得到的无乙醇氯仿加入无水 CaCl₂，以除去氯仿中的水分。

2. 0.5 mol·L⁻¹ K₂SO₄ 浸提液：43.57 g 分析纯 K₂SO₄ 定溶至 1 L。

四、操作步骤

称取过 2 mm 筛的新鲜土样 7.5 g，置于铝盒中。将小烧杯放入真空干燥器中，干燥器底部放 3 个烧杯，其中一个放氯仿，烧杯内放少许玻璃珠（防爆），另一个放水（保持湿度），再放一杯稀 NaOH。抽真空时，使氯仿剧烈沸腾 3-5 min，关掉真空干燥器阀门，在暗室放

置 24 h。熏蒸结束后，打开干燥器阀门，取出氯仿，在通风橱中使氯仿全部散尽。另称取 1 份土壤不进行熏蒸步骤。

将熏蒸的土样全部转移至 150 mL 三角瓶中，加入 30 mL $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_2\text{SO}_4$ (土水比为 1:4)，振荡 30 min，过滤。未熏蒸土样操作相同，同时做空白。

五、结果计算

土壤微生物量碳 = (熏蒸土壤有机碳-未熏蒸土壤有机碳) / 0.45

式中：0.45——将熏蒸提取法提取液的有机碳增量换算成土壤微生物生物量碳所采用的转换系数 (kEc)。一般量容法采用的 kEc 值为 0.38，仪器分析法 kEc 取值 0.45。

六、参考文献

1. Jenkinson D S, Powelson D S . The effects of biocidal treatments on metabolism in forest soils . A method for measuring soil biomass[J]. Soil Biol & Biochem, 1976, 8: 189 ~ 202 .
2. Brookes P C, Landman A, Pruden Gand Jenkinson D S . Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen, a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil[J]. Soil Biol . Biochem. , 1985, 17: 837 ~ 842 .