O/H.12241
F29
VI

42510

CENTRO REGIONAL DE ESTUDIOS AVANZADOS

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO DE SUELOS

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES
BIBLIOTECA
Dr Manuel
Belgrano

INTRODUCCIÓN

El suelo es el resultado de la meteorización de las rocas y de la descomposición de las materias procedentes de las plantas y los animales que pueden haber estado asociado con él.

Si los procesos que han tenido lugar fueron físicos en su mayor parte, el suelo se parecerá mucho a la roca originaria en su composición química y mineralógica y las diferencias son debidas al grado de división de las partículas del suelo. Si además las partículas de las rocas estuvieron sujetas a la acción disolvente del agua que contenía ácido carbónico y otros ácidos fuertes, y las sustancias disueltas fueron acarreadas con el agua de drenaje, (ejemplo en zonas húmedas) se produjeron cambios tanto en las caracteristicas físicas como en las químicas de los materiales de las rocas. Bajo tales condiciones, la parte inorgánica del suelo, está constituida por una acumulación de residuos minerales, finamente divididos y relativamente insolubles que tienen muy poca semejanza con las rocas originarias.

El examen mas superficial de los suelos revelará la inmensa variedad de su composición y estructura; sin embargo existen ciertos componentes presentes en todos los suelos, lo que dá unidad a su estudio. Estos componentes son :

- MATERIA MINERAL.
- MATERIA ORGÁNICA.
- HUMEDAD DE SUELO.
- AIRE DE SUELO.

Los dos últimos componentes son variables dependientes y determinadas en cantidad y carácter por la materia mineral y la orgánica. Así pues, podemos concebir al suelo como un sistema de tres fases y cuatro componentes, y cada componente contiene un indefinido número de constituyentes.

En un esquema teórico del suelo, el espacio sólido esta constituido por un 45% de materia mineral y un 5% de materia orgánica. Nótese que contiene un 50% de poros, en los cuales circula agua (solución del suelo) o aire.

INDICE

INTRODUCCIÓN	2-3
CAPITULO N° 1:	**5-17**
Toma, recepción y manejo de las muestras en el laboratorio.	
Relevamiento y cartografía	
Evaluación de Salinidad y/o Alcalinidad	
Evaluación de la Fertilidad Física (estabilidad estructural)	
Evaluación de Fertilidad Química para parámetros que no varían notablemente en el corto plazo.	
Evaluación de la Fertilidad Química para parámetros que pueden variar notablemente en el corto plazo (Nitratos y Amonio).	
TOMA DE MUESTRAS A CAMPO	
Consideraciones finales referidas a la FORMA DEL MUESTREO.	
RECEPCIÓN DE MUESTRAS.	
CAPITULO N°2.	**18-65**
2.1. *DETERMINACIONES FISICO - QUIMICAS.*	
2.1.1. CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIÓNICO Y CATIONES INTERCAMBIABLES.	
2.1.2 pH DEL SUELO	
2.1.3. DETERMINACIÓN DE FÓSFORO ASIMILABLE EN SUELOS, TÉCNICA DE BRAY Y KURTZ.	
2.1. 4. MATERIA ORGÁNICA	
2.1.5. NITRÓGENO TOTAL	
2.1.6. NITRATOS. MÉTODO DEL ÁCIDO FENOLDISULFONICO	
2.1.7. DETERMINACIÓN DE SULFATOS	
2.1.8. METALES PESADOS	
2.1.9. SODIO Y POTASIO TOTAL.	

CAPITULO N° 1.

TOMA, RECEPCIÓN Y MANEJO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO.

El tipo de muestra, simple o compuesta, superficial o profunda, variará con el objetivo del análisis. Se distinguen entre ellos :

- Relevamiento y Cartografía.
- Evaluación de Salinidad y/o Alcalinidad.
- Evaluación de Fertilidad Física (estabilidad estructural).
- Evaluación de Fertilidad Química para parámetros que no varían notablemente en el corto plazo (por ejemplo: pH, fósforo, nitrógeno, materia orgánica, calcio, magnesio, potasio y sodio).
- Evaluación de Fertilidad Química para parámetros que varían notablemente en el corto plazo (ejemplo: nitratos y amonio).

Relevamiento y cartografía

Se trata de muestras simples y de profundidades variables, se utiliza para la confección de mapas básicos de suelos, permite determinar sus limitaciones permanentes y su clasificación por capacidad de su uso o evaluación de aptitud.

Requiere la apertura de calicatas y pozos de observación con profundidades que varían entre 1 y 2 mts. Las muestras se toman en cada horizonte o capa identificadas con el cuchillo de campo utilizado en el reconocimiento, comenzando con el horizonte o capa mas profunda y siguiendo hacia arriba, para evitar

contaminaciones por desmoronamiento. Además se recomienda tomar cada muestra del centro de cada horizonte o capa, alejada de los limites entre los mismos. Se deben colocar en doble bolsa de plástico y la pertinente identificación, entre ambas. La intensidad de muestreo estará en relación a la escala de trabajo.

Evaluación de Salinidad y/o Alcalinidad

La concentración de sales en los suelos puede variar notablemente según la distancia vertical, horizontal y el tiempo transcurrido entre muestreos y ocurrencia de inundaciones o riegos.

Lineamientos para la toma de muestras:

a) Toda costra salina que aflore a la superficie se extrae por separado, anotándose la profundidad aproximada de muestreo.

b) Si el suelo presenta evidencia de desarrollo del perfil o estratificación, se toman las muestras por horizontes o capas.

c) Si no hay desarrollo del perfil o estratificación definida, las muestras superficiales (exceptuando la costra) se recogen de la profundidad del suelo arable, que generalmente es de 15 a 18 cm.

d) Según sea la profundidad de la zona radical, la naturaleza del problema en estudio y el detalle requerido, se extraen muestras a intervalos de 15 a 45, de 45 a 90 y de 90 a 180 cm., o cualquier otro intervalo que se juzgue conveniente.

e) Si son de sectores homogéneos formar muestras compuestas usando mezclas.

Evaluación de la Fertilidad Física (estabilidad estructural)

Se requiere un cuidado especial y conocimiento técnico adecuado para asegurar que las muestras a comparar correspondan al mismo nivel taxonómico (serie de suelos) y que no presentan fases diferentes (por ejemplo erosión hídrica o eólica). Esto se determina a través del uso del mapa básico de suelos o de la comprobación a campo.

En cada estación se extiende una bolsa plástica de 40 x 100 cm. sobre la cual se depositan cada una de las submuestras que en número de 10-12 se tomarán con pala a una profundidad de hoja (20 cm.), en sendos puntos de un círculo imaginario alrededor de la estación. De cada submuestra se descartan manualmente los sectores compactados por el corte de la hoja de la pala y con movimientos de traslado entre ambas manos los agregados muy pequeños, quedando aquellos con un tamaño de aproximadamente 3-5 cm. de arista. Si existen agregados de mayor tamaño se fracturan respetando los planos de clivaje natural.

Los agregados así obtenidos se colocan en recipientes rígidos de alrededor de un litro de capacidad (por ejemplo una lata de aceite) para formar la muestra compuesta de 10-12 submuestras por estación. Las latas se embolsan y cierran con el objeto de mantener la humedad natural. Se las rotula exteriormente o con una etiqueta colocada entre la lata y la bolsa. De tal modo quedarán al menos dos muestras por lote que serán las dos repeticiones requeridas para este análisis.

Evaluación de Fertilidad Química para parámetros que no varían notablemente en el corto plazo.

La muestra será representativa del área en estudio.

Para cultivos extensivos de labranza convencional en la profundidad de arada, se obtiene del lote o situación una muestra final, compuesta de varias submuestras (una cada 2-3 has.), que tiene un peso aproximado de 1 kg. Por lo tanto las instrucciones de muestreo se deben cumplir con cuidado, pues un mal muestreo es peor que ninguno. El error de toma de muestra es mayor que el error de los análisis de laboratorio.

Evaluación de la Fertilidad Química para parámetros que pueden variar notablemente en el corto plazo (Nitratos y Amonio).

Presentan alta variabilidad espacial, preferentemente vertical y temporal a causa de su alto riesgo de lixiviación con el agua de lluvia, sobre todo en suelos de texturas franco arenosas a mas gruesas, y de su aumento cuando las condiciones de humedad y temperatura favorecen una alta tasa de mineralización del nitrógeno orgánico.

La profundidad de muestreo debe ser de 0 a 20 cm., 20 a 40 cm. y 40 cm. para evaluar nitratos y/o amonio para el diagnóstico de fertilización.

La época de muestreo debe ser lo mas cercana posible a la de siembra. Se recomienda tomar las muestras 20 a 25 días antes de la siembra.

El acondicionamiento es crucial ya que debe mantenerse la muestra en frío (heladera o freezer) desde el momento de muestreo, si no se lleva inmediatamente al laboratorio. Durante el transporte al mismo, NO debe cortarse la cadena de frío por lo que se recomienda colocar las muestras en conservadoras de telgopor con refrigerantes.

En lo posible las muestras deben llegar al laboratorio dentro de las 48 hs. de extraídas.

TOMA DE MUESTRAS A CAMPO

Instrumentos

Un instrumento de muestreo requiere dos condiciones importantes: **1**) que tome una capa uniforme desde la superficie hasta la profundidad de inserción del instrumento; **2**) que obtenga el mismo volumen de suelo de cada área.

Se usan los barrenos tubulares, que además toma un volumen suficientemente pequeño como para colocar varias submuestras en una bolsa de 0,5 kg. de capacidad. Con estos barrenos se trabaja bien en casi todas las circunstancias, excepto en situaciones de extrema sequedad, praderas viejas, impedancias físicas subsuperficiales (como piso de arado, horizonte B fuertemente textural).

También se puede utilizar una pala, clavando siempre a la misma profundidad, en sentido estrictamente vertical, y tomando solo la parte central del material obtenido.

Profundidad.

Se debe tener en cuenta el objetivo para el cual se realiza el análisis, la profundidad de los horizontes, el tipo de labranza, la zona de mayor densidad de raíces y la naturaleza del cultivo (anual o perenne).

En lotes agrícolas de labranza convencional se toman muestras hasta la profundidad de arada. En pasturas, en los primeros 10-15 cm. En cultivos de raíces profundas y plantaciones forestales y frutales se extraen muestras a diferentes profundidades (30, 60 y 90 cm.).

Superficie.

La superficie a muestrear debe ser homogénea. Ante diferencias notorias de suelo, relieve, erosión u otra característica, se divide el área según las mismas y se muestrean por separado. La superficie máxima, de características homogéneas, NO debe ser mayor de 50 has. en cultivos extensivos, tomando una muestra simple cada 2 o 3 has., recorriendo en zig-zag las diagonales del lote o sector.

Acondicionamiento.

Con el conjunto de las muestras simples se obtiene la muestra compuesta final, que se homogeneiza y cuartea. Para ello se mezcla la tierra obtenida y se reduce la cantidad hasta obtener una fracción de aproximadamente 0,5 kg. de peso.

Época de muestreo.

Los parámetros que se determinan (pH, materia orgánica, bases de cambio, calcio, nitrógeno total) no varían rápidamente (ello significa que las muestras para las recomendaciones de fertilización, que NO incluyan nitratos, no han de ser tomadas inmediatamente antes de sembrar). Por tal motivo las muestras pueden ser tomadas al final del verano o en el otoño.

Precauciones del muestreo.

- NO tome submuestras cerca de : alambrados, aguadas, comederos, caminos; son lugares donde la concentración de nutrientes es anormal.
- NO utilice bolsas que hayan contenido fertilizantes o semillas tratadas con órgano- fosforados.
- Evite muestrear inmediatamente luego de lluvias de mas de 20 mm.
- Limpie bien los elementos de muestreo cuando cambie de potrero o situación.
- En ningún caso se debe poner la tarjeta identificatoria en contacto directo con el suelo pues los microorganismos la destruirán rápidamente y se perderá su identificación.

Consideraciones finales referidas a la FORMA DEL MUESTREO.

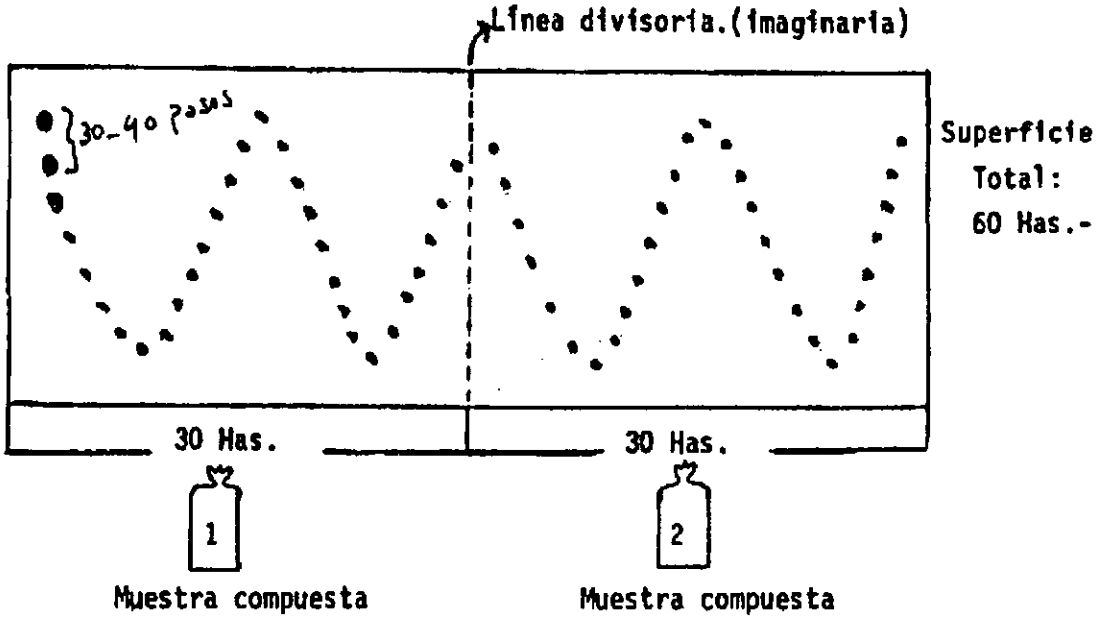
La idea es extraer una MUESTRA COMPUESTA cada 30 has. de superficie, aproximadamente. Dicha muestra estará compuesta por 30 sub muestras extraídas

entre los 15-20 cm. de profundidad, o sea a razón de 1 sub muestra por hectárea de superficie. Si la superficie a muestrear es mayor, se divide de tal forma que queden áreas de aproximadamente 30 has. de superficie; si fuera menor, por ejemplo 15 has. de superficie, también se deberán extraer por lo menos 25 a 30 submuestras, para formar la muestra compuesta.

Para decidir la forma en que se muestreará, hay que tener en cuenta lo siguiente:

1. *Topografía de la superficie a muestrear.*
2. *Historia de la superficie a muestrear.*
3. *Manejo agronómico.*

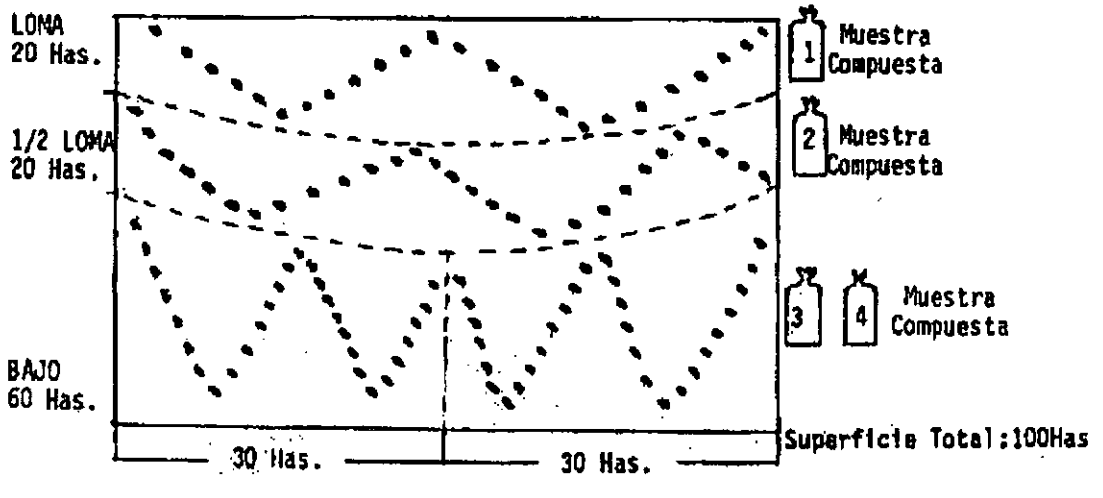
Por ejemplo: nos encontramos en un lote o potrero de 60 has. de superficie con una topografía plana, (sin pendientes significativas), el manejo agronómico y la historia del potrero o lote, es idéntico en toda su superficie:



El esquema nos indica la forma correcta de la toma de muestra. Cada punto en el plano significa el lugar físico de la extracción de 1 sub muestra, entre ellas una distancia de 30 a 40 pasos aproximadamente.

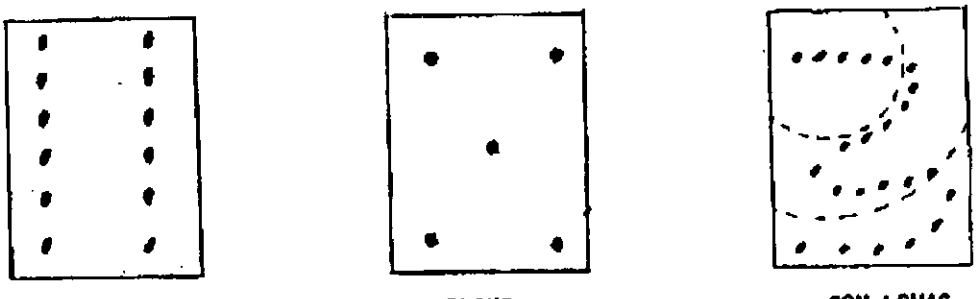
Todas las sub muestras extraídas se llevan a recipiente limpio, mezclando y desmenuzando perfectamente el suelo; de allí extraer aproximadamente un kilogramo y medio de suelo y enviarlo al laboratorio.

Otra situación sería en un potrero o lote con una topografía que posee pendientes significativas, lomas, medias lomas y bajos, donde la fertilidad se acumula en los bajos:



Cabe recordar que en la loma y media loma se deberán extraer 25 a 30 sub muestras.

Formas INCORRECTAS de toma de muestra:



PLANO PLANO CON LOMAS

Identificación.

Colocar la muestra en doble bolsa de plástico, la primera de color negro para impedir la influencia de la luz y la segunda podrá ser transparente u opaca, entre ambas bolsas la tarjeta identificatoria en la que se consigna: nombre del establecimiento, número de lote, profundidad de muestreo y muestreador.

Información complementaria.

Se deben completar las planillas suministradas por el laboratorio, en las que se solicita generalmente información agronómica utilizada para elaborar el diagnóstico y las recomendaciones finales.

RECEPCIÓN DE MUESTRAS.

1.- IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.

En el programa de computadora del CREACyT, el recepcionista le da un Número de Entrada (solicitud) y un número de muestra a la ó las muestras que se reciban. Se confecciona un protocolo de recepción en donde figura el N° de solicitud y N° de las muestras; con un protocolo de información complementaria por muestra.

El número de protocolo identifica a la muestra en todo momento desde la recepción hasta el informe técnico.

En cada muestra se identifica:

- Tipo de muestra: suelo, humus, lombricompuesto, etc.
- Ubicación de la muestra: horizontes, subsuelo 40 cm. de profundidad, etc.
- Procedencia de la muestra: campo, ubicación, ciudad, provincia, etc.
- Datos del solicitante: identificación, dirección, teléfono, fax
- Datos del muestreador: nombre, dirección, teléfono, etc.

A las muestras de suelo recepcionadas en el laboratorio, se las somete la los siguientes procedimientos antes de realizar los análisis físico-químicos. Estos procedimientos colocados de acuerdo al orden de realización son: secado, molido, tamizado, mezclado, cuarteo, envasado y almacenamiento.

1.- SECADO

Las muestras se extienden sobre bandejas de plástico color blanco de 30 x 60 x 06 cm. colocar las bandejas sobre las mesadas para su secado al aire o bien en estufas con circulación de aire a una temperatura de 20 a 35 °C.

2.- MOLIDO

El molido se realiza en mortero de ágata con mango del mismo material. El tamaño final a que se reduzca la muestra está en relación con el tipo de análisis que se necesite. Debe evitarse cuidadosamente moler las partículas de gravas y arenas.

3.- TAMIZADO

Las muestras de suelo procedentes del campo, lombricompuesto o mezclas específicas se pasan por tamiz de malla 3 mesh, usando una espátula de goma para deshacer los agregados. Se separan las gravas y elementos que quedan sobre el tamiz. Pesar y calcular su proporción., para hacer la corrección correspondiente en los cálculos finales.

Posteriormente se pasan por tamiz de malla 9 mesh, para macrodeterminaciones y por tamiz de malla 32 mesh, una porción mas pequeña para microdeterminaciones.

Los sustratos y vegetales por tamiz de malla 16 mesh.

4.- MEZCLADO Y CUARTEO

- colocar la muestra sobre un lienzo fuerte.

- tomar en diagonal por sus dos esquinas, acercar una esquina sobre la otra tratando de que el suelo se enrolle.
- repetir varias veces hasta lograr una mezcla homogénea.
- cuartear.
- separar una alícuota y envasar.

5.- ENVASADO Y ALMACENAMIENTO.

Las muestras se colocan dentro de bolsas de plástico, provistas de etiquetas, interior y exteriormente, que permitan identificarlas sin dificultad.

Generalmente, una vez analizadas las muestras, se desechan. Sin embargo, hay ocasiones en que es preciso conservarlas, bien por haber determinado una serie de microelementos o por tener necesidad de conocer, al cabo del tiempo, alguna cualidad. El tiempo de conservación es de 1 mes. Se acondicionan en bolsas de plástico dentro de un cajón o una conservadora de telgopor, tapadas para evitar contaminaciones.

CAPITULO N°2.

2.1. *DETERMINACIONES FISICO - QUIMICAS.*

2.1.1. CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIÓNICO Y CATIONES INTERCAMBIABLES.

La capacidad de intercambio cationico **(CIC),** es una medida de la cantidad de cargas negativas presentes en el suelo, debido principalmente a sustituciones isomórficas internas en las láminas de los minerales silicatados, disociación de radicales de ácidos orgánicos y adsorción diferencial de ciertos iones sobre la superficie de las partículas.

Dichas cargas son balanceadas por iones de carga opuesta llamados cationes intercambiables **(CI).**

Las metodologías que pueden ser utilizadas para obtener los CI y la CIC son varias y responden a los siguientes criterios:

- Los CI se desplazan con una solución y la CIC se estima por la suma de los CI desplazados.
- Luego de saturar la CIC, con un catión saturante, el catión absorbido se desplaza por otra solución sin un tratamiento posterior del suelo. Se cuantifica el catión saturante y los aniones presente en el extracto y la CIC se calcula por la diferencia entre ambos.
- Luego de saturar la CIC, con un catión saturante, se lleva el suelo hasta no presencia del mismo con una solución no polar. La cantidad del catión

saturante absorbido se desplaza con una solución salina y su cantidad corresponde a la CIC del suelo.

MATERIALES DE LABORATORIO.

- Tubos de plástico de 50 ml. con tapa.
- Embudos de vidrio con distintos diámetros de boca.
- Matraces de 50 ml.
- Buretas: automáticas de 5 y 10 ml. o de vidrio de 25 ml.
- Erlenmeyer de 50, 100 y 250 ml.
- Agitador magnético con buzo.
- Agitador de vaivén (150 golpes por minuto).
- Vasos de precipitación de 50, 100, 250 y 1000 ml.
- Tubos de ensayo de vidrio de 10 ml.
- pipetas graduadas de 5 y 10 ml.
- Centrífuga BECKMAN modelo TJ - 6.
- pH metro ORION RESEARCH. Modelo 701 A / digital ionalyzer.

REACTIVOS.

1. Acetato de amonio: 1,0 N - pH 7,0.

En un vaso de precipitación de 2000 ml. agregar 900 ml. de agua bi-destilada, colocar un buzo y depositarlo sobre un agitador magnético.

Agregar, sobre el agua lentamente y agitando, 114 ml. de ácido acético glacial, con probeta de 150 ml.

Agregar, con sumo cuidado, bajo campana, 138 ml. de $HONH_4$ con probeta de 150 ml.

Llevar a 2000 ml. aproximadamente con agua bi-destilada.

Ajustar el pH con auxilio del pH metro previamente calibrado, adicionando $HONH_4$ o ácido Acético hasta alcanzar pH 7,00

Trasvasar cuantitativamente a un matraz aforado de 2000 ml. y enrasar con agua bi-destilada.

2. Solución ácida de NaCl al 10 %.

En un vaso de precipitación de 1000 ml. colocar 100 g. de NaCl. Agregar 500 ml de agua destilada, medida con probeta graduada.

Disolver por agitación con varilla de vidrio o con agitador magnético. Agregar 1 ml. de HCl (conc.) con pipeta graduada, agitando constantemente. Trasvasar cuantitativamente a un matraz de 1000 ml y enrasar.

3. Alcohol etílico al 70 %.

En un vaso de precipitación de 1000 ml verter 700 ml. de alcohol etílico 96° medidos con probeta graduada, y 260 ml. de agua destilada. Homogeneizar la solución.

4. Solución de cianuro de potasio al 2 % .

En un vaso de precipitación de 100 ml. colocar 2,0 g. de KCN y disolver con 50 ml. de agua destilada, agitando continuamente. Trabajar bajo campana de vidrio. Trasvasar a matraz aforado, enrasando a 100 ml.

Lavado.

Con el residuo que se obtuvo y se reservó luego de la extracción de los cationes, repetir el paso e) reemplazando el acetato de amonio por alcohol al 70 %.

Realizar un total de 4 lavados con el alcohol al 70 %. Reservar el residuo.

Extracción de la CIC.

Con el residuo que quedó luego del lavado con alcohol etílico, repetir el paso e) pero con NaCl 10 % acidulado.

Recoger el sobrenadante que queda en los tubos de plástico, luego de cada una de las 4 centrifugaciones realizadas, en un tubo de destilación de BÜCCHI

Realizar la destilación del amoniaco en el destilador de BÜCCHI de acuerdo a la técnica explicitada para la determinación de nitrógeno.

Recoger el destilado en un erlenmeyer de 500 ml, que contiene 20 ml. de ácido bórico al 4 % medidos con pipeta doble aforo de 20,0 ml. más 4 gotas del indicador mixto.

Titular con ácido sulfúrico 0,1 N hasta lograr el viraje del indicador de del amarillo al rojo vinoso.

Cálculos:

$$C.I.C. = V \cdot N \cdot F.H. \; 100/G_M$$

Donde:

C.I.C.= valor T ó Capacidad de Intercambio catiónico expresado en miliequivalentes totales en 100 g de suelo seco. (% mEq)

ml. SO_4H_2 = mililitros de ácido sulfúrico gastados.

N = normalidad del ácido sulfúrico.

F.H = factor de humedad.

G_M= cantidad de muestra expresada en gramos.

2.1.2 pH DEL SUELO

La determinación del pH y de las formas de acidez de los suelos tienen gran importancia agronómica. Al respecto se pueden señalar las siguientes aplicaciones: a) las plantas como todo ser viviente, para su mejor desarrollo requieren un hábitat adecuado; uno de los factores que conforman dicho hábitat es el pH del suelo. Es así que ciertas plantas prosperan mejor en suelos ácidos (como el *coliflor* y los *pinos),* mientras que otras, como la *alfalfa,* lo hacen en suelos moderadamente alcalinos. El pH del suelo está íntimamente ligado con la disponibilidad y solubilidad de los distintos nutrientes minerales. A pH *menor* de 5,5 disminuye la disponibilidad del **nitrógeno** (menor nitrificación) y la del **fósforo** (puede formar fosfatos de hierro y aluminio insolubles); a pH *mayor* de 8,5 disminuye la disponibilidad del **calcio** y del **magnesio** (forman carbonatos insolubles) y la del **hierro** (la concentración de Fe(III)

que puede existir a esos valores de pH es demasiado baja para proveer las necesidades de las plantas, aunque se trate de un elemento menor).

Una fuerte acidez favorece la presencia de elementos como el Al(III) y Mn(II) en proporciones que llegan a ser tóxicas para las plantas comunes.

Ciertas plantas requieren suelos con un rango de valores del pH determinados por la necesidad de prevenir infecciones; por ejemplo la *papa* en suelos neutros o alcalinos suele ser severamente afectada por la "tiña de la papa", en cambio la misma se restringe cuando el pH es inferior a 5,3 debido a que los actinomicetos productores de la peste se desarrollan pobremente en suelos ácidos.

El pH del suelo es una medida que refleja la actividad de los protones (H^+) del suelo, que tienen un efecto marcado sobre la fertilidad del mismo por ejemplo: disponibilidad de nutrientes. Es por lo tanto una medida de las propiedades químicas del suelo, ya que si este es ácido, neutro o básico lo es en función de la solubilidad de sus componentes, de las uniones relativas de los iones en los sitios de intercambio, de la actividad microbiana, del contenido de materia orgánica y humus, de los minerales que lo constituyen, de las condiciones climáticas, ambientales, del manejo del suelo, etc.

Es necesario realizar las mediciones de pH a *temperatura ambiente*.

Los factores que modifican el pH del suelo son:

- Componentes orgánicos e inorgánicos del suelo: Los distintos grupos funcionales ceden sus iones H^+ al medio en distintos rangos de pH.

- Efecto de dilución: Las suspensiones de suelo mas utilizadas son: *pastas de saturación y relaciones suelo : solución 1:1; 1:2; 1:2,5; 1:10.* El efecto de dilución de la suspensión de suelo produce un incremento del valor del pH medido. Este hecho se debe tener en cuenta cuando se desea trabajar con suspensiones que simulan las condiciones de campo (por ejemplo: pasta de saturación o relación 1:1).
- Efecto de sales solubles: Las sales de distinto origen presentes en el suelo disminuyen el pH del mismo por desplazamiento de los iones H^+ y Al (III). El uso de soluciones 0,01 M $CaCl_2$ y 1,0M KCl en lugar de agua permiten obtener valores de pH menos influenciados por cambios en las condiciones de manejo.
- Efecto del CO_2 del aire. El CO_2 de la atmósfera o del aire del suelo disminuye el valor del pH de la solución. Actualmente las suspensiones suelo - agua se agitan o baten pudiendo equilibrarse con el CO_2 del aire en las condiciones de trabajo. En los suelos ácidos el CO_2 prácticamente no tiene efecto sobre el pH. Solo en suelos con pH superior a 7,0, especialmente los que poseen $CaCO_3$ libre, el CO_2 disuelto por el equilibrio del CO_2 del aire tiene cierto efecto en el pH del suelo.

Medición del pH por método potenciométrico

Este método se basa en la medición del potencial eléctrico de una suspensión suelo-líquido. El liquido puede ser agua destilada ó solución de ClK 1,0 M ó $CaCl_2$ 0,01M.

Materiales.

- pH-Metro ORION RESEARCH. Modelo 701 A/digital ionalizer.
- Electrodos de vidrio y de referencia (calomel o Ag/ AgCl).
- Vaso de precipitación de 50 y 1000 ml.
- Probetas.
- Matraz de 1000 ml.
- Desecador.
- Varilla de vidrio.
- propipeta.
- pipetas de varias graduaciones.
- Tamiz de malla 9 mesh.

Procedimiento general

a) Soluciones patrones de pH 4,7 y 10 provistas por Merck .

b) Calibrar el pH-Metro con las soluciones patrón.

c) Insertar los electrodos y agitar la suspensión. Medir el pH al menos 3 veces. Lavar los electrodos con un chorro de agua bidestilada entre determinaciones y secar con papel de filtro.

a) pH actual (activo).

Es el valor del pH que se observa en el suelo cuando se le adiciona agua y está determinado por la disociación de los ácidos débiles y grupos con carácter de ácido débil existentes en el suelo. Si bien no hay uniformidad en cuanto a la relación

suelo : agua para efectuar la medición (1:2,5; 1:1; suelo saturado), se prefiere hacerlo en condiciones de suelo saturado pues ello se aproxima mas a lo real.

Procedimiento:

A una porción de suelo seco al aire, molido y tamizado, de unos 50 grs, se le agrega agua destilada en forma lenta, mezclando bien con una varilla de vidrio, hasta. que en la superficie permanezca una película brillante sin que se observe agua sobrenadante.

En el suelo saturado se introducen los electrodos (de vidrio y de referencia) y se procede a la lectura.

b) **pH hidrolítico:** Ofrece una información útil en el caso de suelos sódicos no salinos o pocos salinos. En ellos al disminuir la relación suelo-agua aumenta la hidrólisis y por lo tanto el pH. En los suelos muy sódicos el pH hidrolítico llega a ser hasta de una unidad mayor que el pH en un suelo saturado.

Procedimiento:

Se utiliza una relación suelo: agua 1:10. Si se determinó el pH actual, a la pasta de suelo se le agregan aproximadamente 9 partes de agua y se agita bien con varilla de vidrio; se deja reposar durante 1 hora. y se mide el pH en la solución sobrenadante.

c) **Medidas de acidez en cloruro de potasio y en cloruro de calcio**

Usualmente se utiliza una relación suelo : KCl de 1:2,5. Es una medida que provee información aproximada sobre la acidez potencial. El pH no queda determinado solamente por la disociación de los componentes de carácter ácido, sino que resulta

del desplazamiento de todos los protones intercambiables. Puede ser hasta 1,5 a 2 unidades de pH menor que la acidez actual.

Muchos laboratorios determinan el pH utilizando $CaCl_2$. El propósito es proveer una concentración salina constante y de esta manera reducir las diferencias en el pH debido a variaciones en la concentración de las sales solubles en mezclas de suelo : agua a distintas relaciones.

Además se representaría mejor la concentración de H^+ en el medio en que se desarrollan las raíces y microorganismos.Da una idea de la insaturación del suelo y el valor del pH es unas 0,5 veces menor que el pH a 1:2 en agua.

Reactivos. *Soluciones extractoras.*

- **Solución de cloruro de potasio 1,0 M.**

Pesar 74,6 g. de KCl p.a y disolver en vaso de precipitación de 1000 ml. con 950 ml. de agua bidestilada. Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar cuantitativamente a un matraz aforado de 1000 ml.

Enrasar con agua bidestilada.

- **Solución cloruro de calcio 0,01 M.**

En un vaso de precipitación de 1000 ml, agregar 1,11 g. de $CaCl_2$ p.a. y 950 ml. de agua bidestilada. Mezclar con varilla de vidrio. Trasvasar la solución a un matraz aforado de 1000 ml. Enrasar con agua bidestilada. El pH de esta solución debe estar entre 5,0 y 6,5; de no ser así ajustar el pH con HCl o $Ca(OH)_2$. La conductividad de la solución debe ser de 232 ± 80 mMohs/cm a 25°C.

Procedimiento.

Pasar la muestra por tamiz de malla 9 mesh. Pesar 12,0 g. de suelo seco al aire en balanza analítica. Colocarlo en un vaso de precipitación de 50 ml. Agregar 30 ml. de solución extractora con probeta graduada.

Agitar durante 30 segundos. Dejar en reposo durante 1 hora. Medir el pH de la suspensión.

2.1.3. DETERMINACIÓN DE FÓSFORO ASIMILABLE EN SUELOS, TÉCNICA DE BRAY Y KURTZ.

La solución extractora del método de Bray y Kurtz N° 1 está constituido por fluoruro de amonio 0,03 N en HCl 0,025 N. El fluoruro tiene la propiedad de formar complejos con los iones del aluminio y del hierro, con la correspondiente liberación de fósforo retenido en los suelos por estos cationes trivalentes. La presencia de *HCL 0,025 N* conduce a la disolución de los fosfatos de calcio mas activos e impide la refijación, durante la extracción, del fósforo liberado por acción del fluoruro.

Este método mide una parte del fósforo total presente en el suelo correspondiente a la fracción más activa y de significación mas inmediata para el crecimiento de las plantas.

Materiales

- Agitador electromecánico de vaivén de aprox. 190 golpes por minuto (g.p.m.) y 2 a 3 cm de corrida.
- Espectrofotómetro SHIMADZU UV-VIS- NIR 3101 PC.

- Balanza analítica ,precisión 1,0 mg.
- Bandejas plásticas para secar muestras.
- Morteros de ágata con mango del mismo material.
- Tamiz 32 de mesh.
- Tubos de agitación, de plástico, de 50 ml. con tapón.
- Tubos de recolección del filtrado, de plástico de 20 ml.
- Pipetas doble aforo de 5, 10 y 20 ml.
- Pipetas graduadas de 10 ml.
- Buretas de 25 ml
- Embudos de vidrio.
- Papel de filtro SS banda azul, de 110 mm. de diámetro.
- Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml.
- Vaso de precipitación de 500 ml.

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES
BIBLIOTECA
Dr. Manuel Belgrano

Reactivos.

- **Ácido clorhídrico 5,0 N aprox.:** En matraz aforado de 1000 ml. conteniendo aprox. 300 ml. de agua bidestilada, colocar 417 ml de HCl concentrado (densidad = 1,18), medido en probeta de 500 ml. Enrasar con agua bidestilada, tapar, mezclar invirtiendo y guardar en frasco de plástico.
- **Solución extractiva fluoruro de amonio en medio clorhídrico.:** Colocar en matraz aforado de 1000 ml, aproximadamente 100 ml. de agua bidestilada. Añadir 5,0 ml. de ClH 5,0 N con pipeta graduada. Pesar 1,11 g. de NH_4F y

disolver en vaso de precipitación de 500 ml. conteniendo aprox. 200 ml. de agua bidestilada. Transferir cuantitativamente al matraz aforado de 1000 ml. usando un embudo y lavando varias veces con agua destilada el vaso de precipitación y el embudo. Enrasar tapar y mezclar invirtiendo varias veces. Medir el pH, debe tener un pH final de 2,6 ± 0,05, caso contrario ajustar con HCl. Pasar la solución extractora a un recipiente de plástico.

- **Ácido Sulfúrico 5,0 N:** Diluir 70 ml. de ácido sulfúrico concentrado medido en probeta de 100 ml. en agua bidestilada y luego llevar a 500 ml en matraz aforado.
- **Molibdato de amonio al 4 %:** En un vaso de precipitación de 500 ml. colocar 20 g. de molibdato de amonio. Disolver con 250 ml. de agua bidestilada vertida desde una probeta graduada. Agitar con agitador magnético con manto de calentamiento, calentar hasta completar la disolución de la sal (50 a 60 °C). Enfriar, trasvasar a matraz de 500 ml, enrasar y guardar el reactivo en frasco color caramelo.
- **Ácido Ascórbico 0,1 M.** Disolver la cantidad de gramos de droga necesarias de acuerdo a la cantidad de muestras a procesar. Preparar el reactivo diariamente.
- **Solución de Tartrato doble de Antimonio y Potasio:** Se prepara una solucione que lleva 1 mg de antimonio por cada ml de solución, disolviendo 0,2743 g. de la droga en agua destilada. Diluir a 100 ml.
- **"Reactivo Mezcla"**: Preparar diariamente y en el momento de su utilización, descartando los sobrantes. En un vaso de precipitación de 500 ml. se agregan en el orden sucesivo los siguientes reactivos: 125 ml. de ácido sulfúrico 5 N; 37,5

ml. de molibdato de amonio, mezclar con varilla de vidrio para homogeneizar. Agregar 75 ml. de ácido ascórbico, y 12,5 ml. de tartrato dobre de antimonio y potasio, mezclar hasta obtener homogeneidad de la solución.

- **Solución madre de fósforo**. Conc. 50 ppm P_2O_5: Secar KH_2PO_4 (grado patrón) a 40^0 C pasándolo por desecador. Pesar 0,2195 g. de la droga. Disolverlos en un vaso de precipitación con 400 ml. de agua bidestilada, trasvasar cuantitativamente a un matraz aforado de 1000 ml. Agregar 35 ml. de ácido Sulfúrico 5,0 N, medidos con probeta. Enrasar con agua bidestilada, Mezclar por inversión. Guardar en envase de plástico, para evitar contaminación con arsénico. NOTA: el ácido sulfúrico debe estar libre de fósforo (Merck o similar).
- **Solución standard de fósforo**. Conc. 5,0 ppm de P_2O_5. En un matraz aforado de 100 ml. verter 10,0 ml. de la solución patrón primaria de fósforo que contiene 50 ppm, con una pipeta de doble aforo. Llevar con agua destilada a 100 ml. Mezclar bien el contenido del matraz. Esta solución se guarda en envase de plástico, preparando una nueva cada semana.

Curva de calibración

En 7 matraces aforados de 50 ml. numerados 0 a 6, transferir 0-1-2-3-4-5 y 6 ml. respectivamente, de solución standard de fósforo.

Agregar a cada matraz 5 ml. de solución extractiva.

Preparar un blanco en otro matraz otro (N° 7) que no llevará solución standard de fósforo ni solución extractiva.

Agregar a todos los matraces (números 0 al 7), agua bidestilada hasta alcanzar un volumen de 35 ml.

Añadir, usando bureta , 8 ml. de "reactivo mezcla" cuidando que esta se vierta directamente sobre el seno de la solución. Enrasar a 50 ml. con agua bidestilada. Tapar. Mezclar invirtiendo varias veces.

Esperar 20 minutos para desarrollo del color azul. El color, una vez desarrollado, es estable por 24 horas.

Encender y calibrar el espectrofotómetro, seleccionar la longitud de onda de 882 nm.

Medir las Absorbancias, de todos los patrones contra blanco de reactivos (Matraz Nº 7).

Verificar el cumplimiento de la Ley de Beer. Esta curva sirve para el cálculo de las concentraciones de fósforo de cada muestra. Gravar la curva en el equipo para las determinaciones de las muestras. Esta curva se deberá repetir cuando se renueven las soluciones de patrones y reactivos

Procedimiento.

1) En un tubo de extracción de 50 ml. colocar 2,5 g. de suelo seco, molido y tamizado por tamiz de 60 de mesh.
2) Mediante pipeta de doble aforo se agregan en rápida secuencia a los distintos tubos que contienen el suelo, 20 ml. de solución extractiva. Tapar rápidamente los tubos, con parafilm, y agitar durante 5 min. en agitador mecánico. Los tubos

se ubican en posición vertical en el agitador debiendo este trabajar con una velocidad de 190 g.p.m. (golpes por minuto).

3) Filtrar por papel de filtro SS banda azul de 110 mm. de diámetro, recogiendo el filtrado en vaso de 100 ml. Debe obtenerse un filtrado o extracto incoloro o muy ligeramente amarillento. Si el color resultara amarillo subido o marronáceo (cosa posible en VERTISOLES o tal vez en otros), hacer un blanco interno para la muestra: tomar 5 ml. de extracto, diluir a 50 ml. con agua destilada y medir la Absorbancia a la misma longitud de onda. Este valor deberá ser sustraído de la correspondiente lectura de tubo problema luego del desarrollo del color azul.
4) En matraz aforado de 50 ml. colocar 5,0 ml. de extracto (medido con pipeta doble aforo).
5) Agregar agua bidestilada aprox. 35 ml. Descargar desde bureta de 10 ml, 8,0 ml. de "reactivo mezcla". Enrasar a 50 ml. con agua bidestilada. Tapar y homogeneizar. Dejar en reposo 20 min. Medir las Absorbancias contra blanco de reactivos o de agua.

Observaciones.

Es de importancia controlar la posición de los tubos y a la velocidad de agitación. También es de especial atención el tiempo de contacto entre suelo y extractiva, contado desde el instante de agregar la extractiva al suelo, hasta el momento de la filtración. Este tiempo de contacto debe ser "el imprescindiblemente necesario para realizar la operación rápidamente".

Cuanto mas constantes se mantengan dichas condiciones, tanto mas reproducibles serán los resultados de los análisis de fósforo asimilable.

Cálculos.

Se usa la "curva de calibración del espectrofotómetro SHIMADZU UV-VIS- NIR 3101 PC y el equipo directamente informa los valores de Absorbancia y concentración.

2.1. 4. MATERIA ORGÁNICA

La fracción orgánica está directamente relacionada con las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo y por ende, con su fertilidad.

Las propiedades químicas más afectadas son la capacidad de intercambio y de adsorción de iones nutritivos, la producción de nitrógeno (nitratos), fosfatos y sulfatos y elementos menores. Algunas de las propiedades físicas relacionadas con la materia orgánica son el color, la estructura, la adsorción, retención y permeabilidad de agua. Al mismo tiempo, la dinámica de la biomasa edáfica se vé afectada por el nivel y calidad del mencionado componente orgánico.

Los componentes de la materia orgánica de suelos agrícolas pueden asignarse a los siguientes comportamientos:

- **Residuos orgánicos:** (principalmente vegetales) en grados variables de tamaño y descomposición. En suelos tamizados (< 2 mm) es posible considerar que los residuos presentes son parcialmente descomponibles en el lapso de un ciclo anual

(Carbono Orgánico Activo, COA). Los residuos orgánicos de mayor tamaño requieren, en general, lapsos de descomposición más prolongados. El COA constituye, según los casos entre el 5 y 15 % de materia orgánica edáfica.

- **La biomasa edáfica:** constituida por la micro (protozoos), meso (nematodos), y macro (gusanos, insectos, etc.) fauna y la microflora (bacterias, hongos, actinomicetos, algas y diatomeas) del suelo. Esta fracción, que es la más pequeña (0,5-3 %) y la más activa de la materia orgánica edáfica, requiere procedimientos biológicos para su cuantificación y caracterización.

- **El humus o las sustancias húmicas:** formadas por polielectrolitos acídicos, predominantemente aromáticos, de color pardo oscuro, con pesos moleculares que oscilan desde pocos cientos a decenas de miles de unidades (con promedios entre 1000 y 50000 D), cuya acidez es debida principalmente a grupos carboxilicos. En casi todos los suelos, excepto los arenosos y los alcalinos, la mayor parte de esta fracción (≅ 95 %) está unida a la fracción mineral más fina (arcilla y limo fino), formando complejos organo-minerales que confieren propiedades distintivas a los suelos.

Las sustancias húmicas se fraccionan artificialmente, según su solubilidad, en:

- Ácidos fúlvicos: componentes de menor peso molecular, solubles en ácidos y álcalis.

- Ácidos húmicos: de peso molecular mayor, soluble en álcalis e insoluble en ácidos.
- húmica: de peso molecular semejante al de los ácidos húmicos pero de menor capacidad de intercambio catiónico, menor contenido de oxigeno y mayor contenido en carbono que éstos, insoluble en álcalis y ácidos, salvo en condiciones drásticas.

La asociación con la fracción mineral confiere al húmus, además de sus propiedades intrínsecas, cierta estabilidad frente a la microflora y microfauna autóctonas, por ello, puede asignarse a esta fracción del húmus (complejos órgano -minerales) el término Carbono Orgánico Estable (COE). En un suelo agrícola común se mineraliza anualmente entre el 0,5 y el 1,5 % del húmus, según el régimen de temperatura y humedad del sistema. Por el contrario, el COA se mineraliza y, eventualmente, se humifica en no menos del 50 % del contenido original.

Determinación del carbono por vía húmeda - Macrométodo.

El método se basa en el procedimiento propuesto por Walkley y Black. El carbono es oxidado con una mezcla de $K_2Cr_2O_7$ y H_2SO_4 concentrado:

$$2\ Cr_2O_7^- + 3\ C^0 + 16\ H^+ \longrightarrow 4\ Cr^{+++} + 3\ CO_2 + 8\ H_2O$$

El exceso de dicromato se titula con solución de hierro ferroso:

$Cr_2O_7^- + 14\ H^+ + 6\ Fe^{++}$ ——— $2\ Cr^{+++} + 6\ Fe^{+++} + 7\ H_2O$

Este método no oxida completamente a la materia orgánica sino a la fracción más lábil. Se propuso un factor de corrección de 1,3; basado en una oxidación promedio del 77 %, aceptado universalmente. Actualmente, se conoce que la oxidación varía desde el 60 al 86 %. En nuestro país se determinó sobre un suelo de la pradera pampeana, una oxidación del 82 %, siendo entonces el factor de corrección 1,2 en lugar de 1,3 en otros suelos. En este laboratorio se adoptó el factor 1,3 para suelos provenientes de la provincia de San Luis.

Materiales y equipos.

- Matraces aforados de 250 ml.
- Erlenmeyer de 125 ml.
- Probetas de 50, 100 y 250 ml.
- Microbureta contratada de 10 ml ± 0,01 ml con depósito lateral.
- Balanza de presición y granataria.
- Metrómetro Multi - Dosimat E 415. (Para la sal de Mohr).

Reactivos.

- **Ácido sulfúrico concentrado**.

RA (96 %), densidad 1,84 Kg L^{-1} .

- **$K_2Cr_2O_7$ 1,0 N.**

En vaso de precipitación de 1000 ml. colocar 49,040 g. de dicromato de potasio (grado p.p.).

Verter aproximadamente 500 ml. de agua bidestilada.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar la solución a un matraz aforado de 1000 ml.

Enrasar con agua bidestilada.

Envasar en un frasco color caramelo.

- **H_3PO_4 concentrado (85 %).**
- **Indicador de sulfonato de difenilamina.**

En un vaso de precipitación de 250 ml. colocar 0,5 g. de difenilamina.

Medir con pipeta graduada, 20 ml. de agua bidestilada.

Verter a una probeta graduada de 100 ml.

Enrasar, con ácido sulfúrico (concentrado), hasta 100 ml.

Verter la solución al vaso de precipitación.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar a un matraz aforado de 100 ml.

Enrasar con H_2SO_4 concentrado usando propipeta.

- **0,1 N $Fe(NH_4)_2$ $(SO_4)_2$ 6 H_2O (sal de Mohr).**

En un vaso de precipitación de 1000 ml. colocar 39,313 g. de sal de Mohr.

Verter 500 ml. de agua bidestilada.

Medir con pipeta graduada, 20 ml. de H_2SO_4 concentrado.

Añadir al vaso de precipitación.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar la solución a un matraz aforado de 1000 ml.

Enrasar con agua bidestilada.

Guardar en frasco de vidrio de color oscuro.

Procedimiento.

Tamizar la muestra con tamiz de malla 28 de mesh.

Pesar 1,0 g. de suelo seco, en balanza analítica.

Colocar en un erlenmeyer de 250 ml. (pesar 2 g. ó 0,5 g. de suelo si se sospecha que el mismo contiene menos de 0,5 % ó más del 1 % de carbono orgánico).

Adicionar 10,0 ml. de la solución de dicromato de potasio, medidos con pipeta de doble aforo.

Agitar suavemente en rotación hasta que el suelo se empape.

Adicionar 20,0 ml. de ácido sulfúrico concentrado, con pipeta graduada en el término de 30 segundos.

Agitar y mezclar.

Dejar en reposo 30 minutos bajo campana (evitando apoyar los erlenmeyer sobre azulejos, cerámicos o cualquier material conductor de calor), a temperatura ambiente (18-22°C).

Si la solución se torna color verde indica que hay un exceso de carbono orgánico; en consecuencia deberá descartarse y pesarse una cantidad menor de suelo.

Trasvasar la solución a un matraz aforado de 250 ml. y llevar a volumen con agua bidestilada.

Transferir 10,0 ml. de esta solución, medidos con pipeta graduada, a un erlenmeyer de 125 ml.

Adicionar 1,0 ml. de H_3PO_4, medidos con pipeta graduada y 5 gotas de indicador de sulfonato de difenilamina.

Titular con la solución sal de Mohr colocada en la microbureta, hasta que el color de la solución vire de azul oscuro a verde claro, obteniéndose el volumen de reactivo consumido por la muestra.

Paralelamente a lo expuesto ejecutar un testigo o blanco sin suelo cumpliendo las etapas anteriores, obteniéndose el volumen de reactivo consumido por el blanco.

Cálculos.

$$\text{Carbono Orgánico } \% = (1 - M/B) \times 3{,}9/P$$

dónde:

M = volumen (ml) de sal de Mohr consumida por la muestra.

B = volumen (ml) de sal de Mohr consumido por el blanco.

P = peso en g. de la muestra.

3,9 = es un factor resultante de:

$$10 \times 12/4000 \times 100/0{,}77$$

donde:

10 = son los ml. de $Cr_2O_7K_2$.

12/4000 = es el peso del meq. de Carbono en grs.

0,77 = es el factor de corrección por oxidación.

100 = es para expresar en porcentaje.

El contenido de materia orgánica (MO), se puede estimar, en forma aproximada utilizando el factor convencional 1,72 de conversión de C a MO, suponiendo que esa MO contiene 58% de C:

$$1/58 \times 100 = 1,72$$

Luego:

$$\text{Materia Orgánica \%} = \text{Carbono Orgánico \%} \times 1,72$$

Interferencias.

El método de Walkley-Black está sujeto a interferencias generadas en el suelo, que pueden generar resultados erróneos en la determinación del carbono orgánico.

La presencia de cantidades elevadas de cloruros, ion ferroso y óxidos superiores del manganeso generan reacciones redox con las soluciones o mezclas del ácido crómico. Los dos primeros ocasionan errores positivos mientras que el tercero produce error negativo en la determinación de Carbono Orgánico.

El ion cloruro consume el ion dicromato generando el cloruro de cromilo de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$6\ H_2SO_4 + K_2Cr_2O_7 + 4\ KCl \quad \text{———} \quad 2\ CrO_2Cl_2 + 6\ KHSO_4 + 3\ H_2O$$

La interferencia del cloruro se soluciona lavando el suelo con agua, operación que es poco recomendable debido a otro tipo de alteración que puede generarse, o mediante la precipitación del Cl^- como AgCl con la ayuda de Ag_2SO_4 incorporado al ácido sulfúrico concentrado.

El ion ferroso Fe(III), cuando se encuentra presente en suelos generalmente no aireados, es oxidado a Fe(III) por el ión dicromato. Esta oxidación produce un error positivo en la determinación del Carbono Orgánico:

$$Cr_2O_7^{--} + 6\ Fe^{++} + 14\ H^+ \quad \text{———} \quad 2\ Cr^{--} + 6\ Fe^{+++} + 7\ H_2O$$

El Fe(II) es abundante en condiciones de reducción. Sin embargo se determinó que el problema de la presencia de Fe(II) es fácilmente solucionable por medio de un buen secado al aire del suelo.

Los óxidos superiores del manganeso (principalmente el MnO_2), generan errores negativos en la determinación de carbono orgánico. El MnO_2 compite con el ión dicromato en la oxidación del carbono:

$$2\ MnO_2 + C^0 + 8\ H^+ \longrightarrow CO_2 + Mn^{++} + 4\ H_2O$$

El Dióxido de manganeso recientemente precipitado es lo suficientemente activo para interferir con los iones dicromato. También se estableció que el efecto interferente de los óxidos superiores de manganeso es prácticamente nulo en la mayoría de los suelos, en virtud de que esos óxidos se encuentran en un estado inactivo.

Otro problema en la determinación del carbono orgánico con este método, es la presencia de materiales orgánicos con diferente nivel de oxidación del carbono y de carbonización del material. Los métodos por combustión húmeda parten del supuesto de que el carbono orgánico de los suelo posee un valor promedio de oxidación de cero y un peso equivalente de 3 g. cuando reacciona con el ión dicromato. Aparentemente esta hipótesis es correcta, dado que los valores de carbono obtenidos con el método de combustión húmeda, coinciden con la determinación directa, por vía seca o húmeda, del CO_2.

Sin embargo, el método de combustión húmeda que no incorpora un calentamiento externo de la mezcla de reacción produce resultados por defecto (error negativo) cuando se aplica a materiales carbonáceos altamente reducidos como el carbón, grafito, coke, restos de hornos, etc. Algunos recuperaron entre el 2 y el 11 % del carbono de esos materiales, otros mejoraron esa recuperación hasta un tercio de carbono presente en materiales similares. La aplicación externa de calor, produjo una recuperación más completa pero errática (entre el 55 y el 110 %) del carbono orgánico de materiales carbonáceos. Se concluye que el método con dicromato no

puede usarse para determinar *cuantitativamente* los materiales orgánicos reducidos presentes en el suelo. Por ello, es recomendable evitar la aplicación del método Walkley-Black en suelos con materiales carbonáceos o ignorar su presencia y proceder a la determinación del carbono orgánico pertenecientes a formas oxidables de la materia orgánica edáfica.

2.1.5. NITRÓGENO TOTAL

La determinación del nitrógeno total en suelos, presenta algunas dificultades. Estas, se ven incrementadas por la escasa información existente sobre las formas de nitrógeno presentes y por el bajo contenido de nitrógeno en el elemento a analizar.

El contenido de N-total oscila desde menos de 0,02 % en subsuelos a más del 2,5 % en las turbas; la capa superficial de la mayoría de los suelos cultivados contiene entre 0,06 y 0,5 % de N.

Para la determinación del N-total se usa **el método Kjeldahl**, el cual es esencialmente una oxidación húmeda.

Principios.

En el método Kjeldahl el N de la muestra es convertido a amonio (NH_4^+), por digestión con sulfúrico concentrado conteniendo sustancias que facilitan esta conversión; el NH_4^+ se determina a partir de la cantidad de NH_3 liberado por destilación del digesto con álcali.

Kjeldahl incluye dos pasos: **a)** digestión de la muestra para convertir las distintas formas de nitrógeno a amonio.

b) destilación ó determinación de amonio en el digesto.

La digestión se realiza generalmente por calentamiento de la muestra con sulfúrico y otras sustancias que promueven la oxidación de la materia orgánica y la conversión del nitrógeno orgánico a NH_4^+.

Las sustancias que se usan en la práctica son *sales* tales como K_2SO_4 ó Na_2SO_4, las cuales aumentan la temperatura de digestión, y *catalizadores* como el Hg, Cu ó Se que aumentan la velocidad de oxidación de la materia orgánica por el sulfúrico.

El amonio (NH_4^+), se determina en el digesto por titulación del NH_3 liberado en la destilación del digesto tratado con álcali. En caso de que el digesto contenga Hg, se titula con álcali conteniendo $Na_2S_2O_3$ ó Zn para inactivarlo.

Digestión.

Se ha demostrado que el factor más importante en la digestión Kjeldahl es la temperatura del tratamiento con sulfúrico, la cual es controlada por la cantidad de SO_4K_2 ó SO_4Na_2.

Si la concentración del primero es baja (por ej. 0,3 g./ml. de sulfúrico), es necesario digerir la muestra por varias horas para obtener resultados exactos; si esa concentración es alta (por ej. 1 g./ml. de sulfúrico), sólo son necesarios cortos períodos de digestión.

Los catalizadores tienen un marcado efecto sobre la velocidad de digestión cuando la concentración salina es baja, pero prácticamente no tienen efecto cuando la concentración salina es alta (por ej. 1 g. de SO_4K_2 por ml. de sulfúrico). Los catalizadores más frecuentemente usados para la digestión Kjeldahl son aquellos que contienen Se, Hg y Cu. Su eficiencia para aclarar rápidamente los digestos disminuyen en el orden Se> Hg> Cu.

Destilación.

La determinación del NH_4^+ se realiza por estimación del NH_3 liberado en la destilación del digesto tratado con álcali fuerte.

Este amoníaco es recogido en ácido bórico y titulado con sulfúrico valorado.

El punto final de la titulación se establece por el viraje de color de una mezcla de indicadores verde de bromocresol y rojo de metilo, de amarillo a rojo vinoso.

Las reacciones químicas son las siguientes:

$$NH_3 + H_3BO_3 \text{ ——— } NH_4^+ + H_2BO_3^-$$

$$H^+ + H_2BO_3^- \text{ ——— } H_3BO_3$$

Técnica General Para Kjeldhal.

Digestión.

Tamizar la muestra por tamiz de malla 9 de mesh.

Pesar 1,0 g. de muestra en balanza analítica.

Colocar la muestra en un tubo de vidrio de digestión, previamente lavado con detergente y secado.

Agregar, 10,0 ml. de ácido sulfúrico concentrado.

Pesar 5,0 g. de catalizador.

Agregar al tubo de vidrio de digestión.

Colocar los tubos de vidrio en la gradilla portatubos y llevar al digestor.

Realizar la digestión bajo campana.

Programar en unidad de control:

40 minutos de digestión al 100 %.

15 minutos de enfriamiento.

Transcurrido este tiempo, continuar con la segunda etapa de la técnica.

El catalizador se prepara mezclando 0,3 g. de $CuSO_4$ y 99,7 g. de K_2SO_4.

Destilación.

Prender el equipo de destilación.

Sacar los tubos de vidrio de la gradilla portatubos ubicadas en el digestor

Colocar en el destilador.

Programar unidad de destilación:

Tiempo de espera 3 segundos.

Tiempo de destilación 3 minutos.

Adicionar 50 ml. de agua bidestilada.

Adicionar 70 ml. de NaOH al 32 %.

Recoger el destilado en un erlenmeyer de 250 ml. que contiene 30 ml. de H_3BO_3 al 4 % y 4 gotas del indicador mixto.

Finalizada la etapa de destilación continuar con la titulación:

Colocar en una bureta solución normalizada de SO_4H_2 0,1 N.

Enrasar la bureta.

Titular el destilado hasta lograr un cambio de viraje del indicador del amarillo al rojo vinoso.

Recomendación:

Valores bajos de N se pueden observar por falta de buena digestión (en tiempo y/o temperatura), o por exceso de la misma (pérdida de nitrógeno volátil).

Cálculo y expresión de los resultados.

$$NT = \text{nitrógeno total} = 1{,}40 \times (V - V_0) \times C/M$$

dónde:

NT: nitrógeno total de la muestra expresada como % P/P

V: volumen de ácido gastado en la titulación (ml).

V_0 : volumen de ácido gastado para el blanco.

C: concentración del ácido como normalidad.

M: masa de la muestra en g.

% P = porcentaje de proteínas = % NT x f

f: factor que depende del tipo de muestra.

El resultado final es el promedio de dos determinaciones paralelas y se expresa con tres decimales si se informa NT, y con dos decimales si se informa como % P.

2.1.6. NITRATOS.

I.- MÉTODO DEL ÁCIDO FENOLDISULFONICO

1.- EXTRACCIÓN Y DETERMINACIÓN DE NITRATOS.

1.1.- Materiales.

- Espectrofotómetro SHIMADZU UV-VIS- NIR 3101 PC.
- Agitador rotativo.
- Embudos de vidrio de distintos diametros de boca.
- Tubos de plástico de 50 ml.
- Tubos de ensayo de vidrio de 10 ml.
- Frascos plásticos con tapa hermética de 250 ml. (boca ancha).
- Agitador para tubos de ensayo.
- Estufa a 105 - 110 ^{o}C.
- Matraz aforado de 1000 ml.
- Vaso de precipitación de 1000 ml.

- Material de vidrio afín a las necesidades.
- Pipetas de vidrio de 1, 5 y 10 ml.

1.2.- Reactivos.

- **Solución A**: Sulfato de cobre 2,5 %.

En un vaso de precipitación de 1000 ml. colocar 25,0 g. de $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$.

Verter 500 ml. de agua bidestilada.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar a un matraz aforado de 1000 ml. Enrasar con agua bidestilada.

- **Solución B:** Sulfato de plata 0,6 %.

En un vaso de precipitación de 1.000 ml. colocar 6,0 g. de Ag_2SO_4.

Verter 500 ml. de agua bidestilada.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar a un matraz aforado de 1.000 ml. Enrasar con agua bidestilada.

- **Solución extractante**:

100 ml. de solución A + 100 ml. de solución B + 800 ml. agua bidestilada.

- **Patrón de 100 µg./ml. N-NO_3** .

En un vaso de precipitación de 1000 ml. colocar 0,72208 g. KNO_3.

Verter 500 ml. de agua bidestilada.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar a un matraz aforado de 1000 ml. Enrasar con agua bidestilada.

- **Patrones diarios de 1,25 - 2,5 - 5 - 7,5 µg./ml. N-NO_3.**

Realizar diluciones a partir del patrón de 100 μg./ml. $N\text{-}NO_3$.

- **Hidróxido de calcio saturado**.

En un vaso de precipitación de 1000 ml. colocar 4,0 g. de $Ca(OH)_2$.

Verter 500 ml. de agua bidestilada.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar a un matraz aforado de 1000 ml.

Enrasar con agua bidestilada.

- **Fenoldisulfónico.**

En un vaso de precipitación de 500 ml. agregar 25,0 g. de fenol, (fundido a 70 °C).

Verter 150 ml. de ácido sulfúrico d = 1,84 g./ml.

Medir con probeta graduada 75,0 ml. de ácido sulfúrico fumante, añadir a la solución anterior.

Mezclar con varilla de vidrio.

Trasvasar a un erlenmeyer de 500 ml.

Enrasar con ácido sulfúrico fumante.

Colocar a baño de agua a 100 °C durante 2 horas bajo campana.

Enfriar y guardar en frasco color caramelo.

- **Hidróxido de amonio 12,5 %**.

Medir en probeta de 500 ml. 430 ml. NH_4OH al 29 %.

Verter a un matraz aforado de 1000 ml.

Enrasar con agua bidestilada.

- **Hidróxido de calcio sólido finamente molido**.

- **Carbonato de magnesio p.a. sólido en polvo.**
- **Carbón activado libre de nitratos**.
- **Papel de filtro SS banda azul. 110 mm. de diámetro.**

2.- PROCEDIMIENTO.

Extracción:

- Pesar 40 ± 0,01 g. de suelo húmedo.
- Colocar en un frasco de 250 ml. homogeneizado a 8 mm de diámetro.

  Por duplicado. Agregar 200 ml. de solución extractante.

  Agitar 15 minutos en agitador rotativo.
- Agregar 800 mg. de hidróxido de calcio. Agitar 10 minutos.
- Agregar 800 mg. de Carbonato de magnesio. Agitar 10 minutos.
- Agregar 800 mg. de carbón activado. Agitar 15 minutos.
- Filtrar por papel de filtro SS banda azul 110 mm. de diámetro, recoger el filtrado en tubos de plástico de 50 ml.
- Realizar blancos de extracción por duplicado. Igual que para las muestras.

Colorimetría.

- Dispensar con pipeta graduada de 2 ml. una cantidad igual del extracto filtrado en un tubo de ensayo de vidrio de 10 ml.
- Agregar con pipeta graduada de 1 ml. 0,5 ml. de hidróxido de calcio saturado.
- Desecar en estufa a 105 - 110 °C durante 24 horas.
- Agregar con pipeta graduada, 1,0 ml. de fenoldisulfónico.

- Rotar mojando el residuo perfectamente.
- Esperar 10 minutos.
- Agregar con pipeta graduada, 2,0 ml. de agua destilada.
- Agregar con pipeta graduada de 10 ml. 9,5 ml. de hidróxido de amonio al 12,5 %.
- Agitar en agitador de tubo.
- Leer en curva del Espectrofotómetro SHIMADZU UV-VIS- NIR 3101 PC.

Curva de Calibración.

- Dispensar con pipeta graduada 1,0 ml. de cada uno de los patrones diarios en tubos de ensayo de vidrio de 10 ml. (1,25 - 2,5- - 5 - 7,5 µg. N-NO3).
- Efectuar duplicados.
- Agregar con pipeta graduada, 2,0 ml. de solución de blanco de extracción.
- Agregar con pipeta graduada de 1 ml. 0,5 ml. de hidróxido de calcio saturado.
- Desecar en estufa y continuar como con las muestras.
- Determinar el porcentaje de humedad de la muestra.

3.- CALCULO.

$$NO_3^- \ \mu g/g \text{ suelo} = \frac{\mu g \ N\text{-}NO_3 \text{ curva} \times 2{,}215 \times [Pm(h)-Pm(s)+200]}{Pm(s) \ g}$$

Donde:

µg $N\text{-}NO_3$ = masa en µg de $N\text{-}NO_3$ de los patrones.

Pm(h) g. = peso de la muestra húmeda.

Pm(s) g. = peso de la muestra seca a 105 °C

Pm(s) = Pm(h)/{[1+(% H_2O / 100)]}

% H_2O = Porcentaje de humedad de la muestra.

2.1.7. Determinación de Sulfatos ($SO_4^=$)

Materiales

a.- Tamiz de malla 9 de mesh.

b.- Vaso de precipitación de 500 ml.

c.- Baño de arena .

d.- Papel de filtro SS banda azul 110 mm. de diámetro.

e.- Balanza analítica.

f.- Material de vidrio necesario para realizar la determinación.

g.- Mufla para temperaturas de 850°C.

h.- Cápsulas de porcelana.

i.- Embudo de vidrio.

j.- Propipeta.

k.- Pipetas de distinta graduación.

Reactivos

Cloruro de bario al 10 %.

- En un vaso de precipitación de 250 ml. colocar 10,0 g. de cloruro de bario.
- Verter 50 ml. de agua bidestilada.
- Mezclar con varilla de vidrio.
- Trasvasar a un matraz aforado de 100 ml.
- Enrasar con agua bidestilada.

2.- Procedimiento.

Tamizar la muestra por tamiz de malla 9 de mesh.

Pesar en balanza analítica 0,2 g. de muestra seca.

Colocar la muestra en vaso de precipitación de 500 ml.

Adicionar con pipeta, 10,0 ml. de ácido clorhídrico (1:1).

Calentar en baño de arena durante 10 minutos. Transcurrido este tiempo, agregar 100 ml. de agua bidestilada.

Continuar el calentamiento durante 5 minutos más.

Retirar del baño de arena y dejar enfriar.

Filtrar con papel de filtro SS banda azul de 110 mm.

Lavar con agua bidestilada caliente.

Recoger el filtrado en un vaso de precipitación de 250 ml.

Diluír el filtrado hasta 250 ml.

Calentar a ebullición y añadir lentamente con pipeta graduada, 10,0 ml. de Cloruro de Bario (Cl_2Ba) al 10 %, agitar con varilla de vidrio.

Colocar en baño de arena durante 4 horas. Transcurrido ese tiempo, filtrar con papel de filtro SS banda azul de 110 mm.

Lavar el filtro con agua destilada caliente hasta disminuir en lo máximo posible la presencia de cloruros (Cl^-).

Recoger los filtrados en vaso de precipitación de 500 ml.

Colocar el papel de filtro con el precipitado en cápsula de porcelana previamente tarada, llamar a este peso $\mathbf{P_1}$.

Llevar a mufla, calentar primero lentamente y luego durante 15 minutos a 850 °C.

Enfriar en desecador.

Pesar en balanza analítica el sulfato de bario (SO_4Ba), llamar a este peso $\mathbf{P_2}$.

3.- Cálculos.

$$g.\%SO_4^{=} = \frac{(P_2-P_1) \times 0{,}4115 \times 100}{P_m}$$

dónde:

P_1 = peso de la cápsula sin muestra.

P_2 = peso de la cápsula luego de ser llevada a la mufla pesar el sulfato de bario (SO_4Ba) residual.

0,4115 = factor de conversión.

100 = factor para expresar el resultado en porciento.

P_m = peso de la muestra.

2.1.8. METALES PESADOS

Materiales.

- Cápsula de porcelana.
- Baño de arena.
- Pipetas de distinta graduación.
- Matraces de 50 ml.
- Papel de filtro SS banda azul 110 mm. de diámetro.
- Embudos de vidrio.
- Aparato de absorción atómica.
- Propipeta.
- Balanza analítica.
- Tamiz de malla 9 de mesh.

Reactivos.

- Acido Nitrico concentrado. (NO_3H)
- Acido Sulfúrico concentrado. (SO_4H_2).
- Agua bidestilada.

Procedimiento:

Tamizar la muestra por tamiz de malla 9 de mesh.

Pesar con balanza analítica 1,5 g. de suelo seco.

Colocar la muestra en cápsula de porcelana.

Agregar, 2,0 ml. de ácido nítrico concentrado más 1,0 ml. de ácido sulfúrico concentrado medidos con pipeta.

Llevar a baño de arena y digerir en caliente aproximadamente a 200 - 250 °C hasta disgregación total.

Retirar del baño de arena.

Enfriar.

Retomar con agua bidestilada.

Filtrar con papel de filtro SS banda azul.

Recoger el filtrado en un matraz aforado de 50 ml.

Enrasar con agua bidestilada.

Tapar y llevar al aparato de absorción atómica para realizar la lectura correspondiente.

2.1.9. SODIO Y POTASIO TOTAL.

Materiales.

- Cápsula de porcelana.
- Pipetas de distinta graduación.
- Probetas.
- Baño de arena.
- Matraces de de 250 ml.
- Embudos de vidrio.
- Papel de filtro SS banda azul 110 mm. de diámetro.
- Aparato de absorción atómica.
- Balanza analítica.
- Tamiz de malla 9 de mesh.

Reactivos.

- Ácido clorhídrico concentrado. (ClH).
- Agua bidestilada.

Procedimiento.

Pesar en balanza analítica, 2,0 g. de suelo seco, tamizado por tamiz de malla 9 de mesh.

Colocar en cápsula de porcelana.

Medir con pipeta graduada, 10,0 ml. de ácido clorhídrico concentrado más 15,0 ml. de agua bidestilada.

Añadir a la cápsula de porcelana.

Digerir en baño de arena a 200 - 250 °C hasta disgregación total.

Retirar del baño de arena y dejar enfriar.

Retomar con agua bidestilada.

Filtrar con papel de filtro SS banda azul.

Recoger el filtrado en un matraz aforado de 250 ml.

Enrasar con agua bidestilada.

Tapar y llevar al aparato de absorción atómica para realizar la lectura correspondiente por la técnica de Emisión de llama.