

FONTES DE NITROGÊNIO, ABSORÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE FÓSFORO EM MILHO¹

MANLIO SYLVESTRE FERNANDES², LUIS ENRIQUE ARRÉLAGA e GABRIEL DE ARAÚJO SANTOS³

RESUMO - Efeito de doses crescentes de P (0, 10, 20, 40 e 60 ppm) e uma dose única de N (80 ppm), aplicada como N-NO₃ ou como N-NH₄ mais um inibidor de nitrificação, sobre a acumulação de matéria seca e absorção de N e P por milho (*Zea mays* L.). Os resultados indicam que a nitrificação foi efetivamente bloqueada, durante o período experimental, pelo uso do inibidor de nitrificação (N-SERVE) a 20 ppm no solo. Houve um efeito positivo de doses crescentes de P sobre a acumulação de matéria seca pelas plantas. Não houve diferenças significativas, na acumulação de matéria seca, entre plantas que receberam N-NO₃ e as que receberam N-NH₄. Houve, entretanto, uma maior relação "raiz: parte aérea", para as plantas do grupo N-NH₄, aos níveis mais elevados de P no solo (40 e 60 ppm). Observou-se um maior acúmulo de N-solúvel (N-amino + N-NO₃) nas plantas que receberam doses menores de P no solo, com o teor de N-amino mais elevado nas plantas do grupo N-NH₄, e um teor mais elevado de N-NO₃ nas plantas do grupo N-NO₃. Houve um maior acúmulo de N na parte aérea do que nas raízes das plantas estudadas (66,8% e 33,18%), enquanto que o acúmulo de P foi maior nas raízes que na parte aérea (61,4% e 38,6%). Os resultados indicam que os teores de P e N dos tecidos não são um indicador seguro do estágio nutricional das plantas em relação a estes elementos.

Termos para indexação: inibidor de nitrificação, concentração de N-solúvel, partição de P, níveis de deficiência de P.

DIFFERENT NITROGEN SOURCES ON THE ABSORPTION AND DISTRIBUTION OF PHOSPHORUS IN CORN

ABSTRACT - Dry weight and N and P uptake by corn (*Zea mays* L. var. Centralmex) were compared in greenhouse for soils treated with increasing P-levels (0, 10, 20, 40 and 60 ppm) and a fixed N-level (80 ppm) applied either as NO₃⁻ or as NH₄⁺ plus a nitrification inhibitor. No difference was found in dry matter content between NO₃⁻ and NH₄⁺ treatments but a positive effect was observed with increasing P-levels. Free-N (amino-N + NO₃⁻ - N) accumulated in the shoots of plants treated with low levels of P. Amino-N was the free-N main fraction in plants treated with NH₄⁺ whereas NO₃⁻ - N was the free-N main fraction in plants treated with NO₃⁻. Nitrogen accumulated more in shoots (66.8%) than in roots (33.18%) while P accumulated more in roots (61.4%) than in shoots (38.6%). At the highest P-levels in soil (40 and 60 ppm) the root/shoot ratio was higher for plants under NH₄⁺ - N than under NO₃⁻ - N. Phosphorus and N contents expressed as percentage of dry weight were not good indicators of nutrient status for these nutrients. Free N pool, on the other hand, was very sensitive to low P levels in soil.

Index terms: nitrification inhibitor, free-N concentration, p-partition, P-stress levels.

INTRODUÇÃO

O uso de nitrogênio amoniacal (N-NH₄) com inibidores de nitrificação e seu efeito sobre o crescimento de plantas tem sido objeto de vários estudos recentes (Dibb & Welch 1976, Radin & Sell 1975, Boswell et al. 1976, Fernandes & Rossiello 1978). O milho (*Zea mays*, L.) teve seu crescimento reduzido, quando exposto por período relativamente longo, (52 dias) a N-NH₄ e um inibidor de nitrificação simultaneamente. Os efeitos negativos observados poderiam ser causados pela absorção e

pela impossibilidade de assimilação de excessos de NH₄ (Fernandes 1978). Entretanto, parece que os efeitos da aplicação de N-NH₄ em solução nutritiva diferem daqueles que se obtêm em solos (Fernandes & Rossiello, 1979).

Dibb & Welch (1976) observaram uma queda no pH do solo, com o uso de N-NH₄ e um inibidor de nitrificação. Efeito semelhante foi observado por Fernandes & Rossiello (1978), usando doses crescentes de N-NH₄ e uma dose fixa de P no solo. Estes autores observaram uma correlação positiva, entre a queda de pH (Δ pH) e o acúmulo de matéria seca nas plantas. Correlação semelhante também foi observada por estes autores entre as quedas de pH (Δ pH) do solo e o acúmulo de fósforo (P-total) da parte aérea das plantas.

¹ Aceito para publicação em 29 de novembro de 1979.
² Eng.º Agr.º Ph.D. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), km 47, CEP 23.460 - Seropédica, RJ.

³ Eng.º Agr.º, UFRRJ, Seropédica, RJ.

Este resultado (queda de pH) foi atribuído à extrusão de H^+ , que ocorre quando excesso de $N-NH_4$ é absorvido por plantas (Raven & Smith 1973). A queda de pH aumenta a relação $H_2PO_4:HPO_4$, e, conseqüentemente, a absorção de P pelas plantas. Outras explicações, entretanto, tem sido dadas, sendo de destacar as observações de Jayman & Sivasubramanian (1975) de que a secreção de ácidos orgânicos por chá (*Camellia sinensis*, L.) liberaria P dos fosfatos de ferro e alumínio, aumentando a disponibilidade deste elemento para as plantas.

O objetivo do presente experimento foi o de estudar o efeito de doses crescentes de P aplicado ao solo, sobre o crescimento de milho (*Zea mays*, L.), usando-se uma dose fixa de N (80 ppm) aplicado como nitrato ($N-NO_3$) ou como amônio ($N-NH_4$), com um inibidor de nitrificação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, usando-se vasos de plástico com 2 kg de solo; este foi coletado no município de Magé (RJ) e descrito por Ramos (comunicação pessoal) como "Podzólico Vermelho-Amarelo", tendo as seguintes características: pH (H_2O 1:2,5) 5,5; P disponível 20 ppm; K trocável, 180 ppm; Ca + Mg, 5,2 mE/100 cm^3 ; Al, 0,0 mE/100 cm^3 ; $N-NO_3$, 3,57 ppm; $N-NH_4$, 33,35 ppm. Ao solo (TFSA), foram aplicadas 20 ppm do inibidor de nitrificação 2-cloro-6 (triclo-rometil)-piridina (N-SERVE), como descrito por Fernandes & Rossello (1978). Os potes foram divididos em dois grupos, tendo um recebido N como NO_3 , e outro como NH_4 , ao nível de 80 ppm. Então, foi aplicado P a ambos os grupos, em doses crescentes (0, 10, 20, 40 e 60 ppm). Para testar a eficiência do inibidor de nitrificação, um grupo-testemunha recebeu apenas $N-NH_4$ (80 ppm), e foi incubado por 40 dias, recebendo irrigação diária. Uma semana após os tratamentos, foi semeado milho (*Zea mays*, L.) da variedade Centralmex (dez sementes/vaso). Após a emergência, foi feito o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso; estas receberam irrigação diária, aproximadamente a 80% da capacidade de campo.

Trinta dias após o plantio, as plantas foram colhidas, raízes e parte aérea separadamente. No solo dos vasos, o pH foi medido em água. Em um grama da parte aérea (segunda folha completamente desenvolvida), após extração alcoólica (segundo Fernandes & Freire 1976), foram determinados o $N-NO_3$ (Nelson & Sommers 1973) e o amino-N (Yemm & Cocking 1955). No material seco em estufa de circulação de ar a 70°C, durante 48 horas, foram determinados o N total pelo método de Kjeldahl (Keeney & Bremner 1965) e o P total, pelo método descrito por Leece & Short (1967). No solo, o $N-NO_3$ e o $N-NH_4$

foram determinados pelos métodos de Keeney & Bremner (1965). O delineamento foi o de blocos ao acaso, com três repetições, e todas as determinações foram cumpridas em duplicado. Foram usados nitrato de cálcio e sulfato de amônio como fontes de NO_3 e de NH_4 , respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O inibidor de nitrificação na dose usada (20 ppm) bloqueou efetivamente a oxidação de formas reduzidas de N. O teor de $N-NO_3$, ao fim do período de incubação nos potes-testemunhas ($N-NH_4$ + N-SERVE), permaneceu igual ao teor inicial (3,6 ppm). Observou-se, entretanto, uma redução no teor de $N-NH_4$ (1,2%) entre o início e o fim do período de incubação (40 dias). Houve uma redução no pH do solo entre o início e o fim do período experimental, em ambos os grupos (NO_3 e NH_4); esta redução (0,6 unidades de pH) foi uniforme para doses de P e formas de N. A Tabela 1 mostra que houve uma resposta positiva (aumento de peso de matéria seca) a doses crescentes de P no solo, para raiz e parte aérea, com um maior acúmulo de matéria seca ao nível de 60 ppm de P aplicado ao solo. No grupo que recebeu N como NO_3 , observa-se um maior acúmulo de matéria seca nas raízes do que na parte aérea das plantas para os níveis de 0, 10 e 20 ppm de P aplicado ao solo, enquanto que não existem diferenças significativas entre o peso da parte aérea e das raízes das plantas nos potes onde foram aplicadas de 40 e 60 ppm de P. As plantas que receberam N como NH_4 mostram um maior acúmulo de matéria seca na raiz do que na parte aérea, em todos os níveis de P aplicado ao solo. A Fig. 1 mostra as tendências da relação "raiz: parte aérea" (R:P) para plantas que receberam $N-NO_3$ ou $N-NH_4$ nos cinco níveis de P. Observa-se uma tendência para queda na relação "R:P" das plantas do grupo $N-NO_3$, com o aumento dos níveis de P aplicado ao solo, o que resulta num valor menor que 1 ao nível de 60 ppm. Nas plantas do grupo $N-NH_4$ existe tendência acentuada para queda da relação "R:P", permanecendo a relação maior que 1 em todos os níveis de P. Considerando-se o peso total de matéria seca (raiz + parte aérea) das plantas, não se observaram diferenças significativas entre o grupo $N-NO_3$ e o grupo $N-NH_4$ (dados não apresentados) em cada nível de P aplicado ao solo. O efeito diferencial de NO_3 x NH_4 ,

TABELA 1. Efeitos de doses crescentes de P aplicado ao solo, no peso de matéria seca da parte aérea e da raiz de plantas de milho (*Zea mays* L.), que receberam N sob a forma de NO₃ ou de NH₄.

P aplicado (ppm)	Peso de matéria seca (g)			
	N-NO ₃		N-NH ₄	
	Parte aérea	Raiz	Parte aérea	Raiz
0	4,01 d*	6,03 b	4,23 b	6,80 c
10	3,93 d	6,98 b	4,58 b	5,90 c
20	4,78 cd	7,86 b	5,66 b	6,96 c
40	6,16 c	6,83 bc	5,96 b	8,65 d
60	8,56 a	8,28 a	8,57 a	10,37 c

* Dentro de cada forma de N (NO₃, ou NH₄), as médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente, pelo teste de Duncan a 5%.

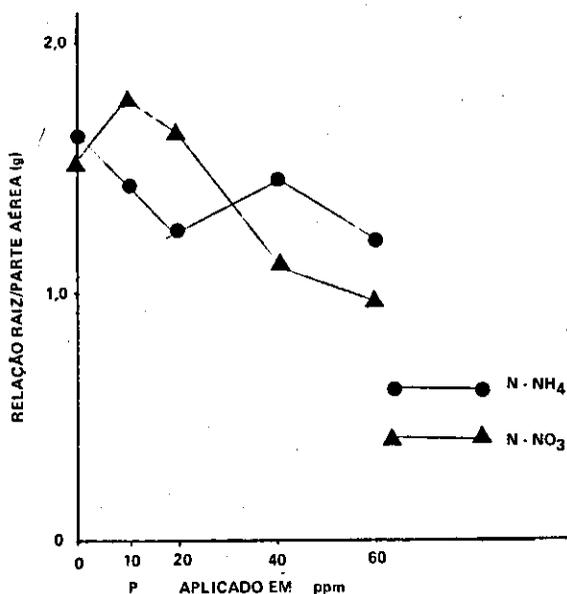


FIG. 1. Efeito de doses crescentes de P, e uma dose de N, aplicada como NO₃ ou NH₄, sobre a relação "raiz:parte aérea" de milho (*Zea mays*, L.).

apareceu, entretanto, na partição de matéria seca entre a parte aérea e a raiz das plantas, nos níveis mais elevados de P aplicado ao solo (40 e 60 ppm).

Os teores de N-amino livre, na parte aérea das plantas foram afetados pelos níveis de P aplicado ao solo e pela forma de N usado (Tabela 2). Em ambos os grupos (NO₃ e NH₄), houve um maior acúmulo de N-amino livre nos níveis mais baixos de P aplicado ao solo (0 e 10 ppm). As plantas que receberam N-NH₄ mostraram um maior teor de N-

-amino do que as plantas que receberam N como NO₃, em todos os níveis de P aplicado, exceto o de 20 ppm. A Tabela 2 também mostra um maior acúmulo de NO₃ para os níveis mais baixos de P aplicado e um mínimo de acúmulo ao nível de 60 ppm de P para as plantas do grupo N-NO₃. Nas plantas que receberam N-NH₄, os teores de N-NO₃ da parte aérea são uniformes para todos os níveis de P aplicado e iguais aos teores de NO₃ para o nível mais elevado (60 ppm) de P aplicado às plantas do grupo N-NO₃. Estes resultados mostram claramente os efeitos negativos da aplicação dos níveis menores de P no solo, sobre o metabolismo de N nas plantas estudadas. Estes efeitos podem também ser visualizados quando se consideram os teores de N-solúvel (NO₃+ N-amino) como porcentagem do N total nas plantas (Tabela 2).

Na Tabela 3, são apresentados os teores de N, como porcentagem do peso total de matéria seca (parte aérea e raízes).

Houve um maior acúmulo de N na parte aérea das plantas dos potes com doses menores de P aplicado ao solo (0, 10, 20), e um menor acúmulo de N nas doses mais elevadas de P aplicado ao solo (40, 60) nas plantas do grupo N-NO₃. Nas plantas que receberam N-NH₄, apenas no nível mais elevado de P no solo (60 ppm) ocorre uma redução significativa de N%. Nas raízes, observou-se uma tendência para um menor acúmulo de N (Tabela 3). Não se observaram diferenças significativas para os níveis de N, em função dos teores de P aplicado ao solo, tanto para as plantas do grupo N-NO₃ como

TABELA 2. Efeitos de doses crescentes de P na acumulação de N-solúvel na parte aérea de milho, usando-se NO_3 ou NH_4 como fonte de N.

P aplicado ao solo (ppm)	N-solúvel em umoles/g de peso de matéria fresca				N-solúvel como % do N total	
	N-amino		N-nítrico		NO_3	NH_4
	NO_3	NH_4	NO_3	NH_4		
0	26,8 a*	33,3 c	26,4 a	9,0 e	18,7	15,6
10	29,9 a	36,1 c	11,7 c	10,2 e	15,9	15,9
20	18,2 be	21,4 de	15,9 b	9,2 e	12,8	12,5
40	15,6 b	24,3 d	11,1 cd	9,3 e	12,1	12,8
60	15,2 b	18,8 d	8,5 d	8,4 de	11,7	7,5

* Médias dos valores de N-amino e N-nítrico seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

TABELA 3. Efeitos de doses crescentes de P, nos teores de N-total da raiz e parte aérea de milho (*Zea mays* L.) usando-se NH_4 ou NO_3 como fonte de N.

P aplicado ao solo (ppm)	N total em % do peso de matéria seca			
	Parte aérea		Raiz	
	NO_3	NH_4	NO_3	NH_4
0	3,4 a*	2,7 d	1,1 a	0,8 b
10	3,2 ab	3,0 ad	0,9 a	0,8 b
20	2,9 ab	2,5 cd	0,9 a	0,9 ab
40	2,6 dc	2,5 cd	1,2 a	0,8 b
60	2,1 c	1,9 c	1,1 a	0,9 b

* Médias dentro de parte aérea ou raiz, seguidas de mesma letra, não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

para as plantas do grupo N- NH_4 . Com exceção do nível de 20 ppm de P aplicado ao solo, as plantas do grupo N- NO_3 acumularam mais N nas raízes que as plantas do grupo N- NH_4 .

A Tabela 4, mostra as diferenças nos teores de P (% de matéria seca) entre plantas de vasos que receberam doses crescentes de P no solo. Não existem diferenças significativas dentro de cada grupo (N- NO_3 e N- NH_4). Nos níveis mais baixos de P aplicado ao solo (0-20 ppm), as plantas do grupo N- NO_3 acumularam mais P do que nos outros níveis. Na raiz, não se observam diferenças significativas para teores de P, tanto entre níveis de P como para fontes de N (NO_3 ou NH_4).

Não se observam, as variações no pH final do solo entre os grupos NO_3 e NH_4 que foram observadas por Fernandes & Rossiello (1978). Entretanto,

aqueles autores trabalharam com um tipo diferente de solo, cujas características não foram suficientes para mascarar a expressão desse parâmetro. Entretanto, o efeito diferencial das duas fontes de N pode ser observado no crescimento de raízes e parte aérea. Plantas que receberam N- NH_4 acumularam maior peso de matéria seca nas raízes do que na parte aérea, em toda a faixa de P aplicado ao solo neste experimento (Tabela 1 e Fig. 1).

O efeito negativo de doses baixas de P aplicado ao solo sobre o metabolismo das plantas é claramente indicado pela menor produção de peso na matéria seca e pelo maior acúmulo de N solúvel (Tabelas 1 e 2). Entretanto, quando se observam os teores de N total e P total, na parte aérea e nas raízes das plantas estudadas, observa-se, para o primeiro parâmetro (N), uma tendência inversa à

TABELA 4. Efeitos de doses crescentes de P aplicado ao solo, nos teores de P total da raiz e parte aérea de milho (*Zea mays*, L.), usando-se NO_3 ou NH_4 como fonte de N.

P aplicado ao solo (ppm)	P total em % do peso seco			
	Parte aérea		Raiz	
	NO_3	NH_4	NO_3	NH_4
0	0,46 a*	0,36 b	0,51 a	0,49 a
10	0,45 a	0,38 b	0,46 a	0,49 a
20	0,42 a	0,37 ab	0,45 a	0,48 a
40	0,38 a	0,35 ab	0,49 a	0,48 a
60	0,36 a	0,36 ab	0,45 a	0,48 a

* Médias dentro de parte aérea ou raiz, seguidas da mesma letra, não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

dos parâmetros anteriores (peso de matéria seca e N solúvel), enquanto que o segundo parâmetro (P) parece não ser afetado pelos teores de P aplicado ao solo (Tabelas 3 e 4). Estes resultados indicam que teores sub-ótimos de P no solo podem passar despercebidos se considerarmos apenas os níveis de P total nos tecidos de raízes e parte aérea, mas surgem claramente indicados, quando se consideram outros parâmetros (N-amino, N-NO_3), diretamente ligados ao metabolismo das plantas (Fernandes 1974, 1978).

A distribuição de P e N, na raiz e na parte aérea das plantas seguem tendências opostas. Na parte aérea, as plantas acumularam, em média, 38,6% do P-total, contra 61,4% nas raízes. Com o N total, observa-se uma tendência inversa: 66,82% do N total é acumulado na parte aérea, contra apenas 33,18% nas raízes. Como resultado, as relações "N:P" são 4,18 e 2,00, respectivamente, para a parte aérea e raiz das plantas estudadas. Estes resultados indicam que, entretanto, a maior parte do N absorvido é prontamente deslocado para a parte aérea, e a maior parte do P absorvido é retido no sistema radicular em expansão. Este último processo parece ser estimulado pela presença de N-NH_4 no solo.

O maior acúmulo de N-amino nas plantas que receberam N-NH_4 confirma resultados anteriores (Fernandes & Rossiello 1979). Entretanto, estes níveis de N-amino nos tecidos são muito inferiores às observadas por Fernandes (1974) para níveis semelhantes de N, em plantas cultivadas em solução nutritiva. Estes resultados e os de Fernandes &

Freire (1976) indicam que os efeitos de N-NH_4 aplicado ao solo são quantitativamente diferentes dos que se observam nas plantas cultivadas em solução nutritiva (Fernandes 1974; Bennet et al. 1964). Observa-se, entretanto, que o período de exposição das plantas a N-NH_4 , neste experimento, foi bem menor do que o usado por outros autores (Dibb & Welch 1976), quando uma redução no peso de plantas foi observada usando-se o NH_4 e um inibidor de nitrificação no solo.

Os resultados deste experimento estão de acordo com a observação de Fernandes (1978), segundo a qual a simples determinação de N total (N-Kjehldal) pode dar uma idéia errônea sobre o N-status de plantas. O teor de N solúvel passa despercebido, e a percentagem de N indica uma suficiência que não corresponde às condições reais de metabolismo. É interessante notar que também os teores de P total indicam suficiência deste elemento para todos os níveis de P aplicado ao solo, enquanto que o peso da matéria seca e o metabolismo de N mostram resposta significativa quando o P é aplicado na dose mais elevada neste experimento (60 ppm).

Os elevados teores de P nas raízes pode indicar, na fase de crescimento em que as plantas foram estudadas, que o sistema radicular constituiria maior estoque metabólico que a parte aérea. Isto parece ser particularmente verdadeiro para as plantas do grupo N-NH_4 . Neste grupo, o N-NH_4 absorvido é assimilado em forma orgânica ainda nas raízes (Fernandes 1978), e transportado para a parte aérea sob a forma de N-amino.

do e N-amino. O período relativamente curto deste experimento não permitiu observar se as relações "N:P", e "R:P" sofreriam posterior modificação com o desenvolvimento ontogenético.

CONCLUSÕES

1. Os teores de P e N como percentagem do peso de matéria seca não indicam corretamente o "status" nutricional das plantas.

2. Para os tratamentos com níveis mais baixos de P aplicados ao solo, os teores de P e N nas plantas podem ser considerados adequados. O que não é matéria seca total é acumulação de N solúvel.

3. O inibidor de nitrificação (N-SERVE) foi eficiente no bloqueio à nitrificação, no teor usado (20 ppm).

4. A manutenção do solo sob a forma de NH_4 aumentou a relação "raiz:parte aérea" nos níveis mais elevados de P aplicados ao solo, e aumentou o acúmulo de P no sistema radicular das plantas.

5. Não foi observada diminuição no índice de pH do solo, entre os tratamentos com N-NO_3 e N-NH_4 .

REFERÊNCIAS

- BENNET, W.F.; DEREK, J. & HANWAY, J.H. Effect of nitrate and ammonium on growth of corn in a nutrient solution and sand culture. *Agron. J.*, 56: 342-5, 1964.
- BOSWELL, F.C.; NELSON, L.R.; & BITZER, M.J. Nitrification inhibitor with fall-applied vs split nitrogen applications for winter wheat. *Agron. J.*, 68:737-40, 1976.
- DIBB, D.W. & WELCH, L.F. Corn growth affected by ammonium vs nitrate absorbed from soil. *Agron. J.*, 68:89-94, 1976.
- FERNANDES, M.S. Effects of light and temperature on the nitrogen metabolism of tropical rice. s.l. Michigan State University. 1974 n.p. Tese Doutorado.
- _____. Absorção e metabolismo de nitrogênio em plantas. Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 1978, 56 p. (Boletim Técnico, 1).
- _____. & FREYRE, L.R. Efeitos de nitrogênio nítrico aplicado ao solo na atividade de nitrato-redutase e na acumulação de N-solúvel em *Brachiaria* sp. *Turrialba*, 26(3):268-73, 1976.
- _____. & ROSSIELLO, R.O.P. Effects of NH_4^+ and a nitrification inhibitor on soil pH and phosphorus uptake by corn (*Zea mays* L.) *Cereal Res. Commun.*, 6(2):183-91, 1978.
- _____. Uso de NH_4 e de um inibidor de nitrificação na adubação nitrogenada do milho (*Zea mays* L) *Rev. Bras. Cien. Solo*. 1979. Prelo.
- JAYMAN, T.C.Z. & SIVASUBRAMANIAM, S. Release of bound iron and aluminum from soils by the root exudate of tea (*Camellia sinensis*) plants. *J. Sci., Fd. Agric.*, 26:1895-8, 1975.
- KEENEY, D.R. & BREMNER, J.M. Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Anal. Chim. Acta*, 32:485-95, 1965.
- LEECE, D.R. & SHORT, C.C.A. A routine procedure for the nutrient element analysis of peach leaves utilizing atomic absorption spectroscopy. s.l. New South Wales Dept. of Agr. Division of Scientific Services. Chemistry Branch, 1967. (Bulletin).
- NELSON, D.W. & SOMMERS, L.E. Determination of total nitrogen in plant material. *Agron. J.*, 65: 109-12, 1973.
- RADIN, I.W. & SELL, C.R. Growth of cotton plants on nitrate and ammonium. *Crop. Sci.*, 15:707-10, 1975.
- RAVEN, J.A. & SMITH, F.A. The regulation of intracellular pH as a fundamental biological process. In: ANDERSON, W.P. *Ion transport in plants*. Academic Press, 1973. p. 271-8
- YEMM, E.W. & COCKING, E.C. The determination of aminoacid with ninhydrin. *Analyst*, 80:209-13, 1955.