

Agrovoc descriptors: soil, soil chemistry, soil testing, nitrogen, fertilizer application, analytical methods, zeo mays, experimentation

Agris category code: P33

Kmetijski inštitut Slovenije

Centralni laboratorij

Ljubljana

COBISS koda 1.01

Razvoj metode za določanje topnega organskega dušika v tleh

Veronika KMECL¹, Janez SUŠIN²

Delo je prispelo 30. julija 2002, sprejeto 15. januarja 2003.

Received July 30, 2002, accepted January 15, 2003.

IZVLEČEK

Vzporedno ugotavljanje vsebnosti mineralnega dušika (N_{\min}) in topnega organskega dušika (TOD), ki ga ekstrahiramo iz zemlje z 0,01 M razt. CaCl_2 , omogoča izboljšanje napovedovanja gnojenja z dušikom. V ta namen smo razvili metodo določanja topnega organskega dušika v tleh. Metodo smo ustrezno analitsko verificirali. Slednje smo zagotovili s primerjavo rezultatov analiz, ki smo jih dobili znotraj mednarodne medlaboratorijske primerjalne sheme WEPAL (Wageningen Evaluating Programme for Analytical Laboratories, Nizozemska). Kot primer uporabnosti vpeljane in verificirane metode meritev topnega organskega dušika v tleh prikazujemo primer gnojilnega poskusa s koruzo na štirih poskusnih lokacijah v Sloveniji.

Ključne besede: skupni topni dušik (STD), topni organski dušik (TOD), analize tal, segmentirani pretočni analizator, verifikacija.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A METHOD USED FOR THE DETERMINATION OF SOLUBLE ORGANIC NITROGEN IN SOIL

Parallel determination of the content of mineral nitrogen (N_{\min}) and soluble organic nitrogen (SON), extracted from the soil with the 0.01 M CaCl_2 solution, improves the fertilizer recommendations with nitrogen. We have developed a method for determination of the soluble organic nitrogen in the soil for this purpose. The method was accordingly verified for the analyses. It was achieved by the comparison of the analytical results, which were studied through the international interlaboratory exchange programme WEPAL (Wageningen Evaluating Programme for Analytical Laboratories, Netherland). To confirm the applicability of the newly introduced and verified method, we chose an example of the fertilization attempt for the corn, which was performed in four different locations in Slovenia.

¹ M. Sc., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² B. Sc., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

Key words: total soluble nitrogen (TSN), soluble organic nitrogen (SON), soil analyses, segmented flow analyser, verification

1 UVOD

Topni organski dušik (TOD) do sedaj ni imel pomembne vloge pri raziskavah prehrane rastlin z dušikom. Šele v sedanjem času postaja predmet številnih raziskav.

Dušik v tleh se nahaja v različnih kemijskih oblikah. Zelo grobo se deli v organski in anorganski dušik. Skoraj 95% vsega dušika v tleh je vezanega v razne organske kemijske spojine v rastlinski ali živalski biomasi. Novejše raziskave kažejo, da organski dušik v zemlji sestavljajo inerten nerazgradljivi organski dušik, počasi razgradljivi organski dušik (proteini, aminokisljine), dušik, ki je prisoten v živih organizmih mikrobne biomase v zemlji ter lahko razgradljivi organski dušik oz. topni organski dušik (malo je znanega o kemijski obliki teh spojin, verjetno pa gre za nizkomolekularne amine, nizkomolekularne aminokisljine). Anorganski dušik (NO_2^- -N, NO_3^- -N, NH_4^+ -N) zajema le majhen delež celotnega dušika v zemlji (približno 1-2%)(W.S. Wilson in sod., 1999).

Okoljevarstveni vidiki izpiranja nitratov iz zemlje, kot tudi pomembnost amonijevih in nitratnih ionov v prehrani rastlin so vzrok intenzivnih študij anorganskega oz. mineralnega dušika (N_{\min}) v kmetijstvu.

V nasprotju pa je le malo raziskav povezanih s topnim organskim dušikom (TOD). Delež TOD v obdelanih zemljah je med 0,3 in 1% celotnega organskega dušika (Mengel, 1985). S spoznanjem, da se te oblike dušika dokaj hitro razgrajujejo v mineralno obliko, je postal pomemben element pri raziskavah dostopnih oblik dušika v tleh. Vzporedno ugotavljanje vsebnosti topnega organskega dušika in mineralnega dušika v zemlji bo doprineslo k izboljšanju kakovosti napovedovanja gnojenja z dušikom (Groot in Houba, 1995; Stevens in Wannop, 1987).

Rastline asimilirajo predvsem anorganske oblike dušika. Lahko pa pride tudi do direktnega vnosa organskih snovi (npr. uree) v rastline brez predhodne hidrolize, vendar je ta proces počasnejši (Harper, 1984). Pri nekaterih rastlinah pa topni organski dušik predstavlja primarni vir prehrane z dušikom, predvsem v naravnih sistemih, kjer je mineralizacija prepočasna, da bi oskrbovala rastline z dušikom (Barak in sod., 1990; Chapin in sod., 1993; Warman in Isnor, 1989).

Čeprav je v zadnjem času vse več raziskav v povezavi s topnim organskim dušikom, je njegova vloga v dušikovem krogotoku in pri prehrani rastlin še vedno zelo nejasna in zato zanimiva za nadaljnje študije. Z razvojem metod za določanje topnega organskega dušika v zemlji pa bomo hitreje razjasnili neznana vprašanja.

Na Kmetijskem inštitutu Slovenije smo v ta namen vpeljali metodo določanja topnega organskega dušika v zemlji in jo verificirali. Izhajali smo iz predpostavke, da je topni organski dušik, ki ga ekstrahiramo iz zemlje z 0,01 M razt. CaCl_2 , najverjetnejši pokazatelj organskih oblik dušika, ki se mineralizirajo in so rastlinam dostopne. (Houba in sod., 1987).

2 METODE DELA IN MATERIALI

2.1 Priprava vzorca

Vse vzorce zemlje, ki smo jih analizirali, smo homogenizirali, nato pa v približno 300 ml plastične steklenice zatehtali 50 g svežega vzorca, prelili z 200 ml 0,01 M razt. CaCl_2 . Plastične steklenice z vzorcem smo stresali na stresalniku 1 uro. Ekstrakt smo filtrirali preko filter papirja (Schleicher & Schuell 589³). Preostanek je bila raztopina, ki smo jo analizirali (Hoffman, 1991).

Vsebnost lahko topnega organskega dušika v vzorcih smo ugotovili z merjenjem na segmentiranem pretočnem analizatorju – SFA (Bran+Luebbe, Alfa Laval).

2.2 Določanje skupnega topnega dušika

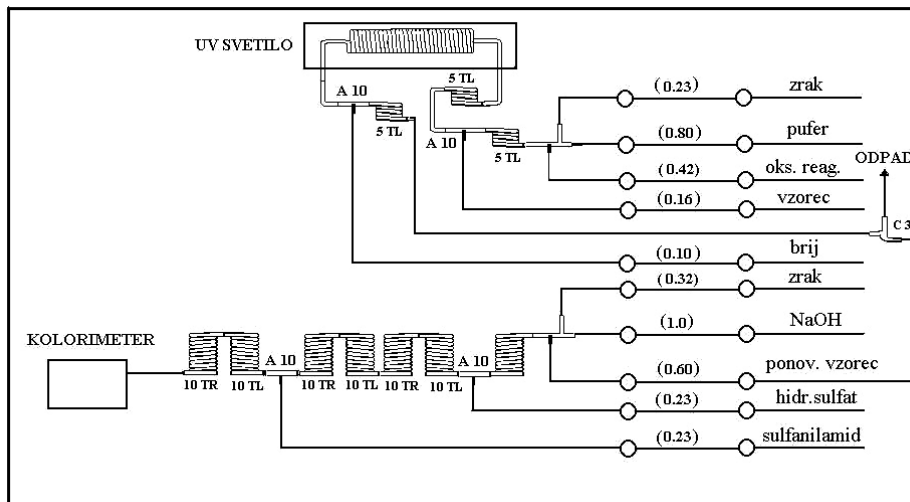
Skupni topni dušik (STD) imenujemo vse organske in anorganske oblike dušika, ki jih ekstrahiramo iz zemlje z 0,01 M razt. CaCl_2 .

Princip določanja skupnega topnega dušika na segmentiranem pretočnem analizatorju je sledeč:

V SFA sistemu se v prisotnosti kalijevega peroksidisulfata ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) razkrojijo lahko razgradljive organske spojine, ki se z 0,01 M razt. CaCl_2 ekstrahirajo iz zemlje. Amonijevi ioni (NH_4^+), nastali pri razkroju organskih spojin in tisti, ki so od začetka v ekstraktu zemlje, se oksidirajo v nitratne ione (NO_3^-) s sulfatnimi radikali, ki nastanejo pri fotolitičnem razkroju kalijevega peroksi disulfata ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). Nitrat se nato s hidrazinijevim sulfatom reducira v nitrit, katerega določamo fotometrično. Najprej poteče Sandmeyerjeva reakcija, oz. diazotiranje aminske skupine ($-\text{NH}_2$) na sulfanilamidu v prisotnosti nitritnega iona (NO_2^-) v kislem mediju. Nastala diazonijeva sol se veže na *N* – naftiletilen diamin (NEDD) na mesto 4, pri čemer nastane rdeče azo-barvilo, ki ima maksimalni absorpcijski vrh pri valovni dolžini 520 nm. (Houba in sod., 1999, Smart in sod., 1981).

Razlika med skupnim topnim dušikom (STD) in mineralnim dušikom $-\text{N}_{\text{min}}$ ($\text{NO}_3^- - \text{N}$, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ in $\text{NH}_4^+ - \text{N}$) nam da vrednost topnega organskega dušika (TOD).

Mineralne oblike dušika izmerimo ločeno od skupnega topnega dušika na segmentiranem pretočnem analizatorju. Procesno shemo za določanje skupnega topnega dušika (STD) prikazujemo na sliki 1.



Slika 1: Procesna shema za določanje skupnega topnega dušika z SFA tehniko
Figure 1: Flow diagram for total soluble nitrogen determination by SFA

Raztopine, smo pripravili po navodilih, ki jih predpisuje proizvajalec segmentiranega pretočnega analizatorja (AutoAnalyzer Applications, G-086-93).

Preglednica 2: Priprava raztopin za določanje skupnega topnega dušika v zemlji
Table 2: Preparation of the solutions for TSN measurements

Raztopine	Priprava raztopin
Pufer-razt. natrijevega tetraborata in natrijevega hidroksida	Na ₂ B ₄ O ₇ ·10 H ₂ O...32,14 g NaOH...4 g dest. voda ...do 1l
Razt. kalijevega peroksidisulfata	K ₂ S ₂ O ₈ ...4g dest. voda ...do 200 ml
Razt. natrijevega hidroksida in tetra natrijevega difosfata	NaOH...6,3g Na ₄ P ₂ O ₇ ·10 H ₂ O...4g dest. voda ...do 1l
Vodna razt. bakrovega sulfata	CuSO ₄ ·5H ₂ O...1,2 g dest. voda...do 100 ml
Vodna razt. cinkovega sulfata	ZnSO ₄ ·7H ₂ O...3,36 g dest. voda...do 100 ml
Razt. hidrazinijevega sulfata	hidrazinijev sulfat...1,5 g razt. CuSO ₄ ·5H ₂ O...0,5 ml (zgoraj navedena razt.) razt. ZnSO ₄ ·7H ₂ O...9,2 ml (zgoraj navedena razt.) dest. voda ...do 500 ml
Razt. sulfanilamida	sulfanilamid...5g HCl...75 ml <i>N</i> -naftiletilen diamin dihidroklorid (NEDD)...0,25 g dest. voda ...do 500 ml
Brij (Bran+Luebbe, no. 781244)	R-O-(C ₂ H ₄ O) _x -H.....20 ml dest. voda.....do 100 ml
Standardna razt. KNO₃ (1000 mg N/l)	KNO ₃7,218 g dest. voda.....do 1000 ml

2.3 Verifikacija analitskega postopka

Verifikacijo postopka določanja skupnega topnega dušika smo opravili na vzorcu tal, ki smo ga posušili pri T = 40°C, nato pa presejali skozi 5 milimetrsko sito.

Za verifikacijo metode smo morali zagotoviti točnost metode, ponovljivost rezultatov meritev znotraj enega dne in med dnevi ter mejo zaznavnosti in mejo kvantitativne določitve (Miller, 1988).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Vpeljava metode skupnega topnega dušika v tleh

Ker je proces določanja skupnega topnega dušika zelo kompleksen, smo med analizo stalno preverjali izkoristke reakcij (oksidacijo amonijevih do nitratnih ionov ter redukcijo nitratnih do nitritnih ionov).

Za preverjanje stopnje oksidacije smo pripravili standardne raztopine aminokislin in nizkomolekularnih aminov (EDTA, sečnina, glutaminska kislina, glicin, NH_4Cl , fenilalanin). Stopnja oksidacije je bila pri vseh vzorcih organskih spojin med 95 in 100%.

Stopnjo redukcije nitrata v nitrit smo preverjali s stopnjo odzivov nitratnega in nitritnega dušika enake koncentracije (2 mg N/l). Kot rezultat smo dobili 97 do 102 % stopnje odzivov.

3.2 Verifikacija metode za določanje skupnega topnega dušika v zemlji

Za izračun topnega organskega dušika (TOD) smo validirali metodo določanja skupnega topnega dušika v zemlji (STD). Topni organski dušik je razlika med skupnim topnim dušikom in mineralnim dušikom. **Točnost** rezultatov analiz skupnega topnega dušika smo potrdili z analizo vzorcev iz mednarodne medlaboratorijske primerjalne sheme WEPAL (Wageningen Evaluating Programme for Analytical Laboratories) (van Dijk in Houba, 2000).

Preglednica 3: Točnost rezultatov analiz skupnega topnega dušika (STD) v zemlji

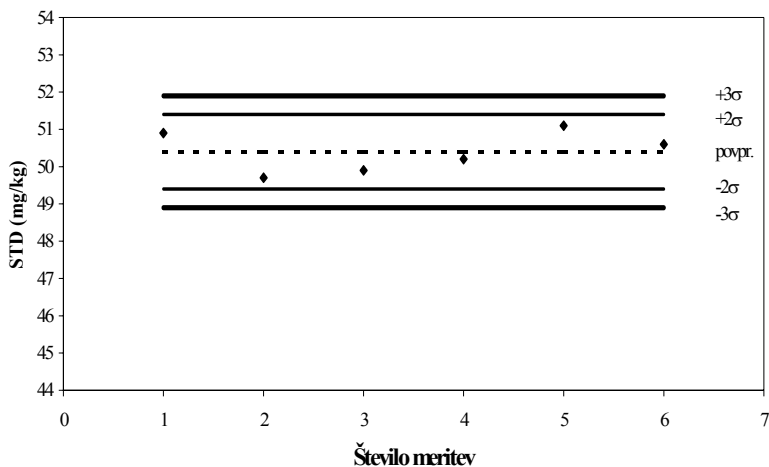
Table 3: Accuracy of the results (TSN in soil)

<i>Medlborat. primerjava</i>	<i>Povprečje (mg Nsk/kg)</i>	<i>Stand. odklik (mg Nsk/kg)</i>	<i>Minimum (mg Nsk/kg)</i>	<i>Rezultat KIS (mg Nsk/kg)</i>	<i>Maximum (mg Nsk/kg)</i>	<i>Komentar</i>
ISE 1998.4	91,1	5,43	80,3	96,6	102	rezultat je točen
ISE 1998.4	12,3	2,75	6,84	11,6	17,8	rezultat je točen
ISE 1998.4	4,56	2,02	0,52	4,12	8,60	rezultat je točen
ISE 1998.4	57,6	3,79	50,0	60,0	65,2	rezultat je točen
ISE 1999.1	76,8	14,0	48,9	85,8	104,8	rezultat je točen
ISE 1999.1	18,2	3,51	11,2	16,2	25,2	rezultat je točen
ISE 1999.1	31,1	3,66	23,8	31,9	38,5	rezultat je točen
ISE 1999.1	121,5	12,8	95,9	129	147,1	rezultat je točen
ISE 2000.3	23,8	3,32	17,2	20,9	30,5	rezultat je točen
ISE 2000.3	70,5	4,29	61,9	76,1	79,0	rezultat je točen
ISE 2000.3	27,7	3,48	20,8	27,1	34,7	rezultat je točen
ISE 2000.3	92,6	9,59	73,4	90,6	111,8	rezultat je točen
ISE 2000.4	98,0	16,1	65,8	91,7	130	rezultat je točen
ISE 2000.4	24,3	8,11	8,11	15,8	40,6	rezultat je točen
ISE 2000.4	34,3	6,49	21,3	31,2	47,3	rezultat je točen
ISE 2000.4	21,6	5,84	9,89	16,2	33,3	rezultat je točen
ISE 2001.1	25,2	5,56	14,0	31,9	36,3	rezultat je točen
ISE 2001.1	91,6	15,3	60,9	106,0	122,2	rezultat je točen
ISE 2001.1	11,6	1,12	9,35	11,4	13,8	rezultat je točen
ISE 2001.1	80,5	14,3	52,0	102,0	109,0	rezultat je točen

Povprečna vrednost je znotraj WEPAL primerjalne sheme statistično obdelana kot srednja vrednost vseh objavljenih rezultatov. Minimalna in maksimalna vrednost je izračunana kot povprečna vrednost $\pm 2\sigma$.

Vsi rezultati so bili v intervalu med minimalno in maksimalno dopustno vrednostjo, torej so točni (preglednica 3).

Za določitev **ponovljivosti rezultatov analiz znotraj enega dne** smo analizirali vzorec zemlje (posušen in homogeniziran) v šestih ponovitvah.

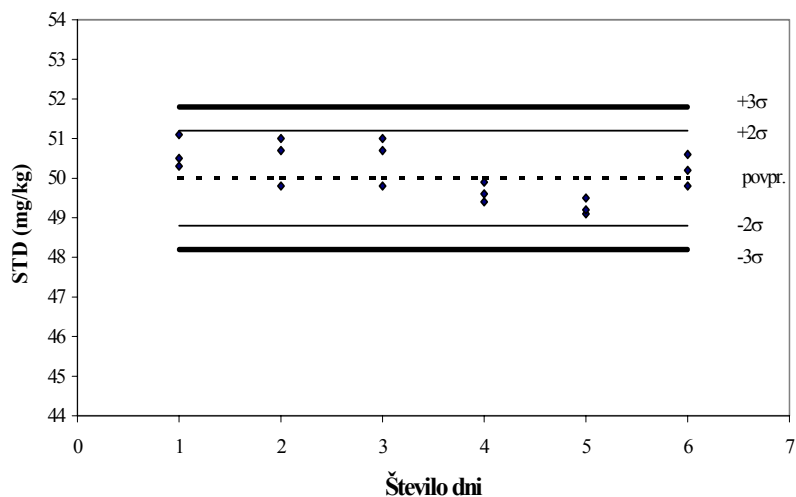


Slika 2: Ponovljivost rezultatov analiz, dobljenih v 1 dnevu (metoda določanja skupnega topnega dušika v zemlji)

Figure 2: Repeatability of the results (TSN in soil)

Povprečna vsebnost skupnega topnega dušika med dnevi je bila 50,4 mg/kg zemlje, standardni odmik pa 0,5 mg/kg. Vrednosti analiz, ki smo jih opravili znotraj enega dne so bile v okviru dveh standardnih odklikov (rezultati meritev so ponovljivi).

Za določitev **ponovljivosti rezultatov analiz med dnevi** smo analizirali 1 vzorec zemlje v treh ponovitvah, šest dni zaporedoma.



Slika 3: Ponovljivost rezultatov analiz, dobljenih med dnevi (metoda določanja skupnega topnega dušika v zemlji)

Figure 3: Reproducibility of the results (TSN in soil)

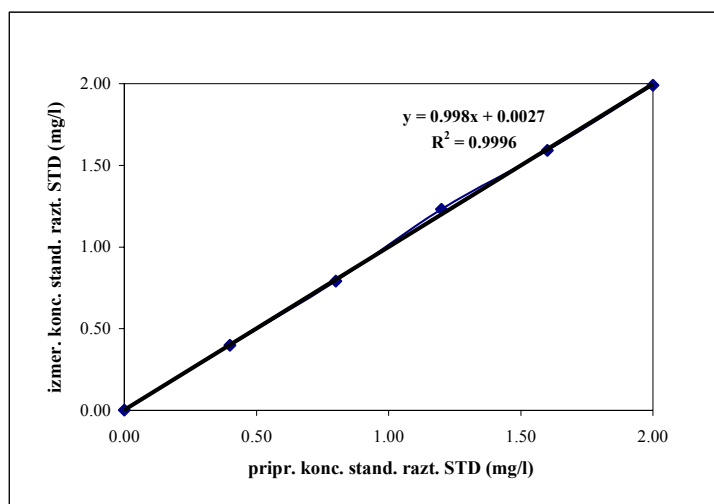
Povprečna vsebnost skupnega topnega dušika med dnevi je bila 50,0 mg/kg zemlje, standardni odmik pa 0,6 mg/kg. Vrednosti analiz, ki smo jih opravili med dnevi so bile v okviru dveh standardnih odmkov (rezultati meritev se ponovljivi).

Za določitev **meje zaznavnosti (LOD)** in **meje kvantitativne določitve (LOQ)** določanja STD v zemlji smo naredili umeritveno krivuljo v območju od 0 do 2 mg/l.

Preglednica 4: Umeritvena krivulja za določitev LOD in LOQ (STD)

Table 4: The regression curve, applied for determination of LOD and LOQ (TSN)

Pripravljene koncentracije stand. raztopin STD (mg /l)	Izmerjene koncentracije stand. raztopin STD (mg /l)
0,000	0,001
0,400	0,398
0,800	0,791
1,200	1,231
1,600	1,592
2,000	1,991



Slika 4: Umeritvena krivulja za določitev LOD in LOQ (STD)

Figure 4: The regression curve, applied for determination of LOD and LOQ (TSN)

Ker korelacijski koeficient (0,9996) potrjuje visoko stopnjo linearnosti v koncentracijskem območju od 0-2 mg /l, smo lahko to premico uporabili za umeritveno krivuljo pri določanju LOD in LOQ. Za izračun LOD smo vzeli raztopino z najnižjo možno koncentracijo, ki je dala signal, različen od 0. To je bila koncentracija slepega vzorca. Rezultati 10 paralelek so podani v preglednici 5.

Preglednica 5: Vrednosti LOD in LOQ za analizo skupnega topnega dušika v zemlji
 Table 5: The values of LOD and LOQ for determination of total soluble nitrogen in soil

Vzorec	STD (mg/l)
1	0,000
2	0,004
3	0,020
4	0,005
5	0,001
6	0,015
7	0,007
8	0,013
9	0,007
10	0,000
povprečna vsebnost, mg/l	0,007
standardni odmik (SD), mg/l	0,007
meja zaznavnosti (LOD), mg/l	0,020
meja kvant. določitve (LOQ), mg/l	0,068

Pri zatehti vzorca 20g zemlje /200 ml ekstrakcijske raztopine sta vrednosti LOD in LOQ:

$$\text{LOD} = 0,20 \text{ mg/ kg zemlje} \quad \text{in} \quad \text{LOQ} = 0,68 \text{ mg/ kg zemlje}$$

3.3 Uporabnost vpeljane in verificirane metode v praksi

Scharpf in Wehrmann (1975) sta N_{\min} analizo v sedemdesetih letih začela uvajati v kmetijsko prakso kot podlago za usmerjanje gnojenja pšenice z dušikom. V Sloveniji smo z raziskavami uporabnosti N_{\min} analiz pričeli koncem osemdesetih let (Bavec 1992, Briški in sod., 1995). Nadgradnjo omenjenih raziskav predstavlja vpeljava analiz skupnega topnega dušika in topnega organskega dušika (Houba in sod., 1987). Ker N_{\min} predstavlja le manjši delež skupnega dušika v tleh (W.S. Wilson in sod., 1999), je seveda nujno potrebno tudi poznavanje osnovnih zakonitosti STD in TOD v krogotoku dušika v tleh. S poznavanjem razmerij med mineralnim in topnim organskim dušikom v tleh lahko pridobimo pomembne podatke o količini dušika, ki je trenutno rastlinam dostopen (N_{\min}), ter podatke o količini dušika, ki bo tekom rastne dobe rastlinam šele postal dostopen (TOD).

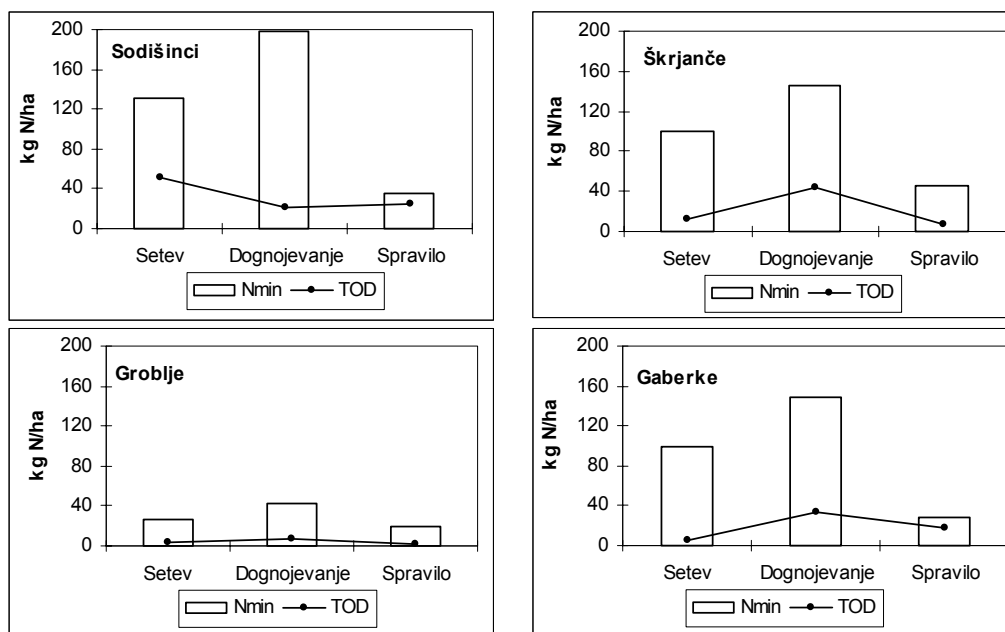
Dinamiko ter medsebojna razmerja N_{\min} in TOD v tleh smo v letih 1998-2000 raziskovali na gnojilnih poskusih v koruzi v treh fazah rasti in sicer pred setvijo, v fazi dognojevanja (7. do 9. list) ter po spravilu pridelka. Kot primer uporabnosti vpeljane in verificirane metode meritev topnega organskega dušika v tleh prikazujemo ugotavljanje razmerij med TOD in N_{\min} v tleh na štirih poskusnih lokacijah po Sloveniji (preglednica 6 in slika 5). Rezultati so predstavljeni samo na tistih postopkih, ki vse leto niso bili gnojeni z dušikom (kontrolne parcele), zaradi česar so takšne parcele najboljši pokazatelji zaloga dušika v tleh tekom rasti posevka koruze.

Primerjava N_{\min} in TOD na kontrolnih parcelah kaže na dejstvo, da je raven N_{\min} in TOD v fazi dognojevanja v začetku meseca junija višja kot pred setvijo koruze konec meseca aprila. Izjema je le parcela v Sodišincih. Pojav razlagamo s povečano stopnjo mineralizacije v mesecu maju, ki jo povzroči višja temperatura ter mikrobiološka aktivnost tal. Zaradi tega se v mesecu maju sprostijo iz tal večje količine N_{\min} in TOD, ki pa jih korusa zaradi nizke potrebe po N do faze dognojevanja ne izkoristi v celoti. Zaradi tega ne priporočamo gnojenja s pretiranimi odmerki N že ob setvi. Vsebnost N_{\min} in TOD je po spravilu pridelka jeseni precej nižja, kar gre pripisati predvsem odvzemu N s pridelkom koruze iz tal.

Preglednica 6: Vsebnost N_{\min} in TOD v tleh v različnih fazah rasti koruze

Table 6: The content of N_{\min} and SON in soil in different growing phases of maize

Lokacija	Setev		Dognojevanje		Spravilo	
	N_{\min}	TOD	N_{\min}	TOD	N_{\min}	TOD
Sodišinci	131	52	199	21	36	24
Škrjanče	100	13	145	44	45	7
Groblje	26	3	42	7	20	1
Gaberke	99	6	149	33	28	17



Slika 5: Primerjava vsebnosti N_{\min} in TOD v tleh v treh različnih fazah rasti koruze
Figure 5: The comparison of the values of N_{\min} and SON in soil in three different growing phases of maize

Primerjava vsebnosti TOD in STD (STD = TOD + N_{\min}) kaže na dejstvo, da je vsebnost N_{\min} v tleh precej višja od vsebnosti TOD. Na kontrolnih parcelah je v večini primerov delež TOD glede na STD znašal največ 29 %, pred dognojevanjem 23 % ter ob spravilu pridelkov 39 %. Seveda pa so med lokacijami bistvene razlike, kar gre

pripisati predvsem različnim klimatskih pogojem, pedološkim lastnostim tal (globina, tekstura, organska snov..) ter načinu gnojenja v preteklosti (predvsem s stališča gnojenja z živinskimi gnojili). Zaradi tega naši prvi rezultati kažejo na dejstvo, da so razmerja med TOD in N_{\min} specifična za posamezne parcele, čemur bo v nadaljevanju obdelave pridobljenih podatkov namenjeno še več pozornosti.

4 ZAKLJUČKI

V okviru raziskovalnega projekta, kjer smo na osnovi vsebnosti mineralnega in topnega organskega dušika v zemlji v določenem časovnem obdobju načrtovali gnojilne odmerke, smo vpeljali in verificirali analitske postopke za določanje skupnega topnega dušika (STD), izmenljivega v 0,01 M razt. CaCl_2 . Ta nam je služil kot osnova za izračun topnega organskega dušika (TOD), katerega smo raziskovali.

Metodo za določanje skupnega topnega dušika smo vpeljali na segmentiranem pretočnem analizatorju - SFA (Segmented flow analyser).

Ker postopek vključuje razkroj lahko razgradljivih organskih snovi v NH_4^+ ione in oksidacijo tako nastalih, in že prisotnih NH_4^+ ionov v raztopini do NO_3^- ionov, smo stopnjo oksidacije preverjali z nekaterimi nizkomolekularnimi organskimi spojinami (EDTA, sečnina, glutaminska kislina, glicin, fenilalanin, NH_4Cl). Stopnja oksidacije je bila pri vseh vzorcih organskih spojin med 95 in 100%.

Stopnjo redukcije nitrata v nitrit smo preverjali s stopnjo odzivov nitratnega in nitritnega dušika enake koncentracije (2 mg N/l). Kot rezultat smo dobili 97 do 102 % stopnje odzivov.

Z verifikacijo vpeljane metode smo ugotovili, da so rezultati analiz skupnega topnega dušika po standardni metodi točni in natančni. Ponovljivost rezultatov znotraj enega dne smo dokazali z analizo homogeniziranega vzorca zemlje, ki smo jo izvedli v šestih ponovitvah v enem dnevu. Ponovljivost rezultatov med dnevi pa smo preverili z analizo vzorca v treh ponovitvah, 6 dni zaporedoma. Vrednosti analiz so bile v obeh primerih v okviru dveh standardnih odmikov.

Točnost meritev skupnega topnega dušika smo dokazali s sodelovanjem v mednarodni medlaboratorijski primerjalni shemi WEPAL (Wageningen Evaluating Programme for Analytical Laboratories, Nizozemska).

Uporabnost vpeljane in verificirane metode smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije preizkusili v sklopu raziskovalnega projekta sonaravne prehrane poljščin z dušikom. Z meritvami TOD in N_{\min} v tleh skušamo s pomočjo gnojilnih poljskih poskusov izboljšati kakovost priporočil za gnojenje poljščin (koruza, pšenica) z N v različnih pridelovalnih in klimatskih pogojih Slovenije.

5 LITERATURA

- Barak P., Molina J.A.E., Hadas A., Clapp C.E. 1990. Mineralization of Amino Acids and Evidence of Direct Assimilation of Organic Nitrogen. *Soil Sci.Soc.Am. J.*, 54, 769-774.
- Bavec, F. 1992. Zakaj določevanje potreb gnojenja poljščin z dušikom na podlagi N_{min} metode. *Sodobno kmetijstvo*, 25(92)3, s. 130-131.
- Briški, L., Gregorčič, A., Kmecl, V., Žnidaršič-Pongrac, V. 1995. Gnojenje ozimne pšenice na osnovi meritev mineralnega dušika v tleh. *Sodobno kmetijstvo*, 28 (95) 10, s. 457-461.
- Briški, L., Gregorčič, A., Kmecl, V. 1996. Gnojenje poljščin z dušikom na podlagi meritev mineralnega dušika v tleh. Zbornik predavanj. Posvet: Dušik-naravovarstvena paradigma. ZTI, Ljubljana, 28.-29.3.1996, s. 107-118.
- Chapin III F.S., Moilanen L., Kielland K., 1993. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-micorrhizal arctic sedge. *Nature*, 316, 150-153.
- Charles J.M., Simmons M.S. 1986. Methods for determination of carbon in Soils and Sediments. A Review. *Analyst* 111, 385-390.
- van Dijk D., Houba V.J.G. 2000. Interlaboratory analytical Studies and their Evaluation. Wageningen Agricultural University, 39 s.
- Groot J.J.R., Houba V.J.G. 1995. A comparison of different indices for nitrogen mineralization. *Biology and Fertility of Soils*, 19, 1-9.
- Harper J.E. 1984. Nitrogen in crop production. R.D.Hauck (ed.), ASA, CSSA, SSSA, Madison, 165 s.
- Hoffman G. 1991. Die Untersuchung von Boden. Methodenbuch, Band 1, VDLUFA - Verlag, Darmstadt, 316 s.
- Houba V.J.G., Novozamsky I., Uittenbogaard J., van der Lee J. J. 1987. Automatic determination of »total soluble nitrogen« in soil extracts. *Landwirtschaftliche Forschung*, 40 (4), 295-302.
- Houba V.J.G., Temminghoff E.J.M., Gaikhorst G.A., van Wark W. 1999. Soil analysis procedures, Extractions with 0,01 M $CaCl_2$. Wageningen Agricultural University, 95 s.
- Mengel K. 1985. Dynamics and availability of major nutrients in soils. *Adv.Soil Sci.*, 2 , 65-131.
- Miller J.C., Miller J.N. 1988. Statistics for analytical chemistry, Second edition. Ellis Horwood limited, West Sussex, 245 s.
- Scharph, H.C., Wehrmann, J. 1975. Die Bedeutung des Mineralstickstoffvorrates des Bodens zu Vegetationsbeginn für die N-Düngung zu Winterweizen. *Landw. Forsch.*, 32/I, sw. 100-114.
- Smart M.M., Reid F.A., Jones J.R. 1981. A comparison of a persulfate digestion and the Kjeldahl procedure for determination of total nitrogen in freshwater samples. *Water Research*, 15, 919-921.
- Stevens P.A., Wannop C.P. 1987. Dissolved organic nitrogen and nitrate in an acid forest soil. *Plant and Soil*, 102, 137-139.
- Sušin J., Kmecl V., Žnidaršič-Pongrac V., Resnik M. 1999. Gnojilni poskus z dušikom v koruzi v letih 1997-1999. Nasveti svetovalcev celjske in koroške regije. Kmetijska svetovalna služba Slovenije, 4, 23-28.

Warman P.R., Isnor R.A. 1989. Evidence of peptides in low-molecular-weight fractions of soil organic matter. *Biology and Fertility of Soils*, 8, 25-28.

Wilson W.S., Ball A.S. 1999. Managing risk of nitrates to humans and the environment. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 347 s.

AutoAnalyzer Application, AA II, Method No. G-086-93, Bran+Luebbe. Total Nitrogen in Water and Soil Extracts.