

METODER TIL BESTEMMELSE AF KULSTOF

Forfatter(e): Rikke Lykke Eriksen, Planter & Miljø, SEGES Innovation

STØTTET AF

Promilleafgiftsfonden for landbrug

Indholdsfortegnelse

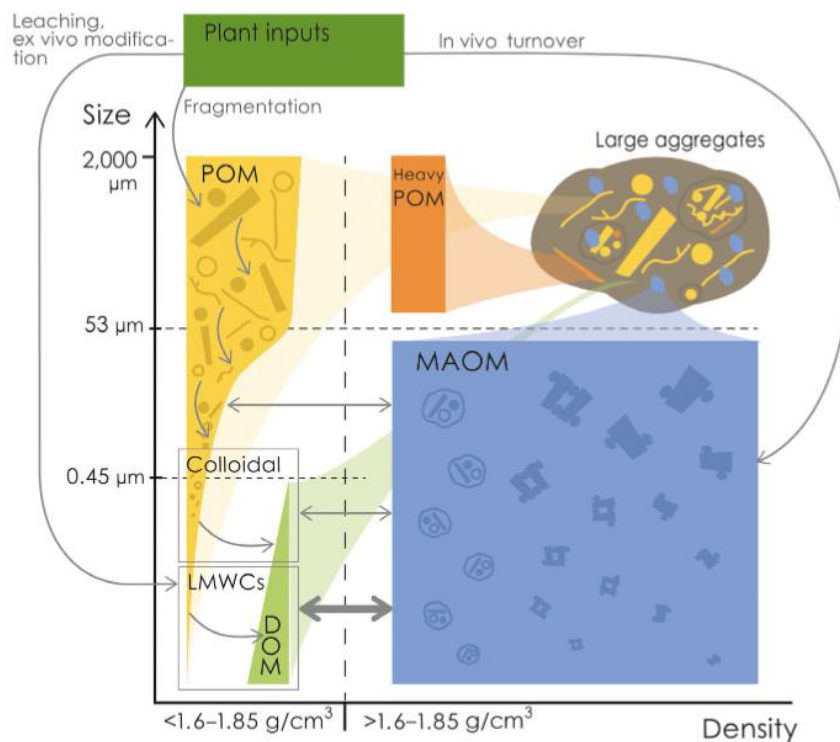
Indledning	3
Analysemetoder til bestemmelse af jordens kulstofindhold	5
Total organisk kulstof (TOC) i jord.....	5
Walkley Black metoden (Titrering).....	5
Loss-On-Ignition (glødetab).....	6
DUMAS (tørforbrænding/dry combustion)	6
Fraktioneringsmetoder	7
Kemiske fraktioneringsmetoder	7
Fysiske fraktioneringsmetoder	9
Kombinerede fraktioneringsmetoder	10
Metodernes anvendelse i praksis.....	11
Analyse af organisk kulstof i landbrugsjord	11
Analyse af kulstoffraktioner med forskellig nedbrydningshastighed i landbrugsjord	11
Sammendrag	13
Referencer	14

Indledning

Interessen for monitorering af jordens kulstofindhold, og hvordan forskellige dyrkningspraksisser eventuelt påvirker kulstofindholdet i landbrugsjord, er blevet større de senere år som følge af et øget fokus på kulstoflagring som klimavirkemiddel. Men estimering af jordens kulstofindhold er udfordrende grundet en stor rummelig variation i kulstofindholdet i landbrugsjorden. Desuden udfordrer mangel på videnskabelig konsensus og fortsat udvikling i forståelsen af dynamikken i jordens kulstofpulje, og dermed mekanismer for kulstoflagring, ligeledes monitorering og modellering af kulstof i jord.

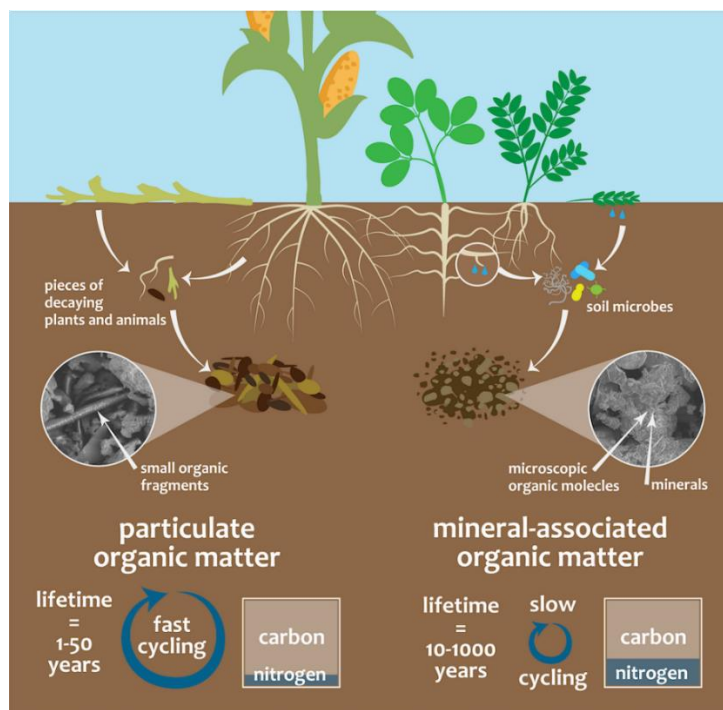
Forståelsen af kulstof i jord er ganske kompleks, særligt fordi det meste kulstof findes i jorden i form af organiske forbindelser, også refereret til som organisk stof eller organisk materiale. Hidtil har man ofte betragtet jordens kulstof som inddelt i to puljer baseret på kvaliteten af organisk materiale i jord. Med kvaliteten menes det organiske materiales kemiske sammensætning, og dermed mikroorganismernes evne til at nedbryde forbindelserne. Her er humus en ofte anvendt betegnelse for de svært-nedbrydelige organiske forbindelser i jorden, som vil være tilbage efter nedbrydning af den mere let-nedbrydelige del af frisk organisk materiale, såsom plante- og rodrester (Lehmann & Kleber, 2015).

Nyere teorier peger dog på, at forskellige kulstofpuljer i jorden, dynamikken i puljerne og ikke mindst omsætningshastigheder af forskellige puljer, er langt mere komplekse. I disse teorier, tillægges det organiske materiales fysiske tilgængelighed for mikrobiel nedbrydning en langt større betydning for stabilisering af kulstof i jord, modsat de traditionelle teorier, hvori den kemiske sammensætning af organisk materiale anses som afgørende for kulstoflagring og -stabilitet (Poeplau et al., 2018; Lehmann & Kleber, 2015). Det skyldes blandt andet en ændret forståelse for dynamikken i jordens kulstof, hvor også let-nedbrydeligt organisk materiale kan stabiliseres, og dermed lagres i jorden, når det bindes til jordminerale eller indgår i dannelsen af jordaggregater. I modsætning til den traditionelle opdeling af jordens kulstof i en let- og svært-nedbrydelig pulje på baggrund af kemisk sammensætning, opdeles jordens kulstofindhold, med afsæt i den nye forståelse, i tre puljer; dissolved organic matter (DOM), particulate organic matter (POM) og mineral-associated organic matter (MAOM) (Lavalley et al., 2020). Generelt beskrevet består DOM af meget små organiske partikler, som findes opløst i jordvandet. POM består hovedsageligt af relativt uomsatte, lette organiske fragmenter, og findes enten frit i jorden (free POM - fPOM) eller indesluttet i jordaggregater (occluded POM - oPOM). MAOM er enkle molekyler eller mikroskopiske fragmenter, der er enten udvaskes fra plantemateriale eller er skabt ved jordlevende organismers omsætning af f.eks. plantester. De små MAOM-fragmenter kan binde til jordminerale, indgå i organiske mineral komplekser eller indesluttet ved dannelsen af små jordaggregater (Lavalley et al., 2020). Inddeling af de tre puljer, DOM, POM og MAOM, efter densitet og størrelse kan ses i figur 1.



Figur 1: Fysisk inddeling af kulstof i POM, DOM og MAOM-fraktioner på baggrund af størrelse og densitet (Lavallee et al., 2020)

De tre nævnte fraktioner af organisk stof i jord, har vist sig at være grundlæggende forskellige i deres gennemsnitlige opholdstid, funktioner og respons på forandringer i jordmiljøet (Figur 2).



Figur 2: Overblik over dannelse og funktion af POM og MAOM. Kilde: Jocelyn Lavallee (colostate.edu).

Den kemiske sammensætning af MOAM-forbindelser er lettere at nedbryde for mikroorganismer end POM, da C/N forholdet i MAOM-forbindelser er lavere. Omvendt er POM-forbindelser typisk mindre beskyttet i jordmiljøet, hvorfor omsætningshastigheden og opholdstiden for denne pulje er kortere end for

MAOM (Lavalley et al., 2020). Det betyder dermed, at på trods af, at MOAM er lettere for mikroorganismer at nedbryde, vil denne pulje alligevel stabiliseres længere tid i jorden end POM, grundet denne fraktions begrænsede fysiske tilgængelighed for mikrobiel nedbrydning.

DOM udgør typisk en meget lille del af jordens totale kulstofindhold (>2%), og er svær at karakterisere, hvorfor denne fraktion i en del tilfælde udlades (Lavalley et al., 2020).

Det er vigtigt at være opmærksom på, at puljerne POM og MAOM kan være defineret og karakteriseret forskelligt mellem studier. Nogle studier anvender ovenstående termer og karakterisering af POM og MAOM. Et eksempel på en anden karakterisering er, at oPOM i nogle studier anses som værende en del af MAOM, hvor MAOM i stedet anses som den pulje af organisk materiale, der er både fysisk og kemisk stabiliseret. Ved sammenligning af studier, er det derfor vigtigt at være opmærksom på de enkelte studiers karakterisering af POM og MAOM-puljerne (Derrien et al., 2023). Desuden skal man også være opmærksom på, at 'light fraction' og 'heavy fraction' benyttes som synonyme for hhv. POM og MAOM (Lavalley et al., 2020).

Biokul og andet pyrogen kulstof (fra naturbrande) kan indgå i både POM og MAOM-fraktionerne, men det er vigtigt at have for øje, at størstedelen af kulstoffet i disse forbindelser er meget svært-omsætteligt for mikroorganismer, og at det derfor har en lang opholdstid i jorden, selv hvis det ikke er beskyttet af de omtalte mekanismer (von Lützow et al., 2007).

Den nye forståelse for kulstofpuljer- og omsætning i jord fordrer analysemetoder, der kan fraktionere jordens kulstofindhold i forskellige kulstofpuljer til at forbedre beregninger og modellering af jordens kulstof, og for at opnå en større forståelse for mulighederne i at øge kulstoflagring i landbrugsjord gennem forskellige tiltag. Derfor har denne rapport til formål at introducere læseren til forskellige kulstofanalysemetoder. Både analyser af totalt kulstof samt fraktioneringsmetoder til bestemmelse af kulstofpuljer med forskellig omsætningshastighed i jord. Desuden er anvendeligheden og præcisionen af de forskellige metoder beskrevet, baseret på vurderinger fra eksisterende litteratur.

Analysemetoder til bestemmelse af jordens kulstofindhold

Total organisk kulstof (TOC) i jord

Ved analyse af kulstof i jord, udtrykkes jordens organiske kulstofindhold som vægtprocenten af jord tørret ved 105°C (FAO, 2019). Forud for analyse af jordens organiske kulstofindhold passerer jordprøven gennem en 2 mm sigte, hvorefter indholdet af uorganisk kulstof (karbonater) i prøven, fjernes med en syrebehandling, f.eks. saltsyre (HCl) (FAO, 2019). Herefter kan jordens organiske kulstofindhold bestemmes ved brug af forskellige metoder, som beskrives i dette afsnit.

Walkley Black metoden (Titrering)

Walkley Black metoden er en titreringsmetode, hvor jordprøvens indhold af oxiderbart organisk kulstof bestemmes ved titrering med en kaliumdikromat ($K_2Cr_2O_7$)-opløsning i koncentreret svovlsyre (H_2SO_4) (såkaldt oxidationsmiddel) under opvarmning. I denne metode måles kulstofindholdet gennem kulstofabet i form af kuldioxid (CO_2) under titreringen. Det kan dog også bestemmes ud fra mængden af brugt oxidationsmiddel.

Mængden af organisk kulstof fundet ved denne metode er typisk 60-86% af den totale mængde organisk kulstof, og derfor anvendes ofte en korrektionsfaktor på 1,33 (gns. 76% organisk kulstof) til at

kompensere for dette (Nayak et al., 2019). Man skal dog være opmærksom på, at andelen af det totale organiske kulstof, der findes ved denne metode, kan variere mellem jordtyper, jorddybde m.m., og at korrektionsfaktoren dermed er baseret på en gennemsnitlig antagelse.

Tilstedeværelsen af større mængder jern(II)- og klor(Cl⁻)-forbindelser samt mangandioxid (MnO₂) i jorden kan påvirke resultaterne bestemt ved denne metode. Jern og klor vil medføre overestimering og mangandioxid en underestimering af det organiske kulstofindhold i prøven (Nayak et al., 2019; FAO, 2019). Ligeledes vil metoden underestimere indholdet af organisk kulstof i jorde med biokul eller andet pyrogent kulstof (Nayak et al., 2019).

I dag er metoden mindre anvendt, bl.a. fordi den kræver stærke oxidationsmidler og syrer, som genererer farligt affald (FAO, 2019).

Loss-On-Ignition (glødetab)

Loss-On-Ignition (LOI)-metoden, også kendt som glødetabsmetoden, er en simpel metode, der er baseret på antagelsen om at opvarmning ved temperaturer på 350-800°C vil resultere i at al organisk materiale frigives fra jorden, hvormed mængden af SOM i jorden beregnes som vægtforskellen før og efter foraskning, det såkaldte glødetab (LOI) (Nayak et al., 2019).

Der er ikke nogen standartprocedure for LOI-metoden, hvilket betyder at der i litteraturen findes forskellige vurderinger af den optimale temperatur og varighed af forbrændingen (Jensen et al., 2018). De mest almindeligt anvendte temperaturer i LOI-metoden er mellem 430-600°C (Navak et al., 2019). Forbrændingsvarigheden kan variere fra 2 timer til flere døgn (Nayak et al., 2019).

LOI-metoden har også været hyppigt anvendt til bestemmelse af organisk kulstof på baggrund af det målte glødetab. Bestemmelse af totalt organisk kulstof fra glødetabet gøres med en fastsat omregningsfaktor (fra organisk materiale til organisk kulstof) på 0,58, under antagelse af, at organisk materiale i jord indeholder 58% kulstof (Rollett et al., 2019).

Brug af LOI-metoden involverer dermed typisk følgende antagelser (Chatterjee et al., 2009):

1. Glødetabet (LOI) udgør udelukkende tab af organisk materiale under forbrænding.
2. Kulstofindholdet i organisk materiale er konstant.

Metoden møder dog en del kritik på baggrund af netop disse antagelser. Blandt andet fordi der er usikkerhed om, hvorvidt glødetabet udelukkende består af organisk materiale, da uorganiske forbindelser og hårdt bundet vand i ler også kan tabes ved forbrændingen. Samtidig, er der risiko for, at der ikke sker en fuldstændig forbrænding af jordens organiske materiale (Chatterjee et al., 2009). Desuden har studier vist, at antagelsen om et konstant kulstofindhold i organisk materiale er fejlagtig, og at kulstofindholdet bl.a. er kontrolleret af jordtypen. Heriblandt kan nævnes et dansk studie af Jensen et al. (2018), som fandt, at den traditionelt anvendte omregningsfaktor fra organisk materiale til organisk kulstof på 0,58 overestimerede det totale organiske kulstofindhold i en britisk og to danske jorde, og at den i stedet burde være 0,45-0,52 afhængig af jordtypen. Studiet viste ligeledes, at overestimering af det totale organiske kulstofindhold steg i takt med lerindholdet i jordene.

DUMAS (tørforbrænding/dry combustion)

Dumas-metoden er, modsat LOI-metoden, en metode til direkte bestemmelse af totalt- eller organisk kulstof i jord. Ved forbrænding af jordprøven i et specialiseret analyse-apparat med atmosfære af ren ilt ved høje temperaturer (>900°C), måles frigivelsen af kulstof fra prøven (som CO₂) med en gaskromatograf (Chatterjee et al., 2009). Tilstedeværelse af ren ilt og evt. tilførsel af andre katalysatorer er med til at sikre en fuldstændig forbrænding af kulstoffet i prøven (FAO, 2019).

Metoden muliggør direkte måling af både totalt kulstof og organisk kulstof i prøven, afhængig af om uorganisk kulstof fjernes forud for analysen, og det forventes at alt kulstof i prøven nedbrydes ved denne metode.

Noget udstyr er designet til at analysere i to steps, hvor tabet af kulstof fra prøven ved temperaturer op til 600°C angives som værende af organisk oprindelse, mens kulstoffabet ved 1000-1400°C forventes at udgøre kulstof af uorganisk oprindelse. Ved brug af denne metode skal man dog være opmærksom på, at i jorde der indeholder pyrogent organisk kulstof, såsom biokul, vil denne organiske kulstofandel ikke nedbrydes i første step, og fejlagtigt blive medregnet i den uorganiske andel (FAO, 2019).

Fraktioneringsmetoder

Stigende fokus på jordens frugtbarhed og kulstoflagring har øget interessen for at kunne kvantificere forskellige kulstofpuljer og deres omsætningshastighed i jord. Muligheden for at kunne bestemme og vurdere størrelsen af forskellige kulstofpuljer med varierende omsætningshastighed, vil kunne bidrage til en større forståelse for kulstoffodynamikken i jorden, og vil samtidig kunne bidrage til at forbedre modellering og forudsigelse af kulstofændringer i jorden, bl.a. ved ændring af dyrkningspraksis i marken (Poeplau et al., 2018; Poeplau & Gregorich, 2023)

En udfordring forbundet med måling af kulstoffraktioner med forskellig omsætningshastighed er, at forståelsen for dynamikkerne i kulstofpuljen og de forskellige stabiliseringsmekanismer i jorden endnu ikke har opnået fuld videnskabelig konsensus. Alligevel findes der i den videnskabelige litteratur utallige bud på metoder til isolering af kulstoffraktioner med forskellig nedbrydningshastighed. De første fraktioneringsmetoder var stærke/skrappe kemiske ekstraktionsmetoder, mens der i nyere tid er kommet mere fokus på fysiske fraktioneringsmetoder i takt med udviklingen af forståelsen for jordens kulstofomsætning og stabiliseringsmekanismer (Poeplau & Gregorich, 2023).

De mest anvendte fraktioneringsmetoder inddeles derfor typisk i to kategorier (von Lützw et al., 2007; Poeplau et al., 2018):

- Kemiske fraktioneringsmetoder
- Fysiske fraktioneringsmetoder

Forskellige metoder indenfor disse to kategorier er beskrevet i de kommende underafsnit.

Ligesom ved bestemmelse af totalt organisk kulstof, udføres fraktioneringsmetoder ligeledes typisk på jordprøver, der er passeret gennem en 2 mm sigte.

Kemiske fraktioneringsmetoder

Kemiske fraktioneringsmetoder har afsat i forståelsen af, at organiske forbindelsers kemiske sammensætning er afgørende for kulstofstabilitet- og lagring i jord. Metoderne er ofte baseret på en kemisk nedbrydning af det organiske materiale, der forsøger at efterligne biologiske nedbrydningsprocesser gennem ekstraktion, hydrolyse eller oxidation.

Ekstraktion- og Hydrolysemetoder

Hydrolyse og ekstraktion er kemiske metoder, der anvendes til at adskille organisk materiale i fraktioner med forskellig nedbrydningshastighed. Både hydrolyse og ekstraktion kan foretages med vand, mens kemisk ekstraktion typisk foregår i basiske opløsninger, og hydrolyse med syreopløsninger.

Hydrolyse eller ekstraktion med varmt vand er en metode der anvendes til at ekstrahere den vandopløselige kulstoffraktion (DOM) (von Lützw et al., 2007). Hydrolyse og ekstraktion kan også udføres med syre- og baseopløsninger, eksempelvis saltsyre (HCl), svovlsyre (H₂SO₄), natriumhydroxid (NaOH) og TSP (Na₄P₂O₇) (von Lützw et al., 2007). Ekstraktion med NaOH og Na₄P₂O₇ er traditionelt anvendt i kombination ved ekstraktion af såkaldte 'humus'-forbindelser, men er i dag mindre anvendt grundet ændret forståelse for stabilisering af kulstof i jord og tvivlsspørgsmål omkring metodens anvendelighed (von Lützw et al., 2007). Syrehydrolyse bryder hydrolytiske bindinger, hvorved eksempelvis hemicellulose, cellulose og protein frigives. Forbindelser der er resistente overfor syrehydrolyse, er mere stabile kulstofforbindelser såsom lignin, cutin og andre voksforbindelser. Hvorvidt en forbindelse er hydrolyserbar afhænger af den anvendte syre og dens styrke.

Ved hydrolysefraktionering, både med varmt vand eller syre, inddeles produkterne fra hydrolysering i en hydrolyserbar kulstoffraktion og en ikke-hydrolyserbar kulstoffraktion. Den hydrolyserbare fraktion anses som mere let-nedbrydelig, mens den ikke-hydrolyserbare fraktion betragtes som mere svært-nedbrydelig (von Lützw et al., 2007).

Studier har vist, at den hydrolyserbare fraktion med syre også indeholder mineralbundet organisk materiale (MAOM) og organisk materiale, der er fysisk beskyttet i jorden (oPOM) (von Lützw et al., 2007). Dette skyldes, at metoden udelukkende fraktionerer på baggrund af det organiske materiales kemiske sammensætning, og derfor ikke tager højde for at fysiske kulstofforbindende mekanismer i jorden påvirker materialets nedbrydningshastighed (Poeplau et al., 2018).

Oxidationsmetoder

Oxidation af organisk kulstof i en jordprøve med forskellige oxiderende reagenter anvendes til at efterligne kraftige enzymatiske angreb. Den fraktion, som er modstandsdygtig overfor oxidationsreagenterne, har i studier vist sig at være fraktionen med laveste nedbrydningshastighed (Poeplau et al., 2018). Generelt for fraktioneringsmetoder med brug af oxidations reagenter, deles jordens organiske materiale i to fraktioner; én oxiderbar fraktion, der anses som en lettere nedbrydelig kulstoffraktion, og én ikke-oxiderbar fraktion, bestående af en mere stabil kulstoffraktion.

Flere forskellige oxidationsreagenter kan anvendes til kemisk fraktionering, hvor brintoverilte (H₂O₂), Natriumpersulfat (Na₂S₂O₈) og Kaliumpermanganat (KMnO₄) er blandt de mest anvendte oxidationsreagenter. Et studie, der sammenlignede forskellige kemiske fraktioneringsmetoder viste, at alle ovenstående oxidationsreagenter var i stand til at nedbryde labilt kulstof, og dermed efterlode en kulstoffraktion (ikke-oxiderbar) bestående af ældre og mere stabilt organisk kulstof (Helfrich et al., 2007). Men nogle studier har også vist, at frisk plantemateriale er resistent overfor oxidation med H₂O₂, og derfor fejlagtigt vil medregnes i den stabile, ikke-oxiderbare fraktion, hvis ikke det fjernes indledningsvist (von Lützw et al., 2007).

Brugen af KMnO₄ har de senere år fået mere kommerciel interesse, da det er en hurtig og billig metode til bestemmelse af permanganat-oxiderbart kulstof (POXC), også kaldet aktivt kulstof. I dag tilbyder bl.a. Eurofins analyser af aktivt kulstof i jordprøver med denne metode, som en del af deres 'Soil carbon Check' (Eurofins, 2023).

Kaliumpermanganat (KMnO₄) betragtes som en mild oxidationsreagent, men nogle studier har vist, at KMnO₄ i nogle tilfælde også kan nedbryde mere stabile kulstofforbindelser i jord (Tirol-Padre & Ladha, 2004), hvilket taler imod metodens anvendelighed. Huang et al. (2020) pointerede blandt andet, at der af den årsag, er behov flere undersøgelser af, hvorvidt POXC udelukkende repræsenterer end labil kulstofpulje/fraktion i jorden. Men ifølge Weil et al. (2003) skyldtes oxidation af mere stabile forbindelser ved brug af KMnO₄, at man i undersøgelserne har anvendt høje koncentrationer af KMnO₄ på 0,33 M (metode udviklet af Blair et al., 1995). Weil et al. (2003) undersøgte derfor forskellige KMnO₄-koncentrationer (0,005-0,1 M) og udviklede derfra en metode, som i stedet anvendte en 0,02 M KMnO₄-opløsning.

Ligeledes påviste Weil et al. (2003) at POXC (oxideret med 0,02 M KMnO_4) var i tæt relation med POM og kulstof fra mikrobiel biomasse. Vigtigst af alt, har flere studier vist, at POXC, bestemt ved brug denne metode, kan være en nyttig indikator for langsigtet kulstofflagring i jorden, da denne kulstoffraktion er følsom overfor dyrkningsmæssige ændringer, hvormed POXC kan afspejle praksis, der fremmer akkumulering og stabilisering af organisk materiale (Culman et al., 2012; Hurisso et al., 2016).

Generelt set er de kemiske fraktioneringsmetoder gode til at inddele jordens organiske materiale i fraktioner med forskellig nedbrydningshastighed på baggrund af de organiske forbindelsers kemiske sammensætning. Men de kemiske fraktioneringsmetoder møder også en del kritik, da kemisk nedbrydning gennem hydrolyse eller oxidation ikke bør anses som værende det samme som den biologiske nedbrydning der foregår i jordmiljøet (von Lützw et al., 2007; Poeplau et al., 2018).

Fysiske fraktioneringsmetoder

De fysiske fraktioneringsmetoder har afsætt i den nyere forståelse af, at fysisk tilgængelighed af organisk materiale, og dermed kulstof, er mest betydende for kulstofstabilitet og -lagring i landbrugsjord. Derfor har de fleste af disse metoder fokus på inddeling af jordens kulstof i en POM og en MAOM-fraktion med forskellig omsætningshastighed.

Aggregat fraktionering

Aggregat fraktionering er en metode, der hovedsageligt anvendes til at undersøge betydningen af dyrkningspraksis for jordaggregaternes funktioner og styrke (Just et al., 2021). Denne metode inddeler jordens organiske kulstof i typisk to puljer; (I) frit organisk kulstof og (II) organisk kulstof, der er fysisk beskyttet i aggregater. Dette gøres ved tør og/eller vådsigtning af jorden. Vådsigtning involverer 'slaking', hvor tør jord i en sigte nedsænkes i vand, som medfører at ustabile makroaggregater nedbrydes, når de udsættes for dette hurtige vandoptag, og dermed kan inddeles i to eller flere aggregatstørrelser (von Lützw et al., 2007). Ved inddeling i flere end to fraktioner, anvendes sigter med forskellige maskestørrelse til fraktionering. Typisk anvendes en 250 μm sigte til inddeling i makro- (>250 μm) og mikroaggregater (<250 μm). En anden ofte anvendt sigtestørrelse er 53 μm , som inddeler mikroaggregaterne i to fraktioner; (I) grove mikroaggregater og sand (>53 μm) samt (II) fine mikroaggregater, silt og ler (<53 μm) (Elliot, 1986; Don & Poeplau, 2023).

Selvom aggregatdannelse anses som værende vigtig for stabilisering af kulstof i jord, vurderer flere studier, at fraktionering af jordens organiske materiale på baggrund af aggregatstørrelse, ikke er en effektiv metode til inddeling af jordens kulstofpulje i fraktioner med forskellig omsætningshastighed (von Lützw et al., 2007; Poeplau et al., 2018). Det skyldes, at omsætningshastigheden for organisk kulstof indesluttet i aggregater kan variere betydeligt (von Lützw et al., 2007; Poeplau et al., 2018). Metoden kan derfor ikke stå alene, men kan i stedet være værdifuld, når metoden fungerer som indledende opdeling i kombination med andre fraktioneringsmetoder (Six et al., 2002).

Partikelstørrelsesfraktionering

Fraktionering på baggrund af partikelstørrelse er en anden metode, der kan benyttes til at adskille frit og indesluttet partikulært organisk kulstof (fPOM og oPOM) fra organisk kulstof, der er bundet til jordminerale (MAOM). Partikelstørrelsesfraktionering udføres efter samme metode som aggregatfraktionering, dog med den forskel, at jordprøven dispergeres før sigtning. Dispergering udføres for at nedbryde aggregatstrukturen i jordprøven, så oPOM og MAOM bundet i aggregater frigøres (Poeplau et al., 2018). Der findes forskellige metoder til partikelstørrelsesfraktionering, som inddeler jordpartiklerne i forskellige partikel-fraktioner. Metoden af Sanderman et al. (2013) inddeler, eksempelvis jordprøven i en grov (>50 μm) og en fin (<50 μm) partikelfraktion. En anden metode udviklet af Lopez-Sangil et al. (2013) inddeler jordpartiklerne i fire fraktioner af hhv. 2000-200 μm , 200-50 μm , 50-20 μm og <20 μm , svarende til hhv. grov, middel og fint partikulært organisk materiale (POM) og mineralbundet organisk materiale (MAOM), mens Just et al. (2021) inddeler i fraktionerne >20 μm (POM) og <20 μm (MAOM).

Ved inddeling i mere end to partikelstørrelsesfraktioner, vil variationen i nedbrydningshastighed indenfor hver fraktion falde, hvor nedbrydningshastigheden vil være lavest i fraktionen med den mindste partikelstørrelse. Som angivet i figur 1, kan POM og MAOM-fraktionerne groft opdeles efter partikelstørrelser over og under 53 μm (Lavallee et al., 2020). Men afhængig af den anvendte metode, er der forskellige vurderinger af, hvilken partikelstørrelse, der adskiller POM-fraktionen fra MAOM-fraktionen, hvorfor det varierer mellem 20-63 μm (Just et al., 2021). Ofte betragtes partikelfraktionerne af organisk kulstof i relation til partikelstørrelserne på sand (>20 μm), silt- (2-20 μm) og ler (<2 μm), hvor POM relateres til de grove sandpartikler og MAOM til de finere silt- og lerpartikler. Af den årsag anses organisk kulstof med en partikelstørrelse på størrelse med sand som værende lettere nedbrydeligt end organisk kulstof på størrelse med eller bundet til silt- og ler partikler (von Lützow et al., 2007).

Densitetsfraktionering

En tredje metode udviklet til fysisk fraktionering af organisk kulstof i jord, er baseret på densitet, hvor prøven inddelles i en let (POM) og en tung fraktion (MAOM). Den lette fraktion er typisk defineret ved en densitet på <1,6 g per cm^3 , mens den tunge fraktion er materiale med en densitet >1,6 g per cm^3 (figur 1) (Lavallee et al., 2020). Nogle densitetsmetoder inkluderer en yderligere opdeling af den lette og tunge fraktion efter andre densitets-intervaller, f.eks. 2,4 g per cm^3 (Sollins et al., 2009). POM-fraktionen karakteriseres som den en lettere nedbrydelig kulstofpulje, da den indeholder organisk materiale, der ikke er bundet til mineraler i jorden, og som derfor har en lavere densitet.

De fleste densitetsfrakteringsmetoder benytter en sodium polytungstate (SPT) opløsning med en densitet på 1,6 g per cm^3 til fraktionering af en jordprøve. Når prøven tilsættes denne opløsning og efterfølgende centrifugeres, vil organisk materiale i prøven med en lavere densitet end opløsningen flyde ovenpå, og kan derved separeres fra (Sollins et al., 2009). SPT er det mest anvendte middel til densitetsfraktionering, da det kan produceres med forskellige densiteter (1,0±3,1 g per cm^3) (von Lützow et al., 2007). Ønsker man at inddele POM-fraktionen (den lette) i frit POM (fPOM) fra POM gemt i aggregater (oPOM), kan man foretage densitetsfraktioneringen med SPT af to omgange, hvor den tunge fraktion (>1,6 g per cm^3) fra første densitetsfraktionering dispergeres (aggregater nedbrydes), før den tilsættes SPT-opløsning igen (Golchin et al., 1994). Dermed bestemmes fPOM i første omgang, og oPOM i anden omgang.

Denne mulighed betyder også, at man med densitetsfraktionering kan differentiere POM-fraktionen mere end det er muligt med partikelstørrelsesfraktionering.

En udfordring ved densitetsmetoden er, at biokul eller andet pyrogen kulstof vil indgå i den lette fraktion (POM). Det betyder, at dette ellers meget stabile kulstof, fejlagtigt vil indregnes i modeller som mere let-omsætteligt kulstof, hvis det er til stede i jordprøven (von Lützow et al., 2007).

Kombinerede fraktioneringsmetoder

Som antydnet i de to foregående afsnit, er de fysiske- og kemiske fraktioneringsmetoder, når de anvendes alene, udfordret i forhold til at inddele jordens kulstofindhold i homogene fraktioner der repræsenterer de forskellige stabiliseringsmekanismer og nedbrydningshastigheder. Dette skyldes, at de fysiske fraktioneringsmetoder er baseret på antagelsen om, at kulstoffets binding til jordmineraler og indbygning i jordaggregater er de mest afgørende stabiliseringsmekanismer. Omvendt, er de kemiske fraktioneringsmetoder baseret på forståelsen af, at stabiliteten af kulstoffet i jord bestemmes af de organiske kulstofforbindelsers kemiske sammensætning (Poeplau et al., 2013). Dermed er det svært, ved brug af enkeltstående metoder, at isolere og kvantificere kulstofpuljer, der er forskellige i omsætningshastighed og inddelt på baggrund af både fysisk og kemisk stabilitet.

Flere studier har derfor foreslået metoder, der kombinerer de fysiske- og kemiske fraktioneringsmetoder, for at imødegå denne udfordring (von Lützow et al., 2007; Poeplau et al., 2018). Disse metoder inkluderer

typisk en indledende fysisk fraktionering med densitet eller partikelstørrelsesfraktionering, som adskiller POM fra MAOM, hvorefter en kemisk fraktioneringsmetode, såsom oxidation, isolerer en ikke-oxiderbar kulstoffraktion med høj stabilitet.

Et omfattende studie, udført af Poeplau et al. (2018), sammenlignede 20 forskellige fraktioneringsmetoder, både fysiske-, kemiske- og kombinerede fraktioneringsmetoder, evne til at isolere fraktioner med forskellig omsætningshastighed. På baggrund af studiets resultater konkluderede forfatterne, at metoder som kunne adskille MAOM-kulstof fra POM-kulstof, såsom partikelstørrelse- og densitetsfraktionering, var de bedste, kun overgået af metoder, hvor disse blev kombineret med oxidation.

Metodernes anvendelse i praksis

Analyse af organisk kulstof i landbrugsjord

Analyse af totalt organiske kulstof tilbydes af de fleste laboratorier, der foretager andre analyser af jordprøver. Det er dog vigtigt at have for øje, hvilken metode der benyttes af laboratorierne. DUMAS-metoden den mest retvisende metode til bestemmelse af jordens indhold af organisk kulstof, og den benyttes som standard hos bl.a. laboratorierne Agrolab og Eurofins.

Man skal dog være opmærksom på, at analyse af jordens indhold af organisk materiale, er baseret på en omregningsfaktor, og dermed ikke bestemmes ved en direkte måling.

Analyse af kulstoffraktioner med forskellig nedbrydningshastighed i landbrugsjord

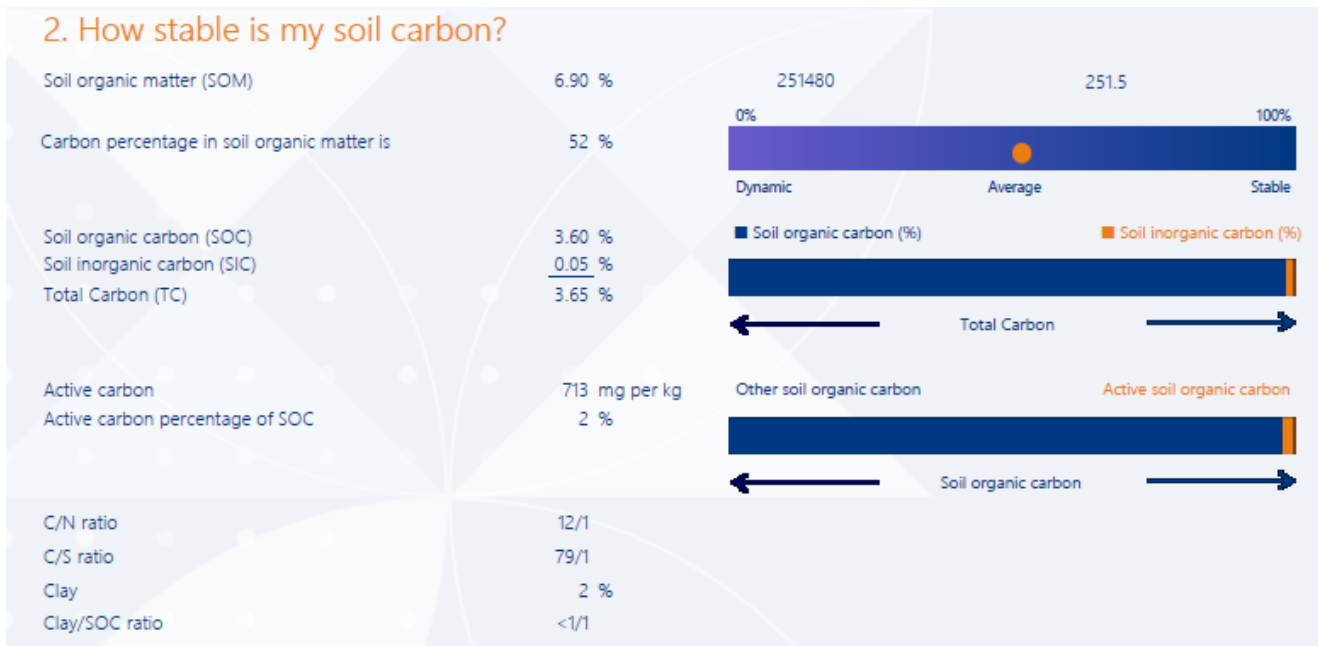
De beskrevne fraktioneringsmetoder til analyse af jordens kulstofindhold er endnu hovedsageligt anvendt i forskningsøjemed, og udføres derfor ikke umiddelbart på kommercielle laboratorier. Udfordringen er bl.a. at der findes et utal af forskellige metoder, og at der ikke forskningsmæssigt er konsensus omkring én eller få robuste og retvisende metoder, hvilket formegentlig skyldes videnshuller og den manglende konsensus omkring de bagvedliggende teorier. Desuden er mange af de beskrevne metoder ligeledes også både dyre og tidskrævende at udføre.

I takt med at forståelsen for stabiliseringsmekanismerne i jorden har ændret sig, og forståelsen med MAOM og POM har vundet mere frem, er POM foreslået som en indikator for kortsigtede ændringer i jordens kulstofindhold på baggrund af den anvendte dyrkningspraksis, mens MAOM kan anvendes som indikator for langsigtet kulstoflagring (Just et al., 2021).

På baggrund af konklusionerne i studiet af Poeplau et al. (2018), som sammenlignede mere en 20 fraktioneringsmetoders evne til at isolere kulstoffraktioner med forskellig omsætningshastighed, har Just et al. (2021) foreslået brugen af partikelstørrelsesfraktionering (</>20 µm) med grundig dispergering, som en simpel, pålidelig og hurtig metode til at måle ændringer i MAOM og POM-puljerne i jorden på tværs af jordtyper. Anvendelsen af denne eller lignende metoder til monitorering af kulstof med lav og høj stabilitet i landbrugsjord ville potentielt kunne bidrage til en øget forståelse af dyrkningspraksis og virkemidler der kan akkumulere og stabilisere kulstof i landbrugsjord.

Men hvis man som landmand allerede i dag gerne vil blive klogere på stabiliteten af kulstoffet i sin landbrugsjord, tilbyder bl.a. Eurofins et 'Soil Carbon Check', som beskrevet i afsnittet om oxidationsmetoder, indebærer målinger af aktivt kulstof ved brug af kemisk oxidation med kaliumpermanganat (KMnO₄) (Eurofins, 2023). Ligesom POM kan permanganatoxiderbart kulstof (POXC) benyttes som en mere kortsigtet

indikator for dyrkningspraksis der akkumulerer og stabiliserer organisk kulstof i jorden. Stabiliteten af jordens kulstofindhold afrapporteres af Eurofins på følgende måde (Figur 3):



Figur 3: Afrapportering af Eurofins Soil Carbon Check. Kilde: Eurofins [CarbonCheck \(eurofins-agro.com\)](https://www.eurofins-agro.com).

Sammendrag

Tørforbrænding (DUMAS) er den mest præcise metode til bestemmelse af totalindholdet af organisk kulstof i jordprøver. DUMAS er standartmetoden til analyse af totalt organisk kulstof i jord hos de fleste danske laboratorier, herunder Eurofins og Agrolab.

Analyse af jordens indhold af organisk materiale (humus), måles ikke direkte hos laboratorierne. I stedet bruges en omregningsfaktor til bestemmelse af organisk materiale ud fra indholdet af organisk kulstof bestemt med DUMAS.

Det er vigtigt at være opmærksom på, at tilstedeværelsen af biokul og andet kul i jorden, ved brug af nogle metoder kan give misvisende resultater.

Analyser, hvor jordens kulstofindhold indeles i fraktioner med forskellig omsætningshastighed, er endnu en mangelvare hos de fleste kommercielle laboratorier. Et eksempel på et laboratorium, der udbyder dette er Eurofins, som måler jordens indhold af aktivt kulstof, hvorfra stabiliteten af jordens kulstof vurderes.

Referencer

Blair, G. J., Lefroy, R. D., & Lisle, L. (1995). Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. *Australian journal of agricultural research*, 46(7), 1459-1466.

Chatterjee, A., Lal, R., Wielopolski, L., Martin, M. Z., & Ebinger, M. H. (2009). Evaluation of different soil carbon determination methods. *Critical Reviews in Plant Science*, 28(3), 164-178.

Culman, S. W., Snapp, S. S., Freeman, M. A., Schipanski, M. E., Beniston, J., Lal, R., ... & Wander, M. M. (2012). Permanganate oxidizable carbon reflects a processed soil fraction that is sensitive to management. *Soil Science Society of America Journal*, 76(2), 494-504.

Derrien, D., Barré, P., Basile-Doelsch, I., Cécillon, L., Chabbi, A., Crème, A., ... & Dignac, M. F. (2023). Current controversies on mechanisms controlling soil carbon storage: implications for interactions with practitioners and policy-makers. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 43(1), 21.

Don, A., Poeplau, C. (2023). SOM fractionation ... is a website guiding students and scientists on soil organic matter fractionation methods. www.somfractionation.org.

Elliott, E. (1986). Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils. *Soil science society of America journal*, 50(3), 627-633.

Eurofins (2023). Soil Carbon Check. *Soil Carbon Check - Eurofins Agro* (eurofins-agro.com).

FAO. (2019). Measuring and modelling soil carbon stocks and stock changes in livestock production systems: Guidelines for assessment (Version 1). Livestock Environmental Assessment and Performance (LEAP) Partnership. Rome, FAO. 170 pp.

Golchin, A., Oades, J. M., Skjemstad, J. O., & Clarke, P. (1994). Study of free and occluded particulate organic matter in soils by solid state ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy and scanning electron microscopy. *Soil Research*, 32(2), 285-309.

Helfrich, M., Flessa, H., Mikutta, R., Dreves, A., & Ludwig, B. (2007). Comparison of chemical fractionation methods for isolating stable soil organic carbon pools. *European Journal of Soil Science*, 58(6), 1316-1329.

Huang, J., Rinnan, Å., Bruun, T. B., Engedal, T., & Bruun, S. (2021). Identifying the fingerprint of permanganate oxidizable carbon as a measure of labile soil organic carbon using Fourier transform mid-infrared photoacoustic spectroscopy. *European Journal of Soil Science*, 72(4), 1831-1841.

Hurisso, T. T., Culman, S. W., Horwath, W. R., Wade, J., Cass, D., Beniston, J. W., ... & Ugarte, C. M. (2016). Comparison of permanganate-oxidizable carbon and mineralizable carbon for assessment of organic matter stabilization and mineralization. *Soil Science Society of America Journal*, 80(5), 1352-1364.

Jensen, J. L., Christensen, B. T., Schjørring, P., Watts, C. W., & Munkholm, L. J. (2018). Converting loss-on-ignition to organic carbon content in arable topsoil: pitfalls and proposed procedure. *European journal of soil science*, 69(4), 604-612.

Just, C., Poeplau, C., Don, A., van Wesemael, B., Kögel-Knabner, I., & Wiesmeier, M. (2021). A simple approach to isolate slow and fast cycling organic carbon fractions in central European soils—importance of dispersion method. *Frontiers in Soil Science*, 1, 692583.

Lavallee, J. M., Soong, J. L., & Cotrufo, M. F. (2020). Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Global change biology*, 26(1), 261-273.

Lehmann, J., & Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528(7580), 60-68.

Lopez-Sangil, L., & Rovira, P. (2013). Sequential chemical extractions of the mineral-associated soil organic matter: An integrated approach for the fractionation of organo-mineral complexes. *Soil Biology and Biochemistry*, 62, 57-67.

Nayak, A. K., Rahman, M. M., Naidu, R., Dhal, B., Swain, C. K., Nayak, A. D., ... & Pathak, H. (2019). Current and emerging methodologies for estimating carbon sequestration in agricultural soils: A review. *Science of the total environment*, 665, 890-912.

Pico, Y., & Barcelo, D. (2020). Pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry in environmental analysis: Focus on organic matter and microplastics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 130, 115964.

Poeplau, C., Don, A., Dondini, M., Leifeld, J., Nemo, R., Schumacher, J., ... & Wiesmeier, M. (2013). Reproducibility of a soil organic carbon fractionation method to derive RothC carbon pools. *European Journal of Soil Science*, 64(6), 735-746.

Poeplau, C., Don, A., Six, J., Kaiser, M., Benbi, D., Chenu, C., ... & Nieder, R. (2018). Isolating organic carbon fractions with varying turnover rates in temperate agricultural soils—A comprehensive method comparison. *Soil Biology and Biochemistry*, 125, 10-26.

Poeplau, C., & Gregorich, E. (2023). Advances in measuring soil organic carbon stocks and dynamics at the profile scale. Chapter 11. Book: *Understanding and Fostering Soil Carbon Sequestration*. Burleigh Dodds Science Publishing Limited.

Rollett, A., Williams, J. (2019). *Review of best practice for SOC monitoring*. Soil Policy Evidence Programme. Report. UK. Review of best practice for SOC monitoring (gov.wales).

Sanderman, J., Fillery, I. R. P., Jongepier, R., Massalsky, A., Roper, M. M., Macdonald, L. M., ... & Baldock, J. A. (2013). Carbon sequestration under subtropical perennial pastures II: Carbon dynamics. *Soil Research*, 51(8), 771-780.

Six, J., Conant, R. T., Paul, E. A., & Paustian, K. (2002). Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. *Plant and soil*, 241, 155-176.

Sollins, P., Kramer, M. G., Swanston, C., Lajtha, K., Filley, T., Aufdenkampe, A. K., ... & Bowden, R. D. (2009). Sequential density fractionation across soils of contrasting mineralogy: evidence for both microbial- and mineral-controlled soil organic matter stabilization. *Biogeochemistry*, 96, 209-231.

Tirol-Padre, A., & Ladha, J. K. (2004). Assessing the reliability of permanganate-oxidizable carbon as an index of soil labile carbon. *Soil Science Society of America Journal*, 68(3), 969-978.

von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., & Marschner, B. (2007). SOM fractionation methods: relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil biology and biochemistry*, 39(9), 2183-2207.

Weil, R. R., Islam, K. R., Stine, M. A., Gruver, J. B., & Samson-Liebig, S. E. (2003). Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use. *American Journal of Alternative Agriculture*, 18(1), 3-17.