

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Solos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Manual de Métodos de Análise de Solo

3ª edição revista e ampliada

*Paulo César Teixeira
Guilherme Kangussu Donagemma
Ademir Fontana
Wenceslau Geraldes Teixeira*
Editores Técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Solos

Endereço: Rua Jardim Botânico, 1024. Jardim Botânico

CEP: 22460-000 - Rio de Janeiro, RJ

Fone: + 55 (21) 2179-4500

Fax: + 55 (21) 2179-5291

<https://www.embrapa.br>

<https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/>

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Solos

Comitê de Publicações da Embrapa Solos

Presidente: *José Carlos Polidoro*

Secretária-Executiva: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Membros: *Ademar Barros da Silva, Adriana Vieira de C. de Moraes, Alba Leonor da Silva Martins, Enyomara Lourenço Silva, Evaldo de Paiva Lima, Joyce Maria Guimarães Monteiro, Luciana Sampaio de Araujo, Maria Regina Laforet, Maurício Rizzato Coelho, Moema de Almeida Batista, Wenceslau Geraldes Teixeira*

Supervisão editorial: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Normalização bibliográfica: *Luciana Sampaio de Araujo*

Editoração eletrônica: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Capa: *Eduardo Guedes de Godoy*

Revisão de texto: *André Luiz da Silva Lopes e
Marcos Antônio Nakayama*

3ª edição

Publicação digitalizada (2017)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Solos

Manual de métodos de análise de solo / Paulo César Teixeira ... [et al.], editores técnicos. – 3. ed. rev. e ampl. – Brasília, DF : Embrapa, 2017.

574 p. : il. color.

ISBN 978-85-7035-771-7

1. Análise do solo. 2. Física do solo. 3. Química do solo. 4. Matéria orgânica. 5. Mineralogia. I. Teixeira, Paulo César. II. Donagemma, Guilherme Kangussu. III. Fontana, Ademir. IV. Teixeira, Wenceslau Geraldes. V. Embrapa Solos.

CDD 631.40202

— Capítulo 2 —

NITROGÊNIO TOTAL – Kjeldahl

Fabiano de Carvalho Balieiro

Bruno José Rodrigues Alves

2.1 Introdução

O nitrogênio (N) é um nutriente de dinâmica intensa no solo e sua reserva nos solos tropicais encontra-se associada, principalmente, aos componentes da matéria orgânica, correspondendo a cerca de 95 % do total existente. Alterações nas quantidades totais de N do solo podem revelar usos que implicam perdas ou ganhos de fertilidade, face à sua estreita relação com matéria orgânica do solo.

O método de quantificação de N que será apresentado representa uma adaptação para solos tropicais do método de referência descrito por Bremner e Mulvaney (1982), sendo indicado para quantidades de solo contendo entre 0,5 mg e 2 mg de N.

2.2 Princípio

O N da matéria orgânica do solo é mineralizado até amônio (NH_4^+) pela oxidação com ácido sulfúrico, em alta temperatura, na presença de catalisadores, processo conhecido como digestão Kjeldahl.

Após a digestão, o N amoniacal que se encontra no meio

ácido é submetido a destilação a vapor após forte alcalinização com adição de NaOH, o que faz com que o NH_4^+ se converta à amônia (NH_3), a qual é arrastada pelo vapor d'água e condensada até alcançar a solução de ácido bórico. Em contato com o meio ácido, a NH_3 é protonada, formando NH_4^+ , fazendo com que o pH da solução se eleve. A solução de ácido bórico contém indicadores (verde de bromocresol e vermelho de metila) que permitem visualizar o processo pela alteração de cor vermelha/violeta para verde azulado.

A quantificação do N existente na solução de ácido bórico ocorre pela titulação da solução com o ácido sulfúrico, até que se observe o retorno da cor vermelha, que corresponde ao ponto de viragem para condição mais ácida. A quantidade de N existente é proporcional à quantidade de ácido gasta na titulação.

2.3 Material e Equipamentos

- Balança com precisão de 0,001 g.
- Capela com exaustor, preparada para vapores ácidos.
- Bloco digestor com suporte para tubos (40 tubos).
- Bureta volumétrica ou digital.
- Destilador manual – esquema do sistema em arraste a vapor (Figura 1), descrito em Bremner e Mulvaney (1982) – ou automático.
- Erlenmeyer de 125 mL.
- Balões volumétricos de 200 mL, 1 L e 2 L.
- Pipetas volumétricas de 2 mL e 5 mL.
- Tubos de digestão (compatíveis com o destilador).
- Proveta de 100 mL.
- Béquer de vidro de 500 mL.
- Medida de 1,1 g para mistura catalisadora.

2.4 Reagentes e soluções

- Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) p.a.
- Sulfato de potássio (K_2SO_4) p.a.
- Selênio (Se) p.a.
- Octanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OH}$) p.a.
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) (96% de pureza) p.a.
- **Solução de ácido bórico 1%** – Dissolver 100 g de H_3BO_3 em água destilada e completar o volume do balão em 10.000 mL com água destilada ou deionizada e agitar lentamente.
- **Solução indicadora vermelho de metila** – Dissolver 70 mg de vermelho de metila em balão contendo 100 mL de metanol.
- **Solução indicadora verde de bromocresol** – Dissolver 100 mg de verde de bromocresol em balão contendo 100 mL de metanol.
- **Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$** – Diluir 29 mL do ácido sulfúrico concentrado p.a. (pureza 96%) em 500 mL de água destilada e completar o volume do balão a 1 L com água destilada ou deionizada e agitar lentamente.
- **Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 40%** – Dissolver 400 g de NaOH em água destilada em béquer de vidro, transferir para balão volumétrico de 1 L e completar o volume com água destilada ou deionizada. Agitar lentamente o balão sem a tampa. Como essa solução aquecerá o balão, colocar sob água corrente ou balde para resfriamento e não tampar.
- **Solução de tris-hidroximetilaminometano (THAM) $0,0300 \text{ mol L}^{-1}$** – Dissolver 3,6342 g de THAM em água destilada e completar o volume do balão em 1 L com água destilada e agitar lentamente.

- **Solução de sulfato de amônio (1 mg N/5 mL)** – Dissolver 0,942 g de sulfato de amônio em água destilada e completar o volume do balão em 1 L com água destilada. Agitar lentamente. Obs.: ver comentário no item 2.7 sobre o uso de solução padrão.
- **Solução de ácido acético 15%** – Diluir 15 mL de ácido acético glacial (CH_3COOH , p.a.) em água destilada e completar o volume do balão de 100 mL com água destilada. Agitar lentamente.
- **Mistura catalisadora (MC)** – Moer finamente 100 g de sulfato de potássio, 10 g de sulfato de cobre e 1 g de selênio (< 100 mesh). Misturar os três reagentes até homogeneização completa para formar a MC.
- **Solução ácido bórico/indicador** – Adicionar 100 mL de cada solução indicadora (vermelho de metila e verde de bromocresol) à solução de H_3BO_3 1% e agitar lentamente. Checar o pH para obter a cor violeta (ver item 2.7).
- **Solução de ácido sulfúrico para titulação** – Preparar uma solução de H_2SO_4 cuja concentração condicione o uso de cerca de 10 mL dessa solução na titulação da amostra. Obs.: a mínima concentração da solução de H_2SO_4 recomendada para que a visualização da mudança de cor do indicador seja nítida é de $0,0025 \text{ mol L}^{-1}$. Fazer um pequeno ensaio com a seguinte fórmula:

$$M_{\text{as}} = 0,00003572 \cdot N_1 \cdot m$$

Em que:

M_{as} – concentração da solução de ácido sulfúrico a ser usada, em mol L^{-1} .

N_1 – provável concentração de N do material a ser analisado, em dag kg^{-1} .

m – massa da amostra digerida, em mg.

V_m – volume da amostra digerida, em mL.

2.4.1 Padronização da solução de ácido sulfúrico para titulação

- Adicionar, em três Erlenmeyers de 125 mL, 10,00 mL da solução de ácido bórico indicador e um volume conhecido⁽⁷⁾ da solução THAM.
- Proceder à titulação com uma bureta volumétrica ou bureta digital (0,01 mL). A concentração da solução de ácido padronizado é calculada por meio da fórmula:

$$M_{as} = \frac{(M_{THAM} \cdot V_{THAM})}{2 \cdot V_{as}}$$

Em que:

M_{as} – concentração da solução de ácido sulfúrico a ser usada, em mol L⁻¹.

V_{as} – volume da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação, em mL.

M_{THAM} – concentração da solução de THAM, em mol L⁻¹.

V_{THAM} – volume usado da solução de THAM, em mL.

2.5 Procedimento

2.5.1 Digestão da amostra e dos brancos

- Pesar 1 g de amostra de solo (TFSA) moída e passada em peneira de 100 mesh. Colocar em tubo de digestão.

⁽⁷⁾ O volume da solução de THAM a ser colocado é dependente da concentração da solução de H₂SO₄ escolhida para a titulação (5,00 mL de THAM para solução ácida com concentração superior a 0,01 mol L⁻¹ e de 2,00 mL para soluções entre 0,0025 e 0,01 mol L⁻¹).

- Adicionar ao tubo de digestão uma medida (1,1 g) da mistura catalisadora e 4 mL de H₂SO₄ concentrado.
- Preparar dois tubos de digestão para o branco (somente mistura catalisadora e ácido sulfúrico) e mais dois tubos do padrão interno (solo com teor de N conhecido e próximo ao do material a ser analisado). Ver comentário no item 2.7 sobre o uso desse padrão.
- Levar os tubos ao bloco digestor em capela de exaustão e elevar a temperatura para 150 °C, por 1 hora. Para materiais com alto teor de matéria orgânica, manter a 70 °C por 3 horas e a 150 °C por 1,5 hora. Em seguida, passar a temperatura para 300 °C e aguardar até que a solução fique incolor (geralmente, essa etapa leva 4 horas). Normalmente, a solução passa de esverdeada clara a incolor.
- Desligar o bloco e deixar esfriar em temperatura ambiente.

2.5.2 Destilação

- Conferir o volume dos reservatórios de água destilada do destilador manual (ver sobre fervura no item 2.7). Em sistemas automáticos, checar os reservatórios de solução de hidróxido de sódio (40%) e solução 1% ácido bórico/indicador.
- Preencher o reservatório de solução de H₂SO₄ para titulação (podendo ser manual ou automático).
- Para o sistema manual, aguardar o início da fervura da água e ligar a torneira que fornece água ao condensador.
- Para os sistemas automáticos, seguir as instruções da marca e modelo para funcionamento do destilador.

- Transferir primeiramente 15 mL de água destilada para o balão do destilador (ou conectar o tubo de digestão ao aparelho, no caso de sistemas automáticos).
- Proceder à destilação de acordo com as orientações do sistema manual ou automático.
- Recolher o destilado com a extremidade do tubo de destilação imersa na solução de ácido bórico e indicador.
- Titular o destilado da água e do padrão de sulfato de amônio com a solução de H_2SO_4 aferida com a solução THAM.
- Do volume de ácido gasto na titulação do padrão, descontar o volume de ácido gasto na titulação da água destilada.
- Verificar o nível de recuperação do N do padrão (satisfatório > 97%).
- Proceder à destilação das provas em branco.
- Do volume de ácido gasto na titulação da amostra-padrão, descontar o volume de ácido gasto na titulação das provas em branco.
- Proceder à destilação das amostras de solo.
- Após a análise de todas as amostras, fazer uma limpeza do sistema com ácido acético 15%, evitando-se, assim, a formação de crostas residuais de hidróxido de sódio e sais presentes nas misturas e soluções usadas no processo.

2.6 Cálculos

$$N \text{ (mg)} = M_{as} \cdot 28 \cdot V_{as}$$

Em que:

N (mg) – quantidade de nitrogênio recuperada na destilação, em mg.

M_{as} – concentração da solução padronizada de ácido sulfúrico, em mol L⁻¹.

V_{as} – volume da solução padronizada ácido sulfúrico gasto na titulação, em mL.

$$N = \frac{(M_{ac} \cdot 28 \cdot V_{ac})}{m} \cdot 1000$$

Em que:

N – concentração de nitrogênio da amostra de solo, em g kg⁻¹.

M_{ac} – concentração da solução padronizada de ácido sulfúrico, em mol L⁻¹.

V_{ac} – volume da solução padronizada ácido sulfúrico gasto na titulação, em mL.

m – massa da amostra de solo digerida, em mg. Obs.: caso o teor de N do padrão encontrado seja diferente em mais do que 5% em relação ao valor nominal do N , recomenda-se repetir todo o processo de digestão e destilação das amostras.

Valor 28 – equivale a duas vezes a massa de N (14 g).

2.7 Observações

Durante o procedimento de digestão das amostras, em raras situações e normalmente em amostras com alto teor de matéria orgânica, pode-se observar a formação de muita espuma. Nesse caso, adicionar de três a quatro gotas de octanol para que se evite a formação e extravasamento de espuma do tubo. Em casos mais extremos, recomenda-se uma pré-digestão a 100 °C por uma noite, seguida de 4 h a 150 °C para, em seguida, completar a digestão como descrito anteriormente.

É comum verificar a cor vermelha intensa para a solução de ácido bórico acrescida dos indicadores, indicando que o pH está ácido, fora do ponto de viragem dos indicadores, que é de cor vermelha

tendendo à violeta. Adicionar gotas de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ até que a solução se torne de cor violeta. Nesse ponto, o pH da solução está muito próximo do ponto de viragem de cor dos indicadores (entre 4,8 e 5,0). Assim, mínimas quantidades de amônia que chegarem à solução alterarão significativamente a cor da solução para verde azulado.

Em sistema manual de destilação, os balões têm aproximadamente 5 L, permanecendo sobre mantas aquecedoras. É interessante que os balões possuam bolinhas de vidro ou pedaços de porcelana para permitir uma ebulição contínua, sem gerar grandes bolhas de ar que se desprendem durante a fervura.

A inclusão de dois tipos de padrão diferentes nesse método, a solução de sulfato de amônio e uma amostra de solo com teor de N conhecido têm o propósito de avaliar a eficiência dos procedimentos de digestão e de destilação, separadamente. Assim, a destilação da solução de sulfato de amônio (sem passar pela digestão) serve para avaliar a eficiência da própria destilação, ao passo que a digestão e destilação de amostra com teor de N conhecido e checagem do valor avalia a possibilidade de problemas na fase de digestão, como digestão incompleta da amostra ou heterogeneidade no aquecimento do bloco digestor. Por isso, no item 2.5 Procedimento, aparecem as fases de destilação do padrão (sulfato de amônio e checagem da recuperação do N), do branco com água, das amostras padrão de solo e amostras em testes, seguidas das respectivas titulações.

2.8 Referências

BREMNER, J. M.; MULVANEY, C. S. Nitrogen - Total. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Methods of soil analysis**: part 2: chemical and microbiological properties. 2nd ed. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p. 595-624.