



Comparación de dos métodos de extracción de fósforo disponible en un suelo ácido

Alejandro Carrero A.^{1*}, Alexis Zambrano G.¹, Eduylson Hernández G.¹, Froilan Contreras B.¹, Daniel Machado D.¹, Guillermo Bianchi B.¹ y Ricardo Varela D.²

¹ Laboratorio de Investigaciones y Análisis Químico, Industrial y Agropecuario (LIAQIA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida 5101, Venezuela

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Mérida (INIA-Mérida). Avenida Urdaneta. Mérida 5101, Venezuela

(*) alejocarrero@gmail.com

Recibido: 08/06/2015

Revisado: 27/18/2015

Aceptado: 15/09/2015

Resumen

Se evaluaron los métodos Olsen y Bray-Kurtz, generalmente utilizados para determinar fósforo disponible en suelos; para el estudio se utilizaron dos muestras compuestas obtenidas del Campo Experimental Mucuchíes-INIA. Los resultados obtenidos para la muestra con manejo agrícola fueron de 4,85 unidades de pH, 53,3 y 253,0 µg de P/g para los métodos Olsen y Bray- Kurtz , respectivamente. Para la muestra sin manejo agrícola se obtuvo 5,54 unidades de pH, 19,7 y 38,7 µg de P/g métodos por Olsen y Bray-Kurtz, respectivamente. Se evaluaron los coeficientes de variación para ambas metodologías resultando que el método más preciso para determinar fosforo en suelos en medios ácidos fue el de Bray- Kurtz.

Palabras clave: fósforo disponible; suelos; Bray-Kurtz; Olsen

Abstract

Olsen and Bray-Kurtz methods were evaluated, generally used to determine available phosphorus in soils, to study two composite samples were used, obtained from the Campo Experimental Mucuchíes-INIA (Mucuchíes, Mérida-Venezuela). Results obtained for the sample with agricultural management were pH 4.85; (53.3 and 253.0) mg P/g Olsen and Bray Kurtz methods respectively. For the sample unmanaged pH 5.54 was obtained (19.7 and 38.7) mg P/g Olsen and Bray- Kurtz methods respectively. The coefficients of variation (CV %) of both methodologies were evaluated resulting in the most accurate way to determine phosphorus in acid soil the method of Bray-Kurtz.

Keywords: available phosphorus, soils, Bray-Kurtz, Olsen.

Introducción

La cuantificación del fósforo (P) disponible en el suelo, es decir, aquel susceptible de ser absorbido por la planta, se ha venido investigando por más de un siglo¹. A pesar de ello, no hay un método universal para su estimación. Se han propuesto muchas soluciones químicas para extraer formas potenciales de P del suelo, siendo el agua el primer solvente de extracción utilizado. Se encontró que el poder de extracción empleando agua era muy bajo lo cual conllevaba a errores en las medidas. Por tanto, las debilidades que se presentaron empleando agua como solvente de extracción condujeron al desarrollo de distintos métodos de extracción para fósforo. Bray y Kurtz² presentaron una combinación de HCl y NH₄F para separar fácilmente las formas ácidas de P soluble. Posteriormente en 1984, Mehlich³ desarrolló una nueva solución extractante multi-elemento llamada Mehlich-3,

que es adecuada para la determinación de P y otros elementos en suelos ácidos y neutros. Por su parte Olsen y Sommers⁴, introdujeron la solución de bicarbonato de sodio 0,5 M (pH de 8,5) para extraer P de suelos calcáreos, alcalinos y neutros. Otros métodos utilizados para la extracción de este elemento son: resinas de intercambio aniónico (AER)⁵ y el papel impregnado con óxido de hierro (Pi test)⁶ en una de matriz de agua, los cuales pueden ser usados en una amplia gama de suelos. Por lo tanto, la selección de una solución extractante de P dependerá de las especies químicas de P presentes en el suelo, ya que una mala selección conducirá a sobre-estimaciones o sub-estimaciones de las cantidades de P presentes en el suelo.

En Venezuela, los sistemas para la recomendación de fertilización se basan en la disponibilidad de nutrientes determinados por medio del análisis químico del suelo.

La cantidad a recomendar para ser aplicado al suelo dependerá en gran parte de la calidad de los análisis. Por otra parte, en los Andes Venezolanos, la mayoría de los suelos tienen a ser ácidos, por lo que es de sumo interés el estudio de métodos químicos con fines de fertilidad en este tipo de suelos con un alto potencial agrícola.

El objetivo del trabajo fue la evaluación y comparación de los principales métodos extractantes de P que se utilizan en el país (Olsen y Bray-Kurtz) haciendo énfasis en el efecto del pH del suelo, para lo cual se utilizaron dos muestras de suelos provenientes de la localidad de Mucuchíes, municipio Rangel del estado Mérida, ya que en esta región se concentra gran parte de la producción hortícola de los Andes Venezolanos.

Materiales y métodos

Equipos

Las cantidades de reactivos y muestras se pesaron en una balanza analítica marca Ohaus Corp., modelo Adventurer AR2140, con capacidad máxima de 210 gramos y apreciación de $\pm 0,0001$ gramos.

Las muestras de suelo se colectaron con un pala cuadrada marca Bellota, modelo 3101 MFV y para el tamizado de las mismas se utilizó un tamiz N° 10 (2 mm de apertura) marca Dual Manufacturing Co.

Los valores de pH se obtuvieron en un pH-metro Sper Scientific, modelo Benchtop Water Quality Meter 860033, con apreciación de $\pm 0,02$ unidades de pH.

Los espectros UV-Visible fueron obtenidos en un espectrofotómetro Shimadzu Corporation, modelo UV-1601 el cual cuenta con un sistema fotométrico de doble haz, equipado con una lámpara de deuterio para el ultravioleta y una lámpara de tungsteno-yodo para el visible-infrarrojo cercano, proporcionando un rango de medición de longitud de onda entre 190-1100 nm. Utiliza celdas cuadradas de cuarzo con una longitud óptica de 10 mm.

Reactivos

En la preparación de las soluciones acuosas se utilizó agua ultra-pura proporcionada por un sistema Milli-Q (MQ).

Solución Bray-Kurtz: se mezclaron en un vaso de precipitado 30 mL de solución 0,1 eq/L de NH_4F (Riedel-de Haën, 98 %) y 50 mL de solución 0,5 eq/L de HCl (Riedel-de Haën, P.A), se ajustó el pH a 2,60 con solución 0,5 eq/L de HCl ó NH_4OH (Riedel-de Haën, P.A) al 10 % P/V. La solución resultante se transfirió a un balón aforado de 1 L y se enrasó con agua MQ hasta la línea de aforo. La solución resultante posee concentraciones de 0,03 eq/L de NH_4F y 0,025 eq/L de HCl.

Solución Olsen: en un balón aforado se preparó un litro de solución 0,5 mol/L de NaHCO_3 (Sigma-Aldrich, ACS) con

agua MQ, ajustando el pH a 8,50 con solución 1 mol/L de NaOH (Sigma-Aldrich, ACS).

Solución estándar de 50 mg/L de fósforo en medio ácido a partir de fosfato ácido de potasio anhidro: se prepararon 500 mL de solución en un matraz aforado pesando $0,1099 \pm 0,0050$ g de KH_2PO_4 (Riedel-de Haën, 99,5 %) y disolviéndolos en 400 mL de solución extractora Bray-Kurtz aproximadamente. Una vez disuelto se enrasó con solución Bray-Kurtz hasta la línea de aforo.

Solución estándar de 50 mg/L de fósforo en medio alcalino a partir de fosfato ácido de potasio anhidro: se prepararon 500 mL de solución en un matraz aforado pesando $0,1099 \pm 0,0050$ g de KH_2PO_4 (Riedel-de Haën, 99,5 %) y disolviéndolos en 400 mL de solución extractora Olsen aproximadamente. Una vez disuelto se enrasó con solución Olsen hasta la línea de aforo.

Solución ácida de molibdato: se pesaron $12,50 \pm 0,05$ g de $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, 99,98 %) y se disolvieron en 25 mL de agua MQ. Se pesaron y adicionaron $0,3031 \pm 0,0050$ g de $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (tartrato de potasio y antimonio III, Sigma-Aldrich, ACS). La solución resultante se transfirió a un balón aforado de 250 mL en un baño de hielo-agua, se adicionó 200 mL de H_2SO_4 (ácido sulfúrico ≥ 95 %, Sigma-Aldrich) en porciones de 10 mL con agitación. Al culminar la adición de ácido, se dejó enfriar y se completó hasta la marca de aforo con agua MQ.

Solución de ácido ascórbico: se pesaron $8,80 \pm 0,05$ g de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (ácido ascórbico, Sigma-Aldrich, grado reactivo), y se disolvieron en 85 mL agua MQ. Una vez disuelto se transfirió a un matraz de 100 mL y se completó hasta la línea de aforo con agua MQ.

Preparación del modelo de calibración

A partir de las soluciones patrón de 50 mg/L de fósforo, se prepararon soluciones contentivas del analito (0,2 - 5,0 mg/L de P). La medición de los patrones acuosos se realizó en forma aleatoria y la calibración del método se realizó utilizando el algoritmo de regresión lineal simple.

Muestras

La recolección de las muestras se realizó en el municipio Rangel, específicamente en dos parcelas del Campo Experimental Mucuchíes, del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-Mérida) cuya ubicación geográfica queda determinada por las coordenadas: Latitud $08^\circ 45' 51''$ N, Longitud $70^\circ 53' 09''$ W, Altitud 3.130 msnm. Se realizó una toma de muestra sistemática usando como patrón irregular la forma W (zig-zag) de manera aleatoria⁷.

Tratamiento de muestras

Se limpió la superficie del sitio seleccionado para tomar la muestra de suelo y se colectaron a una profundidad de 0-20 cm con la utilización de una pala. Posteriormente se

colocaron en recipientes limpios y secos⁸ para el traslado al laboratorio, donde las muestras recolectadas fueron secadas al aire por 72 horas. Una vez secas se desterraron y se tamizaron empleando un tamiz de 2,0 mm para su posterior análisis, el cual se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigaciones en Análisis Químico Industrial y Agropecuario (LIAQIA).

Procedimiento general

A partir de las muestras de suelo homogenizadas se determinó el pH en agua⁹ con un pH-metro en una relación 1:2,5 suelo:agua. El contenido de P disponible en cada muestra se cuantificó utilizando la solución extractante de Bray-Kurtz y la solución de Olsen en una relación suelo:extractante 1:10 para Bray-Kurtz y 1:20 para Olsen, con una agitación de 5 minutos para el primer método y 30 minutos para el último.

Para validar las metodologías se empleó un material holandés de referencia certificado, ISE 982, con valor recomendado de 4,23 y 5,53 µg P/g de suelo para los métodos de Olsen y Bray-Kurtz respectivamente. Este material certificado se adquirió a través del programa WEPAL (Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories) de la Universidad de Wageningen en Holanda. En los sobrenadantes, el contenido de P disponible fue cuantificado por el método del ácido ascórbico¹⁰, en medio ácido y en presencia de molibdato amónico. En estas condiciones el complejo se forma a partir de la reacción de PO₄³⁻, o formas protonadas del mismo (HPO₄²⁻, H₂PO₄⁻, H₃PO₄) con molibdato en solución ácida y reducción hasta la formación de un compuesto heteropoliaácido de color azul. Como agente reductor se utiliza el ácido ascórbico y el desarrollo de la coloración se acelera utilizando un catalizador de tartrato doble de antimonio y potasio, una vez formado el complejo, éste es susceptible a ser determinado colorimétricamente empleando el espectrofotometro¹¹. Las muestras se analizaron a λ= 890 nm.

Análisis de datos

Para ello se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, se evaluó la normalidad de los datos con el paquete estadístico MINITAB 15 el cual arrojó que los mismos se comportan de manera normal y se realizó estadística descriptiva con SPSS a un nivel de significancia de p < 0,05.

Resultados y discusión

Curvas de calibración

Para el análisis de P disponible en las muestras de suelos se realizaron las curvas de calibración pertinentes para cada método las cuales se muestran en la figura 1.

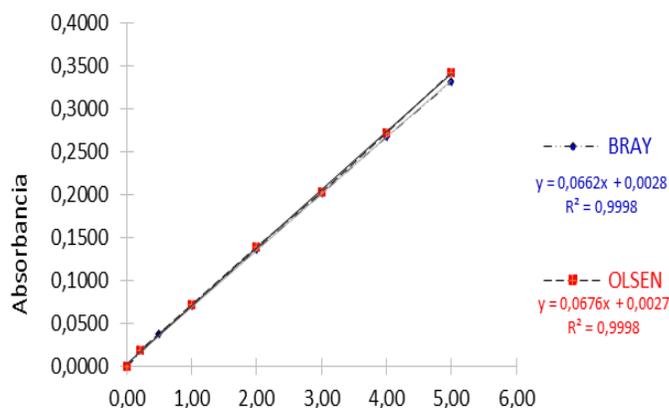


Fig.1: Curva de calibración para fósforo disponible para los métodos de Olsen y Bray-Kurtz.

La figura 1 muestra las curvas de calibración de fósforo disponible para los métodos de Olsen y Bray-Kurtz utilizados en esta experiencia, donde ambas curvas poseen un factor de determinación iguales con intervalos de concentración de (0,20 - 5,00) µg P/mL. Los resultados se ajustan a la ecuación de la recta con coeficientes de correlación de 0,9998 para ambos casos. Es de destacar que cada medida se realizó por triplicado y para la gráfica se usó el programa Excel de Office 2010 para Windows XP.

Determinación del fósforo disponible en los suelos estudiados

La determinación de este elemento se realizó en dos parcelas, donde la primera se encontraba bajo manejo agrícola con pH de 4,85 para el suelo y la segunda parcela sin manejo agrícola o en “descanso” con pH de 5,54. A continuación se muestran en la tabla 1 y tabla 2 los análisis correspondientes a cada parcela.

Tabla 1: Concentración de P disponible y análisis estadístico de la muestra con manejo agrícola.

Método Parámetro	Olsen	Bray-Kurtz
pH	4,85	4,85
Concentración media de P del suelo (µg/g)	53,3	253,0
Desviación estándar	3,8	4,2
Varianza	14,4	17,3
Coefficiente de variación CV %	7,1	1,7
n	16	16

Tabla 2: Concentración de P disponible y análisis estadístico de la muestra sin manejo agrícola.

Método Parámetro	Olsen	Bray-Kurtz
pH	5,54	5,54
Concentración media de P del suelo en (µg/g)	19,7	38,7
Desviación estándar	0,9	0,8
Varianza	0,7	0,6
Coefficiente de variación CV %	4,3	2,1
n	16	16

Al observar las tablas 1 y 2, se puede apreciar que los pH obtenidos para las dos muestras seleccionadas fueron de 4,85 en la parcela intervenida con manejo agrícola y 5,54 para la que no ha sido intervenida o en “descanso”. El pH permite clasificar estos suelos como muy fuertemente ácido y fuertemente ácido respectivamente¹².

Los resultados del análisis de P disponible en las muestras de suelo mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de P disponible extraído por las soluciones de Bray-Kurtz y Olsen. Se observa que el extractante Bray-Kurtz extrajo mayor cantidad de P en comparación con Olsen, posiblemente, estos resultados se pueden atribuir a que la solución ácida de Bray-Kurtz promueve la disolución parcial de los coloides inorgánicos, y las formas extraídas de P unido al calcio (Ca-P), hierro (Fe-P) y aluminio (Al-P)¹³. Mientras que los valores obtenidos por el método de Olsen se deben a la posible disolución del fósforo orgánico debido al alto pH (8,50) de la solución extractante¹⁴, ya que en suelos ácidos se inhibe la formación de carbonatos, lo que no permite la liberación del P proveniente de las formas inorgánicas antes mencionadas. En tal sentido, al analizar los parámetros estadísticos, específicamente los coeficiente de variación (CV %) en el método de Olsen son mayores que los de Bray-Kurtz lo que indica que este último es más preciso que el primero.

Análisis de muestra certificada

Los resultados obtenidos del análisis de la muestra certificada ISE 982 de la WEPAL se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Análisis de la muestra de suelo ISE 982 certificada.

Método Parámetro	Olsen	Bray-Kurtz
pH	5,65	5,65
Concentración media de P del suelo en ($\mu\text{g/g}$)	3,26	5,69
Desviación estándar	0,41	0,22
Varianza	0,17	0,05
Coefficiente de variación CV %	12,41	3,89
n	3	3

Al comparar el pH 5,65 obtenido, con la muestra certificada pH 5,67 no existe diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los valores, lo que indica pH ácido, ahora bien al comparar los resultados de P obtenidos de la evaluación hecha a la muestra certificada con lo reportado por la WEPAL, se observa que para el caso del método de Olsen se obtuvieron 3,26 μg de P por gramo de suelo, mientras que la WEPAL señala 4,23 μg P por gramo de suelo, lo que indica diferencias significativas ($p < 0,05$), entre lo obtenido y lo reportado. Por otra parte, para el caso de Bray-Kurtz se obtuvo 5,69 μg de P por gramo de suelo, mientras que la WEPAL señala 5,53 μg de P por gramo de suelo, donde no existe diferencias significativas ($p > 0,05$) entre estos valores. De igual manera al comparar los coeficientes de variación se observa

que el método de Bray-Kurtz sigue siendo más preciso que Olsen para suelos con pH ácidos.

Cabe destacar que los resultados de la WEPAL proviene de un promedio realizado de 21 laboratorios para el método de Olsen y de 18 laboratorios para Bray-Kurtz.

De acuerdo a los resultados obtenidos se tiene que el método de Bray-Kurtz es de fácil aplicación y el más indicado a ser usado en laboratorios de diagnóstico con fines de fertilidad y recomendación de uso de fertilizantes en suelos ácidos. Afirmación que coincide con investigaciones similares en la determinación de P intercambiable en suelos ácidos¹⁵.

Conclusiones

El extractante de Bray-Kurtz extrae más P disponible que la solución de Olsen, además, se observan diferencias significativas entre los suelos estudiados.

El método de extracción de P disponible por Bray-Kurtz resulta ser más preciso en suelos con pH ácidos que Olsen.

La aplicación del método de Bray-Kurtz para la determinación de P disponible en suelos ácidos con fines de fertilidad, ofrece resultados más precisos y exactos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración brindada al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes, por el apoyo a través del proyecto C-1772-12-08-B y al Laboratorio de Suelos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) CIAE-Mérida.

Referencias

1. J Fardeau, C Morel, R Boniface. Pourquoi choisir la methode Olsen pour estimes le phosphore assimilable des sols. *Agronomie*, **8(7)**, 577-584 (1988).
2. R Bray, L Kurtz. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.*, **59**, 39-45 (1945).
3. A Mehlich. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Comm. Soil Sci. Plant An.*, **15**, 1409-1416 (1984).
4. S Olsen, L Sommers. Phosphorus. In *Methods of soil analysis; chemical and microbiological properties. Part 2.* Ed. by A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney. American Society of Agronomy/Soil Science Society of America: Madison, Wisconsin, 403-430 (1982).
5. A Sharpley. Bioavailable phosphorus in soil. In *Methods for phosphorus analysis for soils, sediments, residuals, and waters. Second Edition.* Ed. by J.L. Kovar and G.M. Pierzynski. Southern Cooperative Series Bulletin No 408. Virginia Tech University: USA. 38-43 (2009).
6. W Chardon. Phosphorus extraction with iron-oxide impregnated filter paper (Pi test). In: *Methods for phosphorus analysis*

- for soils, sediments, residuals, and waters. Second Edition. Ed. by J.L. Kovar and G.M. Pierzynski. Southern Cooperative Series Bulletin No 408. Virginia Tech University: USA. 25-28 (2009).
7. M Vidal. Toma de muestra. En: Toma y tratamiento de muestras. Editorial Síntesis: España. 92-116 (2002).
 8. H Rodríguez, J Rodríguez. Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación. Editorial Trillas: México. **196** (2002).
 9. A Carrero, A Zambrano, F Contreras. Fraccionamiento de fósforo en un suelo cultivado con cacao. En la localidad de San Juan de Lagunillas, municipio Sucre del estado Mérida. Editorial Académica Española: Saarbrücken, Alemania. 22-23 (2014).
 10. A Javier, S Crouch, H Malmstadt. Investigations of formation of 12-molybdophosphoric acid utilizing rapid reaction-rate measurements. **Anal. Chem.**, **40(13)**, 1922-1925 (1968).
 11. J Murphy, J Riley. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Anal. Chim. Acta**, **27**, 31-36 (1962).
 12. R Casas. El suelo de cultivo y las condiciones climáticas. Ediciones Paraninfo: España. **35** (2011).
 13. R Júnior, F Oliveira, H Santos, F Freire, J Arruda. Extrações de fósforo inorgânico do solo e suas correlações com o fósforo quantificado por extratores e pelo milho. **R. Bras. Ci. Solo**, **36(2)**, 159-169 (2012).
 14. K Tan. Soil Sampling, Preparation, and Analysis. Marcel Dekker, INC. New York 153-170 (1996).
 15. M González, M López, G Moreno, R Comese, M Madero. Comparación de los métodos de Bray & Kurtz N° I y Mehlich III en la determinación de la disponibilidad de fósforo en suelos con fertilizaciones continuas. **CI. Suelo (Argentina)** **25(1)**, 23-29 (2007).

