

Capitolo 11

AZOTO

L. Badalucco, V.A. Laudicina, M.A. Rao, R. Scelza

1. Introduzione	“	282
2. Determinazione dell'azoto totale con analizzatore elementare	“	284
3. Determinazione dell'azoto totale con metodo semi-micro-Kjeldahl	“	284
4. Determinazione dell'azoto totale con metodo semi-micro-Kjeldahl modificato	“	287
5. Determinazione dell'azoto totale estraibile con soluzione salina con metodo micro-Kjeldahl.....	“	291
6. Determinazione dell'azoto totale estraibile con soluzione salina con metodo micro-Kjeldahl modificato	“	294
7. Determinazione colorimetrica degli ioni ammonio estraibili	“	296
8. Determinazione colorimetrica degli ioni nitrato estraibili	“	298
9. Estrazione dell'azoto totale idrolizzabile con acido cloridrico	“	300
10. Determinazione dell'azoto totale idrolizzabile con acido cloridrico secondo il metodo micro- Kjeldahl	“	302

1. Introduzione

L'azoto (N) è un elemento fondamentale per tutti gli organismi viventi, in quanto costituente primario degli amminoacidi, mattoni costitutivi delle proteine, e delle basi azotate presenti nel materiale genetico delle cellule (DNA e RNA). Inoltre, ha un ruolo chiave nel controllare la produzione primaria della biosfera (Gruber e Galloway, 2008) essendo l'elemento chimico più abbondante contenuto nei vegetali dopo carbonio, ossigeno ed idrogeno.

La quantità di N nel suolo generalmente oscilla tra 0,6 e 5 g kg⁻¹ negli orizzonti superficiali, fino a superare i 25 g kg⁻¹ nei suoli torbosi. L'N è presente nel suolo prevalentemente ($\geq 90\%$) sotto forma organica, ed anche se le piante possono assimilare piccole quantità di composti organici azotati a basso peso molecolare (es. amminoacidi) attraverso il loro apparato radicale (Badalucco e Nannipieri, 2007; Geisseler et al., 2010), la maggior parte di esso è reso disponibile per le piante solo dopo i processi di mineralizzazione a carico della sostanza organica.

A causa dell'enorme numero di composti in cui l'N compare (elevatissima chemiodiversità), numerosi metodi sono stati elaborati per la determinazione delle diverse forme di N nel suolo. Il presente capitolo nasce dalla rivisitazione e dall'aggiornamento del precedente pubblicato sul manuale dei Metodi di Analisi Chimica del Suolo (MiPAF, 2000), ferma restando la validità dei metodi in esso proposti. Si caratterizza, inoltre, per l'introduzione di alcuni aspetti non trattati in precedenza.

Per quanto concerne la determinazione dell'N totale nel suolo, sono riproposti il metodo con l'analizzatore elementare ed il metodo Kjeldahl. Quest'ultimo, rispetto al manuale precedente, è presentato con modifiche riguardo alle quantità di campione da usare ed ai reagenti da utilizzare, al fine di limitare l'uso di reagenti e quindi la produzione di rifiuti, pur rimanendo assolutamente riproducibili i risultati ottenuti. Inoltre, sono riportate le necessarie modifiche al metodo Kjeldahl al fine di includere i nitrati, considerato che il metodo Kjeldahl classico non li include quantitativamente (Stevenson, 1996).

Per quanto concerne la determinazione di ioni ammonio e nitrato scambiabili sono proposti due metodi colorimetrici non previsti nel precedente manuale, ma riportati in Stevenson (1996).

Inoltre, è riproposto il metodo per la determinazione dell'N totale in estratti salini già pubblicato sul manuale dei Metodi di Analisi Biochi-

mica del Suolo (MiPAF, 2004).

Più complessa è la problematica relativa all'estrazione e frazionamento dell'N del suolo al fine di determinarne le forme organiche in cui esso è contenuto, aspetto non trattato nella precedente versione del manuale (MiPAF, 2000). Infatti, ad oggi, non esiste un metodo universalmente accettato in grado di determinare con precisione le diverse forme di N organico. Tuttavia, nel presente capitolo si riporta uno dei metodi più diffusi in letteratura e che prevede l'idrolisi a caldo del suolo con acido cloridrico sotto reflusso e la successiva determinazione dell'N totale secondo il metodo Kjeldahl (Stevenson 1996). Da uno studio condotto da Sowden et al. (1977) su suoli provenienti da diversi ambienti climatici e sviluppatasi su diversi litotipi, è emerso che l'N totale idrolizzabile in acido cloridrico è generalmente compreso tra l'84,2 e l'88,9% dell'N totale.

Bibliografia

- Badalucco L., Nannipieri P., 2007. Nutrient transformations in the rhizosphere. In: Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (Eds), *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*, 2nd edition, pp. 111-133. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Geisseler D., Horwath W.R., Joergensen R.G., Ludwig B., 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms – A review. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 2058-2067
- Gruber N., Galloway J.N., 2008. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature* 451, 293-296.
- MIPAF (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali), 2000. *Metodi di Analisi Chimica del Suolo*. Ed. Franco Angeli, Milano.
- Sowden F.J., Chen Y., Schnitzer M., 1977. The nitrogen distribution in soils formed under widely differing climatic conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 41, 1524-1526.
- Stevenson F.J., 1996. Nitrogen-organic forms. In: Sparks D.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Chemical Methods. Part 3*, pp.1185-1200. SSSA Book Series No. 5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.

2. Determinazione dell'azoto (N) totale con analizzatore elementare

Il principio, i reagenti, l'apparecchiatura, il procedimento analitico e l'espressione dei risultati sono riportati nel metodo per la determinazione del Carbonio totale con analizzatore elementare.

3. Determinazione dell'azoto (N) totale con metodo semi-micro-Kjeldahl

Principio

Il metodo si basa sulla mineralizzazione a caldo con acido solforico concentrato ed in presenza di catalizzatore per convertire l'N organico in N ammoniacale.

Successivamente, l'N ammoniacale, previa aggiunta di una soluzione concentrata di idrossido di sodio, è distillato come ammoniaca in corrente di vapore, raccolto su soluzione di acido bórico (acido debole), con formazione di borato (base forte), a sua volta quantificato tramite retro-titolazione con acido solforico (acido forte).

Per raggiungere la completa mineralizzazione dell'N organico in tempi più brevi si può anche eseguire un pretrattamento con perossido di idrogeno.

Reagenti

- *Miscela di solfato di potassio (K_2SO_4)-catalizzatore*
Miscelare 200 g di solfato di potassio, 20 g di solfato di rame pentaidrato ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) e 2 g di selenio (Se) in polvere. Polverizzare i reagenti separatamente prima di miscelarli.
- *Acido solforico concentrato (H_2SO_4) [96% ($d = 1,835 g cm^{-3}$)]*
- *Soluzione 10 M di idrossido di sodio (NaOH)*
In un beaker graduato di plastica da 1 L contenente 700 mL di acqua distillata, sciogliere 400 g di idrossido di sodio. Lasciare raffreddare la soluzione e portare a volume in un matraccio di plastica da 1 L.
- *Soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (NaOH)*
In un beaker graduato di plastica da 1 L contenente 700 mL di acqua distillata, sciogliere 4 g di idrossido di sodio. Lasciare raffreddare la soluzione e portare a volume in un matraccio di plastica da 1 L.

- *Indicatore per la titolazione*

In un beaker graduato di vetro Pyrex da 1 L contenente 800 mL di acqua distillata, sciogliere 20 g di acido borico (H_3BO_3) mediante agitazione e riscaldamento. Dopo aver raffreddato la soluzione, aggiungere 20 mL della soluzione di indicatore ottenuta sciogliendo 0,099 g di verde di bromocresolo ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) e 0,066 g di rosso metile ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) in 100 mL di etanolo. A questo punto aggiungere con cautela la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio finché la soluzione non avrà assunto una colorazione rossastra (pH intorno a 5,0). Portare a volume con acqua distillata in un matraccio da 1 L. Agitare bene la soluzione prima dell'utilizzo.

- *Soluzione 0,01 N di acido solforico (H_2SO_4)*

In un matraccio da un L, portare a volume con acqua distillata una soluzione volumetrica standard contenente 0,005 moli di acido solforico.

- *Perossido di idrogeno (H_2O_2) [30% m/m ($d=1,122\text{ g cm}^{-3}$)]*

Apparecchiatura

- *Attrezzatura e vetreria da laboratorio di uso comune*
- *Mineralizzatore a blocchi*
- *Provettoni in Pyrex da 100 mL idonei per il mineralizzatore a blocchi*
- *Distillatore automatico micro-Kjeldahl*
- *Buretta o titolatore automatico per reazioni acido-base*
- *Vortex*
- *Palline antiebollizione ($\phi \sim 3\text{-}4\text{ mm}$)*

Procedimento

Pretrattamento con perossido di idrogeno

Trasferire in un pallone Kjeldahl da 100 mL una quantità di campione di suolo finemente macinato e setacciato a 0,5 mm, e che contenga circa 1 mg di N.

Aggiungere 2 mL di perossido di idrogeno. Dopo che cessa la formazione di schiuma, aggiungere con cautela 3 mL di acido solforico concentrato e 2-3 palline antiebollizione. Riscaldare e tenere in ebollizione per 30 minuti. Raffreddare ed aggiungere, lentamente, altri 4 mL di perossido di idrogeno. Riscaldare e tenere in ebollizione per altri 30 minuti. Lasciare raffreddare, trasferire la sospensione in un matraccio

da 100 mL e portare a volume con acqua. Procedere secondo quanto descritto nel Par. 3.4.3. (Hach et al. 1985; 1987)

Mineralizzazione

Trasferire una quantità di campione di suolo, finemente macinato e seccato a 0,5 mm, che contenga circa 1 mg di N in un provettone da 100 mL (oppure trasferire il campione pre-trattato con perossido di idrogeno come descritto al paragrafo precedente). Aggiungere 1,1 g di miscela di solfato di potassio-catalizzatore e 3 mL di acido solforico concentrato. Porre il provettone sul blocco mineralizzatore e riscaldare a 375 °C per 3 ore. Parallelamente, mineralizzare anche il contenuto di 4 provettoni che differiscano da quelli recanti il campione di suolo unicamente per l'assenza del campione di suolo stesso (bianchi).

Distillazione

Dopo la mineralizzazione, lasciare raffreddare il provettone. L'eventuale corpo di fondo formatosi in seguito alla mineralizzazione deve essere solubilizzato aggiungendo 15 mL di acqua distillata ed agitando con vortex. Posizionare quindi il provettone con il campione mineralizzato nell'apparato automatico micro-Kjeldahl, aggiungere lentamente 15 mL della soluzione 10 M di idrossido di sodio ed avviare la distillazione. Raccogliere circa 50-60 mL di distillato in una beuta Erlenmeyer da 100 mL già contenente 10 mL della soluzione di indicatore per la titolazione.

Titolazione

Determinare l'N ammoniacale nel distillato con la soluzione 0,01 N di acido solforico usando una buretta da 10 mL graduata ad intervalli di 0,01 mL, sapendo che 1 mL della soluzione 0,01 N di acido solforico è pari a 0,14 mg di N ammoniacale. Il punto di fine titolazione è indicato dal viraggio (cambiamento di colore) della soluzione da verde a rosa. In alternativa, facendo uso di un titolatore automatico, questo aggiungerà lentamente la soluzione 0,01 N di acido solforico nel distillato degli estratti, fino al valore di pH di fine titolazione. Tale valore, da impostare preventivamente, sarà dato dalla media dei 4 valori di pH del distillato delle prove in bianco (assenza di suolo). Se la procedura è stata eseguita correttamente, tale valore di pH dovrebbe essere intorno a 5,4, mentre il pH del distillato delle soluzioni di mineralizzazione dei campioni di suolo sarà tanto maggiore quanto maggiore è la loro concentrazione in azoto.

Espressione dei risultati

Il contenuto di N ammoniacale (N-NH₄) è calcolato come segue:

$$\text{g N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ suolo} = V \cdot 0,01 \cdot 14 / p$$

dove:

V = volume in mL della soluzione 0,01 N di acido solforico utilizzato per la titolazione;

0,01 = normalità della soluzione di acido solforico utilizzato per la titolazione;

14 = peso equivalente dell'N;

p = peso del campione espresso in grammi di suolo secco

Note

Il campione di suolo può essere pestato in un mortaio e successivamente setacciato a 0,5 mm per favorire l'ossidazione della sostanza organica (Jackson, 1958).

Bibliografia

Hach C.C., Brayton S.V., Kopelove A.B. 1985. A powerful Kjeldahl nitrogen method using peroxymonosulfuric acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 33, 1117-1123.

Hach C.C., Bowden B.K., Kopelove A.B., Brayton S.V. 1987. More powerful peroxide Kjeldahl digestion. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 70, 783-787.

Jackson M.L. 1958. *Soil Chemical Analysis*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.

4. Determinazione dell'azoto (N) totale con metodo semi-micro-kjeldahl modificato

Principio

Il metodo semi-micro Kjeldahl modificato prevede, prima della classica mineralizzazione, l'ossidazione di NO₂⁻ a NO₃⁻ mediante trattamento con permanganato di potassio e acido solforico concentrato e, successivamente, la riduzione di NO₃⁻ a NH₄⁺ con Fe ridotto. Tale metodo permette

il recupero quantitativo di NO_2^- e NO_3^- , che è di fondamentale importanza per gli studi che prevedono l'utilizzo dell'isotopo ^{15}N (Bremner and Shaw, 1958).

Reagenti

- *Miscela di solfato di potassio (K_2SO_4)-catalizzatore*
Miscelare 200 g di solfato di potassio, 20 g di solfato di rame pentaidrato ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 2 g di selenio (Se) in polvere. Polverizzare i reagenti separatamente, prima di miscelarli.
- *Acido solforico concentrato (H_2SO_4), [96% ($d = 1,835 \text{ g cm}^{-3}$)]*
- *Soluzione 10 M di idrossido di sodio (NaOH)*
In un beaker graduato di plastica da 1 L contenente 700 mL di acqua distillata, sciogliere 400 g di idrossido di sodio. Lasciare raffreddare la soluzione e portare a volume in un matraccio di plastica da 1 L.
- *Soluzione 0,1 M di idrossido di sodio (NaOH)*
In un beaker graduato di plastica da 1 L contenente 700 mL di acqua distillata, sciogliere 4 g di idrossido di sodio. Lasciare raffreddare la soluzione e portare a volume in un matraccio di plastica da 1 L.
- *Indicatore per la titolazione*
In un beaker graduato di vetro Pyrex da 1 L contenente 800 mL di acqua distillata, sciogliere 20 g di acido borico (H_3BO_3) mediante agitazione e riscaldamento. Dopo aver raffreddato la soluzione, aggiungere 20 mL della soluzione di indicatore ottenuta sciogliendo 0,099 g di verde di bromo cresolo ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$) e 0,066 g di rosso metile ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$) in 100 mL di etanolo. A questo punto aggiungere con cautela la soluzione 0,1 M di idrossido di sodio finché la soluzione non avrà assunto una colorazione rossastra (pH intorno a 5,0). Portare a volume con acqua distillata in un matraccio da 1 L. Agitare bene la soluzione prima dell'utilizzo.
- *Soluzione 0,01 N di acido solforico (H_2SO_4)*
In un matraccio da 1 L, portare a volume con acqua distillata una soluzione volumetrica standard contenente 0,005 moli di acido solforico.
- *Soluzione di permanganato di potassio (KMnO_4)*
In un beaker graduato di vetro Pyrex contenente 400 mL di acqua distillata sciogliere 25 g di permanganato di potassio. Portare a volume con acqua distillata in un matraccio da 500 mL e conservare in bottiglia scura.

- *Soluzione di acido solforico (H_2SO_4) diluito, approssimativamente 9 M*
In un pallone in vetro Pyrex da 2 L contenente 500 mL di acqua, aggiungere lentamente e agitando continuamente, 500 mL di acido solforico concentrato, quindi portare a volume con acqua distillata.
- *Ferro (Fe) ridotto*
Utilizzare un prodotto finemente polverizzato e setacciarlo a 0,15 mm.
- *Alcool n-ottanolo*

Apparecchiatura

- *Attrezzatura e vetreria da laboratorio di uso comune*
- *Mineralizzatore a blocchi*
- *Provettoni in Pyrex da 100 mL, idonei per il mineralizzatore a blocchi*
- *Distillatore automatico micro-Kjeldahl*
- *Buretta o titolatore automatico per reazioni acido-base*
- *Vortex*
- *Palline antiebollizione ($\phi \sim 3-4$ mm)*

Procedimento

Mineralizzazione

Trasferire una quantità di campione di suolo finemente macinato e setacciato a 0,5 mm e che contenga circa 1 mg di N, in un provettone da 100 mL, aggiungere 1 mL della soluzione di permanganato di potassio e tenere in agitazione per 30 secondi. Mantenendo il pallone inclinato a 45° e in continua agitazione, aggiungere lentamente 2 mL della soluzione di acido solforico diluito. Lasciare riposare 5 minuti e, successivamente, aggiungere 1 goccia di alcool *n*-ottanolo. Posizionare un imbuto a gambo lungo nel provettone ed aggiungere $0,50 \pm 0,01$ g di Fe ridotto. Agitare il pallone in modo che il ferro venga a contatto con l'acido. Lasciare riposare almeno 15 minuti fino alla scomparsa dell'effervescenza.

Porre il provettone sul blocco mineralizzatore e riscaldare blandamente per 45 minuti (il riscaldamento deve essere tale da non causare una eccessiva perdita di acqua). Lasciar raffreddare il provettone, aggiungere 1,1 g di miscela di solfato di potassio-catalizzatore e 3 mL di acido solforico concentrato. Porre il pallone sul blocco mineralizzatore e riscaldare a 375 °C per 3 h.

Distillazione

Dopo la mineralizzazione, lasciare raffreddare il provettone. L'eventuale corpo di fondo formatosi in seguito alla mineralizzazione deve essere solubilizzato aggiungendo 15 mL di acqua distillata ed agitando con vortex. Posizionare quindi il provettone con il campione mineralizzato nell'apparato automatico micro-Kjeldahl, aggiungere lentamente 15 mL della soluzione 10 M di idrossido di sodio ed avviare la distillazione. Raccogliere circa 50-60 mL di distillato in una beuta Erlenmeyer da 100 mL già contenente 10 mL della soluzione di indicatore per la titolazione.

Titolazione

Determinare l'N ammoniacale nel distillato con la soluzione 0,01 N di acido solforico usando una buretta da 10 mL graduata ad intervalli di 0,01 mL, sapendo che 1 mL della soluzione 0,01 N di acido solforico è pari a 0,14 mg di N ammoniacale. Il punto di fine titolazione è indicato dal cambiamento di colore della soluzione da verde a rosa. In alternativa, facendo uso di un titolatore automatico, questo aggungerà lentamente la soluzione 0,01 N di acido solforico nel distillato degli estratti, fino al valore di pH di fine titolazione. Tale valore, da impostare preventivamente, sarà dato dalla media dei 4 valori di pH del distillato delle prove in bianco (assenza di suolo). Se la procedura è stata eseguita correttamente, tale valore di pH dovrebbe essere intorno a 5,4 mentre il pH del distillato delle soluzioni di mineralizzazione dei campioni di suolo sarà tanto maggiore quanto maggiore è la loro concentrazione in azoto.

Espressione dei risultati

Il contenuto in N ammoniacale (N-NH_4^+) è calcolato come segue:

$$\text{g N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ suolo} = V \cdot 0,01 \cdot 14 / p$$

dove:

V = volume in mL della soluzione 0,01 N di acido solforico utilizzato per la titolazione;

0,01 = normalità della soluzione di acido solforico utilizzato per la titolazione;

14 = peso equivalente dell'N;

p = peso del campione espresso in grammi di suolo secco.

Bibliografia

Bremner J.M., Shaw K. 1958. Denitrification in soil. I. Methods of investigation. Journal of Agricultural Science 51, 22-39.

5. Determinazione con metodo micro-Kjeldahl dell'azoto (N) totale estratto con soluzione salina

Principio

Il metodo si basa sulla mineralizzazione a caldo con acido solforico concentrato ed in presenza di catalizzatore per convertire l'N organico, estratto dal suolo con una soluzione di solfato di potassio, in N ammoniacale. Successivamente, l'N ammoniacale, previa aggiunta di una soluzione di idrossido di sodio, viene distillato come ammoniaca in corrente di vapore, raccolto su soluzione di acido borico (acido debole), con formazione di borato (base forte), a sua volta quantificato mediante retro-titolazione con acido solforico (acido forte).

Reagenti

- *Acido solforico concentrato (H_2SO_4) [96% ($d = 1,835 g cm^{-3}$)]*
- *Carta da filtro Whatman #42*
- *Soluzione 0,29 M di solfato di rame ($CuSO_4$)*
In un matraccio da 100 mL, contenente 70 mL di acqua distillata, sciogliere 4,63 g di solfato di rame e portare a volume.
- *Soluzione al 2% (p/v) di acido borico (H_3BO_3)*
In un matraccio da 1 L, contenente 800 mL di acqua distillata, sciogliere 20 g di acido borico e portare a volume.
- *Soluzione 10 M di idrossido di sodio ($NaOH$)*
In un beaker graduato di plastica da 1 L contenente 700 mL di acqua distillata, sciogliere 400 g di idrossido di sodio. Lasciare raffreddare la soluzione e portare a volume in un matraccio di plastica da 1 L.
- *Soluzione 0,01 N di acido solforico (H_2SO_4)*
In un matraccio da 1 L, portare a volume con acqua distillata una soluzione volumetrica standard contenente 0,005 moli di acido solforico.
- *Soluzione 0,5 M di solfato di potassio (K_2SO_4)*
In un beaker graduato di vetro da 1 L contenente 700 mL di acqua

distillata, sciogliere 87,13 g di solfato di potassio. Portare a volume con acqua distillata in un matraccio di plastica da 1 L.

Apparecchiatura

- *Attrezzatura e vetreria da laboratorio di uso comune*
- *Mineralizzatore a blocchi*
- *Provettoni in Pyrex da 100 mL, idonei per il mineralizzatore a blocchi*
- *Distillatore automatico micro-Kjeldahl*
- *Titolatore automatico per reazioni acido-base*
- *Vortex*
- *Agitatore*
- *Palline antiebollizione ($\varnothing \sim 3-4$ mm)*

Procedimento

L'estratto salino si prepara aggiungendo 40 mL della soluzione 0,5 M di solfato di potassio a 10 g di suolo, setacciato a 2 mm, in una bottiglia di vetro da 100 mL. Agitare a 100 rpm per 45 minuti e filtrare quindi la sospensione su carta da filtro Whatman 42.

Operando sotto cappa aspirante, trasferire in un provettone pirex da 100 mL, 20 mL di estratto salino, 3 mL di acido solforico concentrato e 0,5 mL della soluzione 0,29 M di solfato di rame. Aggiungere 3-4 palline antiebollizione, agitare con vortex e porre nel mineralizzatore a blocchi. Contestualmente, preparare anche 4 provettoni sostituendo l'estratto salino con la soluzione estraente (bianchi). Dopo aver controllato gli scarichi per i fumi acidi, avviare la mineralizzazione.

A causa dell'elevata quantità di acqua presente nel campione da mineralizzare, bisogna procedere con un innalzamento graduale della temperatura di mineralizzazione per evitare l'ebollizione improvvisa della soluzione e, di conseguenza, la sua fuoriuscita dal provettone. Una rampa efficace di incremento della temperatura per la mineralizzazione si è dimostrata la seguente:

step 1: 2 ore a 110 °C

step 2: 6 ore a 120 °C

step 3: 4 ore a 140 °C

step 4: 4 ore a 160 °C

step 5: 1 ora a 180 °C

step 6: 1 ora a 200 °C

step 7: 1 ora a 260 °C

step 8: 3 ore a 360 °C

I primi 7 step sono necessari per allontanare l'acqua in eccesso dai provettoni, mentre la mineralizzazione vera e propria dell'N organico ad N ammoniacale avviene durante l'ultimo step.

Dopo la mineralizzazione, lasciare raffreddare i provettoni. L'eventuale corpo di fondo formatosi in seguito alla mineralizzazione deve essere solubilizzato aggiungendo 15 mL circa di acqua distillata ed agitando con vortex.

Posizionare quindi il provettone pirex da 100 mL con il campione mineralizzato nell'apparato automatico micro-Kjeldahl, aggiungere 15 mL della soluzione 10 M di idrossido di sodio ed avviare la distillazione, la quale potrà considerarsi conclusa dopo aver raccolto circa 50-60 mL di distillato in un beaker da 100 mL già contenente 10 mL della soluzione al 2% di acido borico. Il valore di pH di fine titolazione dei campioni di estratto distillati, da impostare previamente nel titolatore automatico, sarà dato dalla media dei valori di pH del distillato dei 4 provettoni con estraente (bianchi). Se la procedura è stata eseguita correttamente, tale valore di pH dovrebbe essere intorno a 5,4 mentre il pH del distillato degli estratti sarà tanto maggiore di 5,4, quanto più N era presente inizialmente nell'estratto salino. Il titolatore automatico aggiungerà lentamente la soluzione titolante 0,01 N di acido solforico nel distillato degli estratti, fino al valore di pH medio dei 4 bianchi (fine titolazione).

Espressione dei risultati

Il contenuto in N ammoniacale (N-NH_4^+) è calcolato come segue:

$$\mu \text{ N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ suolo} = V \cdot 0,01 \cdot 14 \cdot 1000 / p$$

dove:

V = volume in mL della soluzione 0,01 N di acido solforico utilizzato per la titolazione;

0,01 = normalità della soluzione di acido solforico utilizzato per la titolazione;

14 = peso equivalente dell'N;

1000 = fattore di conversione da g a mg;

p = peso del campione espresso in grammi di suolo secco corrispondenti al volume di estratto utilizzato.

Note

Recentemente è stato suggerito che un rapporto 1:5 (suolo:soluzione; p/v) permette un'estrazione più efficace (Jones e Willet, 2006). La soluzione estraente 0,5 M di solfato di potassio può essere sostituita con una soluzione 2 M di cloruro di potassio (KCl). Uno degli svantaggi del metodo micro-Kjeldahl è la lunga durata (22 ore) della mineralizzazione del campione di estratto a causa delle pre-digestioni richieste. Quindi, maggiore è il numero di posti disponibili nel mineralizzatore a blocchi maggiore sarà il numero di campioni che è possibile analizzare per giorno. Inoltre, il metodo micro-Kjeldahl non riesce a determinare l'N nitrico eventualmente presente nell'estratto.

Bibliografia

Jones D.L., Willet V.B., 2006. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 991-999.

6. Determinazione dell'azoto (N) totale estratto con soluzione salina con metodo micro-Kjeldahl modificato

Principio

Il metodo micro-Kjeldahl modificato permette la determinazione dell'N totale (incluso l'N nitrico), estratto dal suolo con una soluzione di solfato di potassio, in N ammoniacale. Il metodo si basa sull'uso dello zinco (in polvere) per ridurre il Cr^{3+} a Cr^{2+} , il quale a sua volta riduce l'N nitrico ad N ammoniacale. Successivamente l'N ammoniacale è distillato in corrente di vapore mediante aggiunta di una soluzione di idrossido di sodio, raccolto su soluzione acida e quantificato mediante retro-titolazione acido-base, come nel paragrafo 5.

Reagenti

- *Zinco in polvere*
- *Soluzione al 20% (p/v) di potassio-cromo solfato [$\text{KCr}(\text{SO}_4)_2$]*
In un matraccio da 1 L, sciogliere 200 grammi di $\text{KCr}(\text{SO}_4)_2$ in 800 mL di acido solforico concentrato (H_2SO_4 ; 96% ; $d = 1,835 \text{ g cm}^{-3}$) e portare a volume con acido solforico concentrato.

- *Soluzione al 2% (p/v) di acido bórico (H_3BO_3)*
In un matraccio da 1 L, contenente 800 mL di acqua distillata, sciogliere 20 g di acido bórico e portare a volume.
- *Soluzione 10 M di idrossido di sodio ($NaOH$)*
In un beaker graduato di plastica da 1 L contenente 700 mL di acqua distillata, sciogliere 400 g di idrossido di sodio. Lasciare raffreddare la soluzione e portare a volume in un matraccio di plastica da 1 L.
- *Soluzione 0,01 N di acido solforico (H_2SO_4)*
In un matraccio da un litro, portare a volume con acqua distillata una soluzione volumetrica standard contenente 0,005 moli di acido solforico.

Apparecchiatura

Come nel paragrafo 5. Determinazione dell'N totale estratto con soluzione salina con metodo micro-Kjeldahl.

Procedimento

Operando sotto cappa, trasferire nel provettone pirex da 100 mL, 15 mL di estratto salino, 10 mL di soluzione potassio-cromo solfato e 300 mg di polvere di zinco. Aggiungere 3-4 palline antiebollizione, agitare con vortex e lasciare a riposo per 2 ore. Contestualmente, preparare anche 4 provettoni sostituendo l'estratto salino con la soluzione estraente (bianchi). Trascorse le due ore, il procedimento (mineralizzazione, distillazione, titolazione) prosegue esattamente come quello già descritto nel paragrafo 5 Determinazione dell'N totale estratto con soluzione salina con metodo micro-Kjeldahl".

Note

Per la preparazione dell'estratto salino si rimanda al paragrafo 5. Determinazione con metodo micro-Kjeldahl dell'azoto (N) totale estratto con soluzione salina. Un'alternativa a tale metodo (mineralizzazione dell'N ad ammonio, distillazione dell'ammoniaca, titolazione del borato) è quello basato sull'ossidazione di tutto l'N estratto con soluzione salina a N-nitrico con il perossidisolfato (o persolfato) di potassio ($K_2S_2O_8$), ad elevata temperatura ed in ambiente alcalino (Doyle et al., 2004). L'N-nitrico presente nell'estratto salino ossidato può essere determinato con diversi metodi colorimetrici e rappresenta l'N totale presente nell'estratto.

Tale metodo è piuttosto vantaggioso in quanto lo stesso estratto ossidato può essere utilizzato anche per determinare il C totale estraibile presente nell'estratto salino di partenza.

Per ulteriori dettagli consultare Pruden et al. (1985).

Bibliografia

Doyle A., Weintraub M.N., Schimel J.P., 2004. Persulfate digestion and simultaneous colorimetric analysis of carbon and nitrogen in soil extracts. *Soil Science Society of America Journal* 68, 669-676.

Pruden G., Kalembsa S.J., Jenkinson D.S., 1985. Reduction of nitrate prior to Kjeldahl digestion. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 36, 71-73.

7. Determinazione colorimetrica degli ioni ammonio estraibili (metodo di Berthelot modificato)

Principio

Il metodo si basa sulla determinazione spettrofotometrica del cromoforo sviluppatosi durante la reazione tra gli ioni ammonio presenti nell'estratto salino di suolo, il salicilato e l'ipoclorito a pH alcalino, in presenza di sodio-nitroprusside come catalizzatore per incrementare l'intensità di colore.

Reagenti

- *Soluzione di sodio salicilato – sodio nitroprussiato*
In un matraccio da 100 mL, contenente circa 80 mL di acqua distillata, sciogliere 7,813 g di sodio salicilato ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$) e 0,125 g di sodio nitroprusside [$\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pentacianonitrosilferrato (II) di sodio)], quindi portare a volume con acqua distillata.
- *Soluzione di sodio-ipoclorito (NaClO)*
In un matraccio da 100 mL, contenente circa 60 mL di acqua distillata sciogliere 2,96 g di idrossido di sodio e, successivamente, 9,96 g di sodio monoidrogeno fosfato eptaidrato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Infine aggiungere 10 mL di sodio ipoclorito al 5-6%. Aggiustare il pH a 13.0 con idrossido di sodio (NaOH) e portare a volume con acqua distillata.
- *Soluzione del sale disodico dell'acido etilendiamminotetracetico (Na_2EDTA)*

In un matraccio da 100 mL, contenente 70 mL circa di acqua distillata, sciogliere 6 g di Na_2EDTA , quindi portare a volume con acqua distillata.

- *Soluzione standard di ammonio (100 mg di $\text{NH}_4^+\text{-N mL}^{-1}$)*

In un matraccio da 1 L, contenente 800 mL di acqua distillata, sciogliere 0,4717 g di $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ anidro, quindi portare a volume con acqua distillata.

Apparecchiatura

- *Spettrofotometro UV-VIS*
- *Attrezzatura e vetreria da laboratorio di uso comune*

Procedimento

Se il contenuto atteso di ammonio è medio-alto, in un matraccio da 25 mL, introdurre 3 mL di estratto salino di suolo. Per contenuti bassi, comunque, non superare mai 5 mL. Aggiungere 1 mL della soluzione Na_2EDTA ed agitare la soluzione. Successivamente aggiungere 4 mL della soluzione sodio salicilato – sodio nitroprussiato, e portare il volume approssimativamente a 20 mL con acqua deionizzata.

Aggiungere quindi 2 mL della soluzione sodio-ipoclorito e subito dopo portare a volume con acqua distillata, agitare tutta la soluzione ed incubare a 37 °C per 30 minuti., trascorsi i quali si lascia raffreddare a temperatura ambiente per circa 10 minuti e si misura l'assorbanza a 667 nm contro un bianco preparato sostituendo il volume dell'estratto salino con pari volume della soluzione estraente.

Preparare la curva di calibrazione per la determinazione dell' NH_4^+ come segue: diluire 4 mL della soluzione standard contenente 100 mg di NH_4^+ mL^{-1} a 200 mL con acqua distillata in un matraccio da 200 mL. La soluzione così ottenuta contiene 2 mg di $\text{NH}_4^+\text{-N mL}^{-1}$. Pipettando in matracci da 25 mL 0, 1, 2, 3, 5 e 10 mL della soluzione contenente 2 mg di $\text{NH}_4^+\text{-N mL}^{-1}$ e portando a volume con la soluzione 0,5 M di solfato di potassio si ottiene una curva di calibrazione contenente, rispettivamente, 0, 2, 4, 6, 10 e 20 mg di $\text{NH}_4^+\text{-N}$.

Espressione dei risultati

Per la preparazione dell'estratto salino si rimanda al paragrafo 5. Determinazione con metodo micro-Kjeldahl dell'azoto (N) totale estratto con soluzione salina. Determinare la concentrazione di NH_4^+ nell'estratto salino del campione estrapolandola dall'equazione ottenuta

dalla regressione lineare tra le quantità note di $\text{NH}_4^+\text{-N}$ usate per la calibrazione ed i relativi valori di assorbanza. In base al rapporto di estrazione suolo: estraente (peso/volume) e correggendo il peso del suolo per il contenuto in acqua (umidità), i risultati si esprimono per unità di peso di suolo secco.

Note

Per ulteriori informazioni consultare Mulvaney (1996).

Bibliografia

Mulvaney R.L., 1996. Nitrogen-inorganic forms. In: Sparks D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Chemical Methods. Part 3, pp.1123-1184. SSSA Book Series No. 5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.

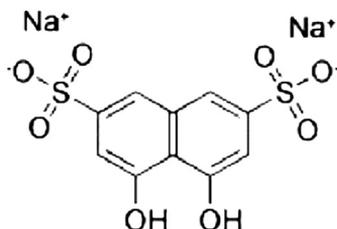
8. Determinazione colorimetrica degli ioni nitrato estraibili

Principio

Il metodo si basa sulla determinazione spettrofotometrica del cromofooro sviluppatosi dalla reazione dell'acido cromotropico (acido 4,5-diidrossi-2,7-naftalenedisulfonico) con gli ioni nitrato presenti nell'estratto salino di suolo, in presenza di acido solforico concentrato.

Reagenti

- Soluzione 0,1% (p/p) del sale di-sodico dell'acido cromotropico (acido 4,5-diidrossi-2,7-naftalenedisulfonico) (CTA)



In un matraccio da 1 L, contenente 800 mL di acido solforico concentrato (H_2SO_4 ; 96%; $d = 1,835 \text{ g cm}^{-3}$), sciogliere 1,84 g di CTA, quindi

portare a volume con acido solforico concentrato.

- *Soluzione 0,01% di CTA*

In un matraccio da 1 L aggiungere 100 mL della soluzione 0,1% di CTA, 10 mL di acido cloridrico concentrato (HCl; 37%; $d = 1,19 \text{ g cm}^{-3}$), quindi portare a volume con acido solforico concentrato.

- *Soluzione standard di nitrato (50 mg di $\text{NO}_3^- \text{-N mL}^{-1}$)*

In un matraccio da 1 L, contenente 800 mL di acqua distillata, sciogliere 0,3609 g di nitrato di potassio (KNO_3) anidro, quindi portare a volume con acqua distillata.

Apparecchiatura

- *Spettrofotometro UV-VIS*
- *Tubi pirex da 15 mL*
- *Attrezzatura e vetreria da laboratorio di uso comune*

Procedimento

In tubi pirex da 15 mL, aggiungere 7 mL di estratto salino del campione e 3 mL di soluzione 0,01% di CTA. Agitare al vortex e, dopo raffreddamento della soluzione, leggere l'assorbanza a 430 nm contro un bianco costituito da 7 mL di sola soluzione estraente e 3 mL di soluzione 0,01% di CTA.

Preparare la curva di calibrazione per la determinazione dell' $\text{NO}_3^- \text{-N}$ come segue: diluire 20 mL della soluzione standard contenente 50 mg di $\text{NO}_3^- \text{-N mL}^{-1}$ a 500 mL con una soluzione 0,5 M di solfato di potassio in un matraccio da 500 mL. La soluzione così ottenuta contiene 2 mg di $\text{NO}_3^- \text{-N mL}^{-1}$. Pipettare in tubi pirex da 15 mL 0, 1, 2, 3, 5 e 7 mL della soluzione contenente 2 mg di $\text{NO}_3^- \text{-N mL}^{-1}$ (N.B. Per i volumi inferiori a 7 mL, aggiungere un volume di soluzione 0,5 M di solfato di potassio tale da raggiungere 7 mL di volume totale). Portare quindi a volume (15 mL) con una soluzione 0,5 M di solfato di potassio K_2SO_4 . In tal modo, si ottiene una curva di calibrazione contenente, rispettivamente, 0, 2, 4, 6, 10 e 14 mg di $\text{NO}_3^- \text{-N}$.

Espressione dei risultati

Determinare la concentrazione di $\text{NO}_3^- \text{-N}$ nell'estratto salino del campione estrapolandola dall'equazione ottenuta dalla regressione lineare tra le quantità note di azoto nitrico usate per la calibrazione ed i relativi valori di assorbanza. In base al rapporto di estrazione suolo: estraente

(peso/volume) e correggendo il peso del suolo per il contenuto in acqua (umidità), i risultati si esprimono per unità di peso di suolo secco.

Note

Per la preparazione dell'estratto salino si rimanda al paragrafo 5. Determinazione con metodo micro-Kjeldahl dell'azoto (N) totale estratto con soluzione salina. Il metodo riportato è quello di Sims e Jackson (1971). Bisogna assolutamente lavorare sotto cappa aspirante ben funzionante e prestare molta attenzione nella preparazione della soluzione 0,01% di CTA, in quanto ponendo nel matraccio acido cloridrico e acido solforico avviene una violenta reazione esotermica, con notevole liberazione di fumi acidi. Il metodo sottostima (-30% circa) la quantità di NO_3^- quando è presente Fe^{2+} nell'estratto salino.

Bibliografia

Sims J.R., Jackson G.D., 1971. Rapid analysis of soil nitrate with chromotropic acid. Soil Science Society of American Journal 35, 603-606.

9. Estrazione dell'azoto (N) con acido cloridrico

Principio

Il metodo si basa sull'idrolisi del suolo con acido cloridrico concentrato a caldo sotto reflusso. Successivamente, il suolo idrolizzato è filtrato su carta acido resistente, ed il filtrato può essere utilizzato per determinare l'N totale idrolizzabile con acido cloridrico, l'N-ammoniacale, l'N- α -amminoaacidico e l'N-amminozuccheri.

Reagenti

- *Soluzione 6 M di acido cloridrico (HCl)*
In un matraccio da 1 L, contenente 400 mL di acqua distillata, aggiungere 513 mL di acido cloridrico al 37% ($d = 1,19 \text{ g cm}^{-3}$), quindi portare a volume con acqua distillata.
- *N-ottanolo*
- *Soluzione 10 M (circa) di idrossido di sodio (NaOH)*
In un matraccio di plastica da 1 L, contenente circa 700 mL di ac-

qua distillata, sciogliere 400 g di idrossido di sodio. Dopo raffreddamento portare a volume.

- *Soluzione 5 M (circa) di idrossido di sodio (NaOH)*
In un matraccio di plastica da 1 L, aggiungere 500 mL della soluzione 10 M di idrossido di sodio e portare a volume.
- *Soluzione 0,5 M (circa) di idrossido di sodio (NaOH)*
In un matraccio di plastica da 1 L, aggiungere 50 mL della soluzione 10 M di idrossido di sodio e portare a volume.

Apparecchiatura

- *Tubi pirex con fondo tondo ed adattabili al condensatore di Liebig*
- *Condensatori di Liebig*
- *Piastra riscaldante*
- *Imbuto Buchner*
- *Pompa da vuoto*
- *Attrezzatura e vetreria da laboratorio di uso comune*

Procedimento

Aggiungere nel tubo Pirex una quantità di suolo finemente macinato e setacciato a 0,5 mm, e che contenga circa 10 mg di N totale. Aggiungere 2 gocce di n-ottanolo e un volume in mL di acido cloridrico pari a 3 volte il peso in grammi del suolo.

Agitare con il vortex e porre il tubo sulla piastra riscaldante. Collegare il tubo pirex al condensatore di Liebig e portare a blanda ebollizione la sospensione suolo-acido sotto reflusso per 12 ore.

Lavare il condensatore di Liebig con acqua distillata e lasciare raffreddare. Filtrare la sospensione suolo: acido su carta acido-resistente con l'ausilio di un imbuto Buchner collegato alla pompa da vuoto. Versare il filtrato in un beaker da 200 mL e lavare il suolo residuo con acqua distillata fino ad accumulare 60 mL circa di filtrato.

Porre il fondo del beaker su una superficie ghiacciata ed aggiungendo la soluzione 5 M di idrossido di sodio, portare il pH del filtrato approssimativamente al valore di 5. Successivamente, utilizzando la soluzione 0,5 M di idrossido di sodio, portare il pH del filtrato al valore di 6,5. È di fondamentale importanza aggiungere entrambe le soluzioni di idrossido di sodio molto lentamente e sotto continua agitazione, al fine di evitare che il filtrato possa in un qualsiasi momento avere un pH alcalino (con perdita di N ammoniacale).

Trasferire il filtrato neutralizzato in un matraccio da 100 mL, quindi portare a volume lavando con acqua distillata il beaker. Chiudere ermeticamente il matraccio con il tappo e capovolgere diverse volte. Contestualmente preparare un controllo, omettendo il suolo ma utilizzando tutti i reagenti come nella procedura sopra descritta. L'estratto così ottenuto può essere utilizzato per determinare l'N totale idrolizzabile con acido cloridrico, l'N-ammoniacale, l'N- α -amminoacidico e l'N-amminozuccheri (Chae, 1993; Olk, 2008; Stevenson, 1996).

Note

Questo metodo, seppur riportato anche nei più diffusi manuali di metodi per l'analisi del suolo a livello internazionale, non è standardizzato per la durata del tempo di idrolisi del campione di suolo in quanto la durata varia da 6 a 24 ore.

Tuttavia, la durata più adottata è pari a 12 ore in quanto una durata inferiore estrae meno azoto, mentre una durata maggiore può provocare l'idrolisi degli amminozuccheri e degli amminoacidi.

Bibliografia

Stevenson F.J., 1996. Nitrogen-organic forms. In: Sparks D.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Chemical Methods. Part 3*, pp.1185-1200. SSSA Book Series No. 5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.

10. Determinazione dell'azoto (N) totale idrolizzabile con acido cloridrico (HCL)

Principio

Il metodo si basa sulla determinazione con il metodo micro-Kjeldahl dell'N contenuto nell'estratto di suolo con acido cloridrico concentrato a caldo (come descritto nel paragrafo 9). Dopo una mineralizzazione a 360 °C per un'ora dell'estratto, l'N ammoniacale ottenuto, previa aggiunta di una soluzione di idrossido di sodio concentrato, è distillato come ammoniaca in corrente di vapore, raccolto su soluzione di acido bórico (acido debole), con formazione di borato (base forte), a sua volta quantificato tramite retro-titolazione con acido solforico (acido forte).

Reagenti

- *Acido solforico concentrato (H_2SO_4), [96%, $d = 1,835 \text{ g cm}^{-3}$]*
- *Miscela di solfato di potassio (K_2SO_4)-catalizzatore*
Miscelare 200 g di solfato di potassio, 20 g di solfato di rame pentaidrato ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) e 2 g di selenio (Se) in polvere. Polverizzare i reagenti separatamente, prima di miscelarli.
- *Soluzione al 2% (p/v) di acido bórico (H_3BO_3)*
In un matraccio da 1 L, contenente 800 mL di acqua distillata, sciogliere 20 g di acido bórico e portare a volume con acqua distillata.
- *Soluzione 10 M di idrossido di sodio ($NaOH$)*
In un matraccio di plastica da 1 L, contenente 700 mL di acqua distillata, sciogliere 400 g di idrossido di sodio. Dopo raffreddamento della soluzione portare a volume con acqua distillata.
- *Soluzione 0,01 N di acido solforico (H_2SO_4)*
In un matraccio da 1 L, portare a volume con acqua distillata una soluzione volumetrica standard contenente 0,005 moli di acido solforico.

Apparecchiatura

- *Attrezzatura e vetreria da laboratorio di uso comune*
- *Mineralizzatore a blocchi*
- *Provettoni in Pyrex da 100 mL, idonei per il mineralizzatore a blocchi*
- *Distillatore automatico micro-Kjeldahl*
- *Titolatore automatico per reazioni acido-base*
- *Vortex*
- *Palline antiebollizione ($\phi \sim 3-4 \text{ mm}$)*

Procedimento

Operando sotto cappa, trasferire nel tubo pirex da 100 mL, 5 mL di estratto idrolizzato, 0,5 g del miscuglio catalitico e 2 mL di acido solforico concentrato. Aggiungere 2-3 palline antiebollizione ed innalzare gradualmente la temperatura fino a 360 °C. Mantenere costante la temperatura di 360 °C fino ad una ora dopo che l'acqua è stata rimossa e è cessata la formazione di schiuma. Dopo raffreddamento del tubo, aggiungere 10 mL di acqua distillata ed agitare con vortex. Contestualmente procedere alla mineralizzazione di 5 mL di estratto di controllo (omissione del suolo) preparato come descritto al punto 9.4. del paragrafo 9. Determinare l'N totale idrolizzato per distillazione come ripor-

tato nel paragrafo 5. Determinazione dell'N totale estratto con soluzione salina.

Espressione dei risultati

Il contenuto in N ammoniacale è calcolato come segue:

$$\mu \text{ N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ suolo} = (V_a - V_b) \cdot 0,01 \cdot 14 \cdot 1000 \cdot 20 / p$$

Dove:

V_a = volume in mL della soluzione 0,01 N di acido solforico utilizzato per la titolazione del campione;

V_b = volume in mL della soluzione 0,01 N di acido solforico utilizzato per la titolazione dell'estratto di controllo;

0,01 = normalità dell'acido solforico utilizzato per la titolazione;

14 = peso equivalente dell'N;

1000 = fattore di conversione da mg a g;

20 = fattore di conversione dai 5 mL utilizzati ai 100 mL iniziali dell'estratto in acido cloridrico

p = peso del suolo secco, espresso in grammi, utilizzato inizialmente per l'estrazione con acido cloridrico a caldo sotto riflusso.

Note

Dopo aver determinato l'N totale (mediante analizzatore elementare o metodo micro-Kjeldahl) e l'N totale idrolizzabile con acido cloridrico, la differenza tra i due valori è pari alla frazione di N presente nel suolo definita "acido insolubile".

Bibliografia

- Olk D.C., 2008. Organic forms of nitrogen. In: Carter M.R. (Ed.), Soil Sampling and methods of analysis, pp. 377-389. Canadian Society of Soil Science, CRC Press, Boca Raton, FL, USA
- Chae Y.M., 1993. Organic forms of Nitrogen. In: Carter M.R., Gregorich E.G., Soil sampling and methods of analysis, pp. 667-674. Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers, USA
- Stevenson F.J., 1996. Nitrogen-organic forms. In: Sparks D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Chemical Methods. Part 3, pp.1185-1200. SSSA Book Series No. 5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.