



## **Annex 7:**

# **CARBON MINERALIZATION PROTOCOL**

**by Ghent University**

Authors: Caleb Elijah Egene, Ivona Sigurnjak

Department of Green Chemistry and Technology, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Coupure Links 653, 9000 Ghent, Belgium

Co-funder(s):



Partners:



## Table of contents

1.	Introduction .....	4
2.	Carbon mineralization protocol.....	5
2.1.	Selection and preparation of the soil.....	5
2.2.	Test conditions .....	6
2.3.	Measuring carbon mineralization .....	7
2.3.1.	Preparation of the soil .....	7
2.3.2.	Application quantity of the tested material .....	7
2.3.3.	Starting the incubation .....	8
2.3.4.	Course of incubation.....	9
2.3.5.	Calculations .....	9
3.	Appendix (C protocol in Dutch).....	12

# 1. Introduction

This report contains description of protocol on how to assess carbon mineralization from organic materials. The described protocol is the official protocol used by research institutes in Flanders, and in this report it is translated in English from its original source.

The carbon mineralization protocol is provided by Public Waste Agency of Flanders (OVAM) and is titled as *OVAM, 2002. Oriënterend onderzoek naar de invulling van de begrippen mineralenrijk - mineralenarm, humusrijk. D/2002/5024/06. 33 blz.*

In the protocol attempt is made to mimic field conditions as much as possible. Therefore, tested materials are always applied in fresh form, as it is done in practice by farmers.

## 2. Carbon mineralization protocol

### 2.1. Selection and preparation of the soil

In the execution of mineralization experiments the choice of soil plays an important role. It is common knowledge that different soils exhibit strongly different mineralization rates, both for C and for N mineralization, and this is in function of soil parameters such as texture, organic nitrogen content and pH. The influence of the soil texture is very important here. Soils with higher clay contents generally exhibit much lower mineralization rates than soils with a lighter texture, with comparable levels of organic matter. This texture difference can be explained by the fact that the clay fraction physically protects the organic matter in the soil against degradation by microorganisms (Van Veen & Kuikman, 1990) (very stable clay-humus complexes are formed and, in addition, the much smaller pores in clay soils are part of the organic matter that is not accessible to the microbial biomass).

The influence of the soil texture must therefore certainly be taken into account when the degradability of organic matter in the soil is evaluated. After all, different results can be obtained through the choice of soils with different textures. If, however, the same soil type is used consistently, the degradability of different types of organic material can always be compared with each other. Hence, a relative ranking of organic material to degradability is possible, but the actual mineralization rates measured in situ will vary depending on the type of soil in which the material is incorporated in practice.

Another important factor is the pre-treatment of the soil. The soil used for the incubations can be used in moist condition and without sieving. In this way, the microbial biomass which is the engine of the entire process, is minimally disturbed and the field conditions are perhaps best approached. The problem here is, however, there is some variability introduced in this

way due to the presence of plant residues, pebbles, etc. In view of the relatively small amounts of soil used in such experiments, this variability can be undesirably high. The use of soils that are dried and sieved first will greatly reduce the variability between the different treatments and repetitions, but on the other hand there will be a strong disturbance of the soil life. This disturbance usually manifests itself in the beginning of an experiment as a "flush" of mineralization, due to the mineralization of the dead microbial biomass (comparable with what is obtained with a sterilization of the soil as in the fumigation incubation technique for determining the microbial biomass; Jenkinson, 1976). The importance of this effect varies greatly per situation and is difficult to estimate in advance. The disturbance effect on mineralization is especially important when considering the mineralization of soil organic matter, but when freshly administered organic matter is administered to the soil, one can reasonably assume that the effect of the disturbance in all treatments will be expressed evenly (no interaction between pre-treatment and nature of the organic matter administered), so that this will not influence the relative ranking of the types of organic material.

## **2.2. Test conditions**

All kinds of environmental factors have a major influence on the course of the mineralization of organic material. Temperature and moisture content are certainly the most important. The test conditions often have to be a compromise between approaching the actual situation as much as possible and limiting the duration of the test. Hence, incubation experiments are usually carried out at relatively high temperatures. Often it is simplified that the mineralization of organic material doubles for an increase of the temperature by 10 °C. This obviously means that the temperature must be the same when comparing mineralization of organic matter. It is crucial to be able to recalculate the conditions of temperature and moisture during the incubations to either circumstances as used in comparable tests or to values that are actually measured. For the conversion of the temperature, a

constant  $Q_{10}$  factor can be used, for example 2. A more realistic approach would be the use of a more sophisticated temperature correction (e.g. De Neve et al., 1996), certainly if it has to be corrected for large temperature differences. A similar reasoning applies to the moisture content of the soil with which the incubations are carried out, although there is a wider optimum for moisture content in which the mineralization is only slightly influenced.

The soil density also plays a role in mineralization of organic material, but this influence is much smaller than the influence of temperature or moisture content (De Neve & Hofman, 2000). Only extreme variations in densities when performing incubations must be avoided.

Finally, the duration of the incubation is also important. A longer incubation will allow to more accurately visualize the stability of the organic matter, but the incubation must remain practically feasible. A minimum duration of 1 month seems sufficient to get a clear picture of the stability of the studied organic material.

## **2.3. Measuring carbon mineralization**

### **2.3.1. Preparation of the soil**

The soil is spread out in a thin layer (2-3 cm) and is air-dried. Optionally, fans can be used to speed up the drying process. Oven drying is better avoided. If the soil is air-dry, it is ground if necessary (<2mm), if grinding is not necessary, the soil is only sieved (<2mm).

### **2.3.2. Application quantity of the tested material**

Ideally, an equal amount of C should be incorporated for different types of materials that are administered to the soil. This is, however, difficult to realize in practice because of two main reasons. On the one hand, the C content is often not yet known at the moment that the incubations are started. On the other hand, it is also practically difficult to apply the same

amount of organic C for such very different materials (with widely varying dry matter contents and organic matter contents). There are factors that limit the minimum and maximum amount of a material that can be incorporated. After all, the heterogeneity of the material sets a lower limit to the minimum amount of material that can be incorporated, while on the other hand the dry matter content limits the maximum amount of material (when the water is supplied too much to the soil, the predetermined moisture content is exceeded). In practice, the dry matter content of the product will be especially decisive.

Within reasonable limits, however, it can be assumed that the amount of organic C administered will not significantly influence the mineralization pattern.

### **2.3.3. Starting the incubation**

The organic material is used in the fresh state, as it will also be used in practice. The organic material is homogenized as well as possible and the soil is thoroughly mixed with a predetermined amount of the organic material. Good mixing is essential for obtaining reliable results. The soil is moistened to a moisture content of 80% of field capacity by administering distilled water. If a measurement of the moisture content in field capacity is not available, an estimate is made based on texture and content of organic matter. When adding water, account must be taken of the moisture content already present in the organic material to be administered and the moisture content of the air-dry soil.

A sub-sample of the homogenised organic material is taken for determination of dry matter and organic carbon content.

The soil-organic material mixture is then placed in the incubation container. In this case, these are glass jars that can be sealed airtight with the aid of a clamp and a rubber ring. The jars are weighed before closing. A bottle of NaOH 1N is placed in the jars to capture the CO<sub>2</sub> produced during the incubation. The jars are then closed and placed at a constant temperature, in



this case  $21.5 \pm 0.5$  °C. In addition to the soil with organic material, a blank (soil without addition of organic material) is also incubated, and a control (jar with just a bottle of NaOH).

#### **2.3.4. Course of incubation**

At predetermined times, the jars are opened, and the bottles with NaOH are removed. The jars are not closed immediately, but they are left half-open so that sufficient refreshment of the air in the jars can take place. The bottles with NaOH are immediately sealed. After all the vials have been collected, the excess NaOH is titrated with 1N HCl to pH 8.3. For this purpose, 2 ml of BaCl is first administered to precipitate the carbonates that interfere with the titration. New bottles with NaOH are placed in the jars and the jars are closed again.

The jars are regularly weighed to check whether moisture loss has occurred. If necessary, distilled water is added to compensate for the water loss.

The proposed duration of the incubation is 5 to 6 weeks.

#### **2.3.5. Calculations**

The amount of CO<sub>2</sub>-C is calculated as follows:

$$\text{CO}_2\text{-C (mg)} = (B-S) \times M \times E$$

with:

B: ml HCl for titration control

S: ml HCl for titration sample

M: normality of the HCl (= 1)

E: Equivalent mass of C in the reaction (= 6)

The net mineralized C from the organic material administered to the soil is calculated by making the difference with the mineralization from the blank (soil without additives) and is expressed as a percentage of the total amount

of C administered. The mineralized C (in % of total) is then plotted cumulatively in function of the time.

The amount of effective organic matter (EOM) is the fraction of the organic matter that is still present in the soil after 1 year. In view of the duration of the experiment, it is therefore not possible to determine the amount of EOM directly. The first order kinetics model can often be fitted to the cumulative C mineralization from a short-term experiment:

$$OC(t) = OC_A (1 - e^{-kt})$$

with:

OC (t): the amount of organic carbon mineralized on time t

OC<sub>A</sub>: the amount of mineralizable carbon (in the short term)

k: the mineralization rate

The various kinds of organic material are then compared to each other via the variable-OC 100<sub>A</sub>. Or from the model the C mineralization can be calculated after 5 weeks (OC<sub>5</sub>) and the comparison can be made via the quantity 100-OC<sub>5</sub>.

If the data obtained in the incubation test is of such a nature that no first-order model can be fitted, a second-order model may be used as found in Sleutel et al. (2005). Otherwise, the amount (100 - mineralized C after 5 weeks) can simply be used as a comparison basis. However, if the mineralization is still linear after 5 weeks, this will only yield a very approximate value for the amount of stable organic matter.

### **Comments:**

For highly heterogeneous materials, it may be particularly difficult to take a representative sample for use in the incubations. There can also be a lot of variability on the replicates. This can have a significant impact on the final assessment of the material. Problems can also occur in the determination of

dry matter and organic carbon content. The quantities of material to be worked into the soil should therefore not be too small.

For determinations at other temperatures, a temperature correction must be applied as stated in the introduction in order to be able to compare the results. For this a  $Q_{10} = 2$  can be taken.

#### **2.1.4 References**

De Neve S., Pannier J. and Hofman G. 1996. Temperature effects on C and N mineralization from vegetable crop residues. *Plant and Soil*, 181, 25-30.

De Neve S. and Hofman G. 2000. Influence of soil compaction on C and N mineralization from soil. *Biology and Fertility of Soils* 30, 544-549.

Jenkinson DS 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil.VI. The decomposition of fumigated organisms in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 8, 203-208.

Sleutel, S., De Neve, S., Prat Roibas, R., Hofman, G. (2005). The influence of model type and incubation time on the estimation of stable organic carbon in organic materials. *European Journal of Soil Science*, 56, 505–514.

Van Veen JA & Kuikman PJ 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by microorganisms. *Biogeochemistry* 11, 213-233.

### **3. Appendix (C protocol in Dutch)**

**Deel 3: Protocol voor de bepaling van de  
hoeveelheid stabiele organische stof**

### 3.1. Inleiding

#### Selectie en voorbereiding van de bodem.

Bij het uitvoeren van mineralisatie experimenten speelt de keuze van de bodem een belangrijke rol. Het is algemeen geweten dat verschillende bodems sterk verschillende mineralisatiesnelheden vertonen, zowel voor C als voor N mineralisatie, en dit in functie van bodemparameters als textuur, organische stofgehalte, organische stikstofgehalte, pH. De invloed van de bodemtextuur is hierbij heel belangrijk. Bodems met hogere gehalten aan klei vertonen over het algemeen veel lagere mineralisatiesnelheden dan bodems met een lichtere textuur, bij vergelijkbare gehalten aan organische stof. Dit textuurverschil is te verklaren doordat de kleifractie de organische stof in de bodem fysisch beschermt tegen afbraak door microorganismen (Van Veen & Kuikman, 1990) (er worden zeer stabiele klei-humuscomplexen gevormd en bovendien is door de veel kleinere poriën in kleibodems een deel van de organische stof niet toegankelijk voor de microbiële biomassa).

De invloed van de bodemtextuur moet dan ook zeker in rekening gebracht worden wanneer de afbreekbaarheid van organisch materiaal in de bodem wordt geëvalueerd. Door keuze van bodems met verschillende texturen kunnen immers verschillende resultaten worden bekomen. Wanneer echter consequent met eenzelfde bodemtype wordt gewerkt, dan kan de afbreekbaarheid van verschillende soorten organisch materiaal wel steeds onderling met elkaar vergeleken worden. Vandaar dat een relatieve rangschikking van organisch materiaal naar afbreekbaarheid wel mogelijk is, maar de werkelijke mineralisatiesnelheden opgemeten *in situ* zullen variëren naargelang het type bodem waarin het materiaal in de praktijk wordt ingewerkt.

Een andere belangrijke factor is de voorbehandeling van de bodem. De bodem gebruikt voor de incubaties kan in vochtige toestand en zonder zeven worden gebruikt. Op die manier wordt de microbiële biomassa, de motor van het hele proces, minimaal verstoord en worden wellicht de veldomstandigheden het best benaderd. Probleem hierbij is evenwel de variabiliteit die op deze manier wordt geïntroduceerd, door de aanwezigheid van planteresten, steentjes, ... Gelet op de relatief kleine hoeveelheden grond die in dergelijke experimenten worden gebruikt kan deze variabiliteit ongewenst hoog oplopen. Het gebruik van bodems die eerst gedroogd en gezeefd worden zal de variabiliteit tussen de verschillende behandelingen en herhalingen sterk reduceren, maar anderzijds treedt een sterke verstoring op van het bodemleven. Deze verstoring manifesteert zich in het begin van een experiment gewoonlijk als een "flush" van mineralisatie, te wijten aan de mineralisatie van de afgestorven microbiële biomassa (te vergelijken met wat men bekomt bij een sterilisatie van de bodem zoals in de fumigatie-incubatie techniek voor het bepalen van de microbiële biomassa, Jenkinson, 1976). Het belang van dit effect is sterk verschillend per situatie en moeilijk op voorhand in te schatten. Het verstoringseffect op de mineralisatie is vooral belangrijk wanneer men de mineralisatie van bodem organische stof bekijkt, maar wanneer vers toegediend organisch materiaal aan de bodem wordt toegediend, kan men redelijkerwijze aannemen dat het effect van de verstoring in alle behandelingen gelijkmatig zal tot uiting komen (geen interactie tussen voorbehandeling en aard van het toegediende organisch materiaal), zodat dit de relatieve rangschikking van de soorten organisch materiaal niet zal beïnvloeden.

#### Proefomstandigheden

Allerlei omgevingsfactoren hebben een grote invloed op het verloop van de mineralisatie van organisch materiaal. Temperatuur en vochtgehalte zijn hierbij zeker de voornaamste. De

proefomstandigheden moeten dikwijls een compromis zijn tussen het zoveel mogelijk benaderen van de werkelijke situatie en het beperken van de duur van de proef. Vandaar dat incubatieproeven meestal bij relatief hoge temperaturen worden uitgevoerd. Dikwijls wordt vereenvoudigend aangenomen dat voor een toename van de temperatuur met 10 °C de mineralisatie van organisch materiaal verdubbelt. Dit betekent uiteraard dat bij onderlinge vergelijkingen van mineralisatie van organisch materiaal de temperatuur dezelfde moet zijn. Het is van cruciaal belang om de omstandigheden van temperatuur en vocht tijdens de incubaties te kunnen herrekenen naar ofwel omstandigheden zoals die in vergelijkbare proeven werden gebruikt, ofwel naar waarden die ook in werkelijkheid worden opgemeten. Voor de omrekening van de temperatuur kan een constante Q10 factor gebruikt worden van bijvoorbeeld 2. Een meer realistische benadering zou evenwel zijn het gebruik van een meer gesofisticeerde temperatuurscorrectie (bv. De Neve et al., 1996), zeker als moet gecorrigeerd worden voor grote temperatuurverschillen. Een vergelijkbare redenering geldt voor het vochtgehalte van de bodem waarmee de incubaties worden uitgevoerd, hoewel er voor vochtgehalte een breder optimum bestaat waarbinnen de mineralisatie slechts weinig wordt beïnvloed.

Ook de bodemdichtheid speelt een rol bij mineralisatie van organisch materiaal, maar deze invloed is veel kleiner dan de invloed van temperatuur of vochtgehalte (De Neve & Hofman, 2000). Enkel extreme variaties in dichtheden bij het uitvoeren van incubaties moeten vermeden worden.

Tenslotte is ook de duur van de incubatie van belang. Een langere incubatie zal toelaten om de stabiliteit van de organische stof meer nauwkeurig in beeld te brengen, maar de incubatie moet praktisch haalbaar blijven. Een minimale duur van 1 maand lijkt afdoende om een duidelijk beeld te krijgen van de stabiliteit van het bestudeerde organisch materiaal.

## **3.2. Meten van de koolstofmineralisatie**

### *3.2.1. Voorbereiding van de bodem*

De bodem wordt uitgespreid in een dunne laag (2-3 cm) en wordt aan de lucht gedroogd. Eventueel kunnen ventilatoren ingezet worden om het droogproces te versnellen. Ovendrogen wordt beter vermeden. Wanneer de bodem luchtdroog is wordt hij indien nodig gemalen (< 2mm), indien malen niet nodig is wordt de bodem enkel gezeefd (< 2mm).

### *3.2.2. Hoeveelheid in te werken materiaal*

In ideale omstandigheden zou een gelijke hoeveelheid C moeten ingewerkt worden voor verschillende soorten stoffen die aan de bodem worden toegediend. Dit is in de praktijk nochtans moeilijk te realiseren omwille van vooral twee redenen. Enerzijds is dikwijls het C gehalte nog niet gekend op het moment dat de incubaties worden opgestart. Anderzijds is het praktisch ook moeilijk haalbaar om voor dergelijke sterk uiteenlopende stoffen (met sterk uiteenlopende droge stofgehaltes en organische stofgehaltes) eenzelfde hoeveelheid organische C in te werken. Er zijn namelijk factoren die grenzen stellen aan de minimale en maximale hoeveelheid van een stof die kunnen ingewerkt worden. De heterogeniteit van het materiaal stelt immers een onderste grens aan de minimale hoeveelheid materiaal die kan ingewerkt worden, terwijl anderzijds het droge stofgehalte een grens stelt aan de maximale hoeveelheid materiaal (bij toedienen van te veel water

aan de bodem wordt het vooropgestelde vochtgehalte overschreden). In de praktijk zal vooral dit droge stofgehalte van het product bepalend zijn.

Binnen redelijke grenzen kan nochtans aangenomen worden dat de hoeveelheid toegediende organische C het mineralisatiepatroon niet beduidend zal beïnvloeden.

### *3.2.3. Opstarten van de incubatie*

Het organisch materiaal wordt in verse toestand gebruikt, zoals het in de praktijk ook zal worden toegepast. Het organisch materiaal wordt zo goed als mogelijk gehomogeniseerd en de bodem wordt zeer grondig gemengd met een vooraf bepaalde hoeveelheid van het organisch materiaal. Een goede menging is essentieel voor het bekomen van betrouwbare resultaten. De bodem wordt bevochtigd tot een vochtgehalte van 80 % van veldcapaciteit door toedienen van gedestilleerd water. Indien een meting van het vochtgehalte bij veldcapaciteit niet voorhanden is wordt hiervan een schatting gemaakt op basis van textuur en gehalte aan organisch materiaal. Bij het toevoegen van het water moet rekening worden gehouden met het vochtgehalte dat reeds in het toe te dienen organisch materiaal aanwezig is en met het vochtgehalte van de luchtdroge grond.

Er wordt een deelmonster van het gehomogeniseerde organisch materiaal genomen voor bepaling van droge stof en organisch koolstofgehalte.

Het mengsel bodem-organisch materiaal wordt vervolgens in de incubatiecontainer gebracht. In dit geval zijn dit glazen bokalen die met behulp van een klem en een rubberen ring luchtdicht kunnen afgesloten worden. Vóór het afsluiten worden de bokalen gewogen. In de bokalen wordt een flesje met NaOH 1N geplaatst om de CO<sub>2</sub> die tijdens de incubatie geproduceerd wordt te capteren. De bokalen worden vervolgens afgesloten en bij een constante temperatuur geplaatst, in dit geval 21.5 ± 0.5°C. Naast de bodem met organisch materiaal wordt ook een blanco (bodem zonder toevoeging van organisch materiaal) geïncubeerd, en een controle (bokaal met enkel een flesje NaOH).

### *3.2.4. Verloop van de incubatie*

Op vooraf bepaalde tijdstippen worden de bokalen geopend en worden de flesjes met NaOH verwijderd. Men sluit de bokalen niet onmiddellijk maar laat ze halfgeopend staan zodat er voldoende verversing van de lucht in de bokalen kan plaatsgrijpen. De flesjes met NaOH worden onmiddellijk afgesloten. Nadat alle flesjes verzameld zijn wordt de overmaat NaOH teruggetitreerd met 1N HCl tot pH 8.3. Hiervoor wordt eerst 2 ml BaCl toegediend om de carbonaten, die bij de titratie interfereren, neer te slaan. In de bokalen worden nieuwe flesjes met NaOH geplaatst en de bokalen worden terug afgesloten.

Regelmatig worden de bokalen gewogen om na te gaan of er vochtverlies is opgetreden. Indien nodig wordt er gedestilleerd water toegevoegd om het waterverlies te compenseren.

De voorgestelde duur van de incubatie bedraagt 5 tot 6 weken.

### *3.2.5. Berekeningen*

De hoeveelheid CO<sub>2</sub>-C wordt als volgt berekend:

$$\text{CO}_2\text{-C (mg)} = (\text{B-S}) \times \text{M} \times \text{E}$$

met:

B: ml HCl voor titratie controle

S: ml HCl voor titratie monster

M: normaliteit van het HCl (=1)

E: equivalentmassa van C in de reactie (=6)

De netto gemineraliseerde C uit het organisch materiaal toegediend aan de bodem wordt berekend door het verschil te maken met de mineralisatie uit de blanco (bodem zonder toevoegingen) en wordt uitgedrukt als percentage van de totaal toegediende hoeveelheid C. De gemineraliseerde C (in % van totaal) wordt vervolgens cumulatief uitgezet ifv. de tijd.

De hoeveelheid stabiele organische stof is de fractie van het toegediende organisch materiaal dat in de bodem nog aanwezig is na 1 jaar. Gelet op de duur van het experiment is het dus niet mogelijk om de hoeveelheid EOS direct te bepalen. Aan de cumulatieve C mineralisatie uit een korte termijn experiment kan dikwijls wel het eerste orde kinetiek model gefit worden:

$$\text{OC}(t) = \text{OC}_A (1 - e^{-kt})$$

met:

OC(t): de hoeveelheid organische koolstof gemineraliseerd op tijd  $t$

OC<sub>A</sub>: de hoeveelheid mineraliseerbare koolstof (op korte termijn)

$k$ : de mineralisatiesnelheid

De verschillende soorten organisch materiaal worden dan onderling vergeleken via de grootte 100-OC<sub>A</sub>. Of uit het model kan de C mineralisatie na 5 weken (OC<sub>5</sub>) berekend worden en kan de vergelijking gemaakt worden via de grootte 100-OC<sub>5</sub>.

Indien de gegevens bekomen in de incubatieproef van die aard zijn dat er geen eerste orde model kan aan gefit worden, kan gewoon de hoeveelheid (100-gemineraliseerde C na 5 weken) gebruikt worden als vergelijkingsbasis. Indien de mineralisatie na 5 weken echter nog lineair verloopt zal dit slechts een zeer benaderende waarde opleveren voor de hoeveelheid stabiele organische stof. Voor een verdere discussie hierrond verwijzen we naar deel 2 van deze studie (2.3.2).

Kanttekeningen:

Voor zeer heterogene materialen kan het bijzonder moeilijk zijn om een representatief monster te nemen voor gebruik in de incubaties. Er kan dan ook heel wat variabiliteit op de herhalingen zitten. Dit kan een belangrijke weerslag hebben op de uiteindelijke beoordeling van het materiaal. Ook bij



de bepaling van droge stof en organisch koolstofgehalte kunnen hierbij problemen optreden. De hoeveelheden in te werken materiaal in de bodem mogen dan ook niet te klein zijn.

Voor bepalingen bij andere temperaturen moet zoals in de inleiding vermeld een temperatuurscorrectie worden toegepast om de resultaten onderling te kunnen vergelijken. Hiervoor kan een  $Q_{10}=2$  worden genomen.

### **3.3. Referenties**

De Neve S., Pannier J. and Hofman G. 1996. Temperature effects on C and N mineralization from vegetable crop residues. *Plant and Soil*, 181, 25-30.

De Neve S. and Hofman G. 2000. Influence of soil compaction on C and N mineralization from soil organic matter and crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 30, 544-549.

Jenkinson D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil.VI. The decomposition of fumigated organisms in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 8, 203-208.

Van Veen J.A. & Kuikman P.J. 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by microorganisms. *Biogeochemistry* 11, 213-233.