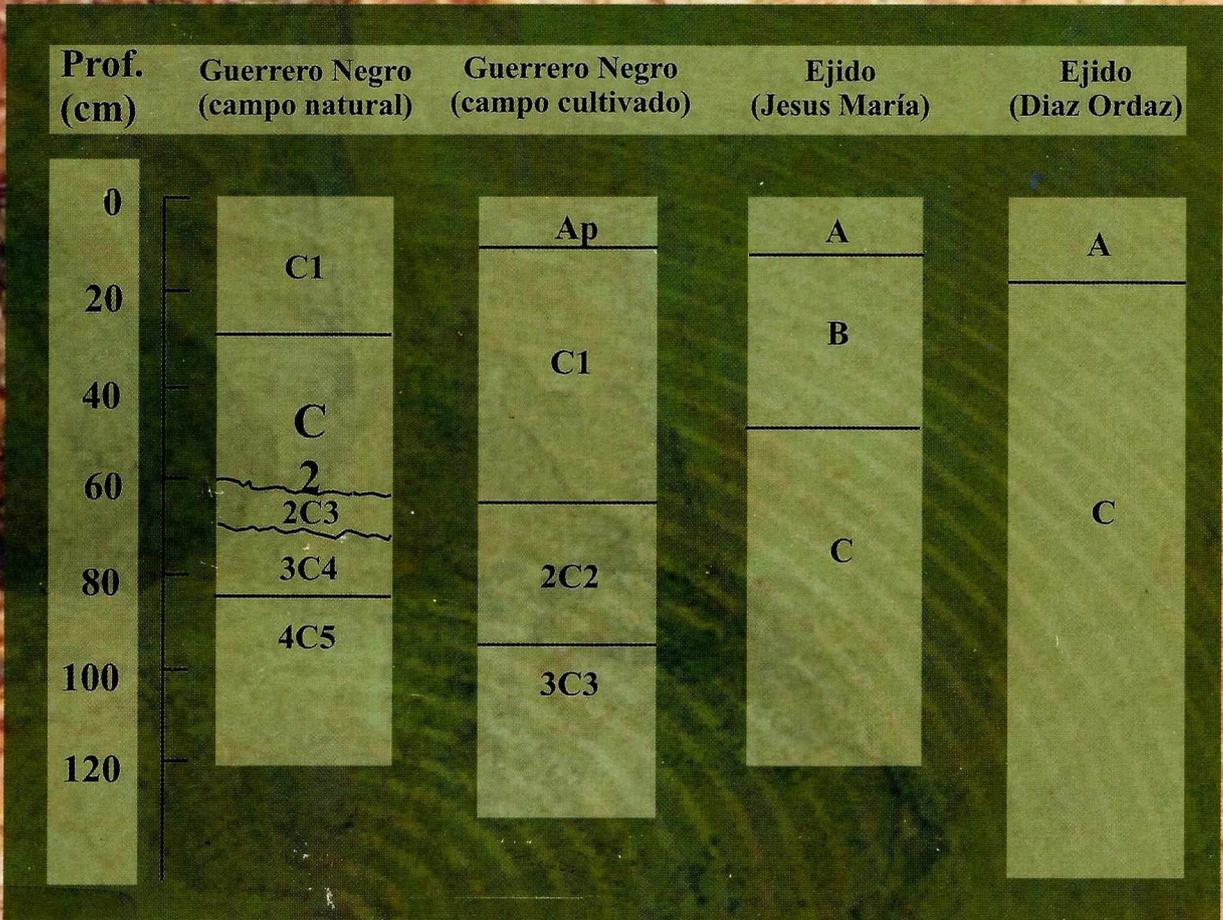


MANUAL DE ANÁLISIS QUÍMICOS DE SUELOS



Raúl López Aguilar
 Bernardo Murillo Amador
 Mario Benson Rosas
 Eduardo López Arce
 Gabriela Valle Meza

02-018
1475
0-100
10-10
60-33



Impreso en México
Printed in México

ISBN: **970-18-8541-4**

Derechos Reservados de la
Primera Edición en Español
2002:

*Centro de Investigaciones
Biológicas del Noroeste, S.C.,
Mar Bermejo No. 195 Col.
Playa Palo de Santa Rita. LA
PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR,
MÉXICO, 23090.

Prohibida la reproducción total
o parcial sin permiso por escrito
de los editores y/o autores.

Responsable de edición:
Raúl López Aguilar
Unidad Guerrero Negro

Encargado de impresión y
acabados:
Santiago Rodríguez Álvarez
Rubén Andrade Velázquez
Joaquín Hernández Saavedra

Edición con fines técnico
académico y de divulgación.

Cita Correcta: López-Aguilar
R., Murillo-Amador B., Benson-
Rosas M., López-Arce E.,
Valle-Meza G. 2002. Manual de
Análisis Químicos de Suelos.
Editorial. Centro de Investiga-
ciones Biológicas del Noroeste,
S.C. La Paz, B.C.S. México.

DIRECTORIO

Dr. Mario Martínez García
Director General del CIBNOR
mmartine@cibnor.mx

C. Elena Enríquez Silva
Directora de Gestión, institucional.
eenrique@cibnor.mx

Dr. Arádit Castellanos Vera
Director de Apoyo Técnico.
arcas@cibnor.mx

M.C. María Elena Castro Núñez
Directora Administrativa
mcastro@cibnor.mx

Dr. Alfredo González Becerril
Director de Transferencia
Tecnológica.
Alfredog@cibnor.mx

Dr. Enrique Troyo Diéguez
Director del Programa de
Agricultura en Zonas Áridas.
etroyo@cibnor.mx

Dr. David Raúl López Aguilar
Coordinador del CIBNOR
Unidad Guerrero Negro
daquilar@cibnor.mx

Dr. David Raúl López Aguilar
Responsable de publicación
daquilar@cibnor.mx

Información relacionada en la
página electrónica.
<http://www.cibnor.mx/>

Índice de Contenido

<i>Agradecimientos</i>	<i>i</i>
1. Introducción	1
2. Muestreo	3
3. pH	5
4. Medición de la Salinidad	9
5. Carbonatos	11
6. Materia Orgánica	15
7. Capacidad de Intercambio Catiónico	19
8. Nitrógeno	25
8.1 Nitrógeno Total	26
8.2 Nitrógeno Inorgánico	30
9. Fósforo	37
10. Aniones solubles en agua	47
11. Cationes solubles en agua	51
12. Cationes intercambiables	55
13. Micronutrientes	57
13.1 Hierro Zinc	58
13.2 Boro	61
13.3 Cloro	64
14. Referencias	67

APÉNDICE DE DIAGRAMAS DE FLUJO

DETERMINACIONES

Operaciones generales en la colección de muestras de suelo	73
Determinación del pH del suelo	75
Determinación de la Conductividad Eléctrica	77
Determinación de Carbonatos	79
Materia Orgánica por el Método de Walkley y Black	81
Capacidad de Intercambio Catiónico por el Método del Acetato de Amonio	83
Capacidad de Intercambio Catiónico por el Método del Acetato de Sodio	85
Nitrógeno Total	87
Determinación de Amonio por Método de Destilación	88
Determinación de Amonio por Método Nessler	89
Determinación de Nitratos Método de Cataldo	91
Determinación de Nitrógeno-NH ₄ por el Método Azul de Indofenol (A)	93
Determinación de Nitrógeno-NH ₄ por el Método Azul de Indofenol (B)	95
Determinación de Fósforo Método Olsen	97
Determinación de Fósforo Método Bray-1	99
Aniones Solubles en Agua por Cromatografía de Iones	101
Cationes Solubles en Agua por Espectroscopía de Absorción Atómica.	103
Determinación de Hierro y Zinc por Extracción con DTPA-Bicarbonato de Amonio	105
Determinación de Boro por Extracción en Agua Caliente a 105°C	107

AGRADECIMIENTOS

Los autores dirigen su profundo agradecimiento:

- A la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) y Universidad de Tottori, Japón, por el financiamiento de diversos cursos de entrenamiento sobre análisis de agua, suelo y vegetales, sin los cuales no hubiera sido posible la realización de este manual.
- A la Agencia de Cooperación Internacional de España-Comunidad Autónoma de Murcia, quienes a través de su proyecto ARAUCARIA nos alentaron y apoyaron económicamente para la culminación del presente manual.
- A la Fundación PRODUCE, B.C.S., por su continuo apoyo económico para la realización de proyectos de investigación en el Municipio de Mulegé estrechamente relacionados con el monitoreo constante de la calidad del agua y suelo para prevenir su prematura contaminación. En este sentido, la enseñanza a las nuevas generaciones de la prevención de la contaminación de estos recursos naturales, el presente manual adquiere fundamental importancia.

1. Introducción

Actualmente, existe un interés creciente en el uso racional de los fertilizantes con el propósito de limitar los compuestos que puedan causar la contaminación y degradación del medio ambiente. Es de acuerdo general de que el mantenimiento y mejoramiento de la fertilidad del suelo a través de un buen manejo del suelo, el uso de desechos orgánicos y fertilizantes minerales es esencial para incrementar la producción de alimentos (Viets Jr, 1988). El conocimiento de los niveles de los elementos que las plantas requieren para su crecimiento y desarrollo en el suelo es un factor indispensable para usar de manera equilibrada y racional los fertilizantes. Además, la expansión de la agricultura a terrenos anteriormente considerados como no adecuados para los cultivos tradicionales condicionará aún más el uso de fertilizantes en estas regiones. Sin embargo, los problemas de salinidad natural y la salinización de los suelos por un inadecuado manejo del riego y fertilizantes que se están presentando en los nuevos terrenos que han sido incorporados a las actividades agrícolas, requiere necesariamente la estimación de los niveles de extracción de nutrientes por parte de los cultivos, la cantidad que permanece en el interior del suelo y la posible pérdida por lavado de estos a capas inferiores ocasionando serios problemas ecológicos. El análisis de suelo, sin ser la solución total a estos problemas, es sin embargo, una herramienta útil para las recomendaciones de fertilizantes, condiciones de salinidad y nivel de degradación química de los suelos. No obstante, uno de los problemas en los análisis de suelo ha sido la dificultad de reproducir los resultados obtenidos en distintos laboratorios. Se ha encontrado que aún usando las mismas muestras y aplicando los mismos procedimientos de análisis, los resultados difieren. Por consiguiente, la estandarización de métodos y técnicas de análisis es indispensable para la obtención de resultados que puedan ser comparados entre si dentro de distintos laboratorios y analistas.

El laboratorio del CIBNOR-Guerrero Negro esta equipado para una gran diversidad de análisis de suelo, planta, agua y fertilizantes de muestras que agricultores, técnicos e investigadores envían para su estudio. Para los agricultores que comprenden el valor de los análisis químicos les permite conocer la fertilidad de sus terrenos o sus limitantes para otorgar al suelo los manejos adecuados que redunden en mejores cosechas. Para los técnicos, el análisis de muestras es una herramienta indispensable para asesorar que se ejecuten las prácticas agrícolas. Para los investigadores, es un factor esencial para poder interpretar, comparar y concluir sobre las hipótesis planteadas en sus experimentos.

2. Muestreo

Aún en suelos muy arenosos, como los encontrados en las regiones áridas y semiáridas, los cuales son considerados bastante homogéneos, un muestreo representativo es un factor fundamental para la interpretación química correcta de los suelos. Un problema en la caracterización química de suelos mediante análisis de laboratorio, es la obtención de muestras representativas del terreno. Las muestras colectadas deben representar lo más uniformemente posible al área en estudio. El muestreo de los suelos se realiza con diversos propósitos, pero en esta sección únicamente se enfocará a los procedimientos utilizados para estimar la fertilidad de un suelo y en la evaluación de la salinidad.

Al momento de muestrear terrenos que han sido incorporados a la producción agrícola, conjuntamente con la colección de muestras, es recomendable conocer el historial de actividades realizadas en el área seleccionada como; topografía original, direcciones de nivelación, drenaje natural, métodos y fertilizantes utilizados en la aportación de nutrientes, aplicación de compuestos orgánicos, cultivos comúnmente desarrollados, fuentes del agua de riego, métodos de riego y volúmenes aproximados de agua de riego utilizados. Lo anterior es con el propósito de conocer en forma previa algunos factores que puedan contribuir a la heterogeneidad del terreno ya que los suelos cultivados son generalmente más variables que los vírgenes.

Desde hace mucho tiempo ha sido establecido que la validez de los resultados de los análisis químicos en laboratorio, depende en gran medida de los cuidados que se tengan en la colecta de muestras representativas, ya que generalmente existe mayor probabilidad de error en la etapa de muestreo que en los análisis de laboratorio (Cline, 1944; Hunt y colaboradores, 1976). En un análisis de suelo solo se utiliza una cantidad muy pequeña de muestra, y los resultados obtenidos de ésta son extrapolados a volúmenes infinitamente superiores, por lo cual debe de tenerse bastante cuidado de recolectar muestras representativas del terreno; de lo contrario estarán en duda la validez de los resultados.

El método de muestreo está determinado, en principio, por el propósito del análisis y el conocimiento que se tenga de la heterogeneidad del área a muestrear. Por ejemplo, para recomendar fertilizaciones se requiere un número elevado de muestras, y en este caso el uso de muestras compuestas es de rigor (Etchevers y colaboradores, 1985). En suelos heterogéneos las variaciones encontradas en sus propiedades químicas son en ocasiones grandes, aún en distancias relativamente cortas, y por esto el conocimiento de la heterogeneidad del terreno a muestrear adquiere mucha importancia.

Los suelos de Baja California Sur están clasificados en su mayoría como arenosos, como por ejemplo, ha sido reportado que en los suelos de diferentes sitios del desierto de Vizcaíno la arena constituye del 85 al 95% (Endo y colaboradores, 2000a; López y colaboradores, 2002), por lo cual se consideran suelos relativamente homogéneos, sin embargo, es recomendable practicar un eficiente método de muestreo.

En el diagrama 1 del anexo se ilustran de manera concisa las operaciones que generalmente se realizan para la obtención de muestras.

El equipo utilizado para la obtención de muestras depende principalmente de las características físicas del terreno, como son, textura, dureza, profundidad del manto freático, etc. En suelos arenosos como los característicos de zonas áridas y semiáridas, el

muestreo puede efectuarse utilizando una barrena de perforación de alrededor de 1 pulgada de diámetro y 150 mm de longitud. Para evaluación de la fertilidad del suelo en terrenos regados por goteo, la colecta de muestras a una profundidad de 0-40 cm es suficiente en la mayoría de los casos. Sin embargo, cuando el propósito es evaluar la salinidad del terreno y la distribución de las sales, es conveniente realizar el muestreo a una mayor profundidad para verificar las capas que puedan limitar el crecimiento de las plantas.

En suelos demasiado duros o con mucha pedregosidad es preferible utilizar algún tipo de excavadora o palas; sin embargo, para la formación de muestras compuestas debe tenerse cuidado de coleccionar el mismo volumen de material de las submuestras para prevenir la influencia de submuestras con participación de mayor volumen.

3. pH

El pH de una solución se define como el logaritmo negativo de la actividad del ión hidrógeno. Es una de las características más importantes de los suelos ya que dependiendo de que un suelo sea ácido o alcalino determina grandemente la solubilidad de diversos compuestos, la fuerza con que los iones se unen a los sitios de intercambio y condiciona la actividad de los micro-organismos del suelo. La nitrificación de las formas de nitrógeno de los fertilizantes es afectada por el pH (Hayatsu y Kosage, 1993; Tlustos y Blackmer, 1992; Gilmour, 1984) debido a que ha sido demostrado que influye en la actividad de los microorganismos nitrificantes (Weber y Gainey, 1961). También ha sido comprobado que la liberación de nitrógeno a partir de fertilizantes de liberación controlada se ve influida por el pH del suelo (Ashwin y Govind, 1977).

Los suelos que comprenden las zonas áridas y semiáridas poseen generalmente pHs elevados que limitan el desarrollo satisfactorio de los cultivos. En el noroeste de México, el incremento en el pH de la solución del suelo es ocasionado comúnmente por el contenido de sodio en el agua de riego (Endo y colaboradores, 2000b) y esta condición provoca la insolubilidad de diversos compuestos como fósforo, zinc y fierro, principalmente.

Los suelos ácidos poseen pHs menores a 7, y su composición mineralógica es diferente a los suelos alcalinos, por lo cual los cultivos desarrollados en suelos ácidos manifiestan características propias que los hacen diferentes en muchos aspectos a los desarrollados en suelos con pHs elevados. En México aproximadamente el 6.7% del territorio nacional se clasifica como suelos ácidos (Nuñez, 1985) y se localizan principalmente en Veracruz, Tabasco y Chiapas.

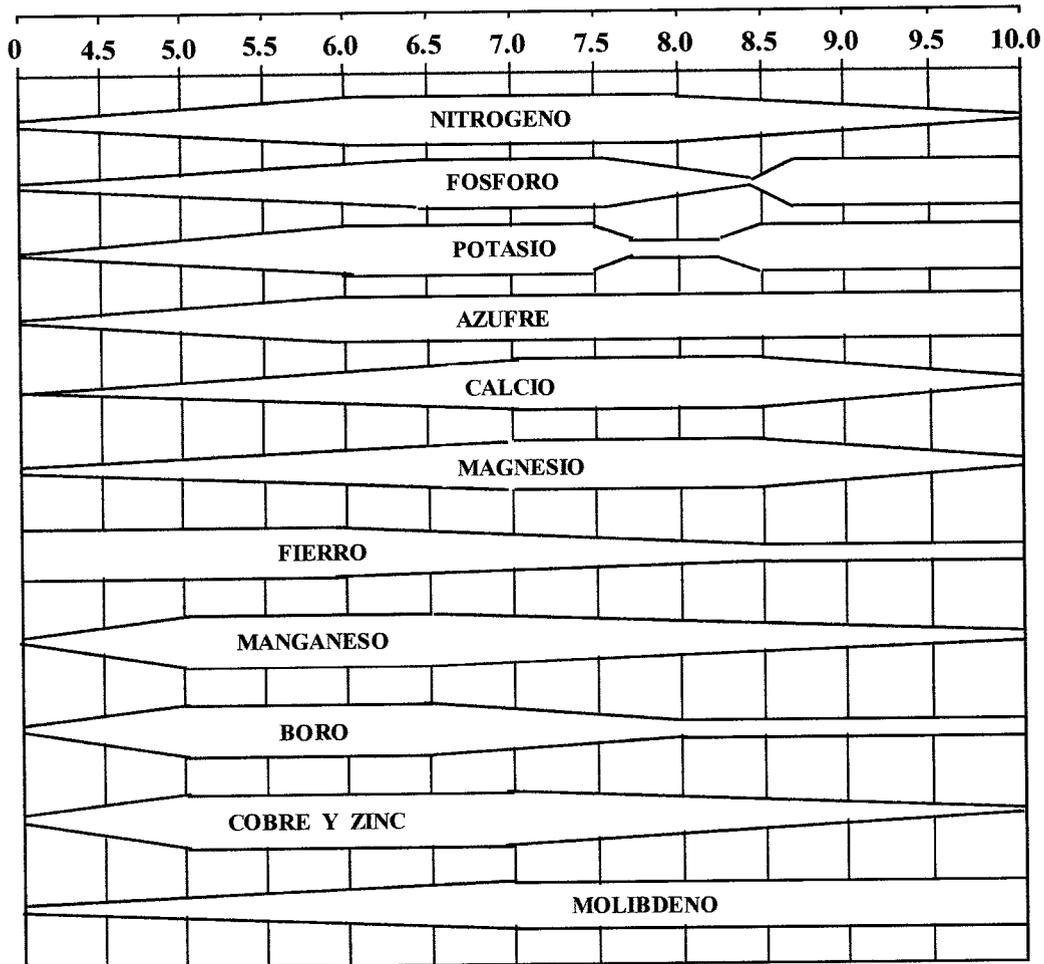
En los suelos ácidos el crecimiento de los cultivos se ve afectado de manera indirecta por una elevada concentración de aluminio intercambiable o en solución, alta retención de fósforo, exceso de manganeso en solución, deficiencias de calcio y magnesio, reducción en la actividad microbiológica y disminución de la capacidad de intercambio catiónico, principalmente (Gojberg y Aguilar, 1987).

De acuerdo al diagrama de Troug que se muestra abajo, el pH óptimo de los suelos para un desarrollo satisfactorio de los cultivos es alrededor de la neutralidad ya que en estos valores la disponibilidad de nutrientes esenciales encuentra sus niveles máximos. Sin embargo, es difícil establecer un criterio universal que pueda ser utilizado para todos los tipos de suelos con relación a su pH y el desarrollo óptimo de las plantas.

Sobre la base de lo anterior, la determinación del pH de los suelos es fundamental para el manejo apropiado de los fertilizantes y las necesidades de aplicación de mejoradores de suelos con el propósito de mantener el rango óptimo de pH para la disponibilidad de nutrientes y la actividad microbiana.

DIAGRAMA DE EMIL TRUOG

Disponibilidad de Elementos Relacionados al pH del Suelo



Medición del pH

El pH de una solución puede determinarse por métodos colorimétricos o electrométricos. En trabajos de campo donde se requieren determinaciones rápidas y de bajo costo se utilizan los métodos colorimétricos mediante indicadores que cambian de color dependiendo de la actividad del ion hidrógeno. Su principal desventaja es que los valores obtenidos son aproximados que dan únicamente una referencia para estudios más detallados.

En determinaciones que requieren mayor exactitud se utiliza el método electrométrico mediante aparatos de diversos tamaños dentro de los cuales se incluyen algunos que pueden utilizarse a nivel campo. Las determinaciones por este método se basan fundamentalmente en la medición del potencial eléctrico de un electrodo sensible a los iones hidrógeno que se encuentran presentes en una solución y usando como referencia un electrodo de calomelanos o de $Ag/AgCl$, el cual no varía su potencial eléctrico al cambiar la concentración de iones hidrógeno.

Antes de proceder a la determinación del pH de una solución es necesario efectuar la calibración del aparato utilizando dos soluciones tampones de pH conocido. Generalmente las soluciones tampones son de pH 4, 7, o 9, y su elección depende del rango estimado en que se piensa puedan caer los pH's de las muestras a analizar.

Debido a que los suelos de las zonas áridas y semiáridas están generalmente asociados con una excesiva concentración de sales en la solución del suelo, es necesario considerar este factor en la determinación del pH ya que influye en su resultado. Otro factor que influye sobre los resultados de las mediciones es la relación suelo: solución.

La presencia elevada de sales en la solución del suelo ocasiona que los valores de medición del pH sean disminuidos. Por esta razón es recomendable la medición utilizando soluciones salinas como CaCl_2 0.01 M (Mc Lean, 1973) o KCl 1 N (Schofield y Taylor, 1955; Peech, 1965). La utilización de soluciones salinas para la determinación del pH en lugar de agua destilada tiene el objetivo de representar condiciones similares a las que prevalecen en el campo, además que contribuyen a la estabilidad de la lectura en suspensiones de alta salinidad.

Las relaciones suelo: Solución comúnmente utilizadas para medir pH son 1:1, 1:2, 1:2.5 y 1:10 (sobre la base de peso de suelo secado al aire). En el laboratorio de Guerrero Negro la relación utilizada es la 1:2.5 utilizando agua destilada. Sin embargo, cuando las muestras contienen una elevada concentración de sales se emplea CaCl_2 0.01 M. De cualquier forma, siempre es indispensable indicar la solución empleada y la relación suelo: solución.

El procedimiento básico para determinar el pH en muestras de suelo se describe a continuación.

Metodo Extracto en Agua (1:2.5)

Procedimiento

- 1) Pesar 10 g de muestra y depositarla en un bote de plástico de 50 mL.
- 2) Añadir 25 mL de H_2O y tapar la botella
- 3) Agitar durante 1 hora
- 4) Calibrar el pH metro con las soluciones buffers apropiadas
- 5) Sumergir el electrodo en el interior de la suspensión.
- 6) Tomar la lectura del pH hasta que el valor se estabilize

4. Medición de la Salinidad

La concentración de sales en el suelo usualmente se determina midiendo la conductividad eléctrica del extracto de saturación del suelo obtenido en la zona radicular activa. Actualmente el uso excesivo de fertilizantes y la sobre explotación de las aguas subterráneas para riego esta conduciendo al incremento de los suelos dañados por salinidad, por lo cual la medición del nivel de sales solubles que guarda un suelo es un parámetro indispensable para evaluar el nivel de degradación química que este sufre.

Las sales solubles en un suelo son aquellos constituyentes inorgánicos que son solubles en el agua y que a un nivel elevado dañan a plantas y animales. El origen de las sales del suelo y agua es consecuencia de los procesos de intemperización que sufren las rocas que componen la corteza terrestre los cuales ocasionan la liberación de minerales que pasan a formar parte del suelo. Las sales pueden ser encontradas en los suelos de dos formas: 1) asociadas y 2) disociadas. En el primer estado los compuestos más comunes encontrados son: NaCl, MgSO₄, CaCl₂, MgCl₂, Na₂SO₄, CaCO₃, CaSO₄, etc. En el segundo caso, los iones más comunes son: Cl⁻, SO₄²⁻, CO₃²⁺, HCO₃⁻, como aniones, mientras que Na⁺, B³⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ y K⁺ como cationes. Estos iones pueden encontrarse en forma soluble en la solución del suelo, absorbidos en arcillas y material orgánico, y en forma intercambiable retenidos por carga eléctrica.

La salinidad puede dañar a las plantas por causa de; (i) su efecto osmótico, que ocasiona una reducción en la disponibilidad de agua y todo lo que esto implica, (ii) efectos tóxicos específicos de algunos iones los cuales pueden interferir con los procesos bioquímicos y fisiológicos del organismo, y (iii) disturbios en la absorción de nutrientes esenciales (Rains, 1979). La información que surge de la evaluación de la cantidad de sales solubles en el suelo, sirve principalmente para caracterizar y delimitar áreas afectadas por salinidad y poder así implementar prácticas agronómicas que ayuden a mitigar este problema.

MEDICION DE LA SALINIDAD DE LOS SUELOS

Como se mencionó anteriormente, la evaluación del contenido de sales de un suelo se realiza generalmente midiendo la conductividad eléctrica (CE) en extractos de suelos saturados con agua o en extractos suelo: agua (p/v) en proporción conocida tales como 1:1, 1:2 y 1:5. La selección del método depende del propósito y condiciones que se pretenden representar. En suelos muy arenosos donde las condiciones físicas de campo, rara vez permiten tener suelos saturados o con contenidos de humedad muy elevados; probablemente sea más adecuado utilizar proporciones suelo: agua bajas, ya que esto representa condiciones mas similares entre la medición en laboratorio y las condiciones prevalecientes en el campo.

Los procedimientos para evaluar salinidad descritos en este apartado se refieren a la medición de la conductividad eléctrica de los extractos de una pasta de suelo saturada con agua y la mezcla suelo: agua en proporción 1:5.

EXTRACTO DE SATURACION

La mayor parte de los estudios y referencias sobre la tolerancia de los cultivos a la salinidad están basados en la conductividad eléctrica del extracto de saturación (Maas y Hoffman, 1977). Este procedimiento consiste básicamente en saturar una muestra de suelo con agua destilada y mediante succión colectar el filtrado para la determinación de la Conductividad Eléctrica, pH, y en ocasiones aniones y cationes solubles.

Procedimiento

- 1) Para la obtención de 30 ml de extracto, pesar de 200 a 1000 g de suelo dependiendo de la textura. Para muestras provenientes de suelos de migajón arenoso se requieren de 400-600 g, mientras que para suelos arcillosos se deben pesar de 50-150 g. Después de pesada la muestra, esta se deposita en un recipiente de plástico.
- 2) Adicionar un cristal de timol para prevenir el crecimiento de bacterias.
- 3) Añadir el agua justa para saturar la muestra.
- 4) Agitar suavemente con una espátula, y adicionar ya sea agua o suelo hasta alcanzar el punto de saturación.
- 5) Cubrir el recipiente y dejar reposar toda la noche.
- 6) Al día siguiente, revisar la pasta y ajustarla al punto de saturación, si es necesario.
- 7) Transferir la pasta a un embudo Büchner y aplique succión para obtener el filtrado. Si el filtrado es turbio, es necesario regresarlo al embudo y repetir la operación. Si el filtrado es demasiado turbio utilizar centrifugadora.
- 8) Medir la Conductividad Eléctrica y iones si es necesario.

EXTRACTO 1:5 (SUELO:AGUA)

Este procedimiento es sencillo y fácil de usar de manera rutinaria en los laboratorios, sin embargo, tiene la desventaja de que no representa adecuadamente las condiciones prevalecientes en el medio ambiente de la planta.

Procedimiento

- 1) Pesar 10 g de suelo y depositarlo en un bote de plástico de 100 mL. Enseguida añadir 50 mL de agua destilada.
- 2) Cerrar herméticamente la tapa del bote y agitar mecánicamente durante 1 hora. Posteriormente dejar reposar la muestra 1 hora.
Nota: Si se piensa que la muestra contiene cantidades apreciables de yeso, adicionar un cristal de timol para prevenir la actividad microbiana que haga este compuesto más soluble durante la fase de estabilización (Carlson y colaboradores, 1971).
- 3) Filtrar la suspensión usando papel filtro # 3, o si en el mismo extracto se va a determinar aniones y cationes solubles, es conveniente centrifugar a 15000 r.p.m. por 10 minutos.
- 4) Medir la Conductividad Eléctrica y los iones si es necesario.

5. CARBONATOS

En lugares donde la evapotranspiración excede a la precipitación, el flujo descendente de agua a través del perfil del suelo es suficiente solo para remover las formas más solubles como las sales de Na^+ . Debido a este fenómeno, en los suelos de las regiones áridas y semiáridas es muy común la acumulación de carbonatos, principalmente carbonato de calcio (CaCO_3). El contenido de carbonato en el suelo es una característica importante cuando se relaciona con la composición química, la estructura, la fertilidad, el origen y la clasificación de suelos. Cuando las cantidades de CaCO_3 de un suelo son elevadas, influye sobre el pH y puede inducir deficiencias de fierro y zinc, principalmente (Endo y colaboradores, 2000a). Las concentraciones de calcio de la solución del suelo también sufren variaciones por cantidades apreciables de CaCO_3 .

En la determinación de carbonatos se emplean algunos métodos que requieren de equipo sofisticado como cromatografía de gases, espectrometría de infrarrojo y difracción de rayos X. El método descrito a continuación es sencillo y rápido, en el cual la muestra es tratada con HCl diluido para su neutralización, y el ácido en exceso que no es utilizado en la reacción es titulado con una solución de hidróxido de sodio. Los resultados del análisis incluyen tanto la disolución de la calcita (CaCO_3) como ciertas cantidades de dolomita ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$), por lo cual es conveniente denominar Carbonato de Calcio equivalente a los valores obtenidos.

METODO VOLUMETRICO

Reactivos

A) Ácido Clorhídrico, 1 M

Vierta lentamente 85 mL de ácido clorhídrico concentrado en un matraz volumétrico de 1 L conteniendo alrededor de 700 mL de agua destilada. Enseguida afore a la marca de 1 L con agua destilada.

B) Ácido Clorhídrico, 0.1 M, solución estandarizada

Tomar 8.6 mL de HCl concentrado y vertirlos en un vaso de precipitado de 1 L con aproximadamente 600 mL de agua destilada. Mezclar bien, transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar con agua destilada a la marca de 1 L.

Para estandarizar esta solución tomar con una pipeta volumétrica 25 mL de HCl 0.1 M y vertirlos a un matraz Erlenmeyer de 50 mL. Añadir 2 o 3 gotas del indicador fenolftaleína 0.1%. Titular esta mezcla con NaOH 0.1 M estandarizado hasta que el color vire de verde a rosa.

La Molaridad del HCl se calcula sobre la base de la ecuación siguiente:

$$M1 = \frac{M2 \times V2}{V1}$$

En la cual:

M2 = Molaridad del NaOH

V2 = mililitros de NaOH

V1 = 25 mL utilizados de HCL, 0.1 M

C) Hidróxido de Sodio, 0.1 M estandarizado

Pesar 4 g de NaOH y añadirlos a un vaso de precipitado con alrededor de 600 mL de agua. Disolverlos y dejar enfriar. Posteriormente, transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a su volumen.

Para estandarizar tomar con una pipeta volumétrica 25 mL de ácido oxálico 0.05 M, vertirlos en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y añadir 2 o 3 gotas de fenolftaleina 0.1% como indicador. Titular esta solución con NaOH 0.1 M hasta que la solución verde a un color rosa.

Para calcular la Molaridad del NaOH se emplea la ecuación siguiente:

$$M1 = \frac{2 \times M2 \times V2}{V1}$$

En la cual:

M1 = Molaridad del NaOH

M2 = Molaridad del ácido oxálico

V1 = mL de NaOH

V2 = mililitros tomados de ácido oxálico = 25 mL

D) Ácido Oxálico, 0.05 M

Pesar exactamente 6.3035 g de ácido oxálico, depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L con aproximadamente 600 mL de agua destilada y disolverlos bien. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a su volumen con agua destilada.

E) Fenolftaleina, 0.1 % como indicador

Disolver 0.1 g de fenolftaleina en 100 mL de etanol 95%

Procedimiento

- 1) Pesar 2 g de suelo y depositarlo en una botella de plástico de 250 mL con tapón hermético. Utilizar dos testigos, en los cuales no se adiciona suelo (solamente la cantidad). También es recomendable usar un compuesto de referencia como el carbonato de calcio (250 mg CaCO₃).
- 2) Utilizando una pipeta volumétrica adicionar 50 mL de HCl 1 M. Agitar suavemente.
- 3) Utilizar dos testigos, en los cuales no se adiciona suelo (solamente la cantidad de HCl 1 M). También es recomendable usar un compuesto de referencia como el carbonato de calcio (250 mg CaCO₃) para verificar la veracidad del procedimiento.

- 4) Coloque la tapa de la botella y eventualmente agítarla manualmente de manera suave. Dejar que permanezca en reposo durante toda la noche.
- 5) Al día siguiente, apriete con firmeza la tapa y agite por 2 horas en un agitador mecánico de vaivén continuo.
- 6) Filtrar con matraces volumétricos de 50 mL (**!Al final NO afore a la marca !**) A través de papel filtro # 2. Enseguida pipetear 1 mL de la solución filtrada y verterla a un matraz Erlenmeyer de 100 mL. Adicionar alrededor de 25 mL de agua utilizando probeta y agitar suavemente.
- 7) Añadir 3 gotas del indicador fenolftaleína.
- 8) Finalmente titular con NaOH, 0.1 M (Leer el volumen gastado a dos dígitos de exactitud).

Cálculos

$$\% \text{CaCO}_3 = M \times \frac{(a - b)}{S} \times 250$$

en la cual :

a = mL de NaOH utilizados en el Testigo

b = mL de NaOH utilizados en la muestra

S = peso de la muestra en gramos

M = Molaridad de la solución de NaOH

$$250 = 0.050^* \times 50^{**} \times 100^{***}$$

* meq de CaCO₃

** Volumen original (es necesario multiplicar por este valor, ya que para la titulación se utiliza 1 ml del volumen original.

*** Necesario para transformar a porciento

Ejemplo de Cálculo

Suponiendo que:

a = 18.75 ml de NaOH gastados para titular la prueba blanca

b = 17.33 ml de NaOH gastados para titular la muestra

S = 2.07 g

M = 0.108 M

$$\% \text{CaCO}_3 = 0.108 \times \frac{(18.75 - 17.33)}{2.07} \times 250$$

$$\% \text{CaCO}_3 = \mathbf{18.52 \%}$$

6. MATERIA ORGANICA

La fracción orgánica del suelo consiste de restos vegetales como hojas, ramas muertas y residuos de animales. Desde el momento que se incorporan al sistema del suelo son descompuestos de manera gradual, cuya velocidad de descomposición depende de la actividad biológica que exista en el suelo. La materia orgánica fresca es transformada poco a poco, originando por una parte a elementos minerales solubles o gaseosos, tales como NH_3 , NO_3H , CO_2 y por otra parte, a complejos coloidales (complejos humicos) que son relativamente estables y resistentes a la acción microbiológica (Duchufour, 1978). Los complejos humicos son la parte mas activa químicamente en los suelos.

La descomposición de la materia orgánica suministra cantidades considerables de nutrientes esenciales para el desarrollo de los vegetales y es particularmente importante en el abastecimiento de nitrógeno, azufre y fósforo. Los suelos varían ampliamente en los contenidos de materia orgánica. Mientras que un suelo de una zona tropical puede contener de 5-10% de materia orgánica en los primeros 15 cm de la superficie del suelo otros como los arenosos de las zonas desérticas del noroeste de México pueden contener menos de 1% (Endo y colaboradores, 2000a).

Debido a la importancia que tiene la materia orgánica del suelo, es una variable que se incluye en las determinaciones de rutina en la mayoría de los laboratorios. Las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos son influidas considerablemente por la materia orgánica. Así tenemos que, ayuda a la formación de agregados que forman la estructura, sirve como un reservorio de elementos químicos, ayuda en la reducción de la erosión del suelo, incrementa la capacidad de intercambio cationico provocando una mayor cantidad de cationes en el complejo de intercambio, incrementa la capacidad de retención de agua, y ayuda a amortiguar los cambios bruscos de pH por efecto de las fertilizaciones y procesos de salinización.

Existen diversos métodos para determinar materia orgánica en el suelo, sin embargo, por causa de su naturaleza compleja, no se dispone de ningún método que sea aceptado de manera universal como preciso y aplicable a todos los suelos. Básicamente, existen dos métodos para la determinación directa de la materia orgánica: i) pérdida de peso por ignición y ii) oxidación mediante peróxido de hidrógeno. Estos dos procedimientos presentan dificultades, por lo que generalmente es mejor estimar el contenido de materia orgánica determinado el valor del carbono orgánico. Posteriormente se multiplica este valor por un factor específico que depende del contenido de carbono estimado en la materia orgánica. Este factor varía de 1.6 hasta 3.3.

El método para determinar materia orgánica por pérdida de peso por ignición, es un procedimiento que actualmente no se utiliza en el laboratorio del CIBNOR-Unidad Guerrero Negro por la falta de equipo apropiado. Sin embargo, debido a que este procedimiento es recomendable para suelos arenosos y para suelos con alto contenido de materia orgánica sería conveniente en el futuro, previa corrección y calibración, utilizarlo para determinar la evolución de los niveles de materia orgánica en experimentos de nutrición de plantas mediante el uso de compuestos orgánicos.

El procedimiento utilizado en el laboratorio del CIBNOR-Unidad Guerrero Negro es el método propuesto por Walkley y Black (1934) quienes modificaron el reportado por Schollenberger (1927). Este consiste básicamente en la oxidación de la materia orgánica

mediante ácido crómico. Las muestras son molidas y tamizadas a través de una malla de 0.2 mm y posteriormente tratada con una solución normal de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en presencia de ácido sulfúrico concentrado. El exceso de $K_2Cr_2O_7$ se determina mediante el análisis volumétrico con una solución normalizada de $FeSO_4$.

METODO DE WALKLEY Y BLACK

Reactivos

- A) Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), 1.00 N
Pesar 49.04 g de $K_2Cr_2O_7$ y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Añadir aproximadamente 700 mL de agua destilada y disolver. Después transfiera la solución a un matraz volumétrico de 1 L y afore a la marca con agua destilada.
- B) Sulfato ferroso, 0.5 N.
Pesar 70 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ y depositarlos en un vaso de precipitado de 500 mL. Agregar alrededor de 400 mL de agua destilada y disolver. Enseguida adicionar 10 mL de H_2SO_4 concentrado y finalmente aforar a 500 mL con agua destilada. Este reactivo debe ser normalizado en cada tiempo de análisis por titulación en función de 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ 1 N. En la normalización del sulfato ferroso se siguen los mismos pasos del procedimiento para la muestra, pero sin adicionar suelo. Además, es conveniente invertir los pasos 4-6, es decir, antes de adicionar el H_2SO_4 , los 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ se mezclan con los 200 ml de agua.
- C) O-Fenantrolina-Sulfato Ferroso.
Pesar 1.485 g de o-Fenantrolina mono-hidratada y 0.696 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ en agua y depositarlos en un vaso de precipitado de 100 mL. Agregar aproximadamente 80 mL de agua destilada y disolver. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 100 mL y afore a la marca con agua destilada.
- D) Solución ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado- sulfato de plata (Ag_2SO_4)
Por cada litro de H_2SO_4 agregar 15 g de Ag_2SO_4
- E) Ácido Fosfórico (H_3PO_4), al 86%

Procedimiento

1. Dependiendo del tipo de suelo pesar de 2 a 10 g de suelo secado a la sombra y tamizado sobre una malla de 0.5 mm.
2. Vertir cuantitativamente la muestra a un matraz Erlenmeyer de 500 ml.
3. Adicionar lentamente 10 ml de dicromato de potasio utilizando una pipeta volumétrica procurando humedecer toda la muestra.
4. Agregar rápidamente 20 ml de ácido sulfúrico concentrado conteniendo Ag_2SO_4 . Primero agite suavemente para mezclar bien el suelo con el ácido y el dicromato de potasio, y posteriormente en forma mas vigorosa por alrededor de un minuto.
5. Dejar reposar durante 30 minutos o hasta que se enfríe.
6. Añadir 200 ml de agua destilada. Mezclar bien y enfriar.
7. Agregar 10 ml de ácido fosfórico concentrado.
8. Filtrar la suspensión en papel filtro # 2 para evitar una solución turbia y así facilitar la detección del cambio de color.
9. Adicione 3 o 4 gotas del indicador .

10. Utilizando una bureta realizar la titulación con sulfato de hierro 0.5 N hasta llegar a un color verde-oscuro. A partir de este momento adicionar gota por gota del sulfato de hierro hasta que vire a un color marrón.

!ADVERTENCIA! La normalidad del sulfato ferroso varía, por lo que hay que determinar la normalidad cada día de análisis.

Para la determinación de la normalidad del sulfato ferroso se emplea la ecuación siguiente:

$$(N1) (V1) = (N2) (V2) : \therefore N1 = (N2) (V2) / V1$$

donde:

N1 = Normalidad del FeSO₄

V1 = Volumen de FeSO₄ gastado al titular

N2 = Normalidad del K₂Cr₂O₇

V2 = Volumen de K₂Cr₂O₇ que se utilizó para la técnica

Ecuación de cálculo:

$$\% \text{ C org} = \frac{(B - M) (N \text{ FeSO}_4) (0.003) (100)}{S} \times F$$

donde:

B: mL de FeSO₄ gastados al titular la blanca

M: mL de FeSO₄ gastados al titular la muestra

N: Normalidad del FeSO₄

S: Peso del suelo de la muestra en gramos

F: 1.33 (suponiendo que la materia orgánica contiene 58% de carbono)

$$\% \text{ M.O.} = \% \text{ C org} \times 1.72$$

Ejemplo de cálculo:

Suponiendo que:

B = 24.74 ml de FeSO₄ gastados en la titulación para la prueba blanca

M = 23.86 ml de FeSO₄ gastados en la titulación de la muestra

N = Normalidad exacta del FeSO₄

S = 2.48 g del peso de la muestra

F = 1.33

$$\% \text{ C org} = \frac{(24.74 - 23.86) (0.504) (0.003) (100)}{2.48} \times 1.33$$

$$\% \text{ C org} = 0.071$$

$$\% \text{ M.O.} = 0.071 \times 1.72 = \mathbf{0.123 \%}$$

7. CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO

Las cargas negativas de los coloides del suelo retienen cationes en sus superficies. Esta retención reduce las pérdidas de Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , y Na^+ por lavado manteniendo a estos cationes en forma disponible para que las plantas los absorban. La distribución de los principales cationes intercambiables en suelos agrícolas es generalmente $\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^+ \approx \text{NH}_4 \approx \text{Na}^+$ (Bohn et al, 1985). El ion sodio bajo ciertas condiciones de manejo puede acumularse en los suelos de las zonas áridas y semiáridas hasta transformarlos en sódicos. Por otro lado, la gran mayoría de los suelos de las zonas áridas y semiáridas son clasificados como calcáreos y el cation predominante es el calcio, sin embargo, en algunos casos se encuentra combinado con SO_4 y HCO_3 y es difícilmente intercambiado.

La capacidad de intercambio cationico se ha definido de manera general como la cantidad máxima de cationes que un suelo determinado puede retener.

Los métodos actuales para determinar la capacidad de intercambio catiónico consisten básicamente en saturar el complejo absorbente por intercambio, realizando para esto una percolación lenta y gradual de un peso determinado de muestra con una solución salina. Una solución que se utiliza comúnmente es acetato de amonio con pH 7.0. En este caso, conforme la solución pasa lentamente a través de la muestra, los cationes intercambiables son desplazados y el complejo de intercambio es saturado progresivamente con iones NH_4 . Posteriormente, se desplaza el cation índice adsorbido y estos se valoran por destilación y se determina de esta manera el valor de la capacidad de intercambio cationico.

Recientemente se han establecido diversos métodos para la determinación de la capacidad de intercambio cationico, sin embargo, debido a la existencia de distintos tipos de suelos, con características físico-químicas diferentes, no es aplicable un solo método de manera universal y la elección varía de región en región. Como consecuencia, actualmente se utilizan varios procedimientos destinados para suelos ácidos, suelos calcáreos, suelos alcalinos y suelos salinos, principalmente.

Entre los métodos utilizados para suelos calcáreos se pueden mencionar; el método de Mehlich (1942), el método de Papanicolau (1976) y el método de Polemio y Rhoades (1977), entre algunos otros. Gupta y colaboradores (1985) le hicieron algunas modificaciones al método de Polemio y Rhoades y lo recomiendan para suelos sódicos con pH mayor de 8.4.

Los métodos utilizados de rutina en el laboratorio de Guerrero Negro son dos; con la misma base teórica descrita anteriormente, pero procedimientos diferentes: en el primero se utilizan columnas de percolación, y en el segundo se procede mediante agitación-centrifugado-decantación.

METODO DEL ACETATO DE AMONIO

Por medio de este método, la muestra de suelo se percola con acetato de amonio para desplazar los cationes del complejo de intercambio y al mismo tiempo se saturan los sitios de intercambio con NH_4 . Posteriormente la muestra es lavada con KCl para remover el NH_4 intercambiable después de haber removido el exceso de acetato de amonio con etanol. La estimación de la capacidad de intercambio se realiza mediante la determinación del amonio intercambiable por destilación.

Reactivos

- A) Pulpa de papel filtro # 2
- B) Algodón
- C) Etanol 80%

Vierta 800 mL de etanol en un matraz volumétrico de 1 L y afore a la marca con agua destilada.

- D) Acetato de Amonio, 1 N

Pesar 77.08 g de acetato de amonio y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Adicione alrededor de 800 mL de agua destilada y disuélvalos. Mida el pH y ajústelo a 8.2 con una solución de amonio diluido. Transfiera la solución a un matraz volumétrico de 1 L afore a la marca.

Nota.- El ajuste a pH 8.2 de la solución es sobre la base de que ha sido reportado que suelos con alto contenido de carbonatos libres, incorporan a la solución percolada cantidades significativas de calcio y magnesio que se confunden con los realmente intercambiables, y que un incremento en el pH disminuye la solubilización de los carbonatos (Mehlich, 1942; Bower et al, 1952; Yaalon et al, 1962; y Bascomb, 1964).

- E) Cloruro de Potasio, 10%

Pesar 100 g de KCl y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Añadir alrededor de 800 mL de agua destilada y diluir. Posteriormente transfiera la solución a un matraz volumétrico y afore a su volumen.

Procedimiento

En este procedimiento se utilizan aparatos de percolación, que consisten en tubos reservorios, tubos de percolación y frascos colectores como se muestran en la Foto 1. Sin embargo, en el laboratorio de Guerrero Negro se ha detectado que es factible medir la capacidad de intercambio catiónico utilizando únicamente el tubo reservorio del sistema de percolación. Realizando la medición de esta manera se facilita el manejo de muestras y se ahorran reactivos y espacio dentro del laboratorio.

PROCESO DE PERCOLACION

- 1) Coloque en la parte inferior del tubo reservorio un tapón de algodón. Sobre el tapón de algodón deposite una capa de pulpa de papel filtro de unos 5 mm de espesor y comprímalos utilizando policeman.
- 2) En una probeta graduada deposite 100 mL de acetato de amonio. De aquí vierta alrededor de 20 mL de la solución de acetato de amonio 1M en el tubo reservorio.
- 3) Adicionar una muestra de suelo de 10 g de manera lenta para lograr un asentamiento parejo sobre los filtros.
- 4) Posteriormente adicione el resto de la solución de acetato de amonio.
- 5) Regular la válvula del tubo reservorio de tal manera que el proceso de percolación sea terminado en un tiempo de 4 a 12 horas. Colecte el percolado en un matraz volumétrico de 250 mL y una vez terminada la percolación afore a su volumen con agua destilada (**Extracto A**).
- 6) Lave la pared del tubo reservorio con etanol 80%, girando lentamente el tubo reservorio. Enseguida añada 50-60 mL de etanol 80%.
- 7) Inicie la percolación mediante la apertura de la válvula y finalice en alrededor de 20-30 minutos. Deseche la solución percolada.
- 8) Posteriormente adicionar lentamente 100 mL de KCL, 10%.
- 9) Regular la válvula del tubo reservorio de tal forma que la solución percole en alrededor de 7-8 horas. Colecte la solución percolada en matraz volumétrico de 250 mL.
- 10) Después de percolar totalmente la solución, retire el matraz y afore a su volumen con agua destilada (**Extracto B**).

PROCESO DE DESTILACION

Reactivos

- A) Hidróxido de Sodio, 25%
Pesar 250 g de NaOH y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Agregue alrededor de 800 mL de agua destilada y disuélvalos. Permita que se enfríe la solución con el vaso de precipitado tapado con papel aluminio o algún plástico para prevenir la absorción de CO₂ de la atmósfera. Una vez fría la solución, transfírala a un matraz volumétrico de 1 L y afore a su capacidad con agua destilada. Almacenar en bote de plástico perfectamente tapado para prevenir la absorción de CO₂.
- B) Solución Indicadora
Disolver 0.130 g de rojo de metilo y 0.200 g de verde bromocresol en 200 mL de etanol 96%.
- C) Ácido Bórico-Solución Indicadora
En un vaso de precipitado de 1 L, disolver 10 g de ácido bórico en alrededor de 900 mL de agua caliente, enfríe y añada 20 mL de la solución indicadora. Transfiera la solución a un matraz volumétrico de 1 L y haga a su volumen con agua.
- D) 0.1 M Hidróxido de Sodio Estandarizado

Pesar 4 g de NaOH y añadirlos a un vaso de precipitado con alrededor de 600 mL de agua. Disolverlos y dejar enfriar. Posteriormente, transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a su volumen.

Tomar con una pipeta volumétrica 25 mL de ácido oxálico, vertirlos en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y añadir 2 o 3 gotas de fenolftaleína 0.1% como indicador. Titular esta solución con NaOH 0.1 M hasta que la solución vire a un color rosa-rojo.

Para calcular la Molaridad del NaOH se emplea la ecuación siguiente:

$$M1 = \frac{2 \times M2 \times V2}{V1}$$

En la cual:

M1 = Molaridad del NaOH

M2 = Molaridad del ácido oxálico

V1 = mL de NaOH

V2 = mililitros tomados de ácido oxálico = 25 mL

E) 0.1 M Ácido Clorhídrico Estandarizado

Tomar 8.6 mL de HCl concentrado y vertirlos en un matraz de 1 L con aproximadamente 600 mL de agua destilada. Mezclar bien, transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar con agua destilada a la marca de 1 L.

Tomar con una pipeta volumétrica 25 mL de HCl 0.1 M y vertirlos a un matraz Erlenmeyer de 50 mL. Añadir 2 o 3 gotas del indicador fenolftaleína 0.1%. Titular esta mezcla con NaOH 0.1 M estandarizado hasta que el color vire a rosa-rojo.

La Molaridad del HCl se calcula en base a la ecuación siguiente:

$$M1 = \frac{M1 \times V2}{V1}$$

F) Ácido Clorhídrico, 0.010 M estándar

Vierta 10 mL de solución de HCl 0.1 M estandarizado en un matraz volumétrico de 100 mL y afore a su volumen con agua destilada.

Procedimiento

- 1) Vertir 25 mL de la solución indicadora-ácido bórico en un matraz Erlenmeyer de 200 mL y colóquelo debajo del condensador del aparato de destilación.
- 2) Añadir de 10-20 ml de solución muestra
- 3) Adicionar 20 mL de NaOH 25% al matraz de digestión de la unidad de destilación y permita la destilación por mas o menos 7-8 minutos hasta que se produzcan alrededor de 75 mL de destilado.

- 4) Retire el matraz Erlenmeyer del destilador, lave el extremo del condensador y titule el destilado con 0.01 M HCl hasta que el color cambie de verde a rosa.

Nota: Es necesario destilar una blanca o compuesto referencia para los calculos.

Ecuación de Cálculo

$$\text{CIC meq/100 g} = (a - b) \times M \times \frac{100}{S} \times \frac{250}{c}$$

donde:

a = Mililitros de HCl requeridos para la titulación de la muestra

b = Mililitros de HCl requeridos para la titulación de la blanca

c = Alicuota del extracto B

s = Peso de la muestra en gramos

M = Molaridad del HCl

Ejemplo de Calculo

Suponiendo que:

a = 3.85 ml de HCl requeridos para la titulación de la muestra

b = 0.52 ml de HCl requeridos para la titulación de la blanca

c = 10 ml de volumen de muestra del extracto B

s = 10.12 g del peso de la muestra

M = 0.0123 M del HCl

$$\text{CIC meq/100 g} = (3.85 - 0.52) \times 0.0123 \times \frac{100}{10.12} \times \frac{250}{10}$$

$$\text{CIC meq/100 g} = 10.12$$

METODO DEL ACETATO DE SODIO

Se utiliza comúnmente para determinar la CIC de suelos calcáreos. Originalmente es un método propuesto por Bower y colaboradores (1952). Sin embargo Hesse (1971) le hizo algunas adecuaciones y este es el método que se especifica a continuación.

Reactivos

- A) Solución de Acetato de Sodio (NaOAc) 1 M: Pesar 136 g de acetato de sodio trihidratado y depositarlo en un vaso de precipitado de 1 L. Adicionar alrededor de 500 a 600 mL de agua destilada. Enseguida ajustar el pH a 8.2 con hidróxido de sodio. Finalmente transfiera a un matraz volumétrico de 1 L y afore a su marca.
- B) Alcohol Etilico 95%
- C) Solución de Acetato de Amonio 1 N: Pesar 77 g de acetato de amonio y verterlos en un vaso de precipitado de 1 L. Añadir 800 mL de agua destilada y disolver. Ajuste el pH a 8.2 con amonio diluido. Transfiera la solución a un matraz volumétrico de 1 L y afore a su capacidad.

Procedimiento

1. Pesar 5 g de suelo secado a la sombra y tamizado a través de una malla de 2 mm y verterlo cuantitativamente a un tubo de centrifugación de 50 mL.
2. Agregar 30 mL de la solución de acetato de sodio 1 M y agitar durante 10 minutos.
3. Centrifugar a 10000 r.p.m. durante 5 minutos
4. Desechar la sobrenadante y se repite la operación por cuatro veces mas.
5. Añadir al suelo 30 mL de alcohol etílico 95% y agitar durante 10 minutos
6. Centrifugar a 10000 r.p.m. durante 5 minutos y decante la sobrenadante. Realice ésta operación tres veces.
7. Adicione al suelo 30 mL de acetato de amonio. Agite durante 5 minutos.
8. Centrifugar a 10000 r.p.m. durante 5 minutos.
9. Utilizar embudo y papel filtro # 6 para colectar por medio de decantación los extractos a matraces volumétricos de 100 mL. Repetir la operación tres veces.
10. Después del ultimo extracto aforar el matraz a su marca con acetato de amonio.
11. Finalmente, determinar el Na^+ del extracto por espectroscopía de absorción atómica.

Ecuación de cálculo:

$$\text{CIC meq/100 g} = \frac{10 \times \text{meq Na}^+ / \text{L}}{\text{Peso de la Muestra}}$$

Ejemplo de Calculo:

Concentración de $\text{Na}^+ = 35 \text{ ppm} = 35 \text{ mg/L}$
ya que 1 equivalente de $\text{Na}^+ = 23 \text{ g}$, 1 miliequivalente de $\text{Na}^+ = 23 \text{ mg}$
por lo tanto; $35 \text{ mg Na}^+/\text{L} = 1.52 \text{ meq Na}^+/\text{L}$

$$\text{CIC meq/100 g} = \frac{10 \times 1.52}{4.9784} = 3.05$$

8. NITROGENO

La nutrición de las plantas es un tema que está estrechamente relacionado con otras disciplinas como ciencias del suelo, fisiología vegetal y bioquímica.

En la actualidad se han descubierto alrededor de 120 elementos químicos. Sin embargo, solamente 16 de estos son considerados universalmente como esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. El nitrógeno es tal vez el nutriente más importante para las plantas. Este elemento esencial es utilizado por las plantas para sintetizar aminoácidos, los cuales se transforman en proteínas. El nitrógeno es también requerido por las plantas para otros compuestos vitales como la clorofila, ácidos nucleicos y enzimas. Sin embargo, solamente bajo condiciones muy especiales es encontrado en el suelo en cantidades suficientes como para satisfacer los requerimientos de las plantas cultivadas. Por consiguiente, es necesario suplementarlo al suelo en forma de fertilizantes para su aprovechamiento por los cultivos. En base a lo anterior, la aplicación racional de fertilizantes requiere información sobre los nutrientes que están disponibles en el suelo, por un lado, y el estado nutricional de las plantas por el otro.

El nitrógeno puede ser encontrado en los suelos principalmente de dos formas: 1) nitrógeno orgánico y 2) nitrógeno inorgánico. La fracción orgánica es importante en suelos con un alto contenido de materia orgánica y generalmente es encontrado en los horizontes superficiales. La fracción inorgánica la constituyen principalmente $N-NO_2$, $N-NO_3$ y $N-NH_4$. El nitrógeno en forma de amonio puede encontrarse en forma intercambiable o fijado dependiendo de la constitución química del suelo.

Debido a que el nitrógeno es tomado por las plantas, principalmente como iones nitratos (NO_3) o amonio (NH_4), la determinación de nitratos y amonio en los suelos es fundamental para un buen manejo de los fertilizantes nitrogenados, especialmente en las zonas áridas y semiáridas donde el nitrógeno es el elemento más importante para los cultivos (Hagin y Tucker, 1982), y que sin la aplicación de fertilizantes nitrogenados los rendimientos son fuertemente reducidos (Yamanouchi, 1991). Por otro lado, los problemas de lavado de NO_3 es un fenómeno común en estos suelos debido a la elevada permeabilidad que los caracterizan. La determinación de NH_4 es de mayor importancia en suelos que están siendo abonados con compuestos orgánicos o en áreas donde se empleen fertilizantes nitrogenados conteniendo NH_4 para estimar en forma oportuna los niveles de NH_4 que pueden llegar a ser tóxicos, sobretodo en las primeras etapas de los cultivos.

Debido a que el contenido de materia orgánica de los suelos ubicados en zonas áridas y semiáridas es muy bajo (0.15 a 1.0%) la estimación del nitrógeno total correlaciona significativamente con la suma de $N-NO_3$ y $N-NH_4$. Por esta razón, aunque aun son necesarios experimentos de calibración utilizando diferentes tipos de suelos y los cultivos comunmente desarrollados en la zona, las recomendaciones para fertilizaciones nitrogenadas realizadas por el laboratorio de Guerrero Negro están siendo basadas en experimentos y análisis químicos de nitrógeno inorgánico, particularmente $N-NO_3$.

8.1 NITROGENO TOTAL

En muchos suelos donde el contenido de materia orgánica sea alta (> 2%) la cuantificación del nitrógeno total es indispensable. Sin embargo, en suelos con contenido de materia orgánica muy bajo (< 0.9) la estimación del nitrógeno total puede realizarse mediante la suma de las fracciones inorgánicas.

El método que se describe a continuación para determinación de nitrógeno total es el método Kjeldhal con adición de ácido salicílico al ácido sulfúrico concentrado para incluir nitratos en la digestión de la muestra. El suelo es digerido con una mezcla ácido sulfúrico-ácido salicílico para incluir nitratos y convertir la fracción orgánica a sulfato de amonio. Posteriormente el amonio es destilado y atrapado en una solución indicadora conteniendo ácido bórico para después ser titulado con una solución de ácido clorhídrico estandarizada.

DIGESTION DE LA MUESTRA

La digestión de la muestra se realiza utilizando digestores Kjeldhal. Dependiendo de la dimensión de los digestores y de los matraces Kjeldhal el proceso se denomina macro, semi-micro y micro. El peso de la muestra a digerir dependerá del procedimiento elegido y el nivel de nitrógeno estimado, ya que en suelos con un bajo contenido de nitrógeno, el volumen de muestra requerido en el proceso de destilación de $N-NH_4$ es muy grande y volúmenes pequeños dificultan su detección. La digestión de la muestra es un proceso consumidor de tiempo que requiere de 5 a 8 horas, por lo cual es recomendable la aplicación de catalizadores para acelerar la reacción.

Reactivos

- A) Ácido Sulfúrico concentrado-Ácido Salicílico
- B) Mezcla de Catalizadores

Moler y mezclar lo mejor posible en un mortero 100 g de sulfato de potasio (K_2SO_4) y 10 g de sulfato de cobre ($CuSO_4$). Cuando sea necesario acelerar aun mas la reacción es recomendable adicionar a cada matraz un poco de selenio o preparar la mezcla catalizadora $K_2SO_4 : CuSO_4 : Se$ en proporción 100 : 10 : 1.

Procedimiento Micro-Kjeldhal

- 1) Colocar 1 g de suelo en un matraz de digestión Kjeldhal
- 2) Adicionar 5 mL de la mezcla ácido sulfúrico-ácido salicílico
- 3) Añadir alrededor de 0.5 g de la mezcla de catalizadores
- 4) Iniciar el calentamiento en los digestores Kjeldhal. Durante los primeros 20-30 minutos el calentamiento debe ser bajo, particularmente en muestras con alto contenido de materia orgánica. La digestión debe ser efectuada hasta que se clarifique la solución. Esto ocurre generalmente de 4 a 6 horas.
- 5) Retirar los matraces del digestor y dejar enfriar.
- 6) Adicionar alrededor de 20 mL de agua destilada.
- 7) Después de que la solución se enfríe, filtrarla a través de papel filtro # 3 hacia un matraz volumétrico de 100 mL y aforar a la marca con agua destilada.

DETERMINACION DE AMONIO

La estimación de $N-NH_4$ de la muestra digerida puede efectuarse directamente en el digerido por métodos colorimétricos como el azul de indofenol, método Nessler, o por métodos potenciométricos usando electrodos sensibles al ion amonio. En el laboratorio del CIBNOR-Guerrero Negro, la determinación de nitrógeno total mediante la estimación de $N-NH_4$ se realiza por destilación y por el método Nessler, siendo este último procedimiento colorimétrico el más comúnmente utilizado.

METODO NESSLER

Reactivos

A) Hidróxido de Sodio, 1 N

Pesar 20 g de NaOH y depositarlos en un vaso de precipitado de 500 mL. Disolver y transferir la solución a un matraz volumétrico de 500 mL. Finalmente aforar a la marca de 500 mL.

B) Fenolftaleína o Rojo de Metilo

C) Rochelle Salt (solución saturada)

Coloque en un agitador magnético un vaso de precipitado de 100 mL con alrededor de 80 mL de agua destilada. Vierta cantidades de potasium sodium tartrate (Rochelle Salt) y mantenga la solución bajo agitación continua hasta que se detecte el punto de saturación (que no se disuelva).

D) Reactivo Nessler

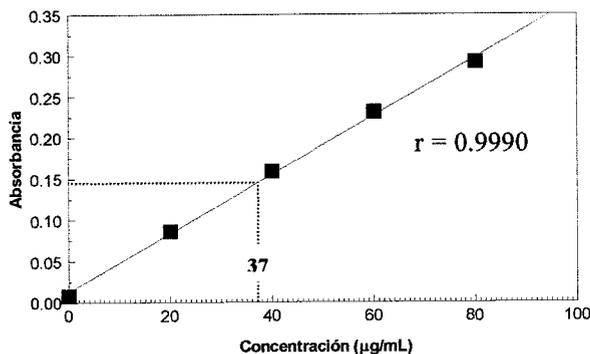
Pesar y disolver por separado 10 g de HgI_2 , 50 g de KBr y 25 g de NaOH. Posteriormente vertirlos a un matraz volumétrico de 1 L y finalmente aforar el matraz a su marca.

Procedimiento

- 1) Tomar como alicuota 10 mL del destilado y vertirlo a un matraz volumétrico de 50 mL
- 2) Agregar alrededor de 10-15 mL de agua destilada
- 3) Adicionar 2 gotas de Sal Rochelle
- 4) Para la neutralización de la muestra agregue los mililitros necesarios de NaOH 1N
Nota: Para conocer la cantidad de NaOH 1N para la neutralización, tomar 10 mL del destilado de la muestra y vertirlos en un tubo de ensaye. Enseguida agregar 1 gota del indicador y mezcle. Adicionar lentamente NaOH 1N hasta que el color cambie. Los mililitros utilizados para el cambio de color son los que se deben de adicionar a cada muestra durante el análisis.
- 5) Adicionar 2 mL del reactivo Nessler y agitar inmediatamente
- 6) Afore a la marca de 50 mL con agua destilada y agitar.
- 7) Reposar 15-20 min y mida su absorbancia a 415 nm en espectrofotómetro

Ejemplo de Calculo por el Método Nessler

El calculo de nitrógeno total por este procedimiento se basa en la determinación colorimetrica de amonio ($N-NH_4$). Por consiguiente, primeramente se establece un juego de estándares de determinada concentración como por ejemplo; 0, 20, 40, 60, 80 ppm o lo que es equivalente; 0, 20, 40, 60, 80 $\mu g N-NH_4/mL$ como se describió en la línea de medición en el apartado de reactivos. Al medir la absorbancia de estas estándares en el espectrofotómetro, y graficando la absorbancia contra la concentración se obtiene la línea de medición siguiente:



STD ($\mu g/mL$)	ABS
0	0.008
20	0.086
40	0.159
60	0.231
80	0.292

Relación entre la concentración de N-Amonio ($N-NH_4$) y la absorbancia

Al medir la absorbancia de una muestra determinada en el espectrofotómetro se obtiene, por ejemplo, un valor de 0.148. Por tanto, aplicando el método grafico en la figura anterior se determina que la concentración de la muestra es 37 $\mu g N-NH_4/mL$

METODO DE DESTILACION

La determinación indirecta de amonio por destilación es un procedimiento ampliamente utilizado. El NH_3 de la muestra previamente digerida es destilada en un medio alcalino, generalmente utilizando hidróxido de sodio para este fin. El NH_3 de la solución destilada es atrapada en ácido bórico, el cual se titula con HCl estandarizado utilizando una mezcla de rojo de metilo y verde bromocresol como indicadores.

Reactivos

E) Hidróxido de Sodio, 25%

Pesar 250 g de NaOH y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Agregue alrededor de 800 mL de agua destilada y disolver. Permita que se enfríe la solución con el vaso de precipitado tapado con papel aluminio o algún plástico para prevenir la absorción de CO_2 de la atmósfera. Una vez fría la solución, transfírela a un matraz volumétrico de 1 L y afore a la marca con agua destilada. Almacenar en bote de plástico perfectamente tapado para prevenir la absorción de CO_2 .

F) Solución Indicadora

Disolver 0.130 g de rojo de metilo y 0.200 g de verde bromocresol en 200 mL de etanol 96%.

G) Ácido Bórico-Solución Indicadora

En un vaso de precipitado de 1 L, disolver 10 g de ácido bórico en alrededor de 900 mL de agua caliente, enfríe y añada 20 mL de la solución indicadora. Transfiera la solución a un matraz volumétrico de 1 L y haga a su volumen con agua.

H) 0.1 M estandarizado Hidróxido de Sodio

Pesar 4 g de NaOH y añadirlos a un vaso de precipitado con alrededor de 600 mL de agua. Disolverlos y dejar enfriar. Posteriormente, transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a su volumen.

Tomar con una pipeta volumétrica 25 mL de ácido oxálico, vertirlos en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y añadir 2 o 3 gotas de fenolftaleína 0.1% como indicador. Titular esta solución con NaOH 0.1 M hasta que la solución vire a un color rosa-rojo.

Para calcular la Molaridad del NaOH se emplea la ecuación siguiente:

$$M1 = \frac{2 \times M2 \times V2}{V1}$$

En la cual:

M1 = Molaridad del NaOH

M2 = Molaridad del ácido oxálico

V1 = mL de NaOH

V2 = mililitros tomados de ácido oxálico = 25 mL

I) 0.05 M estándar, Ácido Oxálico

Pesar 6.3035 g de ácido oxálico, depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L con aproximadamente 600 mL y disolverlos bien. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a su volumen con agua destilada.

J) 0.1 M estandarizado Ácido Clorhídrico

Tomar 8.6 mL de HCl concentrado y vertirlos en un matraz de 1 L con aproximadamente 600 mL de agua destilada. Mezclar bien, transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar con agua destilada a la marca de 1 L.

Tomar con una pipeta volumétrica 25 mL de HCl 0.1 M y vertirlos a un matraz Erlenmeyer de 50 mL. Añadir 2 o 3 gotas del indicador fenolftaleína 0.1%. Titular esta mezcla con NaOH 0.1 M estandarizado hasta que el color vire a rosa-rojo.

La Molaridad del HCl se calcula en base a la ecuación siguiente:

$$M1 = \frac{M1 \times V2}{V1}$$

En la cual:

M2 = Molaridad del NaOH

V2 = mililitros de NaOH

V1 = 25 mL de HCL, 0.1 M utilizados

K) Ácido Clorhídrico, 0.010 M estándar

Vertir un volumen V1 de solución de HCl 0.1 M estandarizado en un matraz volumétrico de 1 L y afore a su volumen con agua destilada.

L) Fenolftaleina, 0.1 % como indicador

Disolver 0.1 g de fenolftaleina en 100 mL de etanol 95%

Procedimiento

- 1) Vertir 25 mL de la solución indicadora-ácido bórico en un matraz Erlenmeyer de 200 mL y colóquelo debajo del condensador del aparato de destilación.
- 2) Verter de 10-20 mL de la solución muestra al matraz de digestión
- 3) Adicionar 25 mL de NaOH 25% al matraz de digestión de la unidad de destilación y permita la destilación por mas o menos 7-8 minutos hasta que se produzcan alrededor de 75 mL de destilado.
- 4) Retirar el matraz Erlenmeyer del destilador, lave los extremos del condensador y titule el destilado con 0.01 M HCl hasta que el color cambie de verde a rosa.

8.2 NITROGENO INORGANICO

Los suelos localizados en las zonas áridas y semi-áridas presentan un nivel muy bajo de materia orgánica como consecuencia de la baja precipitación anual que los caracteriza. Por esta razón, la concentración de nitrógeno orgánico, de manera general, es insignificante desde el punto de vista nutricional para los cultivos. En muchas de estas áreas, como es el caso del noroeste de México y particularmente en Baja California, las recomendaciones de fertilizantes nitrogenados para las plantas se basan en pruebas de campo y determinaciones analíticas en laboratorio de las fracciones inorgánicas, principalmente N-NO₃ y N-NH₄.

Generalmente las formas inorgánicas son extractadas con una solución de KCl 2M, porque ha sido demostrado que esta solución extrae tanto el NH₄ intercambiable como también NO₂ y NO₃. En el laboratorio del CIBNOR-Guerrero Negro, a manera de rutina se ha implementado la determinación de amonio por métodos colorimétricos, mientras que la estimación de nitratos se efectúa generalmente por cromatografía de iones y el método colorimétrico propuesto por Cataldo (Cataldo y colaboradores, 1975).

NITROGENO-NO₃

La determinación de nitrógeno en forma de nitrato en los suelos es un aspecto que actualmente tiene mucha importancia debido a su fácil movimiento hacia capas inferiores fuera del alcance de las raíces de los cultivos, ocasionando su llegada a las aguas subterráneas y su contaminación.

El N-NO₃ generalmente se mueve en el perfil del suelo juntamente con el movimiento del agua, de manera contraria al N-NH₄ el cual no se mueve fácilmente en la mayoría de los suelos. Sin embargo, el N-NH₄, bajo condiciones propicias es convertido rápidamente a N-NO₃ mediante el proceso de nitrificación. Por estas razones, el muestreo de los suelos con la finalidad de estimar N-NO₃ debe realizarse con particular cuidado y los datos obtenidos de los análisis químicos deben ser interpretados con cuidado antes de recomendar programas de fertilización.

Un gran número de métodos han sido desarrollados para la extracción y la determinación de la cantidad de N-NO₃ (Page y colaboradores, 1982). Aunque el nitrato en el suelo puede ser extractado con agua, la solución de KCl 2M (10 mL de extractante por g de suelo) ha sido ampliamente utilizada. Sin embargo, en suelos muy arenosos como es el caso de muchos terrenos ubicados en zonas áridas y semiáridas, el N-NO₃ puede ser extractado confiablemente utilizando únicamente agua. En suelos del desierto de Vizcaíno, por ejemplo, la extracción con agua y la respuesta a la fertilización nitrogenada por los cultivos ha sido demostrada ampliamente. En este capítulo se describe el método de Cataldo con algunas modificaciones, mientras que en el capítulo de determinación de aniones solubles se incluye la estimación de nitratos por cromatografía de líquidos.

METODO DE CATALDO MODIFICADO

Las concentraciones de nitratos en extractos de suelo utilizando KCl generalmente han sido analizados por medio de métodos automatizados tales como cromatografía de líquidos (Saito y colaboradores, 1987; Tabatabai, 1996). Estos métodos, sin embargo, requieren dilución con agua debido a la elevada concentración de KCl afecta la separación de estos solutos, por lo tanto la sensibilidad se reduce notablemente.

Cataldo y colaboradores (1975), desarrollaron un método colorimétrico sencillo para extractos de planta con agua, el cual no requiere el procedimiento de la reducción del nitrato. Debido a que este método se caracteriza por una alta sensibilidad y simplicidad, su aplicación a la determinación de nitratos en el suelo es de gran utilidad. Por lo tanto, Matsumura y Witjaksono (1999) lo modificaron para adaptarlo a los análisis de suelo.

Reactivos

A) Cloruro de Potasio (KCl 2M)

Pesar 149.12 g de KCl y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Agregar alrededor de 800 mL de agua destilada y disolver. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a la marca.

B) 5% de Acido Salicilico en Acido Sulfurico concentrado

Pesar 5 g de acido salicilico y depositarlos en un vaso de precipitado de 100 mL. Enseguida añadir 100 mL de acido sulfurico concentrado medido en probeta y mezclar bien.

C) Hidroxido de Sodio (NaOH, 2M)

Depositar 80 g de hidroxido de sodio en un vaso de precipitado de 1 L y disolverlos en aproximadamente 800 mL de agua destilada. Enseguida transferir la solución a un matraz volumetrico de 1 L y aforar a la marca

Línea de Medición

Solución de 1000 ppm de N-NO₃

La línea de medición puede ser entre 0 y 60 ppm de N-NO₃

Procedimiento

- 1) Depositar 2-5 g de suelo en un tubo de centrifugacion y añadir 50 mL de KCl 2M. Agitar durante 1 hora.
- 2) Centrifugar a 10,000 rpm por un tiempo de 10 min.
- 3) Tomar 0.5 mL de la sobrenadante del extracto y vertirla en un tubo de ensayo de 15 mL. El juego de tubos de ensayo debe estar en baño de hielo.
- 4) Adicionar 0.3 mL de 5% Ac. Salicilico-H₂SO₄. Despues de 5 minutos o mas, mezclar el contenido utilizando agitador vibratorio. Regresar los tubos de ensayo al baño de hielo hasta el proximo paso.
- 5) Posteriormente, colocar el juego de tubos de ensayo en baño de agua a una temperatura de 70 °C durante 20 minutos.
- 6) Enseguida, permitir que los tubos de ensaye se enfrien a temperatura de cuarto.
- 7) Agregar 10 mL de NaOH 2M y mezclar bien con agitador vibratorio.
- 8) Permitir que los tubos de ensayo se enfrien a temperatura de cuarto
- 9) Finalmente, medir la absorbancia a 405 nm en un espectrofotometro

NITROGENO-NH₄

Para la estimación de amonio por colorimetría se emplean dos procedimientos: 1) el método Nessler y 2) el método azul de indofenol.

El primero generalmente se usa en muestras vegetales, pero en algunos casos es empleado en muestras de suelos. El inconveniente de utilizar el método Nessler en muestras de suelo es que la sensibilidad es limitada y en suelos calcáreos esta sujeto a las interferencias que causan el Ca²⁺ y Mg²⁺. Además, por medio de este método es difícil detectar niveles bajos de amonio.

El método Nessler fue descrito en los procedimientos para determinar nitrógeno total, por lo cual, en este apartado se describe el segundo, que consiste en un método colorimétrico que es utilizado ampliamente y que se le ha denominado azul de indofenól.

METODO AZUL INDOFENOL

Desde el siglo XIX fue detectado que al hacer reaccionar el fenol con hipoclorito de sodio se formaba un complejo azul intenso. Posteriormente esto fue aprovechado para establecer un método de estimación de NH₄ en muestras de sangre (Van Slyke y Hiller, 1933), el cual fue llamado azul de indofenol. Posteriormente la sensibilidad del método se incrementa mediante el uso de sodium nitroprusside, compuesto que cataliza la reacción. La desventaja de este método es que un alto contenido de Ca²⁺ y Mg²⁺ en el suelo forma significantes hidróxidos insolubles bajo condiciones del elevado pH necesario para el análisis. Sin embargo, este inconveniente es minimizado al utilizar un agente quelatante como EDTA para prevenir la precipitación que ocasiona interferencias (Keeney y Nelson, 1982).

Reactivos

- A) Solución Extractora Cloruro de Potasio, KCl 2 M
Pesar 149.12 g de KCl y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Agregar alrededor de 800 mL de agua destilada y disolver. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a la marca.
- B) Reactivo Fenol-Nitroprusside
Disolver 7 g de fenol y 0.034 g de sodium nitroprusside en 80 mL de agua destilada y diluir a 100 mL. Mezclar bien y almacenar en frasco de color oscuro en refrigerador.
- C) Solución amortiguadora de hipoclorito de sodio
Disolver 1.480 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 70 mL de agua destilada y adicionar 4.98 g de sodium mono-hydrogen phosphate (Na₂HPO₄) y 20 mL de hipoclorito de sodio (NaOCl). Se debe medir el pH de la solución para asegurar que este entre 11.4 y 12.2. Añadir una pequeña cantidad adicional de NaOH si es requerido para elevar el pH. Diluir a un volumen final de 100 mL
- D) Reactivo EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid)
Disolver 6 g de ethylenediamine tetraacetic acid disodium salt (EDTA disodium) en 80 mL de agua destilada, mezclar bien y diluir a 100 ml

E) Estándares de Amonio (N-NH₄)

Estandar de 100 ppm

Pesar 0.4717 g de sulfato de amonio [(NH₄)₂SO₄] y depositarlo en un vaso de precipitado de 100 mL. Añadir agua destilada y disolver. Transferir la solución a un matraz volumétrico y aforar hasta un volumen de 1 L.

Línea de Medición

De la solución estándar de 100 ppm tomar 0, 1, 2, 3, 4, y 5 mL y vertirlas a matraces volumétricos de 50 mL. Aforar los matraces a la marca con KCl 2M. Esta línea de medición contiene 0, 2, 4, 6, 8, y 10 ppm (µg de N-NH₄/mL)

Procedimiento

- 1) Pesar 5 g de suelo y depositarlos en una botella de plástico de 100 mL. Añadir 50 mL de cloruro de potasio (KCl, 2 M). Agitar por 1 hora. Posteriormente permita que repose la suspensión por 30 minutos o hasta que el líquido sobrenadante este claro. Si el extracto no puede ser analizado en el mismo día, filtre la suspensión utilizando papel filtro # 6 y almacene el filtrado en refrigerador hasta que los análisis puedan ser efectuados.
- 2) Pipetear una alícuota (no más de 5 mL) del extracto filtrado obtenido con 2 M KCl conteniendo entre 0.5 y 12 µg de N-NH₄ hacia un matraz volumétrico de 50 mL. Alícuotas de alrededor de 3 mL normalmente contienen suficiente N-NH₄ para su cuantificación.

!!!ADVERTENCIA! Se deben tomar volúmenes iguales de las muestras y de las soluciones estándares.

- 3) Añadir 2 mL del reactivo EDTA y mezclar bien. Permita reposar por 1 minuto a la mezcla.
- 4) Adicionar 4 mL del reactivo fenol-nitroprusside
- 5) Enseguida adicionar 8 mL del reactivo amortiguador de hipoclorito de sodio, mezclar bien y aforar el matraz a 50 ml
- 6) Colocar los matraces en baño de agua manteniendo la temperatura a 40°C por 30 minutos.
- 7) Retirar los matraces del baño de agua y enfriar a temperatura de cuarto de 10 a 15 minutos.
- 8) Determinar la absorbancia a una longitud de onda de 636 nm.

Para ahorrar reactivos y facilitar el manejo de un número elevado de muestras se sugiere la utilización de material de menor dimensión como son tubos de ensayo de 25 mL en sustitución de los matraces de 50 mL. Las modificaciones de los volúmenes de reactivo se presentan en el procedimiento siguiente:

Procedimiento

- 1) Pipetear 2 mL de las muestras a tubos de ensaye de vidrio de 25 mL. También deben ser pipeteados a otro juego de tubos de ensaye 2 mL de los estándares.
- 2) Añadir 0.5 mL del reactivo EDTA
- 3) Adicionar 1 mL del reactivo fenol-nitroprusside
- 4) Añadir 2 mL del amortiguador hipoclorito de sodio
- 5) Adicionar 7 mL de agua
- 6) Mezclar bien mediante un agitador vibratorio.
- 7) Colocar los tubos de ensaye en baño de agua manteniendo la temperatura a 40°C durante 30 minutos.
- 8) Retirar los tubos de ensaye del baño de agua y enfriar a temperatura de cuarto de 10 a 15 minutos.
- 9) Medir la absorbancia a una longitud de onda de 636 nm en espectrofotómetro.

Ejemplo de Cálculo

Para estimar la concentración de NH_4 de una muestra se procede de igual forma que en el método Nessler (página 26). Primeramente se establece un juego de estándares de determinada concentración como; 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ppm o lo que es lo mismo, 0, 2, 4, 6, 8 y 10 $\mu\text{g/mL}$ (línea de medición descrita anteriormente). Al medir la absorbancia de estos estándares en el espectrofotómetro y graficando absorbancia contra concentración se obtiene la línea de medición. Posteriormente se utiliza el método grafico o matematico para determinar la concentración de NH_4 en las muestras.

De esta manera se tiene:

$$2.56 \mu\text{g NH}_4 \times 15 \text{ veces diluida} = 38.4 \mu\text{g NH}_4$$

transformando a una expresión común de concentración, mg/100g de suelo se tiene;

$$\text{NH}_4 \text{ (mg/100 g)} = \frac{0.0384 \text{ mg NH}_4 \times 100 \text{ g}}{5 \text{ g}} = \mathbf{0.768 \text{ mg NH}_4/100 \text{ g suelo}}$$

9. FOSFORO

Los requerimientos de fósforo para el desarrollo óptimo de las plantas está ubicado en el rango de 0.3 a 0.5% del peso seco de la planta durante los estados vegetativos de crecimiento (Marschner, 1986). Debido a las funciones del fósforo en el desarrollo y metabolismo de las plantas, la deficiencia conduce a una reducción general de la mayoría de los procesos metabólicos, incluyendo la expansión y división celular, respiración y fotosíntesis (Terry y Ulrich, 1973).

El fósforo es absorbido por las plantas como H_2PO_4^- , $\text{HPO}_4^{=}$ o $\text{PO}_4^{=}$ dependiendo del pH del suelo. La mayor parte del fósforo del suelo está ligado químicamente en compuestos de solubilidad limitada. La solubilidad de los fosfatos depende de diversos factores, entre los que se pueden citar la temperatura y el pH del suelo. Ha sido reportado que el fosfato disponible del suelo puede ser solamente $\leq 1\%$ del total de la cantidad presente (Bohn y colaboradores, 1985). En suelos neutros y alcalinos se forma fosfato de calcio mientras que en suelos ácidos se producen fosfatos de aluminio y hierro.

Para la obtención de rendimientos elevados de los cultivos se necesita aportar fertilizantes fosfatados en muchos suelos, lo cual significa que estos suelos son incapaces de proporcionar en forma natural el fósforo para cubrir los requerimientos de las plantas. Sin embargo, en otros suelos la aplicación de fertilizantes fosfatados no provoca la respuesta de los cultivos al encontrarse en cantidades apreciables en forma disponible de manera natural, lo que ocasiona en muchos casos, desbalances nutricionales y pérdidas económicas. Por consiguiente, el diagnóstico del *status* del fósforo en el suelo es esencial para un manejo adecuado de la fertilización fosfatada que se traduzca en un mejor crecimiento de las plantas y la obtención de altos rendimientos.

Desde la década de 1950's, se iniciaron los trabajos para comprender las formas en que se encuentra el P en los suelos y su disponibilidad para los cultivos. Uno de los esquemas de fraccionamiento más ampliamente conocido es el propuesto por Chang y Jackson (1957). Las distintas formas de P han sido utilizadas para estudiar las transformaciones de los fertilizantes fosfatados aplicados a los suelos.

Para evaluar la disponibilidad de P en los suelos diversos procedimientos han sido propuestos, los cuales extraen diferentes cantidades de P dependiendo del tipo de solución utilizada. De manera general, los extractantes pueden ser divididos en:

- a) Soluciones diluidas de ácidos fuertes (HCl , HNO_3 , H_2SO_4).
- b) Soluciones diluidas de ácidos fuertes + iones complejantes (ej: fluoruro).
- c) Soluciones diluidas de ácidos débiles (cítrico, láctico, acético).
- d) Soluciones amortiguadoras alcalinas (bicarbonato de sodio).

En la Tabla 9.1 se presentan algunos métodos para extraer fósforo, sus características principales y los suelos donde han arrojado los mejores resultados.

Tabla 9.1. Métodos de extracción de fósforo disponible para las plantas.

Método	Suelo	Extractante	Muestra (g)	Volumen del Extractante (mL)	Tiempo de Agitación (min)	pH
Mehlich	ácido	0.05N HCl + 0.025N H ₂ SO ₄	5	20	5	1.7
Bray-1	ácido	0.03N NH ₄ F + 0.025N HCl	3	20	1	2.5-2.6
Bray-2	ácido	0.03N NH ₄ F + 0.1N HCl	3	20	1	1.5-1.6
Troug		0.002N H ₂ SO ₄ (amortiguada con sulfato de amonio)	1	200	30	3
Olsen	alcalino	0.5N NaHCO ₃ (ajustado a pH 8.5 con NaOH)	2.5	50	30	8.5
Morgan		0.5N ácido acético en acetato de sodio	5	25	15	4.8

Para la selección del procedimiento para extraer fósforo deben ser considerado los criterios siguientes:

- 1) El extractante debe extraer todo o una parte mayoritaria del fósforo disponible en suelos con diferentes características.
- 2) La cantidad extractada debe correlacionar con el crecimiento y respuesta de una amplia gama de cultivos bajo diferentes condiciones.
- 3) La interpretación de los resultados de las pruebas con suelos debe permitir la clasificación de los suelos hacia grupos como deficiente y suficiente, o bajo, medio y alto en fósforo disponible en base a las calibraciones realizadas en campo del método con diferentes plantas desarrolladas hasta la etapa de madurez.
- 4) El procedimiento de extracción y medición del fósforo debe ser rápido y con una exactitud razonable.

En este manual se describen tres procedimientos ampliamente utilizados para la determinación de disponibilidad de fósforo; i) el método Olsen, ii) el método Bray-1 y iii) el método Troug. Sin embargo, el procedimiento adoptado en el laboratorio del CIBNOR-Unidad Guerrero Negro de manera rutinaria es el propuesto por Olsen y colaboradores (1954), ya que es el mas recomendable para suelos alcalinos como los prevalecientes en el noroeste de México y sobre la base de los resultados obtenidos en un experimento de comparación de soluciones extractoras realizado con suelos de Guerrero Negro (Tabla 9.2). Los otros dos se utilizan en casos de investigaciones cuyos objetivos son la disminución de los elevados pH's de los suelos de la región y su efecto sobre la disponibilidad de nutrientes.

Tabla 9.2. Extracción de P de suelos de Guerrero Negro por diferentes métodos y su correlación con la absorción de P por plantas de repollo cultivadas bajo condiciones de invernadero (Ref. López y colaboradores, 1994).

Método	Relación suelo: solución (p/v)	Tiempo de agitación (minutos)	Coef. de correlación
Olsen	1:20	30	0.91
Bray-1	1:7	1	0.85
Troug	1:200	60	0.86

METODO OLSEN

Este método es recomendado para suelos calcáreos, alcalinos y neutrales. La característica principal de este método consiste en que promueve la hidrólisis de los fosfatos de aluminio y hierro, y activa la liberación del fósforo enlazado en los fosfatos de calcio predominantes en suelos calcáreos al precipitar el Ca^{2+} como CaCO_3 (Olsen y colaboradores, 1954).

Reactivos

- A) Hidróxido de Sodio, NaOH 1 M
Pesar 4 g de NaOH y depositarlos en un vaso de precipitado de 100 mL. Añadir agua destilada y disolver. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 100 mL y hacer a su volumen con agua destilada.
- B) Solución Extractante Bicarbonato de Sodio, NaHCO_3 pH 8.5
Pesar 84 g de NaHCO_3 y depositarlos en un vaso de precipitado de 2 L con alrededor de 1.8 L de agua destilada. Ajustar el pH a 8.5 mediante la adición de NaOH 1M. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 2 L y haga a su volumen con agua destilada.
- C) Acido Clorhídrico, HCl 10 N
Vertir 833 mL de c- HCl (12 N) en un matraz volumétrico de 1 L. Enseguida adicionar lentamente agua destilada hasta aforar a 1 L.
- D) Solución Molibdato de Amonio-ácido Clorhídrico
Calentar en un mechero un vaso de precipitado con aproximadamente 300 mL de agua hasta alcanzar 60°C . Enseguida vertir 15 g de molibdato de amonio y disolver. Enfriar y transferir esta solución hacia un matraz volumétrico de 1 L. Añadir 350 mL de HCl 10 N. Permitir que se enfríe y entonces aforar a la marca con agua destilada.
Se puede usar esta solución hasta por dos meses si se almacena en frasco oscuro.
- E) Solución concentrada de Cloruro de Estaño, SnCl_2
Pesar 10 g de cloruro de estaño (SnCl_2) y depositarlos en un vaso de precipitado de 50 mL. Agregar 25 mL de c- HCl (12 N) y disolver. Almacenar en frasco oscuro en refrigerador, pero no por mas de 2 meses.
- F) Solución diluida de Cloruro de Estaño, SnCl_2
Vertir 1 mL de la solución concentrada de SnCl_2 en un vaso de precipitado de 500 mL. Enseguida añadir 333 mL de agua destilada. Mezclar bien. Esta solución debe prepararse de nuevo cada 6-8 horas.

G) Estándares de fósforo (P)

Estandar de 1000 ppm

Pesar 2.1972 g de fosfato de hidrogeno de potasio (KH_2PO_4) y depositarlos en un vaso de precipitado de 500 mL. Agregar alrededor de 300 mL de agua destilada y disolver. Posteriormente transferir la solución a un matraz volumétrico de 500 mL y finalmente aforar a la marca con agua destilada.

Estandar de 10 ppm

De la solución estándar de 1000 ppm, tomar 1 mL y vertirlos en un matraz volumétrico de 100 mL. Enseguida aforar con agua destilada hasta la marca de 100 ml

Línea de Medición

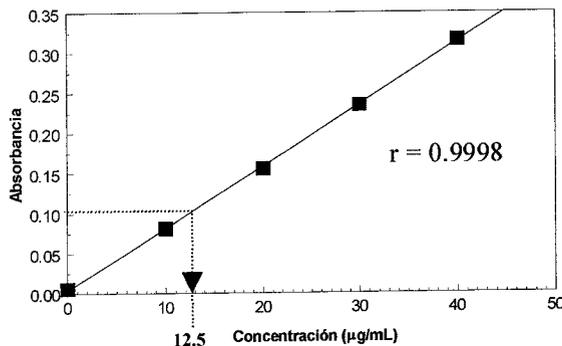
De la solución estándar 10 ppm de P, tomar 0, 1, 2, 3 y 4 mL y vertirlos en matraces volumétricos de 50 mL. Posteriormente proseguir de la misma manera como se describe para la muestra. Los puntos de esta línea de medición contienen; 0, 10, 20, 30 y 40 μg de P.

Procedimiento

- 1) Pesar 2.5 g de suelo y depositarlos en un bote de polietileno de 100 mL
- 2) Añadir 50 mL de la solución extractante
- 3) Agitar por 30 minutos
- 4) Filtrar la solución a través de papel filtro # 6
- 5) Dependiendo de la concentración estimada de fosfatos en la muestra, tomar una alícuota de 5-10 mL de la solución filtrada y verterla a matraces volumétricos de 50 mL
- 6) Agregar suavemente 10 mL de la solución molibdato de amonio-ácido clorhídrico. Esperar a que el burbujeo finalice.
- 7) Adicionar agua destilada hasta alrededor de 40 mL
- 8) Añadir 5 mL de la solución diluida de SnCl_2
- 9) Aforar a la marca de 50 mL con agua destilada y agitar
- 10) Dejar reposar 15 min y medir la absorbancia a 660 nm en espectrofotómetro

Ejemplo de calculo:

Para estimar la concentración de P de una muestra, primeramente se establece un juego de estándares de determinada concentración como; 0, 10, 20, 30 y 40 ppm o lo que es lo mismo, 0, 10, 20, 30 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (línea de medición descrita anteriormente). Al medir la absorbancia de estos estándares en el espectrofotómetro y graficando absorbancia contra concentración se obtiene la línea de medición siguiente:



Relación entre la concentración de fosforo (P) y la absorbancia

STD (µg/mL)	ABS
0	0.006
10	0.081
20	0.156
30	0.235
40	0.316

Al medir la absorbancia de una muestra en el espectrofotómetro se obtiene el valor de 0.101. Por lo tanto, al emplear el método gráfico en la figura anterior se determina que la concentración de la muestra es 12.5 µg/ml.

Es común realizar diluciones de los extractos de la muestra con el propósito de que el valor de su absorbancia quede dentro del rango de la línea de medición. En este ejemplo, la muestra fue diluida 5 veces, por lo cual la concentración real de fósforo en la muestra es $12.5 \times 5 = 62.5 \mu\text{g P}/50 \text{ mL}$, o su equivalente, $62.5 \mu\text{g P}/2.5 \text{ g}$ de muestra. El valor 2.5 se refiere a la cantidad de muestra que se pesó para el análisis.

Generalmente la concentración de P en los suelos se expresa como mg P/100 g de suelo, o en ppm ($\mu\text{g P/g}$ de suelo = mg P/kg de suelo).

Para transformar el valor de $62.5 \mu\text{g P}/2.5 \text{ g}$ de suelo del ejemplo a mg P/100 g de suelo u otra unidad como ppm se realiza la operación siguiente:

$$\mu\text{g P/g de suelo (ppm)} = \frac{62.5}{2.5} = 25 \mu\text{g P/g de suelo (ppm)}$$

o para la transformación a mg P/100 g de suelo:

$62.5 \mu\text{g P}/2.5 \text{ g de suelo} = 0.0625 \text{ mg P}/2.5 \text{ g de suelo}$, por lo tanto:

$$\text{mg P}/100 \text{ g de suelo} = \frac{0.0625 \times 100}{2.5} = 2.5 \text{ mg P}/100 \text{ g de suelo}$$

Calculo por método matemático

Generalmente el numero de muestras analizadas es elevado y por lo consecuente el método grafico resulta impráctico. En este caso, es conveniente utilizar un método matemático como el de regresión. Para esto es indispensable determinar la ecuación de regresión de la línea de medición.

$$y = a + b (x)$$

Los valores que surgen de la línea de medición del ejemplo son los siguientes:

y = concentración desconocida

a = -0.51022

b = 129.1575

x = absorbancia de la muestra = 0.101 en el ejemplo

por lo tanto, sustituyendo por valores las literales de la ecuación se obtiene lo siguiente:

$$y = (-0.51022) + 129.1575 (0.101) = \mathbf{12.53 \mu\text{g/mL}}$$

A partir del valor obtenido se prosigue con los cálculos anteriormente explicados.

Es recomendable la utilización de alguna hoja de calculo como Lotus o Excel para facilitar el calculo de la concentración de un número elevado de muestras.

METODO BRAY-1

Es un método que generalmente se utiliza para suelos ácidos y no es recomendable su aplicación en suelos calcáreos debido a la neutralización que sufre el ácido empleado por el carbonato de calcio (CaCO_3) y la formación de CaF_2 que reaccionan con el P disuelto para formar precipitados secundarios.

Reactivos

A) Floruro de Amonio, NH_4F , 1 M

Pesar 37 g de NH_4F y depositarlos en un vaso de precipitado de 500 mL. Añadir agua destilada y disolver. Transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a su volumen.

B) Acido Clorhídrico, HCl , 0.5 M

Vertir 41.6 mL de c-HCl (12 M) a un vaso de precipitado de 500 mL conteniendo aproximadamente 400 mL de agua destilada. Enseguida transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 L y aforar a su volumen

- C) Solución Extractante
Vertir 30 mL de NH_4F , 1 M y 50 mL de HCl , 0.5 M a un matraz volumétrico de 1 L. Posteriormente hacer a su volumen con agua destilada. Esta solución que contiene NH_4F , 0.03 M y HCl , 0.025 M puede ser almacenada por largo tiempo (1 año o mas) si se guarda en un frasco color oscuro.
- D) Acido Clorhídrico, HCl 10 N
(Ver preparación en el método Olsen)
- E) Solución Molibdato de Amonio-Acido Clorhídrico
(Ver preparación en el método Olsen)
- F) Solución concentrada de Cloruro de Estaño, SnCl_2
(Ver preparación en el método Olsen)
- G) Solución diluida de Cloruro de Estaño, SnCl_2
(Ver preparación en el método Olsen)
- H) Estándares de fósforo (P)
Estándar de 1000 ppm
Pesar 2.1972 g de fosfato de hidrogeno de potasio (KH_2PO_4) y depositarlos en un vaso de precipitado de 500 mL. Agregar alrededor de 300 mL de agua destilada y disolver. Posteriormente transferir la solución a un matraz volumétrico de 500 mL y finalmente aforar a la marca con agua destilada.
- Estándar de 10 ppm*
De la solución estándar de 1000 ppm, tomar 1 mL y verterlos en un matraz volumétrico de 100 mL. Enseguida aforar con agua destilada hasta la marca de 100 ml

Procedimiento

- 1) Pesar 1 g de suelo y depositarlo en un tubo de ensaye de 10 mL
- 2) Adicionar 7 mL de la solución extractante
- 3) Agitar por 1 minuto
- 4) Filtrar la solución a través de papel filtro # 6
- 5) Tomar 1 mL de la solución filtrada y depositarla en un tubo de ensaye
- 6) Adicionar 6 mL de agua destilada
- 7) Añadir 2 mL de la solución molibdato de amonio-ácido clorhídrico
- 8) Adicionar 1 mL de la solución diluida de SnCl_2
- 9) Dejar reposar 5 minutos
- 10) Medir la absorbancia a 675 nm

METODO DE TROUG

Es un procedimiento que basa su medición de fósforo en el desarrollo de color azul que se forma en el complejo al reaccionar los molibdatos con los ortofosfatos en solución bajo condiciones de acidéz. La intensidad de la coloración es proporcional a la cantidad de fosfatos presentes en solución en la muestra. Con este método se traen a solución algo de fosfatos de aluminio y fierro, y grandes cantidades de los fosfatos de calcio. Al contrario del método Bray-1, este método permite mayores cantidades de N-NO_3 y Fe en la solución sin que causen interferencias serias.

Reactivos

- A) Acido Sulfúrico, H_2SO_4 0.1 N
Vertir 1.40 mL de c- H_2SO_4 (35.5 N) en un matraz volumétrico de 500 mL conteniendo alrededor de 300 mL de agua destilada. Enseguida hacer a su volumen con agua destilada.
- B) Solución Extractante de Troug
En un vaso de precipitado de 1 L vertir 20 mL de H_2SO_4 0.1 N. Enseguida adicionar 3 g de sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y añadir agua destilada hasta alrededor de 600-700 mL. Ajustar el pH de la solución a 3.0. Posteriormente transferir la solución hacia un matraz volumétrico de 1 L y hacer a su volumen con agua destilada.
- C) Acido Clorhídrico, HCl 10 N
Ver preparación en el método Olsen
- D) Solución Molibdato de Amonio-Acido Clorhídrico
Ver preparación en el método Olsen
- E) Solución concentrada de Cloruro de Estaño, SnCl_2
Ver preparación en el método Olsen
- F) Solución diluida de Cloruro de Estaño, SnCl_2
Ver preparación en el método Olsen
- G) Estándares de fósforo (P)
Estándar de 1000 ppm
Ver preparación en el método Bray-1

Estándar de 20 ppm
De la solución estándar de 1000 ppm, tomar 2 mL y vertirlos en un matraz volumétrico de 100 mL. Enseguida aforar con agua destilada hasta la marca de 100 mL.

Procedimiento

- 1) Pesar 0.5 g de suelo y depositarlos en un bote de polietileno de 100 mL
- 2) Adicionar 100 mL de la solución extractante de Troug
- 3) Agitar mecánicamente durante 1 hora
- 4) Permitir que la solución se asiente y pipetear una alícuota de 2-10 mL (depende de la concentración de fosfatos estimados en la muestra) hacia matraces volumétricos de 50 mL
- 5) Añadir agua destilada hasta aproximadamente 35 mL
- 6) Adicionar 10 mL de la solución molibdato de amonio-ácido clorhídrico
- 7) Adicionar 5 mL de la solución diluida de SnCl_2
- 8) Aforar a la marca del matraz con agua destilada
- 9) Medir su absorbancia a 660 nm en espectrofotómetro

10. ANIONES SOLUBLES EN AGUA

Método Cromatografía de Líquidos

Principios Básicos de Cromatografía de Líquidos

La ampliación del conocimiento disponible de los sistemas de cromatografía líquida ha puesto a disposición este útil método analítico para muchos tipos de aplicaciones. Aunque la cromatografía de gases tiene gran utilidad en química orgánica, sus aplicaciones en otros campos son limitadas porque muchos compuestos no-volátiles, de alta polaridad y compuestos complejos son difíciles de separar por esta técnica. Con la cromatografía de líquidos se pueden superar muchas de estas dificultades y es un método con excelente resolución, alta velocidad y sensibilidad para la separación de compuestos como los mencionados anteriormente. Esta técnica puede ser útil no solamente en química agrícola, sino también en química inorgánica, orgánica y del medio ambiente.

Las operaciones de introducción de la muestra, la separación cromatográfica y la detección son realizadas de manera similar que en cromatografía de gases, con excepción de las modificaciones hechas con el fin de utilizar un líquido en lugar de un gas como fase móvil. El muestreo es secuencial, los compuestos separados son eluidos con la fase móvil, y la detección es un proceso que depende del tiempo. Las separaciones en cromatografía líquida son el resultado de interacciones específicas de las moléculas de la muestra con tanto la fase estacionaria (columna) y la solución de acarreo (fase móvil).

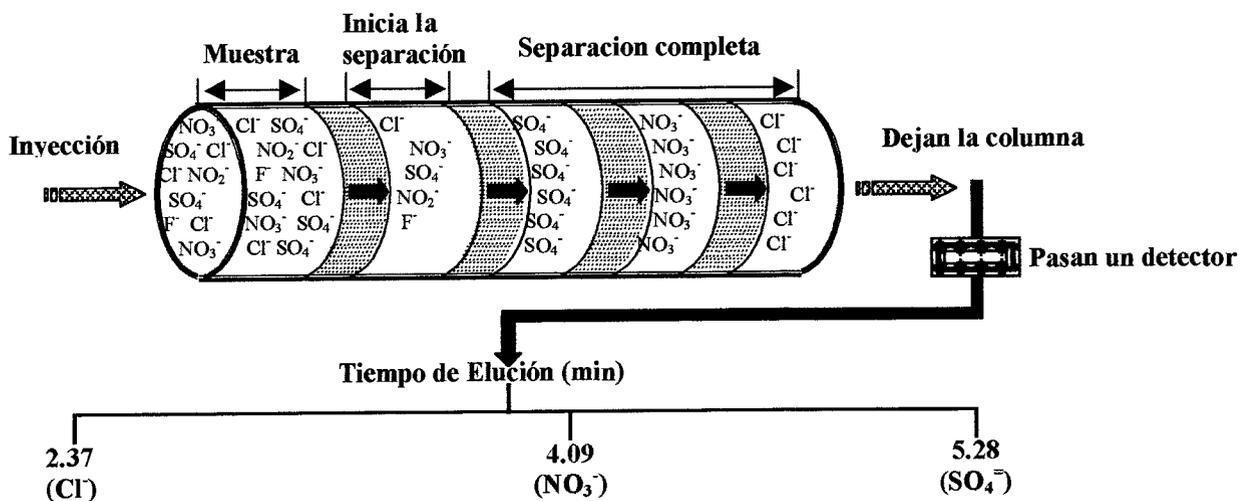


Fig. 10.1. Pasos básicos en la separación de aniones en una columna cromatográfica

Las columnas de separación son componentes esenciales en los sistemas de cromatografía y están disponibles en varias longitudes y diámetros. Para resistir las elevadas presiones que se requiere en el funcionamiento del sistema, las columnas son

fabricadas generalmente de tubos de acero inoxidable. Las columnas con un diámetro interno de 4 a 5 mm son comunes en HPLC (High Performance Liquid Chromatograph). Los diámetros de las sustancias químicas con que son llenadas oscilan de 2 a 5 μm , los cuales deben tener un tamaño uniforme y mecánicamente estable. La longitud de la columna varía de 10 a 30 cm. Cuando la velocidad analítica es de mucha importancia, una columna corta (3 a 6 cm) puede ser una columna útil.

En la Figura 10.1 se mostró esquemáticamente los pasos básicos (inyección-separación-detección) para ejemplificar la separación de algunos aniones por cromatografía.

Separación de Aniones

La medición cuantitativa de aniones inorgánicos en extractos de suelo es comúnmente efectuada por métodos analíticos separados. La mayoría de estos métodos son laboriosos, ocupan demasiado tiempo y se requiere de habilidad analítica.

Por otro lado, la falta de sensibilidad, y las interferencias causadas por ciertos constituyentes del suelo ocasionan que algunos procedimientos para analizar aniones sean poco aplicables. Además, en muchos casos, grandes volúmenes de muestra son necesarios para efectuar los análisis. En el laboratorio del CIBNOR-Guerrero Negro, el método analítico utilizado para la determinación de aniones inorgánicos solubles en agua es cromatografía de líquidos. Las determinaciones se realizan en el extracto suelo: agua en proporción 1:5 o en el extracto de saturación descritos en el capítulo 4. Es un método rápido, sensible y preciso mediante el cual se pueden detectar simultáneamente F⁻, Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻ y SO₄²⁻ en menos de 12 minutos. En la Figura 10.2 se presenta un cromatograma de una solución estándar utilizada para la medición de aniones.

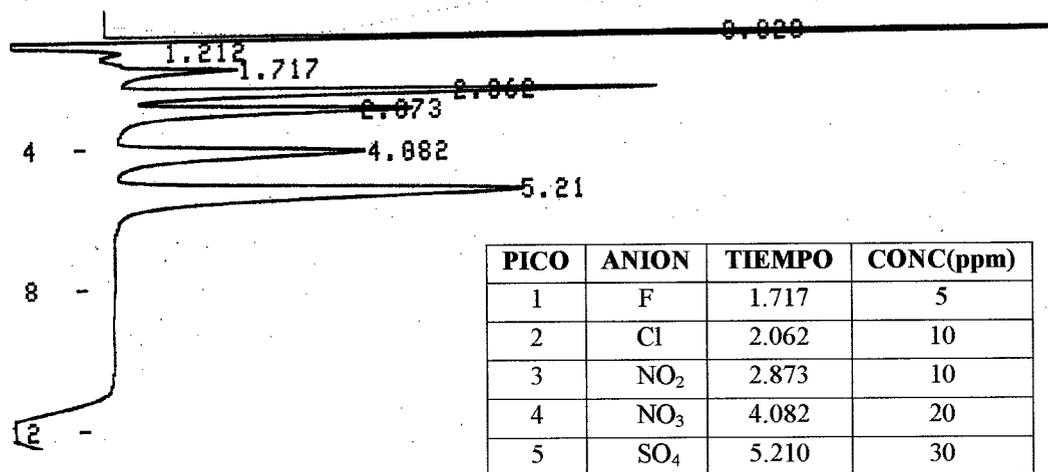


Fig. 10.2. Cromatograma de aniones inorgánicos obtenido por cromatografía de iones con 25 mM ácido etilico y 2.4 mM Tris para una solución estándar conteniendo 5 ppm de F, 10 ppm de Cl, 10 ppm de NO₂, 20 ppm de NO₃ y 30 ppm de SO₄.

Para la determinación se utilizó un equipo SHIMADZU HIC-6A y la separación fue efectuada sobre una columna analítica SHIM-PACK IC-A1. Su estructura es de acero inoxidable con un diámetro interno de 4.6 mm X 10 cm y el material de reacción que contiene es una resina de intercambio aniónico con partículas de 10 µm de diámetro y los grupos funcionales incorporados son compuestos cuaternarios de amonio.

La solución transportadora (fase móvil) empleada en la separación consiste de 2.5 mM ácido eftalico y 2.4 mM Tris ajustada a un pH de 4.0.

Procedimiento

- 1) Utilizar extracto 1:5 o pasta de saturación como se describió en el Capitulo 4 para medición de salinidad.
- 2) Dejar reposar la suspensión para permitir la sedimentación de partículas.
- 3) Centrifugar a 10,000 r.p.m. por 10 minutos y decantar la sobrenadante a tubos de ensayo de vidrio de 25 mL.
- 4) Antes de hacer diluciones es recomendable medir la conductividad electrica de algunos extractos para conocer su concentración de iones y en base a esto realizar las diluciones convenientes.
- 5) Filtrar las soluciones originales o diluidas a traves de discos de cromatografía de filtrado hacia recipientes para muestra.
- 6) Colocar los recipientes para muestra en su estante y depositarlos en la camara de autoinyección.
- 7) Previa estabilización de la fase movil y la columna de detección (2-4 horas) y considerando los parametros establecidos para el equipo iniciar la medición de una solución estandar de referencia.
- 8) Posteriormente, iniciar la medición de las muestras.

En la Figura 10.3 se presenta un cromatograma de separación de aniones inorgánicos en una muestra de suelo y sus condiciones analíticas.

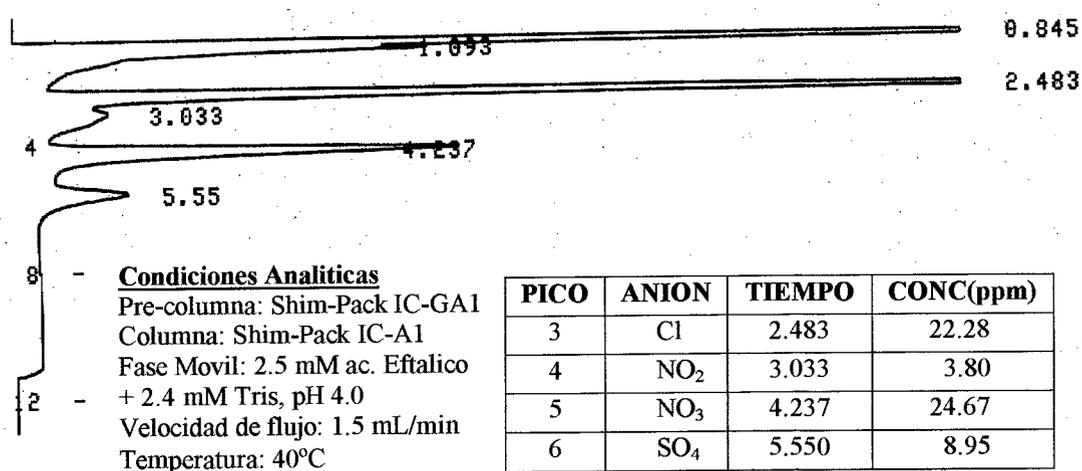


Fig. 10.3. Cromatograma de aniones inorgánicos obtenidos por cromatografía de iones en una muestra de suelos en un extracto acuoso proporción 1:5. Las condiciones analíticas son presentadas en la parte de arriba.

Ejemplo de cálculo:

Tomando como ejemplo el cromatograma presentado en la Figura 10.3 tenemos que:

$$\begin{aligned}\text{Cl} &= 22.28 \text{ ppm} = 22.28 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ \text{NO}_2 &= 3.80 \text{ ppm} = 3.80 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ \text{NO}_3 &= 24.67 \text{ ppm} = 24.67 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ \text{SO}_4 &= 8.95 \text{ ppm} = 8.95 \text{ } \mu\text{g/ml}\end{aligned}$$

Estos valores se transforman de acuerdo al volumen usado en la extracción, si el volumen extractado fue diluido y el peso de la muestra. Las unidades en que se expresa el resultado es generalmente mg/100 g de suelo.

En el caso del Cl tenemos;

$$\begin{aligned}\text{Cl} &= 22.28 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ \text{Volumen extractado} &= 50 \text{ ml (10 g suelo: 50 ml de agua)} \\ \text{Dilución} &= 5 \text{ veces} \\ \text{Muestra} &= 10\text{g}\end{aligned}$$

Así que;

$$\begin{aligned}\text{Cl} &= 22.28 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 50 \text{ ml} \times 5 = 5570 \text{ } \mu\text{g}/50 \text{ ml} \\ \text{Cl} &= 5.570 \text{ mg}/50 \text{ ml} = 5.570 \text{ mg}/10\text{g} = \mathbf{55.7 \text{ mg}/100\text{g}}\end{aligned}$$

Para el NO₃ tenemos;

$$\begin{aligned}\text{NO}_3 &= 24.67 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 50 \text{ ml} \times 5 = 6167 \text{ } \mu\text{g}/50 \text{ ml} \\ \text{NO}_3 &= 6.167 \text{ mg}/50 \text{ ml} = 6.167 \text{ mg}/10\text{g} = \mathbf{61.67 \text{ mg}/100\text{g}}\end{aligned}$$

Para conocer la concentración de nitrógeno en forma de nitratos (N-NO₃) se deben utilizar los pesos atomicos de los elementos del compuesto;

$$\begin{aligned}\text{N} &= 14 \times 1 = 14 \\ \text{O} &= 16 \times 3 = 48 \\ \mathbf{NO_3} &= \mathbf{62}\end{aligned}$$

Entonces, el porciento de N en NO₃ es igual a 22.58%

Por tanto;

$$61.67 \text{ mg NO}_3/100\text{g} \times 0.2258 = \mathbf{13.92 \text{ mg N-NO}_3/100\text{g}}$$

11. CATIONES SOLUBLES EN AGUA

Tres técnicas pueden ser usadas para observar el vapor atómico que es producido cuando una solución muestra es nebulizada y pasada por una flama. Estas son, espectroscopía de absorción atómica, espectroscopía de emisión de flama y espectroscopía de fluorescencia atómica. Probablemente de las tres técnicas, la mas ampliamente utilizada es la espectroscopía de absorción atómica. La espectroscopía de absorción atómica puede ser aplicada a materiales clínicos, suelos, vegetales y muestras de sustancias orgánicas e inorgánicas. Las soluciones de suelo y extractos de suelo son analizadas de manera rutinaria para la determinación de nutrientes, metales pesados y elementos que contribuyen a la salinidad de los suelos por medio de espectroscopía de absorción atómica.

El contenido de cationes intercambiables y cationes solubles en agua son parámetros importantes en el manejo de fertilizantes y mejoradores de suelo, así como también para el manejo adecuado de suelos salinos y sodicos. Por ejemplo, el potasio fijado y el encontrado en el interior de los minerales de la arcilla representan la mayor proporción del potasio total y no se encuentra directamente disponible para los vegetales, por lo cual la determinación del potasio intercambiable y el soluble en agua nos da una estimación de la cantidad que se encuentra a disposición de las plantas.

Los cationes encontrados en la solución del suelo (solubles en agua) es la forma de lo que es directamente tomado por las plantas, pero también es la forma que esta mayormente expuesta al lavado a través del perfil del suelo. Por consiguiente, el monitoreo continuo de esta forma de los cationes en el suelo es indispensable para asesorar la aplicación de fertilizantes que ayuden al mejor desarrollo de las plantas, así como también la aplicación de mejoradores y técnicas de lavados que prevengan la acumulación de sales a limites que ocasionen daños fisiológicos en los vegetales.

Para la medición de cationes mediante espectroscopia de absorción atómica son necesarias diferentes lámparas para cada elemento. En la actualidad existen solo unas pocas lámparas multielementos y que permiten medir diversos elementos con una misma lámpara.

El equipo de absorción atómica utilizado en el laboratorio del CIBNOR-Guerrero Negro es marca SHIMADZU-AA660, el cual utiliza tanto el modo espectroscopía de absorción atómica como espectroscopía de emisión de llama.

Los principios fundamentales para la medición de cationes por absorción atómica consiste en hacer pasar un haz de luz de una longitud de onda especifica que puede ser absorbida por el cation de interés expuesto en forma de vapor atómico y midiendo la disminución de la intensidad de la luz como un resultado de la absorción. El vapor atómico es producido por la aplicación de energía térmica por medio de una flama que resulta de una mezcla aire-acetileno.

En el proceso de absorción atómica, un átomo en "ground state" absorbe energía en la forma de radiación electro-magnética en una longitud de onda especifica y es elevado a un estado de excitación como es mostrado de manera simplificada en la Figura 11.1.

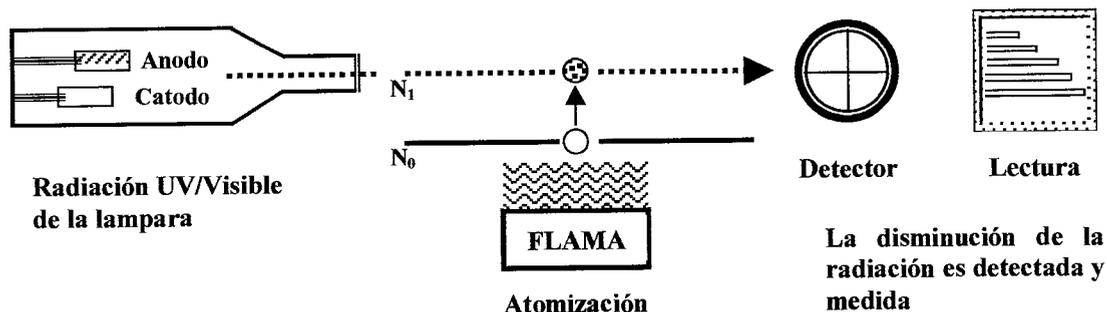


Fig. 11.1. Representación esquemática del proceso de absorción atómica.

El espectro de absorción atómica de un elemento consiste de una serie de líneas de resonancia. Generalmente, la transición entre el “ground state” y el primer estado de excitación es la línea con el poder de absorción mas fuerte, y esta es la línea comúnmente utilizada (Shugar y Dean, 1990). La cantidad de energía absorbida a partir de un haz de radiación en la longitud de onda de una línea de resonancia se incrementa con el numero de átomos del cation seleccionado en el incremento de la trayectoria de la luz. La relación entre la cantidad de luz absorbida y la concentración del cation que esta siendo analizado presente en la estándar puede ser determinado. Las concentraciones desconocidas en las muestras son determinadas comparando la cantidad de radiación que ellos absorben y la radiación absorbida por los estándares.

DETERMINACION DE CATIONES SOLUBLES EN AGUA

Para la determinación de cationes solubles en agua la muestra de suelo es preparada de acuerdo al extracto 1:5 o extracto de saturación descrito en el Capitulo 4 para medición de salinidad. En ambos procedimientos, después de la obtención de un filtrado o centrifugado claro se continua con la medición de cationes de la manera siguiente:

Procedimiento

- 1) Obtención de un filtrado o centrifugado claro, ya sea por extracto 1:5 o extracto de saturación.
- 2) Establecer una línea de medición para cada uno de los elementos que se quiere determinar (Ca, Mg, K, Na, Fe, Zn,) y de acuerdo a la capacidad analítica del equipo.

- 3) En el caso del equipo de absorción atómica SHIMADZU AA-660 utilizado en el CIBNOR-Unidad Guerrero Negro las líneas de medición empleadas comunmente para algunos elementos son:

Ca: 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ppm

Mg: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ppm

K: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ppm

Na: 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 ppm

Fe: 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ppm

Zn: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ppm

- 4) Posteriormente realizar diluciones convenientes de las muestras
- 5) Enseguida establecer los parametros de medición correctos para cada elemento de acuerdo al manual de operación del equipo.
- 6) Medir la absorbancia de las estandares para establecer la línea de medición
- 7) Después medir la absorbancia de las muestras
- 8) Calcular las concentraciones considerando el peso de la muestra y dilución

Ejemplo de Cálculo

Suponiendo que:

Método: Extracto 1:5 (10 g suelo: 50 ml de agua)

Concentración de $\text{Ca}^{2+} = ?$

Volumen de extracción = 50 ml

Peso de la muestra de suelo = 9.94 g

Lectura en Espectrofotómetro de Absorción Atómica = 2.56 ppm = 2.56 $\mu\text{g/ml}$

Dilución = 5 veces

1 miliequivalente de $\text{Ca}^{2+} = 20.04 \text{ mg}$

Entonces se tiene;

$$2.56 \mu\text{g Ca}^{2+}/\text{ml} \times 5 \times 50 = 640 \mu\text{g Ca}^{2+}/\text{ml} = 0.640 \text{ mg Ca}^{2+}/50 \text{ ml}$$

$$0.640 \text{ mg Ca}^{2+}/50 \text{ ml} = 0.640 \text{ mg Ca}^{2+}/10 \text{ g de suelo} = 6.40 \text{ mg Ca}^{2+}/100 \text{ g de suelo}$$

$$\mathbf{6.40 \text{ mg Ca}^{2+}/100 \text{ g de suelo} = 0.32 \text{ meq Ca}^{2+}/100 \text{ g de suelo}$$

12. CATIONES INTERCAMBIABLES

Anteriormente en el apartado de “Capacidad de Intercambio Cationico”, se han señalado de manera breve los fenómenos que intervienen en el intercambio de cationes en los suelos.

La determinación de cationes intercambiables es ampliamente usado en la caracterización de suelos. Los cationes intercambiables pueden ser iones H^+ o *cationes metálicos*, de los cuales los mas importantes son: Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ y Na^+ . Otros iones con cargas positivas como, NH_4^+ , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} y Fe^{2+} también pueden estar retenidos en el complejo de intercambio. El Al^{3+} es un ion abundante en suelos ácidos.

En suelos de regiones secas, donde la evaporación excede a la precipitación, la aridez generalmente siempre es acompañada de problemas de salinidad, por lo cual, la determinación del sodio intercambiable es un parámetro importante para el manejo adecuado de suelos salinos y sodicos.

La conductividad eléctrica de un extracto de saturación es generalmente usado como un índice de salinización, mientras que la proporción de Na^+ intercambiable es utilizada para estimar los riesgos de sodificación (Rhoades, 1996).

La estimación de Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ intercambiable son importantes desde el punto de vista nutricional para los cultivos. Además, la influencia que tienen estos iones en la mitigación del daño ocasionado por el Na^+ en los cultivos ha sido ampliamente reportada (La Haye y Epstein, 1971; Song y Fujiyama, 1996; Grattan and Grieve, 1999).

El K^+ existe en el suelo en cuatro formas: 1) en solución, 2) intercambiable, 3) fijado, y 4) forma mineral. El contenido total de K^+ de los suelos varia de 3000 a 100000 $Kg. ha^{-1}$ en la capa superior de 20 cm del perfil del suelo. De este contenido total, el 98% se encuentra en la forma mineral, mientras que solo aproximadamente el 2% esta en la solución del suelo y en la forma intercambiable (Schroeder, 1979; Bertsch y Thomas, 1985; Sparks, 1987).

El Ca^{2+} y Mg^{2+} son elementos abundantes en los suelos, particularmente en suelos de zonas áridas y semiáridas. Debido a que son considerados como elementos esenciales para el desarrollo de las plantas, son iones que son comúnmente analizados en los laboratorios. En suelos de las zonas áridas y semiáridas, el Ca^{2+} y Mg^{2+} son casi siempre los componentes principales de los iones intercambiables.

Se ha reportado que la mayoría de los métodos propuestos para determinar la capacidad de intercambio cationico en suelos calcáreos son inconvenientes para determinar las bases intercambiables. Existen evidencias de que las soluciones saturantes disuelven una cierta cantidad de sales de Ca^{2+} y Mg^{2+} , las cuales ya en el volumen final extraído, son indistinguibles de las provenientes del complejo de intercambio (Aguilar Noh, 1987).

Bower y colaboradores (1952) propusieron para determinar el Na^+ intercambiable en muestras salinas como solución desplazadora al acetato de amonio (NH_4OAc) 1 N. Sin embargo, debido a que el Na^+ desplazado incluye tanto a la fracción intercambiable mas la soluble, en los cálculos es necesario restar el Na^+ soluble al intercambiable para realmente evaluar la fracción intercambiable. Un fenómeno similar ocurre para Ca^{2+} y Mg^{2+} en suelos de zonas áridas (Suárez, 1996).

En el laboratorio del CIBNOR-Unidad Guerrero Negro, los métodos utilizados para la determinación de cationes intercambiables utilizan acetato de amonio 1 N con pH de 8.2 como solución desplazadora. La etapa de desplazamiento es efectuada de dos formas: 1) por percolación y 2) agitación-centrifugación. El primero fue descrito en el procedimiento para determinar Capacidad de Intercambio Cationico (capítulo 7), por lo cual en este apartado únicamente se describe el procedimiento por agitación-centrifugación propuesto por Thomas (1982) con la diferencia de que el pH de la solución desplazadora se ajusta a 8.2 con el propósito de prevenir la solubilización de los carbonatos de calcio y magnesio presentes en cantidades significativas en suelos áridos y semiáridos.

CATIONES INTERCAMBIABLES POR CENTRIFUGACION

Método

Acetato de Amonio (NH_4OAc) 1 N, pH 8.2

Reactivos

- A) Acetato de Amonio (NH_4Oac) 1 N
Pesar 77.08 g de acetato de amonio y depositarlos en un vaso de precipitado de 1 L. Adicione alrededor de 800 mL de agua destilada y disuélvalos. Mida el pH y ajústelo a 8.2 con una solución de amonio diluido. Transfiera la solución a un matraz volumétrico de 1 L afora a la marca.

Procedimiento

- 1) Pesar 5 g de suelo y depositarlos en un tubo de centrifugación de 50 mL
- 2) Agregar 25 mL de NH_4Oac 1N.
- 3) Tapar herméticamente y agitar mecánicamente durante 30 minutos
- 4) Centrifugar a 5000 rpm durante 5 minutos
- 5) Vertir la sobrenadante a un matraz volumétrico de 50 mL
- 6) Repetir los pasos del 2 – 5
- 7) Aforar a la marca del matraz con la solución de acetato de amonio
- 8) Determinar las concentraciones de Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ y Na^+ por absorción atómica como se describió para el caso de cationes solubles en agua.

Ejemplo de Cálculo

El ejemplo de cálculo es similar al descrito para cationes solubles en agua.

13. MICRONUTRIENTES

Recientemente la liberación de cultivares mejorados de altos rendimientos ha ocasionado que la fertilización con elementos menores constituya una práctica agronómica de gran importancia. Además, en ocasiones la deficiencia de un micronutriente puede ser provocada por el exceso de otro, que realiza sobre la planta una acción de bloqueo.

Mediante el análisis de suelo es posible determinar las cantidades de micronutrientes consideradas como asimilables para las plantas, de manera tal que los suelos puedan clasificarse como suficientes o deficientes. Sin embargo, el análisis de suelo se puede considerar un método menos satisfactorio para determinar el contenido de micronutrientes de los cultivos que el análisis de las plantas, particularmente de las hojas. Por esta razón, un número elevado de investigadores se han dedicado a generar procedimientos para cuantificar el contenido de micronutrientes en los suelos y su correlación con el contenido en los cultivos y su influencia en el rendimiento. Sin embargo, existen muchos tipos de suelos y la amplia cantidad de cultivos explotados con diferentes características en requerimientos nutricionales, capacidad de absorción y movilidad del micronutriente dentro del cuerpo de la planta ha provocado que desde varias décadas anteriores se este intentando uniformizar criterios respecto a los procedimientos analíticos más adecuados y muy particularmente sobre la composición química de la solución extractora.

Muchos de los suelos de las regiones áridas y semiáridas tienen un pH de 8.0 o más, y son sumamente calcáreos o alcalinos, condiciones que reducen la disponibilidad de la mayoría de los micronutrientes, en especial Fe, Mn y Zn. Además, una característica física típica de los suelos en las regiones áridas y semiáridas es su textura arenosa la cual puede provocar la ausencia de varios micronutrientes al ser lavados con facilidad.

La disponibilidad de micronutrientes para las plantas se determina por la cantidad extraída por la solución extractante y su correlación significativa con la cantidad absorbida por las plantas. Por lo tanto, una buena solución extractante debe extraer todo o parte de las tres principales fracciones: 1) soluble, 2) intercambiable y 3) adsorbida. La fracción soluble al agua es muy pequeña para Fe, Mn, Zn y Cu, y por ello es muy poco utilizada, pero para B y Cl la extracción se realiza habitualmente con agua llevada a ebullición.

Se han utilizado diversas soluciones extractantes para cuantificar la concentración de micronutrientes en el suelo, sin embargo, comúnmente se ha pretendido utilizar la misma solución extractante. Un método de análisis de suelo utilizando DTPA (ácido dietilenti-amino pentacético) ha sido propuesto para la extracción simultánea de Fe, Mn, Zn, y Cu e suelos neutros y calizos (Havlin y Soltanpour, 1981). Por otro lado, el avance en equipo analítico realizado durante los últimos años, en particular la introducción de técnicas avanzadas en absorción atómica han hecho posible determinar varios micronutrientes en soluciones muy diluidas.

13.1 FIERRO Y ZINC

La carencia de Fe y Zn se asocia en particular con suelos sumamente calcareos, arenosos y bajos en materia orgánica. El Fe es un activador de diferentes enzimas y su función principal es la formación de clorofila, mientras que el Zn interviene en diversos procesos enzimáticos y es esencial para la transformación de los aminoácidos a proteínas.

Las deficiencias de Zn son más pronunciadas en suelos alcalinos y calcareos debido a una baja solubilidad de los compuestos de Zn. Se ha demostrado claramente que la deficiencia de Zn depende fuertemente del pH del suelo y que el Zn en solución disminuye 100 veces por cada unidad de incremento en el pH (Lindsay, 1972; Lindsay y Schwab, 1982). En un suelo con elevado pH una cantidad muy pequeña de Zn soluble es encontrada y por lo tanto solamente una cantidad insignificante puede estar en la forma de Zn^{2+} intercambiable, el cual es considerado fácilmente disponible para las plantas.

Otro factor que induce deficiencia de Zn es un alto nivel de fosfatos disponibles en el suelo. Altos niveles de fosfatos disponibles impiden la absorción de Zn o su translocación dentro de la planta (Khan y Zende, 1977). El nivel crítico de hierro en las hojas para que exista deficiencia es en el rango de 50-150 mg kg^{-1} del peso seco. La deficiencia de hierro se presenta comúnmente en suelos calcareos (Marschner, 1986) como los encontrados en el Noroeste de México. Ha sido demostrado que la aplicación de estiércol a suelos calcareos con bajo contenido de materia orgánica puede ser un procedimiento efectivo para incrementar la solubilidad de hierro y su absorción por los cultivos (Mathers y colaboradores, 1980).

El hierro soluble en agua del suelo está generalmente en tan bajas concentraciones que este es detectable solamente en suelos de pH muy bajo (< 4.5), o con muy bajo potencial de reducción (ejem; suelos inundados). Ninguna de estas dos condiciones se presenta en los suelos áridos del Noroeste de México. Por tanto, el Fe soluble en agua o el Fe extractable a través de sales neutras en estos suelos, no son generalmente útiles como índices de disponibilidad de Fe para las plantas debido a las bajas o no detectables cantidades de Fe extractado.

El método más extendido es el del DTPA (reactivo de extracción compuesto de DTPA 0.005 M, $CaCl_2$ 0.01 M y trietanolamina 0.01 M como tampón a pH 7.3:10 g de suelo tratado con 20 mL de reactivos durante dos horas, filtración y medición de Fe, Mn, Zn, Cu en el filtrado por absorción atómica.

Sin embargo, la tendencia de los últimos años en los análisis de suelos para los microelementos es la de utilizar el mismo reactivo de extracción para varios elementos. Un método de análisis de suelo ha sido propuesto en esta línea para la extracción simultánea de P, K, nitratos y microelementos catiónicos (Fe, Mn, Zn, Cu) en suelos neutros y calizos (Soltanpour y Schwab, 1977). Este reactivo consiste en DTPA 0.005 M y NH_4HCO_3 ajustado a pH 7.6 (Havlin y Soltanpour, 1981)

DETERMINACION DE FIERRO Y ZINC EN SUELOS CALCAREOS

EXTRACCION CON DTPA-BICARBONATO DE AMONIO

Este método fue desarrollado originalmente por Soltanpour y Schwab (1977) como una modificación al método de extracción con DTPA. El objetivo fue extraer simultáneamente un mayor número de elementos como NO_3 , P, K, Zn, Fe, Mn y Cu de suelos neutrales y calcareos. También se utiliza para extraer algunos metales pesados como Pb, Cd, Ni, Se, As, de suelos regados con aguas residuales.

Reactivos

- A) Acido dietilenamino pentacetico (DTPA)
- B) Bicarbonato de Amonio (NH_4HCO_3)
- C) Hidroxido de Amonio (NH_4OH)

Preparación de la solución extractante

Depositar 1.97 g del reactivo (A) en un vaso de precipitado de 1 L. Adicionar aproximadamente 800 mL de agua destilada, y añadir 2 mL de 1:1 (v:v) del reactivo (C) para facilitar la disolución. Después de disuelto el reactivo (A), adicionar 79.1 g del reactivo (B) y agitar hasta disolver. Ajustar el pH a 7.6 usando NH_4OH o HCl. Transferir la solución a un matraz volumetrico de 1 L y finalmente aforar a la marca de su volumen de 1 L con agua destilada.

Debido a que el pH de la solución no es estable, la solución extractora debe ser preparada el mismo día de la prueba.

Procedimiento

- 1) Es preferible utilizar muestras secadas a temperatura de cuarto y no aquellas que han sido secadas a elevadas temperaturas usando hornos.
- 2) Depositar 10 g de muestra en un matraz erlenmeyer de 50 mL.
- 3) Adicionar 20 mL de la solución extractante DTPA-Bicarbonato de Amonio
- 4) Agitar mecánicamente a 105 oscilaciones por minuto durante 20 min. Los matraces deben ser mantenidos abiertos para permitir la liberación de CO_2 .
- 5) Centrifugar el extractante para remover las partículas suspendidas.
- 6) Filtrar el líquido sobrenadante a través de un filtro con poros de $0.45 \mu\text{m}$
- 7) Calibrar el espectrofotometro de absorción atómica con los parámetros establecidos para el elemento específico en el manual de operación.
- 8) Medir previamente algunas muestras para realizar las diluciones convenientes y posteriormente medir el extracto a una longitud de onda de 248.3.

Nota: Es conveniente que las muestras y estándares sean acidificadas para prevenir la precipitación de hierro, particularmente cuando las muestras no son analizadas el mismo día de la extracción.

Ejemplo de calculo:

El ejemplo de calculo para la concentración de Fe en el suelo es similar para Zn.

Suponiendo que:

Peso de la muestra = 10 g

Lectura en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica = 0.5 ppm = 0.5 µg/mL

Dilución del extracto = 10 veces

Volumen de extracción = 20 mL

Por tanto;

$$0.5 \text{ µg Fe/mL} \cdot 10 \text{ (D)} \cdot 20 \text{ (V)} = 100 \text{ µg Fe/20 mL}$$

$$100 \text{ µg Fe/20 mL} = 100 \text{ µg Fe/10 g suelo} = 0.100 \text{ mg Fe/10 g suelo}$$

Finalmente, calculando la concentración de Fe en mg kg^{-1} (ppm) resulta:

$$\mathbf{10 \text{ mg Fe/kg de suelo} = 10 \text{ ppm de Fe en el suelo analizado}}$$

13.2 BORO

El boro es uno de los micronutrientes que mas habitualmente limita los rendimientos y la calidad de las cosechas, pero su exceso crea igualmente problemas graves, principalmente en las zonas áridas. No hay pruebas de que sea un activador o constituyente específico esencial de ninguna enzima, ni tampoco se han identificado sus funciones bioquímicas en la planta. Sin embargo, a partir de estudios sobre plantas deficientes en este elemento se han obtenido pruebas de su esencialidad.

El análisis de suelos sigue siendo el método mas popular para medir o determinar la necesidad de B por parte de los cultivos. Si bien la recomendación adecuada debe basarse en el conocimiento local de la clase de suelo, de las condiciones ambientales y según de la planta de que se trate, el margen entre los niveles que originan deficiencias y toxicidad es reducido. A manera orientativa se ha establecido que una concentración menor de 0.8 mg B kg^{-1} de suelo provocara deficiencia en los cultivos, mientras que concentraciones por encima de 3.5 mg B kg^{-1} de suelo ocasionará toxicidad dependiendo del cultivo que se trate. Sobre esta base, el rango adecuado para los cultivos se encontraria de $1.2 - 3.2 \text{ mg B kg}^{-1}$ de suelo. Es notorio que el margen entre las concentraciones que causan deficiencias y aquellas que causan toxicidad es estrecho. Por tanto, para la determinación de B es indispensable utilizar métodos confiables que eliminen las interferencias que causan otros componentes, principalmente cuando se utilizan métodos colorimétricos.

En los suelos de las zonas áridas y semiáridas es poco probable que se presenten deficiencias de B, mas bien es común encontrar concentraciones de B en el suelo que pueden causar toxicidad. En la región Noroeste de México, la toxicidad de B en los cultivos se presenta principalmente por elevados niveles de este micronutriente en las aguas utilizadas para riego. Esta toxicidad se ve reflejada en una necrosis de los bordes de las hojas de cultivos sensibles (Yamanouchi, 1991). Por consiguiente, la determinación de B en suelos de las regiones áridas y semiáridas se realiza con el proposito de prevenir toxicidad mas que determinar posibles deficiencias.

Aunque en la literatura se especifican procedimientos para determinar el contenido total de B en los suelos, en este apartado solamente se consideran procedimientos para estimar la disponibilidad de B para la absorción de las plantas.

DETERMINACION DE BORO EN SUELOS AGRICOLAS

El B es altamente soluble en agua y depende del movimiento del flujo de agua del suelo. Por consiguiente, la extracción de boro disponible en el suelo para los cultivos se realiza comunmente utilizando agua llevada a ebullición por un período de 5 minutos.

Se ha demostrado que con este procedimiento se obtienen indices útiles de la respuesta de los cultivos a la fertilización con B en suelos deficientes (Berger y Truog, 1940; Cartwright y colaboradores, 1983). En el laboratorio del CIBNOR-Unidad Guerrero Negro se ha estado utilizando satisfactoriamente la extracción de B utilizando un extracto suelo:agua (1:2) y utilizando Azomethine-H para desarrollar color.

EXTRACTO EN AGUA CALIENTE A 105°C

Reactivos

- A) Acido Bórico (H_3BO_3)
- B) Acetato de Amonio (CH_3COONH_4)
- C) Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA-Disodium salt)
- D) Azomethine ($C_{17}H_{11}NO_8S_2Na_2$)
- E) Acido Ascórbico ($C_6H_8O_6$)
- F) Estándares de Boro

Estandar de 500 ppm

Pesar 2.8587 g de ácido bórico (H_3BO_3) y depositarlo en un vaso de precipitado de 1 L. Añadir agua destilada y disolver. Transferir la solución a un matraz volumétrico y aforar hasta un volumen de 1 L.

Estandar de 10 ppm

Prepararla a partir de la estandar de 500 ppm. Utilizando una pipeta volumetrica tomar 2 mL de la estandar de 500 ppm y vertirlos en un matraz volumetrico de 100 mL y aforar a la marca con agua destilada.

Línea de Medición

De la solución estándar de 10 ppm tomar 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, y 2.5 mL y vertirlas a matraces volumétricos de 50 mL. Aforar los matraces a la marca con agua destilada. Esta línea de medición contiene 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, y 0.5 μg de B/mL.

Preparación de la Solución Amortiguadora de Acetato de Amonio

En un vaso de precipitado de 1 L verter 128 g del reactivo (B) y 15.5 g del reactivo (C). Añadir aproximadamente 800 mL de agua y disolver los reactivos. Posteriormente, transferir la solución a un matraz volumetrico de 1 L y finalmente aforar a la marca de 1L con agua destilada.

Preparación de la solución de Azomethine-H

De la solución amortiguadora de acetato de amonio, tomar 60 mL y vertirlos a un vaso de precipitado de 100 mL. Enseguida adicionar 0.6 g del reactivo (D) y 2 g del reactivo (E). Disolver bien utilizando policeman. Esta solución es estable unicamente 24 horas, por lo que es necesario prepararla el mismo día del análisis de las muestras.

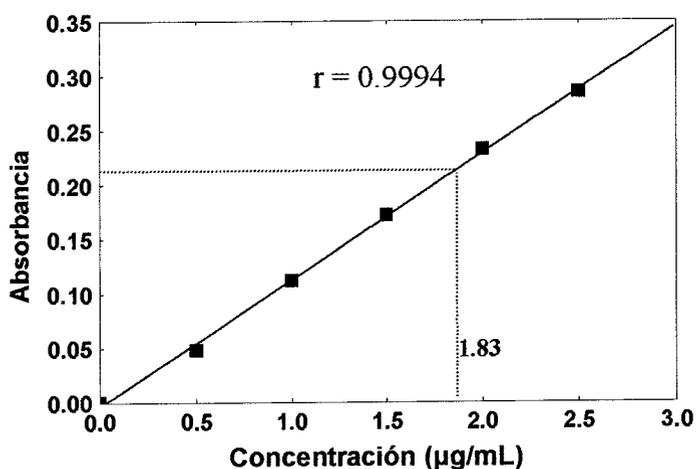
Procedimiento

- 1) Pesar 15 g de muestra y depositarlos en un matraz Erlenmeyer de 50 mL
- 2) Enseguida, agregar 30 mL de agua destilada
- 3) Tapar los matraces con papel aluminio y colocarlos en HORNO ó AUTOCLAVE para calentamiento a 105°C durante 10 min.
- 4) Posteriormente, enfriar a temperatura de cuarto
- 5) Filtrar el extracto a traves de papel filtro # 6

- 6) Tomar una alicuota apropiada del extracto (≈ 5 mL) y verterla en un tubo de ensaye de 10-25 mL.
Nota.- Se debe tomar el mismo volumen de muestra y estandar para evitar diluciones de color, es decir, si se toman 5 ml de muestra, también debe tomarse 5 mL de cada estandar establecida.
- 7) Adicionar 2 mL de la solución de Azomethine-H y mezclar bien mediante agitador vibratorio
- 8) Dejar reposar las muestras y el juego de estandares durante 30 min
- 9) Medir la absorbancia a una longitud de onda de 415 nm en espectrofotómetro

Ejemplo de cálculo

El calculo de la concentración de Boro se realiza de manera similar que para fósforo o amonio por el método Nessler descrito en capitulos anteriores. Básicamente se mide la absorbancia de las estandares establecidas en el espectrofotometro y graficando la absorbancia contra la concentración se obtiene la línea de medición siguiente:



STD (µg/mL)	ABS
0	0.001
0.5	0.048
1.0	0.112
1.5	0.172
2.0	0.232
2.5	0.285

Al medir la absorbancia de una muestra determinada se obtiene por ejemplo; un valor de 0.210. Por consiguiente, aplicando el método gráfico en la figura anterior se determina que la concentración de la muestra es 1.83 µg/5mL, pero el volumen total del extracto es 30 mL, por tanto es necesario multiplicar el valor obtenido en 5 mL por 6; así que se tiene 10.98 µg/30 mL, o lo que es igual 10.98 µg/15g de muestra. Transformando este valor a µg/g o p.p.m. resulta 0.73 µg B/g de suelo = 0.73 ppm de B

13.3 CLORO

La concentración de cloro que puede ser encontrada en las plantas es de aproximadamente 2000 a 20000 mg kg⁻¹ del peso seco. Sin embargo, el requerimiento de cloro para el óptimo crecimiento de las plantas es mucho más bajo, ya que es de aproximadamente 340 – 1200 mg kg⁻¹ del peso seco (Marschner, 1986). Este elemento es fácilmente absorbido por las plantas. Existen evidencias que indican que el cloro ejerce sus funciones en las plantas superiores, principalmente como un anión inorgánico altamente móvil en procesos relacionados a la compensación de cargas y la osmoregulación.

El cloro es aportado a las plantas a partir de diversas fuentes (reservas del suelo, fertilizantes y contaminación del aire). En las zonas áridas y semiáridas hay mucha mayor preocupación por la toxicidad del cloro que por la deficiencia. En las zonas áridas y semiáridas, el cloro es suministrado a las plantas a través del agua de riego. En el noroeste de México, las aguas utilizadas para el riego de los cultivos contienen cantidades apreciables de cloro, por lo que es común encontrar cultivos que presenten toxicidad por cloro.

El Cl es usualmente encontrado en los suelos en forma altamente soluble y esta sujeto a pérdidas por lavado. Sin embargo, la deficiencia solamente se desarrolla en condiciones extremas, pero el lavado, por ejemplo, de suelos de cordilleras arenosas, puede causar acumulación de Cl en las depresiones adyacentes. Los suelos salinos en regiones áridas a menudo contienen cantidades tóxicas de Cl. Los suelos alcalinos blancos contienen una alta proporción de cloruros y sulfatos de sodio.

En el laboratorio del CIBNOR-Unidad Guerrero Negro la determinación de cloro en muestras de suelos generalmente se realiza mediante su extracción con agua hirviendo y posteriormente se toma una alícuota para inyectarla en el cromatógrafo de iones como se describió en el Capítulo 10 para aniones solubles en agua.

EXTRACTO 1:5 (SUELO:AGUA)

Procedimiento

- 1) Pesar 10 g de suelo secado al aire y tamizado utilizando malla de 2 mm
- 2) Depositarlo en una botella de agitación de plástico de 100 ml
- 3) Agregar 50 ml de agua destilada y agitar 1 hora
- 4) Posteriormente, reposar y filtrar a través de papel filtro # 6. También se puede centrifugar la suspensión por 10 min a 10,000 r.p.m.
- 5) Almacenar el filtrado o centrifugado en tubos de ensayo de vidrio
- 6) Dependiendo de la concentración, realizar diluciones convenientes
- 7) Filtrar la muestra a través de discos de cromatografía hacia recipientes para muestra.
- 8) Colocar los recipientes para muestra en su estante y colocarlos en la cámara de autoinyección

- 9) Previa estabilización de la fase móvil y la columna de detección (2-4 horas) y considerando los parámetros establecidos para el equipo iniciar la medición de una solución estándar de referencia.
- 10) Posteriormente iniciar la medición de las muestras

Ejemplo de cálculo

Los cálculos se realizan similarmente como se describió para aniones solubles en agua en el capítulo 10.

14. REFERENCIAS

- Aguilar Noh, A.G. 1987. Capacidad de Intercambio Cationico. p. 93-107. En: *Análisis Químico para Evaluar la Fertilidad del Suelo*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Publicación especial No. 1.
- Ashwin, J.P. and Govind, C.S. 1977. Nitrogen release characteristics of controlled-release fertilizers during a four month soil incubation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 102, 364-367
- Berger, K.C. and Truog, E. 1940. Boron deficiencies as revealed by plant and soil test. *J. Am. Soc. Agron.* 32, 297-301
- Bertsch, P.M. and Thomas, G.W. 1985. Potassium status of temperature region soils. p. 131-162. En: R.E. Munson (ed.) *Potassium in agriculture*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
- Bohn, H. L., McNeal, B.L., y O'Connor, G.A. 1985. Cation retention. En: *Soil Chemistry*. 2nd. Edición. John Wiley & Sons. p. 153-183
- Bower, C.A., Reitemeier, R.F., and Fireman, M. 1952. Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. *Soil Sci.*, 73, 251-261
- Carlson, R.M., Okerstreet, R., y Naylor, D.J. 1971. Effect of microbial activity on saturation extract composition. *Hilgardia*. 40, 553-564
- Cartwright, B., Tiller, K.G., Zarcinas, B.A., and Spouncer, L.R. 1983. The chemical assessment of the boron status of soils. *Aust. J. Soil Res.*, 21, 321-332
- Cline, M.G. 1944. Principles of soil sampling. *Soil Sci.* 58, 275-288
- Cataldo, D.A., Haroo, M., Scharader, L.E. y Youngs, V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 6, 71-80
- Chang, S.C. and Jackson, M.L. 1957. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Sci.*, 84, 133-144
- Duchaufour, P. 1978. *Manual de Edafología*. Toray-Masson, S.A., Barcelona, España.
- Endo, T., Yamamoto, S., Honna, T., Iimura, K., López, R. and Benson, M. 2000a: Morphological and physico-chemical properties of soils in the middle of Baja California, México. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 71, 9-17
- Endo, T., Yamamoto, S., Honna, T., Takashima, M., Iimura, K., López, R., and Benson, M. 2000b: Behaviour and distribution of salts under irrigated agriculture in the middle of Baja California, México. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 71, 18-26
- Etchevers, J.D. 1985. *Análisis químico de suelos – El por qué de sus fallas*. CEDAF, C.P., Chapingo, México.
- Gilmour, J.T. 1984. The effects of soil properties on nitrification and nitrification inhibition. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 1262-1266
- Goijberg R., G. Y Aguilar S., A. 1987. pH del suelo y necesidades de cal. En: *Análisis Químicos para Evaluar la Fertilidad del Suelo*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. p. 17-44
- Grattan, S.R. and Grieve, C.M. 1999: Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*. 78, 127-157.

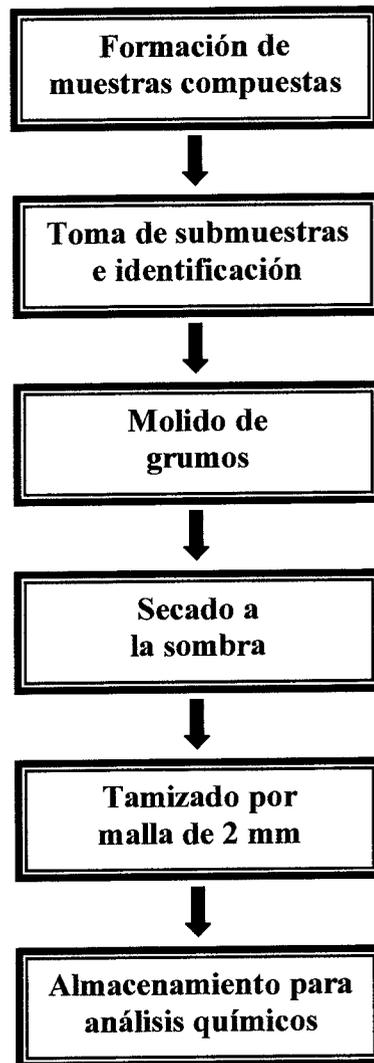
- Gupta, R.K., Sing, C.P. and Abrol, I.P. 1985. Determining cation-exchange capacity and exchangeable sodium in alkali soils. *Soil Sci.*, 139, 326-332
- Hagin, J. and Tucker, R. 1982. *Fertilization of Dry Land and Irrigated Soils*. Springer-Verlag, Berlin
- Havlin, J.L. and Soltanpour, P.N. 1981. Evaluation of the NH_4HCO_3 -DTPA soil test for iron and zinc. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45, 70-75
- Hayatsu, M. And Kosuge, N. 1993. Effects of urea fertilization and liming on nitrification in Cerrados soils (Brazil). *Soil Sci. Plant Nutr.*, 39, 367-371
- Hesse, H.R. 1971. *A Textbook of Soil Chemical Analysis*. John Murray (Publishers) L.T.D. London, Great Britain
- Hunt, J., Barnes, A. y Greenwood, D.J. 1976. Rapid methods for assessing the P and K status of soil *J. Sci. Food Agric.* 27, 855-865
- Keeney, D.R. and Nelson, D.W. 1982. Nitrogen-inorganic forms, p. 643-697. En: A.L. Page et al., (eds.) *Methods of Soil Analysis*. Part 2. Second edition. Am. Soc. Agron. Inc., Madison, WI.
- Khan, A.A. and Zende, G.K. 1977. The site for Zn-P interactions in plants. *Plant Soil.* 46, 259-262
- La Haye, P.A. and Epstein, E. 1971: Calcium and salt toleration by bean plants. *Physiol. Plant.*, 25, 213-218.
- Lindsay, W.L. 1972. Inorganic phase equilibria of micronutrients in soils. Capitulo 3, En: *Micronutrients in Agriculture*, pp. 41-58
- Lindsay, W.L. and Schwab, A.P. 1982. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *J. Plant Nutr.*, 5, 821-840
- López A., R., Benson-Rosas, M., Ramírez-Barajas, J.L., y López-Meza, J. 1994. Evaluación de tres métodos de extracción de fósforo. P. 42-45. Reportes Técnicos del Proyecto Agrícola JICA-FFM-ESSA
- López A., R., Villavicencio-Floriani, E., Real-Rosas, M., Ramírez, J.L., y Murillo-Amador, B. Situación de los macronutrientes en suelos del desierto de Vizcaíno. *TERRA*(En Prensa)
- Maas, E.V. y Hoffman, G.J. 1977. Crop salt tolerance current assessment. *J. Irrig. And Drainage Dir.*, Am. Soc. Civil Eng. 103, 115-134
- Marschner, H. 1986. Functions of mineral nutrients: Macronutrients. p. 195-267 En: *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London.
- Mathers, A.C., Thomas, J.D., Steward, B.A. and Herring, J.E. 1980. Manure and inorganic fertilizer effects on sorghum and sunflower growth on iron-deficient soil. *Agron. J.* 72, 1025-1029
- Matsumura, S. and Witjaksono, G. 1999. Modification of the Cataldo method for the determination of nitrate in soil extracts by potassium chloride. *Soil Sci., Plant Nutr.*, 45, 231-235
- McLean, E.O. 1973. Testing soils for pH and lime requirement pp. 78-95. En: Walsh, L.M. y J.D. Beaton (Eds). *Soil Testing and Plant Analysis*, Rev. ed. SSSA, Madison, Wisconsin.
- Mehlich, A. 1942. Rapid estimation of base-exchange properties of soils. *Soil Sci.*, 53, 1-14

- Núñez, R.E. 1985. Efectos de la acidez del suelo sobre la producción de cultivos y su corrección mediante el encalado. Serie cuadernos Edafología 2, Centro Edafología, Colegio Postgraduados, Chapingo, Mex. p. 25
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Dep. Of Agric. Circ. 939
- Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. (Ed.) 1982. Methods of Soil Analysis, Part 2, 2nd ed., p. 645-682, Am. Soc. Agron., Inc., Madison WI
- Papanicolau, E.P. 1976. Determination of cation exchange capacity in calcareous soils and their percent base saturation. *Soil Sci.*, 121, 65-71
- Polemio, M. and Rhoades, J.D. 1977. Determining cation exchange capacity: A new procedure for calcareous and gypsiferous soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 524-528
- Peech, M. 1965. Hydrogen ion activity. En: Black C.A. (ed). Methods of Soil Analysis. Part 2. Amer. Soc. Agron. Madison, Wisconsin. pp. 914-926
- Rains, D.W. 1979. Salt tolerance of plants: Strategies of biological systems. En: A. Hollander (ed.), *The Biosaline Concept: An approach to the utilization of saline environments*. Plenum, New York, p. 47-67
- Rhoades, J.D. 1996. Salinity: Electrical Conductivity and Total Dissolved Solids. p. 417-435. En: D.L. Sparks et al (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. SSSA Book Ser. 5. SSSA and ASA, Madison, WI.
- Saito, G., Kimura, T., Kojima, M., and Hayase, F. 1987. Rapid determination of nitrate ion by chromatograph with UV detector. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 58, 1-6 (En Japonés).
- Schofield, R.K. y Taylor, A.W. 1955. The measurement of soil pH. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 19, 164-167
- Schollenberger, C.J.A. 1927. A rapid approximate method for determining soil organic matter. *Soil Sci.*, 24, 65-68
- Schroeder, D. 1979. Structure and weathering of potassium containing minerals. *Proc. Congr. Int. Potash Inst.* 11, 43-63
- Shugar, G.J. and Dean, J.A, 1989. Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. Chapter 6. En: *The Chemist's Ready Reference Handbook*. McGraw-Hill. Publishing Company.
- Soltanpour, P.N. and Schwab, A.P. 1977. A new soil test for simultaneous extraction of macro-and micro-nutrients in alkaline soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 8, 195-207
- Song, J.Q. and Fujiyama, H. 1996: Difference in response of rice and tomato subjected to sodium salinization to the addition of calcium. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 42, 503-510.
- Sparks, D.L. 1987. Potassium dynamics in soils. *Adv. Soil Sci.*, 6, 1-63
- Suarez, D.L. 1996. Beryllium, Magnesium, Calcium, Strontium, and Barium. p. 575-601. D.L. Sparks et al (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. SSSA Book Ser. 5. SSSA and ASA, Madison, WI.
- Tabatabai, M.A. and Frankenberger Jr., W.T. 1996. Liquid Chromatograph. p. 225-246. En: D.L. Sparks et al (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. SSSA Book Ser. 5. SSSA and ASA, Madison, WI.
- Terry, N. and Ulrich, A. (1973). Effects of phosphorus deficiency on the photosynthesis and respiration of leaves in sugar beet. *Plant Physiol.*, 51, 43-47

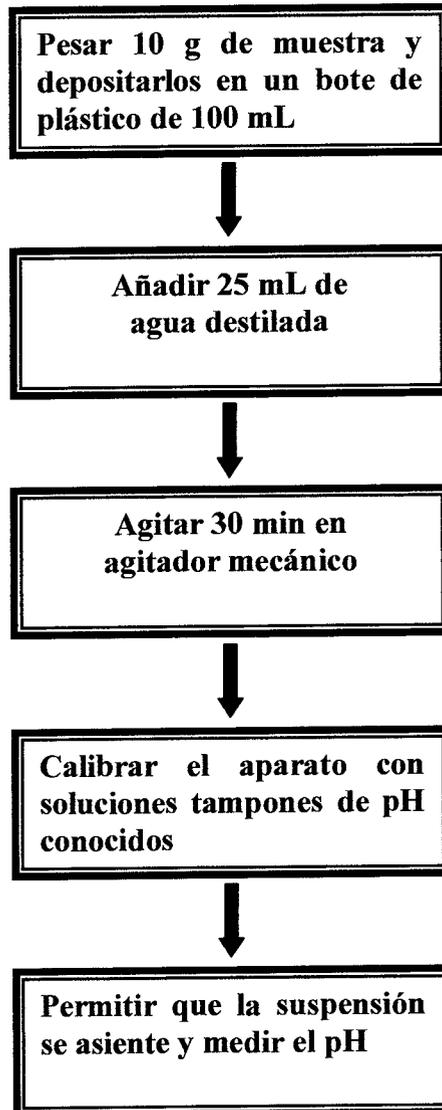
- Thomas, G.W. 1982. Exchangeable Cations. p. 159-165. En: A.L. Page et al (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2 2nd. Ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Thustos, P. and Blackmer, A.M. 1992. Release of nitrogen from ureaform fractions as influenced by soil pH. Soil Sci. Soc. Am. J. 56, 1807-1810
- Van Slyke, D.D. and Hiller, A. 1933. Determination of ammonia in blood. J. Biol. Chem. 102, 449-504
- Viets Jr., F.G. 1988. Present status of soil and plant analysis for fertilizer recommendations and improvement of soil fertility. En: Soil and plant testing and analysis. FAO SOILS BULLETIN 38/1. Rome. 9-20
- Walkley, A. and Black, T.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci., 37, 29-38
- Weber, D.F. and Gainey, P.L. 1961. Relative sensitivity of nitrifying organisms to hydrogen ions in soils and in solutions. Soil Sci., 94, 138-145
- Yamanouchi, M. 1991. Present situation and some technical problems of vegetable cultivation on sand soil in Guerrero Negro, B.C.S., México. Sand Dune Research. 38 (2), 10-35

A P E N D I C E

Diag. 1. Operaciones generales en la colección de muestras de suelo

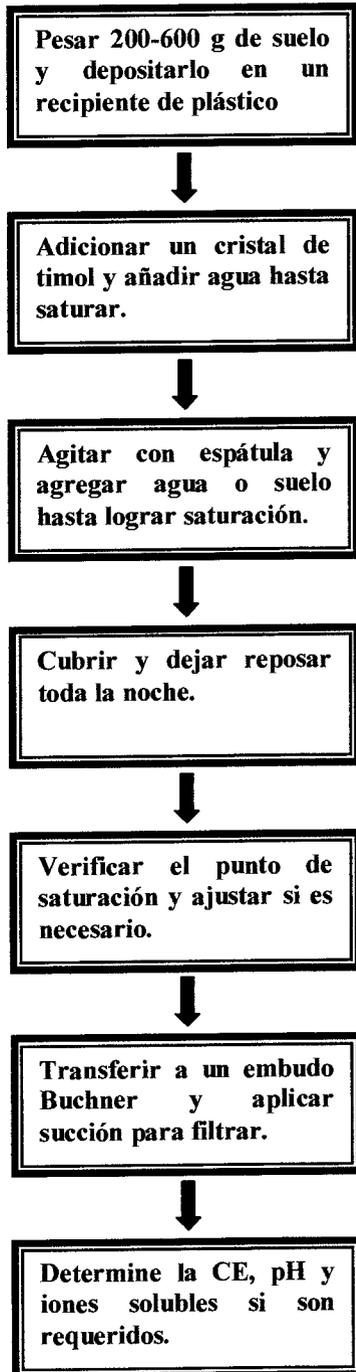


Diag. 2. Determinación del pH del suelo

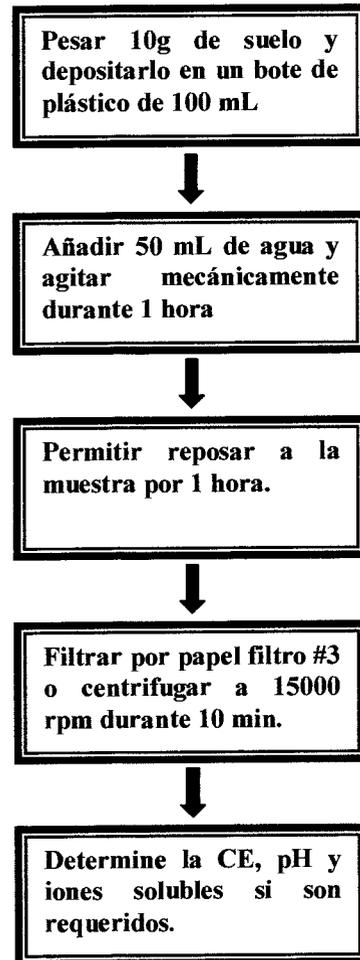


Diag. 3. Determinación de la Conductividad Electrica

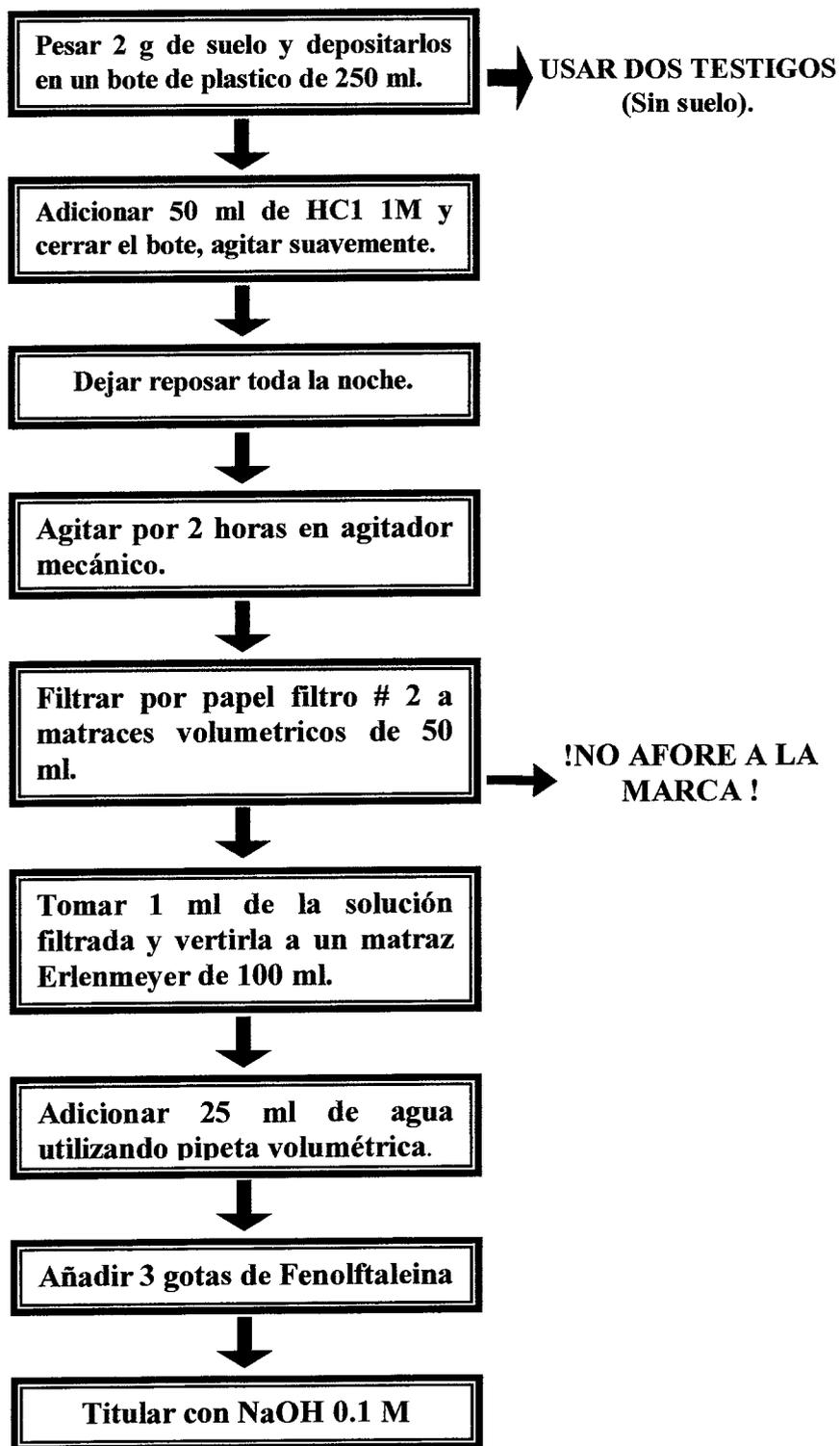
EXTRACTO DE SATURACION



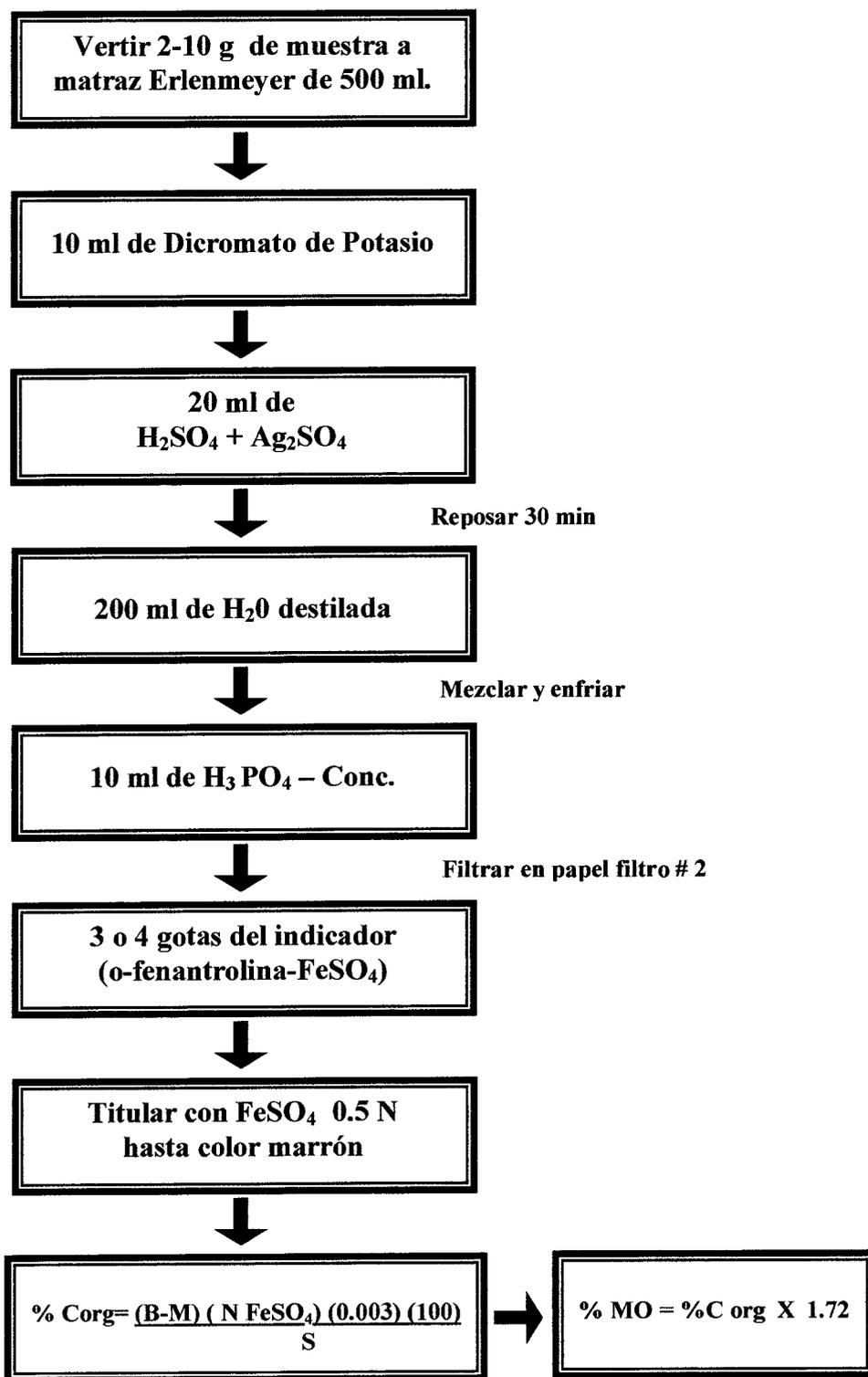
EXTRACTO 1:5



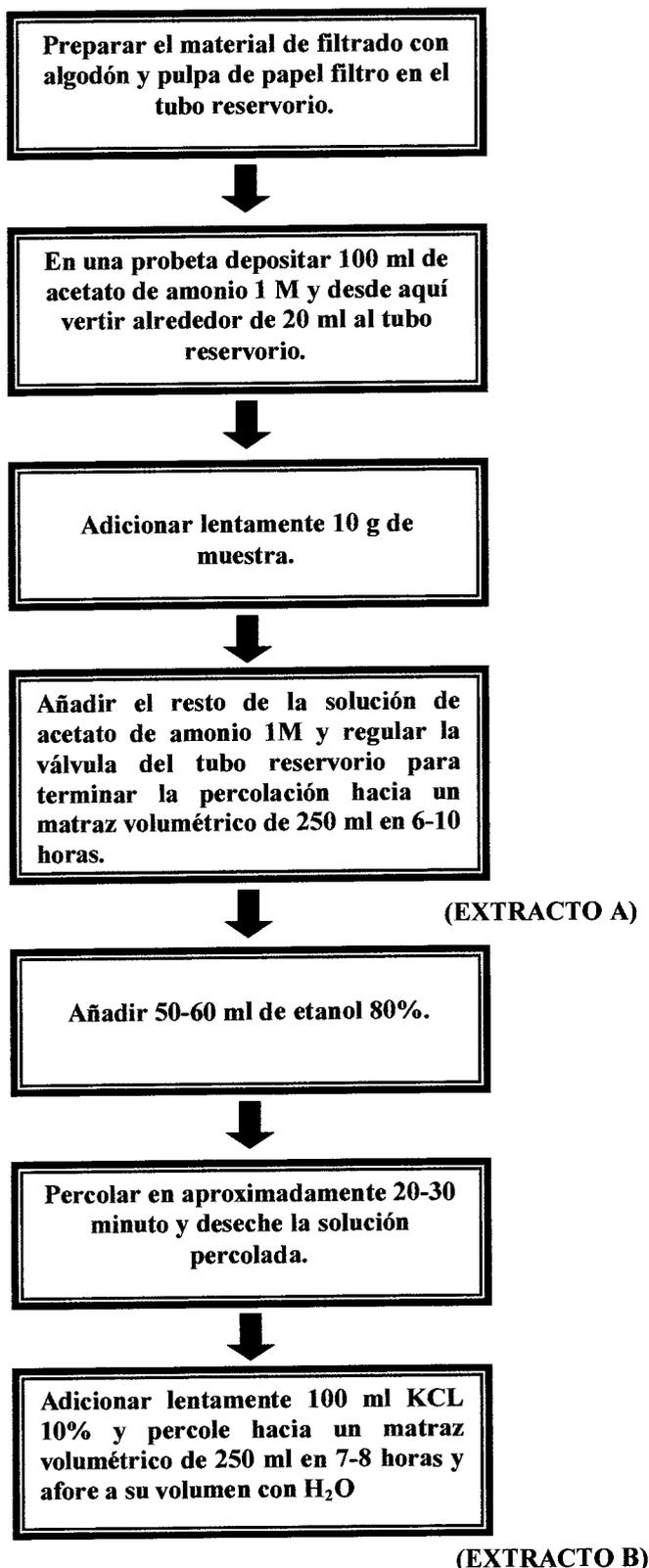
Diag. 4. Determinación de Carbonatos



Diag. 5. Materia Orgánica por el Método de Walkley y Black



Diag. 6. Capacidad de Intercambio Cationico por el Método de Acetato de Amonio



PROCESO DE DESTILACIÓN

Vertir 25 ml de solución indicadora ácido bórico en un matraz de 150 ml y colocarlo debajo del condensador del sistema de destilación



Adicionar 25 ml de NaOH 25% al matraz de digestión y destilar por 7-8 minutos para producir aprox. 75 ml de destilado .

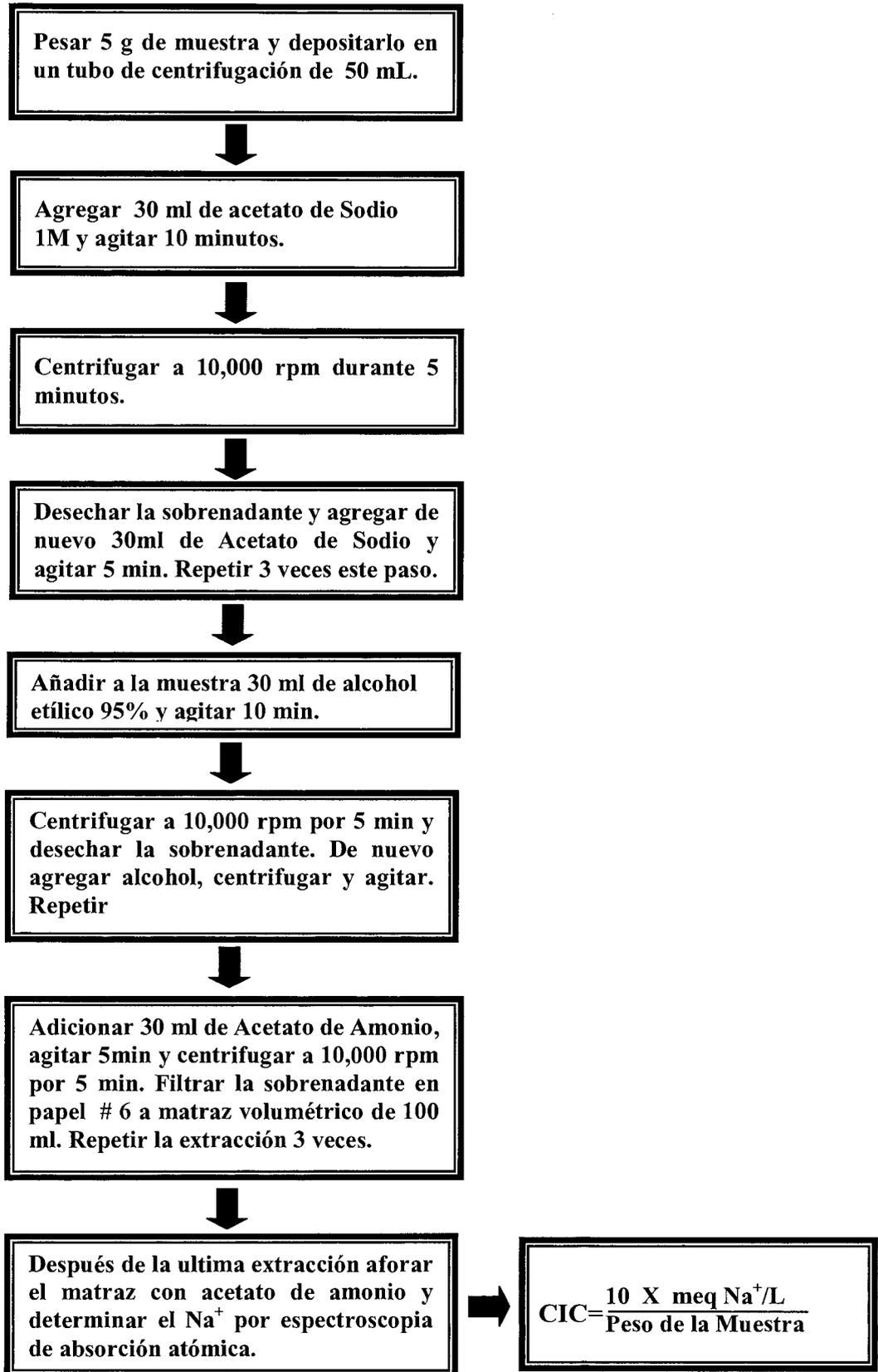


Retirar el matraz del destilador, y lavar el extremo del condensador.



Titular el destilado con 0.01 m HCl hasta que el color cambie de verde a rosa.

Diag. 7. Capacidad de Intercambio Catiónico por el Método de Acetato de Sodio



Diag. 8. Nitrógeno Total

DIGESTIÓN DE LA MUESTRA

Colocar 1 g de muestra en un matraz de digestión Kjeldhal.

Adicionar 5 ml de la mezcla ácido sulfurico - ácido salicilico.

Añadir aprox. 0.5 g de la mezcla de catalizadores (K_2SO_4 : $CuSO_4$:Se)

Iniciar un calentamiento bajo por 20-30 min y después elevar la temperatura. Digerir hasta que se clarifique la solución (4-6 horas)

Retirar los matraces del digestor, enfriar y adicionar aprox. 20 ml de H_2O destilada.

Filtrar por papel # 3 a un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con H_2O

Determinación de Amonio por método Nessler

Determinación de Amonio por método de destilación.

DETERMINACIÓN DE AMONIO POR METODO DE DESTILACIÓN

Vertir 25 ml de la solución indicadora con ácido bórico en un matraz erlenmeyer de 150 ml y colocarlo debajo del condensador.



Adicionar de 5 – 10 ml de la solución digerida al matraz de digestión.

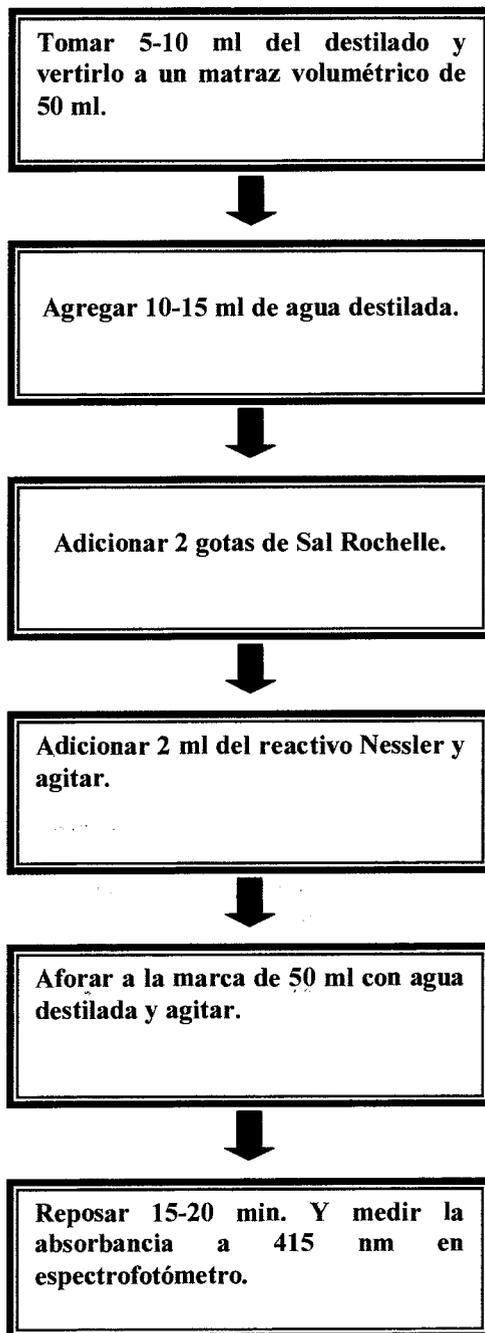


Añadir 25 ml de NaOH 25% al matraz de digestión y destilar por 7-8 minutos o hasta que se produzcan aprox. 75 ml de destilado.

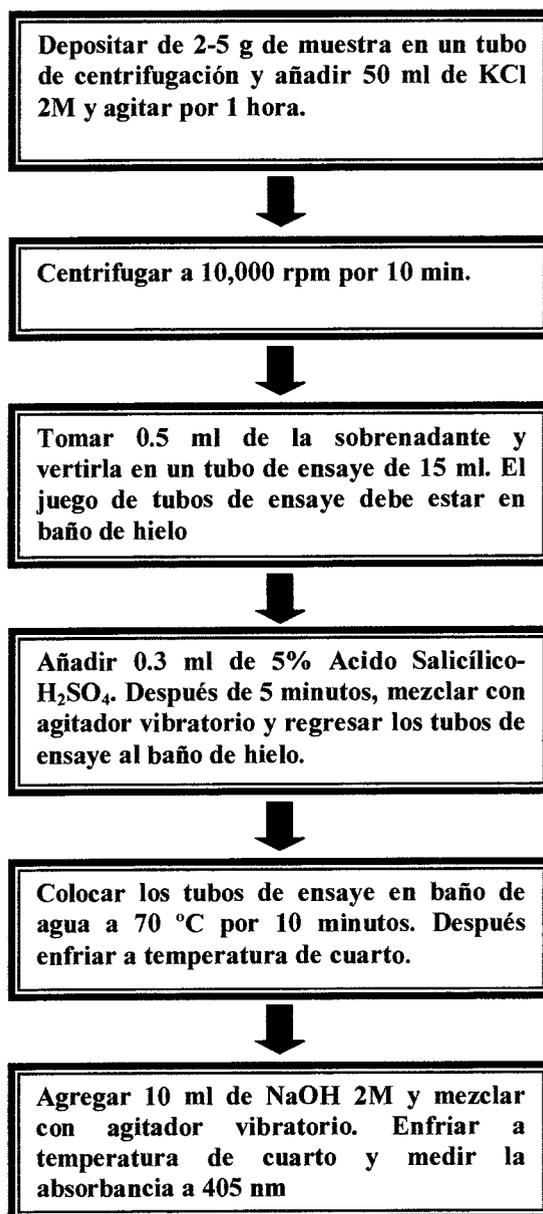


Retirar el Erlenmeyer del aparato de destilación, lave el extremo del condensador y titular con 0.01 M HCl hasta que el color cambie de verde a rosa.

DETERMINACIÓN DE AMONIO POR METODO NESSLER

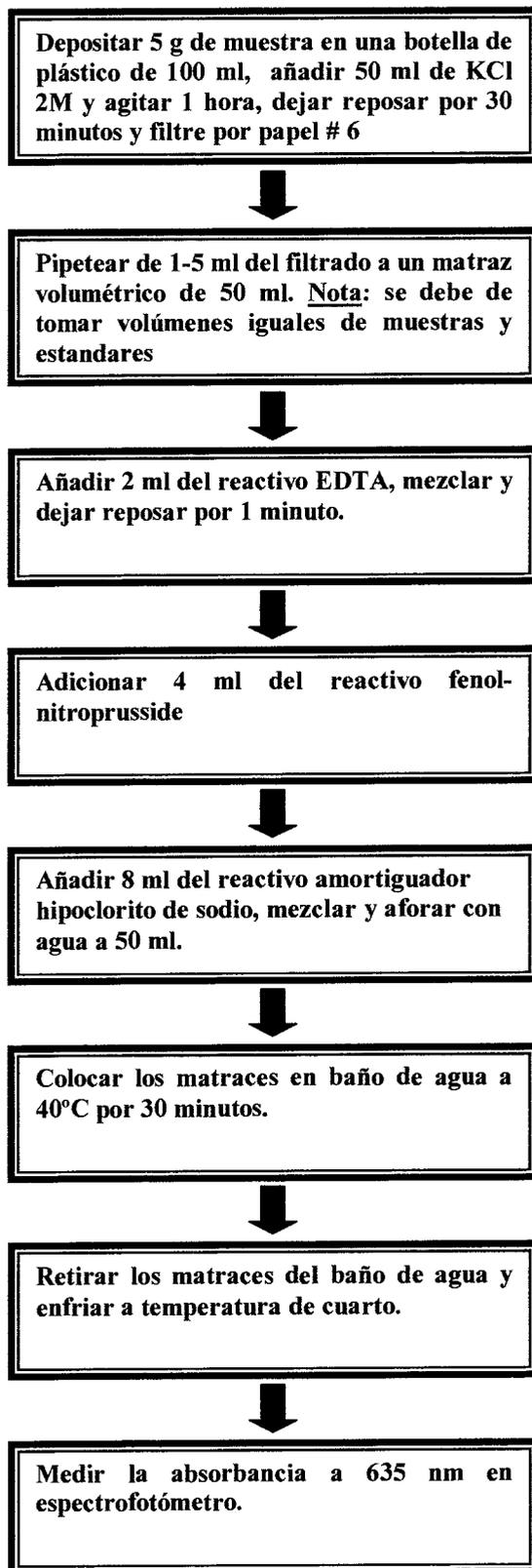


Diag. 9. Determinación de Nitratos * Método de Cataldo

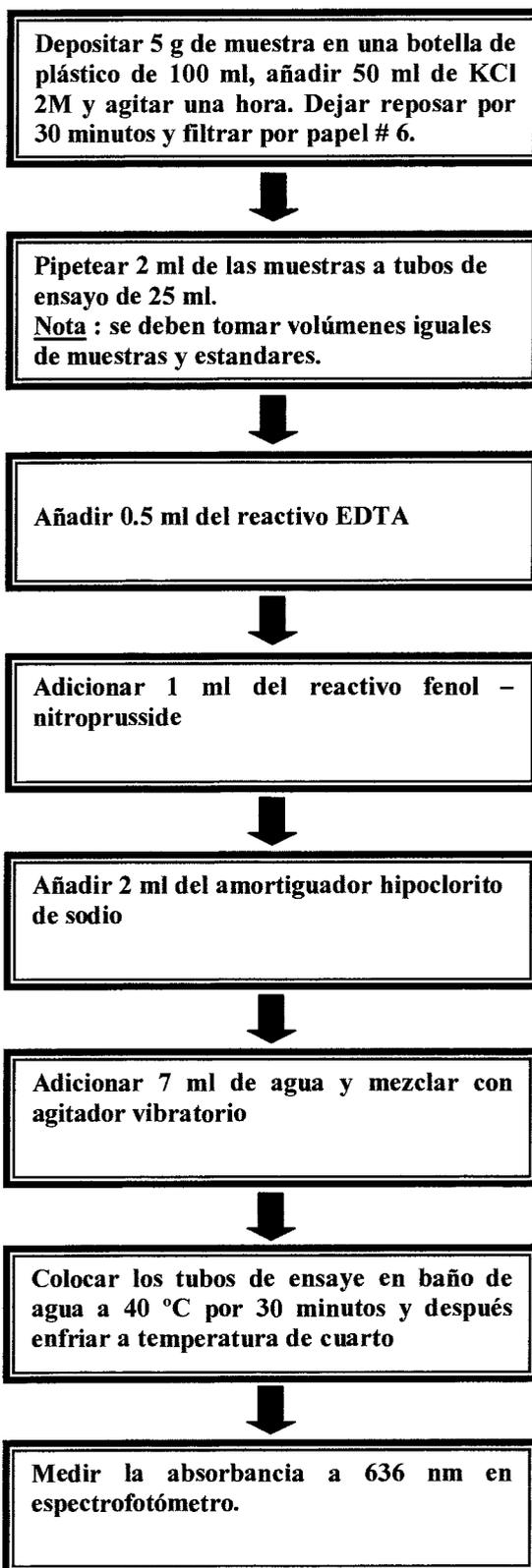


* El procedimiento para determinar nitratos por cromatografía de iones se describe en el análisis de aniones por cromatografía.

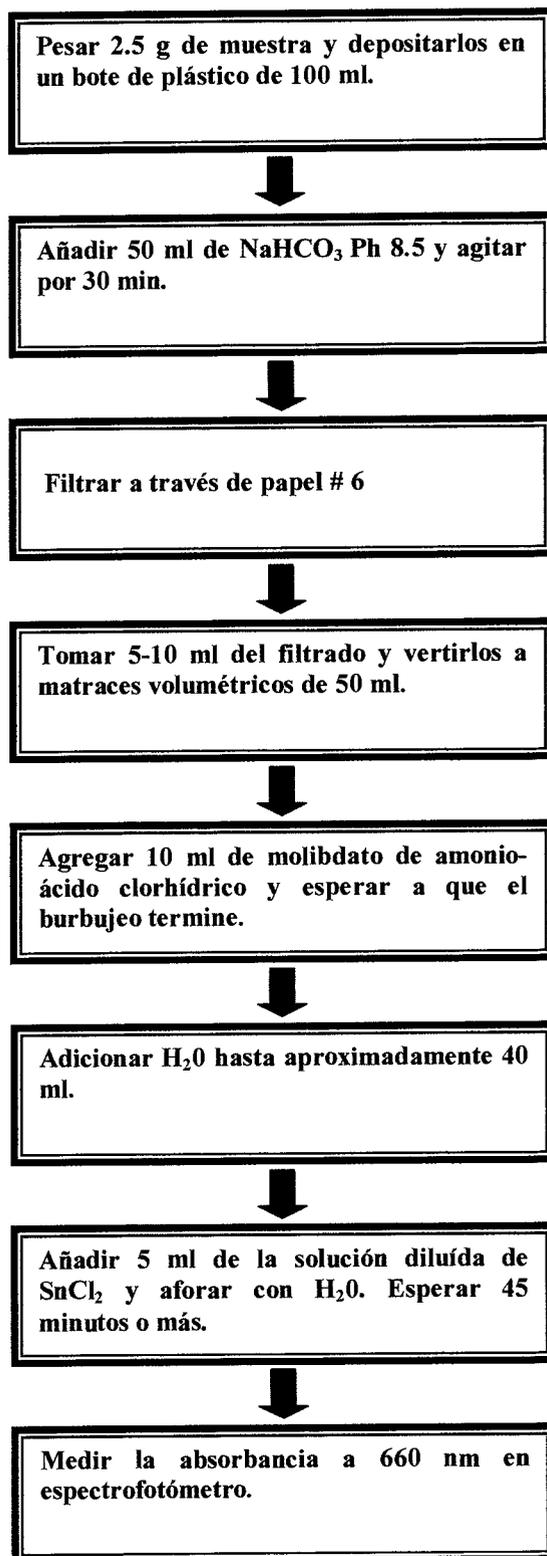
Diag. 10. Determinación de Nitrógeno-NH₄ por el Método Azul de Indofenol (A)



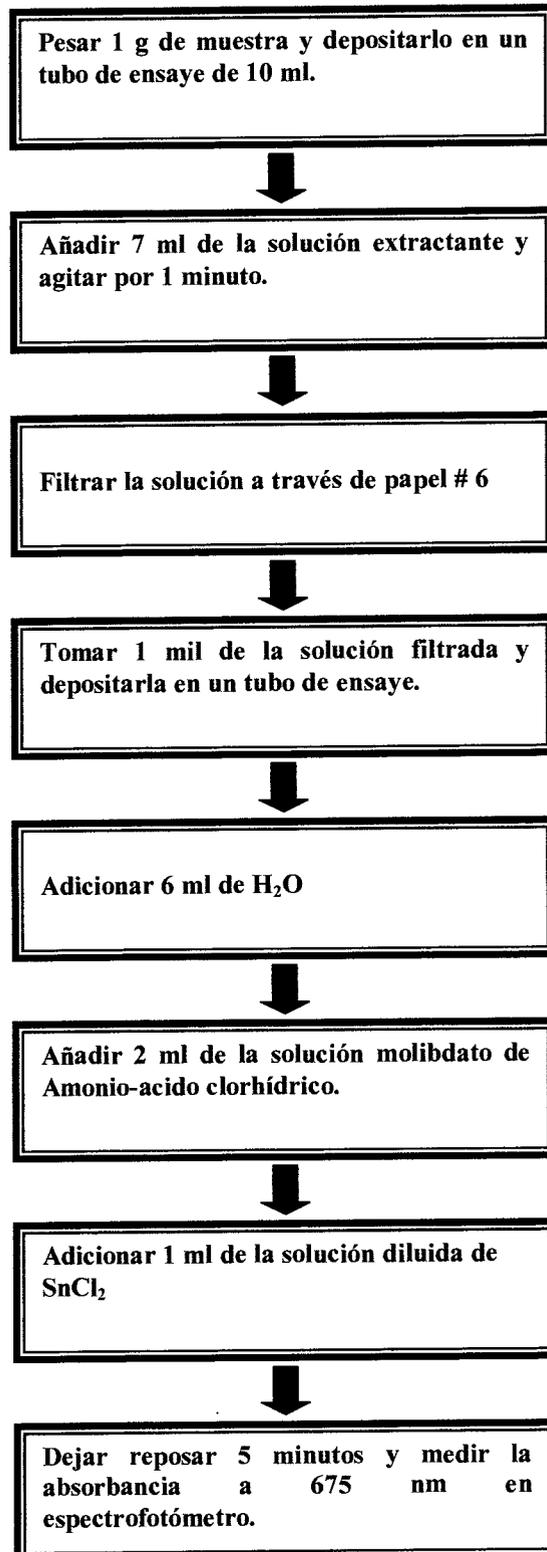
Diag. 11. Determinación de Nitrógeno-NH₄ por el Método Azul de Indofenol (B)



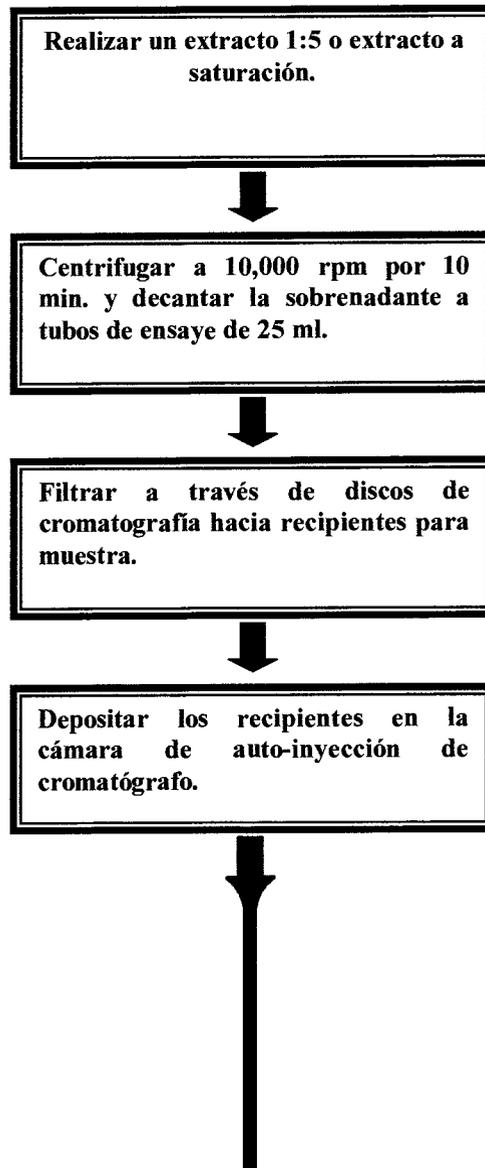
Diag. 12. Determinación de Fósforo Método Olsen



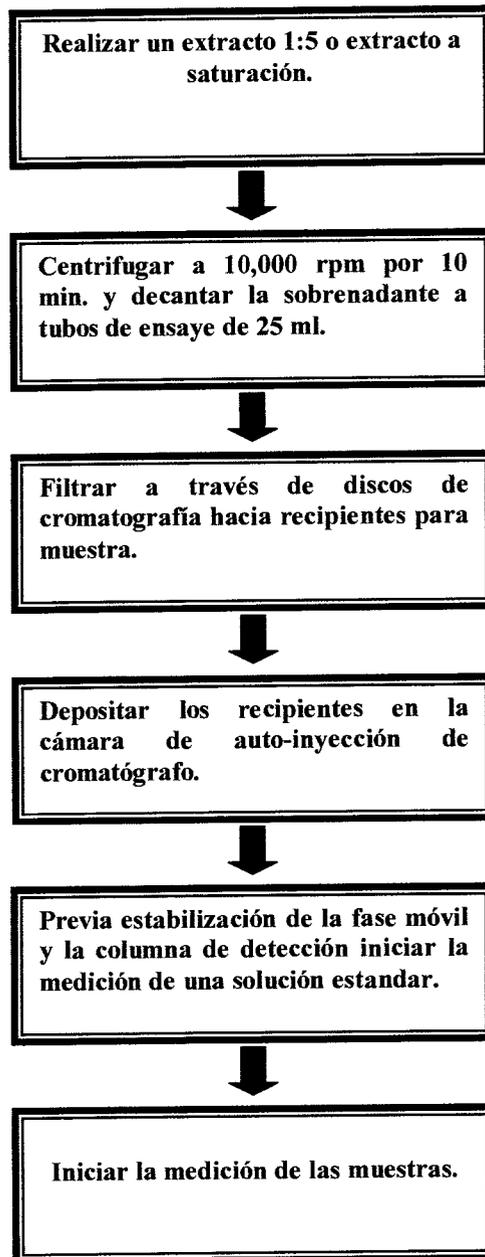
Diag. 13. Determinación de Fósforo Método Bray-1



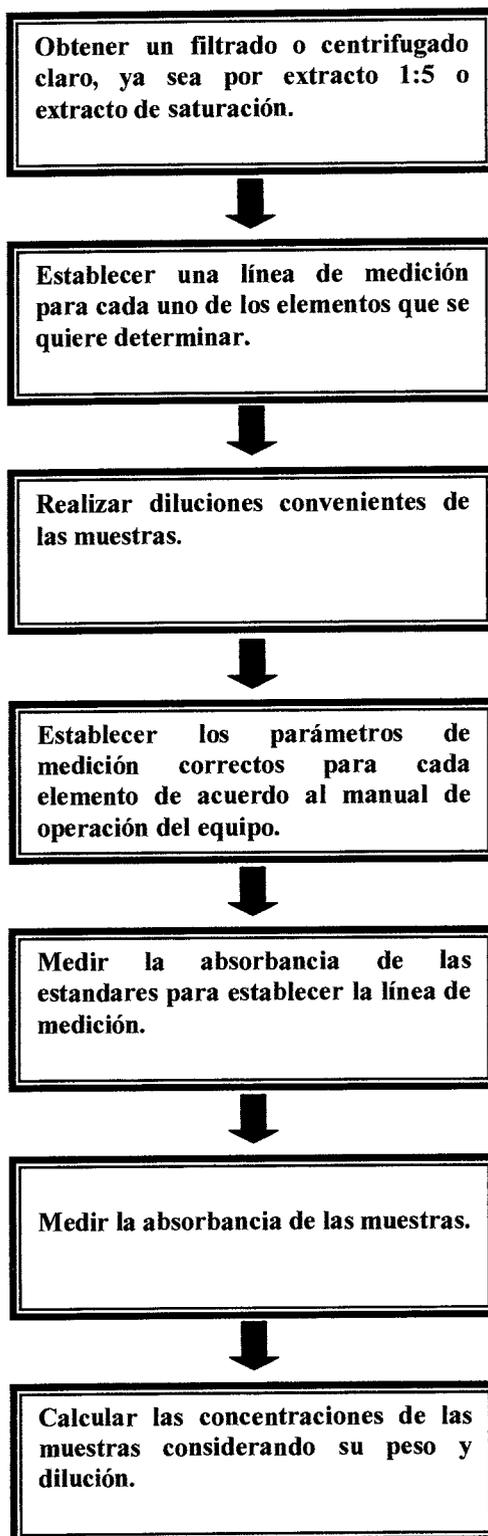
Diag. 14. Aniones Solubles en Agua por Cromatografía de Iones



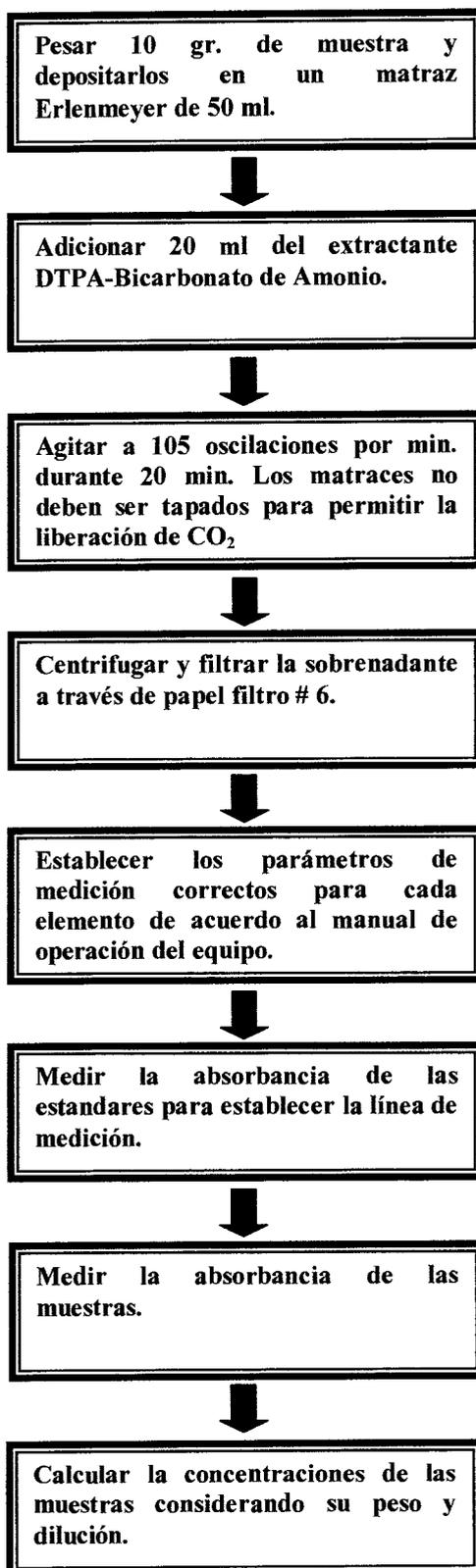
Diag. 14. Aniones Solubles en Agua por Cromatografía de Iones



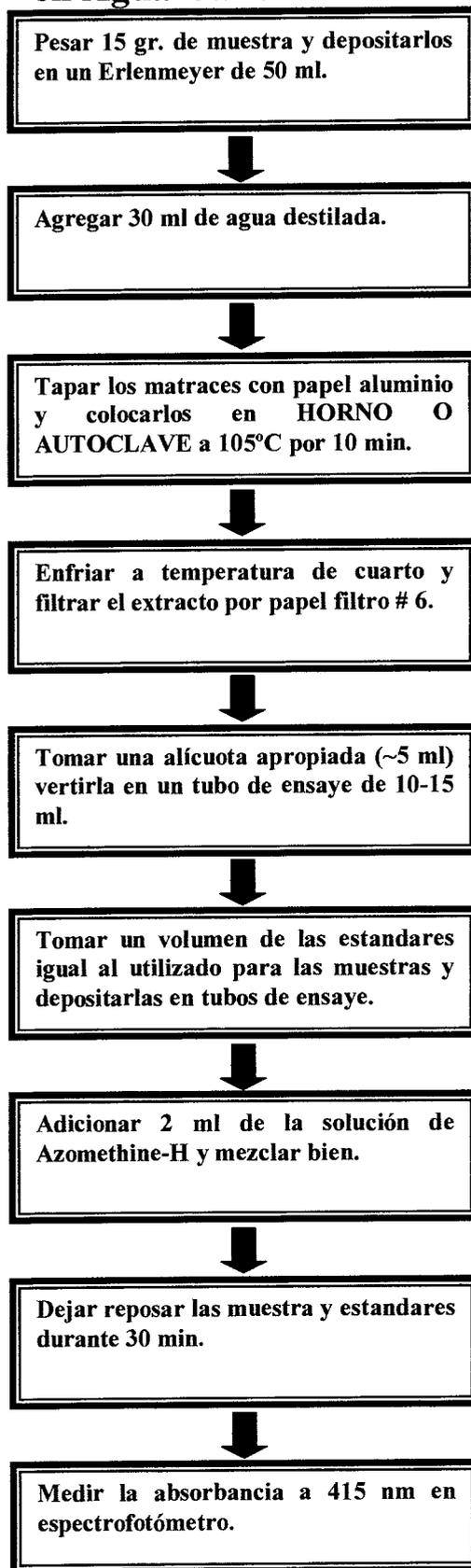
Diag. 15. Cationes Solubles en Agua por Espectroscopía de Absorción Atómica.



Diag. 16. Determinación de Hierro y Zinc por Extracción con DTPA-Bicarbonato de Amonio



Diag. 17. Determinación de Boro por Extracción en Agua Caliente a 105°C





CENTRO DE INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S.C.



FUNDACION
PROCEJA

B.C.S.A.C.



GOBIERNO DE BAJA CALIFORNIA SUR
Coordinador de Presidencia
Secretaría de Acción Exterior

ARAUCARIA

COOPERACIÓN ESPAÑOLA PARA LA CONSERVACIÓN DE
LA BIODIVERSIDAD EN IBEROAMÉRICA



C A M P O

