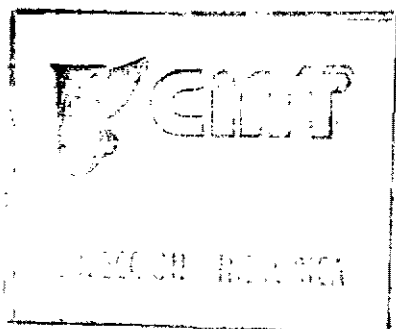


S
593
.M2



MANUAL DE ANALISIS DE SUELOS Y TEJIDO VEGETAL

Una guía teórica y práctica de metodologías

DOCUMENTO DE TRABAJO No. 129

Sheila J. McKean

Laboratorio de Servicios Analíticos

CIAT
UNIDAD DE INFORMACION Y
DOCUMENTACION

Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT

Agosto 1993

130562

12 MAR 1994

CONTENIDO

	<i><u>Página</u></i>
INTRODUCCION	1
INTRODUCCION AL ANALISIS DE SUELO	1
1. El Muestreo	2
2. La Preparación de la Muestra	2
3. El Análisis	3
4. La Interpretación de los Resultados	3
5. Correlación y Calibración	4
La Variabilidad en los Resultados	4
METODO 1 DETERMINACION DE pH	9
METODO 2 DETERMINACION DE LA HUMEDAD	13
METODO 3 ESTIMACION DE LA SALINIDAD DEL SUELO POR CONDUCTIVIDAD ELECTRICA	15
METODO 4 DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE CARBONATOS	19
METODO 5 DETERMINACION DE CARBON ORGANICO OXIDABLE EN SUELO (MATERIA ORGANICA)	21
METODO 6 DETERMINACION DE LOS CATIONES CAMBIABLES EN SUELOS NO CALCAREOS NI SALINOS (CIC)	25
A. Suelos con pH menor de 5.5	26
1. Calcio y Magnesio	26
2. Potasio	27
3. Acidez Intercambiable	28
4. Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva (CICE)	30
5. Porcentaje de Saturación de Aluminio	30
B. Suelos con pH mayor de 5.5	31
1. Calcio, Magnesio, Potasio y Sodio	31
2. Capacidad Intercambio Catiónico (CIC)	32
METODO 7 DETERMINACION DE FOSFORO EN SUELO	35
METODO 7A DETERMINACION DE FOSFORO EN SUELO POR EL METODO DE BRAY II	39
METODO 7B DETERMINACION DE FOSFORO EN SUELO POR EL METODO DE OLSEN	41

CONTENIDO (CONT).

	<u>Página</u>
METODO 8 DETERMINACION DE LOS MICRONUTRIENTES (Cu, Mn, Fe y Zn) EN SUELO	43
METODO 9 DETERMINACION DE AZUFRE EN SUELO	45
METODO 10 DETERMINACION DE BORO EN SUELO	49
METODO 11 DETERMINACION DE AMONIO Y NITRATO EN SUELO	53
A. Preparación del extracto	53
B. Soluciones patrones combinadas para Amonio y Nitrato	54
C. Determinación de Amonio	55
D. Determinación de Nitrato	57
METODO 12 DETERMINACION DE LA TEXTURA DEL SUELO POR EL METODO DE BOUYOUCOS	63
INTRODUCCION AL ANALISIS DE TEJIDO VEGETAL	69
1. El Muestreo	69
2. La Preparación de la Muestra	70
3. El Análisis	70
4. La Interpretación de los Resultados	70
La Variabilidad de los Resultados	72
METODO 13 DESCOMPOSICION DE TEJIDO VEGETAL	75
A. Digestión Ácida.	75
B. Calcínación.	76
METODO 14 DETERMINACION DE CALCIO, MAGNESIO, POTASIO Y SODIO EN TEJIDO VEGETAL	79
METODO 15 DETERMINACION DE LOS MICRONUTRIENTES (Cu, Mn, Fe y Zn) EN TEJIDO VEGETAL	81
METODO 16 DETERMINACION DE FOSFORO EN TEJIDO VEGETAL	83
METODO 17 DETERMINACION DE AZUFRE EN TEJIDO VEGETAL	85
METODO 18 DETERMINACION DE BORO EN TEJIDO VEGETAL	87
METODO 19 DETERMINACION DE ALUMINIO EN TEJIDO VEGETAL	89

CONTENIDO (CONT.)

Página

METODO 20	DETERMINACION DE CALCIO, MAGNESIO Y MICRO-NUTRIENTES (Cu, Mn, Fe y Zn) POR ABSORCION ATOMICA Y DE POTASIO Y SODIO POR EMISION EN EXTRACTOS DE SUELO Y EN DIGESTADOS DE TEJIDO	93
	A. Tejido.	94
	1. Calcio y Magnesio.	94
	2. Potasio.	95
	3. Sodio.	95
	4. Cobre, Manganeso, Hierro y Zinc.	95
	B. Suelos.	96
	1. Calcio y Magnesio.	96
	2. Potasio.	96
	3. Sodio.	96
	4. Cobre, Manganeso, Hierro y Zinc.	97
METODO 21	DETERMINACION DE NITROGENO POR EL METODO DE KJELDAHL	99

INTRODUCCION

Este documento fué elaborado con el propósito de ayudar a los científicos del CIAT en el entendimiento del análisis de suelos y de tejido vegetal, y para explicar la metodología que se emplea en el laboratorio de servicios analíticos (LSA) del CIAT, actualmente.

Las determinaciones están presentadas con detalles suficientes para ejecutar cada una. Cada método tiene la metodología, una introducción, comentarios y referencias necesarias para entender el procedimiento.

El documento contiene, además, Información general sobre el muestreo, la preparación de la muestra y la interpretación de los resultados.

Notas:

- *Todos los reactivos deben ser de grado reactivo (GR).*
- *El agua debe ser destilada o deionizada.*
- *En todas las determinaciones diarias siempre se llevan al menos tres patrones del LSA. Estos patrones vienen al inicio de las muestras y las muestras mismas se duplican la primera y la última de cada serie. Para este control de precisión y exactitud se usan muestras de suelo patrón de Quilichao, CIAT y Carimagua, y de tejido de frijol y yuca.*
- *En cada método es buena práctica incluir unos blancos que contiene todos los reactivos menos la muestra.*

AGRADECIMIENTOS

Al personal del LSA:

Armando García Bonilla, Gustavo Burbano, Ormandis Fernández, Rafael Fernández, Nancy García, Benigno Hernández, María Nibia Serna López, Fernando Toro Martínez, Octavio Mosquera, José Durfay Pacheco C., Rubiela Ruiz C., Margarita Téllez Sandino y Gonzalo A. Borrero Tamayo.

Los Drs. D. Friessen, I. Rao, D.M. Robison, J.I. Sanz.

En particular quisiera agradecer a Yúviza Barona y Gonzalo Borrero T., que sin sus esfuerzos no habría completado este trabajo.

INTRODUCCION AL ANALISIS DE SUELO

Los objetivos de un análisis de suelo son los siguientes:

1. Diagnosticar una deficiencia o toxicidad de un elemento en el suelo
2. Hacer una recomendación para la fertilización futura del suelo
3. Determinar condiciones químicas o físicas
4. Clasificar el suelo

El énfasis en el análisis de un suelo radica en la importancia de conocer su capacidad como medio para el desarrollo de las plantas. Sin embargo, existen otros factores que pueden influir en el crecimiento del cultivo, por ejemplo, el clima, la microbiología del suelo y propiedades físicas del suelo.

Un análisis del contenido total de algunos elementos en el suelo es útil para la clasificación del suelo, pero el contenido total no indica la disponibilidad del elemento para la planta. Más importante en este sentido, es una estimación del contenido de los elementos en el suelo que la planta puede aprovechar. Muchas veces se analiza una fracción del elemento en el suelo, por ejemplo, la fracción soluble, la fracción cambiable o la fracción fijada en el suelo. Los elementos extraídos del suelo en un análisis químico son llamados "nutrientes disponibles" y son importantes para indicar la fertilidad del suelo. Estos "nutrientes disponibles" son aquellos que la planta utiliza para el crecimiento. Hay varios métodos para evaluar la fertilidad de un suelo (Peck y Soltanpour, 1990):

1. Ensayos en el campo
2. Ensayos en el invernadero
3. Síntomas del cultivo
4. Análisis de la planta
5. Análisis de la savia de la planta
6. Ensayos biológicos
7. Análisis del suelo

Los ensayos en el campo o en el invernadero son costosos y toman mucho tiempo. El análisis de la planta es una autopsia y cuando hayan síntomas en el cultivo, generalmente ya es muy tarde para arreglar la fertilidad del suelo. Un análisis del suelo puede ser rápido e indicar fácilmente la fertilidad.

El análisis de un suelo tiene varias etapas:

1. El muestreo
2. La preparación de la muestra
3. El análisis químico/físico
4. La interpretación de los resultados
5. Correlación y calibración

Las generalidades de cada etapa son descritos en las siguientes secciones.

1. El Muestreo

Lo más importante del muestreo es que las muestras de suelo deben representar la fertilidad del campo. Los resultados pueden variar pero esta variación debe reflejar la verdadera variación en el campo y no el error de laboratorio. El valor del análisis depende mucho en un muestreo eficaz.

La variabilidad que se encuentra en el campo no es solo vertical sino también horizontal y puede ser natural o inducida. No se puede analizar todo el campo, entonces se ha desarrollado varios procedimientos para recoger muestras representativas de esta variabilidad (James y Wells, 1990; Cenlcafe, 1985). El método de muestreo no debe afectar los resultados si se hace bien. El método más común es el de la muestra compuesta. Se toman unos núcleos seleccionados al azar sobre un área dentro del campo. Se combina estos núcleos para obtener una muestra compuesta mucho más representativa del promedio de lo que existe en el campo.

El número de núcleos debe estar entre 15 y 40 (Etchevers, 1986). Un incremento del número de núcleos aumenta la precisión y la exactitud pero no en una forma lineal. Normalmente, se toma las muestras a la profundidad de la zona de las raíces o de la capa arable, usando un barreno o un tubo después de quitar la hojarasca. Se mezclan todos los núcleos y se manda toda la muestra compuesta, o una parte, al laboratorio. Todo el equipo de muestreo debe estar limpio y libre de contaminación. Es mejor evitar guardar las muestras húmedas por mucho tiempo. Se pueden guardar a 4°C antes de llevarlas al laboratorio.

El muestreo debe tener en cuenta:

1. La profundidad del muestreo.
2. El número de muestras en el compuesto.
3. El tamaño del área para muestrear.
4. La influencia del cultivo.
5. La estación.
6. La frecuencia de muestreo.

2. La Preparación de la Muestra

Antes de llevar las muestras de suelo al laboratorio es muy importante identificarlas bien. Generalmente para preparar el suelo, se seca al aire y se pasa por un tamiz de 2 mm (Malla # 10). Este tratamiento de las muestras de suelo está estandarizado y permite una comparación entre laboratorios y también facilita el manejo de la muestra dentro del laboratorio. A veces se pone la muestra en un horno para secarla más rápido. Las temperaturas no deben ser muy elevadas porque esto puede cambiar algunas propiedades del suelo. Una temperatura entre 35 y 50°C es recomendada (James y Wells, 1990). El proceso de secar el suelo puede causar cambios en las características químicas y físicas del suelo (Hesse, 1971).

Introducción al Análisis de Suelo

Después de secar y tamizar, la muestra se almacena en un recipiente limpio hasta el análisis.

La preparación de la muestra implica:

1. Identificar la muestra
2. Secarla al aire o en un horno
3. Tamizarla
4. Guardarla en un recipiente hasta el análisis

3. El Análisis

El objetivo de un método de análisis químico de suelo es simular la actividad de las raíces de la planta por medio de una extracción química. La simulación no es perfecta, debido a que cada planta difiere en su habilidad de extraer nutrientes del suelo. La extracción química extrae los nutrientes rápidamente y muchas veces en forma destructiva mientras que el cultivo, por medio de las raíces, extrae los nutrientes del suelo durante todo su crecimiento.

Idealmente el método debe extraer nutrientes del suelo en forma semejante a la planta y mostrar una diferencia entre un nivel tóxico del elemento y un nivel deficiente en el suelo. Existen muchos conceptos equivocados respecto a la interpretación de los resultados de un análisis.

El método solo puede dar una aproximación de los nutrientes disponibles en el suelo. Los resultados dependen mucho del tipo de suelo y del cultivo.

Los métodos deben ser aplicables al uso eventual de los resultados y ser apropiados al tipo de suelo. Desafortunadamente, todavía no hay un método universal para todo tipo de suelo.

El procedimiento para desarrollar un método es:

1. Escoger el extractante (agua, resina, ácido, etc), teniendo en cuenta el tipo de suelo y el propósito del experimento.
2. Correlacionar la cantidad del nutriente extraído del suelo en el análisis con la cantidad extraída por la planta.
3. Calibrar los resultados con el crecimiento del cultivo.

4. La Interpretación de los Resultados

La interpretación de los resultados de un análisis de suelo depende de correlaciones y calibraciones anteriores. Una interpretación no puede ser más exacta que la correlación.

Las diferencias en metodología y en la expresión de los resultados crean más confusión en la interpretación. Existen varios proyectos que se llaman 'Programas de

Intercambio' que tratan de estandarizar los métodos y crear muestras de referencias. Esto ayudaría a la interpretación de los resultados y a la comparación entre laboratorios.

Aunque es aconsejable tener datos de correlación y calibración para una buena interpretación, es posible hacer unas generalizaciones sobre los análisis de suelos. La Tabla 1a. muestra un resumen de algunos de los análisis empleados en el LSA y los rangos de nutrientes normalmente encontrados en el suelo y su interpretación. La Tabla 1b muestra una estimación de los niveles de nutrientes necesarios en el suelo para un crecimiento óptimo de algunos cultivos del CIAT.

5. Correlación y Calibración

La correlación de un análisis es la determinación de la relación que existe entre la cantidad de nutriente aprovechado por la planta y la cantidad extraída por el método (Corey, 1987).

La calibración de un análisis es el procedimiento de dar sentido a los resultados en términos de la respuesta del cultivo.

A veces el método no mide la forma disponible del nutriente en el suelo y resulta en una correlación baja. Para obtener datos para calibrar un método, el extractante tiene que extraer una cantidad del nutriente la cual es proporcional a la cantidad que extrae la planta. Los resultados solo tienen sentido en cuanto estén relacionados con la respuesta del cultivo.

El tipo de suelo y el cultivo son importantes en estudios de correlación y calibración. Un método puede ser adecuado para un suelo y un cultivo pero no adecuado en otra situación.

Debido a que no todos los métodos miden la forma disponible del nutriente, se presentan errores en las correlaciones y no en el procedimiento mismo.

La Variabilidad en los Resultados.

En el camino desde el campo hasta el laboratorio existen muchas fuentes de error. La variabilidad más grande se encuentra en la misma muestra. Los otros errores ocurren en el muestreo y submuestreo, en el análisis y en los instrumentos. Algunas propiedades tienen menos variaciones que otras.

Las variaciones que se encuentran en el análisis no son siempre errores en el método sino son variaciones verdaderas de la muestra.

TABLA 1a. Los rangos y la clasificación de los niveles de nutrientes encontrados en algunos análisis de suelo.*

		ALTO	MEDIO	BAJO
Ca : Mg		> 5:1	4:1	< 3:1
K : Mg			2:1	
Sat Al	%	> 85	30-85	< 30
CIC	meq/100g	25-40	15-25	5-15
Ca	meq/100g	> 10		< 4
Mg	meq/100g	> 4		< 0.5
K	meq/100g	> 0.6		< 0.2
Na	meq/100g	> 1		
pH		7.0-8.5	5.5-7.0	< 5.5
S	ug/g		6.0-12	
B	ug/g		1.5-3.0	
PBray II	ug/g	> 50	15-50	< 15
P Olsen	ug/g	> 15	5-15	< 5
C Orgánico	%	> 10	4-10	< 4
N	%	> 0.5	0.2-0.5	< 0.2

Landon (1984).

*Estas concentraciones solo pueden servir como una guía en la interpretación de los resultados del análisis de suelo.

TABLA 1b. Una estimación de los niveles de nutrientes necesarios en el suelo para un crecimiento óptimo de los cultivos del CIAT.*

		CULTIVO			
		FRIJOL	YUCA	PASTOS	LEGUMINOSAS FORRAJERAS
Ca	meq/100g	4.5	-	0.4-1.5	0.5
Mg	meq/100g	-	-	0.2-0.8	0.2
K	meq/100g	0.15	0.15	0.20	0.2
Al Sat	%	10	70	30-60	-
P Bray II	ug/g ¹	15	10	2-5	2-5
P Olsen	ug/g ¹	14	8	8	-
Cu	ug/g ¹	-	-	0.5-1.0	1.0
Mn	ug/g ¹	5-9	5-7	10-15	-
Zn	ug/g ¹	0.8	1.0	0.5-10	1.5
S	ug/g ¹	-	-	10-15	10
B	ug/g ¹	0.5	0.5	0.3-0.5	0.1

Fuente: Howeler (1983), Sanz Scovino (pc), CIAT informes anuales.

*Dependiendo del suelo y la especie se puede tener buen crecimiento con niveles más altos y bajos que éstos.

Introducción al Análisis de Suelo

La confianza de un método depende de:

1. El muestreo y la preparación de la muestra.
2. La especificidad del análisis.
3. La exactitud del análisis.
4. La precisión del análisis.
5. La sensibilidad del instrumento.

El muestreo puede introducir los más grandes errores si no se hace bien. Es muy importante la preparación cuidadosa de la muestra.

La especificidad es afectada por la presencia de interferencias en el análisis. Estas interferencias pueden causar un aparente incremento en la cantidad del elemento de interés.

La exactitud se define como el punto en que una estimación promedia llega a la estimación verdadera. La exactitud es la comparación con un estándar absoluto. En muchos casos en el análisis de suelo no hay estándares absolutos. Diferentes métodos pueden dar resultados distintos en la misma muestra. Todos pueden ser precisos pero no podemos decir cuáles son exactos. Un método puede dar resultados con más exactitud bajo algunas circunstancias pero no bajo otras. Por esta razón, el método utilizado debe ser anotado y los resultados solo pueden ser comparados con otros resultados del mismo método.

La precisión se define como el punto en que un método da una medida verdadera. La desviación estándar da la precisión. Las repeticiones pueden aumentar la precisión pero no la exactitud. Si se repite un análisis y da el mismo resultado, hay alta precisión.

La sensibilidad depende del instrumento y la cantidad del elemento presente en la muestra.

Cada método debe tener una desviación estándar o error estándar acompañando los resultados. Algunos métodos tienen una desviación estándar más grande que otros debido al procedimiento del método.

Para mejorar la confianza en los resultados debe implementarse:

1. Una manera uniforme para reportar los resultados.
2. Mejorar la técnica del muestreo.
3. Mejorar los análisis y la conveniencia de los métodos a la circunstancia.
4. Mejorar la correlación y calibración para ayudar la interpretación de los resultados.

Resumen

Un conocimiento de las posibilidades y las limitaciones de un método y los factores que pueden afectar la calidad de los resultados ayuda en la interpretación del análisis del suelo.

Bibliografía

- Corey, R.B.** 1987. Soil Test Procedures: Correlation. Capítulo 2 en Soil Testing: Sampling, Correlation, Calibration and Interpretation. J.R. Brown (ed). SSSA Special Publication No. 21.
- Cenicafe,** 1985. Manual de laboratorio de suelos. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.
- Etchevers, J.D.** 1986. Chemical soil analyses and the reasons for their drawbacks. En Proceedings of an International Workshop on Laboratory Methods and the Data Exchange Programme. L.K. Pleijster (ed.). 25-29 agosto, 1986. Wageningen, Holanda.
- Hesse, P.R.** 1971. A Textbook of Soil Chemical Analysis.
- Howeler, R.H.** 1983. Análisis del Tejido Vegetal en el Diagnóstico de Problemas Nutricionales. Algunos Cultivos Tropicales. CIAT, Cali, Colombia.
- James, D.W. y Wells, K.L.** 1990. Soil Sample Collection and Handling: Technique Based on Source and Degree of Field Variability. Capítulo 3 en Soil Testing and Plant Analysis. R.L. Westman (ed.). SSSA. 3rd Edition.
- Landon, J.R.** (ed.). 1984. Booker Tropical Soil Manual. A handbook for soil survey and agricultural land evaluation in the tropics and subtropics. Longman.
- Peck, J.R. y Soltanpour, P.N.** 1990. The Principles of Soil Testing. Capítulo 1 en Soil Testing and Plant Analysis. R.L. Westman (ed.). SSSA. 3rd Edition.
- Sanz Scovino, J.I. (pc).** Soil Scientist, Programa de Sabanas, CIAT.

METODO 1

DETERMINACION DE pH

Principio

La determinación de pH está basada en la medida de la actividad de hidrógeno ionizado (H^+) en la solución del suelo. El pH es definido como el logaritmo negativo, en base 10, de la actividad del H^+ o el logaritmo del recíproco de la actividad del H^+ :

$$pH = -\log_{10} [H^+] = \log_{10} 1/[H^+]$$

Puesto que el pH es logarítmico, es importante tener en mente que la concentración del H^+ aumenta diez veces cuando el pH disminuye en una unidad. Una descripción más detallada sobre el acidez y la alcalinidad del suelo se puede encontrar en Rowell (1988).

Introducción

El pH del suelo es uno de los parámetros que mejor refleja las propiedades químicas de cualquier suelo. El pH es un factor que determina la disponibilidad de muchos de los elementos necesarios para el crecimiento de las plantas (Tabla 2). Aunque no sea posible deducir la acidez total del suelo midiendo el pH, según Thomas (1957) hay tres rangos de pH que son muy informativos sobre la química del suelo :

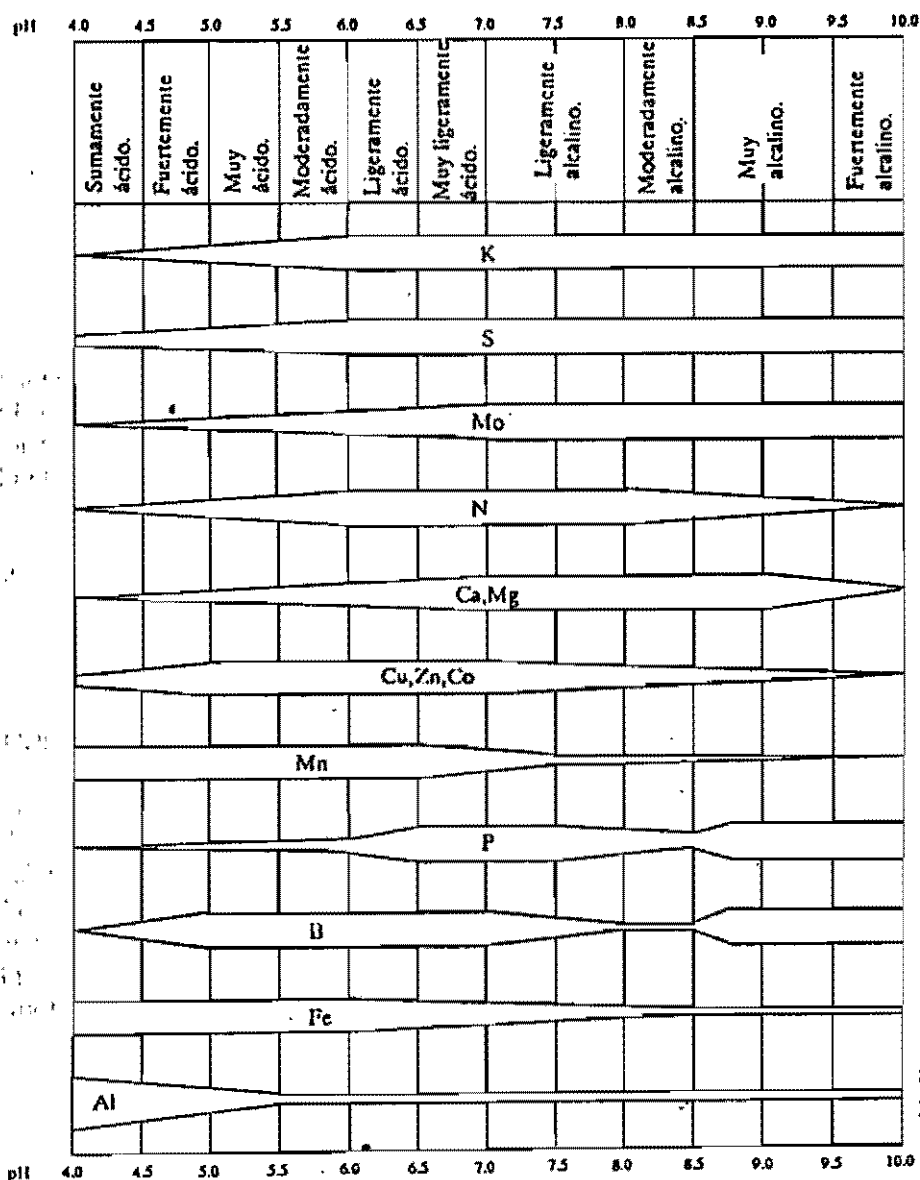
Un pH < 4 indica la presencia de ácidos libres, generalmente resultantes de la oxidación de sulfuro.

Un pH < 5.5 indica la presencia de aluminio intercambiable.

Un pH entre 7.8 y 8.2 indica con frecuencia la presencia de alto contenido de $CaCO_3$.

Se puede medir el pH del suelo colorimétricamente utilizando soluciones Indicadores como el azul de bromothymol o utilizando Indicadores de papel como el papel de litmus. La manera más precisa para medirlo es por potenciometría. El potenciómetro (pH metro) utiliza un electrodo de vidrio que es sensible a H^+ y un electrodo de referencia que es normalmente Calomel. Debido a que el pH es sensible a la temperatura, muchas veces el potenciómetro viene con compensación interna a la temperatura. Con soluciones amortiguadas de pH conocido, el pH metro puede ser estandarizado. Se presenta el suelo al pH metro en forma de suspensión, la más común es 1:1 (suelo:solución).

TABLA 2. Disponibilidad de los nutrientes en el suelo según el pH.



NOTAS:

Deficiencias posibles a pH bajo.

Reducción a pH bajo, pero las bacterias sulfúricas aún activas.

Similar al K.

Fijación bacterial reducida a pH < 5.5.

Pueden ser deficientes en suelos ácidos. No disponibles a pH muy alto.

Pueden ser tóxicos en suelos ácidos, deficientes a pH > 7.

Similar a Cu, Zn y Co.

Posible fijación por Fe, Al y Mn a pH bajo. Formas insolubles a pH alto; también inhibición por Ca.

El sobreenfameamiento puede causar deficiencia. Peligro de toxicidad a pH muy alto.

Similar a Cu, Zn y Co.

Se recomienda encalar hasta pH 5.5 para evitar peligro de toxicidad a bajo pH.

METODO 2

DETERMINACION DE LA HUMEDAD (%)

Principio

Se seca el suelo en un horno a una temperatura de 105°C. Se asume que el peso que se pierde es debido al agua en el suelo (vea los comentarios).

Introducción

Normalmente se analizan los suelos después de que hayan sido secados al aire. Muchas veces se reportan los resultados basados en el suelo secado a 105°C. Esto facilita la comparación de resultados de suelos secados al aire a temperaturas diferentes que hayan sido obtenidos en épocas diferentes o de varios laboratorios. Cuando se conoce la humedad de un suelo, se puede calcular el peso del suelo secado a 105 °C del secado al aire y usar un factor de conversión para obtener todos los resultados basados en el suelo secado a 105 °C.

Procedimiento

1. Pese un crisol (X.0000 g)
2. Pese en el crisol 10.0000 g de suelo secado al aire.
3. Ponga el crisol en el horno a una temperatura de 105°C por 24 horas.
4. Deje enfriar en un desecador y pese de nuevo.
5. Por convención se calcula la humedad en base del suelo seco a 105°C :

$$\text{Humedad \%} = \frac{\text{suelo seco al aire (g)} - \text{suelo seco al } 105^{\circ}\text{C}}{\text{suelo seco a } 105^{\circ}\text{C}} * 100$$

6. Para convertir los resultados a suelo secado al 105 °C, se usa el factor de conversión (FC):

$$\text{FC} = \frac{\text{suelo seco al aire}}{\text{suelo seco a } 105^{\circ}\text{C}}$$

Comentarios

1. A veces el suelo también pierde materia orgánica a esta temperatura.

METODO 3

ESTIMACION DE LA SALINIDAD DEL SUELO POR CONDUCTIVIDAD ELECTRICA

Principio

Se puede estimar la salinidad del suelo midiendo la conductividad eléctrica del extracto del suelo. La salinidad es determinada por convención en extractos acuosos de una pasta saturada de suelo (US Salinity Laboratory Staff, 1954).

Introducción

La facilidad con que la planta puede aprovechar el agua en el suelo depende no solamente del contenido de agua en el suelo, sino también de la concentración de sales disueltas en la solución del suelo. La presión osmótica de la solución aumenta con un incremento del contenido de sales e incrementa la dificultad que tiene la planta para aprovechar el agua. La tolerancia de los cultivos a la salinidad está relacionada con la conductividad eléctrica del extracto saturado del suelo. Encontrará una descripción general de los suelos salinos en Nortcliff (1988). Algunos análisis particulares de tales suelos en Colombia están descritos en el libro del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (1973). Con el presente método se puede estimar la salinidad del suelo.

Reactivos

1. Cloruro de potasio 0.02 M (KCl).
Disuelva 1.491 g de KCl en agua y lleve a un volumen de 1 l. La conductividad del 0.02 M KCL a 25°C es 2.768 mmhos cm^{-1} (2.768 dS m^{-1}).

Procedimiento

1. Pese aproximadamente de 100 a 200 g de suelo en un vaso de 600 ml.
2. Agregue agua poco a poco mezclando con una espátula hasta obtener la pasta saturada (vea los comentarios).
3. Deje en reposo por 4 horas y compruebe el punto de saturación.
4. Transfiera la muestra a un embudo Buchner con papel filtro y aplique al vacío. La extracción al vacío termina cuando el aire comienza a pasar a través del filtro.
5. Lea la conductividad del extracto en el conductómetro usando el KCl para calibrar el metro.
6. Los resultados se expresan en mmhos cm^{-1} o dS m^{-1} .

Análisis de Suelo. Estimación de la Salinidad del Suelo por Conductividad Eléctrica.

Comentarios

1. Suelos orgánicos a veces precisan ser dejados en reposo una noche. Suelos arcillosos necesitan mezclarse muy poco.
2. El contenido de agua debe estar al punto de saturación. Los criterios para saturación son los siguientes : La muestra brilla al reflejar la luz, fluye con facilidad cuando se inclina el vaso y no debe haber exceso de agua en la superficie.
3. La conductividad aumenta con la temperatura.
4. Rhoades (1982) tiene una descripción del análisis del extracto de suelo para los sales solubles.
5. Una conductividad de más de 4 mmhos cm^{-1} (4 dS m^{-1}) indica un suelo salino. La tabla 3 muestra unos valores indicativos de suelos salinos y alcalinos.

TABLA 3. La clasificación por USDA de suelos afectados por sales. (Landon, 1984).

SUELO	CONDUCTIVIDAD ELECTRICA (dS m^{-1})	*PSI	pH
Salino	>4	<15	<8.5
Salino-alcalino	>4	>15	<8.5
Alcalino	<4	>15	>8.5

*PSI = el porcentaje de sodio Intercambiable. Esta es una medida del porcentaje de la capacidad catiónica Intercambiable que está ocupada por iones de sodio.

Bibliografía

- Instituto Geográfico Agustín Codazzi. 1973. Métodos analíticos de laboratorio de suelos. Tercera edición. Bogotá
- Landon, J.R.(ed) 1984. Booker Tropical Soil Manual. A handbook for soil survey and agricultural land evaluation in the tropics and subtropics. Longman.
- Nortcliff, S. 1988. Soil formation and characteristics of soil profiles. Capítulo 5 en Russell's Soil Conditions and Plant Growth. 11th edition. A. Wild (ed).

Análisis de Suelo. Estimación de la Salinidad del Suelo por Conductividad Eléctrica.

Rhoades, J.D. 1982. Soluble salts. Capítulo 10 en *Methods of Soil Analysis. Part 2 Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy No. 9. 2nd edition ASA SSSA. A.L. Page, R.H. Miller y D.R. Keeney (eds).

US Salinity Laboratory Staff, 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. Agric. Handbook No. 60. USDA.

METODO 4

DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE CARBONATOS

Principio

Usando ácido clorhídrico se puede hacer una prueba rápida para determinar la ausencia o presencia de carbonatos en el suelo. El ácido causa efervescencia debido al desprendimiento de CO_2 que indica la presencia de carbonatos libres.

Introducción

Las formas más comunes de carbonatos en el suelo son los carbonatos de calcio, como calcita. Esta prueba por lo tanto indica si el suelo es calcareo o no calcareo. Si el suelo es sódico, la forma más común sería carbonato de sodio.

Reactivos

1. Acido clorhídrico concentrado (HCl 36%).

Procedimiento

1. Agregue unas gotas del HCl al suelo seco.
2. Si hay efervescencia el suelo es calcareo.

METODO 5

DETERMINACION DE CARBONO ORGANICO OXIDABLE EN SUELO (MATERIA ORGANICA)

Principio

No existe un método de rutina con el cual se puede determinar la materia orgánica (MO) en el suelo de una manera satisfactoria. Por esa razón normalmente se estima indirectamente utilizando la medida del contenido del carbono orgánico (CO) en el suelo. Se usa un procedimiento modificado de Walkley y Black (1934), que está basado en una oxidación húmeda, para determinar el contenido de CO en el suelo. Se oxida la muestra en una solución de dicromato de potasio, utilizando el calor producido por la dilución de ácido sulfúrico concentrado :



* Se asume que el carbono tiene una valencia de 0.

El ácido crómico producido se puede medir colorimétricamente a una longitud de onda de 620 nm.

Introducción

La MO del suelo es definida como la fracción del suelo que incluye los residuos de plantas y animales, macro como microbióticos en todas las etapas de descomposición, incluyendo el humus del suelo que es bastante resistente (SSSA, 1979). La MO influye mucho en las propiedades químicas y físicas del suelo, por lo tanto, es importante tener una idea del contenido de MO en el suelo. Se puede encontrar una descripción concisa de la MO en Buckman y Brady (1977) y una más detallada en el libro de Kononova (1966).

Es difícil cuantificar precisamente la cantidad de MO en el suelo, pero se puede medir el contenido de CO y estimar la MO usando un factor de conversión basado en el porcentaje de CO en la MO. Se asume que la MO contiene 58% de CO y se usa el factor de Van Bemmelen de 1.72 para estimar la MO. En realidad, este factor es muy variable entre diferentes suelos, por tanto se recomienda trabajar con el valor de CO y no con MO.

Se puede medir el CO de tres maneras :

1. Por la diferencia entre C total y C Inorgánico.
2. Midiendo el C total después de que se elimine el C Inorgánico.
3. Por oxidación con dicromato.

Análisis de Suelo. Determinación de Carbón Orgánico Oxidable en Suelo (MO).

Los métodos para medir el C total en suelos como el de Allison (1960) de combustión húmeda, o el basado en combustión seca (Carr, 1973), son generalmente muy precisos, pero demasiado lentos o costosos para el análisis de rutina. Los métodos de oxidación con dicromato han sido muy populares debido a que son muy sencillos, rápidos y necesitan poco equipo.

El método que más se usa es el de Walkley y Black (1934). La oxidación no es completa y Walkley y Black estimaron que un promedio de 76% se oxida y sugirieron un factor de conversión de 1.32 para calcular el contenido de CO en el suelo. Meblus (1960) modificó el método introduciendo una fuente de calor externa y de ese modo producir una oxidación completa. Para que el método quede sencillo se recomienda reportar los resultados como CO oxidable. De esa manera no tiene que usarse el factor de conversión al CO total.

Después de la oxidación se puede determinar el CO por:

1. Titulación usando indicadores de color. El dicromato no utilizado en la oxidación del CO se determina mediante titulación con sulfato ferroso amónico. El método está escrito en el libro de Salinas y García (1985).
2. Titulación potenciométrica (Raveh y Avnimelech, 1972).
3. Colorimetría. El ácido crómico producido durante la oxidación se puede leer a 620 nm usando patrones de sacarosa (Cenicafé, 1985; Sims y Haby, 1971).

El último es el más preciso y usa menos reactivos que los otros dos métodos.

Reactivos

1. Acido sulfúrico. Grado analítico 96 % (H_2SO_4). Se necesita 20 ml de ácido por cada muestra y estándar.
2. Dicromato de potasio 0.17 M ($K_2Cr_2O_7$).
Pese 50 g y disuelva en agua. Lleve a volumen de 1 l. Se necesita 10 ml de esta solución por cada muestra y estándar.
3. Solución Patrón.
Sacarosa. Grado analítico ($C_{12}H_{22}O_{11}$).
Seque la sacarosa en el horno a una temperatura de 105°C durante dos horas y deje enfriar. Pese 29.69 g de sacarosa, disuelva en agua y lleve a 250 ml. Esta solución contiene 50 mg C ml⁻¹. Guarde esta solución patrón en la nevera.
4. Soluciones patrones de trabajo.
Tome de la solución patrón, alícuotas de 2, 5, 10, 15, 20, 25 ml y lleve con agua a volumen en balones de 100 ml. Las soluciones contienen 1, 2.5, 5, 7.5, 10 y 12.5 mg C ml⁻¹ respectivamente.
Coloque 2 ml de cada una de las soluciones preparadas en un erlenmeyer de 250 ml. Seque completamente en el horno a una temperatura de 105°C y deje enfriar. En esta manera cada uno contiene 2, 5, 10, 15, 20, 25 mg de C.

Análisis de Suelo. Determinación de Carbón Orgánico Oxidable en Suelo (MO).

Procedimiento

1. Pese en un erlenmeyer de 250 ml, 0.5000 g de suelo seco.
Si el suelo es negro y contiene raíces pese menos (0.2500 a 0.1250 g).
2. Con una repipeta agregue 10 ml de dicromato de potasio 0.17 M a las muestras de suelo y a los estándares y agite bien.
3. Con una repipeta agregue 20 ml de H_2SO_4 a las muestra y los patrones de trabajo, agite por espacio de un minuto. Deje en reposo por media hora para enfriar.
4. Agregue con una repipeta, 100 ml de agua, agite bien las muestras y los patrones, deje en reposo durante la noche para asentar.
5. Trasvase la solución sobrenadante a tubos de ensayo teniendo cuidado de no mezclarla.
6. Usando los patrones calibre el espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm en concentración o absorbancia.
7. Lea las muestras y calcule la concentración de carbón oxidable (CO) en mg.

Cálculos

El contenido de carbono orgánico oxidable en las muestras se registra en porcentaje de la siguiente manera :

$$\% \text{ CO Oxid.} = \frac{\text{mg C}}{\text{g muestra}} * \frac{1}{10}$$

Comentarios

1. Debido a que la oxidación no es completa, multiplique el resultado por el factor de 1.32 para tener el porcentaje de CO total.
2. Si quiere convertir al porcentaje de MO multiplique primero por el factor de 1.32 y después por el de 1.72.
3. Davis (1974) explicó un método sencillo para estimar la MO utilizando una combustión de alta temperatura basada en la pérdida de peso de la muestra.
4. Suelos con altos contenidos de Mn^{2+} , Fe^{2+} y Cl darán resultados demasiado altos.
5. Mejores resultados pueden ser obtenidos usando suelo finamente molido (0.25 mm).

Bibliografía

- Allison, L.E. 1960. Wet combustion apparatus and procedure for organic and organic carbon in soil. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 24 36-40.
- Buckman, H.O. y Brady, N.C. 1977. La materia orgánica de los suelos minerales. Capítulo 6 en Naturaleza y Propiedades de los Suelos.

Análisis de Suelo. Determinación de Carbón Orgánico Oxidable en Suelo (MO).

- Carr, C.E.** 1973. Gravimetric determination of soil carbon using the LECO induction furnace. J. Sci. Food and Agric. 24 1091-1095.
- Cenicafe,** 1985. Manual de Laboratorio de Suelos.
- Davis, B.E.** 1974. Loss on ignition as an estimate of soil organic matter. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 38 150-151.
- Kononova, M.M.** 1966. Soil Organic Matter. 2nd English Ed. Pergamon Press.
- Mebius, L.J.** 1960. A rapid method for the determination of organic carbon in soils. Anal. Chim. Acta. 22 120-124.
- Raveh, A. y Avnimelech, Y.** 1972. Potentiometric determination of soil organic matter. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 36 967.
- Salinas, J.G. y Garcia, R.** 1985. Métodos Químicos para Análisis de suelos Ácidos y Plantas Forrajeras. CIAT, Cali, Colombia.
- Sims, J.R. y Haby, V.A.** 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. Soil Sci. 112 137-141.
- SSSA,** 1979. Soil Sci. Soc. Am. Glossary of Soil Science Terms.
- Walkley, A. y Black, I.A.** 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37 29-38.

METODO 6

DETERMINACION DE LOS CATIONES CAMBIABLES EN SUELOS NO CALCAREOS NI SALINOS (CIC).

Introducción

Los cationes intercambiables son los que se pueden cambiar por los cationes de una solución salina (por ejemplo KCl) cuando se le agrega al suelo. Los cationes intercambiables incluyen Ca, Mg, K, Na (los cationes básicos) y en los suelos ácidos también incluyen Al y H (la acidez intercambiable). La concentración de cada catión intercambiable es una indicación de la fertilidad del suelo y muestra el balance de los cationes en el suelo el cual es muy importante en la nutrición de las plantas. A veces la medición de cada catión es mucho más válida para indicar la fertilidad del suelo que la medición de la capacidad de intercambio catiónico (CIC). Sin embargo, la CIC se evalúa para valorar la fertilidad potencial del suelo. La CIC es una medida de la cantidad de cationes intercambiables los cuales están neutralizando la carga negativa del suelo.

La CIC no es una propiedad fija; varía con las condiciones en que se mida. Generalmente, la CIC se estima de la cantidad de cationes adsorbidos por el suelo de una solución amortiguada como el acetato de amonio a pH 7. En suelos alcalinos esto refleja en forma adecuada la CIC. En suelos ácidos (pH < 5.5) con carga variable, un incremento del pH aumenta la CIC y este método sobreestima la CIC. También, en suelos calcáreos o salinos, la disolución de carbonato de calcio presente en el suelo, puede causar una subestimación de la CIC. Por esas razones, normalmente se usa diferentes métodos para analizar los suelos ácidos, suelos alcalinos y suelos calcáreos. En suelos ácidos con carga variable, los cationes intercambiables son desplazados por una sal, no amortiguada, como el cloruro de potasio y la suma de estos cationes se refiere como la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE). Para el análisis de suelos calcáreos que no se describe aquí, se recomienda el método de Plemlo y Rhoades (1977).

A. SUELOS CON pH MENOR DE 5.5.

1. Calcio y Magnesio.

Principio

En suelos ácidos con carga variable, los cationes intercambiables calcio y magnesio se desplazan con una solución no amortiguada de cloruro de potasio (1 M). Se mide la concentración de cada catión en el extracto por absorción atómica.

Introducción

El calcio y el magnesio existen en la solución del suelo, fijados en el complejo intercambiable y en algunos minerales. La forma intercambiable es la más importante para la planta. Normalmente el calcio es el ion más abundante en el suelo pero en los suelos ácidos se lixivia y el aluminio lo reemplaza. Las propiedades del suelo que más afectan la disponibilidad del calcio para la planta son el material parental, el pH, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y la relación entre el calcio y los otros cationes. La disponibilidad del magnesio también es afectada por la textura del suelo. Una relación entre calcio y magnesio de más de 5:1 puede resultar en una deficiencia de magnesio; la normal es 4:1. Si la relación entre magnesio y potasio es menor de 1:2 hay posibilidad de una deficiencia de magnesio. En suelos ácidos, una concentración de menos de 4 meq Ca 100 g⁻¹ puede ser deficiente; más de 10 meq 100 g⁻¹ es alta. Una baja concentración de magnesio es menos de 0.5 meq 100 g⁻¹ y más de 4 meq 100 g⁻¹ es alta.

Reactivos

1. Cloruro de potasio (KCl) 1 M.
Pese 74.56 g de KCl y disuelva en 500 ml de agua. Complete a un volumen de 1 l con agua. Se necesita 50 ml por cada muestra.

Procedimiento

1. Pese 10 g de suelo.
2. Añada 50 ml de KCl 1 M y agite durante 5 minutos.
3. Filtre por gravedad en balones de 100 ml lavando el suelo con 5 porciones de 10 ml de KCl.
6. Complete a volumen con KCl y agite para obtener una mezcla homogénea.
7. Este filtrado constituye el extracto a partir del cual, se determinan los cationes cambiables Ca y Mg por absorción atómica (Método 20B 1).

Análisis de Suelo. Determinación de los Catiónes Cambiables en Suelos no Calcáreos.

2. Potasio.

Principio

Para desplazar el potasio intercambiable en el suelo se puede usar una solución de cloruro de amonio (1 M) o la solución de Bray II (HCl 0.1 M y NH_4F 0.03 M), la cual se usa para determinar fósforo en el suelo (Método 7A). Ambas extraen una cantidad similar de potasio intercambiable, pero es más económico usar la solución de Bray II si está analizando la muestra para fósforo al mismo tiempo. El potasio intercambiable se mide en el extracto por emisión.

Introducción

El contenido del potasio en el suelo depende mucho del material parental del suelo. Existe en cuatro formas en el suelo: Estructural, fijado, intercambiable y soluble. Los minerales como los feldspatos y micas contienen el potasio estructural que es poco disponible a corto plazo para la planta. El potasio fijado en otros minerales en el suelo puede volverse disponible a largo plazo. Las formas más disponibles para la planta son el potasio soluble y el potasio intercambiable el cual está asociado con la materia orgánica, los sesquióxidos y algunas arcillas. Estas dos formas están en un equilibrio dinámico en el suelo. En suelos tropicales una concentración de potasio de 0.2 meq 100 g⁻¹ es baja mientras una de 0.6 meq 100 g⁻¹ es alta. La determinación de potasio no indica la capacidad del suelo para liberar a largo plazo el potasio fijado aprovechable por la planta.

Reactivos

1. Solución de Bray II (HCl 0.1 M y NH_4F 0.03 M).
Dísvuelva 1.11 g de NH_4F en 16.64 ml de HCl 6 M y complete el volumen a 1 l con agua. Se necesita 20 ml de esta solución por cada muestra.

Procedimiento

1. Pese 2.85 g de suelo en un vaso de 50 ml.
2. Agregue 20 ml de la solución de Bray II.
3. Agite durante 40 segundos.
4. Filtre la suspensión inmediatamente a través de papel filtro.
5. Determine el potasio en el extracto por emisión (Método 20B 2).

3. Acidez Intercambiable

Principio

La acidez intercambiable de un suelo con $\text{pH} < 5.5$, es una estimación de la cantidad de hidrógeno (H^+) y aluminio (Al^{3+}) intercambiables en el suelo. La acidez intercambiable se estima por titulación con hidróxido de sodio (NaOH) después de una extracción con una solución de KCl 1 M (Método A1). Para estimar el Al intercambiable se vuelve a titular con ácido clorhídrico (HCl). La diferencia entre los dos indica el H intercambiable en el suelo.

Introducción

La acidez intercambiable en el suelo es una medida arbitraria la cual se compone de cuatro tipos de acidez:

1. Los iones de hidrógeno que vienen de la hidrólisis de Al^{3+} intercambiable.
2. La hidrólisis del Al hidrolizado y no intercambiable.
3. Los ácidos en la materia orgánica.
4. Los iones de hidrógeno intercambiables.

La acidez en suelos con un pH mayor de 5.5 proviene de los puntos 2 y 3.

Los suelos con un pH menor de 5.5 deben su acidez especialmente a el punto 1 y los suelos con un pH menor de 4 al punto numero 4 (Thomas, 1982).

Se puede estimar la acidez potencial usando una solución de cloruro de bario - trietanolamina (BaCl_2 - TEA) a un pH de 8.3 (Mehlich, 1953). También, para suelos muy ácidos, se puede usar una solución de una sal, no amortiguada, como el cloruro de potasio (KCl), para quitar la acidez presente al pH del suelo (Coleman *et al.*, 1959; Yuan, 1959).

Reactivos

1. Hidróxido de sodio (NaOH) 0.05 M.
Pese 2 g de NaOH (GR) y complete a volumen de 1 l con agua.
2. Fenolftaleína 1% en alcohol.
Pese 1 g de fenolftaleína y disuelva en 70 ml de alcohol etílico. Complete con alcohol a un volumen de 100 ml.
3. Ácido clorhídrico (HCl) 0.05 M.
Mida 4.14 ml de HCl (37%) y complete a volumen de 1 l con agua.
4. Fluoruro de sodio (NaF) 1 M.
Pese 40 g y disuelva en 1 l de agua. Prepare diariamente. Se necesita 10 ml por cada muestra.

Análisis de Suelo. Determinación de los Cationes Cambiables en Suelos no Calcáreos.

Procedimiento

Acidez Intercambiable (Al y H):

1. Transfiera 50 ml del extracto obtenido con KCl 1 M a un erlenmeyer de 125 ml.
2. Agregue 3 gotas de fenolftaleína y titule con NaOH 0.05 M hasta la aparición de un color rosado pálido permanente. Anote los ml de NaOH gastados en la titulación.

Procedimiento

Al Intercambiable:

1. Después de la titulación anterior, agregue una gota de HCl 0.01 M para que el color rosado desaparezca.
2. Agregue 10 ml de NaF 1 M.
3. Titule con HCl 0.05 M hasta que el color desaparezca otra vez por más de un minuto.

Cálculos

La acidez y el aluminio intercambiable se expresan en meq 100 g⁻¹ de suelo:

$$\begin{aligned}\text{Acidez Intercambiable} &= \text{ml NaOH} \cdot N \text{ NaOH} \cdot \text{vol extracto/vol alícuota} \cdot 100/\text{peso de la muestra.} \\ &= \text{ml NaOH} \cdot 0.05 \cdot 100/50 \cdot 100/10. \\ &= \text{ml NaOH} \cdot 1 = \text{meq } 100^{-1} \text{ g de suelo.}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aluminio Intercambiable} &= \text{ml HCl} \cdot N \text{ HCl} \cdot \text{vol extracto/vol alícuota} \cdot 100/\text{peso de la muestra.} \\ &= \text{ml HCl} \cdot 0.05 \cdot 100/50 \cdot 100/10. \\ &= \text{ml HCl} \cdot 1 = \text{meq } 100^{-1} \text{ de suelo.}\end{aligned}$$

$$\text{Hidrógeno Intercambiable} = \text{meq de acidez Intercambiable} - \text{meq de Al intercambiable.}$$

Comentarios

1. Para estimar directamente el Hidrógeno Intercambiable:

1. Transfiera 50 ml del extracto de KCl 1 M a un erlenmeyer de 125 ml agregue 3 gotas del indicador de metil naranja 0.1% (pese 0.1 g y disuelva en 100 ml de agua). Titule con NaOH 0.05 M hasta la aparición de un color amarillo permanente. Anote los ml de NaOH gastados en la titulación.
2. Los ml de NaOH son equivalentes a los meq de H intercambiable por 100 g de suelo.
3. También se puede determinar amonio y nitrato en el extracto de KCl (Método 11)

Análisis de Suelo. Determinación de los Cationes Cambiables en Suelos no Calcáreos.

4. Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva (CICE).

Principio

En suelos con carga variable, los cationes intercambiables, incluyendo Al, se desplazan con una sal no amortiguada y la CICE se toma como la suma de los cationes en el extracto.

Cálculos

Se expresan en meq 100 g⁻¹ de suelo, usando los resultados obtenidos de los Métodos 6A 1 para Ca y Mg, 6A 2 para K y 6A 3 para Al.

$$\text{CICE} = \text{Ca} + \text{Mg} + \text{K} + \text{Al}.$$

5. Porcentaje de Saturación de Aluminio.

Principio

Otra medida de la acidez del suelo es el porcentaje de la saturación de aluminio de la CICE. Esta estimación se usa como una indicación sencilla de la química y fertilidad potencial del suelo.

Cálculos

Usando los resultados obtenidos de los Métodos 6A 1 para Ca, Mg, 6A 2 para K y 6A 3 para Al.

$$\% \text{ Saturación de Al} = \text{Al} / \text{Ca} + \text{Mg} + \text{K} + \text{Al} * 100.$$

Análisis de Suelo. Determinación de los Cationes Cambiables en Suelos no Calcáreos.

B. SUELOS CON pH MAYOR DE 5.5.

1. Calcio, Magnesio, Potasio y Sodio.

Principio

Se desplazan los cationes intercambiables con una solución de acetato de amonio ¹¹ amortiguada. Se mide la concentración de cada catión por medio de absorción atómica.

Introducción

Se encuentra una descripción de Ca, Mg y K en el suelo en la sección A1 y 2. El contenido de sodio en el suelo puede variar desde cantidades pequeñas hasta una porción grande de la capacidad intercambiable del suelo dependiendo de las condiciones del medio ambiente. En suelos sódicos/salinos se encuentra una alta concentración de sodio en la solución del suelo. Una concentración de más de 1 meq 100 g⁻¹ indica un suelo sódico y puede causar problemas físicos en el suelo.

Reactivos

1. Acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1 M, pH 7.
Pese 77.08 g de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ y disuelva en 500 ml de agua. Complete a un volumen de 1 l con agua.

Procedimiento

1. Pese 5 g de suelo en un erlenmeyer de 125 ml.
2. Agregue 25 ml de acetato de amonio 1 M y agite por 30 minutos.
3. Filtre al vacío. El filtrado se recoge en balones volumétricos de 100 ml.
4. Lave el suelo con pequeñas cantidades de la solución de acetato de amonio y complete a volumen con agua doblemente deionizada.
5. Este filtrado constituye el extracto de suelo a partir del cual, se determinan los cationes cambiables (Ca, Mg) por absorción atómica o por emisión (K, Na) (Método 20B 1,2 y 3).

2. Capacidad Intercambio Catiónico (CIC).

Principio

Para determinar la CIC del suelo se satura los sitios de intercambio con un exceso de acetato de amonio. Luego se lava el suelo con alcohol para eliminar el exceso de amonio en la solución del suelo. El amonio que queda ocupa los sitios de cambio. Se lixivia el suelo con una solución de cloruro de sodio para desplazar el amonio y se mide la concentración de amonio en el extracto por titulación con hidróxido de sodio.

Reactivos

1. Alcohol étilico (C_2H_5COOH) 96%.
2. Cloruro de sodio (NaCl) 10 %.
Pese 10 mg de NaCl y complete a volumen de 100 ml con agua.
3. Formaldehído 38%.
4. Fenolftaleína 1 % en etanol.
Pese 1 g y disuelva en 70 ml de etanol. Complete a volumen de 100 ml con etanol.
5. Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M.
Pese 4 g de NaOH y complete a volumen de 1 l con agua.

Procedimiento

1. Lave el suelo que queda en el embudo después de obtener el extracto de acetato de amonio para determinar cationes cambiables, con 5 porciones de alcohol étilico del 96 % neutralizado desechándose luego estos lavados.
2. Desplace el amonio intercambiable mediante 5 lavados de 10 ml cada uno de NaCl al 10 % los cuales son recogidos en erlenmeyers de 125 ml.
3. Después de finalizar la filtración (al vacío) agregue al filtrado 10 ml de formaldehído al 38 %, 3 gotas de fenolftaleína y titule con NaOH 0.1 M hasta un color rosado pálido permanente.

Cálculos

La capacidad de intercambio catiónico se expresa en meq 100 g^{-1} g de suelo.

$CIC = \text{ml NaOH} \times N \text{ de NaOH} \times \text{vol extracto} / \text{vol alícuota} \times 100 / \text{peso de la muestra.}$

$CIC = \text{ml NaOH} \times 0.1 \times 50 / 50 \times 100 / 5.$

$CIC = \text{ml NaOH} \times 2 = \text{meq } 100^{-1} \text{ g de suelo.}$

Bibliografía

- Coleman, N.T., Weed, S.B. y McCracken, R.J.** 1959. Cation exchange capacity and exchangeable cations in Piedmont soils of North Carolina. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **23** 146-149.
- Mehlich, A.** 1953. Rapid determination of cation and anion exchange properties and pH of soils. *J. Assoc. of Agr. Chem.* **36** 445-457.
- Polemio, M. y Rhoades, J.D.** 1977. Determination of cation exchange capacities of calcareous soils and their percentage base saturation. *Soil Sci.* **121** 65-71.
- Thomas, G.W.** 1982. Exchangeable cations. Capítulo 9 en *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy 9. 2nd Edition.* ASA SSSA. A.L. Page, R.H. Miller y D.R. Keeney (eds). ASA. SSSA.
- Yuan, T.L.** 1959. Determination of exchangeable hydrogen in soils by titration method. *Soil Sci.* **88** 164-167.

METODO 7

DETERMINACION DE FOSFORO EN SUELO

Introducción

Existen muchos métodos para medir el fósforo (P) en el suelo. Cada uno puede variar en el principio y en el procedimiento. Su selección depende en los objetivos del estudio, la muestra y su propiedades, la presión necesaria y las facilidades del laboratorio.

La razón principal para medir P en el suelo es para evitar su deficiencia en la planta y predecir el requerimiento de fertilizante. Otra razón es para investigar el P disponible para la planta a través del tiempo.

El P se encuentra en el suelo en forma orgánica e inorgánica. Se asocia con la materia orgánica, las arcillas y los compuestos de Al, Fe y Ca. Para ser aprovechable para la planta el P tiene que estar en la solución del suelo. Los iones de P presentes dependen del pH del suelo pero los dos más comunes son $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-} . El P se somete a varias transformaciones en el suelo las cuales hacen que el P sea menos o más disponible para la planta. La deficiencia de P en los suelos es extensa. El P total puede ser alto pero la concentración disponible muy baja debido a las reacciones en el suelo. Los iones de P pueden ser adsorbidos por los componentes del suelo o precipitados en productos poco solubles. La concentración de P en la solución del suelo depende del suministro de P por la reacción de desorción de P desde los componentes del suelo o la mineralización del P orgánico. En algunos suelos la desorción es muy lenta y aparece una deficiencia de P en la planta.

La evaluación y comparación de los diferentes métodos es extensa (Sibessen, 1983; Wolf y Baker, 1985; Mato, *et al.*, 1986; Menon, *et al.*, 1990). Todos los métodos han sido calibrados en alguna circunstancia con el P aprovechado por un cultivo o una planta. Estas calibraciones son necesarias porque los métodos más comunes y rutinarios no miden la cantidad de P disponible en el suelo sino un índice relativo. El P extraído se calibra de alguna manera con el P en la solución del suelo. Los métodos más comunes son Bray I y II, Olsen y Mehlich.

Con más conocimiento de las reacciones del P en el suelo, hay interés en métodos que puedan extraer el P del suelo de una manera y cantidad parecidos a las de la planta. Idealmente estos métodos medirían la cantidad de P en la solución del suelo y también la cantidad de P desorbido de los componentes del suelo. Estos métodos son menos rutinarios; como el de la resina (Sibessen, 1977) y del papel impregnado (Menon *et al.*, 1990).

Todos los métodos tienen un período de extracción, seguido por la medida del P en el extracto por colorimetría. La manera más común para determinar el P en el extracto es el método de azul de molibdeno (Murphy y Riley, 1962). El método se basa en la producción de un complejo de fosfomolibdato en una solución ácida el cual es reducido por ácido ascórbico para formar un color azul. Es muy sensible y la intensidad del color azul varía con la concentración de P en la solución. Cada método para determinar fósforo tiene su propio

Análisis de Suelo. Determinación de Fósforo en Suelo.

método de azul de molibdeno debido a las diferencias en las condiciones químicas en las soluciones extractoras. También tiene sus propios estándares de fósforo. Para facilitar estas diferencias se preparan soluciones patrones que sirven para todos los métodos.

Soluciones patrones para el desarrollo de color:

Reactivos

1. Molibdato de amonio ($[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$).
2. Tartrato de antimonio y potasio ($\text{K}[\text{SbO}]\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$).
3. Ácido sulfúrico (H_2SO_4)
4. Ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)

Solución A

1. Disuelva 60 g de molibdato de amonio en 200 ml de agua.
2. Añada 1.455 g de tartrato de antimonio y potasio y disuelva.
3. Agregue lentamente y con agitación suave, 700 ml de ácido sulfúrico concentrado.
4. Deje enfriar y diluya con agua a un volumen de 1 l.

Solución B

1. Disuelva 132 g de ácido ascórbico en agua y complete a un volumen de 1 l.

Guarde ambas soluciones en la nevera. Se prepara la solución de trabajo a partir de estas dos soluciones diariamente.

Solución patrón de fósforo:

Reactivos

1. Fosfato dihidrogenado de potasio (KH_2PO_4)

Solución patrón de 50 ugP. ml^{-1}

1. Seque unos gramos de KH_2PO_4 en el horno por una hora a 105°C .
2. Pese 0.2195 g de KH_2PO_4 y disuelva en agua.
3. Complete a un volumen de 1 l con agua.

Guarde la solución en la nevera. Se hace los patrones de trabajo para todos los métodos a partir de esta solución.

Bibliografía

- Mato, A., García, A., Nuviola, A. y Alfonso, N. 1986.** Comparación de diez métodos de determinación de fósforo disponible en 57 suelos. *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Suelos y Agroquímica* 9 7-14.
- Menon, R.G., Chien, S.H. y Hammond, L.L. 1990.** Development and evaluation of the PI soil test for plant-available phosphorus. *Comm. In Soil Sci. and Plant Anal.* 21 1131-1150.
- Murphy, J. y Riley, J.P. 1962.** A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27 31-36.
- Sibbesen, E. 1977.** A simple ion-exchange resin procedure for extracting plant available — elements from soil. *Plant and Soil* 46 665-669.
- Sibbesen, E. 1983.** P tests and their suitability to assess the P status of soils. *J. of Sci. Food and Agric.* 34 1368-1374.
- Wolf, A.M. y Baker, D.E. 1985.** Comparison of soil test phosphorus by Olsen, Bray P1, Mehlich I and Mehlich III methods. *Comm. Soil Sci. and Plant Anal.* 16 467-484.

METODO 7A

DETERMINACION DE FOSFORO EN SUELO POR EL METODO DE BRAY II.

Principio

La solución de Bray II (HCl 0.1 M y NH_4F 0.03 M) disuelve algunos fosfatos fácilmente solubles en ácido como los fosfatos de calcio y una parte de los fosfatos de hierro y aluminio. En la solución ácida, el NH_4F disuelve los fosfatos de hierro y aluminio por medio de la formación de complejos con el ion fluoruro.

Introducción

El método de la extracción del fósforo por fluoruro - ácido diluidos fue desarrollado por Bray y Kurtz (1945). Es extensamente usado en suelos ácidos con bajos niveles de nutrientes. En los suelos calcáreos, el efecto del ácido es disminuido debido a su neutralización por el CaCO_3 en el suelo. Por esta razón el método no es el indicado para suelos con un $\text{pH} > 6.8$. Vea la Tabla 1a en la Introducción al Análisis de Suelo para los rangos de P encontrados por medio de este método.

Reactivos

1. Solución de Bray II.
Ácido clorhídrico (HCl 0.1 M) y fluoruro de amonio (NH_4F 0.03 M).
Disuelva 1.11 g de NH_4F en 16.64 ml de HCl 6 M y complete el volumen a 1 l con agua. Se necesita 20 ml de esta solución por cada muestra.
2. Solución de trabajo para desarrollo de color.
La preparación de las soluciones patrones (A y B) es descrito en la introducción de los métodos para fósforo (Método 7). La solución de trabajo tiene que ser preparada diariamente.
Tome 25 ml de la solución A y agregue 800 ml de agua. Mezcle y añada 10 ml de la solución B. Complete el volumen a 1 l con agua. Se necesita 18 ml de esta solución por cada muestra y patrón.
3. Soluciones patrones de trabajo.
La preparación de la solución estándar de fósforo (50 ug ml^{-1}) es descrita en la introducción de los métodos para fósforo (Método 7). A partir de esta solución se prepara los patrones de trabajo.
Tome alícuotas de 0, 1, 2, 4, 8, 12, y 16 ml y diluya a 100 ml con la solución de Bray II. Estos patrones contienen 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, y 8 ug P ml^{-1} .

Análisis de Suelo. Determinación de Fósforo en el Suelo por el Método Bray II.

Procedimiento

1. Pese 2.85 g de suelo en un vaso de 50 ml.
2. Agregue 20 ml de la solución de Bray II.
3. Agite durante 40 segundos.
4. Filtre la suspensión inmediatamente a través de papel filtro.
5. Usando el dilutor (2/18), tome 2 ml del extracto o de patrón y añada 18 ml de la solución de trabajo para desarrollo de color. Mezcle bien y espere 15 minutos para el desarrollo del color.
6. Calibre el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 660 nm usando concentración o absorbancia.
7. Lea las muestras y calcule la concentración de fósforo en la muestra en $\mu\text{g P g}^{-1}$ suelo.

Comentarios

1. La relación suelo:solución y la duración de la agitación de la muestra varían entre laboratorios.
2. Una relación de 1:50 (suelo:solución) sirve para analizar algunos suelos calcáreos (Randall y Grava, 1971).
3. El coeficiente de variación del método debería ser cerca de 5 %.
4. El método de Bray I usa una solución de HCl 0.025 M y NH_4F 0.03 M. Se agita la suspensión de suelo por un minuto.
5. El método de Bray II modificado fue desarrollado para mejorar la sensibilidad del método. Se utiliza una solución de HCl 0.1M y NH_4F 0.2M (Pese 7.4 g de NH_4F y disuelve en 16.64 ml de HCl 6M. Complete a volumen de 1 l con agua). El incremento en la concentración de NH_4F en la solución extractora extrae más fósforo del suelo y han encontrado que los valores correlacionan bien con los parámetros de crecimiento de la planta (Salinas y García, 1985).

Bibliografía

- Bray, R.H. y Kurtz, L.T. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59 39-45.
- Salinas, J.G. y García, R. 1985. Métodos químicos para el análisis de suelos ácidos y plantas forrajeras. CIAT, Cali, Colombia.
- Randall, G.W. y Grava, J. 1971. Effect of soil: Bray No. 1 ratios on the amount of phosphorus extracted from calcareous Minnesota soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35 112-114.

Análisis de Suelo. Determinación de Fósforo en el Suelo por el Método de Olsen.

METODO 7B

DETERMINACION DE FOSFORO EN SUELO POR EL METODO DE OLSEN

Principio

Esta extracción usa una solución de bicarbonato de sodio a un pH de 8.50. En los suelos calcáreos o alcalinos los iones de bicarbonato causan la precipitación del calcio como CaCO_3 y por lo tanto la actividad de calcio en la solución disminuye. Esto facilita la extracción de los fosfatos de calcio más solubles. En los suelos más ácidos los iones de bicarbonato reemplazan a los fosfatos de aluminio y hierro. El incremento del pH de la solución facilita la extracción de fosfato de las superficies que tienen una carga dependiente del pH.

Introducción

El método de la extracción con bicarbonato de sodio fué desarrollado por Olsen *et al.*, (1954). Es un método que sirve para extraer fósforo de todos los tipos de suelo, tanto en suelos ácidos como alcalinos (Thomas y Peaslee, 1973). Vea la Tabla 1a en la Introducción al Análisis de Suelo para los rangos de P encontrados por medio de este método.

Reactivos

1. Solución de Superfloc o 'polyacrylamide gel' 0.05 % p/v.
Disuelva 0.5 g de Superfloc en 1 l de agua. Agite la solución por una hora para disolverla.
2. Hidróxido de sodio 1 M (NaOH)
Disuelva 40 g NaOH en 1 l de agua.
3. Bicarbonato de sodio 0.5 M (NaHCO_3) pH 8.50.
Disuelva 42 g de NaHCO_3 en agua, agregue 5 ml de la solución de Superfloc y mezcle bien. Diluya a un volumen de 1 l con agua y con NaOH 1 M ajuste el pH a 8.50. Se necesita 30 ml de esta solución por cada muestra y 100 ml por cada estándar.
4. Carbón activado lavado.
5. Acido sulfúrico 2.5 M (H_2SO_4).
Añada 140 ml de H_2SO_4 concentrado a 600 ml de agua. Deje enfriar y lleve a un volumen de 1 l. Se necesita 1 ml por cada muestra y estándar.
6. Solución de trabajo para el desarrollo de color.
La preparación de las soluciones patrones (A y B) está descrita en la Introducción de los métodos para el fósforo (Método 7). La solución de trabajo tiene que ser preparada diariamente.
Tome 35 ml de solución A y agregue 800 ml de agua. Mezcle y añada 10 ml de solución B. Complete el volumen a 1 l con agua. Se necesitan 10 ml de esta solución por cada muestra y estándar.

Análisis de Suelo. Determinación de Fósforo en el Suelo por el Método de Olsen.

7. Soluciones patrones.

La preparación de la solución estándar (50 ug ml^{-1}) de fósforo es descrita en la introducción de los métodos para el fósforo (Método 7). A partir de esta solución se preparan los patrones de trabajo diariamente.

Solución patrón de 5 ug P ml^{-1} .

Tome 10 ml de la solución patrón de 50 ug ml^{-1} y diluya a 100 ml con NaHCO_3 0.5 M ($\text{pH } 8.5$).

A partir de esta solución de 5 ug ml^{-1} , prepare los patrones de trabajo.

Tome alícuotas de $0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 \text{ ml}$ y diluya a 100 ml con NaHCO_3 0.5 M ($\text{pH } 8.5$). Estos patrones contienen $0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4$ y 0.5 ug P ml^{-1} .

A. 60

Procedimiento

Caldwell = 1:100

Olsen = 1:20

= 1.12

1. En un tubo con tapa (50 ml), coloque 2.5 g de suelo y agregue 30 ml de 0.5 M NaHCO_3 ($\text{pH } 8.50$).
2. Agite por 30 minutos.
3. Filtre las muestras en tubos de ensayo. Pare la filtración después de 5 minutos. A veces es necesario usar carbón para quitar el color que aparece debido a la materia orgánica en el suelo. En estos casos coloque 0.5 g de carbón activado en cada papel filtro antes de la filtración. También es necesario hacer lo mismo con los patrones de trabajo.
4. Tome 5 ml de la solución filtrada o del patrón con una pipeta automática y añada 1 ml de H_2SO_4 (2.5 M). Agite bien para quitar las burbujas. CUIDADO!
5. Agregue (10 ml) de la solución de trabajo para el desarrollo de color con una repipeta y espere 15 minutos.
6. Calibre el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 660 nm usando concentración o absorbancia.
7. Lea las muestras y calcule la concentración de fósforo en $\text{ug P g}^{-1} \text{ soil}$.

very similar
ratio?
concentration

to find a
color factor
for color
or to be used

transfer of yellow
colour with
this narrow
ratio even to find

Comentarios

1. El coeficiente de variación suele encontrarse entre $5 - 10 \%$.
2. Se usa el carbón para eliminar el color del extracto. El uso de carbón es menos necesario si se usa el método de azul de molibdeno para medir el fósforo. Si se lee el color azul desarrollado a una longitud de onda de 880 nm el color del extracto no interfiere y no es necesario agregar carbón.

Bibliografía

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. y Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA circ. 939.

Thomas, G.W. y Peaslee, D.E. 1973. Testing Soils for Phosphorus. Capítulo 9 en Soil Testing and Plant Analysis. L.M. Walsh y J.D. Beaton (eds). SSSA.

METODO 8

DETERMINACION DE LOS MICRONUTRIENTES (Cu, Mn, Fe Y Zn) EN SUELO

Principio

El suelo se trata con una solución extractora simultánea para disolver una cantidad de los micronutrientes cobre (Cu), manganeso (Mn), hierro (Fe) y zinc (Zn), la cual está relacionada con la cantidad que la planta puede aprovechar del suelo. La solución se llama doble ácido, solución Norte Carolina o Mehlich I (Mehlich, 1953) y contiene una mezcla de los ácidos clorhídrico y sulfúrico.

Introducción

Cu, Mn, Fe y Zn son esenciales para la planta pero son requeridos en cantidades pequeñas y por esa razón se llaman micronutrientes. Los micronutrientes más disponibles para la planta existen en forma libre o en complejos en la solución del suelo. También pueden estar fijados por la materia orgánica, los sesquióxidos o carbonatos.

En suelos ácidos los micronutrientes son más disponibles y en algunas circunstancias pueden llegar a ser tóxicos. Su disponibilidad baja en suelos alcalinos. Una deficiencia de Zn es común en suelos alcalinos debido a la formación de complejos de Zn de muy baja solubilidad. Una toxicidad de hierro es rara, pero puede ser deficiente en los suelos calcáreos debido a la baja solubilidad del elemento. El hierro y el manganeso están afectados por la aireación del suelo y pueden ser tóxicos en condiciones de baja aireación. El manganeso aparece en varios estados de oxidación en el suelo, los más importantes son Mn^{2+} en las arcillas y en materia orgánica y Mn^{4+} en óxidos. El manganeso puede llegar a ser tóxico en suelos ácidos.

La Interpretación de los resultados no solo requiere una calibración con resultados en el campo sino también una conciencia que los resultados pueden variar diariamente dependiendo de las condiciones del suelo, el ambiente y el tratamiento del suelo antes de analizarlo.

Se han desarrollado muchos métodos para extraer estos elementos del suelo en cantidades similares a las que la planta puede aprovechar (Cox y Kamprath, 1972). Las soluciones extractoras simultáneas, como la de Mehlich, son muy populares pero falta una estandarización de sus resultados.

En la Interpretación de los resultados es importante conocer el pH del suelo, la cantidad de materia orgánica y la textura. Estas medidas pueden indicar una probabilidad de deficiencia o toxicidad de un micronutriente (Martens and Lindsay, 1990).

Análisis de Suelo. Determinación de los Micronutrientes (Cu, Mn, Fe y Zn) en Suelo.

Reactivos

1. Acido clorhídrico (HCl) 1 M.
Mida 82.7 ml de HCl (37%) y complete a volumen de 1 l con agua.
2. Acido sulfúrico (H₂SO₄) 5 M.
Mida 277.8 ml de H₂SO₄ (96%) y complete a volumen de 1 l con agua.
3. Solución extractora (HCl 0.05 M + H₂SO₄ 0.0125 M).
Tome 50 ml de HCl 1 M y 2.5 ml de H₂SO₄ 5 M y lleve a un volumen de 1 l con agua.
Se necesita 20 ml para cada muestra.

Procedimiento

1. Pese 5 g de suelo y agregue 20 ml de la solución extractora.
2. Agite por 15 minutos.
3. Filtre por gravedad usando papel filtro Whatman No. 42.
4. Lea la concentración de Cu, Mn, Fe y Zn en el extracto por absorción atómica (Método 20B 4).

Comentarios

1. Se puede usar la misma solución para extraer fósforo del suelo.
2. Ultimamente la solución de Mehlich III (0.2 M CH₃COOH, 0.25 M NH₄NO₃, 0.15 M NH₄F, 0.01 M HNO₃, 0.0005 M EDTA) (Mehlich, 1984) ha sido usado para extraer no solamente Cu, Mn, Fe y Zn sino también P, Ca, Mg, K, Na, y B. Esta solución extractora universal se está usando para el desarrollo de la metodología de ICP en suelos (Benton Jones, 1991).

Bibliografía

- Benton Jones, J. Jr. 1991. Universal soil extractants: Their composition and use. Comm. in Soil Sci. and Plant Anal. 21 1091-1102.
- Cox, F.R. y Kamprath, E.J. 1972. Micronutrient Soil Tests. Capítulo 13 en Micronutrients in Agriculture, J.J. Mortvedt, P.M. Giordano y W.L. Lindsay. (eds.), SSSA.
- Martens, D.C. y Lindsay, W.L. 1990. Testing Soils for Cu, Fe, Mn and Zn. Capítulo 9 en Soil Testing and Plant Analysis. 3 rd edition. Westerman, R.L (ed.), SSSA.
- Mehlich, A. 1953. Determination of P, K Na, Ca, Mg and NH₄. Soil Test Div. Mimeo, N.C. Dept. Agr., Raleigh, NC, USA. .
- Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Comm in Soil Sci. and Plant Anal. 15 1409-1416.

METODO 9

DETERMINACION DE AZUFRE EN SUELO

Principio

Las plantas aprovechan el azufre (S) del suelo en la forma de sulfato (SO_4^{2-}) y por lo tanto, se estima el azufre disponible en el suelo midiendo el sulfato. Existen bastantes métodos para extraer el sulfato del suelo. Probert (1976) encontró que los mejores métodos empleaban una solución que contiene fósforo en la forma de fosfato de calcio ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$). Esta solución extrae los sulfatos solubles y el fosfato saca el sulfato que está adsorbido en el suelo, el cual también es disponible para la planta. Se recomienda el uso de fosfato de calcio ya que el calcio ayuda a la floculación de los coloides del suelo y a esto se debe que la solución filtrada sea más clara.

Para medir el sulfato extraído, el método de turbidimetría es el más usado. Turbidimetría es la medida de la pérdida de la luz transmitida que se pierde debido a las partículas suspendidas en la solución. El método se basa en la baja solubilidad de sulfato de bario. Se agregan cristales de cloruro de bario a la solución filtrada, para iniciar la formación de cristales de sulfato de bario. Se usa también gelatina para suspender el precipitado, lo cual permite la medida de sulfato por turbidimetría.

Introducción

La interpretación de la cantidad de azufre disponible en el suelo para la planta es complicada debido a que existen otras fuentes, además del suelo, que pueden proporcionar azufre a la planta. Estas fuentes son el SO_2 en la atmósfera, S en fertilizantes, pesticidas y en agua de riego. La calibración de resultados es difícil debido a la movilidad del azufre en el suelo y la mineralización de azufre orgánico. La concentración de S en el suelo normalmente varía entre 6 y 12 ug^{-1} . Las soluciones extractantes que retiran el sulfato soluble y adsorbido en el suelo han sido correlacionadas muy bien con el azufre aprovechado por la planta (Probert, 1976). Una extracción con $(\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2)$ 0.01 M, desarrollado por Fox *et al.*, (1964), ha mostrado superioridad sobre otros extractantes.

Reactivos

1. Fosfato monobásico de calcio 0.08 M ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$).
Pese 2.02 g y disuelva en 1 l de agua. Se necesita 50 ml por cada muestra.
2. Ácido clorhídrico concentrado (HCl).
3. Solución semilla.
Sulfato de potasio GR (K_2SO_4).
Pese 0.2270 g de K_2SO_4 y disuelva en 200 ml de agua. Agregue 99.34 ml de HCl conc. y diluya a 500 ml con agua.
4. Cloruro de bario (BaCl_2).
Vea Comentario 1 abajo.

Análisis de Suelo. Determinación de Azufre en Suelo.

5. Gelatina "Gelatin Difco Certified".
Caliente 800 ml de agua a una temperatura entre 60-70°C y añada 0.6 g de gelatina. Deje enfriar la solución con agitación suave y constante. Cuando esté a la temperatura ambiente (más o menos 2 horas) coloque en la nevera durante 4 horas. Después saque de la nevera y continúe agitando por 2 horas más. Agregue 100 g de BaCl_2 y agite hasta cuando esté disuelto. Coloque en la nevera durante 16 horas. Al otro día saque de la nevera y agite por 1 hora.
6. Solución patrón.
Prepare una solución de 1000 $\mu\text{g S ml}^{-1}$ a partir de K_2SO_4 . Pese 5.4354 g de K_2SO_4 y desuelva en 1 l de agua.
Tome una alícuota de 20 ml de esta solución estandar y complete a 250 ml con agua. Esta solución contiene 80 $\mu\text{g S ml}^{-1}$.
7. Soluciones patrones de trabajo.
A partir de la solución patrón prepare los patrones de trabajo diariamente:
Tome alícuotas de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 14 y 16 ml y lleve a 50 ml con la solución extractora de fosfato de calcio (0.08 M). Estos patrones contienen 0, 1.6, 3.2, 6.4, 9.6, 12.8, 22.4 y 25.6 $\mu\text{g S ml}^{-1}$.

Procedimiento

1. Pese 10 g de suelo en un erlenmeyer de 125 ml.
2. Agregue 50 ml de fosfato de calcio (0.08M) y agite por 30 minutos.
3. Usando papel filtro doble, filtre la suspensión por gravedad en un tubo de ensayo.
4. Tome una alícuota de 10 ml de las muestras y de los patrones de trabajo.
5. Adicione 2 ml de la solución semilla.
6. Agregue 4 ml de gelatina y agite suavemente.
7. Deje en reposo por 45 minutos.
8. Calibre el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 420 nm usando concentración o absorbancia.
9. Lea la turbidimetría de las muestras agitando de nuevo antes de leer.
10. Calcule la concentración de azufre en $\mu\text{g S g}^{-1}$ suelo.

Comentarios

1. El cloruro de bario es muy tóxico. Se debe manejar con guantes. El antídoto es una solución de sulfato de magnesio (MgSO_4) de 10 %.
2. Si quiere extraer el sulfato en el suelo con agua, prepare los patrones de trabajo en agua. Se utiliza la misma solución de semilla y gelatina y se toma una alícuota de 10 ml después de filtración.
3. Existen otros métodos para determinar el sulfato en suelos: ICP (Novozamsky *et al.*, 1986); cromatografía iónica (Dick y Tabatabai, 1979); colorimetría (Johnson y Nishita, 1952).
4. El contenido de azufre aumenta si el suelo se seca en el horno (Barrow, 1961).
5. Se puede automatizar el método de turbidimetría usando un autoanalizador (Wall *et al.*, 1980).

Bibliografía

- Barrow, N.J.** 1961. Studies on mineralization of sulphur from soil organic matter. *Aust. J. Agri. Res.* **12** 306-309.
- Dick, W.A. y Tabatabai, M.A.** 1979. Ion chromatograph determination of sulfate and nitrate in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **43** 899-904.
- Fox, R.L., Olson, R.A. y Rhoades, H.F.** 1964. Evaluating the sulfur status of soils by plant and soil tests. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **28** 243-246.
- Johnson, C.M. y Nishita, H.** 1952. Microestimation of sulphur in plant materials, soils and irrigation waters. *Anal. Chem.* **24** 736-742.
- Novozamsky, R van Eck., Van der Lee, J.J., Houba, V.G.J. y Temminghof, E.** 1986. Determination of total sulphur and extractable sulphate in plant materials by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry. *Comm. Soil Sci. and Plant Anal.* **17** 1147-1157.
- Probert, M.E.** 1976. Studies of "available" and isotopically exchangeable sulphur in some N. Queensland soils. *Plant and Soil* **45** 461-475.
- Wall, L.L., Gehrke, C.W. y Suzuki, J.** 1980. An automated turbidimetric method for total sulfur in plant tissue and sulfur in soils. *Comm. In Soil Sci. and Plant Anal.* **11** 1087-1103.

METODO 10

DETERMINACION DE BORO EN SUELO

Principio

El método más usado para la determinación del boro en el suelo es la extracción con agua caliente de Berger y Truog (1939). El agua caliente disuelve una fracción del boro que está adsorbido a los componentes del suelo. El método descrito aquí está basado en la adaptación de Mahler *et al.* (1984). Se agrega agua al suelo en tubos plásticos cerrados y después se colocan en un baño de agua hirviendo. Esta adaptación del método de Berger y Truog hace que no haya pérdida de agua de la muestra y que la fuente de calor sea más uniforme. Se lee el boro en el extracto por colorimetría, usando el método de azometina-H (Shanina *et al.*, 1967), el cual es sencillo, rápido y tiene pocas interferencias. Es necesario agregar EDTA para eliminar interferencias y usar un buffer de acetato de amonio para llevar el pH del extracto entre 4.9 y 5.1. A este pH la azometina y el boro en solución forman un complejo estable, el cual tiene un color amarillo.

Introducción

La determinación del boro en el suelo es uno de los análisis de rutina más difícil para realizar. Aunque tenga baja precisión, el método de Berger y Truog (1939) sigue siendo el método más común para determinar boro. La fracción extraída por este método es suficiente para indicar si el suelo es deficiente en boro. La deficiencia de boro ocurre en muchos más cultivos y bajo muchos más condiciones que cualquier otro micronutriente. El boro puede llegar a ser tóxico a niveles solo un poco más altos que el normal. Un suelo con menos de 1 ug B g^{-1} es deficiente, pero más de 5 ug g^{-1} puede ser tóxico. Por esa razón el método debe ser preciso y sensible.

La planta aprovecha boro en la forma del anion borato (BO_3^{2-}). La disponibilidad de boro, baja con un incremento de pH debido a su insolubilidad, pero también puede ser de baja disponibilidad en suelos ácidos y arcillosos. Tiene disponibilidad máxima entre pH 5 a 7. Mucho del boro disponible se asocia con la materia orgánica.

Reactivos

1. Acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$).
2. Acido acético (CH_3COOH).
3. Sal disódica de ethylenediamine tetra acético ácido (EDTA).
4. Acido tioglicólico 98 % (HSCH_2COOH).

Análisis de Suelo. Determinación de Boro en Suelo.

5. Solución Buffer.
Pese 400 g de acetato de amonio y agregue 260 ml de ácido acético. Añada 10.72 g de EDTA y 9.6 ml de ácido tloglicólico. Posteriormente agregue 640 ml de agua y agite bien.
6. Azometina-H.
7. Ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$).
8. Reactivo de color.
Pese 0.9 g de azometina-H y 2 g de ácido ascórbico, agregue 100 ml de agua y agite bien. Esta solución debe prepararse cada que se va a hacer la determinación.
9. Solución patrón.
Prepare una solución de 100 ug B ml⁻¹ a partir de H_3BO_3 . Pese 0.5716 g de H_3BO_3 y disuelva en 1 l de agua.
10. Soluciones patrones de trabajo.
A partir de la solución de 100 ug B ml⁻¹ prepare una de 10 ug ml⁻¹. Tome alícuotas de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ml de la solución de 10 ug B ml⁻¹ y diluya a 100 ml con agua. Estos patrones contienen 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 ug B ml⁻¹.

Procedimiento

1. Pese 10 g de suelo en tubos plásticos de 50 ml con tapa rosca.
2. Agregue 20 ml de agua y tape los tubos.
3. Coloque los tubos en baño maría a 100 °C durante 15 minutos.
4. Filtre la suspensión por succión en frascos plásticos.
5. Guarde los extractos en la nevera si no va leer inmediatamente.
6. Tome alícuotas de 2 ml de los extractos y patrones de trabajo en tubos plásticos.
7. Agregue 4 ml de la solución buffer y 2 ml de reactivo de color.
8. Agite muy bien y deje en reposo por 45 minutos.
9. Calibre el espectrofotómetro para leer concentración o absorbancia con los patrones usando una longitud de onda de 430 nm.
10. Lea las muestras y calcule la concentración de boro en ug g⁻¹ de suelo.

Comentarios

1. Se usa el EDTA para evitar las interferencias de cobre, hierro, aluminio y materia orgánica.
2. El color del complejo de azometina y el boro es más estable cuando se usa ácido ascórbico.
3. Si no puede utilizar frascos y tubos de plástico, se debe usar vidrio que no contenga boro.

Bibliografía

- Berger, K.C. y Truog, E. 1939. Boron determination in soils and plants. *Ind. Eng. Chem. Anal.* 11 540-545.
- Mahler, R.L., Naylor, D.V. y Fredrickson, M.K. 1984. Hot water extraction of boron from soils using sealed plastic pouches. *Comm. In Soil Sci. and Plant Anal.* 15 479-492.
- Shanina, T.M., Gelman, N.E. y Mikhailovskaya, V.S. 1967. Quantitative analysis of heterogenic compounds: Spectrophotometric micro determination of boron. *J. Anal. Chem. USSR (Eng. Trans.)* 22 663-667.

METODO 11

DETERMINACION DE AMONIO Y NITRATO EN SUELO.

Introducción

El nitrógeno total en el suelo está compuesto de 97 hasta 99 % de nitrógeno orgánico y menos de 2 % Inorgánico. La fracción orgánica se hace disponible a la planta a través del tiempo dependiendo de las condiciones en el suelo. La fracción Inorgánica que la planta aprovecha contiene los iones amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-). La forma de nitrógeno aprovechado por la planta depende del pH del suelo, la temperatura, la actividad microbiana y la presencia de otros iones en la solución del suelo, pero normalmente la planta aprovecha el ion nitrato y lo reduce después a amonio. Bajo condiciones anaeróbicas el ion nitrito puede estar en la solución del suelo y es tóxico aún en niveles bajos.

Debido a la importancia del papel del nitrógeno en el crecimiento de la planta, es muy importante buscar una valoración precisa del nitrógeno disponible para la planta. La determinación del amonio y nitrato extractables en el suelo se confunde por las transformaciones biológicas las cuales cambian los niveles y formas del nitrógeno en el suelo (Buckman y Brady, 1977). Por causa de estas transformaciones, idealmente las muestras de suelo deben ser analizadas inmediatamente después de tomarlas. Muchas veces esto es imposible y existen varios pretratamientos para conservar la muestra (Nelson y Bremner, 1972).

A. Preparación del extracto

Principio

Para extraer el amonio (NH_4^+) y el nitrato (NO_3^-) intercambiables del suelo, se emplea una solución de cloruro de potasio (1M) (Bremner 1965). En este extracto se puede determinar el amonio y el nitrato colorimétricamente.

Reactivos

1. Cloruro de potasio (KCl) 1 M.
Pese 74.56 g de KCl y disuelva en 500 ml de agua. Complete a un volumen de 1 l con agua. Se necesita 25 ml por cada muestra.

Procedimiento

1. Pese 10 g de suelo.
2. Agregue 25 ml de 1M KCl.
3. Agite durante 5 minutos en un agitador mecánico.
4. Filtre en balones de 100 ml lavando el suelo cinco veces con porciones de 10 ml del KCl.
5. Complete a volumen y mezcle bien.

Análisis de Suelo. Determinación de Nitrato y Amonio en Suelo.

Comentarios

1. En este extracto se determina amonio, nitrato y también, calcio, magnesio y aluminio cuando el pH del suelo es inferior a 5.5 (Método 6A 1,3).

B. Soluciones patrones combinadas para Amonio y Nitrato

Reactivos

1. Nitrato de sodio (NaNO_3).
2. Cloruro de amonio (NH_4Cl).

Procedimiento

1. Solución I.

En un recipiente volumétrico de 1 l, pese 1.214 g de NaNO_3 y 1.528 g de NH_4Cl . Disuelva en 500 ml de agua, complete a volumen y mezcle. Esta solución contiene 400 ug ml^{-1} de N-NH_4 y 200 ug ml^{-1} de N-NO_3 .

2. Solución II.

Tome 10 ml de la solución I y disuelva en 50 ml de solución extractora (KCl 1M). Complete a 100 ml y mezcle. Esta solución contiene 40 ug ml^{-1} de N-NH_4 y 20 ug ml^{-1} de N-NO_3 .

3. Soluciones patrones de trabajo.

Tome de la solución II, las alícuotas indicadas y complete a volumen en balones de 100 ml con la solución extractora (KCl 1M) y mezcle.

Alícuota (ml)	$\text{ug N-NH}_4 \text{ ml}^{-1}$	$\text{ug N-NO}_3 \text{ ml}^{-1}$
0	0	0
5	2	1
10	4	2
15	6	3
20	8	4

C. Determinación de Amonio

Introducción

El amonio se puede determinar colorimetricamente después de extracción por el método de Nessler (Grewelling y Peech, 1960). También se puede utilizar los métodos de microdifusión (Stanford et. al., 1973), destilación por vapor (Bremner y Keeney, 1966) o el método del electrodo específico (Bremner y Tabatabai, 1972). Se puede encontrar una descripción de estos métodos y las ventajas y desventajas de cada uno en Keeney y Nelson (1987).

Principio

El método colorimétrico, el cual es el más rápido y el más usado para la determinación del amonio en el suelo, se basa en la reacción de Berthelot (1859); a veces se le llama la reacción del azul indofenol. En la reacción, el amonio en el extracto de suelo (KCl 1M) reacciona con un fenol en una solución alcalina en la presencia de un agente oxidante, normalmente hipoclorito. En este método se usa salicilato de sodio y dicloroisocianurato de sodio como el fenol y el hipoclorito respectivamente. Estas soluciones son más estables y menos tóxicas. El complejo que resulta de la reacción tiene un color verde azul lo cual se puede medir manualmente o automáticamente a una longitud de onda de 660 nm. En este método se usa un autoanálizador para automatizar el proceso.

Reactivos

1. Tartrato de sodio y potasio ($C_4H_4O_6KNa \cdot 4H_2O$).
2. Citrato de sodio ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$).
3. Solución Buffer.
Disuelva 33 g de tartrato de sodio y potasio en 800 ml de agua. Añada 24 g de citrato de sodio y disuelva. Calibre el pH a 5.2 con ácido clorhídrico y complete a volumen de 1 l. Mezcle bien.
4. Hidróxido de sodio (NaOH).
5. Salicilato de sodio ($C_7H_5NaO_3$).
Disuelva 25 g de NaOH en 50 ml de agua. Añada 700 ml más de agua, adicione 80 g de salicilato de sodio. Disuelva, complete a 1 l con agua y mezcle bien. Esta solución es estable por una semana.
6. Nitroprusiato de sodio ($Na_2[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$).
Disuelva 1 g de nitroprusiato de sodio en 800 ml de agua. Complete a 1 l y mezcle. Esta solución es estable por una semana.
7. Dicloroisocianurato de sodio ($C_3N_3O_3Cl_2Na \cdot 2H_2O$).
Disuelva 2 g del dicloroisocianurato de sodio en 800 ml de agua. Complete a 1 l y mezcle. Esta solución es estable por una semana.
8. Solución para lavar el sistema
Cloruro de potasio (KCl) 1 M.
Pese 74.56 g de KCl y disuelva en 500 ml de agua. Complete a un volumen de 1 l con agua.

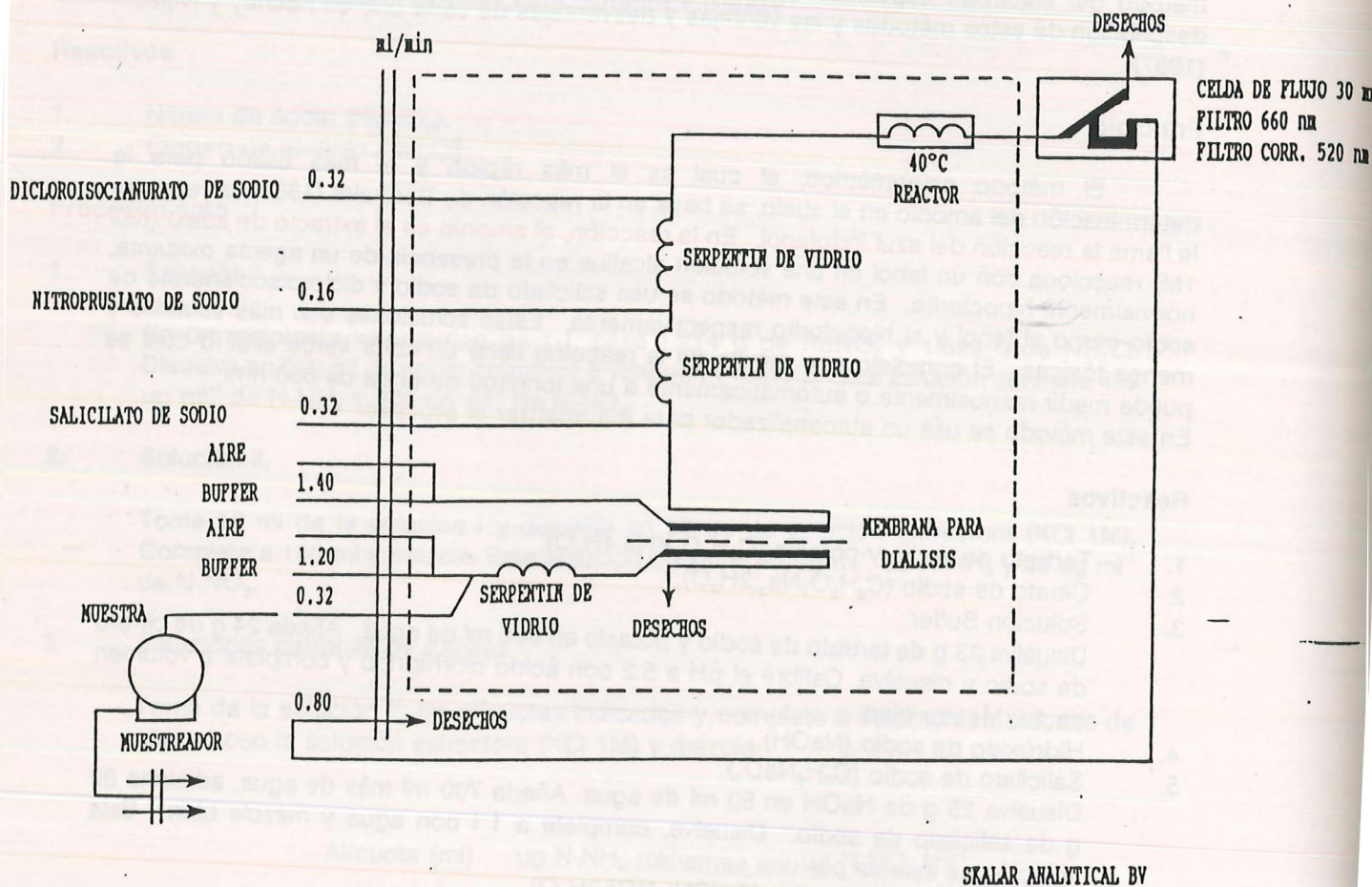


FIGURA 1. Diagrama de Flujo - Amonio

Análisis de Suelo. Determinación de Nitrato y Amonio en Suelo.

Procedimiento

El sistema que se utiliza en esta descripción es el de Skalar Instruments y la Figura 1 muestra el diagrama de flujo.

Los patrones y muestras se presentan al sistema bajo los siguientes ajustes:

1. Tiempo de toma de muestra 60 segundos
 2. Tiempo de lavado 60 segundos
 3. Tiempo para aire 1 segundo
 4. Registrador 200 mv
 5. Tiempo de estabilización 15 minutos
- La sensibilidad del patrón más concentrada (10 ppm N) es 500 unidades de absorción.

Comentarios

1. Vea las instrucciones del autoanalizador para mantener el sistema.

D. Determinación de Nitrato

Introducción

El nitrato se puede determinar directamente por métodos colorimétricos como el ácido fenoldisulfónico (Bremner, 1965), la Brucina (Baker, 1969), o el ácido cromotrópico (Sims y Jackson, 1971). También se puede estimar por reducción a amonio y la subsecuente determinación por destilación (Bremner and Keeney, 1966), o por el método de microdifusión de Conway (Stanford et al., 1973). Hay una buena descripción de estos métodos en Keeney y Nelson (1987).

Debido al éxito del método de Griess-Ilosvay (Bremner, 1965) para determinar nitrito, frecuentemente se mide el nitrato, después de una reducción a nitrito. Existen varios métodos para reducir el nitrato a nitrito (Keeney y Nelson, 1987). Entre ellos existen varios métodos que usan reductores metálicos como limaduras de cobre/cadmio (Henriksen y Selmer-Olsen, 1970), alambre de cobre/cadmio (Stainton, 1974), y alambre de aleación de cadmio/plata (Willis & Gentry, 1987).

Principio

El método es automatizado y el nitrato se determina en el extrato (KCl 1M) después de una reducción a nitrito (NO_2^-). Se pasa el extracto a través de una columna que contiene limaduras de cobre/cadmio. El nitrito se determina por la reacción de Griess-Ilosvay (Bremner, 1965) en la cual el nitrito reacciona con sulfanilamida formando una sal diazo que luego es enlazada con N-1 naftilendiamino para formar un compuesto azo con el color rosa.

Reactivos

1. Cloruro de amonio (NH_4Cl).
2. Solución de amoniaco (NH_4OH 25%).
3. Solución Buffer
Pese 25 g de cloruro de amonio (NH_4Cl) en 800 ml de agua, ajuste a pH 8.2 con solución de amoniaco, complete a 1 l y agite bien.
4. Acido ortofosfórico 85% (H_3PO_4).
5. Sulfanilamida ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$).
6. α -naftiletildiamino ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$).
7. Reactivo de color
Diluya 150 ml de ácido ortofosfórico 85% en 800 ml de agua. Adicione 10 g de sulfanilamida y 0.5 g de α -naftiletildiamino. Disuelva, complete a 1 l y mezcle bien. Almacene ésta solución en un recipiente ámbar.
8. Solucion para lavar el sistema
Agua
9. Reactivos para la activación de la columna.
A. Acido clorhídrico (HCl) 4 M.
Tome 400 ml de HCl 32% y agregue 600 ml de agua.
B. Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0.11 m.
Pese 20 g de sulfato de cobre y disuelve en 800 ml de agua. Complete a 1 l.
10. Limaduras de cadmio 2.5 g (0.3-1.0 mm).
Mezcle las limaduras con 30 ml del HCl por 1 minuto. Lave bien con agua y agregue 50 ml del $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y agite por 5 minutos. Lave de nuevo y después seque con papel filtro. Llene la columna con las limaduras activadas hasta unos 5 mm de la boca. Tape y con una jeringa llene la columna con la solución buffer. Coloque la columna en el sistema.

Procedimiento

El sistema que se utiliza es el de Skalar Instruments y la Figura 2 muestra el diagrama de flujo.

Los patrones y muestras se presentan al sistema bajo los siguientes ajustes:

1. Tiempo de toma de muestra 60 segundos
2. Tiempo de lavado 60 segundos
3. Tiempo para aire 1 segundo
4. Registrador 500 mV
5. Tiempo de estabilización 20 minutos

La sensibilidad del patrón mas concentrado (20 ppm N) es de 1140 unidades de absorción.

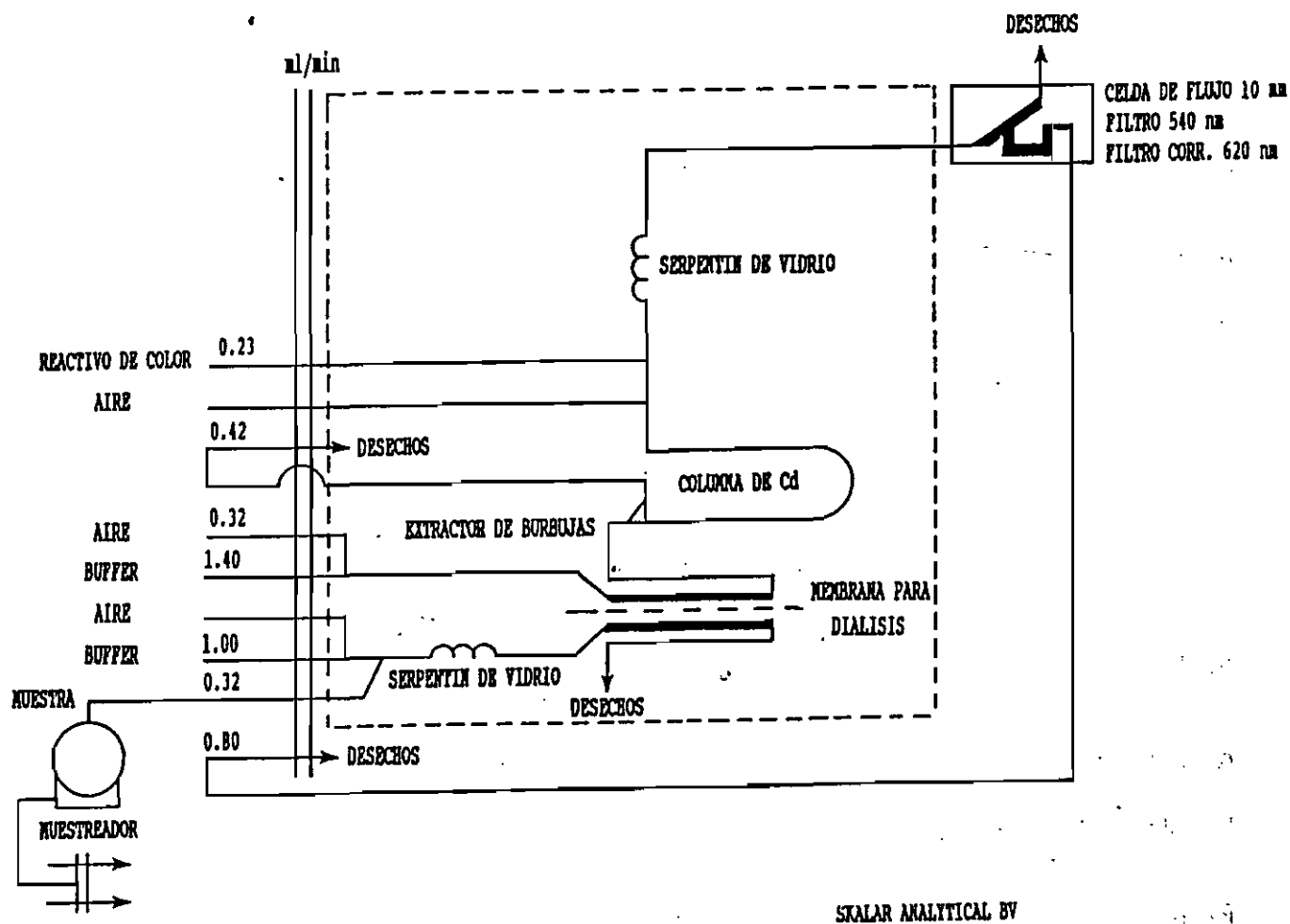


FIGURA 2. Diagrama de Flujo - Nitrato

Análisis de Suelo. Determinación de Nitrato y Amonio en Suelo.

Comentarios

1. Vea las instrucciones del autoanalizador para mantener el sistema.
2. No deje que entre aire a la columna.
3. Se puede almacenar las limaduras activadas en una botella.
4. Hierro y cobre pueden interferir causando resultados negativos en el análisis de nitrato. Añada 1 g de EDTA Na₂ por cada litro de buffer para evitar interferencias.
5. Con un autoanalizador de dos canales se puede leer nitrato y amonio simultáneamente en el extracto de KCl.

Bibliografía

- Baker, A.S. 1969. Colorimetric determination of nitrate in soil and plant extracts with brucine. J. Agric. Food Chem. 17 802.
- Berthelot, M. 1859. Violet d'aniline. Repert. Chim. Appl. 58 284.
- Bremner, J.M. 1965. Inorganic forms of nitrogen. En Methods of Soil Analysis, Part 2. Agron 9. C.A. Black et al.(eds).
- Bremner, J.M. y Keeney, D.R. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils:3. Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 30 577-582.
- Bremner, J.M. y Tabatabai, M.A. 1972. Use of an ammonia electrode for the determination of ammonium in Kjeldahl analysis of soils. Comm. in Soil Sci. and Plant Anal. 3 159-164.
- Buckman, H.O y Brady, N.C. 1977. La economía del nitrógeno en suelos. Capítulo 16. En Naturaleza y Propiedades de los Suelos.
- Greweling, T. y Peech, M. 1960. Chemical Soil Tests. Cornell Exp. Stn. Bull. 960.
- Henriksen, H. y Selmer-Olsen, A.A. 1970. Automatic methods for determining nitrate and nitrite in water and soil extracts. Analyst 95 514-518.
- Keeney, D.R. y Nelson, D.W. 1987. Nitrogen- Inorganic Forms. Capítulo 33 en Methods of Soil Analysis, Part 2. Agron 9. A.L. Page, R.H. Miller y D.R. Keeney (eds).
- Nelson, D.W. y Bremner, J.M. 1972. Preservation of soil samples for inorganic nitrogen analysis. Agron. J. 64 196-199.
- Sims, J.R. y Jackson, G.D. 1971. Rapid analysis of soil nitrate with chromotropic acid. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 35 603-606.

Análisis de Suelo. Determinación de Nitrato y Amonio en Suelo.

Skalar Analytical BV. Breda, Holanda.

Stalnton, M.P. 1974. Simple, efficient reduction column for use in the automated determination of nitrate in water. *Anal. Chem.* 46 1616.

Stanford, G., Carter, J.N., Simpson Jr, E.C. y Schwaninger, D.E. 1973. Nitrate determination by a modified Conway microdiffusion method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 56 1365-1368.

Willis, R.B. y Gentry, C.E. 1987. Automated method for determining nitrate and nitrite in water and soil extracts. *Comm. In Soil Sci. and Plant Anal.* 18 625-636.

METODO 12

DETERMINACION DE LA TEXTURA DEL SUELO POR EL METODO DE BOUYOUCOS

Principio

Se usa el análisis mecánico (la clasificación por tamaño de las partículas del suelo) para evaluar la textura. Los dos métodos más comunes (el de pipeta y el de hidrómetro) se basan en la ley de Stokes (1851) que dice que hay una relación entre la velocidad de asentamiento y el diámetro de la partícula. El método del hidrómetro es menos exacto que el de la pipeta, pero es más rápido y es bastante preciso para propósitos agrícolas. El método descrito aquí se basa en el método de Bouyoucos (1962) usando un hidrómetro. El hidrómetro mide la disminución de la densidad de la suspensión debido al asentamiento de las partículas del suelo. Un pretratamiento es necesario para separar o dispersar los agregados del suelo en las partículas principales de arena, limo y arcilla. El pretratamiento puede ser químico o físico. En este procedimiento se usa una solución química.

Introducción

La textura es una de las propiedades más estable del suelo. Es un índice muy útil para indicar otras propiedades (químicas y físicas), las cuales pueden determinar su uso potencial en la agricultura.

La textura del suelo se compone de diferentes combinaciones de arena, limo y arcilla. Se puede estimar los porcentajes de arena, limo y arcilla en el suelo usando el método de Bouyoucos. En el método solo se toman dos lecturas y aunque esto no sea suficientemente detallado para hacer una buena clasificación de las partículas del suelo, es adecuado para una identificación de la clase de textura. Para identificar la textura del suelo usando los resultados de los porcentajes de arena, limo y arcilla presente, se usa el triángulo de textura (Figura 3).

Reactivos

1. Alcohol isoamílico ($C_8H_{18}O$).
2. Hexametáfosfato de sodio ($Na_6P_6O_{40}$).
3. Carbonato de sodio (Na_2CO_3).
4. Solución dispersante.
Pese 37.5 g de hexametáfosfato de sodio y 7.94 g de carbonato de sodio. Disuelva en 600 ml de agua y lleve a un volumen de 1 l.

Análisis de Suelo. Determinación de la Textura del Suelo por el Método de Bouyoucos.

Materiales

1. Unidad multimixer (batidora múltiple).
2. Cilindros de vidrio aforado en 1130 ml.
3. Hidrómetro.
4. Termómetro.

Procedimiento

1. Pese 40 g de suelo en el vaso del multimixer.
2. Agregue 50 ml de la solución dispersante.
3. Déjelo en reposo por 10 minutos.
4. Agregue 100 ml de agua y mezcle por 10 minutos.
5. Pase todo el contenido a un cilindro y, con el hidrómetro dentro del cilindro, complete con agua hasta 1130 ml.
6. Agite fuertemente por espacio de 20 segundos con una varilla en forma de pistón e introduzca el hidrómetro. Utilice el alcohol isoamílico en caso de que se produzca espuma.
7. Lea el hidrómetro a los 40 segundos corrigiendo la lectura en base a la temperatura de la suspensión (Tabla 4). Por ejemplo si la temperatura es 22° C, sume 0.86.
8. Vuelva a leer a las 2 horas, corrigiendo la lectura en base a la temperatura.
9. Aparte y al mismo tiempo, pese 5 g del suelo en cajas metálicas y colóquelas en un horno a 105° C por 24 horas.

TABLA 4. Factores de corrección en base de la temperatura de la suspensión.

TEMPERATURA (°C)	FACTOR DE CORRECCION
14	-1.46
16	-0.98
18	-0.44
19.44 (67°F)	0.00
20	+0.18
21	+0.52
22	+0.86
23	+1.23
24	+1.61
25	+2.00
26	+2.41
27	+2.85
28	+3.28
29	+3.74
30	+4.20

Análisis de Suelo. Determinación de la Textura del Suelo por el Método de Bouyoucos.

Comentarios

1. *A veces es necesario eliminar la materia orgánica usando peróxido de hidrógeno como pretratamiento.*
2. *A diferencia del método de la pipeta, el método del hidrómetro permite un muestreo indestructible de la suspensión y también se puede hacer varias medidas.*
3. *En el campo se puede hacer una estimación de la textura del suelo sin ningún equipo: Se denomina textura al tacto.*

Cálculos

PSS = peso de suelo seco.

PSH = peso de suelo húmedo (40g).

MS 40" = materia en suspensión a los 40 segundos (100 g⁻¹ suelo seco).

MS 2H = materia en suspensión a las 2 horas (100 g⁻¹ suelo seco).

PSS = (5g -humedad) X 8.

MS 40" = lectura corregida 40 " /PSS X 100.

MS 2H = lectura corregida 2H /PSS X 100 = % Arcilla.

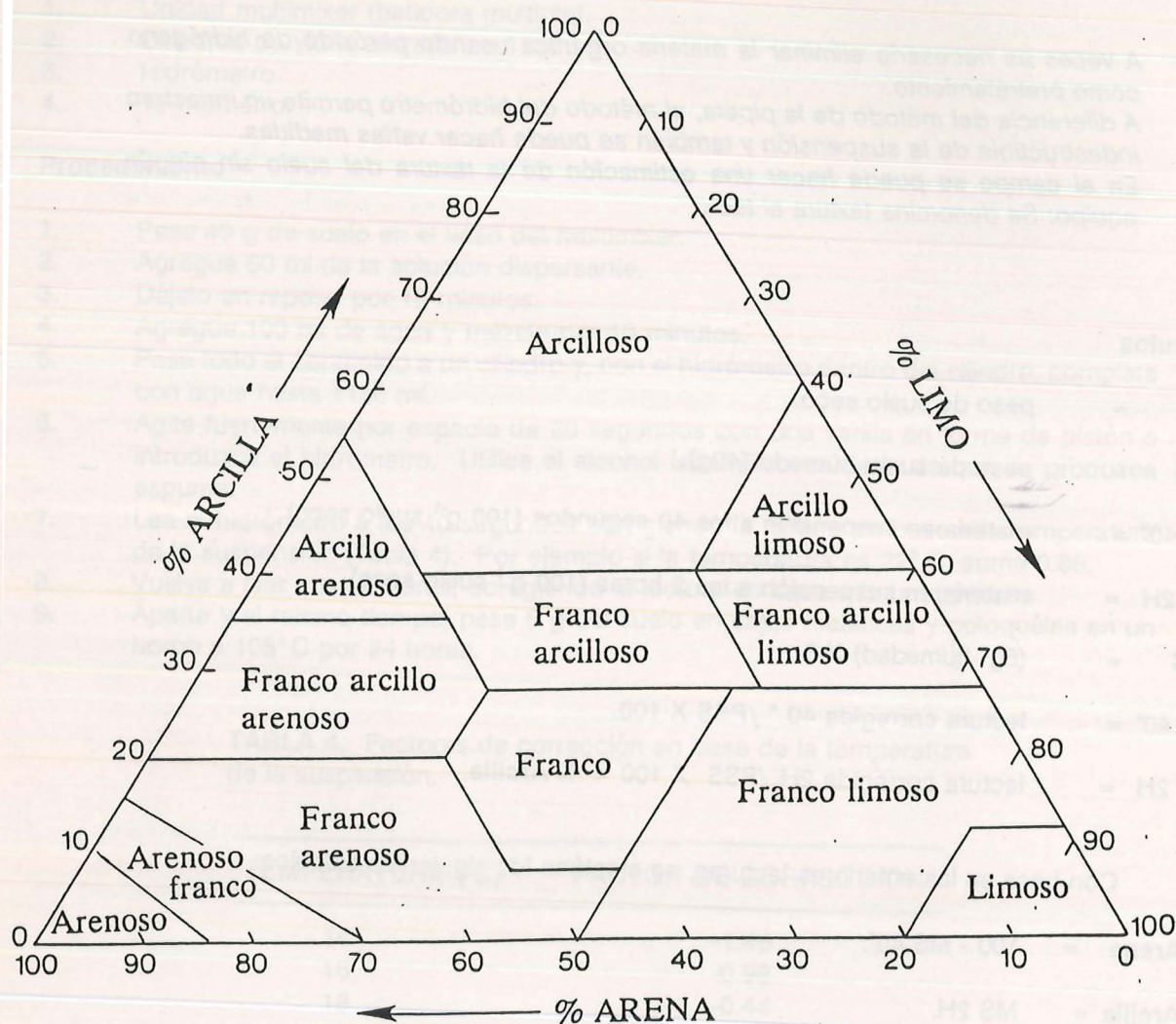
Con base en las anteriores lecturas, se efectúan los siguientes cálculos:

% Arena = 100 - MS 40".

% Arcilla = MS 2H.

% Limo = MS 40"-MS 2H.

Usando el triángulo en la Figura 3 y los datos obtenidos se puede averiguar cuál es la textura del suelo.



Arena 2-0.05 mm; Limo 0.05-0.002 mm; Arcilla <0.002mm.

FIGURA 3. Triángulo para determinar la textura del suelo a partir del análisis mecánico. La composición de las clases de textura son definidos por el USDA.

Análisis de Suelo. Determinación de la Textura del Suelo por el Método de Bouyoucos.

Bibliografía

Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agron. J. 54 464-465.

Stokes, G.G. 1851. On the effect of lateral friction of fluids on the motion of pendulums. Trans. Cambridge Phil. Soc. 9 8-105.

INTRODUCCION AL ANALISIS DE TEJIDO VEGETAL

Algunos de los objetivos del análisis de plantas son los siguientes:

1. Diagnosticar o confirmar síntomas de deficiencia o toxicidad de un elemento en la planta.
2. Indicar la cantidad de nutrientes del suelo que hayan sido aprovechados por la planta.
3. Indicar la interrelación entre los nutrientes.

Existen 16 elementos que son esenciales para el crecimiento de la planta. Los elementos que se requieren en cantidades mayores son calcio, magnesio, nitrógeno, fósforo, potasio y azufre. Los elementos menores son boro, cloruro, hierro, manganeso, molibdeno y zinc. Hay otros que pueden ser necesarios como silicio y níquel y otros que afectan el crecimiento pero que no son esenciales como sodio, cobalto, selenio, aluminio y vanadio.

Igual que el análisis de suelo, el análisis de tejido tiene varias etapas:

1. El muestreo
2. La preparación de la muestra
3. El análisis químico
4. La interpretación de los resultados

1. El Muestreo

El muestreo es una parte muy importante del análisis. Se debe tener en cuenta la especie de la planta, su edad, la parte de la planta muestreada y el tiempo de muestreo porque todos pueden afectar la interpretación de los resultados.

Normalmente no se muestrea toda la planta sino una parte. Diferentes partes de la planta contienen diferentes concentraciones de algunos elementos. La hoja es el sitio de las transformaciones bioquímicas las cuales son esenciales para la vida de la planta. Cuando no hayan instrucciones específicas para el muestreo, se muestrea las hojas maduras evitando las hojas que estén infectadas, muertas etc. El análisis de la hoja generalmente incluye el pecíolo. Para identificar un síntoma de deficiencia o toxicidad, normalmente se muestrean unas hojas enfermas y unas sanas.

La precisión que se necesita determina el número de hojas y el número de plantas para seleccionar. Como en el muestreo de suelo, se toma una muestra compuesta para reflejar mejor la variabilidad entre plantas. Cuando las plantas estén bajo estrés hay más variabilidad. Cuando las plantas estén viejas la concentración de algunos elementos en las hojas cambia.

2. La Preparación de la Muestra

Se lleva la muestra al laboratorio en el menor tiempo posible para evitar cambios químicos en la muestra. La preparación incluye la descontaminación o limpieza de la muestra para eliminar contaminaciones de suelo, polvo o químicos. Si es necesario se lavan las muestras frescas en agua deionizada o en una solución (0.1%) de detergente con bajo contenido de fósforo y se enjuaga con agua. Después de la limpieza se seca en un horno (70°C) normalmente en bolsas de papel. Se muele con un molino de laboratorio tratando de evitar contaminación. Si la muestra contiene alto contenido de azúcar o almidón es mejor secarla por congelación. Después de secar y moler la muestra se pone en un recipiente y se envía al laboratorio para el análisis.

3. El Análisis

Para analizar los elementos presente en el tejido hay que destruir la materia orgánica por medio de una digestión ácida o una calcinación. Esto convierte los elementos a una forma más fácil de analizar.

4. La Interpretación de los Resultados

La Interpretación de un análisis de tejido es menos complicada que la de suelo porque se analiza el contenido total del elemento y no solamente una fracción. Pero, cada especie es fisiológicamente diferente y la acumulación y la distribución de los elementos dentro de la planta varían (Howeler, 1983). La interpretación debe incluir tanta información como sea posible: síntomas visibles de deficiencia o toxicidad, información del análisis de suelo etc. Los resultados son comparados con tablas de estándares para averiguar el rango crítico, el rango suficiente o con otro índice. Investigaciones han establecido niveles críticos, suficientes u óptimos para muchos cultivos y también niveles de toxicidad y deficiencia. Hay que tener en cuenta que estos niveles o rangos pueden variar entre suelos y climas y son calculados muchas veces cuando se piensa que hay solamente un elemento que está limitando el crecimiento de la planta. La Tabla 5 muestra concentraciones, las cuales han sido encontradas suficientes para un buen crecimiento de los cultivos que se analizan en el LSA. Debido que estos niveles pueden variar con las circunstancias, debe utilizar la tabla solo como una guía en la interpretación de los resultados. Reuter y Robinson (1986) y Benton-Jones, *et. al.*, (1991) tienen varias tablas más completas que muestran niveles de nutrientes en muchos cultivos, árboles, frutas y verduras.

TABLA 5. Las concentraciones de algunos elementos en los cultivos analizados por el LSA las cuales son necesarias para un buen crecimiento.*

ELEMENTO	GRAMINEAS FORRAJERAS	LEGUMINOSAS FORRAJERAS	ARROZ	FRIJOL	MAIZ	YUCA
N %	2.5	3.5	3.0-4.0	3.8-5.5	2.8-3.5	5.1-5.8
P %	0.15-0.20	0.15-0.20	0.20-0.35	0.21-0.30	0.25-0.40	0.36-0.50
K %	1.50	1.86	1.70-2.20	1.20-2.50	1.71-2.25	1.3-2.0
Ca %	0.40-0.80	1.07	0.24-0.40	2.50-3.50	0.21-0.50	0.75-0.85
Mg %	0.20-0.40	0.38	0.08-0.15	0.35-0.55	0.21-0.40	0.29-0.31
S %	0.1	0.15	-	0.35	-	0.26-0.30
B ug/g ⁻¹	-	-	-	21-35	6-25	30-60
Mn ug/g ⁻¹	-	-	-	150-400	20-150	6-10
Fe ug/g ⁻¹	-	-	-	250-500	21-250	120-140
Cu ug/g ⁻¹	-	-	-	6-18	6-20	50-120
Zn ug/g ⁻¹	25	25	25-50	46-60	21-70	30-60
PARTE DE LA PLANTA	LA PARTE AEREA INME- DIATAMENTE ANTES DE LA FLORACION.	LA PARTE AEREA INME- DIATAMENTE ANTES DE LA FLORACION.	LAMINA FOLIAR AL MA- COLLA- MIENTO.	HOJAS SUPERIO- RES BIEN DESARRO- LLADAS AL INICIO DE LA FLORA- CION.	HOJA DE MAZORCA A INICIA- CION DEL CABELLO.	LAMINAS FOLIARES MAS JOVE- NES EXPAN- DIDAS.

FUENTE: HOWELER (1983); SANZ SCOVINO (PC); THUNG (PC).

*Estas concentraciones sólo deben servir como una guía en la interpretación de los resultados de análisis de tejido.

Introducción al Análisis de Tejido Vegetal.

La concentración crítica es el índice más usado en la interpretación de análisis de plantas pero existen otros índices útiles, por ejemplo la relación entre nutrientes. El índice de DRIS (Diagnosis and Recommendation Integrated System), introducido por Beaufils (1973), es para el análisis de suelos y plantas y se basa en las relaciones entre nutrientes, por ejemplo nitrógeno:fósforo (N:P). El DRIS se desarrolló para dar un diagnóstico válido indiferente de la edad de la planta, para clasificar los nutrientes en su orden limitante y para dar énfasis en la importancia del equilibrio o relación de los nutrientes. Se encuentran unas reseñas del DRIS en Benton-Jones *et. al.* (1991) y Jones (1981).

La Variabilidad en los Resultados

Normalmente hay menor variabilidad en los resultados del análisis de tejido que en los de suelo debido al tipo de análisis. Igual que el análisis de suelo la variabilidad más grande se encuentra en la muestra misma. Los otros errores vienen del muestreo, sub-muestreo, el análisis y en los instrumentos de análisis (Vea la Introducción al Análisis de Suelo).

La variación encontrada en la muestra depende de la especie de planta, la época de muestreo, la edad de la planta y la interacción de nutrientes. El ambiente también puede causar variabilidad en los resultados. Por ejemplo, el clima, la temperatura y la aereación del suelo, la calidad de agua y enfermedades y plagas pueden cambiar la concentración de elementos en la planta.

Es más fácil tener estándares para el análisis de tejido que para suelos. En el análisis de tejido no hay mucha variabilidad en la metodología y por esta razón es más fácil comparar los resultados con otros laboratorios. Los programas de Intercambio han tenido mucho éxito en este respecto.

Resumen

La concentración de los elementos en el tejido puede identificar problemas de nutrición pero no puede identificar la causa. Una combinación del análisis de suelo y tejido puede suministrar información valiosa para la nutrición de la planta.

Bibliografía

- Beaufils, E.R. 1973. Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS). Soil Sci. Bulletin 1. Dept. of Soil Sci. and Agrometeorology. Univ. of Natal, Pietermaritzburg, South Africa.
- Benton-Jones, J. Jr., Wolf, B. y Mills, H.A. 1991. Plant Analysis Handbook - A practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide.

Introducción al Análisis de Tejido Vegetal.

Howeler, R.H. 1983. Análisis del Tejido Vegetal en el Diagnóstico de Problemas Nutricionales. Algunos Cultivos Tropicales. CIAT, Cali, Colombia.

Jones, C.A. 1981. Proposed modifications of the Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS) for Interpreting plant analysis. Commun. in Soil Sci. and Plant Anal. 12 785-794.

Reuter, D.J. y Robinson, J.B. (eds). 1986. Plant Analysis - An Interpretation Manual.

Sanz Scovino, J.I. (pc). Soil Scientist, Programa de Sabanas, CIAT.

Thung, M. (pc). Soil Scientist, Programa de Frijol, CIAT, Brazil.

METODO 13

DESCOMPOSICION DE TEJIDO VEGETAL

Principio

La destrucción de la materia orgánica del tejido es necesaria antes de analizar los elementos totales. Los varios procedimientos que se usan destruyen la materia orgánica — convirtiendo los elementos en unas formas más solubles.

Introducción

Se puede hacer la destrucción de la materia orgánica de dos maneras principales : Digestión con ácidos o calcinación a una temperatura alta. Existen muchas variaciones en ambos métodos. La duración y la temperatura de ambos métodos varían. Se puede digerir la muestra en una mezcla de varios ácidos, los más comunes son ácido sulfúrico, ácido perclórico y ácido clorhídrico. Hay controversia entre las ventajas y desventajas entre los dos métodos (Benton-Jones, 1989). Algunos elementos, como el boro, solo pueden ser analizados después de calcinación. Otros, como el azufre, a veces se volatilizan durante el proceso de calcinación y deben ser analizados después de digestión. La automatización del proceso de digestión se puede hacer con más facilidad pero, el proceso de calcinación usa menos reactivos. El método que se escoja depende de las facilidades del laboratorio, el material para analizar, los elementos para medir y la cantidad de muestras.

A. Digestión Ácida

Para medir Ca, Mg, K, P, Zn, Cu, Mn, Fe, Al, Na y S:

Reactivos

1. Acido nítrico 65 % (HNO_3).
2. Acido perclórico 70 % (HClO_4).
3. Acido clorhídrico 6M (HCl).
Tome 496.7 ml de HCl concentrado (37%) y complete con agua a un volumen de 1l.
4. La mezcla ácida para la digestión.
Prepare una solución de los ácidos nítrico (65%) y perclórico (70%) en proporción 2:1. Se necesita 5 ml de esta mezcla por cada muestra.

Procedimiento

1. Pese 0.25 g de la muestra en tubos de digestión "TAYLOR" de 50 ml.
2. Agregue 5 ml de la mezcla ácida (nítrico-perclórico 2:1).

Análisis de Tejido Vegetal. Descomposición de Tejido Vegetal.

3. No digeste las muestras inmediatamente después de agregar la mezcla ácida. Es preferible que la agregue la tarde anterior.
4. Coloque los tubos en un digestor de estilo bloque a una temperatura de 220 °C.
5. Deje la muestra hasta que empiece a soltar humo blanco. Esto tarda aproximadamente 2 horas.
6. Baje la muestra y deje enfriar.
7. Complete a un volumen de 25 ml con agua.
Para el análisis de S, ponga 3 ml de HCl 6 M antes de completar a 25 ml.
8. Tape los tubos y agítelos.
9. Tome alícuotas de la solución y analízela mediante los métodos apropiados.

Comentarios

1. *El ácido perclórico es un oxidante fuerte y es explosivo cuando se calienta. Debe tenerse cuidado para que la muestra no se seque durante la digestión. Use una cabina especial cuando trabaja con este ácido.*
2. *Cuando se digesten muestras que pasen de 0.5 g y que contengan bastante materia orgánica (ej: muestras de hígado), agregue 5 ml de ácido nítrico un día antes de digerir. Al otro día digéstela evitando sequedad de la muestra, teniendo en cuenta iniciar con calentamiento lento. Deje enfriar para agregar los 5 ml de la mezcla ácida y digéstela. Complete a un volumen de 12.5 ml con agua.*
3. *Otros procedimientos con ácidos usan vasijas de teflon cerrados (Topper y Kotuby-Amacher, 1990), micro-ondas (White y Douthil, 1985) y radiación ultravioleta (Ogner, 1983).*

B. Calcinación

Para medir Ca, Mg, K, P, Zn, Cu, Mn, Fe, Al y Na:

Para medir B vea el método 18.

Reactivos

1. Ácido clorhídrico 0.3 M (HCl).
Tome 24.83 ml de HCl concentrado (37%) y complete con agua a un volumen de 1 l.
Se necesita 25 ml por cada muestra.

Procedimiento.

1. Pese 0.25 g de la muestra en un crisol de porcelana.
2. Coloque en una mufla a una temperatura de 500°C por 2 horas. No ponga los crisoles muy cerca de las paredes de la mufla.
3. Saque la muestra de la mufla y deje enfriar.

Análisis de Tejido Vegetal. Descomposición de Tejido Vegetal.

3. Saque la muestra de la mufla y deje enfriar.
4. Disuelva la ceniza en 25 ml de HCl 0.3 M y transfiera a un tubo de ensayo.
5. Tape el tubo y agite la solución.
6. Tome alícuotas de la solución y analícela mediante los métodos apropiados.

Comentarios

1. Hay posibilidad de contaminación de Al cuando se use crisoles de porcelana.

Bibliografía

- Benton-Jones, J. 1989. Plant Analysis Techniques. Benton-Jones Laboratories. Georgia, USA.
- Ogner, G. 1983. Digestion of plants and organic soils using nitric acid, hydrogen peroxide and UV radiation. Comm. In Soil Sci. and Plant Anal. 14 936-943.
- Topper, K. y Kotuby-Amacher, J. 1990. Evaluation of a closed vessel acid digestion method for plant analyses using inductively coupled plasma spectrometry. Comm. In Soil Sci. and Plant Anal. 21 1437-1455.
- White, R.T., Jr. y Douthil, G.E. 1985. Use of microwave oven and nitric acid-hydrogen peroxide digestion to prepare botanic materials for elemental analysis by inductively coupled argon plasma emission spectroscopy. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68 766-769.

METODO 14

DETERMINACION DE CALCIO, MAGNESIO, POTASIO Y SODIO EN TEJIDO VEGETAL.

Principios

El contenido total de Ca, Mg, K y Na se determina después de la destrucción de la materia orgánica en el tejido por medio de una digestión ácida (Método 13A) o una calcinación (Método 13B). Para medir los niveles de los elementos, se usa el procedimiento de absorción atómica (Método 20A).

Introducción

El calcio es importante en la nutrición de la planta para combatir toxicidades de metales pesados. También mantiene la permeabilidad de las membranas de las células y tiene un papel en la activación de unas enzimas. El contenido de calcio en tejido puede variar de 0.20 a 3.00 % del peso seco. En el caso de una deficiencia de calcio los puntos de crecimiento de las hojas y las raíces mueren. Un exceso de calcio produce una deficiencia de magnesio o potasio.

El magnesio es un componente de la clorofila y un cofactor de unas enzimas. Su contenido en la planta varía de 0.15 a 1.00 %. Un síntoma de la deficiencia de magnesio es el amarillamiento de las hojas más viejas y una clorosis intervenal. Un exceso del elemento no induce síntomas pero el desequilibrio de nutrientes puede causar un crecimiento reducido.

El potasio es uno de los elementos mayores en la nutrición de la planta. Tiene un papel muy importante en el uso eficiente del agua en la planta y en la síntesis de algunas proteínas. El contenido de potasio en la planta puede estar entre 1 y 5 % del peso seco. Un síntoma de la deficiencia de potasio es la deshidratación de la planta y baja resistencia a la sequía. También las hojas viejas parecen quemadas y la planta puede ser más sensible a las enfermedades. El exceso del elemento puede causar una deficiencia del magnesio o posiblemente del calcio.

El sodio no tiene un papel esencial en la planta, pero en algunas circunstancias de deficiencia de potasio, el sodio puede reemplazarlo. En los suelos alcalinos, el contenido de sodio en la planta puede llegar a ser alto y esto resulta en enfermedades fisiológicas.

Reactivos

1. Vea los Métodos 13A o 13B y el Método 20A.

Procedimiento

- 1. Para la destrucción de la materia orgánica, vea el Método 13A o 13B.
- 2. Para la determinación del contenido de los elementos, vea el Método 20A 1, 2 y 3.

Análisis de Tejido. Determinación de los Micronutrientes (Cu, Mn, Fe y Zn) en tejido vegetal.

METODO, 15

DETERMINACION DE LOS MICRONUTRIENTES (Cu, Mn, Fe Y Zn) EN TEJIDO VEGETAL.

Principio

El contenido total de los micronutrientes se determina después de la destrucción de la materia orgánica en el tejido por medio de una digestión ácida o una calcinación (Métodos 13A o 13B). Para medir los elementos, el procedimiento más común es el de absorción atómica (Método 20A).

Introducción

El micronutriente cobre (Cu) es esencial en el metabolismo de la planta. Tiene un papel en la fotosíntesis, en la formación de clorofila y en la fijación de nitrógeno. El contenido de Cu en la planta puede variar de 3 a 25 $\mu\text{g g}^{-1}$ del peso seco. Una deficiencia de Cu causa un crecimiento reducido y necrosis de las hojas más jóvenes debido a la inmovilidad del Cu en la planta. Un exceso produce los síntomas de una deficiencia de hierro y una reducción en el crecimiento de las raíces.

El zinc (Zn) tiene un papel importante en algunas funciones enzimáticas. También es esencial para la producción de clorofila. El contenido de Zn en la planta varía entre 15 y 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ del peso seco. Un síntoma de la deficiencia de Zn es la clorosis intervenal en las hojas más jóvenes. En plantas sensibles a hierro un exceso de Zn causa clorosis.

El manganeso (Mn) es esencial en el proceso de fotosíntesis. El elemento puede reemplazar al magnesio en algunas reacciones en la planta. La planta aprovecha el Mn del suelo en la forma de Mn^{2+} . El contenido en la planta normalmente varía entre 10 y 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ del peso seco, pero en algunas especies llega hasta 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$. Los síntomas de deficiencia de Mn ocurren en las hojas jóvenes como una clorosis intervenal. También puede causar manchas grises en los cereales o puntos de necrosis en leguminosas. La falta de Mn causa una reducción en el crecimiento de la planta y susceptibilidad a enfermedades por hongos. El exceso del elemento produce manchas oscuras con clorosis en las hojas viejas.

El hierro (Fe) es importante en las proteínas y para las reacciones enzimáticas en las plantas. La planta aprovecha Fe del suelo en la forma del ión ferroso (Fe^{2+}). El contenido en la planta se encuentra entre 10 y 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$ del peso seco. Una deficiencia de Fe causa clorosis en las hojas jóvenes. Un síntoma del exceso es el bronceado de las hojas.

Reactivos

1. Vea los Métodos 13A o 13B y el Método 20A.

Análisis de Tejido. Determinación de los Micronutrientes (Cu, Mn, Fe y Zn) en tejido vegetal.

Procedimiento

1. Para la destrucción de la materia orgánica, vea el Método 13A o 13B.
2. Para la determinación del contenido de los elementos, vea el Método 20A 4.

METODO 16

DETERMINACION DE FOSFORO EN TEJIDO VEGETAL

Principio

El contenido de fósforo total en tejido se determina después de una digestión con ácido o después de la calcinación de la muestra (Métodos 13A o 13B). El fósforo se convierte, por medio de oxidación, en la forma de fosfato, el cual se puede leer por colorimetría. Como en los suelos, el método más común para determinar el fósforo es el método de azul de molibdeno (Murphy y Riley, 1962). El método se basa en la producción de un complejo fosfomolibdico en una solución ácida, el cual es reducido por ácido ascórbico para formar un color azul. Es muy sensible y la intensidad del color azul varía con la concentración del fósforo en la solución.

Introducción

El fósforo es uno de los elementos mayores que es esencial para la planta. Algunas proteínas y enzimas en la planta necesitan fósforo y el elemento tiene un papel muy importante en el metabolismo y la estructura de la planta. La planta aprovecha el fósforo del suelo en la forma de los aniones fosfato dihidrógeno (H_2PO_4^-) o fosfato monohidrógeno (HPO_4^{2-}), dependiendo del pH del suelo. El contenido de fósforo en el tejido normalmente está entre 0.1 hasta 0.5 % del peso seco, pero en algunas cultivos llega hasta el 1 %.

Una deficiencia de fósforo causa un crecimiento lento de la planta. Las hojas viejas muestran un color verde oscuro con una pigmentación purpúrea. Los síntomas de un exceso del elemento se asemejan a las de algunas deficiencias de micronutrientes. El libro de Mengel y Kirkby (1982) tiene una descripción más detallada sobre el fósforo en la planta.

Reactivos

1. Solución de trabajo para desarrollo de color.
La preparación de las soluciones patrones (A y B) es descrita en la introducción de los métodos para determinar fósforo en el suelo (Método 7). La solución de trabajo tiene que ser preparada diariamente.
Tome 25 ml de la solución A y agregue 800 ml de agua. Mezcle bien y añada 10 ml de la solución B. Complete el volumen a 1 l con agua. Se necesita 18 ml de esta solución por cada muestra y patron.
2. Soluciones patrones de trabajo.
La preparación de la solución estandar de fósforo (50 ug ml^{-1}) es descrita en la introducción de los métodos para determinar fósforo en el suelo (Método 7). A partir de esta solución se prepara los patrones de trabajo.
Tome alícuotas de 0, 2.5, 5, 10, 20, 30 y 40 ml y diluya a 250 ml con agua. Estos patrones contienen 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 y 8 ug P ml^{-1} .

3. Patrón de fosfato.

Fosfato dibásico de calcio (CaHPO_4).

Digeste 0.1 g de CaHPO_4 en la misma manera de la muestra y lleve a un volumen de 50 ml. Diluya por 100 (tome 1 ml y complete a volumen de 100 ml) antes de tomar el alícuota para el desarrollo de color.

Procedimiento

1. Agite la muestra digestada por el método 13A o 13B.
2. Deje en reposo hasta que la solución esté clara.
3. Utilizando el dilutor (2/18), tome 2 ml de muestra, 2 ml de patrón de trabajo o 2 ml de patrón de fosfato y agregue 18 ml de la solución de trabajo para desarrollo de color.
4. Deje en reposo por 20 minutos.
5. Calibre el espectrofotómetro para leer concentración o absorbancia con los patrones de trabajo usando una longitud de onda de 660 nm.
6. Lea la muestra y el patrón de fosfato y calcule la concentración de fósforo en porcentaje (%).

Comentarios

1. *Para analizar el contenido de fósforo en aguas, suero o hueso se usa las mismas soluciones como para tejido.*
Agua : Tome 2 ml de alícuota y 18 ml de la solución de trabajo para desarrollo de color. Expresé la concentración de fósforo en $\mu\text{g P ml}^{-1}$ agua.
Sueros: De una solución diluido por 10 (1 ml de suero y 9 ml de agua), tome 2 ml y agregue 18 ml de la solución de trabajo para desarrollo de color. Calcule el contenido de fósforo en $\mu\text{g P ml}^{-1}$ suero.
Hueso: Digeste el hueso (X g) y lleve a un volumen de 100 ml. Diluya por 50 en agua y luego tome el alícuota de 2 ml. Calcule la concentración en el hueso en porcentaje (%) de fósforo.

Bibliografía

- Mengel, K. y Kirkby, E.A. 1982. Phosphorus. Capítulo 9. En Principles of Plant Nutrition. p 387-410.
- Murphy, J. y Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal-Chim. Acta. 27 31-36.

METODO 17

DETERMINACION DE AZUFRE EN TEJIDO

Principio

El contenido de azufre total en tejido se determina después de digestión con ácido (Método 13A). El azufre en el tejido se convierte por medio de oxidación en una sola forma, la cual es sulfato (SO_4^{2-}). Para medir el sulfato en el digestado, el método de turbidimetría es el más usado. Turbidimetría es la medida de la pérdida de la luz transmitida, debido a las partículas suspendidas en la solución. El método se basa en la baja solubilidad de sulfato de bario. Se agregan cristales de cloruro de bario al digestado para iniciar la formación de cristales de sulfato de bario. Se usa también gelatina para suspender el precipitado lo cual permite la medida de sulfato por turbidimetría.

Introducción

El azufre es un elemento esencial para la planta. La planta aprovecha el azufre del suelo en la forma de sulfato (SO_4^{2-}). Se usa para la síntesis de proteína y en su estructura y metabolismo. El contenido de azufre en tejido puede estar entre el 0.15% hasta el 0.50% del peso seco, pero los niveles varían entre especies y la edad de la planta.

El síntoma de deficiencia de azufre más común es un amarillamiento de las hojas más jóvenes debido a la inmovilidad del azufre en la planta. Este síntoma es muy parecido a una deficiencia de nitrógeno. Un síntoma de exceso de azufre es la senescencia prematura de las hojas.

En el libro de Mengel y Kirkby (1982), se puede encontrar una descripción más detallada sobre el azufre en la planta.

Reactivos

1. Solución semilla.
Sulfato de potasio, grado reactivo (K_2SO_4).
Acido clorhídrico (HCl) 37% (12.08 M).
Pese 0.1817 g de K_2SO_4 , añada 89.4 ml de HCl (37%) y complete a volumen de 2 l con agua.
2. Cloruro de bario ($\text{BaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$).
Vea comentario 1 abajo.
3. Gelatina "Gelatin Difco Certified".
Caliente 800 ml de agua a una temperatura entre 60-70°C y añada 0.8 g de gelatina. Deje enfriar con agitación suave y constante. En dos o tres horas, cuando esté a la temperatura ambiente, agregue 20 g de BaCl_2 y agite hasta cuando esté disuelto.
4. Acido clorhídrico 6 M (HCl).
A partir de HCl 37 % (12.08 M) tome 248.34 ml y complete a un volumen de 500 ml.

Análisis de Tejido. Determinación de Azufre en Tejido.

5. Ácido perclórico 70 % (HClO_4).
6. Solución patrón.
Prepare una solución de $1000 \text{ ug S ml}^{-1}$ a partir de K_2SO_4 . Pese 5.4354 g de K_2SO_4 y desuelva en 1 l de agua.
Tome una alícuota de 20 ml de esta solución patrón y complete a 250 ml con agua.
Esta solución contiene 80 ug S ml^{-1} .
7. Soluciones patrones de trabajo.
A partir de la solución patrón de 80 ug S ml^{-1} , tome alícuotas de $0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16$ y 24 ml , añada 3 ml de HClO_4 (70 %) y 6 ml de HCl (6 M). Complete a un volumen de 100 ml con agua. Estos patrones contienen $0, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4, 8.0, 9.6, 12.8$ y $19.2 \text{ ug S ml}^{-1}$.
8. Patrones de sulfato.
Sulfato de potasio K_2SO_4 y sulfato de sodio Na_2SO_4 .
Pese 0.1 g del sulfato, digeste en la misma manera como las muestras y complete a volumen de 50 ml . Tome 4 ml de alícuota del digestado, añada 12 ml de HCl 6M y complete a volumen de 100 ml con agua.

Procedimiento

1. Agite la muestra digerida por el Método 13A.
2. Deje en reposo hasta que la solución esté clara.
3. Tome una alícuota de 10 ml de la muestra, de los patrones de trabajo y del patrón de sulfato.
4. Adicione 10 ml de la solución semilla.
5. Agregue 4 ml de gelatina y agite suavemente la solución.
6. Deje en reposo por 20 minutos.
7. Calibre el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 420 nm en concentración o absorbancia y agítandolos nuevamente antes de leer.
8. Lea la turbidimetría de las muestras, agitando la solución nuevamente antes de leer.
9. Calcule la concentración de azufre en el tejido en porcentaje (%).

Comentarios

1. El cloruro de bario es muy tóxico. Debe manejar con guantes. El antídoto es una solución de sulfato de magnesio (MgSO_4) de 10 %.
2. Para analizar muestras de agua tome 10 ml de alícuota y utilice las mismas cantidades de las soluciones de semilla y gelatina como para tejido.

Bibliografía

Mengel, K. y Kirkby, E.A. 1982. Sulphur. Capítulo 8. En Principles of Plant Nutrition. p 369-386.

METODO 18

DETERMINACION DE BORO EN TEJIDO VEGETAL

Principio

El contenido de boro total en tejido se determina después de calcinación y extracción con ácido sulfúrico (Gaines y Mitchell, 1979). Se lee el boro en el extracto por colorimetría, usando el método de azometina-H. Es necesario agregar EDTA para eliminar interferencias y usar un buffer de acetato de amonio para llevar el pH del extracto entre 4.9 y 5.1. A este pH la azometina y el boro en solución forman un complejo estable, el cual tiene un color amarillo.

Introducción

El boro (B) es un micronutriente muy importante en las actividades celulares en la planta. La planta aprovecha el boro en el suelo en la forma de borato (BO_3^{3-}). El contenido de boro en la planta varía mucho entre especies y se pueden encontrar niveles desde 1 hasta 200 $\mu\text{g B g}^{-1}$ del peso seco.

Deficiencias de boro ocurren en más cultivos y bajo más condiciones climáticas que cualquier otro micronutriente. El boro es inmóvil en la planta y un síntoma de la deficiencia es un crecimiento anormal de los puntos de crecimiento de la planta.

El boro puede ser tóxico a niveles un poco más altos que lo normal y resulta en el amarillamiento en las puntas de las hojas, seguida por necrosis.

Se puede encontrar una descripción más detallada sobre el boro en el libro de Mengel y Kirkby (1982).

Se recomienda la calcinación de la muestra para determinar el boro puesto que el elemento se puede volatilizar durante la digestión con ácido. El método de azometina-H se prefiere, debido a su rapidez y confiabilidad.

Reactivos

1. Ácido sulfúrico 0.18 M (H_2SO_4)
Añada 10 ml de H_2SO_4 18 M (97%) a un recipiente de 1 l que contiene 500 ml de agua y llévelo a volumen.
2. Acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$).
3. Ácido acético (CH_3COOH).
4. Sal disódica de ethylenediamine tetra acético ácido (EDTA).
5. Ácido tioglicólico 98 % (HSCH_2COOH).

Análisis de Tejido. Determinación de Boro en Tejido Vegetal.

6. Solución Buffer.
Pese 400 g de acetato de amonio y agregue 260 ml de ácido acético. Añada 10.72 g de EDTA y 9.6 ml de ácido tioglicólico. Posteriormente agregue 640 ml de agua y agite bien.
7. Azometina-H.
8. Ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$).
9. Reactivo de color.
Pese 0.9 g de azometina y 2 g de ácido ascórbico, agregue 100 ml de agua y agite bien. Esta solución debe prepararse cada que se va a hacer la determinación.
10. Solución patrón.
Prepare una solución de 100 $\mu\text{g B ml}^{-1}$ a partir de H_3BO_3 . Pese 0.5716 g de H_3BO_3 y disuelva en 1 l de agua.
11. Soluciones patrones de trabajo.
A partir de la solución patrón tome alícuotas de 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, y 5 ml, agregue 50 ml de H_2SO_4 0.18 M y complete a un volumen de 100 ml con agua. Estos patrones contienen 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, y 5 $\mu\text{g B ml}^{-1}$.

Procedimiento

1. En crisoles de porcelana pese 0.5 g de muestra.
2. Calcine en una mufla a una temperatura de 550 °C durante 2.5 horas.
3. Sáquelos y déjelos enfriar.
4. Agregue 10 ml de H_2SO_4 0.18 M y agite manualmente, deje en reposo por 1 hora y luego filtre por gravedad.
5. Tome 2 ml del extracto o patrón de trabajo.
6. Agregue 4 ml de solución buffer y 2 ml del reactivo de color y agite.
7. Deje en reposo por 45 minutos.
8. Calibre el espectrofotómetro con los patrones de trabajo a una longitud de onda de 430 nm usando concentración o absorbancia.
9. Lea la muestra y calcule la concentración de boro en $\mu\text{g B g}^{-1}$ tejido.

Comentarios

1. Se usa el EDTA para evitar las interferencias de cobre, hierro y aluminio.
2. El color del complejo de azometina y el boro es más estable cuando se usa ácido ascórbico.
3. Se debe usar vidrio que no contenga boro.

Bibliografía

- Gaines, T.P. y Mitchell, G.A. 1979. Boron determination in plant tissue by the azomethine H method. *Comm. in Soil Sci. and Plant Anal.* 10 1099-1108.
- Mengel, K. y Kirkby, E.A. 1982. Boron. Capítulo 18. En *Principles of Plant Nutrition*. p 533-544.

METODO 19

DETERMINACION DE ALUMINIO EN TEJIDO VEGETAL

Principio

El contenido de aluminio total en tejido se determina después de una digestión con ácido o después de la calcinación de la muestra (Métodos 13B o 13B). En este método (Sandell, 1950), el aluminón (sal amónica del ácido aurín tricarbóxico) reacciona con el aluminio en la muestra para dar un complejo coloreado que se utiliza para determinar el aluminio por colorimetría.

Introducción

El contenido de aluminio (Al) en el tejido puede variar mucho dependiendo del suelo y el cultivo. En suelos ácidos la toxicidad debido a Al es común. Muchas veces el Al se concentra en las raíces de la planta y es aquí donde aparecen los primeros síntomas de toxicidad. El Al puede afectar el aprovechamiento de nutrientes por la planta y causar desequilibrios nutricionales. La toxicidad de Al puede tener la apariencia de una deficiencia de fósforo.

Este método es muy sensible y se pueden determinar cantidades tan pequeñas como 5 $\mu\text{g Al g}^{-1}$ en extractos de tejido. La interpretación de los resultados en tejido es difícil con respecto a la toxicidad debido a que mucho del aluminio se concentra en las raíces de la planta.

Reactivos

1. Aurín tricarbóxico de amonio ($\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_9$).
2. Goma de acacia o arabiga.
3. Acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$).
4. Ácido clorhídrico (HCl) 12M (36%).
5. Aluminón.
En recipientes separados, disuelva 1 g de Aurín tricarbóxico de amonio, 20 g de goma acacia, y 266.67 g de acetato de amonio en agua. Cuando cada uno de ellos esté disuelto, mezcle y añada 253.33 ml de HCl 12N (36%), agite, filtre y diluya a 2 l con agua.
6. Ácido tioglicólico (HSCH_2COOH) 1%.
Añada 1 ml de ácido tioglicólico (98%) a un recipiente de 100 ml y llévelo a volumen con agua.
7. Etanol absoluto.
8. Fenolftaleína 1%.
Disuelva 1 g de fenolftaleína en 60 ml de etanol absoluto y llévelo a volumen de 100 ml con agua.

9. Hidróxido de amonio (NH_4OH) 1%.
Disuelva 10 ml de NH_4OH concentrado en 1 l de agua.
10. Ácido perclórico (HClO_4).
11. Soluciones patrones de aluminio.
A partir de una solución stock de 1000 ug ml^{-1} de Al, prepare una de 100 ug ml^{-1} y otra de 10 ug ml^{-1} .
Tome 10 ml de la solución stock y lleve a un volumen de 100 ml con agua. Esta solución contiene 100 ug ml^{-1} .
Tome 1 ml de la solución stock y lleve a un volumen de 100 ml con agua. Esta solución contiene 10 ug ml^{-1} .
12. Soluciones patrones de trabajo.
A partir de la solución patrón de 10 ug ml^{-1} , tome 0, 2,5 y 5 ml, agregue 1 ml de ácido perclórico y complete a un volumen de 50 ml con agua.
A partir de la solución patrón de 100 ug ml^{-1} , tome 1, 2, 3, 4 y 5 ml, agregue 1 ml de ácido perclórico y complete a un volumen de 50 ml con agua.
Estas soluciones patrones de trabajo contiene 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 10 ug Al ml^{-1} .

Procedimiento

1. Transfiera 2 ml del extracto de tejido (Método 13A o 13B) a tubos graduados de 25 ml que contienen 2 o 3 gotas de fenolftaleína.
2. Agregue 8 ml del NH_4OH y 1 ml de ácido tioglicólico 1%.
Si al agregar los 8 ml de NH_4OH no se torna rosado, adicione amoníaco gota a gota hasta coloración.
3. Mezcle y adicione 5 ml de aluminón.
4. Caliente en un baño maría con el agua hirviendo durante 16 minutos.
5. Enfríe por un tiempo mínimo de una hora y media.
6. Lleve a un volumen de 25 ml con agua y agite bien.
7. Calibre el espectrofotómetro para leer absorbancia con los patrones de trabajo usando una longitud de onda de 465 o 537 nm (vea los comentarios).
8. Lea las muestras y calcule la concentración de Al en ug g^{-1} de tejido.

Comentarios

1. La longitud de onda de 537 nm es más sensible para muestras de bajo contenido de aluminio.
2. El ácido tioglicólico reacciona con el hierro y forma un complejo incoloro, esto previene interferencias de este elemento si la razón $\text{Fe:Al} \leq 20:1$.
3. El color del complejo de aluminio solo es estable por 24 horas.
4. Siempre hay un poco de color en el blanco.
5. Otro método colorimétrico es el que usa Eriocromocianina R en presencia de una cetoamina policíclica para formar un color rojo (Walinga *et. al.*, 1989).

Bibliografía

Sandell, E.B. 1950. Aluminum. En Colorimetric Determination of Trace Metals. 3rd Edition. pp 219-253.

Walinga, I., van Vark, W., Houba, V.J.G. y van der Lee, L.L. 1989. Plant Analysis Procedures. Soil and Plant Analysis, Part 7. Wageningen University, Netherlands.

METODO 20

DETERMINACION DE CALCIO, MAGNESIO Y LOS MICRONUTRIENTES (Cu, Mn, Fe y Zn) POR ABSORCION ATOMICA Y DE POTASIO Y SODIO POR EMISION EN LOS EXTRACTOS DE SUELO Y EN DIGESTADOS DE TEJIDO.

Principios

Para determinar los elementos Ca, Mg, Cu, Mn, Fe y Zn, el procedimiento más usado es el de absorción atómica. La técnica de espectrofotometría de absorción atómica se basa en el principio de que los átomos absorben luz a longitudes de onda características. Una lámpara de cátodo hueco (que tiene, como cátodo, el elemento para determinar) emite una línea de espectro que es característica del elemento. La muestra se atomiza en una llama y los átomos absorben energía a la línea resonante. Un monocromador aísla la onda resonante y descarta las otras radiaciones emitidas por la lámpara. La intensidad de absorción es medida con y sin la muestra y la concentración se calcula por medio de patrones.

Para determinar K y Na se usa el procedimiento de emisión. La emisión es el opuesto de absorción. La muestra es atomizada en una llama de alta temperatura para excitar los átomos. Los átomos excitados emiten radiación a longitudes de ondas características. Esta radiación es aislada de la otra radiación emitida por los átomos y se mide la intensidad.

Introducción

Se leen los contenidos totales de Ca, Mg, K y de los micronutrientes después de la descomposición del tejido por digestión ácida o por calcinación (Métodos 13A y 13B).

En suelos con un pH menor de 5.5, se lee Ca y Mg intercambiables después de extracción con una solución de KCl y K intercambiable después de extracción con una solución de Bray II (Métodos 6A1 y 6A2). Si el pH es mayor de 5.5 se lee Ca, Mg y K en el extracto de acetato de amonio (Método 6B1). Los micronutrientes disponibles en el suelo se determinan después de extracción con la solución de Mehlich (Método 8).

Reactivos

1. Patrones de 1000 ug ml⁻¹ de los elementos para determinar .
2. Óxido de lantano (La₂O₃) 5 %.
Pese 117.30 g de óxido de lantano, humedezca con en 200 ml de agua, agregue — lentamente y con agitación 500 ml de HCl 50 % (250 ml de agua más 250 ml de HCl concentrado); cuando esté frío complete a un volumen de 2 l con agua.
3. Solución de trabajo de óxido de lantano.
Tome 25 ml de la solución de óxido de lantano (5%) y complete a un volumen de 1 l. Se necesita 18 ml por cada muestra o patrón para los análisis de Ca y Mg.

TABLA 6. Parámetros para el equipo de absorción atómica.

Elemento	Corriente de lampara ma	Longitud de onda nm	slit
Ca	10-25	422.7	0.7
Mg	6-15	285.2	0.7
Cu	15-25	324.8	0.7
Zn	15-20	213.9	0.7
Mn	20-30	279.5	0.2
Fe	30	248.3	0.2
K	-	766.5	2.0
Na	-	589.0	0.7

Llama: aire acetileno. Tiempo de lectura: 1 segundo.

A. TEJIDO

1. Calcio y magnesio

Procedimiento

- Los patrones de trabajo: Las alícuotas de las soluciones de calcio y magnesio pueden ir en el mismo recipiente.
A partir de la solución patrón de 1000 ug ml⁻¹ de Ca tome alícuotas de 0, 1, 2.5, 5, 10, 15 y 30 ml. Diluya a 250 ml con agua. Estos estándares contienen 0, 4, 10, 20, 40, 60 y 120 ug Ca ml⁻¹ de solución.
A partir de la solución patrón de 1000 ug ml⁻¹ de Mg prepare una de 500 ug ml⁻¹ : Tome 50 ml y lleve a 100 ml con agua.
A partir de esta solución tome alícuotas de 0, 1, 2.5, 5, 10, 15 y 30 ml. Diluya a 250 ml con agua. Estos estándares contienen 0, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 ug Mg ml⁻¹ de solución.
- Utilizando el dilutor (2/18), tome 2 ml de la muestra (Método 13A o 13B) y agregue 18 ml de la solución de trabajo de óxido de lantano. Esta dilución se hace también a los estándares.
- Agite las muestras y lea el porcentaje de los elementos cuadrando el espectrofotómetro según los parámetros en la tabla 6.

2. Potasio

Procedimiento

1. Los patrones de trabajo.
A partir de la solución patrón de 1000 ug ml^{-1} de K, tome alícuotas de 0, 2.5, 5, 10, 15, 20 y 30 ml. Agregue 5 ml de ácido perclórico (HClO_4) y diluya a 250 ml con agua. Estos estándares contienen 0, 10, 20, 40, 60, 80 y 120 ug K ml^{-1} de solución.
2. Se hace la determinación de los porcentajes de K y Na en el tejido por emisión directamente en el digestado (Método 13A o 13B) e inmediatamente después de agitarlo. Según los parámetros de la tabla 6, se cuadra el espectrofotómetro para leer por emisión.

3. Sodio

Procedimiento

1. Los patrones de trabajo.
A partir de la solución patrón de 1000 ug ml^{-1} de Na, prepare una de 250 ug ml^{-1} : tome 25 ml y lleve a 100 ml con agua.
A partir de esta solución tome alícuotas de 0, 1, 2, 5, 10 y 20 ml y diluya a 250 ml con agua.
2. Se hace la determinación de los porcentajes de K y Na en el tejido por emisión directamente en el digestado (Método 13A o 13B) e inmediatamente después de agitarlo. Según los parámetros de la tabla 6, se cuadra el espectrofotómetro para leer por emisión.

4. Cobre, manganeso, hierro y zinc

Procedimiento

1. Los patrones de trabajo: Las alícuotas de las soluciones de los cuatro elementos pueden ir en un mismo recipiente.
Cu y Zn: A partir de las soluciones patrones de 1000 ug ml^{-1} prepare soluciones de 50 ug ml^{-1} : Tome 5 ml y lleve a 100 ml con agua.
A partir de estas soluciones tome alícuotas de 0, 2.5, 5, 10 y 20 ml. Agregue 5 ml de HClO_4 y diluya a 250 con agua. Estas estándares contienen 0, 0.5, 2, y 4 ug ml^{-1} .
Mn y Fe: A partir de las soluciones patrones de 1000 ug ml^{-1} prepare soluciones de 100 ug ml^{-1} : Tome 50 ml y lleve a 500 ml con agua.
A partir de estas soluciones tome alícuotas de 0, 2.5, 5, 10, 15, 25, 50 y 100 ml. Agregue 5 ml de HClO_4 y diluya a 250 con agua. Estas estándares contienen 0, 1, 2, 4, 6, 10, 20 y 40 ug ml^{-1} .
2. Lea la concentración, en ug g^{-1} , directamente en la muestra (Método 13A o 13B), cuadrando el espectrofotómetro para cada elemento según los parámetros en la tabla 6.

B. SUELOS

1. Calcio y magnesio

Procedimiento

1. Los patrones de trabajo: Estos son los mismos que se utiliza en tejido.
2. Si el pH es igual o menor de 5.5, el Ca y el Mg se determina en el extracto de KCl (Método 6A1). Si el pH es mayor de 5.5, se los determina en el extracto de acetato de amonio (Método 6B1).
3. Utilizando el dilutor (2/18), tome 2 ml del extracto de suelo y agregue 18 ml de la solución trabajo de óxido de lantano. Esta dilución se hace también a los patrones de trabajo.
4. Agite y lea Ca y Mg, en meq 100 g⁻¹, cuadrando el espectrofotómetro según los parámetros en la tabla 6.

2. Potasio

Procedimiento

1. Los patrones de trabajo.
A partir de la solución patrón de K de 1000 ug ml⁻¹ prepare una de 500 ug ml⁻¹: tome 50 ml y lleve a 100 con agua.
A partir de esta solución tome alícuotas de 0, 1, 2, 5, 10 y 20 ml. Diluya a 250 con agua. Estos estándares contienen 0, 2, 4, 10, 20 y 40 ug ml⁻¹.
2. Si el pH del suelo es igual o menor de 5.5, el K se lee en el extracto de Bray II (Método 6A2). Si el pH es mayor de 5.5, se lee en el extracto de acetato de amonio (Método 6B1).
3. El K, tanto en acetato de amonio como en Bray II, se lee en meq 100 g⁻¹, directamente por emisión en el extracto, cuadrando el espectrofotómetro según la tabla 6.

3. Sodio

Procedimiento

1. Los patrones de trabajo: Estos son los mismos que se utiliza en tejido y pueden ir juntos con los de K.
2. Se determina el Na directamente, en meq 100 g⁻¹, por emisión en el extracto de acetato de amonio (Método 6B1), según los parámetros en la tabla 6.

4. Cobre, manganeso, hierro y zinc

Procedimiento

1. Los patrones de trabajo: Estos son los mismos que se utilizan en tejido.
2. Lea los elementos, en $\mu\text{g g}^{-1}$, directamente por absorción en el extracto de Mehlich I (Método 8) según los parámetros en la tabla 6.

Comentarios

1. *Existen algunas interferencias en absorción atómica que pueden influir en los resultados. Estas interferencias pueden ser químicas, interferencias de ionización y de la matriz. Se puede encontrar una descripción de cada interferencia en Isaac y Kerber (1971). Además, la emisión tiene interferencias espectrales.*
2. *El uso de procedimientos de análisis multielemental como el de ICP, ha llegado a ser más y más popular recientemente debido al mejoramiento de los espectrofotómetros.*

Bibliografía

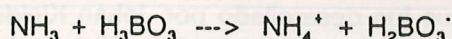
- Isaac, R.A. y Kerber, J. D. 1971. Capítulo 2 en Instrumental Methods for Analysis of Soils and Plant Tissue. L.M. Walsh (ed.).

METODO 21

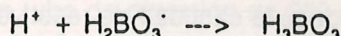
DETERMINACION DE NITROGENO POR EL METODO DE KJELDAHL

Principio

El método de Kjeldahl, aunque haya sido modificado bastante a través de los años, básicamente tiene dos pasos. El primer paso es una digestión a una temperatura alta con ácido sulfúrico en la presencia de unos reactivos que promueven la conversión del nitrógeno orgánico, en la muestra, a amonio (NH_4^+) inorgánico, formando sulfato de amonio. El segundo paso es la determinación del NH_4^+ después de la digestión. Tradicionalmente esto se hace midiendo la cantidad de amoníaco (NH_3) liberado de la solución digestada por destilación con álcali. El NH_3 liberado es retenido en una solución de ácido bórico (H_3BO_3) que contiene un indicador universal:



La solución se titula después con ácido (HCl):



Se puede determinar nitrógeno en la muestra por medio de la cantidad de ácido usado en la titulación.

Introducción

El nitrógeno (N) es un elemento esencial para el crecimiento de la planta. Su deficiencia es muy frecuente en varios cultivos. En la planta existe en la forma orgánica e inorgánica, en aminoácidos, proteínas, enzimas y la clorofila. El contenido de N en la planta varía entre 1.5 hasta 6% del peso seco con rangos de suficiencia dependiendo del cultivo. En las hojas nuevas hay una concentración más alta de N; la concentración disminuye con la edad de la planta.

Unos síntomas de la deficiencia de N son el crecimiento lento y un color verde claro. El N es móvil en la planta; los síntomas de deficiencia se notan primero en las hojas viejas. Unos síntomas del exceso de N son un color verde oscuro con hojas succulentas. La planta se vuelve más susceptible a enfermedades y volcamiento.

El nitrógeno inorgánico que se encuentra en el suelo está en forma de iones nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+). Normalmente el nitrato es la forma aprovechada por la planta y es reducido a amonio en la planta. Su disponibilidad para la planta depende del pH del suelo, la temperatura, los otros iones presentes y la actividad microbiana. El nitrógeno pasa por muchas transformaciones en el suelo, por ejemplo la mineralización, la inmovilización, la

nitrificación y la desnitrificación. En las plantas leguminosas, la bacteria rizobio, la cual se encuentra en las raíces, forma nódulos que pueden aprovechar el nitrógeno en la atmósfera y lo transforma a NH_4^+ para el uso de la planta. El suelo puede perder el nitrógeno por lixiviación. El ion NH_4^+ participa en las reacciones con los cationes intercambiables. Bajo condiciones anaeróbicas el ion nitrito (NO_2^-) puede estar en la solución del suelo y es tóxico aún en niveles bajos.

El análisis total de N en suelos es difícil debido a las diferentes formas presentes y la baja concentración en el suelo. La concentración varía entre 0.02 y 2.5 % en suelos orgánicos. Más de 90 % del N en el suelo está en forma orgánica y el resto es en forma inorgánica.

Se puede medir N total o una aproximación de N total en las muestras de suelo o tejido, esencialmente por dos procedimientos: Uno se llama Dumas (1831) el cual es un procedimiento de combustión seca y que ha sido automatizado en equipos como el de 'LECO'. El otro es el método de Kjeldahl que fue desarrollado por Johan Kjeldahl en Dinamarca en 1883. Es el procedimiento más antiguo que aún se usa en análisis y el más conocido y más utilizado universalmente.

- Existen diversos sistemas de Kjeldahl entre ellos el macro, micro y semimicro, pero siempre basándose en el mismo principio. Con el empleo de los sistemas micro y semimicro se usa menos peso de la muestra y se reduce la cantidad de reactivos requeridos y el espacio necesario para el procedimiento.

Se encontró que la rapidez de la reacción y la conversión del N a NH_4^+ se aumenta con la adición de sales para incrementar la temperatura y con un catalizador para promover la oxidación. Las sales más comunes son sulfato de potasio o de sodio. En el pasado los catalizadores más comunes eran mercurio y selenio, pero debido a la toxicidad de mercurio y el costo del selenio se usa más el cobre.

Con el uso de un digestor tipo bloque con espacio para 20 tubos y un destilador semi-automático se puede procesar una buena cantidad de muestras diariamente.

Reactivos

- 1A. Tejido, aguas y leche.
Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado.
Se necesita 3.5 ml por cada muestra.
- 1B. Suelo.
Una mezcla de 100 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y 3.4 g de ácido salicílico.
Se necesita 4 ml por cada muestra.
2. La mezcla catalizadora de sulfato de sodio (Na_2SO_4) y sulfato de cobre (CuSO_4).
Pese 1 kg de Na_2SO_4 anhidro y agregue 12.5 g de CuSO_4 seco y pulverizado y mézclelos. Se necesita aproximadamente 1.5 g de esta mezcla por cada muestra.
3. Alcohol etílico 96 %.

Análisis de Suelo y Tejido. Determinación de Nitrógeno por el Método Kjeldahl.

4. Fenoltaleína 1 %.
Pese 10 g de fenoltaleína y complete a un volumen de 1 l con alcohol etílico (96 %). Se necesita 5 gotas por cada muestra.
5. Indicador universal.
Pese 0.5 g de verde de bromocresol y 0.1 g de rojo de metilo. Mezcle y desuelve en alcohol etílico (96 %) a un volumen de 100 ml.
6. Acido bórico (H_3BO_3) 4 %.
Pese 800 g de H_3BO_3 y agregue 100 ml de indicador universal. Complete a un volumen de 20 l con agua. Se necesita 10 ml de esta solución por cada muestra.
7. Acido clorhídrico (HCl) 0.02 M.
Mida 32.7 ml de HCl (37%) y complete a un volumen de 20 l con agua.
8. Hidróxido de sodio (NaOH) 33 %.
Pese 1 Kg de NaOH y disuelve en 3 l de agua.

Procedimiento

- 1.A. Tejido. Pese 0.1000 g de muestra.
B. Suelo. Pese 0.25 g de muestra.
C. Aguas. Mida 10 ml de muestra.
D. Leches. Mida 2 ml de muestra.
Ponga la muestra en un tubo de digestión de 200 ml.
2. Agregue mas o menos 1-1.5 g de la mezcla catalizador más 3.5 ml de H_2SO_4 . Para suelos use 4 ml de la mezcla de ácido sulfúrico y ácido salicílico (vea los comentarios).
3. Digeste a una temperatura de 400°C por 45 minutos.
4. Deje enfriar y agregue 5 gotas de fenoltaleína 1% y 40 ml de agua, con el fin de disolver los cristales que se forman en la muestra.
5. Prepare el destilador. La duración óptima de la destilación se establece para cada aparato.
6. Destile la muestra recogiendo el volumen obtenido en un erlenmeyer que contiene 10 ml de la solución de H_3BO_3 4 %.
Esta solución debe tener un pH entre 4 y 4.5.
7. Titule el volumen obtenido de la destilación con una solución de HCl 0.02 M hasta lograr un cambio de color apreciable entre el azul y el rojizo mate de la solución de H_3BO_3 .
8. Prepare un blanco con todos los reactivos necesarios menos la muestra, este se titula y su volumen se resta a las demás muestras en la titulación. De lo cual resulta la siguiente fórmula para calcular la cantidad de N en la muestra:

$$N \% = \frac{(V - B) * 0.02 * 0.014 * 100}{g \text{ muestra}}$$

- V = volumen de HCl gastado en la titulación de la muestra.
B = volumen de HCl gastado en la titulación del blanco.
0.02 = normalidad del HCl.
0.014 = peso miliequivalente de nitrógeno.
100 = unidades en porcentaje

Para determinar proteína se usa una de las siguientes ecuaciones:

$$(V - B) * 1.75 = \% \text{ proteína}$$
$$\% N * 6.25 = \% \text{ proteína}$$

Comentarios

1. Nitratos y nitritos no son recuperados completamente en este procedimiento a menos que se trate la muestra previamente. En muestras con alto contenido de nitratos, como los suelos, se puede usar una mezcla de ácido sulfúrico y ácido salicílico para promover la reducción de nitratos durante la digestión (Dalal *et al.*, 1984; Goyal y Hafez, 1990).
2. Para evitar la necesidad de destilar la muestra después de digestión, el amonio puede ser medido por un electrodo sensible a amoníaco (Bremner y Tabatabai, 1972) o se puede medir por colorimetría usando el método de azul de indofenol (Crooke y Simpson, 1971; Novozamsky *et al.*, 1974).
3. Otro procedimiento para medir N o proteína en tejido o granos además de combustión seca (LECO) y de Kjeldahl es el que usa ondas infrarojas. El espectrofotómetro (NIRS) mide la radiación que refleja la muestra. El procedimiento es rápido y no es destructivo, pero la calibración del equipo requiere, como estándares, una gran cantidad de muestras de la misma especie de la que se van a analizar. Esto es un obstáculo para su aceptación.
4. Se puede leer fósforo total en tejido en la misma muestra por colorimetría después de la digestión.

Bibliografía

- Bremner, J.M. y Tabatabai, M.A. 1972. Use of an ammonia electrode for determination of ammonium in Kjeldahl analysis of soils. *Comm. In Soil Sci. and Plant Anal.* 3 159-165.
- Crooke, W.M. y Simpson, W.E. 1971. Determination of ammonium on Kjeldahl digests of crops by an automated procedure. *J. Sci. Food Agri.* 22 9-10.
- Dalal, R.C., Sahrawat, K.L. y Myers, R.J.K. 1984. Inclusion of nitrate and nitrite in the Kjeldahl nitrogen determination of soils and plant materials using sodium thiosulfate. *Comm. Soil Sci. and Plant Anal.* 15 1453-1461.
- Dumas, J.B.A. 1831. Procédés de l'analyse organique. *Ann. Chim. Phys.* 47 198-213.
- Goyal, S.S. y Hafez, A.A. 1990. Quantitative reduction and inclusion of plant tissue nitrates in Kjeldahl digestion. *Agron. J.* 82 571-576.

Análisis de Suelo y Tejido. Determinación de Nitrógeno por el Método Kjeldahl.

Kjeldahl, J. 1883. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs en organischen korpern. Z. Anal. Chem. 22 366-382.

Novozamsky, I., van Eck, R., van Schouwenburg, J.Ch. y Walinga, I. 1974. Total nitrogen determination in plant material by means of the indophenol blue method. Neth. J. Agrl. Sci. 22 3-5.