



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE SUELOS

LABORATORIO DE QUÍMICA DE SUELOS

Manual de Procedimientos Analíticos
para
Suelos y Plantas

Responsable del Laboratorio de Química:

Dra. Ma. Edna Álvarez Sánchez

Laboratorista:

Q. Martha Angélica Marín Campos

Mayo 2011

Álvarez-Sánchez M. E., Marín-Campos A. 2011. Manual de procedimientos analíticos de suelo y planta Laboratorio de Química, Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx.

INTRODUCCIÓN

El presente manual de técnicas analíticas de suelo y planta tiene su origen en el Programa de Calidad e Interpretación de Análisis de Suelos y de Plantas (ISP) convocado por el Laboratorio de Fertilidad de Suelos del Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados y por la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C., con la finalidad de fomentar el uso uniforme de los métodos y mejorar e incrementar la confiabilidad de los análisis. La mayoría de los métodos de análisis de suelo que se presentan en este manual son los oficialmente aprobados por la Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca a través de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000.

Los aportes realizados en las técnicas analíticas que se describen, se indican a través de notas finales y son el resultado de la experiencia en el uso de estos procedimientos con fines de investigación en análisis de suelos y plantas; la finalidad de estas notas es facilitar el trabajo, prevenir errores y mejorar la calidad de los análisis.

Dra. Ma. Edna Álvarez Sánchez
Responsables del Laboratorio de Química

INDICE

ANÁLISIS DE SUELOS	¡Error! Marcador no definido.
RELACIÓN 1:2, CON H ₂ O	4
CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	5
CONTENIDO DE HUMEDAD DEL SUELO	8
MATERIA ORGÁNICA, MÉTODO WALKLEY Y BLACK	9
NITRÓGENO TOTAL, MÉTODO SEMIMICRO-KJELDAHL (NO INCLUYE NITRATOS)	11
NITRÓGENO INORGÁNICO EXTRACTABLE EN KCI 2N	15
P EXTRACTABLE, MÉTODO OLSEN	20
P EXTRACTABLE, BRAY Y KURTZ 1 MODIFICADO	23
CATIONES INTERCAMBIABLES	26
EXTRACCIÓN DE HIERRO, COBRE, CINC, Y MANGANESO CON DTPA	31
DETERMINACIÓN DE CARBONATOS TOTALES EN EL SUELO	38
DETERMINACIÓN DE CARBONATOS ACTIVOS	41
ANÁLISIS DE PLANTAS	42
NITRÓGENO, MÉTODO SEMIMICRO-KJELDAHL MODIFICADO PARA INCLUIR NITRATOS	42
SOLUBILIZACIÓN DE FÓSFORO, CALCIO, MAGNESIO, POTASIO, AZUFRE, SODIO, HIERRO, COBRE, CINC, MANGANESO Y BORO POR DIGESTIÓN CON MEZCLA AC PERCLÓRICO/ AC NITRICO	46
CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO	47
CUANTIFICACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO, POTASIO Y SODIO	49
CUANTIFICACIÓN DE HIERRO, COBRE, CINC Y MANGANESO	52
POTASIO EXTRACTABLE EN AGUA, MÉTODO DE EXTRACCIÓN RÁPIDA	54
DETERMINACIÓN DE AZUFRE FOLIAR MÉTODO TURBIDIMÉTRICO	57
DETERMINACIÓN DE BORO FOLIAR POR EL MÉTODO DE LA AZOMETINA-H	59
OTRAS TÉCNICAS	60
DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN SOLUCIONES ACUOSAS POR EL MÉTODO DEL ÁCIDO SALICÍLICO (COLORIMETRICO)	61
DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN EXTRACTOS DE SUELO POR NITRATACIÓN DEL ÁCIDO SALICÍLICO	64

ANÁLISIS DE SUELOS

pH

RELACIÓN 1:2, CON H₂O

Reactivos

Agua destilada.

Soluciones amortiguadoras con pH 4.0, 7.0 y 9.0 ó 10.0.

Material y equipo

Vasos de precipitado de plástico de 100 y 150 mL

Agitadores de vidrio

pH-metro

Procedimiento

Se colocan 10 g de suelo en un vaso de precipitado de 100 mL, se añaden 20 mL de agua, lo cual da una relación suelo/solución 1:2. Se agita manualmente durante 1 minuto y se deja reposar por 10 minutos. La operación se repite dos veces. Se agita perfectamente la suspensión del suelo antes de efectuar la lectura correspondiente de pH. Se calibra el instrumento con las soluciones amortiguadoras, teniendo cuidado de leer las muestras problema en el intervalo de pH correspondiente.

Referencias

JACKSON, ML. 1964. Análisis químico de suelos. Traducción al español por J. Beltrán M. Omega, Barcelona, España.

CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Reactivos

Agua destilada.

Material y equipo

Probeta de 50 mL
Vasos de precipitado de plástico de 50 ó 100 mL
Varillas de vidrio
Termómetro, escala 0 a 100 ° C
Puente de conductividad.

Procedimiento

Se colocan 10 g de suelo en un vaso de precipitado de polipropileno de 100 mL. Se añaden 50 mL de agua (si se utiliza la muestra en la que se determinó el pH, adicionar 30 mL) Se agita la suspensión y se deja reposar por 24 h. Se mide la conductividad eléctrica del sobrenadante. Se enjuaga la celda tres veces con agua destilada. Se enjuaga con la solución problema, dos o tres veces. Se toma la temperatura de la solución problema. Las lecturas se corrigen por un factor de temperatura y se expresan de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Una vez al mes debe calibrarse el puente de conductividad. Esto se realiza determinando la constante de la celda. Se enjuaga con agua destilada varias veces la celda. En ésta se coloca una solución de KCl 0.01 N a 25 ° C y se realiza la lectura, se efectúan tres o cuatro lecturas y se obtiene el promedio para calcular la constante de la celda.

Cálculos

Cálculo de la constante de la celda:

$$K = \frac{1.4118}{c_{KCl}}$$

k = constante de la celda a 25 ° C

1.4118 mmho cm⁻¹ = conductividad eléctrica específica de KCl 0.01 N a 25 ° C

C_{KCl} = conductividad de la disolución en mmhos

$$CE = \frac{C_{prob} \times k \times Ft}{1000}$$

CE = conductividad eléctrica, dS m⁻¹, a temp. ambiente. Si mmho cm⁻¹ = dS m⁻¹

C_{prob} = conductividad de la muestra problema en μmhos

Ft = factor de corrección de temperatura tabulada

1000= factor para convertir de μmho a moho

Referencias

Factores de corrección por temperatura de datos de conductividad eléctrica en extractos de suelo

$^{\circ}\text{C}$	ft	$^{\circ}\text{C}$	ft	$^{\circ}\text{C}$	ft
16.0	1.218	23.0	1.043	28.4	0.936
17.0	1.189	23.2	1.038	28.6	0.932
18.0	1.163	23.4	1.034	28.8	0.929
18.2	1.157	23.6	1.029	29.0	0.925
18.4	1.152	23.8	1.025	29.2	0.921
18.6	1.147	24.0	1.020	29.4	0.918
18.8	1.142	24.2	1.016	29.6	0.914
19.0	1.136	24.4	1.012	29.8	0.911
19.2	1.131	24.6	1.008	30.0	0.907
19.4	1.127	24.8	1.004	30.2	0.904
19.6	1.220	25.0	1.000	30.4	0.901
19.8	1.117	25.2	0.996	30.6	0.897
20.0	1.113	25.4	0.992	30.8	0.894
20.2	1.107	25.6	0.988	31.0	0.890
20.4	1.102	25.8	0.983	31.2	0.887
20.6	1.097	26.0	0.979	31.4	0.884
20.8	1.092	26.2	0.975	31.6	0.880
21.0	1.087	26.4	0.971	31.8	0.877
21.2	1.082	26.6	0.967	32.0	0.873
21.4	1.078	26.8	0.964	32.2	0.870
21.6	1.073	27.0	0.960	32.4	0.867
21.8	1.060	27.2	0.956	32.6	0.864
22.0	1.064	27.4	0.953	32.8	0.861
22.2	1.060	27.6	0.950	33.0	0.858
22.4	1.055	27.8	0.947	33.2	0.843
22.6	1.051	28.0	0.943	33.4	0.829
22.8	1.047	28.2	0.940	33.6	0.815

RICHARDS, L. A. (ed.). 1990. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. 6a. ed., Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América. Limusa, México, D. F.

Unidades de conversión

$$1 \text{ mmhos/cm} = \text{dS/m}$$

$$\frac{1\text{S}}{1000} = \text{mS}$$

$$\frac{\mu\text{S en cm}}{1000} = \text{mS/cm} = \text{mhos/cm}$$

$$2500 \mu\text{S} = 2.5 \text{ mS} \text{ ó } \text{mmhos/cm}$$

$$10 \text{ mmhos/cm} = 1\text{S/m}$$

$$1 \text{ mmhos/cm} = 1\text{dS/m}$$

$$1 \text{ mmhos/cm} = 1\text{mS/cm}$$

1S (siemens) es la conductancia de un conductor que tiene una resistencia eléctrica de 1 ohm/m. Las equivalencias entre ambas unidades son las siguientes:

$$10 \text{ mmhos/cm} = 1\text{S/m}$$

$$1 \text{ mmhos/cm} = 1\text{dS/m}$$

$$1 \text{ mmhos/cm} = 1\text{mScm}$$

$$\frac{1}{\text{ohm}} = 1 \text{ mho} = 1 \text{ Siemen (S)} = 1000 \text{ mS} = 1\,000\,000 \mu\text{S}$$

CONTENIDO DE HUMEDAD DEL SUELO

	Peso bote	Peso bote + Suelo húmedo	Peso bote + suelo seco	Humedad (%)
Suelo 1				
Suelo 2				

Norma NOM-021-RECNAT-2001

Cálculos

$$\theta_g = \frac{(PB + P_{sh}) - (PB + P_{ss})}{(PB + P_{ss}) - PB} \times 100$$

Donde:

θ_g =Contenido de humedad gravimétrica expresado en porcentaje (%).

PB= Peso del bote con tapa (g).

Psh=Peso de suelo húmedo (g).

PB+Psh =Peso del bote más peso del suelo húmedo(g).

PB + Pss=Peso del bote más peso del suelo seco (g).

MATERIA ORGÁNICA, MÉTODO WALKLEY Y BLACK

Reactivos

Dicromato de potasio 1.0 M. Se disuelven 49.032 g de $K_2Cr_2O_7$ en agua y se afora a 1 L.

Sulfato ferroso 0.5 N. Se disuelven 140.00 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ en 250 mL de agua. Se adicionan 15 mL de H_2SO_4 concentrado, se enfría a temperatura ambiente y se afora a 1 L con agua, o puede utilizarse sulfato férrico amónico.

Sulfato férrico amónico 0.5 N. Se disuelven 196 g de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ en 800 mL de agua que contienen 20 mL de H_2SO_4 concentrado, complete a 1 L con agua.

Indicador de di/enilamina. Se disuelven 0.5 g de $(C_6H_5)_2NH$ en 20 mL de agua y 100 mL de H_2SO_4 concentrado.

Ácido sulfúrico concentrado. H_2SO_4

Ácido fosfórico concentrado. H_3PO_4

Fluoruro de sodio. NaF

Material y equipo

Matraz erlenmeyer de 500 mL

Bureta de 25 mL

Pipeta volumétrica de 10 mL

Probeta de 50 mL.

Procedimiento

Se pesan exactamente 0.500 g de suelo y se colocan en un matraz erlenmeyer de 500 mL. Se añaden 10 mL de $K_2Cr_2O_7$ 1 N con pipeta volumétrica, se agita. Con una probeta se añaden 20 mL de H_2SO_4 concentrado, se agita cuidadosamente durante 1 minuto. Se deja reposar 30 minutos o hasta que se haya enfriado. Se añaden 200 mL de agua. Se agita y se deja enfriar. Se agregan 10 mL de H_3PO_4 y 0.1 g de NaF y de 20 a 25 gotas de indicador de difenilamina. Se titula con $FeSO_4$ o con $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ o sal de Mohr 0.5 N frescos. Este material se oxida con facilidad y cambia su normalidad.

Si el consumo de la solución ferrosa en la titulación de la muestra es menor que 4 mL, deberá repetirse la determinación con una muestra más pequeña, ya que es probable que la oxidación de la materia orgánica en esta muestra de suelo no haya sido completa.

La presencia de materiales reductores como cloruros, hierro ferroso, manganeso, manganoso etc., dan resultados altos. Si se sospecha la presencia de cloruros en el suelo, añadir al ácido sulfúrico 25 g/L de sulfato de plata.

Para hacer la valoración de la solución de sulfato ferroso, se corre una prueba en blanco (todos los reactivos, sin suelo) y se obtiene el valor de B de a siguiente ecuación. El $K_2Cr_2O_7$ es una sustancia patrón primaria por lo que la titulación del blanco sirve para estandarizar simultáneamente al reductor. Con el empleo de la fórmula siguiente no es necesario calcular específicamente la normalidad.

Cálculos

$$\% \text{ M. O.} = 10\left(1 - \frac{M}{B}\right) \times 1.34$$

M = mL de sulfato ferroso gastados en la muestra problema

B = mL de sulfato ferroso gastados en el blanco

El factor 1.34 se deduce de la siguiente forma:

$$(1.0 N) \times \frac{12}{4000} \times \frac{1.72}{0.77} \times \frac{100}{0.5} = 1.34$$

1.0 = normalidad del $K_2Cr_2O_7$

12/4000 = peso miliequivalente del carbono

1.72 = factor de transformación de carbón en materia orgánica (MO)

0.77 = factor de recuperación de 77% determinado por Walkey

0.5 = peso de muestra

Si el peso de la muestra analizada es diferente a 0.5 g se sustituye el peso del suelo analizado en la ecuación anterior para encontrar el factor correspondiente para calcular el porcentaje de MO.

NOTA

Con la finalidad de disminuir la variabilidad en los resultados de los análisis de MO, los suelos se tamizan en malla 80 (0.20 mm).

Cuando se determina el contenido de MO en abonos orgánicos, se recomienda utilizar de 0.025 a 0.05 g de muestra para que la oxidación del material se realice de forma completa.

Para Andisoles, cuyo contenido de MO es mayor al 4%, utilizar 0.2 g de muestra para una adecuada oxidación.

Corra dos blancos, dos patrones y un duplicado por cada 10 muestras de suelo a analizar.

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

Referencias

JACKSON, M. L. 1964. Análisis químico de suelos. Traducción al español de J. Beltrán. Omega. Barcelona, España.

NITRÓGENO TOTAL, MÉTODO SEMIMICRO-KJELDAHL (NO INCLUYE NITRATOS)

Reactivos

Ácido sulfúrico concentrado: H_2SO_4

Mezcla de indicadores. Se disuelven 0.099 g de verde de bromocresol y 0.066 g de rojo de metilo ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$) en 100 mL de alcohol etílico a 95% (preparar en el momento de usar).

Ácido bórico con indicador. Se colocan 20 g de H_3BO_3 en un vaso de precipitado de 1 L, se adicionan 900 mL de agua, se calienta y se agita hasta la completa disolución del ácido.

Se enfría la solución y se agregan 20 mL de la mezcla de indicadores. El pH de la mezcla H_3BO_3 e indicador debe ser aproximadamente 5.0, si fuese más ácido se agregan cuidadosamente gotas de NaOH 0.1 N hasta que la solución adquiera una coloración púrpura rojiza o se alcance el pH indicado, se completa a 1 L con agua y se mezcla (si la coloración de la solución es verde antes de pH 5.0, hay que preparar nuevamente la solución).

Mezcla de catalizadores. Se muele en un mortero y se mezcla 1 kg de K_2SO_4 , 100 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 10 g de selenio metálico. La mezcla se muele hasta alcanzar textura de polvo impalpable y se homogeneiza perfectamente para evitar segregación de las partículas de los componentes.

Hidróxido de sodio 10 N. Se colocan 400 g de NaOH en un matraz aforado de 1 litro. Se adicionan 400 mL de agua y se agita hasta que el hidróxido se disuelva. Se deja que la solución se enfríe. Se completa al volumen indicado con agua de igual calidad y se agita vigorosamente. El hidróxido de sodio libre de CO_2 debe protegerse del CO_2 atmosférico, para lo cual debe mantenerse perfectamente tapado.

Agua libre de CO_2 . Se hierve el agua necesaria en un matraz erlenmeyer durante 15 minutos, se tapa con un vaso de precipitado y se enfría.

Ácido sulfúrico 0.05 N. Se diluyen 1.4 mL de H_2SO_4 ; ($\rho = 1.84 \text{ g/cm}^3$ y 95% de pureza) en agua y se enrasa a 1 L. Se estandariza con Na_2CO_3 seco. Se pesan 0.2500 g de dicha sal y se disuelven en aproximadamente 50 mL de agua libre de CO_2 . Se agregan cinco o seis gotas de anaranjado de metilo a 1 % y se titula con el ácido cuya concentración se quiere conocer. Es conveniente hacer mínimo tres repeticiones. Se calcula la normalidad según la fórmula siguiente:

$$N_{H_2SO_4} = \frac{\text{Peso}_{Na_2CO_3} (g)}{\text{Peso equivalente}_{Na_2CO_3} \times \text{Volumen de ácido}(L)}$$

Peso equivalente $Na_2CO_3 = 53$

Nota: si se pesan 0.2500g, se emplean aproximadamente 25 mL

Material y equipo

Tubos de 2.2 cm d.i y 20 cm de largo o matraz micro-kjeldahl

Matraz erlenmeyer de 125 mL

Probeta de 25 ml

Bureta o titulador automático

Block digestor

Aparato de destilación por arrastre de vapor.

Procedimiento

Digestión. Se pesan 1, 0.5 o 0.25 g de muestra para suelos con 2, 4 u 8% de materia orgánica, respectivamente; en suelos arenosos se sugiere pesar 0.5 g para evitar que la muestra se proyecte durante la digestión. Se adicionan 4 mL de ácidos sulfúrico concentrado. Se deja en reposo toda la noche. Simultáneamente se corren blancos de reactivos. Se agrega 1.1 g de mezcla catalizadores y se calienta hasta que el digestado se torne claro (260 °C). Se bulle la muestra 1 h a partir de ese momento. La temperatura en esta fase se debe regular de modo que los vapores de ácido sulfúrico se condensen en el interior del cuello del tubo de digestión.

Completada la etapa anterior, se deja enfriar el tubo y se agrega suficiente agua para colocar la suspensión, mediante agitación, el digestado (4 a 5 mL son suficientes). Se deja decantar las partículas de sílice con lo que se evita la precipitación de cristales de sulfato de amonio.

Destilación. Se transfiere el contenido al bulbo de la cámara de destilación del aparato. Es conveniente lavar el matraz de digestión dos o tres veces con pequeñas porciones de agua, adicionarlas junto con la muestra a la cámara. Se coloca en el tubo de salida del aparato de digestión un matraz Erlenmeyer de 125 mL con 10 mL de la solución de H_3BO_3 ácido bórico con indicador. Se adicionan 10 mL de NaOH 10 N al bulbo de destilación. Se conecta el flujo de vapor y se inicia la destilación. Se destilan aproximadamente 75 mL y se lava el condensador.

El nitrógeno amoniacal se determina por titulación con ácido 0.05 N. Se sugiere utilizar una microbureta de 10 mL con graduaciones de 0.02 mL o un titulador

automático. El punto de equivalencia de la titulación ocurre cuando la solución vira de verde a rosado (titular los blancos y tomar como referencia este vire).

Cálculos

La concentración de N en $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$, en la muestra se determina según la siguiente fórmula:

$$N (\text{cmol kg}^{-1}) = \frac{(V_{\text{muestra}} - V_{\text{blanco}}) N \text{ ácido} \times 14}{\text{Peso muestra} \times 10} \times 71.428$$

Donde:

V_{muestra} = volumen de H_2SO_4 para titular la muestra (mL)

V_{blanco} = volumen de H_2SO_4 titular el blanco (mL)

N = normalidad exacta del H_2SO_4

14 = peso mili-equivalente del N (mg).

1/10 = factor para convertir a porcentaje (100/1000)

71.428 factor para convertir de porcentaje a cmol kg^{-1}

Peso de muestra en gramos

NOTA

Con la finalidad de disminuir la variabilidad en los resultados de los análisis de N total, los suelos se tamizan en malla 80 (0.20 mm).

Para una recuperación de N de 97% a 100%, deberán destilarse 75 mL aproximadamente.

Para evaluar la recuperación de N, preparar una solución patrón de 1000 ppm N- NH_4 . Pesar 3.821 g de NH_4Cl , diluir a 1 L y guardar en frasco en el refrigerador.

Destilar 1 mL de alícuota (1 mL de alícuota de la solución patrón contiene 1 mg de nitrógeno).

$$\begin{aligned} N \text{ ppm} &= (M-V) \times 14 \times N \text{ ácido} = \\ &= \text{mL} \times 14 \text{ mg} \times .05 \text{ N} \\ &= \text{mL} \times 14 \text{ mg} \times .05 \text{ eq/l} \\ &= \cancel{\text{mL}} \times 14 \times .05 \text{ e}/1000 \cancel{\text{mL}} \\ &= \text{mg de N} \end{aligned}$$

$$e = \frac{g \text{ sust}}{pe}$$

Corra dos blancos, dos patrones y un duplicado por cada 10 muestras de suelo a analizar.

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

Referencias

BREMNER, J. M. 1965. Total nitrogen. pp. 1149-1178. *In*: C. A. Black (ed.), Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.

NITRÓGENO INORGÁNICO EXTRACTABLE EN KCl 2N

Principios

El procedimiento descrito se utiliza para obtener una indicación de la disponibilidad de nitrógeno. Consiste en la extracción del amonio por equilibrio de la muestra de suelo con KCl 2N y la determinación de este ion por destilación por arrastre de vapor en presencia de MgO. El mismo procedimiento es satisfactorio para la determinación de iones nitratos y nitritos si se agrega aleación de Devarda, lo que permite tener una indicación de nitrógeno inorgánico.

Se utiliza KCl 2N porque este reactivo es capaz de extraer el amonio arbitrariamente definido como intercambiable. Este reactivo puede producir volatilización de amoniaco en suelos alcalinos durante la extracción.

El método se emplea para la extracción de nitratos y nitritos, basado en la presunción que estos iones no son retenidos por los coloides y pueden ser fácilmente extractados por el agua de la solución de KCl.

Sensibilidad

Si se sigue el procedimiento descrito más abajo, es posible detectar concentraciones de aproximadamente 0.5 ppm de nitrógeno-inorgánico en el suelo, lo que es suficiente para los propósitos de diagnóstico.

Interferencias

1. En suelos alcalinos pueden ocurrir pérdidas por volatilización de NH_3 .
2. En suelos con capacidad de retener aniones, el extractante acuoso puede ser inadecuado para remover iones nitratos y nitritos.
3. Si el período de destilación excede de los 3-4 minutos, es posible tener contaminación de glutamina y otros compuestos de nitrógeno lábiles en alcali.
4. La presencia de MgCO_3 en el MgO, resulta en liberación de CO_2 , particularmente si la muestra es acídica, lo que interfiere con la determinación de amonio por titulación.
5. La presencia de fosfato interfiere marcadamente con la aleación de Devarda usada en la destilación por arrastre de vapor. La presencia de 200 mg de P resulta en la recuperación de sólo 9% del nitrato agregado.

Precisión y Exactitud

1. El método da resultados altamente reproducibles.
2. La recuperación de nitrógeno nítrico agregado alcanza a un 96-99%.

Aparatos

1. Aparato de destilación por arrastre de vapor con generador de vapor. Ver Bremner (1965) o similar.
2. Microburetas de 5 ó 10 ml graduada en intervalos de 0.01 ml o aparato de titulación automática.
3. Tubos de polietileno de 10 ml o frascos erlenmeyer de 125 ml.
4. Agitador magnético y barras de fierro recubiertas con plástico.
5. Matraces erlenmeyer de 50 ml.
6. Pipetas volumétricas de 5 y 10 ml.
7. Agitador de vaivén (180 oscilaciones por minutos).
8. Dispensadores de 0.2 g para MgO y aleación de Devarda, respectivamente.
9. Dispensador para solución de H_3BO_3 .

Reactivos

1. Oxido de magnesio (tipo pesado). Se calcina en una mufla a 600-700 ° C, durante 2 horas y se almacena en frasco con tapa hermética, después de enfriado en desecador provisto de gránulos de **KOH**.
2. Solución de ácido bórico con indicador. Disuelva 20 g de H_3BO_3 puro en 700 ml de agua caliente y transfiera la solución fría a un matraz volumétrico de 1 litro que contiene 200 ml de etanol (96%) y 20 ml de la solución indicadora descrita más abajo. Mezcle el contenido del frasco y agregue gotas de NaOH 0.05N hasta que el color cambie de rosado a verde claro cuando a 1 ml de la solución se adiciona 1 ml de agua destilada. Complete el volumen de 1 litro.
3. Mezcla de indicadores. Disuelva 0.330 g de verde de bromocresol y 0.165 g de rojo de metilo en 500 ml de etanol (96%).
4. Aleación de Devarda. En (Cu:Al:Zn=10:9:1). Muélase, si es necesario, en un molino de bolas o un mortero hasta que el 75% pase un tamiz de 300 mallas.
5. Ácido sulfúrico 0.005N, Estandarícelo con THAM (tris(hidroximetil)aminometano).
5. Solución patrón de 50 ppm de N-NH₄ y 50 ppm N-NO₃. Pese 0.236 g de (NH₄)₂SO₄ y 0.361 g de KNO₃ desecados o dilúyalos a 1 litro con agua destilada. Guárdese en refrigerador.

Procedimiento

A. *Determinación de nitrógeno inorgánico (N-NO₃ + N-NO₂ + N-NH₄⁺).*

1. Pese 5 g de suelo y colóquelo en un frasco cuadrado de plástico tubo de polietileno de 100 ml de capacidad o en un matraz erlenmeyer de 125 ml.

2. Agregue 50 ml de solución de KCl 2N: pesar 149.1 g de KCl/L de agua.
3. Agite por 60 minutos en agitador de vaivén regulado a 180 OPM y deje decantar por aproximadamente 60 minutos (si el análisis no se va a realizar inmediatamente, filtre la solución y guarde el filtrado en refrigerador; puede almacenarse por varios meses, sin mayores cambios).
4. Dispense 10 ml de solución H_3BO_3 con indicador en un matraz erlenmeyer de 50 ml y colóquelo en el tubo de salida del refrigerante, de modo que éste quede a unos 4 cm del líquido.
5. Pipetee una alícuota de 10 ml (menor o mayor en suelos con alto o bajo contenido de nitrógeno inorgánico, respectivamente) a un matraz de destilación y agregue 0.2 g de MgO calcinado y aleación de Devarda.
6. Conecte el aparato de destilación y destile hasta completar aproximadamente 75 ml en 3-4 minutos (6 a 7 ml/min.).
7. Titule la muestra y los blancos con ácido sulfúrico 0.005N.

B. Determinación de N-NH_4 y $\text{N-NO}_3 + \text{N-NO}_2^-$ separadamente.

8. En la primera fase destinada a determinar el N-NH_4^+ el procedimiento es idéntico al descrito en los puntos 1 a 7, excepto que no se adiciona la aleación de Devarda.
9. Para determinar el $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ se adiciona, al frasco de destilados que contiene el residuo de la destilación de N-NH_4^+ 0.2 g de aleación de Devarda y se vuelve a destilar y titular.

Cálculos

$$8.1. N, ppm = (M-B) \times N \times 14 \times (V_i/a) \times (1/p) \times 1000$$

Donde:

M y B: mililitros de H₂SO usados en la titulación de la muestra y el blanco, respectivamente

N: normalidad de ácido

V_i: volumen del extractante; a, la alícuota destilada

P: peso de la muestra en gramos.

Efectos de almacenamiento y procesamiento

1. Se ha observado que el secado al aire produce cambios en las fracciones de amonio y nitrato, siendo los primeros mayores que los segundos.
2. Cambios de estas fracciones también ocurren durante el almacenamiento.
3. La extensión del cambio de la fracción nitrógeno inorgánico parece no haber sido evaluada.

Control del sistema de destilación

Destile 1 ml de la muestra patrón 50 ppm de nitrógeno amoniacal y 50 ppm de nitrógeno nítrico en presencia de 9 ml de KC1 2N. Proceda como para el caso de las muestras desconocidas.

Interpretación. La siguiente tabla tentativa puede utilizarse en la interpretación de los resultados para el caso de cereales de grano pequeño.

Clase	N inorgánico en suelo, ppm
Muy bajo	0-10
Bajo	10-20
Medio	20-40
Alto	40-60
Muy alto	+60

Referencias

BREMNER, J. M. 1965. Inorganic forms of nitrogen. pp. 1179-1237. *In*: C. A. Black (ed.), Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.

NOTA

Evaluación de recuperación de N en el aparato de destilación:

Solución madre de 1000 ppm de N

Recuperación de N-NH₄ + N – NO₃

$$N_{ppm} = (M - B) \times N \times 14$$

1 mL de alícuota tiene 1 mg N

1000 mL – 1000 mg de N (NH₄ + NO₃)

$$1 - x = 1.0 \text{ mg N}$$

1 mg N – 100%

Obtenido – x % de recuperación

LIXIVIADOS DE AGUA

Se considera que la δ del agua es de 1 g/cm³,
10 mL de alícuota destilada = 10 g → peso de la muestra.

$$N_{ppm} \text{ de lixiviados} = (M - B) \times N \times 14 + \frac{1}{P} \times 1000$$

Donde:

P (peso de la muestra mg)

En orina, sacar su densidad pesando 1 mL de orina en balanza analítica (promedio)

$$\% \text{ N en orina} = \frac{(V_M - V_b) \times N \times 14}{\text{Pesomuestra} \times 10}$$

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

P EXTRACTABLE, MÉTODO OLSEN

Reactivos

Solución extractora, bicarbonato de sodio 0.5 M. Se pesan 42 g de NaHCO_3 y se disuelven en aproximadamente 900 mL de agua. Se ajusta el pH a 8.5 con NaOH 10 N y se enrasa a 1 L. Se debe controlar el pH de la solución antes de utilizarla. El contacto de esta solución con el aire tiende a cambiar el pH, por lo que debe de controlarse antes de utilizarse y realizar el ajuste si es preciso.

Ácido sulfúrico 14 N. Se diluyen 196 mL de H_2SO_4 concentrado (si $\rho = 1.84 \text{ g/cm}^3$ y pureza de 95%) en agua y se enrasa a 500 mL.

Tartrato de antimonio y potasio a 0.5%. Se pesan 0.5 g de $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ y se disuelven en 100 mL de agua.

Molibdato de amonio. Se disuelven 20 g de $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ en 300 mL de agua. Se agregan lentamente, bajo constante agitación y con cuidado, 450 mL de H_2SO_4 14 N. Se agregan 100 mL de tartrato de antimonio y potasio a 0.5%. Se diluyen las mezclas a 1 L con agua. Se guarda esta solución en frasco oscuro para protegerlo de la luz.

Solución reductora, ácido ascórbico. Se disuelven 0.50 g de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ con solución de molibdato de amonio y se afora con la misma solución a 100 mL. Esta solución se prepara minutos antes y cada vez que se vaya a realizar la colorimetría.

Estándar de P de 200 ppm. Se disuelven 0.8786 g de fosfato dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4), secado a 105°C durante 2 h, en agua y se diluye a 1 L. Se guarda en frasco de plástico o de vidrio blando para evitar contaminación con arsénico y se mantiene en refrigeración.

Estándar de P de 5 ppm. Se diluyen 5 mL de la solución de 200 ppm de P a 200 mL con agua. Se prepara en el momento de desarrollar la colorimetría.

Material y equipo

Tubos de polipropileno de 100 mL o matraz erlenmeyer de 250 mL

Tapones de hule y cuadros de film o película de plástico

Papel whatman 5, 42 o similar

Carbón activado

Pipetas volumétricas clase A de 1, 2, 4, 6, 8 y 10 mL

Pipetas volumétricas 5 y 10 mL

Matraz aforado de 50 mL

Embudos de plástico

Bureta de 50 mL

Frascos de vidrio
 Probeta de 50 mL o dosificador automático
 Agitador de acción recíproca
 Espectrofotómetro.

Procedimiento

Se pesan 2.5 g de suelo y se colocan en un matraz erlenmeyer de 250 mL o en tubos de polipropileno de 100 mL, se adicionan 50 mL de solución extractora (cubrir los tapones con la película de plástico para evitar contaminación) y se agita por 30 minutos a 180 oscilaciones por minuto (opm), se colocan los tubos de polipropileno en posición horizontal y los matraces en posición vertical. Se filtra inmediatamente a través de papel filtro whatman 5, 42 u otro de calidad similar. Si los suelos son ricos en materia orgánica, se adiciona aproximadamente 1 g de carbón activado al papel filtro. Este carbón activado debe estar libre de P. Simultáneamente se corren blancos de reactivos. Para la determinación de P se toma una alícuota de 5 mL del filtrado (ó 10 mL si la concentración de P es muy baja) y se coloca en un matraz aforado de 50 mL, se adiciona agua, 5 mL de solución reductora y se afora. Después de la adición de cada reactivo hay que agitar. Se lee en absorbancia después de 30 minutos, pero antes de una hora, a 882 nm. Paralelamente se prepara una curva de calibración de P como se indica a continuación:

Solución P 5 ppm ^a	Solución extractante ^b mL	Agua ^c	Ácido ascórbico	Conc. de P ppm
0	5 ó 10	40	5	0
1	5 ó 10	39	5	0.1
2	5 ó 10	38	5	0.2
4	5 ó 10	35	5	0.4
6	5 ó 10	34	5	0.6
8	5 ó 10	32	5	0.8
10	5 ó 10	30	5	1.0

^a en matraz aforado de 50 mL

^b según la alícuota que se tome

^c aproximadamente

Cálculos

$$P(\text{mg/kg}) = \text{ppm en CC} \times D_m \times D_v$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de extractante/g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo/alícuota)

NOTA

Dentro de las variables que afectan los resultados analíticos en los análisis de suelos están el tamaño y posición de los frascos, el tiempo y el tipo de agitación, la temperatura de extracción y el tiempo de contacto del suelo con la solución extractora.

Previo al análisis, el material de vidrio deberá haberse remojado por 24 horas en una solución de HCl 0.1 N, posteriormente, enjuagar con agua corriente y terminar con agua destilada.

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

Referencias

OLSEN, S. R., and L.A. DEAN. 1965. Phosphorus. pp. 1035-1049. In: C. A. Black (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.

P EXTRACTABLE, BRAY Y KURTZ 1 MODIFICADO

Reactivos

Solución extractante Bray y Kurtz 1 (fluoruro de amonio 0.03 N en ácido clorhídrico 0.025 N. Se disuelven 1.11 g de NH_4F en agua. Se diluye a 900 mL y se adicionan 2 mL de HCl concentrado ($\rho = 1.19$ y pureza de 37.23%). Se afora a 1 L.

Ácido sulfúrico 14 N. Se diluyen 196 mL de H_2SO_4 concentrado (si $\rho = 1.84 \text{ g/cm}^3$ y pureza de 95%) en agua y se enrasa a 500 mL.

Tartrato doble de amonio y potasio al 0.5% (plv). Se disuelven 0.5 g de $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ en 100 mL de agua.

Solución "stock" de molibdato de amonio. Se disuelven 20 g de molibdato de amonio, $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ en aproximadamente 300 mL de agua destilada. Se agregan lentamente 450 mL de H_2SO_4 14 N bajo constante agitación y 100 mL de tartrato doble de amonio y potasio al 0.5%. Se diluye a 1 L con agua y se guarda en frasco oscuro para protegerlo de la luz.

Reactivo mezclado. Se adicionan 1.5 g de L-ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) a 100 mL de la solución stock. Este reactivo debe prepararse fresco cada 24 horas ya que sufre descomposición.

Estándar de P de 200 ppm. Se disuelven 0.8786 g de fosfato dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4), secado a 105°C durante 2 h, en agua y se diluye a 1 L. Se guarda en frasco de plástico o de vidrio blando para evitar contaminación con arsénico y se mantiene en refrigeración.

Estándar de P de 5 ppm. Se diluyen 5 mL de la solución de 200 ppm de P a 200 mL con agua destilada. Se prepara en el momento de desarrollar la colorimetría.

Material y equipo

Matraz erlenmeyer de 50 mL
Tapones de hule y cuadros de film o película de plástico
Papel whatman 5, 42 o similar
Carbón activado
Embudos
Bureta
Pipetas de 5 y 10 mL
Pipetas volumétricas clase A de 1, 2, 3, 4 y 6 mL
Matraz aforado de 50 mL
Agitador vortex

Agitador de acción recíproca
Espectrofotómetro

El material utilizado debe dejarse toda la noche en HCl a 5%, enjuagarse con agua de la llave y, finalmente, con agua destilada.

Procedimiento

Se pesan 2.5 g de suelo y se colocan en un matraz erlenmeyer de 50 mL. Se adicionan 25 mL de la solución extractante (se tapan los matraces con tapones de hule previamente cubiertos con la película de plástico para evitar contaminación). Se agita por 5 minutos en agitador de acción recíproca a 180 opm, se colocan los matraces en posición vertical. El extracto se filtra en papel whatman 5, 42 o similar. Simultáneamente se corren blancos de reactivos.

Se toma una alícuota de 2 a 40 mL del extracto, dependiendo de la concentración de P en solución (alícuotas de 5 a 10 mL son en general adecuados para suelos bajos y medios en P) y se coloca en un matraz aforado de 50 mL. Se adiciona agua hasta completar aproximadamente 40 mL. Se agregan 5 mL del reactivo mezclado, se agitan y completan a volumen. Se esperan 30 minutos y se lee en un espectrofotómetro a 882 nm. Paralelamente se prepara una curva de calibración de fósforo como se indica a continuación:

Solución P 5 ppm ^a	Solución extractante ^b	Agua ^c	Ácido ascórbico	Conc. de P
	mL			ppm
0	5 ó 10	40	5	0
1	"	"	5	0.10
2	"	"	5	0.20
3	"	"	5	0.30
4	"	"	5	0.40
6	"	"	5	0.60

^a en matraz aforado de 50 mL

^b según la alícuota que se tome

^c la necesaria para tener aproximadamente 40 mL

Cálculos

$$P \text{ (mg/kg)} = \text{ppm en CC} \times D_m \times D_v$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de extractante/g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo/alícuota)

NOTA

Dentro de las variables que afectan los resultados analíticos en los análisis de suelos están el tamaño y posición de los frascos, el tiempo y el tipo de agitación, la temperatura de extracción y el tiempo de contacto del suelo con la solución extractora.

Previo al análisis, el material de vidrio deberá haberse remojado por 24 horas en una solución de HCl 0.1 N, posteriormente, enjuagar con agua corriente y terminar con agua destilada.

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

Referencias

BRAY, R.H. and L.T. KURTZ. 1945. Determination of total, organic, and available phosphorus in soil. Soil Sci. 59:39-45.

CSTPA. 1974. Handbook on reference methods for soil testing. Council of Soil Testing and Plant Analysis. Athens, Georgia.

CATIONES INTERCAMBIABLES

Extracción con $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 1 N pH 7 y cuantificación por absorción atómica y fotometría de llama

Reactivos

Acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1 N, pH 7.0. Se diluyen 57 mL de ácido acético glacial (CH_3COOH) en 800 mL de agua. Se añaden 69 mL de amoníaco concentrado (NH_3). Se agita. Se ajusta el pH a 7.0, con NH_3 o CH_3COOH según corresponda. Se afora a 1 L con agua.

Estándar de calcio de 1000 ppm. Se disuelven 2.4973 g de CaCO_3 (secado a 285 ° C por 2 h) en 5 mL de HCl 6 N y se diluye con agua a 1 L y se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de magnesio de 1000 ppm. Se disuelve 1.0000 g de Mg metálico puro en HCl diluido y se afora a 1 L con agua y se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de potasio de 1000 ppm. Se disuelven 1.9067 g de KCl (secado a 110 ° C por 2 h), en agua se diluye a 1 L y se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de sodio de 1000 ppm. Se disuelven 2.5421 g de NaCl en agua (secado a 110 ° C por 2 h), se diluye a 1 L y se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de Ca, Mg, K y Na de 100 ppm. Se diluyen por separado 50 mL de la solución de 1000 ppm de Ca, Mg, K y Na y se afora a 500 mL con $\text{CH}_3\text{COONH}_4$.

Cloruro de lantano al 5 %. Se pesan 5.864 g de La_2O_3 , se disuelven en 25 mL de HCl concentrado y se afora a 100 mL con agua destilada.

Material y equipo

Tubos de centrifuga de 100 mL
Tapones de hule y cuadros de film o película de plástico
Probeta de 50 mL o dosificador automático
Matraces aforados de 100 mL
Papel whatman 2, 4 o similar
Agitador de acción recíproca
Pipetas volumétricas clase A de 1, 2, 3, 4 y 5 mL
Centrífuga

Flamómetro

Lámparas de cátodo hueco de Ca y Mg

Espectrofotómetro de absorción atómica provisto de quemador de óxido nítrico.

Procedimiento

Se pesan 5 g de suelo y se colocan en tubo de centrifuga. Se adicionan 33 mL de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 1 N, se tapan los tubos (se cubre el tapón con la película de plástico para evitar contaminación), se colocan en posición horizontal y se agitan por 10 minutos a 180 rpm en agitador de acción recíproca.

Se centrifuga la suspensión hasta que el sobrenadante esté claro (10 minutos a 1800 rpm). El sobrenadante se filtra en un matraz aforado de 100 mL con papel whatman 2, 4 o similar. Se repite el proceso dos veces más. Se enrasa a 100 mL con $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ se guarda para determinar K, Ca, Mg y Na intercambiables. Simultáneamente se corren blancos de reactivos.

Determinación de Ca y Mg.

Para la determinación de Ca, en general, se toma una alícuota de 2 mL y se afora con agua a 50 mL (dilución de volumen 50/2), se realiza otra dilución con alícuota de 3 mL y se afora a 25 mL, deben realizarse las diluciones que convengan, dependiendo de la concentración del analito. Se lee Ca en absorción atómica en llama de N_2O y C_2H_2 y con curvas de calibración diluidas en agua. La preparación de la curva de calibración para Ca se indica en la tabla siguiente (podrían tenerse otras concentraciones, recordar que el intervalo de trabajo depende de la sensibilidad del instrumento).

Solución de Ca (100 ppm) ^a	Aforo con agua	Conc. de Ca
	mL	ppm
0	100	0
1	100	1
2	100	2
3	100	3
4	100	4
5	100	5

^a matraz aforado de 100 mL

Es recomendable agregarle a las soluciones cloruro de lantano; tomar de la segunda solución y de cada punto de la curva de calibración 10 mL y adicionarle 2.5 mL de la solución de cloruro de lantano al 5% con lo cual se tendrá una concentración final de lantano de 1% e igual concentración de los puntos de la curva de calibración.

Para la determinación de Mg, se lee en la dilución que corresponda. Se cuantifica con el equipo de absorción atómica en llama de aire y C_2H_2 y con curvas de calibración diluidas en agua. La preparación de la curva de calibración para Mg se indica en la tabla siguiente (podrían tenerse otras concentraciones, recordar que el intervalo de trabajo depende de la sensibilidad del instrumento).

Solución de Mg (100 ppm)^a	Aforo con agua	Conc. de Mg
	mL	ppm
0	100	0
1	100	1
2	100	2
3	100	3
4	100	4
5	100	5

^a matraz aforado de 100 mL

Es recomendable agregarle a las soluciones cloruro de lantano; tomar de la primera solución y de cada punto de la curva de calibración 10 mL y adicionarle 2.5 mL de la solución de cloruro de lantano al 5% con lo cual se tendrá una concentración final de lantano de 1 % e igual concentración de los puntos de la curva de calibración.

Determinación de K y Na por flamometría.

La cuantificación de K y Na puede realizarse con el equipo de absorción atómica en modo de emisión, utilizando llama de aire y C_2H_2 . Sin embargo, es más económico determinarlos en un flamómetro. A continuación se describe el procedimiento con el flamómetro. Para la determinación de K y Na, se lee en los extractos concentrados y la curva se prepara aforando con la solución extractora para mantener la matriz. Si las concentraciones de Na y K son altas, deberá hacerse la dilución correspondiente, puede hacerse una dilución de 10/3, lo cual depende de la concentración. Lo más adecuado es leer el extracto directo en el flamómetro y en función de la lectura será la dilución a realizar. Es conveniente realizar las lecturas de las muestras problemas en la zona central de las curvas. Cuando se realizan diluciones, los puntos de las curvas de calibración se aforan con agua. La preparación de las curvas de calibración para K y Na se indican en las tablas siguientes (podrían tenerse otras concentraciones, recordar que el intervalo de trabajo depende de la sensibilidad del instrumento).

Solución de K (100 ppm) ^a	Aforo con NH ₄ OAc ^b mL	Conc. de K ppm
0	100	0
5	100	5
10	100	10
20	100	20
30	100	30
40	100	40

^a matraz aforado de 100 mL

^b en diluciones, aforar con agua

Solución de Na (100 ppm) ^a	Aforo con NH ₄ OAc ^b mL	Conc. de Na ppm
0	100	0
5	100	5
10	100	10
20	100	20
30	100	30
40	100	40

^a matraz aforado de 100 mL

^b o con agua en diluciones

Se calibra el instrumento a 100 con la solución de 40 ppm (podrían tenerse otras concentraciones, recordar que el intervalo de trabajo depende de la sensibilidad del instrumento) y a cero con la solución de CH₃COONH₄ en caso de leer las muestras en el extracto concentrado o con agua si se han realizado diluciones. Para corregir parcialmente la variación instrumental, es conveniente volver a calibrar el instrumento a 100 antes de hacer las lecturas de cada una de las soluciones patrones. La serie de patrones y muestras se leen como mínimo dos veces y se promedia para obtener una lectura constante.

La experiencia indica que las lecturas deben realizarse entre 10 a 15 segundos de iniciada la aspiración, para evitar así desviaciones debido a incrustaciones. Por otra parte, después de leer cada muestra debe aspirarse suficiente agua para limpiar el quemador.

Cálculos

$$\text{Ca (cmol/kg)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v \times 100}{20.04 \times 1000}$$

$$\text{Mg (cmol / kg)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v \times 100}{12.15 \times 1000}$$

$$\text{K (cmol/kg)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v \times 100}{39.1 \times 1000}$$

$$\text{Na (cmol/kg)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v \times 100}{23.0 \times 1000}$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de extractante/g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo/alícuota)

20.04, 12.15, 39.1, y 23.0 = factor para convertir a miliequivalentes para Ca, Mg, K y Na.

100/1000 = factor para expresar resultados en función de 100 g de muestra.

Los cationes anteriormente se expresaban en meq/100 g, y es igual a cmol/kg o cmol kg^{-1} .

NOTA

Diluciones recomendadas

K: 50/2; Ca 50/1; Mg 50/1.

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

Referencias

CHAPMAN, H. D. 1965. Cation exchange capacity. pp. 891-901. *In*: C.A. Black (ed.), Methods of analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.

EXTRACCIÓN DE HIERRO, COBRE, CINCO, Y MANGANESO CON DTPA

Reactivos

Solución extractora: Ácido dietilentriaminopentacético (DTPA) 0.005 M, cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.01 M y trietanolamina (TEA, $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$) 0.1 M, ajustada a pH 7.30. Para 1 L de esta solución se disuelven 1.967 g de DTPA, 1.47 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 14.92 g de TEA ($\rho = 1.12 \text{ g/cm}^3$ se miden 13.3 mL) en aproximadamente 20 mL de agua desionizada; se diluye a 900 mL. Se ajusta el pH a 7.30 ± 0.05 con HCl 6 N, se agita y se diluye a 1 L con agua de igual calidad. Esta solución se guarda en frasco de plástico.

Ácido clorhídrico 6 N. Se diluyen con agua 5.9 mL de HCl a 37% en un matraz aforado de 10 mL.

Estándar de CINCO de 1000 ppm. Se disuelve 1.0000 g de Zn metálico puro, con 5 ó 10 mL de HCl concentrado. Se evapora casi a sequedad y se diluye a 1 L con solución extractora (DTPA 0.005 M), se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de manganeso de 1000 ppm. Se disuelven 1.5824 g de óxido de manganeso (MnO_2) en 5 mL de HCl concentrado. Se evapora casi a sequedad y se diluye a 1 L con solución extractora (DTPA 0.005 M), y se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de hierro de 1000 ppm. Se disuelven 1.0000 g de Fe (en forma de alambre o polvo puro con 5 a 10 mL de HCl concentrado). Se evapora casi a sequedad y se diluye a 1 L con la solución extractora (DTPA 0.005 M), y se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de cobre de 1000 ppm. Se disuelve 1.0000 g de Cu metálico en una cantidad mínima de HNO_3 concentrado y 5 mL de HCl. Se evapora casi a sequedad y se diluye a 1 L con solución extractora (DTPA 0.005 M), y se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de Fe, Cu, Zn y Mn de 100 ppm. Se diluyen por separado 10 mL de la solución de 1000 ppm de Fe, Cu, Zn y Mn y se afora a 100 mL con solución extractora (DTPA 0.005 M).

Material y equipo

Tubos de polipropileno de 50 mL o matraz erlenmeyer de 125 mL

Matraces volumétricos de 25 y 50 mL
 Tapones de hule y cuadros de film o película de plástico
 Pipetas volumétricas clase A de 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL
 Papel whatman 5, 42 o similar
 Probeta de 25 mL o dosificador automático
 Agitador mecánico de acción recíproca
 Medidor de pH
 Espectrofotómetro de absorción atómica
 Lámparas de cátodo hueco de Fe, Cu, Zn y Mn
 El material utilizado debe dejarse toda la noche en HCl a 5%, enjuagarse con agua de la llave y, finalmente, con agua destilada y desionizada.

Procedimiento

Se pesan 10 g de suelo y se colocan en tubos de polipropileno de 50 mL o en matraces erlenmeyer de 125 mL, se agregan 20 mL de solución extractora. Se tapan los tubos (se cubre previamente el tapón con la película de plástico para evitar contaminación), se agitan durante dos horas a 180 opm (colocar los tubos en posición horizontal y los matraces en posición vertical). Se filtran en papel whatman 5, 42 o similar y se cuantifican los microelementos en el extracto. Simultáneamente se corren blancos de reactivos.

El Fe, Cu, Zn y Mn se determinan mediante espectrofotometría de absorción atómica, y se utiliza llama de aire y C₂H₂. La concentración de la muestra problema se obtiene de las curvas de calibración. Es importante mantener la matriz, si en los extractos se leen directamente las curvas se preparan con la solución extractora, sin embargo, si se hacen diluciones de los extractos se prepararán curvas con agua desionizada. La preparación de las curvas de calibración se indica en la tabla siguiente (podrían tenerse otras concentraciones, recordar que el intervalo de trabajo depende de la sensibilidad del instrumento):

Solución de 100 ppm de Fe, Cu, Zn y Mn	Aforar con DTPA^a	Conc. de Fe, Cu, Zn y Mn
mL		ppm
0	100	0
1	100	1
2	100	2
3	100	3
4	100	4
5	100	5

^a con agua desionizada en diluciones.

Cálculos

$$\text{Fe, Cu, Zn, Mn (mg/kg)} = \text{ppm CC} \times D_m \times D_v$$

Donde:

ppm CC= partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de extractante/g de muestra)

D_v = dilución de volumen aforo/alícuota)

Nota

Los materiales deben ser remojados en HCl 0.1N (**8 mL de HCl por L agua**) durante toda la noche, enjuagar con agua de la llave, agua destilada y terminar con agua desionizada. Las diluciones deben ser con agua desionizada.

Diluciones recomendadas: Fe, Cu, Zn y Mn lectura directa

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

Referencias

LINDSAY, W. L.; W.A. NORVELL. 1978. Development of a DTPA soil test for CINC, iron, manganese, and copper. Soil Sci. Soc. Am. J. 42: 421 – 428

DETERMINACIÓN DE ANIONES SOLUBLES EN EL EXTRACTO DE SATURACIÓN

Objetivo y campo de aplicación

Esta Norma Oficial Mexicana establece que el método para determinar los aniones solubles (Cl^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- , SO_4^{2-} en extracto de saturación por titulación volumétrica los tres primeros y por turbidimetría el último.

Principio

Los aniones que se encuentran principalmente en extractos acuosos de suelos, (aniones solubles) son los carbonatos, bicarbonatos, sulfatos y cloruros y en menor cantidad nitratos, silicatos y fosfatos. Para la determinación de CO_3^{2-} , HCO_3^- y Cl^- se pueden utilizar métodos volumétricos con una cierta exactitud. Los SO_4^{2-} pueden ser determinados por gravimetría turbidimétrica.

Reactivos

- 3.1. Ácido sulfúrico 0.05 N. Diluir 3 mL de H_2SO_4 concentrado en 100 mL de H_2O destilada y aforar a 2000 mL valorado.
- 3.2. Fenolftaleína al 1% con etanol al 85%. Preparar 100 mL.
- 3.3. Anaranjado de metilo al 0.1% en agua destilada. Preparar 100 mL.
- 3.4. Agua destilada.
- 3.5. Cromato de potasio al 5%. Preparar 100 mL.
- 3.3. Nitrato de plata 0.025 N. Pese 4.2468 g. de AgNO_3 en un matraz volumétrico de 1 L y lleve al volumen con agua.
- 3.7. Cloruro de Bario Dihidratado. ($\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$).
- 3.8. Solución acondicionadora. Disolver 75 g de NaCl en 275 mL de agua destilada en un matraz de 500 mL con un agitador magnético, añadir 30 mL de HCl concentrado, 50 mL de glicerol, 100 mL etanol al 96%; aforar a 500 mL.
- 3.9. Solución estándar de SO_4 de 1 $\text{Cmol}(-) \text{L}^{-1}$; Disolver 0.0871 g de Sulfato de Potasio (K_2SO_4) en 1000 mL de agua destilada.

Material y Equipo

- 4.1. Material común de laboratorio.
- 4.2. Agitador electromagnético.
- 4.3. Fotocolorímetro.

5. DETERMINACIÓN DE CO_3^{2-} .

- 5.1. Procedimiento.
 - 5.1.1. Tomar 5 mL del extracto de saturación en un matraz erlenmeyer de 125 mL.
 - 5.1.2. Agregar 15 mL de agua destilada.
 - 5.1.3. Añadir 2 a 3 gotas de fenolftaleína.
 - 5.1.4. Si presenta un color rosado, titular con H_2SO_4 0.05 N hasta la desaparición del color, anotar este valor como "Y".

6. DETERMINACIÓN DE HCO_3^-

- 6.1. Procedimiento
 - 6.1.1. Al matraz procedente de la titulación con H_2SO_4 añadirle 3 gotas de anaranjado de metilo.
 - 6.1.2. Seguir la titulación con el H_2SO_4 0.05 N hasta un vire de naranja a canela. Anotar este valor como "Z".

Cálculos

$$m \text{ mol. } L^{-1} \text{ de } \text{CO}_3^{2-} = \frac{2Y \times N \text{ del } \text{H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{mL Alicuota}}$$

$$m \text{ mol. } L^{-1} \text{ de } \text{HCO}_3^- = \frac{(Z - 2Y) \times N \text{ del } \text{H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{mL Alicuota}}$$

8. DETERMINACIÓN DE Cl^-

- 8.1. Procedimiento.
 - 8.1.1. Tomar .5 mL del extracto de saturación en un matraz erlenmeyer de 125 mL.
 - 8.1.2. Agregar 15 mL de agua destilada
 - 8.1.3. Adicionar 4 gotas de indicador cromato de potasio
 - 8.1.4. Titular con AgNO_3 0.025 N. Hasta un cambio de color de amarillo a rojo ladrillo.

Cálculos

$$m \text{ mol. } L^{-1} \text{ de } \text{Cl} = \frac{\text{mL de } \text{AgNO}_3 \times N \text{ de } \text{AgNO}_3 \times 1000}{\text{mL Alicuota}}$$

10. DETERMINACIÓN DE SO_4^{2-}

10.1. Preparación de la curva de calibración. De la solución estándar de SO_4^{2-} de $1 \text{ Cmol}(-) \text{ L}^{-1}$ se tomarán alícuotas que serán llevadas a un volumen de 100 mL en matraces aforados con agua destilada como se indica en la tabla siguiente:

$\text{me L}^{-1} \text{SO}_4^{2-}$	Solución estándar de 1 me, agregar (mL)
0.0	0
0.1	10
0.2	20
0.3	30
0.4	40
0.5	50

Afore a 100 mL (con H_2O destilada)

10.2. Procedimiento.

10.2.1. En un matraz volumétrico de 100 mL agregar una alícuota de 10 mL del extracto con una pipeta volumétrica y afore a 100 mL con H_2O destilada.

10.2.2. Vacíelo a un matraz erlenmeyer de 125 mL y adicione 5 mL de solución acondicionadora y aproximadamente 0.2 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

10.2.3. Agite en un agitador electromagnético durante 60 segundos.

10.2.4. Lea inmediatamente en un espectrofotómetro a una longitud de onda 340 nm.

10.2.5. Previamente lea a curva de calibración agregando el contenido de los matraces de 100 mL a matraces erlenmeyer de 125 mL y adicione 5 mL de solución acondicionadora y aproximadamente 0.2 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

10.2.6. Agite y lea en el espectrofotómetro como se indicó para las muestras.

10.2.7. Si la lectura de las muestras se sale del rango de la curva de calibración haga una dilución.

Cálculos

Graficar la curva de calibración en papel milimétrico, y determine la concentración de SO_4^{2-} por interpolación. Si efectuaron diluciones multiplicar por el factor correspondiente.

$$m \text{ mol}_{(-)} \text{ L}^{-1} \text{ de } \text{SO}_4^{2-} = a \times 10 \times d$$

Donde:

a = $\text{Cmol}_{(-)} \text{ L}^{-1}$ calculados en la curva de calibración.

10 = Factor de dilución de la curva. (100/10)

d = Factor de dilución de la muestra (si a hubo).

Referencias

- LOVEDAY, J. 1974. Methods for analysis of irrigated soils. Techn. Comm. 54, Commonwealth Bureau of Soils, Farnham Royal. Bucks. England.
- Richards, L. A.. (ed). US Salinity Laboratory Staff (1954, Reprint 1969). Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. USDA Agriculture Handbook No. 60.

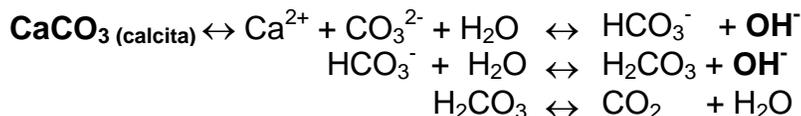
DETERMINACIÓN DE CARBONATOS TOTALES EN EL SUELO

Introducción

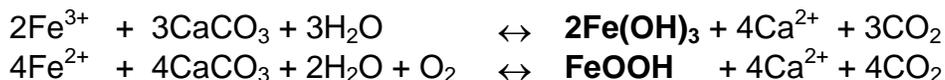
Los carbonatos de calcio se encuentran en cantidades apreciables en el suelo. Según el plano mundial de suelos (FAO-UNESCO, 1974), se ha estimado que el 6.5 % de los suelos de México tienen un alto contenido de carbonatos, a los cuales se les clasifica como Rendzinas. Cuando se cultiva en suelos con estas características el problema nutricional principal en diferentes especies vegetales, se asocia con baja disponibilidad de Fe, lo que promueve se manifieste la clorosis férrica en el follaje, disminuya el desarrollo del cultivo y merme de manera significativa la producción, originando pérdidas económicas importantes.

El Fe constituye el 3.2% del peso de la litósfera y en los suelos alcalinos y calcimórficos se encuentra formando óxidos e hidróxidos de muy baja solubilidad, lo que disminuye la concentración de Fe libre y aprovechable para las plantas a menos de 10^{-10} M, cantidad mucho menor (10^{-7} M) a la requerida para una buena nutrición de los cultivos (Loeppert et al., 1986).

La baja disponibilidad de Fe, en suelos calcimórficos está controlada por la concentración de CaCO_3 , principalmente, al mantener el pH en el intervalo alcalino (7.5 a 8.5). Ya que la disolución del CaCO_3 , proveniente de la calcita y aragonita, forma OH^- , según la reacción siguiente:



La mayor influencia del CaCO_3 sobre el Fe se presenta en condiciones de un ambiente de oxidación y alto pH, donde el CaCO_3 proporciona una superficie reactiva que demanda protones, en una reacción ácido base que involucra a las especies de Fe disueltas en la solución del suelo, según la reacción siguiente:



En esta reacción son importantes la concentración de Fe, el pH alcalino en equilibrio con CaCO_3 , la superficie específica del CaCO_3 , la composición del aire y tipo de aniones presentes. Específicamente la concentración de O_2 influye en la cantidad de Fe^{2+} oxidado a Fe^{3+} , gobernando la reacción general en favor de formas no disponibles de Fe (Loeppert and Hossner, 1984).

La determinación de carbonatos totales y carbonatos activos se utilizan como valores referencia para determinar posibles deficiencias de Fe en los cultivos. Algunos cultivares tolerantes pueden establecerse en suelos con un contenido de carbonatos totales entre 10 y 20 y de calcio activo entre 2 y 7% (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2004).

Materiales

- Suelo calcáreo
- Dispositivo de Horton y Nwson

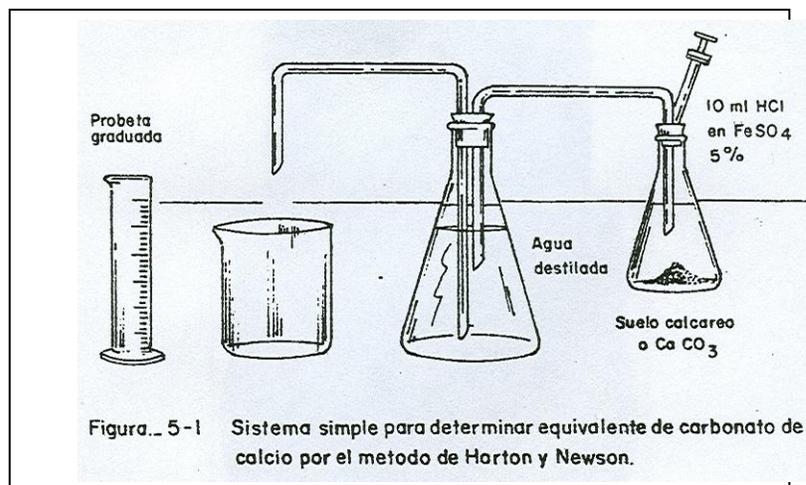
Reactivos

HCl 1:1 (concentrado, deluído con FeSO_4 5%)

CaCO_3 anhidro (puro)

Procedimiento

1. Realizar una curva de titulación con CaCO_3 . Pesar 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 y 0.3 g de CaCO_3 puro en balanza analítica y colocar en matraz de 125 ml.
2. Llenar el matraz de 500 ml con agua destilada y conectar el sistema evitando fugas de aire (ver Figura 1).
3. Inyectar 10 ml de HCl 1:1 con FeSO_4 5%.
4. Después de que pare el flujo de agua, medir el volumen de agua desplazado.
5. Repetir el procedimiento para 3 g de muestra del suelo.



Cálculos

Graficar la curva de titulación (ml de agua desplazados contra cantidad de carbonato de calcio). Estimar los gramos de carbonato de calcio equivalentes derivados del volumen de agua desplazados por los carbonatos presentes en el suelo (gramos de CaCO_3 en la muestra). El porcentaje equivalente a CaCO_3 en la muestra se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{CaCO}_3 = \frac{\text{(gramos de CaCO}_3 \text{ en la muestra)}}{\text{gramos de muestra de suelo}} \times 100$$

Referencias

- FAO-UNESCO. 1974. Soil map of the world, 1:5,000,000. Vol. Leged. U.N.E.S.C.O. Paris.
- HORTON, J. H. y NEEEWSON, D. W. 1953. A rapid gas evolution for calcium carbonate equivalent in liming materials. Soil. Soc. AM. Proc. 17: 414-415.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2004 ORDEN APA/1657/2004, de 31 de mayo, por la que se establece la norma técnica específica de la identificación de garantía nacional de producción integrada de cítricos. Boletín Oficial del Estado». Madrid, 31 de mayo de 2004.
- LOEPPERT R. H., L. R. HOSSNER AND P. K. AMIN. 1984. Formation of ferric oxihydroxides from ferrous perchlorates in stirred calcareous systems. Soil Sci. Soc. Am. J. 48:677-683.

DETERMINACIÓN DE CARBONATOS ACTIVOS

La velocidad de dilución de los carbonatos de calcio es función de la dureza y del tamaño. A igual dureza la velocidad de disolución aumenta con la finura. Por lo que la capacidad de un suelo para generar clorosis a un cultivo dependerá de la facilidad con que los carbonatos de calcio entren en solución, de su dureza, de su tamaño y composición. La capacidad de un suelo para generar clorosis a un cultivo se mide sometiendo los CaCO_3 durante un tiempo limitado a la acción disolvente de una solución de oxalato de amonio 0.1 N. El oxalato de calcio que se forma precipita e impide que la solución se sature y se interrumpa la disolución de los CaCO_3 .

Reactivos

1. Oxalato de amonio 0.1 N. Disuelva en un matraz de aforado de 1 L 14.3 g de oxalato de amonio y afore a un L.
2. Permanganato de potasio 0.1 N. En una cápsula de porcelana coloque 3.2 g del reactivo con 100 mL de agua destilada. Caliente hasta ebullición y agite con una varilla, procurando que las paredes de la cápsula no se sobrecalienten. Agregue otros 100 mL de agua fría y vacíe la solución a un matraz volumétrico de 1 L en el que previamente se han colocado 50 mL de agua fría. Lave la cápsula con agua hasta que ésta salga incolora. En frío afore el matraz y valore la solución de permanganato de potasio con una solución de oxalato de solio 0.1 N. Conserve la solución de permanganato en un recipiente color ámbar.

Procedimiento

Coloque 10 g de suelo seco y tamizado a malla 2 mm y colóquelo en un frasco de 500 mL. Añada 250 mL de oxalato de amonio y agite mecánicamente durante dos horas. Filtre a través de papel W-40. Tome una alícuota de 20 mL del filtrado y valórela con permanganato de potasio 0.1 N. Por otro lado valore otros 20 mL oxalato amónico. La diferencia entre ambas valoraciones multiplicado por 0.0028 corresponderá a la cantidad de calcio activo que existe en 0.8 g de muestra. Expresé los resultados en % de carbonato de Calcio (CaCO_3) considerando el factor de conversión de 1.785.

NIJENSOHN, L., PIZARRO O. C. 1960. Un procedimiento para la determinación de calcio activo en suelos orgánicos yesosos. Boletín técnico No.2 IPA. España.

ANÁLISIS DE PLANTAS

NITRÓGENO, MÉTODO SEMIMICRO-KJELDAHL MODIFICADO PARA INCLUIR NITRATOS

Reactivos

Mezcla de ácido sulfúrico con ácido salicílico. Se disuelven 50 g de ácido salicílico ($C_7H_6O_3$) en 2 L de H_2SO_4 concentrado.

Mezcla de indicadores. Se disuelven 0.099 g de bromocresol y 0.066 g de rojo de metilo ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) en 100 mL de alcohol etílico a 95% (preparar en el momento de usar).

Ácido bórico con indicador. Se colocan 20 g de H_3BO_3 en un vaso de precipitado de 1 L, se adicionan 900 mL de agua, se calienta y se agita hasta la completa disolución del ácido.

Se enfría la solución y se agregan 20 mL de la mezcla de indicadores. El pH de la mezcla H_3BO_3 e indicador debe ser aproximadamente 5.0, si fuese más ácido se agregan cuidadosamente gotas de NaOH 0.1 N hasta que la solución adquiera una coloración púrpura rojiza o se alcance el pH indicado, se completa a 1 L con agua y se mezcla (si la coloración de la solución es verde antes de pH 5.0, hay que preparar nuevamente la solución).

Mezcla de catalizadores. Se muele en un mortero y se mezcla 1 kg de K_2SO_4 , 100 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ y 10 g de selenio metálico. La mezcla se muele hasta alcanzar textura de polvo impalpable y se homogeneiza perfectamente para evitar segregación de las partículas de los componentes.

Hidróxido de sodio 10 N. Se colocan 400 g de NaOH en un matraz aforado de 1 litro. Se adicionan 400 mL de agua y se agita hasta que el hidróxido se disuelva. Se deja que la solución se enfríe. Se completa al volumen indicado con agua de igual calidad y se agita vigorosamente. El hidróxido de sodio libre de CO_2 debe protegerse del CO_2 atmosférico, para lo cual debe mantenerse perfectamente tapado.

Agua libre de CO_2 . Se hierve el agua necesaria en un matraz erlenmeyer durante 15 minutos, se tapa con un vaso de precipitado y se enfría.

Anaranjado de metilo. Se disuelven 0.01 g de $C_{14}H_4N_3NaO_3S$ en 100 mL de agua.

Ácido sulfúrico 0.05 N. Se diluyen 1.4 mL de H_2SO_4 ; ($\rho = 1.84 \text{ g/cm}^3$ y 95% de pureza) en agua y se enrasa a 1 L. Se estandariza con Na_2CO_3 seco. Se pesan 0.2500 g de dicha sal y se disuelven en aproximadamente 50 mL de agua libre de CO_2 . Se agregan cinco o seis gotas de anaranjado de metilo a 1 % y se titula con

el ácido cuya concentración se quiere conocer. Es conveniente hacer mínimo tres repeticiones. Se calcula la normalidad según la fórmula siguiente:

$$N_{H_2SO_4} = \frac{\text{Peso}_{Na_2CO_3} (g)}{\text{Peso equivalente}_{Na_2CO_3} \times \text{Volumen de ácido (L)}}$$

Peso equivalente $Na_2CO_3 = 53$

Tiosulfato de sodio. Se muele el tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$), debe pasar el tamiz de 20 mallas.

Material y equipo

Tubos de 2.2 cm d.i y 20 cm de largo o matraz micro-kjeldahl

Matraz erlenmeyer de 125 mL

Probeta de 25 ml

Bureta o titulador automático

Block digestor

Aparato de destilación por arrastre de vapor.

Procedimiento

Digestión. Se pesan 0.1 g de muestra y se colocan en un matraz microkjeldahl o en tubos. Se adicionan 4 mL de la mezcla de ácidos sulfúrico - salicílico, cuidando que ésta se ponga en íntimo contacto con la muestra. El H_2SO_4 es un mal agente mojante por lo que la impregnación de la muestra se debe favorecer agitando suavemente el contenido del tubo. Simultáneamente se corren blancos de reactivos.

Se deja en reposo toda la noche o al menos 6 horas. Se añaden 0.5 g de $Na_2S_2O_3$ a través de un embudo de tallo largo para alcanzar el bulbo del matraz. Se calienta cuidadosamente la mezcla hasta que cese la formación de espuma. Se debe evitar que la espuma suba por el cuello del matraz. Esto se logra mezclando bien el $Na_2S_2O_3$ con el ácido y calentando suavemente al inicio de la digestión. Una vez terminada esta fase, para la cual bastan de 5 a 15 minutos, se adicionan 1.1 g de mezcla catalizadora. La adición del $Na_2S_2O_3$ la mezcla puede hacerse mediante medidas volumétricas calibradas.

Se digiere nuevamente y se aumenta la temperatura. La placa de digestión debe alcanzar entre 360 y 390 ° C para permitir la ebullición de la mezcla de ácido con sales que se adicionan al suelo. Temperaturas inferiores o superiores a ésta pueden provocar recuperación incompleta o pérdidas de N, respectivamente. Después de una corta ebullición la mezcla se aclara. Cuando se alcanza este punto, se bulle lentamente por una hora adicional para el caso de muestras de rutina. Cuando se desea una recuperación entre 99 y 100%, se debe bulle por 5 horas después de clarear. La temperatura en esta fase debe regularse para que los vapores de H_2SO_4 se condensen en el primer tercio inferior del cuello del

matraz. Cuando la digestión esté completa se enfría y se agregan aproximadamente 3 mL de agua. Se agita vigorosamente para disolver el material soluble.

Destilación. Se transfiere el contenido al bulbo de la cámara de destilación del aparato. Se lava el tubo con pequeñas porciones de agua, para tener aproximadamente 7 mL. Se coloca en el tubo de salida del aparato de digestión un matraz erlenmeyer de 125 mL con 10 mL de la solución de H₃BO₃ ácido bórico con indicador. Se adicionan 10 mL de NaOH 10 N al bulbo de destilación. Se conecta el flujo de vapor y se inicia la destilación. Se destilan aproximadamente 75 mL y se lava el condensador.

El nitrógeno amoniacal se determina por titulación con ácido 0.05 N. Se sugiere utilizar una microbureta de 10 mL con graduaciones de 0.02 mL o un titulador automático. El punto de equivalencia de la titulación ocurre cuando la solución vira de verde a rosado (titular los blancos y tomar como referencia este vire).

Cálculos

La concentración de N en $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$, en la muestra se determina según la siguiente fórmula:

$$N (\text{cmol kg}^{-1}) = \frac{(V_{\text{muestra}} - V_{\text{blanco}}) N \text{ ácido} \times 14}{\text{Peso muestra} \times 10} \times 71.428$$

Donde:

V_{muestra} = volumen de H₂SO₄ para titular la muestra (mL)

V_{blanco} = volumen de H₂SO₄ titular el blanco (mL)

N = normalidad exacta del H₂SO₄

14 = peso mili-equivalente del N (mg).

1/10 = factor para convertir a porcentaje (100/1000)

71.428 factor para convertir de porcentaje a cmol kg^{-1}

Peso de muestra en gramos

NOTA 1

Con la finalidad de disminuir la variabilidad en los resultados de los análisis, las muestras vegetales se tamizan en malla 40 (0.42 mm).

Para evaluar la recuperación de N, preparar una solución patrón de 1000 ppm N-NH₄. Pesar 3.821 g de NH₄Cl, diluir a 1 L y guardar en frasco en el refrigerador. Destilar 1 mL de alícuota (1 mL de alícuota de la solución patrón contiene 1 mg de nitrógeno).

$$\begin{aligned} \text{N ppm} &= (M-V) \times 14 \times \text{N ácido} = \\ &= \text{mL} \times 14 \text{ mg} \times .05 \text{ N} \\ &= \text{mL} \times 14 \text{ mg} \times .05 \text{ eq/l} \\ &= \cancel{\text{mL}} \times 14 \times .05 \text{ e}/1000 \cancel{\text{mL}} \\ &= \text{mg de N} \end{aligned}$$

$$e = \frac{g \text{ sust}}{pe}$$
$$g \text{ sust} = e \times Pe$$

NOTA 2

Para abonos orgánicos y compostas. Predigestar por 48 horas y colocar perlas de vidrio para evitar proyecciones.

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

Referencias

BREMMER, J. M. 1965. Total nitrogen. pp. 1149-1178. *In*: C. A. Black (ed.), Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.

SOLUBILIZACIÓN DE FÓSFORO, CALCIO, MAGNESIO, POTASIO, AZUFRE, SODIO, HIERRO, COBRE, CINC, MANGANESO Y BORO POR DIGESTIÓN CON MEZCLA AC PERCLÓRICO/ AC NITRICO

Reactivos

Ácido perclórico, 70 a 72%. HClO_4 .

Ácido nítrico, 65%. HNO_3 .

Mezcla digestora. Se utilizan 4 mL de HNO_3 y 2 mL de HClO_4 por muestra (relación 2:1). Esta mezcla puede realizarse con anticipación ya que es estable.

Material y equipo

Tubos de 2.2 cm d.i y 20 cm de largo o matraz micro-kjeldahl

Matraces volumétricos de 25 mL

Bureta de 50 mL

Block digestor

En análisis de micronutrientes, dejar el material toda la noche en HCl a 5%, enjuagar con agua de grifo, agua destilada y agua desionizada.¹

Procedimiento

Se pesa el material vegetal, 0.50 g y se coloca en matraces microkjeldahl de 30 mL o tubos de digestión. Se adicionan 6 mL de mezcla digestora. Se deja en predigestión por 12 horas como mínimo o en reposo toda la noche. Simultáneamente se corren blancos de reactivos. Se adicionan dos o tres perlas de vidrio para mantener una ebullición pareja.

Se colocan los matraces, o los tubos, en la unidad digestora y se calienta a 150 ° C hasta que desaparezcan los humos pardos de los oxidados de nitrógeno. Este proceso toma entre 30 y 45 minutos. Durante esta etapa se rata el matraz o el tubo para lavar las paredes de todo residuo orgánico.

Una vez concluida la etapa anterior se eleva la temperatura del aparato digestor a 210 ° C para llevar a ebullición a la mezcla azeotrópica de HClO_4 (203° C). El ataque del HClO_4 a la matriz orgánica residual se nota inicialmente por la aparición de vapores pardos leves y luego por una reacción viciosa con formación de espuma (**¡CUIDADO!**: el operador debe conocer las precauciones cuando se trabaja con HClO_4).

El final de la reacción está marcado por la aparición de vapores blancos densos característicos del HClO_4 . Esta etapa dura aproximadamente una hora. Después de la aparición de vapores pesados, dejar las muestras por cinco minutos más en

el aparato digestor. Se transfiere cuantitativamente el digestado a un matraz aforado de 25 mL y se afora con agua desionizada.

CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO

Reactivos

Reactivo vanadomolibdico. Este reactivo se prepara en el momento de desarrollar la colorimetría para cuantificar P, se utilizan partes iguales de los reactivos siguientes:

- *Ácido nítrico 1:2.* Se mezclan 333 mL de HNO_3 concentrado con 667 mL de agua.
- *Vanadato de amonio a 0.25%.* Se disuelven 2.5 g de NH_4VO_3 en 800 mL de agua, se calienta ligeramente, se agita, se enfría y se afora a 1 L.
- *Molibdato de amonio a 5%.* Se disuelven 50 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot\text{H}_2\text{O}$ en 400 mL de agua. Se calienta lentamente y se agita para disolver los cristales. Se enfría y se afora a 1 L.

Estándar de fósforo de 200 ppm. Se pesan 0.8787 g de fosfato dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4 , secado al horno a 105°C por 2 horas), se disuelven en agua y se diluye a 1 L. Esta solución debe refrigerarse en frasco de plástico o de vidrio blando (no pyrex) para evitar contaminación con arsénico.

Estándar de fósforo de 50 ppm. Se diluyen 25 mL de la solución patrón de 200 ppm de fósforo a 100 mL con agua.

Material y equipo

Pipetas volumétricas de 2, 3 y 5 mL
Matraces aforados de 50 mL
Pipetas volumétricas clase A de 2, 4, 8, 10, 15 y 25 mL
Bureta o dosificador automático
Espectrofotómetro

Procedimiento

Se pipetea una alícuota que contenga menos de 0.3 mg de P, se toman 2 mL y se colocan en un matraz aforado de 50 mL, se adiciona agua destilada hasta tener aproximadamente 40 mL. Se adicionan 7.5 mL de reactivo vanadomolibdico, se afora con agua y se agita. Se esperan 20 minutos y se lee la absorción de luz por el complejo fosfovanadomolibdico a 470 nm.

Se prepara la curva de calibración siguiente y se le trata como a las muestras.

Solución de P (50 ppm) ^a	Reactivo vanadomolibdico	Conc. de P
	mL	ppm
0	7.5	0
2	7.5	2
4	7.5	4
8	7.5	8
10	7.5	10
15	7.5	15

^a matraces aforados de 50 mL

Cálculos

$$P \text{ (cmol kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{ppm CC} \times D_m \times D_v}{10000} \times 32.289$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de extractante/g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo/alícuota)

32.289 factor para convertir de porcentaje a cmol kg^{-1}

NOTA

Lavar el material VEGETAL:

1° Lavar con agua de llave para quitar tierra.

2° Lavar con HCl 0.1 M vigorosamente (15 seg) (\approx 8 mL HCl conc. por litro de agua)

3° Enjuagar agua destilada

4° Enjuagar agua desionizada

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

CUANTIFICACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO, POTASIO Y SODIO

Reactivos

Estándar de calcio de 1000 ppm. Se disuelven 2.4973 g de CaCO_3 (secado a 285°C por 2 h) en 5 mL de HCl 6 N y se diluye con agua a 1 L. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de magnesio de 1000 ppm. Se disuelve 1.0000 g de Mg metálico puro en HCl diluido y se afora con agua a 1 L. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de potasio de 1000 ppm. Se disuelven 1.9067 g de KCl (secado a 110°C por 2 h) en agua, se diluye a 1 L y se mezcla. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de sodio de 1000 ppm. Se disuelven 2.5421 g de NaCl (secado a 110°C por 2 h) en agua, se diluye a 1 L y se mezcla. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándares de Ca, Mg, K y Na de 100 ppm. Se diluyen, por separado, 50 mL de las soluciones de 1000 ppm de Fe, Cu, Zn y Mn y se aforan con agua destilada a 500 mL.

Cloruro de lantano al 5 %. Se pesan 5.864 g de La_2O_3 , se disuelven en 25 mL de HCl concentrado y se afora a 100 mL con agua destilada.

Material y equipo

Matraces volumétricos de 25 y 50 mL

Pipetas volumétricas de 2, 3 y 5 mL

Pipetas volumétricas clase A de 1, 2, 3, 4, 5 mL

Flamómetro

Lámparas de cátodo hueco de Ca y Mg

Espectrofotómetro de absorción atómica provisto de quemador de óxido nítrico.

Procedimiento

Para el análisis de macroelementos se deben efectuar diluciones adecuadas. Por ejemplo, para Ca, se realiza una doble dilución generalmente: se toma una alícuota de 2 mL con una pipeta volumétrica y se coloca en un matraz aforado de 50 mL. Se enrasa y se agita. De esta primera dilución se toma una alícuota de 3 ó 5 mL y se enrasa a 25 mL. Se podrían realizar otras diluciones dependiendo de la concentración de los analitos.

Leer Ca en absorción atómica y con llama de N_2O y C_2H_2 . La curva de calibración se debe realizar de acuerdo con las especificaciones del aparato. Comúnmente la cuantificación de Ca se realiza en la segunda solución, por lo que la curva de calibración se realiza con agua, con estas soluciones no hay efectos matriciales. La preparación de la curva de calibración se indica en la tabla siguiente (podrían tenerse otras concentraciones, recordar que el intervalo de trabajo depende de la sensibilidad del instrumento):

Solución de Ca (100 ppm)^a	Aforo con agua	Conc. de Ca
	mL	ppm
0	100	0
1	100	1
2	100	2
3	100	3
4	100	4
5	100	5

^a en matraz aforado de 100 mL

Es recomendable agregarle a las soluciones cloruro de lantano para leer calcio; tomar de la segunda solución y de cada punto de la curva de calibración 10 mL y adicionarle 2.5 mL de la solución de cloruro de lantano al 5% con lo cual se tendrá una concentración final de lantano de 1% e igual concentración de los puntos de la curva de calibración. (Si es óxido de lantano debe ser de 0.2-05%)

Generalmente, el Mg se lee en la primera solución y la curva de calibración se afora con agua ya que no hay efectos de matriz. Se lee en absorción atómica con llama aire y C_2H_2 , de acuerdo con las especificaciones del aparato.

Solución de Mg (100 ppm)^a	Aforo con agua	Conc. de Mg
	mL	Ppm
0	100	0
5	100	1
1	100	2
2	100	3
3	100	4
4	100	5

^a en matraz aforado de 100 mL

El Na y el K se cuantifican en un fotómetro de llama, con el filtro correspondiente o a la longitud de onda indicada por el fabricante, o en absorción atómica en modo de emisión a la longitud de onda correspondiente. Estos dos elementos se cuantifican generalmente en la primera dilución, sin embargo dependiendo de la concentración del analito será la dilución que deberá efectuarse.

Solución de K (100 ppm) ^a	Aforo con agua	Conc. de K
	mL	Ppm
0	100	0
5	100	5
10	100	10
20	100	20
30	100	30
40	100	40

^a en matraz aforado de 100 mL

Solución de Na (100 ppm) ^a	Aforo con agua	Conc. de Na
	mL	ppm
0	100	0
5	100	5
10	100	10
20	100	20
30	100	30
40	100	40

^a en matraz aforado de 100 mL

Cálculos

$$\text{Ca (cmol kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v}{10000} \times 24.95$$

$$\text{Mg (cmol kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v}{10000} \times 41.135$$

$$\text{K (cmol kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v}{10000} \times 25.575$$

$$\text{Na (cmol kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v}{10000} \times 43.478$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de aforo/g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo/alícuota)

25.575, 249.5, 41.135 y 43.478, factores para convertir de porcentaje a cmol kg^{-1} .

CUANTIFICACIÓN DE HIERRO, COBRE, CINC Y MANGANESO

Reactivos

Estándar de hierro de 1000 ppm. Se disuelve 1.0000 g de Fe (en forma de alambre o polvo puro) en 5 ó 10 mL de HCl concentrado. Se evapora casi a sequedad y se diluye con agua desionizada a 1 L. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de cobre de 1000 ppm. Se disuelve 1.0000 g de Cu metálico en una cantidad mínima de HNO₃ concentrado y 5 mL de HCl. Se evapora casi a sequedad y se diluye a 1 L con agua desionizada. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de CINC de 1000 ppm. Se disuelve 1.0000 g de Zn metálico puro en 5 ó 10 mL de HCl concentrado. Se evapora casi a sequedad y se diluye con agua desionizada a 1 L. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándar de manganeso de 1000 ppm. Se disuelven 1.5820 g de MnO₂ en 5 mL de HCl concentrado. Se evapora casi a sequedad y se diluye con agua desionizada a 1 L. Se guarda en botella de polietileno y en refrigeración.

Estándares de Fe, Cu, Zn y Mn de 100 ppm. Se diluyen, por separado, 10 mL de las soluciones de 1000 ppm de Fe, Cu, Zn y Mn y se aforan a 100 mL con agua desionizada.

Material y equipo

Pipetas volumétricas de 2 y 3 mL

Pipetas volumétricas clase A de 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL

Lámparas de cátodo hueco de Fe, Cu, Zn y Mn

Equipo de absorción atómica.

Procedimiento

En general, los micronutrientes se leen directamente en el extracto digerido (matraz de 10 mL), esto es, sin realizar ninguna dilución, excepto para Fe. Se toma una alícuota de 2 mL y se afora a 25 mL. Si las muestras se leen directamente en absorción atómica, las curvas deben mantener la matriz, es decir, la misma cantidad de HClO₄ en el digestado ya aforado. Generalmente queda 1 mL de ácido, si se afora a 10 mL el digestado, entonces esta solución tiene 10% de ácido y la misma cantidad deben tener los puntos de la curva. Por ejemplo, si se preparan 100 mL de cada punto de la curva, la solución deberá tener 10 mL de HClO₄ para mantener la matriz. Si se hacen diluciones en los extractos se lee en curvas aforadas solamente con agua. La preparación de la curva de calibración se

indica en la tabla siguiente (podrían tenerse otras concentraciones, recordar que el intervalo de trabajo depende de la sensibilidad del instrumento):

Solución de Fe, Cu, Zn o Mn (100 ppm)	Aforo con agua ^a	Conc. de Fe, Cu, Zn o Mn
	mL	ppm
0	100	0
1	100	1
2	100	2
3	100	3
4	100	4
5	100	5

^a desionizada, en matraz aforado de 100 mL, y 10 mL de HClO₄ para mantener la matriz.

Cálculos

$$\text{Fe, Cu, Zn, Mn (mg kg}^{-1}\text{)} = \text{ppm CC} \times D_m \times D_v$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de aforo/g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo/alícuota)

Referencias

ALLAN, J.E. 1971. The preparation of agricultural samples for analysis by atomic absorption spectroscopy. Varian Techtron, Walnut Creek, California.

POTASIO EXTRACTABLE EN AGUA, MÉTODO DE EXTRACCIÓN RÁPIDA

Reactivos

Estándar de potasio de 1000 ppm. Se disuelve 1.9067 g de KCl en agua (secar a 110 ° C por 2 h), se diluye a 1 L y se mezcla. Se guarda en botella de polietileno.

Estándar de potasio de 100 ppm. Se diluyen por separado 50 mL de la solución de 1000 ppm de K y se afora a 500 mL.

Material y equipo

Tubos de polipropileno de 100 mL.
 Probeta de 10 mL o dosificador automático
 Tapones de hule y cuadros de plástico
 Papel Whatman 40 o similar
 Agitador de acción recíproca
 Fotómetro de llama o espectrofotómetro de absorción atómica

Procedimiento

Se coloca 0.1 g de material vegetal en un tubo de polipropileno de 100 mL. Se adicionan 50 mL de solución de agua, se tapan los tubos (se cubre el tapón con plástico para evitar contaminación por los tapones) y se agitan por 10 minutos a 180 opm. Se filtra en papel Whatman 40 y se determina la concentración de K en fotómetro de llama o en espectrofotómetro de absorción atómica en modo de emisión. Se prepara una curva de calibración de potasio como se indica a continuación:

Solución de K (100 ppm) ^a	Aforo con agua	K
_____ mL	_____	ppm
0	100	0
5	"	5
10	"	10
20	"	20
30	"	30
40	"	40

^a Matraz aforado de 100 mL

Se calibra el instrumento a 100 divisiones con el patrón más concentrado y a cero con agua. Para corregir parcialmente la variación instrumental, es conveniente volver a calibrar el instrumento a 100 antes de hacer las lecturas de cada una de las soluciones patrón. La serie de patrones se leen hasta obtener una lectura constante. Después de esto se lee las muestras problema. Es conveniente releer las muestras dos o tres veces. La experiencia indica, que las lecturas deben

realizarse entre 10 a 15 segundos de iniciada la aspiración, para evitar así desviaciones debido a incrustaciones.

Cálculos

$$K \text{ (cmol kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{ppmCC} \times D_m \times D_v}{10\,000} \times 25.575$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (volumen de aforo/g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo/alícuota)

25.575 factor para convertir de porcentaje a cmol kg^{-1}

Comentarios

El presente método no destruye la matriz orgánica, hace extracción de una fracción soluble del nutriente en el tejido con agua (AOAC, 1970) aunque también es posible hacerla con ácidos diluidos (Johnson y Ulrich, 1958) o soluciones salinas diluidas (Jackson, 1964). Estos procedimientos son aplicables solamente en aquellos casos en que el elemento no forma parte de los compuestos estructurables, sino más bien se encuentra asociado a ácidos orgánicos y sales como es el caso del potasio en material vegetal.

Algunos estudios (Etchevers *et al.*, 1982) han evaluado aquellas variables de extracción de potasio en agua que pudieran influir en la exactitud y precisión del método. Se ha observado que el tiempo de extracción afecta significativamente los niveles de potasio extractable en agua. A 2 y 120 minutos se ha extraído menos potasio que a 10, 30 y 60 minutos. Las diferencias que llegan a observarse entre estos últimos carecen, sin embargo, de importancia debido a la cual, es conveniente utilizar un tiempo de extracción de 10 minutos. Respecto a la relación suelo/extractante, aunque se ha observado una ligera diferencia en el porcentaje de K extractable al variar la relación de muestra/volumen del extractante, carece de importancia para los análisis de rutina. Desde el punto de vista práctico es ventajoso utilizar una relación muestra/extractante de 0.1/50 lo que permite determinar las concentraciones de potasio en extractos foliares sin hacer diluciones o con diluciones mínimas, evitándose de esta manera el error analítico que éstas implican. Los resultados obtenidos al comparar la extracción del potasio en agua vs. potasio total en vid y otro gran número de especies vegetales muestra una alta correlación ($r = 0.997$), lo que permite concluir que es posible hacer estimaciones adecuadas de los niveles de potasio total en tejidos vegetales, mediante extractos acuosos sin sacrificio de exactitud y precisión. Algunas ventajas importantes de este método son su bajo uso de reactivos, ahorran tiempo, es de fácil realización, por no usar ácidos elimina peligro de explosiones,

no provoca pérdidas por ácidos elimina peligro de explosiones, no provoca pérdida por volatilización, no cambia la viscosidad de las soluciones, etc.

Una desventaja del método es la facilidad con que la flora fungosa normal se establece en los extractos, por lo que las lecturas en el fotómetro de llama se deben realizar lo más breve posible una vez efectuada la filtración del extracto, a objeto de evitar los errores que pudieran ocurrir por esta causa.

Referencias

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1970. official Methods of Analysis. 11 Ed. Washington, D. C. pg. 47.

JACKSON, M. L. 1964. Análisis químico de suelos. Trad. de la 1ra. edición norteamericana por Jose Beltom. Barcelona, Omega. 662 p.

JOHNSON, C. M. and ULRICH, A. 1958. Analytical methods for use in plant analysis. California, Agricultural Experimental Station. Bulletin No. 766. 78 p.

ETCHEVERS B., J. D., R. CARRASCO F. y R. MERINO H. 1982. Análisis de potasio en vid. Depto. de Suelos y Fitotecnia, Escuela de Agronomía, Universidad de Concepción, Chile.

DETERMINACIÓN DE AZUFRE FOLIAR MÉTODO TURBIDIMÉTRICO

El azufre se determina por turbidimetría con cloruro de bario ($BaCl_2$) al 10% y glicerina, directamente del digestado.

Reactivos

Cloruro de bario al 10% ($BaCl_2$) [6.2]. Se toman 100 g de cloruro de bario y se afora a 1 L con agua desionizada.

Solución de glicerina-cloruro de bario. Se toman 500 mL de $BaCl_2$ al 10%, se agregan 250 mL de glicerina, se agita y se afora a un litro con agua desionizada.

Patrón primario de S de 1000 ppm. Se pesan 4.1195 g de sulfato de amonio [3.13] $(NH_4)_2SO_4$ y se afora a 1 L con agua desionizada.

Patrones secundarios. A partir del patrón primario se preparan patrones de trabajo de 0, 40, 60, 80 y 120 ppm aforando la respectiva cantidad a 100 mL con agua desionizada.

Material

Espectrofotómetro

Agitador magnético

Pipetas

Matraces volumétricos

Tubos de ensayo

Procedimiento

Se toma 1 mL del filtrado de la digestión húmeda de la muestra vegetal y se le agregan 4mL de agua desionizada más 2 mL de la solución de glicerina-cloruro de bario, se agita y se lee en el colorímetro a una longitud de onda de 800 nm.

Para los patrones se procede de la misma manera que con las muestras.

Curva tipo. Se prepara al momento una serie de patrones de 0 a 25 ppm del ion SO_4^{2-} a intervalos de 5 ppm (0, 5, 10, 15, 20 y 25), para lo cual se transfieren alícuotas de 0,1, 2, 3, 4 y 5 mL de una solución de 1000 ppm de SO_4^{2-} y finalmente son llevadas a un volumen de 20 mL. Correr un blanco de reactivos y seguir con el procedimiento ya descrito para las muestras.

Cálculos

$$S (\%) = \frac{\text{ppm CC} \times D_m \times D_v}{10000}$$

Donde:

Ppm CC = partes por millón en la curva de calibración

D_m = dilución de masa (Vol. del extractante / g de muestra)

D_v = dilución de volumen (aforo / alícuota).

DETERMINACIÓN DE BORO FOLIAR POR EL MÉTODO DE LA AZOMETINA-H**Reactivos**

Solución patrón primario de Boro 50 ppm. Se disuelven 0.1429 g de H_3BO_3 en agua destilada aforando a 500 mL manteniéndolo en botella plástica.

Patrones secundarios. Se preparan a partir del patrón de 50 ppm.

Solución de 50 ppm de Boro	Aforo	Concentración de Boro
ml		ppm
0	100	0
0.4	100	0.2
1.0	100	0.5
2.0	100	1.0
3.0	100	1.5
4.0	100	2.0
5.0	100	2.5

Solución de Azometina-H. Se disuelven 0.9 g de Azometina-H y 2 g de ácido ascórbico en 100 mL de agua. Se conserva la solución en refrigeración y puede conservarse hasta una semana.

Solución reguladora. Se disuelven 140 g de acetato de amonio, 10 g de acetato de potasio, 4 g de Titriplex I al 99%, 10 g de Titriplex II y 350 mL al 10% v/v de ácido acético y diluir con agua a 1 L. Esta solución es estable.

Reactivo desarrollo de color. Tomar 35 mL del reactivo de Azometina-H y 75 mL de la solución reguladora en un matraz de 250 mL y aforar con agua. (este reactivo se prepara en el momento de trabajo).

Procedimiento

Se pesan 0.5 g de la muestra seca y molida. Se hace digestión con mezcla ácida $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ después de la digestión se afora a 25 mL con agua desionizada.

Del filtrado se toman 0.5 mL, se agrega 5 mL del reactivo de desarrollo de color y se deja reposar durante 1 h a temperatura ambiente. Leer las muestras en un espectrofotómetro 420 nm. Dado que el punto 0 de la curva desarrolla color por los reactivos, el espectrofotómetro se calibrará a cero con agua.

Cálculos

$$B \text{ (ppm)} = \text{ppm CC} \times D_m \times 1/v$$

Donde:

ppm CC = partes por millón en la curva de calibración al que previamente se le ha restado la lectura del blanco.

D_m = dilución de masa (Vol. del extractante / g de muestra)

v = alícuota de la muestra en que se desarrolló color (si se sigue la técnica es de 0.5 mL).

NOTA

Para los cálculos, al patrón se le resta el blanco de la digestión. A la lectura de los puntos de la curva se les restará la lectura del punto 0 (o blanco de reactivos).

Al analito (de concentración conocida) se le resta el blanco de reactivos.

La azometina H preparada, sólo dura 1 semana almacenada.

Se recomienda utilizar reactivos marca Baker o Merck.

OTRAS TÉCNICAS

DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN SOLUCIONES ACUOSAS POR EL MÉTODO DEL ÁCIDO SALICÍLICO (COLORIMETRICO)

Reactivos

1. Buffer de fosfato. (hoja anexa)
Utilizar en casos específicos de análisis de N-orgánico.
2. Reactivo ácido salicílico- H_2SO_4 - 5% p/v. Disolver 5 g de ácido salicílico grado reactivo en 100 ml de H_2SO_4 concentrado. Este reactivo debe prepararse fresco antes de realizar las determinaciones.
3. Hidróxido de sodio 2N. Disolver 80 g de NaOH en un litro de agua destilada, bajo chorro de agua fría. Guardar en frasco ámbar.

Solución patrón 500 ppm N- NO_3

Disolver exactamente 3,611 g de KNO_3 (puro y secado a la estufa a 105°) en 1 litro de agua destilada. Guardar en frasco plástico bajo refrigeración.

Curva de calibración

Preparar las siguientes soluciones en matraces de 100 ml, aforando con agua destilada.

Alícuota a partir de 500 ppm N- NO_3 (mL)	ppm N- NO_3	mg/0.2 mL
0	0.0	0.0
10	50	10
20	100	20
30	150	30
40	200	40
50	250	50

Procedimiento

1. Extracción de nitratos.

El material vegetal, seco o liofilizado se muele y tamiza a través de una malla 40 mesh. Las muestras molidas se vuelven a secar en horno a 70° C, se pesan 100 mg de material y se suspende en 10 ml de agua desionizada. Las suspensiones deben incubarse a 45 ° C por una hora. Homogenizar y centrifugar a 5,000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se guarda para análisis.

En tejido vegetal fresco, se homogeniza 1.0 g de material en 6 ml de agua a solución buffer, se filtra y los filtrados centrifugados a 30,000 rpm por 15 minutos. El sobrenadante se guarda para análisis.

2. Desarrollo de color

Alícuotas de 0.2 ml del extracto se pipetea en matraces erlenmeyer-50 ml y mezclados con 0.8 ml del reactivo ácido salicílico H₂SO₄. Después de 20 minutos a temperatura ambiente, se agregan lentamente 19 ml de NaOH 2N (con pipeta automática) para elevar el pH a 12. Las muestras se enfrían a temperatura ambiente y se determina absorbancia a 410 nm.

Para la curva de calibración se utilizan alícuotas de 0.2 ml de cada solución y se continua con el procedimiento. Para material vegetal seco, se utiliza con 0.2 ml de agua. Para material vegetal fresco, debido a la pigmentación de los extractos se utiliza un blanco con 0.2 ml del extracto, 0.8 ml de H₂SO₄ concentrado (sin ácido salicílico) y 19 ml de NaOH 2N.

Cálculos

La curva de calibración (CC) se puede trazar en ppm de N-NO₃ o mg.

a) A partir de la C. C. en ppm

$$\text{ppm N-NO}_3 = \text{ppm CC} \times \frac{V}{g}$$

donde:

ppm CC = obtenidas de la curva de calibración

V = volumen extracto

g = peso muestra (gramos)

b) Apartir de la CC en $\mu\text{g}/0.2 \text{ ml}$

$$\mu\text{g N-NO}_3/\text{g} = \text{CC} \times 5 \times \frac{V}{g}$$

Referencia

CATALDO, D. A.; M. HAROON, L. E. SCHIANDER Y V. L. YOUNGS 1975. RAPID COLORIMETRIC DETERMINACIÓN OF NITRATE IN PLANT TISSUE BY NITRATION OF SALICYLIC ACID. Commun. Soil Sci. Plant Anal 6(1)71-80.

Solución Buffer-fosfato

La cita original propone dos medios diferentes de extracción (A y B) según el material vegetal utilizado. En ambos casos, mezclar volúmenes iguales de cada reactivo:

Solución A	Solución B
0.01 M K_3PO_4	0.025 M K_3PO_4
0.01 M EDTA	0.005 M EDTA
5×10^{-3} M cisteína	10^{-2} M cisteína
Ajustar pH 8.2 con HCl	Ajustar pH 8.8 con HCl
Tejido de rabanito	Tejido de maíz

El tejido fue homogenizado en la solución buffer en una relación 4:1 ó 6:1 (v/p) por dos minutos a velocidad máxima. La solución fue filtrada a través de filtro (4 capas) en tubos de centrifuga y centrifugados a 15000 rpm por 15 minutos.

El extracto fue utilizado para análisis de enzimas, proteínas y nitratos.

Referencia

BEEVERS L; SCHARADER L. E.; FESHER, D.; HAGEMAN, R. H. 1965. Plant Physiol 40:691-695.

DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN EXTRACTOS DE SUELO POR NITRATACIÓN DEL ÁCIDO SALICÍLICO

Campo de aplicación

Se utiliza para evaluar la disponibilidad de N-NO₃ en el suelo antes de la siembra de cualquier cultivo y generar recomendaciones de fertilización. Los N-NO₃ determinados con este procedimiento han mostrado una alta relación con la respuesta del cultivo en estudios de correlación de métodos químicos de nitrógeno aprovechable en el suelo (1).

Principio

Este método se basa en la nitratación del ácido salicílico en presencia de ácido sulfúrico. La sensibilidad de este procedimiento permite una operación lineal hasta 50 mg de N-NO₃ por litro pero es más recomendable en un intervalo de operación de 0.5 a 30 mg de N-NO₃/L.

Material y equipo

- Bureta de 10 ml
- Matraces volumétricos de 1 L de capacidad
- Matraz volumétrico de 100 ml
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Balanza analítica
- Mezclador Vórtex
- Fotocolorímetro y celdas

Reactivos

1. Acido salicílico al 5 % (p/v) en ácido sulfúrico concentrado. Este reactivo es preferible prepararlo antes de ser utilizado, de lo contrario se observa un decremento en el rango de sensibilidad y operación lineal. La disolución del ácido salicílico en ácido sulfúrico durante la noche proporciona resultados satisfactorios.
2. Hidróxido de sodio 4 N. Pesar 160 g de NaOH (lentejas) y disolver en agua destilada. Enfriar y aforar a 1 litro.
3. Solución patrón de 100 mg N-NO₃/L. Disolver 0.7221 g de KNO₃ (puro y seco a la estufa a 105 °C) en agua destilada y aforar a 1 litro. Guardar en frasco de plástico y refrigerarlo.

4. Solución de cloruro de calcio 0.1 N. Pesar 5.6 g de CaCl_2 y disolver en agua destilada, aforar a 1 litro.

Procedimiento

Pesar 10 g de suelo y adicionar 50 ml de solución de cloruro de calcio 0.1 N, agitar a 180 rpm durante una hora; filtrar a través de papel Whatman 42. Pipetear 0.5 ml del extracto en tubo de ensayo. Adicionar 1 ml de ácido salicílico al 5 % en ácido sulfúrico concentrado y mezclar inmediatamente los contenidos en un mezclador "Vortex" (precaución: la reacción libera calor y se calientan los tubos). Adicionar 10 ml de NaOH 4 N y mezclar nuevamente. Permitir el enfriamiento de los tubos a temperatura ambiente. Mezclar y determinar la absorbancia a 410 nm (el color puede ser estable hasta por 5 horas). Preparar blancos pipeteando solución extractora y adicionando el resto de los reactivos.

Se prepara una curva de calibración transfiriendo alícuotas de 0, 1.25, 5.0, 7.5, 10, 12.5, 15, 20 y 25 ml de la solución patrón de 100 mg de $\text{NO}-\text{NO}_3/\text{L}$, en matraces volumétricos de 50 ml y aforar con agua destilada. Las soluciones preparadas tienen una concentración final de 0, 2.5, 5.0, 10, 15, 20, 25, 30, 40 y 50 mg $\text{N}-\text{NO}_3/\text{L}$. Proceder a la determinación de nitratos como en las muestras.

Observaciones:

Las muestras turbias deben ser centrifugadas o bien debe permitirse el asentamiento antes del análisis.

Cálculos

$$\text{N}-\text{NO}_3 \text{ en ppm} = \text{CC} \times \text{Vi}/\text{p}$$

donde

CC= ppm de $\text{N}-\text{NO}_3$ en la solución colorimétrica correspondiente a la absorbancia o transmitancia leída (se obtiene de la curva de calibración), a esta lectura se le debe restar la del blanco.

Vi=volumen de la solución extractante utilizada (cloruro de calcio 0.1 N)

p=peso de la muestra de suelo.

Referencias

ALVAREZ S. M.E. 1988. Selección de métodos de diagnóstico de nitrógeno aprovechable en el suelo. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx. Tesis de Maestría.

ROBARGE, W. P., A. EDWARDS AND B. JOHNSON. 1983. Water and waste water analysis for nitrate via nitration of salicylic acid. Commun. in Soil Sci. Plant Anal., 14:1207-1215.