

D

EL NITROGENO

Introducción.

Del N total presente en los suelos, el 98% aproximadamente, se encuentra formando compuestos de la materia orgánica y el resto

en forma de nitratos, nitritos, amonio y en menor cantidad en forma de N_2 (en el agua del suelo) y óxidos de nitrógeno. Las formas más importante para la nutrición de la planta son el nitrato y el amonio (Figura 2).

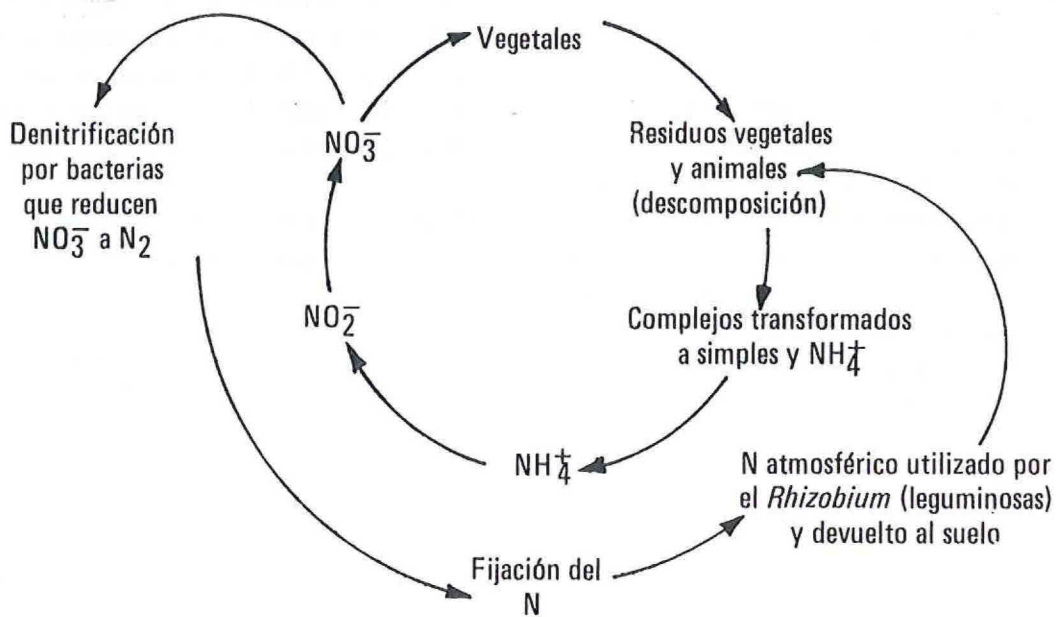


FIGURA 2.- CICLO DEL NITROGENO.

Algunas de las metodologías para analizar diferentes formas de nitrógeno en el suelo son:

1. Determinación de N total por el método Kjeldahl, o por el de semi-micro Kjeldahl.
2. Determinación de nitratos por el método del ácido fenoldisulfónico.
3. Determinación de nitritos.
4. Determinación del amonio por el método colorimétrico de Nessler.
5. Determinación del N albuminóideo por destilación con solución alcalina de permanganato.
6. Relación MO/N para calcular el N en los suelos de la zona cafetera.

A continuación se describen las metodologías utilizadas en el laboratorio de Cenicafé.

D - 1 DETERMINACION DE N TOTAL POR EL METODO DE KJELDAHL.

Principio del método:

La mayor parte del nitrógeno orgánico presente en los suelos pasa a la forma de NH_4^+ con ayuda del catalizador (Cu^{2+} ó Se)*. Radicales como NO_3^- deben reducirse o pasar a la forma de nitrocompuestos (V. gr.: Nitrosalicilatos) y luego a la forma de NH_4^+ . Todos éstos resultarán formando sales de amonio al final de una digestión ácida y caliente donde además se destruye la materia orgánica.

En una segunda etapa alcalina el NH_4^+ se destila como NH_3 y se captura dentro de una solución de ácido bórico. Posteriormente el amonio se titula con ácido clorhídrico de normalidad conocida.

* El método original utiliza selenio como catalizador y es muy bueno.

** Se divide por 100 para 10N; 110 para 11N y 120 para 12N.

Reactivos.

Sulfato de cobre: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, G.A.

Sulfato de cobre: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, G.T.

Sulfato de sodio anhidro: Na_2SO_4 , G.T. ó G.A.

Tiosulfato de sodio: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, G.A.

Acido sulfúrico G.T. ó G.A. Exento de N. El blanco no debe exceder de 0,5 ml de consumo de HCl 0,1N.

Perlas de vidrio: aproximadamente 5 mm de \emptyset (diámetro).

Solución de ácido bórico: 40 g de H_3BO_3 , G.T. ó G.A. por cada litro de solución acuosa.

Solución de indicador mixto: Es una mezcla de 0,3 g de rojo de metilo y 0,2 g de azul de metileno en 250 ml de alcohol de 90° G. L.

Soda 50°/o: G.T. ó G.A.: Para evitar riesgos es mejor comprar la soda en solución al 50°/o (G.T.). Puede prepararse 500 g de NaOH lentejas G.A. con 500 g de agua (el volumen final es alrededor de 700 ml). La solución es exotérmica. Se producen gases que deben evacuar-se con extractor o al menos con un ventilador.

Acido clorhídrico 0,1N: preparar 10 litros de solución a partir de una ampolla de Titrisol para 1 litro 1N. El factor de la normalidad (F) debe ser 1.000. En caso de ser diferente, ajustarlo aumentando agua o ácido según el caso.

Cuando F es menor de 1.000: debe aumentarse X ml de ácido 10N, así:

$$X = \frac{Vt (1.000 - F)}{100^{**}}$$

Cuando F es mayor de 1.000 tenemos que agregar X' ml de agua, así'

$$X' = Vt (F - 1.000)$$

Donde V_t es el volumen a corregir expresado en ml.

F es el factor hallado al estandarizar el ácido con soda, 0,1N libre de carbonatos (*).

Materiales y equipos:

1. Equipo de seguridad básico para manipular soda y ácido sulfúrico. Guantes, delantal y botas de caucho resistente. Careta o gafas.
2. Equipo de seguridad para manipular los balones calientes. Guantes de asbesto y careta.
3. Equipo de Kjeldahl con extractor, ductos de plomo, vidrio y/o plástico. Destilador incorporado con refrigeración (Figura 3).
4. Balones Kjeldahl de 800 ml, de forma especial y resistentes a los cambios bruscos de temperatura. En canastas soporte de seis puestos.
5. Erlenmeyer de 500 ml de boca ancha.
6. Balanza analítica.
7. Dos dispensadores de 25 ml.
8. Bureta de 25 ml para titulación final.
9. Agitador magnético y barras agitadoras recubiertas.
10. Cucharas medidoras para los reactivos sulfato de cobre, sulfato de sodio, tiosulfato de sodio, ácido salicílico y perlas de vidrio.

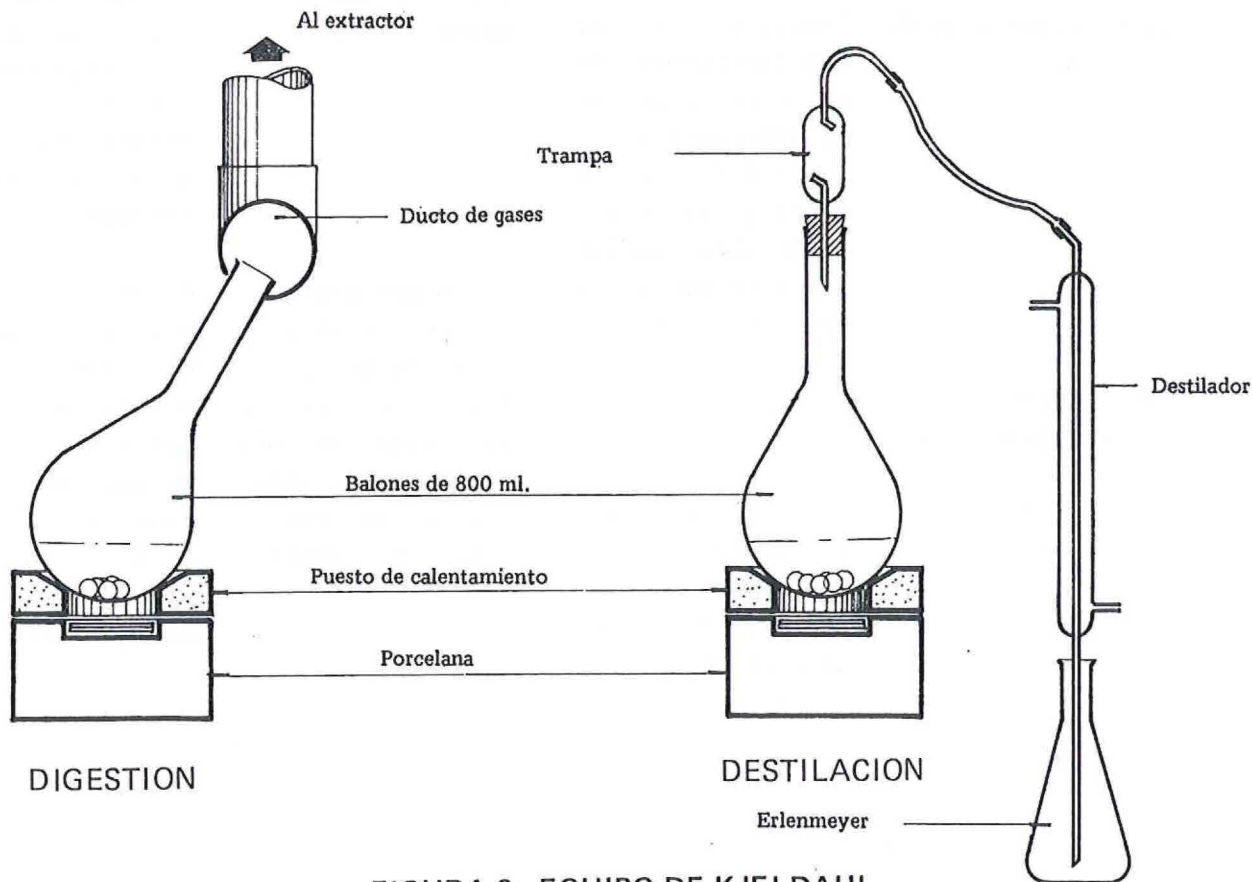


FIGURA 3.- EQUIPO DE KJELDAHL.

(*) El factor de la soda se rectifica con biftalato. Véase página 65.

Procedimiento	Observaciones	Procedimiento	Observaciones
Pesar 2,5 g de suelo, envolver en papel y colocar en un balón de Kjeldahl; adicionar 0,2 g de sulfato de cobre, 4 g de sulfato de sodio anhidro, 4 g de tiosulfato, 0,8 g de ácido salicílico y 5 g de perlas de vidrio.	El suelo envuelto en papel y los reactivos irán en un balón que será el blanco (B). Para medir los reactivos es suficiente la exactitud de las cucharas de medida respectivas. Todo esto forma la mezcla catalizadora. Las perlas ayudan a mantener la ebullición en la digestión y posteriormente en la destilación.	Agregar 100 ml de soda al 50 ^o /o.	Adicionarlos por la pared del balón inclinado para evitar una reacción fuerte. Neutraliza el ácido y debe quedar exceso de base.
Adicionar 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.	El ácido ayudará a la destrucción de la materia orgánica.	Poner el balón inmediatamente a destilar, conectar el tapón con la trampa, agitar y dejar destilando hasta completar unos 320 ml.	El NH ₃ se desprende en medio alcalino. El color azul o verde (dado por el Cu) que aparece en el balón, indica que la cantidad de soda fue suficiente para alcalinizar.
Calentar por unos 40 minutos.	Tiempo suficiente para la digestión completa. Tener cuidado de no sobrepasar el calentamiento, pues se reseca y hay pérdida de N. Girar manualmente los balones durante esta digestión.	Cuando termina la destilación bajar el erlenmeyer para la titulación posterior.	Aunque en los primeros 10 minutos se destila casi todo el amoníaco, hay que dejarlo más tiempo para arrastrar lo que queda en el destilador y así asegurar la destilación completa.
Dejar enfriar y bajar a las canastas soporte.		Titular con la solución de ácido clorhídrico 0,1N, hasta cambio de color a un gris o algo morado. Un morado definido indica que se ha pasado. Anotar los consumos	El consumo del blanco es la cantidad de B. El consumo de la muestra es la cantidad de M. En caso de tener un consumo de B mayor de 0,5 ml hay que revisar la pureza de alguno de los reactivos. En caso de que M sea mayor de 25 ml debe repetirse el análisis tomando la mitad del peso de la muestra.
Agregar 300 ml de agua. Dejar enfriar.	Se deben tener listos los erlenmeyer que recibirán el destilado, con 25 ml de solución de ácido bórico, 3 gotas de indicador mixto y 150 ml de agua.		
Prender el puesto donde se va a poner el balón.	Para precalentar el puesto respectivo.		

Cálculos:

Cada ml 0,1N de la solución de ácido clorhídrico equivale a 0,0014 g de N (1 ml 1N = 0,014 g).

$$\% \text{ N} = \frac{(M-B) \times 0,1 \times 0,014 \text{ g de N} \times 100}{2,5 \text{ g}}$$

$$\% \text{ N} = (M-B) 0,056$$

Cuando la normalidad del ácido no es exacta, debe multiplicarse por F, factor de corrección de la Normalidad del ácido, así:

$$\% \text{ N} = (M-B) \times F \times 0,056.$$

Programa para la calculadora PC1001

Blanco: B, X → M, O

Factor: F, X → M, 1

H, F', S, -, MR, O =, X, MR, 1, X, .056 = F', H.

H será el consumo (variable) en cada caso. El F' del programa es la tecla $\text{\textcircled{F}}$ de la calculadora.

Programa general para el cálculo de N por Kjeldahl (suelos y foliares), con peso de muestra diferente al de rutina.

B, X → M, O

F, X → M, 1

Peso muestra P en X → M, 2

H, F', S, -, MR, O =, X, MR, 1, X, 0,14, ÷, MR, 2 = F'H

Siempre se operará H (variable) S para cada cálculo.

Debe expresarse con dos cifras decimales.

P(0,05): \pm 0,05%. Tolerancia máxima permitida para los patrones de trabajo.

D - 1 - 1 METODO SEMIMICRO-KJELDAHL.

Principio:

El principio es igual al del método de Kjeldahl y la cantidad de muestra y reactivos se reduce más o menos a la mitad.

Equipo.

– 3 Digestores Büchi Mod. 425 a 220 V de cuatro puestos cada uno. Extracción de gases por trompa de agua o extractor de gases centrífugo.

– 2 Destiladores con generador de vapor Büchi Mod. 320 a 220 V. Puesto único, fusible de 10 A. Con adición automática de agua y soda. También evacuación y lavado por succión.

Accesorios:

– Tubos digestores de vidrio de unos 300 ml de capacidad.

– Para destilar el volumen no debe pasar de unos 150 ml en total.

– Gradillas metálicas de 4 puestos.

– Gradillas de madera de 12 puestos.

– Erlenmeyer de 250 ml para recibir los destilados.

– Balanza analítica Mettler H35.

– Dispensador de vidrio de 10 ml.

– Bureta de 10 ml.

Reactivos.

Acido sulfúrico G.A. de 95-97%.

Acido sulfúrico G.T. concentrado, mínimo 96^o/_o.

Tabletas catalizadoras Merck. Según Wieninger, para cada análisis se utiliza 1/4 de tableta. Soda líquida al 50^o/_o G.T. tipo rayonera, fabricada por la planta de soda de Cartagena. Solución de soda al 25^o/_o. Se prepara a partir de 1 litro de soda al 50^o/_o al cual se adiciona 1 1/2 litros de agua.

Acido bórico G.A. H₃BO₃.

Solución de ácido bórico al 4^o/_o. Tomar 80 g de ácido bórico G.A. y llevar a 2 litros con agua.

Acido clorhídrico. Titrisol 1N.

Solución de ácido clorhídrico 0,1N. Tomar una ampolla de Titrisol 1N (para 1 litro) y llevar a 10 litros. En caso de no obtener el factor 1,000, véase correcciones en la preparación del ácido clorhídrico 0,1 en la determinación de N por Kjeldahl.

Indicador mixto:

Mezcla de rojo de metilo y azul de metileno: igual al usado en el N por Kjeldahl (0,3 g de rojo de metilo; 0,2 de azul de metileno y se lleva a 250 ml con alcohol de 90^o G.L.).

Procedimiento Observaciones

Pesar 0,5 g de suelo seco pasado por tamiz N^o 60, colocarlo en el fondo del tubo digestor, adicionar 1/4 de tableta catalizadora, dos perlas de vidrio y 10 ml de ácido sulfúrico a cada una de las muestras.

El tamizado se efectúa para tener una muestra similar a la de la materia orgánica en suelos.

Llevar un blanco (sin suelo) para las correcciones en los cálculos.

Poner en digestión por media hora aproxima-

Inicialmente se calienta en posición 8 du-

Procedimiento

Observaciones

damente hasta que aclare la solución.

rante los primeros 15 minutos; luego en 10 (máximo de calor). Cerciorarse de que la extracción de gases sea suficiente y no excesiva.

Dejar enfriar. Adicionar 30 ml de agua.

Alistar el destilador (precalentado) y el erlenmeyer de 250 ml que recibe el destilado, con 10 ml de solución de ácido bórico al 4^o/_o; adicionar 3 gotas de indicador mixto y unos 50 ml de agua.

Colocar el tubo de digestión listo para destilar.

Cerciorarse de que selle bien la boca y el soporte haga buena presión.

Adicionar 80 ml de soda al 25^o/_o.

Hay un cambio de color de la solución sulfúrica, lo que indica que hay soda en exceso.

Poner a destilar unos 5 minutos.

Recojer unos 160 ml de destilado.

Bajar el erlenmeyer con el destilado y titular con ácido clorhídrico 0,1 N hasta el gris o algo morado.

Utilizando la bureta de 10 ml.

El morado definido es indicativo de que se ha pasado del punto final.

Apuntar los consumos C en ml.

Cálculos:

$$\text{o/o N} = \frac{(C-B)^* \times 100 \times 0,1 \times 0,014}{0,5}$$

$$\text{o/o N} = (C - B) \times 0,28$$

$$P(0,05): \pm 0,05\%$$

D - 2 DETERMINACION DE NITRATOS CON ACIDO FENOLDISULFONICO.

Introducción:

El N en forma de nitratos es de especial interés, pues es la forma de N que más asimilan las plantas.

Sin embargo, por motivos de variación en las muestras de suelo, por acción de temperatura, humedad, tiempo (incubación), los resultados obtenidos pueden variar notoriamente.

La presencia de cloruros puede aumentar los resultados.

Principio del método.

Efectuar una extracción al suelo con ácido sulfúrico 0,01N en relación 1:1, durante dos minutos.

Luego sobre una alícuota del extracto decantado efectuar la formación de un nitrocompuesto en medio fuertemente sulfúrico y después se desarrolla un color amarillo al pasar a un medio alcalino.

Materiales y equipo.

1. Agitador mecánico rectilíneo de 200-250 viajes/minuto.
2. Frascos de 120 ml de capacidad.

* B = consumo del blanco.

3. Balanza. Precisión: 0,01 g.
4. Estufa de temperatura controlada. 105 ± 5 °C (para humedad).
5. Pipetas para 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 y 2,0 ml.
6. Dispensador de 20 ml.
7. Dos buretas.
8. Gradillas con tubos de ensayo de 30-50 ml.
9. Espectrofotómetro Zeiss PM2A.
10. Reloj.

Reactivos.

1. Acido sulfúrico 0,01N.
2. Solución patrón de 500 ppm de NO_3 . Pesar 0.8154 g de KNO_3 y llevar a 1 litro.
3. Patrones de 0 (blanco), 100, 200, 300 y 400 p.p.m. de nitratos preparados a partir de la solución de 500 p.p.m. de nitratos.
4. Acido fenoldisulfónico: disolver 25 g de fenol puro en 150 ml de ácido sulfúrico fumante (con 15% mínimo de SO_3). Agitar y calentar dos horas en baño maría.
5. Solución de potasa 12N.: Disolver 673 g de KOH en agua y diluir a un litro.

Procedimiento

Observaciones

Pesar 25 g de suelo fresco. Efectuar la humedad del suelo para reportar posteriormente los datos en base seca.

Adicionar 25 ml de ácido sulfúrico 0,01N, agitar por dos minutos y luego dejar decantar. En este paso entran los NO_3^- a la solución.

Tomar 0,5 ml de alícuota y adicionar 2,0 ml de solución de ácido fenoldisulfónico, agitar y dejar 10 minutos en reposo. En caso de estar muy altos los nitratos se puede tomar hasta 0,1 ml de alícuota. Acá se forma el nitrocompuesto (dinitrofenoldisulfónico).

Procedimiento	Observaciones
Adicionar 20 ml de agua con dispensador.	Hay reacción exotérmica.
Dejar enfriar.	
Adicionar 7 ml de solución de KOH 12N.	Al pasar al medio alcalino el nitrocompuesto se torna amarillo.
Dejar en reposo para que se enfríe y cristalicen las sales formadas.	Principalmente se forma K_2SO_4 que cristaliza al disminuir la solubilidad (que disminuye con la temperatura).
Se lee a 406 n.m. y se compara contra patrones.	Preparar patrones que contengan 0, 100, 200, 300, 400, 500 p.p.m. de NO_3^- .

Cálculos.

p.p.m. NO_3 en la solución o en el suelo fresco:

$$\frac{\text{ml patrón}}{\text{ml problema}} \times \frac{\text{As problema}}{\text{As patrón}} \times \text{ppm del patrón}$$

Para pasar a N el factor será:

$$F = \frac{14 \text{ (peso del N)}}{62 \text{ (peso del } NO_3)} = 0,2258$$

D-3 NITROGENO CALCULADO CON BASE EN EL CONTENIDO DE MATERIA ORGANICA.

La relación MO/N en suelos se ha encontrado alrededor de 20 en la zona cafetera colombiana. Sin embargo, a medida que se apartan de esta zona se nota variación en esta relación, así:

En suelos pobres en materia orgánica tiende a 10. En suelos ricos en M.O., puede aumentar hasta 40.

Esto obedece a una serie de factores que uno por uno sería difícil de ponderar, ejemplo:

Mineralización de la materia orgánica. Al aumentar la mineralización disminuye el contenido de materia orgánica, disminuyendo la relación.

Cuando la mineralización es lenta, como en los suelos de clima frío, el contenido de materia orgánica es alto y por ende la relación aumenta.

Estas mineralizaciones dependen de la dinámica del suelo y su medio (microclima, humedad, porosidad del suelo, etc.).

Se ha tomado como único parámetro de variación de esta dinámica el mismo contenido de materia orgánica.

La Sección de Biometría, después de estudiar un gran número de muestras encontró dos ecuaciones de regresión; una de primer grado y la otra de segundo grado.

Debido a que la regresión de primer grado satisface el conjunto, no se consideró la de segundo grado.

Transformando la ecuación que pasa por el origen se tiene:

o escrita en la forma de relación, será

$$\frac{\% \text{ M.O.}}{\% \text{ N}} = 17,8 + 0,4 (\% \text{ M.O.})$$

Esto se cumple muy bien para suelos de contenidos entre 2 a 15 %.

$$\% \text{ N} = 0,0553 (\% \text{ MO}) - 0,00089 (\% \text{ MO})^2$$

A continuación se presenta la tabla para calcular el porcentaje de N, con base en esta fórmula.

TABLA PARA CALCULAR EL PORCENTAJE DE NITROGENO CON BASE EN EL CONTENIDO DE MATERIA ORGANICA

% M.O.	0	.1	.2	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9
1	0,05	0,06	0,06	0,07	0,07	0,08	0,09	0,09	0,10	0,10
2	0,11	0,11	0,12	0,12	0,13	0,13	0,14	0,14	0,15	0,15
3	0,16	0,16	0,17	0,17	0,18	0,18	0,19	0,19	0,20	0,20
4	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25
5	0,25	0,26	0,26	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29	0,29	0,30
6	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,33	0,33	0,33	0,34
7	0,34	0,35	0,35	0,36	0,36	0,36	0,37	0,37	0,38	0,38
8	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40	0,41	0,41	0,41	0,42	0,42
9	0,43	0,43	0,43	0,44	0,44	0,44	0,45	0,45	0,46	0,46
10	0,46	0,47	0,47	0,48	0,48	0,48	0,49	0,49	0,49	0,50
11	0,50	0,50	0,51	0,51	0,51	0,52	0,52	0,52	0,53	0,53
12	0,53	0,54	0,54	0,55	0,55	0,55	0,55	0,56	0,56	0,57
13	0,57	0,57	0,57	0,58	0,58	0,58	0,59	0,59	0,59	0,60
14	0,60	0,60	0,61	0,61	0,61	0,61	0,62	0,62	0,62	0,63
15	0,63	0,63	0,63	0,64	0,64	0,64	0,65	0,65	0,65	0,65
16	0,66	0,66	0,66	0,66	0,67	0,67	0,67	0,68	0,68	0,68
17	0,68	0,68	0,69	0,69	0,69	0,69	0,70	0,70	0,70	0,70
18	0,71	0,71	0,71	0,71	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,73
19	0,73	0,73	0,73	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,75	0,75
20	0,75	0,75	0,75	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,77

Fórmula para calcular % N = 0,0553 (% M.O.) - 0,00089 (% M.O.)².